



T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

ANANAS KABUĞUNDAN FARKLI ÇÖZÜCÜLER VE FORMLARLA
ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİYOAKTİF BİLEŞEN PROFİLİ,
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ VE *DROSOPHILA*
MELANOGASTER'DE BİYOLOJİK ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GÖZDE DAVU

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ARİF AYAR

AMASYA
HAZİRAN 2025

T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER TIP ANABİLİM DALI

ANANAS KABUĞUNDAN FARKLI ÇÖZÜCÜLER VE FORMLARLA
ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİYOAKTİF BİLEŞEN PROFİLİ,
ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ VE *DROSOPHILA*
MELANOGASTER'DE BİYOLOJİK ETKİLERİ

Gözde DAVU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Arif AYAR

AMASYA
HAZİRAN 2025

GÖZDE DAVU tarafından hazırlanan “**ANANAS KABUĞUNDAN FARKLI ÇÖZÜCÜLER VE FORMLARLA ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİYOAKTİF BİLEŞEN PROFİLİ, ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ VE DROSOPHILA MELANOGASTER'DE BİYOLOJİK ETKİLERİ**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Moleküler Tıp** Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Arif AYAR

Sabuncuoğlu Şerefeddin SHMYO, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Doç. Dr. Ebru BATI AY

Suluova Meslek Yüksekokulu, Bitkisel ve Hayvansal Üretim Bölümü, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Doç. Dr. Muhammed Akif AÇIKGÖZ

Ziraat Fakültesi, Tarla Bitkileri Bölümü, Ordu Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 26/06/2025

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Gonca ÜSTÜN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Bu süreçte her zaman destekçim olan sevgili ailem ve yol arkadaşlarıma....

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dökümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Gözde DAVU

26/06/2025

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini paylaşarak bana destek olan, çalışmamı özenli bir şekilde takip eden tez danışmanım Prof. Dr. Arif AYAR'a, yüksek lisans öğrenim sürecim boyunca üzerimde emeği olan başta Doç. Dr. Ebru BATI AY ve tüm değerli hocalarıma, lisansüstü eğitimim süresince çalışmalarımnda laboratuvar bilgilerini paylaşan Dr. Mehmet FİDAN tüm ekip arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman yanımda olup bana desteğini esirgemeyen canım ailem; annem Nazan DAVU, babam Ahmet DAVU, kardeşim Hüseyin Kaan DAVU, destekçim olan arkadaşlarım, bu süreçte anlayışla yanımda olan yol arkadaşlarım ve tez sürecimde yardımı dokunan herkese çok teşekkür ederim, iyiki varsınız.

Ayrıca tez çalışmamı FMB-BAP 23-0598 koduyla destekleyen Amasya Üniversitesi BAP Birim Koordinatörlüğüne de teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLolar DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Antioksidanlar ve Etki Mekanizmaları.....	3
2.2. Fenolik Bileşikler ve Çeşitleri	7
2.2.1. Fenolik asitler.....	8
2.2.2. Flavonoidler	9
2.3. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri	10
2.3.1. DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil Radikal Süpürme Kapasitesi) yöntemi.....	13
2.3.2. Total Antioksidan- Oksidan Seviyesi (TAS-TOS).....	14
2.4. Ananas (<i>Ananas comosus</i> L.) Bitkisi	16
2.4. Model Organizma <i>Drosophila melanogaster</i>	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Gereç.....	22
3.1.1. Ananas kabuğu	22
3.1.2. <i>Drosophila melanogaster</i>	23
3.2. Yöntem	26
3.2.1. Ananas kabuğu ekstraktlarının hazırlanması	26
3.2.2. Toplam fenolik madde tayini	29
3.2.3. Toplam flavonoid madde tayini	29
3.2.4. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini	29
3.2.5. Fenolik ve flavonoid bileşenlerin kompozisyon analizi (LC-MSMS)	30
3.2.6. <i>D.melanogaster</i> larval mortalite testleri	31
3.2.7. <i>D. melanogaster</i> 'de biyokimyasal etkinlik analizleri (TAS/TOS/OSI)	34
3.2.8. Verilerin istatistiksel analizi	36

4. BULGULAR.....	37
4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları.....	37
4.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini Sonuçları	38
4.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları	40
4.4. LC-MSMS Analiz Sonuçları	42
4.5. Larval Mortalite Çalışmalarından Elde Edilen Sonuçlar	47
4.6. <i>D.melanogaster</i> 'de Yapılan Biyokimyasal Analizlerden Elde Edilen Sonuçlar	50
5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	62
7. KAYNAKLAR	65
EKLER.....	78
EK-1. Proje Sözleşmesi	79
ÖZGEÇMİŞ	81

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Antioksidan Aktiviteyi Ölçmek İçin Kullanılan Farklı Teknikler	11
Tablo 3.1. LC-MS/MS Analizi Test Koşulları	31
Tablo 3.2. Drosophila Larval Mortalite Testi Kontrol ve Uygulama Grupları	33
Tablo 4.1. Ananas Kabuğu Farklı Formlarının Total Fenolik Madde Miktarlarının İstatistiksel Değerlendirmesi	38
Tablo 4.2. Ananas Kabuğu Farklı Formlarının Total Flavonoid Madde Miktarlarının İstatistiksel Değerlendirmesi	40
Tablo 4.3. Farklı Formlarda Hazırlanan Ananas Kabuğu Örneklerinin DPPH Serbest Radikal Giderme Aktiviteleri	40
Tablo 4.4. Farklı Formlarda Hazırlanan Ananas Kabuğu Örneklerinin DPPH Sonuçlarının Konsantrasyon Farklarına Göre İstatistiksel Değerlendirmesi	42
Tablo 4.5. Ananas Kabuğu Örneklerinin LC-MSMS Analiz Sonuçlarına Göre İçerik Oranları.....	43
Tablo 4.6. Larval Mortalite Testi Kontrol Gruplarından Elde Edilen Veriler	47
Tablo 4.7. Farklı Form ve Farklı Konsantrasyonlarda Ananas Kabuğu Ekstraktlarının Larval Mortalite Oranları	48
Tablo 4.8. Farklı Form ve Farklı Konsantrasyonlarda Ananas Kabuğu Ekstraktlarının H ₂ O ₂ ile Birlikte Uygulamasının Larval Mortalite Oranları	49
Tablo 4.9. Ananas Kabuğundan Hazırlanan Farklı Ekstrakt ve Formların <i>D. melanogaster</i> 'de Biyokimyasal Etkinliği	51

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	4
Şekil 2.2. Antioksidanların Çalışma Mekanizmaları.....	6
Şekil 2.3. Polifenollerin Kimyasal Yapısı.....	7
Şekil 2.4. Hidroksibenzoik Asit ve Hidroksisinamik Asitin Kimyasal Yapısı	8
Şekil 2.5. Flavonoid Gruplarının Kimyasal Yapıları.....	9
Şekil 2.6. DPPH Reaksiyon Mekanizması.....	14
Şekil 2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve Hesaplama Formülü.....	15
Şekil 2.8. Ananas (<i>Ananas comosus</i>) bitkisi	17
Şekil 2.9. Drosophila ve İnsanda Organ Sistemlerinin Benzerlik ve Farklılıkları	21
Şekil 3.1. Ananas Kabuğu (orjinal)	22
Şekil 3.2. Drosophila Çalışmalarının Yapıldığı Biyolojik Araştırma Laboratuvarı (Orjinal)	23
Şekil 3.3. <i>Drosophila melanogaster</i> Dişi (a) ve Erkek (b) Bireyleri (Orjinal)	24
Şekil 3.4. <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Yaşam Döngüsü (Orjinal)	25
Şekil 3.5. Ananas Kabuklarının Hazırlanıp, Kurutma İşlemlerinin Yapılması (Orjinal)	26
Şekil 3.6. Ananas Kabuklarının Toz Haline Getirilmesi İşlemleri (Orjinal)	27
Şekil 3.7. Ananas Kabuklarının Ekstraksiyon İşlemleri (Orjinal).....	27
Şekil 3.8. Ananas Kabuğu Ekstraktlarından Çözücülerin Uzaklaştırılması İşlemleri (Orjinal)	28
Şekil 3.9. Ananas Kabuğunun Demleme Formlarının Hazırlanışı (Orjinal).....	28
Şekil 3.10. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Yöntemi (Orjinal)	30
Şekil 3.11. LC-MS/MS Analiz Sistemini Oluşturan Cihazlar	31
Şekil 3.12. Standart çaprazlama için birey seçimi ve larva toplama aşamaları (Orjinal) ...	32
Şekil 3.13. Deneyde Kullanılan Tüm Uygulama ve Kontrol Grupları (Orjinal).....	33
Şekil 3.14. Antioksidan Testlerde Kullanılan Cihaz ve Uygulamalara Ait Görüntüler (Orjinal)	35
Şekil 4.1. Ananas Kabuğu Farklı Formlarının Total Fenolik Madde Miktarları	37
Şekil 4.2. Ananas Kabuğu Farklı Formlarının Total Flavonoid Madde Miktarları	39
Şekil 4.3. Farklı Formlarda Hazırlanan Ananas Kabuğu Örneklerinin DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitelerine Ait Grafik.....	41

Şekil 4.4. Ananas Kabuğu Toz Demleme (AKTD) Ekstraktının LC-MS/MS Kromatogramı	44
Şekil 4.5. Ananas Kabuğu Su (AKS) Ekstraktının LC-MS/MS Kromatogramı	44
Şekil 4.6. Ananas Kabuğu Etanol (AkEt) Ekstraktının LC-MS/MS Kromatogramı	45
Şekil 4.7. Ananas Kabuğu Metanol (AkMe) Ekstraktının LC-MS/MS Kromatogramı	45
Şekil 4.8. Farklı Form ve Konsantrasyonlarda Ananas Kabuğu Ekstraktlarının Larval Mortalite Oranlarına Ait Grafik	48
Şekil 4.9. Farklı Form ve Konsantrasyonlarda Ananas Kabuğu Ekstraktlarının H ₂ O ₂ İle Birlikte Uygulamasının Larval Mortalite Etkinliğine Ait Grafik	49
Şekil 4.10. Kontrol ve Tüm Uygulama Gruplarına Ait Larval Mortalite Etkinlik Grafiği..	50
Şekil 4.11. TAS, TOS ve OSİ Değerlerine Ait Grafik	51

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Tez çalışmasında kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

°C	Santigrat derece
%	Yüzde
µg	Mikrogram
µmol	Mikromol
µl	Mikrolitre
dk	Dakika
gr	Gram
Kg	Kilogram
kcal	Kilokalori
L	Litre
m	Metre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre

Kısaltmalar

Açıklama

ASC	Askorbik Asit
AKÇ	Ananas kabuğu demleme çay formu
AKEt	Ananas kabuğu etanol ekstresi
AKMe	Ananas kabuğu metanol ekstresi
AKSu	Ananas kabuğu su ekstresi
AKTD	Ananas kabuğu toz demleme formu
GR	Glutasyon redüktaz

GSH	İndirgenmiş glutatyon
GST	Glutatyon S-transferaz
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
LC/MS-MS	Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi
MSR	Metionin sülfoksit redüktaz
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SOD	Süperoksit dismutaz
OSİ	Oksidatif stres indeksini
pH	Power of Hydrogen
TAS	Total Antioksidan Seviyesi
TOS	Total Oksidan Seviyesi
TRXP	Tiyoredoksin peroksidaz

ÖZET

ANANAS KABUĞUNDAN FARKLI ÇÖZÜCÜLER VE FORMLARLA ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİYOAKTİF BİLEŞEN PROFİLİ, ANTİOKSİDAN AKTİVİTESİ VE *DROSOPHILA MELANOGASTER*'DE BİYOLOJİK ETKİLERİ

Gözde DAVU

Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Moleküler Tıp Anabilim Dalı, Yüksek Lisans, Haziran/2025
Danışman: Prof. Dr. Arif AYAR

Bitkisel atıkların araştırılması ve yeniden kazanımı hem ekonomik hem de çevresel sürdürülebilirlik açısından kritik öneme sahiptir. Bu kapsamda yapılan araştırmalar, gıda atıklarının değerlendirilmesi yoluyla döngüsel ekonomiye katkı sağlarken, aynı zamanda insan sağlığını destekleyebilecek yeni doğal bileşenlerin keşfine de yol açmaktadır.

Bu çalışma, ananas kabuğunun farklı çözücü ve formlardan (etanol, metanol, su ekstraktları ve toz demleme/çay formları) elde edilen ekstraktların biyoaktif bileşen içeriği, antioksidan aktivitesi ve biyolojik etkilerini incelemeyi amaçlamıştır. Araştırma kapsamında, ananas kabuğunun fenolik ve flavonoid bileşikler, DPPH serbest radikal giderme aktivitesi, LC-MS/MS ile bileşen analizi ve *Drosophila melanogaster* modelinde larval mortalite ile biyokimyasal parametreler (TAS, TOS, OSI) üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Ananas kabuğu toz demleme formu (AKTD), toplam fenolik madde ve flavonoid içeriği açısından en yüksek performansı göstermiştir. Metanol ekstraktı (AKMe), fenolik çeşitlilik ve konsantrasyon bakımından öne çıkarken, su ekstraktı (AKSu) beklenmedik şekilde rosmarinik asit gibi bileşikler içermiştir. Tüm ekstraktlar yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite (%79'un üzerinde) sergilemiştir. Çay formu (AKÇ), yüksek konsantrasyonlarda en etkili antioksidan aktiviteyi göstermiştir. AKTD ve AKÇ, larval mortalite testlerinde en düşük toksisiteyi ve en yüksek oksidatif stres korumasını sağlamıştır. Biyokimyasal analizlerde, bu formların total antioksidan seviyesini (TAS) artırdığı, total oksidan seviyesini (TOS) ve oksidatif stres indeksini (OSI) düşürdüğü tespit edilmiştir. Ananas kabuğu, kateşin ve taxifolin gibi nadir bileşikler içermiş, bu da nutrasötik potansiyelini artırmıştır.

Ananas kabuğu, özellikle toz demleme ve çay formlarıyla, yüksek biyoaktif bileşen içeriği ve antioksidan özellikleri nedeniyle fonksiyonel gıda, nutrasötik ve farmakolojik uygulamalarda değerlendirilebilecek değerli bir kaynaktır. Su ekstraktının düşük toksisitesi, güvenli kullanım avantajı sunarken; etanol ve metanol ekstraktları farmakolojik araştırmalar için uygun bulunmuştur. İleriki çalışmalarda, farklı ekstraksiyon tekniklerinin optimizasyonu, biyoyararlanım çalışmaları ve klinik öncesi araştırmalar önerilmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ananas kabuğu, fenolik bileşikler, antioksidan aktivite, *Drosophila melanogaster*, LC-MS/MS, oksidatif stres.

ABSTRACT

BIOACTIVE COMPOUND PROFILE, ANTIOXIDANT ACTIVITY, AND BIOLOGICAL EFFECTS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* OF EXTRACTS OBTAINED FROM PINEAPPLE PEEL USING DIFFERENT SOLVENTS AND FORMS

Gözde DAVU

Amasya University, Institute of Health Sciences
Department of Molecular Medicine, MSc, June / 2025
Advisor: Prof. Arif AYAR

The research and recovery of plant waste is critically important for both economic and environmental sustainability. Studies conducted in this field contribute to the circular economy through the valorization of food waste, while also leading to the discovery of new natural compounds that can support human health.

This study aimed to investigate the bioactive compound content, antioxidant activity, and biological effects of pineapple peel extracts obtained through different solvents and forms (ethanol, methanol, aqueous extracts, and powder/tea infusion forms). The research evaluated the phenolic and flavonoid compounds, DPPH radical scavenging activity, LC-MS/MS compositional analysis, and the effects on *Drosophila melanogaster* larval mortality and biochemical parameters (TAS, TOS, OSI).

Pineapple peel powder infusion (PAPP) showed the highest total phenolic and flavonoid content. Methanol extract (PAMe) exhibited superior phenolic diversity and concentration, while the aqueous extract (PAW) unexpectedly contained compounds such as rosmarinic acid. All extracts demonstrated high DPPH radical scavenging activity (>79%). The tea infusion form (PAT) displayed the most potent antioxidant activity at higher concentrations.

AKTD and AKÇ exhibited the lowest toxicity and the highest oxidative stress protection in larval mortality tests. Biochemical analyses revealed that these forms increased total antioxidant status (TAS) while reducing total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI). Rare compounds such as catechin and taxifolin were identified, enhancing the nutraceutical potential of pineapple peel. Pineapple peel, particularly in powder infusion and tea forms, is a valuable resource for functional foods, nutraceuticals, and pharmacological applications due to its high bioactive content and antioxidant properties. The aqueous extract's low toxicity suggests safe usage, while ethanol and methanol extracts are suitable for pharmacological research. Future studies should focus on optimizing extraction techniques, bioavailability assessments, and preclinical trials.

Key Words: Pineapple peel, phenolic compounds, antioxidant activity, *Drosophila melanogaster*, LC-MS/MS, oxidative stress.

1. GİRİŞ

Beslenme; sağlığı korumak, geliştirmek ve yaşam kalitesini yükseltmek için vücudun gereksinimi olan besin maddelerinin yeterli miktarlarda ve doğru zamanlarda alınması gereken bilinçli bir davranıştır [1]. Yeterli ve dengeli beslenme ise; bireylerin doğdukları andan itibaren büyümelerini, gelişmelerini, yaşayabilecekleri hastalıklardan korunmalarını ve sağlıklı bir yaşam sürmelerini sağlayan besin maddelerinin tüketilmesidir. Her bireyin yeterli ve dengeli beslenmesi için tüketmesi gereken besin maddeleri ve miktarları farklıdır. Yaş, cinsiyet, boy, kilo, hastalık durumu, fiziksel aktivite durumu, genetik vb. faktörler bu miktarları etkiler. Bireylerin beslenme düzenleri kendilerine özgü ve yeterli miktarda olmalıdır [2]. Uzun ve kaliteli bir hayat sürmek isteyen kişiler doğal ve sağlıklı beslenmeye yönelmişlerdir. Sağlıklı beslenmede, günümüz endüstrisinden elde edilen işlenmiş yapay besinler yerine işlenmemiş ya da en az işlem görmüş besinler tercih edilmektedir. İnsanoğlunun uzun bir yaşam sürebilmesi ve hayat kalitesini artırabilmesinin yolu sağlıklı beslenmekten geçmektedir [3].

19. yüzyıldan itibaren dünyada büyük bir hızla gelişen sanayileşme süreci bireyleri daha çok tüketime yönlendirmiş, bununla beraber üretilen atık miktarı da çok hızlı bir biçimde artmıştır. Özellikle kentsel atıkların bireylerin yerleşim alanlarından nasıl uzaklaştırılması gerektiği dünya için bir sorun haline gelmiştir [4]. Dünyanın bulunduğu sıkıntılı süreçler ve gelecekte gıda konusunda daha da kötü olabilecek tabloların öngörüldüğü bu dönemlerde bu ve benzeri atık ürünlerin kullanılabilecek gıda ürünlerine dönüştürülebilmesi oldukça önemlidir [5]. Son dönemlerde besinsel atık ürün olarak özellikle; portakal kabuğu, soğan kabuğu, kiraz sapı, ceviz kabuğu, kavun-karpuz kabuğu, limon kabuğu ve ananas kabuğu kullanılmaktadır. Bu tür atık ürünlerin bir an önce geri dönüşümü ya da gıda olarak tekrar kullanıma sunulması oldukça önemlidir.

Ananas kabuğu, günlük tüketimimizde kullanılmayan oldukça büyük tonajlara ulaşan popüler besinsel atıklardan birisi haline gelmiştir [6]. Kaldı ki yapılan çalışmalar ile ananas kabuklarının da sağlık açısından birçok faydasının olduğu belirlenmiştir. Hatta kabuğun faydalarının meyvenin kendisinin kullanımlarından neredeyse daha fazla olduğu vurgulanmaktadır [7]. Yapılan birçok çalışma ile ananas kabuğunun lif içeriğinin oldukça yüksek olduğu ve gıdalara eklenerek tüketildiğinde faydalı sonuçlar alınabileceği ortaya koyulmuştur [8]. Ayrıca ananas kabuğunun içerisinde bulunan antioksidanlar, vücuttaki serbest radikallerle etkili bir şekilde mücadele ederek genel sağlık üzerinde önemli ve

olumlu etkilere sahip olabileceği de tespit edilmiştir. Bu tür gıdalardan faydalanmak, günümüz sağlıklı yaşam anlayışında son derece kritik bir yer tutmaktadır [9].

Ananas kabuğu diyet sürecinde ödem atıcı, yağ yakıcı vb. birçok farklı amaçla tercih edilmektedir. Bireylerin özellikle kilo verme süreçlerinde de destek olarak kullanıldığında ciddi oranda bu sürece yardımcı olduğu görülmektedir. Birçok farklı formda kullanımı olan ananas kabuğunun; hangi formunun ödem atmaya, kilo vermeye, yağ yakmaya diğer türlerinden farklı olarak yardımcı olacağı konusunda net bir bilgi bulunmamaktadır. Ayrıca hangi formun antioksidan içeriği daha fazla veya canlılar üzerindeki iyileştirici özelliği daha etkin bilinmemektedir. Özellikle bu tercihlerde kullanılan formlar ile ilgili bilimsel olarak bir dayanak da yoktur. Biz bu çalışmamız ile ananas kabuğundan hazırlanan hangi formun antioksidan mekanizmalar açısından daha etkin olduğunu belirlemeyi amaçladık. Aynı zamanda bu çalışma ile sağlıklı ve uzun yaşamın sırrı olarak gösterilen doğal beslenmenin önemine değinmek ve ülkemizde üretimi az olsa da tüketimi giderek artan ananas meyvesinden arda kalan atık bir ürün olan ananas kabuğunun besin ögesi olarak değerlendirilmesini teşvik etmek amaçlanmıştır.

Bu doğrultuda çalışmamız; ananas kabuğu ile farklı ekstraktların (su, metanol, etanol, demleme toz ve demleme kabuk) hazırlanması, bu ekstraktların fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite üzerine etkisinin belirlenmesi ve *in vivo* uygulamalar gibi çalışmaları kapsamaktadır. Bu kapsamda ekstraktların total fenolik madde miktarı, total flavonoid madde miktarı ve antioksidan aktivite tayini için DPPH serbest radikal giderme aktivitesi testleri, içerik analizi için Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS) analizleri yapılmıştır. Çalışmamızın ikinci kısmında ise tüm bu analizlerden elde edilen sonuçlar doğrultusunda uygun konsantrasyonlar belirlenmiş ve model organizmalardan birisi olan *Drosophila melanogaster*'de *in vivo* antioksidan etkinlik, çeşitli parametrelerde (TAS, TOS ve OSI) değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Antioksidanlar ve Etki Mekanizmaları

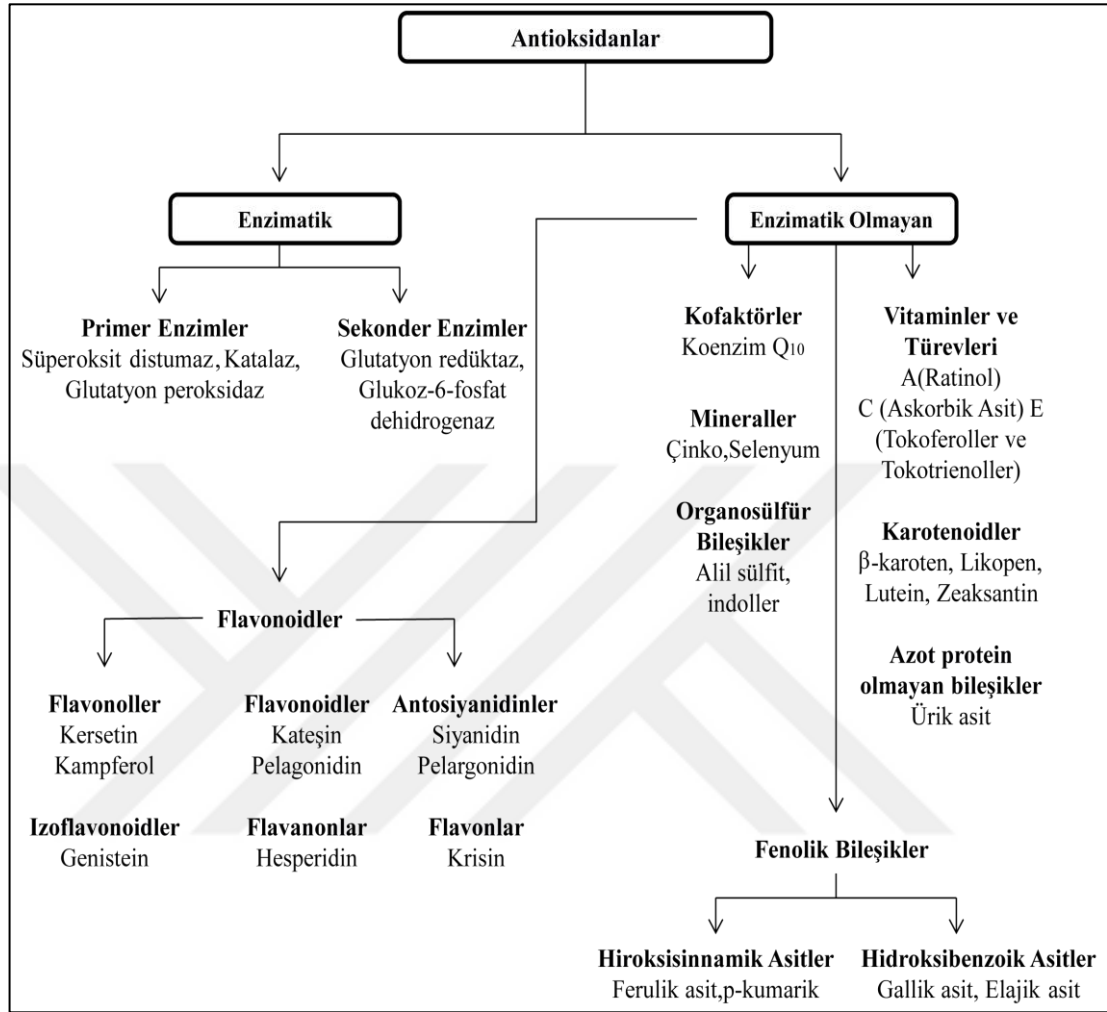
Antioksidanlar, vücudun serbest radikallerle savaşmasına yardımcı olan maddelerdir. Serbest radikaller, oksidatif stresin bir sonucu olarak ortaya çıkar ve hücrelere zarar verebilirler. Bu serbest radikaller antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilerek hücre hasarı önlenmiş olur. Antioksidanlar genellikle vitamin, mineral ve diğer organik bileşikler şeklinde bulunur ve dengeli bir diyetle alınmaları önemlidir [10]. Antioksidan aktivitesi ise, bir maddenin serbest radikallere karşı ne kadar etkili olduğunu ölçer. Bu aktivite genellikle antioksidan içeren gıdaların kalitesini belirlemede kullanılır ve antioksidan seviyelerinin tespitinde önemli bir rol oynar [11].

Antioksidan kaynakları genellikle meyve, sebze, kuruyemiş ve bitki tohumlarıdır. C vitamini, E vitamini, beta-karoten, selenyum gibi antioksidanlar, besinlerle alınan önemli kaynaklardır. Ayrıca yeşil çay ve bazı baharatlar da antioksidan bakımından zengindir. Antioksidan çeşitleri arasında suda çözünen antioksidanlar ve yağda çözünen antioksidanlar gibi gruplar bulunur. Suda çözünen antioksidanlar genellikle C vitamini, karotenoidler ve polifenoller iken yağda çözünen antioksidanlar ise E vitamini, likopen ve omega-3 yağ asitleri gibi bileşikler içerir [12].

Antioksidanları, enzimatik ve enzimatik olmayan (endojen ya da eksojen) olmak üzere iki büyük gruba ayırmak mümkündür (Şekil 2.1). Hem endojen hem de eksojen antioksidanlar savunma sisteminin koruyucu etkisini artırıp hastalık riskini büyük oranda azaltırlar. Enzimatik olan antioksidanların birçoğu düşük molekül ağırlıklı olanlar ve enzimatik kofaktörler gibi enzimleri içerirler. Yaygın enzimatik olmayan antioksidanlar ise, birçok farklı besin kaynağından elde edilebilmektedir. Bunların arasında besinlerde en yaygın bulunanı polifenol bileşenlerdir. Besinlerden alınan diğer antioksidanlara örnek olarak; vitaminler, karotenoidler, organosülfür bileşenleri ve mineraller verilebilir (Şekil 2.1) [13].

Endojen antioksidanların bazı durumlarda yetersiz kalması sonucu; vücut organizmasının eksojen antioksidanlarla desteklenmesi oksidatif stres oluşumunu önleyebilmektedir. Eksojen antioksidanların büyük çoğunluğu gıdalarla ve son yıllarda bazı preparatlarla alınabilen ve genellikle antioksidan sistemi doğrudan ya da dolaylı olarak destekleyen moleküllerdir. Bu süreçteki bileşenlerin ve gıda takviyelerinin

içeriğindeki antioksidan miktarı ve aktivitesi açısından değerlendirilmesi çok önemlidir [14].



Şekil 2.1. Antioksidanların sınıflandırılması [13]

Doğal antioksidanların içerisinde ise α -tokoferoller (E vitamini), askorbik asit (C vitamini), karotenoidler ve fenolik maddeler yer almaktadır. Bitkilerden elde edilen en önemli doğal antioksidanların başında fenolik maddeler gelmektedir. Fenolik bileşikler, yapılarındaki OH grubu sayesinde, peroksi radikali ($RO_2^{\cdot}$) gibi reaktif radikalleri nötralize eder ve sistemin antioksidan etkisine katkı sağlarlar [15]. Yapay antioksidanların arasında ise bütillenmiş hidroksianizol (BHA), bütillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve propil gallat (PG) örnek verilebilir. Antioksidanlar serbest radikalleri bulunduğu ortamdan uzaklaştırma görevini vücutta yerine getirirler. Özellikle son yıllarda insan beslenmesinde yapılan çalışmalarda da kullanılmaktadır. Besinlerin uzun süre bozulmadan saklanabilmesi için doğal ve yapay antioksidanlar kullanılmaktadır.

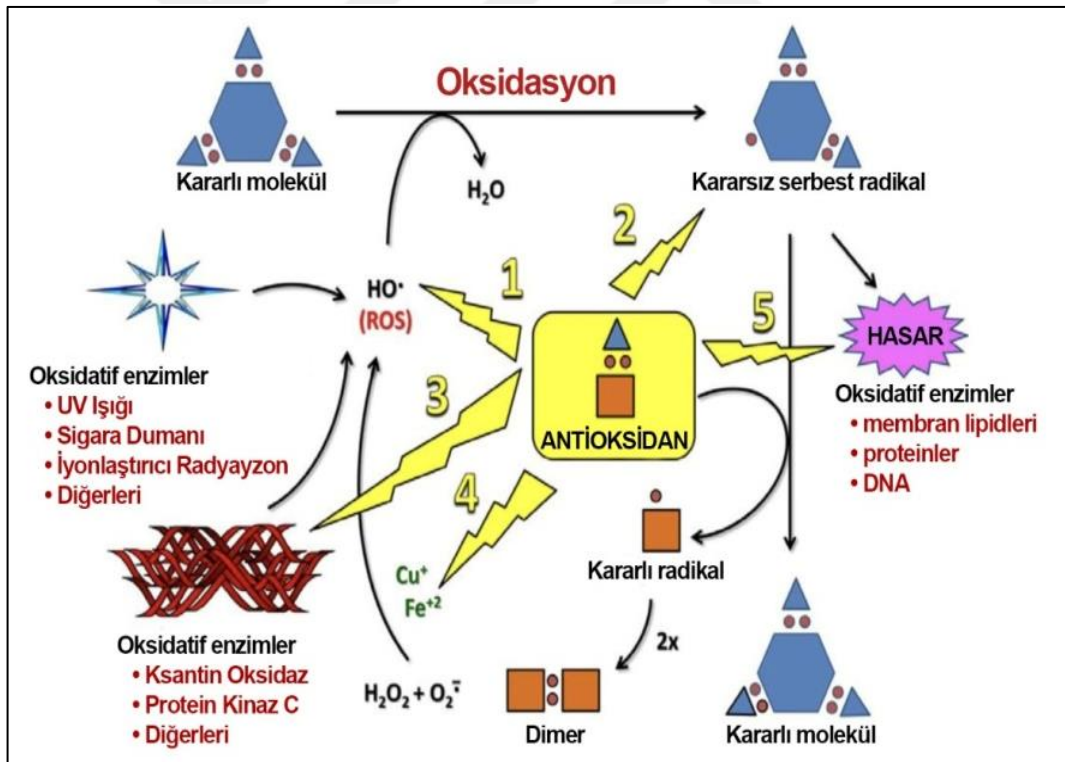
Besinlere ilave edilen antioksidan özellikli bileşikler sentetik olabileceği gibi genellikle bitkilerden elde edilen doğal antioksidan bileşikler de olabilir. Bu bileşiklerin hem besin koruma özellikleri hem de metabolizmaya girdikten sonra antioksidan olarak davranıp hücreyi oksitleyici maddelere karşı koruma özellikleri olduğu görülmüştür [15].

Oksidasyon; enzimatik, kimyasal ve/veya fiziksel faktörler tarafından teşvik edilen ve belirli bir maddeden elektron kaybına neden olan bir tür reaksiyondur. Sonuç olarak, bu reaksiyon, zincir reaksiyonlarını başlatan ve lipidler, proteinler ve nükleik asitler gibi biyokimyasal olarak önemli moleküllerin oksidatif bozunmasını hızlandıran serbest radikaller üretebilir. Tüm bunlar sonucunda oksidatif hasar denilen olaylar ortaya çıkar. Oksidatif hasar, serbest oksijen radikalleri de denilen reaktif oksijen türevleri (ROT)'nin biyomoleküllere verdiği hasarı tanımlamak için kullanılan bir terim olup, özellikle kanser gibi kardiyovasküler, oküler ve nörodejeneratif birçok insan hastalığında rol oynar. Birçok ROT ($\text{OH}\cdot$, IO_2 , HOCl , ONOOH ve belirli peroksil radikalleri) mutajenik baz oksidasyon ürünleri üreterek DNA'ya, RNA'ya, proteinlere, karbonhidratlara ve lipitlere saldırabilir [16].

"Antioksidan aktivite" terimi modern toplumda çok popüler hale gelmiştir. Gıdalar ve tıbbi faydaları ile ilişkilendirildiklerinde kitle iletişim araçları aracılığıyla çok fazla tanıtım kazanmaktadır. Antioksidan maddenin geleneksel ve genel tanımı "oksidasyona karşı çıkan veya oksijen veya peroksitler tarafından teşvik edilen reaksiyonları engelleyen, çeşitli ürünlerde koruyucu olarak kullanılmasını mümkün kılan herhangi bir bileşik veya malzeme" olarak yapılabilir [17]. Daha teknik bir ifadeyle, antioksidan aktivite şu anda bir molekülün veya bileşimin serbest radikal oluşumunu azaltma ve ROT'u temizleme, diğer moleküllerin ve biyomoleküllerin oksidasyonu ve bozunmasından kaynaklanan yaralanmaları önleme ve/veya onarma yeteneği olarak anlaşılmaktadır [18, 19]. Bazı yazarlar "antioksidan kapasite" ve "antioksidan aktivite" arasında bir ayrım yaparak, ilkinin bir test çözeltisi tarafından verilen serbest radikal temizleyicilerin mollerini ölçtüğünü, ikincisinin ise serbest radikaller üzerindeki antioksidan etkinin bir hız sabitini ifade ettiğini belirtmektedir. Buna ek olarak, "antioksidan güç" ve "antioksidan yetenek" gibi diğer terimler de kullanılır ve bunlar antioksidan etkiyi dikkate alır [20].

Antioksidanlar mevcut olduğunda, ROT gibi ürünleri oluşturan zincirleme reaksiyonları kesintiye uğratar ve oksitlenmiş bileşiklerin neden olduğu biyokimyasal hasarları veya oksidatif hasarları Şekil 2.2'de gösterilen 5 genel mekanizma aracılığıyla önler veya onarır [21]. Bu mekanizmalar kısaca; 1. mekanizma radikal süpürücü bir

mekanizma aracılığıyla ROT'un doğrudan söndürülmesi yoluyla bu zincirleme reaksiyonların kesintiye uğratılması ve böylece daha ileri oksidasyon reaksiyonlarının engellenmesinden oluşur (1. yol). 2. mekanizma (2. yol), oluşan kararsız serbest radikale bir H- türü bağışlayarak kararlı molekülün geri kazanılmasıyla ilgilidir, böylece bunun yerine pratik olarak reaktif olmayan ve zaten başlamış olan zincirleme reaksiyonun daha fazla yayılmasına katkıda bulunmayan daha kararlı bir radikal türü üretilir. Antioksidan etki için bir başka yol (3. yol), ksantin oksidaz, protein kinaz C ve benzeri gibi oksidatif enzimlerin inhibisyonunu ifade eder ve bu da ROT üretiminin azalmasına neden olur. Dördüncü olası mekanizma (4. yol), $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 'nin oldukça agresif $HO^{\bullet}$ radikaline dönüştürülmesinde rol oynayan Fe^{+2} ve Cu^+ gibi geçiş metallerinin şelatlanması dayanır ve metal kaynaklı serbest radikal oluşumunu önler. Son olarak, sonuncusu (yol 5) membran lipitleri, proteinler ve DNA gibi önemli hücre bileşenlerinde halihazırda meydana gelmiş olan hasarın onarılmasından oluşur [21].



Şekil 2.2. Antioksidanların çalışma mekanizmaları [21]

- (1) Radikal temizleme mekanizmasıyla ROT'un doğrudan giderilmesi
- (2) H• türlerinin eklenmesi
- (3) Oksidatif enzimlerin inhibisyonu
- (4) $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 'yi $HO^{\bullet}$ 'ya dönüştüren geçiş metallerinin şelatlanması
- (5) Hasarlı hücre bileşenlerinin onarımı.

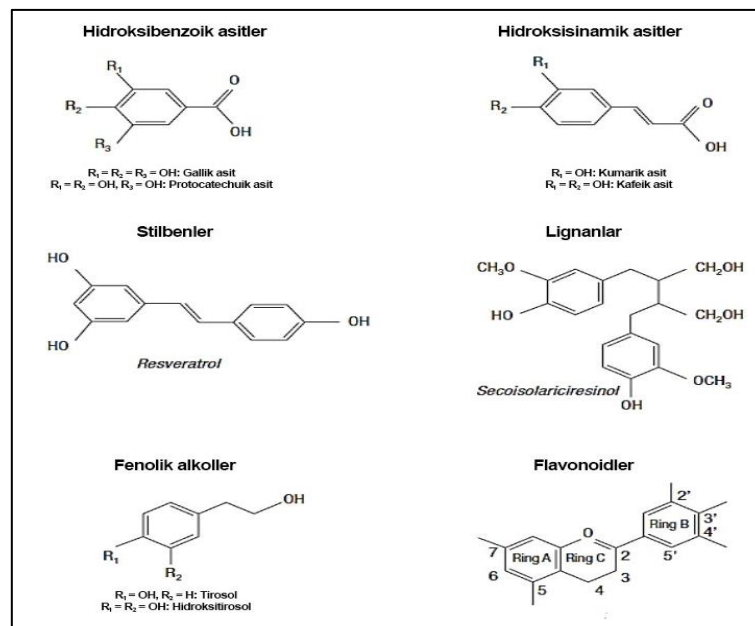
Tüm bunlara ek olarak, belirli bir antioksidan, α -tokoferol gibi diğer güçlü antioksidanların rejenerasyonu yoluyla antioksidan savunmayı düzenleyerek veya koruyarak sinerjik olarak da hareket edebilir. Yukarıda bahsedilen antioksidan etki mekanizmalarının her biri, antioksidan maddenin yapısına ve doğasına bağlı olarak tek başına veya birbiriyle ilişkili olarak ortaya çıkabilir [22 ve 23].

2.2. Fenolik Bileşikler ve Çeşitleri

Bir ya da daha fazla hidroksil grubunun bağlandığı bir benzen halkası bulunduran bileşikler topluluğuna fenolik bileşikler ya da polifenoller denmektedir. Bu halkada en az bir aromatik halkaya ve çok sayıda hidroksil süstitüentine sahip olan tüm bileşiklere fenolik bileşikler denir [24].

Fenolik bileşikler, suda çözünen antioksidanların en önemli grubunu oluşturdıkları için; özellikle yüksek oranda meyve ve sebzelerde bulunur. İnsan sağlığı üzerine de birçok olumlu etkiye sahiptirler. Son yıllarda özellikle bitkilerde bulunan fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesini ortaya çıkaran çok sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda bu bitkilere olan talep fazlasıyla artmıştır. Bu bileşenler, büyüme ve üremede patojenlere, olumsuz iç ve dış koşullara karşı koruyuculuk sağlarlar [25].

Polifenoller, içerdikleri fenol halkalarının sayısına ve bu halkaları birbirine bağlayan yapısal unsurlara göre çeşitli sınıflara ayrılır. Polifenollerin ana grupları şunlardır: Fenolik asitler, flavonoidler, fenolik alkoller, stilbenler ve lignanlar (Şekil 2.3) [26].



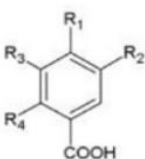
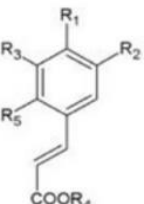
Şekil 2.3. Polifenollerin kimyasal yapısı [26]

Fenolik asitler genellikle canlı bitki dokularında serbest halde bulunmayan, sadece bitkiler işlendiği esnada hidrolize olan maddelerdir. Karboksil grupları; karbonhidratlar, glikozitler, amino asitler veya proteinlerle reaksiyona girebilirler. Alkollerle fenol esterleri, amino bileşiklerle amidleri oluşturabilirler. Fenol halkasına bağlı fenolik asitlerin hidroksil grupları da çok aktiftir ve glikozitler oluşturmak için şekerlerle birleşirler. Meyvelerdeki fenolik asit miktarları da olgunluk durumuna bağlı olarak değişmektedir [27]. Flavonoidler ise, fenolik bileşiklerin geniş bir grubunu oluşturur ve bu grupta flavanoller, antosiyaninler, kumarinler, tanninler ve lignin gibi önemli maddeler yer alır [28].

2.2.1. Fenolik asitler

Fenolik asitler, bitkilerde bulunan en önemli fenolik sınıftır. Fenolik asitlerin kimyasal yapısı, en az bir hidrojenin bir hidroksil grubu ile yer değiştirdiği en az bir aromatik halka içerir. Hidroksibenzoik asit (şiringik asit, vanilik asit, gentisik asit, vb.) ve hidroksisinamik asit (kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, vb.) olmak üzere iki alt gruptan oluşurlar (Şekil 2.4). Sentezleri için öncül bileşen I-fenilalanin veya I-tirozindir, bu da şikimat yolu ile yapılır [29].

Hidroksisinamik asitlerde hidroksil grubuna sahip fenilpropan halkası bulunur. Bu grup kendi içerisinde hidroksil grubunun sayısına ve konumuna göre alt gruplara ayrılır. Hidroksisinamik asitlerin, antimikrobiyal, anti kanserojen, antidiyabetik ve antimikrobiyal etkisinin daha fazla olduğu kanıtlanmıştır. Bitkilerde daha az bulunan hidroksibenzoik asitler fenilmetan yapısındadır. Bu grup, hidroksisinamik asitlerin oksidasyonu ile oluşur [25].

									
Hidroksibenzoik asitler					Hidroksisinamik asitler				
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄		R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
p-Hidroksibenzoik asit	-OH	-H	-H	-H	p-Kumarik asit	-H	-H	-H	-OH
Vanilik asit	-OH	-H	-OCH ₃	-H	Kafeik asit	-OH	-OH	-H	-OH
Gallik asit	-OH	-OH	-OH	-H	Sinapik asit	-OH	-OCH ₃	-H	-OH
Siringik asit	-OH	-OCH ₃	-OCH ₃	-H	Ferulik asit	-OH	-OCH ₃	-H	-OH

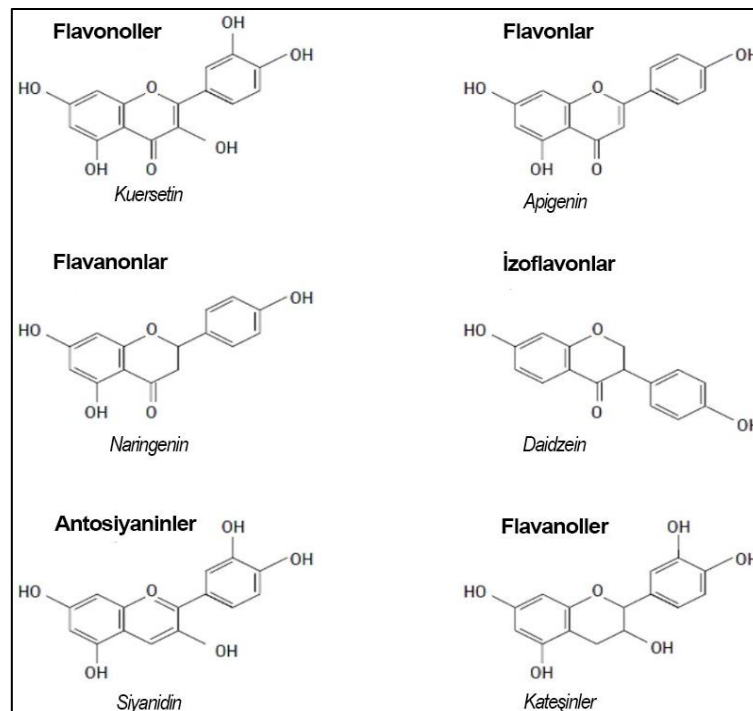
Şekil 2.4. Hidroksibenzoik asit ve hidroksisinamik asitin kimyasal yapısı [30]

2.2.2. Flavonoidler

Polifenol maddelerin en bilinen ve bitkilerde en yaygın bulunan sınıfı flavonoidlerdir. Flavonoidler; meyve, sebze ve çayların kendi içeriğinde bulunan polifenolik antioksidanlardır. Doğada çok yaygın olarak bulunur ve farklı formları vardır. Flavonoidler karbon halkasının yapısının oksidasyon seviyesine bağlı olarak birçok farklı sınıfa ayrılmaktadır. Fakat temel flavonoidler içerdikleri karbon halkasındaki değişimlere göre altı ana grupta incelenmektedir (Şekil 2.5) [26, 31].

Bunlar;

- **Antosiyaninler:** Farklı türde birçok bitkiye değişik tonlarda (pembeden mora) renk veren maddelerdir. Bitkilerde tozlaşma, üreme, savunma, antioksidan etki ve UV ışınlarından korunma gibi birçok görevde rol oynarlar.
- **Flavanoller:** Antienflamatuar ve antioksidan etkisine sahiptir.
- **İzoflavon:** Fitoöstrojenik olarak bilinirler.
- **Flavanoller (Kateşinler):** Gıdalarda en yaygın olarak bulunan gruptur. Renksizdirler. Aynı zamanda flavonoid oluşumunda ara ürün olarak görev alırlar.
- **Flavanonlar:** Turunçgil meyvelerinde çok yaygın olarak bulunur.
- **Flavonlar:** Tüm bitkilerde bulunan sarı renge sahip bileşiklerdir. Sakinleştirici, kas gevşetici ve anksiyolitik etkiye sahiptir [32].



Şekil 2.5. Flavonoid gruplarının kimyasal yapıları [26]

Güncel araştırmalar, bitkisel organizmalarda 10.000'den fazla flavonoid bileşiği tanımlandığını ortaya koymaktadır. Renkli flavonoidler birçok meyve ve sebzenin renginin oluşumundan sorumludur. Bununla birlikte, çeşitli renksiz flavonoidler de doğada bulunmaktadır. Flavonoidlerin bir alt grubu olan antosiyaninler, bitkilerin yapraklarına, çiçeklerine ve meyvelerine karakteristik mavi, kırmızı, mor ve menekşe rengini veren pigmentlerdir. Aynı zamanda bu bileşikler önemli antioksidanlar içermektedir.

Flavonoidler; serbest radikal süpürücü özellikleri, enzim aktivitelerini düzenleyici etkileri, antibiyotik, antialerjik, antidiyaretik, antiülserojenik ve antiinflamatuvar etkileri nedeniyle araştırmacıların sürekli ilgisini çekmektedir [31]. Fenolik bileşiklerin antioksidan özellik göstermeleri, bu bileşikler içeren doğal ürünlerin çeşitli formülasyonlarda kullanılmasını ve fonksiyonel gıda geliştirme çalışmalarında yaygın olarak değerlendirilmesini sağlamıştır. Yapılan çalışmalar, bu bileşiklerin kandaki kolesterol düzeyini düşürdüğünü, osteoporotik ve antikanserojenik etki gösterdiğini ve güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, bu maddelerin istenmeyen bakteriyel enfeksiyonları inhibe edebileceği yönünde bulgular da mevcuttur [33].

2.3. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemleri

Antioksidan aktivitenin ölçümünde kullanılan yöntemler ve analitik araçlar son birkaç on yılda önemli ilerlemeler kaydetmiştir [34]. İlk dönem yöntemler, antioksidanların spesifik oksidasyon ürünlerinin oluşumunu engelleme yeteneklerini ölçmeye dayanmakta ve temel olarak lipit oksidasyonunun inhibisyonu prensibiyle çalışmaktadır.

Günümüzde ise antioksidan aktiviteyi değerlendirmek için son derece hassas ve otomatize tespit sistemleriyle entegre edilmiş çeşitli kimyasal testler kullanılmaktadır. Bu testler arasında; farklı serbest radikallere veya reaktif oksijen türlerine (ROS) karşı temizleme aktivitesi, indirgeme kapasitesi ölçümleri, metal şelasyon aktivitesi tayinleri sayılabilir. Oksidasyon substratlarının kapsamı, gıda model sistemlerinden kimyasal bileşiklere, biyolojik materyallere, hücre kültürlerine ve hatta canlı dokulara kadar genişletilmiştir [35]. Ayrıca, hidrojen atomu transferinin veya elektronların antioksidanlardan serbest radikallere aktarımının doğrudan ölçümüne yönelik çok sayıda test geliştirilmiştir [36].

Antioksidan kapasitenin değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler ve bu yöntemlerin karşılaştırmalı özellikleri Tablo 2.1'de özetlenmiştir [34].

Tablo 2.1. Antioksidan aktiviteyi ölçmek için kullanılan farklı teknikler [34]

Teknikler	Antioksidan Kapasite Testi	Yöntemin Prensibi	Son Ürün Belirleme Yöntemi
Spektrometri	ORAC	2,2'-azobis-2-amidinopropan (AAPH) kullanılarak peroksil radikali üretimi	Floresen floresansının kaybı
	HORAC	Co(II) bazlı Fenton benzeri sistem tarafından üretilen hidroksil radikal	Floresen floresansının kaybı
	TRAP	AAPH ayrışmasından türeyen luminol kaynaklı radikallerin süpürülmesi	Kemilüminesans sönümlenmesi
	CUPRAC	Antioksidanlar tarafından Cu (II)'nin Cu (I)'e indirgenmesi	Kolorimetri
	FRAP	Fe(III) kompleksi ile antioksidan reaksiyonu	Kolorimetri
	PFRAP	Antioksidanlar tarafından potasyum ferrisiyanür indirgenmesi	Kolorimetri
	ABTS	Organik katyon radikali ile antioksidan reaksiyonu	Kolorimetri
	DPPH	Organik radikal ile antioksidan reaksiyonu	Kolorimetri
Florometrik Analiz	-	Bir bileşiğin, farklı dalga boyunda elektromanyetik ışınlam ile uyarılması	Floresan uyarım/emisyon spektrumunun kaydedilmesi
Elektrokimyasal Teknikler	Voltametri	Uygun potansiyel uygulanarak çalışma elektrotu yüzeyinde redoks reaksiyonunun oluşması	Katodik/anodik pik akımının ölçülmesi
	Amperometri	Çalışma elektrodunun potansiyeli referans elektroda göre sabitlenerek akım ölçülmesi	Elektrokimyasal analitin yükseltgenme/indirgenme akımının ölçülmesi
	Bi-Amperometri	Antioksidan analitin, geri dönüşümlü redoks çiftini indirgemesi	İki özdeş elektrot arasında akan akımın ölçülmesi
Kromatografi	Gaz kromatografisi	Bileşiklerin ayrılması, sıvı sabit faz ve gaz hareketli faz ile	Alev iyonizasyonu veya termal iletkenlik ile tespit
	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)	Farklı polaritelere sahip sabit faz ve sıvı hareketli faz ile ayırım	UV-Görünür (ör. diyot dizisi dedektörü), florometrik tespit

Toplam antioksidan kapasiteyi ölçmeye yönelik analitik yöntemler, temel reaksiyon mekanizmalarına göre; Hidrojen Atom Transferi Temelli Yöntemler (HAT) ve Elektron Transferi Temelli Yöntemler (ET) olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir. Bu yöntemlerin kinetik özellikleri ve reaksiyon aşamaları farklılık gösterse de, nihai olarak antioksidan kapasitenin belirlenmesi amacına hizmet ederler. HAT temelli yöntemler genellikle azo bileşiklerinin bozunmasıyla oluşan peroksil radikalleri ile antioksidanlar arasındaki rekabetçi kinetik reaksiyonlara dayanır. ET temelli yöntemler ise antioksidanların renk değişimine yol açan oksidanları indirgeme yeteneğini ölçer, burada gözlenen renk değişiminin şiddeti numunedeki antioksidan konsantrasyonu ile doğrudan ilişkilidir [37].

- HAT Temelli Analiz Yöntemleri:

- a) İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu
- b) Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC)
- c) Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP)
- d) Crocin bleaching deneyleri

- ET Temelli Analiz Yöntemleri:

- a) Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi
- b) Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü
- c) Ferrik iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü
- d) Cu(II) kompleksi kullanılan toplam antioksidan potansiyel ölçüm yöntemi
- e) DPPH temelli toplam antioksidan potansiyel ölçüm yöntemi
- f) Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) yöntemi

Antioksidan testinin önemli seçim parametrelerinden biri çalışma pH'ıdır. Asidik (FRAP), nötr (CUPRAC) veya alkali (Folin–Ciocalteu) koşullarda çalışan testler vardır. Ayrıca antioksidan testinin hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara uygulanabilirliği önemli bir faktördür. ABTS ve CUPRAC testleri hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanları ölçebilirken, bazı yöntemler yalnızca hidrofilik antioksidanları (FRAP ve Folin-Ciocalteu) ölçer ve diğerleri yalnızca hidrofobik sistemlere (DPPH) uygulanır [34, 37-39].

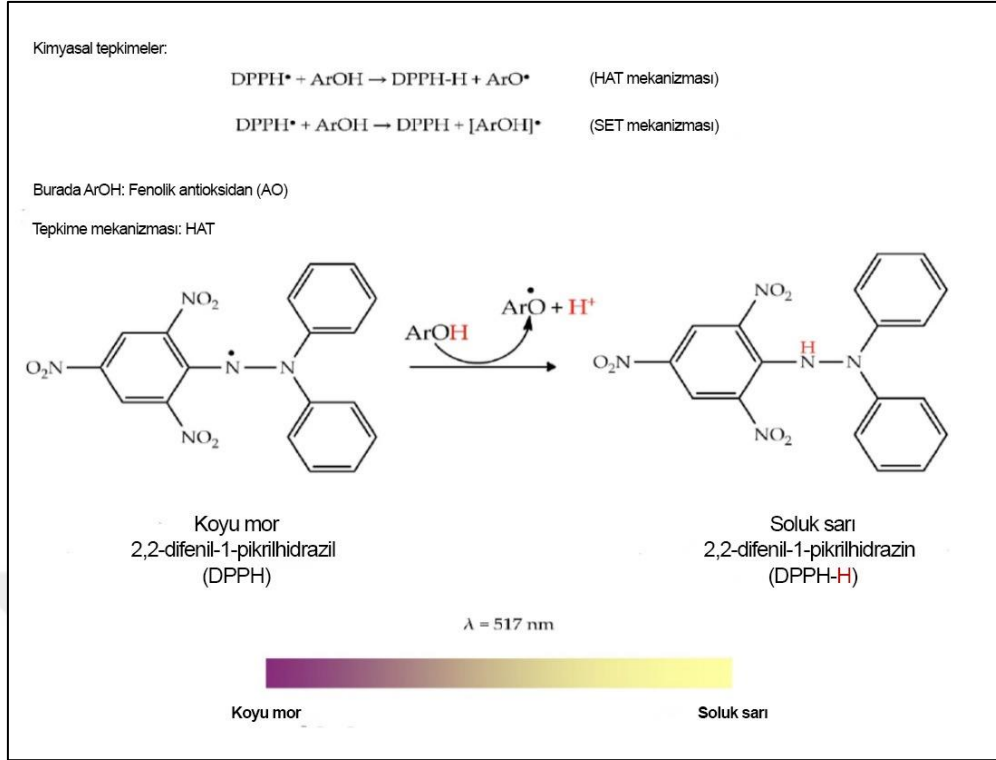
Bu çalışmada kullanılan antioksidan aktivite tayin yöntemlerinin prensipleri aşağıda açıklanmıştır.

2.3.1. DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil Radikal Süpürme Kapasitesi) Yöntemi

Renk, atom veya moleküllerdeki elektronik geçişlerin bir sonucudur ve kimyasal maddelerin atomik düzeydeki fiziksel özelliklerinin bir göstergesi olarak kabul edilir. Elektronik geçişlerde meydana gelen bir değişiklik, moleküller tarafından emilen ışığın değişmesine ve buna bağlı olarak gözlemlenen renkte farklılıklara neden olur. Antioksidan belirleme analizlerinde oluşan renkli kompleksler, genellikle yük transferi kompleksleri ya da elektron donör-alıcı kompleksleri olarak adlandırılır. Yük transferi kompleksi, iki veya daha fazla molekülün ya da bir molekülün farklı bölümleri arasında, moleküler düzeyde (örneğin radikal ve antioksidan arasında) elektron yükünün kısmen transfer edilmesiyle oluşan bir etkileşimdir. Bu elektron transferi, radikal ve antioksidan arasında elektrostatik bir çekim kuvveti (J) oluşturarak yük transferi kompleksinin kararlılığını sağlar. Örneğin, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) testinde, DPPH radikali içindeki eşleşmemiş elektron, 517 nm dalga boyunda yoğun koyu mor bir renk oluşturan belirgin bir yük transfer bandı sergiler. Ancak bu radikal başka bir elektronla eşleştiğinde, renk soluk sarıya döner. Bu durum, antioksidan analizlerinde neden bir renk değişimi gözlemlendiğini açıklamaya yardımcı olur [40].

DPPH radikali ilk olarak 1920'li yıllarda Goldschmidt ve Renn tarafından keşfedilmiştir. Bu radikalin antioksidanların belirlenmesinde kullanılabileceği fikri ise ilk kez 1958 yılında Blois tarafından ortaya atılmıştır. Daha sonra Brand-Williams ve arkadaşları bu yöntemi geliştirerek günümüzde yaygın olarak kullanılan hâline getirmiştir [41]. DPPH radikali, aromatik halkalar üzerindeki radikalin delokalizasyonu sayesinde dikkate değer bir kararlılığa sahiptir ve karakteristik olarak koyu mor renkte görünür.

Yöntemin temeli; DPPH içeren bir çözelti ile hidrojen atomu verme özelliği olan bir molekülün (antioksidan) çözeltisinin karıştırılmasıyla, DPPH radikalinin indirgenmesine ve mor rengin zamanla kaybolmasına dayanır. Test sırasında radikal, bir antioksidan molekülden (veya başka bir indirgeme ajanından) bir hidrojen atomu ya da bir elektron alarak nötrale edilir ve sonuçta indirgenmiş forma (DPPH-H) dönüşür (Şekil 2.6). DPPH radikalinin eşleşmemiş elektronu 517 nm dalga boyunda güçlü şekilde ışığı absorbe ederek mor rengi oluşturur. Elektron eşleşmesi gerçekleştiğinde ise bu mor renk kademeli olarak soluk sarıya dönüşür [42].



Şekil 2.6. DPPH reaksiyon mekanizması [40]

Antioksidan aktivite, başlangıçtaki DPPH derişiminin %50 oranında azalmasını sağlayan antioksidan miktarını ifade eden IC_{50} (yarı maksimum inhibisyon konsantrasyonu) değeri ile değerlendirilir [43]. Metanol veya etanolde hazırlanan DPPH çözeltisine antioksidan ilave edildiğinde, absorbansta bir azalma gözlemlenir ve radikalın rengi, antioksidanların varlığıyla birlikte kırmızıdan sarıya doğru değışir. Bu yöntem, antioksidanların radikal süpürme kapasitelerini değerlendirmede basit, güvenilir ve yaygın olarak kabul gören bir yöntemdir [44].

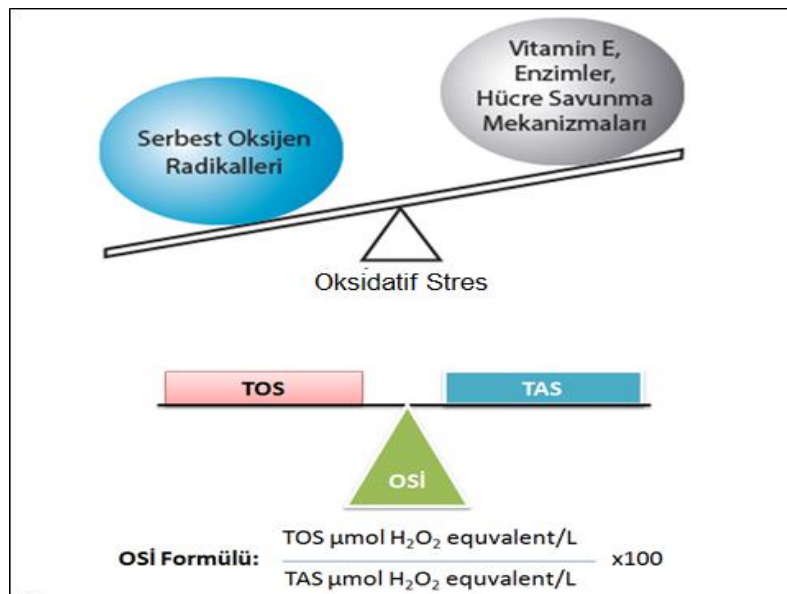
2.3.2. Total Antioksidan- Oksidan Seviyesi (TAS-TOS) Ölçüm Yöntemi

Serbest radikallerin birikimi, oksidatif stresin oluşmasına neden olur. Bu durum, organizmanın sağlıklı işleyişini sürdürebilmesi için antioksidan sistemlerin devreye girmesini gerektirir. Sağlıklı bireylerde, reaktif oksijen türleri (ROS) ile antioksidan enzim aktiviteleri arasında sürekli bir denge mevcuttur. Ancak, antioksidan savunma sistemlerinin yetersiz çalışması durumunda bu denge oksidanlar lehine bozulur ve bu da çeşitli hastalıklara ve oksidatif hasara yol açabilir. Oksidan ve antioksidan moleküllerin seviyeleri çeşitli analitik yöntemlerle ölçülebilir [45].

Antioksidan/oksidan durumunun, antioksidan enzim aktivitelerinin ve bu moleküllerin konsantrasyonlarının ayrı ayrı ölçülmesi mümkündür. Ancak bu yöntemler genellikle zaman alıcı ve zahmetlidir. Daha pratik ve hızlı bir alternatif olarak toplam antioksidan kapasitesi (TAS) ve toplam oksidan seviyesi (TOS) ölçümleri kullanılmaktadır [46]. Erel [47], TAS ve TOS ölçümleri için basit, ekonomik ve güvenilir bir yöntem geliştirmiştir. Bu yöntem sayesinde oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplanabilmektedir [47, 48]. Toplam oksidan seviyesinin toplam antioksidan seviyesine oranı, OSİ'yi ifade eder (Şekil 2.2) [49].

Sadece TOS seviyesinin değerlendirilmesi, antioksidan moleküllerdeki artışın varlığı durumunda oksidatif hasarı tam olarak yansıtamayabilir. Bu nedenle TAS ve TOS değerlerinin birlikte değerlendirilmesi, antioksidan yanıtın etkisini göz ardı ederek daha doğru sonuçlar elde edilmesini sağlar. TAS, plazma ve diğer vücut sıvılarında bulunan tüm antioksidanların toplam etkisini temsil eder. Bu kapasite üzerinde en büyük etkiyi ise plazmadaki antioksidan bileşenler oluşturur [50].

Normal fizyolojik koşullarda organizmalar, gelişmiş bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Oksidatif stresin azaltılmasında kanın rolü oldukça kritiktir; çünkü kan, antioksidan moleküllerin vücut genelinde dağılımını sağlar [51]. Plazmada bulunan E vitamini, C vitamini, bilirubin, transferrin, serüloplazmin, ürik asit ve zincir kırıcı antioksidanlar bu sistemin önemli bileşenleridir. İnsan plazmasındaki TAS'ın yaklaşık %85'i albümin, ürik asit ve C vitamini tarafından sağlanmaktadır [52].



Şekil 2.7. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ve hesaplama formülü

Vücutta oksidan sistemlerin toplam etkisi, total oksidan seviyesi (TOS) ile ifade edilir. Endojen kaynaklı oksidan moleküllerinin oluşumunda rol oynayan başlıca enzimler arasında ksantin oksidaz, monoamin oksidaz ve glikolat oksidaz yer almaktadır [53]. Buna karşılık, eksojen oksidan kaynakları arasında stres, alkol tüketimi, sigara kullanımı, UV ışınları, radyasyon, egzoz gazları, yangınlar ve volkanik faaliyetler gibi çevresel etmenler bulunmaktadır [49].

Yetişkin bir bireyin dinlenme hâlindeyken ürettiği reaktif oksijen türleri (ROS) saatte yaklaşık 3,5 mL O₂/kg/dk düzeyindedir. Ancak egzersiz sırasında bu miktar yaklaşık 10 kat artış gösterir. Bu artış, fiziksel aktiviteyle birlikte oksijen tüketiminin yükselmesinden kaynaklanmaktadır [54].

Canlı türleri arasında oksidatif strese karşı geliştirilen savunma sistemleri farklılık gösterebilir. Örneğin, kurak iklim bitkileri strese karşı savunmalarını artırmak amacıyla saponin gibi bileşikler üretir. Bu bileşikler, bitkilerin çevresel koşullara karşı direncini artırırken, soğukkanlı hayvanlarda toksik etkilere yol açabilir [55].

Böcekler ise oksidatif strese karşı hem enzimatik hem de enzimatik olmayan çeşitli antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptir. Bu mekanizmalar arasında *Drosophila*'da bulunan katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), indirgenmiş glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon S-transferaz (GST), disülfid redüktaz, metionin sülfoksit redüktaz (MSR) ve tiyoredoksin peroksidaz (TRXP) gibi enzimler dikkat çekmektedir [56].

2.4. Ananas (*Ananas comosus* L.) Bitkisi

Ananas, Güney Amerika kökenli bir bitki olup zamanla Avrupa'ya taşınmıştır. 1660 yılında İngiltere'ye ulaştığı, 1720 yılından itibaren ise yaygın olarak seralarda yetiştirilmeye başlandığı bilinmektedir. Günümüzde dünya genelinde en fazla ananas üretimi yapılan ülkeler arasında Tayland, Filipinler ve Brezilya yer almaktadır [57].

Ananas comosus (Şekil 2.8), yaklaşık 1,2 metre boya ulaşabilen, otsu ve geniş yapılı bir bitki türüdür. Yaprakları sarmal biçimde dizilmiş olup, olgunlaşmış bireylerde 68 ila 82 arasında yaprak, rozet formunda yoğun şekilde yerleşmiştir. Bitki, genellikle 70–80 yaprağın oluşmasının ardından çiçeklenmeye başlamaktadır. Ananas meyvesi çekirdeksizdir, bileşik meyve formunda olup poligonal bir şekle sahiptir [58]. Bu bileşik meyve, çok sayıda çiçeğin birleşmesi (füzyonu) sonucu oluşur. Meyve temel olarak kaynaşmış yumurtalık, çanak yapraklar ve merkezi bir çekirdekten meydana gelmektedir.

Olgunlaşmış ananas ile olgunlaşmamış olanlar arasındaki en belirgin fark, çanak yapraklar ve yumurtalık dokularındaki değişikliklerdir. Çiçeğin gelişim sürecinde meyve ağırlığında yaklaşık 20 katlık bir artış gözlenmektedir. Olgun meyve sarı renkli, kabuklu ve karakteristik hoş bir aromaya sahiptir [59].

Bromeliaceae familyasına ait olan bu dikkat çekici bitki, yüksek oranda C vitamini, manganez ve bromelain içeriği sayesinde besleyici değeri yüksek bir gıda olarak öne çıkmaktadır. Tatlı ve lezzetli meyvesinin yanı sıra, yaprak ve meyve kısımları da zengin antioksidan içeriği ile insan sağlığı açısından değerli bir besin kaynağıdır [60].



Şekil 2.8. Ananas (*Ananas comosus*) bitkisi [61]

Ananas comosus meyvesi, karbonhidrat içeriği açısından oldukça zengindir. Başlıca karbonhidrat bileşeni sakkaroz olup, buna ek olarak glukoz ve fruktoz gibi basit şekerler de yüksek oranlarda bulunmaktadır. Ayrıca, meyvede sitrik asit ve malik asit gibi organik asitler önemli düzeyde yer almaktadır. Olgunlaşmış meyveler, özellikle glisin, alanin, metiyonin ve lösin gibi amino asitler bakımından zenginken; lizin, prolin, histidin ve arjinin gibi amino asitler nispeten daha düşük miktarlarda bulunur [61, 62].

Ananas meyvesinde ve suyunda çeşitli uçucu bileşikler de tespit edilmiştir. Bu uçucu maddeler arasında asetik asit, 5-hidroksimetilfurfural, formaldehit, asetaldehit ve aseton gibi bileşenler yer almaktadır [63].

Bitkinin biyolojik olarak en dikkat çekici bileşenlerinden biri, proteolitik enzimler grubuna ait olan bromelaindir. Bu enzim, ananasın hem meyvesinden hem de gövdesinden elde edilmekte olup, kompleks yapıda birçok tiolendopeptidaz ve ek olarak fosfataz, glukosidaz, peroksidaz, selülaz, glikoproteinler, karbonhidratlar ve çeşitli proteinaz inhibitörlerini içermektedir [64]. Bromelain'in en aktif bileşeni, toplam proteinin yaklaşık %2'sini oluşturan proteinazdır. Biyokimyasal ve farmakolojik özellikleri sayesinde bromelain, son yıllarda terapötik potansiyeli nedeniyle tıbbi alanda önemli bir araştırma konusu hâline gelmiştir [65]. Geniş bir pH aralığında (4,5–9,5) aktif olarak çalışabilen bu enzim, santrifüj, ultrafiltrasyon ve liyofilizasyon gibi yöntemlerle saflaştırılarak farklı alanlarda kullanılmaktadır [66, 67].

Ananas bitkisinin özellikle meyvesi yaygın olarak tüketilmekteyken, genellikle atık olarak değerlendirilen kabuk kısmı da tıbbi ve besinsel açıdan dikkate değer özelliklere sahiptir. Ananas kabuğu; flavonoidler, fenolik asitler ve kateşinler gibi çeşitli fenolik bileşikler bakımından zengindir [68]. Bunun yanında, yüksek oranda C ve A vitaminlerini içermesi, kabuğun antioksidan kapasitesini artırmaktadır [69]. Ayrıca mangan, bakır, potasyum ve kalsiyum gibi insan sağlığı açısından önemli mineralleri de içeren kabuk kısmı, vücudun temel fonksiyonlarının sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için destekleyici bir kaynak oluşturmaktadır [70, 71]. Tüm bu bileşenler göz önüne alındığında, ananas kabuğu yalnızca endüstriyel bir atık değil, aynı zamanda potansiyel bir fonksiyonel gıda bileşeni olarak değerlendirilmelidir.

2.5. Model Organizma *Drosophila melanogaster*

Deneyisel çalışmaların en kritik adımlarından biri, kullanılacak model organizmanın doğru seçilmesidir. Model organizmalar; bilim camiası tarafından kabul gören, laboratuvar ortamında yaygın biçimde kullanılan ve belirli araştırma amaçlarına hizmet eden canlılardır. Model organizma seçiminde temel belirleyici unsur, yürütülecek deney veya araştırmanın konusudur. Bununla birlikte, basit yapılı olmaları, kısa yaşam döngüsüne ve hızlı üreme yeteneğine sahip olmaları, düşük maliyetle beslenebilmeleri ve kolay gözlemlenebilir olmaları gibi özellikler de tercih edilme nedenleri arasında yer almaktadır [72].

Günümüzde deneyisel çalışmalarda sıklıkla kullanılan model organizmalar arasında; yuvarlak solucan (*Caenorhabditis elegans*), bira mayası (*Saccharomyces cerevisiae*), koli basili (*Escherichia coli*), yeşil alg (*Chlamydomonas reinhardtii*), fare kulağı teresi

(*Arabidopsis thaliana*), tek kılçıklı ot (*Brachypodium distachyon*), buğday (*Triticum aestivum*), laboratuvar faresi (*Mus musculus*), bezelye (*Pisum sativum*), zebra balığı (*Danio rerio*) ve meyve sineği (*Drosophila melanogaster*) gibi türler bulunmaktadır [73, 74].

Bu organizmalar arasında özellikle *D. melanogaster*, insan hastalıklarını anlamada sağladığı katkılarla öne çıkan çok yönlü bir model organizmadır [75]. Sıklıkla çalışılan hastalıklar arasında kanser, kardiyovasküler hastalıklar, metabolik sendromlar, immün bozukluklar, diyabet, obezite ve nörodejeneratif hastalıklar yer almakta olup, son yıllarda yaşlanma ve yaşam süresi gibi konularda da geniş çapta kullanılmaktadır [76].

Drosophila cinsi, *Drosophilidae* familyasına ait olup, genellikle çürümekte olan veya aşırı olgun meyvelerin çevresinde gözlemlendiğinden halk arasında “küçük meyve sinekleri” olarak adlandırılmaktadır. Bu familya, sıklıkla karıştırıldığı *Tephritidae* familyasından oldukça farklıdır. *Tephritidae* üyeleri özellikle olgun veya olgunlaşmamış meyvelerle beslenerek ciddi tarımsal zararlara yol açabilirken, *Drosophila* türleri genellikle laboratuvar çalışmaları için zararsız ve kullanışlıdır [77].

Model organizma olarak en yaygın kullanılan türlerden biri olan *D. melanogaster*, genetik ve gelişimsel biyoloji alanında, özellikle moleküler genetik çalışmalarında önemli bir yere sahiptir. Modern biyoloji literatüründe “meyve sineği” terimi genellikle *D. melanogaster* türünü ifade etmek için kullanılmaktadır. Ancak *Drosophila* cinsi, bin beş yüzden fazla türü kapsar ve bu türler davranışsal özellikler, görünüm ve üreme ortamları açısından büyük çeşitlilik gösterir [78].

İnsanlarda hastalıklara neden olan genlerin yaklaşık %65–70’ine karşılık gelen homolog genlerin *D. melanogaster*’de bulunmuş olması, bu türü biyokimya, moleküler biyoloji, genetik ve hücre biyolojisi çalışmalarında oldukça değerli bir model hâline getirmektedir [79, 80]. Hızlı nesil döngüsü, kısa yaşam süresi, laboratuvar koşullarında kolayca üretilmesi ve düşük maliyetli bakım avantajları sayesinde büyük ölçekli biyolojik araştırmalar için ideal bir sistem sunmaktadır [81].

Yaklaşık 16.000 genden oluşan *D. melanogaster* genomu, dört çift kromozom üzerine yerleşmiştir. Bu yapı, insan genomuna kıyasla daha basit olmasına rağmen, genetik homoloji açısından insanla önemli benzerlikler göstermektedir. Genlerin %60’ından fazlasının insanlarda karşılığı bulunmakta ve bu durum, türler arası transkripsiyonel araştırmaların yapılabilmesini mümkün kılmaktadır [82, 83]. Bununla birlikte, bazı doku

ve organların yapısal benzerliği de, gelişimsel süreçlerin ve hastalık mekanizmalarının anlaşılmasına önemli katkılar sunmaktadır.

İki tür arasında genetik ve fizyolojik farklar bulunsa da, genetik korunmuşluk düzeyi sayesinde araştırmacılar temel biyolojik olayları, hastalık mekanizmalarını ve potansiyel tedavi hedeflerini aydınlayabilmektedir. Bu yönüyle *D. melanogaster*, insan genetiği ve hastalıklarının anlaşılmasına yönelik bilimsel ilerlemelere büyük katkı sağlamıştır [84].

Drosophila'nın gelişimsel biyolojideki rolü, özellikle Nüsslein-Volhard ve Wieschaus'un segment organizasyonu üzerine yaptıkları çalışmalarla belirginleşmiş ve bu çalışmalar 1995 Nobel Fizyoloji veya Tıp Ödülü'ne layık görülmüştür [85]. *Drosophila* üzerinde yapılan araştırmalar; hücre farklılaşması, örüntü oluşumu ve organogenez gibi gelişimsel süreçlerin temel mekanizmalarını anlamada kilit bilgiler sunmuştur [86, 87]. İnsanlarda gözlenen pek çok yapısal ve işlevsel benzerlik, bu model organizmanın insan gelişimi ve hastalıklarının incelenmesinde güçlü bir araç olduğunu ortaya koymaktadır [88–90].

İlaç ve terapötik ajanların etkileri, insan dışı model organizmalar ile insanlar arasında farklılık gösterebilir. Bu durum, model organizmalardan elde edilen bulguların doğrudan insanlara aktarılmasında bazı sınırlılıklara yol açabilmektedir. Bu nedenle, *D. melanogaster* ve diğer model organizmaların sınırlılıkları göz önüne alınarak deneysel stratejilerin dikkatli bir şekilde planlanması büyük önem taşımaktadır. Ancak genetik manipülasyona yüksek düzeyde açık olması, temel moleküler yolların korunmuşluğu ve hastalık fenotiplerini modelleyebilme kapasitesi sayesinde *D. melanogaster*, özellikle nadir ve ultra-nadir hastalıkların patogenezinin aydınlatılması ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde değerli bir araştırma aracıdır [91, 92].



Şekil 2.9. Drosophila ve insanda organ sistemlerinin benzerlik ve farklılıkları [90]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Ananas Kabuğu

Deneysel çalışmada kullanılan ananas kabukları, Antalya ilinde faaliyet gösteren bir seradan temin edilmiştir (Şekil 3.1). Çalışma sürecine kadar olan sürede, bozulmaların önlenmesi amacıyla +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Ananas kabuğu, çeşitli fenolik bileşikler açısından oldukça zengin bir biyolojik materyaldir. Bu bileşikler arasında flavonoidler, fenolik asitler ve kateşinler gibi insan sağlığı açısından yararlı bileşenler önemli yer tutmaktadır. Ayrıca, kabuk kısmı yüksek miktarda C vitamini ve A vitamini içeriğiyle dikkat çekmekte olup, bu vitaminlerin bağışıklık sisteminin desteklenmesi ve oksidatif stresin azaltılmasında önemli rol oynadığı bilinmektedir. Ananas kabuğu, bunun yanında mangan, bakır, potasyum ve kalsiyum gibi temel mineraller bakımından da zengin bir içeriğe sahiptir. Bu mineraller, organizmanın fizyolojik işleyişinin sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için gereklidir [93–96].

Genellikle tarımsal atık olarak değerlendirilen ananas kabuğu, son yıllarda sürdürülebilirlik ve atık yönetimi yaklaşımları çerçevesinde yeniden değerlendirilmeye başlanmıştır. Literatürde, ananas kabuğunun; fermente ürün üretimi, enzim ekstraksiyonu, antioksidan kaynağı olarak değerlendirilmesi ve hayvan yemi katkısı gibi birçok alanda potansiyel kullanımının olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, kabuklardan elde edilen özütlerin, sağlık üzerinde olumlu etkiler yarattığı da çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir. Bu nedenle ananas kabuğu, yalnızca bir atık ürünü değil, aynı zamanda fonksiyonel içeriklere sahip değerli bir biyokütle olarak değerlendirilmektedir.

Şekil 3.1. Ananas kabuğu (orjinal)

3.1.2. *Drosophila melanogaster*

Çalışmamızda kullanılan *Drosophila melanogaster* bireyleri, Amasya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi bünyesinde yer alan Biyolojik Araştırma Laboratuvarı'nda uzun süredir sürdürülen kolonilerden temin edilmiş olup, kontrollü koşullar altında üretilmektedir (Şekil 3.2). Deneysel uygulamalarda, larva mortalite oranlarını belirlemek amacıyla, mutant özellik taşımayan, standart yuvarlak vücut morfolojisine ve kırmızı göz rengine sahip Oregon (R) suşu (yabanıl tip) tercih edilmiştir.

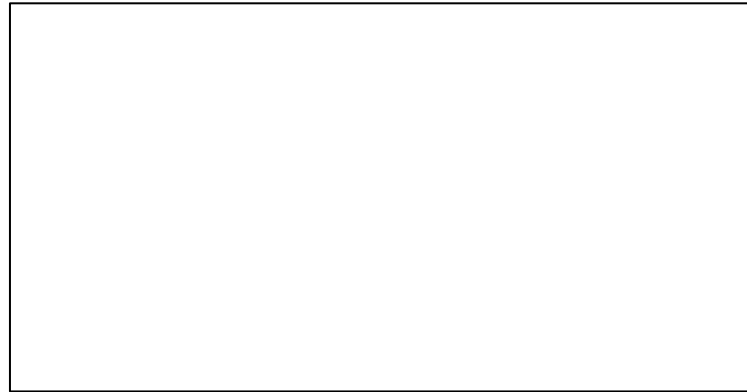
Deney süresi boyunca *D. melanogaster* bireyleri; %40–60 aralığında nispi nem, 25 ± 1 °C sabit sıcaklık ve kesintisiz karanlık koşullarında tutulmuştur. Bu çevresel koşullar, organizmaların gelişimsel süreçlerinin homojen ve kontrol edilebilir bir ortamda yürütülmesini sağlamak amacıyla standartlaştırılmıştır.

Şekil 3.2. *Drosophila* çalışmalarının yapıldığı biyolojik araştırma laboratuvarı (orjinal)

D. melanogaster, 1910 yılında Amerikalı genetikçi Thomas Hunt Morgan (1866–1945) tarafından genetik araştırmalarda model organizma olarak kullanılmaya başlanmıştır. Morgan, kalıtım ilkelerini açıklamak amacıyla *D. melanogaster*'i deneysel sistem olarak benimsemiş ve bu organizma, o tarihten itibaren genetik biliminin gelişiminde temel bir model haline gelmiştir (Şekil 3.3). Günümüzde hâlâ pek çok araştırmada aktif biçimde kullanılmaya devam edilmektedir.

D. melanogaster'in bilimsel çalışmalarda sık tercih edilmesinin temel nedenleri şu şekilde özetlenebilir:

- Kısa Yaşam Döngüsü: Yaklaşık 10 günlük yaşam döngüsü sayesinde hızlı nesil geçişleri sağlanır; bu durum, genetik analizlerin kısa sürede tamamlanmasına olanak tanır.
- Yüksek Üreme Kapasitesi: Dişi bireyler kısa sürede yüzlerce yumurta bırakabilir; bu da büyük popülasyonların kolayca oluşturulmasını sağlar.
- Basit Genetik Yapı: Sadece dört çift kromozoma sahip olan *D. melanogaster*, genetik manipülasyonların daha sade ve izlenebilir olmasına imkân verir.
- Geniş Genetik Kaynaklar: Uzun yıllar süren çalışmalar sonucu, tür için çok sayıda mutasyon ve genetik varyant içeren kapsamlı bir genetik veri tabanı oluşturulmuştur.
- İnsan Genleri ile Homoloji: *D. melanogaster* genlerinin önemli bir kısmı insan genleriyle benzerlik göstermektedir. Bu özellik, insan hastalıklarının modellenmesinde etkin şekilde kullanılmasını sağlar.
- Düşük Maliyet: Yetiştirme ve bakım maliyetlerinin düşüklüğü, diğer model organizmalara kıyasla ekonomik avantaj sunar.
- Etik ve Yasal Uygunluk: Büyük hayvanlar ya da insanlar üzerinde yapılması etik açıdan kısıtlı olan birçok çalışma, *D. melanogaster* üzerinde etik ve yasal sorunlara yol açmadan gerçekleştirilebilir.
- Gelişmiş Genetik Araçlar: Genetik mühendisliği ve moleküler biyoloji teknikleri için geliştirilmiş çok sayıda araç ve yöntem mevcuttur.
- Davranışsal Çalışmalar için Uygunluk: Sinir sistemi nispeten basit olan bu tür, davranış genetiği ve sinirbilim araştırmaları açısından ideal bir modeldir.
- Ekolojik ve Evrimsel Araştırmalara Uygunluk: Doğal popülasyonlar üzerinde yürütülen çalışmalar sayesinde evrimsel biyoloji ve ekolojik genetik alanlarında önemli bilgiler elde edilmektedir.



Şekil 3.3. *Drosophila melanogaster* dişi (a) ve erkek (b) bireyleri (orjinal)

Drosophila melanogaster, bilimsel sınıflandırması (sistematik) aşağıdaki gibidir:

Alem (Kingdom): Animalia (Hayvanlar)

Şube (Phylum): Arthropoda (Eklembacaklılar)

Sınıf (Class): Insecta (Böcekler)

Takım (Order): Diptera (İki kanatlılar)

Aile (Family): Drosophilidae (Meyve sinekleri)

Cins (Genus): *Drosophila*

Tür (Species): *Drosophila melanogaster*

D. melanogaster, genetik ve biyolojik araştırmalarda yaygın olarak kullanılan model organizmalardan biridir. Kısa üreme süresi, basit ve iyi tanımlanmış genetik yapısı, laboratuvar koşullarında kolaylıkla yetiştirilebilmesi gibi avantajları sayesinde özellikle genetik, gelişim biyolojisi, nörobilim ve evrimsel biyoloji gibi alanlarda sıklıkla tercih edilmektedir.

Drosophila, kelebek ve güve türlerinde olduğu gibi tam başkalaşım (holometabol) gösteren dört aşamalı bir yaşam döngüsüne sahiptir: yumurta, larva, pupa ve ergin birey. Döllenen sonra yaklaşık 24 saat (25 °C’de) yumurta içerisinde gelişimini sürdüren embriyo, ardından larva formu olarak yumurtadan çıkar. Larva evresi, toplam üç instar aşamasından oluşur ve bu süreç yaklaşık beş gün sürer. Bu süre boyunca larva yoğun şekilde beslenerek büyür ve ardından pupa evresine geçer. Yaklaşık dört gün süren metamorfoz sürecinin sonunda ise tam gelişmiş ergin sinek ortaya çıkar (Şekil 3.4).

Bu çalışmada, ananas kabuğu ekstraktlarının toksik ya da etkili dozlarının belirlenmesi amacıyla, *D. melanogaster* bireylerinin 3. evre larva formları kullanılmıştır. Bu evre, organizmanın çevresel etkilere karşı duyarlılığının yüksek olduğu ve belirgin fizyolojik değişimlerin yaşandığı bir dönem olması nedeniyle toksisite testleri için ideal bir gelişim aşamasıdır.



Şekil 3.4. *Drosophila melanogaster*’in yaşam döngüsü (orjinal)

3.2. Yöntem

3.2.1. Ananas kabuğu ekstraktlarının hazırlanması

Yaklaşık 10 adet ananas yıkanmış, kabukları soyulmuş ve etüvde kurutmaya bırakılmıştır (Nüve FN400) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Ananas kabuklarının hazırlanıp, kurutma işlemlerinin yapılması (orjinal)

48-72 saat aralığında kabuklar kurutulmuş ve sonrasında bir kısmı toz formu uygulamaları için değirmende (FRITSCH PULVERISETTE-16) toz haline getirilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Ananas kabuklarının toz haline getirilmesi işlemleri (orjinal)

Elde edilen kuru ve toz formlar analitik terazide (DENVER-S1234) 5'er gram tartılarak çözünme işlemleri için cam kavanozlara koyulmuştur. Kavanozlara ayrı ayrı 200'er mL metanol, etanol ve su koyulmuş ve shaker (IKA-KS501) yardımıyla karıştırılmıştır. Elde edilen çözeltiler ultrasonik destekli banyo (ELMASONIC-S60H) metoduyla yaklaşık iki saat süreyle ekstrakte edilmiştir (Şekil 3.7). Bu yöntem, yüksek frekanslı ultrasonik dalgaların kullanımıyla hücre duvarlarının parçalanmasını sağlayarak, hedef bileşiklerin çözücüye daha hızlı ve etkili bir şekilde geçişini kolaylaştırır. Bu süreç, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha kısa sürede ve daha düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilebilir, bu da termolabil (ısıya duyarlı) bileşiklerin bozulmasını önler.

Şekil 3.7. Ananas kabuklarının ekstraksiyon işlemleri (orjinal)

a) Analitik terazide tartım b) Çözücülerin eklenmesi c) Ultrasonik banyoda ekstraksiyon işlemi

Ekstraksiyon süresinin sonunda elde edilen süpernatantlar filtre edilmiştir. Filtre edilen süpernatantlar önce su banyosundan (WiseBath WB-11) son olarak da Rotary Evaporator (LabTech EV400) cihazından geçirilmiş ve çözücüler ortamdan uzaklaştırılmıştır. Böylelikle çalışmamızda kullanacağımız etanol, metanol ve su ekstraktları elde edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Ananas kabuğu ekstraktlarından çözücülerin uzaklaştırılması işlemleri (orjinal)

Diğer uygulama çeşitlerimizden demleme formları için ise bir fincana 200 mL sıcak suya 5 gr ananas kabuğu, diğer fincana 200 mL sıcak suya ise 5 gr toz ananas kabuğu eklenmiş ve üzeri kapatılıp ortalama 15 dk bekletilmiştir (Şekil 3.9).

Şekil 3.9. Ananas kabuğunun demleme formlarının hazırlanışı (orjinal)

a) Toz demleme formu, b) Kabuk demleme formu

3.2.2. Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi amacıyla Folin-Ciocalteu Yöntemi uygulanmıştır. Bu yöntemde, 1 µg/mL konsantrasyonunda hazırlanan ekstre örneklerinden 0,1 mL alınarak tüplere aktarılmıştır. Daha sonra her bir tüpe 4,5 mL distile su eklenmiştir. Ardından, 0,1 mL Folin-Ciocalteu ayırıcı ve 0,3 mL %2'lik sodyum karbonat çözeltisi ilave edilerek tüpler karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımlar, 2 saat boyunca karanlık ortamda bekletilmiştir. İnkübasyon süresi tamamlandıktan sonra, köre (distile su) karşı 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür [97]. Fenolik madde miktarı, gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden ifade edilmiştir. Bu amaçla, gallik asit standartları kullanılarak bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve örneklerin fenolik içeriği bu eğriye göre hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar, kurutulmuş numune başına miligram gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g) olarak raporlanmıştır. Bu yöntem, fenolik bileşiklerin kantitatif analizi için yaygın ve güvenilir bir yaklaşım sunmaktadır.

3.2.3. Toplam flavonoid madde tayini

Toplam flavonoid madde miktarı, Brand-Williams vd. [39] tarafından önerilen yöntemle göre kuersetin standart çözeltisi kullanılarak belirlenmiştir [98]. Analiz için bitki ekstraktından 1 mL alınarak test tüplerine aktarılmıştır. Daha sonra tüplere sırasıyla 2 mL distile su, 0,15 mL 0,5 M sodyum nitrit (NaNO_2) ve 0,15 mL 0,3 M alüminyum klorür (AlCl_3) reaktifi eklenmiştir. Karışım, 5 dakika bekletildikten sonra 1 mL 1 M sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ilave edilmiştir. Hazırlanan örneklerin absorbans değerleri, spektrofotometre kullanılarak 510 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Toplam flavonoid içeriği, kuersetin standart çözeltisi ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar, kurutulmuş numune başına miligram kuersetin eşdeğeri (mg QE/g) olarak ifade edilmiştir. Bu yöntem, flavonoid bileşiklerin kantitatif analizi için etkili ve güvenilir bir yaklaşım sunmaktadır.

3.2.4. DPPH serbest radikal giderme aktivitesi tayini

Çalışmamızda, antioksidan aktivite DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikal giderim yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.10) [99]. Analiz için 25-400 µg/mL aralığında farklı konsantrasyonlarda bitki çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerden 0,5 mL alınarak üzerine 3 mL etanol ve 300 µL 20 mg/L DPPH çözeltisi eklenmiştir. Karşılaştırma yapmak amacıyla, aynı işlemler butillenmiş hidroksianizol

(BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT) ve troloks (100-500 µg/mL) gibi standart antioksidanlar için de tekrarlanmıştır. Karışımlar kuvvetlice çalkalandıktan sonra, 517 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçülmüştür. Kontrol olarak, numune yerine 0,75 mL distile su kullanılmıştır. Antioksidan aktivite, DPPH serbest radikallerinin giderim yüzdesi olarak hesaplanmıştır. Yüzde inhibisyon aktivitesi aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmiştir:

$$\text{Yüzde İnhibisyon(\%)} = \left(\frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100$$

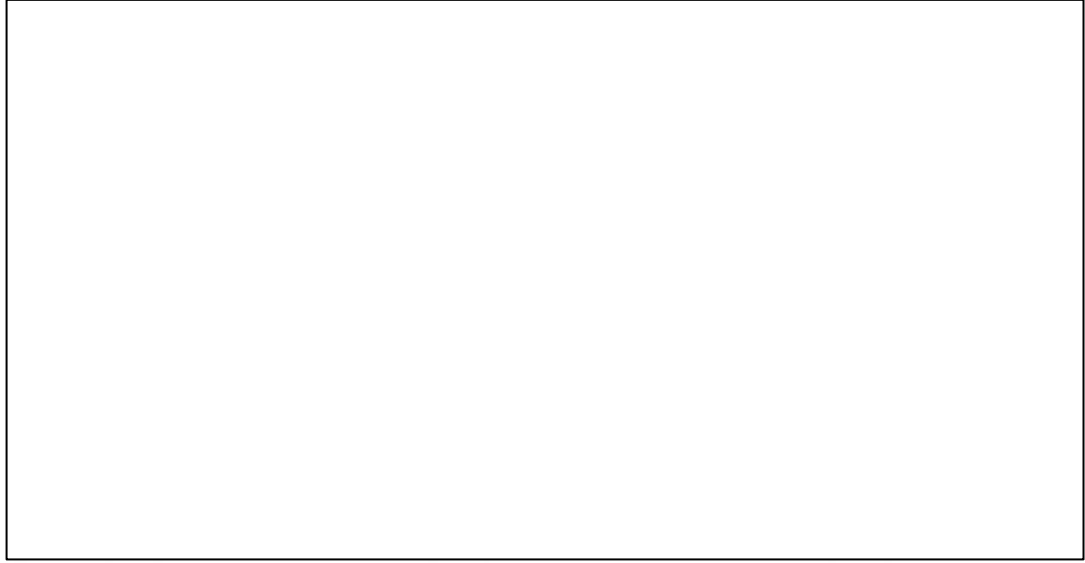
- A_{kontrol} : Kontrol örneğinin absorbans değeri (DPPH çözeltisi + distile su),
- $A_{\text{örnek}}$: Bitki çözeltisi veya standart antioksidan içeren örneğin absorbans değeri

Şekil 3.10. DPPH Serbest radikal giderme aktivitesi yöntemi (orjinal)

a) Ekstraktların DMSO ile çözülerek ölçüme hazırlanması b) Ekstraktların mikropate ekimi, c) Aktivitelerin spektrofotometrede okunması

3.2.5. Fenolik ve flavonoid bileşenlerin kompozisyon analizi (LC-MSMS)

Farklı çözücülerde hazırlanan ananas kabuğu ekstraktları ve toz formu örneklerinin kantitatif fenolik ve flavonoid bileşenlerin kompozisyon analizi LC-MS/MS yöntemi ile Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi (HUBTUAM)'da bulunan THERMO-FISHER ULTIMATE 3000 UHPLC marka LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometresi) (Şekil 3.11) sistemde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.11. LC-MS/MS analiz sistemini oluşturan cihazlar

Örnekler 5 mg/mL olacak şekilde kendi çözücülerinde çözülüp, 0,45 µm lik şırınga filtresinden süzölmüş ve viallere aktarılmıştır ve LC-MS/MS cihazında analiz edilmiştir. Kromatografik ayırım, ODS Hypersil (20Å, 5µm, 4.6mm x 250mm) kolonda gerçekleştirilmiştir [100]. Analiz test koşulları aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. LC-MS/MS Analizi Test Koşulları

Ürün Adı	Bitki Ekstraktları		
Ürün Malzemesi	Sıvı		
Solvent Programı	Dakika	% A (% 0,1 Formik Asitli Su)	% B (Metanol)
	0	100	0
	1	100	0
	22	5	95
	25	5	95
	30	0	100
Çözücü Akış Hızı	0,7 ml/dk		
Kolon fırını sıcaklığı	30 °C		
Kolon Özellikleri	ODS HYPERSİL 4,6*250 mm 5µm kolon		
Enjeksiyon hacmi	20 µL		
Analiz Süresi	34 dk		

3.2.6. *D. melanogaster* larval mortalite testleri

D. melanogaster larvalarının mortalite testleri, hazır *Drosophila* besiyeri (Instant *D. melanogaster* Medium, Carolina Biological Supply Company) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneyde, Oregon (R) (vahşi tip) türüne ait, aynı yaşta virgin dişi ve erkek bireyler 200 ml'lik şişelere yerleştirilmiş ve ♀25 X ♂25 şeklinde çaprazlama

yapılmıştır. Çaprazlamanın ardından, ergin bireyler 1 gün sonra şişelerden çıkarılmıştır. Çiftleşme işlemi sonrası 4. günde, yaklaşık 72 ± 4 saatlik 3. evre (L3) larvalar toplanmıştır (Şekil 3.12).



Şekil 3.12. Standart çaprazlama için birey seçimi ve larva toplama aşamaları (orjinal)

Larval mortalite oranını belirlemek için uygulama aşamasında, 50 ml'lik falcon tüplerine 1,5 g *D. melanogaster* besiyeri ve 5 ml distile su ile çözülen dozlar eklenmiştir. Deneyde, 3 ana grup oluşturulmuş ve 4 farklı kontrol grubu kullanılmıştır. Kontrol grupları, distile su, askorbik asit (ASC) (20 mM), H_2O_2 (%0,02) ve ASC+ H_2O_2 şeklindedir. Diğer gruplar ise, etken madde olan ananas kabuğunun farklı formlarının farklı konsantrasyonları ile bunların H_2O_2 ile birlikte uygulandığı grupları içermektedir (Tablo 3.2). 3. evre larvalar, belirtilen konsantrasyonlardaki ananas kabuğu çözeltisi ile hazırlanmış şişelere aktarılmıştır. Aynı şekilde, her bir kontrol grubu (distile su, ASC, H_2O_2 , ASC+ H_2O_2) ve ananas kabuğu- H_2O_2 karışımı ile yapılan gruplar da 5 ml'lik şişelere yerleştirilmiştir. Deneyde her şişeye 100 larva yerleştirilmiş ve ergin bireylerin gelişimi beklenmiştir (Şekil 3.13). Bir hafta sonra, ergin bireyler, eterle bayıltılarak küçük silindir şişelere aktarılmış ve sayılarak tablolara kaydedilmiştir. Deney boyunca tüm gruplar,

25±1°C sıcaklık, %60±5 bağıl nem ve 12:12 saat aydınlık/karanlık döngüsünde muhafaza edilmiştir.

Tablo 3.2. Drosophila larval mortalite testi kontrol ve uygulama grupları

Grup No	Kontrol Grupları
1	Distile su (Negatif kontrol grubu)
2	ASC (Askorbik Asit=Antioksidan kontrol grubu)
3	H ₂ O ₂ (Hidrojen peroksit= Oksidatif stres indükleyici kontrol grubu)
4	ASC+ H ₂ O ₂ (Kombinasyon kontrol grubu)
Ekstrakt Uygulama Grupları	
5	Ananas kabuğu etanol ekstresi (AKEt) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10)
6	Ananas kabuğu metanol ekstresi (AKMe) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10)
7	Ananas kabuğu su ekstresi (AKSu) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10)
8	Ananas kabuğu toz demleme formu (AKTD) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10)
9	Ananas kabuğu demleme çay formu (AKÇ) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10)
Kombinasyon Uygulama Grupları	
10	Ananas kabuğu etanol ekstresi (AKEt) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10) + H ₂ O ₂
11	Ananas kabuğu metanol ekstresi (AKMe) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10) + H ₂ O ₂
12	Ananas kabuğu su ekstresi (AKSu) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10) + H ₂ O ₂
13	Ananas kabuğu toz demleme formu (AKTD) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10) + H ₂ O ₂
14	Ananas kabuğu demleme çay formu (AKÇ) 4 Farklı Doz (%1, %2,5, %5 ve %10) + H ₂ O ₂

Şekil 3.13. Deneyde kullanılan tüm uygulama ve kontrol grupları (orjinal)

3.2.2. *D. melanogaster*'de biyokimyasal etkinlik analizleri (TAS/TOS/OSİ)

Çalışmamızın bu kısmı, ananas kabuğunun (AK) oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla tasarlanmıştır. Deneyde negatif kontrol grubu olarak distile su, pozitif kontrol grubu olarak ASC (Askorbik asit) kullanılmıştır. Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı (AKEt), Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı (AKMe), Ananas Kabuğu Su Ekstraktı (AKSu), Ananas kabuğu toz demleme formu (AKTD) ve Ananas kabuğu demleme çay formu (AKÇ) formları ise larval mortalite çalışmalarında uygulanan konsantrasyonlar baz alınarak düşük (%1), orta (%5) ve yüksek (%10) olacak şekilde hazırlanmıştır.

Yukarıda sayılan tüm gruplara ait ekstraktlar belirtilen oranlarda besiyerlerine eklenerek her grupta 3 tekrar olacak şekilde her tekrarda 20 aynı yaşta (3-5 günlük) ergin, çiftleşmemiş erkek sineğin 10 gün boyunca beslenmesi sağlanmıştır. Bazı parametrelerin cinsiyet farklılıklarında oluşturabileceği etkiyi ortadan kaldırmak adına sadece erkek bireyler çalışmaya dahil edilmiştir [101]. Ekstraktların vücutta yeterli düzeyde birikmesi ve metabolik dengeye ulaşılması için belirli bir süre gerekir. 7-10 gün, sineklerin ekstrakt içerikli besiyeriyle beslenerek bileşiklerin vücutlarında düzenli düzeye ulaşması için yeterli bir süredir. Antioksidan savunma sistemlerinin aktive olması ve değişikliklerin gözlemlenebilmesi için genellikle birkaç gün gerekir. Çok kısa süreli (1-2 gün) uygulamalar akut etkileri gösterirken, 7-10 günlük uygulama daha kalıcı fizyolojik değişiklikleri gözlemlemeye olanak tanır [102].

Her 5 günde bir, sinekler taze diyetlerini içeren yeni şişelere transfer edilmiştir. 10. günün sonunda, sinekler önce 2 saat aç bırakılmış ve -80°C'de 10 dakika bekletilerek öldürülmüştür. Daha sonra öldürülen sinekler her grupta 20 tane olacak şekilde biyokimyasal analizler için soğuk homojenizasyon tamponu ile ultrasonik homojenizatörde parçalanmıştır. Homojenizasyon tamponu, %1,15 KCl, %1,15 potasyum klorür, 25 mM dipotasyum hidrojen fosfat, 5 mM EDTA, 2 mM PMSF, 2 mM DTT içermekte ve pH 7,4'te +4 °C'de hazırlanmıştır. Elde edilen süpernatantlar, biyokimyasal analizler için -18°C'de saklanmıştır [96].

TAS ölçümü, numunelerdeki antioksidanların ABST radikalini renksiz forma dönüştürmesi prensibine dayanır. Analizler, ticari kitler (Baran Medical, Rel Assay Diagnostics) kullanılarak spektrofotometre (Biochrom Libra S22) ile 660 nm dalga boyunda absorbans ölçülerek gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.14). Sonuçlar, µmol Trolox eşdeğeri/L cinsinden ifade edilmiştir [103].

TOS ölçümü, numunelerdeki oksidanların ferröz iyonları ferrik iyonlara dönüştürmesi ve ferrik iyonlarının kromojenik madde ile renk oluşturması prensibine dayanır. Analizler, ticari kitler (Baran Medical, Rel Assay Diagnostics) kullanılarak spektrofotometre (Biochrom Libra S22) ile 530 nm dalga boyunda absorbans ölçülerek yapılmıştır. Sonuçlar, $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L cinsinden hesaplanmıştır [47, 104].

OSİ, TOS değerinin TAS değerine oranı olarak tanımlanmıştır. Hesaplama için TAS birimi $\mu\text{mol/L}$ 'ye çevrilmiş ve aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L})}{\text{TAS } (\mu\text{mol Trolox eşdeğeri/L})} \times 100$$

Tüm ölçümler üç kez tekrarlanmış ve TOS, TAS ile OSI değerleri hesaplanmıştır [47, 104]. Bu analizler, ananas kabuğunun oksidatif stres üzerindeki etkilerini değerlendirmek için kullanılmıştır.

3.2.3. Verilerin istatistiksel analizi

Verilerin istatistiksel analizi, SPSS 27.0 (Statistical Package for the Social Sciences) programı kullanılarak yapılmıştır. Analizlerde, gruplar arasındaki farklılıkları belirlemek amacıyla “Tek Yönlü Varyans Analizi” (One-Way ANOVA) yöntemi uygulanmıştır. Larval mortalite ve biyokimyasal parametrelere ilişkin verilerin karşılaştırılmasında, 0,05 anlamlılık düzeyinde ($p < 0,05$) Duncan testleri kullanılmıştır. Ergin bireylere ait larval mortalite verileri ve diğer grafikler, Microsoft Windows Office Excel programı yardımıyla oluşturulmuştur. Bu analizler, çalışmanın sonuçlarının güvenilirliğini artırmak ve verilerin istatistiksel olarak anlamlılığını değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir.

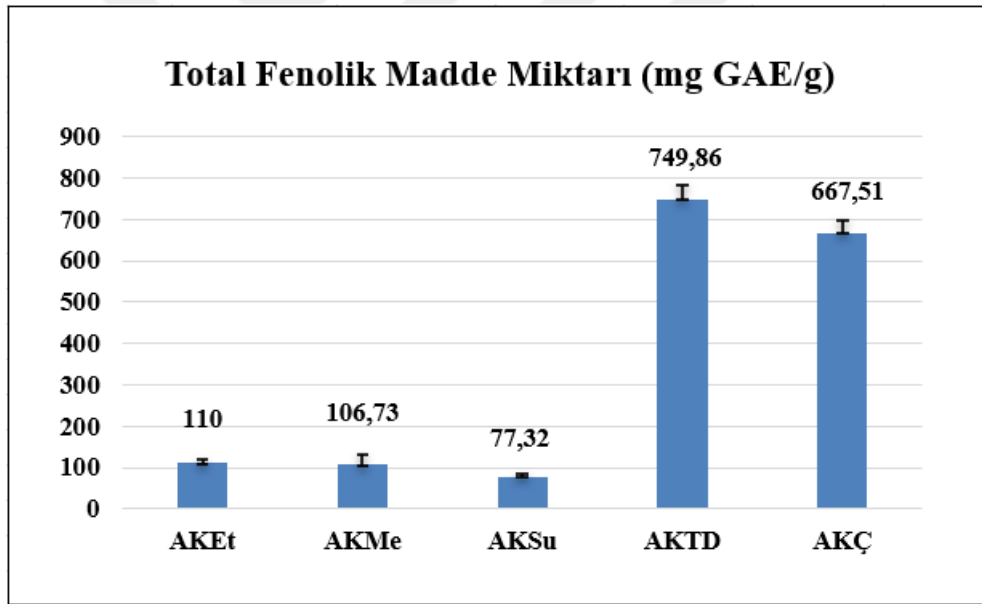


4. BULGULAR

Çalışmamızda ananas kabuğundan elde ettiğimiz farklı form ve ekstraktların öncelikle *in vitro* şartlarda içerik analizleri yapılmış, antioksidan aktivite tayinleri yapılmış ve daha sonra *in vivo* şartlarda toksisite ve biyokimyasal etkinlik çalışmaları yapılmıştır. Elde ettiğimiz bulgular aşağıda gruplandırılarak ayrıntılı bir şekilde verilmiştir.

4.1. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini Sonuçları

Farklı çözücüler kullanarak hazırlanan ekstraktlar (etanol, metanol ve su) ve çözücü olmaksızın hazırlanan farklı form (toz demleme ve çay) ananas kabuğu örneklerimizden elde ettiğimiz total fenolik madde miktarı tayini sonuçları Şekil 4.1’de verilmiştir. Numune örnekleri 1 µg/mL olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.1. Ananas kabuğu farklı formlarının total fenolik madde miktarları

AKEt: Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı, AKMe: Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı, AKSu: Ananas Kabuğu Su Ekstraktı, AKTD: Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu, AKÇ: Ananas Kabuğu Çay Formu

Elde edilen sonuçlardan; Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu (AKTD)’nin en yüksek fenolik madde içeriğini gösterdiği (749,86 mg GAE/g) görülmüştür. Bu sonuç, toz demleme işleminin ananas kabuğundaki fenolik bileşenleri ekstrakte etmede en etkili yöntem olduğunu göstermektedir. İkinci en yüksek fenolik madde içeriğine sahip grup ise Ananas Kabuğu Çay Formu Çay (AKÇ) olmuştur (667,51 mg GAE/g). Ananas Kabuğu

Etanol Ekstraktı (AKEt) ise çözücü bazlı ekstraktlar arasında en yüksek fenolik madde içeriğine sahip çıkmıştır (110,00 mg GAE/g). Tüm gruplar arasında en düşük fenolik madde içeriğini ise 77,32 mg GAE/g Ananas Kabuğu Su Ekstraktı (AKSu) göstermiştir.

Bu sonuçlar, ekstraksiyon yönteminin ananas kabuğundan fenolik bileşiklerin elde edilmesinde çok önemli bir faktör olduğunu açıkça ortaya koymaktadır. AKTD ve AKÇ gibi geleneksel demleme yöntemleri, çözücü bazlı ekstraksiyon yöntemlerine (etanol, metanol ve su) kıyasla 6-7 kat daha fazla fenolik madde ekstrakte etmiştir. Bu durum, toz demleme ve çay hazırlama işlemlerinin fenolik bileşiklerin biyoyararlanımını önemli ölçüde artırdığını göstermektedir. Çözücü bazlı ekstraksiyon yöntemleri arasında, polar organik çözücülerin (etanol ve metanol) saf suya göre daha etkili olduğu görülmektedir. Etanol ve metanol ekstraktları benzer sonuçlar verirken, su ekstraktı en düşük fenolik madde içeriğini göstermiştir. Sonuçlar, ananas kabuğundan fenolik bileşikler en verimli şekilde elde etmek için toz demleme veya çay formunda hazırlamanın daha uygun olacağını göstermektedir. Bu, atık yönetimi ve gıda takviyesi üretimi açısından önemli bir bulgudur. Fenolik bileşikler güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğundan, AKTD ve AKÇ formlarının daha yüksek antioksidan aktivite gösterme potansiyeli de yüksektir.

Tablo 4.1. Ananas kabuğu farklı formlarının total fenolik madde miktarlarının istatistiksel değerlendirmesi

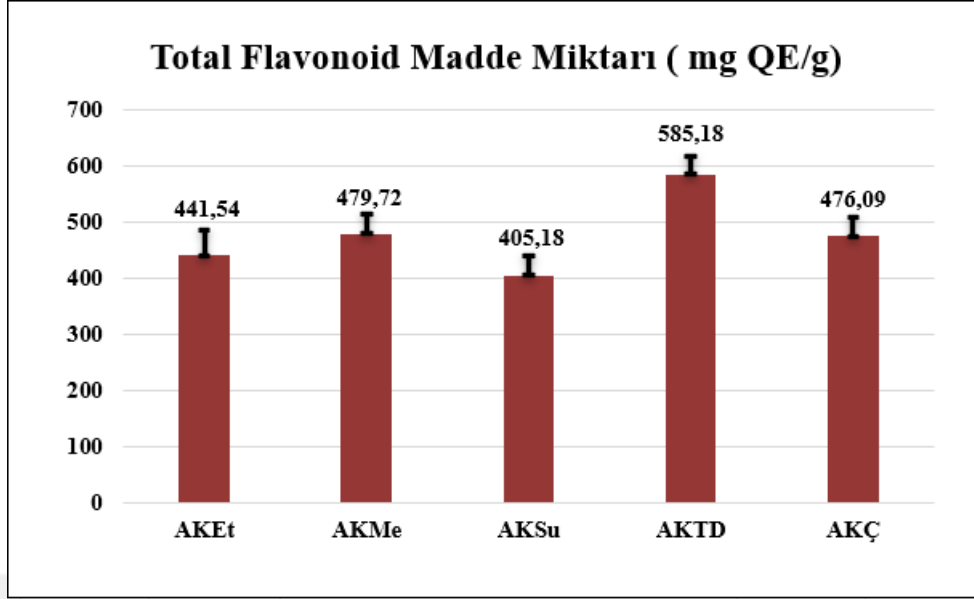
Varyasyon Kaynakları	SS	df	MS	F	p-value
Farklı Form Grupları	1,234,567.89	4	308,641.97	250.45	<0,001

F = 250,45, p < 0,001 → Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Games-Howell Testi ile yapılan analizler incelendiğinde; AKTD ve AKÇ gruplarından elde edilen verilerin, diğer gruplardan (AKEt, AKMe, AKSu) anlamlı derecede yüksek olduğu (p<0,001), AKEt, AKMe ve AKSu arasında fark olmadığı (p>0,05) belirlenmiştir (Tablo 4.1).

4.2. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini Sonuçları

Farklı çözücüler kullanarak hazırlanan ekstraktlar (etanol, metanol ve su) ve çözücü olmaksızın hazırlanan farklı form (toz demleme ve çay) ananas kabuğu örneklerimizden elde ettiğimiz total fenolik madde miktarı tayini sonuçları Şekil 4.2’de verilmiştir. Numune örnekleri 1 µg/mL olarak kullanılmıştır.



Şekil 4.2. Ananas kabuğu farklı formlarının total flavonoid madde miktarları

AKEt: Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı, AKMe: Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı, AKSu: Ananas Kabuğu Su Ekstraktı, AKTD: Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu, AKÇ: Ananas Kabuğu Çay Formu

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar incelendiğinde; Ananas Kabuğu Toz Demleme Formunun (AKTD) en yüksek flavonoid içerik gösterdiği (585,18 mg QE/g) görülmüştür. Bu form, diğer ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla hem flavonoid hem de fenolik bileşik içeriğini ortaya çıkarmada en etkili yöntem olarak öne çıkmıştır. İkinci en yüksek flavonoid madde içeriğine sahip grup ise AKMe (Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı) (479,72 mg QE/g) olmuştur. Bunları sırasıyla; Ananas Kabuğu Çay Formu Çay (AKÇ), Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı (AKEt) ve Ananas Kabuğu Su Ekstraktı (AKSu) izlemiştir. En düşük flavonoid içeriğin total fenolik içerikte olduğu gibi Ananas Kabuğu Su Ekstraktı (AKSu) (405,18 mg QE/g) olduğu görülmüştür.

Hem fenolik madde hem de flavonoid miktarı açısından AKTD en yüksek değerlere sahip çıkmıştır. Bu durum, toz demleme yönteminin ananas kabuğundaki biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için tutarlı bir şekilde en etkili yöntem olduğunu doğrulamaktadır. Fenolik madde miktarında AKTD ve AKÇ ile diğer ekstraktlar arasında çok büyük bir fark (6-7 kat) varken, flavonoid miktarlarındaki farklar daha azdır. En yüksek değer (AKTD, 585,18 mg QE/g) ile en düşük değer (AKSu, 405,18 mg QE/g) arasında yaklaşık 1,4 kat fark vardır. Flavanoid ekstraksiyonunda metanol (AKMe), etanole (AKEt) göre daha etkili görünmektedir ve hatta AKÇ ile benzer performans göstermektedir. Bu durum, farklı çözücülerin spesifik biyoaktif bileşen grupları için farklı

ekstraksiyon verimliliği gösterdiğini ortaya koymaktadır. Her iki parametrede de AKSu en düşük değerleri göstermiştir, bu da saf suyun ananas kabuğundaki biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda tek başına yetersiz kaldığını göstermektedir. Fenolik madde miktarında AKÇ ikinci en yüksek değere sahipken, flavonoid miktarında üçüncü sıraya gerilemiştir. Bu durum, çay formunun fenolik bileşikleri ekstrakte etmede daha etkili olduğunu, ancak spesifik olarak flavonoidler için metanolün biraz daha etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Tablo 4.2. Ananas kabuğu farklı formlarının total flavonoid madde miktarlarının istatistiksel değerlendirmesi

Varyasyon Kaynakları	SS	df	MS	F	p-value
Farklı Form Grupları	35000,25	4	8750,06	5,678	0,012

$p = 0,012 < 0,05 \rightarrow$ Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır.

Post-Hoc (Tukey) Testi ile yapılan analizler incelendiğinde; AKTD ile AKSu grupları arasında anlamlı farkın bulunduğu ($p=0,008$) belirlenmiştir. Diğer gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.2).

4.3. DPPH Serbest Radikal Giderme Aktivitesi Tayini Sonuçları

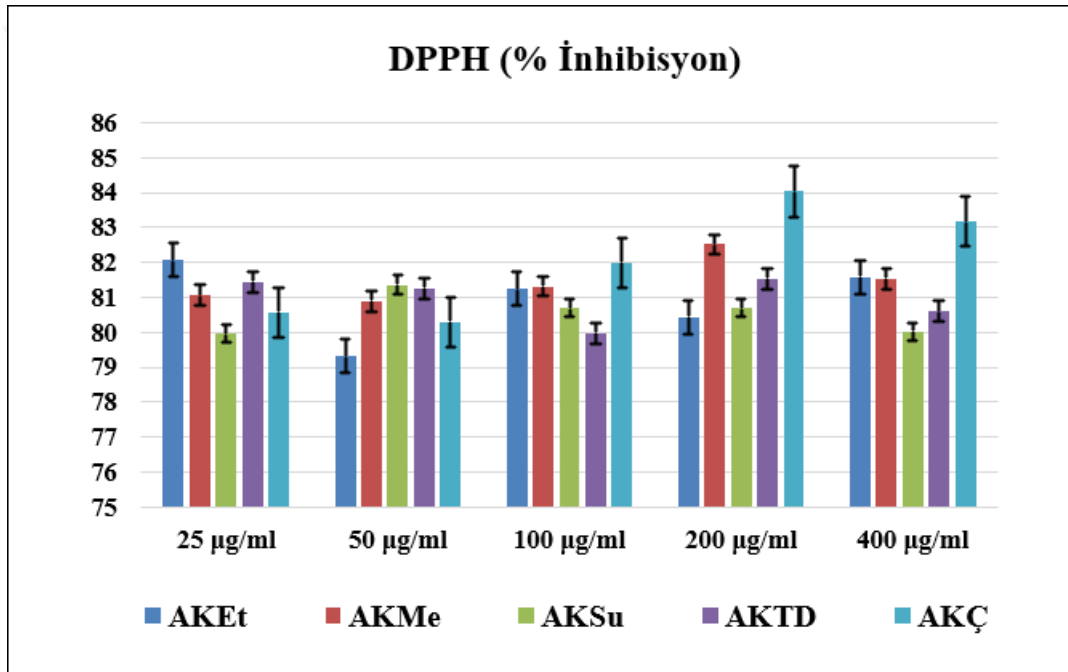
Farklı formlarda hazırlanan ananas kabuğu örneklerimizin antioksidan aktivitesinin tayininde DPPH yöntemi kullanılmıştır. Analiz için 25-400 $\mu\text{g/mL}$ aralığında farklı konsantrasyonlarda çözeltiler hazırlanmış ve her uygulama 3 kez tekrarlanmıştır. Sonuçların ortalamaları alınarak aşağıdaki tablo ve grafikler (Tablo 4.3 ve Şekil 4.3) oluşturulmuştur.

Tablo 4.3. Farklı formlarda hazırlanan ananas kabuğu örneklerinin DPPH serbest radikal giderme aktiviteleri

	25 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	400 $\mu\text{g/ml}$
AKEt	82,06 $\pm$ 0,45	79,31 $\pm$ 0,38	81,24 $\pm$ 0,52	80,45 $\pm$ 0,40	81,59 $\pm$ 0,48
AKMe	81,07 $\pm$ 0,42	80,89 $\pm$ 0,45	81,31 $\pm$ 0,39	82,53 $\pm$ 0,47	81,54 $\pm$ 0,43
AKSu	79,95 $\pm$ 0,36	81,36 $\pm$ 0,41	80,70 $\pm$ 0,38	80,70 $\pm$ 0,42	80,03 $\pm$ 0,37
AKTD	81,44 $\pm$ 0,44	81,26 $\pm$ 0,40	79,98 $\pm$ 0,35	81,54 $\pm$ 0,46	80,60 $\pm$ 0,39
AKÇ	80,57 $\pm$ 0,38	80,29 $\pm$ 0,36	82,00 $\pm$ 0,45	84,03 $\pm$ 0,49	83,17 $\pm$ 0,47

AKEt: Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı, AKMe: Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı, AKSu: Ananas Kabuğu Su Ekstraktı, AKTD: Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu, AKÇ: Ananas Kabuğu Çay Formu

Sonuçlarımız incelendiğinde; Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı (AKEt)'nın en düşük konsantrasyonda (25 µg/mL) en yüksek aktiviteyi gösterdiği gözlemlenmiştir. Konsantrasyon arttıkça aktivitede dalgalanmalar görülmüştür. 50 µg/mL'de düşüş, 100 µg/mL'de yükseliş, 200 µg/mL'de tekrar düşüş ve 400 µg/mL'de hafif yükseliş göstermiştir. Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı (AKMe) konsantrasyon arttıkça genel olarak aktivitede artış eğilimi göstermiştir. 200 µg/mL'de en yüksek aktiviteye (82,52%) ulaşmış, 400 µg/mL'de hafif düşüş göstermiştir. Ananas Kabuğu Su Ekstraktı (AKSu) 50 µg/mL'de en yüksek aktiviteyi (81,36%) göstermiş, ardından hafif düşüş ve sabit kalma eğilimi tespit edilmiştir. Diğer ekstraktlara kıyasla daha stabil bir inhibisyon profili sergilemiştir.



Şekil 4.3. Farklı formlarda hazırlanan ananas kabuğu örneklerinin DPPH serbest radikal giderme aktivitelerine ait grafik

AKEt: Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı, AKMe: Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı, AKSu: Ananas Kabuğu Su Ekstraktı, AKTD: Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu, AKÇ: Ananas Kabuğu Demleme Çay Formu

Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu (AKTD) 100 µg/mL'de en düşük aktiviteyi (79,97%) göstermiş, 200 µg/mL'de yükselmiş (81,53%), 400 µg/mL'de tekrar düşüş göstermiştir. Konsantrasyona bağlı olarak dalgalı bir aktivite profili sergilemektedir. Ananas Kabuğu Çay Formu (AKÇ) 100 µg/mL'den itibaren konsantrasyon arttıkça belirgin bir aktivite artışı göstermiştir. 200 µg/mL'de tüm ölçümlerin en yüksek değerine (84,03%) ulaşmıştır. Yüksek konsantrasyonlarda (200 ve 400 µg/mL) en etkili radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir.

Konsantrasyon ile aktivite ilişkisi incelendiğinde; çoğu ekstrakt için doz-yanıt ilişkisinin doğrusal olmadığı görülmüştür. Özellikle AKÇ hariç, en yüksek konsantrasyon her zaman en yüksek aktiviteyi göstermemiştir. AKÇ, yüksek konsantrasyonlarda (200-400 µg/mL) en etkili radikal süpürücü olarak öne çıkmıştır.

Fenolik içerik ve flavonoid içerik sonuçlarıyla beraber incelendiğinde; fenolik madde miktarı en yüksek olan AKTD (749,86 mg GAE/g), DPPH testinde beklenenin aksine ortalama bir performans göstermiştir. AKÇ, fenolik madde miktarında ikinci sırada olmasına rağmen (667,51 mg GAE/g), DPPH testinde en etkili ekstrakt olarak öne çıkmıştır. Bu durum, sadece toplam fenolik madde miktarının değil, aynı zamanda fenolik bileşiklerin türünün ve diğer biyoaktif bileşenlerin de antioksidan aktivitede önemli rol oynadığını göstermektedir. Önceki verilerde fenolik ve flavonoid miktarı açısından öne çıkan AKTD, antioksidan aktivitede benzer bir üstünlük göstermemiştir. AKÇ formu, özellikle yüksek konsantrasyonlarda en etkili antioksidan aktiviteye sahip bulunmuştur. Bu sonuç, AKÇ'nin fenolik ve flavonoid bileşiklerin yanı sıra, diğer güçlü antioksidan bileşenleri de içerdiğini veya mevcut bileşenlerin sinerjistik etkiyle daha güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini düşündürmektedir.

Tablo 4.4. Farklı formlarda hazırlanan ananas kabuğu örneklerinin DPPH sonuçlarının konsantrasyon farklarına göre istatistiksel değerlendirmesi

Varyasyon Kaynakları	SS	df	MS	F	p-value
Konsantrasyon Farkları	15,632	4	3,908	2,345	0,062

$p = 0,062 > 0,05$ olduğu için, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur.

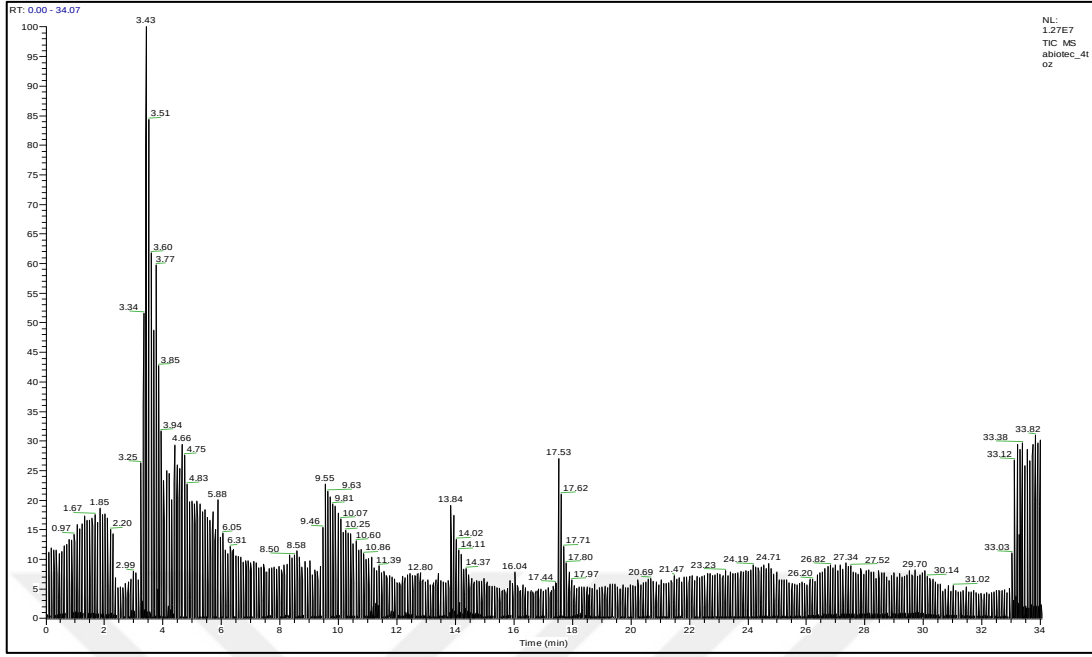
Sonuçlar istatistiksel olarak incelendiğinde; gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.4). Bu sonuçlardan konsantrasyon artışının (25-400 µg/ml) etkinlik üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı söylenebilir. Ancak, AKÇ grubunda 200 ve 400 µg/ml'de diğer gruplara göre hafif bir artış gözlemlenmiş olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ($p > 0,05$).

4.4. LC-MSMS Analiz Sonuçları

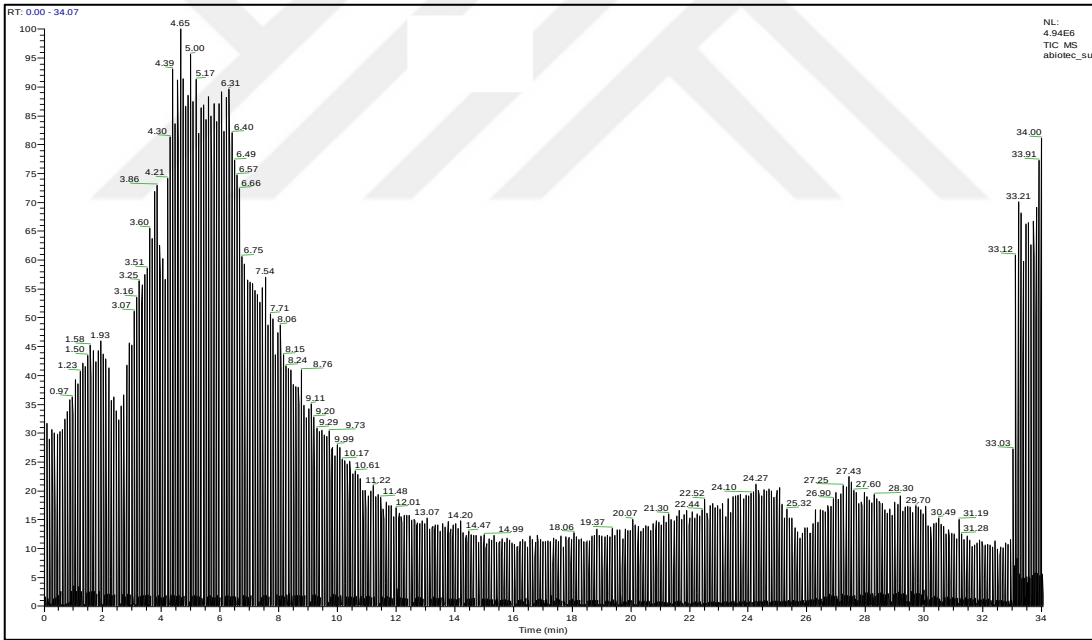
LC-MSMS analiz sonuçları ve kromatogramları Tablo 4.5 ve Şekil 4.4, Şekil 4.5, Şekil 4.6 ve Şekil 4.7'de verilmiştir. Toplam 31 standart madde kullanılarak karşılaştırmalar yapılmış ve madde tespiti gerçekleştirilmiştir.

Tablo 4.5. Ananas kabuğu örneklerinin LC-MSMS analiz sonuçlarına göre içerik oranları

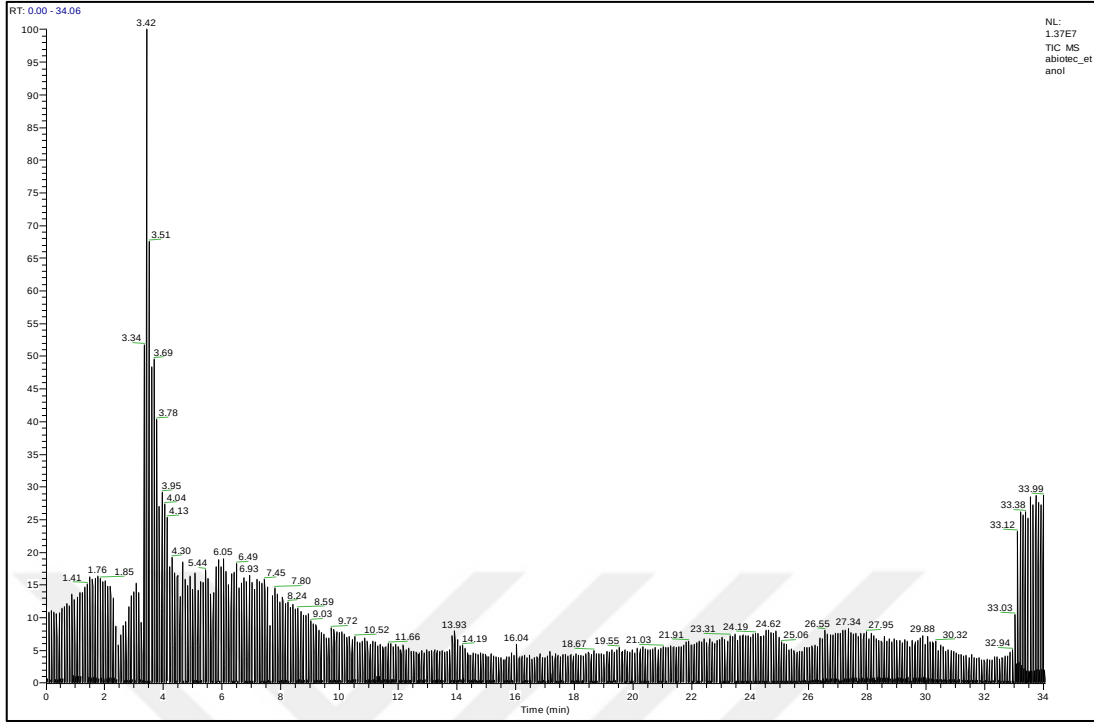
Bileşik Grubu	Bileşik Adı	µg Fenolik Bileşik / g Bitki	µg Fenolik Bileşik / g Ekstre		
		Ananas Kabuğu Toz Formu	Ananas Kabuğu Etanol	Ananas Kabuğu Metanol	Ananas Kabuğu Su
Fenolik Asitler	Gallik Asit	6,958	127,170	20,521	93,547
	Protokatekuik Asit	-	-	-	-
	Klorojenik Asit	-	-	-	6,961
	Kafeik Asit	42,919	92,506	72,670	-
	Gentisik Asit	-	-	-	-
	p_Kumarik Asit	-	-	-	-
	Syringic Asit	129,949	-	423,294	31,944
	Salisilik Asit	-	-	-	-
	Ferulik Asit	-	-	-	-
	4-Hidroksibenzoik Asit	-	-	-	-
	Rozmarinik Asit	-	-	-	17,686
	Ellagic Asit	2,400	11,223	17,545	0,491
Aldehitler ve Diğer Fenolik Maddeler	Protokatekuik Aldehit	3,701	-	-	-
	Sesamol	-	-	-	-
	Vanilin	10,242	-	-	-
Flavonoidler	Epikateşin	-	-	-	-
	Kateşin	11,306	-	-	-
Flavanonlar	Naringenin	-	-	-	0,445
	Hesperidin	-	-	-	-
	Pinocembrin	-	-	-	-
Flavonlar	Apigenin	4,167	23,941	16,681	1,059
	Luteolin	-	-	-	-
	Krisin	-	-	-	-
	Luteolin-7-Glikozit	19,074	97,277	60,741	90,512
	Flavon	-	-	-	-
Stilben ve Diğer Polifenoller	Rezveratrol	-	-	-	-
	Oleuropein	-	-	-	-
	Taxifolin	2,338	-	20,207	-
Flavonoller	Kuarsetin	-	-	-	-
	Galangin	-	-	-	-
	Rutin	-	-	-	-



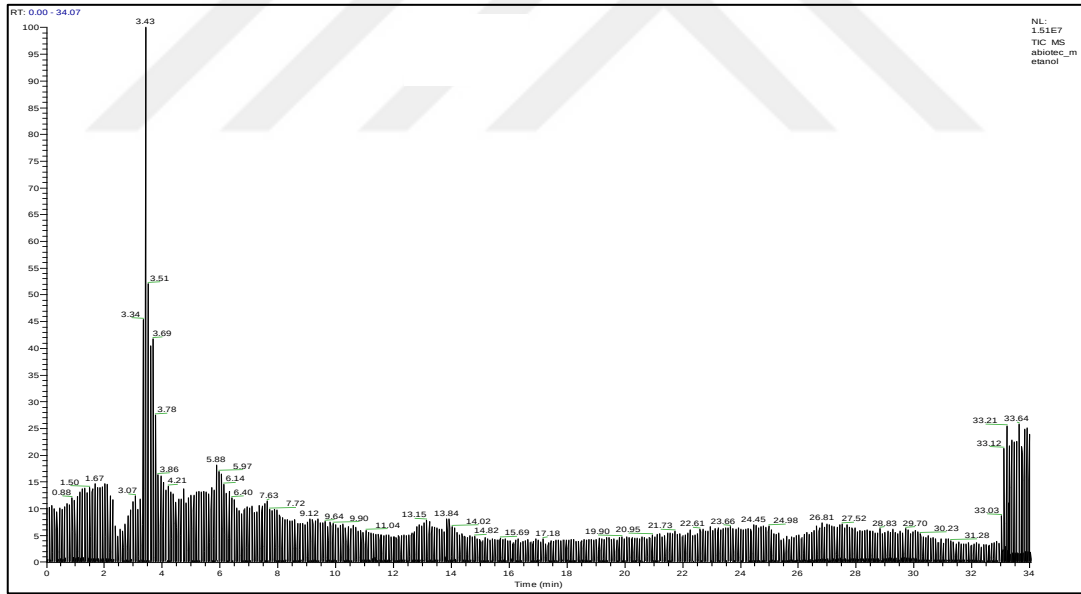
Şekil 4.4. Ananas kabuğu toz demleme (AKTD) ekstraktının LC-MS/MS kromatogramı



Şekil 4.5. Ananas kabuğu su (AKS) ekstraktının LC-MS/MS kromatogramı



Şekil 4.6. Ananas kabuğu etanol (AKEt) ekstraktının LC-MS/MS kromatogramı



Şekil 4.7. Ananas kabuğu metanol (AKMe) ekstraktının LC-MS/MS kromatogramı

Farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlar ve toz formunun LG-MSMS analizi sonuçları incelendiğinde en yüksek konsantrasyonlu bileşikler aşağıdaki gibi gruplandırılabilir;

1- Şiringik Asit:

Ananas Metanol Ekstresi: 423,294 µg/g (en yüksek)

Ananas Toz Formu: 129,949 µg/g

2- Luteolin-7-Glikozit:

Ananas Etanol Ekstresi: 97,277 µg/g

Ananas Su: 90,512 µg/g

3- Kafeik Asit:

Ananas Etanol Ekstresi: 92,506 µg/g

Ananas Metanol Ekstresi: 72,670 µg/g

Bunların dışında içerik miktarı olarak dikkat çeken diğer bileşikler ise aşağıdaki gibidir;

- Gallik Asit: Ananas Etanol Ekstresinde 127,170 µg/g
- Ellajik Asit: Ananas Metanol Ekstresinde 17,545 µg/g
- Rozmarinik Asit: Sadece Ananas Su'nda 17,686 µg/g

Farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlar ve toz formunun LG-MSMS analizi sonuçları ekstraksiyon yöntemlerine göre karşılaştırıldığında ise sonuçlar aşağıdaki gibi sıralanabilir;

1- Ananas Metanol Ekstresi:

Şiringik Asit (423,294 µg/g) ve Ellajik Asit (17,545 µg/g) açısından en zengin bulunmuştur.

Taxifolin (20,207 µg/g) sadece bu ekstrede tespit edilmiş.

2- Ananas Etanol Ekstresi:

Gallik Asit (127,170 µg/g) ve Luteolin-7-Glikozit (97,277 µg/g) içeriği öne çıkmıştır.

Kafeik Asit (92,506 µg/g) konsantrasyonu yüksek çıkmıştır.

3- Ananas Toz Formu:

Şiringik Asit (129,949 µg/g) ve Kafeik Asit (42,919 µg/g) içeriği zengin çıkmıştır.

Kateşin (11,306 µg/g) sadece bu formda bulunmuştur.

4- Ananas Su Ekstresi:

Luteolin-7-Glikozit (90,512 µg/g) ve Gallik Asit (93,547 µg/g) baskın çıkmıştır.

Rozmarinik Asit (17,686 µg/g) sadece bu örnekte bulunmuştur.

Rutin, Kuarsetin, Ferulik Asit, Salisilik Asit gibi önemli fenolikler hiçbir örnekte tespit edilememiştir. Protokatekuik Asit, p-Kumarik Asit, Oleuropein gibi bileşikler de hiçbir formda bulunamamıştır. Sonuç olarak; metanol ekstresi, şiringik asit ve ellajik asit gibi yüksek moleküllü fenolikler için en etkili çözücü iken etanol ekstresi, gallik asit ve kafeik asit gibi hidrofilik bileşiklerde üstün, ananas su ekstresi ise, luteolin-7-glikozit ve rozmarinik asit gibi spesifik bileşikler içermektedir.

4.5. Larval Mortalite Çalışmalarından Elde Edilen Sonuçlar

D. melanogaster larvaları üzerinde gerçekleştirilen mortalite testleri sonucunda hem kontrol grupları hem de farklı form ve konsantrasyonlarda uygulanan ananas kabuğu ekstraktlarının etkileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Tablo 4.6’da yer alan kontrol grubu sonuçlarına göre, sadece distile su uygulanan negatif kontrol grubunda mortalite oranı $2,5 \pm 0,5$ olarak belirlenmiştir. Askorbik asit (ASC) uygulanan grupta bu oran $3,1 \pm 0,7$ ile benzer düzeyde kalırken, yalnızca H_2O_2 uygulanan pozitif kontrol grubunda mortalite oranı anlamlı düzeyde artarak $78,4 \pm 4,2$ ’ye yükselmiştir. ASC ile birlikte H_2O_2 uygulandığında ise mortalite oranı $32,6 \pm 3,8$ ’e düşerek Askorbik asidin oksidatif strese karşı kısmen koruyucu etki gösterdiği saptanmıştır.

Tablo 4.6. Larval mortalite testi kontrol gruplarından elde edilen veriler

Kontrol Grup No	Kontrol Grupları	Mortalite Oranı (%)
1	Distile su (Kontrol)	$2,5 \pm 0,5$
2	Askorbik asit (ASC) (20 mM)	$3,1 \pm 0,7$
3	H_2O_2 (%0,02) (Oksidatif stres pozitif kontrolü)	$78,4 \pm 4,2$
4	ASC + H_2O_2	$32,6 \pm 3,8$

Tablo 4.7 ve Şekil 4.8 incelendiğinde, ananas kabuğu ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarının (1%, 2,5%, 5% ve 10%) larval mortalite üzerinde bağımsız olarak etkili olduğu görülmektedir. En düşük mortalite oranları AKTD (toz demleme) ve AKÇ (çay) formlarında gözlemlenmiş olup, tüm konsantrasyon düzeylerinde bu iki form istatistiksel olarak anlamlı şekilde en düşük oranlara sahiptir ($p < 0.05$). Örneğin, AKTD’nin %1’lik konsantrasyonu ile $5,1 \pm 0,7$; AKÇ’nin %1’lik konsantrasyonu ile $5,5 \pm 0,8$ oranında mortalite elde edilmiştir. Diğer ekstrakt formları olan AKEt, AKMe ve AKSu’nun mortalite oranları da doza bağlı olarak artış göstermiştir, ancak AKTD ve AKÇ ile kıyaslandığında istatistiksel olarak daha yüksek değerler kaydedilmiştir.

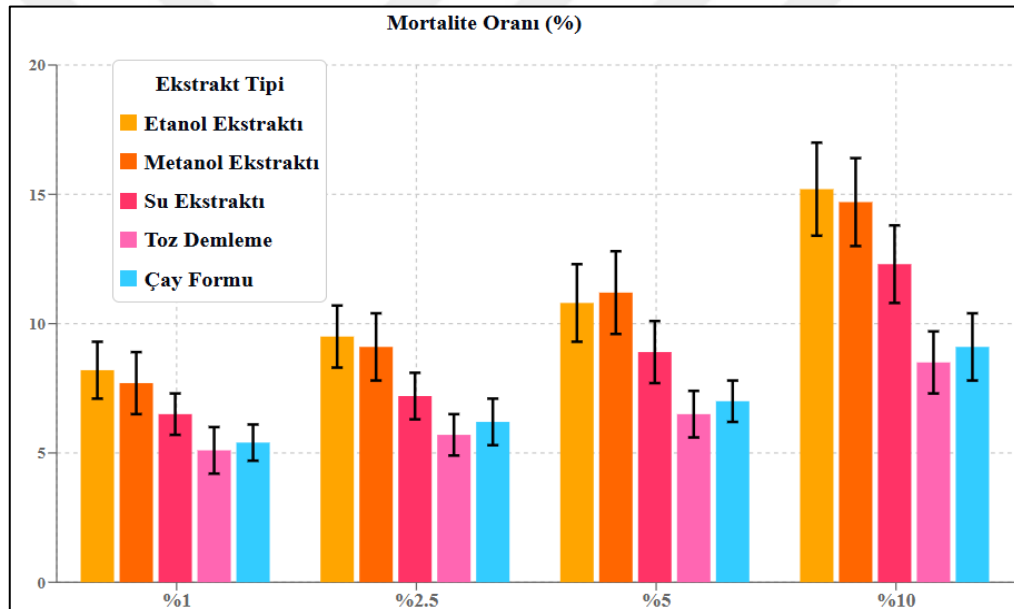
Tablo 4.7. Farklı form ve farklı konsantrasyonlarda ananas kabuğu ekstraktlarının larval mortalite oranları

Ekstrakt Tipi	%1	%2,5	%5	%10
AKEt	8,2 ± 1,1 ^b	9,5 ± 1,3 ^c	10,8 ± 1,5 ^d	15,3 ± 2,0 ^f
AKMe	7,8 ± 1,0 ^{ab}	9,1 ± 1,2 ^{bc}	11,2 ± 1,6 ^{de}	14,7 ± 1,9 ^f
AKSu	6,5 ± 0,9 ^a	7,3 ± 1,0 ^a	8,9 ± 1,2 ^{bc}	12,4 ± 1,7 ^c
AKTD	5,1 ± 0,7 ^a	5,8 ± 0,8 ^a	6,4 ± 0,9 ^a	8,2 ± 1,1 ^b
AKÇ	5,5 ± 0,8 ^a	6,2 ± 0,9 ^a	7,0 ± 1,0 ^{ab}	9,1 ± 1,3 ^c

AKEt: Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı, AKMe: Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı, AKSu: Ananas Kabuğu Su Ekstraktı, AKTD:

Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu, AKÇ: Ananas Kabuğu Demleme Çay Formu

ANOVA ($p < 0,05$) ve Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır. Aynı harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p > 0,05$). Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0,05$)

**Şekil 4.8.** Farklı form ve konsantrasyonlarda ananas kabuğu ekstraktlarının larval mortalite oranlarına ait grafik

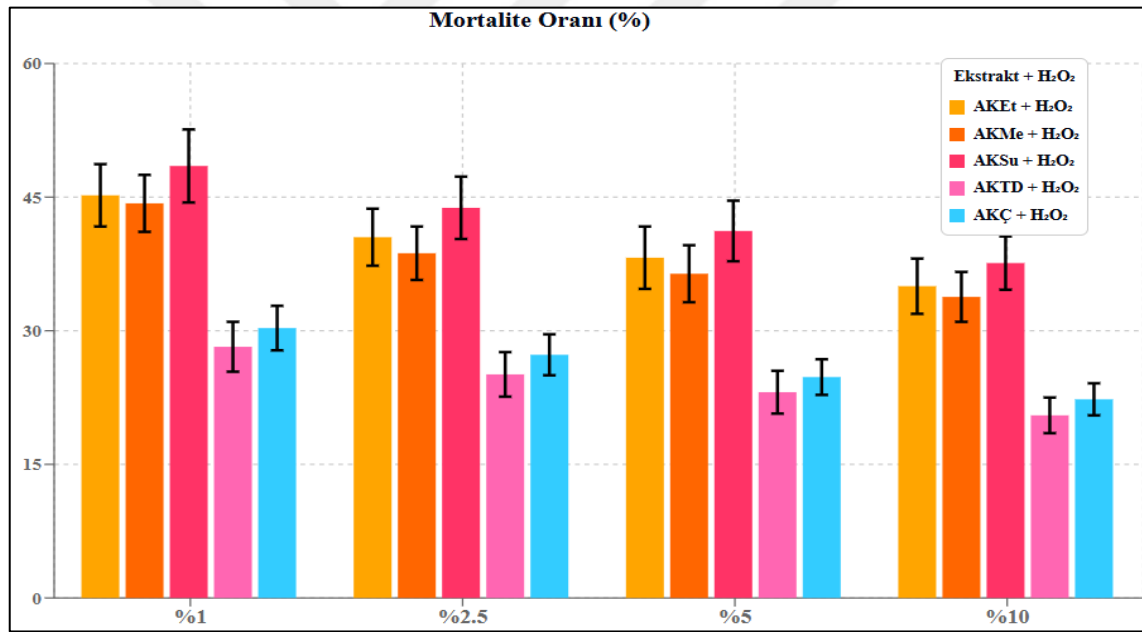
Tablo 4.8 ve Şekil 4.9 ise ekstraktların H₂O₂ ile birlikte uygulanması durumundaki etkilerini göstermektedir. H₂O₂ ile birlikte uygulandığında, tüm ekstrakt formları mortalite oranlarını anlamlı düzeyde düşürmüştür ($p < 0,05$). Ancak en etkili koruyucu etki yine AKTD ve AKÇ formlarında gözlenmiştir. Özellikle AKTD + H₂O₂ grubunda %10'luk konsantrasyonda mortalite oranı $20,5 \pm 1,7$ 'ye; AKÇ + H₂O₂ grubunda ise $22,3 \pm 1,9$ 'a düşmüştür. Bu oranlar ASC + H₂O₂ grubunda gözlemlenen $32,6 \pm 3,8$ oranından anlamlı derecede daha düşüktür ($p < 0,05$), bu da bu iki formun ASC'ye kıyasla daha güçlü bir koruyucu potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.8. Farklı form ve farklı konsantrasyonlarda ananas kabuğu ekstraktlarının H₂O₂ ile birlikte uygulamasının larval mortalite oranları

Ekstrakt Tipi + H ₂ O ₂	%1	%2,5	%5	%10
AKEt + H ₂ O ₂	45,2±3,5 ^d	40,8±3,2 ^{cd}	38,6±3,0 ^c	35,1±2,8 ^b
AKMe + H ₂ O ₂	43,7±3,4 ^d	39,5±3,1 ^{cd}	36,4±2,9 ^{bc}	33,9±2,7 ^b
AKSu + H ₂ O ₂	48,6±3,8 ^e	44,2±3,5 ^d	41,3±3,3 ^{cd}	37,8±3,0 ^{bc}
AKTD + H ₂ O ₂	28,4±2,3 ^a	25,1±2,1 ^a	22,7±1,9 ^a	20,5±1,7 ^a
AKÇ + H ₂ O ₂	30,2±2,5 ^a	27,6±2,3 ^a	24,9±2,1 ^a	22,3±1,9 ^a

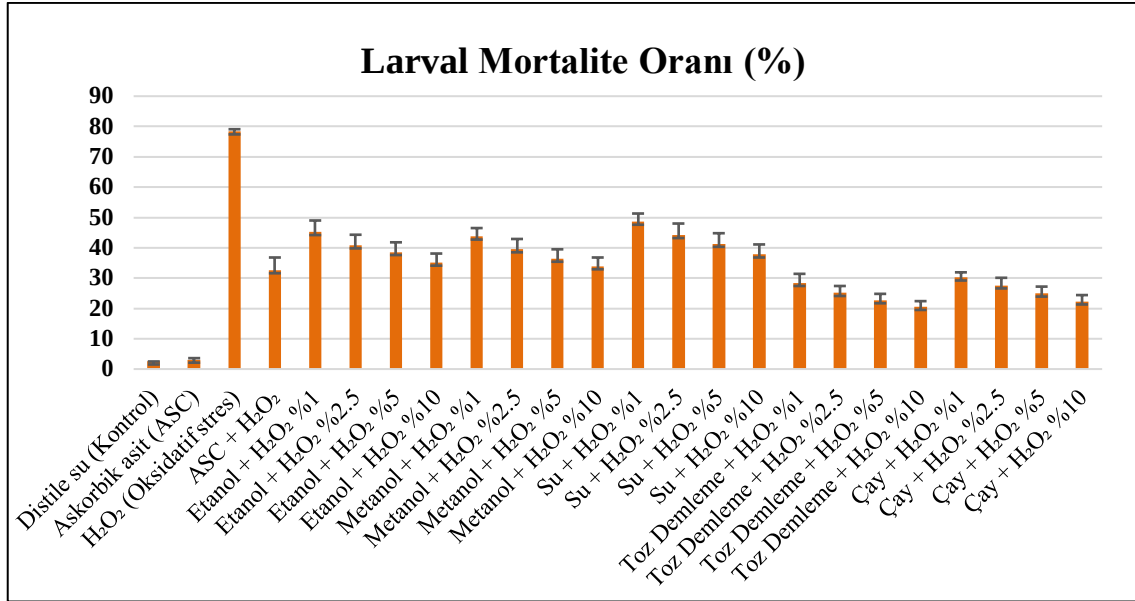
AKEt: Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı, AKMe: Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı, AKSu: Ananas Kabuğu Su Ekstraktı, AKTD: Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu, AKÇ: Ananas Kabuğu Demleme Çay Formu

ANOVA ($p < 0,05$) ve Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır. Aynı harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p > 0,05$). Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0,05$)



Şekil 4.9. Farklı form ve konsantrasyonlarda ananas kabuğu ekstraktlarının H₂O₂ ile birlikte uygulamasının larval mortalite etkinliğine ait grafik

Bu bulgular, ananas kabuğu ekstraktlarının özellikle toz demleme (AKTD) ve çay (AKÇ) formlarında hem tek başına hem de H₂O₂ ile birlikte uygulandığında *Drosophila* larvalarında oksidatif stres kaynaklı ölümleri azaltmada etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Doza bağlı azalan mortalite eğilimleri, bu ekstraktların potansiyel antioksidan kapasiteleriyle ilişkili olabilir (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Kontrol ve tüm uygulama gruplarına ait larval mortalite etkinlik grafiği

4.6. *D. melanogaster*'de Yapılan Biyokimyasal Analizlerden Elde Edilen Sonuçlar

Çalışmamızın bu kısmında ananas kabuğundan hazırlanan farklı ekstraktların (etanol, metanol, su) ve farklı formların (toz demleme ve çay demleme) *D. melanogaster*'de Total Antioksidan Seviyesi (TAS), Total Oksidan Seviyesi (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) üzerine etkileri incelenmiştir.

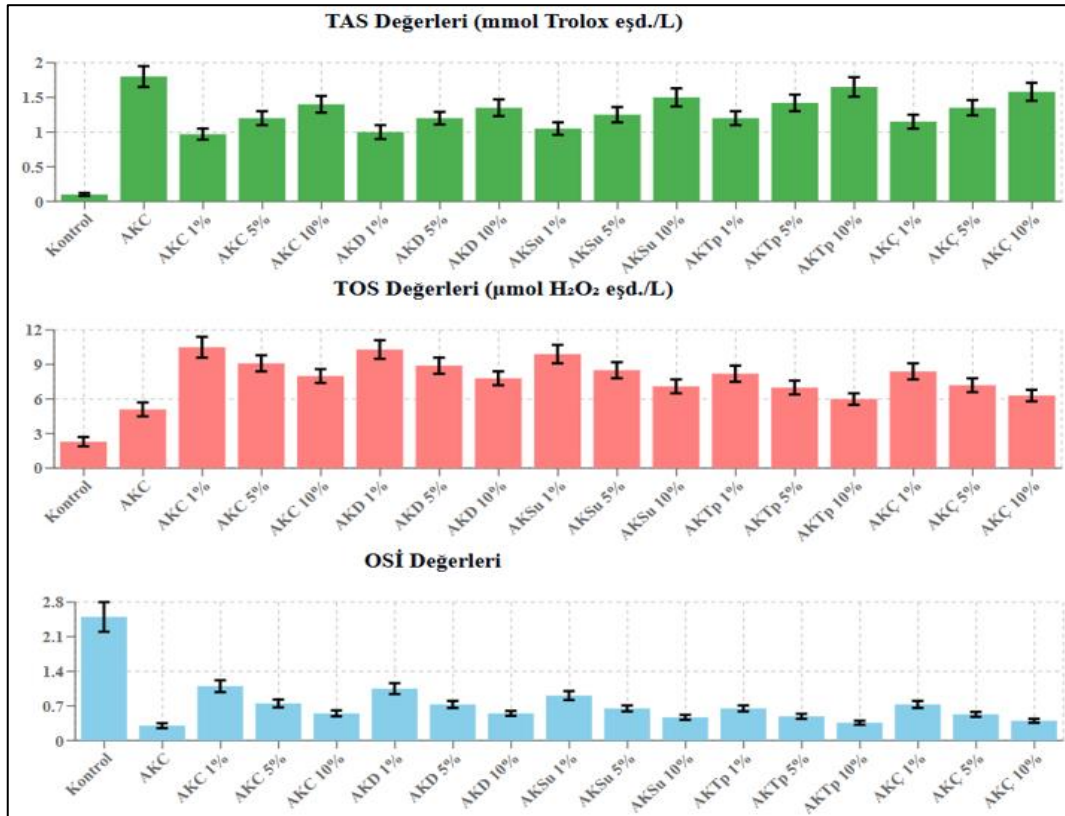
Kontrol grubu olan distile su grubunda TAS değeri $0,10 \pm 0,02$ mmol Trolox eşd./L olarak ölçülmüştür. Pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asit (ASC) grubunda bu değer belirgin şekilde artarak $1,80 \pm 0,10$ mmol Trolox eşd./L olarak tespit edilmiştir (Tablo 4.9 ve Şekil 4.11). Ananas kabuğu ekstraktlarının TAS değerleri üzerine etkileri incelendiğinde, tüm ekstraktların konsantrasyona bağlı olarak TAS değerlerini artırdığı gözlenmiştir. En yüksek TAS değeri AKTD (Ananas Kabuğu Toz Demleme) formunun %10'luk konsantrasyonunda ($1,65 \pm 0,08$ mmol Trolox eşd./L) elde edilmiştir. Bunu sırasıyla AKÇ (Ananas Kabuğu Çay) formunun %10'luk konsantrasyonu ($1,60 \pm 0,08$ mmol Trolox eşd./L) ve AKSu (Ananas Kabuğu Su) ekstraktının %10'luk konsantrasyonu ($1,50 \pm 0,08$ mmol Trolox eşd./L) takip etmiştir. Kontrol grubunda TOS değeri $2,5 \pm 0,1$ μ mol H₂O₂ eşd./L olarak ölçülürken, askorbik asit grubunda bu değer $5,0 \pm 0,3$ μ mol H₂O₂ eşd./L'ye yükselmiştir. Ananas kabuğu ekstraktlarının uygulandığı tüm gruplarda TOS değerleri, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Ancak, ekstraktların konsantrasyonu arttıkça TOS değerleri azalmıştır.

Tablo 4.9. Ananas kabuğundan hazırlanan farklı ekstrakt ve formların *D. melanogaster*'de biyokimyasal etkinliği

Grup	Kon. (%)	TAS (mmol Trolox eşd./L)	TOS (μmol H ₂ O ₂ eşd./L)	OSİ	İstatistiksel Anlamlılık (Tukey Testi)
Distile Su (Kontrol)	-	0,10 ± 0,02	2,5 ± 0,1	2,5 ± 0,15	
Askorbik Asit (ASC)	-	1,80 ± 0,10	5,0 ± 0,3	0,27 ± 0,02	
AKEt	1	0,95 ± 0,05	10,5 ± 0,3	1,11 ± 0,05	a
	5	1,20 ± 0,06	9,2 ± 0,2	0,77 ± 0,30	b
	10	1,40 ± 0,07	8,0 ± 0,2	0,57 ± 0,25	c
AKMe	1	0,98 ± 0,05	10,3 ± 0,3	1,05 ± 0,49	a
	5	1,22 ± 0,06	9,0 ± 0,2	0,74 ± 0,29	b
	10	1,38 ± 0,07	7,8 ± 0,2	0,56 ± 0,25	c
AKSu	1	1,05 ± 0,05	9,8 ± 0,3	0,93 ± 0,43	a
	5	1,28 ± 0,06	8,5 ± 0,2	0,66 ± 0,27	b
	10	1,50 ± 0,08	7,2 ± 0,2	0,48 ± 0,22	d
AKTD	1	1,20 ± 0,06	8,2 ± 0,2	0,68 ± 0,30	b
	5	1,42 ± 0,07	7,1 ± 0,2	0,50 ± 0,24	d
	10	1,65 ± 0,08	6,0 ± 0,1	0,36 ± 0,19	e
AKÇ	1	1,15 ± 0,06	8,5 ± 0,2	0,74 ± 0,33	b
	5	1,38 ± 0,07	7,3 ± 0,2	0,53 ± 0,24	d
	10	1,60 ± 0,08	6,3 ± 0,1	0,39 ± 0,20	e

AKEt: Ananas Kabuğu Etanol Ekstraktı, AKMe: Ananas Kabuğu Metanol Ekstraktı, AKSu: Ananas Kabuğu Su Ekstraktı, AKTD: Ananas Kabuğu Toz Demleme Formu, AKÇ: Ananas Kabuğu Demleme Çay Formu

ANOVA ($p < 0.05$) ve Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır. Aynı harfle gösterilen değerler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p > 0.05$). Farklı harfler istatistiksel olarak anlamlı farklılığı göstermektedir ($p < 0.05$).



Şekil 4.11. TAS, TOS ve OSİ değerlerine ait grafik

En düşük TOS değeri AKTD formunun %10'luk konsantrasyonunda ($6,0 \pm 0,1$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşd./L) gözlenmiştir. Bunu AKÇ formunun %10'luk konsantrasyonu ($6,3 \pm 0,1$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşd./L) ve AKSu ekstraktının %10'luk konsantrasyonu ($7,2 \pm 0,2$ $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşd./L) izlemiştir (Tablo 4.9 ve Şekil 4.11).

Kontrol grubunda OSİ değeri $2,5 \pm 0,15$ olarak hesaplanırken, askorbik asit grubunda bu değer önemli ölçüde düşerek $0,27 \pm 0,02$ olarak bulunmuştur. Ananas kabuğu ekstraktlarının OSİ değerleri üzerine etkileri incelendiğinde, tüm ekstraktların konsantrasyona bağlı olarak OSİ değerlerini düşürdüğü gözlenmiştir. En düşük OSİ değeri AKTD formunun %10'luk konsantrasyonunda ($0,36 \pm 0,19$) elde edilmiştir. Bunu AKÇ formunun %10'luk konsantrasyonu ($0,39 \pm 0,20$) ve AKSu ekstraktının %10'luk konsantrasyonu ($0,48 \pm 0,22$) takip etmiştir (Tablo 4.9 ve Şekil 4.11).

Tukey HSD post-hoc testi sonuçlarına göre, ekstraktlar ve konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($p < 0,05$). Özellikle, %1'lik konsantrasyonlarda genellikle benzer etki görülürken (a grubu), konsantrasyon arttıkça gruplar arasındaki farklar belirginleşmiştir. AKTD ve AKÇ formlarının %5 ve %10'luk konsantrasyonları ile AKSu ekstraktının %10'luk konsantrasyonu en etkili gruplar olarak öne çıkmıştır (d ve e grupları).

Sonuç olarak, ananas kabuğu ekstraktlarının özellikle yüksek konsantrasyonlarda *D. melanogaster*'de antioksidan kapasiteyi artırdığı, oksidatif stresi azalttığı ve bu etkilerin en belirgin olarak toz demleme ve çay formlarında görüldüğü tespit edilmiştir. Bu bulgular, ananas kabuğu ekstraktlarının potansiyel bir antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Son yıllarda gerek Türkiye’de gerekse dünya genelinde tüketimi artış gösteren ananas meyvesi, beraberinde önemli miktarda biyolojik atık oluşumuna neden olmaktadır. Bu atıklardan en yaygını ise ananasın kabuğudur. Ancak yapılan bilimsel araştırmalar, ananas kabuğunun yalnızca atık olarak değerlendirilmemesi gerektiğini, aksine besinsel ve fonksiyonel özellikleriyle dikkat çeken değerli bir bileşen olduğunu ortaya koymaktadır [105]. Bazı çalışmalar, meyvenin tüketilen iç kısmına kıyasla kabuğunun daha yüksek oranda faydalı bileşen içerdiğini ve sağlık açısından daha etkili olabileceğini ileri sürmektedir [106]. Literatürde yer alan pek çok bulgu, ananas kabuğunun yüksek lif içeriğine sahip olduğunu ve bu özelliği sayesinde çeşitli gıdalara eklenerek tüketilmesinin insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler yaratabileceğini göstermektedir [107]. Ayrıca antioksidan bileşenler açısından zengin olan ananas kabuğunun, serbest radikallerle savaşarak vücut sağlığını koruyucu ve destekleyici bir role sahip olduğu da tespit edilmiştir. Doğal içerikli besinlerin günlük yaşamda daha fazla yer bulmaya başlamasıyla birlikte, ananas kabuğu gibi yan ürünlerin değerlendirilmesi de sağlıklı beslenme anlayışı içinde önem kazanmaktadır [108]. Bu bağlamda, ananas kabuğunun özellikle diyet süreçlerinde ödem atıcı ve yağ yakıcı etkileri nedeniyle doğal bir destekleyici olarak tercih edildiği görülmektedir. Ancak mevcut literatürde, bu kabuğun farklı tüketim formları arasında etkinlik açısından karşılaştırmalı değerlendirmelerin sınırlı olduğu dikkat çekmektedir. Hangi formunun antioksidan etkinliğinin açısından daha iyi olduğuna dair net bilimsel kanıtların eksikliği, bu çalışmanın temel çıkış noktasını oluşturmuştur. Bu doğrultuda yürütülen çalışmamızda, ananas kabuğunun farklı formlarda kullanımının etkinliğini karşılaştırmalı olarak incelemek hedeflenmiştir. Aynı zamanda bu araştırma ile, sağlıklı ve uzun bir yaşamın temel unsurlarından biri olarak görülen doğal beslenme yaklaşımlarına katkı sağlamayı; Türkiye’de sınırlı üretimi bulunan ancak tüketimi giderek artan ananas meyvesinin kabuğunu değerli bir besin ögesi olarak değerlendirmeye yönelik farkındalık oluşturmak amaçlanmıştır. Bu kapsamda çalışmamızda, ananas kabuğundan elde edilen farklı form ve ekstraktların fenolik bileşik içeriği, antioksidan aktivitesi ve *in vivo* etkileri incelenmiştir. Elde edilen bulgular, literatürdeki benzer çalışmalarla karşılaştırıldığında, ananas kabuğunun biyoaktif bileşenler açısından zengin bir kaynak olduğunu ve özellikle toz demleme (AKTD) ve çay formunun (AKÇ) bu bileşenleri ekstrakte etmede daha etkili olduğunu göstermiştir.

Farklı bitkisel atık ürünlerin farklı çözücü ve farklı formlarının biyolojik aktivitelerinin de değişebileceğini gösteren literatürde bizim çalışma sonuçlarımıza benzer birçok çalışma mevcuttur. Örneğin; Pandey vd. [109] yapmış oldukları bir çalışmada, limon kabuklarından hazırladıkları etanol, metanol, etil asetat ve su ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini belirlemede agar difüzyon yöntemini kullanmışlardır. En yüksek aktiviteyi *P. aeruginosa*'ya karşı metanol ekstraktının gösterdiğini belirtmişlerdir. Mathur vd. [110] bazı portakal kabuğu ve posasının antimikrobiyal ve antioksidant etkisi üzerine yaptıkları çalışmada, portakal kabuğu ve posasının sulu ekstarktının önemli bir antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Khan ve Haneer [111] nar kabuklarından methanol, ethanol ve su ekstraktı hazırlamışlar ve bunların antibakteriyal etkisini *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı etkisini disk difüzyon yöntemini kullanarak belirlemişlerdir. En yüksek antibakteriyal aktiviteyi etanol ekstraktında *S. aureus*'a karşı 24.5 mm, *E. coli*'ye karşı 23.3 mm ve *P. aeruginosa*'ya karşı 22.3 mm olarak bulmuşlardır. Arora ve Kaur [112] yaptıkları bir çalışmada portakal kabuklarından hazırladıkları aseton, hekzan, metanol ve su ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesine bakmışlardır. En yüksek aktiviteyi metanol ekstraktında *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı bulmuşlardır. Nuamsetti vd. [113] yaptıkları bir çalışmada nar meyve kabukları ve çekirdekleri ile arillerin farklı ekstraktlarına agar difüzyon ve broth dilüsyon yöntemlerini kullanarak gıda ile ilişkili olan 4 bakterinin (*B. subtilis*, *S. aureus*, *E. coli*, ve *S. typhimurium*) antibakteriyal etkisine bakmışlardır. Bütün ekstraktların test edilen tüm bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Roy ve Lingampeta [114] tarafından 5 meyve kabuğu atığından (nar, papaya, ananas, hint ayvası ve jackfruit tropikal meyve) 4 farklı çözücü (kloroform, petrol eteri, aseton ve benzen) kullanarak hazırladıkları ekstraktların gram pozitif ve gram negatif patojenik bakterilere karşı antibakteriyal potansiyelini disk difüzyon yöntemi, MIC ve MBC değerleri ile belirlemişlerdir. Test edilen solventler arasında en iyi antibakteriyal aktiviteyi aseton ekstraktında sırasıyla nar kabuğu, jackfruit kabuğu ve hint ayvasında gözlemlemişlerdir. En yüksek antibakteriyal aktiviteyi nar kabuğu aseton ekstraktında bulmuşlardır.

Çalışmamızda, AKTD'nin en yüksek fenolik madde içeriğine sahip olduğu (749,86 mg GAE/g) ve bunu AKÇ'nin (667,51 mg GAE/g) takip ettiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, geleneksel demleme yöntemlerinin fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda çözücü bazlı yöntemlere kıyasla daha etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Literatürde, meyve

kabuklarının fenolik bileşikler açısından zengin olduğu ve ekstraksiyon yönteminin bu bileşenlerin verimini önemli ölçüde etkilediği belirtilmiştir [115].

Flavonoid içeriği açısından da AKTD en yüksek değeri (585,18 mg QE/g) göstermiş, bunu metanol ekstraktı (AKMe) izlemiştir. Bu bulgular, polar organik çözücülerin flavonoid ekstraksiyonunda etkili olduğu yönündeki literatür bilgileriyle uyumludur. Fenolik bileşiklerde olduğu gibi, flavonoid ekstraksiyonunda da geleneksel yöntemlerin daha başarılı olduğu görülmüştür. Bu durum, AKTD ve AKÇ'nin fenolik ve flavonoid bileşiklerin biyoyararlanımını artırdığını düşündürmektedir.

DPPH serbest radikal giderme aktivitesi testinde, AKÇ'nin yüksek konsantrasyonlarda (200-400 µg/mL) en etkili antioksidan aktiviteyi gösterdiği belirlenmiştir. Ancak, fenolik içeriği en yüksek olan AKTD'nin ortalama bir performans sergilemesi, antioksidan aktivitenin sadece toplam fenolik madde miktarına değil, bileşiklerin türü ve sinerjistik etkilerine de bağlı olduğunu göstermektedir. Bu bulgu, literatürdeki antioksidan aktivitenin kompleks bir mekanizma olduğu yönündeki görüşlerle örtüşmektedir.

Bitki atıklarından antioksidanların çıkarılması büyük ölçüde çözücü seçimine bağlıdır. Farklı çözücüler hem ekstraktların verimini hem de antioksidan özelliklerini önemli ölçüde etkileyebilir, bazı çözücüler antioksidan aktiviteye önemli katkıda bulunan fenolik ve flavonoid bileşikleri çıkarmada daha etkilidir. Farklı polaritelere sahip çözücüler (örneğin, su, etanol, etil asetat, hekzan) farklı tip ve miktarlarda antioksidan bileşiklerini çıkarır. Bununla birlikte su ve etanol genellikle çeşitli bitki atıklarından daha yüksek toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivite sağlar, ancak etil asetat bazen belirli antioksidan analizleri için daha iyi performans gösterebilir. Örneğin; *Cynara cardunculus* L. (Enginar) atıklarının yaprakları ve saplarının farklı polaritelere sahip üç çözücü (hekzan, etanol ve su) ile yapılan çalışma sonucunda su özütlerinin, yapraklar ve gövdeler için kullanılan tekniğe bakılmaksızın en yüksek fenolik içeriğe ve antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir [116].

Oliveira vd. [115]'nin yeşil kahve çekirdeklerinden ve pres unundan toplam çözünür katıların ve biyoaktiflerin çıkarılmasında seçilmiş geleneksel organik çözücülerin rolünü değerlendirmeyi amaçlayan çalışmalarında biyoaktivitelerini değerlendirmek için farklı polaritelere sahip altı çözücü (aseton, etanol, etil asetat, hekzan, izopropanol ve petrol eteri) kullanmışlardır. Sonuçlar, test edilen çözücülerin analiz edilen matrislerden toplam katıların ve antioksidan kapasitesinin çıkarılmasında önemli bir rol oynadığını göstermiştir.

Etanolün hem yeşil kahve çekirdeklerinden hem de öğütülmüş unundan elde edilen çıkarılabilir katılar için ve fenolik ve antioksidan bileşikler için en uygun ekstraksiyon çözücüsü olduğu bulunmuştur. Başka bir çalışmada da bizim çalışmamızda yaptığımız gibi farklı çözücüler ve formlar kullanılmış sonuçların antioksidan içerik ve aktivite açısından farklı olduğu ortaya koyulmuştur. İlgili çalışmada *Moringa oliefera* yaprak atıklarından güneşte kurutma ve tepsi kurutma olmak üzere iki kurutma formu, üç ekstraksiyon çözücüsü, yani su, etanol ve etil asetat kullanılarak elde edilen ekstraktların fiziksel ve antioksidan özellikleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Sonuçta etil asetat ekstraktının hem güneşte kurutma hem de tepsi kurutma yöntemleri için toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik ve antioksidan aktiviteler açısından en yüksek değere sahip olduğu görülmüştür [117]. Tüm bu sonuçlardan çalışmamızı tasarlarken ananas kabuğunu farklı çözücü ve formlarda kullanmamızın isabetli bir karar olduğunu göstermektedir.

LC-MS/MS analizi sonuçlarımız farklı ekstraktların spesifik bileşikler açısından zengin olduğunu göstermiştir. Örneğin, metanol ekstraktı (AKMe) şiringik asit (423,294 µg/g) ve ellajik asit (17,545 µg/g) açısından öne çıkarken, etanol ekstraktı (AKEt) gallik asit (127,170 µg/g) ve luteolin-7-glikozit (97,277 µg/g) içermiştir. Bu bulgular, çözücü polaritesinin ekstrakte edilen bileşikler üzerinde belirleyici olduğunu ve her çözücünün farklı bileşik gruplarını seçici olarak ekstrakte ettiğini desteklemektedir. Ananasın farklı kısımlarının farklı çözücülerle yapılan literatür çalışmalarından elde edilen bilgiler sonuçlarımızı destekler niteliktedir [118]. *A. comosus*'un gövdesi üzerinde yapılan önceki araştırmalar sırasıyla bromelain ve takorinin varlığını göstermiştir [119, 120]. Ayrıca gövdede saponin, flavonoidler, fitosterol, karbonhidratlar, alkaloidler, kardiyak glikozitler, amino asitler ve proteinler de bulunur [121]. Başka bir çalışmada, ananas kabuğunun flavonoidler, fenolik bileşikler, terpenoidler, karotenoidler, kumarinler, saponin, lignin, bitki steroller ve askorbik asit dahil olmak üzere çok sayıda doğal antioksidan içerdiği bulunmuş ve kabuğunda tanımlanan baskın polifenoller arasında kateşin, epikateşin, gallik asit, mirisetin, salisilik asit, p-kumarik asit, trans-sinamik asit, tannik asit ve ferulik asit olduğu vurgulanmıştır [122]. Etanol, metanol ve aseton kullanılarak hazırlanan özütlerde flavonoidler pozitif olarak test edilmiş, fenolik bileşikler ise yalnızca etanol özütünde tespit edilmiştir. Terpenoidler hem etanol hem de metanol özütlerinde pozitif sonuçlar göstermiştir [123].

A. comosus meyvelerinin fitokimyasal bileşenlerinin incelendiği bir çalışmada yedi farklı çözücü (etanol, metanol, etil asetat, aseton, n-hekzan, kloroform ve damıtılmış su)

kullanılarak yapılan ekstraksiyon kullanılmış ve fitokimyasal bileşikler olarak saponinler, tanenler, steroidler, flavonoidler, terpenoidler, naftokinon, inülin, alkaloidler, fenoller ve amino asitler belirlenmiştir [124]. Ananas meyvesi C vitamini, B kompleks vitaminleri, karbonhidratlar, şekerler; ayrıca kalsiyum, manganez, potasyum, magnezyum, demir gibi mineraller ve lif içeriği bakımından da zengin bir besin kaynağıdır [125]. Ayrıca önemli miktarda sindirime yardımcı olan ve terapötik faydalar sunan bromelain adı verilen bir enzim içerir. Bromelain, iltihap giderici, antioksidan, kanser karşıtı ve kalp koruyucu bir ajan olarak umut vaat etmektedir [126].

Ananaslar yüksek oranda antioksidan özellik gösterebilen fenolik maddeler sayesinde, meyve dokusunun oksidasyonunu engelleyici veya geciktirici özellikler barındırmaktadır [127, 128]. Ananas meyvesinin besin maddeleri (vitaminler, mineraller, fenolik maddeler ve vb.) arasında yer alan karotenoidler (meyvelerin sarı ile turuncu renginden sorumlu), antioksidan özellikleri sayesinde bazı insan hastalıklarının (örneğin; kardiyovasküler ve serebral hastalıklar, kanserler, görme bozuklukları vb.) önlemesine yardımcı olabilmektedirler [129, 130]. Ananas kabuğunun işleme sonrasında büyük miktarda atık nedeniyle yararlı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için potansiyel bir kaynak olduğunu belirtmişlerdir. Bromeliaceae familyasının önde gelen yenilebilir üyesi olan ananas dünyadaki en önemli meyvelerden biridir [131]. Öte yandan, Aye and Ko [132] gerçekleştirdikleri bir araştırmada, ananas kabuklarının basit bir fermantasyon süreciyle sirkeye dönüştürülebileceğini ve ananas kabuklarından sirke üretiminin oldukça karlı bir girişim olduğunu belirtmiştir. Yine bu çalışmada üretilen sirkelerin yemek pişirmede ve turşu, sos ve marine hazırlama gibi amaçlarla kullanılabileceği de ifade edilmiştir. Bazı meyve ve çaylarla karşılaştırıldığında, ananas kabuklarının polifenol içeriği daha düşüktür. Örneğin, üzüm (201,0 mg GAE/g FW), elma (296,3 mg GAE/g FW), ve siyah çayda (62–107 mg GAE/g kuru ağırlık) daha yüksek TPC değerleri görülmüştür. Bununla birlikte, muz (72,2 mg GAE/100 g FW) ve yıldız meyvesi (142,9 mg GAE/100 g FW) gibi meyvelerle karşılaştırıldığında ananas kabuğu daha yüksek veya benzer polifenol içeriğine sahiptir.

Roda vd. [133]'ne göre, ananasın endüstriyel işlenmesi sırasında, orijinal meyvenin yaklaşık %75'i yan ürünlere dönüşmektedir ve bu yan ürünlerin en büyük oranını kabuk oluşturmaktadır ve genellikle ticari amaç için kullanılmamaktadır. Literatürdeki önceki raporlar, işleme sonrası kalan bazı meyvelerin kabuklarının, meyvenin yenilen kısmına kıyasla daha yüksek miktarda antioksidan içerdiğini göstermiştir. Ananas kabuğu, önemli

miktarda şeker (sükroz, glikoz ve fruktoz), organik asitler (malik, sitrik ve kinik asitler), temel mineraller (K, Mg, Ca), selüloz, hemiselüloz, pektin, lignin, enzimler ve antioksidanlar, yani flavonoidler, A ve C vitaminleri dahil olmak üzere yüksek bir besin değerine sahiptir. Sınırlı sayıda araştırmacı, bu yan ürün için besinsel ve tıbbi özelliklerine dayalı fonksiyonel bileşenler, bir proteolitik enzim kaynağı veya selüloz ve biyoetanol üretimi gibi çeşitli uygulamaları zaten araştırmaktadır. Ancak, bu yan ürünün gıda ürünlerindeki uygulamalarıyla ilgili çalışmalar sınırlıdır. Ortaya çıkan özelliklere dayanarak, ananas kabuğu biyoaktif bileşenlerinin, koruyucu olarak, sentetik antioksidanların yerine ve fonksiyonel gıdaların geliştirilmesinde potansiyel uygulamaları açısından umut verici bileşenler olduğu düşünülmektedir [134].

Çalışmamızda farklı ekstraktların *in vivo* etkinliklerinin araştırılmasında model bir organizma olan *D. melanogaster* kullanılmıştır. Kolay ve ucuz üretim metodlarına sahip olması, etik kurul zorunluluğunun olmaması, insan çalışmalarına destek olabilecek kabul edilebilir bir model organizma olması ve dahası oksidatif stres ve besin algılama yollarının *Drosophila* model organizmasında çok iyi korunmuş olması bu organizmayı seçmemizin nedenlerinden [135, 136]. Yaptığımız mortalite çalışmalarında, AKTD ve AKÇ'nin hem tek başına hem de H₂O₂ ile birlikte uygulandığında en düşük mortalite oranlarını gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar, bu formların oksidatif strese karşı koruyucu etkisini ortaya koymaktadır. Ayrıca, AKTD + H₂O₂ grubunda mortalite oranının %20,5 ± 1,7'ye düşmesi, bu formun askorbik asitten daha etkili bir koruma sağladığını göstermiştir. Biyokimyasal analizlerde, AKTD ve AKÇ'nin total antioksidan seviyesini (TAS) artırdığı ve oksidatif stres indeksini (OSİ) düşürdüğü gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, ananas kabuğunun endojen antioksidan savunma mekanizmalarını güçlendirdiğini ve oksidatif stres kaynaklı hasarı azalttığını desteklemektedir. Literatürde *D. melanogaster* kullanılarak yapılan birçok benzer çalışma mevcuttur. *Ananas sativa*'nın metanol meyve özütünün polarite sırasına göre farklı ekstraksiyon çözücülerini kullanılarak (n-Heksan, Kloroform, Etil asetat, Aseton ve su) 5, 10 ve 20 mg/ml'lik konsantrasyonlarda yapılan bir *Drosophila* çalışması sonucunda *A. sativa*'nın metanol meyve özütünün, *D. melanogaster* w¹¹¹⁸ sineklerinde oksidatif strese direnç yoluyla yaşlanma karşıtı biyoaktiviteye sahip olduğu vurgulanmıştır. Bu sonucu araştırmacılar; ananasın belirli beslenme yolları yoluyla oksidatif stres direncini artırma yeteneğinden kaynaklanıyor olabileceğine bağlamışlardır [137]. Yapılan başka *Drosophila* çalışmalarında; üzüm kabuğu derisinde bulunan bitki polifenolü olan resveratrolün yaşam süresini arttırdığı [138], bitki fitokonstitüenlerinin *Drosophila*'da

hücrel oksidatif stresi düzenlediği [139], yaşlanma karşıtı bitki ürünlerinin oksidatif stres yanıtının modülasyonu ve besin algılama yollarında bir diyet kısıtlama taklidi olarak hareket etme yeteneği yoluyla uzun ömürlülüğü artırdığı vurgulanmıştır [140]. Ek olarak, meyve ve sebzelerden elde edilen fitokimyasalların, hücre içinde faydalı bir etkiyi uyarmak için öncelikle hücrelerde hafif ila orta derecede oksidatif stresi aktive edebileceği, ancak bunun hala bilimsel bir tartışma alanı olduğu bildirilmiştir [141]. *A. sativa*'nın endojen antioksidan savunma mekanizmasını düzenlediği belirtilmektedir. Ananas'ın oksidatif stresi nasıl iyileştirdiğini anlamak için, ekstraktın endojen lipit peroksidasyonu ve katalaz aktivitesi üzerindeki etkisi ölçülmüştür, çünkü lipit peroksidasyon ürünü olan malondialdehit (MDA) bir oksidatif stres biyobelirtecidir. Paraquata maruz bırakılan ve ekstrakt ile tedavi edilen sinekler, lipit peroksidasyonunun bir modülasyonu olan homojenatlarında malondialdehit üretiminde önemli bir azalma göstermiştir. Gözlemlenen bu düzenleyici etki, antioksidan enzimler için kofaktör görevi gören vitamin ve minerallerin varlığından kaynaklanıyor olabilir [142]. Meyvedeki polifenolik bileşikler ve flavonoidler de, daha önce bildirildiği gibi, ananasın meyve antioksidanlarının sinerjik etkisi nedeniyle serbest radikal kaynaklı hastalıkları önleyebilmesi gibi, oksidatif stresin modülasyonuna ve endojen antioksidan enzim aktivitelerinin artmasına katkıda bulunmuş olabilir [64, 143]. Oksidatif stres yanıtına özgü olan inflamasyonun da, ananasın biyoaktif bileşeni olan bromelain nedeniyle iyileştiği gösterilmiştir. Bromelain anti-inflamatuar özelliklere sahiptir [65, 144, 145]. Ananas'ın DPPH serbest radikalini süpürmedeki korumasının, antioksidan bileşenleriyle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Örneğin flavonoidler, fenolik bileşikler ve tanenler, daha önce ananasın önemli bir antioksidan ve serbest radikal süpürme aktivitesi sergilediği öne sürülmüştür [146].

Bizim çalışmamızda olduğu gibi *Drosophila* çalışmalarında bazı bitki ekstraktlarının, hidrojen peroksit (H_2O_2) bağlı oksidatif stres ve mortaliteyi azaltıcı, yani koruyucu veya iyileştirici etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu tür çalışmalar, ekstraktların antioksidan özellikleri sayesinde larvaların hayatta kalma oranlarını artırabildiğini ortaya koymaktadır. Çalışmalarda genellikle, H_2O_2 ile oluşturulan stres koşullarında bitki ekstraktı verilen ve verilmeyen gruplar karşılaştırılarak hayatta kalma (survival) ve mortalite oranları hesaplanmıştır [147-150]. Ekstraktların koruyucu etkisi, artan hayatta kalma oranı ve azalan mortalite ile değerlendirilmiştir. Ayrıca antioksidan enzim aktiviteleri ve oksidatif stres belirteçleri de ölçülmüştür. Örneğin; Amaranth yaprağı ekstraktı tüketimi, *Drosophila*'da H_2O_2 ile oluşturulan oksidatif strese karşı doza bağlı olarak hayatta kalma

oranını artırmış [151]. Kenevir tohumu yağı, belirli konsantrasyonlarda *Drosophila* larvalarında H_2O_2 kaynaklı oksidatif stresin etkilerini azaltmış ve mortaliteyi düşürmüştür, düşük ve orta konsantrasyonlarda koruyucu etki gözlenirken, çok yüksek konsantrasyonlarda ise olumsuz etki ve artan mortalite bildirilmiştir [152]. Ayrıca, *Artemisia argyi* ekstraktı *Drosophila*'da hem yaşam süresini uzatmış hem de H_2O_2 'ye karşı toleransı artırmış, antioksidan enzim aktivitelerini yükseltmiş ve oksidatif hasarı azaltmıştır [153].

Çalışmamızın son aşamasında, *D. melanogaster* model organizmasında ananas kabuğunun farklı ekstraktlarına yönelik biyokimyasal analizler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgular, özellikle AKTD ve AKÇ ekstraktlarının total antioksidan seviyesi (TAS) üzerinde artışa neden olduğunu ve oksidatif stres indeksi (OSİ) değerlerini düşürdüğünü ortaya koymuştur. Bu sonuçlar, ananas kabuğu ekstraktlarının endojen antioksidan savunma sistemlerini güçlendirerek oksidatif stres kaynaklı hücresel hasarı azalttığını göstermektedir. Literatürde, meyve ve meyve atıklarının *Drosophila* üzerinde benzer antioksidatif etkiler gösterdiği daha önce rapor edilmiştir [154]. Oksidatif stres ve buna karşı gelişen antioksidatif yanıt mekanizmaları, *Drosophila*'dan memelilere kadar evrimsel olarak korunmuş yapılardır. Bu doğrultuda, kısa yaşam döngüsü, genetik manipülasyonlara açık olması ve düşük bakım maliyetleri gibi avantajları sayesinde, *D. melanogaster in vivo* antioksidan etkinliğin değerlendirilmesinde giderek daha fazla tercih edilen bir model organizma haline gelmiştir [155].

Günümüzde birçok *in vivo* antioksidan çalışması, yüksek maliyet, uzun süreli deney tasarımı, etik sınırlamalar ve genetik araçlara erişim kısıtlılığı gibi nedenlerle çoğunlukla kemirgen modelleri ile sınırlandırılmıştır [156]. Buna karşın, biyolojik süreçlerin büyük bir kısmını araştırmak için yaygın olarak kullanılan ve köklü bir genetik model olan *D. melanogaster*, bu tür kısıtlamalardan büyük ölçüde muaf tutulmaktadır [157]. Bu organizma, insan hastalıklarının modellenmesi, potansiyel terapötik ajanların yüksek verimli taranması ve yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesinde etkili bir *in vivo* sistem olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır [158, 159]. Genom analizleri, insanda hastalıklara neden olan genlerin yaklaşık %75'inin *Drosophila*'da homologlarının bulunduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, insan fizyolojisinde yer alan pek çok organ sistemine karşılık gelen ve özellikle sindirim, emilim ve metabolizma süreçlerinde benzer işlevler üstlenen yapılar *Drosophila*'da da bulunmaktadır [160].

Çalışmamızın sonuçları, ananas kabuğunun atık yönetimi ve fonksiyonel gıda üretimi açısından önemli bir kaynak olduğunu göstermektedir. Özellikle AKTD ve AKÇ formlarının yüksek fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi, bu atığın değerlendirilmesi için umut vericidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ananas kabuğundan farklı ekstraksiyon yöntemleriyle (etanol, metanol, su ekstraktları ve toz demleme/çay formları) elde edilen ekstraktların fenolik ve flavonoid içerikleri, antioksidan aktiviteleri, biyokimyasal ve toksisite üzerine etkileri incelenmiştir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlar, ananas kabuğundaki farklı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için en uygun yöntemin seçilmesinin önemini vurgulamaktadır. Özellikle Ananas kabuğu toz demleme (AKTD) formunun hem toplam fenolik madde hem de flavonoid ekstraksiyonunda üstün performans göstermesi, bu yöntemin ananas kabuğu bazlı nutrasötik veya fonksiyonel gıda uygulamaları için tercih edilebilecek bir yöntem olduğunu göstermektedir. Ayrıca, çözücü seçiminin hedeflenen biyoaktif bileşen grubuna göre yapılması gerektiği de anlaşılmaktadır. Örneğin, flavonoid ekstraksiyonu için metanol, genel fenolik bileşikler için ise etanol daha verimli olabilir. Çay formu (AKÇ) fenolik madde içeriğinde ikinci sırada yer alırken, flavonoid içeriğinde metanol ekstraktı (AKMe) daha yüksek değerler göstermiştir. Bu durum, farklı çözücülerin spesifik bileşenlerin ekstraksiyonunda farklı etkinlikte olduğunu ortaya koymaktadır.

Elde ettiğimiz veriler, ananas kabuğu ekstraktlarının tümünün yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır (tüm değerler %79'un üzerindedir). Ancak, fenolik ve flavonoid içeriğiyle antioksidan aktivite arasında her zaman doğrusal bir ilişki olmadığı da görülmektedir. AKÇ formunun yüksek konsantrasyonlarda (200-400 µg/mL) en etkili antioksidan aktivite göstermesi, çay formunun hem pratik kullanım kolaylığı hem de biyoaktif bileşenlerin etkinliği açısından avantajlı olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçlar, ananas kabuğunun fonksiyonel gıda ve nutrasötik uygulamalarda değerli bir kaynak olabileceğini desteklemektedir. Bununla birlikte fenolik içeriği en yüksek olan AKTD'nin DPPH testinde ortalama bir performans göstermesi, antioksidan aktivitenin sadece toplam fenolik madde miktarına değil, bileşenlerin türüne ve sinerjistik etkilerine de bağlı olduğunu ortaya koymuştur.

LC-MSMS sonuçlarına göre; Ananas metanol ekstresi, fenolik çeşitlilik ve konsantrasyon açısından en etkili ekstraksiyon yöntemi çıkmıştır. Ananas Su Ekstresi, beklenmedik şekilde Rozmarinik Asit içermektedir. Kateşin ve Taxifolin gibi nadir bileşiklerin varlığı, ananas kabuğunun nutrasötik potansiyelini artırmıştır. Eksik

bileşikler için farklı ekstraksiyon protokolleri (ultrasonik destekli, süperkritik CO₂) denenebilir.

Larval mortalite ve biyokimyasal analizler incelendiğinde; AKTD ve AKÇ hem tek başına hem de H₂O₂ ile birlikte uygulandığında en düşük mortalite oranlarını göstermiş ve oksidatif strese karşı en etkili korumayı sağlamıştır. Biyokimyasal analizlerde, AKTD ve AKÇ'nin yüksek konsantrasyonlarda total antioksidan seviyesini (TAS) artırdığı, total oksidan seviyesini (TOS) ve oksidatif stres indeksini (OSİ) düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bu formların güçlü antioksidan potansiyele sahip olduğunu desteklemektedir.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde aşağıdaki şekilde özetlenebilir; En düşük toksisite Toz demleme ve çay formlarında, en yüksek antioksidan koruma Toz demleme + H₂O₂ (%73,9 koruma) formunda görülmüştür. Su ekstraktı, düşük fenolik içeriğe rağmen düşük toksisite göstermiştir ve bunun polar bileşenlerin biyoyararlanımıyla ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Konsantrasyon artışı, çoğu formda koruyucu etkiyi artırmıştır.

Çalışmamız ile Ananas kabuğu tozu veya çay formunun, gıda takviyesi veya antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği, Etanol/metanol ekstraktlarının farmakolojik uygulamalarda daha etkili olabileceği, Su ekstraktının ise düşük toksisitesi nedeniyle güvenli bir seçenek olabileceği önerilmektedir. Çalışma, ananas kabuğunun atık değerlendirilmesi ve antioksidan özellikleri açısından önemli potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Bu çalışma, ananas kabuğunun biyoaktif bileşenler açısından zengin bir kaynak olduğunu ve özellikle toz demleme ve çay formlarının bu bileşenleri yüksek verimle ekstrakte ettiğini göstermiştir. Elde edilen sonuçlar, ananas kabuğunun gıda takviyeleri, fonksiyonel gıdalar ve farmasötik uygulamalarda kullanım potansiyeline işaret etmektedir. Özellikle AKÇ'nin yüksek konsantrasyonlardaki etkinliği, antioksidan içeceklerin geliştirilmesinde değerlendirilebilir. Ancak, bu bileşiklerin stabilitesi ve biyoyararlanımını artırmak için ek araştırmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, farklı ekstraksiyon tekniklerinin (örneğin, ultrason destekli ekstraksiyon) verim üzerindeki etkilerinin incelenmesi, fenolik bileşiklerin biyoyararlanımı ve insan sağlığı üzerindeki etkilerini incelemek için klinik öncesi ve klinik çalışmaların yapılması önerilmektedir.

Ananas kabuğu gibi tarımsal atıkların değerlendirilmesi, hem çevresel sürdürülebilirlik ve atık yönetimine katkı sağlayacak hem de sağlık açısından faydalı

ürünlerin geliştirilmesine olanak tanıyacaktır. Bu doğrultuda, endüstriyel iş birlikleri ve multidisipliner çalışmalar teşvik edilmelidir.

Sonuç olarak, bu çalışma ananas kabuğunun özellikle toz demleme ve çay formlarının yüksek biyoaktif içerik ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu bulgular, ananas kabuğunun gıda, farmasötik ve kozmetik endüstrilerinde değerlendirilmesi için temel oluşturmaktadır.



KAYNAKLAR

1. Baysal, A. (2007). *Beslenme*, (11. Baskı), Ankara: Hatiboğlu Yayınevi.
2. Özden, N. B. (2024). *14-18 Yaş Arası Adölesanların Beslenme Alışkanlıkları ve Uyku Kalitesinin Sağlık Durumları Gelişimi Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Atlas Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.
3. James, A., Lawrence, B., & O'Connor, M. (2022). Healthy Eating as a New Way of Life: A Qualitative Study of Successful Long-Term Diet Change. *INQUIRY: The Journal of Health Care Organization, Provision, and Financing*, 59, 00469580221090397.
4. Yaman, K. (2012). Bitkisel Atıkların Değerlendirilmesi ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 12(2), 339-348.
5. Okumuş, E. (2024). Gıda Atıklarının Yönetimi ve Değerlendirilmesi. *Journal of Agriculture, Food and Ecology*, 1(1), 27-32.
6. Mehraj, M., Das, S., Feroz, F., Waheed Wani, A., Dar, S. Q., Kumar, S., ... & Farid, A. (2024). Nutritional Composition and Therapeutic Potential of Pineapple Peel–A Comprehensive Review. *Chemistry & Biodiversity*, 21(5), e202400315.
7. Rahman, I. A., Mohamed, E., Camalxaman, S. N., Haron, N., & Rambely, A. S. (2020). *Ananas comosus* (L.) Merr.: A Mini Review of Its Therapeutic Properties: Medicinal Benefits of Pineapple Plant. *Healthscope: The Official Research Book of Faculty of Health Sciences, UiTM*, 3(2), 54-59.
8. Huang, Y. L., Chow, C. J., & Fang, Y. J. (2011). Preparation and Physicochemical Properties of Fiber-Rich Fraction from Pineapple Peels As a Potential Ingredient. *Journal of Food and Drug Analysis*, 19(3), 4.
9. Owwoeye, T. F., Akinlabu, D. K., Ajayi, O. O., Afolalu, S. A., Popoola, J. O., & Ajani, O. O. (2022, March). Phytochemical Constituents and Proximate Analysis of Dry Pineapple Peels. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 993, No. 1, p. 012027). IOP Publishing.
10. Chaudhary, P., Janmeda, P., Docea, A. O., Yeskaliyeva, B., Abdull Razis, A. F., Modu, B., ... & Sharifi-Rad, J. (2023). Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidants: Potential Crosstalk in the Pathophysiology of Human Diseases. *Frontiers in Chemistry*, 11, 1158198.
11. Estalkhi, M. F. (2024). Antioksidan İçeren Besinler. *Sağlık & Bilim 2024: Yaşlanma Biyolojisi ve Sağlık*, 125-138.
12. Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Antioksidanlar. *Veterinary Journal of Mehmet Akif Ersoy University*, 1(1), 65-76.

13. Ratnam, V. D., Ankola, D. D., Bhardwaj, D. K., Sahana, M. N. V., & Ravi, K. (2006). Role of Antioxidants in Prophylaxis and Therapy: A Pharmaceutical Perspective. *Journal of Controlled Release*, 113, 189–207.
14. Thomas, R. H., Bernards, M. A., Drake, E. E., & Guglielmo, G. C. (2010). Changes in the Antioxidant Activities of Seven Herb- and Spice-based Marinating Sauces After Cooking. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23, 244–252.
15. Atta, E. M., Mohamed, N. H., & Abdelgawad, A. A. (2017). Antioxidants: An Overview on the Natural and Synthetic Types. *Eur. Chem. Bull*, 6(8), 365–375.
16. Halliwell, B. (2024). Understanding Mechanisms of Antioxidant Action in Health and Disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 25(1), 13–33.
17. Marwicka, J. & Zięba, A. (2021). Antioxidants as a Defence Against Reactive Oxygen Species. *Aesthetic Cosmetol. Med*, 10, 271–276.
18. Fridovich, I. (1989). Superoxide Dismutases: An Adaptation to a Paramagnetic gas. *Journal of Biological Chemistry*, 264(14), 7761–7764.
19. Roginsky, V., & Lissi, E. A. (2005). Review of Methods to Determine Chain-Breaking Antioxidant Activity in Food. *Food Chemistry*, 92(2), 235–254.
20. MacDonald-Wicks, L. K., Wood, L. G., & Garg, M. L. (2006). Methodology for the Determination of Biological Antioxidant Capacity *in vitro*: a Review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2046–2056.
21. De Oliveira Silva, E., & Batista, R. (2017). Ferulic Acid and Naturally Occurring Compounds Bearing a Feruloyl Moiety: A Review on their Structures, Occurrence, and Potential Health Benefits. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(4), 580–616.
22. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352.
23. Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., & Pouységu, L. (2011). Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(3), 586–621.
24. Aruoma, O. I. (1998). Free Radicals, Oxidative Stress, and Antioxidants in Human Health and Disease. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75, 199–212.
25. Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, 56, 317–333.
26. D'Archivio, M., Filesì, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R. (2007). Polyphenols, Dietary Sources and Bioavailability. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 43(4), 348.

27. Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic Compounds in Plants and Agri-Industrial by-Products: Antioxidant Activity, Occurrence, and Potential uses. *Food Chemistry*, 99, 191–203.
28. Du, Q., Zheng, J., & Xu, Y. (2008). Composition of Anthocyanins in Mulberry and their Antioxidant Activity. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 390–395.
29. Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Junior, M. R. M. (2019). Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power. In *Bioactive Compounds* (pp. 33-50). Woodhead Publishing.
30. Bartel, I., Mandryk, I., Horbańczuk, J. O., Wierzbicka, A., & Koszarska, M. (2023). Nutraceutical Properties of Syringic Acid in Civilization Diseases. *Nutrients*, 16(1), 10.
31. Yılmaz, Y., & Toledo, R. T. (2006). Health Aspects of Functional Grape Seed Constituents. *Food Science and Technology*, 15, 422–433.
32. Kolaç, T., Gürbüz, P., & Yetiş, G. (2017). Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri. *İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi*, 5(1), 26–42.
33. Rice-Evans, C., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure-Antioxidant Activity Relationships of Flavonoids and Phenolic Acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20, 933–956.
34. Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical Methods used in Determining Antioxidant Activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), 3380.
35. Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of Antioxidant Activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781.
36. Moharram, H. A., & Youssef, M. M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A review. *Alexandria Journal of Food Science and Technology*, 11, 31–42.
37. Koca, N., & Karadeniz, F. (2005). Gıdalardaki Doğal Antioksidan Bileşikler. *Gıda*, 30(4), 229–236.
38. Campos, C., Guzmán, R., López-Fernández, E., & Casado, Á. (2009). Evaluation of the Copper (II) Reduction Assay Using Bathocuproine Disulfonic Acid Disodium Salt for the Total Antioxidant Capacity Assessment: The CUPRAC–BCS assay. *Analytical Biochemistry*, 392(1), 37-44.
39. Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT – Food Science and Technology*, 28(1), 25–30.

40. Bibi Sadeer, N., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G., & Mahomoodally, M. F. (2020). The Versatility of Antioxidant Assays in Food Science and Safety. Chemistry, Applications, Strengths, and Limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709.
41. Huang, D. B., & Prior, R. L. (2005). The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841–1856.
42. Foti, M. C. (2015). Use and Abuse of the DPPH Radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(40), 8765-8776.
43. Okan, O. T., Varlıbaş, H., Öz, M., & Deniz, İ. (2013). Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 13(1), 48–59.
44. Büyüktuncel, E. (2014). Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93–103.
45. Güneş, E. (2016). *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae)'de Kinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)'nın Total Oksidatif Stres Üzerine Etkisi. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 19(3), 261–267.
46. Scandalios, J. G. (2002). The Rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences*, 27(9), 483–486.
47. Erel, O. (2005). A New Automated Colorimetric Method for Measuring Total Oxidant Status. *Clinical Biochemistry*, 38(12), 1103-1111.
48. Çobanoğlu, S., (2011). *Deneyisel Ateroskleroz Oluşturulmuş Sıçanlarda L-Argininin TAS, TOS ve Oksidatif Stres İndeksine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
49. Kösecik, M., Erel, O., Sevinç, E., & Selek, S. (2005). Increased Oxidative Stress in Children Exposed to Passive Smoking. *International Journal of Cardiology*, 100(1), 61–64.
50. Romay, C., Pascual, C., & Lissi, E. A. (1996). The Reaction Between ABTS Radical Cation and Antioxidants and Its use to Evaluate the Antioxidant Status of Serum Samples. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29(2), 175–183.
51. Altunkaya, V., (2014). *Normotermikve HipotermikBypass'da Total Antioksidan Seviye (TAS), Total Oksidan Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Değişimlerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
52. Köksal, C. N., (2019). *Streptozotosinile Tip 2 Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Teucrium Polium L. (Kısa Mahmut Otu) Ekstraktının Oksidan ve Antioksidan*

Sistemler Üzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.

53. Altan, N., Dinçel, A. S., & Koca, C. (2006). Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Turkish Journal of Biochemistry*, 31(2), 51–56.
54. Fidan, A. F., (2007). *Deneyisel Diyabet Oluşturulmuş Ratlarda Diyetle Katılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu ve Lipid Peroksidasyonu ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması*, Doktora tezi, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
55. Barbehenn, R. V., & Stannard, J. (2004). Antioxidant Defense of the Midgut Epithelium by the Peritrophic Envelope in Caterpillars. *Journal of Insect Physiology*, 50, 783–790.
56. Missirlis, F., Rahlfs, S., Dimopoulos, N., Bauer, H., Becker, K., Hilliker, A., & Phillips, J. P. (2003). A Putative Glutathione Peroxidase of *Drosophila* Encodes Thioredoxin Peroxidase that Provides Resistance Against Oxidative Stress but Fails to Complement a Lack of Catalase Activity. *The Journal of Biological Chemistry*, 384(3), 463–472.
57. Hossain, M. F. (2016). World Pineapple Production: An Overview. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 16(4), 11443-11456.
58. Chaudhary, S., & Singh, B. (2024). Pineapple By-Products Utilization: Progress Towards the Circular Economy. *Food and Humanity*, 2, 100243.
59. Escalona, M., Lorenzo, J. C., González, B., Daquinta, M., González, J. L., Desjardins, Y., & Borroto, C. G. (1999). Pineapple (*Ananas comosus* L. Merr) Micropropagation in Temporary Immersion Systems. *Plant Cell Reports*, 18, 743-748.
60. Kate, S., Sossa, E. L., Agbangba, C. E., Idohou, R., Aïde, E. S., Tovihoudji, G. P., & Sinsin, B. (2020). Mineral Fertilization Influences the Acceptability of Fresh Pulp and Juice Made From Sugar Loaf Pineapple. *Agricultural Sciences*, 11(03), 342.
61. Gunde, M. C., & Amnerkar, N. D. (2015). Ethnobotanical and Pharmacological Properties of Pineapple Protease. *EJPMR*, 2(5), 126–135.
62. Souza, R. Á. T., da Fonseca, T. R. B., de Souza Kirsch, L., Silva, L. S. C., Alecrim, M. M., da Cruz Filho, R. F., & Teixeira, M. F. S. (2016). Nutritional Composition of Bioproducts Generated from Semi-Solid Fermentation of Pineapple Peel by Edible Mushrooms. *African Journal of Biotechnology*, 15(12), 451-457.
63. Khalid, N., Hafiz, S., Ahmed, I., & Shahidi, F. (2016). Pineapple Juice. In F. Shahidi & C. Alasalvar (Eds.), *Handbook of Functional Beverages and Human Health* (pp. 489–498). CRC Press.

64. Dabesor, A. P., Asowata-Ayodele, A. M., & Umoiette, P. (2017). Phytochemical Compositions and Antimicrobial Activities of *Ananas comosus* peel (M.) and *Cocos nucifera* kernel (L.) on Selected Food Borne Pathogens. *American Journal of Plant Biology*, 2(2), 73-76.
65. Maurer, R. H. (2001). Bromelain: Biochemistry, Pharmacology and Medical use. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 58(9), 1234–1245.
66. Rathnavelu, V., Alitheen, N. B., Sohila, S., Kanagesan, S., & Ramesh, R. (2016). Potential Role of Bromelain in Clinical and Therapeutic Applications. *Biomedical Reports*, 5(3), 283–288.
67. Alves Nobre, T., de Sousa, A. A., Pereira, I. C., Carvalho Pedrosa-Santos, Á. M., Lopes, L. D. O., Debia, N., ... & Torres-Leal, F. L. (2025). Bromelain as a Natural Anti-inflammatory Drug: a Systematic Review. *Natural Product Research*, 39(5), 1258-1271.
68. Li, T., Shen, P., Liu, W., Liu, C., Liang, R., Yan, N., & Chen, J. (2014). Major Polyphenolics in Pineapple Peels and their Antioxidant Interactions. *International Journal of Food Properties*, 17(8), 1805-1817.
69. Lasunon, P., Phonkerd, N., Tettawong, P., & Sengkhamparn, N. (2022). Total Phenolic Compound and Its Antioxidant Activity of By-Product From Pineapple. *Food Research*, 6(4), 107-112.
70. Adumanya, O. C. U. (2022). Pineapple Fruit Peels as a Source of Nutraceuticals. In *Food and Agricultural Byproducts as Important Source of Valuable Nutraceuticals* (pp. 107-115). Cham: Springer International Publishing.
71. Campos, D. A., Ribeiro, T. B., Teixeira, J. A., Pastrana, L., & Pintado, M. M. (2020). Integral Valorization of Pineapple (*Ananas comosus* L.) By-products Through a Green Chemistry Approach Towards Added Value Ingredients. *Foods*, 9(1), 60.
72. Rand, M. D., Tennessen, J. M., Mackay, T. F., & Anholt, R. R. (2023). Perspectives on the *Drosophila melanogaster* Model Foradvances in Toxicological Science. *Currentprotocols*, 3(8), e870.
73. Biglou, S. G., Bendena, W. G., & Chin-Sang, I. (2021). An Overview of the Insulin Signaling Pathway in Model Organisms *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Peptides*, 145, 170640.
74. Obafemi, O. T., Ayeleso, A. O., Adewale, O. B., Unuofin, J., Ekundayo, B. E., Ntwasa, M., & Lebelo, S. L. (2025). Animal Models in Biomedical Research: Relevance of *Drosophila melanogaster*. *Heliyon*, 11(1).
75. Victor Atoki, A., Aja, P. M., Shinkafi, T. S., Ondari, E. N., Adeniyi, A. I., Fasogbon, I. V., ... & Akin-Adewumi, A. (2025). Exploring the Versatility of *Drosophila melanogaster* as a Model Organism in Biomedical Research: A Comprehensive Review. *Fly*, 19(1), 2420453.

76. Coşkun, R., & Ayar, A. (2024). Effects of Herbalsaf Flower Oil on Longevity and Oxidative Stress. *Commagene Journal of Biology*, 8(2), 66-74.
77. Wang, Z., Zhang, L., & Wang, X. (2023). Molecular Toxicity and Defense Mechanisms in Duced by Silver Nano Particles in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Environmental Sciences*, 125, 616-629.
78. Rohner, P. T., Pitnick, S., Blanckenhorn, W. U., et al. (2018). Interrelations of Global Macroecological Patterns in Wing and Thorax Size, Sexual Size Dimorphism, and Range Size of the Drosophilidae. *Ecography*, 41(10), 1707–1717.
79. Adesola, R. O., Lawal, J. T., & Oladele, O. E. (2021). *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830): A Potential Model Forhuman Diseases. *World News of Natural Sciences*, 36, 42-59.
80. Yamaguchi, M., & Yamamoto, S. (2022). Role of Drosophila in Human Disease Research 2.0. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8), 4203.
81. Fidan, M., & Ayar, A. (2021). Genetically Modified Organisms and Effects on Human Health. *Research & Reviews in Health Sciences-I*, 901.
82. Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., et al. (2000). The Genome Sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461), 2185–2195.
83. Burny, C., Nolte, V., Dolezal, M., & Schlötterer, C. (2021). Highlyparallel Genomic Selection Response in Replicated *Drosophila melanogaster* Populations with Reduced Genetic Variation. *Genome Biology and Evolution*, 13(11), evab239.
84. Casas-Tintó, S. (2024). Drosophila as a Model for Human Disease: Insights Into Rare and Ultra-rare Diseases. *Insects*, 15(11), 870.
85. Nüsslein-Volhard, C., & Wieschaus, E. (1980). Mutations Affecting Segment Number and Polarity in Drosophila. *Nature*, 287, 795–801.
86. Ruiz-Losada, M., Blom-Dahl, D., Córdoba, S., & Estella, C. (2018). Specification and Patterning of Drosophila Appendages. *Journal of Developmental Biology*, 6, 17.
87. Harding, K., & White, K. (2018). Drosophila as a Model for Developmental Biology: Stem Cell-fate Decisions in the Developing Nervous System. *Journal of Developmental Biology*, 6, 25.
88. Tolwinski, N. S. (2024). Drosophila-A Model System for Developmental Biology. *Journal of Developmental Biology*, 12(2), 15.
89. Held, L. I. Jr. (2017). *Deep homology?: Uncanny Similarities of Humans and Flies Uncovered by Evo-devo*. Cambridge University Press.
90. Patel, S., DeMaine, S., Heafield, J., Bianchi, L., & Prokop, A. (2017). The Droso4schools Project: Long-Term Scientist-teacher Collaborations to Promote

Science Communication and Education in Schools. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 70, 73–84.

91. Zhao, Y., van de Leemput, J., & Han, Z. (2023). The Opportunities and Challenges of Using *Drosophila* to Model Human Cardiac Diseases. *Frontiers in Physiology*, 14, 1182610.
92. Casas-Tintó, S. (2024). *Drosophila* as a Model for Human Disease: Insights into Rare and Ultra-Rare Diseases. *Insects*, 15(11), 870.
93. Lalhruaitluangi, N., & Mandal, D. (2024). Medicinal and Nutritional Characteristics of Pineapple in Human Health: A review. *Journal of Postharvest Technology*, 12(2), 1-13.
94. Mohsin, A., Jabeen, A., Majid, D., Allai, F. M., Dar, A. H., Gulzar, B., & Makroo, H. A. (2020). Pineapple. In *Antioxidants in fruits: Properties and health benefits* (pp. 379-396). Singapore: Springer Singapore.
95. Joy, G. F. F., Sunday, O. Z., Remilekun, A., & Olusegun, A. D. (2022). Waste-to-Wealth; Nutritional Potential of Five Selected Fruit Peels and their Health Benefits: A review. *African Journal of Food Science*, 16(7), 172-183.
96. Gopalraaj, J., & Velayudhannair, K. (2024). A Comparative Study of Nutrient Composition, Proteolytic Activity, Phytochemical Profiles, Vitamin C Content, and Antioxidant Properties in the Peels of Selected Perennial Fruits. *Agricultural Research*, 1-12.
97. Slinkard, K., & Singleton, V. L. (1977). Total Phenol Analysis: Automation and Comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28(1), 49–55.
98. Park, Y. S., Jung, S. T., Kang, S. G., Heo, B. G., Arancibia-Avila, P., Toledo, F., ... & Gorinstein, S. (2008). Antioxidants and Proteins in Ethylene-treated Kiwifruits. *Food Chemistry*, 107(2), 640–648.
99. Açıkgöz, M. A., Ay, E. B., & Kocaman, B. (2025). Secondary Metabolites and Biological Activities From *Achillea gypsicola* Hub-Mor. Under Foliar Applications of Chitosan and Salicylic Acid. *Food Science & Nutrition*, 13(5), e70225.
100. Üst, Ö., Yalçın, E., Çavuşoğlu, K., & Özkan, B. (2024). LC–MS/MS, GC–MS and Molecular Docking Analysis for Phytochemical Fingerprint and Bioactivity of *Beta vulgaris* L. *Scientific Reports*, 14(1), 7491.
101. Li, Y. M., Chan, H. Y. E., Huang, Y., & Chen, Z. Y. (2007). Green tea Catechins Upregulate Superoxide Dismutase and Catalase in Fruit Flies. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(5), 546–554.
102. Staats, S., Wagner, A. E., Kowalewski, B., Rieck, F. T., Soukup, S. T., Kulling, S. E., & Rimbach, G. (2018). Dietary Resveratrol Does not Affect Life Span, Body

Composition, Stress Response, and Longevity-related gene Expression in *Drosophila melanogaster*. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), 223.

103. Güneş, E. (2020). Alteration in the Oxidative Status of *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) Fed with a Diet Containing *Centaurea Depressa* M. Bieb. (Asteraceae). *Animal Biology*, 70(2), 227–237.
104. Erel, O. (2004). A Novel Automated Direct Measurement Method for Total Antioxidant Capacity Using a New Generation, More Stable ABTS Radical Cation. *Clinical biochemistry*, 37(4), 277-285.
105. Saraswaty, V., Risdian, C., Primadona, I., Andriyani, R., Andayani, D. G. S., & Mozef, T. (2017, March). Pineapple Peel Wastes as a Potential Source of Antioxidant Compounds. In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 60, No. 1, p. 012013). IOP Publishing.
106. Roda, A., & Lambri, M. (2019). Food Uses of Pineapple Waste and By-Products: A Review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(4), 1009-1017.
107. Dhar, P., Nickhil, C., & Deka, S. C. (2025). Enzymatic Modification of Dietary Fiber Extracted from Queen Pineapple Waste: Implications for Functional and Structural Properties. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 19(4), 2195-2207.
108. Mitra, S., Dua, T. K., Easmin, S., Sarkar, S., Roy, A. P., Sahu, R., ... & Paul, P. (2024). Green Synthesis of Copper Nanoparticles by Using Pineapple Peel Waste: *In vitro* Characterizations and Antibacterial Potential. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 47(8), 1151-1161.
109. Pandey, A., Kaushik, A., & Tiwari, S. K. (2011). Evaluation of Antimicrobial Activity and Phytochemical Analysis of *Citrus limon*. *Journal of Pharma ceutical and Biomedical Sciences*, 13, 1–7.
110. Mathur, A., Verma, S. K., Purohit, R., Gupta, V., Dua, V. K., Prasad, G. B. K. S., Mathur, D., Singh, S. K., & Singh, S. (2011). Evaluation of *in vitro* Antimicrobial and Antioxidant Activities of Peel and Pulp of Some Citrus Fruits. *IJPI's Journal of Biotechnology and Biotherapeutics*, 1(2), 1–17.
111. Khan, J. A., & Haneef, S. (2011). Antibacterial Properties of *Punica Granatum* peels. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, 2(3), 23-27.
112. Arora, M., & Kaur, P. (2013). Antimicrobial & Antioxidant Activity of Orange Pulp and Peel. *International Journal of Science and Research*, 2(11), 412–415.
113. Nuamsetti, T., Dechayuenyong, P., & Tantipaibulvut, S. (2013). Antibacterial Activity of Pomegranate Fruit Peels and Arils. *Science Asia*, 38, 319–322.
114. Roy, S., & Lingampeta, P. (2014). Solid Wastes of Fruit Peels as Source of Low-cost Broad Spectrum Natural Antimicrobial Compounds: Furanone, Furfural and

Benzenetriol. *International Journal of Research in Engineering and Technology*, 273–279.

115. Oliveira, É. R., Silva, R. F., Santos, P. R., & Queiroz, F. (2019). Potential of Alternative Solvents to Extract Biologically Active Compounds From Green Coffee Beans and Its Residue From the Oil Industry. *Food and Bioproducts Processing*, 115, 47–58.
116. HajjiNabih, M., Boulika, H., El Hajam, M., Alghonaim, M. I., Kandri, N. I., Alsalamah, S. A., & Boufahja, F. (2023). Successive Solvent Extraction, Characterization and Antioxidant Activities of Cardoon Waste (Leaves and Stems) Extracts: Comparative Study. *Molecules*, 28(3), 1129.
117. Iwansyah, A. C., Manh, T. D., Andriana, Y., Aiman bin Hessian, M., Kormin, F., Cuong, D. X., ... & Ngoc Minh, T. (2020). Effects of Various Drying Methods on Selected Physical and Antioxidant Properties of Extracts from *Moringa oliefera* Leaf Waste. *Sustainability*, 12(20), 8586.
118. Sharma, A., Kumar, L., Malhotra, M., Singh, A. P., & Singh, A. P. (2024). Ananas Comosus (Pineapple): A Comprehensive Review of Its Medicinal Properties, Phytochemical Composition, and Pharmacological Activities. *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 14(5).
119. Zaman, M., Zakariya, S. M., Nusrat, S., Khan, M. V., Qadeer, A., Ajmal, M. R., & Khan, R. H. (2017). Surfactant-mediated Amyloidogenesis Behavior of Stem Bromelain; a Biophysical Insight. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 35(7), 1407-1419.
120. Rahayu, P., Agustina, L., & Tjandrawinata, R. R. (2017). Tacorin, an Extract From Ananas Comosus Stem, Stimulates Wound Healing by Modulating the Expression of Tumor Necrosis Factor α , Transforming Growth Factor β and Matrix Metalloproteinase 2. *FEBS Open Bio*, 7(7), 1017-1025.
121. Ofere, J. E., & Achuba, F. I. (2023). Proximate Composition, Mineral Content and Phytochemical Evaluation of Different Solvent Extracts of Pineapple (*Ananas comosus*) Stalk. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 27(2), 337-341.
122. Soni, S., Noor, U., & Gupta, E. (2022). *Ananas comosus* Peel Waste, a Novel Substrate of Therapeutic Potential: Evidences and Prospects. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 13(2), 129–143.
123. Namrata, Sharma, Y., & Sharma, T. (2017). Anti-microbial, Anti-oxidant Activity and Phytochemical Screening of Polyphenolic Flavonoids Isolated from Peels of *Ananas comosus*. *International Journal of Engineering Research*, 6(9), 285–298.
124. Kaushik, J., & Kundu, N. (2018). Phytochemical Screening, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Polyphenolic Flavonoids Isolated From Fruit of *Ananas*

comosus in Various Solvents. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 8(2), 33–37.

125. deAncos, B., Sánchez-Moreno, C., & González-Aguilar, G. A. (2017). Pineapple Composition and Nutrition. In *Handbook of Pineapple Technology: Production, Postharvest Science, Processing and Nutrition* (pp. 221–239).
126. Ali, M. M., Hashim, N., Abd Aziz, S., & Lasekan, O. (2020). Pineapple (*Ananas comosus*): A Comprehensive Review of Nutritional Values, Volatile Compounds, Health Benefits, and Potential Food Products. *Food Research International*, 137, 109675.
127. Helen, P. M., Teena, D. S., Jacob, J. G., James, J. J., & Anitha, C. (2019). Preliminary Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Leaf, Stem and Fruit *Ananas comosus*. *World J. Pharm. Res*, 8(5), 1407-1416.
128. Vrianty, D., Widowati, W., Fibrina, D., & Fachrial, E. (2019). Comparison of Antioxidant and Anti-tyrosinase Activities of Pineapple (*Ananas comosus*) Core Extract and Luteolin Compound. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 30(4), 240–246.
129. Brat, P., Hoang, L. N. T., Soler, A., Reynes, M., & Brillouet, J. M. (2004). Physicochemical Characterization of New Pineapple Hybrid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6170–6177.
130. Ketnawa, S., Sai-Ut, S., Theppakorn, T., Chaiwut, P., & Rawdkuen, S. (2009). Partitioning of Bromelain From Pineapple Peel (*Nang Lae* cultivar) by Aqueous Two-phase System. *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(4), 457–468.
131. Upadhyay, A., Lama, J. P., & Tawata, S. (2010). Utilization of Pineapple Waste: A Review. *Journal of Food Science and Technology Nepal*, 6, 10–18.
132. Aye, K. H., & Ko, T. L. (2016). Utilization of Fruit Waste (Pineapple Peel) for Vinegar Production. *Yadanabon University Research Journal*, 7(1), 1–11.
133. Roda, A., Lucini, L., Torchio, F., Dordoni, R., De Faveri, D. M., & Lambri, M. (2017). Metabolite Profiling and Volatiles of Pineapple Wine and Vinegar Obtained From Pineapple Waste. *Food Chemistry*, 229, 734–742.
134. Abraham, R. A., Joshi, J., & Abdullah, S. (2023). A Comprehensive Review of Pineapple Processing and Its By-product Valorization in India. *Food Chemistry Advances*, 3, 100416.
135. Kim, S. K. (2007). Common Aging Pathways in Worms, Flies, Mice and Humans. *The Journal of Experimental Biology*, 210(9), 1607–1612.
136. Lee, D., Hwang, W., Artan, M., Jeong, D.-E., & Lee, S.-J. (2015). Effects of Nutritional Components on Aging. *Aging Cell*, 14, 8–16.

137. Vicente-Crespo, M. (2021). Pineapple Fruit Extract Prolonged Lifespan and Endogenous Antioxidant Response in *Drosophila melanogaster* Exposed to Stress. *African Journal of Biomedical Research*, 24(1), 99–108.
138. Bass, T. M., Weinkove, D., Houthoofd, K., Gems, D., & Partridge, L. (2007). Effects of Resveratrol on Lifespan in *Drosophila melanogaster* and *Caenorhabditis elegans*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 128, 546–552.
139. Balasubramani, S. P., Mohan, J., Chatterjee, A., & Patnaik, E. (2014). Pomegranate Juice Enhances Healthy Lifespan in *Drosophila melanogaster*: An Exploratory Study. *Frontiers in Public Health*, 2, 1–9.
140. Wang, C. T., Chen, Y. C., Wang, Y. Y., Huang, M. H., Tzu-Li, Y., Hsun, L., ... & Wang, H. D. (2012). Reduced Neuronal Expression of Ribose-5-phosphate Isomerase Enhances Tolerance to Oxidative Stress, Extends Lifespan, and Attenuates Polyglutamine Toxicity in *Drosophila*. *Aging Cell*, 11, 93–103.
141. Bjørklund, G., & Chirumbolo, S. (2017). Role of Oxidative Stress and Antioxidants in Daily Nutrition and Human Health. *Nutrition*, 33, 311–321.
142. Ajagun-Ogunleye, M. O. (2018). Retracted: *Ananas sativa* Increases Longevity Through Oxidative Stress Resistance in *Drosophila melanogaster*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 15(3), 72–83.
143. Liu, R. H. (2004). Nutrition and Cancer Potential Synergy of Phytochemicals in Cancer Prevention: Mechanism of Action. *The Journal of Nutrition*, 134, 3479–3485.
144. Manzoor, Z., Nawaz, A., Mukhtar, H., and Haq, I. (2016). Bromelain: Methods of Extraction, Purification and Therapeutic Applications. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 59, 1–16.
145. Hikisz, P., & Bernasinska-Slomczewska, J. (2021). Beneficial Properties of Bromelain. *Nutrients*, 13(12), 4313.
146. Jenitha, A. X., & Anusuya, A. (2016). Phytochemical Screening and *in vitro* Antioxidant Activity of *Ananas comosus*. *Journal of Research in Pharmacy and Pharmacotherapy*, 5(2), 162–169.
147. Zou, Y., Liu, Y., Ruan, M., Feng, X., Wang, J., Chu, Z., & Zhang, Z. (2015). *Cordyceps sinensis* Oral Liquid Prolongs the Lifespan of the Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*, by Inhibiting Oxidative Stress. *International Journal of Molecular Medicine*, 36, 939–946.
148. Schriner, S. E., Katoozi, N. S., Pham, K. Q., Gazarian, M., Zarban, A., & Jafari, M. (2012). Extension of *Drosophila* Lifespan by *Rosa damascena* Associated with an Increased Sensitivity to Heat. *Biogerontology*, 13, 105–117.
149. Minois, N., Carmona-Gutierrez, D., Bauer, M. A., Rockenfeller, P., Eisenberg, T., Brandhorst, S., ... & Madeo, F. (2012). Spermidine Promotes Stress Resistance in

Drosophila melanogaster Through Autophagy-dependent and Independent Pathways. *Cell Death&Disease*, 3, e401.

150. Zou, Y. X., Ruan, M. H., Luan, J., Feng, X., Chen, S., & Chu, Z. Y. (2017). Anti-aging Effect of Riboflavin via Endogenous Antioxidant in Fruit Fly *Drosophila melanogaster*. *Journal of Nutrition, Health&Aging*, 21, 314–319.
151. Johnmark, N., & Kinyi, H. W. (2021). Amaranth Leaf Extract Protects Against Hydrogen Peroxide-induced Oxidative Stress in *Drosophila melanogaster*. *BMC Research Notes*, 14(1), 188.
152. Vitorović, J., Joković, N., Radulović, N., Mihajilov-Krstev, T., Cvetković, V. J., Jovanović, N., ... & Bernstein, N. (2021). Antioxidant Activity of Hemp (*Cannabis sativa* L.) Seed Oil in *Drosophila melanogaster* Larvae Under Non-stress and H₂O₂-Induced Oxidative Stress Conditions. *Antioxidants*, 10(6), 830.
153. Yang, Y., Cao, Y., Zhang, J., Fan, L., Huang, Y., Tan, T. C., & Ho, L. H. (2024). *Artemisia Argyi* Extract Exerts Antioxidant Properties and Extends the Lifespan of *Drosophila melanogaster*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(7), 3926–3935.
154. Oboh, G., Olatunde, D. M., Ademosun, A. O., & Ogunsuyi, O. B. (2021). Effect of Citrus Peels-supplemented Diet on Longevity, Memory Index, Redox Status, Cholinergic and Monoaminergic Enzymes in *Drosophila melanogaster* Model. *Journal of Food Biochemistry*, 45(2), e13616.
155. Yi, Y., Xu, W., Fan, Y., & Wang, H. X. (2021). *Drosophila* as an Emerging Model Organism for Studies of Food-derived Antioxidants. *Food Research International*, 143, 110307.
156. Alam, M. N., Bristi, N. J., & Rafiquzzaman, M. (2013). Review on *in vivo* and *in vitro* Methods Evaluation of Antioxidant Activity. *Saudi Pharma ceutical Journal*, 21(2), 143–152.
157. Piper, M. D., & Partridge, L. (2018). *Drosophila* as a Model for Ageing. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - MolecularBasis of Disease*, 1864(9), 2707–2717.
158. Staats, S., Lüersen, K., Wagner, A. E., & Rimbach, G. (2018). *Drosophila melanogaster* as a Versatile Model Organism in Food and Nutrition Research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(15), 3737–3753.
159. Giansanti, M. G., & Piergentili, R. (2025). *Drosophila*: A Versatile Model in Biology and Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(11), 5032.
160. Bayliak, M. M., Abrat, O. B., Storey, J. M., Storey, K. B., & Lushchak, V. I. (2019). Interplay Between Diet-induced Obesity and Oxidative Stress: Comparison Between *Drosophila* and Mammals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 228, 18–28.



EKLER

EK-1. Proje Sözleşmesi

14.06.2025 00:03	Amasya Üniversitesi
 T.C. AMASYA ÜNİVERSİTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON BİRİMİ YÜKSEK LİSANS SÖZLEŞME PROTOKOLÜ	
Sayı: 96828008/ 01-06-2024	
PROJE KOD NO: FMB-BAP 23-0598	
I - TARAFLAR	
1- Bu protokolün tarafları Amasya Üniversitesini temsilen Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Koordinatörü ile desteklenmesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından kabul edilen projenin yöneticisidir. 2- Bu protokolün taraflarının adresi aşağıda gösterilmiştir. a) Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi: Akbilek Mah. Hakimiyet Cad. No:4/3 b) Proje Yöneticisi: Prof.Dr. Arif AYAR 3- Protokolde Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi "BAP Birimi", Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından kabul edilen projenin yöneticisi "Proje Yöneticisi", Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu da "Komisyon" olarak anılacaktır.	
II - PROTOKOL KONUSU	
4- Bu protokolün konusu, araştırma projesi öneri ve değerlendirme formlarında ayrıntıları belirtilen "Ananas Kabuğu Ekstraktlarının Ömür Uzunluğu ve Antioksidan Etkinliğinin Belirlenmesi" adlı projenin, BAP Birimi tarafından bu protokolde gösterilen esaslarda desteklenmesine ilişkin esasların belirlenmesidir.	
III - PROJE YÖNETİCİSİNİN GÖREVLERİ	
5- Proje Yöneticisi, projenin mevzuata, bu protokole ve araştırma projesi öneri formuna uygun olarak hazırlanan araştırmada belirtilen program içinde, amaç ve şartlara uygun olarak yürütülmesi, geliştirilmesi ve sonuçlandırılmasından sorumludur. 6- Proje Yöneticisi, projenin devamı süresince her 6 ayda bir çalışmaların gidişi ve harcama durumlarıyla ilgili ara raporu hazırlayıp 1 nüsha olarak Komisyona sunulmak üzere BAP Birimine vermekle yükümlüdür. Komisyon lüzumu halinde Proje Yöneticisinden ek ve/veya ayrıntılı bilgi talep edebilir. 7- Komisyonun alacağı karar üzerine, Komisyon Başkanı ya da görevlendirilen bir üye projeye ilgili çalışmalarını yerinde inceleyebilir. Bu durumda Proje Yöneticisi proje ile ilgili her türlü teknik, idari ve mali bilgileri ve belgeleri incelemeye hazır bulundurmak ve incelemeyi kolaylaştıracak bütün yardımları yapmakla yükümlüdür. 8- Proje Yöneticisi, proje süresinin sona ermesini izleyen 3 ay içerisinde tüm araştırma sonuçlarını içeren Kesin Raporu Komisyona sunmak üzere BAP Birimine verir. Kesin Rapora varsa bilimsel toplantılarda sunulan bildiri metinleri ile yayınların birer örneği de eklenir. Kesin Rapor Komisyon tarafından karara bağlanır. 9- (1) Proje sonuç raporunu süresi içinde sunmayan proje yürütücüsünün yürütmekte olduğu tüm projelere ait işlemler sonuç raporu teslim edilip komisyon tarafından karara bağlanıncaya kadar durdurulur. Yapılan uyarıya rağmen komisyon tarafından geçerli kabul edilen bir mazeret bulunmaksızın 3 (üç) ay içerisinde sonuç raporunun teslim edilmemesi durumunda ise, proje çalışması iptal edilir. Proje kapsamında satın alınan demirbaşlardan bir problemi veya arızası olmayan ve kullanılabilir durumda olanlar geri alınır. Demirbaşların kullanılmayacak durumda olması halinde ise demirbaş bedelleri ve diğer tüm harcamalar yasal faizi ile birlikte proje yürütücüsünden geri alınır. Ayrıca proje yürütücüsü 2 (iki) yıl süre ile BAP birimi desteklerinden faydalandırılmaz. (2) Sonuç raporu yetersiz bulunan ve uyarıya rağmen bir ay içinde eksikleri gidermeyen proje yürütücüsüne 2 (iki) yıl süre ile herhangi bir türde yeni bir proje desteği verilmez. 10- Proje Yöneticisi, proje yerinde kazaların önlenmesi ve sağlık şartlarının korunması için gerekli olan her türlü önlemin alınmasından sorumludur.	
https://bap.amasya.edu.tr/?act=yazdir&mode=clear&fType=genel_sozlesme_formu&prid=4322&peld=8r= 1/3	

14.06.2025 00:03

Amasya Üniversitesi

11- Proje Yöneticisi, proje ile ilgili olarak edinilecek bilgilerin gizliliğinin korunması bakımından Komisyona karşı sorumludur. Proje Yöneticisi ve Proje Yardımcıları ulusal güvenlik, milli ekonomi ve ülke çıkarları aleyhine kullanılabilecek proje sonuçları ile ilgili olarak haber ya da yayın yapamazlar/yaptıramazlar, beyanat veremezler.

IV - PROTOKOL SÜRESİ VE SÜRE UZATIMI

12- Bu protokol 01-06-2024 tarihinden 31-05-2025 tarihine kadar yürürlüktedir. Proje ile ilgili olarak yurt içi veya yurt dışında satın alınması öngörülen malzemenin sağlanmasından dolayı geçen zaman protokol süresine eklenir. Proje Yöneticisinin talebi ile Komisyon tarafından proje süresinin uzatılmasına karar verilmesi halinde aynı süre protokol süresine de eklenir.

13- Desteklenmesi kabul edilen projenin amaç, kapsam, süre, program ve bütçesinde, Komisyonun yazılı izni alınmadan hiçbir değişiklik yapılamaz.

V - MALİ HÜKÜMLER

14- BAP Birimi adına görevli mutemet tarafından, Proje Yöneticisinin talebi ile araştırma projesi bütçesine ve kalemine uygun olarak ödeme yapılır.

15- BAP Birimi adına görevli mutemet, Proje Yöneticisinin talebi ile araştırma projesi bütçesine uygun olarak avans (kongre vb. gibi harcamalar için) verir. Proje Yöneticisi, kendisine verilen avansın harcamaya yapılmayan bölümünü en geç bir ay içerisinde iade etmek ve harcanan tutarlara ilişkin kanıtlayıcı belgeleri de aynı süre içerisinde BAP Birimi mutemedine vermekle yükümlüdür. Bu şekilde mahsup işlemlerini yaptırmayan Proje Yöneticisine yeniden avans verilemez. Avansın harcamaya yapılmayan miktarının anılan süre içerisinde iade edilmemesi ya da harcamaya ilişkin kanıtlayıcı belgelerin yine aynı süre içerisinde sunulmaması hallerinde avansın iade edilmeyen ya da harcamaya yapıldığı kanıtlayıcı belge ile ispatlanamayan miktarı için 6183 sayılı Amme Alacakların Tahsil Usulü Hakkında Kanun hükümlerine göre kendisine avans verilen Proje Yöneticisinden faizi ile birlikte tahsil edilir.

16- Harcama kalemlerine göre dağılımı Komisyon tarafından belirlenen Projeye toplam 9.999,60 TL destek sağlanacaktır.

17- Komisyon, Protokol gereğince yapılan ödemelerin, proje amaç ve programı ile protokol hükümlerine uygun olarak kullanılmadığının tespit edilmesi ya da proje gelişme raporlarının yazılı ikaza rağmen zamanında verilmemesi hallerinde başkaca ihbara lüzum olmaksızın ödemeleri durdurabilir. Ayrıca, 6183 sayılı Amme Alacakların Tahsil Usulü Hakkında Kanun hükümleri saklı kalmak üzere Proje Yöneticisine verilen araç, gereç veya donatım derhal geri alınır ve gerekli görülmesi halinde proje güdümü olarak başka bir araştırmacıya veya araştırma grubuna verilebilir. Projenin bu yolla sonuçlanması ile sağlanacak yararlardan proje ile ilişkisi kesilenler hiç bir hak talep edemezler.

18- Projeden elde edilen bilimsel sonuçların telif hakkı Amasya Üniversitesine aittir.

VI- DİĞER HÜKÜMLER

19- Proje gereğince, BAP Birimi tarafından yurt içinden veya yurt dışından temin edilerek projeye tahsis edilen, sarf malzemesi dışındaki demirbaş niteliğindeki her türlü teçhizat Üniversiteye aittir. Proje kapsamında alınan teçhizatların demirbaş kaydı proje yürütücüsünün bağlı olduğu birimin ayniyat mutemedi ya da BAP Birimi adına görevli mutemet vasıtasıyla proje yürütücüsüne zimmetlenir.

20- Bu protokolle ilgili yazışma ve tebligat 1. maddede yazılı adrese yapılır. Proje yöneticisi adresini değiştirdiği takdirde bunu en geç 10 gün içinde BAP Birimine bildirmeye mecburdur. Adres değişikliğinin bildirilmemesi halinde eski adrese gönderilen yazı ve tebligat muhataba tebliğ edilmiş sayılır.

21- BAP Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen projeler kapsamında gerçekleştirilen her türlü yayında, "Bu çalışma Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası:FMB-BAP 23-0598" (This work/study was supported by Amasya University Scientific Research Coordination Unit. Project Number:FMB-BAP 23-0598") şeklinde veya benzer anlama gelecek bir ibareye yer verilmesi zorunludur.

22- BAP Komisyonu, zorunlu hallerde veya proje yürütücüsünün gerekçeli talebinin uygun bulunması durumunda proje ekibinde değişiklik yapabilir. Proje ekibinde değişiklik talebinde, gerekçe açıkça ifade edilmeli ve dâhil edilecek veya çıkarılacak araştırmacının beyan dilekçesi Komisyon'a sunulmalıdır. Proje yürütücüsünün Üniversite Yönetim Kurulu kararıyla uzun süreli görevlendirilme veya izinli sayılması durumunda; proje yürütücülüğünü devretmek için Komisyon'a talepte bulunması gereklidir.

23- "Yüksek Öğretim Kurumları Bilimsel Araştırma Projeleri Hakkında Yönetmelik" ile "Amasya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönergesi" bu protokolün tamamlayıcı parçalarıdır.

24- Protokol hükümlerinin uygulanması sırasında ihtilafa düşülmesi halinde Amasya mahkemeleri ve icra daireleri yetkilidir.

25- Toplam yirmi beş maddeden ibaret bu protokol taraflarca birlikte imza altına alınmıştır.

Prof.Dr. Arif AYAR

Prof. Dr. Ahmet Hakkı TURABİ

https://bap.amasya.edu.tr/?act=yazdir&mode=clear&fType=genel_sozlesme_formu&prid=4322&peld=&r=

2/3

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı-Soyadı : Gözde
Doğum Yeri DAVU
Doğum Tarihi

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : İstanbul Medipol Üniversitesi, Beslenme ve Diyetetik
Bölümü, 2020
Yüksek Lisans Öğrenimi : Amasya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Moleküler
Tıp Anabilim Dalı, 2025
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce (B1)

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

- a) Bildiriler (Ulusal) : Davu, G., Ayar, A. (2024). Ananas Kabuğundan Hazırlanan Farklı Ekstraktların Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, 11. Ulusal Botanik Kongresi, Amasya (24-26 Ekim 2024) (Sözlü Bildiri).
- b) Katıldığı Projeler : Gözde DAVU (Araştırmacı), Ananas Kabuğu Ekstraktlarının Ömür Uzunluğu ve Antioksidan Etkinliğinin Belirlenmesi (FMB-BAP 23-0598), Yürütücü: Prof Dr. Arif AYAR, 01.06.2024/31.05.2025.

İLETİŞİM

E-posta Adresi