



TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

T.C.
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
GIDA MÜHENDİSLİĞİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

FARKLI MEYVE KABUKLARINDAN ENZİMATİK
EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE FİTOKİMYASAL
BİLEŞİKLERİN ELDE EDİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Dicle ERCİYAS

Danışman: Prof. Dr. Özlem AKPINAR

TOKAT-2025

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Prof. Dr. Özlem AKPINAR danışmanlığında hazırlamış olduğum “Farklı Meyve Kabuklarından Enzimatik Ekstraksiyon Yöntemi ile Fitokimyasal Bileşiklerin Elde Edilmesi” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

12/05/2025

Dicle ERCİYAS



JÜRİ KABUL VE ONAY

Dicle ERCİYAS tarafından hazırlanan “**Farklı Meyve Kabuklarından Enzimatik Ekstraksiyon Yöntemi ile Fitokimyasal Bileşiklerin Elde Edilmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 12/05/2025 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından Oy Birliği/Oy Çokluğu ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Üye (Başkan) :

.....

Üye :

.....

Üye :

.....

ONAY

...../...../.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

FARKLI MEYVE KABUKLARINDAN ENZİMATİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE FİTOKİMYASAL BİLEŞİKLERİN ELDE EDİLMESİ

Erciyas, Dicle

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Özlem Akpınar

Mayıs 2025, ix+111 sayfa

Bu çalışmada farklı meyve kabuklarından (nar, mandalina ve muz) enzimatik (Viskozime) ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fitokimyasal bileşikler ekstrakte edilmiştir. Her bir meyve kabuğu için, yüksek verimde fenolik bileşik ekstraksiyonu için uygun koşullar belirlenmiştir. Uygun ekstraksiyon süresi ve sıvı/katı oranı incelenen tüm kabuklar için 50 °C ve pH 5'te, 60 dakika ve 10 sıvı/katı (mL/g) olarak belirlenmiştir. Enzim aktivitesi nar kabuğu için 0.079 U/mL, muz ve mandalina kabukları için 0.13 U/mL olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik miktarı nar, mandalina ve muz kabukları için sırasıyla 184.18 mg GAE/g, 17.40 mg GAE/g ve 9.00 mg GAE/g; toplam flavonoid bileşik miktarları ise sırasıyla 91.12 mg KE/g, 10.38 mg KE/g ve 5.06 mg KE/g olarak bulunmuştur. Ekstraktların DPPH, FRAP ve TEAC yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri nar kabukları için sırasıyla 79.43 µmol TE/L, 133.27 µmol TE/L ve 4965.44 µmol TE/L; mandalina kabukları için 1.19 µmol TE/L, 5.64 µmol TE/L ve 178.16 µmol TE/L ve muz kabukları için 2.28 µmol TE/L, 5.68 µmol TE/L ve 149.68 µmol TE/L olarak belirlenmiştir. Enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik ve toplam flavonoid madde içerikleri ve antioksidan aktivitesi geleneksel ekstraksiyon yöntem ile elde edilen sonuçlara kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ekstraktların potansiyel antidiyabetik özellikleri α -amilaz inhibitör aktivitesi ölçülerek saptanmıştır. Geleneksel ve enzimatik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlardan, yalnızca nar kabuğu ekstraktlarında %21.24 (geleneksel) ve %22.17 (enzimatik) oranlarında α -amilaz inhibisyon aktivitesi bulunmuştur. Sonuçlar incelenen meyve kabuklarının yüksek miktarda biyoaktif bileşiklere sahip olduğunu, atıkların biyoaktif bileşik üretimi için uygun ham maddeler olarak değerlendirilebileceğini ve enzim destekli ekstraksiyon yönteminin fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda çevre dostu alternatif bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Enzimatik Ekstraksiyon, Atık Değerlendirme, Fitokimyasal, Fenolik

ABSTRACT
ENZYMATIC EXTRACTION OF PHYTOCHEMICAL COMPOUNDS FROM
DIFFERENT FRUIT PEELS

Erciyas, Dicle
Master's Thesis, Department Of Food Engineering
Advisor: Prof. Dr. Özlem Akpınar
May 2025, ix+111 pages

In this study, phytochemical compounds were extracted from different fruit peels (pomegranate, tangerine and banana) using the enzymatic (Viscozyme) extraction method. To extract phenolic compounds with high yield, suitable extraction conditions were determined for each fruit peel. The suitable extraction time and liquid/solid ratio for investigated peels at 50°C and pH 5 were determined as 60 minutes, and 10 liquid/solid (mL/g). Enzyme activity was determined as 0.079 U/mL for pomegranate peel and 0.13 U/mL for banana and mandarin peels. Under these conditions, the total phenolic content of pomegranate, mandarin, and banana peels were found as 184.18 mg GAE/g, 17.40 mg GAE/g, and 9.00 mg GAE/g, respectively, while the total flavonoid contents were recorded as 91.12 mg QE/g, 10.38 mg QE/g, and 5.06 mg QE/g, respectively. The antioxidant activities of the extracts according to DPPH, FRAP, and TEAC methods were determined as 79.43 $\mu\text{mol TE/L}$, 133.27 $\mu\text{mol TE/L}$, and 4965.44 $\mu\text{mol TE/L}$ for pomegranate peel respectively, 1.19 $\mu\text{mol TE/L}$, 5.64 $\mu\text{mol TE/L}$, and 178.16 $\mu\text{mol TE/L}$ for mandarin peel and 2.28 $\mu\text{mol TE/L}$, 5.68 $\mu\text{mol TE/L}$, and 149.68 $\mu\text{mol TE/L}$ for banana peels, respectively. It was found that enzymatic extraction yields significantly higher total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity, compared to conventional extraction methods. The potential antidiabetic properties of the extracts were assessed by evaluating their α -amylase inhibitory activity. Among the extract obtained by conventional and enzymatic extraction methods, only pomegranate peel extracts exhibited α -amylase inhibitory activity, with the inhibition rates of 21.24% and 22.17% respectively. The results showed that the examined fruit peels had high amounts of bioactive compounds, these wastes could be evaluated as suitable raw materials for the production of bioactive compounds, and the enzyme-assisted extraction method was an environmentally friendly alternative method for the extraction of phenolic compounds.

Keywords: Enzymatic Extraction, Waste Utilization, Phytochemical, Phenolic

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın her aşamasında engin bilgisi, tecrübesi ve disiplinli çalışma prensibi ile bana yol gösteren ve desteğini esirgemeyen çok sevdiğim ve saydığım değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Özlem AKPINAR'a teşekkür ve minnetlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmalarımnda yardımlarını esirgemeyen ve jüri üyem Dr. Öğr. Üyesi Ali CİNGÖZ hocama teşekkürlerimi sunarım. Tezimin değerlendirilmesinde değerli katkılarda bulunan diğer jüri üyem Sayın Doç. Dr. Tuğba DEMİR hocama teşekkürlerimi sunarım.

Tüm eğitim hayatım boyunca yoluma ışık tutan, gücünü her zaman yanımda hissettiğim en değerli öğretmenim, canım babam Metin TURAL'a,

Sevgisini, sabrını ve sonsuz desteğini esirgemeyen, canım annem Hınar TURAL'a,

Varlığını hep yanımda hissettiğim diğer yarım canım kardeşim Deniz TURAL'a,

Her zaman her koşulda yanımda olan, desteğini esirgemeyen kıymetli eşim Zafer ERCİYAS'a,

En çok da tez süresi boyunca zamanından çaldığım, bizi biz yapan şansımız, canım oğlum Aslan ERCİYAS'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
ÇİZELGE LİSTESİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	4
2.1. Fitokimyasal Bileşikler	4
2.1.1. Fenolik bileşikler	4
2.1.2. Diğer fitokimyasal bileşikler	11
2.2. Fitokimyasal Bileşiklerin Ekstraksiyon Yöntemleri	16
2.2.1. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi	17
2.2.2. Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi	19
2.2.3. Süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi	21
2.2.4. Basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemi	22
2.2.5. Darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon yöntemi	24
2.2.6. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi	25
2.3. Viskozyme L®	29
2.4. Meyve Atıkları	30
2.4.1. Nar	31
2.4.2. Mandalina	33
2.4.3. Muz	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM	37
3.1. Materyal	37
3.2. Yöntem	37
3.2.1. Kabuk analizleri	37
3.2.2. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi	40
3.2.3. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi	40
3.2.4. Ekstraktların suda çözünür kuru madde tayini	40

3.2.5. Toplam fenolik madde tayini.....	41
3.2.6. Toplam flavanoid miktarı tayini.....	41
3.2.7. İndirgen şeker tayini	41
3.2.8. Ekstraktların antioksidan aktivite tayini	42
3.2.9. Ekstraktların toplam monomerik antosiyanin miktarının belirlenmesi	43
3.2.10. Alfa amilaz inhibitör aktivitesi	43
3.2.11. Ekstraktların kalitatif analizleri	44
3.2.12. İstatistiksel analiz	45
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	46
4.1. Kabukların Kül, Nem, Yağ, Protein ve Toplam Şeker İçerikleri.....	46
4.2. Enzim Destekli Ekstraksiyon	49
4.3. Ekstraktların İndirgen Şeker Miktarları	67
4.4. Geleneksel Ekstraksiyon	72
4.5. Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması	73
4.6. Ekstraktların Antioksidan Kapasitesi, Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarı ve Alfa Amilaz İnhibitör Aktivitesi	78
4.7. Ekstraktların Kalitatif Analizleri.....	87
5. SONUÇ	90
6. KAYNAKLAR	92
7. EKLER	104
7.1. Radikal Temizleme Aktivitesi (DPPH) Analizinde Hazırlanan Çözeltiler.....	104
7.2. Troloks Eşdeğeriyle Hesaplanan Antioksidan Kapasite (TEAC) Analizinde Kullanılan Çözeltiler	105
7.3. Demir (III) İndirgeme Kapasitesi (FRAP) Analizinde Kullanılan Çözeltiler	106
7.4. Toplam Fenolik Madde Analizinde Kullanılan Çözeltiler.....	107
7.5. DNS Çözeltisi Hazırlanışı	108
7.6. Flavonoid Analizinde Kullanılan Çözeltiler	109
8. ÖZGEÇMİŞ	111

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar	Açıklama
ABTS	2,2'-Azino-bis (3-etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit)
DNS	Dinitrosalisilik Asit
DPPH	2,2 Difenil-1- pikrohidrozil
FRAP	Ferric Reducing Antioxidant Power
TEAC	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
KE	Kuarsetin Eşdeğeri
TE	Troloks Eşdeğeri
SÇKM	Suda Çözünür Kuru Madde
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TEPGE	Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü
TPTZ	2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine
FAO	Gıda ve Tarım Teşkilatı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2. 1. Fenolik asitlerin alt grupları (Atak ve Uslu, 2018; Naczki ve Shahidi, 2006) .	7
Şekil 2. 2. Flavonoidin genel yapısı (Singla ve ark., 2019).....	8
Şekil 2. 3. Flavonoid alt sınıf bileşikleri ve kimyasal yapıları (Dai ve Mumper, 2010) ..	8
Şekil 2. 4. Stilbenlerin yapısal formu (Singla ve ark., 2019).....	11
Şekil 2. 5. Lignanların yapısal formu (Singla ve ark., 2019).....	11
Şekil 2. 6. Tanen gruplarının yapısal formu (Das ve ark., 2020).....	13
Şekil 2. 7. Karotenoidlerin kimyasal yapısı (Campos-Vega ve Oomah, 2013).....	13
Şekil 2. 8. Steroid ile triterpenoidlerin aglikan yapısı (Patra, 2012)	14
Şekil 2. 9. Kumarin kimyasal yapısı (Patra, 2012)	15
Şekil 2. 10. Terpenoidlerin kimyasal yapıları (Patra, 2012).....	15
Şekil 2. 11. İndol kimyasal yapısı (Patra, 2012).....	16
Şekil 2. 12. Kinon sınıflandırılması (Deveoğlu ve Karadağ, 2011)	16
Şekil 2. 13. Bitki hücre duvarları yapısında oluşan enzim destekli ekstraksiyon mekanizması (Kitryte ve ark., 2017).	26
Şekil 4. 1. Nar kabuğu ekstraktlarının farklı enzim aktivitelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (A-1), toplam flavonoid madde miktarı (A-2).....	52
Şekil 4. 2. Mandalina kabuğu ekstraktlarının farklı enzim aktivitelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (B-1), toplam flavonoid madde miktarı (B-2).....	53
Şekil 4. 3. Muz kabuğu ekstraktlarının farklı enzim aktivitelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (C-1), toplam flavonoid madde miktarı (C-2)	54
Şekil 4. 4. Nar kabuğu ekstraktlarının farklı sıvı/katı oranlarına göre toplam fenolik bileşik miktarı (A-1), toplam flavonoid madde miktarı (A-2).....	56
Şekil 4. 5. Mandalina kabuğu ekstraktlarının farklı sıvı/katı oranlarına göre toplam fenolik bileşik miktarı (B-1), toplam flavonoid madde miktarı (B-2).....	57
Şekil 4. 6. Muz kabuğu ekstraktlarının farklı sıvı/katı oranlarına göre toplam fenolik bileşik miktarı (C-1), toplam flavonoid madde miktarı (C-2)	58
Şekil 4. 7. Nar kabuğu ekstraktlarının farklı ekstraksiyon sürelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (A-1), toplam flavonoid madde miktarı (A-2).....	60
Şekil 4. 8. Mandalina kabuğu ekstraktlarının farklı ekstraksiyon sürelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (B-1), toplam flavonoid madde miktarı (B-2).....	61
Şekil 4. 9. Muz kabuğu ekstraktlarının farklı ekstraksiyon sürelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (C-1), toplam flavonoid madde miktarı (C-2)	62

Şekil 4. 10. Nar kabuğu ekstraktlarının indirgen şeker verimi (A-1; sıvı/katı oranı, A-2; süre (dk), A-3; enzim (U/mL))	69
Şekil 4. 11. Mandalina kabuğu ekstraktlarının indirgen şeker verimi (A-1; sıvı/katı oranı, A-2; süre (dk), A-3; enzim (U/mL))	70
Şekil 4. 12. Muz kabuğu ekstraktlarının indirgen şeker verimi (A-1; sıvı/katı oranı, A-2; süre (dk), A-3; enzim (U/mL))	71
Şekil 4. 13. Toplam fenolik bileşik verimi (A-1; Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi, B-1; Geleneksel ekstraksiyon yöntemi)	75
Şekil 4. 14. Toplam flavonoid verimi (A-2; Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi, B-2; Geleneksel ekstraksiyon yöntemi)	76
Şekil 4. 15. İndirgen şeker verimi (A-3; Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi, B-3; geleneksel ekstraksiyon yöntemi)	77
Şekil 4. 16. Kabukların enzim destekli ve geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri	81
Şekil 4. 17. Nar kabuğunun enzim destekli ve geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre antosiyanin değeri (mg S ₃ G/L) ve α -amilaz inhibisyon kapasitesi (%)	82

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 4. 1. Meyve kabuklarının nem, kül, protein, yağ ve toplam şeker içerikleri	48
Çizelge 4. 2. Ekstraktların toplam fenolik bileşik, flavonoid madde ve indirgen şeker değerleri (Geleneksel ekstraksiyon yöntemi)	72
Çizelge 4. 3. Enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri	80
Çizelge 4. 4. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri	80
Çizelge 4. 5. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi optimum koşullardaki ekstraktların fitokimyasal özellikler	88
Çizelge 4. 6. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların fitokimyasal özellikleri	89

1. GİRİŞ

Artan nüfus ile birlikte gıda atıklarının oluşumu, günümüzde en önemli küresel sorunlardan biri haline gelmektedir. Her yıl 1.3 milyar ton gıda israf olmakta ve bu rakamın 10 yıldan daha kısa sürede 2 milyar tona ulaşacağı tahmin edilmektedir (Athanasiadis ve ark., 2022). Atıkların uzaklaştırılması ve sürdürülebilir yönetimi oldukça önemli bir konudur. Meyve ve sebze işleme endüstrisinde çevre ve hava kirliliğine neden olan kabuk, posa, tohum, çekirdek gibi atıklar meydana gelmektedir. Bu yan ürünlerin bir kısmı hayvan yemi olarak kullanılsa da genellikle büyük çoğunluğu atılmakta ve ciddi çevresel problemlere yol açmaktadır. Gıda endüstrisinde üretim aşamasında oluşan yan ürünlerin geri kazanılması atık oluşumunu önlemekteki en etkili yollardan biridir. Meyve ve sebze atıkları fenolik bileşikler, vitaminler, mineraller ve antioksidanlar gibi önemli biyoaktif bileşikler ve diyet lifi kaynaklarıdır. Bu doğal biyoaktif bileşikler; ilaç, kozmetik, hayvancılık endüstrisinde hammadde olarak değerlendirilebilmekte; gıda endüstrisinde ise fonksiyonel ürünlerin geliştirilmesinde düşük maliyetli ve yenilebilir alternatif bir kaynak olarak kullanılabilir (Wang ve ark., 2023; Islam ve ark., 2023; Amulya ve Ul Islam, 2023).

Fitokimyasallar; beslenme amaçlı tüketilmeyen fakat sağlık açısından oldukça faydalı etkileri olan bitkisel kaynaklı ikincil metaboliklerdir. Bu bileşikler, bitkilerin kendilerine has tat, koku ve aromalarının oluşmasında etkilidir. Doğada bulunan bitkiler çeşitli hastalıkların tedavisi için insanlar tarafından tarih boyunca kullanılmıştır. Bitkilerin çoğu yüksek biyolojik aktiviteye sahip fitokimyasal bileşikler açısından oldukça zengindir. Bu bileşikler mikrobiyal enfeksiyonlara karşı mücadele ederek ve yara iyileşmesini destekleyerek vücudu korur. Ayrıca hücrelere hasar veren serbest radikalleri etkisiz hale getirerek diyabet, kanser ve nörolojik hastalıklar gibi kronik hastalıkların gelişmesini engeller. Bunun yanı sıra fitokimyasallar vücutta; antialerjenik, antitrombotik (kanın pıhtılaşmasını önleyici), antiülser, antienflamatuar, antimikrobiyal ve antiaterojen (damar sertliği önleyici) ajan olarak görev yapmaktadır. Teknoloji ve bilim alanındaki gelişmeler, insanların sağlıklı beslenme konusunda bilinçlenmesi birçok biyoaktif özelliğe sahip fitokimyasal bileşiklere olan ilgiyi arttırmıştır. Böylece fitokimyasallara diyetlerde mikro besin ögesi olarak yer vermeye başlanmıştır. En fazla bilinen fitokimyasallar; başta

fenolik bileşikler olmak üzere karotenler, saponinler, kumarinler, tanenler, terpenler, tokoferoller, sülfidler, terpenoidler, alkaloidler ve indollerdir (Demir ve Akpınar, 2020; Liu, 2003).

Fitokimyasalların en büyük grubunu fenolik bileşikler oluşturmaktadır. Fenolik bileşikler, farklı yapısal çeşitliliğe sahip ve birçok bitki türünde doğal olarak bulunan, bitkilerin organoleptik özelliklerine katkı sağlayan ikincil metabolitlerdir. Yüksek antioksidan değerine sahip olmalarının yanı sıra antialerjen, antiglisemik, antimutajen, antikolesterol, antikansorejen, antimikrobiyal ve sakinleştirici özelliklere sahiptir. Gıda, kozmetik, ilaç endüstrisi gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. Fenolik bileşikler, fenol halkalarının sayılarına ve birbirlerine bağlanma durumlarına göre sınıflandırılmaktadır. Fenolik asitler, flavonoidler (antosiyandinler, flavanonlar, flavonoller, flavanoller, izoflavonlar ve flavonlar), lignanlar ve stilbenler şeklinde adlandırılmaktadır (Demir ve Akpınar, 2020; Lama-Muñoz ve Contreras, 2022; Garcia-Salas ve ark., 2010).

Fenolik bileşiklerin elde edilmesinde ve tanımlanmasında uygulanacak olan ekstraksiyon yöntemi oldukça önemlidir. Ekstraksiyon işlemi için geleneksel ve yenilikçi yöntemler mevcuttur. Verimli bir ekstraksiyonun, süresi kısa, yöntemi kolay ve maliyeti düşük olmalıdır. Hedeflenen madde ekstraksiyon süresince kayba uğramamalı veya yapısı bozulmamalıdır. Ekstraksiyon sonucunda ekstrakt çözücü kalıntısı içermemelidir. Bu yüzden son zamanlarda geleneksel ekstraksiyon tekniklerine alternatif olarak farklı ekstraksiyon teknikleri araştırılmaya başlanmıştır. Buradaki amaç; organik solvent ve enerji tüketimini, kirliliği ve maliyeti azaltmak, zamandan tasarrufu sağlamak ve ekstra bir saflaştırma adımı gereksinimini ortadan kaldırmaktır. Araştırılan ekstraksiyon tekniklerinden bazıları; mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyon, darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleridir (Büyüktuncel, 2012; Katırcı, 2023; Lama-Munoz ve Contreras, 2022; Garcia-Salas ve ark., 2010). Bu yöntemler arasında enzim destekli ekstraksiyon tekniği, geleneksel ve yenilikçi ekstraksiyon yöntemlerinin eksikliklerini tamamlamak adına çevre dostu alternatif bir tekniktir. Enzim kullanılması ile çözücü kullanımı en aza indirgenerek, son ürünlerdeki kalıntı oluşumu engellenmektedir. Enzimlerin hücre duvarını parçalama özelliğinden

yararlanarak, sitoplazmik içeriğin ekstraksiyon sıvısına hareketi sağlanır. Böylece fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu daha kolay bir şekilde gerçekleşmiş olur. Spesifik bir yöntem olmasının yanında, yüksek verim sağlamakta; hedeflenen bileşenin kalitesini ve etkinliğini korumaktadır. Ayrıca çözücü kullanım miktarı diğer yöntemlere göre daha azdır (Atalay ve ark., 2018; Dai ve Mumber, 2010; Öztürk, 2022). Kullanılan düşük sıcaklıklar, fenolik bileşiklerin yapısını bozmadan ekstrakte etmeyi sağlar. Bu yöntemde kullanılan düşük sıcaklık ile enerji tüketimi azalmakta ve yüksek sıcaklıkta meydana gelen ekipman korozyonu engellenmektedir (Güzel, 2017; Marathe ve ark., 2019).

Fenolik bileşiklerin enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmesi yenilikçi ve çevre dostu bir yöntemdir. Meyve kabuklarından enzimatik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fenolik bileşik eldesi ile ilgili çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Ancak enzimatik ekstraksiyon yönteminde ekstrakte edilecek ürün kalitesi ve verimi birçok faktöre bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Enzim bileşimi ve konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve tampon çözeltinin pH değeri gibi farklı parametrelere göre ürün verimi değişmektedir. Bu nedenle ekstraksiyon koşullarının verim açısından çalışılması gereklidir. Bu çalışmada farklı meyve kabuklarından (mandalina, muz ve nar) enzimatik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fenolik bileşikler ekstrakte edilmiş, verim bakımından ekstraksiyon koşulları değerlendirilmiştir. Elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve potansiyel antidiyabetik özelliklerini değerlendirmek amacıyla amilaz inhibe etme potansiyelleri tespit edilmiş ve fitokimyasal bileşikleri kalitatif olarak tanımlanmıştır. Ayrıca geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile de ekstraksiyon gerçekleştirilmiş ve sonuçların hem ekstraksiyon yöntemi hem de atık bazında karşılaştırılmaları yapılmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. Fitokimyasal Bileşikler

Fitokimyasallar; beslenme amaçlı tüketilmeyen fakat sağlık açısından faydalı olan bitkisel kaynaklı ikincil metaboliklerdir. Bu bileşikler bitkileri hastalıklardan ve hasarlardan korurlar ve bitkilerin kendine has tat, koku ve aromalarının oluşmasında etkilidir. Doğada bulunan bitkiler, çeşitli hastalıkların tedavisi için insanlar tarafından tarih boyunca kullanılmıştır. Çoğu, yüksek antioksidan etkiye sahip fitokimyasal bileşikler açısından oldukça zengindir. Bu bileşikler mikrobiyal enfeksiyonlara karşı mücadele eder, yaraların iyileşmesini destekler ve vücudu korur; ayrıca diyabet, kanser ve nörolojik hastalıklar gibi kronik hastalıkların gelişmesini engeller. Bunun yanı sıra fitokimyasallar vücutta; antialerjenik, antitrombotik (kanın pıhtılaşmasını önleyici), antiülser, antienflamatuar, antimikrobiyal ve antiaterojen (damar sertliği önleyici) ajan olarak görev yapmaktadır. Teknoloji ve bilim alanındaki gelişmeler, insanların sağlıklı beslenme konusunda bilinçlenmesine katkı sağlamış ve Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization- WHO)'nın önerisi doğrultusunda 'sağlıklı diyet'in büyük çoğunluğunun bitkilerden oluşması gerektiği yaklaşımı, biyoaktif özelliğe sahip fitokimyasal bileşiklere olan ilgiyi arttırmıştır. Böylece fitokimyasallara diyetlerde mikro besin ögesi olarak yer vermeye başlanmıştır. En fazla bilinen fitokimyasallar; başta fenolik bileşikler olmak üzere karotenler, saponinler, kumarinler, tanenler, terpenler, tokoferoller, sülfidler, terpenoidler, alkaloidler ve indollerdir (Demir ve Akpınar, 2020; Liu, 2003; Koche ve ark., 2016).

2.1.1. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkisel kaynaklı biyoaktif bileşiklerin en geniş grubunu oluşturmaktadır. Fenolik bileşikler; hidroksil grubunun (OH) doğrudan bir aromatik hidrokarbona bağlandığı kimyasal bileşik sınıfıdır (Haslam, 1998; King ve Young, 1999). Farklı yapısal çeşitliliğe sahip, pek çok farklı bitki türünde bulunan ve bitkilerin organoleptik özelliklerine katkı sağlayan ikincil metabolitlerdir. Bitkilerde tekdüze bir dağılımda değildir. Suda çözünmeyen fenolikler hücre duvarlarında bulunur ve hücre

duvarlarının mekanik dayanıklılığına katkı sağlamaktadır. Bitkilerin büyümesinde ve üremesinde önemli görevlere sahiptir. Ayrıca bitkinin savunma mekanizmasında görev alarak patojenlere ve parazitlere karşı korur. Çözünür fenolik bileşikler bitki hücre vakuollerinde bulunurlar. Bitkilerin dış katmanları iç katmanlarından daha fazla fenolik bileşik içermektedir (Naczek ve Shahidi, 2006). Şimdiye kadar 8 000'den fazla fenolik bileşik tanımlanmıştır. Molekül ağırlıkları 500-4000 dalton arasındadır (Haslam, 1998; King ve Young, 1999).

Fenolik bileşiklerin sahip olduğu biyoaktif özellikleri, insan sağlığı açısından oldukça önemli olan yüksek antioksidan değerleri sunmaktadır. Bu aktiviteleri, metallerle şelat oluşturmalarından, serbest radikalleri bağlamalarından veya bazı enzimleri inhibe etmelerinden kaynaklanmaktadır. Antioksidan değeri, yapısında bulunan hidroksil grubu sayısının artması ile artmaktadır. Fenolikler güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olmalarının yanı sıra antialerjen, antitrombotik, antiproliferatif, antikolesterol, antikanserijen, antimikrobiyal ve sakinleştirici özelliklere sahiptir. Çeşitli biyoaktif etkilere sahip olmasından dolayı gıda, kozmetik, ilaç endüstrisi gibi farklı alanlarda kullanılmaktadır. Ayrıca bitkilerinin UV ışınlarından korunmasında ve bitki hücre duvarının bütünlüğünün sağlanmasında önemli rol oynamaktadır (Demir ve Akpınar, 2020; Lama-Muñoz ve Contreras, 2022; Liu, 2007).

Fenolik bileşikler fenol halkalarının sayılarına ve birbirlerine bağlanma durumlarına göre sınıflandırılmaktadır. Fenolik asitler, flavonoidler (antosiyanidinler, flavanonlar, flavonoller, flavanoller, izoflavonlar ve flavonlar), lignanlar ve stilbenler şeklinde adlandırılmıştır (King ve Young, 1999; Leopoldini ve ark., 2011).

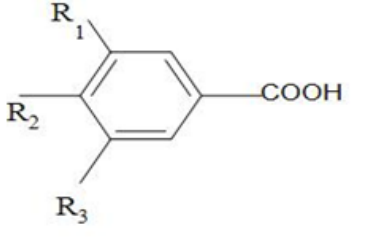
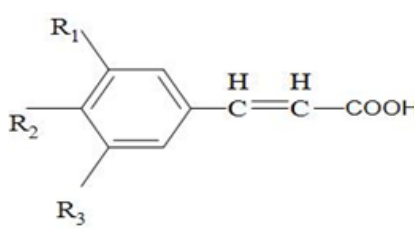
2.1.1.1. Fenolik asitler

Fenolik bileşiklerin en önemli sınıflarından biridir. Genellikle bağlı formda bulunurlar. Ligninler ve hidroliz edilebilir tanenler gibi kompleks yapıların bileşenleridir. Fenolik asitlerin karboksil içeren yapıları; glikozidler, karbonhidratlar, proteinler ve aminonasitlerle etkileşime girer (Leopoldini ve ark., 2011). Bu bileşikler; hidroksisüsinamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olarak incelenirler. Fenolik asitlere -

OCH₃ ve -OH gruplarının bağlanmasıyla bileşik türevleri oluşabilmektedir (Şekil 2.1.) (Evcimen ve Aslan, 2015; King ve Young, 1999).

Hidroksisinamik asitler, fenilpropan halkasına hidroksil grubunun bağlanmasıyla oluşan bileşiklerdir ve C₆-C₃ fenilpropan formundadır. Hidroksil grubun bağlandığı konuma ve sayısına göre; ferulik asit, p-kumarik asit, kafeik ve sinapik asit olarak isimlendirilmektedir (Şekil 2.1). p-Kumarik asit; gıda endüstrisinde genellikle antioksidan ve antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılmaktadır. Kafeik asit; birçok meyve ve sebzede, kahve çekirdeklerinde, tahıllar ve ayçiçeği çekirdeklerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunan fenolik asittir. Diğer en yaygın fenolik asit, tahıllarda bulunan ve hücre duvarında hemiselulozlara esterleştirilen ferulik asittir. Tahıllarda ferulik asitten sonra en çok bulunan hidroksisinamik asit ise sinapik asittir. Özellikle çavdarda sinapik asit değeri toplam fenolik asitlerin %10'una eş değer olduğu belirtilmiştir. Kuvvetli bir antitumöjenik ajan olan sinapik asit antimikrobiyal, antienflamatuar ve antikanser özelliklere sahiptir. Hidroksisinamik asitler kanser hücrelerinde inhibe edici aktivite göstermektedir (Bravo, 1998; Demir ve Akpınar, 2020; Naczki ve Shahidi, 2006; Dai ve Mumper, 2010).

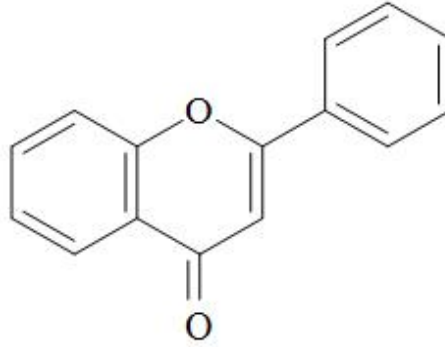
Hidroksibenzoik asitler ise C₆-C₁ fenil metan formundadır. Gallik asit, vanilik asit, şiringik asit ve pirokateşik asit bu grup içerisinde (Şekil 2.1). Vanilik asit, ferulik asitten vanilin eldesinde ara ürün olarak meydana gelmekte ve antimikrobiyal, pıhtılaşmayı önleyici, antioksidan ve antienflamatuar özelliklere sahiptir. Gallik asit; bitki bazlı meyvelerde ve az miktarda hidrolize edilebilir tanenlerde bulunmakta ve antikanserojen, antimikrobiyal ve anti-inflamatuar özelliklere sahiptir (Bravo, 1998; Demir ve Akpınar, 2020; Naczki ve Shahidi, 2006; Dai ve Mumper, 2010). Hidroksisinamik asitler, hidroksibenzoik asitlerden daha yaygın olarak bulunur. Hidroksibenzoik asit formu ise bitkilerde oldukça iz miktarda (10 ppm kadar) bulunmakta ve hidroksisinamik asitlerin β -oksidasyonu ile meydana gelmektedir (Atak ve Uslu, 2018; Naczki ve Shahidi, 2006).

							
Hidroksibenzoik asit	R1	R2	R3	Hidroksisinamik asit	R1	R2	R3
p-Hidroksibenzoik	H	OH	H	p-Kumarik	H	OH	H
Pirokateşik	H	OH	OH	Kafeik	H	OH	OH
Vanilik	CH ₃ O	OH	H	Ferulik	CH ₃ O	OH	H
Şiringik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O	Sinapik	CH ₃ O	OH	CH ₃ O
Gallik	OH	OH	OH				

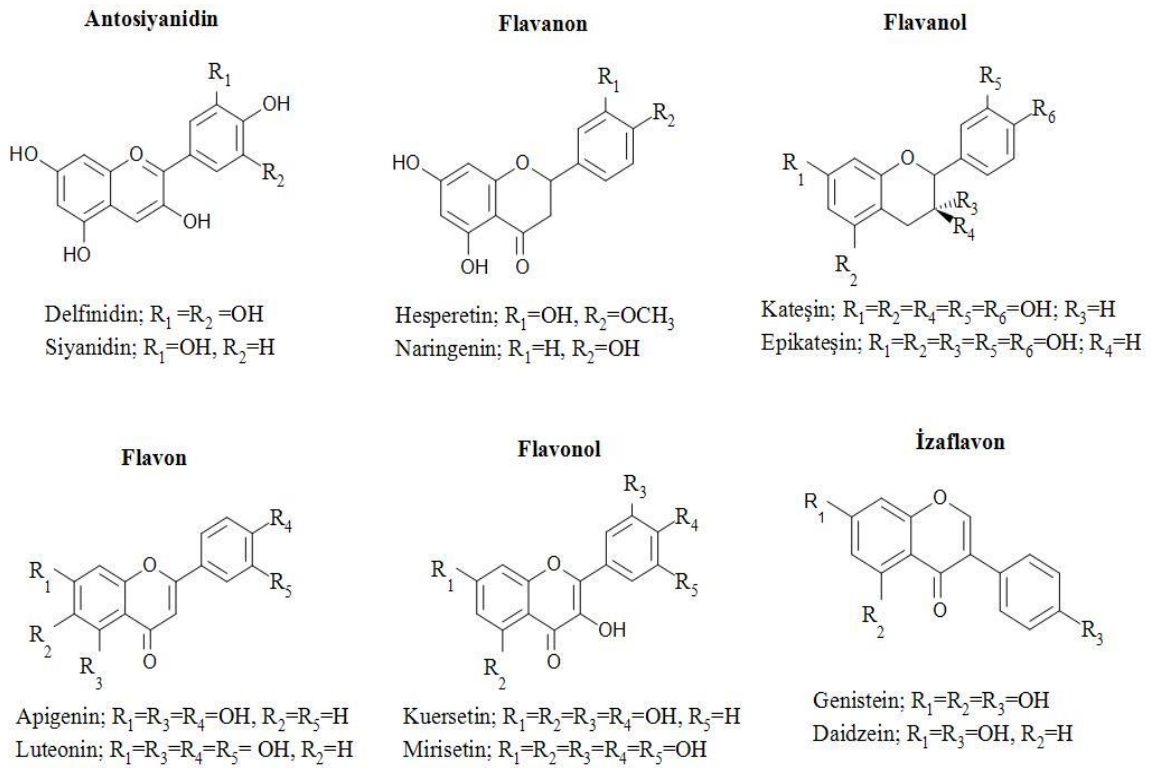
Şekil 2. 1. Fenolik asitlerin alt grupları (Atak ve Uslu, 2018; Naczki ve Shahidi, 2006)

2.1.1.2. Flavonoidler

Flavonoidler bitki fenollerinin en büyük grubudur. Doğada 5000'den fazla flavonoid çeşidi olduğu bilinmekte olup bu bileşikler insanlar tarafından sentezlenmemektedir. Diyetlerde en fazla bulunan polifenollerdir (Singla ve ark., 2019). Flavonoidler genellikle şeker moleküllerine bağlanarak oluşan, düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Temel flavonoid yapısı A, B ve C olarak üç halka halinde düzenlenmiş 15 karbon atomdan oluşmaktadır. Oksijen atomu taşıyan bir piran halkasıyla (C) bağlı, A ve B aromatik halkalarından oluşan, flavan (2-fenil-benzo-γ-piran) çekirdeğine sahiptir (Şekil 2.2) (Evcimen ve Aslan, 2015; Hidalgo ve ark., 2010). Piran halkasının oksidasyon derecesine, çekirdeğin hidroksilasyon oranına ve üçüncü karbondaki ikame grubuna göre antosiyanidinler, flavanonlar, flavonoller, flavanoller (kateşinler), flavonlar ve izoflavonlar olarak alt gruplara ayrılmaktadır (Şekil 2.3) (King ve Young, 1999; Leopoldini ve ark., 2011). Yapılan çalışmalar flavonoidlerin oldukça geniş farmakolojik ve fizyolojik etkinliklerinin olduğunu göstermektedir. Antikanserojen, antifungal, antialerjik, antioksidan, antibakteriyel ve antiviral gibi etkinliklere sahip oldukları bildirilmiştir (Evcimen ve Aslan, 2015; Liu, 2007; Hidalgo ve ark., 2010).



Şekil 2. 2. Flavonoidin genel yapısı (Singla ve ark., 2019)



Şekil 2. 3. Flavonoid alt sınıf bileşikleri ve kimyasal yapıları (Dai ve Mumper, 2010)

Antosiyanidinler, karbon halkasında yüklü oksijen bulundurmaları ile diğer flavonoidlerden farklılık gösterir. Bitkilerde antosiyanin glikoziti şeklinde bulunur ve kırmızıdan mora kadar değişik tonlardaki rengin oluşmasını sağlayan, suda çözünebilen gruptur. Glikolizasyon reaksiyonu antosiyanidin stabilitesini arttırmaktadır. Yapısındaki $-\text{OC}_3\text{H}$ grubun artışı ile kırmızı ton artarken, $-\text{OH}$ grubu artışı ile mavi renk tonu belirginleşmektedir. 500 civarında antosiyanidin tespiti olmasına rağmen en çok bilinenler malvidin, siyanidin, peonidin, pelargonidin ve delfinidin'dir. Yaban mersini, patlıcan, üzüm, böğürtlen, zeytinler, portakal, kırmızı soğan ve avakado en önemli

antosiyanidin kaynaklarındandır. Antosiyanidinlerin antioksidan, antialerjik, antidiyabetik, antikanserojenik, antimikrobiyal ve antimutajenik etkilerinin olduğu bilimsel olarak raporlanmıştır. Ayrıca gıda renklendirilmesinde sentetik renklendiricilere alternatif bir kaynaktır (Evcimen ve Aslan, 2015; Leopoldini ve ark., 2011).

Flavanonlar, portakal, üzüm ve limon gibi tüm turuncgillerde genel olarak bulunan önemli bir gruptur. Bu bileşikler, meyve kabuğunda ve suyunda acımsı bir tat oluşmasında rol oynamaktadır. Flavanonlarda bulunan C₂-C₃ arasındaki çift bağ, flavonların aksine doymuştur. Naringenin, eriodictyol ve hesperitin bu grubun önemli bileşiklerindendir. Flavanonlar, serbest radikal temizleyici özelliklerine sahip olduğundan sağlık açısından oldukça faydalı olduğu bilinmektedir. Narenciyede bulunan flavanonların, antioksidan, antiinflamatuvar ve kolesterol düşürücü gibi farmakolojik özellikleri bulunmaktadır (Cseke ve ark., 2006; Panche ve ark., 2016).

Flavonollerin C₃ pozisyonunda hidroksil grubu bulunmaktadır. Flavonoller gıdada en yaygın bulunan flavonoid grubudur. Kuercetin, mirisetin ve kaempferol en yaygın 3 flavonoldür. Kuersetin, flavanol grubunun büyük çoğunluğunu oluşturmaktadır. Soğan, karalahana, çay ve elma en yüksek flavanol değerine sahip gıdalardır (Dai ve Mumper, 2010; Leopoldini ve ark., 2011.)

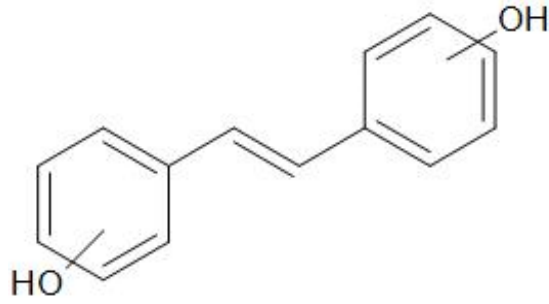
Flavanollerde, hidroksil grubu C halkasının 3. pozisyonuna bağlı olduğundan flavan-3-oller olarak adlandırılmaktadır. Ayrıca diğer flavonoidlerin aksine C₂-C₃ arasında çift bağ bulunmamaktadır. Kateşinler (+) ve epikateşinler (-) bu grupta yer almaktadır ve renksiz bileşiklerdir. Kateşinler trans konfigürasyonlu iken, epikateşinler cis formudur. Kateşinler genellikle dış dokularda daha yüksek oranlarda bulunmaktadır. Flavanoller muz, elma, şeftali, armut, yaban mersini gibi meyvelerde ve çayda oldukça yüksek miktarda bulunmaktadır ve konsantrasyonu olgunlaşmamış meyvelerde daha yüksektir. Bu yüzden kış boyu depolanan meyvelerin flavanol değerleri olgunlaşmamış meyvelerin flavanol değerinin yarısına karşılık gelmektedir. Çayda ise kuru maddenin %30'u flavanollerdir (Panche ve ark., 2016; King ve Young, 1999).

Flavonlar, flavonoidlerin en önemli alt gruplarından biridir. Flavonların C₂-C₃ arasında çift bağ ve karbon halkasının 4. pozisyonunda bir keton grubu bulunmaktadır. Bitkilerin çeşitli bölgelerinde glikozitler olarak bulunur. Kırmızıbiber, maydanoz, nane ve papatya flavonlarca zengindir. Bu grup içerisinde bulunan luteolin, tangeritin ve apigenin en çok bilinen flavon alt gruplarındandır. Turunçgillerin kabukları polimetoksillenmiş flavonlarca, nobiletin ve sinensetin bileşiklerince zengindir (Panche ve ark., 2016).

İzoflavonlar fitoöstrojenik olarak tanımlanmaktadır. Bu grup içerisinde en çok bilinenler; glisitein, daidzein ve genistein bileşikleridir. İzoflavonlar ısıya dayanıklı, suda az çözünen fakat alkolde çok çözünen bileşiklerdir. Baklagiller, soya ve kuru fasulye izoflavonlar açısından oldukça zengin besinlerdir. İzoflavonlar yaşlanmış ve oksidatif hasara uğramış hücrelerin homeostatik dengelerinin yenilenmesinde, katabolik enzimsel kaynaklı reaksiyonları inhibe etmede ve bağırsak, prostat, rahim kanseri gibi oluşumlara karşı koruma sağlamada etkili olduğu bilinmektedir. Ayrıca hücredeki kalsiyum değişimini ayarlayarak kemik erimesine karşı koruyuculuğu olduğu bilinmektedir (Evcimen ve Aslan, 2015; Garcia-Salas ve ark., 2010).

2.1.1.3. Stilbenler

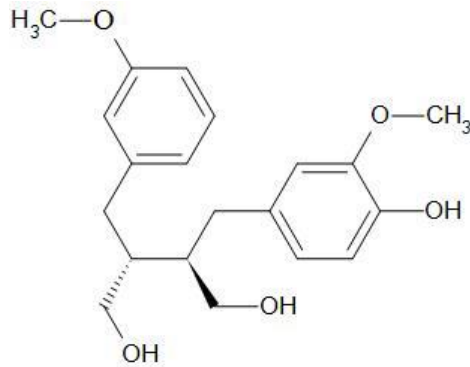
Stilbenler, hidroksil grupları (-OH) olan iki fenil halkasının etilen köprüsü ile birbirine bağlandığı, 14 karbonlu iskelet yapısına sahip, flavonoid olmayan fenolik bileşik grubudur. A halkası meta konumunda iki hidroksil grubu taşıırken, B halkası farklı konumlarda metoksil ve hidroksil grupları taşımaktadır (Şekil 2.4). Stilbenlerin en çok tanınanı resveratroidir. Temel kaynakları yer fıstığı, üzüm, kırmızı şarap ve soyadır. Resveratroler üzümlerin kabuk kısımlarında bulunmaktadır. Yüksek biyoyararlılığa sahip resveratrol vücutta güçlü bir antioksidan etki yaratmakta olup nitrik asit üretimini de arttırmaktadır. Ayrıca HDL değerini artırarak kalbi korumaktadır. Bitki stilbenlerin çoğu antifungal fitoaleksinler olarak kabul edilmektedir (İnaç ve Tuna, 2005; Lien ve ark., 2016).



Şekil 2. 4. Stilbenlerin yapısal formu (Singla ve ark., 2019)

2.1.1.4. Lignanlar

Lignanlar, iki sinamik asit kalıntısının dimerizasyonundan oluşan difenolik bileşiklerdir (Şekil 2.5). Genellikle serbest formda bulunan ikinci metabolitlerdir. Başlıca lignan türevleri sekoizolarisiresinol, matairesinol, izolarisiresinol ve larisiresinol'dur. Keten tohumunda, sebzelerde, tam buğday tanesinde, bazı meyvelerde ve çayda yüksek miktarda fitolignanlar bulunmaktadır. İn vitro ve in vivo çalışmalar, lignanların antioksidan, pro-apoptozis, anti-östrojenik, antikanserojen ve antianjiyojenik özelliklere sahip olduğunu göstermiştir (İnaç ve Tuna, 2005; Kolaç ve ark., 2017; Hazafa ve ark., 2022).



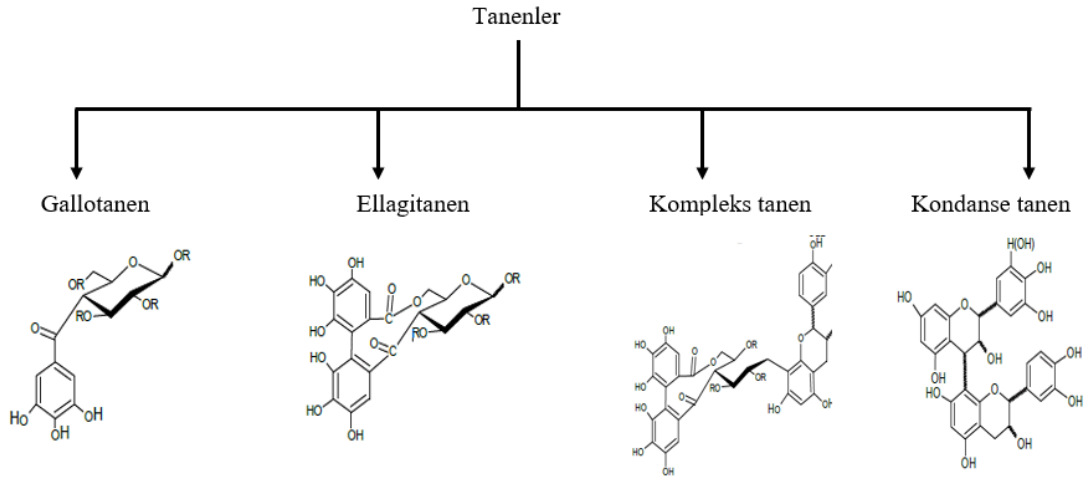
Şekil 2. 5. Lignanların yapısal formu (Singla ve ark., 2019)

2.1.2. Diğer fitokimyasal bileşikler

Fenol grubu içeren tanenlerin, proteinlerle, polisakkaritlerle (selüloz, hemiselüloz, pektin vb.), alkaloidlerle, nükleik asitler ve minerallerle dönüşümlü veya dönüşümsüz kompleks oluşturma kapasitesine sahip olduğu bilinmektedir. Suda çözünen, 500-30 000 Da

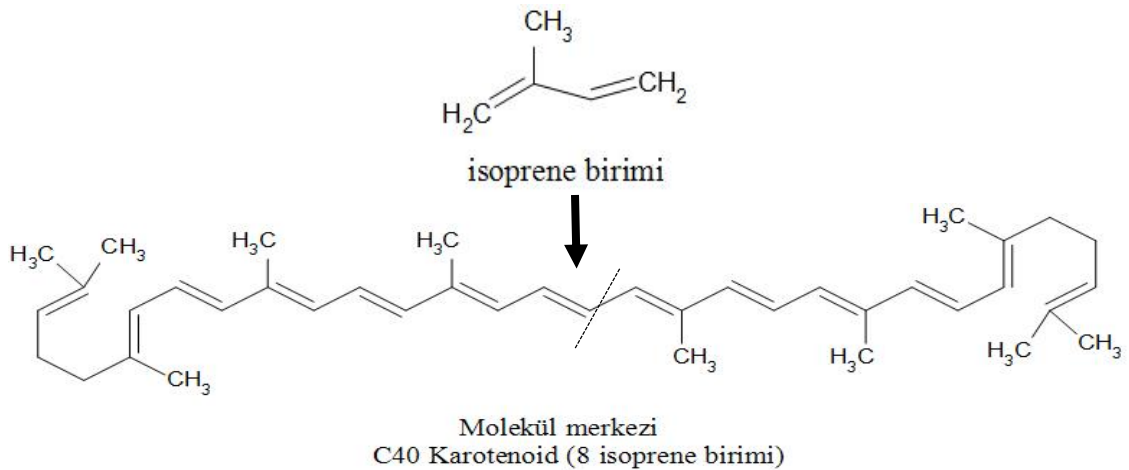
arasında yüksek molekül ağırlığına sahip, polifenolik bileşiklerin heterojen grubu olarak adlandırılmaktadır ve tüm yüksek yapılı bitkilerde bulunmaktadır. Tanenler kompleks tanenler, ellagitanenler, gallotanenler ve kondense tanenler şeklinde sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.6). Gallotanenler ile ellagitanenler hidrolize edilebilmektedir. Gallotanenlerin hidrolizi sonucu glikoz ve gallik asit meydana gelirken, ellagitanenlerin hidrolizinde gallik aside ek olarak glikoza bağlanan hidroksidifenil bileşiği meydana gelmektedir. Kompleks tanenler, kateşin gruplarının glikozit bağı ile ellagitanenler ve gallotanenlere bağlanması ile meydana gelmektedir. Kondanse tanenler, kateşin gruplarının 4. 6. ve 8. karbonlarından birisiyle birbirleri ile bağlanmasıyla oluşmuştur (Chung ve ark., 1998).

Tanenler bitkilerde kök, kabuk, meyve, yaprak ve tohum kısımlarında bulunabilmektedir. Tanen konsantrasyonu yüksek bitki dokuları, oldukça acı bir tada sahiptir (Atak ve Uslu, 2018; Koche ve ark., 2016; Cseke ve ark., 2006). Jelatini, alkaloidleri ve diğer proteinleri çöktürür. Proteinlerle gerçekleşen bu reaksiyon deri endüstrisinde tabaklama işlemi için kullanılmaktadır (Cseke ve ark., 2006; Chung ve ark., 1998). Ahşap endüstrisinde yapıştırıcı yapımında, yalıtım köpükleri yapımında, petrol endüstrisinde, su ve arıtma tesisi endüstrisinde, tıp alanında kullanımı gibi oldukça geniş kullanım yelpazesine sahiptir. Ayrıca bitki savunma ajanları olarak görev almakta ve ağaçları mantarlardan, patojenlerden, böceklerden ve otçul hayvanlardan korumaktadır. Bunlarla beraber, tanenler protein, nişasta ve sindirim enzimleri ile etkileşerek gıdaların besin değerini düşürmektedir. Vitamin ve minerallerin vücutta emilim düzeyi tanen varlığında azalmaktadır. Günlük diyetle yüksek miktarda tanen kullanımının gastroenterite ve bağırsak tıkanıklığına neden olduğu bilinmektedir. Bu yüzden tanenler beslenme açısından istenmeyen olarak kabul edilmektedir. Bunun yanı sıra tanenlerin önemli antimikrobiyal, antikanserojen, antimutajen ve antioksidan ajanlar olduğu kaynaklarca belirtilmiştir (Chung ve ark., 1998; Das ve ark., 2020).



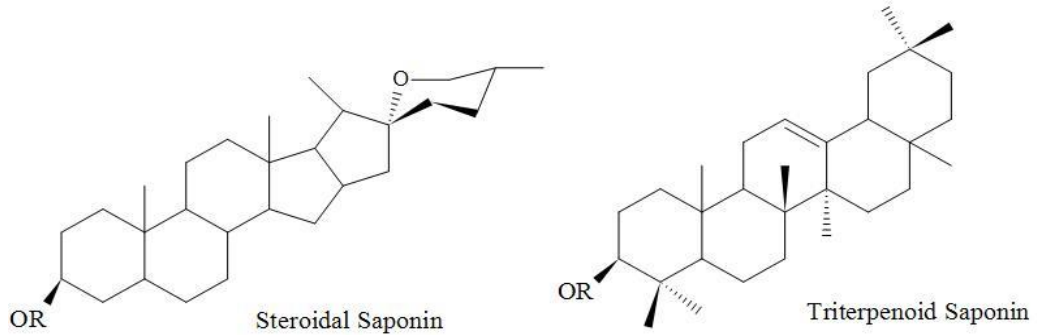
Şekil 2. 6. Tanen gruplarının yapısal formu (Das ve ark., 2020)

Karotenoidler, tetraterpenoidler olarak bilinmektedir. Simetrik iskelet yapısına sahip karotenoidler, farklı pozisyon ve sayıda metil grubu halkalarını yapısında bulundurur (Şekil 2.7). Yağda çözünen doğal pigmentlerdir. Ksantofiller (zeaksantin, β -kriptoksantin ve lutein) ve karotenler (likopen, α -karoten ve β -karoten) olarak iki sınıfa ayrılmaktadırlar. Meyve ve sebzelerin sarı, kırmızı ve turuncu renklerinden sorumludur. Bitkiler için iki önemli rolü vardır; fotosentezde kullanılan ışığı emmek ve klorofilin fotohasardan korunmasını sağlamak. Antikansorejen etkiye sahiptir. Ayrıca antioksidan özellikleri sayesinde oksidatif hasarı engellemektedir. Bazı kanser türlerine, göz ile ilgili hastalıklara ve nörolojik hastalıklara karşı koruyucu rol oynamaktadır (Evcimen ve Aslan, 2015; Campos-Vega ve Oomah, 2013).



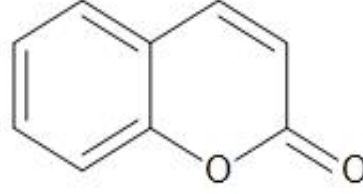
Şekil 2. 7. Karotenoidlerin kimyasal yapısı (Campos-Vega ve Oomah, 2013)

Saponinler, steroidal veya triterpenik bir aglikon içeren, çalkalama işleminde sulu çözeltileri köpük veren ve alyuvarları hemoliz edebilen glikozit grubudur (Şekil 2.8). Soğuk kanlı hayvanlar üzerinde toksik etkilere sebep olmakta, kolesterol ile kompleks oluşturmaktadır. Ayrıca antibiyotik ve antifungal özelliklere sahip saponinler bu temel özellikleri sayesinde dikkat çekici bir fitokimyasal grubudur (Campos-Vega ve Oomah, 2013). Saponinler sahip oldukları aglikon ve glikan yapılarına göre sınıflandırılmaktadır. Steroidal ve triterpenoidal saponinleri aglikon forma sahiptir. Bu bileşikler aglikon kısmındaki bağlanma bölgelerine bağlanan karbonhidrat zinciri sayılarına göre; monodezmodize (tek şeker molekülü), bidezmozide (iki şeker molekülü) ve tridezmozide (üç şeker molekülü) olarak adlandırılmaktadır. Tek şeker molekülünün bağlandığı monodezmodize saponinlerin tipik özelliklerine sahipken, iki şeker molekülünün bağlandığı bidezmozide bu özelliklerin çoğunu göstermemektedir. Saponinler mantarlara karşı güçlü aktivitelere sahip olduğu ve mantar hücrelerinin zar bütünlüğünü bozarak etki ettiği bilinmektedir. Güçlü antimikrobiyal aktiviteleri ise zincir uzunluğu ve sahip olduğu şeker üniteleri sayılarına göre değişmektedir (Küçükkurt ve Fidan, 2008; Patra, 2012).



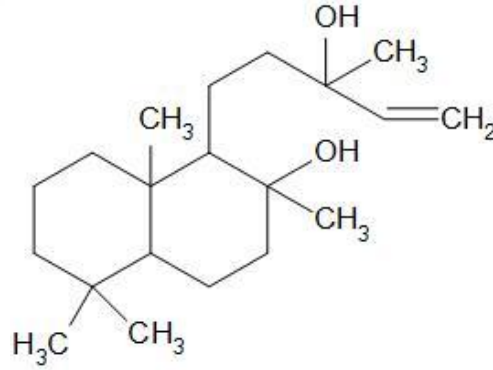
Şekil 2. 8. Steroid ile triterpenoidlerin aglikon yapısı (Patra, 2012)

Kumarinler, birçok bitkide ve mikroorganizmada doğal olarak bulunmaktadır (Şekil 2.9). Kanın pıhtılaşmasını önleyici (antikoagulan), antikanserojen, antifungal, antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Yağda çözünen bir bileşik olan kumarinler serbest radikal oluşumunu inhibe eder. Ayrıca proteinlerin, DNA'nın ve lipidlerin oksidatif hasarını engellemektedir. Bu sebepten oksidatif hasarın yüksek olduğu alzheimer tedavisinde kullanımının uygun olduğu bilinmektedir. Hoş kokuya sahip kumarin, kozmetik endüstrisinde ve temizlik malzemesi üretiminde koku verici ajan olarak kullanılmaktadır (Evcimen ve Aslan, 2015; Patra, 2012).



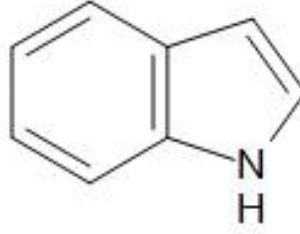
Şekil 2. 9. Kumarin kimyasal yapısı (Patra, 2012)

Günümüzde 36 000 üzerinde terpen yapısına sahip bileşik tanımlanması yapılmış olup, bitki ve hayvanların çoğunda bulunabilen fitokimyasal bileşiklerin en büyük doğal ürün grubunu terpenler oluşturmaktadır. Hoş kokulu ve viskoz bir yapısı vardır. Terpenler aynı zamanda terpenoidler ve izoprenoidler olarak da bilinmektedir. Terpenoidler, yapısında bulunan izoprenoid birimlerinin sayısına göre sınıflandırılmaktadır (Şekil 2.10). Bitkilerin büyüme, gelişme, üreme ve savunma gibi tüm süreçlerinde rolü bulunmaktadır. Genellikle hoş koku ve tada sahip olmalarından dolayı gıda ve kozmetik alanlarında kullanılmaktadır. Farmokoloji alanında antikanser, antimikrobiyal, antibiyotik ve antiinflamuar ajan olarak kullanılmaktadır (Patra, 2012).



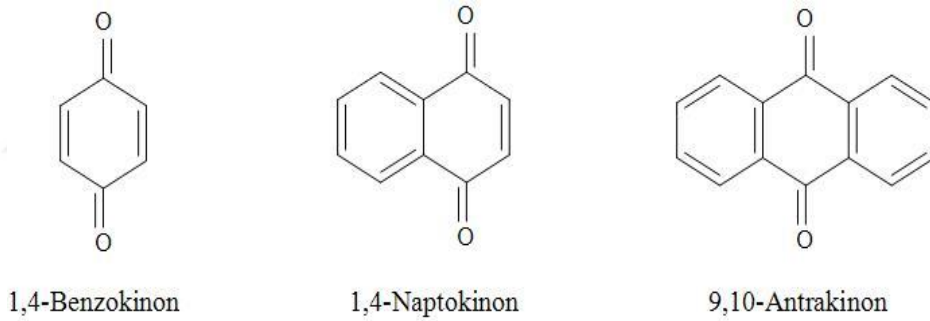
Şekil 2. 10. Terpenoidlerin kimyasal yapıları (Patra, 2012)

İndoller benzen ve pirol halkalarının birleşmesi ile oluşan antioksidan özelliğine sahip bir fitokimyasaldır (Şekil 2.11). Brokoli, lahana, karnabahar ve brüksel lahanası gibi sebzeler başlıca indol kaynaklarıdır. C vitamini ile etkileşime giren fitobesinler bu gruptadır. Glikozinotlar indollerin kanser önleyici özelliği olmasında etkilidir. Farmakoloji alanında ilaç aktif ajanları olarak görev yapmaktadır (Evcimen ve Aslan, 2015; Patra, 2012).



Şekil 2. 11. İndol kimyasal yapısı (Patra, 2012)

Kinon, yapay ve doğal pigment verici olarak kullanılan fitokimyasal bileşiklerdendir. Kinon; doymamış siklik keton grubu veya aromatik monosiklik gruplarından oluşmaktadır (Şekil 2.12). Gıda endüstrisinde renklendirici olarak kullanılmaktadır. Kinonlar; benzokinonlar, naptokinonlar ve antrakininonlar olarak sınıflandırılmaktadır. Antifungal, antitümör, sitotoksik, antiviral, antikanser ve antiviral özelliklere sahiptir (Vargas ve ark., 2000).



Şekil 2. 12. Kinon sınıflandırılması (Deveoğlu ve Karadağ, 2011)

2.2. Fitokimyasal Bileşiklerin Ekstraksiyon Yöntemleri

Bitkilerde bulunan biyoaktif bileşenlerinin izolasyonu, bileşiklerin tanımlanması, sınıflandırılması, kalitatif ve kantitatif analizleri için oldukça önemlidir. Bu yüzden istenilen fitokimyasal bileşiklerin izolasyonu için ekstraksiyon yöntemi ve optimum koşulları önemli kritik noktalardandır. Biyoaktif bileşiklerin ham maddeden ekstraksiyonu, çoğunlukla numune matrisine ve hedef bileşiklerin fizikokimyasal ve kimyasal özelliklerine bağlıdır. Ayrıca, çözücünün özellikleri, ham maddelerin tanen boyutu, katı/sıvı oranı, sıcaklık ve ekstraksiyon süresi de ekstraksiyon verimliliğini etkilemektedir. Teorik olarak, ekstraksiyon yöntemleri geleneksel ve yenilikçi olarak iki kategori altında değerlendirilmektedir (Mosić ve ark., 2020; Doughari, 2012; Kumar ve

ark., 2023). Seçilen yöntem ne olursa olsun tüm ekstraksiyon yöntemlerinin temel prensibi (Lama-Munoz ve Contreras, 2022; Doughari, 2012);

- Çözücünün katı numuneye nüfuz etmesi,
- Hedef bileşiklerin çözücü içinde çözünmesi,
- Hedef bileşiklerin katı matristen difüzyonu,
- Süpernatantın toplanmasıdır.

Verimli bir ekstraksiyonun süresi kısa, yöntemi kolay ve maliyeti düşük olmalıdır. Hedeflenen madde ekstraksiyon süresince kayba uğramamalı veya yapısı bozulmamalıdır. Ekstraksiyon sonucunda ekstrakt çözücü kalıntısı içermemelidir. Bu yüzden son zamanlarda geleneksel ekstraksiyon tekniklerine alternatif olarak farklı ekstraksiyon teknikleri araştırılmaya başlanmıştır. Buradaki amaç; organik solvent ve enerji tüketimini, kirliliği ve maliyeti azaltmak, zamandan tasarrufu sağlamak, ekstra bir saflaştırmaya gidilmesini engellemektir. Araştırılan ekstraksiyon tekniklerinden bazıları; süperkritik akışkan ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemi, darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon yöntemi ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleridir (Büyüktuncel, 2012; Katırcı, 2023; Lama-Munoz ve Contreras, 2022; Garcia-Salas ve ark., 2010).

2.2.1. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi

Mikrodalga, 300 MHz ve 300 GHz frekans aralığında, 1.0 mm ile 1.0 m aralığında değişen dalga boyuna sahip, iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik radyasyonlardır. 915 MHz frekansı daha fazla nüfuz etme derinliği ile endüstriyel kullanıma uygunken, 2450 MHz frekansı genellikle ev tipi mikrodalgalarda kullanımı uygundur (Mirzadeh ve ark., 2020; Kumar ve ark., 2023). Mikrodalga destekli ekstraksiyon biyoaktif bileşiklerin (fenolik bileşiklerin, lipidlerin ve karbonhidratların vb.) ekstrakte edilmesinde tercih edilen bir yöntemdir. İki farklı mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniği bulunmaktadır. Kapalı kap tekniği ile sıcaklık ve basınç kontrolü sağlanırken, açık kap tekniğiyle ekstraksiyon atmosfer basıncı altında gerçekleşmektedir. Mikrodalga'nın enerjiyi absorblaması prensibine dayanarak, hücre duvarlarında yüksek basınç yaratılarak parçalanması ve bileşiklerin çözücüye geçmesi sağlanır. Mikrodalga destekli

ekstraksiyon yöntemi, geleneksel ekstraksiyon yöntemine göre kısa sürede, daha az solvent tüketimi ve daha az enerji kullanımı sağladığı için avantajlı olmasına rağmen aşırı yüksek sıcaklık ve basınç altında gerçekleştirildiğinden yüksek sıcaklıklara karşı hassas bileşiklerin yapısının bozulmasına ve ürün veriminin azalmasına sebep olmaktadır. Ekstraksiyon yönteminin seçiciliğinin düşük olması nedeniyle ekstraksiyon işleminden sonra tekrar ayırıştırma basamağına ihtiyaç duyulması, solvent seçiminin kısıtlı olması ve yüksek maliyeti diğer dezavantajlarındandır (Routray ve Orsat, 2012; Kumar ve ark., 2020; Kaderides ve ark., 2019).

Li ve ark., (2012), 20 çeşit domatesten mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi kullanarak fenolik bileşik ekstrakte etmişler ve antioksidan aktivitelerini belirlemişlerdir. Mikrodalga ekstraksiyon yöntemi veriminin çözücü ekstraksiyon yöntemine göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Başka bir çalışmada marasca vişnesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak antosiyanin ve fenolik bileşik ekstrakte edilmiş ve geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla mikrodalga destekli ekstraksiyon veriminin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Garofulic ve ark., 2013). Kaderides ve ark., (2019)'nın yaptığı çalışmada, nar kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşik ekstrakte edilmiş ve farklı ekstraksiyon yöntemlerinin verim kıyaslaması yapılmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin fenolik bileşik ekstraksiyon verimini arttırdığı ve geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla ekstraksiyon süresini 60 kat, ultrason destekli ekstraksiyon yöntemine kıyasla 10 dakika kısalttığı belirtilmiştir. Skenderidis ve ark., (2020), nar kabukları ile vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi kullanarak fenolik bileşik ekstrakte etmişler ve endüstriyel vakum mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin fenolik bileşik ekstraksiyonu için umut verici bir teknik olduğunu belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada alıç meyvesinden maserasyon yöntemi, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleriyle fenolik bileşik izolasyonu yapılmış ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek fenolik bileşik ekstrakte edildiği belirtilmiştir (Yılmaz ve ark., 2021). Afoakwah ve ark., (2023)'nin yaptığı çalışmada yer elmasından mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik ekstrakte edilmiş ve bu yöntem ile geleneksel ve ultrasonik

ekstraksiyon yöntemlerine göre daha yüksek toplam fenolik bileşik ve flavonoid bileşik verimi elde edildiği belirtilmiştir.

2.2.2. Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi

Ultrason, yüksek ve düşük basınçların sırasıyla sıkıştırma ve genleşme olarak adlandırılan ve bir dizi döngünün birleşimi olarak tanımlanan mekanik dalgaların yayılmasına dayanan bir yöntemdir. Ultrasonda yer alan dalgaların frekansları; duyulabilir aralığın üstünde (>20 kHz) ve mikrodalga frekansının (<10 MHz) altındadır. Bu yöntemin prensibi dalgalar aracılığıyla bitki matrisinde ve bitki hücrelerinde bozulmalar gerçekleştirerek bitkinin sahip olduğu biyoaktif bileşiklerin çözüme geçmesini sağlamaktadır. Gıda endüstrisinde kullanılan frekans aralığı yaklaşık olarak 20 kHz ile 1 MHz arasında iken, 5 MHz üzerindeki frekans uygulaması ise genellikle tıbbi tanımlama uygulamalarında kullanılmaktadır (Kumar ve ark., 2023).

Ultrasonik dalgalar elektromanyetik dalgaların aksine mekanik yapıdadır. Böylece katı, sıvı ve gaz ortamlarda yayılabilmektedir. Düşük yoğunluklu ultrasonik ve yüksek yoğunluklu ultrasonik uygulamalar olarak iki ayrı gruba ayrılmaktadır. Düşük yoğunluklu ultrasonik yöntemde 5-10 MHz arasında değişen yüksek frekans ve 1 W/cm^2 'den daha düşük bir güç kullanılmaktadır. Çeşitli maddelerin karakterizasyonu için uygun olan bu yöntem istenilen maddede tahribata neden olmamaktadır. Yüksek yoğunluklu ultrasonik yöntemde ise 20-100 kHz arasında değişen düşük frekans ve $10-1000 \text{ W/cm}^2$ arasındaki yüksek güç kullanılmaktadır (Shen ve ark., 2023). Bu yöntem ile ultrasona maruz kalan bitkisel dokuda kavitasyon etkisiyle hücre duvarlarında hasarlar meydana gelir ve hücre içindeki istenen bileşikler kütle transfer aktarımı ile çözgenin yapısına geçmesi prensibi ile ekstrakte edilir (Kaur ve ark., 2023). Ultrasonik ekipmanın fiziksel parametleri (frekans, güç, güç yoğunluğu, ekstraksiyon süresi vb.), çözücünün özellikleri (yüzey gerilimi ve viskozite) ve çevresel faktörler (sıcaklık, basınç) ekstraksiyon verimini etkileyen faktörlerdendir (Shen ve ark., 2023).

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi prop tipi (doğrudan ultrasonik) veya banyo tipi (dolaylı ultrasonik) ultrasonik sistemler olmak üzere iki tipdir. Prop tipi sistemde ultrasonik

ekipman, doğrudan katı-sıvı çözeltinin içine temas ederken; banyo tipi sistemde, ultrasonik ekipman banyonun tabanına yerleştirilmiştir. Prop tipi ultrasonik sistemler küçük hacimli numune ekstraksiyon işlemleri için, ultrasonik banyo sistemleri ise daha çok sayıdaki numune ekstraksiyon işlemlerinde kullanılmaktadır (Shen ve ark., 2023).

Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi; ürün verimini iyileştirmek ve gıda güvenliğini sağlamak, hücreleri parçalamak ve ekstrakte elde etmek amacıyla geliştirilen, tıp, gıda ve denizcilik gibi oldukça geniş alanda kullanılan tekniktir. Gıda endüstrisinde bu teknik, homojenleştirme, ekstraksiyon, emülsifikasyon, kristalleştirme, gaz giderme, enzimlerin inaktivasyonu veya aktivasyonu, köpük giderme ve düşük sıcaklıkta pastörizasyon işlemleri için kullanılmaktadır. Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha kısa sürede, yüksek miktarda bileşik ekstrakte edilse de yüksek maliyeti, yüksek miktarda çözücü kullanımı ve ekstra bir filtrasyon işlemine gerek duyulması gibi dezavantajları bulunmaktadır. Diğer bir dezavantajı ekstraksiyon parametrelerini optimize etme ihtiyacıdır. Bu yöntemde verim ekstraksiyon süresine bağlıdır; ancak fitokimyasal salınımı için gerekli süreden fazlası numunenin bozulmasına neden olmaktadır. Sıcaklık ise bu yöntemin verimini etkileyen diğer bir parametredir. Sıcaklığın artması ile kütle transferi artarken ısıya duyarlı fitokimyasal bileşiklerin yapısı bozulmaktadır. En yüksek ekstraksiyon verimi elde etmek için ultrason gücünü arttırmak, gıda nem içeriğini azaltmak ve sıcaklık kontrolünü yapmak gerekmektedir. Ayrıca ultrasonun frekansı, kabarcıkların boyutunu etkilediğinden frekans gücü ve şiddetinin ekstraksiyon işlemine uygun bir şekilde seçilmesi gerekmektedir (Kaderides ve ark., 2019; Medina-Torres ve ark., 2017; Shi ve ark., 2022; Kaur ve ark., 2023; Gündüz ve Karabıyıklı Çiçek, 2024).

Virot ve ark., (2010), elma posasından geleneksel ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanarak fenolik bileşik izolasyonu gerçekleştirmişler ve ultrason destekli ekstraksiyon yönteminin geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla verimde %20 oranında artış sağladığını bildirmişlerdir. Phuong ve ark., (2020) yaptığı çalışmada, muz kabuğundan ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirmişler ve verim açısından geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile kıyaslamışlardır. Toplam fenolik bileşik içeriği ultrason destekli ekstraksiyon için 32.5

mg GAE/g kuru ağırlık olarak rapor edilirken, geleneksel ekstraksiyon için 18.7 mg GAE/g kuru ağırlık olarak rapor edilmiştir. Atalay ve İnanç (2020), kırmızı biber çekirdeklerinden ultrason destekli ekstraksiyon ve geleneksel çözücü ekstraksiyon yöntemleri kullanarak fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirmişler. Ultrason destekli ekstraksiyonun (336.30 mg GAE/g), geleneksel çözücü ekstraksiyon (262 mg GAE/g) yöntemine kıyasla daha fazla fenolik bileşik ekstrakte ettiği bildirilmiştir. Razola-Diaz ve ark., (2021) yaptıkları çalışmada, portakal kabuklarından ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşik ekstraksiyonunu araştırmışlardır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla kısa sürede ve düşük sıcaklıkta %60 oranında daha fazla toplam fenolik bileşiğin geri kazanıldığı belirtilmiştir. Wang ve ark., (2023) portakal kabuklarından farklı ekstraksiyon yöntemleri (geleneksel ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon) ile fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirmişler ve ekstraksiyon yöntemi verimlerini kıyaslamışlardır. Fenolik bileşik eldesi ve verimi açısından ultrason destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemlerinin, geleneksel ekstraksiyon yöntemine göre daha etkili olduğu bildirilmiştir. Uğurlu ve Bakkalbaşı, (2023) yeşil cevizlerden konvansiyonel ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile fenolik bileşik izolasyonu yapmışlardır. Ultrason destekli ekstraksiyon ile kısa sürede daha yüksek verim ile fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirildiği belirtilmiştir.

2.2.3. Süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yönteminin prensibi; süperkritik koşullardaki akışkan içinde çözünen bileşiklerin, basınç düşürülerek gaz halindeki solventin geri kazanılmasıyla ekstrakte edilmesine dayanmaktadır. Bu yöntemde çözünen olarak genellikle düşük kritik sıcaklığa ve basınca sahip olması sebebiyle CO₂ kullanılmaktadır. İnsan ve çevre sağlığı açısından zararlı olmayan, yanıcı olmayan, ortam basıncı ve sıcaklığında gaz halinde bulunan CO₂, basıncın düşürülmesi ile elde edilen ekstraktan kolaylıkla uzaklaşmaktadır. Kullanılan gazın toksik olmaması, kalıntı bırakmaması ve ekstraksiyon veriminin yüksek olması bu yöntemin avantajları arasında yer almaktadır. Dezavantajları ise; bu yöntemin ilk yatırım maliyeti ve enerji gereksiniminin oldukça yüksek olmasıdır. Ayrıca tercih edilen CO₂ gazının düşük polariteye sahip olması bazı

ekstraksiyon uygulamaları için kısıtlama getirmektedir. Bu sorunu çözmek için düşük konsantrasyonlarda metanol, etanol veya su ilaveleri yapılarak CO₂ gazının polaritesi yükseltilmektedir (Gündüz ve Karabıyıklı Çiçek, 2024; Taşkiran ve ark., 2023; Kumar ve ark., 2023).

Uwineza ve ark., (2021) ısırgan otundan süperkritik CO₂ ekstraksiyon yöntemi ile 50°C’de fenolik bileşik (650.17 mg GAE/g) ekstrakte etmişlerdir. Kaur ve Ubeyitoğulları, (2023) pirinç kabuklarından süperkritik CO₂ ekstraksiyon yöntemi kullanarak toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Optimum koşullarda (%25 etanol-su, 30 MPa, 60°C) ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik miktarlarını sırasıyla 1.29 mg GAE/g ve 0.40 mg CE/g şeklinde rapor etmişlerdir. Ayrıca etanol ilavesi ile daha yüksek miktarda biyoaktif bileşik izolasyonu olduğu belirtmişlerdir.

2.2.4. Basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemi

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu yöntemi literatürde; hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, yüksek basınçlı yüksek sıcaklıkta çözücü ekstraksiyonu, subkritik çözücü ekstraksiyonu ve basınçlı sıcak çözücü ekstraksiyonu; çözücü yerine suyun kullanıldığı zamanlarda ise; sıcak su ekstraksiyonu, yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu, subkritik su ekstraksiyonu ve süper ısıtılmış su ekstraksiyonu gibi çeşitli tanımlamalara sahip, fitokimyasal izolasyonu için yeni bir tekniktir (Güler, 2021; Li ve ark., 2019). Yüksek sıcaklık ve basınç altında gerçekleştirilmektedir. 3.3-20.3 MPa arasında değişen yüksek basınç ile solventin yüksek sıcaklarda dahi sıvı halde bulunması sağlanmaktadır. Yüksek sıcaklık ise suyun dielektrik özelliklerinde değişikliğe sebep olarak suyun standart bir organik çözücü gibi davranmasını sağlamaktadır (Alara ve ark., 2021).

Basınçlı sıvı ekstraksiyon yönteminde verimi etkileyen en önemli parametre uygulanan ekstraksiyon sıcaklığıdır. Kullanılan sıcaklık hidrojen bağı, van der Waals kuvvetleri ve dipol çekimleri gibi etkileşimleri bozarak ekstraksiyon veriminin artmasını sağlamaktadır. Ayrıca çözünenin, solventin ve matriksin yüzey gerilimini düşürerek

örneğin ıslanmasını kolaylaştırmaktadır. Böylece analitlerin solventte çözünmesi hızlanmaktadır. Yüksek sıcaklık etkisi ile ekstraksiyon süresinin daha hızlı olması ve daha az solvent kullanılması sağlanmaktadır. Diğer en önemli parametre ise solvent seçimidir. Daha yüksek ekstraksiyon verimi için ekstraksiyonda kullanılan solventin poleritesinin, ekstrakte edilecek bileşik polaritesi ile benzer olması gerekmektedir. Fenolik bileşik ekstraksiyonu için en sık kullanılan çözücüler; etanol, metanol ve su ile birlikte farklı miktarlarda kullanıldıkları kombinasyonlarıdır. Diğer bir önemli parametre olan yüksek basınç ise, matrikste bulunan hava kabarcıklarının yarattığı problemleri ortadan kaldırarak solventin analite ulaşmasını ve analitin çözünürlüğünü artırarak matriksten ayrılmasını sağlamaktadır. Ekstraksiyon süresi, solvent hacmi, örnek miktarı, örnek bileşimi ve örneğin ön hazırlık teknikleri ekstraksiyon verimini etkileyen diğer etkenlerdir (Büyüktuncel, 2012). Basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemi, diğer geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile kıyaslandığında elde edilen ekstraktların daha saf oluşu, başka bir saflaştırma adımına gerek duyulmaması, ekstraksiyon süresinin kısa olması, çözücü kullanımının az ve ekstraksiyon veriminin fazla olması gibi avantajları bulunmaktadır (Alara ve ark., 2021; Ferri ve ark., 2020). Yöntem kontrollü laboratuvar koşullarında yüksek verim göstermesine rağmen, güvenlik için sıkı proses kontrolünün gerekli olması, yüksek enerji kullanımı ve yüksek maliyet gibi önemli dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajlar yöntemin endüstriyel boyutta kullanılmasını sınırlamaktadır (Koskinakis ve ark., 2025; Li ve ark., 2019).

Ferri ve ark., (2020), kırmızı üzüm posasından çözücü bazlı ve basınçlı sıvı ekstraksiyonları kullanarak fenolik bileşik ekstrakte etmişler ve çözücü bazlı ekstraksiyon ve basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik içeriğini sırasıyla 46.9 g GAE/kg ve 79 g GAE/kg olarak rapor etmişlerdir. Ayrıca basınçlı sıvı ekstraksiyon yönteminin daha düşük maliyetli olması, son ürünlerdeki kalıntının düşük olması ve daha yüksek fenolik bileşik miktarı sağladığı için çözücü bazlı ekstraksiyon yöntemine kıyasla daha avantajlı bir teknik olduğunu belirtmişlerdir. Pereira ve ark., (2021), çarkıfelek meyvesi kabuklarından basınçlı sıvı ekstraksiyonu ve ultrasonla kombinasyonlu ultrason destekli basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemleri kullanarak ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik miktarlarını incelemişlerdir. Ultrason destekli basınçlı sıvı ekstraksiyon yönteminde toplam fenolik bileşik geri kazanımının

%100 olduğunu rapor etmişlerdir. Allcca-Alca ve ark., (2021) üzüm kabuğundan ve çekirdeklerinden basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanarak ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik miktarlarını incelemişler ve basınçlı sıvı ekstraksiyon yönteminin asetonla yapılan geleneksel ekstraksiyona kıyasla ekstrakte ettiği polifenol miktarlarının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

2.2.5. Darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon yöntemi

Darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon yöntemi kısa ve yüksek voltajlı darbeler ile membran yapılarında tahribat yaratarak, istenilen bileşiğin ekstrakte edilmesini sağlayan ve termal olmayan bir ekstraksiyon yöntemidir. Bu yöntem; verdiği hasar sonucu bitki hücre duvarının geçirgenliğini artırarak çözücüye daha fazla biyoaktif bileşiğin geçmesini sağlamaktadır. Canlı hücreye uygulanan elektrik potansiyeli hücrenin zarından geçer ve zar moleküllerinin yüklerine göre ayrılmasını sağlamaktadır. 1 V'luk transmembran potansiyel değerini aştıktan sonra zarın zayıf bölgelerinde gözenekler oluşturur ve yük taşıyan moleküller arasında itmeler meydana getirir. Bu da zardaki geçirgenliğin artmasına neden olmaktadır. Ekstraksiyon yönteminde ısıtma işlemine ihtiyaç duyulmadığından, termolabil bileşiklerin yapıları bozulmamaktadır. Enerji girişi, darbe sayısı, alan gücü ve sıcaklık ekstraksiyon verimini etkileyen parametrelerdir. Ayrıca ekstrakte edilecek bileşiğin hücre sitoplazmasındaki veya vakuollerdeki konumu ve boyutu da ekstraksiyon verimini etkileyen faktörlerdendir. İşleminin kısa olması ve düşük sıcaklık kullanımı bu yöntemin avantajları arasındadır. Ekstraksiyon işlemi sırasında hava kabarcıklarının oluşması, membran değişikliklerinin geri dönüşümlü olması, verimin elektrik alan şiddetine ve elektrot boşluğuna bağlı olması yöntemin dezavantajlarıdır (Pawase ve ark., 2024; Hwang ve ark., 2021; Shi ve ark., 2022).

Yapılan literatür taramasında bira atıklarında darbeli elektrik alan ile ön ekstraksiyon işlemi kullanılarak toplam serbest ve bağlı fenolik bileşik ekstrakte edilmiştir. Ön işlem uygulanmayan ekstraksiyon örneklerine (kontrol) göre toplam serbest ve bağlı fenolik bileşik miktarının sırasıyla 2.7 ve 1.7 kat daha yüksek değerde olduğu ve kullanılan ön işlemin biyoaktif bileşik ekstraksiyon işlemi kolaylaştırdığı rapor edilmiştir (Martín-García ve ark., 2020). Rajha ve ark., (2019) nar kabuklarından geleneksel ekstraksiyon, kızılötesi destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alanı

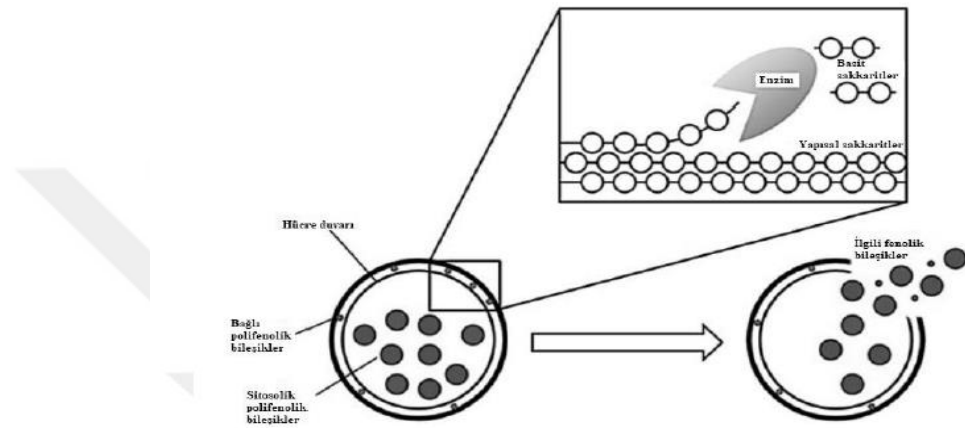
destekli ekstraksiyon ve yüksek voltajlı elektrik deşarjı destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanarak biyoaktif bileşik izolasyonu gerçekleştirmişler ve yöntem kıyaslamaları yapmışlardır. Darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon yöntem ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik değerini 39 mg GAE/g olarak tespit etmişlerdir. Bu değer yüksek voltajlı elektrik deşarjı destekli ekstraksiyon yöntemine göre %15.22 daha düşük, ultrason destekli ekstraksiyona göre %168.97 ve geleneksel ekstraksiyona göre %680 daha üstün olduğu belirtilmiştir. Sonuçlar nar kabuklarından fenolik bileşik ekstraksiyonu için darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon yönteminin seçici ve hasarsız olduğunu göstermiştir. Başka bir çalışmada mandalina kabuklarından darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon ve alt kritik su ekstraksiyon yöntemleri birlikte uygulanarak hesperidin ve narirutin miktarları incelenmiştir. Darbeli elektrik alanı destekli ekstraksiyon ile desteklenen ekstraksiyon sonucunda hesperidin ve narirutin miktarlarının sırasıyla %22.1 ve %33.6 oranında arttığı rapor edilmiştir (Hwang ve ark., 2021).

2.2.6. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi

Enzim destekli ekstraksiyon tekniği yenilikçi ekstraksiyon yöntemler arasında yer alan çevre dostu alternatif bir tekniktir. Enzim kullanılması ile çözücü kullanımı en aza indirgenerek son ürünlerdeki kalıntı oluşumu engellenmektedir. Ekstraksiyonda enzimlerin hücre duvarını parçalama özelliğinden yararlanarak sitoplazmik içeriğin kullanılan ekstraksiyon sıvısına hareketi sağlanır. Böylece fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu daha kolay bir şekilde gerçekleştirilmiş olur. Çevre dostu bu yöntemin dezavantajı ise yüksek miktarda ürün ekstrakte etmek için kullanılacak olan enzim maliyetlerinin nispeten pahalı olmasıdır (Atalay ve ark., 2018; Dai ve Mumber, 2010; Öztürk, 2022).

Bitkilerden biyoaktif bileşiklerin enzim destekli ekstraksiyonu, geleneksel çözücü ekstraksiyon yöntemlerine karşı potansiyel bir alternatiftir. Bu yöntem etkili, zararsız, sürdürülebilir ve çevre dostu bir yöntemdir. Enzimler, özgüllük ve seçicilik özellikleri ile biyoaktif bileşiklerin biyolojik potansiyellerini koruyarak ılımlı koşullar altında ekstraksiyonunu gerçekleştirir. Temel prensip; optimum koşullarının sağlanması ile katalizör olarak enzimlerin hücre duvarını parçalaması ve böylece hücre içi bileşenlerin serbest bırakılmasını sağlamaktır (Şekil. 2.13). Yöntem tehlikeli çözücülere gereksinimi

azalmakta ve ekstraksiyon süresinin kısılmasını sağlamaktadır. Geleneksel yöntemlere göre daha düşük enerji tüketimi, hızlı ekstraksiyon, yüksek verim, az çözücü kullanımı ve kolay geri kazanım gibi avantajlar sunmaktadır. Ayrıca ekstraksiyon sonunda meydana gelen atıkların bertarafı için herhangi ek işleme gerek kalmamaktadır (Kitryté ve ark., 2017; Kumar ve ark., 2023; Amulya ve Ul Islam, 2023).



Şekil 2. 13. Bitki hücre duvarları yapısında oluşan enzim destekli ekstraksiyon mekanizması (Kitryté ve ark., 2017).

Enzimatik ekstraksiyon yönteminde ekstrakte edilecek ürün kalitesi ve verimi birçok faktöre bağlıdır. Enzim bileşimi ve konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi, sıcaklığı ve tampon çözeltinin pH değeri gibi parametrelere göre ürün verimi değişmektedir (Alara ve ark., 2021; Atalay ve ark., 2018; Marathe ve ark., 2019). Enzimatik ekstraksiyon yönteminde kullanılan düşük sıcaklıklar fenolik bileşiklerin yapısını bozmadan ekstrakte edilmesini sağlar. Kullanılan düşük sıcaklık ile enerji tüketimi azalmakta ve yüksek sıcaklıkta meydana gelen ekipman korozyonu engellenmiş olmaktadır. Ekstraksiyon yönteminde kullanılan enzimlerin kendi optimal pH değerleri bulunduğundan, ılımlı pH değerlerinde yüksek verimde fenolik bileşik eldesi sağlanmaktadır (Güzel, 2017; Marathe ve ark., 2019).

Bazı fitokimyasallar bitki matrislerinde hücre sitoplazması içinde sertbest halde bulunurken, bazı bileşikler ise polisakkaritlere (hemiselüloz, pektin ve selüloz), proteinlere ve lignine bağlı olarak bulunmaktadır. Bu yüzden geleneksel ekstraksiyon

yöntemi ile bu bileşiklerin çözücülere geçmesi zorlaşır ve ekstrakte edilemezler. Enzimatik yöntemlerin kullanımı ile hücre duvarına bağlanan fitokimyasalların ekstraksiyonu da sağlanmaktadır. Bitki hücre duvarı başlıca hemiselüloz, selüloz ve pektinden oluşmaktadır. α -Amilaz, pektinaz ve selülaz gibi seçici enzimlerin kullanılması hücre duvarı yapısının hasar görmesini sağlayarak bağlı fenolik bileşiklerin serbest kalmasını sağlamaktadır (Gómez-García ve ark., 2012; Aydın ve ark., 2025).

Fenolik bileşik ekstraksiyon yöntemlerinde farklı özelliklere sahip enzimler kullanılmaktadır. Kullanılan enzimler genellikle mikroorganizmalardan ve bitkilerden elde edilmektedir. Bu enzimlerden bazıları selülaz, alfa-amilaz, β -glukosidaz, hemiselülaz, ksilanaz, β -glukanaz, tanaz, pektinaz, proteaz ve amiloglukosidazdır. Ayrıca bu enzimlerin endüstriyel formları olan; Viskozyme L® (Sigma Aldrich), Pectinex Ultra® (Sigma Aldrich), Celluclast® 1.5 L (Sigma Aldrich) ve Novoferm® (Novoferm) enzimleri de ekstraksiyon için kullanılmaktadır (Gómez-García ve ark., 2012; Ermiş ve ark., 2018; Karaoğlu ve Alma, 2018; Meini ve ark., 2019; Alexandre ve ark., 2019; Islam ve ark., 2023; Baruah ve ark., 2023; Aydın ve ark., 2025). Ekstraksiyonda kullanılan bazı enzimlerin özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

- **α -Amilaz:** Nişastadaki α -(1-4) glikozidik bağlarını rastgele parçalayan, düşük ağırlıklı endoenzimlerdir (Kaur ve ark., 2023).
- **Pektinaz:** Bitki hücre duvarlarındaki pektin polimerlerinin hidrolizini katalize eden enzim grubudur (Alexandre ve ark., 2019).
- **Selülaz:** Selülozun hidrolizini katalize ederek glikoza parçalayan enzim grubudur (Islam ve ark., 2023).
- **Proteaz:** Protein peptit bağlarını hidrolize eden enzim grubudur (Kaur ve ark., 2023).
- **Amiloglukosidaz:** Nişastadaki α -(1-4) bağının yanında α -(1-6) glikozidik bağı da parçalayan eden enzim grubudur (Kaur ve ark., 2023).
- **Tanaz:** Hidroliz edilebilir tanenlerdeki ester bağlarının hidrolizini katalize ederek glikoz ve gallik asit üreten enzim grubudur (Meini ve ark., 2019).
- **Pectinex Ultra®;** Pektin yapısını parçalayn ticari bir enzimdir (Gómez-García ve ark., 2012).

- **Novoferm®**; Pektini hidrolize eden pektolitik enzimdir (Gómez-García ve ark., 2012).
- **Rohapect-MC®**; Pektin esteraz aktiviteye sahip enzimdir (Ivanković ve ark., 2023).
- **Viskozyme-L®**; *Aspergillus aculeatus*'tan türetilen bir ticari enzim kokteylidir. Pektinazlar, selülozlar, hemiselülozlar, β -glukanaz, ksilanaz ve arabanaz dahil olmak üzere çeşitli karbonhidraz aktivitelerine sahip kompleks enzimlerdir (Aydın ve ark., 2025).

Munoz ve ark., (2004), üç farklı üzüm çeşidinden (Cabernet Sauvignon, Carmenere ve Ribier), Pektinex BE3-L (*A.niger*'den elde edilen pektinesteraz, pektinliyaz, selüloz ve hemiselüloz), Vinozym EC (*A. niger* ve *Trichoderma longibrachiatum*'dan elde edilen selüloz ve pektinaz) ve Vinozym G (*A.niger*'den elde edilen pektinliyaz, poligalakturonaz, selüloz ve hemiselüloz) enzimleri kullanarak antosiyanin ekstrakte etmişler ve en yüksek verimi Ribier çeşidi üzüm çeşidinden Vinozym EC enzimi ile 2 saatlik ekstraksiyon sonucunda bulmuşlardır. Kammerer ve ark., (2005) enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile şarap yapımı yan ürünlerinden fenolik bileşik ekstraksiyonu çalışmışlar ve enzim ilavesi yapılmayan ekstraksiyonlara kıyasla enzim muamelesinin verimi oldukça arttırdığını rapor etmişlerdir. Maier ve ark., (2008) yaptıkları çalışmada, üzüm posasından fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için enzimatik yöntemi kullanmışlar, 40° C sıcaklıkta ve 4 pH'da pektinolitik ve selülotik enzim preparatlarının 2:1 oranında karıştırılması ile 2 saatlik ekstraksiyon işlemi sonucu en yüksek değerde fenolik bileşik ekstrakte etmişlerdir. Fenolik asitlerin, antosiyaninler ve antosiyanin olmayan flavonoidlerin verimlerini sırasıyla %91.9, %63.6 ve %92.4 olarak bildirmişlerdir. Laroze ve ark., (2010)'nın yaptığı çalışmada, enzim destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak ahududu katı atıklarından fenolik bileşik ekstrakte edilmiş ve ekstraktların antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile ahududu atıklarından ekstrakte edilen fenolik bileşik veriminin enzim kullanılmayan kontrol verilerine kıyasla %35 oranında arttığı, antioksidan kapasitesinin ise DPPH, ABTS ve FRAP yöntemlerine göre sırasıyla %50, %15 ve %30 oranlarında arttığı belirlenmiştir. Meini ve ark., (2019) farklı enzimlerle (pektinaz, selüloz ve tanaz) üzüm posasından fenolik bileşik eldesi çalışmışlardır. Tanaz ve selüloz enzimlerinin birlikte kullanılmasıyla ekstraksiyon

veriminin %66 oranında arttığı ve antioksidan kapasitenin ise %80 oranında arttığı belirtilmiştir. Alexandre ve ark., (2019) nar kabuklarından yüksek basınç altında enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşik ekstrakte etmişler ve bu bileşiklerin antioksidan kapasitesi ve antimikrobiyal aktivitelerini değerlendirmişlerdir. 300 MPa ve 600 MPa yüksek basınçlarda pektinaz ve selüloz enzimleri ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş, 300 Mpa basınç altında gerçekleşen ekstraksiyon sonucunda maksimum fenolik bileşik miktarına ve maksimum antioksidan kapasitesine ulaşıldığı belirtilmiştir. Görgüç ve ark., (2020) yaptığı çalışmada, vakum ultrason destekli ekstraksiyon ve vakum ultrason destekli enzimatik ekstraksiyon yöntemleri ile susam kepeğinden biyoaktif bileşik kazanım verimleri araştırmıştır. Geleneksel ekstraksiyonla karşılaştırıldığında fenolik bileşik verimlerinin sırasıyla %31 ve %41.6 oranında arttığı bildirilmiştir. Baruah ve ark., (2023) yaptığı çalışmada, assam çay yapraklarından selüloz ve pektinaz enzimleri kullanarak kateşin (TCC, EGCG, EGC, ECG, EC ve C) ekstraksiyonu ve optimizasyonu yapmışlardır. Optimum koşullarının 18.1 dakika, 88.5°C sıcaklık ve 188 EU/g enzim konsantrasyonunda elde edildiği belirtilmiş ve bu koşullarda kateşin alt gruplarının TCC, EGCG, EGC, ECG, EC ve C verimleri sırasıyla 265.7 mg/g, 140.25 mg/g, 44.98 mg/g, 43.98 mg/g, 18.94 mg/g ve 17.55 mg/g olarak rapor edilmiştir. Sonuçlar, ekstraksiyon işleminde enzim varlığının kateşin ekstraksiyonunda etkili olduğunu göstermiştir.

2.3. Viskozyme L®

Viskozyme L® (Sigma-Aldrich); *Aspergillus sp.*'den türetilen bir ticari enzim kokteylidir ve pektinaz, selüloz, hemiselüloz, β -glukanaz, ksilanaz ve arabanaz dâhil olmak üzere çeşitli karbonhidraz aktivitelerine sahip enzim kompleksidir. *Aspergillus* türleri polisakkarit parçalayıcı enzimlerini genetik olarak kodlayabilmekte ve böylece karmaşık bitki biyokütlesini doğal olarak parçalamalarını sağlamaktadır. Viskozyme L enziminin temel aktivitesi selüloz ve ksiloglukanlarda bulunan β - D -glukanlardaki (1,3) veya (1,4) bağlarının hidrolizini katalize eden endo- β - glukanaz enzimidir. Kompleks enzim olduğu için ekstraksiyon sırasında bitki hücre yapısı içindeki diğer polisakkaritleri de etkili bir biçimde hidroliz ederek ekstraksiyon veriminin artmasını sağlamaktadır (Aydın ve ark., 2025; Liu ve ark., 2024).

Literatürde daha önce enzim destekli ekstraksiyon (Viskozyme) ile fenolik bileşik eldesi; muz kabuklarından Viskozyme, selüloz ve pektinaz enzimleri kullanılarak yapılmış ve en yüksek verim Viskozyme enziminde belirtilmiştir (Islam ve ark., 2023). Üzüm posasından Viskozyme, Cellubrix ve Neutrase enzimleri kullanılarak polifenolik bileşik ekstrakte edilmiş ve en yüksek verim her üzüm çeşidine göre 3 farklı enzimin farklı dozajlarında olduğu rapor edilmiştir (Costoya ve ark., 2010). Olgunlaşmamış elmalardan Viskozyme, Celluclast ve Pectinex enzimleri kullanılarak fenolik bileşik ekstraksiyonu yapılmış ve en yüksek elde Viskozyme enziminde olduğu belirtilmiştir (Zheng ve ark., 2009). Siyah havuçlardan Viskozyme enzimi kullanarak yüksek antosiyanin ve fenolik bileşik ekstrakte edildiği bildirilmiştir (Kumar ve ark., 2022). Puzeryte ve ark., (2023) *Hippophae rhamnoides* L. yapraklarından %1 oranında Viskozyme enzimi ile 3.15 saat ekstraksiyon süresinde, 45°C’de ve pH 4.9’da yüksek oranda biyoaktif bileşik ekstrakte etmişlerdir. Siyah frenk üzümü posasından Viskozyme-L ve Rohapect®-MC enzimlerinin kombiynasyonu (2:1) ile yapılan enzimatik ekstraksiyon sonucunda ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik değerinin %95.3 oranında arttığı belirtilmiştir (Ivanković ve ark., 2023).

2.4. Meyve Atıkları

Dünyadaki toplam atıkların %40-50’sini; kuraklık, sel, haşere istilası, uygunsuz taşıma ve depolama koşulları sonucunda meyvelerden, sebzelerden ve diğer kök bitkilerden gelen gıda atıkları oluşturmaktadır. Bu yüzden atık bertarafının maliyeti ve çevre üzerinde giderek artan etkisi endişe yaratmakta ve bertarafının sürdürülebilirliği oldukça önem taşımaktadır. Meyve işleme endüstrisinde yaprak, kabuk, tohum ve posa şeklinde atık yan ürünleri meydana gelmektedir (Ray ve ark., 2023). Bu atıklar fenolik bileşikler, antosiyaninler, flavonoidler, vitaminler, mineraller ve antioksidanlar gibi önemli biyoaktif bileşikler ve diyet lifi kaynaklarıdır. Doğal biyoaktif bileşikler; ilaç, kozmetik, hayvancılık endüstrisinde hammadde olarak; gıda endüstrisinde ise fonksiyonel ürün geliştirilmesinde düşük maliyetli, yenilebilir alternatif bir kaynak olarak kullanılmaktadır (Wang ve ark., 2023; Islam ve ark., 2023; Amulya ve Ul Islam, 2023).

2.4.1. Nar

Nar meyvesi *Punica granatum* Latince ismi ile adlandırılan ve tropik ve subtropik şartlarda yetişen kurak iklim meyvesidir. Nar içinde yüzlerce tanecikten oluşan, çiçekli, dikenli, dört köşe dala sahip iki ila beş metre boylarına sahip bir ağaç meyvesidir. Türkiye başta olmak üzere İran, Çin, Fas, Güney Asya, Güney Kafkasya bölgeleri narın anavatanı olarak kabul edilir. Genellikle taze tüketilen nar, pekmez, nar ekşisi, boya, sirke, ilaç ve hayvan yemi üretimi gibi geniş bir sektör yelpazesinde kullanılmaktadır. Nar meyvesi hoş tada sahip, sağlık açısından oldukça faydalı olması sebebiyle tıbbi bir bitki olarak adlandırılır. Ayrıca AIDS hastalığı tedavisinde kullanılan yiyecekler sınıfında olup Japon menşeli ilaçlarda kullanılan dokuz bitki arasında yer almaktadır (Demir ve ark., 2019; Öztürk, 2022; Kumar ve ark., 2020).

Türkiye’de 2023 yılında 638 821 ton nar üretimi gerçekleşirken 2024 yılında %10.1 artarak 703 425 ton nar üretimi gerçekleşmiştir (TUIK, 2025). Türkiye nar üretimi ile dünyada 3. sırada yer almaktadır ve nar üretiminin %60’ı Akdeniz Bölgesinde, %24’ü Ege Bölgesinde, %14’ü Güneydoğu Anadolu Bölgesinde gerçekleşmektedir (Binici ve ark., 2023).

Nar meyvesi birçok biyoaktif fenolik bileşiğe ve yüksek antioksidan özelliğe sahiptir. İç kısmı kadar kabuk kısmı da birçok biyoaktif bileşik içerir ve ekstraktlarının toksik etkisi olmadığı kanıtlanmıştır. Yenmeyen kabuk kısmı narın %30-40’ını oluşturur. Kabukta bulunan fenolik bileşik konsantrasyonunun, pulp kısmından 10 kat daha fazla olduğu belirlenmiştir (Binici ve ark., 2023). Kabuk kısmı yüksek molekül ağırlığına sahip fenolik bileşiklere, flavonoidlere, antosiyaninlere, elajitanenlere, kompleks polisakkaritlere ve hidroliz edilebilir tanenlere sahiptir (Sing ve ark., 2018; Lampakis ve ark., 2021). Klorojenik, siringik, kafeik, gallik asit, vanilik asit, ferulik asit, kumarik asit, p-kumarik asit, ellagik asit ve sinamik asit kabukta tanımlanan fenolik asitlerdir. Ellagik asit, nar kabuklarındaki toplam fenolik bileşiklerin %50’sinden fazlasını oluşturmaktadır. Kateşin, kuersetin, antosiyaninler, epikateşin ve prosiyanidinler ise nar kabuğunda bulunan flavonoid çeşitleridir. Antosiyanin içeriği ve bileşimi farklı kabuk renklerine göre değişmektedir. Pelarogidin, delfinidin, siyandin ve peonidin kabukta bulunan ve renk değişimini sağlayan antosiyanin çeşitlerindendir. Punikalajin, punikalın, granatin A,

granatin B, lagerstannin C, kastalagin ve corilagin nar kabuklarında tespit edilen tanen çeşitleridir. Punikalajinler insan vücudunda kolayca emilebilen kalp ve damar sağlığı için oldukça önemli bileşenlerdir. Nar kabukları eski zamanlarda geleneksel tıpta antiparazitik ve antihelmintik etkiye sahip olmasından dolayı baş ağrısı, ishal, ülser, dizanteri ve aft tedavilerinde kullanılmıştır. Fitokimyasal bileşiklere sahip olmasından dolayı antimikrobiyel, antialerjik, antimutajenik, antikarsinojenik ve antienflamatuar özelliklere sahip olduğu yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (Sing ve ark., 2018; Lampakis ve ark., 2021).

Demir ve ark., (2019) nar kabuklarının fenolik bileşik miktarlarını, bileşiklerin in vitro antienflamatuar, antioksidan, antidiyabetik, antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini incelenmiştir. Sonuçlar nar kabuğunun yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesi ile gıdalardaki oksidatif ve mikrobiyal bozulmaları engelleyebileceği ve karbonhidatların hidrolizini geciktirebileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca sahip olduğu sitotoksik özellik sayesinde kanser riskini azaltmada ve kanser tedavisinde rol oynayabileceği rapor etmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada nar kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile fenolik bileşik ekstrakte edilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile 199.4 mg GAE/g fenolik bileşik, ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile ise 119.82 mg GAE/g fenolik bileşik ekstrakte edildiği rapor edilmiştir. Ayrıca nar kabuklarında 143.64 mg/g miktarında yüksek punikalajin ve %94.91 oranında antioksidan aktivitesi değeri tespit edilmiştir (Kaderides ve ark., 2019). Kumar ve ark., (2020) yaptıkları çalışmada nar kabuklarından enzimatik destekli mikrodalga ekstraksiyon yöntemi kullanarak 411.1 mg GAE/g fenolik bileşik değerine ulaşıldığı belirtilmiştir. Hasnaoui ve ark., (2014) yaptıkları çalışmada, nar kabuklarının fenolik bileşik değerlerinin nar türlerine göre 205-276 mg GAE/g arasında değiştiğini belirtmişlerdir. Ayrıca nar kabuğunun yüksek antioksidan aktivite değerine sahip olduğu rapor edilmiştir. Çam ve ark., (2013) yaptıkları çalışmada, dondurmalara %0.1-0.4 aralığında değişen oranlarda nar kabuğu ekstraktı eklenmesiyle, dondurmanın fenolik bileşen değerinin arttığını, ayrıca dondurmaların antioksidan ve antidiyabetik aktiveleri özelliği kazandığını bildirmişlerdir. Ayrıca dondurmaların duyuusal özelliklerini etkileyecek herhangi bir durumla karşılaşmadığı belirtilmiştir. Dahham ve ark., (2010) yaptığı çalışmada, nar kabuğu, nar suyu ve diğer meyve ekstraktlarının bakteriyel ve

funga enfeksiyonlara karşı antimikrobiyel aktivilerini incelemişler ve nar kabuğunun en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiğini belirtmişler.

2.4.2. Mandalina

Turunçgiller Güneydoğu Asya'nın subtropikal ve tropikal bölgelerinde yetişen, *Rutaceae* familyasına ait çiçekli bitki türleridir. Kabuklarında bulunan flavonoidler ve limonoidler sayesinde kendilerine has kokuları ile dikkat çekmektedir. Turunçgiller ve yan ürünleri yüksek antioksidan potansiyeline sahiptir. Ayrıca fenolik bileşikler gibi birçok biyoaktif bileşikler açısından oldukça zengindir. Turunçgil kabukları gıda endüstrisinde; pektinin, flavonoidlerin, fenolik bileşiklerin, antioksidanların ve doğal renklendiricilerin üretimi için kullanılabilir. Bu bileşenler gıda endüstrisinde; gıdalarda oksidasyonu önlemek, tat ve aroma katmak veya sağlık açısından ek faydaları olan fonksiyonel gıdalar geliştirmek amacıyla kullanılabilir (Sawalha ve ark., 2009; Özcan ve ark., 2021).

Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE) 2024 raporuna göre; 2023-2024 yılı içerisinde dünyada 103 milyon tona yakın turunçgil üretimi yapılmıştır. Bu üretimin 47 milyon tona yakını portakal, 38 milyon tona yakını mandalina, 10 milyon tona yakını limon ve 7 milyon tona yakını da greyfurt aittir. Dünyada portakal üretiminin %32'sini Brezilya, %16'sını Çin, %12'sini AB ve %10'unu Meksika karşılamaktadır. Mandalina üretiminde ise %71'lik pay ile Çin en büyük üretim payına sahiptir. Geri kalan üretimin %8'i Türkiye'de ve %7'si AB'de yapılmaktadır. Türkiye 2.9 milyon tonluk mandalina üretimi ile dünya üretiminde 2. sırada, portakal üretiminde ise 7. sırada bulunmaktadır. TÜİK Bitkisel Üretim İstatistiklerine göre 2024 yılında Türkiye'de 1 milyon 988 bin ton mandalina, 1 milyon 730 bin ton limon, 1 milyon 610 bin ton portakal ve 150 bin ton greyfurt üretimi gerçekleşmiştir (TEPGE, 2024).

Mandalina (*Citrus reticulata*) dünyada en çok üretilen ve tüketilen turunçgil meyvelerinden biridir. Diğer turunçgillere göre soğuğa karşı dirençli olması adaptasyonunu kolaylaştırmıştır. Portakala kıyasla daha yumuşak bir kabuk yapısına sahiptir. Sıkılarak veya ince kabuğu soyularak tüketilmektedir. Satsuma, Lee, Marisol, Ovari, Kara, Okitsu, Fremont, Clemantin, Ankor, Robinson, Minneola, Ortanik, Kinnow,

Tangerina ve yerli mandalina çeşitleri ülkemizde yetiştirilmektedir (Güzel, 2017; Özcan ve ark., 2021).

Mandalina kabukları genellikle gıdalarda aroma ve tat verici olarak kullanılabilse de büyük bir kısmı atılmaktadır. Mandalina narirutin ve hesperidin flavonoidlerince oldukça zengindir. Fenolik asitlerden ise kafeik asit, ferulik asit, p-hidroksibenzoik asit, p-kumarik asit, sinapik asit ve vanilik asit değerleri yüksektir. Ayrıca mandalina kabuklarının yüksek β -karoten değerine, zengin fenolik bileşiklere ve yüksek antioksidan değerine sahip olduğu bilinmektedir (Güzel, 2017; Ferreira ve ark., 2018; Zhang ve ark., 2024). Geleneksel Çin tıbbında kurutulmuş mandalina kabukları hazımsızlık, bronşit ve astım tedavilerinde kullanılmıştır. Turunçgil flavonoidlerinin antialerjik, antibakteriyel ve antikanser ajanları olduğu bilinmektedir (Ferreira ve ark., 2018).

Güzel ve Akpınar, (2017) yaptıkları çalışmada, aynı koşullarda mandalina kabuklarının portakal kabuklarından daha fazla fenolik bileşik içeriği olduğunu bildirmişlerdir. Kaur ve ark., (2023) yaptıkları çalışmada, mandalina kabuklarından ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile 36.17 mg GAE/g fenolik bileşik ekstrakte etmişler ve yüksek antioksidan kapasitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Uçak ve Khalily, (2022) yaptıkları çalışmada, farklı çözücülerle (etanol, metanol ve aseton) ekstrakte edilen mandalina kabuklarının toplam fenolik bileşik içeriğini ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Farklı çözücülerdeki (etanol, metanol ve aseton) antioksidan aktiviteleri ve toplam fenolik bileşik içerikleri farklı sonuçlar vermiş, bu da kullanılan çözücünün verimi ve antioksidan aktiviteyi önemli derecede etkileyebileceğini göstermiştir. Chen ve ark., (2021) farklı turunçgil kabuklarından (mandalina, portakal, limon ve kumkuat) ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi kullanarak izole edilen ekstraktların fenolik bileşik değeri ve antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. En yüksek toplam fenolik bileşik, toplam flavonoid bileşik içeriğine ve antioksidan aktiviteye mandalina kabuklarının sahip olduğu tespit edilmiştir. Kaur ve ark., (2024b) geleneksel (soxhlet ve maserasyon) ve yenilikçi ekstraksiyon (ultrason ve mikrodalga destekli) teknikleri kullanarak mandalina kabuklarından fenolik bileşik ekstrakte etmişler ve antioksidan aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Ultrason destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik değerinin geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla %25-35

oranında fazla olduğu belirtilmiştir. Li ve ark., (2006)'nın yaptığı çalışmada mandalina kabuklarından enzimatik ekstraksiyon ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik değeri 130 mg GAE/g olarak rapor edilmiştir.

2.4.3. Muz

Muz insan vücudu için gerekli tüm besin maddelerini içeren en önemli meyvelerden biridir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen meyve mahsullerindendir. Dünyada 2020 yılında 113 212 452 ton muz üretimi yapılmış olup üretimin büyük kısmını Hindistan (31 504 000 ton), Çin (13 324 337 ton) ve Endonezya (7 007 125 ton) karşılamıştır (FAO, 2022). TÜİK Bitkisel Üretim İstatistiklerine göre 2024 yılında 875 bin ton muz üretimi yapılmıştır. Bu üretimin tamamına yakını Antalya ve Mersin illerinde gerçekleşmiştir (TÜİK, 2024).

Eski zamanlarda muz kabukları geleneksel tıpta yanıklar, ishal, ülser, diabet, öksürük, yılan ısırığı ve iltihaplanma gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. Muz kabuğu ekstraktlarının insan hücreleri için toksik olmadığı göz önüne alındığında doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabileceği belirtilmiştir. Güçlü antioksidan, antibakteriyel ve antibiyotik etkiye sahip olmasından dolayı nutrasötik ve farmasötik endüstrisinde kullanılmaya uygundur (Avram ve ark., 2022).

Genellikle taze olarak tüketilen bir meyve olan muz kurutulmuş meyve, cips, dondurma, ekmek, şarap yapımlarında veya fonksiyonel gıdalar için endüstride farklı ürünlere dönüştürülerek kullanılabilir. Muzun %30'u kabuk kısmından oluşur ve genellikle atılmaktadır. Bu atıklar büyük miktarda nitrojen, fosfor ve yüksek oranda su içerdiği için mikroorganizmalar tarafından değişime uğratılır ve çevresel sorunlara yol açabilir. Muz kabukları diyet lifi, proteinler, esansiyel asitler, çoklu doymamış yağ asitleri ve potasyum açısından oldukça zengindir. Ayrıca yüksek düzeyde fenolik bileşiklere (flavonoller, flavan-3-oller ve hidroksisinnamik asit) sahiptir. Gallik asit, epikateşin, kateşin, tanenler ve antosiyaninler muz kabuğunda bulunan önemli fenolik bileşiklerdendir. Nutrasötik ve farmasötik endüstrisi için umut verici özelliklere sahiptir. Muz kabuğundaki gallokateşin miktarı pulpunda bulunan değerden 5 kat daha yüksek miktardadır. Bu değer muz

kabuğunun yüksek bir antioksidan bileşik kaynağı olduğunu göstermektedir (Islam ve ark., 2023; González-Montelongo ve ark., 2010).

Farklı ekstraksiyon teknikleri (geleneksel ekstraksiyon yöntemi ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi) kullanarak muz kabuklarından fenolik bileşik eldesi ve antioksidan aktiviteleri incelenmiş; %50 etanol konsantrasyonunda 31.46 mg GAE/g değerinde fenolik bileşik elde edildiği belirtilmiştir (Chaudhry ve ark., 2022). Islam ve ark., (2023) enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen muz kabuğu ekstraktlarının 25.37 mg GAE/g fenolik bileşik değerine sahip olduğunu bildirmişlerdir. Parvez ve ark., (2023)'nın yaptığı çalışmada, muz kabuklarından çözücü ekstraksiyon (metanol ve asetat) yöntemi ile en yüksek fenolik bileşik içeriğine metanol ile ulaştığını bildirmişlerdir. Bir başka çalışmada olgunlaşmış muz kabuklarının yüksek antioksidan aktiviteye ve yüksek biyoaktif bileşik içeriğine sahip olduğu belirtilmiştir (Athanasiadis ve ark., 2023). Toupal ve Coşansu, (2023) dondurularak kurutulmuş muz kabuğundan çözücü ekstraksiyonu (aseton, metanol ve etanol) ile toplam fenolik bileşik izolasyonu gerçekleştirmişler ve en yüksek toplam fenolik bileşik içeriğine çözücü olarak metanol kullanıldığında ulaşıldığını ve 49.21 mg GAE/g verimle fenolik bileşik elde edildiğini rapor etmiştir. Bulgular, muz kabuklarının da fenolik bileşikler açısından oldukça zengin bir kaynak olduğunu göstermektedir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Tez çalışmasında kullanılan kabukların hazırlanması için nar, muz ve mandalina yerel marketlerden temin edilmiştir. Taze meyve kabukları doğrayıcı vasıtasıyla küçük parçalara ayrılarak ev tipi fırında 50°C’de kurutulmuştur. Daha sonra öğütülerek elekten geçirilen kabuklar kullanılıncaya kadar +4°C’de buzdolabında saklanmıştır. Analizlerin her biri 3 paralel, 2 tekrür halinde yapılmıştır.

Selüloz (*Aspergillus niger*), Viskozye L® (*Aspergillus sp.*) ve α -Amilaz (pankreatik) Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD)’den satın alınmıştır. 3-Etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit (ABTS), 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ), 2,2 difenil-1-pikrohidrozil (DPPH), 2-(3,4-Dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-4H-l-benzopiran-4-birdihidrat (Quercetin), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit troloks Sigma-Aldrich (St. Louis, MO; ABD)’den; 3,4,5-trihidroksibenzoik asit (galik asit) Alfa Aesar (Almanya)’dan; Folin-Cioaltea phenol reagent, Dinitrosalisilik asit (DNS) Merck KGaA (Almanya)’dan temin edilmiştir. Diğer kimyasallar Merck (Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ve Sigma (Sigma Chemical Company, MO, ABD) firmalarından temin edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Kabuk analizleri

Kabukların nem ve kül oranları gravimetrik yöntemle (AACC, 2004), protein miktarları kjeldahl methodu kullanılarak (AOAC, 1997), toplam yağ miktarları Ankom yağ ekstraksiyon cihazıyla gravimetrik analiz ile (AOAC 920.39) tespit edilmiştir. Toplam şeker içeriği fenol-sülfürik asit yöntemi ile glikoz standardı kullanılarak spektrofotometrik ölçümlerle tespit edilmiştir (Dubois ve ark., 1956).

3.2.1.1. Nem

Kabukların nem miktarları gravimetrik yöntemlerle tespit edilmiştir (AACC,2004). Kurutulmuş kabuk örneklerinden 5 g tartılarak önceden sabit ağırlığa getirilmiş ve darası alınmış paslanmaz çelik kaplara konulmuş ve etüvde 105±2°C sıcaklıkta ağırlık sabitlenene kadar bekletilmiştir. Bulgular yüzde (%) nem miktarı şeklinde aşağıda belirtilen formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%Nem = \frac{\text{Örnek Ağırlığı} - \text{Kuru Örnek}}{\text{Örnek Ağırlığı}} \times 100$$

3.2.1.2. Kül

Örneklerin kül miktarlarının tayini için darası alınmış porselen krozelere örneklerden 5 g tartılmış ve 1 saatlik ön yakma işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra krozeler 550°C sıcaklıktaki kül fırınına konarak 4 saat yakılmıştır. Sonuçlar yüzde (%) kül miktarı olarak belirtilen formüle göre hesap edilmiştir (AACC, 2004).

$$\%Kül = \frac{\text{Kül} + \text{Kroze Ağırlığı} - \text{Kroze darası}}{\text{Örnek Miktarı}} \times 100$$

3.2.1.3. Protein

Örneklerin protein tayinleri Gerhardt Vapodest50 cihazı (Gerhardt, Königswinter, Almanya) kullanılarak Kjehdahl metodu ile belirlenmiştir. Kjehdahl tüplerinin içerisine 0.5 gram örnek ve 1 adet katallizör tablet konularak üzerine 25 mL teknik sülfirik asit eklenmiş ve önce 200°C sıcaklıkta 30 dakikada, sonrasında 400°C sıcaklıkta 2 saat kademeli olarak sıcaklık artışı sağlanarak örneklerin yakma işlemi yapılmıştır. Yakma işlemi bittikten sonra soğutulan örneklerle damıtma ve titrasyon işlemleri uygulanmıştır. %2'lik borik asit ile indikatör ilave edilerek damıtma ünitesine alınmıştır. Damıtma ünitesi 95 mL NaOH ve 40 mL su ile 2 dakika damıtılmıştır. Daha sonra 0.1 N HCl ilave edilerek titrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar yüzde (%) protein miktarı olarak belirtilen formüle göre hesap edilmiştir (AOAC, 1997).

$$\%Protein = \frac{0.0014 \times sarfiyat(mL) \times 6.25}{\text{örnek miktarı}(g)} \times 100$$

Sarfiyat: 0.1 N HCl çözeltisinin titrasyon işleminde kullanılan hacmi (mL)

3.2.1.4. Yağ

Yağ miktarlarının belirlenmesi için darası alınmış kartuşların içerisine 1 gram örneklerden konularak ağız kısımları kapatılmıştır. Kartuş 105±2°C sıcaklıkta etüvde kurutulmuştur. Daha sonra yağ ekstraksiyon cihazına (Ankom XT10 extractor, model XT10, ABD) yerleştirilen örnekler dietil eter ile 1 saat 95°C sıcaklıkta ekstraksiyon işlemi için bırakılmıştır. Ekstraksiyon sonunda kartuşlar tekrar 105±2°C sıcaklıktaki etüvde bekletilmiştir. Etüven alınan örnekler desikatörde soğutulduktan sonra tartımı yapılmıştır. Sonuçlar yüzde (%) yağ miktarı olarak belirtilen formüle göre hesap edilmiştir (AOAC 920.39).

$$\%Yağ = \frac{G_2 - G_1}{G_3} \times 100$$

G₁= Toplam ağırlık(g)

G₂= Toplam ağırlık(g) (Ekstraksiyon sonunda)

G₃=Örnek ağırlığı (g)

3.2.1.5. Toplam şeker

Kabukların toplam şeker tayinleri, Dubois ve ark., (1956) tarafından bulunan fenol-sülfirik asit yöntemiyle glikoz standardı kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Test tüplerine 100 mg örnek alınmış ve üzerine 5 mL 2.5 N HCl eklenerek hidroliz olması için 3 saat su banyosunda kaynatılmıştır. Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra Na₂CO₃ ile nötralize edilmiş ve hacmi 10 mL'ye tamamlanmıştır. Stok çözeltilerden 100 µL alınarak 50 µL %80'lik fenol çözeltisi ilave edilmiştir. Daha sonra 2 mL sülfirik asit çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyon sonucunda oluşan renk yoğunluğu 490 nm'de spektrofotometrede okunmuştur.

3.2.2. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi

Kurutulmuş meyve kabuklarından (nar, muz ve mandalina) fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu 0.1 M sitrat tampon çözeltisi (pH 5) kullanılarak, 150 rpm'de ve 50°C sıcaklıkta çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Ön denemeler ile enzimler (Viskozime veya selülaz) arasında en yüksek fenolik bileşik verimi veren Vizkozime enzimi (132 U/mL) seçilmiştir. Selülaz enzimi ile yapılan ekstraksiyonda pektin ekstrakte edildiği tespit edildiğinden çalışmaya Vizkozime ile devam edilmiştir.

Öğütülen kabuklardan (nar, muz ve mandalina) farklı substrat ağırlıklarında (1.67 g, 2.5 g ve 5.0 g), farklı enzim aktivitelerinde (0.026 U/mL, 0.079 U/mL, 0.13 U/mL ve 0.26 U/mL) ve farklı sürelerde (30 dk, 60 dk, 120 dk ve 240 dk) fenolik bileşik ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon süresi sonunda enzim ısı ile inaktive edilmiştir. Örnekler filtre edildikten sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Ekstraktlar analiz edilince -18°C'de derin dondurucuda saklanmıştır (Kitryté ve ark., 2017).

3.2.3. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi

Öğütülmüş 5 g meyve kabuklarına 10:1 (mL solvent/g kabuk) oranında 50 mL %25'lik etil alkol çözeltisi eklenmiştir. Daha sonrasında 60°C sıcaklıkta 120 dakika su banyosunda ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon süresi sonunda örnekler filtrasyon işlemi uygulanmış ve ardından 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjleme işlemi uygulanmıştır. Ekstraktlar analizde kullanılıncaya kadar -18°C'de derin dondurucuda saklanmıştır (Cai ve ark., 2004).

3.2.4. Ekstraktların suda çözünür kuru madde tayini

Ekstraktların suda çözünür kuru madde içeriği, Abbe refraktometresi (Centro de Enseñanza Tecnica Industrial, Ceti, Meksika) ile tespit edilmiştir. Okuma işlemi 25 °C'de yapılmıştır ve analiz sonuçları % (°Briks) şeklinde belirtilmiştir (Cemeroğlu, 1992).

3.2.5. Toplam fenolik madde tayini

Meyve kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik değerleri Singleton ve ark., (1965) tarafınca belirlenen metoda göre 2 N Folin- Ciocalteu fenol ayırıcı kullanılarak belirlenmiştir. 100 µL ekstrakta/100 µL gallik asit standardına 100 µL 2N Folin- Ciocalteu fenol ayırıcı, 2.3 mL saf su ekleyerek 8 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra %7'lik sodyum karbonat çözeltisinden 1 mL ve saf sudan 2 mL ilave edilerek 2 saat oda sıcaklığında bekleme sonunda absorbansları 750 nm'de spektrofotometrede ölçülerek belirlenmiştir. Analiz sonuçları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak belirlenmiştir.

3.2.6. Toplam flavanoid miktarı tayini

Meyve kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoid içeriklerinin tespiti Zhishen ve ark., (1999) tarafından belirlenen yöntemle göre kuarsetin standart olarak kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 500 µL ekstraktlar/kuarsetin standart çözeltisi 0.15 mL %5 NaNO₂ ve 2 mL saf su eklenerek oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. 0.15 mL AlCl₃ çözeltisi eklenerek oda sıcaklığında 5 dakika bekleme sonunda 1 M NaOH çözeltisinden 1 mL eklenerek 15 dakika oda sıcaklığında bekletilerek etkileşime sokulmuştur ve 415 nm dalga boyundaki absorbansları spektrofotometrede ölçülmüştür. Toplam flavonoid miktarları Kuarsetin (KE) eşdeğeri olarak belirlenmiştir.

3.2.7. İndirgen şeker tayini

Ekstraktların indirgen şeker analizleri Miller (1995) yöntemi baz alınarak DNS metodu kullanılarak glikoz standardı (1 mg/mL) ile tespit edilmiştir. 1 mL ekstraktların üzerlerine DNS (Dinitrosalisilik Asit) çözeltisinden 1.5 mL eklenmiştir. Daha sonra 5 dakika 100°C sıcaklıkta kaynatılmış ve oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Absorbans ölçümü 560 nm'de spektrofotometre yardımıyla belirlenmiştir. Sonuçlar, glikoz eşdeğeri olarak belirtilmiştir.

3.2.8. Ekstraktların antioksidan aktivite tayini

Meyve ekstraktların antioksidan aktiviteleri aşağıdaki üç farklı metodla belirlenmiştir.

3.2.8.1. Troloks eşdeğeriyle hesaplanan antioksidan kapasite (TEAC)

Ekstraktların antioksidan aktivitesi analizi TEAC yöntemiyle Re ve ark., (1999) tarafınca bulunan metodu baz alınarak yapılmıştır. Bu yöntemle göre 7 nM sulu ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit) ve 2.45 nM potasyum persülfat çözeltileri 1/1; v/v oranlarında karıştırılarak 16 saat süre ile oda sıcaklığında karanlıkta reaksiyona sokulmuş ve ABTS⁺ stok çözeltisi hazırlanmıştır. ABTS⁺ stok çözeltisinin spektrofotometredeki 734 nm dalga boyundaki absorbansı 0.7 olacak şekilde 20 nM sodyum asetat tamponu (pH 4.5) ilave edilerek ayarlanmıştır. Ekstraktlardan 100 µL alınarak üzerlerine 100 µL Troloks standardı ve 2.9 mL çalışma çözeltisi ilave edilerek 30 dakika oda sıcaklığında bekletilmiştir. Absorbansları 734 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Sonuçlar “Troloks Eşdeğeri (TE)” olarak ifade edilmiştir.

3.2.8.2. Demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP)

Ekstraktların antioksidan aktivitesi FRAP metoduyla Benzie ve Strain (1996) tarafınca bulunan yöntem ile ölçülmüştür. Analize başlamadan önce; 10 nM sulu TPTZ (2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine, 20 nM sulu demir (III) klorür (FeCl₃) ve 30 nM sodyum asetat (pH 3.6) çözeltileriyle 1/1/10 oranlarında FRAP çalışma çözeltisi hazırlanmıştır. Ekstraktlardan 100 µL alınarak üzerlerine, 100 µL Troloks standardı ve 2.9 mL FRAP çalışma çözeltisi ilave edilerek 30 dakika oda sıcaklığında bekleme sonunda absorbansları 593 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Sonuçlar “Troloks Eşdeğeri (TE)” olarak ifade edilmiştir.

3.2.8.3. Radikal temizleme aktivitesi (DPPH)

Ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) metoduyla ölçülmüştür (Brand-Williams ve ark., 1995). 50 µL ekstraktlar ve 100 µL Troloks standart çözeltisi 1.95 mL DPPH çalışma çözeltisi ve ile karıştırılarak 10 dakika oda sıcaklığında bekleme sonunda absorbansları spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Sonuçlar “Troloks Eşdeğeri (TE)” olarak ifade edilmiştir.

3.2.9. Ekstraktların toplam monomerik antosiyanin miktarının belirlenmesi

Meyve kabuğu ekstraktlarının toplam monomerik antosiyanin değerleri Giusti ve Worlsted (2001) tarafınca tanımlanan pH farkı yöntemi ile belirlenmiştir. 0.5 mL ekstraktların pH'ları 0.025 M KCL çözeltisi kullanarak pH 1'e ve 0.4 M sodyum asetat karışımı kullanarak pH 4.5'e ayarlanmış ve 520 nm ve 700 nm dalga boylarındaki absorbansları belirlenmiştir. Sonuçlar 'siyanidin 3-glukozit eşdeğeri (S₃G)' şeklinde verilen matematiksel denklem ile elde hesaplanmıştır.

$$A = \text{pH } 1.0 (A_{\lambda 520} - A_{\lambda 700}) - \text{pH } 4.5 (A_{\lambda 520} - A_{\lambda 700})$$

$$\text{Toplam antosiyanin (mg S}_3\text{G/L)} = [(A) \times (10^3) \times (\text{MW}) \times (\text{DF})] / [(E) \times (L)]$$

Bu bağıntıda; A: absorbans, MW: S₃G pigmentinin molekül ağırlığı (449.2 g/mol), DF: seyreltme faktörü, E: S₃G'in molar absorbansı (26900 L×mol⁻¹×cm⁻¹), L: küvetin optik yolu karşılığıdır.

3.2.10. Alfa amilaz inhibitör aktivitesi

α-Amilaz inhibe edici kapasitesi Worthington (1993) yöntemine göre belirlenmiştir. 20 mM sodyum fosfat tamponu içinde hazırlanan nişasta çözeltisi (%1) (pH 6.9) substrat olarak kullanılmıştır. Pankreatik α-Amilaz (9.1 U/mL) ve ekstrakt 1:1 oranında (toplam hacim 1 mL) 10 dakika 25°C'de ön inkübasyon işlemi uygulanmıştır. Daha sonra bu karışıma 20 mM fosfat tamponu (pH 6.9) ile hazırlanan %1'lik patates nişastası çözeltisinden 0.5 mL ilave edilmiş ve 30 dakika 25°C'de etkileşime bırakılmıştır. Bu işlem ısı uygulaması ile sonlandırılmıştır. Reaksiyon sonunda üretilen şeker miktarı DNS indirgen şeker metodu ile ölçülmüştür. Kontrol için nişasta çözeltisi yalnızca amilaz ile hidrolize edilmiştir. Ekstraktların α-amilaz inhibitör aktiviteleri verilen matematiksel denklem ile elde hesaplanmıştır.

$$\text{İnhibisyon (\%)} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

Bu bağıntıda; A₁: İndirgen şeker miktarı (ekstrakt kullanılmayan enzimatik (amilaz) reaksiyon), A₂: İndirgen şeker miktarı (ekstrakt kullanılan enzimatik reaksiyon sonucu)

3.2.11. Ekstraktların kalitatif analizleri

Ekstraktların aşağıda belirtilen kalitatif analizleri yapılarak fitokimyasal bileşikleri taranmıştır (Janarthanan ve ark., 2012).

Tanen: 0.25 mL ekstraktların üzerine %52'lik FeCl_3 çözeltisinden 0.5 mL ilave edilmiştir. Yeşil renk oluşumu bu bileşiği ifade etmektedir.

Antosiyanin-Betasiyanin: 0.5 mL ekstraktların üzerine 2 N NaOH çözeltisinden 0.25 mL eklenerek 5 dakika kaynatılmıştır. Ortaya çıkan mavi renk antosiyaninlerin, sarı renk oluşumu ise betasiyaninlerin göstergesidir.

Saponin: 0.5 mL ekstraktların üzerine 0.5 mL saf su ilave edilip karıştırılmış ve bekletilmiştir. 0.25 cm yüksekliğinde oluşan köpük oluşumu saponin varlığını işaret etmektedir.

Kinon: 0.25 mL ekstraktların üzerine H_2SO_4 çözeltisinden 0.25 mL ilave edilmiştir. Kırmızı ton kinon varlığının göstergesidir.

Kardiak glikozit: 0.25 mL ekstraktların üzerine 1 mL asetik asit, H_2SO_4 çözeltisinden 0.5 mL ve birkaç damla %5' lik FeCl_3 çözeltisi ilave edilmiştir. Kahverengi renk bu bileşiğin varlığını ifade etmektedir.

Glikozit: 1 mL ekstraktların üzerine 1.5 mL kloroform ilave edilmiş ve %10'luk amonyak damlatılmıştır. Pembe renk bu bileşiğin olduğunu belirtmektedir.

Kumarin: 0.25 mL ekstraktların üzerine %10'luk NaOH çözeltisinden 0.25 mL ilave edilmiştir. Sarı renk oluşumu bu bileşiğin varlığının göstergesidir.

Terpenoid: 0.25 mL ekstraktların üzerine 1 mL kloroform ilave edilmiş ve H_2SO_4 çözeltisi damlatılmıştır. Kırmızı renk terpenoid varlığını ifade etmektedir.

Flavonoid: 0.5 mL ekstraktların üzerine %5'lik amonyak çözeltisinden 2.5 mL ilave edilmiş ve H₂SO₄ çözeltisi damlatılmıştır. Sarı renk flavonoid varlığının göstergesidir.

Fenol: 0.25 mL ekstraktların üzerine 0.5 mL su ilave edilmiş ve %10'luk FeCl₃ çözeltisinden birkaç damla eklenmiştir. Yeşil renk oluşumu bu bileşiğin varlığını ifade etmektedir.

Asit: 0.25 mL ekstraktların üzerine sodyum bikarbonat ilave edilmiştir. Köpük oluşumu asit varlığının göstergesidir.

3.2.12. İstatistiksel analiz

SPSS istatistiksel bilgisayar programı (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) sonuçları analiz etmek amacıyla kullanılmıştır. Duncan çoklu karşılaştırma testi ile değerlendirilen analiz verileri %95 güven aralığında gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kabukların Kül, Nem, Yağ, Protein ve Toplam Şeker İçerikleri

Çalışmada üç farklı meyve kabuğu kullanılmıştır ve bileşimleri birbirinden farklı olduğundan kompozisyonlarının belirlenmesi gereklidir. Kurutulmuş mandalina, nar ve muz kabuklarının nem, kül, protein, yağ ve toplam şeker değerleri Çizelge 4.1 sunulmuştur.

Nem ve kül içerikleri, gıdaların kalite parametreleri açısından büyük öneme sahiptir. Nem değeri gıdalardaki su miktarını, kül değeri ise gıdada bulunan minarel madde ve diğer inorganik madde miktarını göstermektedir. Tüm kabuklar için kurutma işlemi koşulları aynı olup nem içeriği en fazla mandalina kabuklarında (%8.86) tespit edilmiştir. Bu sıralamayı nar kabuğu (%8.68) ve muz kabuğu (%7.97) takip etmektedir (Çizelge 4.1). Daha önceki çalışmalarda nar kabuğu (%7.92; %6.56) (Güzel ve Akpınar, 2017; Muhammad ve ark., 2023) ve mandalina kabuğu (%6.19; %4.40) (Shafiq ve ark., 2019; Adeogun ve ark., 2018) nem içerikleri bu çalışmada bulunan değerlerden daha düşük bulunmuştur. Bir başka çalışmada ise muz kabuğu (%9.83; %6.42) (Ndarubu ve ark., 2021; Issara ve ark., 2024) nem içeriğinin bu çalışmada belirlenen değerlerle uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Kurutulmuş meyve kabukları arasında en fazla kül değeri %14.30 oran ile muz kabuklarında olduğu tespit edilmiştir. Bu değer mandalina ve nar kabuklarında ise sırası ile %3.66 ve %3.65 olarak belirlenmiş olup, istatistiki olarak gruplar arasında belirgin bir fark bulunmamaktadır ($p < 0.05$) (Çizelge 4.1). Daha önceki çalışmalarda muz kabuğunun (%12.45; %8.8) (Romelle ve ark., 2016; Pyar ve Peh, 2018) kül değerleri bu çalışmada tespit edilen kül değerlerinden daha düşük, nar kabuğu (%5.6; %4.77) (Sharma ve Akansha, 2018; Muhammad ve ark., 2023) ve mandalina kabuğu (%4.61; %5.00) (Shafiq ve ark., 2019; Kaushal ve ark., 2022) kül değerlerinin ise bu çalışmada bulunan değerlerden yüksek olduğu görülmüştür. Meyve kabuklarının kül içeriklerindeki farklılıklar; meyve türlerine, yetiştirme koşullarına, meyve olgunluğuna, kurutma yöntemlerine ve koşullarına bağlı olarak uzaklaştırılan su miktarından ve artan besin elementleri konsantrasyonlarındaki farklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Sarkar ve ark., 2024; Kulkarni ve ark., 2005).

Kurutulmuş meyve kabukları protein değerleri bakımından kıyaslandığında en yüksek protein içeriğinin muz kabuklarında (%9.28) olduğu belirlenmiştir. %6.72 ile mandalina kabuklarının ve %3.23 ile nar kabuklarının protein içerikleri sıralanmıştır (Çizelge 4.1). Daha önceki çalışmalarda muz kabuğu (%5.3; %3.23) (Pyar ve Peh, 2018; Ndarubu ve ark., 2021) ve mandalina kabuğu (%4.28; %8.77) (Shafiq ve ark., 2019; Abdelwahab ve ark., 2018) protein değerlerinin bu çalışmada bulunan sonuçlardan düşük, nar kabuğunun (%3.46; %3.35) (Romelle ve ark., 2018; Muhammad ve ark., 2023) ise çalışmamızda bulunan değerlerle uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıklar; meyve çeşidine göre değişmekte ve meyve olgunlaşması ile proteinlerin hidroliziyle açıklanmaktadır (Kulkarni ve Aradhya, 2005).

İncelenen meyve kabuklarının yağ içerikleri sırasıyla en yüksek muz kabuklarında (%12.09) tespit edilmiştir. Bunu mandalina (%8.94) ve nar kabukları (%7.66) izlemiştir ve istatistiki olarak gruplar arasında belirgin bir fark görülmektedir ($p < 0.05$) (Çizelge 4.1). Diğer yapılan çalışmalarda muz kabuğu (%8.40; %1.6; %5.04) (Romelle ve ark., 2016; Pyar ve Peh, 2018; Issara ve ark., 2024), mandalina kabuğu (%7.00; %2.85) (Kaushal ve ark., 2022; Shafiq ve ark., 2019) ve nar kabuğu (%1.2; %0.77; %3.36) (Sharma ve Akansha, 2018; Muhammad ve ark., 2023; Romelle ve ark., 2016) yağ içeriklerinin çalışmamızda bulunan yağ içeriği değerlerinden düşük olduğu tespit edilmiştir.

Toplam şeker miktarı meyve kabuklarında bulunan karbonhidratların toplamını ifade etmektedir. Selüloz, hemiselüloz, pektin ve nişasta bitkilerde bulunan polisakkaritlerdir (Magwaza ve Opara, 2015). Kurutulmuş meyve kabukları toplam şeker değerleri bakımından kıyaslandığında en yüksek toplam şeker içeriğinin mandalina kabuklarında (%24.65) olduğu belirlenmiştir. %23.86 değeri ile nar kabuklarının ve %15.91 değeri ile muz kabuklarının toplam şeker değerleri sıralanmış ve bu farkların istatistiki açıdan gruplar arasında fark olduğu görülmektedir ($p < 0.05$) (Çizelge 4.1). Bu farklılıkların meyve çeşitlerine, kabuklarda bulunan karbonhidrat (pektin, selüloz, hemiselüloz ve nişasta) miktarlarına ve olgunlaşma durumlarına göre farklılık göstermektedir. Yapılan çalışmalarda mandalina kabuğunun (%15) (Güzel, 2017), nar kabuğuna (%6.04) (Güzel, 2017) ve muz kabuğuna (%2.8) (Panchami ve Gunasekaran, 2017) göre daha fazla pektin

içerdiği belirlenmiş olup yüksek pektin içeriğine sahip meyve kabuklarının yüksek toplam şeker değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir. Literatürde yapılan çalışmalar selüloz ve hemiselüloz içerikleri ise pektin içerikleri ile paralellik göstererek sırasıyla mandalina (% 22.5; %17.2) (Boluda-Aguilar ve ark., 2010), nar (%15.32; %10.14) (Omer ve ark., 2019) ve muz (%12; %6) (Wani ve Dhanya, 2025) kabuklarında olduğu rapor edilmiştir. Ayrıca meyvenin sahip olduğu mikro besin element konsantrasyonunun da toplam şeker içeriğini etkilediği düşünülmektedir. Bitki büyümesinde topraktan alınan fosfor (P) ve potasyum (K) miktarının şeker miktarını arttırdığı, toprağın sahip olduğu kireç ve kalsiyum (Ca) içeriğinin ise meyvenin şeker miktarını olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir (Mordoğan ve Ergun, 2002). Literatürde yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde nar kabuğu (%27.91) (Hussain ve ark., 2023), mandalina kabuğu (%35.5) (Cho ve ark., 2020) ve muz kabuğu (%21) (Chaudhry ve ark., 2022) toplam şeker değerlerinin çalışmamızda bulunan toplam şeker değerlerinden yüksek olduğu görülmektedir.

Kurutulmuş meyve kabuklarının kimyasal bileşimlerindeki farklılıklar pedoklimatik faktörlere (toprak tipi, güneşe maruz kalma ve yağış), genetik faktörlere (çeşit), tarımsal faktörlere (organik tarım, ağaç meyvesi üretimi, olgunlaşma durumu, yetiştirme alanı, gübreleme, sulama) ve kullanılan analitik yöntemlerdeki farklılıklara bağlı olarak değiştiğinden (Hussain ve ark., 2023), bu çalışmada bulunan sonuçlar ile farklılıklara neden olmuştur.

Çizelge 4. 1. Meyve kabuklarının nem, kül, protein, yağ ve toplam şeker içerikleri

Kabuk	Nem (%)	Kül (%)	Protein (%)	Yağ (%)	Toplam Şeker (%)
Mandalina	8.86±0.01 ^a	3.66±0.01 ^b	6.72±0.07 ^b	8.94±0.01 ^b	24.65±2.84 ^a
Nar	8.68±0.01 ^b	3.65±0.03 ^b	3.20±0.03 ^c	7.66±0.18 ^c	23.86±3.12 ^a
Muz	7.97±0.03 ^c	14.30±0.01 ^a	9.28±0.06 ^a	12.09±0.02 ^a	15.91±0.36 ^b

* Her bir ifade, üç paralelli ölçümün ortalamasını yansıtmaktadır. Sütundaki farklı harflerle (a, b, c) gösterilen ortalamalar, Duncan testine göre istatistiksel açıdan birbirlerinden farklı olduğunun göstergesidir (p<0.05).

4.2. Enzim Destekli Ekstraksiyon

Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi, son yıllarda araştırmaların yoğunlaştığı, enzimlerin spesifik olarak bitki hücre duvarını parçalaması ile geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla birçok avantajı olan çevre dostu bir yöntemdir. Literatürde daha önce yapılan çalışmalarda fenolik bileşik ekstraksiyonu için Viskozye enziminin selüloz ve pektinaz enzimlerine kıyasla daha etkili sonuçlar verdiği belirtilmiştir. Viskozye enziminin bu etkisinin kokteyl enzim olması sayesinde hücre duvarlarının ve hücre zarının çeşitli polisakkaritlerini hidroliz eden ksilanaz, hemiselüloz, glukanaaz ve selüloz aktivitelerine sahip olmasından kaynaklı olduğu belirtilmiştir (Islam ve ark., 2023). Selüloz enzimi ile yapılan ön denemelerde, ekstraksiyon sonucunda özellikle mandalina kabuklarında daha belirgin olmak üzere çoğunlukla pektin polisakkariti ekstrakte edilmiş olduğundan, çalışmada Viskozye enzimi kullanılmıştır. Ayrıca aynı enzim aktivitesinde Viskozye enzimi selüloz enzimine kıyasla daha yüksek toplam fenolik bileşik verimi sağlamıştır.

Enzim destekli ekstraksiyon yönteminin parametreleri (sıvı/katı oranı, ekstraksiyon süresi ve enzim aktivitesi vb.) ekstraktların fenolik bileşik içeriğini oldukça fazla etkilemektedir (Puzeryte ve ark., 2023; Granato ve ark., 2022; Kitryte ve ark., 2017). Bu çalışmada kurutulmuş nar, mandalina ve muz kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktların sıvı/katı oranı, süre ve enzim aktivitesi farklılıklarına göre toplam fenolik bileşik, flavonoid bileşik ve suda çözünür kurumadde içerikleri incelenerek ekstraksiyon veriminin yüksek olduğu ideal ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir.

Öncelikle enzim aktivitesinin, kurutulmuş meyve kabuklarından enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde değerleri üzerine etkisi incelenmiştir. Aynı zamanda elde edilen ekstraktların suda çözünür kuru maddeleri de (SÇKM) ölçülmüştür. Çalışma kapsamında her bir kabuk çeşidi için farklı enzim aktiviteleri (0.026 U/mL, 0.079 U/mL, 0.13 U/mL ve 0.26 U/mL) ile ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Sıvı/katı oranı 10:1 mL solvent/g kabuk olacak şekilde sabit tutulmuş ve 50 °C’de, 60 dk boyunca ekstraksiyon yapılmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonucu enzim aktivitesinin toplam fenolik madde, flavonoid madde ve SÇKM

değerleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiş ve sonuçlar nar, mandalina ve muz kabuğu ekstraktları için sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Farklı enzim aktivitelerinde gerçekleşen ekstraksiyonlar için nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde değerleri sırasıyla 16.47 mg GAE/mL, 19.16 mg GAE/mL, 13.38 mg GAE/mL ve 16.76 mg GAE/mL olarak; toplam flavonoid madde değerleri ise sırasıyla 6.34 mg KE/mL, 9.88 mg KE/mL, 7.44 mg KE/mL ve 7.05 mg KE/mL olarak belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraksiyonunda enzim aktivitesi 0.026 U/mL'den 0.079 U/mL'ye artırıldığında ekstrakte edilen toplam fenolik madde değeri artarken daha fazla artışın hedef bileşik miktarında azalmaya neden olduğu görülmüştür. Bu çalışmada nar kabuğu ekstraktlarından en yüksek toplam fenolik madde değerine 0.079 U/mL enzim aktivitesinde ulaşıldığı belirlenmiştir. Bu enzim aktivitesinde toplam fenolik bileşik değeri 19.16 mg GAE/mL ve toplam flavonoid bileşik değeri ise 9.88 mg KE/mL olarak tespit edilmiştir. Nar kabuğu ekstraktlarının SÇKM değerleri ise %10 olarak bulunmuş, enzim aktivitesinin SÇKM değerini önemli ölçüde değiştirmedığı gözlenmiştir. SÇKM'yi şekerler (glukoz, fruktoz, maltoz gibi), amino asitler ve organik asitler gibi (sitrik asit, glutamik asit, aspartik asit, tartarik asit ve malik asit gibi) suda çözünen bileşikler oluşturmaktadır. Kullanılan kabuk oranı değişmediğinden bu değeri önemli ölçüde etkilememiştir.

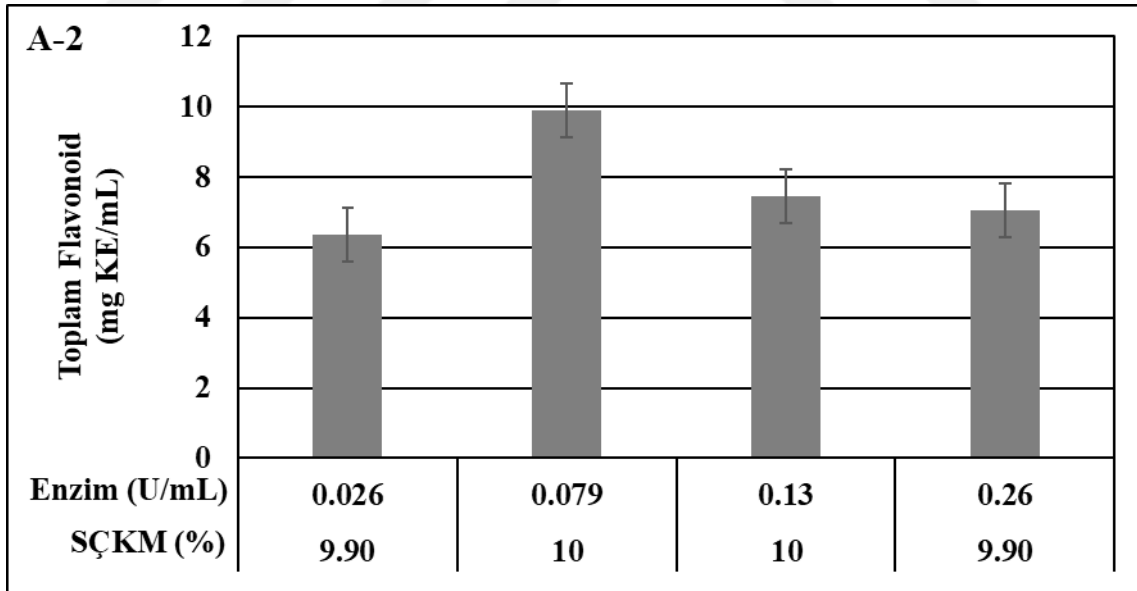
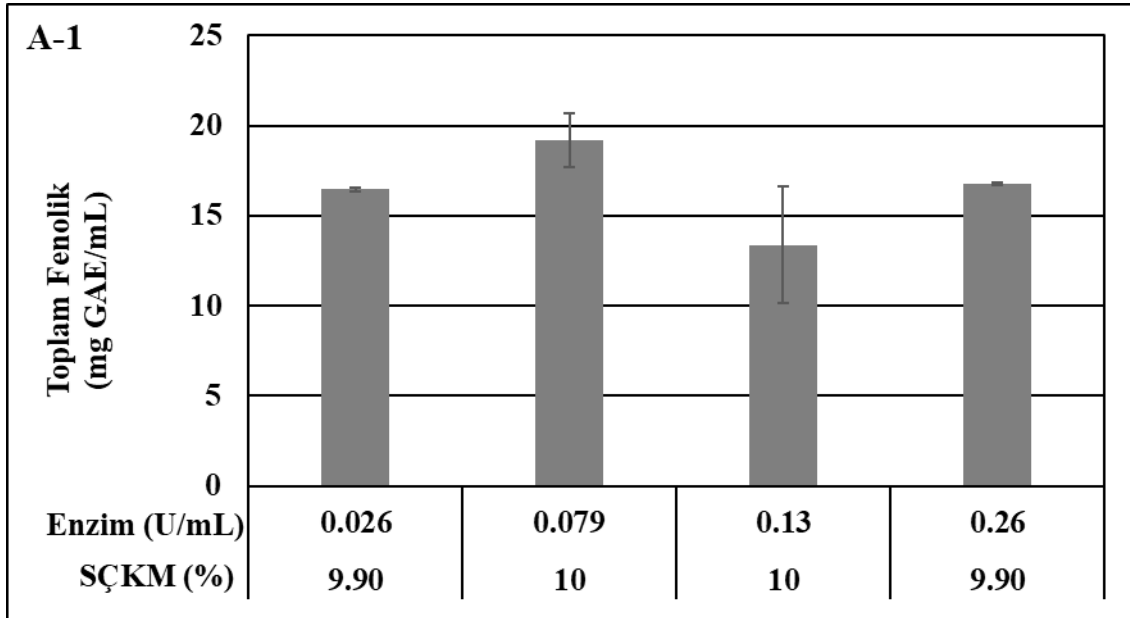
Mandalina kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik değerleri sırasıyla 1.47 mg GAE/mL, 1.58 mg GAE/mL, 1.83 mg GAE/mL ve 1.60 mg GAE/mL olarak; toplam flavonoid madde değerleri ise sırasıyla 1.20 mg KE/mL, 1.36 mg KE/mL, 1.42 mg KE/mL ve 1.30 mg KE/mL olarak belirlenmiştir. Mandalina kabuğu ekstraksiyonunda enzim aktivitesi 0.026 U/mL'den 0.13 U/mL'ye arttığında ekstrakte edilen toplam fenolik madde değerinin kademeli olarak arttığı, daha fazla artışın ise aynen nar kabuğunda olduğu gibi hedef bileşik miktarında azalmaya neden olduğu görülmüştür. Mandalina kabuğu ekstraktlarından en yüksek toplam fenolik madde ve flavonoid değerlerine 0.13 U/mL enzim aktivitesinde ulaşıldığı belirlenmiştir. Bu enzim aktivitesinde toplam fenolik madde değeri 1.83 mg GAE/mL ve toplam flavonoid madde değeri ise 1.42 mg KE/mL olarak tespit edilmiştir. Farklı enzim aktivitelerinde mandalina kabuğu ekstraktlarının SÇKM değerleri sırasıyla %8.80; %10; %10 ve %10 değeri olarak bulunmuştur.

Sonuçlar, artan enzim miktarının SÇKM değerini önemli ölçüde değiştirmedğini göstermektedir.

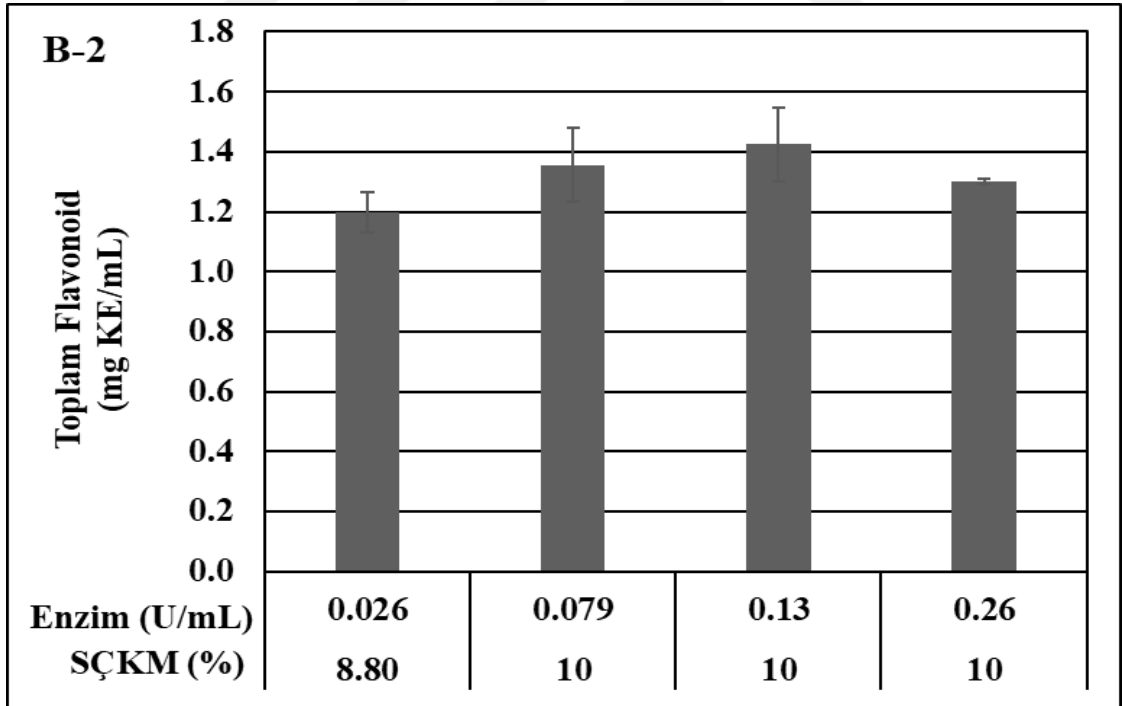
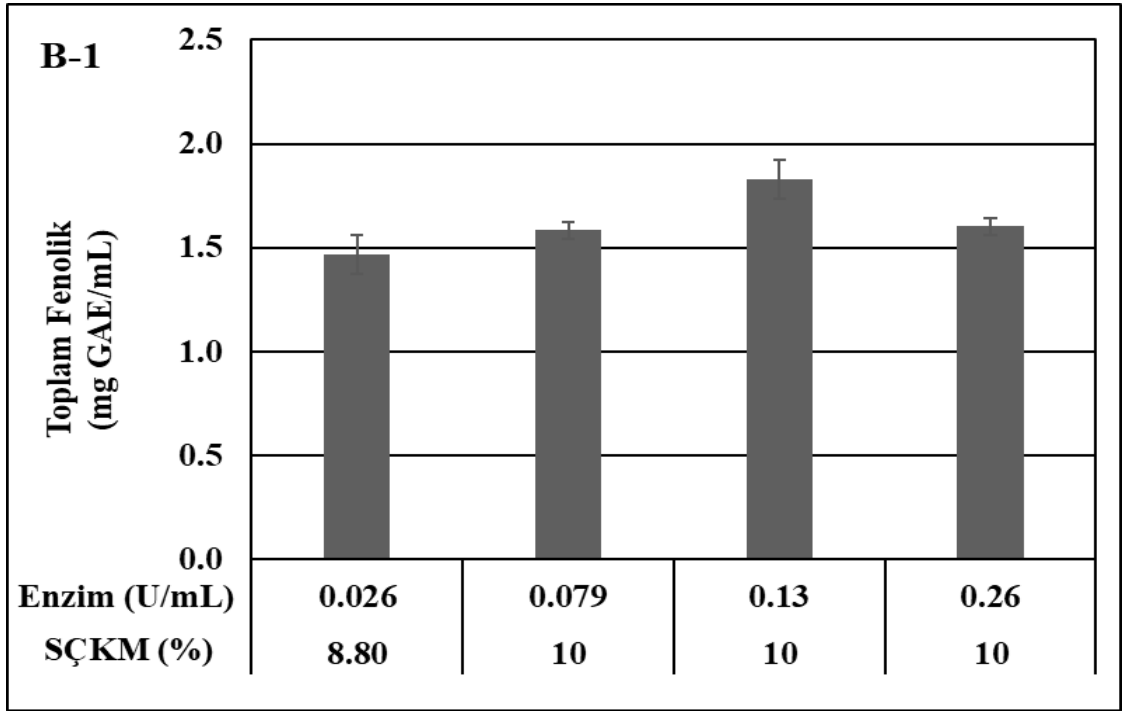
Enzim destekli ekstraksiyonla elde edilen muz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde değerleri sırasıyla 0.34 mg GAE/mL, 0.55 mg GAE/mL, 1.00 mg GAE/mL ve 0.55 mg GAE/mL olarak; toplam flavonoid madde değerleri ise sırasıyla 0.34 mg KE/mL, 0.43 mg KE/mL, 0.64 mg KE/mL ve 0.36 mg KE/mL olarak belirlenmiştir. Enzim aktivitesi 0.026 U/mL'den 0.13 U/mL'ye çıktıkça ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik ve flavonoid madde değerleri artarken, artışın daha fazla olmasının aynen nar ve mandalina kabuğu ekstraktlarında olduğu gibi azalmaya neden olduğu görülmüştür. Çalışmada muz kabuğu ekstraktlarından en yüksek toplam fenolik madde değerine 0.13 U/mL enzim aktivitesinde ulaşıldığı belirlenmiştir. Bu enzim aktivitesinde toplam fenolik madde değeri 1.00 mg GAE/mL ve toplam flavonoid madde değeri ise 0.64 mg KE/mL olarak tespit edilmiştir. Muz kabuğu ekstraktlarının SÇKM değerinin 0.13 U/mL enzim aktivitesine kadar kısmi bir artış gösterdiği gözlemlenmiştir.

Sonuçlar enzim aktivitesindeki artışın bir noktaya kadar fenolik ve flavonoid madde ekstraksiyonunu artırdığını, ancak bir noktadan sonra ekstrakte edilen toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarlarında azalmaya yol açtığını göstermiştir. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde de benzer sonuçlar rapor edilmiştir. Yapılan literatür taramalarında nar kabuğundan enzim destekli ekstraksiyon yöntemiyle fenolik bileşik ekstrakte edilmiş, çalışma kapsamında %4'ten fazla enzim konsantrasyonunun verimi arttırmadığı tespit edilmiştir (Mushtaq ve ark., 2015). Bir başka çalışmada nar kabuğundan enzim destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fenolik bileşik ekstrakte edilmiş ve enzim konsantrasyonundaki %6'dan fazla artışın verimi arttırmadığı rapor edilmiştir (Kahveci, 2022). Turunçgil kabuklarından farklı enzimatik ekstraksiyon koşulları altında fenolik bileşik madde ekstraksiyonunun incelendiği bir çalışmada enzim miktarındaki artışın ekstrakte edilen fenolik madde verimini azalttığı rapor edilmiştir (Li ve ark., 2006). Subtrat miktarı sabit tutularak enzim miktarı artırıldığında, enzim substratı tükettikten sonra verimde azalmaya neden olduğu görülmüştür (Kahveci, 2022). Ayrıca enzim bitki hücre duvarında bozulmalara yol açmakta, protein salınımına neden olmakta ve bu proteinler fenolik bileşikler ile kompleks oluşturmaktadır. Bu nedenle enzim

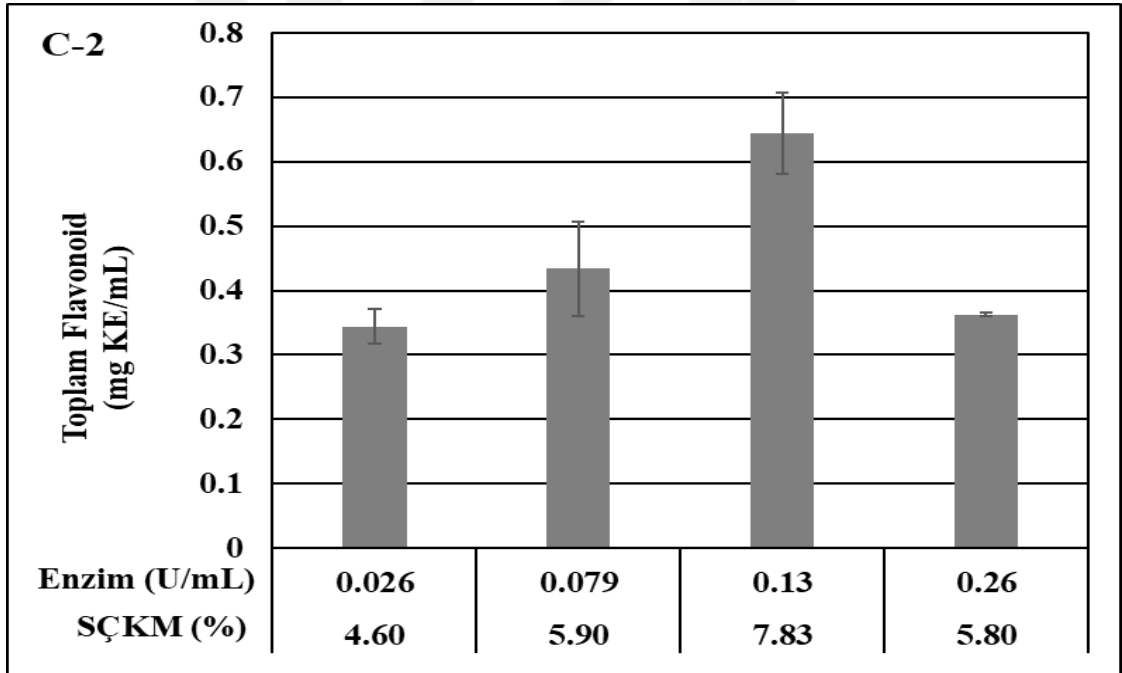
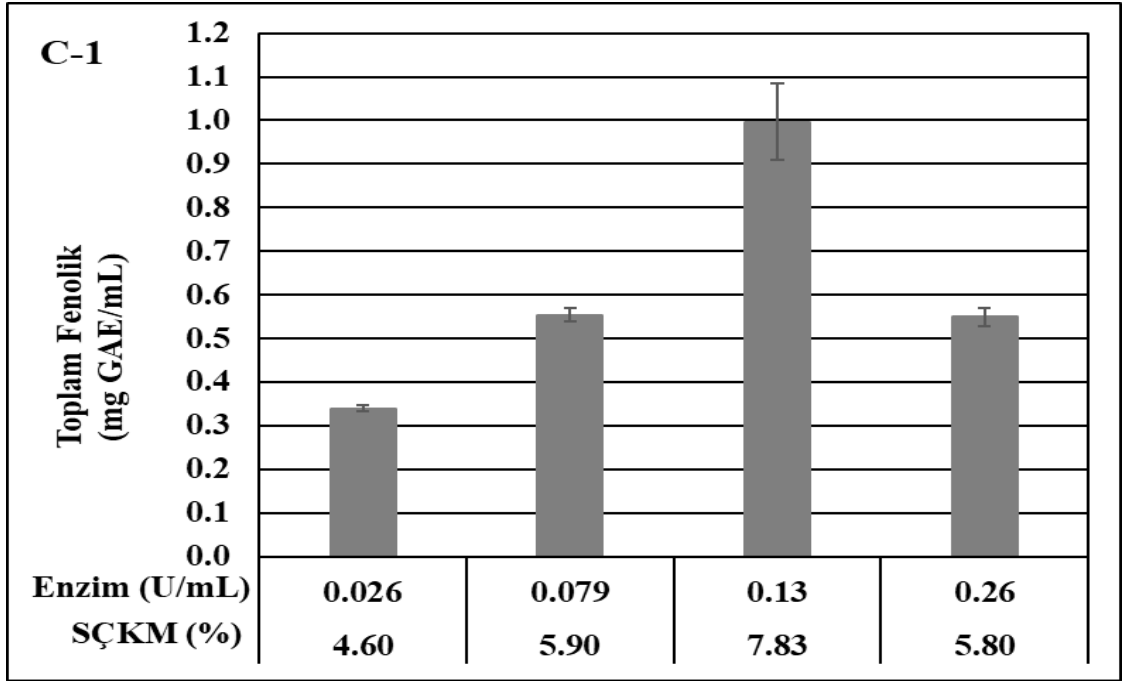
konsantrasyonundaki artışın ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik miktarında azalmaya neden olduğu rapor edilmiştir (Li ve ark., 2006).



Şekil 4. 1. Nar kabuğu ekstraktlarının farklı enzim aktivitelere göre toplam fenolik bileşik miktarı (A-1), toplam flavonoid madde miktarı (A-2)



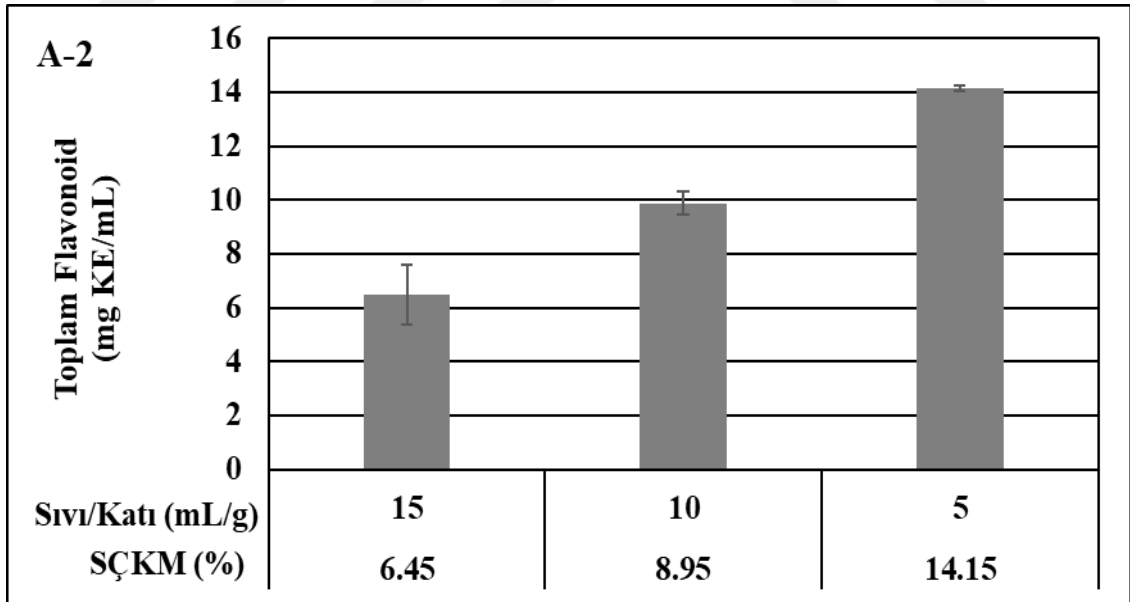
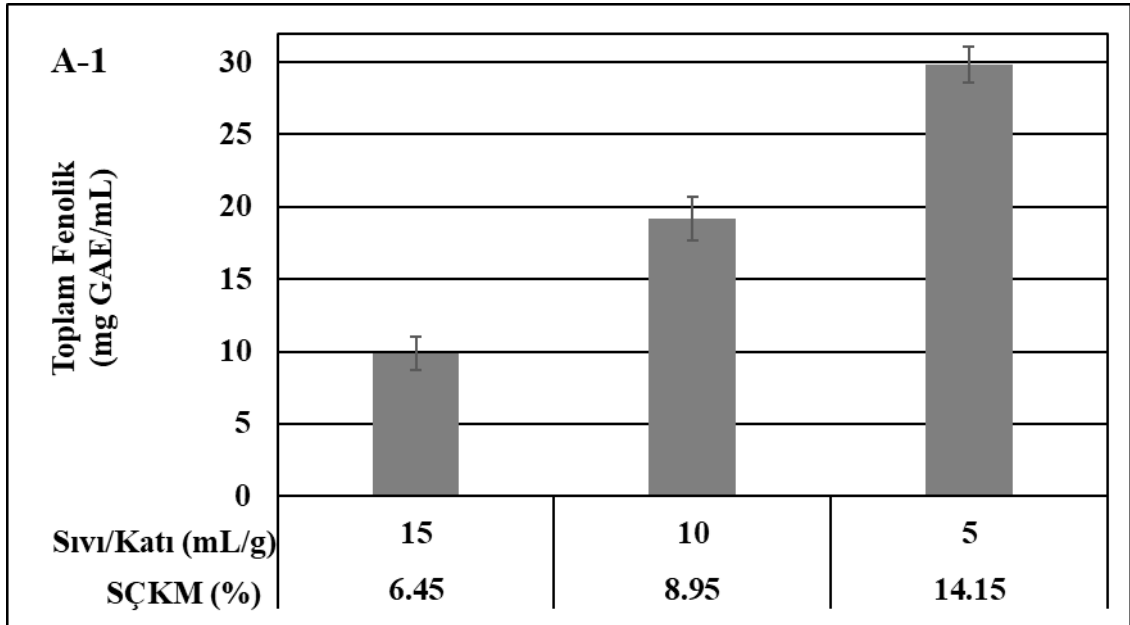
Şekil 4. 2. Mandalina kabuğu ekstraktlarının farklı enzim aktivitelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (B-1), toplam flavonoid madde miktarı (B-2)



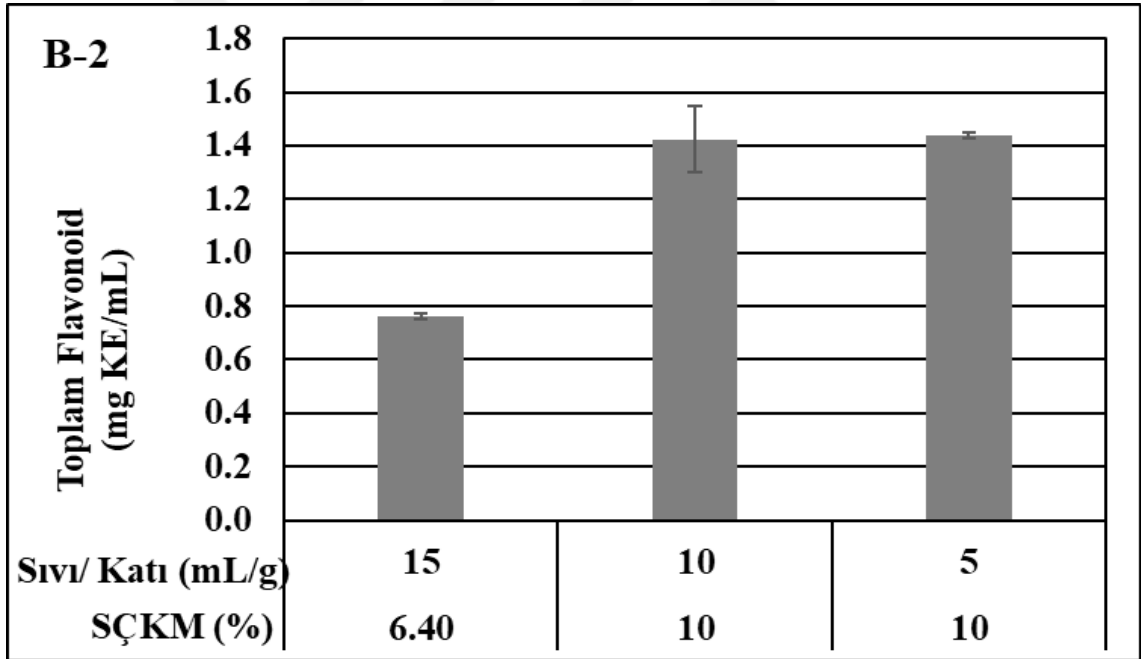
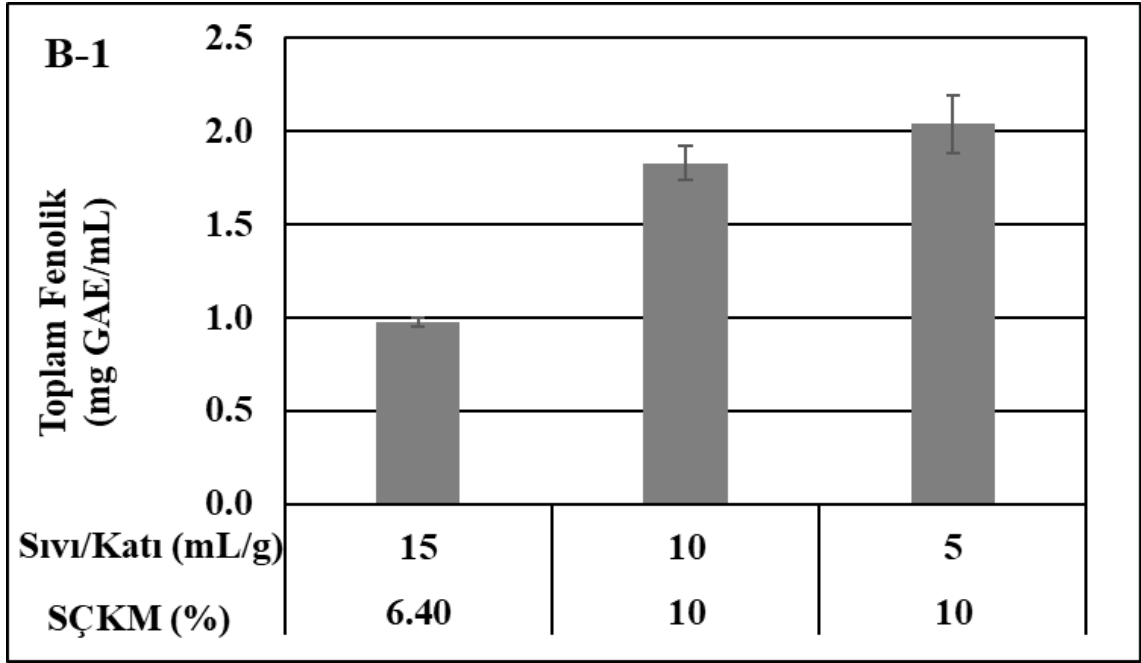
Şekil 4. 3. Muz kabuğu ekstraktlarının farklı enzim aktivitelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (C-1), toplam flavonoid madde miktarı (C-2)

Sıvı/katı oranının, enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde, SÇKM değerleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışma kapsamında her bir kabuk çeşidi için 15:1; 10:1 ve 5:1 mL solvent/g kabuk oranı kullanılarak deneyler yürütülmüştür. Enzim aktivitesi bir önceki deneyin sonuçlarına göre; nar kabukları için 0.079 U/mL, mandalina ve muz kabukları için 0.13 U/mL seçilmiştir. Ekstraksiyon işlemi 50°C sıcaklıkta 60 dk süre ile gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonucunda sıvı/katı oranının toplam fenolik madde, flavonoid madde ve suda çözünür kurumadde değerleri üzerindeki etkisi değerlendirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da sunulmuştur. 15:1, 10:1 ve 5:1 mL solvent/g kabuk oranlarına göre nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik değerleri sırasıyla 9.86 mg GAE/mL, 19.16 mg GAE/mL ve 29.79 mg GAE/mL olarak; toplam flavonoid madde değerleri ise sırasıyla 6.49 mg KE/mL, 9.88 mg KE/mL ve 14.14 mg KE/mL olarak belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktlarının suda çözünür kuru madde değerleri sırasıyla %6.45, %8.95 ve %14.15 olarak bulunmuştur. Mandalina kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarları sırasıyla 0.98 mg GAE/mL, 1.83 mg GAE/mL ve 2.04 mg GAE/mL; toplam flavonoid madde değerleri ise sırasıyla 0.76 mg KE/mL, 1.42 mg KE/mL ve 1.44 mg KE/mL olarak belirlenmiştir. Mandalina kabuğu ekstraktlarının 15:1, 10:1 ve 5:1 mL solvent/g kabuk oranlarına göre suda çözünür kuru madde değerleri sırasıyla %6.40, %10 ve %10 olarak bulunmuştur. Muz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde değerleri sırasıyla 0.40 mg GAE/mL, 1.00 mg GAE/mL ve 1.50 mg GAE/mL; toplam flavonoid madde değerleri ise sırasıyla 0.26 mg KE/mL, 0.64 mg KE/mL ve 0.95 mg KE/mL şeklinde belirlenmiştir. Muz kabuğu ekstraktlarının 15:1, 10:1 ve 5:1 mL solvent/g kabuk oranlarına göre SÇKM değerleri sırasıyla %3.50, %7.83 ve %10.10 olarak bulunmuştur. Artan konsantrasyona rağmen (kabuk/solvent) elde edilen fenolik bileşik madde miktarı aynı oranda artmamış, bu nedenle en uygun sıvı/katı oranı nar, mandalina ve muz kabukları için 10:1 mL solvent/g kabuk oranı olarak belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda da bu çalışmada olduğu gibi ekstraktların fenolik ve flavonoid bileşik içeriklerinin katı/sıvı oranına bağlı olduğu, ayrıca artan katı/sıvı oranıyla çözünen matrisin tükenmesi sonucu toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde değerlerinin artmadığı belirtilmiştir. Ayrıca bu çalışmada bulunan verilerle paralel olarak ekstraksiyon süresindeki aşırı artışın toplam fenolik bileşik değerini düşürdüğü

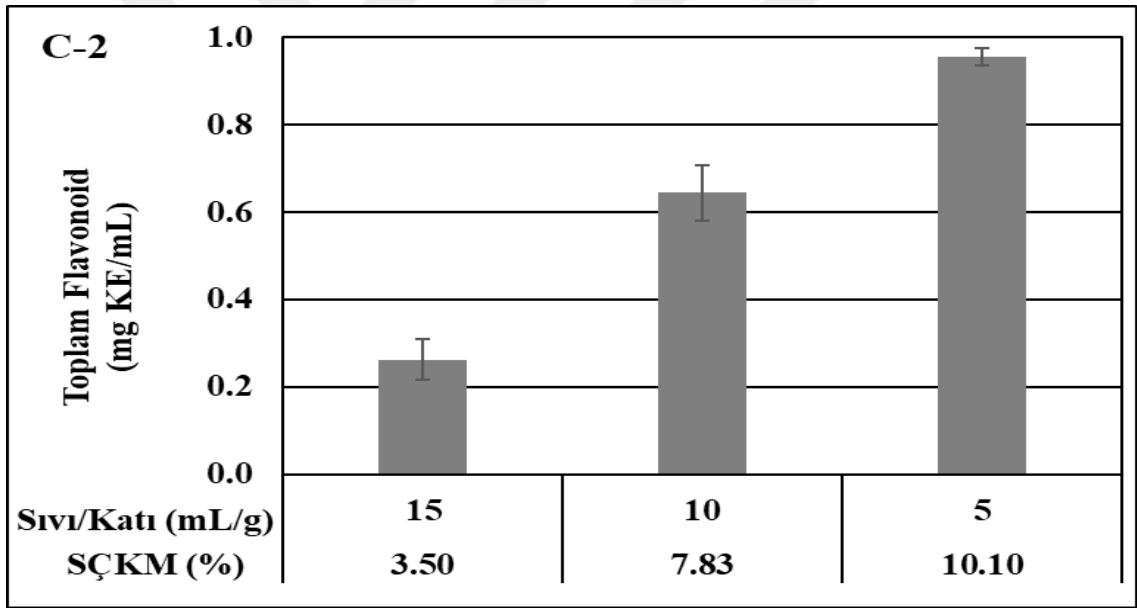
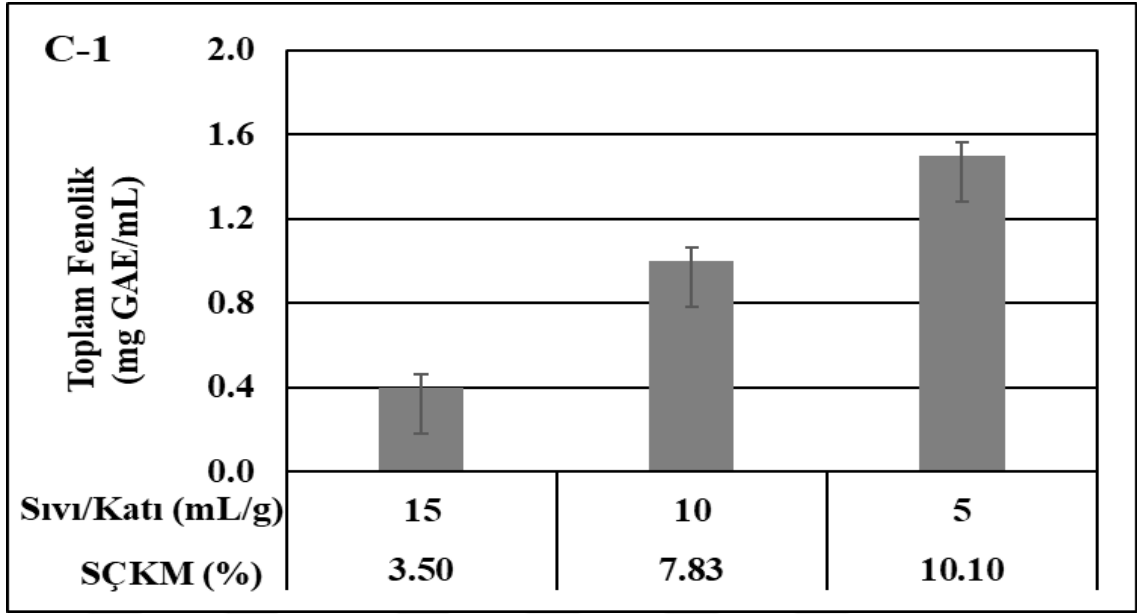
rapor edilmiştir (İslam ve ark., 2023; Kahveci, 2022). SÇKM değerleri ise kullanılan kabuk miktarına bağımlı olarak artmıştır.



Şekil 4. 4. Nar kabuğu ekstraktlarının farklı sıvı/katı oranlarına göre toplam fenolik bileşik miktarı (A-1), toplam flavonoid madde miktarı (A-2)



Şekil 4. 5. Mandalina kabuğu ekstraktlarının farklı sıvı/katı oranlarına göre toplam fenolik bileşik miktarı (B-1), toplam flavonoid madde miktarı (B-2)



Şekil 4. 6. Muz kabuğu ekstraktlarının farklı sıvı/katı oranlarına göre toplam fenolik bileşik miktarı (C-1), toplam flavonoid madde miktarı (C-2)

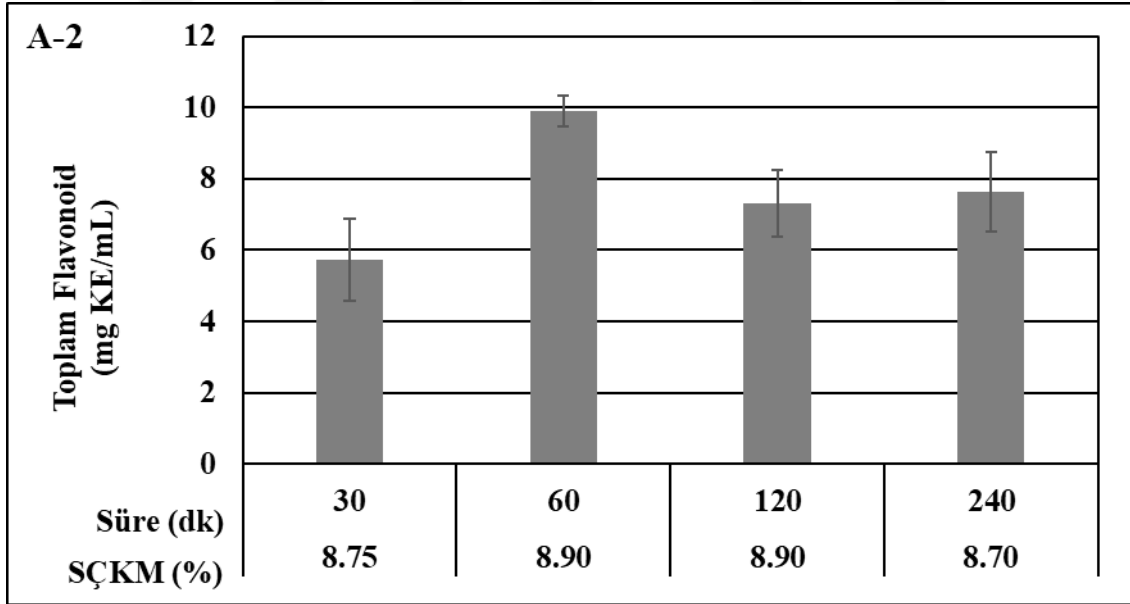
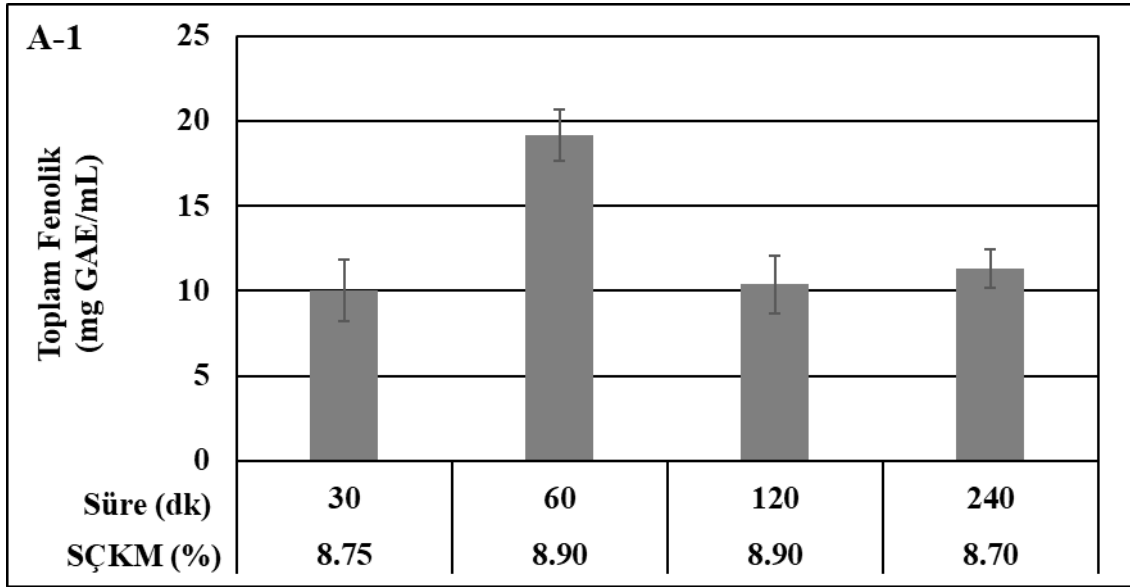
Ekstraksiyon süresinin, ekstraktların toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde değerleri üzerindeki etkisi de incelenmiştir. Çalışma kapsamında her bir kabuk çeşidi için 30 dk, 60 dk, 120 dk ve 240 dk süre ile enzimatik ekstraksiyon deneyleri yürütülmüştür. Sıvı/katı oranı tüm meyve kabukları için 10:1 mL solvent/g kabuk olarak sabit tutulmuş, enzim aktivitesi ise nar kabukları için 0.079 U/mL, mandalina ve muz kabukları için 0.13 U/mL olarak kullanılmıştır. Ekstraksiyon 50°C sıcaklıkta ve 30 dk, 60 dk, 120 dk ve 240

dk sürelerde gerçekleştirilmiştir ve sonuçlar Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da sunulmuştur.

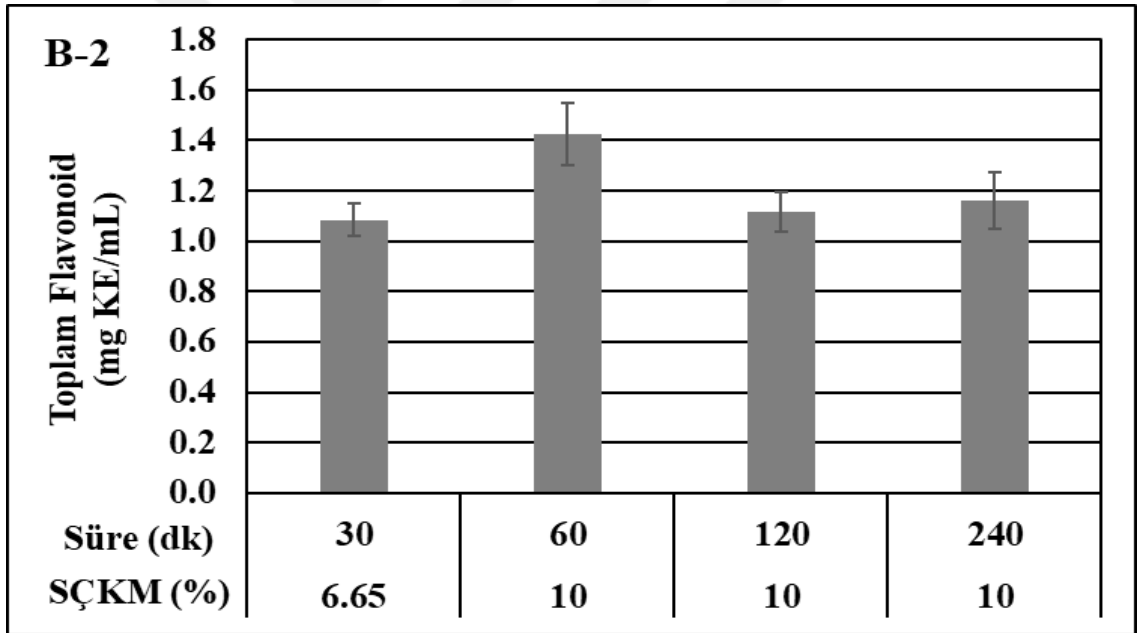
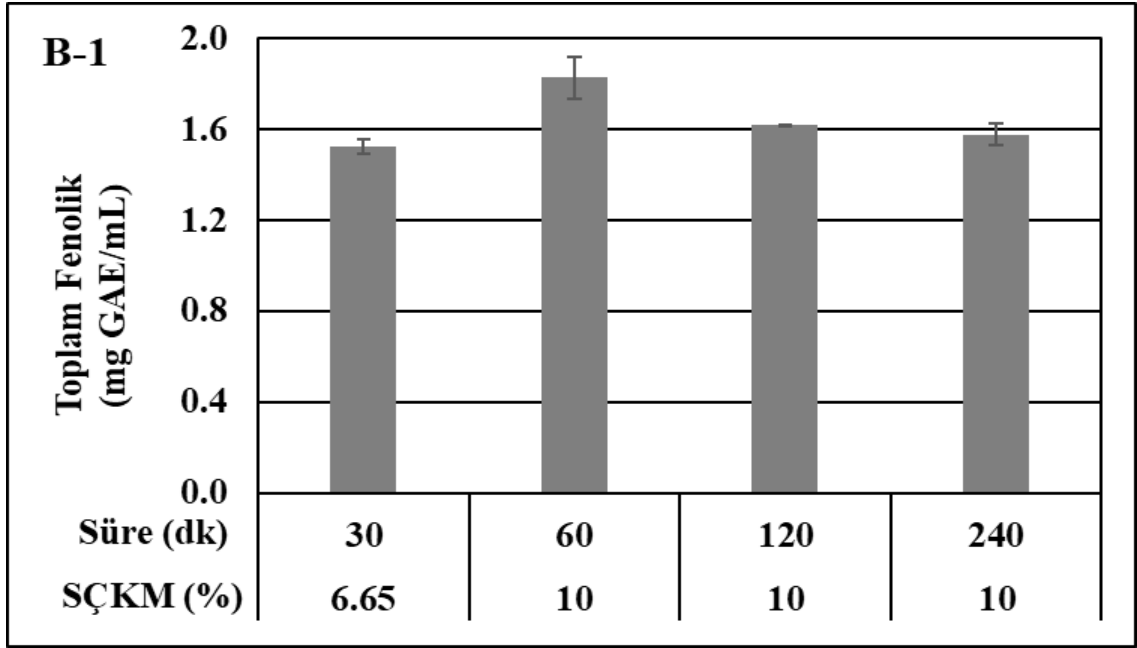
Farklı sürelerde gerçekleşen ekstraksiyonlar için nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik değerleri sırasıyla 10.04 mg GAE/mL, 19.16 mg GAE/ mL, 10.38 mg GAE/mL ve 11.29 mg GAE/mL; toplam flavonoid madde değerleri ise sırasıyla 5.73 mg KE/mL, 9.88 mg KE/mL, 7.31 mg KE/mL ve 7.64 mg KE/mL olarak belirlenmiştir. Mandalina kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde değerleri sırasıyla 1.53 mg GAE/mL, 1.83 mg GAE/mL, 1.62 mg GAE/mL ve 1.58 mg GAE/mL; toplam flavonoid madde değerleri ise sırasıyla 1.08 mg KE/mL, 1.42 mg KE/mL, 1.12 mg KE/mL ve 1.16 mg KE/mL şeklinde belirlenmiştir. 30 dk, 60 dk, 120 dk ve 240 dk'lık sürelerde gerçekleşen ekstraksiyonlar için muz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde değerleri sırasıyla 0.49 mg GAE/mL, 1.00 mg GAE/mL, 0.84 mg GAE/mL ve 0.80 mg GAE/mL; toplam flavonoid madde değeri ise sırasıyla 0.34 mg KE/mL, 0.64 mg KE/mL, 0.49 mg KE/mL ve 0.53 mg KE/mL olarak belirlenmiştir. Nar kabuğu ekstraktlarının SÇKM değerleri sırasıyla %8.75, %8.90, %8.90 ve %8.70 olarak bulunmuştur. Mandalina kabuğu ekstraktlarının SÇKM değerleri sırasıyla %6.65, %10, %10 ve %10 olarak bulunmuştur. Muz kabuğu ekstraktlarının ise %5.70, %7.83, %7.40 ve %7.60 olarak bulunmuştur. Sonuçlar 60 dk'dan daha uzun ekstraksiyon sürelerinin suda çözünür kurumadde değerini çok az etkilediğini göstermektedir.

Ekstraksiyon süresi 30 dakikadan 60 dakikaya uzadığında elde edilen toplam fenolik madde miktarı artarken, 60 dakikadan sonraki süre artışı ile ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarında azalma olduğu görülmüştür. Yüksek sıcaklıklarda uzun ekstraksiyon sürelerine maruz kalma nedeniyle biyoaktif bileşiklerin yapılarının bozulduğu rapor edilmiştir (Kaur ve ark., 2024). Çalışmada nar, mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarından en yüksek toplam fenolik bileşik ve flavonoid madde ekstraksiyonu için 60 dakikalık ekstraksiyon süresi ideal olarak belirlenmiştir. Belirlenen sürede nar kabuğu ekstraktının toplam fenolik bileşik değeri 19.16 mg GAE/mL ve toplam flavonoid bileşik değeri 9.88 mg KE/mL, mandalina kabuğu ekstraktında toplam fenolik madde değeri 1.83 mg GAE/mL ve toplam flavonoid madde değeri 1.42 mg

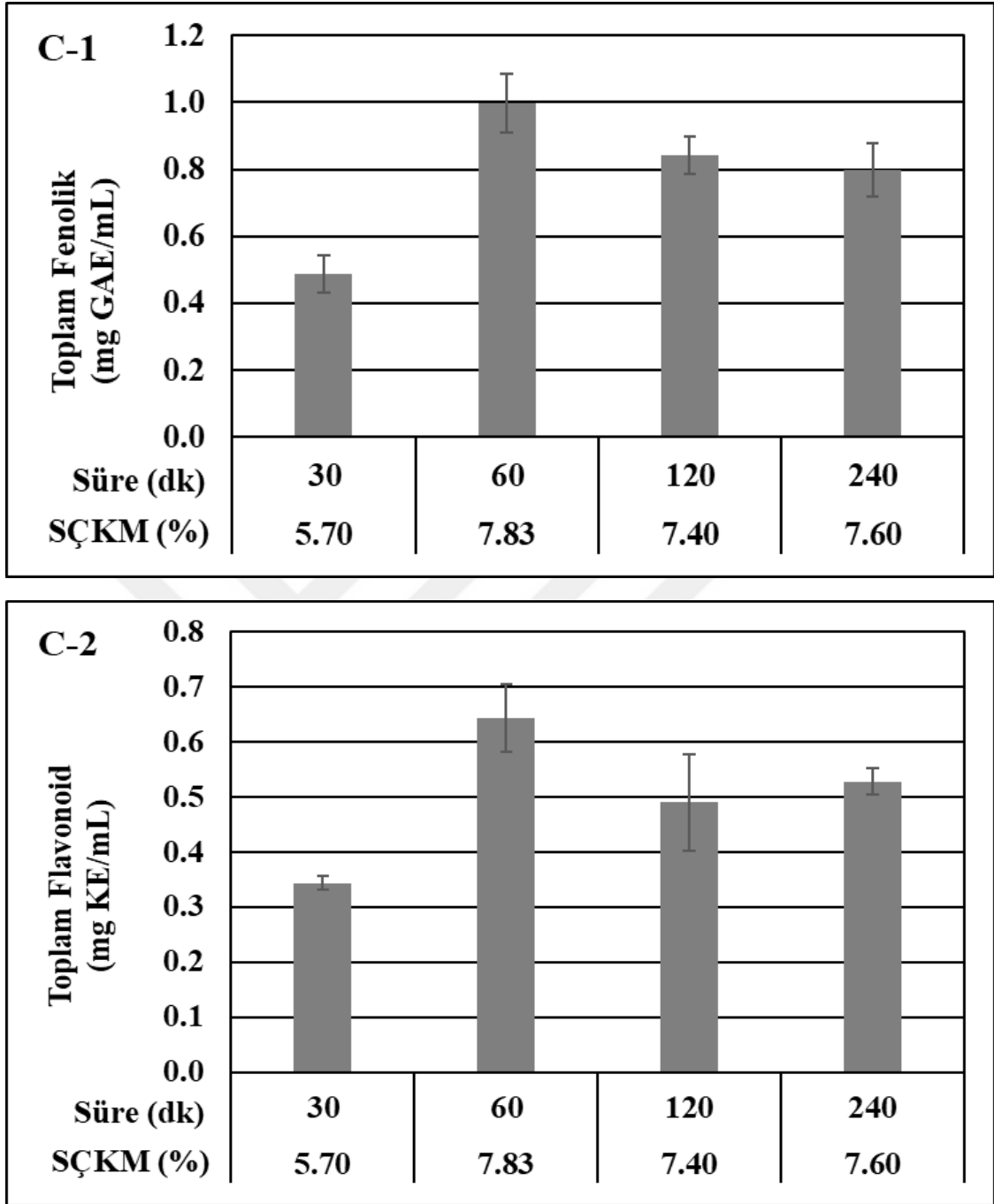
KE/mL olarak ve muz kabuğu ekstraktında da toplam fenolik madde değeri 1.00 mg GAE/mL ve toplam flavonoid madde değeri 0.64 mg KE/mL olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4. 7. Nar kabuğu ekstraktlarının farklı ekstraksiyon sürelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (A-1), toplam flavonoid madde miktarı (A-2)



Şekil 4. 8. Mandalina kabuğu ekstraktlarının farklı ekstraksiyon sürelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (B-1), toplam flavonoid madde miktarı (B-2)



Şekil 4. 9. Muz kabuğu ekstraktlarının farklı ekstraksiyon sürelerine göre toplam fenolik bileşik miktarı (C-1), toplam flavonoid madde miktarı (C-2)

Yapılan çalışmalar sonucunda yüksek miktarda fenolik madde ekstrakte etmek için uygun koşullar; nar kabuğu için 10:1 mL/g sıvı/katı oranı, 0.079 U/mL enzim miktarı ve 60 dakikalık ekstraksiyon süresi, mandalina kabuğu için 10:1 mL/g sıvı/katı oranı, 0.13 U/mL enzim miktarı ve 60 dakikalık ekstraksiyon süresi, muz kabuğu için ise 10:1 mL/g sıvı/katı oranı, 0.13 U/mL enzim miktarı ve 60 dakikalık ekstraksiyon süresi olarak

belirlenmiştir. Belirtilen ekstraksiyon koşullarında toplam fenolik bileşik ve flavonoid bileşik miktarları nar kabuğu için 19.16 mg GAE/mL ve 9.88 mg KE/mL; mandalina kabuğu için 1.83 mg GAE/mL ve 1.42 mg KE/mL ve muz kabuğu için 1.00 mg GAE/mL ve 0.64 mg KE/mL olarak bulunmuştur.

Yapılan literatür taramasında muz kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon yöntem (Viskozime, selüloz ve pektinaz) ile toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik ekstrakte edilmiştir. Optimum koşulda (Viskozime enzimi) bu değerler sırasıyla 25.37 mg GAE/g ve 13.99 mg GAE/g olarak belirtilmiştir. Değerlerin bu çalışmada bulunan toplam fenolik bileşik (9.00 mg GAE/g) ve toplam flavonoid bileşik (5.06 mg GAE/g) verimlerine göre yüksek olduğu görülmektedir (Islam ve ark., 2023). Muz kabukları ile yapılan başka bir çalışmada enzim destekli ekstraksiyon yöntemi (farklı kombinasyonlarda Pectinex, Flavourzyme ve Celluclast enzimleri karışımı) ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik değeri 14.70 mg GAE/g olup bu değer çalışmamızda bulunan toplam fenolik bileşik (9.00 mg GAE/g) değerinden yüksek olduğu görülmüştür (Santos ve ark., 2022). Li ve ark., (2006) mandalina kabuklarından enzimatik ekstraksiyon ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik değerini 130 mg GAE/g olarak rapor etmişlerdir. Bu değer çalışmamızda bulunan toplam fenolik bileşik (17.40 mg GAE/g) değerinden yüksek olduğu görülmüştür.

Literatür çalışmasında enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile nar kabuklarından fenolik bileşik ekstrakte edilmiş ve sonuçlar farklı yöntemler (süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve çözücü ekstraksiyonu) ile kıyaslanmıştır. Enzim destekli (pektinaz, proteaz ve selüloz enzimleri; 25:25:50 oranlarında) süperkritik sıvı ekstraksiyon yöntemi (301.53 mg GAE/g) ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik içeriğinin enzim destekli çözücü ekstraksiyon yöntemine (218.74 mg GAE/g) kıyasla oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir. Ayrıca enzim ilavesiz süperkritik sıvı ekstraksiyon (181.02 mg GAE/g) ve çözücü ekstraksiyon (153.01 mg GAE/g) yöntemlerinin, enzim ilaveli ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik değerlerinin oldukça düşük olduğu belirtilmiştir (Mustaqh ve ark., 2015). Bu değerlerin çalışmamızda bulunan nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik verimine (184.18 mg GAE/g) yakın olduğu görülmüştür. Kumar ve ark., (2020) nar kabukları ile yapıları çalışmada geleneksel

çözücü ekstraksiyonu, enzim destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve enzim destekli mikrodalga ekstraksiyon yöntemlerini kullanarak toplam fenolik bileşik ekstrakte etmişler ve yöntem kıyaslamaları yapmışlardır. Toplam fenolik bileşik miktarı sırasıyla 108.7 mg GAE/g, 165.5 mg GAE/g, 197.6 mg GAE/g ve 305.5 g GAE/g olarak tespit edilmiştir. En yüksek fenolik bileşik izolasyonunun, enzim destekli mikrodalga ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edildiği belirtilmiştir. Ayrıca enzim destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik değerinin (165.5 mg GAE/g), çalışmamızda bulunan nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik verimine (184.18 mg GAE/g) yakın olduğu görülmektedir. Başka bir çalışmada nar kabuklarından ultrason destekli enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid değerleri sırasıyla 19.77 mg GAE/g ve 17.97 mg KE/g olarak tespit edilmiş olup (Nag ve Sit, 2018), bu değerlerin çalışmamızdaki nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik (184.18 mg GAE/g) ve toplam flavonoid bileşik (91.12 mg KE/g) değerlerinden düşük olduğu görülmektedir. Enzimlerin fenolik bileşik ekstraksiyonunda etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Yapılan literatür taramasında portakal kabuklarından ultrason destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri ile toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik ekstrakte edilmiş ve yöntem kıyaslamaları yapılmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid miktarları sırasıyla 1.59 mg GAE/100g ve 104.99 mg KE/100g; enzim destekli ekstraksiyon ile bu değerler sırasıyla 3.38 mg GAE/100g ve 251.23 mg KE/100g olarak tespit edilmiştir. Enzim destekli ekstraksiyon yönteminin ultrason destekli ekstraksiyon yöntemine kıyasla iki kat daha fazla toplam fenolik bileşik verimi elde ettiği belirtilmiştir (Nishad ve ark., 2019). Bu sonuçların çalışmamızda bulunan nar, mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarlarından (184.18 mg GAE/g, 17.40 mg GAE/g ve 9.00 mg GAE/g) düşük, toplam flavonoid bileşik miktarlarından (91.12 mg KE/g, 10.38 mg KE/g ve 5.06 mg KE/g) ise yüksek olduğu görülmektedir. Yaban mersini posasından enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile toplam fenolik bileşik ekstrakte edilmiş ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile kıyaslaması yapılmıştır. Toplam fenolik bileşik değeri sırasıyla 6.8 mg GAE/g ve 5.3 mg GAE/g olarak rapor edilmiş olup enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile yüksek fenolik bileşik ekstrakte edildiği belirtilmiştir

(Syrpas ve ark., 2021). Bu değerlerin alışamızda bulunan nar, mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarından düşük olduğu görülmektedir. Zeytin ekirdeği ve yapraklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon ve enzim-mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri ile toplam fenolik bileşik ekstrakte edilmiş ve zeytin çekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik bileşik değeri sırasıyla 10.61 mg GAE/g ham madde ve 10.37 mg GAE/g ham madde; zeytin yaprağı ekstraktlarının ise sırasıyla 28 mg GAE/g ham madde ve 29.52 mg GAE/g ham madde olarak tespit edilmiştir. Enzim kullanımı ile etkili bir şekilde fenolik bileşik geri kazanımı sağlandığı belirtilmiştir (Chanioti ve ark., 2016). Zeytin ekirdeği ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarı (10.37 mg GAE/g) alışamızda bulunan nar ve mandalina kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarlarından) düşük, muz kabuğu ekstraktlarının fenolik bileşik miktarından yüksek olduğu tespit edilmiştir. Zeytin yaprağı ekstaktlarının toplam fenolik bileşik miktarı (29.52 mg GAE/g) ise nar kabuğu ekstraktlarının fenolik bileşik miktarından düşük, mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarının fenolik bileşik miktarlarından yüksek olduğu anlaşılmıştır. Greyfurt kabukları ile ilgili yapılan çalışmada enzim destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik ekstrakte edilmiş ve yöntem kıyaslamaları yapılmıştır. Enzim destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik (3170.35 mg GAE/100 g) ve toplam flavonoid bileşik (329.89 mg KE/100 g) değerleri ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen toplam fenolik bileşik (2116.71 mg GAE/100 g) ve toplam flavonoid bileşik (276.53 mg KE/100 g) değerlerinden yüksek olduğu rapor edilmiştir (Nishad ve ark., 2019). Bu sonuçların çalışmamızdaki nar, mandalina ve muz kabuklarından elde edilen toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik miktarından yüksek olduğu görülmektedir. Bir başka çalışmada mango kabuklarından ultrason destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ultrason ekstraksiyon yöntemleri ile toplam fenolik bileşik ekstakte edilmiş ve bu değer sırasıyla 25.64 mg GAE/g ve 33.56 mg GAE/g olarak rapor edilmiştir. Enzim ilavesi ile gerçekleşen ekstraksiyon işleminin toplam fenolik bileşik izolasyonunda daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Sharif ve ark., 2023). Sonuçların alışmamızda bulunan nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarından düşük, fakat mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarlarından yüksek olduğu görülmüştür. Siyah frenk üzümü atıklarından farklı enzim eşitleri kullanılarak ekstrakte edilen toplam

fenolik bileşik değerlerinin 376 – 1349 mg GAE/g aralığında bulunduğu belirtilmiştir (Granato ve ark., 2022). Bu çalışma ile kıyaslandığında sonuçların nar, mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarlarından yüksek olduğu görülmektedir. Limon kabuğundan enzim destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ultrason ekstraksiyon yöntemleri ile toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik değerleri sırasıyla 3.20 mg GAE/g ve 4.56 mg RE/g; 3.49 mg GAE/g ve 4.85 mg RE/g olarak tespit edilmiştir (Durmuş ve Kilic-Akyilmaz, 2023). Bu sonuçların çalışmada elde edilen nar, mandalina ve muz kabukları ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarından düşük bulunmuştur. Kumar ve ark., (2022) siyah havuçtan Viskozye enzimi kullanarak farklı koşullar altında ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid değerlerinin sırasıyla 84–502 mg GAE/100 mL ve 420–3122 mg KE/L aralığında olduğu rapor etmiştir. Sonuçlar kıyaslandığında nar, mandalina ve muz kabukları ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarlarından yüksek; nar kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoid bileşik miktarından düşük, mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoid bileşik miktarlarından ise yüksek olduğu görülmektedir. Patlıcan kabuğundan farklı enzimatik ekstraksiyon koşulları altındaki toplam fenolik bileşik değerlerinin 1180-3060 mg GAE/L arasında değiştiği rapor edilmiştir (Amulya ve Ul Islam, 2023). Bu sonuçların çalışmamızda bulunan nar kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarından (19.16 mg GAE/mL) düşük, mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarlarından (1.83 mg GAE/mL ve 1.00 mg GAE/mL) yüksek olduğu görülmektedir. Bir başka çalışmada *Prunus Nepalensis* L.'nin olgunlaşmış meyvelerinden enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda 8.32 mg GAE/g kuru ağırlık toplam fenolik bileşik ekstrakte edildiği belirtilmiştir (Swet ve ark., 2018). Bu sonuçların çalışmamızda elde edilen nar, mandalina ve muz kabukları ekstraktlarının toplam fenolik bileşik miktarlarından düşük olduğu görülmektedir.

Literatür çalışmalarında enzim destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak farklı meyve kabuklarından geleneksel ve diğer ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla yüksek miktarlarda fenolik bileşik ve flavonoid madde ekstrakte edildiği görülmektedir. Çalışmamızda kullanılan nar, mandalina ve muz kabuklarından ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik miktarları sırasıyla 184.18 mg GAE/g, 17.40 mg GAE/g ve 9.00 mg GAE/g; toplam flavonoid madde miktarları ise sırasıyla 91.12 mg KE/g, 10.38 mg KE/g ve 5.06 mg KE/g

olarak rapor edilmiştir. Toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid madde ekstraksiyonu için nar, mandalina ve muz kabuklarının, portakal kabuğu (3.38 mg GAE/100g) (Nishad ve ark., 2019), yaban mersini (6.8 mg GAE/g) (Syrpas ve ark., 2021), zeytin çekirdeği (10.37 mg GAE/g) (Chanioti ve ark., 2016), mango kabuğu (33.56 mg GAE/g) (Sharif ve ark., 2023), limon kabuğu (3.20 mg GAE/g) (Durmuş ve Kilic-Akyilmaz, 2023), *Prunus Nepalensis* L.'nin olgunlaşmış meyveleri (8.32 mg GAE/g) (Swet ve ark., 2018) ile kıyaslandığında daha iyi bir kaynak olduğu görülmüştür. Bitki çeşitlerinde bulunan fenolik bileşik miktarları farklılık gösterdiğinden, sonuçları kıyaslamak zor olsa da bulgular nar, mandalina ve muz kabuklarının fenolik ve flavonoid bileşiklerin ekstraksiyonu için potansiyel kaynaklar olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ılımlı koşullarda fenolik ve flavonoid bileşiklerin verimli bir şekilde elde edilmesine olanak sağlayabileceğini göstermektedir.

4.3. Ekstraktların İndirgen Şeker Miktarları

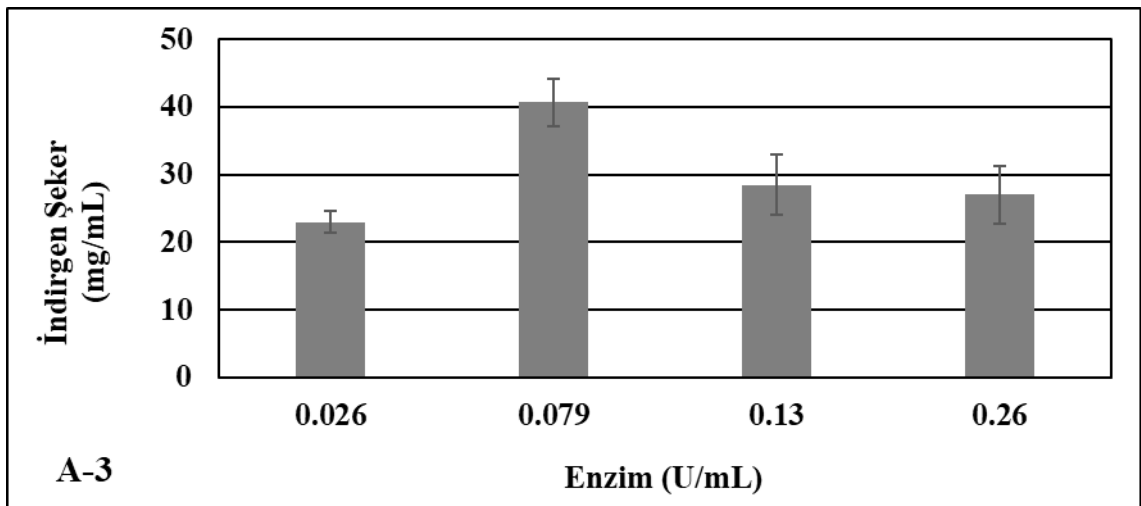
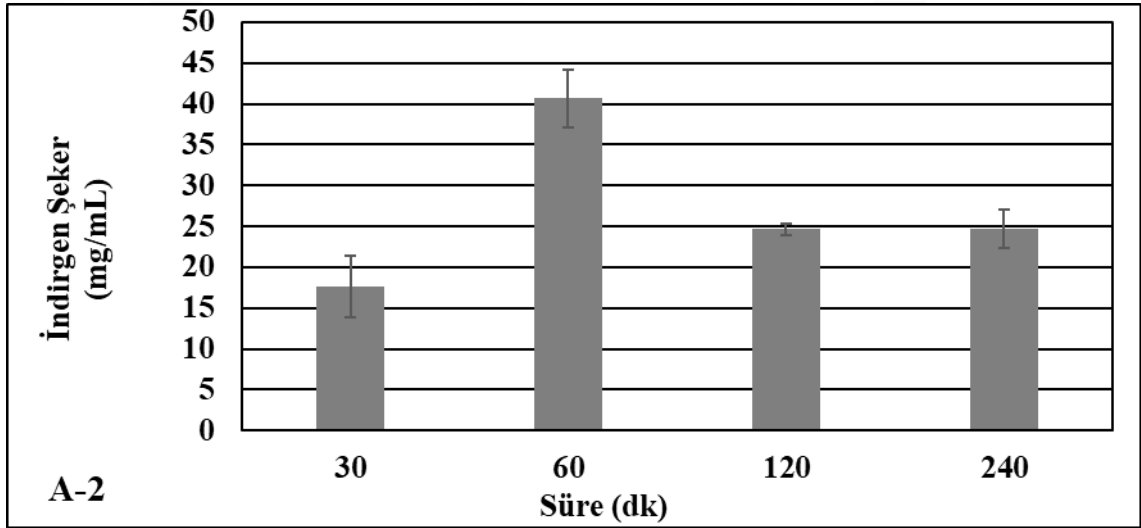
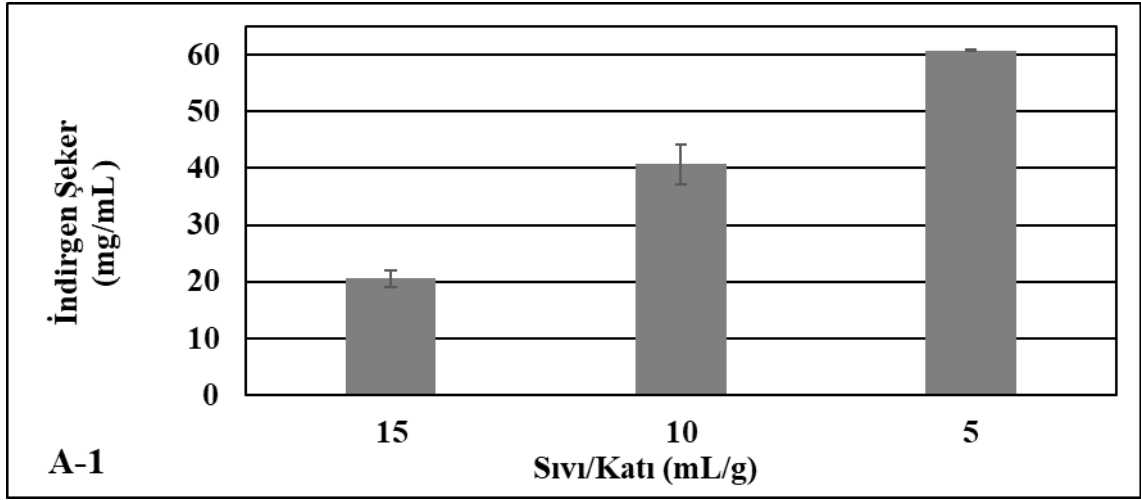
Bitkilerde en yaygın bulunan organik bileşikler karbonhidratlardır. Şeker, selüloz, nişasta, hemiselüloz, lignin ve pektin formlarında bitki hücrelerinde bulunurlar (Panche ve ark., 2016; Adeogun, ve ark., 2018; Katırcı, 2023).

Bu çalışmada kullanılan Viskozye; *Aspergillus sp*'den türetilen bir ticari enzim karışımıdır. Kompleks enzim olduğu için ekstraksiyon sırasında bitki hücre yapısı içindeki polisakkarit bağlarını etkili bir biçimde hidroliz ederek daha fazla miktarda biyokatif bileşiğin serbest kalmasını sağlar ve bu da ekstraksiyon veriminde artış sağlamaktadır (Aydın ve ark., 2025). Aynı zamanda hücre duvarı yapısal polisakkaritlerini oligosakkarit ve monosakkaritlere (fruktoz, arabinoz, glukoz vb.) hidroliz ederek indirgen şeker miktarını da arttırmaktadır (Guan ve Yao, 2008; Ivanković ve ark., 2023).

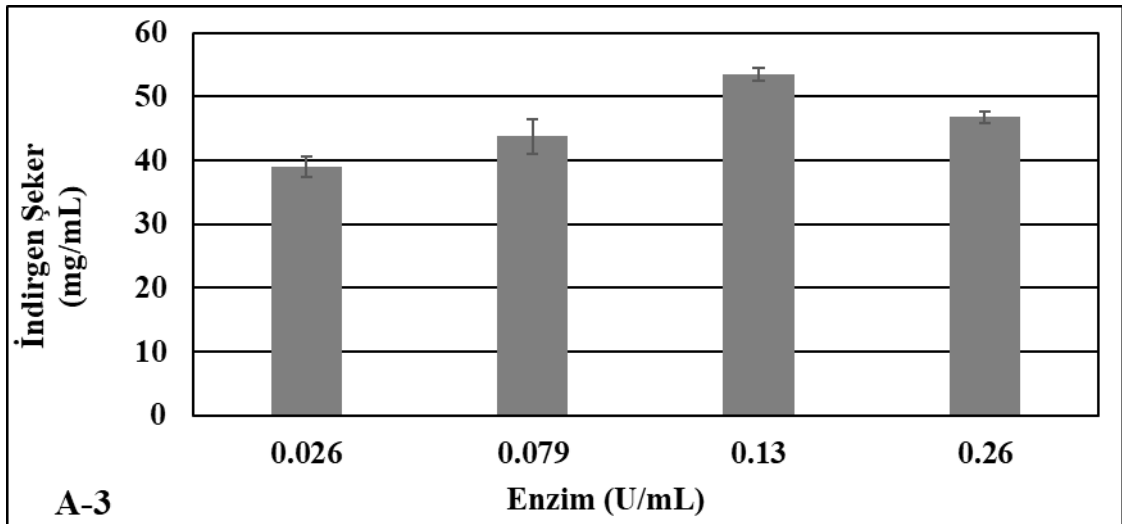
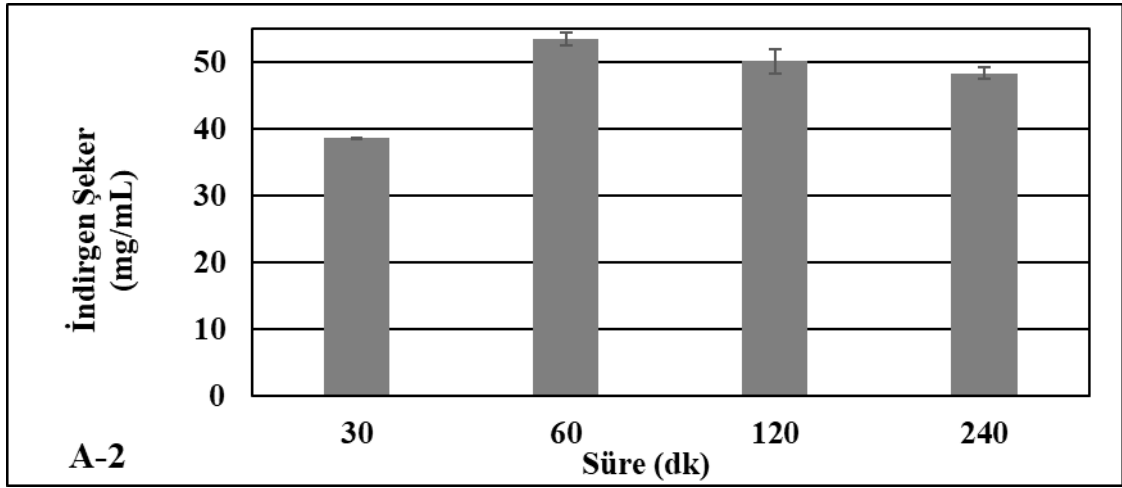
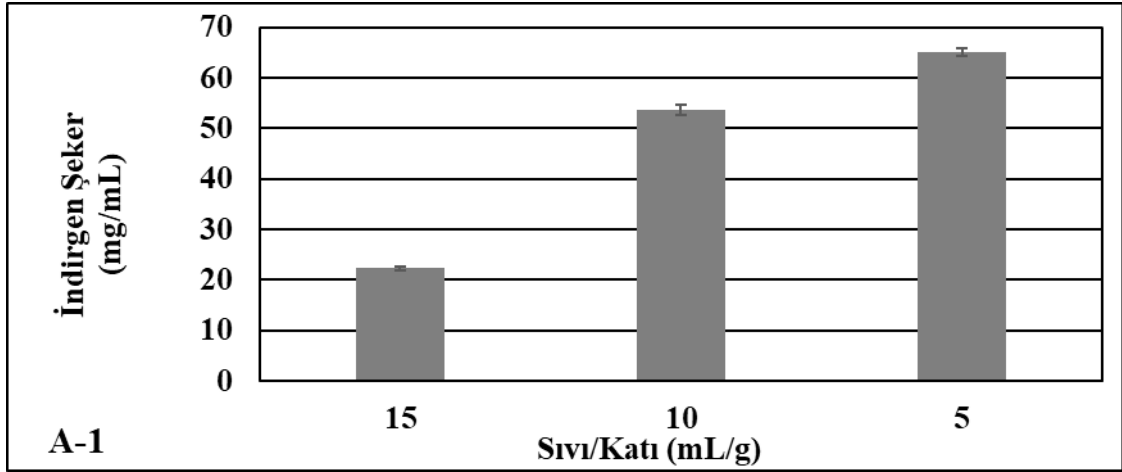
Bu çalışmada yukarıda gerçekleştirilen farklı ekstraksiyon koşullarında nar, mandalina ve muz kabukları ekstraktlarının indirgen şeker miktarları belirlenmiş ve analiz sonuçları Şekil 4.10, Şekil 4.11 ve Şekil 4.12'de sunulmuştur. Nar kabuğu ekstraktlarının azalan sıvı/katı oranlarına (15:1 mL/g, 10:1 mL/g ve 5:1 mL/g) bağlı olarak indirgen şeker içeriğinin arttığı, ayrıca ekstraksiyon süresi ve enzim aktivitesi incelendiğinde en yüksek

indirgen şeker içeriğinin 60 dk ekstraksiyon süresinde ve 0.079 U/mL enzim aktivitesine sahip ekstraksiyon koşullarında elde edildiği gözlemlenmiştir (Şekil 4.10). Mandalina ve muz kabukları ekstraktlarının azalan sıvı/katı oranlarına (15:1 mL/g, 10:1 mL/g ve 5:1 mL/g) bağlı olarak indirgen şeker içeriğinin arttığı, ayrıca ekstraksiyon süresi ve enzim aktivitesi incelendiğinde en yüksek indirgen şeker içeriğinin 60 dk'lık ekstraksiyon süresine ve 0.13 U/mL enzim aktivitesine sahip ekstraksiyon koşullarında olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.11, Şekil 4.12). Artan katı sıvı oranı ile enzimin hidroliz edebileceği substrat miktarı arttığından indirgen şeker içeriğinin arttığı görülmektedir. Enzim aktivitesinin ve ekstraksiyon süresinin artması ile indirgen şeker miktarında artış olmaması; enzimin substrat ile doymuş olduğunu göstermektedir (Ivanković ve ark., 2023).

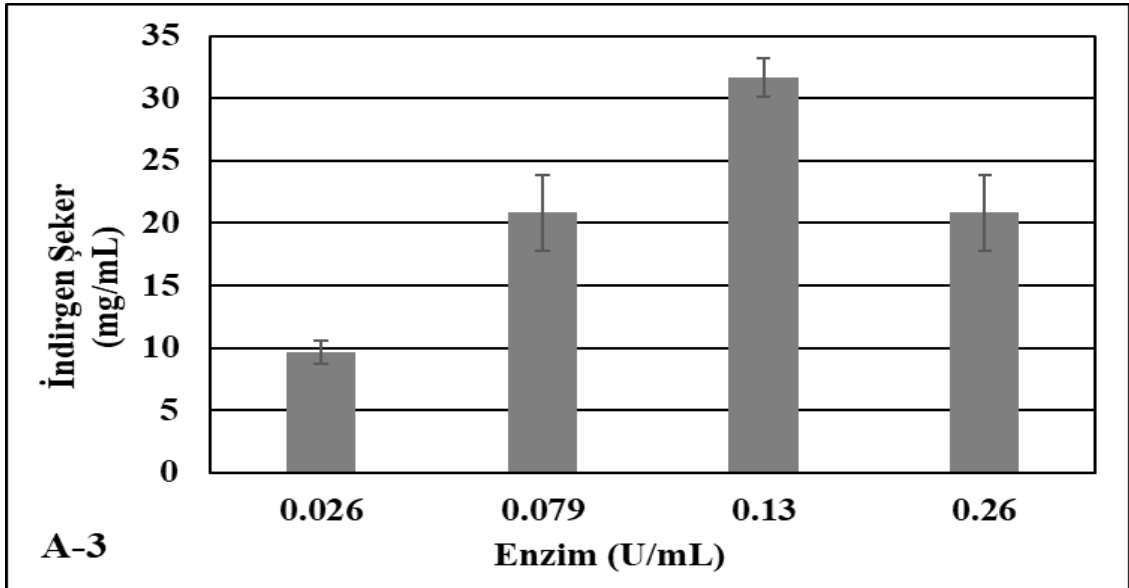
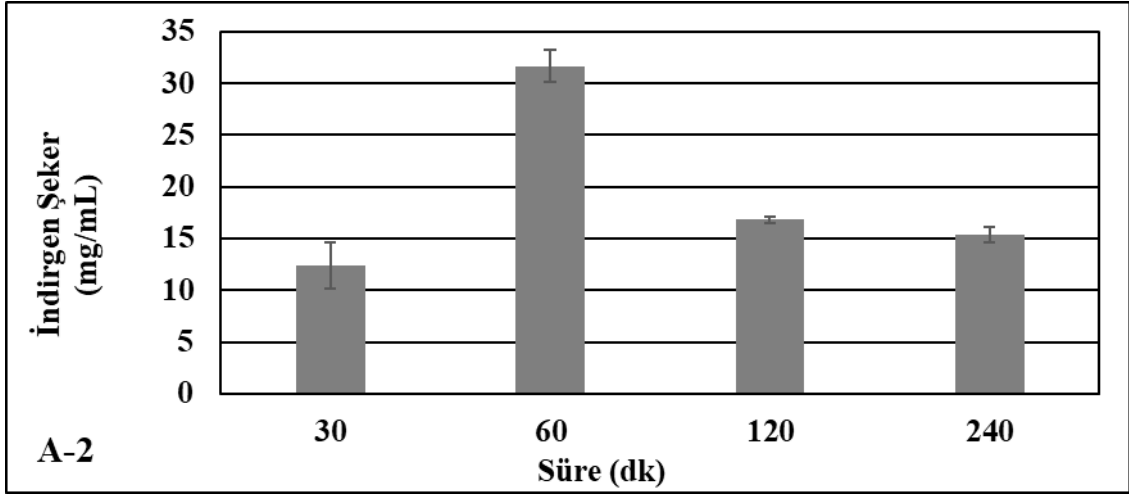
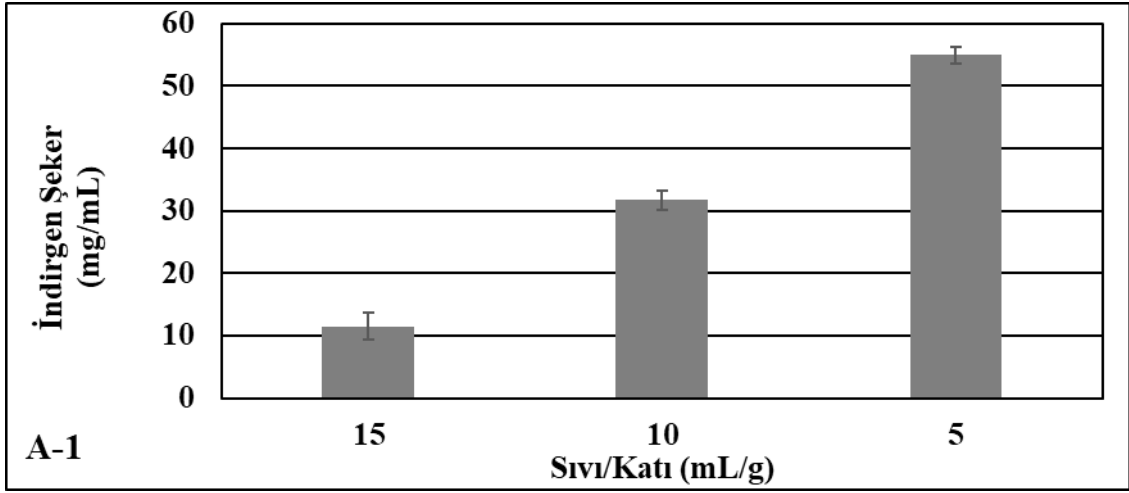
En yüksek indirgen şeker değerine mandalina kabuğu ekstraktlarında (53.59 mg/mL) rastlanmış olup bunu nar kabuğu (40.69 mg/mL) ve muz kabuğu ekstraktları (31.68 mg/mL) takip etmiştir. Kabukta bulunan toplam şeker değerleri de ekstraktların indirgen şeker içeriklerine paralel olarak sırasıyla mandalina (%24.65), nar (%23.86) ve muz (%15.91) kabuklarında bulunmuştur. Kabuklara uygulanan enzimatik ekstraksiyon sonucu hücre duvarı polisakkarit bozulması ile matristen daha fazla monosakkarit salınması gerçekleşmiştir (Kitrytė ve ark., 2017). Bitki hücre duvarı polisakkaritleri selüloz, hemiselüloz ve önemli miktarda pektin içermektedir. Viskozye enziminin kompleks enzim aktivitesi sayesinde ekstraksiyon sonunda yüksek şeker içeriği elde edilmiştir (Ivanković ve ark., 2023). Bu yüzden değerler Çizelge 4.1'de verilen meyve kabuklarının toplam şeker değerleri ile uyumlu bulunmuştur.



Şekil 4. 10. Nar kabuğu ekstraktlarının indirgen şeker verimi (A-1; sıvı/katı oranı, A-2; süre (dk), A-3; enzim (U/mL))



Şekil 4. 11. Mandalina kabuğu ekstraktlarının indirgen şeker verimi (A-1; sıvı/katı oranı, A-2; süre (dk), A-3; enzim (U/mL))



Şekil 4. 12. Muz kabuğu ekstraktlarının indirgen şeker verimi (A-1; sıvı/katı oranı, A-2; süre (dk), A-3; enzim (U/mL))

4.4. Geleneksel Ekstraksiyon

Enzim destekli fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ile elde edilen sonuçlar, geleneksel yöntemle elde edilen fenolik ve flavonoid bileşik miktarlarıyla da kıyaslanmıştır. Bu amaçla muz, nar ve mandalina kabuklarının fenolik bileşikleri %25 etil alkol çözeltisi ile 60°C’de, 120 dakika boyunca ekstrakte edilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.2’de sunulmuştur. Bu yöntem ile en yüksek toplam fenolik bileşik değeri nar kabuğu ekstraktlarında 128.41 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Bu değeri mandalina kabuğu ekstraktı (9.90 mg GAE/g) ve muz kabuğu ekstraktı (6.23 mg GAE/g) izlemiştir. Toplam flavonoid bileşik içeriği ise sırasıyla en yüksek nar kabuğu (83.11 mg KE/g) ekstraktlarında belirlenmiştir. Bunu mandalina kabuğu ekstraktı (7.89 mg KE/g) ve muz kabuğu ekstraktı (4.77 mg KE/g) izlemiştir. İndirgen şeker değeri miktarı ise sırasıyla en yüksek nar kabukları ekstraktı (342.45 mg/g), mandalina kabukları ekstraktı (189.27 mg/g) ve muz kabukları ekstraktında (155.54 mg/g) tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 2. Ekstraktların toplam fenolik bileşik, flavonoid madde ve indirgen şeker değerleri (Geleneksel ekstraksiyon yöntemi)

Kabuk	Toplam Fenolik (mg GAE/g)	Toplam Flavonoid (mg KE/g)	İndirgen Şeker (mg/g)
Muz	6.23±0.32 ^c	4.77±0.22 ^c	155.54±4.71 ^c
Nar	128.41±0.89 ^a	83.11±0.79 ^a	342.45±5.78 ^a
Mandalina	9.90±0.17 ^b	7.86±1.29 ^b	189.27±4.43 ^b

* Her bir ifade, üç paralelli ölçümün ortalamasını yansıtmaktadır. Sütundaki farklı harflerle (a, b, c) gösterilen ortalamalar, Duncan testine göre istatistiksel açıdan birbirlerinden farklı olduğunun göstergesidir (p<0.05).

Yapılan literatür çalışmasında farklı meyve kabuklarından geleneksel yöntem ile biyoaktif bileşik ekstraksiyon işlemi yapılmış olup mandalina ve nar kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoid bileşik değerleri sırasıyla 11.62 mg KE/g, 77.47 mg KE/g olarak rapor edilmiştir (Güzel, 2017). Güzel ve Akpınar (2017)’ın yaptığı çalışmada, mandalina kabuklarından geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile toplam fenolik bileşik ve toplam flavonoid bileşik ekstrakte edilmiş ve bu değerler sırasıyla 113.01 mg GAE/g ve 11.62 mg KE/g olarak rapor edilmiştir. Bu değerlerin çalışmamızda bulunan değerler ile uyumlu olduğu görülmektedir. Diğer bir çalışmada farklı meyve kabuklarının geleneksel

ekstraksiyon yöntemi ile fenolik ve flavonoid bileşik ekstraksiyon değerleri incelenmiştir. Toplam flavonoid değerleri nar ve muz kabukları için sırasıyla 0.97 mg KE/g ve 1.32 mg KE/g olup (Suleria ve ark., 2020), bu değerlerin çalışmamızda bulunan değerlere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada nar kabuklarından geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik ve toplam flavonoid bileşik değerleri sırasıyla 283.28 mg GAE/g ve 3.17 mg KE/g olarak tespit edilmiştir (Demir ve ark., 2019). Bu değerlerin çalışmamızda bulunan toplam fenolik bileşik değerinden (184.18 mg GAE/g) yüksek olup toplam flavonoid bileşik (91.12 mg KE/g) değerinden düşük olduğu görülmüştür.

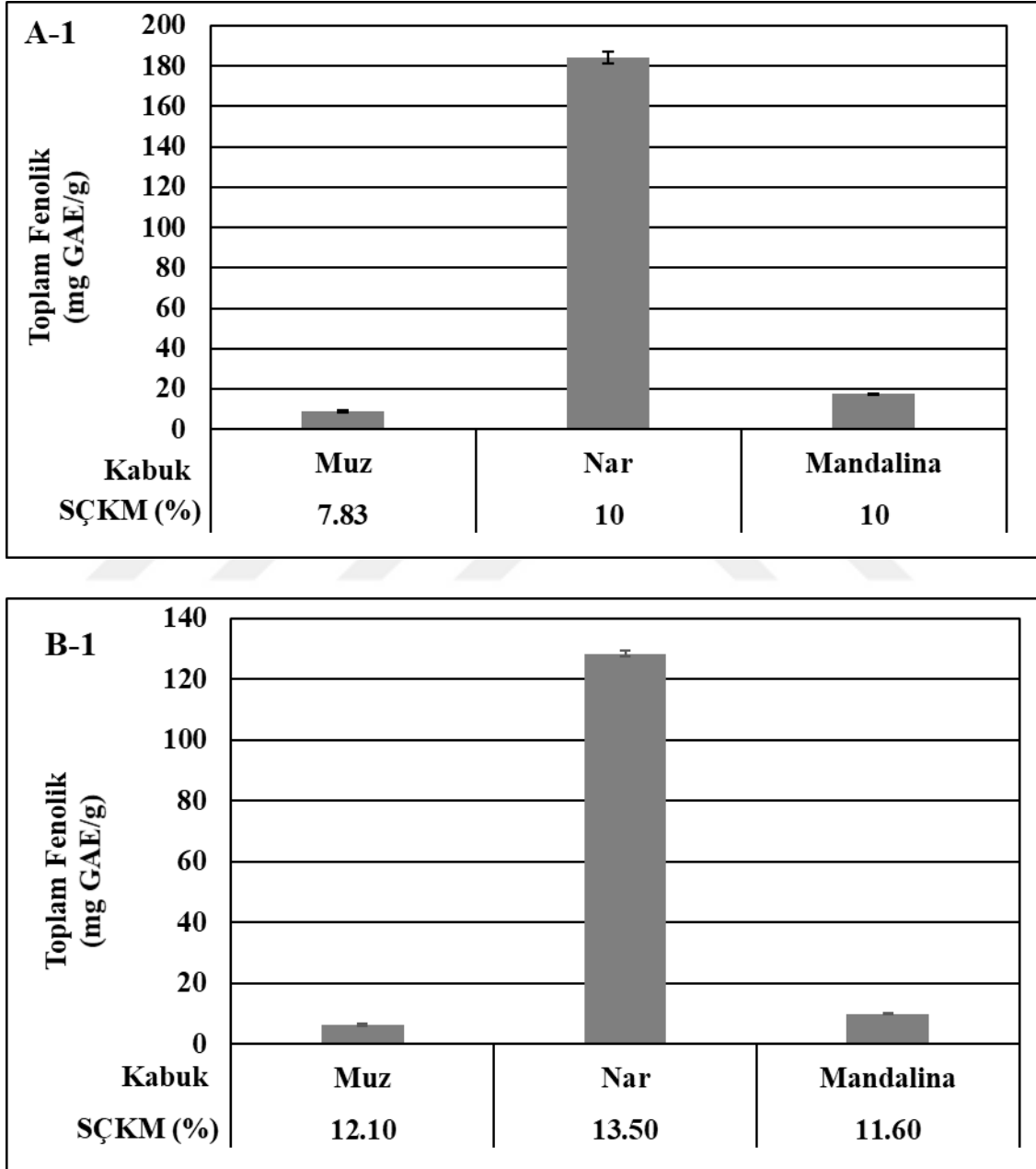
4.5. Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Optimum koşulları belirlenmiş enzim destekli ekstraksiyon yöntem ile elde edilen ekstraktların ve geleneksel ekstraksiyon yöntem ile elde edilen muz, nar ve mandalina kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, flavonoid madde ve indirgen şeker değerleri sırasıyla Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'te gösterilmiştir. Muz, nar ve mandalina kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon yöntem ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik verimleri sırasıyla 9.00 mg GAE/g, 184.18 mg GAE/g ve 17.40 mg GAE/g şeklinde belirlenmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntem ile elde edilen muz, nar ve mandalina kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik verimleri ise sırasıyla 6.23 mg GAE/g, 128.41 mg GAE/g ve 9.90 mg GAE/g şeklinde belirlenmiştir (Şekil 4.13). Enzim destekli ekstraksiyon yöntem ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde verimleri sırasıyla 5.06 mg KE/g, 91.12 mg KE/g ve 10.38 mg KE/g olarak belirlenmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntem ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde verimleri ise sırasıyla 4.77 mg KE/g, 83.11 mg KE/g ve 7.86 mg KE/g olarak belirlenmiştir (Şekil 4.14). Sonuçlara göre toplam fenolik ve flavonoid madde ekstraksiyonunda enzimatik ekstraksiyon yönteminin geleneksel ekstraksiyon yöntemine göre daha yüksek verim sağladığı görülmektedir. Her iki ekstraksiyon yöntemine göre meyve kabuklarından en yüksek fenolik ve flavonoid madde verimi nar kabuğu ekstraktlarında belirlenmiş olup bu sıralamayı mandalina ve muz kabukları takip etmiştir.

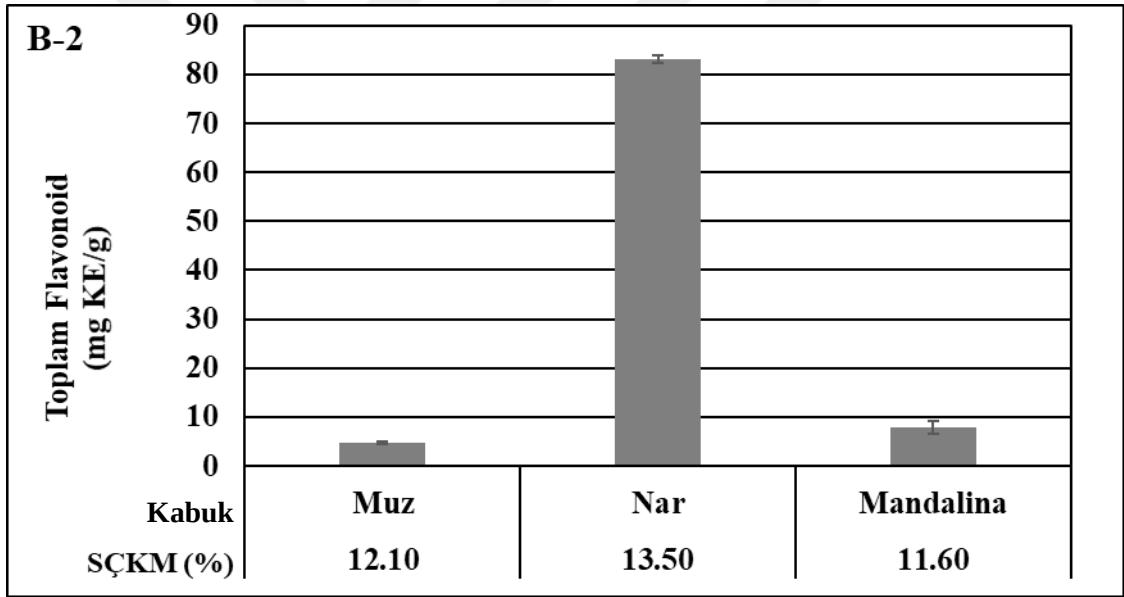
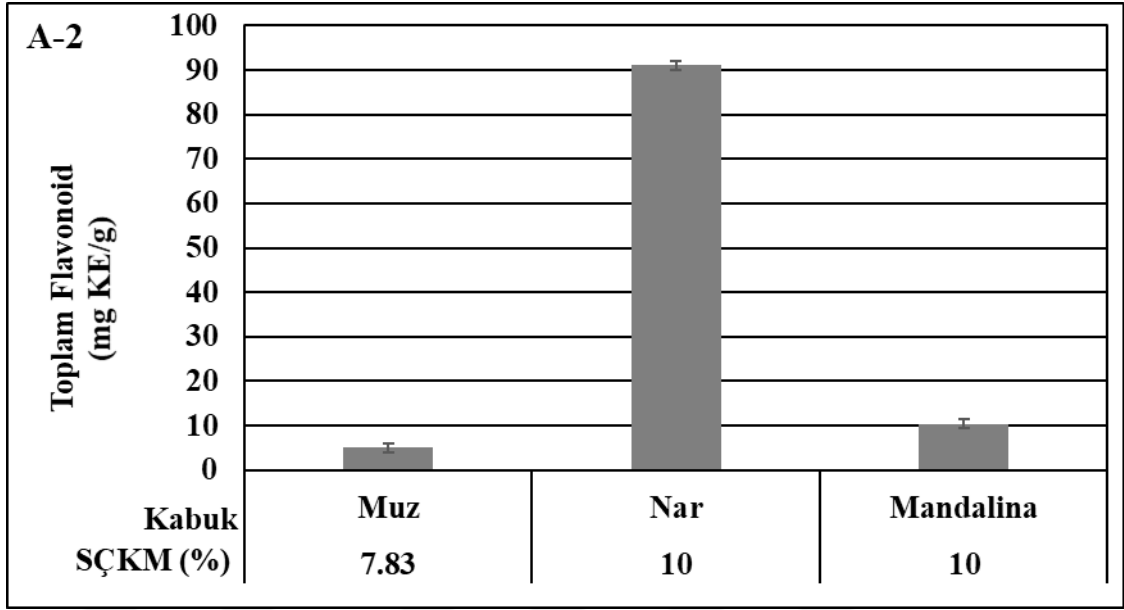
Muz, nar ve mandalina kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon yöntem ile elde edilen ekstraktlarının indirgen şeker verimleri sırasıyla 254.05 mg/g; 400.29 mg/g ve 538.13 mg/g olarak belirlenmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntem ile elde edilen muz, nar ve mandalina kabuklarının indirgen şeker verimleri ise sırasıyla 155.54 mg/g, 342.45 mg/g ve 189.27 mg/g olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.15). Enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilen indirgen şeker verimleri geleneksel ekstraksiyon yöntemine göre daha yüksek bulunmuştur. Enzimatik ekstraksiyon ile enzim varlığında hücre duvarı polisakkaritlerinden indirgen şeker salınımı gerçekleştiğinden (Kitryté ve ark., 2017), çalışmada bulunan tüm kabuk ekstraktlarında yüksek indirgen şeker verimleri bulunmuştur.

Nar kabukları ile yapılan bir çalışmada enzim destekli süperkritik sıvı ekstraksiyon ve enzimatik çözücü ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik değerleri incelenmiş ve bu değerler enzim kullanılmayan kontrol verileriyle kıyaslanmıştır. Enzim destekli süperkritik sıvı ekstraksiyon ve çözücü ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların, enzim kullanılmayan kontrol verilerine göre daha yüksek toplam fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu rapor edilmiştir (Musthaq ve ark., 2015). Başka bir çalışmada nar kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların fenolik bileşik verimi sırasıyla 329.5 mg GAE/g ve 84.6 mg GAE/g olarak bulunmuş ve enzim destekli ekstraksiyonda verimin daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (Kahveci, 2022). Başka bir çalışmada organik çözücü ekstraksiyonu, basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri ile farklı meyve atıklarından fenolik bileşik ekstrakte işlemi değerlendirilmiştir. Muz kabukları için toplam fenolik madde değerleri yöntemlere göre sırasıyla 10.17– 53.80 mg GAE/g, 24.58– 53.46 mg GAE/g ve 6.83 – 60.44 mg GAE/g olarak rapor edilmiş ve fenolik bileşik ekstraksiyonu için enzim destekli ekstraksiyon ve basınçlı sıcak su ekstraksiyon yöntemlerinin, organik çözücü ekstraksiyon yöntemine göre daha yüksek verim sağladığı belirtilmiştir (Islam ve ark., 2021). Swer ve ark., (2018)'nın yaptığı çalışmada Sohiong meyvesinden geleneksel çözücü ekstraksiyonu ve enzimatik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik değerleri sırasıyla 8.27 mg GAE/g ve 8.32 mg GAE/g olarak rapor edilmiş ve enzimatik ekstraksiyon yöntemi fenolik bileşik ekstraksiyonunun geleneksel çözücü

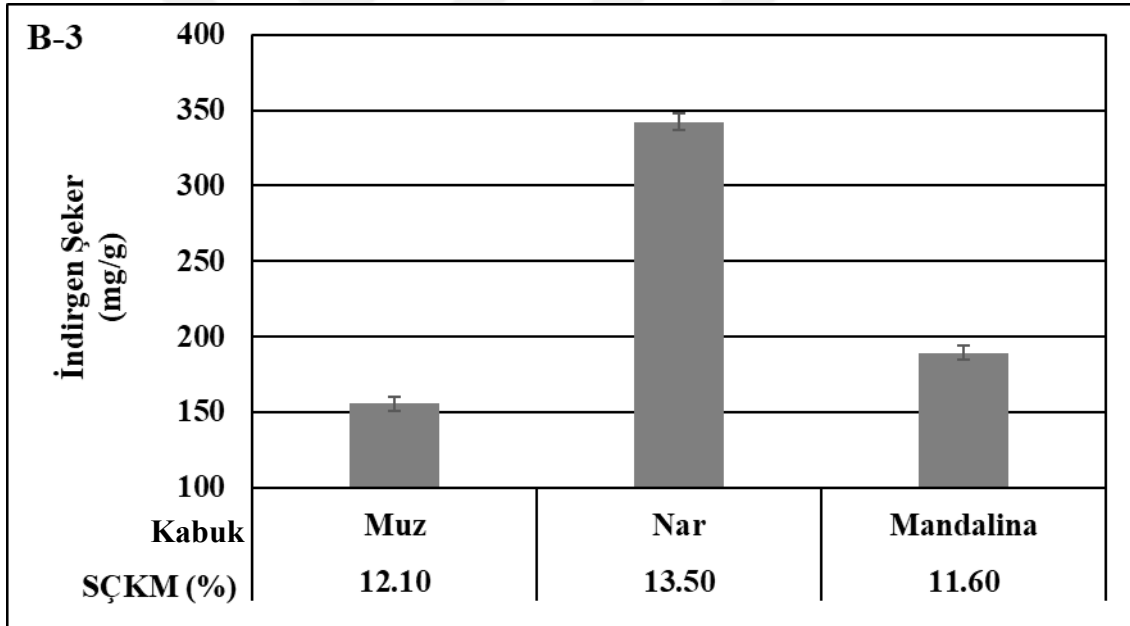
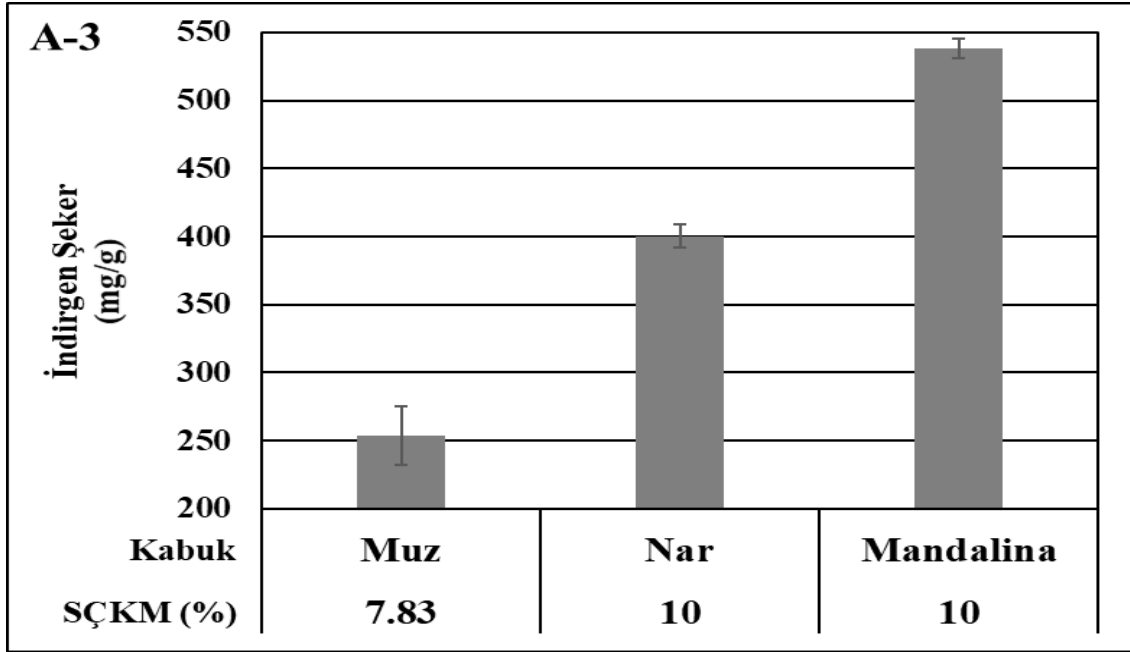
yöntemine göre daha verimli olduğu belirtilmiştir. Sonuçlar bu çalışmada da tespit edildiği gibi fenolik ve flavonoid madde ekstraksiyonunda enzimatik ekstraksiyon yönteminin diğer yöntemlere kıyasla daha avantajlı olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. 13. Toplam fenolik bileşik verimi (A-1; Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi, B-1; Geleneksel ekstraksiyon yöntemi)



Şekil 4. 14. Toplam flavonoid verimi (A-2; Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi, B-2; Geleneksel ekstraksiyon yöntemi)



Şekil 4. 15. İndirgen şeker verimi (A-3; Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi, B-3; geleneksel ekstraksiyon yöntemi)

Literatürde enzim destekli hibrit ekstraksiyon yöntemlerini de çalışan araştırmalara rastlanmıştır. Patil ve ark., (2024)'nın yaptığı çalışmada nar kabuklarından ultrason destekli ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ultrason ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve yöntem kıyaslamaları yapılmıştır. En yüksek toplam fenolik bileşik içeriği, enzim destekli

ultrason ekstraksiyon yöntemi (30.60 mg GAE/mL) ile ekstrakte edildiği rapor edilmiştir. Bir başka çalışmada limon kabuğundan enzimatik ekstraksiyon ve enzim-ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile fenolik bileşik ve flavonoid bileşik ekstrakte edilmiş, enzim ve ultrasonun beraber kullanımı fenolik bileşik ekstraksiyonunu artırdığı belirtilmiştir (Durmuş ve Kilic-Akyılmaz, 2023).

4.6. Ekstraktların Antioksidan Kapasitesi, Toplam Monomerik Antosiyanin Miktarı ve Alfa Amilaz İnhibitör Aktivitesi

Antioksidan aktiviteye sahip bileşikler yapıları ve kimyasal özellikleri bakımından birbirinden farklı olduğundan tek bir analiz yöntemiyle doğru sonuca ulaşmak güçtür. Bu yüzden antioksidan kapasite değerlendirilmesi yapılırken birden fazla yöntem kullanılması daha doğru bir yaklaşımdır. DPPH yöntemi; antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin DPPH serbest radikalleri ile reaksiyona girmesi esasına dayanmaktadır. Reaksiyon sonucu koyu menekşe rengine sahip 2-2-difenil-1-radikali, renksiz 2-2-difenil-1-pikrihidrazine dönüşmektedir. Kaybolan renk ölçümü antioksidan aktivite değerini vermektedir (Cai ve ark., 2004). Ferrik indirgeyici antioksidan güç (FRAP) testine göre; antioksidan kapasite bir bileşiğin ferrik iyonlarını (III) ferröz(II) iyonlarına indirgeme gücünü belirtmektedir (Song ve ark., 2010). Trolox eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAC) testi; antioksidan kapasiteyi belirlemek için en sık tercih edilen yöntemlerden biridir. Bu yöntem; bir bileşiğin ABTS^{•+} radikallerini temizleme yeteneğini ölçmektedir. Antioksidan özelliğe sahip bileşikler mavi-yeşil renge sahip ABTS^{•+} radikallerinin renginin kaybolmasına neden olmaktadır. Hem lipofilik hem de hidrofilik antioksidanlara uygulanabildiği için TEAC yöntemi tercih edilmektedir (Re ve ark., 1999).

Yukarda belirlenen optimum koşullar altında nar, muz ve mandalina kabuklarından fenolik madde ekstraksiyonu yapılmış ve ekstraktların antioksidan kapasiteleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarla karşılaştırılmıştır. Enzimatik ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri (DPPH, FRAP ve TEAC) sırasıyla Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te gösterilmektedir.

İncelenen meyve kabuklarının enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlardan 3 farklı yöntem (DPPH, FRAP ve TEAC) ile antioksidan kapasitelerine bakılmış olup en fazla antioksidan kapasiteye nar kabukları ekstraktlarının sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3). Nar kabuğu ekstraktlarının DPPH, FRAP ve TEAC yöntemine göre antioksidan kapasitesi sırasıyla 79.43 $\mu\text{mol TE/L}$, 133.27 $\mu\text{mol TE/L}$ ve 4965.44 $\mu\text{mol TE/L}$ olarak bulunmuştur. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile de en yüksek antioksidan kapasiteye nar kabukları ekstraktlarının sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.4). Nar kabuğu ekstraktlarının DPPH, FRAP ve TEAC yöntemine göre antioksidan kapasitesi sırasıyla 24.84 $\mu\text{mol TE/L}$, 112.17 $\mu\text{mol TE/L}$ ve 4509.48 $\mu\text{mol TE/L}$ olarak tespit edilmiş olup, enzimatik ekstraksiyonla elde edilen antioksidan sonuçlarından daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

İncelenen meyve kabukları ekstraktlarının enzim destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri (DPPH, FRAP ve TEAC) kıyaslamalı bir şekilde Şekil 4.16'da sunulmuştur. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların DPPH yöntemine göre en yüksek antioksidan aktiviteye nar kabuklarının sahip olduğu görülmüştür. Bunu sırasıyla muz ve mandalina kabukları takip etmiştir ve sonuçlar geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerine kıyasla daha yüksektir. Benzer şekilde FRAP yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivite sırasıyla nar, muz ve mandalina kabuklarında olduğu tespit edilmiş olup, sonuçlar geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlardan daha yüksektir. Enzim destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların TEAC yöntemine göre en yüksek antioksidan aktivitesi sırasıyla nar, mandalina ve muz kabuklarında tespit edilmiş olup, geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerine kıyasla daha yüksek bulunmuştur.

Meyve kabuğu ekstraktlarının antosiyanin içerikleri ve α -amilaz inhibitör aktivite değerleri enzim destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre sırasıyla Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4'te sunulmuştur. Ayrıca α -amilaz inhibitör aktivitesi Şekil 4.17'de de kıyaslanmıştır. Enzim destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlardan yalnızca nar kabuğu ekstraktlarında sırasıyla 26.05 mg $\text{S}_3\text{G/L}$ ve 46.17 mg $\text{S}_3\text{G/L}$ antosiyanin tespit edilmiştir.

Çizelge 4. 3. Enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri

Ekstrakt	DPPH ($\mu\text{mol TE/L}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE/L}$)	TEAC ($\mu\text{mol TE/L}$)	Antosiyanin ($\text{mg S}_3\text{G/L}$)	α -amilaz inhibisyonu (%)
Nar	79.43 $\pm$ 1.75 ^a	133.27 $\pm$ 11.50 ^a	4965.44 $\pm$ 51.42 ^a	26.05 $\pm$ 3.00	22.17 $\pm$ 2.21
Muz	2.28 $\pm$ 0.04 ^b	5.68 $\pm$ 0.15 ^b	149.68 $\pm$ 4.41 ^b	-	-
Mandalina	1.19 $\pm$ 0.04 ^b	5.64 $\pm$ 0.51 ^b	178.16 $\pm$ 1.42 ^b	-	-

* Her bir ifade, üç paralelli ölçümün ortalamasını yansıtmaktadır. Sütundaki farklı harflerle (a, b, c) gösterilen ortalamalar, Duncan testine göre istatistiksel açıdan farklı olduğunun göstergesidir ($p<0.05$).

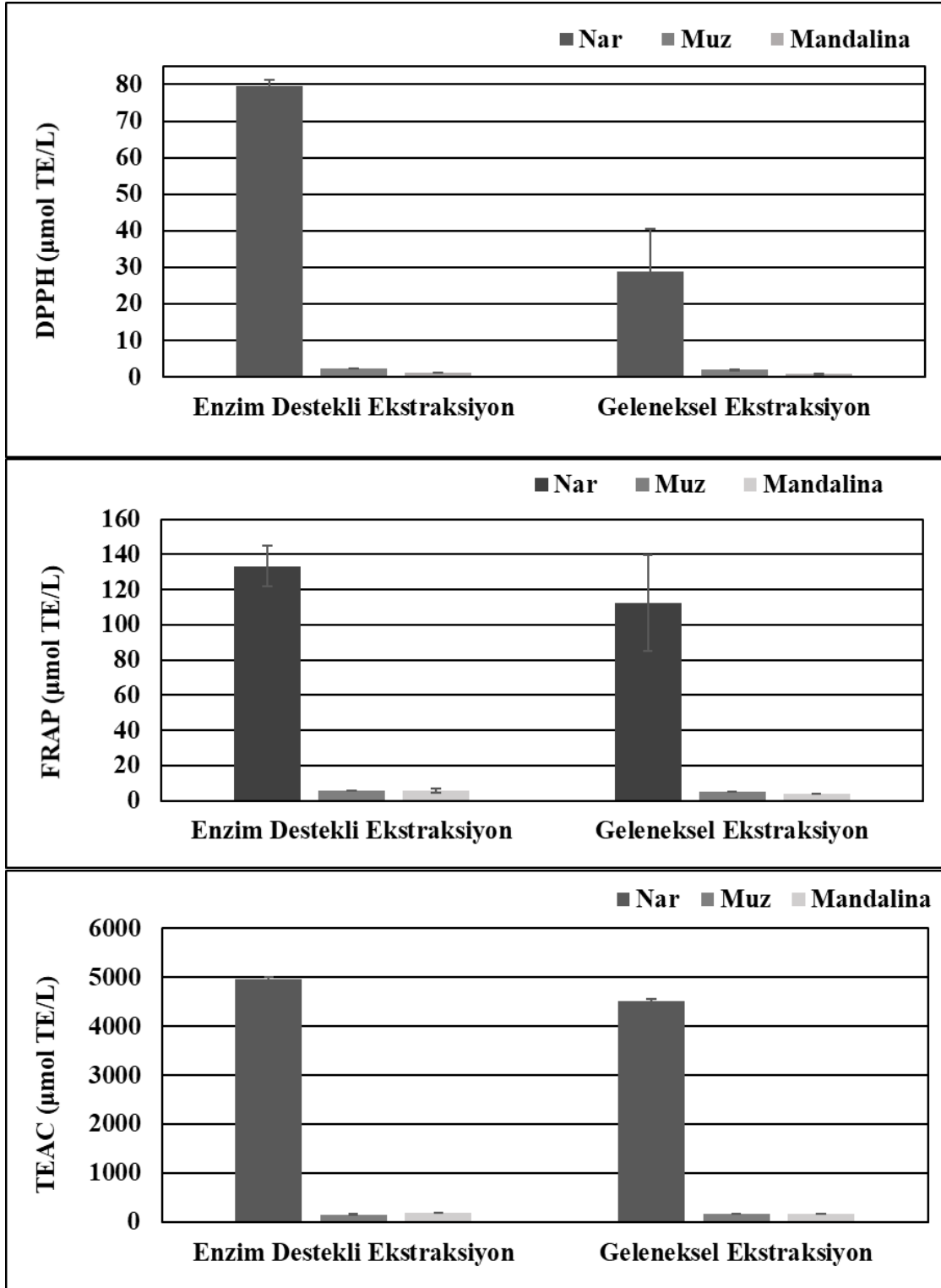
Çizelge 4. 4. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri

Ekstrakt	DPPH ($\mu\text{mol TE/L}$)	FRAP ($\mu\text{mol TE/L}$)	TEAC ($\mu\text{mol TE/L}$)	Antosiyanin ($\text{mg S}_3\text{G/L}$)	α -amilaz inhibisyonu (%)
Nar	24.84 $\pm$ 11.73 ^a	112.17 $\pm$ 27.20 ^a	4509.48 $\pm$ 45.72 ^a	46.17 $\pm$ 2.21	21.24 $\pm$ 0.15
Muz	1.92 $\pm$ 0.17 ^b	4.98 $\pm$ 0.02 ^b	169.88 $\pm$ 4.32 ^b	-	-
Mandalina	0.75 $\pm$ 0.02 ^b	4.08 $\pm$ 0.13 ^b	158.22 $\pm$ 0.12 ^b	-	-

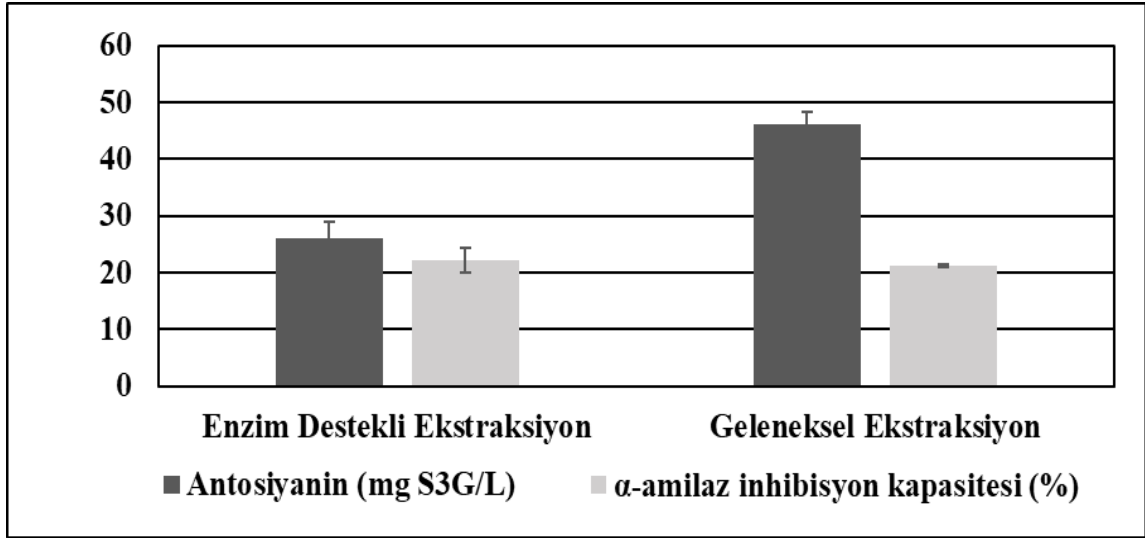
* Her bir ifade, üç paralelli ölçümün ortalamasını yansıtmaktadır. Sütundaki farklı harflerle (a, b, c) gösterilen ortalamalar, Duncan testine göre istatistiksel açıdan farklı olduğunun göstergesidir ($p<0.05$).

Çeşitli bitkilerin α -amilaz enzimi üzerinde inhibe edici etki gösterdiği ve bu özellikleri sayesinde diyabet tedavisinde kullanıldıkları bilinmektedir. Diyabet tedavisinde kullanılan ilaç grupları kandaki glikoz konsantrasyonunu kontrol etmeye odaklanmıştır, α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerini inhibe ederek karbonhidratların hidrolizini kontrol altına tutulmasını sağlamaktadır. Yapılan araştırmalarda fitokimyasal bileşiklerden flavonoller ve flavon gruplarının da bu enzimlere karşı yüksek inhibitör kapasiteye sahip olduğu ve böylece karbonhidrat emilimini geciktirerek antidiyabetik ajan görevi yapabileceği belirtilmiştir (Chaudhry ve ark., 2022; Demir ve ark., 2019). Bu çalışmada enzimatik ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen meyve kabukları ekstraktlarının amilaz inhibe etme kapasiteleri değerlendirilmiş, yalnızca nar kabuklarında α -amilaz inhibitör aktivite tespit edilmiştir. Nar kabuğu ekstraktlarının α -amilaz enziminin aktivitesini %22.17 (enzim destekli) ve %21.24 (geleneksel) olarak

inhibe ettiği tespit edilmiş ve sonuçlar her iki ekstraksiyon yönteminden elde edilen değerlerin birbirine oldukça yakın olduğunu göstermektedir.



şekil 4. 16. Kabukların enzim destekli ve geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri



Şekil 4. 17. Nar kabuğunun enzim destekli ve geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre antosiyenin değeri (mg S₃G/L) ve α-amilaz inhibisyon kapasitesi (%)

Antioksidan aktivite seçilen ölçüm yöntemine, ekstraksiyon çeşidine ve koşullarına (sıcaklık, süre, ekstraksiyon çözücüsü, enzim konsantrasyonu ve çeşidi vb.) göre farklılık göstermektedir (Islam ve ark., 2023). Islam ve ark., (2023)'nın yaptığı çalışmada enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile muz kabuğu ekstraktlarının DPPH ve ABTS metotları ile antioksidan aktivitelere bakılmıştır. DPPH ve ABTS metoduna göre antioksidan aktivite sırasıyla %81.59 ve %88.25 olarak rapor edilmiştir. Bu çalışmada değerler troloks eşdeğeri olarak ifade edilmediğinden çalışmamızda bulunan değerlerle kıyaslanamamıştır. Muz kabukları ile yapılan çalışmada enzimatik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların ABTS, DPPH ve FRAP yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri sırasıyla 82.57 µmol TE/g, 22.26 µmol TE/g ve 47.09 µmol TE/g olarak rapor edilmiştir (Santos ve ark., 2022). Sonuçların çalışmamızda bulunan değerlerden yüksek olduğu görülmektedir. Li ve ark., (2006)'nın yaptığı çalışmada mandalina kabuklarından farklı enzimatik koşullar denenerek elde edilen ekstraktların en yüksek antioksidan aktivitesi (FRAP) 1.27 mmol/100g olarak tespit edilmiştir. Sonuçların çalışmamızda bulunan değerlerden yüksek olduğu görülmektedir. Bir başka çalışmada enzim destekli süperkritik sıvı ekstraksiyon ve enzim destekli çözücü ekstraksiyon yöntemleri ile uygulanarak nar kabuğu ekstraktlarının TEAC ve DPPH metotları ile antioksidan kapasiteleri incelenmiştir. Sonuçlar enzim kullanılmayan ekstraktlarla (süperkritik sıvı ekstraksiyon ve çözücü ekstraksiyon) kıyaslandığında, enzim destekli süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve enzim destekli çözücü ekstraksiyon yöntemlerinin antioksidan kapasitelerinin daha

yüksek olduğu bildirilmiştir (Mustaql ve ark., 2015). Nar kabuklarından enzim destekli ultrason ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların DPPH yöntemine göre antioksidan aktivite değeri %74.21 olarak rapor edilmiştir (Nag ve Sit, 2018). Yapılan bir çalışmada klasik ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri ile narenciye kabuklarından elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri incelenmiş ve en yüksek antioksidan aktivite enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda tespit edilmiştir (Nishad ve ark., 2019). Nar kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon ve enzim destekli mikrodalga ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlarda enzim ilavesi ile antioksidan aktivitenin arttığı belirtilmiştir (Kumar ve ark., 2020).

Literatür çalışmasında geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilen nar kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri DPPH, TEAC ve FRAP metodlarına göre sırasıyla 4.48 µmol TE/g ekstrakt, 5.31 µmol TE/g ekstrakt ve 13.36 µmol TE/g ekstrakt olarak rapor edilmiştir (Demir ve ark., 2019). Nar kabukları ile yapılan bir çalışmada klasik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH, FRAP ve TEAC metodlarına göre sırası ile 1306.27 µmol TE/g, 1019.40 µmol TE/g ve 2020.15 µmol TE/g olarak tespit edilmiş ve en yüksek antioksidan aktiviteye çalışmamızla uyumlu olarak TEAC metodu ile ulaşıldığı rapor edilmiştir (Güzel ve Akpınar, 2017). Diğer bir çalışmada muz kabuklarından sırasıyla sonikasyon ve maserasyon yöntemi ile (%25 etil alkol konsantrasyonu) DPPH metodu kullanılarak antioksidan aktivite değerleri %75.4 ve %72.11 olarak bulunmuştur (Chaudhry ve ark., 2022). Mandalina kabukları ile ilgili yapılan çalışmada geleneksel ekstraksiyon yöntemi (%25 etanol konsantrasyonu) ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri FRAP, DPPH ve TEAC metodlarına göre sırası ile 45.45 µmol TE/g, 19.46 µmol TE/g ve 70.81 µmol TE/g olarak rapor edilmiştir (Güzel ve Akpınar, 2017). Bu sonuçların çalışmamızdaki geleneksel ekstraksiyon yöntem ile elde edilen mandalina kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktivitelerine (FRAP, DPPH ve TEAC) (4.08 µmol TE/L, 0.75 µmol TE/L ve 158.22 µmol TE/L) göre düşük olduğu tespit edilmiştir.

Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak siyah frenk üzümü posasından elde edilen ekstraktların DPPH yöntemine göre antioksidan aktivitesinin 117-1139 mmol

askorbik asit/100g kuru ağırlık (mmol AAE/100g DM) aralığında değiştiği rapor edilmiştir (Granato ve ark., 2022). *P. Nepalensis* L. meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların DPPH yöntemine göre antioksidan aktiviteleri sırasıyla %84.8 ve %91.20; FRAP yöntemine göre ise sırasıyla 28.79 mmol askorbik asit/100g kuru ağırlık (mmol AAE/100g DM) ve 31.6 mmol askorbik asit/100g kuru ağırlık (mmol AAE/100g DM) olarak rapor edilmiş ve enzim kullanımının hücre duvarlarında yarattığı hasar sonucu gerikazanımın klasik ekstraksiyon yöntemine göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Swier ve ark., 2018). Bir başka çalışmada patlıcan kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri sırasıyla DPPH (%77.40; %41.10) ve FRAP (30.33 mmol AAE/100 g; 31.65 mmol AAE/100 g) olarak belirlenmiştir (Amulya ve Ul Islam, 2023). Greyfurt kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların FRAP, TEAC ve DPPH yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Enzim destekli ekstraksiyonda sırasıyla 98.61 μ mol TE/g, 215.73 μ mol TE/g ve 79.34 μ mol TE/g; ultrason destekli ekstraksiyonda ise sırasıyla 54.83 μ mol TE/g, 94.93 μ mol TE/g ve 46.63 μ mol TE/g antioksidan aktivite tespit edilmiş olup, enzim destekli ekstraksiyon yönteminin daha yüksek sonuç verdiği belirtilmiştir (Nishad ve ark., 2019). Zeytin çekirdeği ve yapraklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon ve enzim-mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiştir. Zeytin çekirdeği ekstraktlarının antioksidan aktivitesi sırasıyla 10.40 mg TE/g ve 15.93 mg TE/g; zeytin yaprağı ekstraktlarının ise sırasıyla 23.40 mg TE/g ve 26.20 mg TE/g olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar enzim-mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile daha yüksek antioksidan aktivite değerine ulaşıldığını göstermiştir (Chanioti ve ark., 2016). Kumar ve ark., (2022)'nin yaptığı çalışmada siyah havuçtan enzimatik destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların en yüksek antioksidan aktivitesi değerinin FRAP yöntemi ile 25.61 μ mol TE/mL olduğu rapor edilmiştir. Diğer bir çalışmada limon kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon ve enzim-ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların TEAC yöntemine göre antioksidan aktiviteleri sırasıyla 12.11 mg TE/g ve 5.41 mg TE/g olarak rapor edilmiş olup enzim destekli ekstraksiyon yönteminin enzim-ultrason destekli ekstraksiyon yöntemine kıyasla daha yüksek sonuçlara ulaşabileceği belirtilmiştir

(Durmus ve Kilic-Akyilmaz, 2023). Mango kabuklarından ultrason destekli ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların FRAP, TEAC ve DPPH yöntemlerine göre antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Ultrason destekli ekstraktların sırasıyla antioksidan aktiviteleri 44.82 $\mu\text{mol TE/g}$, 98.21 $\mu\text{mol TE}$ ve 40.13 $\mu\text{mol TE/g}$; enzim destekli ekstraktların ise sırasıyla 80.13 $\mu\text{mol TE/g}$, 202.17 $\mu\text{mol TE/g}$ ve 70.79 $\mu\text{mol TE/g}$ olarak tespit edilmiştir. Enzim destekli ekstraksiyon yönteminin ultrason destekli ekstraksiyon yöntemine göre daha etkili olduğu belirtilmiştir (Nishad ve ark., 2019). Yaban mersini posasından enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri 21.2 mg TE/g olarak tespit edilmiş olup bu değerin geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerine (15.8 mg TE/g) göre yüksek olduğu belirtilmiştir (Syrpas ve ark., 2021).

Literatür çalışmalarında meyve kabuklarından enzim destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinden fazla olduğu rapor edilmiştir. Dolayısıyla enzimin bitki materyalindeki biyoaktif bileşik ekstraksiyonuna katkı sağladığı çalışmalarla desteklenmektedir (Mustaqh ve ark., 2015; Amulya ve Ul İslam, 2023; Kumar ve ark., 2020) ve bu çalışmada bulunan değerler literatürdeki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Yapılan literatür taramasında nar kabuklarından geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarı 1499.38 $\mu\text{g/g}$ olarak rapor edilmiştir (Güzel, 2017). Başka bir çalışmada 10 farklı nar çeşidinin geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarları 3.95- 29.53 mg/g arasında olduğu rapor edilmiştir (Khanavi ve ark., 2013). Zahid ve ark., (2023) yaptığı çalışmada nar kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarları sırasıyla 4.00 mg $\text{S}_3\text{G/g}$ ve 0.35 mg $\text{S}_3\text{G/g}$ olarak rapor edilmiştir. Jaiswal ve ark., (2010) yaptığı çalışmada farklı nar çeşidi kabuklarından enzim (polifenol oksidaz) destekli ekstraksiyon yöntemi kullanarak elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarının 35-350 mg $\text{S}_3\text{G/kg}$ aralığında olduğu rapor edilmiştir. Sonuçlar bu çalışmada bulunan değerler ile uyumlu olarak enzim destekli ekstraksiyon ile enzimin hücre duvarını parçalaması

sonucu antosiyaninlerin geri kazanıldığını göstermektedir. Yaban mersini posasından enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antosiyanin değeri 1.79 mg S₃G/g olarak tespit edilmiş ve geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların antosiyanin değerine (1.6 mg S₃G/g) göre yüksek olduğu belirtilmiştir (Syrpas ve ark., 2021). Başka bir çalışmada siyah frenk üzümü posasından enzim destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktların antosiyanin değerleri incelenmiş ve antosiyanin içeriğinin 304- 430 mg/100 g arasında olduğu rapor edilmiştir (Granato ve ark., 2022). Diğer bir çalışmada Sohiong meyvelerinden klasik ekstraksiyon ve enzimatik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların antosiyanin değerleri sırasıyla 8.50 mg S₃G/g ve 9.89 mg S₃G/g olarak rapor edilmiştir (Swier ve ark., 2018). Başka bir çalışmada siyah havuçtan enzim destekli ekstraksiyon ve klasik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarları sırasıyla 1375.43 mg S₃G/L ve 323.40 mg S₃G/L olarak rapor edilmiştir (Kumar ve ark., 2022). Bu sonuçların çalışmamızda enzim destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen nar kabuğu ekstraktlarının antosiyanin miktarından (26.05 mg S₃G/L ve 46.17 mg S₃G/L) yüksek olduğu görülmektedir.

Yapılan literatür taramasında muz kabuklarından enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların α -glukozidaz inhibisyon değeri %75.17 olarak rapor edilmiştir (Islam ve ark., 2023). Başka bir çalışmada geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanılarak farklı ham maddeleri inceleyen çalışmada nar kabuğu ekstraktlarının α -amilaz (*A. oryzae*) ve α -amilaz (pankreatik) inhibisyon değerleri sırasıyla 8.72 mg ekstrakt/mL ve 10.11 mg ekstrakt/mL rapor edilmiştir, incelenen diğer ham maddelere göre daha yüksek bulunmuştur (Demir ve ark., 2019). Nar kabukları ile ilgili yapılan başka bir çalışmada α -glukozidaz inhibisyon değeri 5.56 μ g/mL olarak belirtilmiştir (Çam ve İçyer, 2015). Limon kabukları ile yapılan çalışmada enzim destekli ekstraksiyon ve enzim-ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların α -amilaz inhibitör aktivitesi sırasıyla %10 ve %15 olarak tespit edilmiştir (Durmus ve Akyılmaz, 2023). Bu çalışmada incelenen nar kabuklarında α -amilaz inhibitör aktivitesi bulunmuş olup literatürde incelenen bazı atıklara göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

4.7. Ekstraktların Kalitatif Analizleri

Enzim destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen diğer fitokimyasal bileşiklerinin kalitatif olarak belirlenmiş özellikleri Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6'da sunulmuştur. Polifenolik bileşiklerin heterojen grubunda yer alan ve tüm yüksek yapılı bitkilerde bulunan ve bitki savunma ajanı olarak görev yapan tanenler önemli antimikrobiyal, antikanserojen, antimutajen ve antioksidan aktiviteye sahiptir (Koche ve ark., 2016; Das ve ark., 2020). Meyve kabuklarından geleneksel ekstraksiyon yöntemi ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlardan en yüksek tanen içeriği nar kabuğu ekstraktlarında rastlanmıştır. Antibiyotik ve antifungal özelliklere sahip saponinler geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen meyve kabuğu ekstraktlarından sadece orta düzeyde nar kabuğunda rastlanırken, enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarında da çok düşük miktarda rastlanmıştır.

Antosiyaninler bitkide kırmızıdan mora kadar değişik tonlardaki rengin oluşmasını sağlayan suda çözünebilen doğal pigmentlerdir (Leopoldini ve ark., 2011). Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri sonucu elde edilen mandalina ve muz kabukları ekstraktlarında antosiyanine rastlanmazken nar kabuğu ekstraktlarında orta düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir. Meyve, sebze ve bitkilerde kırmızı renk oluşumunu sağlayan betasiyanin bileşiği varlığı geleneksel ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlar arasından iyi düzeyde nar kabuğu ekstraktlarında tespit edilmiş, mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarında da orta düzeyde bulunduğu belirlenmiştir. Kinon ise geleneksel ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen meyve kabuğu ekstraktları arasında çok yüksek düzeyde mandalina kabuğu ekstraktlarında, yüksek düzeyde nar kabuğu ekstraktlarında ve orta düzeyde muz kabuğu ekstraktlarında rastlanmıştır.

Bitki savunmasında görev alan diğer önemli fitokimyasallardan olan glikozit antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antidiyabetik özelliklere sahiptir (Chung ve ark., 1998; Panche ve ark., 2016). Meyve kabuklarından geleneksel ekstraksiyon yöntemi ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlardan sadece nar kabuğu ekstraktında glikozit bileşiği tespit edilmiştir. Kalp yetmezliği tedavilerinde kullanılan

kardiyak glikozit bileşiği ise en fazla nar kabuğu ekstraktlarında belirlenmiştir. Terpenoid bileşiği geleneksel ve enzim destekli ekstraksiyon ile elde edilen mandalina kabuğu ekstraktlarında rastlanmamışken en fazla nar kabuğu ekstraktlarında tespit edilmiştir.

Kumarinler, kanın pıhtılaşmasını önleyici (antikoagulan), antikanserojen, antifungal, antimikrobiyal özelliklere sahip bileşiklerdir (Evcimen ve Aslan, 2015; Patra, 2012). Geleneksel ekstraksiyon ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlar arasından nar kabuğunda kumarin bileşiğine rastlanmamış, en fazla mandalina kabuğu ekstraktlarında tespit edilmiştir. Organik asit bileşikleri geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarında tespit edilmemişken, enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen mandalina ve muz kabuğu ekstraktlarında iyi ve orta düzeyde tespit edilmiştir. Her iki yöntemle elde edilen nar kabuğu ekstraktlarında ise organik asite rastlanmıştır. Ayrıca ekstraksiyon yönteminde enzimin kullanılmasıyla organik asit ekstraksiyonunun arttığı anlaşılmıştır.

Çizelge 4. 5. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi optimum koşullardaki ekstraktların fitokimyasal özellikler

Fitokimyasal Testler	Mandalina	Muz	Nar
Tanen	++++	+++	+++++
Saponin	+	+	+++
Antosiyonin	-	-	++++
Betasiyonin	+++	+++	++++
Kinon	+++++	++	+++++
Glikozit	-	-	++
Kardiak Glikozit	++++	++	+++++
Terpenoid	-	+	+++++
Flavonoid	++	++++	+++++
Fenol	++++	+++	+++++
Kumarin	+++++	++++	-
Asit	++++	+++	++++

(+++++); çok yüksek, (++++); yüksek, (+++); iyi, (++); orta, (+); düşük, (-); tespit edilemedi

Çizelge 4. 6. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların fitokimyasal özellikleri

Fitokimyasal Testler	Mandalina	Muz	Nar
Tanen	++++	+++	++++++
Saponin	-	-	+++
Antosiyanin	-	-	++++
Betasiyinin	+++	+++	++++
Kinon	++++++	+++	++++++
Glikozit	-	-	++
Kardiak Glikozit	++++	+++	++++++
Terpenoid	-	+	++++
Flavonoid	++	++++	++++++
Fenol	++++	+++	++++++
Kumarin	++++++	++++	-
Asit	-	-	++++

(+++++); çok yüksek, (++++); yüksek, (+++); iyi, (++); orta, (+); düşük, (+); çok düşük, (-); tespit edilemedi

5.SONUÇ

Nüfus artışı ile küresel sorun haline gelen ve önemli ekonomik değeri olmayan meyve kabukları gibi gıda atıklarının doğal biyoaktif bileşikler (fenolik bileşikler, antosiyaninler, flavonoidler, vitaminler, mineraller ve antioksidanlar gibi) ve diyet lifi kaynakları olduğu bilinmektedir.

Bu çalışmada enzim destekli ekstraksiyonda uygun ekstraksiyon koşulları; nar kabuğu için 10:1 sıvı/katı (mL/g) oranı, 0.079 U/mL enzim (Viskozime) aktivitesi ve 60 dakikalık ekstraksiyon süresi; muz ve mandalina kabukları için ise 10:1 sıvı/katı (mL/g) oranı, 0.13 U/mL enzim (Viskozime) aktivitesi ve 60 dakikalık ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda en yüksek toplam fenolik bileşik ve flavonoid madde veriminin nar kabuğunda olduğu, bunu sırasıyla mandalina kabuğunun ve muz kabuğunun izlediği belirlenmiştir. Kabuk ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri 3 farklı yöntemle (DPPH, FRAP ve TEAC) değerlendirilmiş ve en yüksek antioksidan aktiviteye her üç yöntemde de nar kabuklarında olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen kabuk ekstraktlarının toplam fenolik bileşik, flavonoid bileşik verimleri ve antioksidan aktivitelerinin geleneksel ekstraksiyon yöntemine göre daha iyi sonuç verdiği tespit edilmiştir. Enzim destekli ve geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların antosiyanin içeriği ve α -amilaz inhibitör aktivitesi yalnızca nar kabuklarında sırasıyla geleneksel ekstraksiyon ve enzimatik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarında olduğu görülmüştür.

Enzimler hücre duvarını parçalayarak hücre duvarına bağlı formdaki biyoaktif bileşiklere ulaşılmasını sağlayarak ekstraksiyon verimini arttırdığı görülmüştür. Düşük sıcaklıkta ılımlı ekstraksiyon koşullarına sahip bir yöntem olarak enzim destekli ekstraksiyon yönteminin geleneksel ekstraksiyon yöntemine göre oldukça avantajlı olduğu aynı zamanda çevreye zararlı çözücü kullanılmada yüksek verimde biyoaktif bileşik ekstraksiyon işlemi gerçekleşmiştir.

Bu çalışmada gıda endüstrisi atıklarının katma değeri daha yüksek maddelere çevre dostu bir yöntemle dönüştürülebileceği gösterilmiştir. Elde edilen bileşiklerin; insan sağlığını iyileştirmek amacıyla gıda ve beslenme alanında, tarım ve kozmetik gibi endüstriyel

alanlarda, ilaçların geliştirilmesi ve hazırlanması amacıyla farmasötik kimyada ham madde olarak kullanılabilme potansiyeli bulunmaktadır. Enzim destekli ekstraksiyon yönteminin ticari olarak kullanılması çevre kirliliğinin azaltılmasına ve gıda endüstrisinin sürdürülebilirliğine de katkı sağlayacaktır.



6.KAYNAKLAR

- AACC, 2004. Approved Methods of the American Association of Cereal Chemists, 11th Edition.
- Abdelwahab, A.S., Abouelyazeed, A.M. ve Abdalla, A.E., 2018. Bioactive Compounds in Some Citrus Peels as Affected by Drying Processes and Quality Evaluation of Cakes Supplemented with Citrus Peels Powder. *J. Adv. Agric. Res. (Fac. Agric. Saba Basha)*, 23(1), 44-67.
- Adeogun, E.F., Akpovwovwo, S.J., Gab-Deedam S.D., Ihezue, S.R. ve Adeogun, O.O., 2018. Phytochemical Screening, Proximate Analysis And Mineral Composition Of Unripe Citrus Reticulata Peels. *FUDMA Journal of Sciences*, 2(4), 106-112.
- Afoakwah, N.A., Zhao, Y., Tchabo, W., Dong, Y., Owusu, J. ve Mahunu, G. K., 2023. Studies on The Extraction of Jerusalem Artichoke Tuber Phenolics Using Microwave-Assisted Extraction Optimized Conditions. *Food Chemistry Advances*, 3, 100507.
- Alara, O.R., Abdurahman, N.H. ve Ukaegbu, C.I., 2021. Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200-214.
- Alexandre, E.M.C., Silva, S., Santos, S.A.O., Silvestre, A.J.D., Duarte, M.F., Saraiva, J.A. ve Pintado, M., 2019. Antimicrobial Activity Of Pomegranate Peel Extracts Performed By High Pressure And Enzymatic Assisted Extraction. *Food Research International*, 115, 167–17.
- Allcca-Alca, E.E., León-Calvo, N.C., Luque-Vilca, O.M., Martínez-Cifuentes, M., Pérez-Correa, J.R., Mariotti-Celis, M.S. ve Huamán-Castilla, N.L., 2021. Hot Pressurized Liquid Extraction of Polyphenols from the Skin and Seeds of *Vitis vinifera* L. cv. Negra Criolla Pomace a Peruvian Native Pisco Industry Waste. *Agronomy*, 11, 866.
- Amulya, PR. ve Ul Islam, R., 2023. Optimization Of Enzyme-Assisted Extraction Of Anthocyanins From Eggplant (*Solanum Melongena* L.) Peel. *Food Chemistry:X*, 18, 100643.
- AOAC, 1997. Furfural in distile liquors (960.16). AOAC official methods of analysis, Arlington, VA: Association of official chemists, Inc.
- Atak, E. ve Uslu, M.E., 2018. Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve Analiz Yöntemleri. *MCBÜ Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 27(3), 39-48.
- Atalay, D., Türkmen, T. ve Erge, H.S., 2018. Pektin; Kaynakları ve Ekstraksiyon Yöntemleri. *Gıda*, 43 (6), 1002-1018.
- Atalay, B.A. ve İnan, A.L., 2020. Optimization of Ultrasound-Assisted Phenolic Extraction from Red Pepper Seed by Response Surface Methodology. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(1), 132–140.
- Athanasiadis, V., Chatzimitakos, T., Kotsou, K., Palaiogiannis, D., Bozinou, E. ve Lalas, S.I., 2022. Optimization of the Extraction Parameters for the Isolation of Bioactive Compounds from Orange Peel Waste. *Sustainability*, 14, 13926.
- Athanasiadis, V., Chatzimitakos, T., Mantiniotou, M. ve Kalompatsios, D., 2023. Investigation of the Polyphenol Recovery of Overripe Banana Peel Extract Utilizing Cloud Point Extraction. *Eng*, 4 (4), 3026-3038.
- Avram, I., Gatea, F. ve Vamanu, E., 2022. Functional Compounds from Banana Peel Used to Decrease Oxidative Stress Effects. *Processes*, 10(2), 248.

- Aydın, M., Tontul, İ. ve Turker, S., 2025. Innovative approach for phenolic extract production from pomegranate by-products: Enzymatic liquefaction and ultrafiltration. *Food Bioscience*, 64, 105801.
- Baruah, K.N., Singha, S., M, P. ve U. R.V.S., 2023. Optimization Of The Enzymatic Extraction Of Catechins From Assam Tea Leaves. *Biomass Conversion And Biorefinery*, 14, 24407-24425.
- Benzie, I. F. F. ve Strain, J. J., 1996. The Ferric Reducing Ability Of Plasma (FRAP) As A Measure Of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76.
- Binici, T., Sevinç, G. ve Palabıçak, M.A., 2023. Türkiye'de Nar Üretimi, Dış Ticaret ve İşletme Düzeyinde Ekonomik Analizi. *Nar Yetiştiriciliği*, Hepaksoy, S., ve Pakyürek, M., İksad Yayınları, Türkiye, 353-373.
- Boluda-Aguilar, M., Garcia-Vidal, L., González-Castañeda, F.P. ve López-Gómez, A., 2010. Mandarin peel wastes pretreatment with steam explosion for bioethanol production. *Bioresource Technology*, 101(10), 3506-3513.
- Büyüktuncel, E., 2012. Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32(2), 209-242.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. ve Berset, C., 1995. Use Of Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science And Technology*, 28, 25–30.
- Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11), 317–333.
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M. ve Corke, H., 2004. Antioxidant Activity And Phenolic Compounds Of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated With Anticancer. *Life Sciences*, 74, 157-21.
- Campos-Vega, R. ve Oomah, B.D., 2013. Chemistry and classification of phytochemicals, *Handbook of Plant Food Phytochemicals: Sources, Stability and Extraction*, Edited by Tiwari, B.K. Brunton, N.P. and Brennan, C.S. 7-48.
- Cemeroğlu, B., 1992. Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metotları. *Biltav Yayınları*, 381.
- Chaudhry, F., Ahmad, M.L., Hayat, Z., Ranjha, M.M.A.N., Chaudhry, K., Elboughiri, N., Amari, M. ve Uddin, J., 2022. Extraction and Evaluation of the Antimicrobial Activity of Polyphenols from Banana Peels Employing Different Extraction Techniques. *Separations*, 9(7), 165.
- Chanioti, S., Siamadoura, P. ve Tzia, C., 2016. Evaluation of Extracts Prepared from Olive Oil By-Products Using Microwave-Assisted Enzymatic Extraction: Effect of Encapsulation on the Stability of Final Products. *Waste and Biomass Valorization*, 7, 831–842.
- Chen, Y., Pan, H., Hao, S., Pan, D., Wang, G. ve Yu, W., 2021. Evaluation of phenolic composition and antioxidant properties of different varieties of Chinese citrus. *Food Chemistry*, 364, 130413.
- Cseke, L.J., Kirakosyan, A., Kaufman, P.B., Warber, S.L., Duke, J.A. ve Brielmann, H.L., 2006. *Phytochemicals: The Chemical Components of Plants, Natural Products from Plants*, 2nd ed; Taylor & Francis Group, Boca Raton, FL, 2-42.
- Chung, K., Wei, C. ve Johnson, M.G., 1998. Are tannins a double-edged sword in biology and health?. *Trends in Food Science & Technology*, 9, 168-175.
- Cho, E.J., Lee, Y.G., Chang, J. ve Bae, H.J., 2020. A High-Yield Process for Production of Biosugars and Hesperidin from Mandarin Peel Wastes. *Molecules*, 25, 4286.

- Costoya, N., Sineiro, J., Pinelo, M., Rubilar, M. ve Nuñez, M.J., 2010. Enzyme-aided extraction of polyphenols from Grape Pomace. *EJEAFChe*, 1579-4377.
- Çam, M., Erdogan, F., Aslan, D. ve Dinç, M., 2013. Enrichment of functional properties of ice cream with pomegranate by-products. *Journal of Food Science*, 78(10), 1543– 1550.
- Çam, M. ve İçyer, N. C., 2015. Phenolics of pomegranate peels: extraction optimization by central composite design and alpha glucosidase inhibition potentials. *Journal of Food Science and Technology*, 52(3), 1489-1497.
- Dahham, S.S., Ali, M.N., Tabassum, H. ve Khan, M., 2010. Studies on antibacterial and antifungal activity of pomegranate (*Punica granatum* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 9(3), 273-281.
- Dai, J. ve Mumper, R.J., 2010. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- Das, A.K., Islam, Md.N., Faruk, Md.O., Ashaduzzaman, Md. ve Dungani, R., 2020. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African Journal of Botany*, 135, 5870.
- Demir, T. ve Akpınar, Ö., 2020. Biological activities of phytochemicals in plants. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(8), 1734-1746.
- Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H. ve Güngör, H., 2019. Nar kabuğundan antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu. *Gıda*, 44, 369-382.
- Deveoğlu, O. ve Karadağ, R., 2011. Genel bir bakış: doğal boyarmaddeler. *Fen Bilimleri Dergisi*, 23(1), 21-32.
- Doughari, J.H., 2012. *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structures and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents*, Rijeka, Croatia: INTECH Open Access Publisher, 1-33.
- Dubois, M., Giles, K.A., Hamilton, J.K., Rebes, P.A. ve Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal Chem*, 28, 350-356.
- Durmus, N. ve Kilic-Akyilmaz, M., 2023. Bioactivity of non-extractable phenolics from lemon peel obtained by enzyme and ultrasound assisted extractions. *Food Bioscience*, 53, 102571.
- Ermiş, Ö., Kızma, C., Kibıç, D. ve Kahveci, D., 2018. Sulu enzimatik ekstraksiyon ile fındık yağında verim ve kalitenin geliştirilmesi. *Akademik Gıda*, 16(3), 301-306.
- Evcimen, M. ve Aslan, R., 2015. Yaygın kullanıma sahip tıbbi aromatik bitkilerdeki bazı antioksidan fitokimyasalların fizyolojik etkileri. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 8(2), 65-78.
- FAO, 2022. Food and agriculture organization of the united nations, banana market review 2021, Rome. <https://www.fao.org/3/cc1610en/cc1610en.pdf>.
- Ferri, M., Vannini, M., Ehrnell, M., Eliasson, L., Xanthakis, E., Monari, S., Sisti, L., Marchese, P., Celli, P. ve Tassoni, A., 2020. From winery waste to bioactive compounds and new polymeric biocomposites: A contribution to the circular economy concept. *Journal of Advanced Research* 24, 1–11.
- Ferreira, S.S., Silva A.M. ve Nunes, F.M., 2018. Citrus reticulata blanco peels as a source of antioxidant and anti-proliferative phenolic compounds. *Industrial Crops and Products*, 111, 141-148.

- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A. ve Fernández-Gutiérrez, A., 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15, 8813-8826.
- Giusti, M.M. ve Wrolstad, R.E., 2001. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. *Current Protocols*, 0 (1), 942.
- Guan, X. ve Yao, H., 2008. Optimization of viskozime l-assisted extraction of oat bran protein using response surface methodology. *Food Chemistry*, 106 (1), 345,351.
- Güler, G., 2021. Kırmızı üzüm proses atıklarından polifenollerin basınçlı sıvı ekstraksiyonu. Yüksek lisans Tezi, Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bilecik.
- Güzel, M., 2017. Meyve ve sebze kabuklarından polisakkarit ve fitokimyasal maddelerin üretimi. (Doktora Tezi), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.
- Güzel, M. ve Akpınar, Ö., 2017. Turunçgil kabuklarının biyoaktif bileşenleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *GÜFBED/ GUSTIJ*, 7(2), 153-167.
- Gündüz, M. ve Karabıyıklı Çiçek, Ş., 2024. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon yöntemleri ve doğal içerik olarak kullanımı. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi / Journal of Food and Feed Science – Technology*, 32, 37-47.
- Gómez-García, R., Martínez-Ávila, G. C. ve Aguilar, C. N., 2012. Enzyme-assisted extraction of antioxidative phenolics from grape (*Vitis vinifera* L.) residues. *3 Biotech*, 2(4), 297-300.
- González-Montelongo, R., Lobo, M.G. ve Gonzalez, M., 2010. Antioxidant activity in banana peel extracts: testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry*, 119(3), 1030-1039.
- Görgüç, A., Özer, P. ve Yılmaz, F.M., 2020. Simultaneous effect of vacuum and ultrasound assisted enzymatic extraction on the recovery of plant protein and bioactive compounds from sesame bran. *Journal of Food Composition and Analysis*, 87, 103424.
- Granato, D., Fidelis, M. Haapakoski, M., Santoz, A., Viil, J., Hellström, J., Ratsep, R., Kaldmae, H., Bleive, U., Azevedo, L., Marjomaki, V., Zharkovsky, A. ve Rap, N., 2022. Enzyme-assisted extraction of anthocyanins and other phenolic compounds from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) press cake: From processing to bioactivities. *Food Chemistry*, 391, 133240.
- Haslam, E., 1998. Practical polyphenolics: from structure to molecular recognition and physiological action. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Hasnaoui, N., Wathelet, B. ve Jimenez-Araujo, A., 2014. Valorization of pomegranate peel from 12 cultivars: dietary fibre composition, antioxidant capacity and functional properties. *Food Chemistry*, 160, 196-203.
- Hazafa, A., Iqbal, M.O., Javaid, U., Tareen, M.B.K., Amna, D., Ramzan, A., Piracha, S. ve Naeem, M., 2022. Inhibitory effect of polyphenols (phenolic acids, lignans, and stilbenes) on cancer by regulating signal transduction pathways: a review. *Clinical and Translational Oncology*, 24, 432–445.
- Hidalgo, M., Sánchez-Moreno, C. ve Pascual-Teresa, S., 2010, Flavonoid–flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 21(3), 691-696.
- Hussain, T., Kalhor, D.H. ve Yin, Y., 2023. Identification of nutritional composition and antioxidant activities of fruit peels as a potential source of nutraceuticals. *Food chemistry*, 9.

- Hwang, H., Kim, H., Ko, M.K. ve Chung, M., 2021. Recovery of hesperidin and narirutin from waste Citrus unshiu peel using subcritical water extraction aided by pulsed electric field treatment. *Food Science and Biotechnology*, 30, 217-226.
- Ivanković, A.P., Milivojević, A., Čorović, M., Simović, M., Banjanac, K., Jansen, P., Vukoičić, A., Bogaard, E. ve Bezbradica, D., 2023. In vitro evaluation of enzymatically derived blackcurrant extract as prebiotic cosmetic ingredient: extraction conditions optimization and effect on cutaneous microbiota representatives. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10, 125.
- Islam, Md.R., Kamal, Md.M., Kabir, Md.R., Hasan, Md.M., Haque, A.R. ve Hasan, S.M.K., 2023. Phenolic compounds and antioxidants activity of banana peel extracts: testing and optimization of enzyme-assisted conditions. *Food*, 10, 100085.
- Islam, M. R., Haque, A. R., Kabir, M. R., Hasan, M. M., Khushe, K. J. ve Hasan, S. K., 2021. Fruit by-products: The potential natural sources of antioxidants and α -glucosidase inhibitors. *Journal of Food Science and Technology*, 58(5), 1715-1726.
- Issara, U., Tiwasiri, N., Keawwong, P., Lamphao, O., Chana, S., Sangketkit, W. ve Changpasert, W., 2024. The utilization of banana peels (*Musa acuminata* Cavendish subgroup) as an alternative ingredient for producing dried plant-based meat products. *Food Research*, 8(4), 384-391.
- İnaç, N. ve Tuna, Ş., 2005. Fitoöstrojenler ve sağlıktaki etkileri. *Erciyes Üniv Vet Fak Dergisi*, 2(2), 91-95.
- Janarthanan, U. K., Varadharajan, V. ve Krishnamurthy, V., 2012. Physicochemical evaluation, phytochemical screening and chromatographic fingerprint profile of aegle marmelos l. leaf extracts. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 1(3), 813-837.
- Jaiswal, V., Dermarderosian, A. ve Porter, J.R., 2010. Anthocyanins and polyphenol oxidase from dried arils of pomegranate (*Punica granatum* L.). *Food Chemistry*, 118(1), 11-16.
- Kaderides, K., Papaoikonomou, L., Serafim, M. ve Goulo, A.M., 2019. Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction. *Chemical Engineering & Processing: Process Intensification*, 137, 1–11.
- Kahveci, Z.M., 2022. Nar kabuğundan enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik madde ve pektin elde edilmesi, Yüksek Lisans, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Kammerer, D., Claus, A., Schieber, A. ve Carle, R., 2005. A novel process for the recovery of polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *Journal of Food Science*, 70(2), C157-C163.
- Katırcı, S., 2023. Enzyme-assisted extraction of antioxidants from banana peel, Yüksek Lisans Tezi, Ortadoğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara.
- Karaoğlu, E. ve Alma, M.H., 2018. Enzimatik, asidik ve sulu ekstraksiyon metotları ile çiriş (*asphodelus aestivus* brot.) yumrularının hplc ile şeker kompozisyonları. *Ormancılık Araştırma Dergisi Turkish Journal Of Forestry Research*, 5(1), 64-73.
- Kaur, Panesar, P.S. ve Thakur, A., 2024. Biovalorization of mango byproduct through enzymatic extraction of dietary fiber. *Environmental Science And Pollution Research*, 31, 57455-57465.

- Kaur, S., Panesa, P.S. ve Chopra, H.K., 2023. Standardization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from kinnow mandarin peel. *Biomass Conversion And Biorefnery*, 13, 8853–8863.
- Kaur, S. ve Ubeyitogullari, A., 2023. Extraction of phenolic compounds from rice husk via ethanol-water-modified supercritical carbon dioxide. *Heliyon*, 9(3).
- Kaur, S., Singh, V., Chopra, H. ve Panesar, P., 2024. Extraction and characterization of phenolic compounds from mandarin peels using conventional and green techniques: a comparative study. *Discover Food*, 4, 60.
- Kaushal, H.S., Kalia, A. ve Kaur, V., 2022. Proximate, mineral, chemical composition, antioxidant and antimicrobial potential of dropped fruits of *Citrus reticulata* Blanco, *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16, 4303-4317.
- Khanavi, M., Oveisi, M.R., Moghaddam, G. ve Sadeghi, N., 2013. Hyperoside and anthocyanin content of ten different pomegranate cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 16(13), 636-41.
- King, A. ve Young, G., 1999. Characteristics and occurrence of phenolic phytochemicals. *Journal of the American Dietetic Association*, 99(2), 213-218.
- Kitrytė, V., Kraujaliene, V., Sulniute, V., Pukalskas, A. ve Venskuyonis, P.R., 2017. Chokeberry pomace valorization into food ingredients by enzyme-assisted extraction: process optimization and product characterization. *Food And Bioproducts Processing*, 105, 36–50.
- Kulkarni, A. ve Aradhya, S.M., 2005. Chemical changes and antioxidant activity in pomegranate arils during fruit development. *Food Chemistry*, 93(2), 319-324.
- Koche, D., Şhirsat, R. ve Kawale, M.V., 2016, An overerview of major classes of phytochemicals: their types and role in disease prevention. *Hislopija Journal*, 9(1/2).
- Kolaç., T., Gürbüz, P. ve Yetiş, G., 2017. Doğal ürünlerin fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri. *İ.Ü. Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi*, 5(1), 26-42.
- Koskinakis, S.E., Stergiopoulos, C., Vasileiou, C. ve Krokida, M., 2025. Sustainable valorization of coffee silverskin waste: pressurized liquid extraction of bioactive compounds. *Foods*, 14(4), 615.
- Kumar, M., Tomar, M., Punia, S., Amarowicz, R. Ve Kaur, C., 2020. Evaluation of cellulolytic enzyme-assisted microwave extraction of punica granatum peel phenolics and antioxidant activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, 75, 614-620.
- Kumar, M., Dahuja, A., Sachdev, A., Tomar, M., Lorenzo, J.M., Dhumal, S., Radha, Chandran, D., Varghese, E., Saha, S., Sairam, K.V.S.C., Sing, S., Senapathy, M., Amarowicz, R., Kaur, C., Kennedy, J.F. ve Mekhemar, M., 2022. Optimization of the use of cellulolytic enzyme preparation for the extraction of health promoting anthocyanins from black carrot using response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology*, 163, 113528.
- Kumar A., Nirmal, P., Kumar M., Proestos, C., Zeng, M., Jose, An., Elobeid, T., Tomer, V., Oz, E., Sneha, K. ve Oz, F., 2023. Major phytochemicals: recent advances in health benefits and extraction method. *Molecules*, 28, 887.
- Küçük Kurt, İ. ve Fidan, A.F., 2008, Saponinler ve bazı biyolojik etkileri, *Kocatepe Vet Dergisi*, 1, 89-96.
- Lama-Muñoz, A. ve Contreras, M.d.M., 2022. Extraction systems and analytical techniques for food phenolic compounds: A Review. *Foods*, 11, 3671.

- Lampakis, D., Skenderidis, P. ve Leontopoulos, S., 2021. Technologies and extraction methods of polyphenolic compounds derived from pomegranate (*punica granatum*) peels: A Mini Review. *Processes*, 9, 236.
- Laroze, L., Soto, C. ve Zúñiga, M. E., 2010. Phenolic antioxidants extraction from raspberry wastes assisted by-enzymes. *Electronic Journal of Biotechnology*, 13(6), 11-12.
- Leopoldini, M., Russo, N. ve Toscano, M., 2011. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306.
- Li, B. B., Smith, B. ve Hossain, M. M., 2006. Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*, 48(2), 189–196.
- Li, H., Deng, Z., Wu, T., Liu, R., Loewen, S. ve Tsao, S., 2012. Microwaveassisted extraction of phenolics with maximal antioxidant activities in tomatoes. *Food Chemistry*, 130(4), 928-936.
- Li, J., Zhang, S., Zhang, M. ve Sun, B., 2019. Novel approach for extraction of grape skin antioxidants by accelerated solvent extraction: Box–Behnken design optimization. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 48879-4890.
- Lien, D.T.P., Tram, P.T.B. ve Toan, H.T., 2016, Antioxidant properties of food natural phenolic compounds – a review. *Innovations in Food Research*, 2, 1-5.
- Liu, R.H., 2003. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals. *Am. J. Clin. Nutr.*, 78, 517-520.
- Liu, R.H., 2007. Whole grain phytochemicals and health. *Journal of Cereal Science*, 46(3), 207-219.
- Liu, Y., Angelov, A., Ubelacker, M., Baudrexl, M., Ludwig, C., Rühmann, B., Sieber, V. ve Liebl, W., 2024. Proteomic analysis of Viscoyme L and its major enzyme components for pectic substrate degradation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 266(2), 131309.
- Magwaza, L.S. ve Opara, U.L., 2015. Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products: A review. *Scientia Horticulturae*, 184, 179-192.
- Marathe, S.J., Jadhav, S.B., Bankar, S.B., Dubey, K.K. ve Singhal, R.S., 2019. Improvements in the extraction of bioactive compounds by enzymes. *Sciencedirect*, 25, 62-72.
- Martín-García, B., Tylewicz, U., Verardo, V., Pasini, F., Gomez-Caravaca, A.M., Caboni, M.F. ve Rosa, M.D., 2020. Pulsed electric field (PEF) as pre-treatment to improve the phenolic compounds recovery from brewers' spent grains. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 64, 102402.
- Maier, T., Göppert, A., Kammerer, D. R., Schieber, A. ve Carle, R., 2008. Optimization of a process for enzyme-assisted pigment extraction from grape (*Vitis vinifera* L.) pomace. *European Food Research and Technology*, 227(1), 267-275.
- Meini, M.R., Cabezudo, I., Boschetti, C.E. ve Romanini, D., 2019. Recovery of phenolic antioxidants from Syrah grape pomace through the optimization of an enzymatic extraction process. *Food Chemistry*, 283, 257–26.
- Miller, G. L., 1995. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.

- Mirzadeh, M., Arianejad, M.R. ve Khedmat, L., 2020. Antioxidant, antiradical, and antimicrobial activities of polysaccharides obtained by microwave-assisted extraction method: A review. *Carbohydrate Polymers*, 229(1), 115421.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sanchez-Contreras, A. ve Pacheco, N., 2017. Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7, 47.
- Mordoğan, N. ve Ergun, S., 2002. Golden ve starking elma çeşitlerinin şeker içerikleri ve bitki besin elementleri ile olan ilişkileri. *Ege Üniversitesi. Ziraat Fak. Dergisi*, 39(1), 103-110.
- Mosić, M., DraMićanin, A., Ristivojević, P. ve Milojković-Opsenica, D., 2020. Extraction as a critical step in phytochemical analysis. *Journal of AOAC International*, 103(2), 365-372.
- Muhammad, A., Dayisoğlu, K.S., Pei, J., Khan, M.R., Salman, M., Ahmad, R., Ullah, H. ve Noor, G.R., 2023. Compositional analysis of natural pomegranate peel powder dried by different methods and nutritional and sensory evaluation of cookies fortified with pomegranate peel powder. *Nutrition and Food Science Technology*, 10.
- Munoz, O., Sepulveda, M. ve Schwartz, M., 2004. Effects of enzymatic treatment on anthocyanic pigments from grapes skin from Chilean wine. *Food Chemistry*, 87(4), 487-490.
- Mushtaq, M., Sultana, B., Anwar, F., Adnan, A. ve Rizvi, S.S.H., 2015. Enzyme-assisted supercritical fluid extraction of phenolic antioxidants from pomegranate peel. *The Journal of Supercritical Fluids*, 104, 122-131.
- Naczki, M. ve Shahidi, F., 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(5), 1523-1542.
- Nag, S. ve Sit, N., 2018. Optimization of ultrasound assisted enzymatic extraction of polyphenols from pomegranate peels based on phytochemical content and antioxidant property. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12, 1734-1743.
- Ndarubu, T.A., Rosemary, O.N., Gboke, J.A., David, G., Binta, S., Rukiya, Z. ve Zungeru, S.I., 2021. Proximate, minerals, and amino acid compositions of banana and plantain peels. *BIOMED Natural and Applied Science*, 1(1), 32-42.
- Nishad, J., Kaur, C. ve Saha, S., 2019. Enzyme- and ultrasound-assisted extractions of polyphenols from *Citrus sinensis* (cv. Malta) peel: A comparative study. *Food Process Preservation*, 43, 14046.
- Nishad, J., Saha, S., Dubey, A.K., Varghese, E. ve Kaur, C., 2019. Optimization and comparison of non-conventional extraction technologies for *Citrus paradisi* L. peels: a valorization approach. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 1221-1233.
- Omer, H.A.A., Abdel-Magid, S.S. ve Awadalla, I.M., 2019. Nutritional and chemical evaluation of dried pomegranate (*Punica granatum* L.) peels and studying the impact of level of inclusion in ration formulation on productive performance of growing Ossimi lambs. *Bulletin of the National Research Centre*, 43, 182.
- Özcan, M.M., Ghafoor, K., Al Juhaimi, F., Uslu, N., Babiker, E.E., Ahmed, İ.A.M. ve Almusallam, I.A., 2021. Influence of drying techniques on bioactive properties, phenolic compounds and fatty acid compositions of dried lemon and orange peel powders. *J Food Sci Technol*, 58(1), 147–158.

- Öztürk, A., 2022. Narenciye atıklarında bulunan fonksiyonel bileşiklerin ayrıştırılması ve toplam fenol açısından değerlendirilmesi narenciye atıklarında bulunan fonksiyonel bileşiklerin ayrıştırılması ve toplam fenol açısından değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Konya Teknik Üniversitesi. Konya.
- Panche, A.N., Diwan, A.D. ve Chandra, S.R., 2016, Flavonoids: An Overview. Journal Of Nutritional Science, 5(47), 1-15.
- Panchami, P.S. ve Gunasekaran, S., 2017. Extraction and characterization of pectin from fruit waste. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 6(8), 943-948.
- Parvez, GM.M., Tonu, J.F., Ara, R., Joarder, Md.Y.A., Milon, M.M.M., Sarker, R.K., Naznin, M.A., Hossain, Md.S., Sultana, R., Parvin, S. ve Kader, Md.A., 2023. Phytochemical and antioxidant comparison of different varieties of banana. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 12(1), 194-199.
- Patra, A.K., 2012. An overview of antimicrobial properties of different classes of phytochemicals. Dietary Phytochemicals and Microbes, 1-32.
- Patil, N., Yadavi P. ve Gogate, P.R., 2024. Ultrasound assisted intensified enzymatic extraction of total phenolic compounds from pomegranate peels. Separation and Purification Technology, 350, 127967.
- Pawase, P.A., Goswami, C., Shams, R., Pandey, V.K., Tripathi, A., Rustagi, S. ve Darshan, G., 2024. A conceptual review on classification, extraction, bioactive potential and role of phytochemicals in human health. Future Foods, 9, 100313.
- Pereira, D.T.V., Zabot, G.L., Reyes, F.G.R., Iglesias, A.H. ve Martínez, J., 2021. Integration of pressurized liquids and ultrasound in the extraction of bioactive compounds from passion fruit rinds: Impact on phenolic yield, extraction kinetics and technical-economic evaluation. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 67, 102549.
- Phuong, N.N.M., Le, T.T., Dang, M.Q., Camp, J.V. ve Raes, K., 2020. Selection of extraction conditions of phenolic compounds from rambutan (*nephelium lappaceum* l.) peel. Food and Bioproducts Processing, 122, 222-229.
- Puzeryte, V., Martusevice, P., Sousa, S., Balciunaitiene, A., Viskelis, J., Gomes, A.M., Viskelis, P., Cesoniene, L. ve Urbonaviciene, D., 2023. Optimization of enzyme-assisted extraction of bioactive compounds from sea buckthorn (*hippophae rhamnoides* l.) leaves: evaluation of mixed-culture fermentation. Microorganisms, 11, 2180.
- Pyar, H. ve Peh, K.K., 2018. Chemical compositions of banana peels (*musa sapientum*) fruits cultivated in malaysia using proximate analysis. Research Journal of Chemistry and Environment, 22(2), 108-113.
- Rajha, H.N., Abi-Khattar, A.M., El Kantar, S., Bousseatta, N., Lebovka, N., Maroun, R.G., Louka, N. ve Vorobiev, E., 2019. Comparison of aqueous extraction efficiency and biological activities of polyphenols from pomegranate peels assisted by infrared, ultrasound, pulsed electric fields and high-voltage electrical discharges. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 58, 102212.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang M. ve Rice E. C., 1999. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. Free Radicale Biology And Medicine, 26, 1231-1237.
- Romelle, F. D., Rani, P. A. ve Manohar, R. S., 2016. Chemical composition of some selected fruit peels. European J. Food Sci. Technol., 4 (4), 12-21.

- Routray, W. ve Orsat, V., 2012. Microwave-assisted extraction of flavonoids: a review. *Food Bioprocess Technol*, 5, 409-424.
- Santos, K.L.O., Daccache, I.S.C. ve Castro, R.J.S., 2022. Synergistic action of multiple enzymes resulting in efficient hydrolysis of banana bracts and products with improved antioxidant properties. *Procces*, 10(9), 1807.
- Sarkar, A., H., Md.A. ve Alam, M., 2024. Unlocking the potential of pomegranate peels as a valuable source of bioactive compounds through effective drying strategies. *Fooda Chemistry Advances*, 4, 100622.
- Sawalha, M.F., Peralta-Videa, J.R., Sanchez-Salcido, B. ve Gardea-Torresdey, J.L., 2009. Sorption of hazardous metals from single and multi-element solutions by saltbush biomass in batch and continuous mode: interference of calcium and magnesium in batch mode. *J. Environ. Manage*, 90, 1213–1218.
- Shafiq, M., Firdous, S., Ifan, Q., Khan, S.J. ve Qadir A., 2019. Study the effect of heating process on nutritional, phytochemical and antioxidant activity of mandarin peel: implication for waste management. *Journal Of Scientific Research*, 11(3), 365-372.
- Sharma, K., ve Akansha. C.E., 2018. Comparative studies of proximate, mineral and phytochemical compositions of pomegranate (*Punica granatum*) in peel, seed and whole fruit powder. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 3(2), 192-196.
- Sharif, T., Bhatti, H.N., Bull, D. ve Bilal, M., 2023. Recovery of high-value bioactive phytochemicals from agro-waste of mango (*Mangifera indica* L.) using enzyme-assisted ultrasound pretreated extraction. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13, 6591-6599.
- Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Quayum, A., Liu, Y., Rashid, A., Xu, B., Liang, Q., Ma, H. ve Ren, X., 2023. A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined. *Technologies, Ultrasonics Sonochemistry*, 101, 106646.
- Shi, L., Zhao, W., Yang, Z., Subbiah, V., Ansar, H. ve Suleria, R., 2022. Extraction and characterization of phenolic compounds and their potential antioxidant activities. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 81112-81129.
- Sing, B., Singh, J.P., Kaur, A. ve Sing, N., 2018. Phenolic compounds as beneficial phytochemicals in pomegranate (*punica granatum* l.) peel: a review. *Food Chemistry*, 261, 75-86.
- Singla, R.K., Dubey, A.K., Garg, A., Sharma, R.K., Fiorino, M., Ameen, S.M., Haddad, M.A. ve Al-Hiary, M., 2019. Natural polyphenols: chemical classification, definition of classes, subcategories, and structures. *Journal of AOAC International* 102(5), 1397-1400.
- Singleton, V. L. ve Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Skenderidis, P., Leontopoulos, S., Petrotos, K. ve Giavasis, I., 2020. Optimization of vacuum Microwave-Assisted Extraction of pomegranate fruits peels by the evaluation of extracts' phenolic content and antioxidant activity. *Foods*, 9(11), 1655.
- Song, F.L., Gan, R.Y., Zhang, Y., Xiao, Q., Kuang, L. ve Li, H.B., 2010. Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 2362-2372.,

- Suleria, H.A.R., Barrow, C.J. ve Dunshea, F.R., 2020. Screening and characterization of phenolic compounds and their antioxidant capacity in different fruit peels. *Journals Foods*, 9(9), 2-26.
- Syrpas, M., Valanciene, E., Augustiniene, E. ve Malys, N., 2021. Valorization of bilberry (*vaccinium myrtillus* L.) pomace by enzyme-assisted extraction: process optimization and comparison with conventional solid-liquid extraction. *Antioxidants*, 10(5), 773.
- Swier, T.L., Mukhim, C., Bashir, K. ve Chauhan, K., 2018. Optimization of enzyme aided extraction of anthocyanins from *Prunus nepalensis* L. *Food Science and Technology*, 91, 382–3.
- Taşkıran, Z.G., Dündar, A. ve Yıldır, H., 2023. Bitkisel materyallerdeki biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılan konvansiyonel ve yeni nesil ekstraksiyon yöntemleri. *Food Science and Engineering Research*, 2(2), 50-58.
- Toupal, S. ve Coşansu, S., 2023. Antioxidant and antimicrobial properties of freeze-dried banana and watermelon peel powders. *Food and Humanity*, 1, 607–613.
- TÜİK, 2024. Türkiye İstatistik Kurumu Tarımsal Veriler. Erişim Tarihi: 16.02.2025. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2024-53447>.
- Uğurlu, S. ve Bakkalbaşı, E., 2023. Yeşil cevizlerden ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle fenolik bileşiklerin eldesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(1), 185-191.
- Uwineza, P.A., Gramza-Mishalowska, A., Bryla, M. ve Waskiewicz, A., 2021. Aantioxidant activity and bioactive compounds of *lamium album* flower extracts obtained by supercritical fluid extraction. *Applied Sciences*, 11,7419.
- Vargas, F.D., Jiménez, A.R. ve López, O.P., 2000. Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, and betalains-characteristics, biosynthesis, processing, and stability. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 40(3), 173-289.
- Virost, M., Tomao, V., Le Bourvellec, C., Renard, C. M. C. G. ve Chemat, F., 2010. Towards the industrial production of antioxidants from food processing byproducts with ultrasound-assisted extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17, 1066-1074.
- Yılmaz, M. S., Kutlu Kantar, N., Erdem, G., Şakıyan Demirkol, Ö. ve İşçi Yakan, A., 2021. Fenolik bileşiklerin alıç meyvesinden (*creategus monogyna*) mikrodalga ve ultrasones destekli yöntemler ile ekstraksiyonu. *Gıda*, 46(4), 1002–1015.
- Wang, Z., Mei, X., Chen, X., Rao, S., Ju, T., Li, J. ve Yang, Z., 2023. Extraction and recovery of bioactive soluble phenolic compounds from brocade orange (*citrus sinensis*) peels: effect of different extraction methods thereon. *LWT*, 173, 114337.
- Wani, K.M. ve Dhanya, M., 2025. Unlocking the potential of banana peel bioactives: extraction methods, benefits, and industrial applications. *Discover Food*, 5(8).
- Worthington, V., 1993 Alpha Amylase. In: Worthington V, Ed. *Worthington Enzyme Manual; Enzymes And Related Biochemicals*. Lakewood, NJ: Worthington Biochemical Company, 36-41.
- Zahid, N., Kenari, R.E. ve Farahmandfar, R., 2023. Effect of different extraction methods on antioxidant properties and encapsulation efficiency of anthocyanin of pomegranate peel. *Food Science & Nutrition*, 11(7), 3780-3787.
- Zhang, Y., Sun, Y., Xi, W., Shen, Y., Qiao, L., Zhong, L., Ye, X. ve Zhou, Z., 2024. Phenolic compositions and antioxidant capacities of chinese wild mandarin (*citrus reticulata* blanco) fruits. *Food Chemistry*, 145, 674-680.

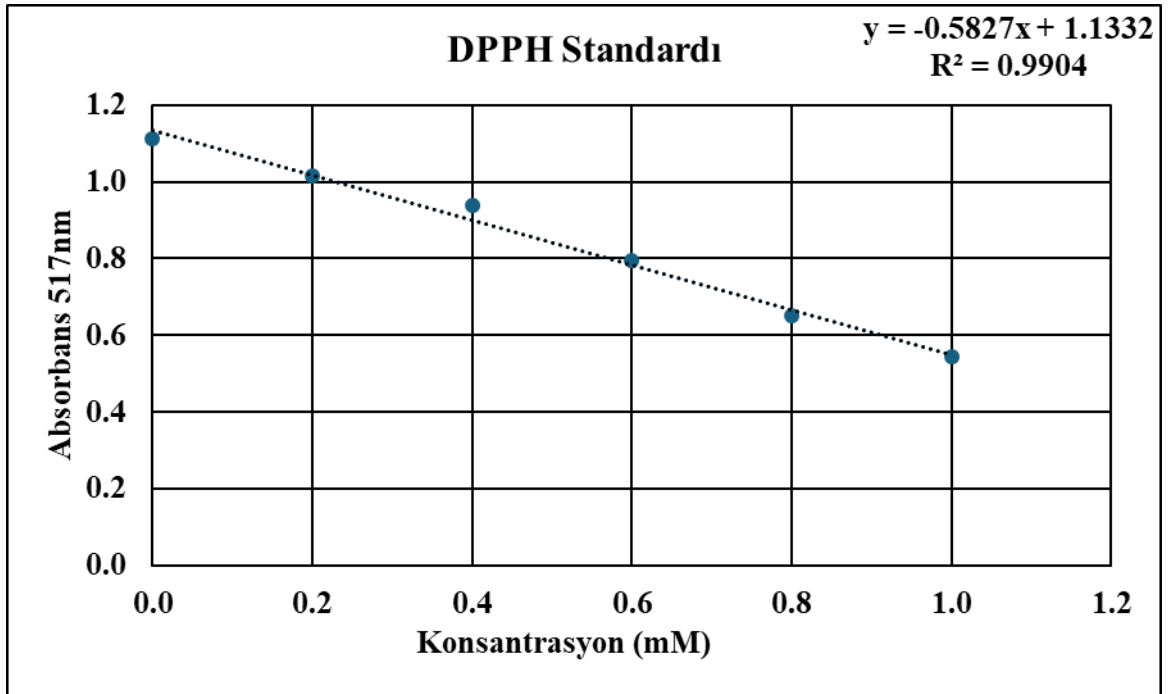
- Zheng, H., Hwang, I. ve Chung, S., 2009. Enhancing polyphenol extraction from unripe apples by carbohydrate-hydrolyzing enzymes. *Journal of Zhejiang University Science B*, 1673-1581.
- Zhishen, J., Mengcheng, T. ve Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555-559.



7. EKLER

7.1. Radikal Temizleme Aktivitesi (DPPH) Analizinde Hazırlanan Çözeltiler

100 µM DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) Çözeltisi: DPPH çözeltisinden 4 mg alınarak 100 mL metanol içerisinde çözündürülmüştür.



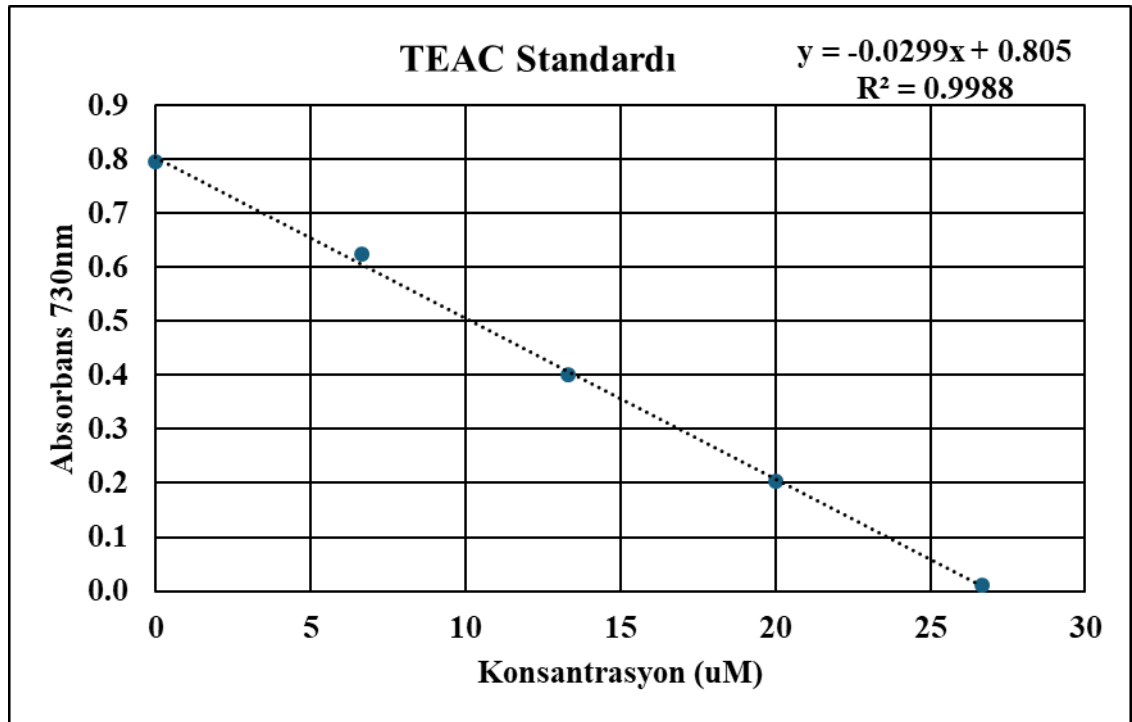
7.2. Troloks Eşdeğeriyle Hesaplanan Antioksidan Kapasite (TEAC) Analizinde Kullanılan Çözeltiler

Sodyum Asetat Tamponu (20 Mm): 400 mL saf su içerisinde 0.82 g sodyum asetat çözündürülmüştür. Asetik asitle pH 4.5'e ayarlanmış ve saf suyla hacmi 500 mL'e getirilmiştir.

7 mM ABTS Çözeltisi: 192 mg ABTS saf su ile çözündürülerek 50 mL olacak şekilde ayarlanmıştır.

Potasyum Peroksidisülfat Çözeltisi (2.45 Mm): 33.1 mg potasyum peroksidisülfat hacmi 50 mL olacak şekilde saf su içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır.

Analiz öncesinde aktif radikal hazırlamak için ABTS ve potasyum peroksidisülfat çözeltisi 1:1 oranında karıştırılarak bir gece karanlık ortamda bekletilmiştir.



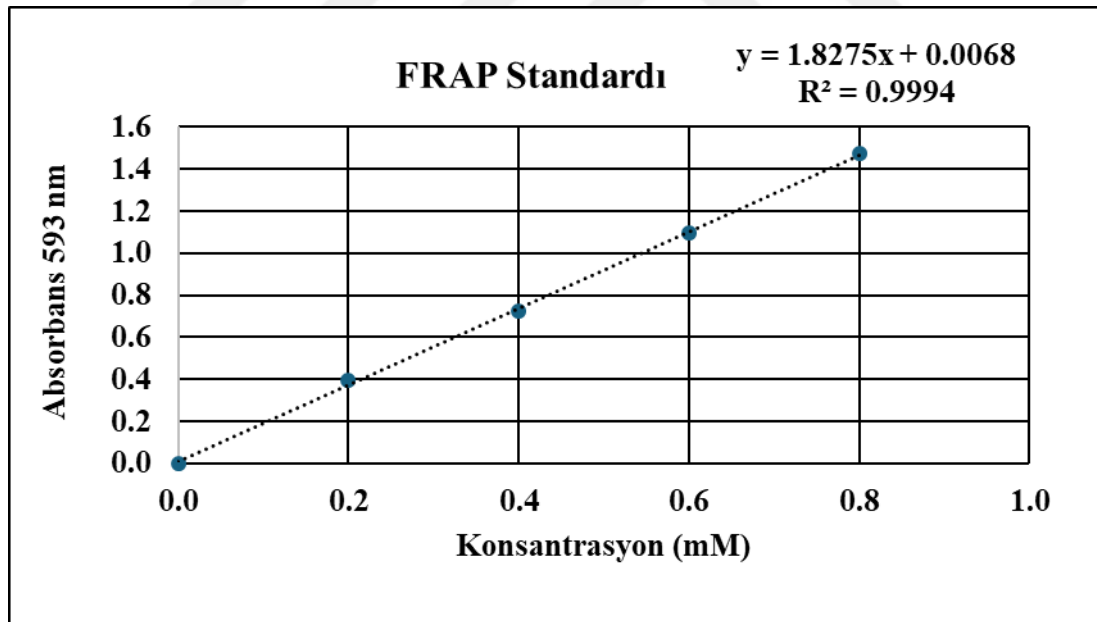
7.3. Demir (III) İndirgeme Kapasitesi (FRAP) Analizinde Kullanılan Çözeltiler

Asetat Tamponu (30 Mm): sodyum asetat (2.4 g) ve asetik asit (14.5 mL) saf suyla çözündürülmüştür. Asetik asit ile pH 3.6'ya ayarlanmıştır. Hacmi 1 L'ye saf su eklenerek tamamlanmıştır.

FeCl₃ Çözeltisi (20 Mm): 324 mg FeCl₃ hacmi 100 mL olacak şekilde saf su ile çözündürülmüştür.

TPTZ Çözeltisi (10 mM) 312 mg TPTZ, 80 mL saf su ve 0.33 mL HCl asit çözeltisi ile karıştırılmış ve hacmi saf ile 100 mL'ye ayarlanmıştır.

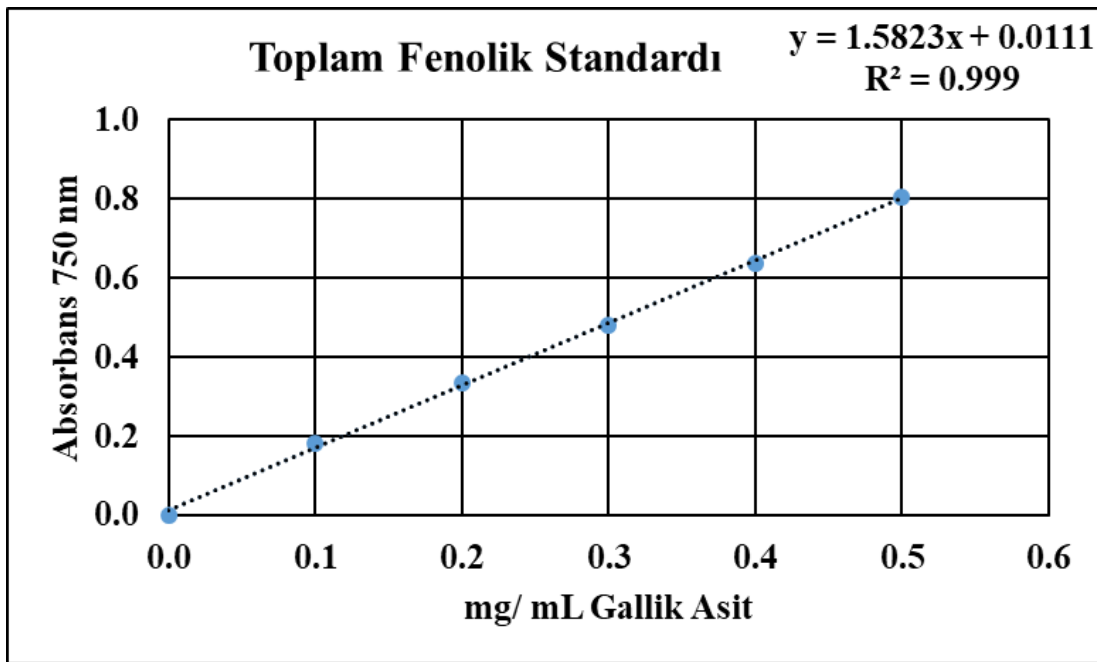
Çalışma çözeltisi olarak üç çözelti sırasıyla 10:1:1 oranında karıştırılarak kullanılmıştır.



7.4. Toplam Fenolik Madde Analizinde Kullanılan Çözeltiler

Na₂CO₃ Çözeltisi (%7): 7 g Na₂CO₃ hacmi 100 mL olacak şekilde saf su ile çözündürülerek hazırlanmıştır.

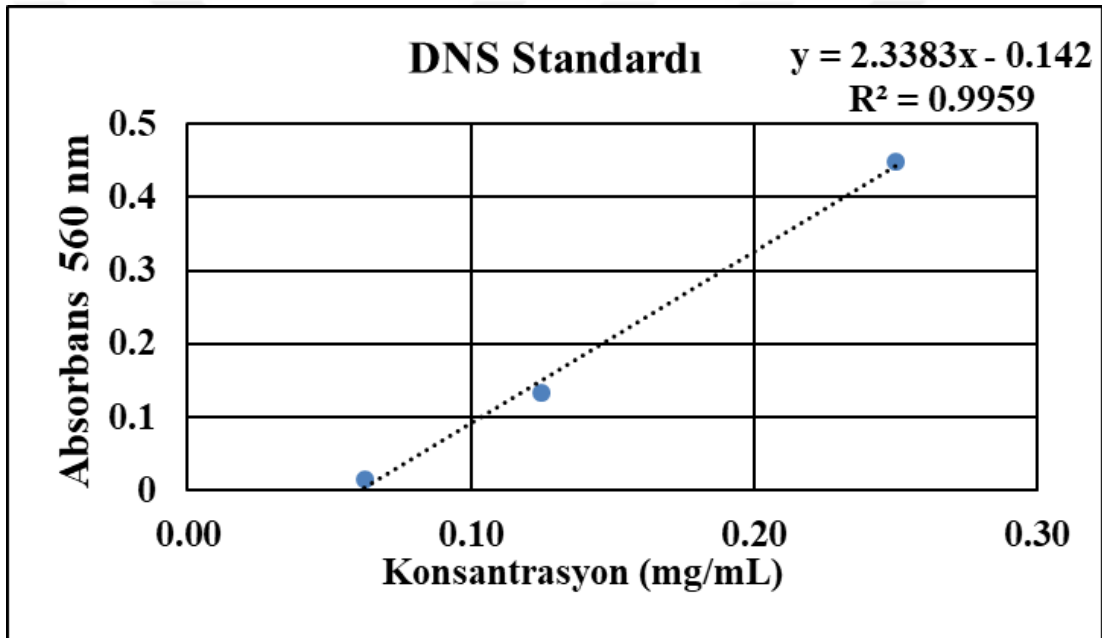
Gallik Asit Standart Çözeltisi (10 mg/mL): 1 g gallik asit son hacmi 100 mL olacak şekilde saf su içinde çözündürülmüştür.



7.5. DNS Çözeltisi Hazırlanışı

DNS Çözeltisi: 5 g dinitrosalisilik asit, 1 g fenol, 0.25 g sodyum sülfid, 5 g sodyum hidroksit, 400 mL saf su içerisinde çözündürülerek saf su ilavesi ile hacmi 500 mL'ye ayarlanmıştır.

Glukoz Çözeltisi (2.5 mg/mL): 250 mg glukoz saf su ile hacmi 100 mL olacak şekilde ayarlanmıştır.

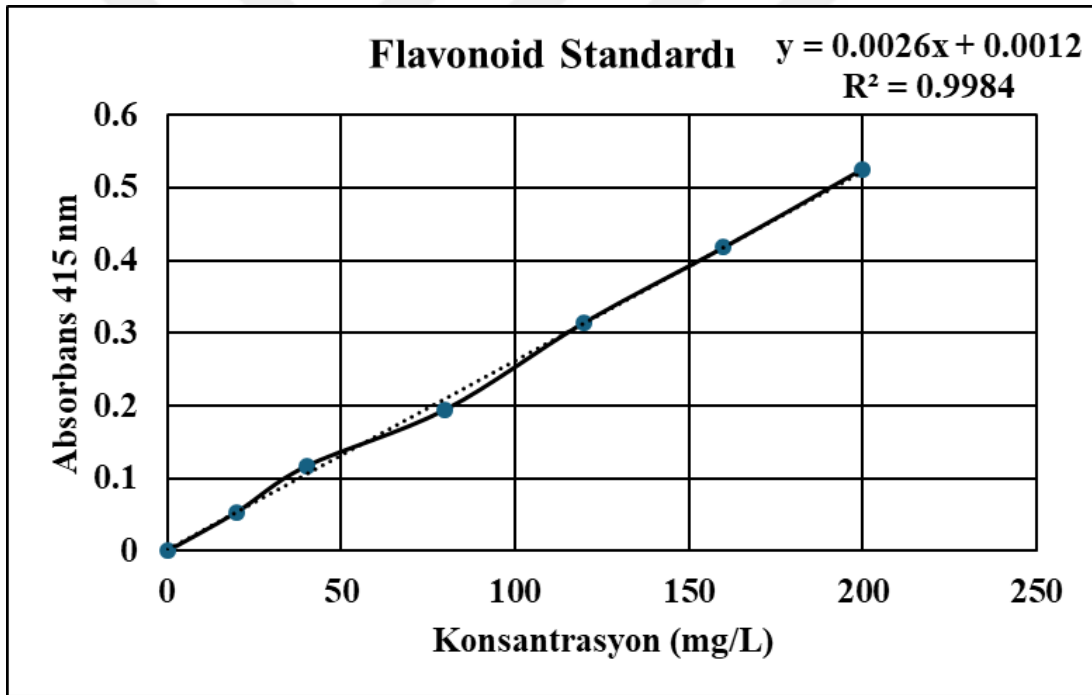


7.6. Flavonoid Analizinde Kullanılan Çözeltiler

NaNO₂ Çözeltisi (%5): 5 g NaNO₂ hacmi 100 mL olacak şekilde saf su ilavesi ile hazırlanmıştır.

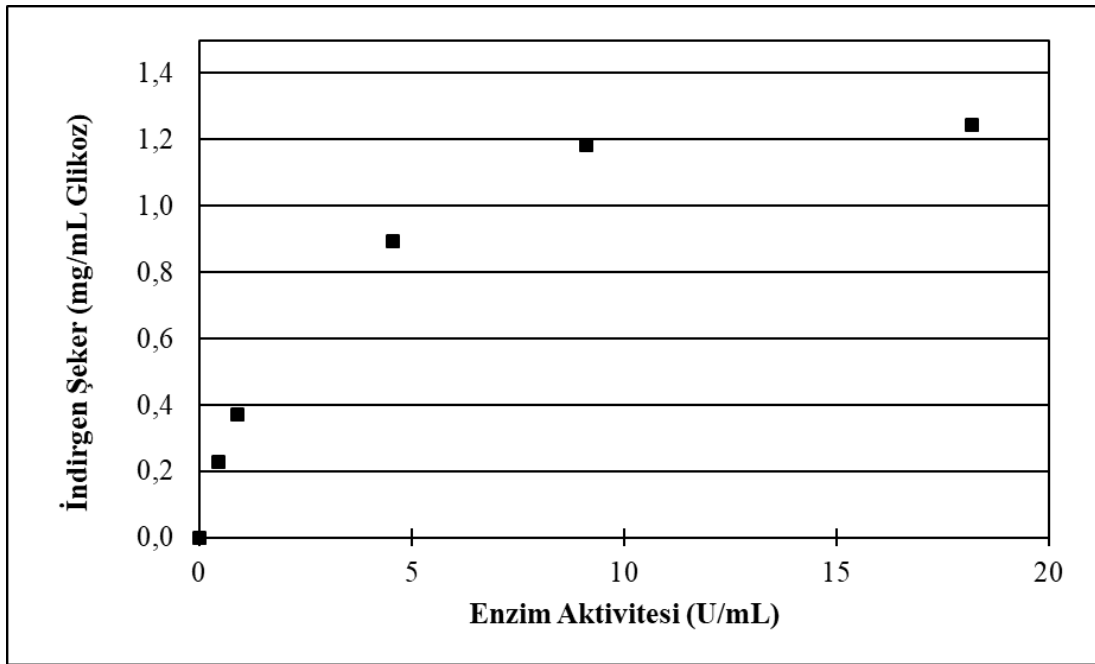
NaOH Çözeltisi (1 M): 4 g NaOH hacmi 100 mL olacak şekilde saf su ile çözündürülmüştür.

Kuercetin Çözeltisi (200 mg/L): 20 mg kuercetin hacmi 100 mL olacak şekilde saf su ile hazırlanmıştır.



7.7 Alfa Amilaz İnhibitör Aktivitesi Testinde Kullanılan Enzimin Hazırlanması

α -Amilaz (*pankreatik*) enzimi: 0.02 g α -amilaz (*pankreatik*) enzimi 10 mL sodyum fosfat (20 mM, pH 6.9) tamponu içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır.



8. ÖZGEÇMİŞ

