

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**NAR KABUĞUNDAN ENZİM VE ULTRASON DESTEKLİ
EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE FENOLİK
MADDE VE PEKTİN ELDE EDİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Zeynep Merve KAHVECİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

HAZİRAN 2022

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**NAR KABUĞUNDAN ENZİM VE ULTRASON DESTEKLİ
EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE FENOLİK
MADDE VE PEKTİN ELDE EDİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Zeynep Merve KAHVECİ
(506191514)**

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Derya KAHVECİ KARINCAOĞLU

HAZİRAN 2022

İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 506191514 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Zeynep Merve KAHVECİ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “NAR KABUĞUNDAN ENZİM VE ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE FENOLİK MADDE VE PEKTİN ELDE EDİLMESİ” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Derya KAHVECİ KARINCAOĞLU**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Esra ÇAPANOĞLU GÜVEN**
İstanbul Teknik Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Merve TOMAŞ
İstanbul Sabahattin Zaim Üniversitesi

Teslim Tarihi : 25 Mayıs 2022
Savunma Tarihi : 15 Haziran 2022



ÖNSÖZ

Öncelikle, tüm yüksek lisans eğitimim ve tez çalışması döneminde desteğini benden esirgemeyen, her konuda yol gösterici olan değerli hocam Doç. Dr. Derya KAHVECİ KARINCAOĞLU'na tüm katkıları ve her zaman yanımda olduğu için teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarım süresince yardımını hiçbir zaman esirgemeyen Ar. Gör. Duygu CEYLAN'a ve moral desteğini, fikirlerini ve yardımlarını esirgemeyen Beyza VAHAPOĞLU'na teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitim hayatımda her zaman yanımda olan ve ilgilenen sevgili ailem ve eşime teşekkür ederim.

MYL-2021-42862 kodlu bu çalışma İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.

Mayıs 2022

Zeynep Merve KAHVECİ
(Gıda Mühendisi)



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR	ix
SEMBOLLER	xi
ÇİZELGE LİSTESİ.....	xiii
ŞEKİL LİSTESİ.....	xv
ÖZET	xvii
SUMMARY	xix
1. GİRİŞ	1
1.1. Tezin Amacı	1
1.2. Literatür Taraması	1
1.2.1. Gıda atıklarının değerlendirilmesi	1
1.2.2. Fenolik madde.....	4
1.2.3. Pektin	6
1.2.4. Enzim destekli ekstraksiyon.....	8
1.2.5. Ultrason destekli ekstraksiyon	9
1.2.6. Gıda atıklarından bileşen eldesinde enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon uygulamaları.....	11
1.2.7. Nar endüstrisi atıkları ve değerlendirilme yöntemleri	15
1.3. Hipotez	16
2. MATERYAL VE METOD.....	17
2.1. Materyal	17
2.2. Metot	17
2.2.1. Nar kabuğundan enzimatik ve ultrason ön işlem ile fenolik madde ekstraksiyonu.....	17
2.3. Nar Kabuğundan Enzimatik ve Ultrason Ön İşlem ile Pektin Ekstraksiyonu.....	20
2.4. Ekstraktın Karakterizasyonu	21
2.4.1. Folin-ciocalteu metodu ile toplam fenolik madde konsantrasyonunun belirlenmesi	21
2.4.2. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi	22
2.4.2.1. CUPRAC metodu.....	22
2.4.2.2. DPPH metodu	23
2.5. HPLC ile Fenolik Profilin Belirlenmesi	24
2.6. Pektinin Karakterizasyonu	24
2.6.1. Esterleşme derecesi tayini	24
2.6.2. Galakturonik asit konsantrasyonu	24
2.7. İstatistiksel Analiz	25
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	27
3.1. Nar Kabuğundan Fenolik Madde Ekstraksiyonu İçin Enzim ve Ultrason Ön İşlemlerinin Uygulanması	27

3.2. Optimum Koşullarda Enzimatik Ön İşlem Sonrası Ekstraksiyon ile Elde Edilen Ekstraktın Karakterizasyonu	31
3.2.1. Antioksidan aktivite	31
3.2.2. Optimum koşullarda elde edilen ekstraktın fenolik madde profili.....	32
3.3. Fenolik Madde Ekstraksiyonu Sonrası Kalan Nar Kabuğundan Pektin Elde Edilmesi.....	34
3.4. Optimum Koşullarda Ultrason Ön İşlemi sonrası Elde Edilen Pektinin Karakterizasyonu	36
4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	39
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	53



KISALTMALAR

Atm	: Atmosfer Basıncı
CUPRAC	:Bakır İndirgeyici Antioksidan Kapasite (Cupric Reducing Antioxidant Capacity)
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
g	: Gram
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
K	: Kelvin
kHz	: Kilohertz
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
MPa	: Mega Paskal
nm	: Nanometre
nmol	: Nanomol
rpm	: Dakikada Devir Sayısı (Round Per Minute)
TE	: Troloks Eşdeğeri
W	: Watt
µL	: Mikrolitre



SEMBOLLER

%	: Yüzde
Na₂CO₃	: Sodyum Karbonat
CuCl	: Bakır Klorür
NH₄Ac	: Amonyum Asetat
HCl	: Hidrojen Klorür
NaOH	: Sodyum Hidroksit
H₂SO₄	: Mililitre



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

- Çizelge 1.1:** Gıda atıklarından pektin ve fenolik madde eldesinde kullanılan kaynaklar, elde edilen bileşenler ve metotlar. **12**
- Çizelge 2.1:** Enzimatik ön işlem sırasında kullanılacak optimum katı sıvı oranı ve enzim konsantrasyonunu belirlemek için kullanılacak olan faktöriyel dizayn. **20**
- Çizelge 2.2:** Pektin ekstraksiyonu sırasında kullanılacak optimum katı sıvı oranı ve ultrason süresini belirlemek için kullanılacak olan faktöriyel dizayn. **21**
- Çizelge 3.1:** Nar kabuklarına enzimatik ve ultrason ön işlem uygulanması sonrası etanol ile fenolik madde ekstraksiyonu sonuçları (GAE mg/g). **27**
- Çizelge 3.2:** Farklı katı sıvı oranı ve enzim konsantrasyonları sonucunda enzimatik ön işleme ve etanol ile ekstraksiyon sonucu elde edilen fenolik madde oranları ve pektin verimleri. **30**
- Çizelge 3.3:** Enzimatik ön işlem uygulanarak ve uygulanmadan elde edilen ekstrakta ait fenolik madde konsantrasyonu ve antioksidan aktivite sonuçları. **31**
- Çizelge 3.4:** 1:40 katı sıvı oranı ve %6 enzim konsantrasyonu ile 1:40 katı sıvı oranı ve enzim ilavesiz koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen fenolik maddeler ve konsantrasyonları. **34**
- Çizelge 3.5:** Ultrason destekli ve desteksiz olarak asit çözeltisinde ekstraksiyon sonucu pektin verimi. **35**
- Çizelge 3.6:** Farklı katı sıvı oranları ve ultrason ön işlem süreleri ile elde edilen pektin verimleri. **35**
- Çizelge 3.7:** 1:20 katı sıvı oranı ve 45 dk ultrason işlemi sonucunda elde edilen pektin ile ultrason ön işleme yapılmadan elde edilen pektinin esterleşme derecesi ve galakturonik asit konsantrasyonu. **37**



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 1.1:** Punikalajin (a), gallik asit (b) ve ellagik asitin (c) molekül yapıları. 4
- Şekil 1.2:** Yüksek ve düşük metoksilpektinlerin molekül yapısı. 7
- Şekil 1.3:** Ultrasonun azalıp çoğaldığı durumlarda hücrelerin genişip daralması yani kavitasyonun mekanizması. 10
- Şekil 2.1:** A) Enzimatik ön işlem sonrası karışım. B) Enzimatik ön işlem sonrası karışıma etanol ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırılması. C) Ekstraksiyon sonu ekstraktın katı fazdan ayrılması. D) Çöken pektinin ayrılmış ve liyofilizatörde kurutulmuş hali. 19
- Şekil 2.2:** A) Santrifüj sonrası ayrılan pektin fraksiyonuna etanol ilave edilmesi. B) Karışımın 4°C sıcaklıkta bekletildikten sonra pektinin çökmesi. 20
- Şekil 2.3:** Farklı konsantrasyonlardaki gallik asit solüsyonlarının 765 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi. 22
- Şekil 2.4:** Farklı konsantrasyonlardaki trolox solüsyonlarının 450 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi. 23
- Şekil 2.5:** Farklı konsantrasyonlardaki trolox solüsyonlarının 517 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi. 23
- Şekil 2.6:** Farklı konsantrasyonlardaki galakturonik asit solüsyonlarının 525 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi. 25
- Şekil 3.1:** A) 1:40 katı sıvı oranı ve %6 enzim konsantrasyonu ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen fenolik madde profili b)1:40 katı sıvı oranı ve enzim ilavesiz koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen fenolik madde profili. 33
- Şekil 3.2:** Deney akışı ve elde edilen sonuçlar. 38



NAR KABUĞUNDAN ENZİM VE ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE FENOLİK MADDE VE PEKTİN ELDE EDİLMESİ

ÖZET

Günümüzde, gıda kaynaklarının azalması, nüfusun hızla artışı gibi sebeplere bağlı olarak gıda atıklarının azaltılması ve atıklardan katma değeri yüksek bileşenlerin geri kazanımı önem kazanmaktadır. Geri kazanım alanında metotların geliştirilmesi ile birlikte, sürdürülebilir ve çevre dostu üretim kavramları da gündeme gelmeye başlamıştır. Çevre dostu metotlar arasında yer alan enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon; çözügen kullanımını azaltarak, daha az enerji sarfiyatı sağlayarak ve verimi artırarak fayda sağlamayı amaçlamaktadır. Meyve sebzeler gıda atıklarının büyük bir çoğunluğunu oluşturduğu için geri kazanım konusunda pek çok çalışmaya konu olmaktadır. Nar kabuğu, meyvenin yaklaşık yarısını oluşturması ve değerli bileşenler bakımından zengin olması ile bu çalışmada tercih edilmiş; endüstriyel nar suyu üretiminden arta kalan nar kabuğundan fenolik madde ve pektin ekstraksiyonu için enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak optimum koşullar belirlenmiştir.

Öncelikle, enzimin hücre duvarını parçalaması özelliğinden faydalanılarak nar kabuğundan fenolik madde ekstraksiyonu için optimum enzim ön işlem süresi 60 dk, sonrasında etanol ile ekstraksiyon süresi ise 30 dk olarak belirlenmiştir. Çeşitli katı:sıvı oranı ve enzim konsantrasyonu seviyelerinde yapılan ekstraksiyon sonucunda, optimum katı sıvı oranı 1:40, enzim konsantrasyonu %6 (%v/m) olarak belirlenmiştir ve bu koşullarda $329,5 \pm 37,8$ mg GAE/g fenolik madde konsantrasyonu elde edilmiştir. Belirlenen bu optimum koşullarda elde edilen fenolik maddelerin profili HPLC ile çıkarılmış, baskın olarak punikalajin, gallik asit, ellagik asit ve (-)-apigallokateşin içerdiği tespit edilmiş ve antioksidan aktivite CUPRAC ve DPPH metotları ile tayin edilerek sırasıyla $3108,5 \pm 303$ mg TE/g ve $1586 \pm 15,9$ mg TE/g olarak tespit edilmiştir. Elde edilen fenolik madde verimi ve antioksidan aktivitesinin enzim kullanılmayan klasik yöntemle kıyasla daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Projenin amacı çevre dostu bir metotla birden çok fraksiyonda geri kazanımı sağlamak olduğu için, fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleştirildikten sonra kalan nar kabuğundan pektin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ultrason kullanımının kavitasyon etkisi ile hücre duvarını parçalayarak verimi artırdığı tespit edilmiş ve yapılan optimizasyon çalışmasında 1:20 katı sıvı oranı ve 45 dk süre ile gerçekleştirilen ultrason ön işlem sonucunda $3,7 \pm 0,002\%$ ile maksimum verim elde edilmiştir. Elde edilen pektinin karakterizasyonu için galakturonik asit oranı ve esterleşme derecesi analiz edilmiştir. $18,2 \pm 1,4$ galakturonik asit oranı ve $74 \pm 0,07$ esterleşme derecesi elde edilmiş; yüksek metoksipektin olduğu ve şeker varlığında jelleşebileceği tespit edilmiştir. Bu kriterlere bakıldığında, geleneksel metot ile direkt olarak nar kabuğundan elde edilen pektine kıyasla önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür.

Çalışma sonucunda, enzim ve ultrason ile ön işlem uygulamasının fenolik madde ve pektin verimini artırabileceği tespit edilmiştir.



ENZYME AND ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND PECTIN FROM POMEGRANATE PEEL

SUMMARY

Food waste refers to decrease in the quality and amount of food after reaching final consumer while food loss refers to decrease in the amount of food during production, transportation and storage. Nowadays, accesabilty to safe food becomes more important and depending on the reasons such as the decrease in food resources and the rapid increase in the population, taking precaution, reducing food waste and recycling high value-added components from waste become an significant issue.

In order to take precaution, there are different initiatives in different countries to increase consciousness about the reasons of food waste, possible solutions and advices. Since waste of food also refers to the waste of sources like electric and water which is used during the production of wasted food, it is also important to decrease food waste to preserve sources. However, reuse of waste is still necessary for the remaining waste. There are different methods for the recycling of the food waste and continue to be developed with the increasing importance of this issue. With the development of methods in the field of recycling, the concepts of sustainable and environmentally friendly production began to become more important.

Enzyme and ultrasound assisted extraction, which are among the environmentally friendly methods; aim to provide benefits by reducing solvent usage, providing less energy consumption and increasing efficiency. Food wastes contain different type of valuable substances according to their types. Pectin and phenolic compounds are two important compounds that can be extracted from food waste by this environmentally friendly methods. Commonly used methods to extract pectin and phenolic compounds are conventional extraction, supercritic fluid extraction, high pressure extraction, ultrasound assisted extraction, microwave assisted extraction and enzyme assisted extraction.

Since fruits and vegetables constitute the majority of food waste, they are the subject of many studies on recycling. Citrus peel, apple peel, carrot residue and grape peel are common examples that are used in many studies. Pomegranate peel was preferred in this study because it constitutes about half of the fruit and is rich in valuable components like pectin and phenolic compounds; optimum conditions were determined by using enzyme and ultrasound assisted extraction methods for phenolic substance and pectin extraction from pomegranate peel remaining from industrial pomegranate juice production.

In this study, it is planned to obtain higher efficiency than the conventionel method in the extraction of phenolic substance and pectin from the pomegranate peel, using enzymes and ultrasound assisted method and an improvement is expected in the quality parameters measured by the antioxidant activity of the obtained phenolic substance and the degree of esterification of pectin and galacturonic acid

concentrations. There are studies in literature that are about extraction of phenolic compounds and pectin from pomegranate peel but there is no study about extraction of both compounds at once.

First of all, enzyme pretreatment was applied to pomegranate peel for 60 minutes at 50°C. Celluclast enzyme which contains cellulase was used to degrade cellulosic cell wall structure. Then, the mixture was waited in boiled water for 10 minutes to deactivate enzyme. After it was cooled down to room temperature, equal volume of ethanol with water was added. It was mixed for 30 minutes. During enzyme pretreatment and extraction with ethanol, 1 ml sample is collected after 10, 20, 30 and 60 minutes. The same procedure was applied when ultrasound pretreatment was applied by itself and with enzymatic pretreatment.

According to phenolic substance analysis results of these samples, decision to apply enzyme or ultrasound pretreatment was made and optimum time for enzymatic pretreatment and extraction with ethanol was determined. Maximum phenolic substance was obtained with use of ethanol pretreatment and ultrasound pretreatment. Since the difference between results for enzymatic pretreatment and ultrasound pretreatment was very low and they were both higher than the combination of two pretreatments, in order to reduce energy consumption, it was decided to apply only enzymatic pretreatment. By this decision, advantage of the enzyme's ability to break down the cell wall was taken. Moreover, lower yield or no detectable increase was observed when pretreated with ultrasound because increase of temperature and pressure around cavity, which was formed as a result of ultrasound caused decrease in phenolic compounds. The optimum enzyme pretreatment time for phenolic substance extraction from pomegranate peel was determined as 60 minutes because phenolic substance concentration increased with time and the extraction time with ethanol was determined as 30 minutes. Although there was a little decrease in phenolic substance concentration, 30 minutes was chosen because decrease was very low and it was seen in the literature that generally, phenolic substance concentration increases with increasing time. To determine optimum extraction conditions, 1:10, 1:25, 1:40 solid-liquid ratios and 2, 6, 10% enzyme concentrations were used. As a result of the extraction at various solid:liquid ratio and enzyme concentration levels, the optimum solid-liquid ratio was determined as 1:40, enzyme concentration was determined as 6% (v/w). It was observed that phenolic substance concentration increases with increasing solid-liquid ratio. It was also seen that increase in the concentration of enzyme affected results to a certain level due to limited substrate. Under determined optimum conditions 329.5±37.8 mg GAE/g phenolic compound concentration has been obtained as the maximum. It was seen that phenolic compound concentration was higher when enzyme was used compared to unused.

Antioxidant activity of extract at optimum conditions was determined with CUPRAC and DPPH methods. Antioxidant activity was determined as 3108.5±303 mg TE/g by CUPRAC method and 1586±15.9 mg TE/g by DPPH method. When enzyme was no used, 1327,4±58,5 and 951,8±69,9 TE/g antioxidant activity were obtained relatively. It was determined that the obtained antioxidant activity were higher than the classical method without using enzymes because cell wall was broken down by enzyme application and antioxidant activity increased with increase in components indicating antioxidant activity.

The profile of the phenolic compounds obtained under these optimum conditions was determined by HPLC, it was determined that the extract contain predominantly punicalagin, gallic acid, ellagic acid and (-)-apigallocatechin. Punicalagin had the highest concentration among the others. A greater variety of phenolic substances were obtained by enzyme assisted extraction, and the same ones were detected in higher concentrations compared to conventional method.

Since the aim of the project was to recover multiple fractions with an environmentally friendly method, pectin was extracted from the remaining pomegranate peel after the phenolic substance extraction was carried out. Pectin was extracted from the remaining peel in 1% citric acid solution at 80 °C for 60 minutes. Then the mixture was cooled down to room temperature and then equal volume of ethanol with water was added. Pectin was precipitated at 4 °C for 60 minutes. The same procedure was applied after ultrasound pretreatment at 80 °C for 60 minutes . 3±0,006% pectin yield was obtained with ultrasound pretreatment while 2±0,006% pectin yield was obtained with conventional method. It was decided to apply ultrasound pretreatment due to its cavitation effect which was resulted in break down of cell wall and release of pectin molecules easily.

In the optimization study, 1:10, 1:20, 1:30 solid-liquid ratio and 15, 30, 45 minutes ultrasound pretreatment times were applied. Not too long durations were chosen because long time application of ultrasound may results in hydrolysis of pectin molecules and decrease in the pectin yield. The maximum pectin efficiency of 3.7±0.002% was obtained as a result of the ultrasound pretreatment carried out with 1:20 solid-liquid ratio for 45 minutes. Increase of solid-liquid ratio to a certain level and increase in ultrasound pretreatment time affected pectin yield in a positive direction. However, when pectin was extracted directly from pomegranate peel %13 pectin yield was obtained. Precipitated pectin was collected during phenolic substance extraction but total amount of yield showed that a part of pectin was lost during phenolic substance extraction.

For the characterization of the obtained pectin, galacturonic acid ratio and degree of esterification were analyzed. These criteria are important to determine gel properties of pectin. Galacturonic acid concentration of 18.2±2% and an esterification degree of 74±0.07% were obtained. It has been determined that it is high methoxypectin, can gel at low pH and in the presence of sugar due to its degree of esterification. When these criteria were examined, it was seen that there was no significant difference compared to the pectin obtained directly from the pomegranate peel with the traditional method. Galacturonic acid concentration of obtained pectin is lower than the galacturonic acid concentration of pectin obtained with citric acid solution.

As a result of this study, it was determined that pretreatment with proper enzyme may increase the yield of phenolic compound concentration and therefore antioxidant activity. However, pectin yield was less than expected due to loss during phenolic compound extraction. Due to decrease in the yield of pectin, galacturonic acid concentration was also decreased. Nevertheless, degree of esterification was found very similar to pectin obtained directly from pomegranate peel.

All in all, high sensitivity of the obtained compounds makes it difficult to implement this type of process on a large scale production. However, due to increasing demand, sustainability and environmental concerns, recycling with environmentally friendly methods will become more important. Based on the findings obtained in this study,

studies can be carried out to obtain valuable compounds with higher yield or better quality characteristics.



1. GİRİŞ

1.1. Tezin Amacı

Sürdürülebilirliğin ve güvenilir gıdaya olan ihtiyacın giderek arttığı günümüzde, atıkların değerlendirilmesi konusu önem kazanmaktadır. Bu doğrultuda, nar meyvesi neredeyse yarısı kabuktan oluştuğu için değerlendirme konusunda önemli bir meyvedir ve içerdiği fenolik bileşenler ve pektin oranı ile de değerlidir. Bu çalışmada, nar suyu endüstrisinin atığı olan nar kabuğundan fenolik maddeler ve pektinin elde edilmesi için enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri ile çevre dostu bir metot geliştirilmesi amaçlanmaktadır.

1.2. Literatür Taraması

1.2.1. Gıda atıklarının değerlendirilmesi

Gıda atığı, gıdanın tüketiciye ulaşırken ve ulaştıktan sonra tüketicide kalitesi ve miktarındaki düşüşü ifade ederken; gıda kaybı, üretim, sevkiyat, satış gibi tüketiciden önceki aşamalarda meydana gelen azalmayı ifade etmektedir (FAO, 2011). Gelişen ve büyüyen dünyada; endüstrileşme, şehirleşme ve nüfus artışının bir sonucu olarak tüketim artmakta ve bu da üretimdeki artışı tetiklediğinden dolayı atık oluşumunda da artış kaçınılmaz olmaktadır. Gıda kayıp ve atıklarının sebeplerine örnek olarak hasatta meydana gelen kayıplar, uygunsuz sevkiyat koşulları, proses sırasında kontaminasyon, restoranlardaki tabak kayıpları verilebilir (Thyberg & Tonjes, 2016). FAO verilerine göre, 2011 yılında üretilen gıdaların 1/3'ü kayıp veya atık olmaktadır ve dünyada, yaklaşık 800 milyon kişi açlık ve yetersiz beslenmeden mustarıptir (FAO, 2011, 2017). 2019 yılında ise toplam 931 milyon ton gıdanın israf olduğu tahmin edilmektedir (FAO, 2021). 2050 yılına kadar, nüfustaki artışın ve talebin neredeyse iki katına çıkması beklenmektedir (Accorsi & Manzini, 2019). Buna ek olarak, günümüzde, değişen trendler ile sağlıklı, sürdürülebilir ve güvenilir gıdaya olan talep artmaktadır. Taleplerdeki artışlar ve değişiklikler; iklim değişikliği, enerji gereklilikleri, sürdürülebilirlik, atık oluşumu, ekonomi gibi birçok alanda ciddi

tehditler oluşturmaktadır (Vittuari ve diğ., 2019). Ayrıca bu artışlar, su, arazi ve enerji gibi kaynakların yoğun kullanımı ile birlikte gelecekte gıda üretiminin öngörülemez ve zor bir hale gelmesine sebep olacaktır (Garnett, 2014; Godfray et al., 2010). Aynı zamanda, gelecek dönemlerde gıda güvencesi, yani güvenli gıdaya ulaşılabilirlik de göz önüne alındığında kayıp ve atık oluşumunun sebeplerinin belirlenmesi, önlenmesi ve yeniden değerlendirilmesi önem arz etmektedir. Günümüzde, dünya nüfusunun %11'inin güvenilir gıdaya ulaşımının olmadığı göz önüne alındığında, durumun ciddiyeti daha iyi anlaşılmaktadır (FAO, 2015). Bu durumda yapılması gereken daha az çevre etkisi olan ancak besin değeri daha iyi gıdalar üretecek şekilde sistemi değiştirmektir (Garnett, 2014). Gıda atığı ve kaybı, sadece gıdanın değil aynı zamanda gıda üretirken kullanılan su, elektrik ve enerjinin de kayıp olması anlamına gelmektedir. Bu sebeple atıkların azaltılması ile ilgili yapılan çalışmaların yanı sıra atıkların değerlendirilmesi, gıda bileşeni olarak kullanılması alanlarında pek çok çalışma yapılmaktadır.

Avrupa Birliği 2008/98/EC sayılı Atık Çerçeve Direktifi; önleme, yeniden kullanıma hazırlanma, geri dönüşüm, geri kazanım ve bertaraf adımlarından oluşan atık yönetimi hiyerarşisini önermektedir (Eurpoean Comission, 2008). Benzer bir konsept ile, Belçika'da bulunan bir atık yönetim şirketi daha ayrıntılı bir gıda atığı yönetimi hiyerarşisi önermektedir: Önleme, insan beslenmesi için kullanım, insan beslenmesi için dönüşüm, hayvan yemi için kullanım, sanayide hammadde olarak kullanım, anaerobik çürütme veya kompostlaştırma yoluyla gübre haline getirme, yenilenebilir enerji olarak kullanım, yakma ve atık gömme (Roels & Gijseghem, 2011).

Önleme adına yapılan çalışmalar ne kadar etkili olursa olsun atık oluşumunu sıfıra indirememekte ve ortaya çıkan atıkların geri dönüşümü ve geri kazanımı gerekmektedir. Ortaya çıkan gıda atıklarının değerlendirilmesi adına pek çok farklı metod mevcuttur ve geliştirilmeye devam etmektedir. Gıda atıkları, tipine göre protein, karbonhidrat, yağ, mineraller vb. bileşenler açısından zengindirler. Bu bileşenlerin ekstraksiyonu ve daha sonrasında üretime entegre edilmesi ile sürdürülebilir bir üretim sağlanabilmektedir. Kaynakların hızla tükendiği göz önüne alındığında bu çalışmalar yüksek önem taşımaktadır. Örneğin; kabuk, posa ve çekirdek gibi turunçgil atıkları uçucu yağlar, antioksidanlar ve diyet lifleri açısından zenginlerdir (González-Miquel & Díaz, 2020). Yapılan çalışmalar ile çeşitli turunçgillerin kabuklarından pektin, antioksidan ve uçucu yağların ekstrakte

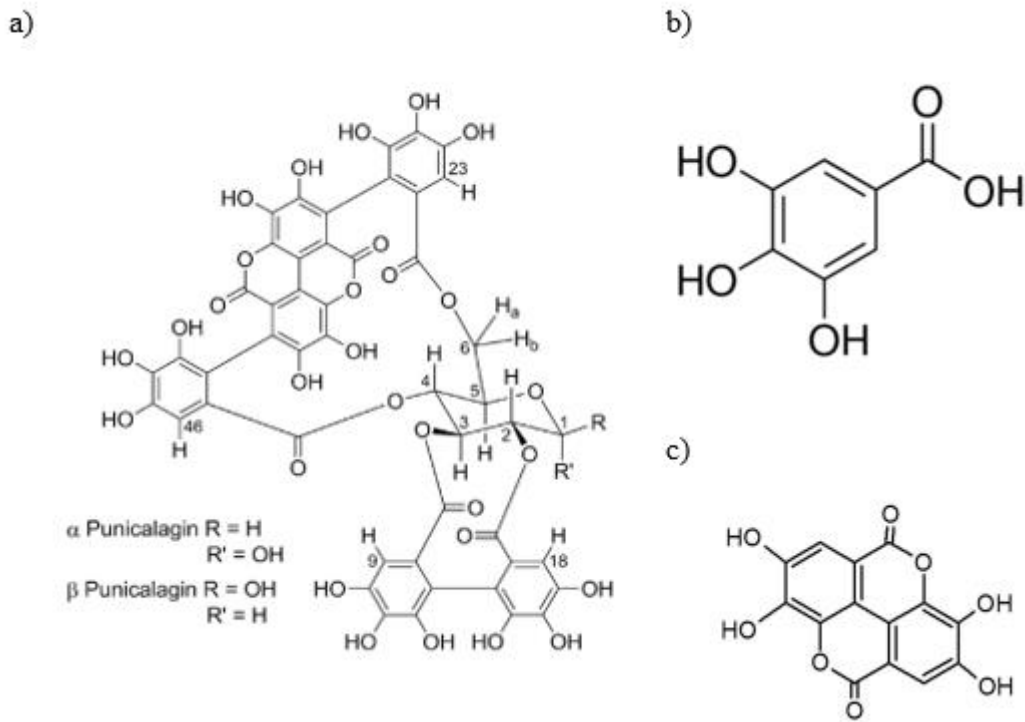
edilebildiği; kalan atıklardan ise biyogaz, kompost, hayvan yemi elde edilebildiği görülmüştür (González-Miquel & Díaz, 2020). Elde edilen fonksiyonel bileşenler kıvam artırma, antioksidan, tat ve koku verici gibi amaçlar ile gıdaların üretiminde kullanılabilir. Gıda yan ürünlerinden elde edilen polifenoller veya karetenoidler gibi bileşenlerin antioksidan aktivitesi yüksek ise diyabetik bireylerin tüketebileceği fonksiyonel gıdalarda kullanılabilir öngörülmüştür (Gómez-García ve diğ., 2020). Ekstrakte edilen bileşenlerin gıdalardaki fonksiyonelliğini ölçmek adına çeşitli analizler de yapılmaktadır. Örneğin şekilleri sebebi ile satışı gerçekleştirilmeyen havuçlarda yapılan bir çalışmada; ultrason ve enzim destekli ekstraksiyon ile pektin elde edilmiş, renk ve reolojik özellikleri incelenmiş, sonuçlar doğrudusunda gıda katkı maddesi olarak kullanılabilirine karar verilmiştir (Encalada ve diğ., 2019).

Atıklardan hangi yol ile fayda sağlanacağına karar verilirken elde edilen verim ve çevreye etkisi göz önüne alınmalıdır. Örneğin; yapılan bir çalışmada gıda atıklarından sıcaklık ve elektrik üretimi ile hayvan yemine dönüşümünün etkileri karşılaştırılmış ve hayvan yemine dönüşümünün daha fazla çevresel kazancı olduğu görülmüştür (Vandermeersch ve diğ., 2014).

Gıda atıklarının azaltılması için bireysel ve toplu olarak aksiyonlar alınması gerekmektedir. Bu doğrultuda, gıda atıklarının azaltılması, yani problemin kaynağına inerek önlem almak adına bazı hükümet politikaları geliştirilmiş ve bazı girişimlerde bulunulmuştur. Örneğin Avrupa Birliği tarafından başlatılan ve 13 ülkenin dahil olduğu FUSION isimli projede kaynakların daha verimli bir şekilde kullanılması hedeflenmiştir. Buna benzer olarak yürütülen programlara örnek olarak İngiltere’de “Love Food Hate Waste”, Barilla’nın yürüttüğu Milano Protokolü, İspanya’da “More Food Less Waste” verilebilir. Girişimlerin ve programların temel amaçları atık oluşumu hakkında insanlarda ve sektörde farkındalık yaratmak, alınabilecek önlemler hakkında bilgi ve eğitimler verme, aksiyonlar konusunda teşvik yaratmak ve sistemler geliştirmeyi sağlamaktır. Ek olarak, Türkiye’nin de dahil olduğu Birleşmiş Milletler Kalkınma Programı (UNPD) kapsamında Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri belirlenmiş ve bu hedeflerden biri “Açlığa Son” olarak belirtilmiştir (UNPD, 2015). 2030’a kadar hedeflerin tamamlanması için çağrı yapılmış olmakla birlikte önceki bahsedilen girişimler bu programın amacını desteklemektedir.

1.2.2. Fenolik madde

Fenolik maddeler, bir veya daha fazla hidroksil ile aromatik halkaya sahip olan genellikle bitkilerde bulunan ikincil metabolitlerdir (Heras-Roger ve diğ., 2017). Bitkilerde pigmentasyon, UV ışığına, böceklere ve insektlere karşı koruma görevi üstlenmektedirler (Caleja et al., 2017; Durazzo et al., 2019). Flavanoidler, tanninler, kumarin, stilbenler ve fenolik asitler fenolik maddelerin alt sınıflarıdır. Punikalajin, gallik asit, ellagik asit fenolik maddelere örnek olarak verilebilir ve molekül yapıları Şekil 1.1'deki gibidir (Oudane et al., 2017; Yalcin et al., 2018; Zeng et al., 2019). Fenolik maddelerin yüksek miktarda bulunduğu gıdalara örnek olarak kakao, çay, zeytinyağı, şarap ve çeşitli meyveler verilebilir (Durazzo et al., 2019). Son zamanlarda, olumlu sağlık etkileri ile fenolik maddeler pek çok araştırmaya konu olmaktadır.



Şekil 1.1: Punikalajin (a), gallik asit (b) ve ellagik asitin (c) molekül yapıları.

Fenolik maddeler antioksidan özellikleri ile bilinmektedir çünkü serbest radikaller ile elektron ve/veya atom paylaşarak oksidasyon zincir reaksiyonunu bozmaktadırlar (Albuquerque ve diğ., 2021). Bahsedilen bu oksidasyon reaksiyonları kanser, kalp-damar hastalıkları, ateroskleroz, nörolojik bozukluklar, hipertansiyon ve diyabet gibi ciddi sağlık problemlerine yol açabilmektedir (Cristina Caleja, Andreia Ribeiro, Maria Filomena Barreiro, 2017; Durazzo ve diğ., 2019). Bu nedenle fenolik madde

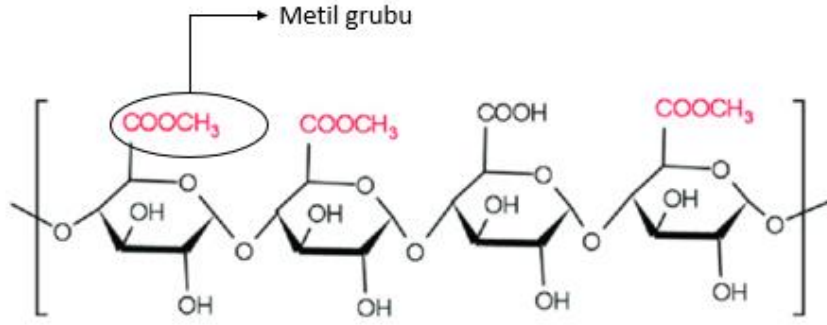
kullanımı bu sağlık problemlerini önlemede önemli bir adım olup; fonksiyonel gıdalar ve nütrasötiklerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Fenolik maddeler bakımından zengin bir diyet ile beslenen kişilerde kalp-damar hastalıkları, enflamatuar kardiyovasküler, hipertansiyon, diyabet, obezite ve kanser risklerini belli oranda düşürdüğü gözlenmektedir (Durazzo ve diğ., 2019). Gıdalarda bulunan fenolik maddelerin ise hücre yapısına zarar verme mekanizması ile mantar oluşumunu önleyici ve antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir (Martins ve diğ., 2015; Mocanu, Gabriel-Dănuț, Constantin, 2018). Bunlara ek olarak; fenolik maddeler gıda endüstrisinde koruyucu, antioksidan ve doğal renklendirici olarak da kullanılabilir (Albuquerque ve diğ., 2021). Fenolik maddeler bitkilerin metabolik aktiviteleri sonucu üretildikleri için, elde edilmesi için buldukları bitkilerden ekstrakte edilmeleri gerekmektedir. Bunun için farklı yöntemler bulunmaktadır: klasik çözücü ekstraksiyonu, enzim destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve bunların kombinasyonları. Limon balsamı, pirinç kepeği ve Arbutus Unedo yaprağında klasik çözücü ekstraksiyonu metodu uygulanırken, nar kabuğu, elma kabuğu ve turunçgillerde enzim destekli ekstraksiyon, yerli asmada ultrason ve kullanılmış kahve çekirdeği ile enginarıda mikrodalga destekli ekstraksiyon metotlarının uygulandığı görülmüştür. (Alexandre ve diğ., 2019; Casazza ve diğ., 2010; Coelho ve diğ., 2021; Martillanes ve diğ., 2021; Pinelo ve diğ., 2008; S. & D., 2021; Tülek ve diğ., 2021). Klasik çözücü ekstraksiyonunun artık çalışmalarda daha az yer aldığı, yerini daha çok çevre dostu yani çevreye zararlı etkisi azaltılmış veya tamamen ortadan kaldırılmış ve yeni teknoloji metotlara bıraktığı, genellikle karşılaştırma amacı ile bu metodun denendiği görülmektedir. Ekstraksiyon koşullarına bakıldığında ise; fenolik maddelerin düşük pH değerlerinde daha yüksek verimde ekstrakte olduğu görülmüştür. Bunun nedeni asidik çözeltilerin hücre duvarını daha iyi parçalaması ve bileşenlerin salınımını kolaylaştırmasıdır (González-De-peredo ve diğ., 2021). Genellikle, enzim kullanılmayan durumlarda 70-80°C sıcaklık aralıklarında verimin maksimumda olduğu görülmektedir (Kayahan & Saloglu, 2021; Tülek ve diğ., 2021) Enzim kullanıldığında ise enzimin protein yapısının denatüre olabileme riskinden dolayı daha düşük sıcaklık koşulları tercih edilmektedir.

1.2.3. Pektin

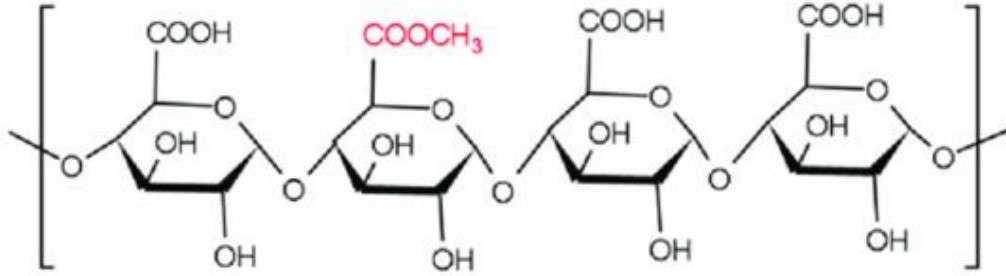
Pektinler bitkilerin hücre duvarlarında bulunan kompleks polisakkaritlerdir (Thakur ve diğ., 2009). Bu bileşikler, hücre kuru ağırlığının üçte birini oluşturur ve büyük çoğunluğu orta lamelde bulunur; sıklıkla yapısal bir işlev gösteren selüloz, hemiselüloz ve lignin gibi bileşiklerle ilişkilidirler (Bush, 2014). Bitkilerde esnekliği sağlaması ve suyun transferine ek olarak; sinyalizasyon, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve hücre adezyonu gibi biyolojik görevler de üstlenmektedir (Ciriminna ve diğ., 2015; Thakur ve diğ., 2009). Pektin suyu hapsederek jelleşme özelliği ile bilinir ve kıvam artırıcı ile stabilizör görevi ile gıdalarda katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisi dışında, pektin kalp hastalığını ve safra taşı azalttığı, kolesterol ve serum glikoz seviyelerini düşürdüğü, kanser riskini düşürdüğü ve bağışıklık sistemini uyardığı için ilaç sektöründe de kullanılmaktadır (Bagherian ve diğ., 2011; Inngjerdingen ve diğ., 2007; Jackson ve diğ., 2007). Pektin ayrıca yenilebilir ve biyolojik olarak parçalanabilen filmler, yapıştırıcılar, kağıt ikameleri, köpükler ve plastikleştiriciler, tıbbi cihazlar için yüzey modifiye ediciler, biyomedikal implantasyon malzemeleri gibi çeşitli özel ürünlerin üretiminde de kullanılmaktadır (Mohnen ve diğ., 2008).

Pektin kovalent bağlar ile birbirine bağlanmış galakturonik asit birimlerinden meydana gelmektedir ve galakturonik asit pektinin ortalama %70'ini meydana getirmektedir (Albersheim ve diğ., 1996; Mohnen ve diğ., 2008). Pektinin jelleşme özelliğini belirleyen en önemli karakteristiği esterleşme derecesidir. Galakturonik asitler metil esterler ile kombine veya serbest olarak bulunabilmekte; bulunduğu form ve ekstraksiyon metoduna bağlı olarak da jelleşme özelliği etkilenmektedir (Arslan, 1994). Metillenmiş galakturonik asit kalıntıları ile molekülde bulunan toplam galakturonik asit birimleri arasındaki oran ile tanımlanan esterleşme derecesi oranı eğer %60-75 arasında ise yüksek metoksilpektin; %20-40 arasında ise düşük metoksilpektin olarak sınıflandırılmaktadır (Bush, 2014). Yüksek metoksilpektinler (Şekil 2) yüksek şeker ve düşük pH değerlerinde pektin bağlarının hidrofobik etkileşimi ve dehidrasyon sonucu jelleşme özelliği gösterirken; düşük metoksilpektinler (Şekil 1.2) kalsiyum varlığında pektin homogalakturonlarının kalsiyum ile iyonik bağ oluşturması sonucu jel meydana getirmektedir (Gupta ve diğ., 2015; Steigerwald ve diğ., 2022; Zykwinska ve diğ., 2009).

a)



b)



Şekil 1.2: (a) Yüksek ve (b) düşük metoksilpektinlerin molekül yapısı.

İçerdiği pektin miktarına bakıldığında, elma posası ve turunçgillerin kabukları ticari olarak pektin üretiminde en yaygın olarak kullanılan opsiyonlardır (Christiaens ve diğ., 2015). Klasik çözücü ile ekstraksiyonun yanı sıra, güncel olarak mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri de sıklıkla kullanılmaktadır. Enzim destekli metotlarda pektinolitik enzimler veya pektinaz olarak bilinen enzimler kullanılarak pektinin parçalanması ve serbest kalması hedeflenmektedir (Gupta ve diğ., 2015). Mikrodalga destekli ekstraksiyon sonucu elde edilen pektinin esterleşme derecesinin yüksek olduğu ve yüksek verim elde edildiği görülmektedir (Bagherian ve diğ., 2011). Uygulanan işlemlerde genellikle düşük pH değerlerinde çalışıldığı; artan sıcaklık ve süre ile verimin arttığı görülmektedir (Hosseini ve diğ., 2016; Jafari ve diğ., 2017; Liew ve diğ., 2016) Ekstraksiyon prosesleri sonrasında pektini çöktürmek ve ayırmak için büyük çoğunlukla metanol veya etanol kullanılmaktadır bunun sebebi ise belirtilen kimyasallar pektindeki polisakkaritler ile hidrofobik interaksiyonlar ve hidrojen bağı kurmaya daha eğilimlidir (Dergal, 2006).

1.2.4. Enzim destekli ekstraksiyon

Günümüzde, kimyasal kullanımına bağılı olarak çevre ile ilgili endişelerin artması sebebi ile enzim destekli ekstraksiyon gibi çevre dostu metotlar giderek önem kazanmaktadır. Enzim destekli ekstraksiyon metodu temel olarak çözücü ile birlikte hücre duvarını parçalayan veya güçsüzleştiren bir enzimin kullanılması ve ekstrakte edilen materyalin daha ulaşılabilir olmasını sağlamaya dayanmaktadır (B. B. Li ve diğ., 2006). Selüloz, hemiselüloz, pektinaz, α -amilaz, ksilanaz gibi enzimler genellikle hücre duvarını parçalamak için kullanılırken ve proteaz proteinleri parçalayarak serbest aminoasit verimini artırmaktadır (Alexandre ve diğ., 2019; Jeong ve diğ., 2014; Merz ve diğ., 2015; Yuliarti ve diğ., 2015). Klasik çözücü ekstraksiyonunda genellikle uzun süreler ile organik ve yüksek saflıktaki çözücü kullanımına bağılı olarak yüksek miktarda çözücü tüketimi, düşük verim ve bazen yüksek sıcaklık kullanımına bağılı olarak ekstrakte edilen maddede bozulma ve yüksek enerji tüketimi meydana gelebilmektedir (Alexandre ve diğ., 2017). Bu açılardan değerlendirildiğinde; enzim destekli ekstraksiyon daha tercih edilebilir görünmektedir. Ancak, uygulandığı gıdaya ve elde edilmesi planlanan bileşene bağılı olarak metot verimi değişkenlik gösterebilmektedir.

Enzim destekli ekstraksiyonun verimi genellikle enzim konsantrasyonu, sıcaklık, pH ve tanecik boyutuna göre değişmektedir (Poojary ve diğ., 2017; Roselló-Soto ve diğ., 2015). Enzim aynı zamanda kimyasal çözücüler ile birlikte de kullanılabilir ve kullanıldığında ekstraksiyon için gereken çözücü miktarını ve proses sıcaklığını düşürerek kimyasal ve enerji tasarrufu yapılmasını sağlamaktadır (Marić ve diğ., 2018).

Enzim destekli yöntemlerin en büyük problemlerinden biri enzim maliyetidir. Yüksek miktarda hammadde için işlem yapılmak istediğinde ciddi boyutlarda maliyetler ortaya çıkabilmektedir. Buna ek olarak enzim hücre duvarını tamamen parçalayamayabilir ve bu nedenle verimde düşüş yaşanabilir. Ayrıca enzimin beklendiği gibi çalışabilmesi için oksijen, sıcaklık, pH gibi tüm koşulların optimum olması gerekmektedir bu da enzim ile büyük ölçekte bir proses yapılmasını zorlaştırmaktadır.

Enzim destekli ekstraksiyon metodu çeşitli gıdalardan pektin, fenolik madde gibi bileşenlerin eldesinde yaygın olarak kullanılan bir metottur. Örneğin; kivi posasında

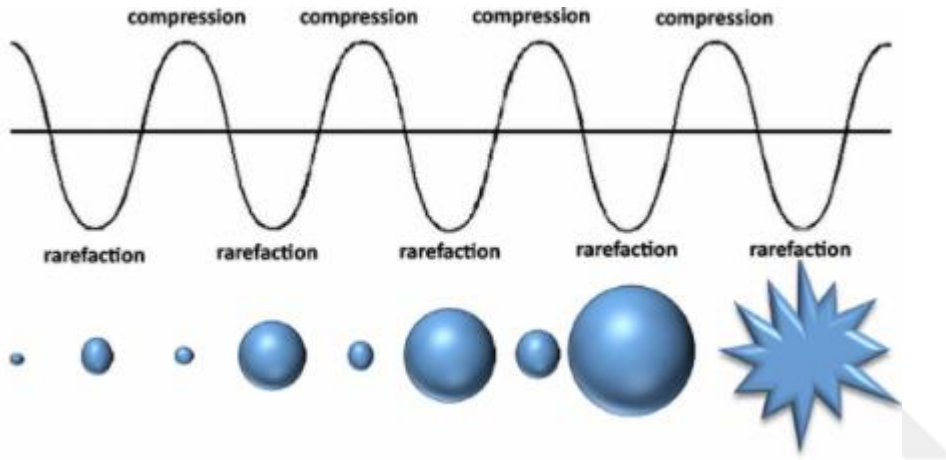
yapılan selüloz destekli pektin ekstraksiyonunda asidik çözelti ve su ile yapılan ekstraksiyona göre daha yüksek verim elde edildiği görülmüştür ve elde edilen pektin incelendiğinde metodun pektinin verimi ve galakturonik asit konsantrasyonu, şeker oranı gibi kimyasal özellikleri üzerinde etkisinin düşük olduğu görülmüştür (Yuliarti ve diğ., 2015). Çeşitli turunçgil kabuklarında yapılan selüloz enzimi kullanılarak yapılan fenolik madde ekstraksiyonunda, su ile yapılan prosese göre daha yüksek verim elde edildiği görülmüştür (B. B. Li ve diğ., 2006). Elde edilen Fenolik maddelerin antioksidan aktivitesine bakıldığında metodun antioksidan aktivite veriminin üzerinde etkisinin düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmaların aksine, elma posasından çeşitli enzimler ve asidik çözeltidek yapılan pektin ekstraksiyonu sonrası asit ile daha yüksek verimler elde edildiği görülmüştür (Wikiera ve diğ., 2015). Kullanılan hammadde, enzim ve proses koşullarına göre elde edilen verim de değişkenlik gösterebilmektedir.

1.2.5. Ultrason destekli ekstraksiyon

Ultrason destekli ekstraksiyon, çevre dostu yöntemler arasında yerini almaktadır. Ultrasonik ses dalgaları, insan kulağının duyabileceğinden yüksek frekansta, 20 kHz'in üzerinde frekansa sahiptirler (Carovac ve diğ., 2011). Ultrasonik ses dalgalarının yüksek frekansları genellikle tıpta tanı amacı ile kullanılırken, düşük frekansları gıda endüstrisinde kurutma, ekstraksiyon, emülsifiye etme, homojenizasyon, enzim ve mikroorganizmaların inaktivasyonu amacı ile yaygın olarak kullanılmaktadır (Carovac ve diğ., 2011; Herceg ve diğ., 2009). Ultrason bir su banyosu içerisinde uygulanabileceği gibi ultrasonik ses dalgaları yayan prob yardımı ile de uygulanabilir. Ultrason destekli ekstraksiyon işleminde verimi etkileyen faktörler katı sıvı oranı, sıcaklık, süre ve frekanstır. Geleneksel metotlar ile karşılaştırıldığında, ultrason daha az zaman gerektirir ve genellikle uygulanması için herhangi bir ek kimyasala ihtiyaç duymaz. Bu nedenle daha az enerji kullanımı ve kimyasal tüketimi olmaması sayesinde çevreye daha az zarar verir.

Ultrason enerjisi ortama yayıldığında, ortamın basıncında değişikliğe neden olmaktadır. Bu basınç değişikliği nedeniyle partiküller sıkıştırılıp genleşir ve bu durum ultrason işleminin en önemli sonucu olan kavitasyonu meydana getirmektedir (Rose, 2014). Ultrasonun seyrekleşmesi, ortamda bir boşluk oluşturur ve sıvı numunenin yoğunlaşmış havası ile dolmaktadır; sıkıştırma aşaması başladığında bu

boşluk sıkıştırılır ve daraltılır (Duran ve diğ., 2006). Bu durum büyük miktarda basınç (1000 atm) ve sıcaklık (5000 K) oluşmasına neden olur. Kavitasyonun etrafındaki alanın basıncı ve sıcaklığı yükselir ve ultrason işleminin ana prensibi buna dayanır. Ultrason dalgalarının frekansına ve genliğine, ortamın sıcaklığına ve viskozitesine bağlı olarak kavitasyonun derecesi değişmektedir (Salleh-Mack & Roberts, 2007). Kavitasyon sonucunda hücre duvarının parçalanması veya zayıflaması, hücre içi maddelerin salınması ve bazı kimyasal bağların kırılmasına neden olan kavitasyon etrafında oluşan bir kesme kuvveti vardır (Soria & Villamiel, 2010). Kavitasyon mekanizması Şekil 1.3’de özetlenmiştir.



Şekil 1.3: Ultrasonun azalıp çoğaldığı durumlarda hücrelerin genişip daralması yani kavitasyonun mekanizması.

Genellikle daha yüksek verim elde edilmesi ve uygulanmasının kolaylığı sebebi ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi genellikle tercih edilmektedir. Greyfurt kabuğundan pektin ekstraksiyonunda ultrason destekli yöntem ile klasik ısıtma yöntemi ile ekstraksiyona göre daha yüksek verim elde edildiği ve kimyasal özelliklerinin de birbirinden farklı olduğu görülmektedir (Wang ve diğ., 2015). Benzer şekilde nar kabuğundan pektin ekstraksiyonu için yapılan bir çalışmada asidik çözeltide gerçekleştirilen ekstraksiyona göre daha yüksek oranda verim elde edilmektedir (Moorthy ve diğ., 2015; Pereira ve diğ., 2016). Meyve suyu endüstrisinde yaygın olarak kullanılan ultrason teknolojisi üretim verimini artırmak amacı ile de kullanılmaktadır. Bu doğrultuda yapılan çalışmalarda verimin arttığı görülürken, elde edilen meyve sularının kalite özelliklerinin (pH, asitlik, vb.) ve kimyasal özelliklerinin (antioksidan aktivitesi, askorbik asit miktarı, Fenolik madde miktarı vb.) de önemli ölçüde etkilenmediği gözlenmektedir, yalnızca uygulama

süresi ve sıcaklığına bağlı olarak renkte negatif veya pozitif değişiklikler olabileceği görülmüştür (Abid ve diğ., 2014; Bi ve diğ., 2015; Cao ve diğ., 2019; Etbach ve diğ., 2019). Proses koşullarına göre elde edilecek sonuçların değişkenlik gösterebileceği ve kullanılacak olan hammaddeye göre optimizasyon çalışması yapılması gerektiği görülmektedir.

1.2.6. Gıda atıklarından bileşen eldesinde enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon uygulamaları

Sürdürülebilirliğin her geçen gün daha çok önem kazandığı günümüzde, atıklardan değerli bileşenlerin elde edilmesi önem kazanmakta ve bu konuda yapılan çalışmaların sayısı artmaktadır. Meyve ve sebze endüstrisinde en büyük problemlerden biri gıdaların yenilemeyen bölümlerinin ciddi miktarda atık oluşumuna sebep olmasıdır. Gıda atıklarından veya proses yan ürünlerinden bileşenlerin geri kazanımı ve tekrar kullanımı sürdürülebilirliğe önemli bir katkı sağladığı gibi, güvenilir kaynakların artması gıda güvenliğine de katkı sağlamaktadır. Buna ek olarak, gıdaların aslında kullanılmayacak olan bölümlerinden bileşen elde edilmesi, atıkların ekonomik olarak da değerlendirilmesini sağlamaktadır ve ticari olarak üretim için ucuz bir kaynak sağlamaktadır (Gómez-García ve diğ., 2020). Gıda endüstrisinde biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu fonksiyonel gıdalarda zenginleştirme, takviye, koruyucu, renklendirici ve doğal antioksidan gibi çeşitli uygulamaları sebebi ile ilgi görmektedir ve bu uygulamalar dünya çapında artış gösteren talepleri karşılayabilme potansiyeline sahiptir (Trigo ve diğ., 2019). Bu kapsamda son yıllarda pek çok çalışma yapılmış ve metot geliştirilmiştir. Klasik çözücü destekli ekstraksiyon çalışmalarına ilave olarak, enzim ve ultrason destekli ekstraksiyon uygulamaları atıklardan değerli bileşenlerin eldesinde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Pektin ve fenolik madde yaygın olarak elde edilen bileşenler arasındadır. Bunlara ek olarak karotenoidler, uçucu yağlar, yağ asitleri ve proteinler de elde edilen bileşenler arasındadır. Bu tezin konusu olan gıda atıklarından pektin ve fenolik madde ekstraksiyonu üzerine yapılmış olan çalışmalar Çizelge 1.1’de özetlenmiştir. Çalışmalarda görüldüğü üzere fenolik bileşikler ve pektin ekstraksiyonunda klasik metotların yanı sıra yaygın olarak yeni teknikler kullanılmaktadır. Mevcut çalışmalarda tek bir fraksiyonun elde edilmesine yoğunlaşmış olup, bu tezin ele aldığı şekilde mümkün olduğunca çeşitli maddelerin ekstraksiyonu üzerine bir çalışmaya rastlanılamamıştır.

Çizelge 1.1: Gıda atıklarından pektin ve fenolik madde eldesinde kullanılan kaynaklar, elde edilen bileşenler ve metotlar.

Bileşen Kaynağı	Ekstrakte Edilen Bileşen	Ekstraksiyon Koşulları	Verim	Referans
Ekşi portakal kabuğu	Pektin	Saf su ile ekstraksiyon (%18,35 sıvı katı oranı/ 95 °C/ 90 dk)	%17,95±0,3	(Hosseini ve diğ., 2016)
Havuç posası	Pektin	Asidik çözelti ile ekstraksiyon (pH: 1,3 / Sıvı katı oranı:%23,3/ 90 °C/ 79,8 dk)	%16	(Jafari ve diğ., 2017)
Limon kabuğu	Pektin	Enzim destekli ekstraksiyon (pH: 4/ 50°C/ 75 µl enzim/ 4 saat)	Alfa amilaz ile %26,3	(Dominiak ve diğ., 2014)
Mandalina kabuğu	Pektin	Asidik çözeltide ekstraksiyon (0,1 N sitrik asit ve hidroklorik asit çözeltisi /90°C/ %20 katı sıvı oranı)	%14,50	(Şen ve diğ., 2021)
Elma Posası	Pektin	Kimyasal ekstraksiyon (etanol ile 70°C’de 20 dk)	%7,7 %4,6	(Min ve diğ., 2011)
Nar kabuğu	Pektin	Enzim destekli ekstraksiyon (Saf su ile ekstraksiyon sonrası 40°C’de enzim ilavesi ile ekstraksiyon) Ultrason destekli ekstraksiyon (20 kHz, 1:17,52 katı sıvı oranları/ pH: 1,27/ 28,31 dk/ 61,9°C)	%24,05	(Moorthy ve diğ., 2015)
Greyfurt Kabuğu	Pektin	Mikrodalga destekli ekstraksiyon (Güç: 900W/ Frekans: 2450 MHz/ 8 dakika) Ultrason destekli ekstraksiyon (200W/ 24 kHz/ 70°C/ 40 dk)	Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile: %27,81 Ultrason destekli ekstraksiyon: %14,87	(Bagherian ve diğ., 2011)

Çizelge 1.1 (devam): Gıda atıklarından pektin ve fenolik madde eldesinde kullanılan kaynaklar, elde edilen bileşenler ve metotlar.

Bileşen Kaynağı	Ekstrakte Edilen Bileşen	Ekstraksiyon Koşulları	Verim	Referans
Gec meyvesi posası	Pektin	Asidik sıcak su ile ekstraksiyon (Sitrik asit çözeltisinde, sıcaklık 90°C, ekstraksiyon süresi: 100 dk, pH: 1,5 ve sıvı katı oranı: 50 mL/g)	%42,97	(Tran ve diğ., 2021)
		Ultrason destekli ekstraksiyon (Sıvı katı oranı: 50 mL/g, 60°C sonikasyon sıcaklığı, pH: 1,5 ultrasonik süre: 35 dk ve ultrasonik güç 200 W olarak seçilmiştir.)	%53,8	
Pirinç Kepeği	Ferulik asit, kumarik asit	Selüloz enzimi ile ekstraksiyon (Sıcaklık: 35°C / pH: 3 / Süre: 4 saat / Enzim konsantrasyonu: %1)	14,3±2,2 mg <i>trans</i> -Ferulik asit/ 100 g	(Martillanes ve diğ., 2021)
Nar Kabuğu	Punikalin izomeri, kuinik asit, punikalajin izomeri, elajik asit	Saf su içerisinde yüksek basınç altında (300 MPa, Süre: 15 dk)	Toplam fenolik madde: 219 ± 2,6 mg gallik asit eşdeğeri / 100 g)	(Alexandre ve diğ., 2019)
Kullanılmış Kahve Çekirdeği	Fenolik madde (Detaylı inceleme yapılmamıştır.)	Mikrodalga destekli ekstraksiyon (Farklı mikrodalga gücü (60 ve 120W), katı-sıvı oranı: 16,7 / etanol oranı %68,9 ve zaman (3 ve 6 dk) ile denenmiştir)	117±6,1 mg gallik asit eşdeğeri / g	(Coelho ve diğ., 2021)

Çizelge 1.1 (devam): Gıda atıklarından pektin ve fenolik madde eldesinde kullanılan kaynaklar, elde edilen bileşenler ve metotlar.

Bileşen Kaynağı	Ekstrakte Edilen Bileşen	Ekstraksiyon Koşulları	Verim	Referans
Kırmızı soğan zarı	Fenolik madde (Detaylı inceleme yapılmamıştır.)	Klasik çözücü ekstraksiyonu (%80 etanol ile 165 dk.)	757,38 mg gallik asit eşdeğeri / 100 g	(Viera ve diğ., 2017)
YenBen Limon Kabuğu	Fenolik madde (Detaylı olarak tespit edilemediği belirtilmiştir.)	Enzim destekli ekstraksiyon (Selülaz (Celluzyme MX) enzimi ile/ Katı sıvı oranı: 1:18 / Sıcaklık: 50°C / Süre: 3 saat / Enzim konsantrasyonu: %1,5)	96,7±2,53 mg gallik asit eşdeğeri / 100 g	(B. B. Li ve diğ., 2006)
<i>Arbutus Unedo</i> Yaprağı	Fenolik madde (Detaylı inceleme yapılmamıştır.)	Klasik çözücü ekstraksiyonu (Etanol (EtOH) konsantrasyonu: %40, çözücü:katı oranı: 50 ml/g), ekstraksiyon süresi: 60 dk/ ekstraksiyon sıcaklığı: 55°C)	89,58 mg gallik asit eşdeğeri / 100 g	(ALGAN CAVULDAK, 2021)
Üzüm çekirdeği	Gallik asit, 5-hidroksimetilfurfural, kumarik asit, kateşin, para-hidroksibenzoik asit, protokateşik asit, vanelik asit, şiringik asit	Yüksek sıcaklık ve basınçta ekstraksiyon (Metanol ile, Katı sıvı oranı: 0,2 g / ml /Sıcaklık: 110°C, Süre: 60 dk)	108,3 mg gallik asit eşdeğeri / g	(Casazza ve diğ., 2010)

1.2.7. Nar endüstrisi atıkları ve değerlendirilme yöntemleri

Nar meyvesi dünyada ve Türkiye’de olumlu sağlık etkileri sebebi ile tercih edilen bir meyvedir. Üretim verilerine bakıldığında, 2020 yılında 600 bin ton üretim ile bir önceki yıla göre %7,3 artış meydana gelmiştir ve ürünlerin yaklaşık 1/3’ü Irak, Rusya gibi ülkelere ihraç edilmektedir (TÜİK, 2020; ZMO, 2019). Dünyada ise 3 milyon ton nar üretilmekte ve Türkiye en çok üretim yapılan ülkeler arasında yer almaktadır (Malgarejo-Sánchez ve diğ., 2015). Narın kullanım alanları arasında Nar Ekşisi üretimi ile birlikte narın suyu, jölesi, marmelatı, likörü örnek verilebilir (Kurt & Şahin, 2013). Buna ek olarak içerdiği antioksidan, fenolik madde ve C vitamini oranı ile tercih edilen sağlıklı bir seçenektir ve içerdiği bu bileşenler nedeniyle fonksiyonel gıda grubuna alınmıştır (Arpaç, 2006). Üretim prosesi sırasında temel olarak parçalama ve suyunu sıkma aşamaları yer almakta; sonrasında elde edilen konsantreden meyve suyu ve nektarı, diyet içecekler, multi-vitamin içecekler, marmelat gibi ürünler üretilmektedir (Arpaç, 2006). Bu nedenle proses yan ürünü nar kabuğu olarak değerlendirilmektedir.

Gıda atıkları gıda, yem, kozmetik ve ilaç sektörü için değerli bileşenlerin üretimi için önemli bir kaynak olarak kullanılabilir (Yu ve diğ., 2014). Nar kabuğu, meyvenin ağırlığının yaklaşık %48’ini oluşturmakta, nar suyunda bulunan fenolik bileşenlerin önemli bir kaynağı olmaktadır ve bu sebeple değerli bir atık olarak görülmektedir (Arpaç, 2006; Tağı, 2010). Atıkları değerlendirme konusunda çalışmaların her geçen gün artması ile nar kabuğuna olan ilgi de artmaktadır. Nar kabuğunun fenolik madde içeriği, punikalagin ve izomerleri 2,3-hekzahidroksidifenol-4,6- gallagilglukoz gibi ellagitanenlerce zengin olup, daha az miktarda punikalın (4,6-gallagilglukoz), gallik asit, ellagik asit ve ellagik asit glikozitleri (heksisid, pentosid, rhamnosid) içermektedir (Gil ve diğ., 2000). Ek olarak, son yıllarda pektin elde edilen portakal kabuğu ve elma kabuğu gibi kaynaklar arasında nar kabuğu da yerini almıştır (Atalay ve diğ., 2018). Ayrıca, nar kabukları, antimikrobiyal, anti-kanser, antiobezite, anti-diyabetik, anti-ülserojenik, anti-hipertansif, anti-mutajenik özellikleri içeren potansiyel terapötik faydaları olan antioksidanları için iyi bir kaynak olarak kabul edilmektedir (Y. Li ve diğ., 2018).

Nar suyu veya konsantresinin üretiminde, presleme sırasında nar kabuğunun içeriğindeki bir miktar fenolik madde nar suyuna geçmiş olsa da hala yüksek oranda fenolik madde içermektedir. Ekstrakte edilen pektin gıdalardakıvam artırıcı olarak

(Velyamov ve diğ., 2019) kullanılabileceği gibi fenolik maddeler de gıdalara antioksidan etkisi yaratması amacı ile eklenebilmektedir veya doğal koruyucu olarak kullanılabilmektedir (Dimitrov ve diğ., 2019).

1.3. Hipotez

Nar kabuğundan fenolik madde ve pektin eldesinde enzim ve ultrason desteği kullanıldığında klasik çözücü ekstraksiyonu yöntemine göre daha yüksek verim alınmakla birlikte, elde edilen fenolik maddenin antioksidan aktivitesi ve pektinin esterleşme derecesi ile galakturonik asit konsantrasyonları ile ölçülen kalite parametrelerinde de iyileşme beklenmektedir.



2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

Çalışmalarda hammadde olarak kullanılan nar kabuğu Dimes firmasından temin edilmiştir ve nar suyu üretilirken taneler ayrıldıktan sonra kalan kabuklardır.

Enzimatik ön işleme için Celluclast (Novozymes, Danimarka); fenolik madde ekstraksiyonu için etanol; fenolik madde tayini için Folin-Ciocaltau fenol reaktifi (Sigma-Aldrich, ABD), sodyum karbonat (Na_2CO_3), gallik asit, etanol; antioksidan aktivite tayini için bakır klorür (CuCl_2), neokuprin, amonyum asetat (NH_4Ac), DPPH radikali; nar kabuğu posasından pektin ekstraksiyonu için sitrik asit; esterleşme derecesi ve galakturonik asit konsantrasyonu tayini için hidroklorik asit (HCl), sodyum hidroksit (NaOH), sodyum tetraborat, 3-fenilfenol, sülfürik asit (H_2SO_4) ve fenolftaleyn kullanılmıştır.

2.2. Metot

2.2.1. Nar kabuğundan enzimatik ve ultrason ön işlem ile fenolik madde ekstraksiyonu

-80°C’de dondurulmuş olan nar kabukları, liyofilizatörde (Christ, Harz, Almanya) kurutulmuş ve sonrasında öğütülmüştür (Sinbo). pH’ı 5’e ayarlanmış 90 mL saf su içerisine 6 g öğütülmüş nar kabuğu ilave edilerek daha önce 50°C’ye ısıtılmış çalkalamalı su banyosunda (Memmert, Büchenbach, Almanya) 5 dk bekletildikten sonra 240 µL selülaz enzimi (Celluclast) ilave edilmiştir ve 60 dk süre ile enzimatik ön işlem gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.1a). Enzimatik ön işlem esnasında su fazına geçen fenolik madde miktarının tespiti için belirlenen sürelerde 1 ml numune alınıp 10,000 rpm’de 5 dakika mikrosantrifüj (Hettich Zentrifügen, Tuttlich, Almanya) ile santrifüjlendikten sonra fenolik madde konsantrasyonu Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir. 1 saat sonunda karışım kaynayan su içinde 10 dakika tutularak enzim inaktive edilmiştir. Aynı işlemler enzim ilave edilmeden de gerçekleştirilmiştir.

Enzimatik ön işlem öncesinde ultrason uygulaması yapılacağı zaman, 6 g nar kabuğu ve 90 mL saf su içeren karışım, 50°C'de tutulan ultrasonik su banyosunda (VWR, Pensilvanya, ABD) 1 saat boyunca 40 kHz frekansa tabi tutulmuştur. Bu esnada su fazına geçen fenolik madde miktarının tespiti için 1 ml numune alındıktan sonra pH 5'e ayarlanmış ve yukarıda anlatılan işlemler gerçekleştirilmiştir.

Enzimatik ön işlem sonrası, oda sıcaklığına soğutulmuş olan karışıma su ile eşit hacimde etanol ilave edilmiş ve 1 saat boyunca manyetik karıştırıcı ile 500 rpm'de ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir (Şekil 2.1b). Fenolik fraksiyona geçen fenolik madde miktarının tespiti için belirlenen sürelerde 1 mL numune alınıp 10,000 rpm'de 5 dakika santrifüjlendikten sonra sıvı fazdaki fenolik madde konsantrasyonu Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir. Ekstraksiyon sonunda katı ve sıvı fazlar 5000 rpm'de 20 dk süre boyunca santrifüj (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) ile ayrılmıştır (Şekil 2.1c). Elde edilen sıvı fazdaki fenolik madde oranı Folin-Ciocalteu yöntemi ile tespit edilmiştir. Santrifüj sonrası çöken pektin ise etanol ile yıkanmış, -80°C'de dondurulmuş ve liyofilizatörde (Christ, Harz, Almanya) kurutulmuştur (Şekil 2.1d). Kurutulan pektin miktarına göre verim hesaplaması gerçekleştirilmiştir (Eşitlik 2.1).

$$\text{Verim (\%)} = \frac{\text{Elde edilen pektin (g)}}{\text{Nar Kabuğu (g)}} \times 100\% \quad (2.1)$$

Elde edilen sonuçlara göre ultrasonik ön işlem uygulanıp uygulanmayacağı, enzim ilavesi yapıp yapılmayacağı ve enzimatik ön işlem ile etanol ile ekstraksiyon basamakları için gereken optimum süreler tespit edilmiştir.



Şekil 2.1: A) Enzimatik ön işlem sonrası karışım. B) Enzimatik ön işlem sonrası karışıma etanol ilave edilerek manyetik karıştırıcıda karıştırılması. C) Ekstraksiyon sonu ekstraktın katı fazdan ayrılması. D) Çöken pektinin ayrılmış ve liyofilizatörde kurutulmuş hali.

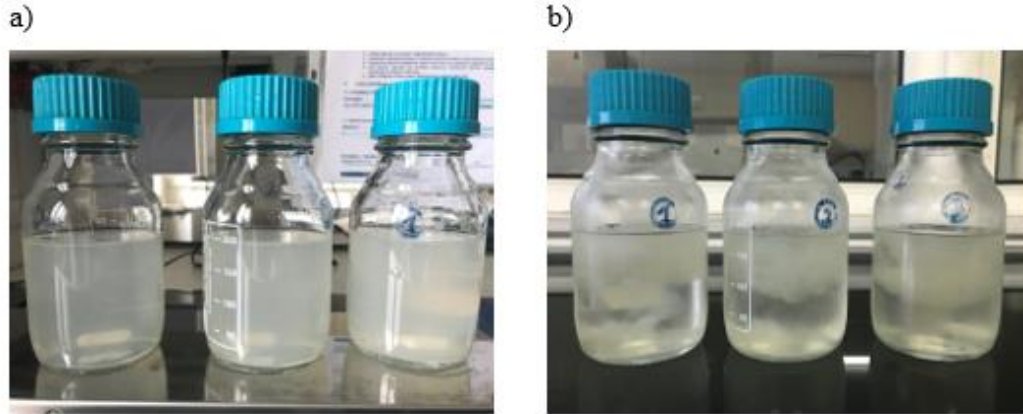
Enzimatik ön işlem sırasında kullanılacak olan optimum enzim oranı ve katı sıvı oranının belirlenmesi için 3 faktör seviyesi ve 2 faktör ile 3n faktöriyel deney tasarımı kullanılmıştır (Çizelge 2.1). Burada tablo ile kullanılan kombinasyonları verelim. Seçilen optimum koşullarda elde edilen ekstraktın antioksidan aktivite analizleri ve fenolik madde profili tespiti yapılmıştır. Antioksidan aktivite tayini için CUPRAC ve DPPH yöntemleri kullanılmıştır. Fenolik madde profilleri HPLC (Sigma-Aldrich, Steinheim, Almanya) ile analiz edilmiştir.

Çizelge 2.1: Enzimatik ön işlem sırasında kullanılacak optimum katı sıvı oranı ve enzim konsantrasyonunu belirlemek için kullanılacak olan faktöriyel dizayn.

Faktör Seviyesi	Katı Sıvı Oranı	Enzim Konsantrasyonu (% v/w)
-1	1:10	2
0	1:25	6
1	1:40	10

2.3. Nar Kabuğundan Enzimatik ve Ultrason Ön İşlem ile Pektin Ekstraksiyonu

Enzimatik ön işlem ve fenolik madde ekstraksiyonu sonrası arta kalan nar kabuğu posasından asidik ekstraksiyon yöntemiyle pektin elde edilmiştir. 3 g katı posaya 100 mL % 1'lik sulu sitrik asit çözeltisi (w/v) ilave edilmiştir. Karışım 1 saat boyunca 80°C'de manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra oda sıcaklığına soğutulan karışım 5000 rpm'de 20 dk süre boyunca santrifüjlenmiş ve elde edilen pektin fraksiyonuna sulu sitrik asit çözeltisi ile eşit hacimde etanol ilave edilip 5 dakika karıştırıldıktan sonra 1 saat 4°C'de tutularak pektin çöktürülmüştür (Şekil 2.2). Elde edilen pektin, 5 dk süre ile santrifüjle ayrıldıktan sonra etanolla yıkanmış ve dondurularak liyofilizatörde kurutulmuştur. Verim eşitlik 2.1 ile hesaplanmıştır.



Şekil 2.2: A) Santrifüj sonrası ayrılan pektin fraksiyonuna etanol ilave edilmesi. B) Karışımın 4°C sıcaklıkta bekletildikten sonra pektinin çökmesi.

Asidik ekstraksiyon öncesi ultrason ön işleme yapılacağı zaman, 3 g katı faza 100 mL % 1'lik sulu sitrik asit çözeltisi (w/v) ilave edildikten sonra, 80°C'de tutulan ultrasonik su banyosunda 1 saat boyunca 40 kHz frekansa tabi tutulmuştur. Daha sonra pektin ekstraksiyonu yukarıda anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir.

Analizler sonucunda, pektin ekstraksiyonu öncesi ultrason ön işlemi yapıp yapılmayacağı tespit edilmiştir. Uygulanacak olan koşullar (katı:sıvı oranı, kullanılması halinde ultrason süresi) 3 faktör seviyesi ve 2 faktör ile 3n faktöriyel deneme deseni kullanılarak ve pektin verimine dayanarak belirlenmiştir (Çizelge 2.2). Seçilen optimum koşullarda pektinde esterleşme derecesi ve galakturonik asit konsantrasyonu tespiti yapılmıştır.

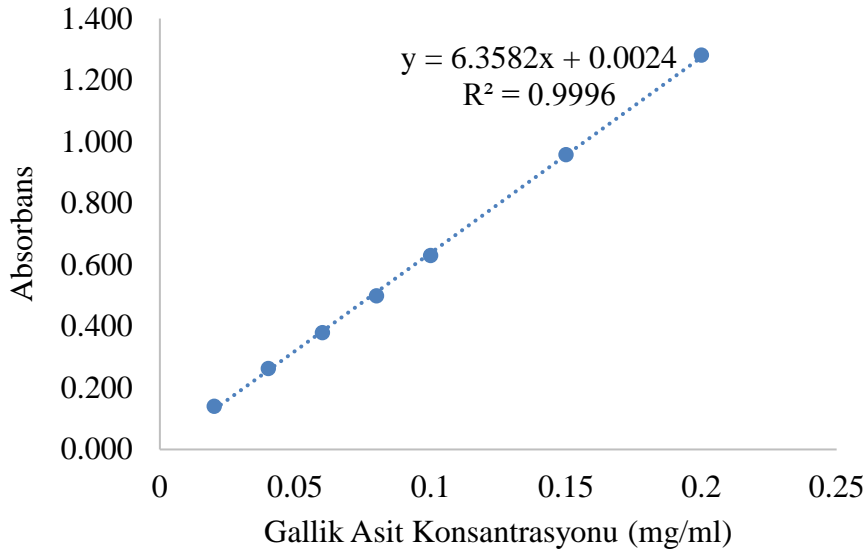
Çizelge 2.2: Pektin ekstraksiyonu sırasında kullanılacak optimum katı sıvı oranı ve ultrason süresini belirlemek için kullanılacak olan faktöriyel dizayn.

Faktör Seviyesi	Katı Sıvı Oranı	Ultrason Süresi (dk)
-1	1:10	15
0	1:20	30
1	1:30	45

2.4. Ekstraktın Karakterizasyonu

2.4.1. Folin-ciocalteu metodu ile toplam fenolik madde konsantrasyonunun belirlenmesi

1:100 oranında %75'lik etanol ile seyreltilen ekstraktan 100 µL alınır ve üzerine 750 µL 1:10 oranında seyreltilmiş Folin-Ciocalteu çözeltisi ilave edilerek 5 dk bekletilmiş ve üzerine 600 µL %7,5'luk Na₂CO₃ ilave edilmiştir. Karışım 90 dk boyunca karanlıkta bekletilmiştir. Aynı işlemler 1 mg/ml oranında hazırlanmış ve 0.1, 0.08, 0.06, 0.04, 0.02, 0.01, 0.005, 0.0025 oranlarında seyreltilmiş standart gallik asit çözeltilerine de uygulanmıştır. 90 dk karanlıkta bekletilen standart solüsyonların ve numunelerin 765 nm'deki absorban değerleri spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) okunmuş ve standart eğrisinden (Şekil 2.3) elde edilen denkleme göre örneklerin GAE (mg/mg) değerleri hesaplanmıştır.

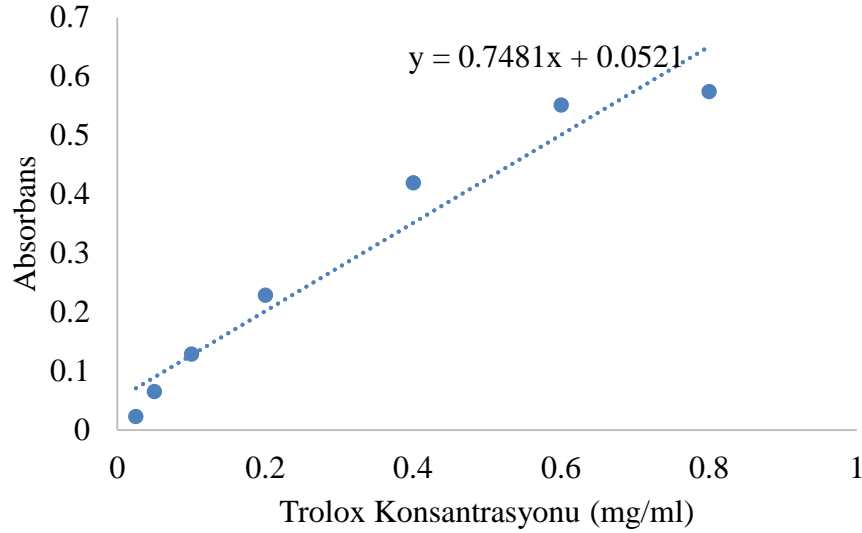


Şekil 2.3: Farklı konsantrasyonlardaki gallik asit solüsyonlarının 765 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi.

2.4.2. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi

2.4.2.1. CUPRAC metodu

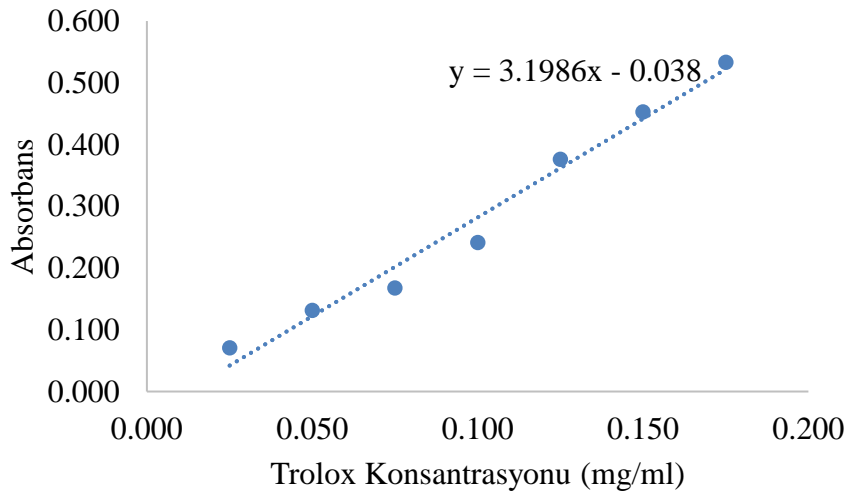
%75'lik etanol ile 1:100 oranında seyreltilen 100 µL ekstrakt, 10^{-2} mM 1 mL CuCl_2 , 7,5 mM 1 mL neokuproin ve 1 mL NH_4Ac (pH 7,0) ile karıştırılmıştır. Hemen ardından 1 mL distile su karışıma ilave edilmiş ve oda sıcaklığında, ağzı kapalı bir şekilde 30 dakika bekletilmiştir. Aynı işlemler 1 mg/ml oranında hazırlanmış ve 0.8, 0.6, 0.4, 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 oranlarında seyreltilmiş standart trolox çözeltilerine de uygulanmıştır. 450 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) saf suya karşı standartların ve ekstraktın absorbansları okunmuştur. Standart eğrisinden (Şekil 2.4) elde edilen denklem ile örneklerin TE (mg/g) değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 2.4: Farklı konsantrasyonlardaki trolox solüsyonlarının 450 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi. R^2 görünmüyor.

2.4.2.2. DPPH metodu

1:100 oranında %75'lik etanol ile seyreltilen ekstrakt 2 mL 0,1 mM DPPH radikali ile karıştırılmıştır. Karışım vorteks karıştırıcıda 10 saniye karıştırılıp oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletilmiştir. Aynı işlemler 1 mg/ml oranında hazırlanmış ve 0.175, 0.150, 0.125, 0.1, 0.075, 0.05, 0.025 oranlarında seyreltilmiş standart trolox çözeltilerine de uygulanmıştır. Sürenin bitiminde karışımın ve standartların absorbansı 517 nm'de spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) metanole karşı okunmuştur. Elde edilen standart eğrisine (Şekil 2.5) göre örneklerin TE (mg/g) değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 2.5: Farklı konsantrasyonlardaki trolox solüsyonlarının 517 nm'deki absorbans değerleri ve standart eğrisi. R^2 görünmüyor.

2.5. HPLC ile Fenolik Profilin Belirlenmesi

Her örnek için hazırlanan ekstraktlar 0.45 µm'lik filtrelerden süzöldükten sonra HPLC sistemine verilmiştir. HPLC sistemi Waters 2695 kontrol birimi, Waters 2996 PDA detektör ve Supelcosil LC-18 25cmx4.60 mm, 5 mm (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany) kolondan oluşmaktadır. Çözgen sistemi olarak A (%0.1 TFA ile asitlendirilmiş su) ve B (%0.1 TFA içeren asetonitril) kullanılmıştır. Akış hızı dakikada 1 ml şeklinde ayarlanmış ve örnekteki bileşenlerin ayrılması, %5'den %75'e kadar çıkan lineer asetonitril gradiyenti kullanılarak 50 dakikalık analiz süresince gerçekleştirilmiştir. Ölçümler 280, 312, 360 ve 512 nm'de gerçekleştirilmiştir.

2.6. Pektinin Karakterizasyonu

2.6.1. Esterleşme derecesi tayini

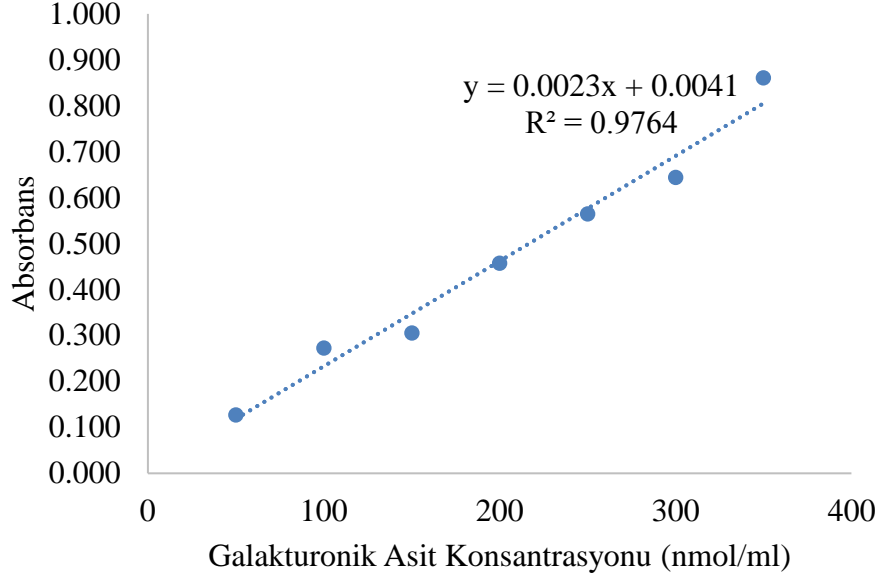
Pektinde esterleşme derecesi tayini için 50 mg pektin tartılarak 100 mL distile su içinde 50°C'de tamamen çözünene kadar karıştırılmıştır. Daha sonra 1-2 damla fenolftaleyn ilave edilmiş ve 0,05 M NaOH ile titre edilmiştir. Sarfiyat V_1 olarak kaydedilmiştir. Daha sonra karışıma 10 mL 0,5 M NaOH ilave edilmiş, vortekslenmiş ve oda sıcaklığında 15 dakika beklendikten sonra 10 ml 0,5 M HCl ilave edilmiştir. Fenolftaleyn ilave edilerek 0,5 M NaOH ile titre edilmiştir. Sarfiyat V_2 olarak kaydedilmiştir. Esterleşme derecesi eşitlik 2.2'ye göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Esterleşme Derecesi} = \frac{V_2}{V_1 + V_2} \times \%100 \quad (2.2)$$

2.6.2. Galakturonik asit konsantrasyonu

Pektinde galakturonik asit konsantrasyonu tayini için, 5 mg pektin tartılarak ve üzerine %72 sülfürik asit ile 15 ml saf su ilave edilerek ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda 1 saat 50°C'de karıştırılacaktır. Bu çözeltilerden 0,5 ml alınarak, 3 ml 12,5 mM sodyum tetraborat (konsantre sülfürik asit içerisinde) ilave edilerek karışım 5 dk kaynar su içerisinde bekletilmiş ve sonrasında hızlıca soğutulmuştur. 0,05 ml 0,15 g/100 mL 3-fenilfenol (0,5g/100 mL NaOH içinde) ilave edilerek 10 dakika bekletilmiştir. Elde edilen karışımın absorbans değerleri spektrofotometrede (Shimadzu, Kyoto, Japonya) 525 nm dalga boyunda okunmuştur. Galakturonik asit standartlarına ait absorbans

değerleri ile oluşturulan standart eğrisinden (Şekil 2.6) elde edilen denklem ile örneklerin galakturonik asit değerleri hesaplanmıştır.



Şekil 2.6: Farklı konsantrasyonlardaki galakturonik asit solüsyonlarının 525 nm'deki absorpsiyon değerleri ve standart eğrisi.

2.7. İstatistiksel Analiz

Tüm deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş olup; deney tasarımları 2ⁿ ve 3ⁿ faktöriyel dizayn kullanılarak yapılmıştır. İstatistiksel analiz Minitab programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. ANOVA ve iki örnek t testleri %95 güven düzeyinde kullanılmıştır. Anlamlı bir farklılık tespit edilmesi durumunda Tukey testi kullanılarak farklı olan değerler belirlenmiştir.



3. BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Nar Kabuğundan Fenolik Madde Ekstraksiyonu İçin Enzim ve Ultrason Ön İşlemlerinin Uygulanması

İlk aşamada, ön işlem seçimi amacıyla enzimatik ve ultrason ön işlemleri beraber ve ayrı ayrı uygulanmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: Nar kabuklarına enzimatik ve ultrason ön işlem uygulanması sonrası etanol ile fenolik madde ekstraksiyonu sonuçları (GAE mg/g).

	Enzim (-) Ultrason (-)	Enzim (+) Ultrason (-)	Enzim (-) Ultrason (+)	Enzim (+) Ultrason (+)
Ultrason uygulaması sonrası	-	-	150,9±8	136,8±26,1
Enzimatik ön işlem 10. dk	134,4±51,7 ^a	175,2±40 ^a	159,7±47,5 ^a	149,4±13,1 ^a
Enzimatik ön işlem 20. dk	199,9±7 ^a	167,4±47,4 ^a	188,6±43,9 ^a	142,9±29,3 ^a
Enzimatik ön işlem 30. dk	180,6±22,3 ^a	150,2±7 ^a	201,0±40,2 ^a	154,0±13,9 ^a
Enzimatik ön işlem 60. dk	195,1±9,5 ^a	202,4±15 ^a	200,2±35,8 ^a	171,5±20,6 ^a
Etanol ile ekstraksiyon 10. dk	249,5±49,6 ^{ab}	264,9±39,9 ^a	293,9±26,3 ^a	208,6±25,3 ^b
Etanol ile ekstraksiyon 20. dk	242,7±20,6 ^{ab}	256,4±38,2 ^a	244,7±38,6 ^a	200,2±21 ^b
Etanol ile ekstraksiyon 30. dk	229,8±49,2 ^{ab}	241,2±29,3 ^a	244,4±59,5 ^a	191,5±13,6 ^b
Pektin (g)	0	0,0438±0,02 ^a	0,0458±0,05 ^a	0,0490±0,002 ^a
Pektin Verimi (%)	0	0,8	0,8	0,8

*Farklı harflerdeki değerler Tukey testine göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($p < 0,05$). Enzimatik ön işlem ve etanol ile ekstraksiyon aşamaları kendi içerisinde ayrı ayrı değerlendirilmiştir.

Fenolik maddeler Folin-Ciocalteu reaktifi ile mavi renkli kompleks bir yapı oluştururlar (Blainski ve diğ., 2013). Folin-Ciocalteu reaktifi molibdo fosfotungstik heteropoli asittir; heteropoli asitler, fosfomolibdik ve fosfotungstik asitlerden meydana gelir ve antioksidan aktivite gösteren bir bileşen ile molibdo reaksiyona girdiğinde indirgenerek sarımsı renkten mavi renge dönüşürler; yani bir bileşenin indirgenme kapasitesini belirlemeye yaramaktadır (Agbor ve diğ., 2014; Büyüktuncel, 2013). Bu durum flavonlar, A vitamini, C vitamini gibi antioksidan aktivite gösteren tüm bileşiklerin sonuca etki edebileceği anlamına gelmektedir. Bu sebeple fenolik madde oranlarında nar kabuğunun mevcut bileşimine bağlı olarak sistematik hata meydana gelebilmektedir. Ek olarak, alınan örneklerde fenolik madde analizi üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş ve tekrarlar arasında da belirli oranlarda sapma gözlenmiştir. Nar kabuğu A vitamini, C vitamini, flavanoidler ve benzeri antioksidan aktivite gösteren bileşenler bakımından zengindir (Kushwaha, 2013; Mphahlele ve diğ., 2016). Bu bileşenler ışık, sıcaklık gibi ortam koşullarından etkilenebilmektedir (Çakmakçı & Turgut, 2005). Alınan örneklerin ışığa veya sıcaklığa maruz kalması sonucu bazı vitaminlerin bozulması ile tespit edilen fenolik madde oranı düşük olarak tespit edilmiş olabilir çünkü daha önce bahsedildiği üzere Folin-ciocalteu metodu sadece fenolik maddeleri değil; indirgeme özelliği olan tüm bileşenleri ölçebilmektedir. Son aşamada elde edilen fenolik madde konsantrasyonları, literatürde enzim destekli ekstraksiyon metodu ile nar kabuğu üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilen maksimum değerler ile benzerlik göstermektedir; bu değerler $206 \pm 1,8$ ve $242,9 \pm 14,6$ mg GAE/g arasında değişkenlik göstermektedir (Alexandre ve diğ., 2019; Mastrodi Salgado ve diğ., 2012; Mushtaq ve diğ., 2016; Nag & Sit, 2018; Talekar ve diğ., 2018a). Tespit edilen az miktardaki farklılıklar ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve enzim konsantrasyonu ile ilgili olup; genellikle ekstraksiyon süresi ve belli bir dereceye kadar sıcaklık artışı ile verimin arttığı görülmektedir (Muhammad Mushtaq ve diğ., 2015). Ultrason ile ön işleme yapılan durumlarda daha düşük bir verim elde edilmiş veya algılanabilir bir artış tespit edilmemiştir, bunun sebebinin ultrasonun kısa sürede hücreleri parçalayabilmesi, daha uzun sürelerde uygulanırsa fenolik maddelerin de bundan zarar görebilmesi ihtimali olduğu düşünülmektedir (Nag & Sit, 2018). Ayrıca, ultrason hücre duvarını parçalayarak bileşenlerin serbest kalmasını sağlamaktadır ancak ultrasonun etkisiyle oluşan kaviteasyon ve çevresinde artan sıcaklığa bağlı olarak fenolik maddeler zarar görebilir ve bu durum da fenolik madde verimini

negatif yönde etkileyebilmektedir (Rose, 2014). Bu sebeple ultrason uygulamasının fenolik madde ekstraksiyonu için uygun olmadığı tespit edilmiştir.

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda, enzimatik ön işlem aşamasında ultrasonun, enzimin ve faktörlerin etkileşiminin fenolik madde oranı üzerinde önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Sürenin sonuçlar üzerindeki önem derecesi en yüksektir ve süre arttıkça fenolik madde oranının arttığı görülmüştür. Literatürde yapılan çalışmalarda da belirli bir seviyeye kadar yapılan süre artışlarında fenolik madde oranında artış olduğu görülmüştür (Martillanes ve diğ., 2021; TC ve diğ., 2016). Etanol ile ekstraksiyon aşamasında ise yalnızca enzim konsantrasyonu ve ultrason kullanım faktörlerinin etkileşiminin önemli bir etkisi olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Sadece enzim kullanıldığında, ultrason kullanımı ile elde edilen fenolik madde oranına göre çok benzer sonuçlar elde edildiği ve ultrason ile enzimin bir arada kullanıldığı duruma göre daha yüksek verim elde edildiği görülmüştür. Tezin amacı çevre dostu bir metot geliştirmek olduğu için, enerji tüketimini azaltmak adına sadece enzim kullanarak ilerlenmesi kararı alınmıştır. Enzim destekli ekstraksiyon ile hücre duvarı parçalanarak bileşenlerin serbest kalması sağlanarak daha yüksek verim elde edilmesi planlanmaktadır (B. B. Li ve diğ., 2006). Sadece enzim kullanıldığında fenolik madde verimi zamanla azalmıştır ancak bu azalış oranı çok düşüktür ve literatürde nar kabuğu, pirinç kepeği ve çeşitli turuncgillerde gerçekleştirilen enzim destekli fenolik madde ekstraksiyonu çalışmalarında genellikle artan süre ile verimin arttığı görülmektedir (B. B. Li ve diğ., 2006; Talekar ve diğ., 2018b). Yapılan değerlendirme doğrultusunda sadece enzim kullanılarak, enzimatik ön işlem süresi 60 dk ve etanol ile ekstraksiyon süresi 30 dk olarak belirlenmiştir.

Pektin verimlerine bakıldığında kontrol, yani enzim ve ultrason ön işleme yapılmayan, hariç hepsinde benzer ve kontrole oranla yüksek verim elde edildiği görülmektedir. Bu sonuçlar da yapılan seçimi desteklemektedir.

Ekstraksiyon verimine etki eden değişkenler katı sıvı oranı ile enzim konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Literatürde yapılan araştırma doğrultusunda 1:10, 1:25 ve 1:40 katı sıvı oranları ile %2, 6, 10 enzim konsantrasyonları faktör seviyesi olarak belirlenmiştir (Alexandre ve diğ., 2019; Kumar ve diğ., 2020; Nag & Sit, 2018; Talekar ve diğ., 2018b). Belirlenen seviyelere göre elde edilen sonuçlar Çizelge 3.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.2: Farklı katı sıvı oranı ve enzim konsantrasyonları sonucunda enzimatik ön işleme ve etanol ile ekstraksiyon sonucu elde edilen fenolik madde oranları ve pektin verimleri.

Katı: Sıvı Oranı	Enzim Konsantrasyonu (%v/m)	Enzimatik Ön İşlem Sonrası Fenolik Madde Oranı (mg GAE/g)	Etanol ile Ekstraksiyon Sonrası Fenolik Madde Oranı (mg GAE/g)	Pektin Verimi (%)
1:10	2	132,2±0,3 ^a	265,4±82,6 ^a	0,07±0,003 ^a
1:25	2	220,7±9,2 ^a	288,6±107,4 ^a	0 ^a
1:40	2	256,2±7 ^a	267,7±8,5 ^a	0 ^a
1:10	6	202,7±30,3 ^a	292,3±52,4 ^a	0 ^a
1:25	6	217,2±20,5 ^a	291,9±76 ^a	0,4±0,002 ^a
1:40	6	236,4±29,6 ^a	329,5±37,8 ^a	0,2±0,0007 ^a
1:10	10	122,4±22 ^a	255,9±75,2 ^a	0,7±0,003 ^a
1:25	10	219,9±21,1 ^a	295,6±76,7 ^a	1,1±0,004 ^a
1:40	10	223,8±49,8 ^a	312,9±40,5 ^a	0,4±0,002 ^a

Sonuçlar incelendiğinde 1:40 katı sıvı oranı ve %6 enzim konsantrasyonu optimum koşul olarak belirlenmiştir. ANOVA testi sonrası katı sıvı oranı, enzim konsantrasyonu ve bu iki faktörün etkileşiminin fenolik madde oranı üzerinde istatistiksel olarak algılanabilir bir etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Ancak, katı sıvı oranı ve enzim konsantrasyonu arttıkça verimin arttığı görülmüştür, bunun sebebi artan çözücü oranı ile fenolik maddelerin çözücü içinde daha iyi çözünmesi ve artan enzim konsantrasyonu ile de hücrelerin daha iyi parçalanması ve fenolik maddelerin serbest kalması olduğu düşünülmektedir (Kumar ve diğ., 2020; Muhammad Mushtaq ve diğ., 2015). %6 enzim konsantrasyonu kullanıldığında %10'a göre daha yüksek verim elde edildiği görülmüştür. Enzim konsantrasyonu artış gösterirken substrat limitli kaldığından dolayı enzimin etkisi azalış gösterebilmektedir (Barman ve diğ., 2015). Bunlara ek olarak, 1:40 katı sıvı oranında enzim ilave edilmeden gerçekleştirilen fenolik madde analizinde 84,6±3,3 mg GE/g ile enzim ilaveli koşula göre daha düşük sonuç elde edildiği görülmüştür. Enzim kullanıldığında daha yüksek oranda verim elde edilmesinin sebebinin enzimin hücre duvarını parçalayarak fenolik maddelerin serbest kalmasını sağlayarak elde edildiği düşünülmektedir. Literatürde belirli seviyelere kadar artan sıvı katı oranı ve enzim ile

daha yüksek verim elde edildiği görülmüş ve elde edilen verilere de dayanarak 1:40 katı sıvı oranı ve %6 enzim konsantrasyonu optimum koşullar olarak belirlenmiştir (Kitryté ve diğ., 2017; Nishad ve diğ., 2019).

3.2. Optimum Koşullarda Enzimatik Ön İşlem Sonrası Ekstraksiyon ile Elde Edilen Ekstraktının Karakterizasyonu

3.2.1. Antioksidan aktivite

Belirlenen optimum koşullar kullanılarak ve nar kabuğundan asit destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın antioksidan aktivite için DPPH ve CUPRAC analizleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Çizelge 3.3'de özetlenmiştir. Gerçekleştirilen istatistiksel analizler doğrultusunda, fenolik madde ve antioksidan aktivite sonuçlarına göre örnekler arasında anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p<0,05$). Yani enzimin fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerinde önemli bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Enzim kullanımı ile kullanılmayan duruma kıyasla daha yüksek oranda fenolik madde elde edilmiş ve antioksidan aktivite yükselmiştir.

Çizelge 3.3: Enzimatik ön işlem uygulanarak ve uygulanmadan elde edilen ekstrakta ait fenolik madde konsantrasyonu ve antioksidan aktivite sonuçları.

	Enzim İlaveli*	Kontrol*
CUPRAC (TE mg/g)	3108,5±303	1327,4±58,5
DPPH (TE mg/g)	1586±15,9	951,8±69,9
RADİKAL YAKALAMA ORANI (%)	50,3±0,005	31,9±0,02
FENOLİK MADDE (GE mg/g)	329,5±30,9	84,6±3,3

*Enzim ilaveli ve ilavesiz iki koşulda 1:40 katı sıvı oranı kullanılmıştır.

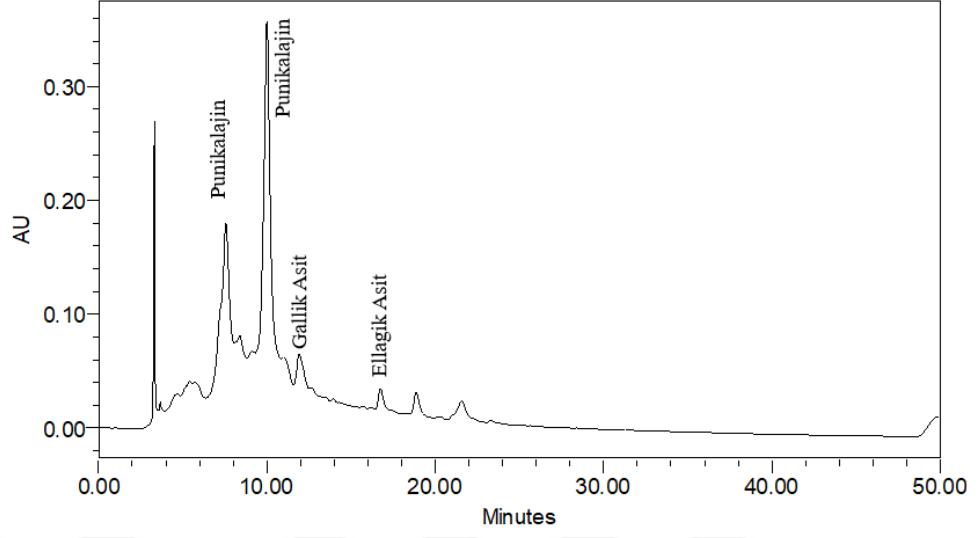
DPPH metodunda, fenolik maddelerin radikal süpürme aktiviteleri ne kadar yüksek ise absorbans değeri o kadar düşük olmaktadır (Bardakçi Yılmaz & Boyacioğlu, 2020). Literatür ile kıyaslandığında, nar kabuğundan %4 oranında selüloz ve pektinaz enzimi ile fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleştirilen bir çalışmada fenolik madde oranının 206±1,8 mg GE/g ve DPPH metodu ile antioksidan aktivitenin 329±2,6 mg TE/ g olduğu tespit edilmiştir. (Alexandre ve diğ., 2019). Enzimatik ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve enzim konsantrasyonu antioksidan aktiviteyi etkileyen önemli faktörlerdir; ekstraksiyon süresi ve enzim konsantrasyonu arttıkça ve sıcaklık azaldıkça genellikle antioksidan aktivite artmaktadır (M Mushtaq ve diğ., 2016). Çalışmada kullanılan enzim oranının %4 ve enzim destekli

ekstraksiyon süresinin 15 dk yani bu çalışmada kullanılan süreden çok daha az olması nedeni ile elde edilen verimin çok daha düşük olduğu düşünülmektedir. Ek olarak, yapılan hesaplamalar sonucunda enzim ilave edilen metot ile enzim ilave edilmeyen metoda göre ekstraktın daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği görülmüştür. Rafi ve ark. tarafından yapılan çalışmada 48 saat süre ile %70 etanol konsantrasyonu kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonda sadece su ve etanol kullanımına oranla daha yüksek verim ($1068,81 \pm 40,12$ mg GAE/g) elde edildiği görülürken; elde edilen ekstraktın DPPH ($358,67 \pm 5,77$ μ mol TE/g) ve CUPRAC ($2981,59 \pm 25,99$ μ mol TE/g) metotları ile tespit edilen antioksidan aktivitesinin de aynı şekilde daha yüksek olduğu görülmüştür (Rafi ve diğ., 2021). Kullanılan etanol su oranının verim üzerinde etkisi olduğu sonucuna varılmakla birlikte yürütülen çalışmada %50 etanol konsantrasyonu kullanıldığı ve ekstraksiyon sürelerinde büyük farklılıklar olduğu için farklı sonuçlar elde edilmiş olduğu düşünülmektedir. CUPRAC metodunda ise Bakır klorür'deki Cu (II) iyonları Cu (I)'e indirgenir ve neokuprin ile kompleks bir yapı oluşturarak açık yeşil-sarı benzeri bir renk meydana getirir (Albayrak ve diğ., 2010). Antioksidan aktivite tayini için kullanılan iki metot ile elde edilen sonuçlara göre enzim kullanılan durumda enzim kullanılmayan duruma göre daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu durum artan fenolik madde oranı ile ilgili olabilmektedir çünkü enzim kullanımı ile fenolik madde verimi de artmış ve buna bağlı olarak antioksidan aktivite artmıştır.

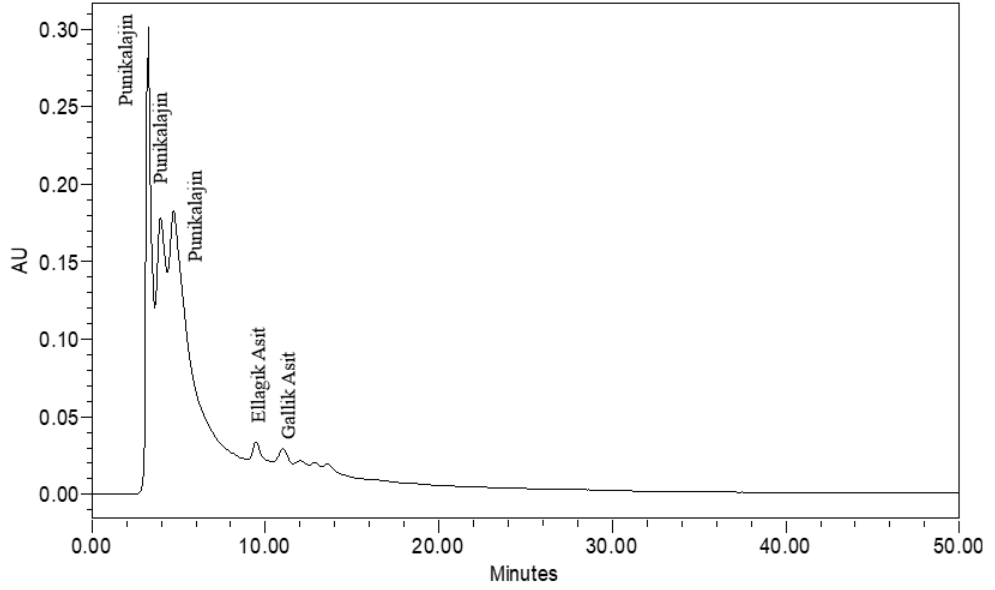
3.2.2. Optimum koşullarda elde edilen ekstraktın fenolik madde profili

1:40 katı sıvı oranı ve %6 enzim konsantrasyonu kullanılarak elde edilen ve aynı katı sıvı oranı ile enzim ilavesiz elde edilen fenolik madde profili HPLC ile tespit edilmiştir. 280 nm dalga boyunda gerçekleştirilen analizlerde flavanoller ve hidrosibenzoik asitler tespit edilmiştir. Mevcut olan standart eğrilerine göre değerlendirme yapılmış olduğu için standart eğrisi olmayan fenolik maddeler tespit edilememiş veya tespit edilse dahi konsantrasyon hesaplaması gerçekleştirilememiştir. Fenolik madde profilleri Şekil 3.1'de, fenolik madde isimleri ve konsantrasyonları Çizelge 3.4'de özetlenmiştir.

a)



b)



Şekil 3.1: a) 1:40 katı sıvı oranı ve %6 enzim konsantrasyonu ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen fenolik madde profili b)1:40 katı sıvı oranı ve enzim ilavesiz koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen fenolik madde profili.

Çizelge 3.4: 1:40 katı sıvı oranı ve %6 enzim konsantrasyonu ile 1:40 katı sıvı oranı ve enzim ilavesiz koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde edilen fenolik maddeler ve konsantrasyonları.

	Fenolik Maddenin Adı	Fenolik Maddenin Konsantrasyonu (mg/mL)
Enzim İlavesi ile	Punikalajin	-
	Gallik Asit	0,0330
	(-)-Epigallokateşin	0,000782
	Ellagik Acid	0,0568
Enzim İlavesiz	Punikalajin	-
	Gallik Asit	0,0221
	Ellagik Asit	0,0653

Miktar tayini yapılamamış olsa da fenolik madde konsantrasyonları ilgili eğrinin altında kalan alanla doğru orantılı olduğu için punikalajinin en yüksek konsantrasyonda tespit edildiği görülmektedir. Tespit edilen fenolik maddeler literatürde nar kabuğunda tespit edilen fenolik maddeler arasında bulunmaktadır (Alexandre ve diğ., 2019). Genel olarak enzim destekli ekstraksiyon ile daha çok çeşitli fenolik madde elde edilmiş ve aynı olanlarda da daha yüksek konsantrasyonda tespit edilmiştir. Kullanılan Celluclast enziminin içerdiği selüloz ile hücre duvarının selüloz yapısı parçalanmış ve fenolik maddeler serbest hale geçmiştir. Bu sebeple daha yüksek verim elde edilebilmektedir.

3.3. Fenolik Madde Ekstraksiyonu Sonrası Kalan Nar Kabuğundan Pektin Elde Edilmesi

Nar kabuğunda kalan pektinin elde edilmesi amacı ile gerçekleştirilen sitrik asit çözeltisinde ekstraksiyon prosesinde ultrason kullanılıp kullanılmayacağına karar vermek için yapılan denemede (Çizelge 3.5) ultrasonun pektin verimi üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisinin olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). Ultrasonun oluşturduğu kavitasyon etkisi ile hücre duvarı parçalandığı için pektin molekülleri serbest kalmaktadır (Panda & Manickam, 2019).

Çizelge 3.5: Ultrason destekli ve desteksiz olarak asit çözeltisinde ekstraksiyon sonucu pektin verimi.

	Pektin miktarı (g)	Pektin Verimi (%)
Ultrason desteksiz*	0,05±0,01	2±0,006
Ultrason destekli**	0,09±0,01	3±0,006

*1:33 katı sıvı oranı ve 80°C sıcaklıkta 60 dk süre ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.

** 1:33 katı sıvı oranı ve 80°C sıcaklıkta 60 dk ultrason ön işlem ve 60 dk ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.

Faktöriyel dizayn yapılarak 1:10, 1:20 ve 1:30 katı sıvı oranları ile 15, 30 ve 45 dk ultrason ön işleme sürelerinde pektin verimi belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 3.6'da özetlenmiştir. Pektin ekstraksiyonu için çok uzun süreler tercih edilmemiştir bunun sebebi ise ultrason sonucu oluşan kavitasyona uzun süre maruz kalınması sonucunda pektin hidroliz olabilmekte ve verim düşebilmektedir (Moorthy ve diğ., 2015).

Çizelge 3.6: Farklı katı sıvı oranları ve ultrason ön işlem süreleri ile elde edilen pektin verimleri.

Katı: Sıvı Oranı	US Ön işlem Süresi	Pektin Miktarı (g)	Pektin Verimi (%)
1:10	15	0,075±0,02 ^b	2,5±0,006
1:20	15	0,077±0,005 ^b	2,6±0,002
1:30	15	0,079±0,012 ^b	2,6±0,004
1:10	30	0,074±0,017 ^b	2,5±0,006
1:20	30	0,09±0,002 ^{ab}	3,0±0,001
1:30	30	0,071±0,007 ^b	2,4±0,001
1:10	45	0,069±0,003 ^b	2,3±0,001
1:20	45	0,11±0,006 ^a	3,7±0,002
1:30	45	0,075±0,006 ^b	2,5±0,002

*Tüm ekstraksiyonlar 80°C'de gerçekleştirilmiştir.

Farklı harflerdeki değerler Tukey testine göre istatistiksel olarak farklılık göstermektedir ($p < 0,05$).

ANOVA testi sonucu ultrason ön işleme süresinin verim üzerinde istatistiksel olarak bir etkisinin olmadığı görülürken, katı sıvı oranı ve iki faktörün etkileşiminin verim üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu görülmektedir ($p < 0,05$). En yüksek verim ise 1:20 katı sıvı oranı ve 45 dk ultrason ön işlem süreleri ile elde edilmiştir. Literatürde üzüm posası ve limon, portakal gibi çeşitli turuncgillerde gerçekleştirilen ultrason destekli pektin ekstraksiyonunda benzer sıcaklık ve süre koşulları kullanılarak pektin elde edildiğinde verimin arttığı görülmüştür örneğin limon, mandalina ve kivide yapılan çalışmada 1:30 katı sıvı oranı kullanılarak ultrason ön işleme süresi 15 dakikadan 45

dakikaya, sıcaklık 60'dan 75°C'ye çıkarıldığında verimin arttığı görülmektedir (Karbuş & Tuğrul, 2021; Minjares-Fuentes ve diğ., 2014). Literatürdeki çalışmalarda sebze ve meyvelerin kabuklarından veya yan ürünlerinden direkt olarak pektin ekstraksiyonu üzerine çalışmalar çoğunluktadır. Ancak mevcut çalışmada, öncelikle nar kabuğundan fenolik maddeler ekstrakte edilmiş ve sonrasında kalan posadan pektin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada etanol ile ekstraksiyon sonrasında çöken pektinler ayrılmıştır ancak literatür ile kıyaslandığında daha düşük verim elde edildiği için bu aşamada kayıp yaşandığı düşünülmektedir.

Nar kabuğundan sitrik asit çözeltisi ile fenolik maddeler ekstraksiyonu gerçekleştirilmediği durumda %13 pektin verimi elde edilirken, fenolik madde ekstraksiyonu sonrası kalan nar kabuğu posasından ultrason ön işleme ile %3 pektin verimi elde edilmiştir. Sitrik asit çözeltisi ile nar kabuğundan pektin ekstraksiyonu sonuçları literatür ile uyumludur ve ultrason ön işlem ile fenolik maddesi alınmış nar kabuğundan elde edilen pektin veriminden daha yüksektir. Literatürde direkt olarak nar kabuğundan ultrason destekli ekstraksiyon sonucunda elde edilen pektin veriminin de aynı şekilde fenolik maddesi alınmış nar kabuğundan elde edilen pektin veriminden yüksek olduğu görülmektedir; örneğin 1:20 katı sıvı oranı ile 80°C'de 95 dk süren ekstraksiyon ile %11,18 ve 1:20 katı sıvı oranı 60°C'de 35 dk süren ekstraksiyon ile %21,87 verim elde edildiği görülmüştür (Moorthy ve diğ., 2015; Pereira ve diğ., 2016). Bunun sebebi, daha önce bahsedildiği üzere bu çalışmada fenolik madde elde edilen posadan pektin elde ediliyor olması sebebiyle daha düşük verim elde edilmesi ve literatüre bakıldığında da ultrason kullanarak hücre duvarı parçalandığı için direkt olarak nar kabuğundan ekstraksiyon yapıldığı durumlarda daha yüksek verim elde edilebilmesidir (Panda & Manickam, 2019).

3.4. Optimum Koşullarda Ultrason Ön İşlemi sonrası Elde Edilen Pektinin Karakterizasyonu

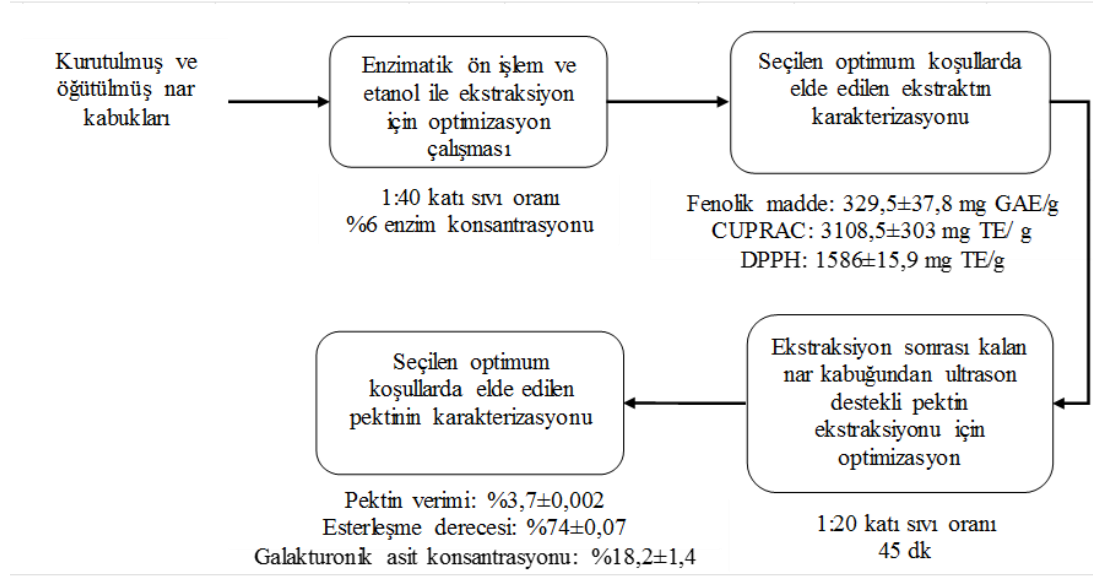
1:20 katı sıvı oranı ve 45 dk süre sonunda elde edilen pektinin esterleşme derecesi ve galakturonik asit konsantrasyonları tayin edilmiştir. Sonuçlar nar kabuğundan asidik çözelti ile ekstraksiyon sonucu elde edilen veriler ile kıyaslanmıştır. Veriler Çizelge 3.7'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.7: 1:20 katı sıvı oranı ve 45 dk ultrason işlemi sonucunda elde edilen pektin ile ultrason ön işleme yapılmadan elde edilen pektinin esterleşme derecesi ve galakturonik asit konsantrasyonu.

	Esterleşme Derecesi	Galakturonik Asit Konsantrasyonu
Ultrason Ön İşleme ile	%74±0,07	%18,2±1,4
Ultrason Ön İşlemesiz	%75±0,04	%27,3±5,1

Esterleşme derecesi ve galakturonik asit konsantrasyonu pektinin jelleşme derecesini etkileyen önemli kalite kriterleridir. Esterleşme derecesi yüzey gerilimi, emülsiyon kapasitesi, jel oluşturma özelliklerini belirler (Marić ve diğ., 2018). Genellikle esterleşmemiş galakturonik asitler kalsiyum ve diğer katyonlarla daha çok bağ yapma eğilimindedirler dolayısıyla esterleşme derecesi düştükçe bu durum pektinin kalsiyum varlığında jelleştiğini gösterirken; daha yüksek olması durumunda ise pektin düşük pH ve yüksek şeker içeren ortamlarda şeker ile hidrojen bağı yaparak jel yapmayı meydana getirirler (Dranca & Oroian, 2018). Elde edilen pektinlerin esterleşme derecelerine göre yüksek metoksilpektin grubuna girmektedir. Ultrason ön işleme yapılan ve direkt olarak nar kabuğundan elde edilen pektinlerin sonuçları karşılaştırıldığında ise ultrason ön işlemenin esterleşme derecesi ve galakturonik asit konsantrasyonu üzerinde önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Geleneksel metot ile kıyaslandığında ultrason ön işleme yapıldığında az bir fark ile daha düşük bir sonuç elde edildiği görülmektedir. Bunun sebebi ultrasonun gücünün diesterleşme yol açması ve ultrasonun gücü ve uygulama zamanı arttıkça düşmesidir (Bagherian ve diğ., 2011; Yang ve diğ., 2019). Galakturonik asit oranları incelendiğinde direkt olarak nar kabuğundan elde edilen pektinin daha yüksek sonuç verdiği görülmektedir. Esterleşme derecesi esterleşmiş galakturonik asit birimlerinin toplama oranını verirken; galakturonik asit oranı pektinin toplam galakturonik asit oranını vermektedir. Daha önce bahsedildiği üzere bu çalışmada öncelikle fenolik madde elde edilmiş nar kabuğundan pektin ekstraksiyonu gerçekleştirildiği için verimde azalış gözlemlenmiştir, buna bağlı olarak da galakturonik asit oranında azalış meydana gelmiş olabilir.

Çalışma sonucunda elde edilen veriler akış ile birlikte Şekil 3.2’de gösterilmektedir.



Şekil 3.2: Deney akışı ve elde edilen sonuçlar.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Nar kabuğu yüksek oranda fenolik madde ve pektin içermesi ve meyvenin yaklaşık %50'sini oluşturması sebebi ile değerli bir atıktır. Nar kabuğundan bu bileşenlerden birinin veya birkaçının geleneksel metotlar ile elde edildiği pek çok çalışma mevcuttur ancak çevre dostu bir metot ile iki bileşenin bir arada elde edildiği çalışma mevcut değildir.

Özetlemek gerekirse, fenolik madde ekstraksiyonunda enzim kullanımı hedef bileşiklerin elde edilmesini hücre duvarını parçalayarak kolaylaştırırken; pektin ekstraksiyonunda ise ultrason uygulamasının kavitasyon etkisi ile verimi artırdığı gözlenmiştir. Yapılan optimizasyon çalışmasında 1:40 katı sıvı oranı ve %6 enzim konsantrasyonu ile 241,2±29 mg GAE/ g fenolik madde elde edilirken, 1:20 katı sıvı oranı ve 45 dk ultrason uygulaması ile 3,7±0,002% pektin verimi elde edilmiştir.

Günümüzde bu yöntemin endüstriyel boyutta uygulamasının olmaması ve elde edilen bileşenlerin hassasiyeti büyük ölçekte uygulamayı zorlaştırmaktadır. Ancak artan talep, sürdürülebilirlik ve çevresel kaygılardan dolayı çevre dostu metotlar ile geri kazanım sağlanması git gide önem kazanacaktır. Bu çalışmada elde edilen bulgulara dayanarak daha yüksek verim veya kalite özellikleri daha gelişmiş bileşenler elde etmek için çalışmalar yürütülebilir.



KAYNAKLAR

- Abid, M., Jabbar, S., Hu, B., Hashim, M. M., Wu, T., Lei, S., Khan, M. A., & Zeng, X.** (2014). Thermosonication as a potential quality enhancement technique of apple juice. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 984–990. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.12.003>
- Accorsi, R., & Manzini, R. (Eds.).** (2019). *Sustainable Food Supply Chains*. Academic Press.
- Agbor, G., Vinson, J. A., & Donnelly, P. E.** (2014). Folin-Ciocalteu Reagent for Polyphenolic Assay. *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics*, August, 147–156. <https://doi.org/10.19070/2326-3350-1400028>
- Albayrak, S., Sağdıç, O., & Aksoy, A.** (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 26(4), 401–409.
- Albersheim, P., Darvill, A. G., O'Neill, M. A., Schols, H. A., & Voragen, A. G. J.** (1996). An hypothesis: The same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. *Progress in Biotechnology*, 14(C), 47–55. [https://doi.org/10.1016/S0921-0423\(96\)80245-0](https://doi.org/10.1016/S0921-0423(96)80245-0)
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A. 8., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R.** (2021). Phenolic compounds: Current industrial applications, limitations and future challenges. *Food and Function*, 12(1), 14–29. <https://doi.org/10.1039/d0fo02324h>
- Alexandre, E. M. C., Castro, L. M. G., Moreira, S. A., Pintado, M., & Saraiva, J. A.** (2017). Comparison of Emerging Technologies to Extract High-Added Value Compounds from Fruit Residues: Pressure- and Electro-Based Technologies. *Food Engineering Reviews 2017* 9:3, 9(3), 190–212. <https://doi.org/10.1007/S12393-016-9154-2>
- Alexandre, E. M. C., Silva, S., Santos, S. A. O., Silvestre, A. J. D., Duarte, M. F., Saraiva, J. A., & Pintado, M.** (2019). Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts performed by high pressure and enzymatic assisted extraction. *Food Research International*, 115(August 2018), 167–176. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.044>
- Algan Cavuldak, Ö.** (2021). Determination of the Extraction Conditions of Phenolic Compounds From Arbutus Unedo L. Leaves. *Gıda*, 46(5), 1218–1232. <https://doi.org/10.15237/gida.gd21065>
- Arpaç, Ş.** (2006). *Elma Suyu Üretiminde Uygulanan İşlemlerin Galakturonik Asit İçeriğine Etkisi*. (Yüksek Lisans Tezi). Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Pamukkale.

- Arslan, N.** (1994). Pektinin Fizikokimyasal Özellikleri, Üretimi ve Gıdalarda Kullanımı. *GIDA*, 19(3).
- Atalay, D., Türken, T., & Erge, H. S.** (2018). PEKTİN; Kaynakları Ve Ekstraksiyon Yöntemleri. *Gıda / the Journal of Food*, 43, 1002–1018. <https://doi.org/10.15237/gida.gd18089>
- Bagherian, H., Zokae Ashtiani, F., Fouladitajar, A., & Mohtashamy, M.** (2011). Comparisons between conventional, microwave- and ultrasound-assisted methods for extraction of pectin from grapefruit. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 50(11–12), 1237–1243. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2011.08.002>
- Bardakçi Yılmaz, Ö., & Boyacıoğlu, M.** (2020). Bazı Sentetik Antioksidanların 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Süpürme Kapasitesi Yöntemi ile Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması. *J Res Vet Med*, 2, 67–72. <https://doi.org/10.30782/jrv.m.795808>
- Barman, S., Sit, N., Badwaik, L. S., & Deka, S. C.** (2015). Pectinase production by *Aspergillus niger* using banana (*Musa balbisiana*) peel as substrate and its effect on clarification of banana juice. *Journal of Food Science and Technology*, 52(6), 3579–3589. <https://doi.org/10.1007/S13197-014-1413-8>
- Bi, X., Hemar, Y., Balaban, M. O., & Liao, X.** (2015). The effect of ultrasound on particle size, color, viscosity and polyphenol oxidase activity of diluted avocado puree. *Ultrasonics Sonochemistry*, 27, 567–575. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.04.011>
- Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P.** (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852–6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>
- Bush, P. L.** (2014). *Pectin: Chemical Properties, Uses and Health Benefits*. New York, USA.: Nova Science Publishers
- Büyüktuncel, E.** (2013). Main spectrophotometric methods for the determination of total phenolic content and antioxidant capacity. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93–103. <https://doi.org/10.12991/201317377>
- Çakmakçi, S., & Turgut, T.** (2005). Influence of different light sources, illumination intensities and storage times on the vitamin C content in pasteurized milk. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(5), 1097–1100.
- Cao, X., Cai, C., Wang, Y., & Zheng, X.** (2019). Effects of ultrasound processing on physicochemical parameters, antioxidants, and color quality of bayberry juice. *Journal of Food Quality*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7917419>
- Carovac, A., Smajlovic, F., & Junuzovic, D.** (2011). Application of Ultrasound in Medicine. *Acta Informatica Medica*, 19(3), 168. <https://doi.org/10.5455/AIM.2011.19.168-171>

- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G., & Perego, P.** (2010). Extraction of phenolics from *Vitis vinifera* wastes using non-conventional techniques. *Journal of Food Engineering*, *100*(1), 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.03.026>
- Christiaens, S., Uwibambe, D., Uyttebroeck, M., Van Droogenbroeck, B., Van Loey, A. M., & Hendrickx, M. E.** (2015). Pectin characterisation in vegetable waste streams: A starting point for waste valorisation in the food industry. *Lwt*, *61*(2), 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.12.054>
- Ciriminna, R., Chavarría-Hernández, N., Inés Rodríguez Hernández, A., & Pagliaro, M.** (2015). Pectin: A new perspective from the biorefinery standpoint. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, *9*(4), 368–377. <https://doi.org/10.1002/BBB.1551>
- Coelho, J. P., Robalo, M. P., Boyadzhieva, S., & Stateva, R. P.** (2021). Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Spent Coffee Grounds. Process Optimization Applying Design of Experiments. *Molecules*, *26*(23), 7320. <https://doi.org/10.3390/molecules26237320>
- Caleja, C., Riberio, A., Filameno, M.B. & C. F. R. F., I.** (2017). *Phenolic compounds as nutraceuticals or functional food ingredients*. *23*(19) 2787-2806.
- Dergal, S. B.** (2006). *Química De Los Alimentos* (4th ed.). Pearson. <https://itscv.edu.ec/wp-content/uploads/2019/06/QUIMICA-DE-LOS-ALIMENTOS-4ta-Edicion.pdf>
- Dimitrov, K., Pradal, D., Vauchel, P., Baouche, B., Nikov, I., & Dhulster, P.** (2019). Modeling and Optimization of Extraction and Energy Consumption during Ultrasound-Assisted Extraction of Antioxidant Polyphenols from Pomegranate Peels. *Environmental Progress and Sustainable Energy*, *38*(5), 1–7. <https://doi.org/10.1002/ep.13148>
- Dominiak, M., Søndergaard, K. M., Wichmann, J., Vidal-Melgosa, S., Willats, W. G. T., Meyer, A. S., & Mikkelsen, J. D.** (2014). Application of enzymes for efficient extraction, modification, and development of functional properties of lime pectin. *Food Hydrocolloids*, *40*, 273–282. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.03.009>
- Dranca, F., & Oroian, M.** (2018). Extraction, purification and characterization of pectin from alternative sources with potential technological applications. *Food Research International*, *113*(February), 327–350. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.06.065>
- Duran, K., Bahtiyari, İ., Ekmekçi Körlü, A., Dereli, S., & Özdemir, D.** (2006). Ultrason Teknolojisi. *Tekstil ve Konfeksiyon*, *3*(4), 155–158. <http://dergipark.gov.tr/download/article-file/217985>
- Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., Novellino, E., & Santini, A.** (2019). Polyphenols: A concise overview on the chemistry, occurrence, and human health. *Phytotherapy Research*, *33*(9), 2221–2243. <https://doi.org/10.1002/ptr.6419>

- Encalada, A. M. I., Pérez, C. D., Flores, S. K., Rossetti, L., Fissore, E. N., & Rojas, A. M.** (2019). Antioxidant pectin enriched fractions obtained from discarded carrots (*Daucus carota* L.) by ultrasound-enzyme assisted extraction. *Food Chemistry*, 289(October 2018), 453–460. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.03.078>
- Etzbach, L., Pfeiffer, A., Schieber, A., & Weber, F.** (2019). Effects of thermal pasteurization and ultrasound treatment on the peroxidase activity, carotenoid composition, and physicochemical properties of goldenberry (*Physalis peruviana* L.) puree. *Lwt*, 100(October 2018), 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.10.032>
- European Commission.** (2008). *Directive 2008/98/EC of the European Parliament and of the Council*.
- FAO.** (2015). *The State of Food Insecurity in the World*. www.fao.org/publications
- FAO.** (2017). *FAO AND THE SDGs*. <https://www.fao.org/3/i6919e/i6919e.pdf>
- FAO.** (2021). *Food Loss Reduction CoP/ Food and Agriculture Organization of the United Nations*. <https://www.fao.org/platform-food-loss-waste/resources/detail/en/c/1378978/>
- Food Loss and Food Waste | FAO | Food and Agriculture Organization of the United Nations.** (n.d.). Retrieved December 4, 2021, from <https://www.fao.org/food-loss-and-food-waste/flw-data>
- Garde-Cerdán, Teresa, Gonzalo-Diago, Ana, Pérez-Álvarez, E. P.** (2017). Phenolic Compounds: Types, Effects, and Research. In *Phenolic Compounds* (p. 2). <https://web-s-ebscobhost-com.lproxy.yeditepe.edu.tr/ehost/ebookviewer/ebook/ZTAwMHh3d19fMTU0MDA5OV9fQU41?sid=4155ccb7-b5c3-442a-8ee7-9a4433f3b71c@redis&vid=4&format=EB&rid=6>
- Garnett, T.** (2014). Three perspectives on sustainable food security: efficiency, demand restraint, food system transformation. What role for life cycle assessment? *Journal of Cleaner Production*, 73, 10–18. <https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2013.07.045>
- Gil, M. I., Tomas-Barberan, F. A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D. M., & Kader, A. A.** (2000). Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(10), 4581–4589. <https://doi.org/10.1021/jf000404a>
- Godfray, H. C. J., Beddington, J. R., Crute, I. R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J. F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S. M., & Toulmin, C.** (2010). Food Security: The Challenge of Feeding 9 Billion People. *Science*, 327(5967), 812–818. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1185383>
- Gómez-García, R., Campos, D. A., Oliveira, A., Aguilar, C. N., Madureira, A. R., & Pintado, M.** (2020). *A chemical valorisation of melon peels towards functional food ingredients: Bioactives profile and antioxidant properties*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127579>

- González-De-peredo, A. V., Vázquez-Espinosa, M., Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Barbero, G. F., & Palma, M.** (2021). Development of optimized ultrasound-assisted extraction methods for the recovery of total phenolic compounds and anthocyanins from onion bulbs. *Antioxidants*, *10*(11). <https://doi.org/10.3390/antiox10111755>
- González-Miquel, M., & Díaz, I.** (2020). Valorization of citrus waste through sustainable extraction processes. *Food Industry Wastes*, 113–133. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817121-9.00006-1>
- Gupta, R., Kohli, P., & Kalia, M.** (2015). Pectin Methylesterases: A Review. *Journal of Bioprocessing and Biotechniques*, *5*(5). <https://doi.org/10.4172/2155-9821.1000227>
- Herceg, Z., Brncic, M., Jambrak, A. R., Brncic, S. R., Badanjak, M., & Sokolic, I.** (2009). Mogucnost primjene ultrazvuka visokog intenziteta u mljekarskoj industriji. *Mljekarstvo*, *59*(1), 65–69.
- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F., & Yarmand, M. S.** (2016). Aqueous extraction of pectin from sour orange peel and its preliminary physicochemical properties. *International Journal of Biological Macromolecules*, *82*, 920–926. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.007>
- Inngjerdingen, K. T., Patel, T. R., Chen, X., Kenne, L., Allen, S., Morris, G. A., Harding, S. E., Matsumoto, T., Diallo, D., Yamada, H., Michaelsen, T. E., Inngjerdingen, M., & Paulsen, B. S.** (2007). Immunological and Structural Properties of a Pectic Polymer from *Glinus Oppositifolius*. *Glycobiology*, *17*(12), 1299–1310. <https://doi.org/10.1093/GLYCOB/CWM088>
- Jackson, C. L., Dreaden, T. M., Theobald, L. K., Tran, N. M., Beal, T. L., Eid, M., Gao, M. Y., Shirley, R. B., Stoffel, M. T., Kumar, M. V., & Mohnen, D.** (2007). Pectin induces apoptosis in human prostate cancer cells: correlation of apoptotic function with pectin structure. *Glycobiology*, *17*(8), 805–819. <https://doi.org/10.1093/GLYCOB/CWM054>
- Jafari, F., Khodaiyan, F., Kiani, H., & Hosseini, S. S.** (2017). Pectin from carrot pomace: Optimization of extraction and physicochemical properties. *Carbohydrate Polymers*, *157*, 1315–1322. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.11.013>
- Jeong, H. S., Kim, H. Y., Ahn, S. H., Oh, S. C., Yang, I., & Choi, I. G.** (2014). Optimization of enzymatic hydrolysis conditions for extraction of pectin from rapeseed cake (*Brassica napus* L.) using commercial enzymes. *Food Chemistry*, *157*, 332–338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.02.040>
- Karbus, P., & Tugrul, N.** (2021). Microwave and ultrasound assisted extraction of pectin from various fruits peel. *Journal of Food Science and Technology*, *58*(2), 641–650. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04578-0>

- Kitrytė, V., Kraujalienė, V., Šulniūtė, V., Pukalskas, A., & Venskutonis, 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. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.06.001>
- Kumar, M., Tomar, M., Punia, S., Amarowicz, R., & Kaur, C.** (2020). Evaluation of Cellulolytic Enzyme-Assisted Microwave Extraction of Punica granatum Peel Phenolics and Antioxidant Activity. *Plant Foods for Human Nutrition*, *75*(4), 614–620. <https://doi.org/10.1007/s11130-020-00859-3>
- Kurt, H., & Şahin, G.** (2013). BİR ZİRAAT COĞRAFYASI ÇALIŞMASI: TÜRKİYE'DE NAR (Punica granatum L.) TARIMI [A Study of Agricultural Geography: Pomegranate (Punica granatum L.) Cultivation in Turkey]. *MARMARA COĞRAFYA DERGİSİ*, *27*. <http://www.marmaracografya.com>
- Kushwaha, S. C.** (2013). Nutritional Composition of Detannated and Fresh Pomegranate Peel Powder. *IOSR Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology*, *7*(1), 38–42. <https://doi.org/10.9790/2402-0713842>
- Li, B. B., Smith, B., & Hossain, M. M.** (2006). Extraction of phenolics from citrus peels: II. Enzyme-assisted extraction method. *Separation and Purification Technology*, *48*(2), 189–196. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2005.07.019>
- Li, Y., Zhu, C., Zhai, X., Zhang, Y., Duan, Z., & Sun, J.** (2018). Optimization of enzyme assisted extraction of polysaccharides from pomegranate peel by response surface methodology and their anti-oxidant potential. *Chinese Herbal Medicines*, *10*(4), 416–423. <https://doi.org/10.1016/j.chmed.2018.08.007>
- Liew, S. Q., Chin, N. L., Yusof, Y. A., & Sowndhararajan, K.** (2016). Comparison of Acidic and Enzymatic Pectin Extraction from Passion Fruit Peels and Its Gel Properties. *Journal of Food Process Engineering*, *39*(5), 501–511. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12243>
- Marić, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brnčić, M., & Rimac Brnčić, S.** (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science and Technology*, *76*(March), 28–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>
- Martillanes, S., Ayuso-Yuste, M. C., Bernalte, M. J., Gil, M. V., & Delgado-Adámez, J.** (2021). Cellulase-assisted extraction of phenolic compounds from rice bran (*Oryza sativa* L.): process optimization and characterization. *Journal of Food Measurement and Characterization*, *15*(2), 1719–1726. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00773-x>

- Martins, N., Barros, L., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. F. R.** (2015). Activity of phenolic compounds from plant origin against *Candida* species. *Industrial Crops and Products*, 74, 648–670. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.05.067>
- Mastrodi Salgado, J., Ferreira, T. R. B., de Oliveira Biazotto, F., & dos Santos Dias, C. T.** (2012). Increased Antioxidant Content in Juice Enriched with Dried Extract of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(1), 39–43. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0264-y>
- Melgarejo-Sánchez, P., Martínez, J. J., Hernández, F., Legua, P., Martínez, R., & Melgarejo, P.** (2015). The pomegranate tree in the world: New cultivars and uses. *Acta Horticulturae*, 1089, 327–332. <https://doi.org/10.17660/ACTAHORTIC.2015.1089.43>
- Merz, M., Eisele, T., Berends, P., Appel, D., Rabe, S., Blank, I., Stressler, T., & Fischer, L.** (2015). Flavourzyme, an Enzyme Preparation with Industrial Relevance: Automated Nine-Step Purification and Partial Characterization of Eight Enzymes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(23), 5682–5693. https://doi.org/10.1021/ACS.JAFC.5B01665/SUPPL_FILE/JF5B01665_SI_001.PDF
- Min, B., Lim, J., Ko, S., Lee, K. G., Lee, S. H., & Lee, S.** (2011). Environmentally friendly preparation of pectins from agricultural byproducts and their structural/rheological characterization. *Bioresource Technology*, 102(4), 3855–3860. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.12.019>
- Minjares-Fuentes, R., Femenia, A., Garau, M. C., Meza-Velázquez, J. A., Simal, S., & Rosselló, C.** (2014). Ultrasound-assisted extraction of pectins from grape pomace using citric acid: A response surface methodology approach. *Carbohydrate Polymers*, 106(1), 179–189. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.02.013>
- Mocanu, Gabriel-Dănuț, Constantin, O. E.** (2018). *Microbial Contamination of Food Products*. <https://web-p-ebscohost-com.lproxy.yeditepe.edu.tr/ehost/ebookviewer/ebook?sid=e0950743-ab40-465a-9ef6-0a7769cdc502%40redis&vid=3&rid=1&format=EB>
- Mohnen, D., Keegstra, K., & Pauly, M.** (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(3), 266–277. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2008.03.006>
- Moorthy, I. G., Maran, J. P., Surya, S. M., Naganyashree, S., & Shivamathi, C. S.** (2015). Response surface optimization of ultrasound assisted extraction of pectin from pomegranate peel. *International Journal of Biological Macromolecules*, 72, 1323–1328. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.037>
- Mphahlele, R. R., Fawole, O. A., Makunga, N. P., & Opara, U. L.** (2016). Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1132-y>

- Mushtaq, M., Sultana, B., Akram, S., Adnan, A., Apenten, R. K., & Nigam, P. S.-N.** (2016). Enzyme-assisted Extraction of Polyphenols from Pomegranate (*Punicagranatum*) Peel. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 5(2), 27–34. <https://doi.org/10.2/JQUERY.MIN.JS>
- Mushtaq, Muhammad, Sultana, B., Anwar, F., Adnan, A., & Rizvi, S. S. H.** (2015). Enzyme-assisted supercritical fluid extraction of phenolic antioxidants from pomegranate peel. *Journal of Supercritical Fluids*, 104, 122–131. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2015.05.020>
- Mushtaq, Sultana, Akram, Adnan, Owusu-Apenten, & Singh, N.** (2016). Enzyme-assisted Extraction of Polyphenols from Pomegranate (*Punicagranatum*) Peel. *Research & Reviews: Journal of Microbiology and Biotechnology*, 5(2), 27–34.
- Nag, S., & 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(3), 1734–1743. <https://doi.org/10.1007/s11694-018-9788-2>
- Nishad, J., Saha, S., & Kaur, C.** (2019). Enzyme- and ultrasound-assisted extractions of polyphenols from *Citrus sinensis* (cv. Malta) peel: A comparative study. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(8), 1–14. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14046>
- Oudane, B., Boudemagh, D., Bounekhel, M., Sobhi, W., Vidal, M., & Broussy, S.** (2017). Isolation, characterization, antioxidant activity, and protein-precipitating capacity of the hydrolyzable tannin punicalagin from pomegranate yellow peel (*Punica granatum*). <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2017.11.129>
- Panda, D., & Manickam, S.** (2019). Cavitation Technology—The Future of Greener Extraction Method: A Review on the Extraction of Natural Products and Process Intensification Mechanism and Perspectives. *Applied Sciences* 2019, Vol. 9, Page 766, 9(4), 766. <https://doi.org/10.3390/APP9040766>
- Pereira, P. H. F., Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Moates, G. K., Wellner, N., Waldron, K. W., & Azeredo, H. M. C.** (2016). Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 373–379. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.03.074>
- Pinelo, M., Zornoza, B., & Meyer, A. S.** (2008). Selective release of phenols from apple skin: Mass transfer kinetics during solvent and enzyme-assisted extraction. *Separation and Purification Technology*, 63(3), 620–627. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.07.007>

- Poojary, M. M., Orlie, V., Passamonti, P., & Olsen, K.** (2017). Enzyme-assisted extraction enhancing the umami taste amino acids recovery from several cultivated mushrooms | Elsevier Enhanced Reader. *Food Chemistry*, 234, 236–244. <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0308814617307367?token=FBE193D1740FA2DDC5095A559924274E1A667F1FE9044DE594EB34A0ADA91F863DCEF397D57748B9B49403836666AC30&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220129155431>
- Rafi, M., Wulansari, L., Septaningsih, D. A., Purnomo, T. F., Auliatifani, R., Khaydanur, Ilmiawati, A., Yulianti, W., Nengsih, N. K., Suparto, I. H., & Kusuma, W. A.** (2021). Antioxidant capacity and phytochemical profile of punica granatum l. Peel extracts using different solvent extraction. *Journal of Tropical Life Science*, 11(3), 375–382. <https://doi.org/10.11594/jtls.11.03.14>
- Roels, K., & Gijseghem, D. Van.** (2011). *Verlies en verspilling in de voedselketen*. <http://www.vlaanderen.be/landbouw/studies/nieuwsflash>
- Rose, J.** (2014). *Ultrasonic Guided Waves in Solid Media*. Cambridge University Press.
- Roselló-Soto, E., Parniakov, O., Deng, Q., Patras, A., Koubaa, M., Grimi, N., Boussetta, N., Tiwari, B. K., Vorobiev, E., Lebovka, N., & Barba, F. J.** (2015). Application of Non-conventional Extraction Methods: Toward a Sustainable and Green Production of Valuable Compounds from Mushrooms. *Food Engineering Reviews* 2015 8:2, 8(2), 214–234. <https://doi.org/10.1007/S12393-015-9131-1>
- Kayahan, S & Saloglu, D.** (2021). Microwave-assisted extraction of antioxidant phenolic compounds from artichoke (*Cynara scolymus* L. cv Bayrampasa): optimisation and kinetic modelling. *International Food Research Journal*, 28(4), 704–715.
- Salleh-Mack, S. Z., & Roberts, J. S.** (2007). Ultrasound pasteurization: The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. *Ultrasonics Sonochemistry*, 14(3), 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2006.07.004>
- Şen, E., Özdemir, S., & Uğuzdoğan, E.** (2021). Extraction and characterization of pectin from waste of fruit peels. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 27(7), 863–872. <https://doi.org/10.5505/pajes.2021.91033>
- Soria, A. C., & Villamiel, M.** (2010). Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 21(7), 323–331. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.04.003>
- Steigerwald, H., Blanco-Perez, F., Albrecht, M., Bender, C., Wangorsch, A., Endreß, H. U., Bunzel, M., Mayorga, C., Torres, M. J., Scheurer, S., & Vieths, S.** (2022). Does the food ingredient pectin provide a risk for patients allergic to non-specific lipid-transfer proteins? *Foods*, 11(1). <https://doi.org/10.3390/FOODS11010013>

- Tağı, Ő.** (2010). *Nar Suyu Üretim AŐamalarında Antimikrobiyel Aktivite ve Fenolik Madde Miktarındaki Değişimler*. https://dspace.ankara.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/20.500.12575/68708/%2528Microsoft%2520Word%2520-%2520Kesin%2520rapor%2520_336eref%2520Ta_360_375%2520%2529.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Talekar, S., Patti, A. F., Vijayraghavan, R., & Arora, A.** (2018a). An integrated green biorefinery approach towards simultaneous recovery of pectin and polyphenols coupled with bioethanol production from waste pomegranate peels. *Bioresource Technology*, 266(April), 322–334. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.06.072>
- Talekar, S., Patti, A. F., Vijayraghavan, R., & Arora, A.** (2018b). Complete Utilization of Waste Pomegranate Peels to Produce a Hydrocolloid, Punicalagin Rich Phenolics, and a Hard Carbon Electrode. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 6(12), 16363–16374. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b03452>
- Hai TC, Nam ND, Hong Ahn LT, Vu TA, Man PV** (2016). Enzyme Assisted Extraction of Polyphenols from the Old Tea Leaves. *Journal of Nutrition and Health Sciences*, 3(4), 50–55. <https://doi.org/10.15744/2393-9060.3.404>
- Thakur, B. R., Singh, R. K., Handa, A. K., & Rao, M. A.** (2009). *Chemistry and uses of pectin-A review*. <https://doi.org/10.1080/10408399709527767>
- Thyberg, K. L., & Tonjes, D. J.** (2016). Drivers of food waste and their implications for sustainable policy development. *Resources, Conservation and Recycling*, 106, 110–123. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2015.11.016>
- Tran, T. T. B., Saifullah, M., Nguyen, N. H., Nguyen, M. H., & Vuong, Q. V.** (2021). Comparison of ultrasound-assisted and conventional extraction for recovery of pectin from Gac (*Momordica cochinchinensis*) pulp. *Future Foods*, 4(February), 100074. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100074>
- Trigo, J. P., Alexandre, E. M. C., Saraiva, J. A., & Pintado, M. E.** (2019). High value-added compounds from fruit and vegetable by-products – Characterization, bioactivities, and application in the development of novel food products. 60(8), 1388–1416. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1572588>
- TÜİK.** (2020). *Bitkisel Üretim İstatistikleri, 2020*. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2020-33737>
- Tülek, Z., AlaŐalvar, H., BaŐıđıt, B., Berktaş, S., Salum, P., Erbay, Z., Telci, I., & Çam, M.** (2021). Extraction optimization and microencapsulation of phenolic antioxidant compounds from lemon balm (*Melissa officinalis* L.): Instant soluble tea production. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), 1–14. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14995>
- UNPD.** (2015). *Amaç 2: Açlığa Son | UNDP Türkiye*. <https://www.tr.undp.org/content/turkey/tr/home/sustainable-development-goals/goal-2-zero-hunger.html>

- Vandermeersch, T., Alvarenga, R. A. F., Ragaert, P., & Dewulf, J.** (2014). Environmental sustainability assessment of food waste valorization options. *Resources, Conservation and Recycling*, *87*, 57–64. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2014.03.008>
- Velyamov, S. M., Jingilbaev, S. S., & Akterian, S. G.** (2019). Ultrasound-assisted and agitated enzymatic extraction of pectin from red beet (*Beta vulgaris* L. var. *conditiva*) roots. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, *25*(1), 196–202.
- Viera, V. B., Piovesan, N., Rodrigues, J. B., Mello, R. de O., Prestes, R. C., dos Santos, R. C. V., Vaucher, R. de A., Hautrive, T. P., & Kubota, E. H.** (2017). Extraction of phenolic compounds and evaluation of the antioxidant and antimicrobial capacity of red onion skin (*Allium cepa* L.). *International Food Research Journal*, *24*(3), 990–999.
- Vittuari, M., De Menna, F., García-Herrero, L., Pagani, M., Brenes-Peralta, L., & Andrea, S.** (2019). Food systems sustainability: The complex challenge of food loss and waste. *Sustainable Food Supply Chains: Planning, Design, and Control through Interdisciplinary Methodologies*, 249–260. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813411-5.00017-X>
- Wang, W., Ma, X., Xu, Y., Cao, Y., Jiang, Z., Ding, T., Ye, X., & Liu, D.** (2015). Ultrasound-assisted heating extraction of pectin from grapefruit peel: Optimization and comparison with the conventional method | Elsevier Enhanced Reader. *Food Chemistry*, *178*. <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S0308814615000916?token=4E35C4A468EDB746B78595824DE24C19B39254F41F1A324E7E35EA5852B88C4F734F2C5DA641F1D250727E7FD564DF3F&originRegion=eu-west-1&originCreation=20220130163018>
- Wikiera, A., Mika, M., & Grabacka, M.** (2015). Multicatalytic enzyme preparations as effective alternative to acid in pectin extraction. *Food Hydrocolloids*, *44*, 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.018>
- Yalcin, G., Demirbag, C., Bahsi, I., Ozugul, L., Alkaya, D. B., Onurlu, H. I., & Seyhan, S. A.** (2018). Determination of ellagic acid in the wastes of walnut, chestnut, and pomegranate grown in Turkey. *ACS Symposium Series*, *1286*(February 2019), 81–103. <https://doi.org/10.1021/bk-2018-1286.ch005>
- Yang, J. S., Mu, T. H., & Ma, M. M.** (2019). Optimization of ultrasound-microwave assisted acid extraction of pectin from potato pulp by response surface methodology and its characterization. *Food Chemistry*, *289*, 351–359. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2019.03.027>
- Yu, P., Gamage, I. H., & Zhang, X.** (2014). New approaches and recent advances on characterization of chemical functional groups and structures, physiochemical property, and nutritional values in feedstocks and by-products: Advanced spectroanalytical and modeling investigations. *Applied Spectroscopy Reviews*, *49*(7), 585–602. <https://doi.org/10.1080/05704928.2013.879064>

- Yuliarti, O., Goh, K. K. T., Matia-Merino, L., Mawson, J., & Brennan, C.** (2015). Extraction and characterisation of pomace pectin from gold kiwifruit (*Actinidia chinensis*). *Food Chemistry*, 187, 290–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.148>
- Zeng, X., Sheng, Z., Li, X., Fan, X., & Jiang, W.** (2019). In vitro studies on the interactions of blood lipid level-related biological molecules with gallic acid and tannic acid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(15), 6882–6892. <https://doi.org/10.1002/JSFA.9974>
- ZMO.** (2019). *NAR RAPORU / 2019*. https://www.zmo.org.tr/genel/bizden_detay.php?kod=32164&tipi=17&sube=0
- Zykwinska, A., Dric Gaillard, C., Lè Ne Boiffard, M.-H., Thibault, J.-F., & Bonnin, E.** (2009). “Green labelled” pectins with gelling and emulsifying properties can be extracted by enzymatic way from unexploited sources. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.07.010>



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Zeynep Merve KAHVECİ

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2018, Yeditepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2018- Şimdi: Kalite Güvence ve Gıda Güvenliği Uzmanı, Bizim Toptan Satış Mağazaları