

Enzyme Assisted Extraction of Phenolic Compounds From Mandarin Peels

Dicle Erciyas¹, Özlem Akpınar^{2*}

¹Ankara Gıda Kontrol Laboratuvar Müdürlüğü, 06070, Ankara

²Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 60000, Tokat

Abstract

In this research, enzyme assisted extraction of phenolic compounds from mandarin peels were studied, and ideal extraction conditions were determined to extract phenolic compounds with high yield from them. It was determined that the extraction time and liquid/solid ratio for the peel were 60 minutes and 10 liquid/solid (mL/g), enzyme activity was 0.13 U/mL. Under these conditions, extracted total phenolic compounds from mandarin peels were found as 1.83 mg GAE/mL, while their extracted total flavonoid compounds were determined as 1.42 mg QE/mL. It was found that total phenolic and flavonoid yields and antioxidant activities of the extracts obtained enzymatically were higher than those obtained by conventional extraction methods. The results showed that enzyme assisted extraction method was suitable method to obtain bioactive compounds from mandarin peels.

Key Words: *Enzymatic Extraction, Phytochemical, Flavonoid, Phenolic, Antioxidant.*

Mandalina Kabuklarından Fenolik Bileşiklerin Enzim Destekli Ekstraksiyonu

Özet

Bu araştırmada enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile mandalina kabuklarından fenolik bileşik ekstraksiyonu çalışılmış ve yüksek verimde fenolik bileşik ekstraksiyonu için ideal koşullar belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresi ve sıvı/katı oranı 60 dakika ve 10 sıvı/katı (mL/g) olarak, enzim aktivitesi 0.13 U/mL olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik miktarları mandalina kabukları için 1.83 mg GAE/mL; toplam flavonoid bileşik miktarları ise 1.42 mg QE/mL olarak bulunmuştur. Enzimatik olarak elde edilen ekstraktın toplam fenolik ve flavonoid madde verimleri ve antioksidan aktiviteleri geleneksel yöntem ile elde edilen ekstraktlara göre daha yüksek bulunmuştur. Sonuçlar, mandalina kabuklarından biyoaktif bileşik üretimi için enzim destekli ekstraksiyonun uygun bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Enzimatik Ekstraksiyon, Fitokimyasal, Flavonoid, Fenolik, Antioksidan*

Giriş

Gıda atıklarının sürdürülebilir bir şekilde yönetimi günümüzün en önemli sorunlarından biridir. Meyve ve sebzelerin kabuk, posa, tohum ve çekirdek gibi atıkları önemli bir ekonomik değeri olmayan hayvan yemi olarak kullanılsa da genellikle atılarak çevresel problemlere yol açmaktadır. Meyve ve sebze atıkları fenolik bileşikler dahil olmak üzere, vitaminler, mineraller ve antioksidanlar gibi önemli biyoaktif bileşikler ve diyet lifi kaynakları olup; gıda ve gıda dışı ilaç, kozmetik ve hayvancılık gibi endüstrilerinde değerlendirilme potansiyeli olan, düşük maliyetli ve yenilenebilir kaynaklardır (İslam ve ark., 2023; Amulya & Ul Islam, 2023). Farklı yapıları sahip fenolik bileşikler, bitkilerin organoleptik özelliklerine katkı sağlayan ikincil metabolitlerdir ve antioksidan potansiyellerinin yanı sıra antikansorejen, antimikrobiyal, antiglisemik, antimitojen, antikolestrol ve antialerjen özelliklere sahiptir (Demir ve ark., 2019; Demir & Akpınar, 2020; Lama-Muñoz & Contreras, 2022; Garcia-Salas ve ark., 2010).

Ekstraksiyon fenolik bileşiklerin elde edilmesinde oldukça önemli olup, verimli bir ekstraksiyonun süresi kısa, uygulanması kolay, maliyeti düşük, hedef maddenin kaybına neden olmamalı veya yapısını bozmamalı ve ekstraksiyon sonunda çözücü kalıntısı bırakmamalıdır. Çözücü ve enerji tüketimini, kirliliği ve maliyeti azaltacak, zamandan tasarrufu sağlayacak ve ekstra bir saflaştırma gereksinimini ortadan kaldıracak alternatif farklı ekstraksiyon teknikleri araştırılmaktadır. Bu tekniklerinden başlıcaları mikrodalga destekli, ultrason destekli, darbeli elektrik alanı destekli, enzim destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ve süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemleri olarak sıralanabilir (Büyüktuncel, 2012; Katırcı, 2023; Lama-Munoz & Contreras, 2022; Garcia-Salas ve ark., 2010). Bunlar arasında çevre dostu ve yenilikçi ekstraksiyon tekniği olan enzim destekli ekstraksiyon yöntemi çözücü kullanımını azaltarak son ürünlerdeki kalıntı oluşumunu engellemektedir. Hücre duvarını parçalayan enzimler kullanılarak sitoplazmik içeriğin ekstraksiyon sıvısına hareketi sağlanır ve böylece fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu gerçekleşmiş olur. Enzim destekli ekstraksiyon yöntemi spesifiktir, verimi yüksektir, düşük



sıcaklıklarda ve ılımlı pH'larda ekstraksiyon gerçekleştiğinden elde edilen ekstraktın fizikokimyasal özelliklerine ve biyolojik aktivitesine zarar vermemektedir (Dai & Mumber, 2010). Ayrıca kullanılan düşük sıcaklık sayesinde enerji tüketimi daha azdır ve yüksek sıcaklıkta meydana gelen ekipman korozyonuna da neden olmamaktadır. Bu nedenlerden dolayı diğer yöntemlere kıyasla çevre dostu bir yöntemdir (Marathe ve ark., 2019).

Bu çalışmanın amacı mandalina kabuklarında kokteyl bir enzim olan Viskozyime (ksilanaz, hemiselüla, glukanaz ve selüla) ile fenolik bileşiklerin yüksek bir verimle ekstraksiyonudur. Bu amaç doğrultusunda verim bakımından ekstraksiyon koşulları araştırılmış, elde edilen ekstraktın antioksidan aktiviteleri incelenerek fitokimyasal bileşikler kalitatif taranmıştır. Ayrıca geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sonuçlar hem yöntem bazında karşılaştırılmıştır.

Materyal ve Yöntem

Materyal

Araştırmada kullanılan mandalina kabukları yerel marketlerden temin edilmiştir. Kabuklar doğranarak küçük parçalara ayrılmış ve evsel fırında 50°C'de kurutulmuştur. Daha sonra öğütülmüş ve +4°C'de depolanmıştır. Analizlerin her biri 3 paralel, 2 tekrür halinde yapılmıştır.

Viskozyime L® (*Aspergillus sp.*) enzimi, 2,4,6-tripiridil-s-triazin (TPTZ), 3-Etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit (ABTS), 2,2 difenil-1-pikrohidrozil (DPPH), 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks) ve 2-(3,4-Dihidroksifenil)-3,5,7-trihidroksi-4H-1-benzopiran-4-birdihidrat (Quercetin) kimyasalları Sigma-Aldrich (St. Louis, MO; ABD)'den; 3 Folin-Cioaltea phenol reagent, Dinitrosalisilik asit (DNS) Merck KGaA (Almanya)'dan, 4,5-trihidroksibenzoik asit (gallik asit) Alfa Aesar (Almanya)'dan temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar ise Merck KGaA (Almanya)'dan ve Sigma-Aldrich (St. Louis, MO; ABD)'den alınmıştır.

Yöntem

Genel Analizler

Nem ve kül oranları gravimetrik olarak, protein miktarları kjeldahl yöntemi ile, toplam yağ içeriği Ankom yağ ekstraksiyon cihazıyla gravimetrik olarak analiz edilmiştir (AOAC, 2000). Toplam şeker içeriği glikoz standardı kullanılarak spektrofotometrede fenol-sülfürik asit yöntemi (Nielsen, 2024) ile, Abbe refraktometresi (Centro de Enseñanza Técnica Industrial, Ceti, Meksika) ile de ekstraktların suda çözünür kuru madde içeriği ölçülmüştür (Oluyori ve ark., 2022).

Enzim Destekli Ekstraksiyon

Kurutulmuş ve öğütülmüş mandalina kabuklarında fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu 0.1 M sitrat tampon çözeltisi (pH 5) içinde 50°C sıcaklıkta ve 150 rpm'de çalışan çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir. Kurutulmuş ve öğütülmüş mandalina kabuklardan farklı miktarlarda (1.67 g, 2.5 g ve 5.0 g), farklı enzim aktivitelerinde (0.026 U/mL, 0.079 U/mL, 0.13 U/mL ve 0.26 U/mL) ve farklı sürelerde (30 dk, 60 dk, 120 dk ve 240 dk) fenolik bileşikler ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon süresi sonunda enzim ısı ile inaktive edildikten sonra ekstraktlar önce filtre edilmiş sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve -18°C'de saklanmıştır (Kitryté ve ark., 2017).

Geleneksel Ekstraksiyon

Kurutulmuş ve öğütülmüş 5 g meyve kabukları 10:1 (mL solvent/g kabuk) oranında 50 mL %25'lik etil alkol çözeltisi karıştırılmış ve 60°C sıcaklıkta 120 dakika su banyosunda ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon süresi sonunda örnekler önce filtre edilmiş, sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiş ve -18°C'de saklanmıştır (Cai ve ark., 2004).

Toplam Fenolik, Flavonoid Madde ve İndirgen Şeker Tayini

Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı Singleton ve ark., (1965) tarafınca belirlenen metoda göre 2 N Folin-Cioaltea fenol ayırıcı kullanılarak belirlenmiştir ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak verilmiştir. Ekstraktların toplam flavonoid içeriklerinin tespiti Zhishen ve ark., (1999) tarafından belirlenen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir ve standart olarak kuarsetin kullanılmıştır. Ekstraktların indirgen şeker analizleri DNS yöntemi ile 560 nm'de spektrofotometrik olarak glikoz standardı (1 mg/mL) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Miller, 1959).

Antioksidan Kapasitesinin Tayini

Ekstraktların demir (III) indirgeme kapasitesi (FRAP) Benzie ve Strain (1996) tarafından tanımlanan yöntemle göre yapılmıştır ve sonuçlar "Troloks Eşdeğeri (TE)" olarak ifade edilmiştir. DPPH (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl) radikal süpürme kapasitesi Brand-Williams ve ark. (1995)'a göre yapılmış ve sonuçlar "Troloks Eşdeğeri (TE)" olarak ifade edilmiştir. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC/ABTS) ABTS^{•+} radikali süpürme kapasitesi (Re ve ark. 1999) yöntemine göre yapılmış ve sonuçlar "Troloks Eşdeğeri (TE)" olarak ifade edilmiştir.

Kalitatif Analizler

Ekstraktın kalitatif analizleri yapılarak fenolik ve flavonoidler dışında diğer fitokimyasal bileşikler de taranmıştır (Janarthanan ve ark., 2012). Ekstrakta tanen içeriği, örnekler %52'lik FeCl₃ çözeltisi ile karıştırılarak



yeşil renk oluşumu ile tespit edilmiştir. Ekstraktların üzerine 2 N NaOH eklenerek 5 dakika kaynatılmış ve ortaya çıkan mavi renk antosiyaninlerin, sarı renk oluşumu ise betasiyaninlerin göstergesidir. Saponin varlığı ekstraktların saf su karıştırılması sonunda köpük oluşumu ile incelenmiştir. Kinon için örnekler aynı hacimde H₂SO₄ ile karıştırılmış ve kırmızı renk oluşumu gözlenmiştir. Ekstraktların üzerine asetik asit, H₂SO₄ ve birkaç damla %5'lik FeCl₃ çözeltisi karıştırılmış ve kahverengi renk ile kardiak glikozit varlığını gözlenmiştir. Ekstraktlar kloroform karıştırılmış üzerine %10'luk amonyak damlatılmıştır. Pembe renk ise glikozit varlığını göstermiştir. Kumarin varlığı ekstraktların %10'luk NaOH ile karıştırılması sonunda sarı renk oluşumu ile gözlenmiştir. Ekstraktların kloroform karıştırılmış ve H₂SO₄ çözeltisi damlatılmıştır ve oluşan kırmızı renk terpenoid varlığını göstermiştir. Ekstraktlara sodyum bikarbonat eklendiğinde oluşan köpük ile asit varlığı taranmıştır.

Bulgular ve Tartışma

Kül, Nem, Yağ, Protein ve Toplam Şeker İçerikleri

Meyve kabuklarının kimyasal bileşimlerindeki farklılıklar türe, yetiştirme koşullarına (toprak, güneş, yağış..), genetik faktörlere, tarımsal faktörlere ve kullanılan analitik yöntemlerdeki farklılıklara bağlı olarak değişmektedir (Hussain ve ark., 2023). Mandalina kabuklarının nemi %8.66, külü %3.65, protein %6.72 olarak tespit edilmiş olup, yağ içeriği ise %8.94 olarak bulunmuştur. Meyve kabuklarında bulunan karbohidratların tamamı (selüloz, hemiselüloz, pektin, nişasta ve serbest şekerler) toplam şeker miktarı ile ilişkilendirilmektedir (Magwaza & Opara, 2015) ve %24.65 olarak bulunmuştur.

Ekstraksiyon

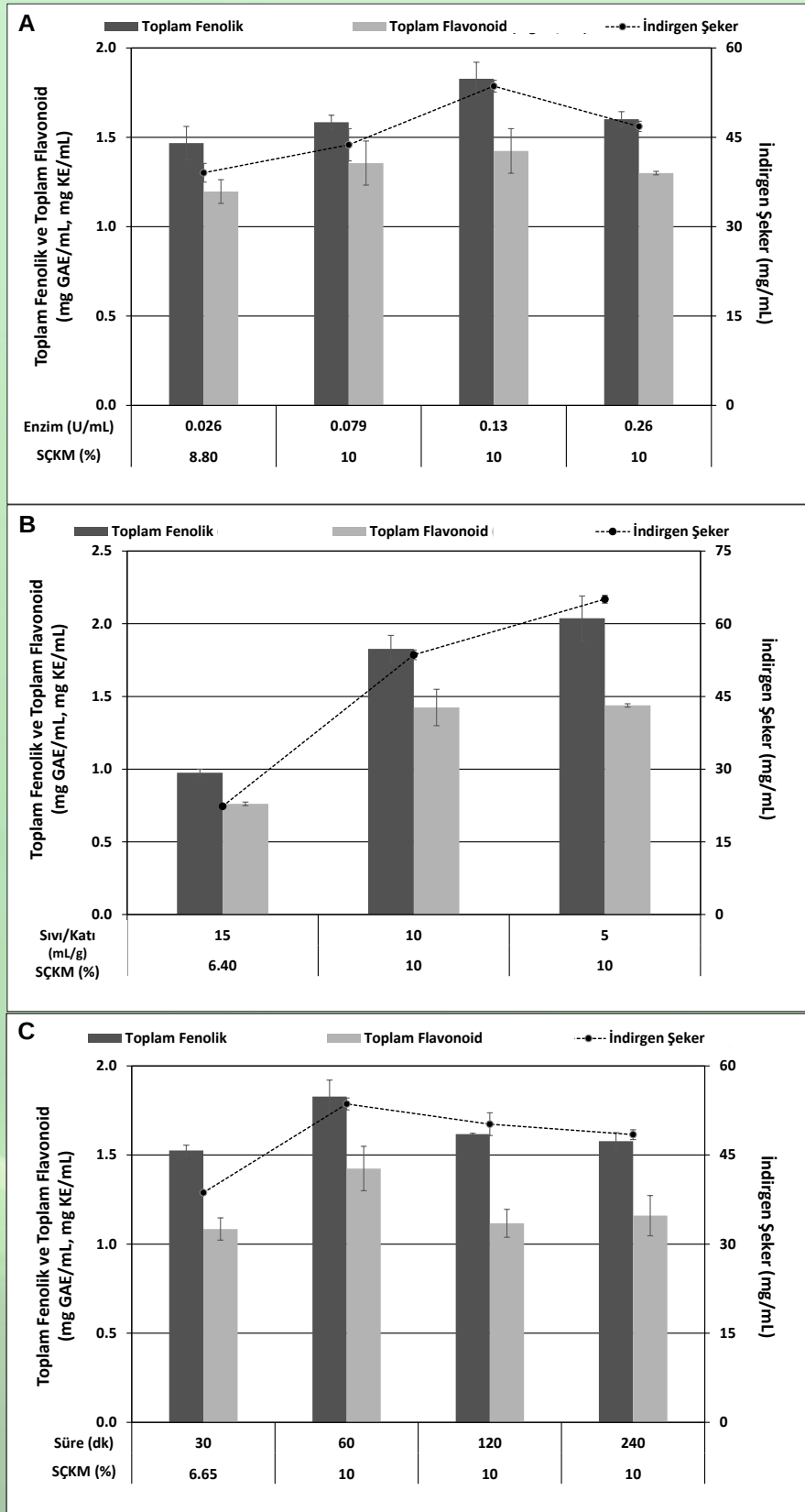
Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu sıvı/katı oranı, ekstraksiyon süresi ve enzim aktivitesi gibi parametrelerden oldukça fazla etkilemektedir (Granato ve ark., 2022; Kitryté ve ark., 2017). Bu çalışmada mandalina kabuklarından fenolik bileşiklerin enzim destekli ekstraksiyonu farklı sıvı/katı oranı, süre ve enzim aktivitelerinde gerçekleştirilmiştir ve toplam fenolik ve flavonoid bileşik, suda çözünür kurumadde ve indirgen şeker içerikleri bakımından ekstraktlar değerlendirilerek fenolik bileşik ekstraksiyonu açısından veriminin yüksek olduğu uygun koşullar belirlenmiştir.

Farklı enzim aktivitelerinde mandalina kabukları ekstrakte edilerek elde edilen toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarları değerlendirilmiştir. Ekstraksiyon 50 °C'de, 60 dk da gerçekleştirilmiş, sıvı/katı oranı 10:1 mL solvent/g kabuk olacak şekilde sabit tutulmuştur. Ekstraksiyon sonucunda toplam fenolik madde, flavonoid madde, SÇKM ve indirgen şeker miktarları ölçülerek sonuçlar sırasıyla Şekil 1'de sunulmuştur. Enzim aktivitesinde 0.026 U/mL'den 0.13 U/mL'ye artış toplam fenolik madde içeriğini artırmış; ancak daha fazla artışın ise azalmaya neden olduğu görülmüştür. Mandalina kabuğu ekstraktlarından en yüksek toplam fenolik madde ve flavonoid madde değerlerine 0.13 U/mL enzim aktivitesinde ulaşılmış olup, toplam fenolik ve flavonoid miktarları sırasıyla 1.83 mg GAE/mL ve 1.42 mg KE/mL olarak ölçülmüştür. SÇKM'nin ise artan enzim miktarı ile önemli ölçüde değişmediği gözlenmiştir. Enzim substratı tükettikten sonra, enzim konsantrasyonundaki artış verimde azalmalara neden olmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalarda enzim bitki hücre duvarını hidroliz ederken aynı zamanda proteinleri de serbest bıraktığı ve serbest kalan proteinlerinde fenolik bileşikler ile kompleks oluşturması sonucunda toplam fenolik bileşik verimini negatif etkilediği bildirilmiştir (Li ve ark., 2006).

Ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid bileşik miktarları ile SÇKM oranları artan substrat miktarına göre artmıştır. Bununla beraber artan substrat konsantrasyonuna rağmen (kabuk/solvent) elde edilen fenolik ve flavonoid bileşik madde miktarı aynı oranda artmadığından için uygun sıvı katı oranı 10:1 mL solvent/g kabuk olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresinin toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde ekstraksiyonu üzerine etkisi de incelendiğinde, sürenin 30 dakikadan 60 dakikaya artışı ile toplam fenolik madde miktarı artmış, 60 dakikadan daha uzun sürelerin ise ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarını negatif etkilediği görülmüştür. En yüksek toplam fenolik bileşik ve flavonoid madde ekstraksiyonu 60 dakikalık ekstraksiyon süresi sonunda belirlenmiştir. Bu sürede 1.83 mg GAE/mL fenolik madde ve 1.42 mg KE/mL flavonoid madde elde edilmiştir. Şekil 1'den görüleceği üzere 60 dakikadan daha uzun ekstraksiyon süreleri, suda çözünür kurumadde değerini çok az etkilemektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda da uzun ekstraksiyon sürelerinde ve yüksek sıcaklıklarda biyoaktif bileşiklerin yapılarının bozulduğu bildirilmiştir (Kaur ve ark., 2024).

Karbohidratlar (selüloz, nişasta, hemiselüloz, pektin..) bitkilerin ana bileşenidir (Panche ve ark., 2016). Viskozye enzimi farklı enzimleri içeren bir karışım olduğu için ekstraksiyon sırasında bitki hücre duvarında bulunan polisakkaritleri oligosakkarit ve monosakkaritlere (fruktoz, arabinoz, glukoz vb.) hidrolize ederek indirgen şeker miktarını artırırken (Ivanković ve ark., 2023), biyoaktif bileşiklerin etkili bir şekilde serbest kalmasını sağlamaktadır (Aydın ve ark., 2025). Ekstraktların indirgen şeker içeriğinin, artan substrat miktarına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Ekstraksiyon süresi ve enzim aktivitesi değerlendirildiğinde ise, 60 dakika ekstraksiyon süresinde en yüksek indirgen şeker içeriği ölçülmüştür (Şekil 1). Enzimin hidroliz edebileceği substrat miktarı arttığında indirgen şeker miktarı artmış; ancak enzim aktivitesinin ve ekstraksiyon süresinin artması ile indirgen şeker miktarında artış olmamıştır. Bu durum enzimin substrat ile doymuş olması ile açıklanabilir (Ivanković ve ark., 2023).



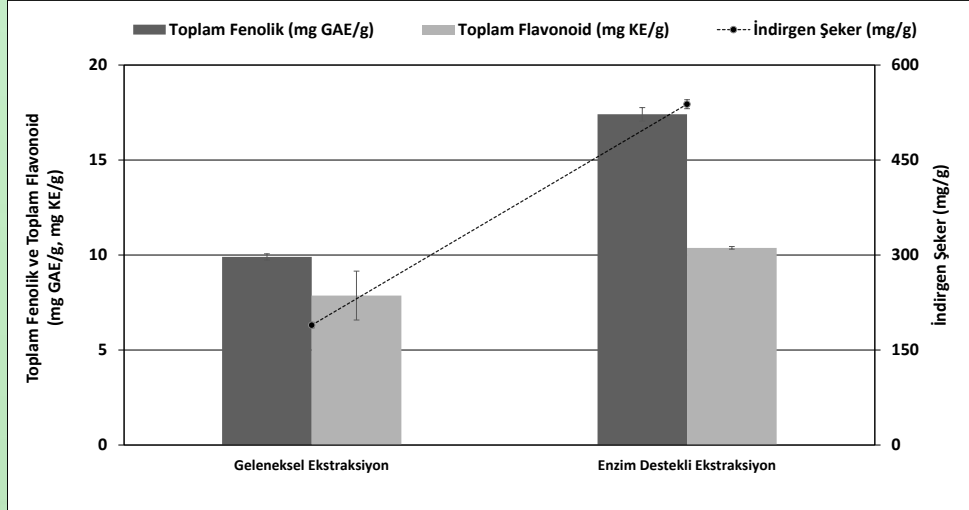


Şekil 1. Mandalina kabuklarından farklı koşullarda elde edilen ekstraktlarının fenolik, flavonoid ve indirgen şeker miktarları. A: Farklı enzim aktiviteleri B: Farklı katı sıvı oranları C: Farklı ekstraksiyon süreleri



Farklı koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda; yüksek miktarda fenolik madde ekstrakte etmek için uygun koşullar 10:1 mL/g sıvı/katı oranı ve 60 dakikalık ekstraksiyon süresi, enzim aktivitesi ise 0.13 U/mL olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda toplam fenolik bileşik ve flavonoid bileşik miktarları 1.83 mg GAE/mL ve 1.42 mg KE/mL olarak bulunmuştur.

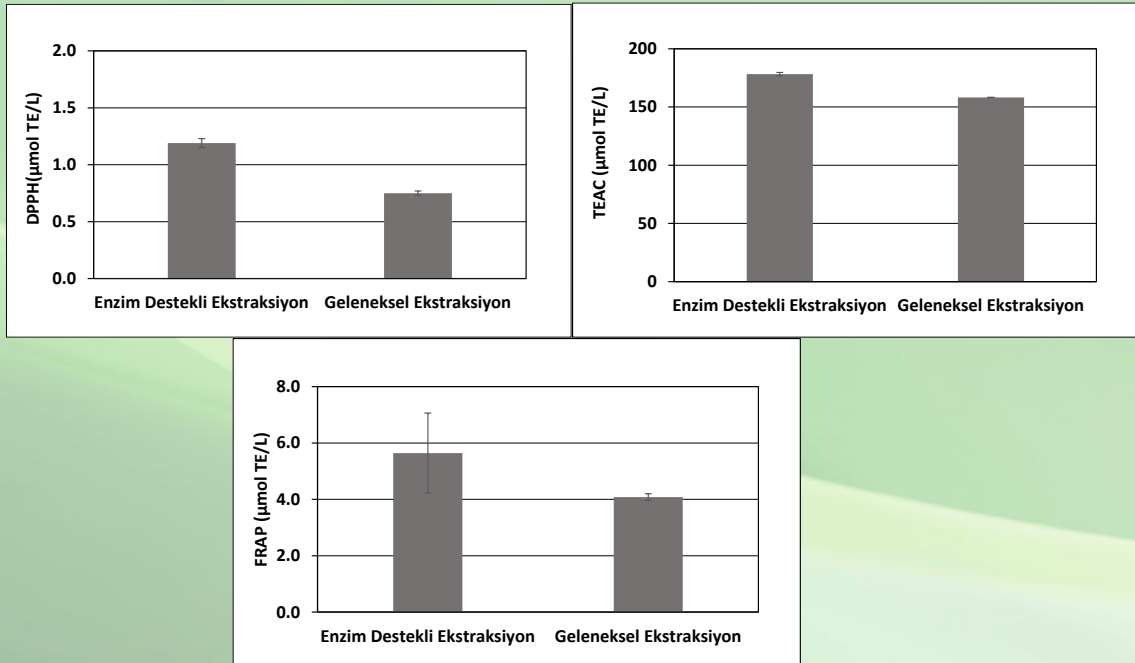
Enzimatik ve geleneksel yöntemle ekstrakte edilen fenolik ve flavonoid bileşik verimleri Şekil 2’de kıyaslamalı bir şekilde sunulmuştur. Şekilden görüldüğü üzere enzimatik destekli ekstraksiyon ile daha yüksek verimle toplam fenolik ve flavonoid madde ekstrakte edilmektedir. Kullanılan enzim hücre duvarı polisakaritlerini parçaladığından her iki kabuk ekstraktında da indirgen şeker verimleri geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlara göre daha yüksek bulunmuştur.



Şekil 2. Enzimatik ve geleneksel yöntem ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik, flavonoid bileşik ve indirgen şeker verimi

Antioksidan Kapasitesi

Antioksidan aktiviteye sahip bileşikler farklı yapı ve özelliklere sahip olduğundan, birden fazla yöntem ile antioksidan kapasitenin ölçülmesi daha doğru bir yaklaşımdır. Her iki yöntem ile elde edilen ekstraktların antioksidan kapasiteleri karşılaştırılmalı olarak Şekil 3’de sunulmuştur. Enzimatik olarak elde edilen ekstraktın geleneksel ekstraksiyon yöntemi elde edilen ekstrakta kıyasla antioksidan kapasiteleri de daha yüksektir.



Şekil 3. Enzimatik ve geleneksel yöntem ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri



Kalitatif Analizler

Enzimatik ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen diğer fitokimyasal bileşiklerinin kalitatif olarak değerlendirilmesi Çizelge 1’de sunulmuştur. Her iki yöntem ile elde edilen ekstraktlarda tanen içeriğine rastlanırken antibiyotik ve antifungal özelliklere sahip saponinler enzim destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktta çok düşük miktarda rastlanmıştır. Antosiyaninler suda çözünen ve bitkilerde kırmızıdan mora kadar olan tonlardan sorumlu olan doğal renk pigmentleridir (Leopoldini ve ark., 2011) ve mandalina kabuğu ekstraktlarında antosiyanine rastlanmamıştır. Kırmızı renkten sorumlu betasiyanin bileşiği varlığı her iki ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda orta düzeyde tespit edilmiştir. Kinon her iki ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda çok yüksek düzeyde rastlanmıştır. Bitki savunmasında görev alan bir diğer önemli fitokimyasallardan olan glikozitler (Chung ve ark., 1998; Panche ve ark., 2016) ve terpenoid bileşikler ise gözlenmemiştir, ancak kalp yetmezliği tedavilerinde kullanılan kardiyak glikozit varlığı ise tespit edilmiştir. Kan pıhtılaşmasını önleyici (antikoagülan), antikanserojen, antifungal, antimikrobiyal özelliklere sahip olan kumarinler (Evcimen & Aslan, 2015; Patra, 2012), her iki yöntem ile elde edilen ekstraktlarda tespit edilmiştir. Organik asit ise geleneksel yöntemle elde edilen mandalina kabuğu ekstraktlarında gözlenmemiş olup diğerinde ise iyi oranda tespit edilmiştir.

Çizelge 1. Enzim destekli ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların diğer fitokimyasal bileşikleri

Fitokimyasal Testler	Enzim Destekli Ekstraksiyon	Geleneksel Ekstraksiyon
Tanen	++++	++++
Saponin	+	-
Antosiyanin	-	-
Betasiyanin	+++	+++
Kinon	+++++	+++++
Glikozit	-	-
Kardiyak Glikozit	++++	++++
Terpenoid	-	-
Flavonoid	++	++
Fenol	++++	++++
Kumarin	+++++	+++++
Asit	++++	-

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

Sonuç

Önemli bir ekonomik değeri olmadığı gibi, nüfus artışı ile küresel sorun haline gelen gıda atıkları arasında meyve kabukları, biyoaktif bileşikler ve diyet lifi olarak hizmet edebilecek potansiyel kaynaklardır. Bu çalışmada, enzim destekli ekstraksiyon ile mandalina kabukları için uygun ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Geleneksel yöntemle kıyasla enzimatik yöntemle elde edilen ekstraktların toplam fenolik, flavonoid bileşik verimlerinin ve antioksidan kapasitelerinin daha fazla olduğu görülmüştür. Sonuç olarak biyoaktif bileşik ekstraksiyonu enzimatik olarak, çevreye zararlı çözücü kullanılmadan, ılımlı koşullarda ve yüksek verimde gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışmada gıda endüstrisi atıklarının insan sağlığını iyileştirmek amacıyla gıda ve beslenme alanında, ilaç, tarım ve kozmetik gibi gıda dışı alanlarda ham madde olarak kullanılabilme potansiyeline sahip katma değeri daha yüksek bileşiklere çevre dostu bir yöntem olan enzim destekli ekstraksiyonla dönüştürülebileceği gösterilmiştir. Ayrıca yönteminin daha yaygın bir şekilde kullanılması ile çevre kirliliği azaltılabilecek ve gıda endüstrisinin sürdürülebilirliğine de katkı sağlanacaktır.

Beyanlar

Etik Onay Belgesi

Bu çalışmada etik onay belgesine ihtiyaç bulunmamaktadır.

Yazar Katkı Beyanı

Dicle Erciyas: Veri toplama, araştırma, analiz ve orijinal taslağın hazırlanması

Özlem Akpınar: Araştırmanın tasarlanması, metodoloji, bulguların değerlendirilmesi ve yazımını ve düzenlenmesini gerçekleştirmiştir

Çıkar Çatışması

Yazarlar bu araştırma makalesinde herhangi bir kişi ve/veya kurum ile çıkar çatışması olmadığını beyan etmektedir



Kaynaklar

- Amulya, P.R. & Ul Islam, R. (2023). Optimization of enzyme-assisted extraction of anthocyanins from eggplant (*Solanum Melongena* L.) peel. *Food Chemistry*:X, 18, 100643. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100643>
- AOAC. (2000). Official methods of analysis, 17th Edition. Association of official analytical chemist international, Gaithersburg, MA.
- Aydın, M., Tontul, İ., & Turker, S. (2025). Innovative approach for phenolic extract production from pomegranate by-products: Enzymatic liquefaction and ultrafiltration. *Food Bioscience*, 64, 105801. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.105801>
- Benzie, I. F. F. & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability Of Plasma (FRAP) As A Measure Of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32(2), 209-242.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT Food Science and Technology*, 28, 25–30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Cai, Y., Luo, Q., Sun, M., & Corke, H. (2004). Antioxidant Activity and Phenolic Compounds of 112 Traditional Chinese Medicinal Plants Associated With Anticancer. *Life Sciences*, 74, 157-21. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.047>
- Nielsen, S.S. (2024). Total Carbohydrate by Phenol-Sulfuric Acid Method. In: B.P. Ismail, S.S. Nielsen (Eds.), *Nielsen's food analysis laboratory manual*. Food Science Text Series. Springer, Cham.
- Chung, K., Wei, C., & Johnson, M.G. (1998). Are tannins a double-edged sword in biology and health?. *Trends in Food Science & Technology*, 9(4), 168-175. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(98\)00028-4](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(98)00028-4)
- Dai, J. & Mumper, R.J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Demir, T. & Akpınar, Ö. (2020). Biological activities of phytochemicals in plants. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 8(8), 1734-1746. <https://doi.org/10.24925/turjaf.v8i8.1734-1746.3484>
- Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., & Güngör, H. (2019). Nar kabuğundan antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu. *Gıda*, 44(2), 369-382. <https://doi.org/10.15237/gida.gd18081>
- Evcimen, M. & Aslan, R. (2015). Yaygın kullanıma sahip tıbbi aromatik bitkilerdeki bazı antioksidan fitokimyasalların fizyolojik etkileri. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 8(2), 65-78. 02199320009640
- Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15, 8813-8826. <https://doi.org/10.3390/molecules15128813>
- Granato, D., Fidelis, M., Haapakoski, M., Santoz, A., Viil, J., Hellström, J., Ratsep, R., Kaldmae, H., Bleive, U., Azevedo, L., Marjomaki, V., Zharkovsky, A., & Rap, N. (2022). Enzyme-assisted extraction of anthocyanins and other phenolic compounds from blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) press cake: From processing to bioactivities. *Food Chemistry*, 391, 133240. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133240>
- Hussain, T., Kalhor, D.H., & Yin, Y. (2023). Identification of nutritional composition and antioxidant activities of fruit peels as a potential source of nutraceuticals. *Food Chemistry*, 9. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1065698>
- Ivanković, A.P., Milivojević, A., Čorović, M., Simović, M., Banjanac, K., Jansen, P., Vukočić, A., Bogaard, E., & Bezbradica, D. (2023). In vitro evaluation of enzymatically derived blackcurrant extract as prebiotic cosmetic ingredient: extraction conditions optimization and effect on cutaneous microbiota representatives. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10, 125. <https://doi.org/10.1186/s40538-023-00502-8>
- Islam, Md.R., Kamal, Md.M., Kabir, Md.R., Hasan, Md.M., Haque, A.R., & Hasan, S.M.K. (2023). Phenolic compounds and antioxidants activity of banana peel extracts: testing and optimization of enzyme-assisted conditions. *Measurement: Food*, 10, 100085. <https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2023.100085>
- Janarthanan, U. K., Varadharajan, V., & Krishnamurthy, V. (2012). Physicochemical evaluation, phytochemical screening and chromatographic fingerprint profile of aegle marmelos l. leaf extracts. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 1(3), 813-837.
- Kaur, S., Singh, V., Chopra, H., & Panesar, P. (2024). Extraction and characterization of phenolic compounds from mandarin peels using conventional and green techniques: a comparative study. *Discover Food*, 4, 60. 10.1007/s44187-024-00139-y
- Kitrytė, V., Kraujaliene, V., Sulniute, V., Pukalskas, A., & Venskuyonis, P.R. (2017). Chokeberry pomace valorization into food ingredients by enzyme-assisted extraction: process optimization and product characterization. *Food And Bioproducts Processing*, 105, 36–50. <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, 614-620. 10.1007/s11130-020-00859-3
- Lama-Muñoz, A., & Contreras, M.d.M. (2022). Extraction systems and analytical techniques for food phenolic compounds: A Review. *Foods*, 11, 3671. <https://doi.org/10.3390/foods11223671>
- Leopoldini, M., Russo, N., & Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288- 306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>
- 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>
- Magwaza, L.S. & Opara, U.L. (2015). Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products: A review. *Scientia Horticulturae*, 184, 179-192. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.01.001>
- Marathe, S.J., Jadhav, S.B., Bankar, S.B., Dubey, K.K., & Singhal, R.S. (2019). Improvements in the extraction of bioactive compounds by enzymes. *Sciencedirect*, 25, 62-72. 10.1016/j.cofs.2019.02.009





- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31, 426-428. <http://dx.doi.org/10.1021/ac60147a030>
- Oluyori, A. P., Dada, A. O., Ogunnupebi, T. A., Owolabi, A. O., Adelani-Akande, T. A., & Inyinbor, A. A. (2022). Antimicrobial activity of *Chrysophyllum albidum* seed extract and its effect on the physicochemical properties of cherry tomato fruits during postharvest storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46, e17062. <https://doi.org/10.1111/jfpp.17062>
- Panche, A.N., Diwan, A.D., & Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: An Overview. *Journal Of Nutritional Science*, 5(47), 1-15. 10.1017/jns.2016.41
- Patra, A.K. (2012). An overview of antimicrobial properties of different classes of phytochemicals. *Dietary Phytochemicals and Microbes*, 1-32. 10.1007/978-94-007-3926-0_1
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang M., & Rice, E.C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radicale Biology And Medicine*, 26, 1231-1237. 10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- Singleton, V. L. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158. 10.5344/ajev.1965.16.3.144

