



**T.C.**

**HİTİT ÜNİVERSİTESİ**

**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**NAR PROSES ATIKLARININ YENİDEN  
DEĞERLENDİRİLMESİNDE KULLANILAN FARKLI  
SOLVENTLERİN EKSTRAKSİYON ETKİNLİĞİNE ETKİSİNİN  
BELİRLENMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**CANSU EROL**

**Çorum - 2023**



**NAR PROSES ATIKLARININ YENİDEN DEĞERLENDİRİLMESİNDE  
KULLANILAN FARKLI SOLVENTLERİN EKSTRAKSİYON ETKİNLİĞİNE  
ETKİSİNİN BELİRLENMESİ**

**CANSU EROL**

**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

**Yüksek Lisans Tezi**

**TEZ DANIŞMANI  
Dr. Öğr. Üyesi NİHAL GÜZEL**

**Çorum 2023**

## KABUL/ONAY SAYFASI

Cansu EROL tarafından hazırlanan “Nar Proses Atıklarının Yeniden Değerlendirilmesinde Kullanılan Farklı Solventlerin Ekstraksiyon Etkinliğine Etkisinin Belirlenmesi” adlı tez çalışması 10/02/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. K. Savaş BAHÇECİ

.....

Dr. Öğr. Üyesi Nihal GÜZEL (Danışman)

.....

Doç. Dr. Eda DEMİROK SONCU

.....

Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../ .../ ..... tarih ve ..... sayılı kararı ile Cansu EROL'un Gıda Mühendisliği Anabilim Dalında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır

Prof. Dr. Muhammed Asif YOLDAŞ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını beyan ederim.

Cansu EROL



# NAR PROSES ATIKLARININ YENİDEN DEĞERLENDİRİLMESİNDE KULLANILAN FARKLI SOLVENTLERİN EKSTRAKSİYON ETKİNLİĞİNE ETKİSİNİN BELİRLENMESİ

CANSU EROL

ORCID: 0000-0002-7642-0437

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

2023

## ÖZET

Nar meyvesinin ~%50'sini oluşturan proses atıkları (kabuk ve çekirdek), hidrolize olabilen tanenler, fenolik asitler, antosiyaninler ve flavanoidler bakımından zengin bir kaynaktır. İçerdiği polifenollerin yüksek antioksidan ve antimikrobiyal potansiyeli nedeniyle nar proses atıklarının yeniden değerlendirilmesi giderek ilgi çeken konular arasında yer almaktadır. Polifenollerin etkin bir şekilde geri kazanımı için ekstraksiyon önemli bir aşama olup, ekstraksiyon yöntemi geri kazanım oranıyla yakından ilişkilidir. Geleneksel ekstraksiyon yönteminde kullanılan organik çözücülerin, düşük ekstraksiyon veriminin yanı sıra insan sağlığı ve çevre üzerinde de olumsuz etkiler gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle geleneksel yöntemler ve solventler günümüzde yerini çevre dostu ve yeşil alternatiflere bırakmaya başlamıştır. Bu çalışmada nar kabuğu ve çekirdeklerinden biyoaktif bileşenlerin geri kazanımı için ultrases destekli derin ötektik solvent ekstraksiyonu kullanılmıştır. Ultrases destekli (UA) ekstraksiyon, HBA (kolin klorür) ve HBD'nin (glikoz, fruktoz, sukroz, laktik asit, oksalik asit, asetik asit ve gliserol) farklı molar konsantrasyonlarındaki karışımlarıyla hazırlanan 9 farklı DÖS ile gerçekleştirilmiştir. Ultrases destekli DÖS ile yapılan ekstraksiyonun etkinliğinin kıyaslanması amacıyla ultrases destekli ekstraksiyon işlemi geleneksel ekstraksiyon solventleri olan etanol (%50), metanol (%50-100) ve su ile gerçekleştirilmiştir. Ultrases destekli derin ötektik solvent ve geleneksel ekstraksiyon solventleri ile elde edilen örneklerin toplam fenolik bileşen (TPC), toplam monomerik antosiyanin (TA), toplam kondanse tanen (TCT), hidrolize olabilen tanen (THT) ve

antioksidan aktivite (DPPH; ABTS) içeriği belirlenmiştir. Ayrıca nar kabuk ve çekirdek ekstraktlarının *S. aureus* ve *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri de incelenmiştir. Sonuç olarak nar çekirdeği ekstraktlarının (<6mm) aksine, nar kabuğu ekstraktlarının *S. aureus* ve *E. coli* üzerine (sırasıyla 14-18 mm, 11-15 mm) antimikrobiyal etkisi olduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda, nar kabuğu ekstraktları (45,3-150,8 µmol TEAC/g, ABTS), çekirdek ekstraktları (2,50-6,20 µmol TEAC/g, ABTS) ile karşılaştırıldığında nar kabuğunun daha iyi bir antioksidan kaynağı olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada kullanılan kolin klorür:glikoz (DÖS-1) solventi nar kabuğundan polifenollerin geri kazanımı üzerine önemli derecede etkili bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Kolin klorür:fruktoz (DÖS-9) solventi ise nar çekirdeğinden polifenollerin geri kazanımı için geleneksel ekstraksiyon solventlerine kıyasla önemli bir alternatif olarak değerlendirilmiştir ( $p<0.05$ ). Sonuç olarak, ultrases destekli derin ötektik solvent ekstraksiyonu geleneksel solventler yerine kullanılabilir yeşil ve etkin bir alternatif olarak belirlenmiştir.

**Anahtar Kavramlar:** Nar proses atıkları, derin ötektik solvent, ultrases, fenolik bileşenlerin geri kazanımı, antioksidan aktivite

**Bilim Kodu: 90809**

# THE EFFECT OF DIFFERENT SOLVENTS ON EXTRACTION EFFICIENCY IN RECOVERY OF POMEGRANATE WASTES

CANSU EROL

ORCID: 0000-0002-7642-0437

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL

Master of Science Thesis

2023

## ABSTRACT

Pomegranate marc (peel and seed) constitutes almost ~50% of fruit, and is a rich source of hydrolysable tannins, phenolic acids, anthocyanins, and flavonoids. Due to the high antioxidant and antimicrobial potential of these polyphenols, utilization of pomegranate marc has been gaining interest. Extraction is the main processes to effective utilization of these polyphenols and extraction method is closely related to recovery yield. However, organic solvents that are used in conventional extraction method are shown adverse effects on human health and environment in addition to low extraction efficiency. Therefore, the conventional method and solvents have commenced to be replaced by environment friendly and green alternatives. In this study, ultrasound assisted deep eutectic solvent extraction was used for recapturing the bioactive polyphenols from pomegranate peel and seeds. Ultrasound assisted (UA) extraction was carried out with 9 different DES that were prepared at different molar concentration of HBA (choline chloride) and HBD (glucose, fructose, sucrose, lactic acid, oxalic acid, acetic acid, and glycerol). UA extraction was also carried out with ethanol (50%), methanol (50-100%) and water to compare extraction efficiency of conventional extraction (CE) solvents and DES. Total phenolic content (TPC), total monomeric anthocyanin (TA), total condensed tannin (TCT), hydrolysable tannin content (HTC) and antioxidant activity (DPPH; ABTS) were measured in UADES and CE samples. Furthermore, antimicrobial activity on *S. aureus* and *E. coli* was evaluated in these peel and seed extract. Results showed that unlike pomegranate seeds (<6 mm), peel extract have antimicrobial effect on *S. aureus* (14-18 mm) and *E. coli* (11-15 mm). Pomegranate peel extracts (45,3-150,8  $\mu\text{mol TEAC/g}$ , ABTS) are also better source of antioxidant compounds when compared seed extract (2,50-

6,20  $\mu\text{mol}$  TEAC/g, ABTS). In this study, choline chloride:glucose (DES-1) was found significantly effective on recovery of polyphenols from pomegranate peel ( $p < 0.05$ ). Choline chloride:fructose extract (DES-9) is evaluated as a significant alternative of CE to recovery of polyphenols from pomegranate seed ( $p < 0.05$ ). Consequently, ultrasound assisted deep eutectic solvent extraction has great potential as a green and efficient alternative for conventional solvent.

**Key Terms:** Pomegranate by product, deep eutectic solvent, ultrasound, recovery of phenolic compounds, antioxidant activity

**Science Code: 90809**



## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam boyunca bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, kendimi geliőtirmem için bana destek olan kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Nihal GÜZEL'e, deneysel çalışmamda yardımcı olan ve bilgisini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Kazım Savaş BAHÇECİ ve Arş. Gör. Dr. Mustafa GÜZEL'e ve değerli bölüm hocalarıma,

Antimikrobiyal aktivite analizinde bakteri temininde kültür koleksiyonları ile destek olan ODTÜ gıda güvenliği laboratuvarına,

Tüm eğitim sürecimde benden her türlü desteğini ve sevgisini eksik etmeyen her konuda yardımcım olan, zor anlarımda beni yalnız bırakmayan annem Şennur EROL, babam Cuma EROL, ağabeyim Yıldırım EROL ve her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ediyorum.

Cansu EROL

Bu tez çalışmasına, MUH19004.21.003 numaralı proje kapsamında vermiş oldukları destekten dolayı Hitit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederiz.



Cansu EROL

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
GİRİŞ.....	1

### 1.BÖLÜM

#### LİTERATÜR ÖZETİ

1.1. Nar ( <i>Punica granatum L.</i> ).....	3
1.2. Fenolik Bileşenler.....	6
1.3. Yeni-Yeşil Ekstraksiyon Yöntemleri.....	10
1.3.1. Ultrases destekli ekstraksiyon.....	10
1.3.2. Derin ötektik solvent ekstraksiyonu.....	13

### 2. BÖLÜM

#### MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal.....	15
2.2. Kimyasallar.....	15
2.3. Nar Proses Atıklarından Biyoaktif Bileşenlerin Ultrases Yöntemi İle Ekstraksiyonu.....	15
2.4. Ekstraksiyon Solventlerinin Brix, pH ve Elektriksel İletkenliklerinin Belirlenmesi.....	16
2.5. Toplam Fenolik Bileşen Tayini.....	16
2.6. Antioksidan Aktivite Tayini.....	17
DPPH.....	17
ABTS.....	18
2.7. Proantosiyanidin (Kondanse Olabilen Fenolik Bileşen) Tayini.....	18
2.8. Hidrolize Olabilen Tanen Miktarı Tayini.....	19
2.9. Toplam Monomerik Antosiyanın Tayini.....	19
2.10. Antimikrobiyal Aktivite Tayini.....	20
2.11. İstatistiksel Değerlendirme.....	20

### 3. BÖLÜM

#### ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

3.1. Ekstraksiyon Solventlerinin Brix, pH ve Elektriksel İletkenlik Analiz Sonuçları .....	22
3.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları.....	23
3.3. Antioksidan Aktivite Analizi Sonuçları.....	27
<i>DPPH</i> .....	27
<i>ABTS</i> .....	29
3.4. Proantosiyanidin (Kondanse Olabilen Fenolik Bileşen) Tayini Sonuçları.....	30
3.5. Hidrolize Olabilen Tanen Miktarı Tayini Sonuçları .....	32
3.6. Toplam Monomerik Antosiyanın Tayini Sonuçları .....	34
3.7. Antimikrobiyal Aktivite.....	36
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>39</b>
<b>KAYNAKÇA.....</b>	<b>41</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>51</b>
Ek-1. Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin istatistiksel değerlendirme sonuçları.....	51

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
<b>Tablo 1.1.</b> Nar meyvesinin kimyasal bileşimi.....	4
<b>Tablo 1.2.</b> Türkiye nar üretim verileri (2017-2021) .....	5
<b>Tablo 1.3.</b> Nar kabuğu biyoaktif bileşen konsantrasyonları.....	7
<b>Tablo 1.4.</b> Nar çekirdeği biyoaktif bileşen konsantrasyonları.....	9
<b>Tablo 2.1.</b> Derin ötektik solventlerin hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ve molar oranları.....	16
<b>Tablo 3.1.</b> Ekstraksiyon solventlerinin pH, brix ve elektriksel iletkenlik değerleri.....	22
<b>Tablo 3.2.</b> Nar kabuk ve çekirdeği fenolik bileşen içeriği.....	25
<b>Tablo 3.3.</b> Nar kabuk ve çekirdeği antioksidan aktivitesi (DPPH) .....	28
<b>Tablo 3.4.</b> Nar kabuk ve çekirdeği antioksidan aktivite içeriği (ABTS) .....	30
<b>Tablo 3.5.</b> Nar proses atıklarının antimikrobiyal aktivitesi.....	36

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Gallik asit kalibrasyon eğrisi.....	17
Şekil 3.1. Nar kabuğundan fenolik bileşenlerin geri kazanımında farklı solventlerin ekstraksiyon verimi değerleri (%).....	24
Şekil 3.2. Nar proses atıklarının % inhibisyon değerleri (DPPH).....	29
Şekil 3.3. Nar proses atıklarının kondanse tanen içeriği.....	31
Şekil 3.4. Nar proses atıklarının hidrolize olabilen tanen miktarı.....	33
Şekil 3.5. Nar proses atıklarının monomerik antosiyanin miktarları.....	35
Şekil 3.6. <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> bakterilerine karşı nar kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi.....	37
Şekil 3.7. <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> bakterilerine karşı nar çekirdeği ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi.....	37

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Simgeler

°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µm	Mikron
µmol	Mikromol
CH <sub>3</sub> COONa	Sodyum asetat
cm	Santimetre
dk	Dakika
g	Gram
HCl	Hidroklorik asit
KCl	Potasyum klorür
kHz	Kilohertz
KIO <sub>3</sub>	Potasyum iyodat
kPa	Kilo paskal
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
MHz	Megahertz
mL	Mililitre
mM	Milimolar
N	Normal
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	Sodyum karbonat
NaCl	Sodyum klorür
nm	Nanometre
W	Watt

## Kısaltmalar

ABTS	2,2'-Azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
CE	Kateşin Eşdeğeri
ChCl	Kolin Klorür
CTC	Toplam Kondanse Tanen
Cyn-3-glu	Siyanidin-3-glukozit
DÖS	Derin Ötektik Solvent
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
HBA	Hidrojen Bağ Alıcısı
HBD	Hidrojen Bağ Donörü
PBS	Fosfat Tamponu
TA	Toplam Monomerik Antosiyanin
TAE	Tannik Asit Eşdeğeri
TE	Trolox Eşdeğeri
THT	Toplam Hidrolize Tanen
TPC	Toplam Fenolik Madde

## GİRİŞ

Günümüzde, sağlık üzerine olumlu potansiyel etkileri sebebiyle günlük diyeteye dahil edilmesi önerilen meyveler, taze olarak tüketilmesinin yanı sıra raf ömürlerinin kısa olması nedeniyle çoğunlukla işlenerek tüketilmektedir. Ancak, meyvelerin işlenmesi sırasında dünya çapında yıllık 500 milyon tondan fazla atık ortaya çıkmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalar meyvelerin işlenmesi sırasında atık olarak ortaya çıkan bu yan ürünlerin (tohum, kabuk, posa) biyoaktif bileşenler açısından önemli kaynaklar olduğunu göstermektedir. Narın işlenmesi sırasında ise ~%50 oranında yan ürün (kabuk, çekirdek) meydana gelmektedir. Tüketimi ya da işlenmesi sırasında önemli oranda atık oluşturan bu değerli meyvenin sağlık üzerine olumlu potansiyel etkileri düşünüldüğünde, nar kabuk ve çekirdeklerinin değerlendirilerek gıda ve ilaç sektöründeki uygulamalarının geliştirilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

Etkin bir atık değerlendirmesinin yapılabilmesi için ise atıkların maksimum düzeyde değerlendirilmesi sağlanırken biyoaktif bileşenlerin de maksimum düzeyde korunması gerekmektedir. Bu nedenle, sağlık açısından olduğu gibi teknolojik açıdan da oldukça önemli bileşenlerin proses atıklarından geri kazanımı için en önemli basamak ekstraksiyon aşamasıdır. Günümüzde geleneksel yöntemlerin uzun ekstraksiyon süresi, yüksek çözücü tüketimi, biyoaktif bileşenlerin degradasyonu gibi dezavantajları olması sebebiyle atıkların etkin bir şekilde yeniden değerlendirilmesi amacıyla yeni ve çevreci ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır.

Yeşil yöntemler olarak adlandırılan çevreci ekstraksiyon yöntemlerine örnek olarak; ultrases destekli ekstraksiyon, mikrodalga yardımcı ekstraksiyon, vurgulu elektirik alan ekstraksiyonu, yüksek basınç destekli ekstraksiyon ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu verilebilmektedir. Günümüzde yaygın olarak kullanılmaya başlanan ekstraksiyon yöntemlerinde aranan genel özellikler; daha çevreci solventlerin kullanımı, enerji tasarrufu, yenilenebilir hammadde kullanımı, çevre kirliliğinin engellenmesi, ekstraksiyon süresinin kısaltılması, ve maliyetin düşük olması şeklinde sıralanabilmektedir. Bu nedenle biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için kullanılacak olan yöntemin belirlenmesinde; ekstraksiyon etkinliği ve tekrarlanabilirliği, ekstraksiyon süresi ve maliyet gibi değişkenlerin tümü önem taşımaktadır.

Bu anlamda özellikle nutrasötik, kozmetik ve farmasötik sanayi açısından değerli olan fenolik bileşenlerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılan ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi; ultrasonik dalgalar etkisiyle bitki hücrelerini dış etkenlerden koruyan çeperin parçalanmasını sağlayan ve böylece kütle aktarımını hızlandırarak istenen biyoaktif bileşenlerin geleneksel yöntemlere göre daha kısa zamanda ve daha yüksek verimle elde edildiği bir uygulamadır. Ayrıca, az miktarda enerji harcanması ve solvent kullanımının az olması ile yeşil bir teknoloji olarak ön plana çıkmaktadır. Son yıllarda ultrases destekli

ekstraksiyonun tek başına kullanımının yanı sıra; diğer çevreci teknikler (vurgulu elektrik alan, enzim ve mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik akış ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu) ve geleneksel ekstraksiyon teknikleri ile kombine kullanımları da uygulanmaktadır.

Ayrıca kullanılan yeşil ekstraksiyon yöntemleri ile çevreye verilen zararın minimuma indirilmesi ve verimli bir ekstraksiyon gerçekleştirilebilmesi için yaygın olarak kullanılan klasik solventler yerine, sağlık üzerinde olumsuz etki yaratmayan ve yüksek ekstraksiyon verimine sahip derin ötektik solventler kullanılmaktadır. Genel olarak derin ötektik çözücüler, kuvvetli hidrojen bağ alıcısı (kolin klorür) ve hidrojen bağ donöründen (glikoz, sukroz, fruktoz, oksalik asit ve malik asit) oluşmaktadır. 20. yüzyılın başlarından beri dikkat çeken derin ötektik çözücüler sürdürülebilir ve düşük maliyetli olmaları gibi avantaj sağlamaları nedeni ile geleneksel çözücüler yerine tercih edilmektedir. Ayrıca son yıllarda biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda da etkin bir şekilde kullanılmaktadır.

Yapılan bu çalışma ile nar proses atıklarından biyoaktif bileşenlerin etkin bir şekilde geri kazanımı sağlanırken çevreye verilen zararın ise minimuma indirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla ekstraksiyon aşamasında yenilikçi ve çevreci bir yöntem olan ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile derin ötektik solventler kullanılmıştır. Ekstraksiyon etkinliğinin belirlenebilmesi için nar kabuk ve çekirdeklerinde toplam fenolik bileşen miktarı (TPC), antioksidan aktivite (DPPH, ABTS), toplam hidrolize tanen içeriği (THT), proantosiyanidin (kondanse tanen) ve antosiyanin miktarları ölçülmüştür. Ayrıca yapılan bu çalışmada 9 farklı derin ötektik solvent kullanılarak nar proses atıklarından biyoaktif bileşenlerin geri kazanımının etkin bir şekilde sağlanması için en yüksek verimin elde edildiği derin ötektik solvent belirlenmiştir. İlaveten ekstraksiyon işlemi aynı koşullar altında biyoaktif bileşen ekstraksiyonunda sıklıkla kullanılan geleneksel solventlerle (su, metanol ve etanol) de yapılarak ekstraksiyon etkinliği açısından elde edilen veriler kıyaslanmıştır. Çalışmadan elde edilen sonuçların, atıkların etkin bir şekilde yeniden değerlendirilerek katma değer yaratacak ürünlere dönüştürülmesi sürecinde çevreye verilen zararın azaltılması ve yapılacak sonraki çalışmalar için bilgi birikiminin arttırılması noktasında fayda sağlaması hedeflenmektedir.

# 1. BÖLÜM

## LİTERATÜR ÖZETİ

### 1.1. Nar (*Punica granatum L.*)

Nar geniş bir coğrafi dağılıma sahip, çok çeşitli iklim koşullarına uyum sağlayabilen en eski meyve türlerinden biri olarak kabul edilmektedir. Sistematik adı, Latince elma ve tane anlamlarına gelen *Pomum* ve *granatus* kelimelerinden türemiş olup çekirdekli elma olarak bilinmektedir (Tabaraki ve ark., 2012). Aynı zamanda tarihte ilk olarak Romalı tarihçi Büyük Pliny'nin kitabında "Kartaca Elması" adıyla geçtiği de bilinmektedir. Daha sonra farklı şekilde adlandırılan nar, önce "*Punicum granatum*", sonra C. Von Linne tarafından "*Punica granatum*" olarak adlandırılmıştır (Jurenka, 2008).

Nar meyvesi farklı iklim ve toprak koşullarına rahatlıkla uyum sağlayabilmesi, yetiştirilmesinin basit olması, veriminin yüksek olması ve erken meyveye yatması gibi özelliklere sahiptir (Gündoğdu ve ark., 2010). Nar bitkisinin yaklaşık 1-1,5 ay süren çiçeklenme dönemi genellikle nisan ayının sonu ile haziran ayının başı arasındadır. Meyve olgunlaşma süresi ise genellikle ağustos ayı ile başlayıp kasım ortasına kadar devam etmektedir (Yılmaz, 2005). Belirgin bir kaliks ile taçlandırılmış nar meyvesi, 5-14 cm çapında yuvarlak şekilli, içi tohumla dolu ve dışı ise bir kabukla kaplıdır. Meyvenin yenilebilen kısmı tanelerden oluşmakta ve taneler zar şeklinde kabuk uzantılarıyla ayrılmış odacıklara yerleşmiş şekilde bulunmaktadır (Ya'akov ve ark., 2019). Sapa bağlanan kısım ise bir göbek ve odacıklardan oluşmaktadır. Dış kabuk; meyvenin alt ve üst taraflarında daha kalın bir yapıya sahipken, odacıkları birbirinden ayıran zar kısımları ince yapıya sahiptir. Taneler kalın ve etli olan kısma batmış durumdadır. Taneler ince bir zar, posa ve çekirdekten oluşurken, çekirdekler köşeli ve sert yapılıdır.

Narın yetiştirilme özellikleri üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde nar; tatlı, ekşi, mayhoş olmak üzere sınıflandırılmıştır. Tatlı narlar, orta büyüklükte ve ince kabuklu, taneleri sarı-beyaz-pembe renkli, küçük çekirdekli ve suludur. Ekşi narlar, küçük meyveli, kalın kabuklu, büyük oranda kırmızı renkli, küçük taneli, ve sert çekirdekli. Mayhoş narlar ise, çok büyük meyvelidir ve tatlı ile ekşi narların özelliklerini kısmen taşımaktadırlar (İçyer, 2012; Ya'akov ve ark., 2019). Narın klimakterik (dalından koparıldıktan sonra olgunlaşmaya devam eden) özellik göstermeyen bir meyve olması nedeniyle hasat edilme zamanı türüne özgü en uygun şeker/asit dengesine, tane ve kabuk rengine ulaşmasına bağlıdır (Yılmaz, 2005).

Tropik ve subtropik iklim meyvesi olan narın kültüre alınma tarihi milattan önce 3000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır (Masci ve ark., 2016). Ana yurdu Güney Kafkasya, İran, Afganistan, Asya, Anadolu ve Akdeniz sınırları arasında kalan alanları kapsamaktadır (Turgut,

2012). Türkiye’de nar üretimi yapan başlıca iller arasında Antalya, Mersin, Adana, Muğla, Denizli ve Adıyaman gelmektedir. Ülkemize ait son 5 yıllık nar üretim verileri Tablo 1.2.’de sunulmuştur (TÜİK, 2022).

Nar meyvesi genel olarak çekirdek, tane ve kabuk olmak üzere üç ana kısımdan oluşmaktadır. Meyvenin %52’lik kısmını taneleri oluştururken, tanelerinde %78’i meyve etinden, %22’si ise çekirdeklerden oluşmaktadır (Güzel, 2010). Ortalama %10 şeker içermekte olan narın temel şeker bileşenleri fruktoz ve glikozdur (Hasnaoui ve ark., 2011). Bununla birlikte farklı organik asitler (sitrik, malik, tartarik vb.), yağ asitleri (linoleik, konjuge), aminoasitler (prolin, valin), mineraller (K, Ca, Na vb.) ve vitamin (A, C, E ve K) içeriği bakımından zengin bir kaynak olduğu da bilinmektedir (Mirdehghan ve ark., 2007; Tezcan ve ark., 2009; Dahham ve ark., 2010; Özer ve ark., 2021). Nar meyvesinin kimyasal bileşimi genel olarak Tablo 1.1.’de sunulmuştur (Okumuş, 2016).

**Tablo 1.1.** Nar meyvesinin kimyasal bileşimi

<b>Bileşenler</b>	<b>Bileşen Konsantrasyonu</b>
Nem	% 72,6-86,4
Protein	% 0,05-1,6
Yağ	% 0,01-0,9
Mineral elementler	% 0,36-0,73
Lif	% 3,4-5
Karbonhidrat	% 15,4-19,6
Kalsiyum	3,0-12,0 mg/100 g
Fosfor	8,0-37,0 mg/100 g
Demir	0,3-1,2 mg/100 g
Sodyum	3,0 mg/100 g
Magnezyum	9,0 mg/100 g
Askorbik asit (C vitamini)	4,0-14,0 mg/100 g
Tiamin (B1 vitamini)	0,01 mg/100 g
Riboflavin (B2 vitamini)	0,012-0,03 mg/100 g
Niasin	0,18-0,3 mg/100 g

Diğer meyvelerde olduğu gibi nar meyvesinin de sahip olduğu özellikler tür, olgunluk, iklim, yetiştirme koşulları gibi birçok etkene göre farklılık göstermektedir (Turgut, 2012). Nar meyvesinin hem taneleri, hem yan ürünleri antioksidan içeriğine katkıda bulunan önemli oranlarda biyoaktif bileşen içermektedir. Narın içerdiği biyoaktif bileşenlerin biyoyararlılığı üzerinde birçok literatür çalışması mevcuttur. Bu özellikleri ile nar son yıllarda fonksiyonel gıda olarak kabul edilen bir meyve olmuştur (Turgut ve ark., 2013). Diğer meyveler ile kıyaslandığında nar proses atıkları (nar çekirdeği, kabuğu) yüksek biyoaktif bileşen içeriğine bağlı olarak yüksek antioksidan özellikleri ile ön plana çıkmaktadır (Okumuş ve ark., 2015)

**Tablo 1.2.** Türkiye nar üretim verileri (2017-2021)

İller	2017		2018		2019		2020		2021	
	Miktar (Ton)	Üretim payı (%)	Miktar (Ton)	Üretim payı (%)	Miktar (Ton)	Üretim payı (%)	Miktar (Ton)	Üretim payı (%)	Miktar (Ton)	Üretim payı (%)
<b>Antalya</b>	113,040	22,49	123,880	23,03	130,031	23,25	141,044	23,51	160,621	24,80
<b>Mersin</b>	81,403	16,20	87,306	16,23	87,239	15,60	101,676	16,95	104,39	16,12
<b>Adana</b>	72,152	14,36	83,159	15,46	86,608	15,49	78,483	13,08	83,889	12,95
<b>Muğla</b>	47,698	9,49	67,688	12,58	71,066	12,71	75,995	12,67	68,457	10,57
<b>Denizli</b>	45,616	9,08	44,130	8,20	43,775	7,83	44,233	7,37	44,242	6,83
<b>Adıyaman</b>	27,460	5,46	22,010	4,09	23,766	4,25	27,827	4,64	38,470	5,94
<b>Hatay</b>	19,234	3,83	19,380	3,60	20,098	3,59	21,097	3,52	31,888	4,92
<b>Gaziantep</b>	15,798	3,14	15,122	2,81	15,084	2,70	20,064	3,34	22,382	3,46
<b>İzmir</b>	14,036	2,79	14,886	2,77	14,591	2,61	17,003	2,83	19,454	3,00
<b>Aydın</b>	10,240	2,04	10,295	1,91	13,890	2,48	15,026	2,50	15,843	2,45
<b>Diğer İller</b>	55,929	11,13	49,994	9,30	53,023	9,48	57,573	9,60	58,040	8,96
<b>Toplam</b>	502,606	100	537,847	100	559,171	100	600,021	100	647,676	100

(TÜİK, 2022)

## 1.2. Fenolik Bileşenler

Fenolik bileşikler bitkilerin sekonder metabolitleridir. Her bitki kendisini hastalıklardan ve diğer canlılardan korumak amaçlı birçok fenolik bileşiği farklı nitelik ve miktarlarda üretmektedir (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010). Fenolik bileşikler yapı olarak en az bir aromatik halka ve bu halkaya bağlı en az bir hidroksil grubu bulunduran organik bileşiklerdir (Çam, 2009; Turgut, 2012). Bitkilerin yaprak, çiçek ve meyve eti gibi kısımlarında glikozitler şeklinde bulunurken, odunsu dokularında aglikonlar şeklinde, çekirdeklerinde ise her iki form halinde bulunarak onların renk ve duyuşsal özellikleri üzerinde etkili olmaktadır (Turgut, 2012). İlaveten, fenolik bileşenler sahip oldukları antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle başta diyabet, enflamasyon ve kalp hastalıkları olmak üzere pek çok hastalık üzerine pozitif etkilerinden dolayı sağlığın korunmasında önemli bir yere sahiptir (Atak ve ark., 2017).

Narın sağlık üzerindeki olumlu etkileri yapısında bulunan fenolik asitler (kumarik asit, klorojenik asit, ferulik asit, gallik asit, ellajik asit, kafeik asit) ve flavonoidler (kateşin, epikateşin, hesperidin, kuersetin) başta olmak üzere çeşitli fitokimyasallardan kaynaklanmaktadır (Galaz ve ark., 2017; Noratiqah ve ark., 2018; Şavikin ve ark., 2018). Nar kabuğu ve nar çekirdeği biyoaktif bileşen konsantrasyonları sırasıyla Tablo 1.3. ve Tablo 1.4.'de sunulmuştur.

Nar, taze olarak tüketilmesi ile birlikte farklı ürünlere işlenebilmekte (meyve suyu, konsantre, şarap vb.) çeşitli gıda maddelerinde renklendirici ve tatlandırıcı olarak kullanılabilir (Okumuş ve ark., 2015; Şavikin ve ark., 2018). Ancak işleme sürecinde önemli miktarda (~%50) atık oluşturmaktadır (Goula ve Lazerides, 2015) ve oluşan bu atıklar önemli miktarlarda biyoaktif bileşen içermektedir. Muhacir-Güzel ve ark. (2014), tarafından yapılmış olan çalışmada nar kabuklarının tanelerden daha fazla biyoaktif bileşen içerdiği belirlenmiştir. Çalışmada narlar kabukları ile birlikte (bütün meyve olarak) ve yalnızca tane olarak preslenmiştir. Bu çalışmada meyvelerin kabuklu preslenmesi sırasında nar kabuklarından meyve suyuna çeşitli formlardaki fenolik bileşenler geçtiği belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bütün meyveden elde edilen nar suyunun %34 oranında daha fazla toplam fenolik bileşen, %54 daha fazla proantosiyanidin miktarı içerdiği ve %22 daha fazla antioksidan aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.

Ayrıca Li ve ark. (2006), tarafından nar proses atıkları üzerinde yapılmış olan çalışmada (kabuk ve posa kısımlarında), fenolik bileşenlerin kabukta daha fazla olduğu ve buna paralel olarak nar kabuğunun antioksidan aktivite bakımından da posadan daha etkin olduğu belirlenmiştir.

Son yıllarda yapılan pek çok çalışma çoğu meyvede olduğu gibi nar proses atıklarının da önemli oranda antioksidan bileşen içerdiğini göstermiştir (Guo ve ark., 2003; Li ve ark., 2006; Muhacir-Güzel ve ark., 2014).

**Tablo 1.3.** Nar kabuğu biyoaktif bileşen konsantrasyonları

	<b>Miktar</b>	<b>Kaynak</b>
<b>TPC (mg GAE/g)</b>	84,89–109,7	Elfalleh ve ark., 2009
	98,24–250,13	Ardekani ve ark., 2011
	122,33–176,0	Rajan ve ark., 2011
	53,65–85,60	Elfalleh ve ark., 2012
	179,3–295,5	Fawole ve ark., 2012
	298,0	Middha ve ark., 2013
	1,9–103,2	Ali ve ark., 2014
	290,1	Hadrich ve ark., 2014
	158,5	Özdemir ve ark., 2014
	144,46–205,44	Zoral ve ark., 2014
	273,50–427,19	İsmail ve ark., 2016
	153,22	Seidi ve ark., 2016
	157,06–304,60	Abid ve ark., 2017
	124,34	Azarpazhooh ve ark., 2019
	119,82–199,4	Kaderides ve ark., 2019
	242,05–638,17	Kennas ve ark., 2019
	224,39	Sabraoui ve ark., 2020
	158,10	Sara ve ark., 2020
	172,54	More ve ark., 2021
	64,38–149,75	Ghimire ve ark., 2022
<b>THT (mg TAE/g)</b>	111,23	Elfalleh ve ark., 2009
	62,71–139,63	Elfalleh ve ark., 2012
	129,60	Romani ve ark., 2012
	27–172	Fischer ve ark., 2013
	82,6–262,7	Zoral ve ark., 2014
	8,42	Sarıca ve ark., 2016
	127,59–796,44	Kennas ve ark., 2019
	86,4–98,13	Rifna ve ark., 2022
<b>CTC (mg CE/g)</b>	10,9	Li ve ark., 2006
	3,2–7,7	Saad ve ark., 2012
	3,7–9,5	Zoral ve ark., 2014
	2,22–6,39	Kennas ve ark., 2019
	12,86	Hosseini-Vassan ve ark., 2020
	24,2	Hayder ve ark., 2021
<b>Antosiyaninler (mg cyn-3-glu/100 g)</b>	0,7–6,1	Rababah ve ark., 2010
	380	Ali ve ark., 2014
	42,5–54,5	Abid ve ark., 2017
	4,5	Azarpazhooh ve ark., 2019
	2,28	Morzelle ve ark., 2019
	22,8	Hosseini-Vassan ve ark., 2020
	52	Sara ve ark., 2020

TPC: toplam fenolik madde konsantrasyonu, THT: toplam hidrolize tanen konsantrasyonu, CTC: toplam kondanse tanen konsantrasyonu, GAE: gallik asit eşdeğeri, TAE: tannik asit eşdeğeri, CE: kateşin eşdeğeri, cyn-3-glu: siyanidin-3-glukozit cinsinden

**Tablo 1.3.** Nar kabuğu biyoaktif bileşen konsantrasyonları (Devam)

	<b>Miktar</b>	<b>Kaynak</b>
<b>Antioksidan-DPPH (mmol TE/g)</b>	3,88-11,48	Elfalleh ve ark., 2012
	0,78-3,25	Kam ve ark., 2013
	0,351-0,595	Marchi ve ark., 2015
	2,217-6,171	Masci ve ark., 2016
	2,76-3,41	Okumuş, 2016
	0,767	Kennas ve ark., 2019
	0,183	Demir ve ark., 2019
	0,108-0,358	Rafi ve ark., 2021
<b>Antioksidan-DPPH (% inhibisyon)</b>	53,74-65,30	Wang ve ark., 2011
	55,30	Tehranifar ve ark., 2011
	60,1-83,5	Azarpazhooch ve ark., 2019
	94,77	Kaderides ve ark., 2019
	74,40	Sara ve ark., 2020
	43,42-68,83	Ghimire ve ark., 2022
<b>Antioksidan-ABTS (mmol TE/g)</b>	0,038-0,075	Elfalleh ve ark., 2012
	1,63-5,39	Kam ve ark., 2013
	0,82	Okumuş ve ark., 2015
	0,306	Demir ve ark., 2019
<b>Antioksidan-ABTS (% inhibisyon)</b>	43,18-46,5	Wang ve ark., 2011
	78,92	Kennas ve ark., 2019
	65,26-77,1	Fourati ve ark., 2020
	49,7-77,2	Rifna ve ark., 2022

TE: trolox eşdeğeri

Ancak, bu değerli atıklardan biyoaktif bileşenlerin maksimum düzeyde geri kazanımının sağlanabilmesi için etkin bir ekstraksiyon işleminin yapılması gerekmektedir.

Nar kabuğundan biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda çoğu zaman, geleneksel teknikler kullanılmaktadır (Bertolo ve ark., 2021). Bu amaçla en çok kullanılan geleneksel teknik ise sokslet ekstraksiyon tekniğidir (Herrero ve ark., 2010). Ancak, geleneksel ekstraksiyon yöntemleri, yüksek enerji tüketimi, ekstraksiyon süresinin uzun olması, biyoaktif maddelerin degradasyonu ve fazla miktarda çözen tüketimi gibi dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajları minimum düzeye indirmek ve biyoaktif bileşenlerin maksimum düzeyde geri kazanımını sağlamak için mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon gibi yeşil tekniklerin kullanımına olan ilgi son yıllarda önemli derecede artmıştır (Kutlu ve ark., 2021). Aynı zamanda geleneksel yöntemler çözücü olarak etanol, metanol gibi yanıcı maddelerin kullanımıyla çevreye zarar vermektedir (Bertolo ve ark., 2021). Bu çözücülerin gıda sınıfına uygun olmadığı da bilinmektedir (Rajha ve ark., 2019). Bu zararlı çözücülerin kullanımına ise çevre dostu bir alternatif olarak derin ötektik solvent (DÖS)'lerin kullanılması önerilmektedir (Bertolo ve ark., 2021).

DÖS'ler düşük maliyetli olmalarının yanı sıra, toksik olmayan, biyolojik olarak parçalanabilen organik bileşiklerdir, bu nedenle çevre dostu olarak değerlendirilmektedirler (Lampakis ve ark., 2021).

**Tablo 1.4.** Nar çekirdeği biyoaktif bileşen konsantrasyonları

	<b>Miktar</b>	<b>Kaynak</b>
<b>TPC(mg GAE/g)</b>	0,507–1,038	Sarkhosh ve ark., 2009
	7,25	Kanatt ve ark., 2010
	0,117–0,177	Gözlekçi ve ark., 2011
	7,94–11,84	Elfalleh ve ark., 2012
	1,54	Jing ve ark., 2012
	0,29–2,7	Basiri, 2013
	0,9–14,9	Ali ve ark., 2014
	8,52–10,44	Khoddami ve ark., 2014
	2,57	Lucci ve ark., 2015
	3,715	Seidi ve ark., 2016
	1,38	Ambigaipalan ve ark., 2017
	3,88–4,96	Peng, 2019
	0,095–0,146	İkinci ve ark., 2021
	3,1	Guzmán-Lorite ve ark., 2022
<b>THT(mg TAE/g)</b>	29,57–32,86	Elfalleh ve ark., 2012
	0,068–0,182	Jing ve ark., 2012
	1,9	Romani ve ark., 2012
<b>CTC(mg CE/g)</b>	5,6	Durante ve ark., 2017
<b>Antioksidan –DPPH (mmol TE/g)</b>	0,25–0,29	Okumuş, 2016
	0,36	Ambigaipalan ve ark., 2017
	0,005–0,0086	Peng, 2019
<b>Antioksidan-ABTS (mmol TE/g)</b>	0,0076–0,011	Elfalleh ve ark., 2012
	0,0074–0,0129	Jing ve ark., 2012
	0,0072	Okumuş ve ark., 2015
	0,0183	Ambigaipalan ve ark., 2017
	0,0016–0,0025	Peng, 2019
	0,0332	Thitipramote ve ark., 2019
<b>Antosiyaninler (mg cyn-3-glu/100 g)</b>	19,62–40,84 mg CGE/g	Elfalleh ve ark., 2012
	7,04	Ambigaipalan ve ark., 2017
	0,019–0,351	İkinci ve ark., 2021

TPC: toplam fenolik madde konsantrasyonu, THT: toplam hidrolize tanen konsantrasyonu, CTC: toplam kondanse tanen konsantrasyonu, GAE: gallik asit eşdeğeri, TE: trolox eşdeğeri, TAE: tannik asit eşdeğeri, CE: kateşin eşdeğeri, cyn-3-glu: siyanidin-3-glukozit cinsinden

Bu avantajlarına ilaveten derin ötektik çözücülerin kullanılması, biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda daha yüksek verim elde edilmesini de sağlamaktadır (Rajha ve ark., 2019). Günümüzde solvent tüketiminin azaltılarak bir yandan çevreye verilen zararın bir yandan da proses maliyetlerinin düşürülmesi amacıyla geliştirilmekte olan yeni ekstraksiyon teknikleri “çevre dostu” ya da “yeşil” teknikler olarak adlandırılmaktadır (Namiesnik, 2001; Tabaraki ve ark., 2012).

### **1.3. Yeni-Yeşil Ekstraksiyon Yöntemleri**

Geleneksel tekniklerde karşılaşılan ekstraksiyonun uzun zaman alması, maliyetin fazla olması, yüksek saflıkta çözücü ihtiyacı, yüksek miktarlarda çözgenin buharlaştırılma zorunluluğu, düşük ekstraksiyon seçiciliği ve bileşenlerin sıcaklık etkisi ile termal bozunumu (Wan ve Wong, 1996) gibi olumsuzlukların giderilme çabaları, yeni ekstraksiyon tekniklerinin geliştirilmesine neden olmuştur. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süper kritik akış, vurgulu elektriksel alan, ultrases, enzim ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (Armenta ve ark., 2019) yöntemleri modern ekstraksiyon yöntemleri olarak geliştirilmiş olup, “yeşil teknikler” olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde yaygın olarak kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinde aranan temel özellikler; güvenilir kimyasalların kullanımı, enerji tasarrufu, çevreye verilen zararın azaltılması, ekstraksiyon süresinin kısaltılması, maliyetin düşük olması şeklinde sıralanabilmektedir (Şengül ve ark., 2019). Yeşil teknikler, derin ötektik solventler ve iyonik çözücüler gibi yeşil çözücülerin kullanımıyla birleştiğinde, doğal bileşiklerin geri kazanılması için uygun bir alternatif olarak kabul edilmekte ve toksik atıkların oluşumunu önlemektedir (Picot-Allain ve ark., 2021).

#### **1.3.1. Ultrases destekli ekstraksiyon**

Yenilikçi ve ısıl olmayan ekstraksiyon yöntemlerinin tercih edilmesiyle, gıdalarda ısıl işlem ile birlikte meydana gelen kayıpların azaltılması amaçlanmaktadır. Ultrases destekli ekstraksiyon da bu amaçla kullanılan yöntemlerden birisidir (Ergün ve ark., 2013; Kutlu ve ark., 2021). Ultrases enerjisi ses dalgalarının (saniyede >20.000) titreşimleri sonucunda üretilmektedir. Gıda teknolojisinde yaygın olarak tercih edilen ultrases ekipmanlarının frekansı 20 kHz ile 10 MHz aralığındadır. Ultrases yöntemi ekstrakte edilecek materyale bağlı olarak kullanım açısından genelde düşük enerjili uygulama (100 kHz) ve yüksek enerjili uygulama (20-100 kHz) olarak ikiye ayrılmaktadır (Ergün ve ark., 2013). Eski zamanlardan beri kullanılan yüksek frekans ve düşük enerjili ultrasonik uygulamada ultrases dalgaları dalgalının geçtiği materyal özelliklerinde fiziksel ve kimyasal değişimlere neden olmamaktadır. Bu nedenle gıdalardan biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyon işlemini gerçekleştirmek için yüksek yoğunluklu ultrases teknolojisi ucuz, basit, etkili, endüstriye uygun alternatif bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Sarıtaş, 2018). Katı ve sıvı örneklerin hazırlanmasında kullanılan düşük frekans yüksek enerjili uygulama ise gıdanın fiziksel veya kimyasal özelliklerini değiştirmek amacıyla kullanılmaktadır (Tadeo ve ark., 2010; Cavuldak ve ark., 2016).

Ultrases tekniğinde ekstraksiyon prosedürü ultrasonik enerji altında gerçekleşmekte bu da numune ile ekstraksiyon solventi arasında materyal aktarımını sağlamaktadır (Cunha ve ark., 2018). Böylelikle ultrases uygulaması hücre duvarını etkilemektedir. Ultrases dalgalarının etkisi ile partikül boyutu küçülmekte, örnek ve çözgenin kısımları arasındaki yüzey alanı artmaktadır. Ultrasonik dalgaların mekanik etkisi, çözgenin dokulara olan dağılımını hızlandırmakta ve mekanik olarak hücre duvarı yıkıldığından hücre içi bileşen çözücü

solvente kolayca geçebilmektedir (Ergün ve ark., 2013; Alifakı ve ark., 2018). Bu sayede ekstraksiyon işlemi daha kısa sürelerde gerçekleşmektedir (Sevindik ve ark., 2017). Ultrases tekniğinin ekstraksiyon verimliliği genel olarak, ekstraksiyon çözücüsü (polarite, pH, katı-solvent oranı), ultrasonik koşullar (sıcaklık, sonikasyon genliği, sonikasyon süresi) ve numune özellikleri (matris, miktar, parçacık boyutu) gibi farklı faktörlere bağlıdır (Büyüktuncel, 2012; Cunha ve ark., 2018). Ultrases yöntemi ile yapılan ekstraksiyon işleminin avantajlarını genel olarak şöyle sıralayabiliriz:

(i); Ultrasonik dalgalar toksik olmaması sebebiyle güvenli ve çevre dostu kabul edilmektedir.

(ii); Ultrasonikasyon etkili bir mikrobiyal inaktivasyon aracı olarak kabul görmektedir.

(iii); Maliyetten avantaj sağlamaktadır.

(iv); Ekstraksiyon aşamasında minimum kayba sebep olmaktadır.

(v); Ultrases yöntemi daha kısa süre gerektirdiği ve daha az enerji, kimyasal ve solvent tükettiği için geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre daha yüksek verim sağlamaktadır (Kazemi ve ark., 2016; Alifakı ve ark., 2018; Aktar, 2019).

Alternatif akımı bir dönüştürücü yardımıyla mekanik titreşimlere çevirme prensibiyle çalışan ultrases cihazları banyo ve prob olmak üzere iki şekilde kullanılmaktadır (Chemat, 2017). Analiz metoduna bağlı olarak banyo ya da prob kullanımı değişmektedir. Amaç katı-sıvı ekstraksiyonu ise, ekstraksiyon için gereken zamanın az olmasına bağlı olarak etkili bir prob kullanılabilir. Diğer yandan çok sayıda örnekten aynı anda ultrasonik banyo ile de ekstraksiyon gerçekleştirilebilmektedir. Bununla birlikte ucuz olması sebebiyle yaygın olarak kullanılan ultrasonik enerji kaynağı ultrasonik banyodur. Ultrasonik banyolar, paslanmaz çelik tanklardan oluşmakta ve duvarında bir ya da daha fazla dönüştürücü bulundurmaktadır. Kolaylıkla kullanılabilen ve çok fonksiyonlu cihazlardır. Madde içerisinde uygulanan en fazla kuvvet genel olarak 1-5 W/cm<sup>2</sup> kadardır (Chemat, 2017). Ultrasonik dalga yardımıyla ekstraksiyon işlemi yapılırken kullanılan örnek, ultrasonik su banyosuna yerleştirilmiş bir ekstraksiyon hücresi içerisine konularak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmektedir. Bu sistem ekstraksiyon çözücüsünün sürekli olarak örneğe pompalandığı numune geçişi olan açık bir sistem olabilirken, ekstraktın seyrelmesini önleyen ekstraksiyon çözücüsünün yeniden dolaştığı kapalı bir sistem olarak da kullanılabilir (Büyüktuncel, 2012). Probu ultrases uygulamalarında ise prob doğrudan solventin içerisine daldırılarak uygulanmaktadır. Bu nedenle bu sistemler küçük hacimlerde kullanılmaktadır. Buna karşın sınırlanan enerjiden dolayı daha verimli buhar dolu kabarcıkların oluşumunun sağlanması, problu ultrases cihazlarının avantajları arasında yer almaktadır (Chemat, 2017).

Ultrases, kullanıldığı bazı sistemlerde tek başına yeterli olurken bazılarında ısı ve/veya basınç ile kombine edilerek de kullanılabilir. Bu kombine sistemlere termosonikasyon, manosonikasyon, manotermosonikasyon uygulamaları örnek

verilebilmektedir. Termosonikasyon; ultrases ve sıcaklık kombinasyonuyken, manosonikasyon ultrases ve basınç kombinasyonlu bir uygulama olarak belirtilmektedir. Manotermosonikasyon ise basınç, sıcaklık ve ultrases uygulamasının kombinasyonu ile gerçekleşen işlem şeklinde adlandırılmaktadır (Knorr ve ark., 2004; Güzel ve ark., 2020). Ultrasonik enerji sağladığı birçok avantaj nedeni ile işleme, ekstraksiyon, emülsifikasyon, koruma, homojenizasyon gibi gıda endüstrisi uygulamalarında kullanılmaktadır (Aktar, 2019). Kaderides ve ark. (2015), tarafından yapılan çalışmada ultrases yöntemi ile yapılan ekstraksiyon ile ekstraksiyon veriminin arttığı ve ekstraksiyon süresinin kısaltıldığı vurgulanmaktadır.

Son yıllarda avantajları sebebi ile ultrases destekli ekstraksiyon işlemi yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Örneğin, Živković ve ark. (2018), tarafından yürütülmüş olan çalışmada nar kabuğunun ultrases yöntemi ile ekstraksiyonunda, ekstraksiyon parametrelerinin toplam fenolik bileşen miktarı üzerine etkileri araştırılarak optimum koşullar belirlenmiştir. Bu amaçla etanol konsantrasyonu (%10-90), katı solvent oranı (1:10-1:50), sıcaklık (20-80°C) ve süre (5-65 dk) gibi proses koşulları kullanılarak ultrases yöntemi ile nar kabuğundan ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilerek toplam fenolik bileşen (TPC) içeriği belirlenmiştir. Yapılan çalışmada en yüksek TPC miktarı (190,94 mg GAE/g) 50 dakika, %30 etanol konsantrasyonu, 1:40 katı solvent oranı ve 65°C sıcaklıkta elde edilmiştir. En düşük TPC miktarı (81,61 mg GAE/g) ise 35 dakika, 1:30 katı solvent oranı, %90 etanol konsantrasyonu ve 50°C sıcaklıkta elde edilmiştir. Kumar ve ark. (2020), tarafından nar kabuğu üzerinde yürütülmüş olan başka bir çalışmada ise %50-80 arası ultrases genliği, 5-15 dakika ekstraksiyon süresi, %30-70 arası metanol konsantrasyonu ile darbeli mod ultrases tekniği kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş ve toplam hidrolize tanen miktarı (THT) tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma için optimum koşullar %70 metanol konsantrasyonu, 12,8 dakika ve %80 ultrases genliği olarak belirlenerek THT miktarının 142,16 ile 199,51 mg/g aralığında değiştiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma sonucunda darbeli mod ultrases destekli ekstraksiyon, nar kabuğundan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılabilecek etkili bir yöntem olarak değerlendirilmiştir. Nar çekirdeğinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için yüksek yoğunluklu ultrases tekniğinin kullanıldığı bir çalışmada da çözücü olarak farklı konsantrasyonlarda (0-100%) etanol ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir (Guzmán-Lorite ve ark., 2022). Yapılan bu çalışmada nar çekirdeği toplam fenolik bileşen içeriği 3,1 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Nar çekirdekleri üzerinde Ambigaipalan ve ark. (2017), tarafından yürütülen başka bir çalışmada ise %70'lik aseton ve 1:40 katı solvent oranı kullanılarak ultrases yöntemi ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmesi sonucunda TPC içeriği 1,38 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar, nar çekirdeği ekstraktlarının gıda endüstrisi tarafından kullanılmaya değer işlevsel özellikler gösterdiğini belirlemiştir. Bunun yanı sıra nar çekirdeği içeriğinde bulundurduğu sağlığa faydalı fenolik bileşenler sebebiyle, fonksiyonel gıda bileşenleri ve

nutrasötiklerin üretimi için de potansiyel bir hammadde olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

### **1.3.2. Derin ötektik solvent ekstraksiyonu**

Faz diyagramında, iki ya da daha fazla bileşimin bir araya gelmesi sırasında, bu karışımı oluşturan bileşiklerin sahip olduğu erime noktalarından düşük değere sahip olan bir karışım oluşmaktadır. Bu karışımın oluştuğu nokta, ötektik nokta (faz diyagramı üzerinde maksimum sayıda fazın bir arada dengede olduğu nokta) ve oluşan karışım da derin ötektik solvent (DÖS) olarak adlandırılmaktadır (Kutlu ve ark., 2021). Bir iyonik sıvı türü olan DÖS ilk olarak Abbott ve ark., tarafından 2003 yılında keşfedilmiş ve 302°C ve 133°C erime noktalarına sahip kolin klorür (1M) ve ürenin (2M) molar oranda karıştırılmasıyla ortaya çıkmıştır (Gitti, 2019; Huang ve ark., 2019).

Derin ötektik solventler organik maddelerden oluşmaktadır (Armenta ve ark., 2019). Bu nedenle DÖS'ler biyolojik olarak parçalanabildiği, geri dönüşümü kolay olduğu ve diğer geleneksel çözücülere göre daha düşük doygun buhar basıncına sahip olduğu için yeşil, çevre dostu bir çözücü olarak kabul edilmektedir (Hang ve ark., 2022). Ayrıca oldukça kararlı, düşük maliyetli, uçucu, kokusuz ve renksiz olmalarının yanı sıra yanıcı ve toksik olmayan özelliğe sahip çözücülerdir (Omar ve Sadeghi, 2022). Hidrojen bağı alıcıları (HBA'lar) olarak kuarterner amonyum tuzları ve hidrojen bağı donörleri (HBD'ler) alkol, karboksilik asit olmak üzere iki veya daha fazla bileşikten oluşan DÖS'lerin insanlar için güvenli olduğu da kanıtlanmıştır (Jiang ve ark., 2018; Shang ve ark., 2018).

Seçilen hidrojen bağı donörü, DÖS'lerin uygulanmasında önemli bir rol oynamaktadır (Omar ve Sadeghi, 2022). Ekstraksiyon işleminde derin ötektik solventlerin kullanımına önem verilmesinin başlıca nedeni olarak, yüksek çözme kabiliyetleri gösterilebilmektedir (Kutlu ve ark., 2021). Derin ötektik solventler, geleneksel çözücülerde çözünmeyen selüloz gibi pek çok organik veya inorganik maddeyi çözebilme yeteneğine sahiptir (Armenta ve ark., 2019). Ayrıca, derin ötektik solventlerin fizikokimyasal özelliklerinin (viskozite, polarite) ayarlanabilmesi de ekstraksiyon süreci açısından önemlidir. Derin ötektik solventlerin polaritesinin ayarlanabilir olması onları çeşitli doğal bileşik gruplarının ekstraksiyonu için tercih edilebilir bir çözücü yapmaktadır (Kutlu ve ark., 2021; Hang ve ark., 2022).

DÖS'ler ayrıca, yüksek dielektrik sabiti ve geleneksel solventlerden daha fazla enerji absorbe etme yeteneği ile mikrodalga veya ultrases destekli ekstraksiyon gibi modern ekstraksiyon teknikleri ile kombine olarak kullanıma da uygundur. Sahip olduğu bu özellik ile daha yüksek ekstraksiyon verimi ve daha fazla enerji tasarrufu sağlamaktadır (Shang ve ark., 2018). Son yıllarda farklı molar konsantrasyonlarda ve farklı bileşenler kullanılarak hazırlanan DÖS'ler ile yapılan çalışmalara olan ilgi artmıştır.

Nar kabuğunda Kyriakidou ve ark. (2021), tarafından yapılan çalışmada 1:11 molar oranında kolin klorür:gliserol ve %30 konsantrasyonda su kullanılarak hazırlanan DÖS ile 70 dakika

ekstraksiyon yapılması sonucunda TPC miktarı 272,98 mg/g olarak belirlenmiştir. Bu çalışma, 1:11 molar oranında gliserol ile kolin klorür kombinasyonunun fenolik maddelerin nar kabuklarından ekstraksiyonu için etkili bir derin ötektik solvent (DÖS) olabileceğini göstermiştir. Aynı zamanda ekstraksiyon optimizasyonunun sonuçları, kullanılan DÖS kombinasyonu ile nar kabuğundan elde edilen ekstraktın farklı literatür çalışmalarında rapor edilen fenolik içerik değerlerinden yüksek olduğunu göstermiştir.

Nar kabuğunda Rajha ve ark. (2019), tarafından yürütülen çalışmada farklı DÖS'ler (laktik asit:kolin klorür, malik asit:sukroz, gliserol:glisin, kolin klorür:fruktoz, glikoz:tartarik asit, malik asit:glikoz, laktik asit:glisin) kullanılarak ve 1:10 katı solvent oranı ile 50°C'de 90 dakika ultrases yöntemi kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda maksimum TPC miktarı (114 mg GAE/g) gliserol:glisin kullanılarak hazırlanan DÖS ile belirlenmiştir. Bu çalışma, nar kabuklarından polifenollerin ekstraksiyonu için yeşil alternatifler olarak derin ötektik solventlerin etkinliğini göstermiştir. Derin ötektik çözücüler kullanılarak yapılan ekstraksiyon çalışmaları, çözücülerin toksik olmaması ve düşük maliyetle kısa sürede sentezlenebilir olması gibi avantajlar sağlarken bir yandan da ekstraksiyon verimini arttırdığını göstermiştir. Ayrıca ekstraksiyon tekniğine ve solvente bağlı olarak, spesifik bileşiklerin seçici olarak da ekstrakte edilebileceğini göstermiştir.

## 2. BÖLÜM

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 2.1. Materyal

Çalışmamızda materyal olarak kullanılan nar örnekleri Mersin yöresinden temin edilmiş olup ön temizleme işleminin ardından kabuk ve çekirdekleri ayıklanmıştır. Ayıklanan kabuklar ve çekirdekler 40°C'ye ayarlanan etüvde (ZHICHEN-ZFD-5090) 2 gün kurutulmuştur. Kurutma işlemi sonrasında nem miktarı hızlı nem tayin cihazıyla (Shimadzu Moisture Analyzer, TypeMOC634) nar kabuklarında %1,84±0,02, nar çekirdeklerinde ise %4,29±0,62 olarak belirlenmiştir. Homojen örnek kitlesinin oluşturulabilmesi için kurutulmuş örnekler kahve öğütücüsünden öğütülerek partikül büyüklüğü 500 µm olacak şekilde elekten geçirilmiştir. Hazırlanan örnekler analizler gerçekleştirilinceye kadar kahve renkli şişelerde derin dondurucuda saklanmıştır.

#### 2.2. Kimyasallar

Gallik Asit, Asetik Asit, Kolin Klorür, Oksalik Asit, Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid), (+)-Kateşin, Tannik Asit, ABTS (2,2'-Azino-bis 3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Sigma Aldrich (St. Louis, Missouri, Amerika) firmasından satın alınmıştır. Diğer tüm kimyasallar ise analitik saflıkta olup Merck'ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir.

#### 2.3. Nar Proses Atıklarından Biyoaktif Bileşenlerin Ultrases Yöntemi İle Ekstraksiyonu

Nar kabukları ve çekirdeklerinden biyoaktif bileşenlerin ultrases destekli ekstraksiyonunun gerçekleştirilmesi için öncelikle kullanılacak olan ekstraksiyon çözeltileri hazırlanmıştır. Çalışmamızda kullanılacak derin ötektik solventlerin belirlenmesinde ve hazırlanmasında literatür çalışmalarına (Hernández-Corroto ve ark., 2020; Bertolo ve ark., 2021; Guzmán Lorite ve ark., 2022) ve ön deneme çalışmaları ile hidrojen bağ alıcısı olarak kolin klorür, hidrojen bağ donörü olarak ise glikoz, fruktoz, sukroz, laktik asit, oksalik asit, asetik asit ve gliserolün farklı molar konsantrasyonlardaki karışımları kullanılmıştır (Tablo 2.1). Seçilen molar oranlarda kimyasallar karıştırıldıktan sonra çözeltinin berrak bir görünüm kazanması için 60°C'de 1,5 saat ultrasonik su banyosunda (Sonorex DigiPlus DL 255 H Bandelin, BANDELIN electronic GmbH & Co.) tutulmuştur. Derin ötektik solventler ile yapılan ekstraksiyonun yanı sıra ekstraksiyon işlemi literatürde sıklıkla kullanılan solventler ile yapılmış olup bu amaçla su, %50 (v/v) etanol, %50 (v/v) ve %100 (v/v) metanol kullanılmıştır.

Biyoaktif bileşen ekstraksiyonu için kurutulmuş toz haline getirilmiş örneklerden 1'er g tartılarak (Precisa Gravimetrics, XB220 A, İsviçre), tartımlar not edilmiştir. Örneklerin katı

solvent oranı 1:10 olacak şekilde ekstraksiyon solventleriyle karıştırılmasından sonra 37 kHz ve %100 genlikle çalıştırılan ultrasonik su banyosunda, 50±2°C'de 30 dk süresince ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon parametreleri literatür çalışmaları (Rajha ve ark., 2019; Kyriakidou ve ark., 2021) ve ön denemeler sonucunda belirlenmiştir. Ekstraksiyon işleminin ardından ekstraktlar 5000 rpm'de 15 dk santrifüjlenmiştir (Sigma, 3-30K, Almanya). Santrifüj işleminin ardından elde edilen süpernatant biyoaktif bileşen analizlerinde uygun şekilde seyreltilerek kullanılmıştır.

**Tablo 2.1.** Derin ötektik solventlerin hazırlanmasında kullanılan kimyasallar ve molar oranları

<b>Bileşen</b>	<b>Bileşen 1</b>	<b>Bileşen 2</b>	<b>Molar Oran</b>
DÖS-1	Kolin Klorür	Glikoz	1:1
DÖS-2	Kolin Klorür	Glikoz	1:2
DÖS-3	Kolin Klorür	Glikoz	2:1
DÖS-4	Kolin Klorür	Laktik Asit	1:1
DÖS-5	Kolin Klorür	Asetik Asit	1:1
DÖS-6	Kolin Klorür	Oksalik Asit	1:1
DÖS-7	Kolin Klorür	Gliserol	1:1
DÖS-8	Kolin Klorür	Sukroz	2:1
DÖS-9	Kolin Klorür	Fruktoz	2:1

#### 2.4. Ekstraksiyon Solventlerinin Brix, pH ve Elektriksel İletkenliklerinin Belirlenmesi

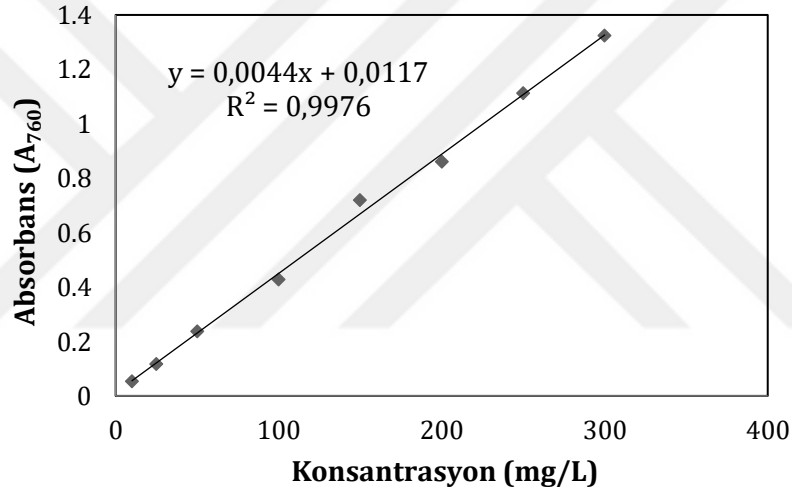
Hazırlanan ekstraksiyon solventlerinin pH değerleri pH metre (AD1020, Adwa), elektriksel iletkenlik değerleri elektriksel iletkenlik ölçer (Hanna Instruments, HI 98129), suda çözünebilir kuru madde (brix) içeriği ise refraktometre (Atago Pal-3, Almanya) ile belirlenmiştir.

#### 2.5. Toplam Fenolik Bileşen Tayini

Nar proses atıklarının toplam fenolik bileşen içeriği Güzel (2010), tarafından yapılan çalışmada belirtilen şekilde Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla öncelikle analizde kullanılacak olan %7,5'lik sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) çözeltisi ve 0,2 N Folin-Ciocalteu reaktifi hazırlanmıştır. Uygun oranda seyreltilen nar kabuğu örneklerinden 250 µl, nar çekirdeği örneklerinden ise 200 µl alınmış, üzerine 2,5 mL folin eklenerek deney tüpü karıştırılmıştır. 3 dakika kendi haline bırakıldıktan sonra 2 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> eklenmiş ve tekrar karıştırılarak 1 saat karanlıkta bekletilmiştir. Daha sonra örneklerin şahide karşı

absorbans değerleri spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) 760 nm'de ölçülmüştür. Ölçümler her bir örnek için iki tekerrürlü ve iki paralelli olarak yapılmıştır.

Fenolik bileşen miktarı gallik asit kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Bu amaçla 1000 mg/L konsantrasyonda gallik asit stok çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltilerden nar kabukları ve nar çekirdekleri için farklı konsantrasyonlarda (10-300 mg/L) çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltilere örneklerle aynı şekilde analiz aşamaları uygulanmış ve yine 760 nm dalga boyunda absorbans değerleri saptanmıştır. Bu absorbans değerleri gallik asitten elde edilen absorbans değerlerine karşı bir grafiğe aktarılmıştır. Verilere linear regresyon analizi uygulanarak gallik asit standart eğrisi ( $R^2=0,9976$ ) ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır (Şekil 2.1.). Bu eşitlik kullanılarak hesaplanan toplam fenolik bileşen içerikleri "mg GAE (gallik asit eşdeğeri)/g" cinsinden sunulmuştur.



Şekil 2.1. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

## 2.6. Antioksidan Aktivite Tayini

### DPPH

DPPH metodu bileşiklerin serbest radikal süpürücü gibi davranarak antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir (Kedare ve Singh, 2011). Temel olarak antioksidan ya da indirgeyici bileşikler (hidrojen verici antioksidanlar) tarafından proton geçişi ile mor kromojen radikali açık sarı renkten sorumlu hidrazine indirgenmekte ve antioksidan aktivite spektrofotometrede 515-520 nm'de ölçüm yapılarak belirlenmektedir (Musa ve ark., 2016).

Nar proses atıklarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde öncelikle kullanılacak DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) çözeltisi hazırlanmıştır (Güzel ve ark., 2020). Analiz için

uygun oranda seyreltilen nar kabuğu ve nar çekirdeği ekstraktlarından 100 µl alınarak üzerine 1900 µl DPPH çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra çözelti vorteks ile karıştırılmış ve oda sıcaklığında, karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda 515 nm’de şahide karşı absorban ölçümleri yapılmıştır. Başlangıç değerine ( $A_0$ ) göre okunan absorban değerlerindeki azalış % inhibisyon değeri olarak hesaplanmıştır (Eşitlik 2.1). Aynı işlem farklı konsantrasyonlarda (31-500 µM) hazırlanan trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit) standart çözeltileri ile de gerçekleştirilerek standart kalibrasyon eğrisi ( $R^2=0,9959$ ) çizilmiştir. Nar proses atıklarının antioksidan aktivitesi standart eğriyi tanımlayan eşitlik yardımıyla hesaplanarak “µmol TEAC (trolox eşdeğeri antioksidan kapasite)/ g” olarak sunulmuştur.

$$\text{İnhibisyon oranı (\%)} = \frac{\text{Başlangıç absorban değeri} - \text{Örnek absorban değeri}}{\text{Başlangıç absorban değeri}} \times 100 \quad (\text{Eşitlik 2.1})$$

## ABTS

Nar proses atıklarının ABTS (2,2’-Azino-bis-3-etilbenzothiazolin-6-sülfonik asit) yöntemiyle antioksidan aktivite tayinleri Muhacir-Güzel ve ark. (2014), tarafından yapılan çalışmada belirtildiği şekilde minör düzeyde modifiye edilerek uygulanmıştır. Antioksidan aktivitenin belirlenmesi için öncelikle 2,45 mM potasyum peroksidisülfat içeren ABTS (7 mM) çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti ABTS<sup>•+</sup> radikal katyonunun oluşması için 16 saat süreyle  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ’de bekletilmiştir. Daha sonra örneklerin ve radikal çözeltinin seyreltilmesinde kullanılacak PBS (fosfat tamponu; pH=7.4) çözeltisi hazırlanmıştır. Başlangıç absorban değerinin belirlenmesi için küvete 1,980 mL ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisinden alınarak 734 nm’de şahide karşı ölçüm yapılmış ve absorban not edilmiştir. Hazırlanan PBS ile uygun oranda seyreltilmiş 20 µL ekstrakt mikroküvet içerisinde bulunan 1980 µL ABTS<sup>•+</sup> çözeltisi üzerine eklenmiştir. Ekstrakt eklendikten hemen sonra kronometre çalıştırılarak 6 dk beklenmiş ve absorban ölçümleri yapılmıştır. Okunan absorban değerlerinden % inhibisyon oranları belirlenmiştir (Eşitlik 2.1). Sonuçlar farklı konsantrasyonlarda (5-750 µM) hazırlanan trolox standart çözeltisine ait eşitlik ( $R^2=0,9909$ ) yardımıyla hesaplanmış ve “µmol TEAC/ g” olarak sunulmuştur.

## 2.7. Proantosiyanidin (Kondanse Olabilen Fenolik Bileşen) Tayini

Nar proses atıklarının proantosiyanidin miktarları Güzel (2010), tarafından önerilen yöntemle yapılmıştır. Bu yöntem, kateşinler ve lökoantosiyaninlerin 6. ve 8. pozisyonları ile vanilinin etkileşime girerek oluşturduğu kırmızı rengin spektrofotometrik olarak belirlenmesine dayanmaktadır. Analiz öncesinde analizde kullanılacak olan sülfürik asit çözeltisi (%70) ve vanilin çözeltisi (%1) hazırlanmıştır. Daha sonra uygun oranda seyreltilmiş olan nar kabuğu ve nar çekirdeği ekstraktlarının her biri için A, B ve C tüpü olmak üzere 3'er

adet deney tüpü alınmıştır. Deney tüplerinden A tüpü 2,0 mL ekstrakt 4,0 mL vanilin çözeltisi; B tüpü 2,0 mL ekstrakt ve 4,0 mL sülfürik asit çözeltisi; C tüpü ise 2,0 mL damıtık su ve 4,0 mL vanilin çözeltisi içerecek şekilde hazırlanmıştır. Tüp içerikleri hazırlandıktan sonra oda sıcaklığında 15 dk bekletilmiş ve spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) şahide karşı 500 nm'de absorbansları saptanmıştır.

Nar kabuğu ve nar çekirdeği proantosiyanidin içeriği kateşin kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Bu amaçla, nar kabukları (2-25 mg/L) ve nar çekirdekleri (0,5-4 mg/L) için farklı konsantrasyonlarda kateşin standart çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilere nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerine uygulanan aşamalar uygulanmış ve yine 500 nm dalga boyunda absorbans değerleri belirlenmiştir. Bu absorbans değerleri kateşin konsantrasyonlarına karşı bir grafiğe aktarılmış ve elde edilen verilere lineer regresyon analizi uygulanarak kateşin standart eğrileri (nar kabuğu,  $R^2=0,9995$ ; nar çekirdeği,  $R^2=0,9994$ ) ve bu eğriyi tanımlayan eşitliklere ulaşılmıştır. Örneklerin net absorbans değerleri hesaplanırken, A tüpünden elde edilen değerden aynı örneğe ait olan B ve C tüplerinden elde edilen değerler çıkarılmıştır. Bu absorbans değerleri standart eğri için hesaplanan doğrusal regresyon denkleminde yerine konularak, örnekteki proantosiyanidin miktarı hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar "mg CE (kateşin eşdeğeri)/100 g" olarak sunulmuştur.

## **2.8. Hidrolize Olabilen Tanen Miktarı Tayini**

Nar kabuğu ve nar çekirdeklerinin içerdiği hidrolize olabilen tanen miktarı Güzel (2021), tarafından açıklandığı şekilde spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Analiz için uygun oranlarda seyreltilmiş nar kabuğu ve nar çekirdeği ekstraktlarından 1 mL alınarak üzerine 5 mL  $KIO_3$  (%2,5), eklenmiştir. Karışım 10 saniye vortekslelendikten sonra spektrofotometrede (Shimadzu, UV-1800, Japonya) 550 nm de absorbans ölçümü yapılmıştır.

Nar proses atıklarının hidrolize olabilen tanen içeriği tannik asit kullanılarak hazırlanan standart eğriden hesaplanmıştır. Standart eğrinin elde edilmesinde nar kabuğu (250-5000 mg/L) ve nar çekirdeği (25-2000 mg/L) örnekleri için farklı konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanmış olup hazırlanan çözeltilere nar kabuğu ve nar çekirdeği örnekleri ile aynı işlemler uygulanarak 550 nm de absorbansları okunmuş ve grafiğe aktarılmıştır. Bu absorbans değerleri standart eğrileri (nar kabuğu;  $R^2=0,9977$ , nar çekirdeği;  $R^2=0,9956$ ) için hesaplanan doğrusal regresyon denklemlerinde yerine konularak, örneklerin hidrolize olabilen tanen miktarı hesaplanmıştır. Sonuçlar "mg tannik asit eşdeğeri (TAE)/g" olarak ifade edilmiştir.

## **2.9. Toplam Monomerik Antosiyanın Tayini**

Toplam monomerik antosiyanın miktarı pH diferansiyel yöntemi ile Güzel (2021), tarafından açıklandığı şekilde belirlenmiştir. Analiz için öncelikle 0,025 M KCl (pH=1,0) ve 0,4 M  $CH_3COONa$  (pH=4,5) tamponu hazırlanmıştır. Uygun şekilde seyreltilen ekstraktlardan 1'er

mL alınarak 1'er mL tampon çözelti ile karıştırıldıktan sonra 15 dakika oda koşullarında bekletilmiştir. Daha sonra absorbansları spektrofotometrede 500 ( $\lambda_{max}$ ) nm'de ve bulanıklığı elimine etmek için 700 nm'de ölçülmüştür. Örneklerin toplam monomerik antosiyanin miktarları siyanidin-3-glikozit (Cyn-3-glu) cinsinden Eşitlik 2.2.'de sunulduğu şekilde hesaplanmıştır. Sonuçlar "mg cyn-3-glu/100 g" olarak sunulmuştur.

$$\text{Toplam antosiyanin miktarı} = \frac{A \cdot MW \cdot DF \cdot 10^3}{\epsilon \cdot L} \quad (\text{Eşitlik 2.2.})$$

$$A = [A_{500} - A_{700}]_{pH1,0} - [A_{500} - A_{700}]_{pH4,5}$$

$$MW = 449,2 \text{ g/mol}$$

$$\epsilon = \text{Siyanidin-3-glikozidin molar absorpsiyon katsayısı} = 26,900$$

$$L = \text{Küvet kalınlığı}$$

$$DF = \text{Seyreltme faktörü}$$

## 2.10. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Nar proses atıklarının antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde toplam fenolik bileşen içeriği bakımından maksimum düzeyde sonuçların elde edildiği DÖS-1, DÖS-9 ve etanol (%50) ile hazırlanan ekstraktlar kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Gram-pozitif ) ve *Escherichia coli* ATCC 25922 (Gram-negatif) bakterileri üzerinde Hesieh ve ark. (2001), tarafından önerilen disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Çalışmamızda kullanılan bakteriler Ortadoğu Teknik Üniversitesi Gıda Güvenliği Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. Ekstraktların hazırlanmasında Bölüm 2.3.'de tarif edilen ultrasonik ekstraksiyon basamakları izlendikten sonra hazırlanan ekstraktlar 4 g/10 mL konsantrasyona erişinceye kadar 50°C'de rotary evaporatörde (IKA HB10) konsantre edilmiştir. Bakteriler Mueller-Hinton sıvı besiyeri'nde 20 saat 30°C ve pH 7'de geliştirilmiştir. Her bir kültürün optik yoğunlukları 660 nm'de belirlenerek toplam sayı  $1 \times 10^8$  hücre/mL olacak şekilde ayarlanarak Mueller-Hinton agar besiyerine aktarılmıştır. Daha sonra 6 mm çapındaki steril antimikrobiyal disklerine 10  $\mu$ L ekstrakt enjekte edilerek diskler agar besiyerinin merkezine hafifçe bastırılarak yerleştirilmiştir. Negatif kontrol olması amacıyla aynı işlem saf etanol ile de gerçekleştirildikten sonra hazırlanan petripler 35°C'de 1 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan inhibisyon zonları kumpas ile mm cinsinden ölçülmüştür.

## 2.11. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızda nar kabuğu ve nar çekirdeğine uygulanan ekstraksiyon işlemi 50°C'de, 30 dakika 1:10 katı solvent oranı kullanılarak ultrasonik su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonrasında yapılan tüm analizler 2 tekerrürlü ve 2 paralelli olarak yürütülmüştür. Farklı ekstraksiyon solventlerinin ekstraksiyon etkinlikleri (toplam fenolik madde, antioksidan aktivite (DPPH, ABTS), toplam monomerik antosiyanin miktarı, hidrolize

olabilen ve kondanase olabilen tanen miktarı) üzerine etkisini gösteren veriler ANOVA testi ile değerlendirilmiş olup bu amaçla SPSS 20.0 programından yararlanılmıştır. Ortalamalar arasındaki istatistiksel farklılıklar, Duncan'ın çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak %5 anlamlılık düzeyinde belirlenmiştir.



### 3. BÖLÜM

#### ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

##### 3.1. Ekstraksiyon Solventlerinin Brix, pH ve Elektriksel İletkenlik Analiz Sonuçları

Yapılan çalışmada nar proses atıklarından biyoaktif bileşenlerin geri kazanımı için kullanılan farklı derin ötektik ve geleneksel solventlerin ekstraksiyon sıcaklığındaki (50°C) pH, elektriksel iletkenlik ve brix değerleri incelenmiştir (Tablo 3.1.). Çalışmada kullanılan derin ötektik solventlerin elektriksel iletkenliklerinin 282,5-649,5 mS/cm, pH değerlerinin 0,62-3,59, brix değerlerinin ise %15,80-42,35 arasında değiştiği belirlenmiştir. Geleneksel solventlerin ise elektriksel iletkenlikleri 213,5-325 mS/cm, pH değerleri 3,84-4,15, brix değerleri ise %5,25-15,65 aralığında değişmektedir.

**Tablo 3.1.** Ekstraksiyon solventlerinin pH, brix ve elektriksel iletkenlik değerleri

	Elektriksel İletkenlik (mS/cm)	pH	Brix (%)
<b>Ekstraksiyon Solventleri</b>			
<b>DÖS-1</b>	516±1,41 <sup>d</sup>	3,42±0,01 <sup>d</sup>	29,75±0,21 <sup>c</sup>
<b>DÖS-2</b>	531,5±3,54 <sup>c</sup>	3,23±0,01 <sup>e</sup>	42,35±0,21 <sup>a</sup>
<b>DÖS-3</b>	649,5±2,12 <sup>a</sup>	2,48±0,01 <sup>g</sup>	41,30±0,14 <sup>b</sup>
<b>DÖS-4</b>	557±2,83 <sup>b</sup>	1,60±0,01 <sup>ı</sup>	17,80±0,14 <sup>ef</sup>
<b>DÖS-5</b>	557,5±3,54 <sup>b</sup>	2,02±0,01 <sup>h</sup>	15,80±0,14 <sup>f</sup>
<b>DÖS-6</b>	282,5±0,71 <sup>g</sup>	0,62±0,01 <sup>j</sup>	18,40±0,14 <sup>e</sup>
<b>DÖS-7</b>	482,5±2,12 <sup>e</sup>	3,59±0,02 <sup>c</sup>	21,85±0,07 <sup>d</sup>
<b>DÖS-8</b>	479±4,24 <sup>e</sup>	2,71±0,01 <sup>f</sup>	42,00±0,14 <sup>ab</sup>
<b>DÖS-9</b>	479±1,41 <sup>e</sup>	3,23±0,01 <sup>e</sup>	28,70±0,14 <sup>cd</sup>
<b>Su</b>	213,5±6,36 <sup>h</sup>	4,14±0,03 <sup>a</sup>	-
<b>%50M</b>	324±1,41 <sup>f</sup>	3,84±0,04 <sup>b</sup>	5,25±0,21 <sup>g</sup>
<b>%100M</b>	321±0,00 <sup>f</sup>	4,15±0,01 <sup>a</sup>	-
<b>%50E</b>	325±2,83 <sup>f</sup>	4,12±0,03 <sup>a</sup>	15,65±0,07 <sup>f</sup>

a-ı: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Derin ötektik çözücünün pH'ı, ekstraksiyona tabi tutulan biyoaktif bileşiklerin yükünü ve dolayısıyla ekstraksiyon verimini etkilemektedir. Farklı gıdaların ekstraksiyonu sırasında, pH değeri önem arz eden bileşiklerin (antosiyantinler, fenolik bileşikler vb.) elde edilebilmesi için, en uygun pH değerine sahip derin ötektik çözücü kullanıldığında, ekstrakte edilen bileşiklerde yüksek verim elde edildiği bilinmektedir. Farklı pH değerlerinde ekstrakte edilen farklı gıda maddelerinin biyoaktif bileşen içeriklerinde düşük pH değerlerinde daha yüksek sonuçlar elde edilmektedir (Godlewska ve ark., 2017; Kaya, M., 2020). Çalışmamız sonucunda

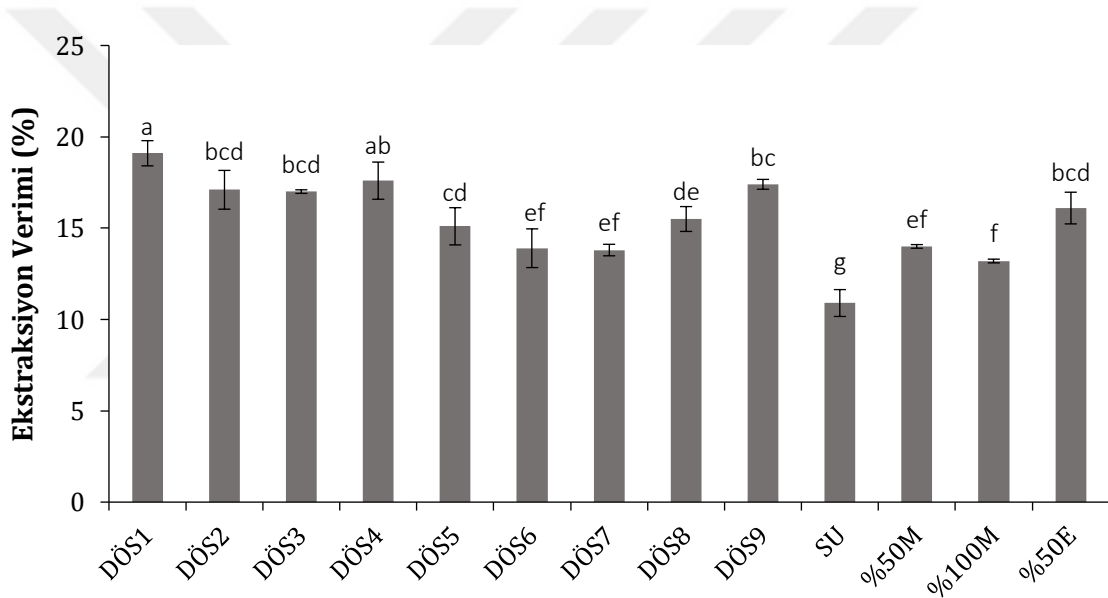
elde edilen veriler incelendiğinde ise derin ötektik solventlerin geleneksel solventlerden daha düşük ya da yakın pH değerlerine sahip olduğu tespit edilirken tüm solventlerin pH değerlerinin düşük olduğu da görülmüştür. Bu durumda çalışmamızda nar proses atıkları üzerinde gerçekleştirilen analizlerde (toplam fenolik bileşen, antioksidan aktivite (ABTS, DPPH), toplam monomerik antosiyanin, kondanse olabilen ve hidrolize olabilen tanen) farklı solventler ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar sonucunda elde edilen veriler incelendiğinde ekstraksiyonda maksimum değerlere ulaşılan solventlere bağlı olarak derin ötektik solventlerin pH değerlerinin ekstraksiyon için daha uygun olduğu belirlenmiştir. Ayrıca derin ötektik çözücülerin yüksek elektriksel iletkenliği ısı transferi üzerine doğrudan etkili olmaktadır. Böylelikle yüksek elektriksel iletkenliğe sahip çözücüler elektrik enerjisini ısı enerjisine çevirerek gıdaların işlenmesine yardımcı olabilmektedir (Kantar, 2022).

Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde en yüksek elektriksel iletkenlik değerine DÖS-3 solventi ile ulaşılırken ( $p < 0.05$ ), maksimum pH değeri minimum elektriksel iletkenlik değerine sahip olan geleneksel çözücülerde (su, %100 metanol ve %50 etanol) elde edilmiştir. Aynı zamanda farklı molar konsantrasyonlarda glikoz:kolin klorür içeren DÖS-1, DÖS-2 ve DÖS-3 solventlerinin kuru madde değerleri incelendiğinde ise en düşük kuru madde içeriğine DÖS-1 solventinin sahip olduğu görülmektedir. Bu durum biyoaktif bileşen ekstraksiyonunda maksimum sonuç elde edilen DÖS-1 solventinin DÖS-2 ve DÖS-3 solventlerinden daha düşük viskoziteye sahip olduğunu göstermektedir. Düşük viskozitenin yüksek elektriksel iletkenliğe neden olduğu bilinirken, yüksek viskoziteye sahip derin ötektik çözücülerin kullanıldığı ekstraksiyon işlemlerinde kütle transferinin engellenebileceği de bilinmektedir. Ayrıca düşük elektriksel iletkenlik değerine sahip çözücülerin pH değerlerinin daha yüksek olduğu görülürken, pH, brix ve elektriksel iletkenlik değerlerinin kullanılan HBD'ne bağlı olarak değiştiği de tespit edilmiştir (Tablo 3.1.). Sonuç olarak ise derin ötektik solventlerin geleneksel solventlerden daha yüksek elektriksel iletkenlik değerine sahip olduğu görülmüştür (Tablo 3.1.). Çalışmamızda kullanılan derin ötektik solventler ile geleneksel solventlerden daha verimli sonuçlar elde edilmesinin DÖS'lerin pH, elektriksel iletkenlik ve suda çözünür kuru madde içerikleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir.

### **3.2. Toplam Fenolik Madde Miktarı Analiz Sonuçları**

Nar proses atıklarından ultrases destekli derin ötektik solvent ekstraksiyonu ve geleneksel solventlerle yapılan ekstraksiyon ile elde edilen toplam fenolik madde miktarlarına ilişkin sonuçlar Tablo 3.2.'de sunulmuştur. Elde edilen veriler incelendiğinde nar kabuğunda bulunan toplam fenolik madde miktarının ekstraksiyon metoduna göre 108,79 mg GAE/g ile 190,71 mg GAE/g konsantrasyonları arasında değiştiği belirlenmiştir. Derin ötektik solvent ekstraksiyonu için seçilen solventler kıyaslandığında en yüksek ekstraksiyon verimine (%19) kolin klorür:glikoz (1M:1M) ekstraksiyonu ile ulaşılmıştır ( $p < 0.05$ ) (Şekil 3.1.). Kolin klorür:oksalik asit (DÖS-6) ve kolin klorür:gliserol (DÖS-7) solventlerinin kullanıldığı ultrasonik ekstraksiyon sonucunda ise en düşük toplam fenolik bileşen içeriğine (sırasıyla,

138,59 ve 138,28 mg GAE/g) ulaşılmıştır. Çalışmamızda kullanılan geleneksel solventler kıyaslandığında ise en düşük toplam fenolik madde miktarı, su ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilirken en yüksek ekstraksiyon verimine (%16,1) %50 etanol kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda ulaşılmıştır ( $p < 0.05$ ). Elde edilen bu sonuçlar daha yüksek ekstraksiyon etkinliğine ulaşmak için etanolün (%50) diğer geleneksel solventler (%50 metanol, %100 metanol ve su) yerine kullanılabileceğini göstermektedir ( $p < 0.05$ ). İlaveten %50 etanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucu elde edilen veriler ve DÖS-2, DÖS-3 ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde aralarında önemli bir farklılığın olmadığı belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ). Buna karşın %50 etanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucu elde edilen toplam fenolik bileşen miktarının DÖS-1 ile yapılan ekstraksiyon ile elde edilen verilerden önemli oranda düşük olduğu saptanmıştır ( $p < 0.05$ ).



**şekil 3.1.** Nar kabuğundan fenolik bileşenlerin geri kazanımında farklı solventlerin ekstraksiyon verimi değerleri (%)

Bununla birlikte fenolik bileşen ekstraksiyonunun maksimum verimle elde edilebilmesi için kullanılan tüm çözenler arasında kolin klorür:glukoz (1M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solventin en yüksek verimle kullanılabilineceği belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Çalışmamızla benzer olarak Bertolo ve ark. (2021), tarafından yapılan çalışmada nar kabuğu fenolik bileşenlerinin ekstraksiyonunda geleneksel olarak kullanılan etanol ile derin ötektik solventlerin ekstraksiyon etkinliği kıyaslanmıştır. Yapılan bu çalışmada kolin klorür:laktik asit (1M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solvent ekstraksiyonu ile toplam fenolik bileşenlerin maksimum oranda (4,14 mg GAE/mL) geri kazanımı sağlanmışır. Rajha ve ark. (2019), tarafından nar kabukları üzerinde yürütölen başka bir çalışmada ise 1:10 katı solvent oranı ve 50°C'de

ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile farklı derin ötektik solventler (laktik asit:kolin klorür, malik asit:sukroz, gliserol:glisin, kolin klorür:fruktoz, glikoz:tartarik asit, laktik asit:glisin, gliserol:üre, malik asit:glikoz:gliserol) kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon sonucunda elde edilen maksimum toplam fenolik miktarına (114 mg GAE/g) gliserol:glisin (3M:1M) içeren derin ötektik solvent kullanımı ile ulaşılmıştır. Nar kabuğunda bulunan fenolik bileşenlerin 1:47 katı solvent oranı ve kolin klorür:gliserol (1M:11M) içeren DÖS ile ekstrakte edildiği bir başka çalışmada ise optimum koşullar altında maksimum toplam fenolik madde miktarı 272,98 mg GAE/g olarak belirlenmiştir (Kyriakidou ve ark., 2021). Kutlu Kantar (2023), tarafından yapılan çalışma ile fenolik bileşen ekstraksiyonunda çözücülerin hazırlanması sırasında kullanılan molar oranının değişimi ile yoğunluğun etkilendiği ve ekstraksiyon verimliliğinin değiştiği belirlenmiştir. Şeker bazlı doğal derin ötektik solventlerin kullanımı ile fenolik bileşen ekstraksiyonunda daha verimli sonuçlar elde edildiği de bilinmektedir (Radošević ve ark., 2016). Bu bağlamda çalışmamızda kullanılan alkol bazlı çözücülere kıyasla (DÖS-7, metanol (%50, %100 v/v), etanol (%50 v/v) şeker bazlı çözücüler ile (DÖS-1, DÖS-2, DÖS-3, DÖS-8, DÖS-9) daha yüksek sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Yapılan tüm bu çalışmalar fenolik bileşenlerin geri kazanımında ekstraksiyon verimine etkili parametrelerin başında solvent seçiminin geldiğini doğrulamaktadır.

Çalışmamızda nar kabuğu fenolik bileşenlerinin ultrases destekli derin ötektik solventlerle geri kazanımında elde edilen veriler literatür ile kıyaslandığında genellikle daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edildiği görülmektedir. Elde edilen bu sonuçlar etkin bir ekstraksiyonun gerçekleştirilebilmesi için solvent seçiminin önemini bir kez daha vurgulamaktadır.

**Tablo 3.2.** Nar kabuk ve çekirdeği fenolik bileşen içeriği

Örnek	Nar Kabuk TPC (mg GAE/g)	Nar Çekirdek TPC (mg GAE/g)
DÖS-1	190,72±6,90 <sup>a</sup>	5,25±0,09 <sup>CD</sup>
DÖS-2	170,69±10,62 <sup>bcd</sup>	5,63±0,20 <sup>BC</sup>
DÖS-3	170,47±0,98 <sup>bcd</sup>	5,28±0,11 <sup>CD</sup>
DÖS-4	176,01±3,15 <sup>ab</sup>	5,67±0,14 <sup>BC</sup>
DÖS-5	157,88±10,10 <sup>cd</sup>	5,66±0,10 <sup>BC</sup>
DÖS-6	138,59±10,18 <sup>ef</sup>	6,10±0,06 <sup>B</sup>
DÖS-7	138,28±10,60 <sup>ef</sup>	4,77±0,05 <sup>D</sup>
DÖS-8	154,88±2,70 <sup>de</sup>	5,00±0,05 <sup>CD</sup>
DÖS-9	174,37±6,81 <sup>bc</sup>	6,96±0,08 <sup>A</sup>
Su	108,79±7,35 <sup>g</sup>	2,25±0,16 <sup>F</sup>
%50M	140,09±0,99 <sup>ef</sup>	2,75±0,036 <sup>EF</sup>
%100M	132,25±1,04 <sup>f</sup>	3,06±0,03 <sup>E</sup>
%50E	161,33±8,68 <sup>bcd</sup>	2,47±0,19 <sup>EF</sup>

a-g ve A-F: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Çalışmamızda iyi bir fenolik kaynağı olması nedeniyle dikkat çeken nar kabuğunun yanı sıra proses atığı olarak önemli bir yüzdeye sahip olan nar çekirdeğinin de fenolik bileşen miktarı

belirlenmiş ve sonuçlar Tablo 3.2.' de sunulmuştur. Elde edilen veriler incelendiğinde, nar çekirdeğinde bulunan toplam fenolik bileşen içeriğinin 2,25 mg GAE/g ile 6,96 mg GAE/g konsantrasyonları arasında değiştiği saptanmıştır. Nar çekirdeğinden fenolik bileşenlerin maksimum oranda geri kazanımı kolin klorür:fruktoz (2M:1M) ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilmiştir. En düşük toplam fenolik bileşen içeriğine suyun çözgen olarak kullanıldığı ekstraksiyon sonucunda 2,25 mg GAE/g olarak uşulmuştur. DÖS-2, DÖS-4 ve DÖS-5 solventleri ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde aralarında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Derin ötektik solventler kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon ile geleneksel solventler kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucu elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde derin ötektik solventler ile daha yüksek sonuçlar elde edildiği görülmüştür ( $p<0.05$ ). Literatür çalışmaları incelendiğinde farklı ekstraksiyon materyalleri üzerinde farklı derin ötektik solventlerin etkili olduğu görülmektedir (Bertolo ve ark., 2020). Çalışmamızda kullanılan nar kabuğu ve nar çekirdeğinde farklı solventler ile yüksek sonuçlar elde edilmesinin de materyalin polaritesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Hernández-Corroto ve ark. (2022), tarafından yapılan bir çalışmada nar çekirdeği fenolik bileşen içeriği ultrases destekli derin ötektik solventlerle ekstrakte edilerek belirlenmiştir. Çalışmada hidrojen bağı alıcısı olarak kolin klorür, hidrojen bağı donörü olarak gliserol, asetik asit, laktik asit, sitrik asit, glikoz (1M:1M) kullanılarak hazırlanan DÖS'ler ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışmada çalışmamızdan farklı olarak DÖS'ler viskozitenin azaltılması için hazırlandıktan sonra %20 oranında su ile seyreltilmiştir. Ekstraksiyon sonucunda nar çekirdeğindeki toplam fenolik madde konsantrasyonu 3,5-9,5 mg GAE/g aralığında belirlenmiştir. Bu çalışmada %20 oranında suyla seyreltilerek hazırlanan DÖS (kolin klorür:gliserol) ile en düşük toplam fenolik bileşen içeriğine ulaşılırken en yüksek toplam fenolik madde miktarına kolin klorür:asetik asit içeren DÖS kullanılarak ulaşılmıştır. Çalışma sonucunda nar çekirdeklerinden fenolik bileşenlerin geri kazanılması için DÖS kullanımının verimli ve yeşil bir yöntem olduğu belirlenmiştir. Nar çekirdeğinden derin ötektik solventler ile biyoaktif bileşenlerin geri kazanımına ilişkin sınırlı sayıda literatür verisi bulunmakla birlikte çalışmamızda tespit edilen veriler literatür ile uyumlu bulunmuştur.

Fenolik bileşenlerin geri kazanımında seçilen solventin yanı sıra kullanılan solventin polaritesi de önemli bir parametre olarak değerlendirilmektedir. Guzmán-Lorite ve ark. (2022), tarafından nar çekirdeği üzerinde yürütülen çalışmada çözücü olarak farklı konsantrasyonlarda (0-100%) etanol kullanılarak yüksek yoğunluklu ultrases tekniği ile ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş, toplam fenolik bileşen içeriği 3,1-14,2 mg GAE/g olarak tespit edilmiştir. Peng (2019), tarafından 1:40 katı solvent oranı ve %60'lık etanol çözücüsü kullanılarak nar çekirdeğinden fenolik bileşenlerin geri kazanımı 3,88 mg GAE/g ile 4,96 mg GAE/g aralığında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda geleneksel solventler olarak

değerlendirilen etanol (%50) ve metanol (%50-100) ile yapılan ultrasonik ekstraksiyon sonucu benzer değerlere ulaşılmıştır (Tablo 3.2.).

Çalışmamızda nar kabuğu ve nar çekirdeği üzerinde sırasıyla şeker içerikli DÖS-1 ve DÖS-9 solventleri ile yüksek sonuçlar elde edilmesinin çözücülerin düşük viskoziteye sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çalışmamızda elde edilen veriler sonucunda, nar çekirdeği ve çekirdeğe kıyasla daha zengin bir fenolik kaynağı olan nar kabuğundan fenolik bileşenlerin geri kazanımında, derin ötektik solventler ile gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyon yönteminin daha etkin ve çevreci bir yöntem olarak geleneksel yöntemler yerine kullanımı önerilmektedir.

### 3.3. Antioksidan Aktivite Analizi Sonuçları

#### ***DPPH***

Antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin yapıları ve özellikleri birbirinden farklı olduğu için birden fazla ölçüm yöntemi ile antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi önerilmektedir. Bu amaçla çalışmamızda nar proses atıklarının antioksidan aktiviteleri hem DPPH hem de ABTS yöntemiyle belirlenmiştir. DPPH yöntemiyle elde edilen veriler incelendiğinde antioksidan aktivitenin nar kabuğu ekstraktlarında geniş bir skalada (469,42-776,29  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) değiştiği ve ekstraksiyon solventinin antioksidan aktivite üzerine önemli derecede etkili olduğu görülmektedir (Tablo 3.3.). Bu anlamda etanol (%50) ve DÖS-5 en yüksek antioksidan aktiviteye ulaşılan solventlerdir. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde antioksidan aktivite açısından %50 etanol ve DÖS-5 arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülürken ( $p>0.05$ ), DÖS-5 ile DÖS-6, metanol (%50) ve su arasında önemli farklılıklar belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Nar kabuğu antioksidan aktivitesine ilişkin elde edilen veriler çalışmamızda kullanılan geleneksel solventler içerisinde en etkin çözücünün etanol (%50) olduğunu gösterirken derin ötektik solventlerin geleneksel solventler yerine yüksek verimle kullanılabilmesini de göstermiştir. Derin ötektik solventler içerisinde ise DÖS-6 (588,51  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) dışındaki tüm derin ötektik solventler ile benzer antioksidan aktivite değerlerine ulaşılmıştır.

Rajha ve ark. (2019), tarafından nar kabukları üzerinde yürütülen çalışmada da farklı derin ötektik solventler kullanılarak DPPH serbest radikal yakalama aktiviteleri kıyaslanmıştır. Bu çalışmada elde edilen en yüksek antioksidan aktivite değerine (339  $\mu\text{M TE/g}$ ) malik asit (1M):sukroz (1M), gliserol (3M):glisin (1M) ve malik asit (1M):glikoz (1M):gliserol (1M) ile yapılan ekstraksiyonlar ile ulaşılmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde, yapılan bu çalışmada da derin ötektik solventler, su ve etanol gibi geleneksel solventlerle kıyaslanmıştır. Çalışma sonucunda derin ötektik solventlerin su ve etanole kıyasla daha etkin bir şekilde kullanılabilineceği belirlenmiştir.

Çalışmamızda nar kabuklarına benzer şekilde nar çekirdeklerinde de elde edilen en yüksek antioksidan aktiviteye (2,06 µmol TEAC/g) DÖS-5 ile ulaşılmıştır (Tablo 3.3.). Elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde DÖS-6, DÖS-8 ve metanol (%100) ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda DÖS-5 ile benzer antioksidan aktivite değerine ulaşıldığı görülmektedir (p<0.05). Nar kabuğunda olduğu gibi nar çekirdeğinden antioksidan bileşenlerin geri kazanımına ilişkin elde edilen veriler derin ötektik solventlerin geleneksel solventlere alternatif olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

**Tablo 3.3.** Nar kabuk ve çekirdeği antioksidan aktivitesi (DPPH)

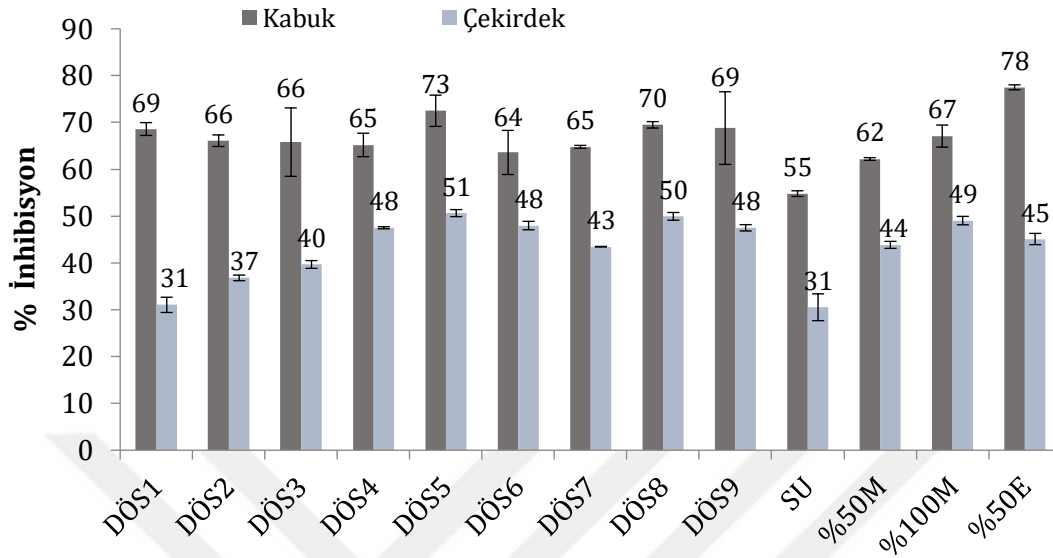
Örnek	Nar Kabuk (µmol TEAC/ g)	Nar Çekirdek (µmol TEAC/ g)
DÖS-1	655,32±18,60 <sup>bc</sup>	0,74±0,10 <sup>G</sup>
DÖS-2	622,51±16,60 <sup>bc</sup>	1,13±0,00 <sup>F</sup>
DÖS-3	617,53±98,50 <sup>bc</sup>	1,32±0,10 <sup>E</sup>
DÖS-4	609,57±33,90 <sup>bc</sup>	1,85±0,00 <sup>BC</sup>
DÖS-5	708,07±45,10 <sup>ab</sup>	2,06±0,00 <sup>A</sup>
DÖS-6	588,51±63,70 <sup>c</sup>	1,89±0,10 <sup>AB</sup>
DÖS-7	604,46±4,10 <sup>bc</sup>	1,58±0,00 <sup>D</sup>
DÖS-8	667,63±9,30 <sup>bc</sup>	2,02±0,10 <sup>AB</sup>
DÖS-9	658,17±104,80 <sup>bc</sup>	1,85±0,00 <sup>BC</sup>
Su	469,42±8,20 <sup>d</sup>	0,71±0,20 <sup>G</sup>
%50M	569,09±3,90 <sup>cd</sup>	1,61±0,00 <sup>D</sup>
%100M	635,66±31,70 <sup>bc</sup>	1,96±0,10 <sup>AB</sup>
%50E	776,29±7,00 <sup>a</sup>	1,69±0,10 <sup>CD</sup>

a-d ve A-G: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

Nar proses atıklarına ilişkin % inhibisyon oranları ise Şekil 3.2.'de karşılaştırılmıştır. Şekil incelendiğinde genel olarak nar kabuğunun çekirdeğe oranla daha yüksek inhibisyon değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Bu durum nar kabuğunun çekirdeğe kıyasla daha iyi bir antioksidan kaynağı olduğunu göstermektedir. Benzer sonuçlara Tehranifar ve ark. (2011), tarafından yapılan çalışma ile de ulaşılmıştır. Bu çalışmada nar kabuğu ve nar çekirdeğinin DPPH metodu ile belirlenen antioksidan aktivitesi sırasıyla %55,3 ve %35,7 olarak bildirilmiştir. Aynı zamanda Jalal ve ark. (2018), tarafından yapılan çalışma ile de nar kabuğu % inhibisyon değerinin, nar çekirdeği örneklerinden daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlar ekstraksiyonda kullanılan farklı derin ötektik çözücülerini oluşturan bileşenlerin molar oranlarının, viskozitesinin ve pH değerinin ekstraksiyon verimi üzerinde etkili bir parametre olduğunu göstermektedir. Ekstraksiyon sonucunda maksimum sonuçlara ulaşılan solventlerin viskozitesinin düşük olduğu belirlenirken, bu solventler ile yüksek sonuçlar elde edilmesinin viskoziteden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak literatürde nar çekirdeğinden antioksidan bileşenlerin geri kazanımında derin ötektik solventlerin kullanıldığı bir çalışmaya rastlanmamış olmakla birlikte gerek nar çekirdeği

gerekse de nar kabuğunda kullanılan derin ötektik solventlerin geleneksel çözücüler yerine geçebilecek önemli bir alternatif olduğu saptanmıştır.



Şekil 3.2. Nar proses atıklarının % inhibisyon değerleri (DPPH)

### ABTS

Nar proses atıklarının ABTS yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivitelerine ilişkin sonuçlar Tablo 3.4.'de sunulmuştur. Elde edilen veriler incelendiğinde, DPPH yöntemine benzer şekilde, nar kabuğundan antioksidan bileşenlerin maksimum düzeyde (150,83  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) ekstraksiyonunun sağlanması için DÖS-5'in en etkin solvent olduğu görülmektedir ( $p < 0.05$ ). ABTS yöntemiyle belirlenen en düşük antioksidan aktivite değerine (45,29  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) DÖS-6 ile yapılan ekstraksiyon sonucu ulaşılmış olup bu değer metanol (%100) ile elde edilen antioksidan aktiviteye (51,83  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) yakın bulunmuştur ( $p > 0.05$ ). Çalışmamızda kullanılan geleneksel solventler ve derin ötektik solventler kıyaslandığında ise derin ötektik solventler ile genellikle daha yüksek sonuçlar elde edildiği tespit edilmiştir.

Nar çekirdeği örneklerinde ise en yüksek antioksidan aktivite miktarına (6,17  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) nar kabuğundan farklı olarak DÖS-4 solvanti ile ulaşılmıştır. En düşük antioksidan aktivite değerlerine (2,48-2,64  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) DÖS-7 ve metanol (%100) ile ulaşılmıştır. Geleneksel solventler içerisinde ise en yüksek antioksidan aktivite miktarına (4,91  $\mu\text{mol TEAC/g}$ ) %50 etanol kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda ulaşılmıştır ( $p < 0.05$ ). ABTS metodu ile antioksidan aktivite tayininde elde edilen sonuçlar nar proses atıklarından antioksidan bileşenlerin geri kazanımı için ekstraksiyon aşamasında geleneksel solventler yerine derin ötektik solventlerin iyi bir alternatif olarak kullanılabilirliğini göstermektedir. Bununla birlikte antioksidan bileşenlerin maksimum verimle elde edilebilmesi için nar

kabuklarında ekstraksiyon çözücüsü olarak kolin klorür:asetik asit (1M:1M), nar çekirdeğinde ise kolin klorür:laktik asit (1M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solventin kullanılabilmesi tespit edilmiştir.

Nar kabuğu ve nar çekirdeğinde DÖS-5 ve DÖS-4 solventlerinin diğer çözücülere oranla daha düşük viskozite ve pH değerine sahip olmasından kaynaklı olarak maksimum antioksidan aktivite değerine ulaşıldığı düşünülmektedir.

**Tablo 3.4.** Nar kabuk ve çekirdeği antioksidan aktivite içeriği (ABTS)

Örnek	Nar Kabuk ABTS ( $\mu\text{mol TEAC/g}$ )	Nar Çekirdek ABTS ( $\mu\text{mol TEAC/g}$ )
DÖS-1	105,89 $\pm$ 4,90 <sup>de</sup>	2,76 $\pm$ 0,10 <sup>GH</sup>
DÖS-2	127,37 $\pm$ 7,60 <sup>b</sup>	3,92 $\pm$ 0,10 <sup>DE</sup>
DÖS-3	112,93 $\pm$ 2,30 <sup>cd</sup>	3,33 $\pm$ 0,00 <sup>F</sup>
DÖS-4	75,03 $\pm$ 4,40 <sup>g</sup>	6,17 $\pm$ 0,00 <sup>A</sup>
DÖS-5	150,83 $\pm$ 4,30 <sup>a</sup>	4,41 $\pm$ 0,10 <sup>CD</sup>
DÖS-6	45,29 $\pm$ 1,10 <sup>h</sup>	4,84 $\pm$ 0,50 <sup>BC</sup>
DÖS-7	103,88 $\pm$ 5,40 <sup>e</sup>	2,48 $\pm$ 0,00 <sup>H</sup>
DÖS-8	106,11 $\pm$ 4,10 <sup>de</sup>	3,07 $\pm$ 0,00 <sup>FG</sup>
DÖS-9	115,34 $\pm$ 1,40 <sup>c</sup>	5,30 $\pm$ 0,20 <sup>B</sup>
Su	87,46 $\pm$ 1,50 <sup>f</sup>	3,52 $\pm$ 0,20 <sup>EF</sup>
%50M	85,03 $\pm$ 1,10 <sup>f</sup>	3,04 $\pm$ 0,60 <sup>FG</sup>
%100M	51,83 $\pm$ 2,90 <sup>h</sup>	2,64 $\pm$ 0,00 <sup>GH</sup>
%50E	92,37 $\pm$ 2,50 <sup>f</sup>	4,91 $\pm$ 0,10 <sup>BC</sup>

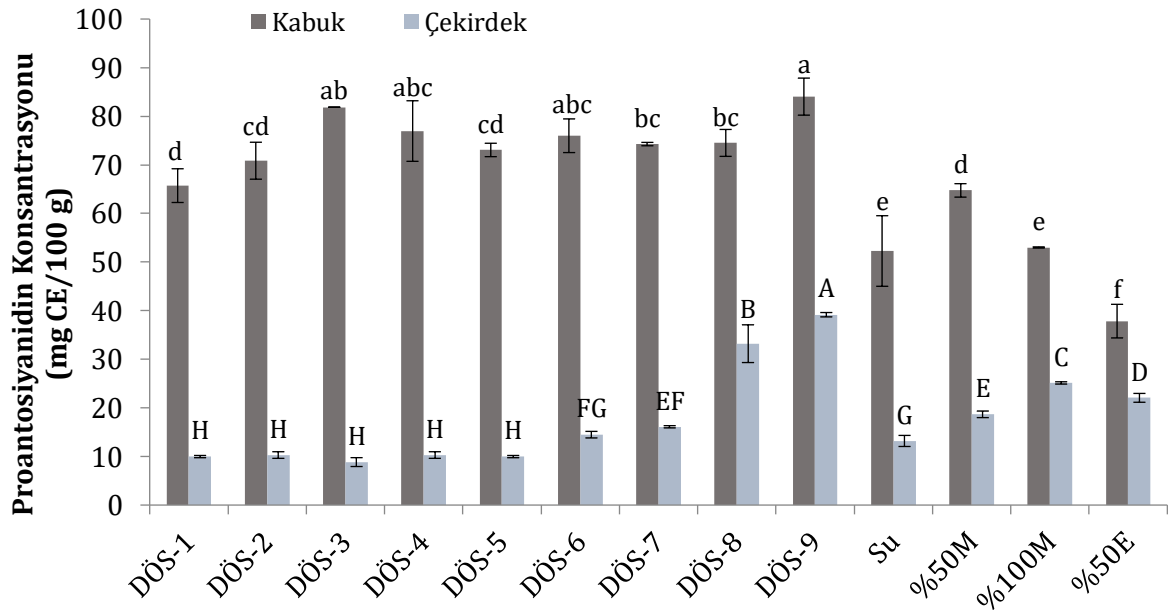
a-h ve A-H: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir ( $p < 0.05$ ).

### 3.4. Proantosiyanidin (Kondanse Olabilen Fenolik Bileşen) Tayini Sonuçları

Nar proses atıklarının proantosiyanidin miktarlarına ilişkin sonuçlar Ek-1.5.'de sunulmuştur. Elde edilen veriler incelendiğinde nar kabuğunda bulunan proantosiyanidin (kondanse olabilen fenolik bileşen) miktarının ekstraksiyon solventine göre 37,84 mg CE/100 g ile 84,04 mg CE/100 g konsantrasyonları arasında değiştiği belirlenmiştir (Şekil 3.3.). Çalışmamız sonucunda derin ötektik solventler kıyaslandığında en yüksek proantosiyanidin içeriğine (84,04 mg CE/100 g) DÖS-9 solventi ile ulaşılırken ( $p < 0.05$ ), elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde DÖS-3 solventi ile DÖS-9 solventi arasında önemli bir farklılığın olmadığı görülmüştür ( $p > 0.05$ ). Ayrıca DÖS-3 ile DÖS-4, DÖS-6, DÖS-7 ve DÖS-8 solventleri ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonuçları da istatistiksel olarak değerlendirildiğinde aralarında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $p > 0.05$ ). En düşük kondanse olabilen fenolik bileşen içeriğine (37,84 mg CE/100 g) ise %50 etanol ile yapılan ekstraksiyon sonucunda ulaşılmıştır. Geleneksel solventlerle elde edilen maksimum proantosiyanidin miktarı ise 64,74 mg CE/100 g (%50 metanol) olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, derin ötektik solventler ve geleneksel solventler ile elde edilen proantosiyanidin miktarları kıyaslandığında derin ötektik solventler ile elde edilen verilerin geleneksel solventler ile elde edilen verilerden daha verimli sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Şekil 3.3.). Elde edilen bu sonuçlar nar kabuğundan kondanse olabilen fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için derin

ötektik solventlerin geleneksel solventlere iyi bir alternatif olarak sunulabileceğini gösterirken, ekstraksiyonun maksimum verimle elde edilebilmesi için kullanılan tüm çözümler arasında kolin klorür:fruktoz (2M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solventin kullanılması önerilmektedir ( $p<0.05$ ).

Kennas ve ark. (2019), tarafından nar kabukları üzerinde yürütülmüş olan çalışmada 5:100 katı solvent oranı ve %50 metanol ile ekstraksiyon yapılması sonucunda proantosiyanidin miktarı 63,9 mg CE/100 g, çözücü olarak su kullanılması sonucunda ise kondanse olabilen fenolik madde miktarı 22,2 mg CE/100 g olarak tespit edilmiştir. Yine çözücü olarak %80'lik metanolün kullanıldığı çalışmada 5:10 katı solvent oranı ile kondanse olabilen fenolik bileşen miktarı 32-77 mg CE/100 g arasında tespit edilmiştir (Saad ve ark., 2012). Rajha ve ark. (2019), tarafından nar kabukları üzerinde yürütülen çalışmada farklı derin ötektik solventler kullanılarak tanen miktarları kıyaslanmıştır. Bu çalışmada elde edilen en yüksek tanen değerine (50 mg/g) kolin klorür (2M): fruktoz (1M) ile yapılan ekstraksiyon sonucunda ulaşılmıştır. Çalışmamıza benzer şekilde, yapılan bu çalışmada da derin ötektik solventlerin geleneksel solventlere kıyasla daha etkin bir şekilde kullanılabilineceği belirlenmiştir.



**Şekil 3.3.** Nar proses atıklarının kondanse tanen içeriği

Nar kabuğunda olduğu gibi nar çekirdeğinde de en yüksek proantosiyanidin miktarına (39,16 mg CE/100 g) kolin klorür:fruktoz (2M:1M) kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda ulaşılmıştır ( $p<0.05$ ). Kolin klorür:glikoz (2M:1M) solventinin kullanıldığı ultrasonik ekstraksiyon sonucunda ise en düşük proantosiyanidin miktarına (8,84 mg

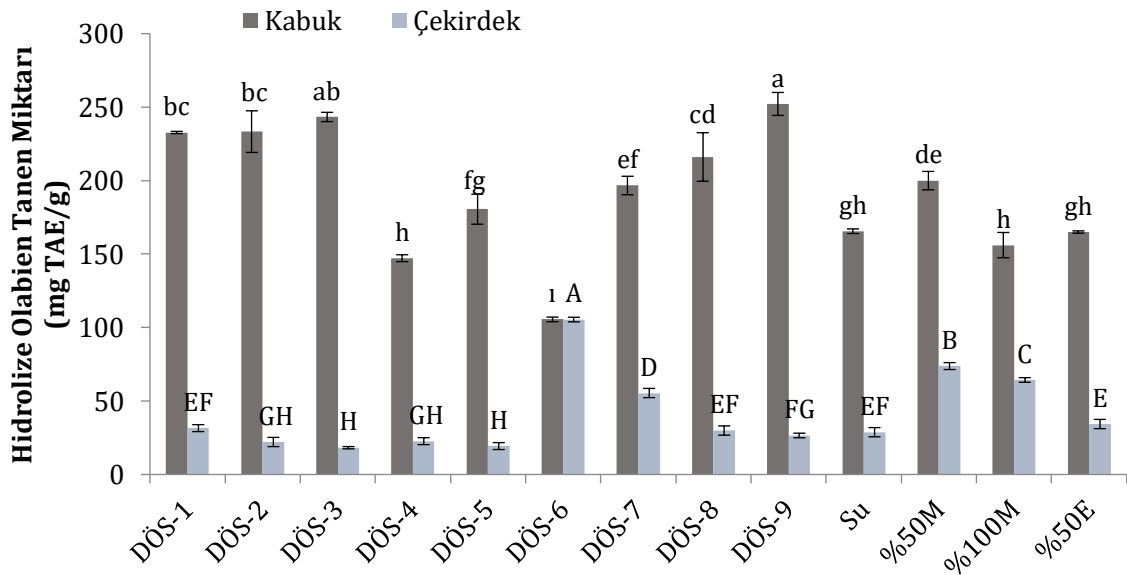
CE/100 g) ulaşılmıştır. Nar çekirdeğinden kondanse tanenlerin geri kazanımına ilişkin istatistiksel veriler değerlendirildiğinde ise DÖS-1 ile DÖS-5 arasındaki derin ötektik solventlerin ekstraksiyon etkinliklerinin benzer olduğu görölmektedir ( $p>0.05$ ). Çalışmamızda kullanılan geleneksel solventler kıyaslandığında ise en düşük kondanse olabilen fenolik bileşen miktarı suyun çözgen olarak kullanıldığı ekstraksiyon sonucunda elde edilirken en yüksek proantosiyanidin miktarına %100 metanol kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda ulaşılmıştır ( $p<0.05$ ). Şekil 3.3. incelendiğinde nar kabuğunun kondanse olabilen fenolik bileşen miktarı açısından daha iyi bir kaynak olduğu belirlenmekle birlikte her iki proses atığından geri kazanımın maksimum düzeyde sağlanabilmesi için çalışmamızda kullanılan tüm çözgenler arasında kolin klorür:fruktoz (2M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solventin kullanılması önerilmektedir ( $p<0.05$ ).

Çalışmamızda nar kabuğu ve nar çekirdeği üzerinde farklı solventler ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda ekstraksiyon veriminin solvent polaritesine bağlı olarak değiştiği de belirlenmiştir. Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin molar oranlarının ekstraksiyon üzerinde etkili olduğu bilinmektedir. DÖS-9 (kolin klorür:fruktoz (2M:1M)) solventi ile nar proses atıklarından maksimum düzeyde kondanse tanen elde edilmesinin solventin hazırlanmasında kullanılan molar orandan kaynaklı olduğu düşünölmektedir.

### **3.5. Hidrolize Olabilen Tanen Miktarı Tayini Sonuçları**

Nar proses atıklarından ultrases destekli derin ötektik solvent ekstraksiyonu ve geleneksel solventlerle yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen hidrolize olabilen tanen miktarlarına ilişkin veriler Ek-1.7.'de sunulmuştur. Bu veriler incelendiğinde nar kabuğunda bulunan hidrolize olabilen tanen miktarının ekstraksiyon metoduna göre 105,55 mg TAE/g ile 252,17 mg TAE/g konsantrasyonları arasında değiştiği belirlenirken (Şekil 3.4.) maksimum konsantrasyona DÖS-9 (kolin klorür:fruktoz) solventinin kullanıldığı ekstraksiyon sonucunda ulaşılmıştır ( $p<0.05$ ). Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde DÖS-9 ile DÖS-3 arasında hidrolize olabilen tanen miktarı açısından anlamlı bir farklılık olmadığı görölmüştür ( $p>0.05$ ). İçeriğinde kolin klorür ve glikoz bulunan DÖS-1 (232,75 mg TAE/g) ve DÖS-2 (233,32 mg TAE/g) solventleri ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen hidrolize olabilen tanen miktarları DÖS-3 ile elde edilen değere (243,30 mg TAE/g) yakın bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Kolin klorür:oksalik asit (DÖS-6) solventinin kullanıldığı ultrasonik ekstraksiyon sonucunda ise en düşük hidrolize olabilen tanen miktarına (105,55 mg TAE/g) ulaşılmıştır ( $p<0.05$ ). Çalışmamızda kullanılan geleneksel solventler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde ise en yüksek hidrolize olabilen tanen miktarına %50 metanol kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda ulaşılırken ( $p<0.05$ ), diğer solventler arasında önemli bir farklılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Derin ötektik solventler ve geleneksel solventlerle gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucu elde edilen veriler kıyaslandığında genel olarak derin ötektik solvent ekstraksiyonları ile daha verimli sonuçlar elde edildiği belirlenmiştir. Elde edilen bu sonuçlar nar kabuğundan hidrolize olabilen tanenlerin

ekstraksiyonunda derin ötektik solventlerin kullanılmasının ekstraksiyon verimi açısından avantajlı olduğunu göstermiştir. Bu sebeple geleneksel solventler yerine iyi bir alternatif olarak sunulabileceği düşünülmektedir. Literatürde derin ötektik solvent ekstraksiyonu ile elde edilen hidrolize tanen miktarına ilişkin sonuçlara rastlanmamakla birlikte geleneksel solventlerle yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, Kennas ve ark. (2019), tarafından yapılan çalışmada nar kabukları su ile ekstrakte edilmiş ve hidrolize tanen içeriği 127,59 mg TAE/g olarak tespit edilmiştir. Rifna ve ark. (2022), tarafından yürütülmüş olan çalışmada ise 1:10 katı solvent oranı ve %45'lik aseton çözücüsü kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonda hidrolize tanen içeriği 86,4-98,13 mg TAE/g olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdan elde edilen verilerle literatür verileri karşılaştırıldığında hidrolize tanen miktarı açısından daha yüksek sonuçlar elde edildiği görülmekle birlikte hidrolize olabilen tanen ekstraksiyonunun maksimum verimle elde edilebilmesi için kullanılan tüm çözücüler arasında kolin klorür:fruktoz (2M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solventin kullanılması önerilmektedir ( $p < 0.05$ ).



**Şekil 3.4.** Nar proses atıklarının hidrolize olabilen tanen miktarı

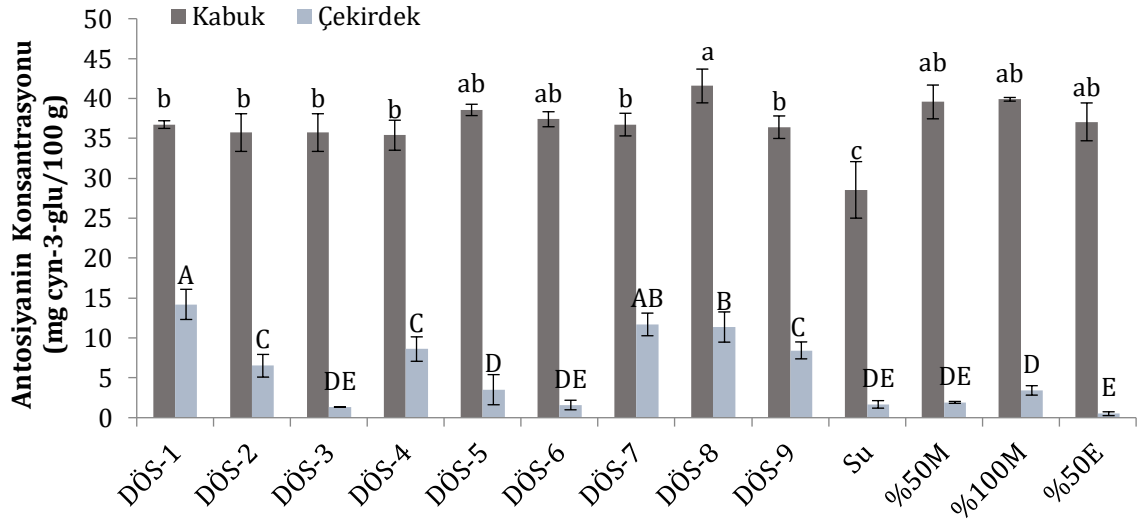
Şekil 3.4. incelendiğinde nar kabuğunda en düşük hidrolize olabilen tanen miktarının DÖS-6 (kolin klorür:oksalik asit) ile elde edildiği görülmektedir. Buna karşın nar çekirdeğinde DÖS-6 ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda hidrolize olabilen tanen miktarı maksimum konsantrasyonda (105,44 mg TAE/g) elde edilmiştir (Şekil 3.4.). En düşük hidrolize olabilen tanen miktarına (18,22 mg TAE/g) ise DÖS-3 ile ulaşılırken, bu solvent ile DÖS-2, DÖS-4 ve DÖS-5 solventleri ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlar sonucu elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde aralarında önemli bir fark bulunamamıştır ( $p > 0.05$ ). Çalışmamızda kullanılan geleneksel solventlere bakıldığında en düşük hidrolize olabilen

tanen miktarı suyun çözücü olduğu ekstraksiyon sonucunda elde edilirken en yüksek hidrolize olabilen tanen miktarına %50 metanol kullanılarak yapılan ekstraksiyon sonucunda ulaşılmıştır ( $p<0.05$ ). Elde edilen bu sonuçlar incelendiğinde nar çekirdeğinden hidrolize olabilen tanenlerin maksimum verimle elde edilebilmesi için ekstraksiyonda kullanılan tüm çözümler arasında kolin klorür:oksalik asit (1M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solventin kullanılabilineceği belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Elde edilen tüm sonuçlar incelendiğinde nar kabuğunun nar çekirdeğinden daha fazla hidrolize olabilen tanen içerdiği belirlenirken, ekstraksiyonda geleneksel solventler yerine derin ötektik solventlerin kullanılması ile daha verimli sonuçlar elde edildiği de belirlenmiştir. Çalışma sonucunda nar kabuğundan şeker içerikli derin ötektik solventler ile daha yüksek sonuçlar elde edilirken, nar çekirdeğinden asit ve alkol içeren solventler ile daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Bu durum ekstraksiyonda kullanılan materyal ve solventin polaritesi ile ilişkilendirilmiştir. Nar kabuğundan maksimum düzeyde hidrolize tanenin geri kazanımının kullanılan DÖS-9 solventinin molar oranından kaynaklandığı düşünülürken, nar çekirdeğinde DÖS-6 solventinin düşük pH ve viskozitesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

### **3.6. Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini Sonuçları**

Nar proses atıklarının toplam monomerik antosiyanin miktarlarına ilişkin sonuçlar Ek-1.9.'da sunulmuştur. Elde edilen veriler incelendiğinde nar kabuğunda bulunan toplam monomerik antosiyanin miktarının ekstraksiyon metoduna göre 28,55-41,57 mg cyn-3-glu/100 g konsantrasyonları arasında değiştiği belirlenmiştir. Çalışma sonucunda ulaşılan veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde en yüksek antosiyanin miktarına kolin klorür (2M):sukroz (1M) içeren derin ötektik solvent ekstraksiyonu ile ulaşılmıştır ( $p<0.05$ ), bu solvent ile DÖS-5, DÖS-6, metanol (%50, %100) ve etanol solventleri kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonlar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (Şekil 3.5.). Çözücü olarak etanolün kullanıldığı Abid ve ark. (2017), tarafından nar kabukları üzerinde yürütülmüş olan çalışmada çalışmamızla benzer antosiyanin miktarına (42,5 mg cyn-3-glu/100 g) ulaşılmıştır. Benzer şekilde Morzelle ve ark. (2019), tarafından etanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda nar kabuklarından daha düşük konsantrasyonlarda (2,28 mg cyn-3-glu/100 g) antosiyanin ekstrakte edilebilmiştir. Elde edilen bu sonuçlar nar kabuğundan toplam monomerik antosiyanin ekstraksiyonu için derin ötektik solventlerin geleneksel solventler yerine kullanılabilineceğini göstermektedir. Bununla birlikte toplam monomerik antosiyanin ekstraksiyonunun maksimum verimle elde edilebilmesi için kullanılan tüm çözümler arasında kolin klorür:sukroz (2M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solventin kullanılabilineceği belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).



**Şekil 3.5.** Nar proses atıklarının monomerik antosiyanin miktarları

Nar kabuğundan farklı olarak nar çekirdeği toplam monomerik antosiyanin miktarı en yüksek (14,20 mg cyn-3-glu/100 g) kolin klorür (1M):glikoz (1M) solventinin kullanıldığı ekstraksiyon ile elde edilmiştir (Şekil 3.5.). Bu solvent ile DÖS-7 ekstraksiyonu sonucu elde edilen veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde aralarında önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür ( $p>0.05$ ). Ekstraksiyonda kullanılan geleneksel solventler ile DÖS-3, DÖS-5 ve DÖS-6 solventleri ile ulaşılan sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildiğinde de aralarında önemli bir farklılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Elde edilen bu sonuçlar nar çekirdeğinden toplam monomerik antosiyanin ekstraksiyonu için derin ötektik solventlerin geleneksel solventler yerine alternatif olarak sunulabileceğini göstermektedir. Nitekim Ambigaipalan ve ark. (2017), tarafından yapılan çalışmada da nar çekirdeği antosiyaninleri %70'lik aseton kullanılarak ultrases yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda elde edilen toplam monomerik antosiyanin miktarı (7,04 mg cyn-3-glu/100 g) çalışmamızla kıyaslandığında ise derin ötektik solventlerle yapılan ekstraksiyon ile genellikle daha yüksek sonuçlara ulaşıldığı görülmektedir. Bununla birlikte çalışmamızda toplam monomerik antosiyanin ekstraksiyonunun maksimum verimle elde edilebilmesi için kullanılan tüm çözümler arasında kolin klorür:glikoz (1M:1M) ile hazırlanan derin ötektik solventin kullanılabilineceği belirlenmiştir ( $p<0.05$ ).

Toplam monomerik antosiyanin içeriğinin belirlendiği ekstraksiyonlarda kullanılan çözücünün asidik olduğu durumlarda daha yüksek antosiyanin içeriği elde edildiği bilinmektedir. Çalışmamızda nar proses atıklarının toplam monomerik antosiyanin içeriğinin belirlenmesinde maksimum değer elde edilen solventler ile ekstraksiyonda kullanılan farklı solventlerden benzer sonuçlar elde edilmesinin ekstraksiyon çözücülerinin pH değerlerinin

ölçüm sonucunda asidik ve birbirine yakın değerlere sahip olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

### 3.7. Antimikrobiyal Aktivite

Nar proses atıklarından toplam fenolik bileşen analizinde maksimum sonuçların elde edildiği çözücüler (DÖS-1, DÖS-9 ve etanol) ile hazırlanan ekstraktların *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerine antimikrobiyal etkisi incelenmiş ve sonuçlar Tablo 3.5.'de sunulmuştur.

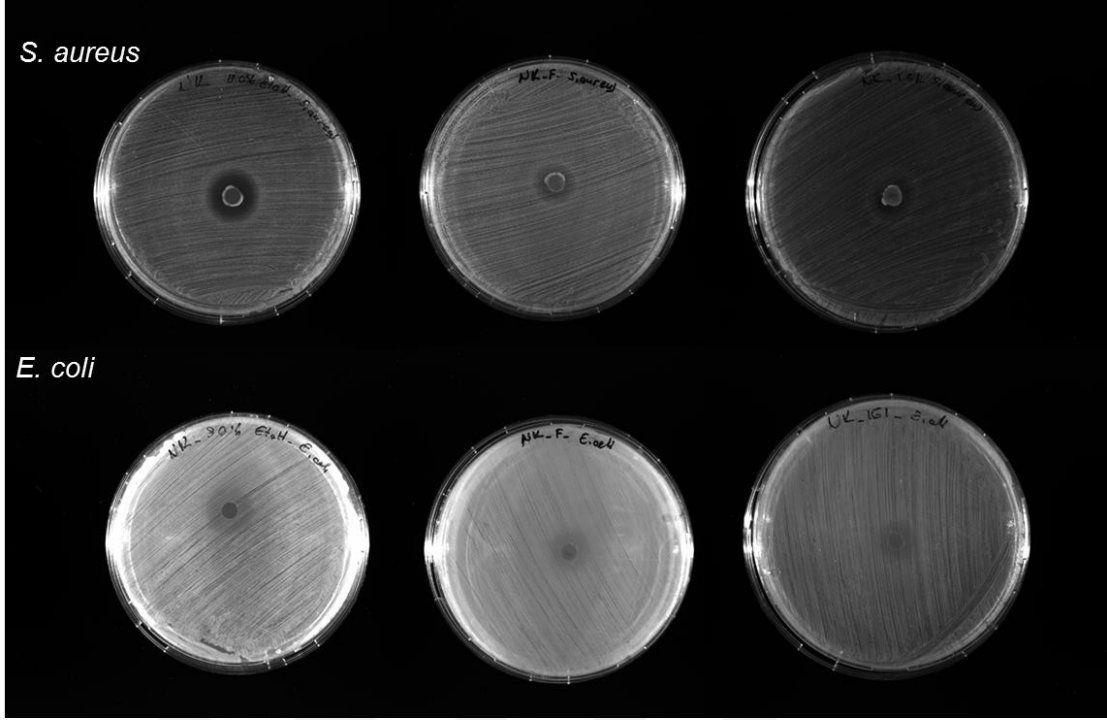
**Tablo 3.5.** Nar proses atıklarının antimikrobiyal aktivitesi

Mikroorganizma	İnhibisyon zon çapı (mm/10µL)					
	Nar kabuğu			Nar çekirdeği		
	DÖS-1	DÖS-9	Etanol (%50)	DÖS-1	DÖS-9	Etanol (%50)
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	14	18	<6	<6	<6
<i>Escherichia coli</i>	13	11	15	<6	<6	<6

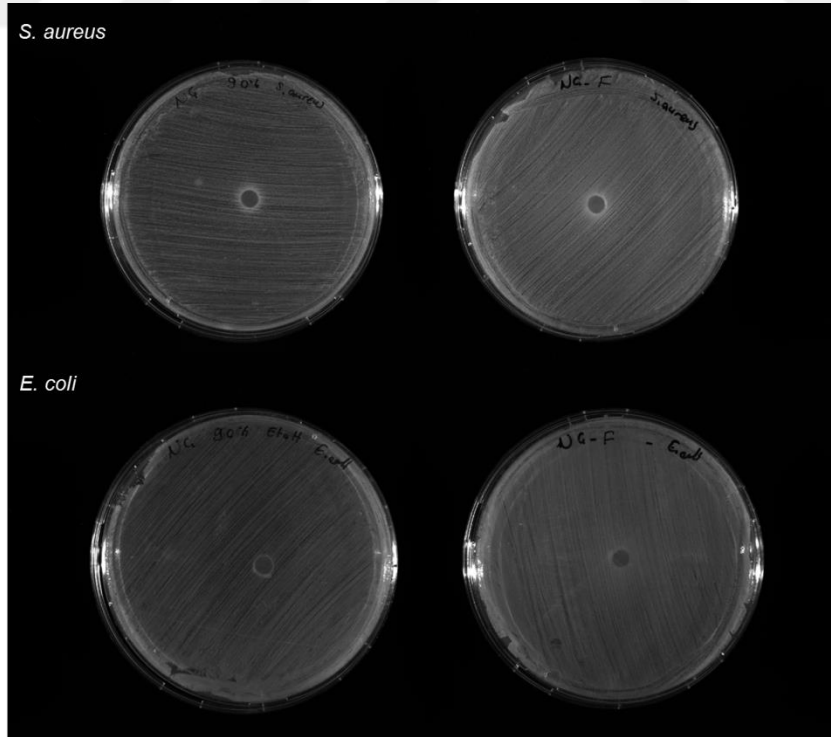
Yapılan çalışma sonucunda nar çekirdeği ekstraktlarında *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* üzerine antimikrobiyal etki belirlenmemiştir (<6 mm). Nar kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi ise *S. aureus* için 14-18 mm, *E. coli* için 11-15 mm olarak belirlenirken (Şekil 3.6.), etanolik ekstraktın antimikrobiyal etkisinin derin ötektik solventlerle elde edilen ekstraktlara kıyasla yüksek olduğu görülmüştür.

Antimikrobiyal etkilerin farklılığı bakterilerin duvar yapılarının çeşitliliği ile ilişkilendirilmektedir. *S. aureus*, tek bir hücre duvarı tabakasına sahip gram pozitif bir bakteridir. Hücre duvarının %90'ı peptidoglikan tabakadan oluşmaktadır. Duvarın kalınlığı antimikrobiyal ajanlara karşı penetrasyonu engelleyerek dayanıklılık sağlamaktadır. *E. coli* ise lipopolisakkarit, lipoprotein ve fosfolipidler açısından zengin ek bir dış zara sahip gram negatif bir bakteridir. Gram negatif bakterilerde %10'luk peptidoglikan tabakasının varlığına karşın dış membrandaki periplazmik boşlukta hidrolitik enzimlerin varlığı ajanın hücre membranına geçişini engellemektedir. Ekstraktların izolatlar üzerindeki inhibitör etkisi ekstraksiyon yöntemlerine ve kullanılan çözücülere karşı da farklılık göstermektedir.

Çalışmamız sonucunda nar kabuğu ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* üzerine daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenirken etanol ile gerçekleştirilen nar kabuğu ekstraktlarının daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir.



**Şekil 3.6.** *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı nar kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi



**Şekil 3.7.** *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı nar çekirdeği ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi

Çalışmamızla benzer olarak Djomeh ve ark. (2015) ile Višnjevec ve ark. (2017)'nin yapmış oldukları çalışmalarda nar kabuğu ve farklı nar türü ekstraktlarında *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Çalışmalar sonucunda nar kabuğu ekstraktına karşı *Staphylococcus aureus* bakterisinin daha duyarlı olduğu belirlenirken, çalışmamızda olduğu gibi etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitenin belirlenmesinde daha etkili olduğu da tespit edilmiştir.



## SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kapsamında nar meyvesinin tüketilmesi ve işlenmesi sırasında meydana gelen proses atıklarının (kabuk ve çekirdek) biyoaktif bileşen içeriklerinin çevreci yöntemlerle geri kazanımı incelenmiştir. Nar kabuk ve çekirdeklerinden biyoaktif bileşenlerin geri kazanımı amacıyla etkili bir ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilmesi gereklidir. Şimdiye kadar kullanılmış olan geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin zaman kaybına neden olması, fazla miktarda çözücü kullanımı gibi dezavantajlara sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle günümüzde yeşil ekstraksiyon teknikleri yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Aynı zamanda geleneksel solventlerin toksik, yanıcı ve gıda sınıfına uygun olmadığı da bilinmektedir. Bu sebeple son yıllarda toksik olmaması, çevreye zarar vermemesi gibi özelliklere sahip “yeşil solventler” olarak nitelendirilen derin ötektik solventlerin kullanımına önem verilmektedir. Çalışmamızda derin ötektik solventler daha kısa sürede ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilmesi, düşük maliyetli olması gibi avantajlara sahip, yeşil tekniklerden birisi olan ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile birlikte kullanılarak nar proses atıklarından biyoaktif bileşenlerin geri kazanımında ekstraksiyon etkinliği açısından değerlendirilmiştir. Çalışmamızda, derin ötektik solventlerin geleneksel solventler yerine kullanılabilirliğinin araştırılmasının yanı sıra materyale ve ekstrakte edilecek bileşene en uygun derin ötektik solventin belirlenmesi de araştırılmıştır. Bu amaçla çalışmamızda farklı derin ötektik solventler ve geleneksel solventler (su, %50 metanol, %100 metanol ve %50 etanol) kullanılarak nar proses atıklarından (kabuk ve çekirdek) ultrases destekli ekstraksiyon tekniği ile biyoaktif bileşenlerin geri kazanımları gerçekleştirilmiştir.

Elde edilen ekstraktlar biyoaktif bileşen içerikleri açısından kıyaslandığında;

- Nar kabuğunda elde edilen maksimum toplam fenolik madde miktarına (190,72 mg GAE/g) kolin klorür (1M):glikoz (1M) içeren DÖS-1 kullanılarak ulaşılmıştır.
- Nar çekirdeğinde kolin klorür (2M): fruktoz (1M) içeren DÖS-9 solventi kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda en yüksek toplam fenolik madde miktarı (6,96 mg GAE/g) elde edilmiştir.
- Nar kabuğunda maksimum antioksidan aktivite (150,80  $\mu$ mol TEAC/g; ABTS) DÖS-5 ile ekstrakte edilen örnekde belirlenmiştir.
- Nar çekirdeğinde belirlenen en yüksek antioksidan aktivite değerine (6,20  $\mu$ mol TEAC/g; ABTS) DÖS-4 ekstraksiyonu ile ulaşılmıştır.
- Kondanse (81,85-84,04 mg CE/100 g) ve hidrolize olabilen (243,30-252,17 mg TAE/g) tanen miktarı nar kabuğunda maksimum düzeyde sırasıyla, DÖS-3 ve DÖS-9 solventleri ile yapılan ekstraktlarda belirlenmiştir.
- Nar çekirdeğinde proantosiyanidin miktarı nar kabuğu ile benzer olarak DÖS-9 solventi (39,16 mg CE/100 g) ile gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda elde

edilmiştir. Maksimum hidrolize tanen miktarına (105,44 mg TAE/g) ise DÖS-6 solventi kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon ile ulaşılmıştır.

- En yüksek toplam monomerik antosiyanin içeriği nar kabuğunda DÖS-8 solventi nar çekirdeğinde ise DÖS-1 solventi kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon sonucunda sırasıyla 41,57 mg cyn-3-glu/100 g ve 14,20 mg cyn-3-glu/100 g olarak belirlenmiştir.
- DÖS-1, DÖS-9 ve etanol (%50) ile ekstrakte edilen nar kabuğu örneklerinin *S. aureus* (14-18 mm) ve *E. coli* (11-15 mm) üzerine antimikrobiyal etkilerinin olduğu belirlenmiştir. Buna karşın, nar çekirdeği ekstraktlarında antimikrobiyal aktivite tespit edilememiştir (<6 mm).
- TPC, antioksidan aktivite (DPPH, ABTS), TCT, THT ve toplam monomerik antosiyanin sonuçları incelendiğinde, nar proses atıklarından biyoaktif bileşenlerin geleneksel solventlerle geri kazanımında daha düşük konsantrasyonlar elde edildiği belirlenmiştir.

Tez çalışmasında ulaşılan tüm bu sonuçlar doğrultusunda biyoaktif bileşenlerin geri kazanımı için ultrases destekli derin ötektik solventlerin yüksek geri kazanım oranlarıyla kullanılabilineceği belirlenmiştir. Çalışmamızda nar kabuğu ve nar çekirdeğinden biyoaktif bileşenlerin geri kazanımı için gerçekleştirilen analizler doğrultusunda genellikle maksimum sonuçlara ulaşılan glikoz:kolin klorür (1M:1M) ve fruktoz:kolin klorür (1M:2M) DÖS'lerinin kullanılması önerilmektedir.

Günümüzde çevre kirliliğinin artması, kimyasalların toksik etkisi gibi sorunlar sebebiyle yaygın olarak kullanılmaya başlanan yeşil tekniklerden biri olan ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ve yeşil solventler olarak adlandırılan derin ötektik solventler kullanılarak gerçekleştirilen çalışmamızın kaynakların verimli kullanılması ve sürdürülebilirliğin sağlanması açısından önem taşıdığı düşünülmektedir. Farklı solventler kullanılarak maksimum verim elde edilen solventin belirlendiği ekstraksiyon işleminin yapılacak olan diğer çalışmalara öncü ve yardımcı olabileceği ve bu anlamda literatüre katkı sağlayacağı umulmaktadır.

## KAYNAKÇA

- Abid, M., Yaich, H., Cheikhrouhou, S., Khemakhem, I., Bouaziz, M., Attia, H., ve Ayadi, M.A. (2017). Antioxidant Properties and Phenolic Profile Characterization by LC-MS/MS of Selected Tunisian Pomegranate Peels. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 2890-2901.
- Aktar, C. (2019). *Karides İşleme Artıklarından Astaksantin Ekstraksiyonu: Farklı Kurutma Yöntemlerinin Astaksantin Verim ve Kalitesine Etkilerinin Araştırılması*. (Yüksek Lisans Tezi), Antalya: Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ali, S.I., El-Baz, F.K., El-Emary, G.A.E., Khan, E.A., ve Mohamed, A.A. (2014). HPLC-Analysis of Polyphenolic Compounds and Free Radical Scavenging Activity of Pomegranate Fruit (*Punica granatum* L.). *International Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 6(4), 348-355.
- Alifakı, Y.Ö., Şakiyan, Ö., ve İşçi, A. (2018). Gilaburu (*Viburnum Opulus* L.) Meyvesinden Fenolik Bileşiklerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu. *The Journal of Food*, 43(5), 846-855.
- Ambigaipalan, P., Camargo, A.C., ve Shahidi, F. (2017). Identification of Phenolic Antioxidants and Bioactives of Pomegranate Seeds Following Juice Extraction Using HPLC-DAD-ESI-MSn. *Food Chemistry*, 221, 1883-1894.
- Anonim (2019). Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK). Erişim Tarihi:17.08.2022. <http://www.tuik.gov.tr>
- Ardekani, M.R.S., Hajimahmoodi, M., Oveisi, M.R., Sadeghi, N., Jannat, B., Ranjbar, A.M., Gholam, N., ve Moridi, T. (2011). Comparative Antioxidant Activity and Total Flavonoid Content of Persian Pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 10(3), 519-524.
- Armenta, S., Garrigues, S., Esteve-Turrilas, F.A., ve de la Guardia, M. (2019). Green Extraction Techniques in Green Analytical Chemistry. *Trends in Analytical Chemistry*, 116, 248-253.
- Atak, E., Yıldız, E., ve Uslu, M.E. (2017). Fenolik Bileşiklerin Enkapsülasyonu. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 24(2), 2017.
- Azarpazhooh, E., Sharayei, P., Zomorodi, S., ve Ramaswamy, H.S. (2019). Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *LWT-Food Science and Technology*, 101, 342-350.
- Basiri, S. (2013). Evaluation of Antioxidant and Antiradical Properties of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Seed and Defatted Seed Extracts. *Journal of Food Science and Technology*, 52, 1117-1123.
- Bertolo, M.R.V., Martins, V.C.A., Plepis, A.M.G., ve Junior, S.B. (2021). Utilization of Pomegranate Peel Waste: Natural Deep Eutectic Solvents as a Green Strategy to Recover Valuable Phenolic Compounds. *Journal of Cleaner Production*, 327, 129471.
- Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2), 209-242.
- Çam, M., Hışıl, Y., ve Durmaz, G. (2009). Classification of Eight Pomegranate Juices Based on Antioxidant Capacity Measured by Four Methods. *Food Chemistry*, 112, 721-726.

Cavuldak, Ö. A., Vural, N. ve Anlı, R. E. (2016). Bitki Kaynaklı Fenolik Bileşiklerin Ultrasonik Dalga Destekli Ekstraksiyonu. *Gıda*, 41(1), 53-61.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S. ve Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.

Cunha, S.C., ve Fernandes, J.O. (2018). Extraction Techniques with Deep Eutectic Solvents. *Trends in Analytical Chemistry*, 105, 225-239.

Dahham, S.S., Ali, M.N., Tabassum, H., ve Khan, M. (2010). Studies on Antibacterial and Antifungal Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.). *American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences*, 9(3), 273-281.

Demir, T., Akpınar, Ö., Kara, H., ve Güngör, H. (2019). Nar Kabuğundan Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteye Sahip Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu. *The Journal of Food*, 44 (2), 369-382.

Djomeh, E.Z., Moghaddam A., ve Ardakani Y.A.S. (2015). Antimicrobial Activity of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Extract, Physical, Mechanical, Barrier and Antimicrobial Properties of Pomegranate Peel Extract-Incorporated Sodium Caseinate Film and Application in Packaging for Ground Beef. *Packag. Technology Sciences*, 28, 869-881.

Durante, M., Montefusco, A., Marres, P.P., Soccio, M., Pastore, D., Piro, G., Mita, G., ve Lenucci, M.S. (2017). Seeds of Pomegranate, Tomato and Grapes: An Underestimated Source of Natural Bioactive Molecules and Antioxidants from Agri-food By-products. *Journal of Food Composition and Analysis*, 63, 65-72.

Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N., ve Ferchichi, A. (2012). Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Pomegranate Peel, Seed, Leaf and Flower. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 4724-4730.

Elfalleh, W., Nasri, N., Marzougui, N., Thabti, I., M'rabet, A., Yahya, Y., ve Ferchichi, A. (2009). Physico-chemical Properties and DPPH-ABTS Scavenging Activity of Some Local Pomegranate (*Punica granatum*) Ecotypes. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60, 197-210.

Ergün, A.R., Baysal, T., ve Bozkır, H. (2013). Ultrases Yöntemi ile Karotenoitlerin Ekstraksiyonu. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü İzmir*, 38(4), 239-246.

Fawole, O.A., Makunga, N.P., Opara, U.L. (2012). Antibacterial, Antioxidant and Tyrosinase-inhibition Activities of Pomegranate Fruit Peel Methanolic Extract. *Complementary and Alternative Medicine*, 12, 200-211.

Fischer, U.A., Jaksch, A.V., Carle, R., ve Kammerer, D.R. (2013). Influence of Origin Source, Different Fruit Tissue and Juice Extraction Methods on Anthocyanin, Phenolic Acid, Hydrolysable Tannin and Isolariciresinol Contents of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruits and Juices. *Eur Food Res Technology*, 237, 209-221.

Fourati, M., Smaoui, S., Hlima, H.B., Elhadef, K., Mtibaa, A.C., ve Mellouli, L. (2020). Variability in Phytochemical Contents and Biological Potential of Pomegranate (*Punica granatum*) Peel Extracts:

Toward a New Opportunity for Minced Beef Meat Preservation. *Food Waste-Derived Compounds for the Production of Nutraceuticals and Functional Foods*, 8853196.

Galaz, P., Valdenegro, M., Ramírez, C., Nuñez, H., Almonacid, S., ve Simpson, R. (2017). Effect of Drum Drying Temperature on Drying Kinetic and Polyphenol Contents in Pomegranate Peel. *Journal of Food Engineering*, 208, 19-27.

Ghimire, A., Paudel, N., ve Poudel, R. (2022). Effect of Pomegranate Peel Extract on the Storage Stability of Ground Buffalo (*Bubalus bubalis*) Meat. *LWT- Food Science and Technology*, 154, 112690.

Gitti, Ü.B. (2019). *Karakavak Yongalarından Derin Ötektik Çözücü Kullanılarak Kağıt Hamuru Üretimi*. (Yüksek Lisans Tezi), Bartın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Godlewska, K., Michalak, I., Tuhy, Ł., and Chojnacka, K. (2017). The Influence of pH of Extracting Water on the Composition of Seaweed Extracts and Their Beneficial Properties on *Lepidium sativum*. *BioMed Research International*, 7248634.

Goula, A. M., ve Lazerides, H. N. (2015). Integrated Processes Can Turn Industrial Food Waste into Valuable Food By-products and/or Ingredients: The Cases of Olive Mill and Pomegranate Wastes. *Journal of Food Engineering*, 16, 45-50.

Gözlekçi, Ş., Saraçoğlu, O., Onursal, E., ve Özgen, M. (2011). Total Phenolic Distribution of Juice, Peel, and Seed Extracts of Four Pomegranate Cultivars. *Pharmacognosy Magazine*, 7(26), 161-164.

Gündoğdu, M., Yılmaz, H., Şensoy, R. İ. G., ve Gündoğdu, Ö. (2010). Şirvan (Siirt) Yöresinde Yetiştirilen Narların Pomolojik Özellikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 20(2), 138-143.

Guo, C., Yang, J., Wei, J., Li, Y., Xu, J., ve Jiang, Y. (2003). Antioxidant Activities of Peel, Pulp and Seed Fractions of Common Fruits as Determined by FRAP Assay. *Nutrition Research*, 23(12), 1719-1726.

Güzel, N. (2010). *Nar suyu Konsantresi Üretim Aşamalarında Prosiyanidinlerdeki Değişimler*. (Yüksek Lisans Tezi), Ankara: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Güzel, N., Kahraman, O., ve Feng, H. (2020). Solid-Liquid Extraction by Manothermosonication: Recapturing the Value of Pomegranate Peels and Nanocomplexation of Extracts with Pea Protein. *ACS Sustainable Chemistry Engineering*, 8, 16671-16679.

Guzmán-Lorite, M., Marina, M.L., ve García, M.C. (2022). Pressurized Liquids vs. High Intensity Focused Ultrasounds for the Extraction of Proteins from a Pomegranate Seed Waste. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 77, 102958.

Hadrich, F., Cher, S., Gargouri, Y., ve Sayari, A. (2014). Antioxidant and Lipase Inhibitory Activities and Essential Oil Composition of Pomegranate Peel Extracts. *Journal of Oleo Science*, 63(5), 515-25.

Hang, N.T., Uyen, T.T.T., ve Phuong, N.V. (2022). Green Extraction of Apigenin and Luteolin from Celery Seed Using Deep Eutectic Solvent. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 207, 114406.

Hasnaoui, N., Jbir, R., Mars, M., Trifi, M., Kamal-Eldin, A., Melgarejo, P., ve Hernandez, F. (2011). Organic Acids, Sugars, and Anthocyanins Contents in Juices of Tunisian Pomegranate Fruits. *International Journal of Food Properties*, 14(4), 741-757.

- Hayder, Z., Elfalleh, W., Othman, K.B., Benabderrahim, M.A., ve Hannachi, H. (2021). Modeling of Polyphenols Extraction from Pomegranate By-product Using Rotatable Central Composite Design of Experiments. *Acta Ecologica Sinica*, 41(2), 150-156.
- Hernández-Corroto, E., Marina, M.L., ve García, M.C. (2019). Extraction and Identification by High Resolution Mass Spectrometry of Bioactive Substances in Different Extracts Obtained from Pomegranate Peel. *Journal of Chromatography A*, 1594, 82-92.
- Hernández-Corroto, E., Boussetta, N., Marina, M.L., García, M.C., ve Vorobiev, E. (2022). High Voltage Electrical Discharges Followed by Deep Eutectic Solvents Extraction for the Valorization of Pomegranate Seeds (*Punica granatum* L.). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 79, 103055.
- Herrero, M., Mendiola, J.A., Cifuentes, A., ve Ibáñez, E. (2010). Supercritical Fluid Extraction: Recent Advances and Applications. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2495-2511.
- Hosseini-Vassan, S.J., Sharifian, M., Piray, A.H., ve Fathi-Nasri, M.H. (2020). Growth Performance, Carcass and Blood Traits, Immunity, Jejunal Morphology and Meat Quality of Heat-stressed Broiler Chickens Fed Urea-treated Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel. *Animal Feed Science and Technology*, 267, 114553.
- Huang, J., Guo, X., Xu, T., Fan, L., Zhou, X., ve Wu, S. (2019). Ionic Deep Eutectic Solvents for the Extraction and Separation of Natural Products. *Journal of Chromatography A*, 1598, 1-19.
- İçyer, N.C. (2012). *Nar Kabuğu Fenolik Bileşiklerinin Su İle Ekstraksiyonu ve Ekstraktların Mikroenkapsülasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi), Kayseri: Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- İkinci, A., Dursun, E., ve Karaoğul, E. (2021). Şanlıurfa'da Yetiştirilen Bazı Nar (*Punica granatum* L.) Çeşitlerinin Fenolik Bileşenleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarım Bilimleri Dergisi*, 31(3), 699-709.
- Jiang, Z., Yuan, J., Wang, P., Fan, X., Xu, J., Wang, Q., ve Zhang, L. (2018). Dissolution and Regeneration of Wool Keratin in the Deep Eutectic Solvent of Choline Chloride-urea. *International Journal of Biological Macromolecules*, 119 (2018), 423-430.
- Jing, P., Ye, T., Shi, H., Sheng, Y., Slavin, M., Gao, M., Liu, L., ve Yu, L. (2012). Antioxidant Properties and Phytochemical Composition of China-grown Pomegranate Seeds. *Food Chemistry*, 132(3), 1457-1464.
- Jurenka, J. (2008). Therapeutic Applications of Pomegranate (*Punica granatum* L.): A Review. *Alternative Medicine Review*, 13(2), 128-144.
- Kaderides, K., Goula, A.M., ve Adamopoulos, K.G. (2015). A Process for Turning Pomegranate Peels into a Valuable Food Ingredient Using Ultrasound-assisted Extraction and Encapsulation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 31, 204-215.
- Kaderides, K., Papaoikonomou, L., Serafim, M., ve Goula, A.M. (2019). Microwave-assisted Extraction of Phenolics from Pomegranate Peels: Optimization, Kinetics, and Comparison with Ultrasounds Extraction. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 137, 1-11.

- Kam, A., Li, K.M., Razmovski-Naumovski, V., Nammi, S., Chan, K., ve Li, G.Q. (2013). Variability of the Polyphenolic Content and Antioxidant Capacity of Methanolic Extracts of Pomegranate Peel. *Natural Product Communications*, 8(6), 707-710.
- Kanatt, S.R., Chander, R., ve Sharma, A. (2010). Antioxidant and Antimicrobial Activity of Pomegranate Peel Extract Improve Shelf Life of Chicken Products. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 216-222.
- Kaya, M. (2020). *Bazı Parametrelerin DPPH Giderim Testine ve pH'nın Biyoaktif Bileşen Ekstraksiyonu ve İnkübasyonunda Bileşim ve Aktiviteye Etkileri*. (Yüksek Lisans Tezi), Trabzon: Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H. ve Abdul Hamid, A. (2016). Optimization of Pulsed Ultrasound-assisted Technique for Extraction of Phenolics from Pomegranate Peel of Malas Variety: Punicalagin and Hydroxybenzoic Acids. *Food Chemistry*, 206, 156-166.
- Kedare, S.B., ve Singh, R.P. (2011). Genesis and Development of DPPH Method of Antioxidant Assay. *Journal of Food Science and Technology*, 48(4), 412-422.
- Kennas, A., ve Amellal-Chibane, H. (2019). Comparison of Five Solvents in the Extraction of Phenolic Antioxidants from Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel. *The North African Journal of Food And Nutrition Research*, 3(5), 140-147.
- Khoddami, A., Bin Che Man, Y., ve Roberts, T.H. (2014). Physico-chemical Properties and Fatty Acid Profile of Seed Oils from Pomegranate (*Punica granatum* L.) Extracted by Cold Pressing. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116, 553-562.
- Knorr, D., Zenker, M., Heinz, V., ve Lee, D. U. (2004). Applications and Potential of Ultrasonics in Food Processing. *Trends in Food Science & Technology*, 15(5), 261-266.
- Kumar, A., ve Srinivasa Rao, P. (2020). Optimization of Pulsed-mode Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Pomegranate Peel Using Response Surface Methodology. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14, 3493-3507.
- Kutlu Kantar, N. (2023). Derin Ötektik Çözücünün *Rheum ribes* Köklerinden Fenolik Bileşik Ekstraksiyonu Üzerine Etkisi. *Gıda The Journal of Food*, 48(1), 199-208.
- Kutlu, N. (2022). Farklı Derin Ötektik Çözücülerin pH ve Elektriksel İletkenlik Değerlerinin Sıcaklık ile Değişimi. *Avrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi*, (38), 240-246.
- Kutlu, N., Yılmaz, M.S., İşçi, A., ve Şakıyan, Ö. (2021). Gıdalardan Biyoaktif Bileşiklerin Ekstraksiyonunda Derin Ötektik Çözücülerin Kullanımı. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(2), 591-597.
- Kyriakidou, A., Makris, D.P., Lazaridou, A., Biliaderis, C.G., ve Mourtziinos, I. (2021). Physical Properties of Chitosan Films Containing Pomegranate Peel Extracts Obtained by Deep Eutectic Solvents. *Green Extraction Technology of Polyphenols from Food By-Product*, 10(6), 1262.

- Lampakis, D., Skenderidis, P., ve Leontopoulos, S. (2021). Technologies and Extraction Methods of Polyphenolic Compounds Derived from Pomegranate (*Punica granatum*) Peels. A Mini Review. *Laboratory of Food and Biosystems Engineering Department of Agrotechnology*, 9, 236.
- Li, X., ve Row, K.H. (2016). Development of Deep Eutectic Solvents Applied in Extraction and Separation. *Journal of Separation Science*, 39(18), 3505–3520.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., ve Cheng, S. (2006). Evaluation of Antioxidant Properties of Pomegranate Peel Extract in Comparison with Pomegranate Pulp Extract. *Food Chemistry*, 96, 254-260.
- Lucci, P., Pacetti, D., Loizzo, M.R., ve Frega, N.G. (2015). *Punica granatum* cv. Dente di Cavallo Seed Ethanolic Extract: Antioxidant and Antiproliferative Activities. *Food Chemistry*, 167, 475–483.
- Masci, A., Coccia, A., Lendaro, E., Mosca, L., Paolicelli, P., ve Cesa, S. (2016). Evaluation of Different Extraction Methods from Pomegranate Whole Fruit or Peels and the Antioxidant and Antiproliferative Activity of the Polyphenolic Fraction. *Food Chemistry*, 202, 59-69.
- Middha, S.K., Usda, T., ve Pande, V. (2013). A Review on Antihyperglycemic and Antihepatoprotective Activity of Eco-friendly *Punica Granatum* Peel Waste. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine*, 656172.
- Mirdehghan, S.H., ve Rahemi, M. (2007). Seasonal Changes of Mineral Nutrients and Phenolics in Pomegranate (*Punica granatum* L.) Fruit. *Scientia Horticulturae*, 111(2), 120-127.
- More, P.R., ve Arya, S.S. (2021). Intensification of Bioactives Extraction from Pomegranate Peel Using Pulsed Ultrasound: Effect of Factors, Correlation, Optimization and Antioxidant Bioactivities. *Ultrasonics Sonochemistry*, 72, 105423.
- Morzelle, M.C., Salgado, J.M., Massarioli, A.P., Bachiega, P., de Oliveira Rios, A., Alencar, S.M., Schwember, A.R., ve de Camargo, A.C. (2019). Potential Benefits of Phenolics from Pomegranate Pulp and Peel in Alzheimer's Disease: Antioxidant Activity and Inhibition of Acetylcholinesterase. *Journal of Food Bioactives*, 5, 136–141.
- Muhacir-Güzel, N., Türkyılmaz, M., Yemiş, O., Tağı, Ş., ve Özkan, M. (2014). Changes in Hydrolysable and Condensed Tannins of Pomegranate (*Punica granatum* L., cv. Hicaznar) Juices from Sacs and Whole Fruits During Production and Their Relation with Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology*, 59, 933-940.
- Musa, K.H., Abdullah, A., ve Al-Haiqi, A. (2016). Determination of DPPH Free Radical Scavenging Activity: Application of Artificial Neural Networks. *Food Chemistry*, 194, 705–711.
- Nizamlıoğlu, N.M., ve Sebahattin, N.A.S. (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*, 5(1), 20-35.
- Noratiqah, J.M., Norhaslinda, R., Amin, B.A., ve Khalili, R.M.A. (2018). Quantitative and Optimization of Phenolic Acid Extracted from Pomegranate by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Pharmacognosy Journal*, 10(5), 969-972.

- Okumuş, G. (2016). *Nar (Punica granatum L.) Kabuk ve Çekirdeklerinin Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Bursa: Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Okumuş, G., Yıldız, E. ve Akapınar-Bayizit, A. (2015). Doğal Antioksidan Bileşikler: Nar Yan Ürünlerinin Antioksidan Olarak Değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 29(2), 203-214.
- Omar, K.A., ve Sadeghi, R. (2022). New chloroacetic acid-based deep eutectic solvents for solubilizing metal oxides. *Journal of Molecular Liquids*, 347, 11893.
- Özdemir, H., Soyer, A., Tağı, Ş., ve Turan, M. (2014). Nar Kabuğu Ekstraktının Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitesinin Köfte Kalitesine Etkisi. *Gıda*, 39(6), 355-362.
- Özer, C.O., Var, G.B., ve Demir Özer, E. (2021). Ekstraksiyon Koşullarının Nar (*Punica granatum L.*) Çiçeği Ekstraktlarının Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik İçeriği Üzerine Etkisi. *KSÜ Tarım ve Doğa Dergisi*, 24(5), 915-920.
- Peng, Y. (2019). Comparative Analysis of the Biological Components of Pomegranate Seed from Different Cultivars. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 784-794.
- Picot-Allain, C., Mahomoodally, M.F., Ak, G., ve Zengin, G. (2021). Conventional Versus Green Extraction Techniques a Comparative Perspective. *Current Opinion in Food Science*, 40, 144-156.
- Rababah, T.M., Banat, F., Rababah, A., Ereifej, K., ve Yang, W. (2010). Optimization of Extraction Conditions of Total Phenolics, Antioxidant Activities and Anthocyanin of Oregano, Thyme, Terebinth, and Pomegranate. *Journal of Food Science*, 75, 626-632.
- Rafi, M., Wulansari, L., Septaningsih, D.A., Purnomo, T.F., Auliatifani, R., Khaydanur, K., Ilmiawati, A., Yulianti, W., Nengsih, N.K., Suparto, I.H., ve 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.
- Rajan, S., Mahalakshmi, S., Deepa, V.M., Sathya, K., Shajitha, S., ve Thirunalasundari, T. (2011). Antioxidant potentials of *Punica granatum* fruit rind extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 82-88.
- Rajha, H.N., Mhanna, T., El Kantar, S., El Khoury, A., Louka, N., ve Maroun, R.G. (2019). Innovative Process of Polyphenol Recovery from Pomegranate Peels by Combining Green Deep Eutectic Solvents and a New Infrared Technology. *LWT-Food Science and Technology*, 111, 138-146.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., ve Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical Cation Decolorization Assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237.
- Rifna, E.J., ve Dwivedi, M. (2022). Effect of Pulsed Ultrasound Assisted Extraction and Aqueous Acetone Mixture on Total Hydrolysable Tannins from Pomegranate Peel. *Food Bioscience*, 45, 101496.
- Romani, A., Campo, M., ve Pinelli, P. (2012). HPLC/DAD/ESI-MS Analyses and Anti-radical Activity of Hydrolyzable Tannins from Different Vegetal Species. *Food Chemistry*, 130(1), 214-221.

Saad, H., Charrier-El Bouhtoury, F., Pizzi, A., Rode, K., Charrier, B., ve Ayed, N. (2012). Characterization of Pomegranate Peels Tannin Extractives. *Industrial Crops and Products*, 40, 239-246.

Sabraoui, T., Khider, T., Nasser, B., Eddoha, R., Moujahid, A., Benbachir, M., ve Essamadi, A. (2020). Determination of Punicalagins Content, Metal Chelating, and Antioxidant Properties of Edible Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peels and Seeds Grown in Morocco. *International Journal of Food Science*, 8885889.

Sara, K., Leila, R., Sajad, P., ve Mehdi, G. (2020). Green Extraction of Bioactive Compounds of Pomegranate Peel Using  $\beta$ -Cyclodextrin and Ultrasound. *Main Group Chemistry*, 19(1), 61-80.

Sarıca, Ş., ve Ürkmez, D. (2016). The Use of Grape Seed, Olive Leaf and Pomegranate Peel Extracts as Alternative Natural Antimicrobial Feed Additives in Broiler Diets. *European Poultry Science (EPS)*, 80, 1612-9199.

Sarıtaş, N. (2018). *Ceviz Yeşil Kabuğundan Ultrases Yardımıyla Fenolik Madde Ekstraksiyonu, Kinetik Modellenmesi Ve Optimizasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi), Denizli: Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

Sarkhosh, A., Zamani, Z., Fatahi, R., ve Ranjbar, H. (2009). Evaluation of Genetic Diversity Among Iranian Soft-seed Pomegranate Accessions by Fruit Characteristics and RAPD Markers. *Scientia Horticulturae*, 121(3), 313-319.

Šavikin, K., Živković, J., Alimpić, A., Zdunić, G., Janković, T., Duletić-Laušević, S., ve Menković, N. (2018). Activity Guided Fractionation of Pomegranate Extract and Its Antioxidant, Antidiabetic and Antineurodegenerative Properties. *Industrial Crops and Products*, 113, 142-149.

Šavikin, K., Živković, J., Janković, T., Čujić, N., ve Menković, N. (2018). Optimization of Ultrasound Assisted Extraction of Polyphenolic Compounds from Pomegranate Peel Using Response Surface Methodology. *Separation and Purification Technology*, 194(3), 40-47.

Seidi, K., Jahanban-Esfahlan, R., Abasi, M., ve Abbasi, M.M. (2016). Anti Tumoral Properties of *Punica granatum* (Pomegranate) Seed Extract in Different Human Cancer Cells. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(3), 1119-1122.

Şengül, M., ve Topdaş, E.F. (2019). Katı-Sıvı Ekstraksiyonunda Kullanılan Modern Teknikler ve Bu Teknikler Arasında Ultrason Yardımlı Ekstraksiyonun Yeri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(2), 201-216.

Sevindik, O., ve Selli, S. (2017). Üzüm Çekirdek Yağı Eldesinde Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemleri. *Gıda*, 42(1), 95-103.

Shang, X., Tan, J.Z., Du, Y., Liu, X., ve Zhang, Z. (2018). Environmentally-Friendly Extraction of Flavonoids from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja Leaves with Deep Eutectic Solvents and Evaluation of Their Antioxidant Activities. *Green Extraction, Separation and Purification Processes*, 23(9), 2110.

Tabaraki, R., Elham Heidarizadi, E., ve Benvidi, A. (2012). Optimization of Ultrasonic-assisted Extraction of Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel Antioxidants by Response Surface Methodology. *Separation and Purification Technology*, 98, 16-23.

- Tadeo, J.L., Sanchez-Brunete, C., Albero, B., ve Garcia-Valcarcel, A.I. (2010). Application of Ultrasound-assisted Extraction to the Determination of Contaminants in Food and Soil Samples. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2415.
- Tezcan, F., Gültekin-Özgüven, M., Diken, T., Özçelik, B., ve Erim, F.B. (2009). Antioxidant Activity and Total Phenolic, Organic Acid and Sugar Content in Commercial Pomegranate Juices. *Food Chemistry*, 115(3), 873-877.
- Thitipramote, N., Maisakun, T., Chomchuen, C., Pradmeeteekul, P., Nimkamnerd, J., Vongnitorn, P., Chaiwut, P., Thitilertdecha, N., ve Pintathong, P. (2019). Bioactive Compounds and Antioxidant Activities from Pomegranate Peel and Seed Extracts. *Food and Applied Bioscience Journal*, 7, 152–161.
- Turgut, D.Y. (2012). *Akdeniz Bölgesi'nde Yetiştirilen Bazı Nar (Punica granatum L.) Çeşit ve Genotiplerinin Fenolik Bileşenleri ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi*. (Yüksek Lisans Tezi), Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Turgut, D.Y., ve Seydim, A. C. (2013). Organic Acid and Sugar Composition of Some Pomegranate (*Punica granatum L.*) Cultivars and Genotypes Grown in the Mediterranean Region of Turkey. *Akademik Ziraat Dergisi*, 2(1), 35-42.
- Višnjevec, M.A., Ota, A., Butinar, B., Možina, S.S., Cimerman, N.G., Nečemer, M., Arbeiter, A.B., Matjaž Hladnik, M., Krapac, M., Ban, D., Miklavčič, M.B., Ulrih, N.P., ve Bandelj, D. (2017). Genetic, Biochemical, Nutritional and Antimicrobial Characteristics of Pomegranate (*Punica granatum L.*) Grown in Istria. *Food Technology and Biotechnology*, 55(2), 151–163.
- Wang, Z., Pan, Z., Ma, H., ve Atungulu, G.G. (2011). Extract of Phenolics From Pomegranate Peels. *The Open Food Science Journal*, 5, 17-25.
- Ya'akov, I.B., Tian, L., Amir, R., ve Holland, D. (2019). Primary Metabolites, Anthocyanins, and Hydrolyzable Tannins in the Pomegranate Fruit. *Frontiers in Plant Science*, 10, 620.
- Yılmaz, C. (2005). *Narda Derim Öncesi Meyve Çatlamaının Anatomisi ve Fizyolojisi*. (Doktora Tezi), Adana: Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Živković, J., Šavikin, K., Janković, T., Čujić, N., ve Menković, N. (2018). Optimization of Ultrasound-assisted Extraction of Polyphenolic Compounds from Pomegranate Peel Using Response Surface Methodology. *Separation and Purification Technology*, 194, 40-47.
- Zoral, F.B., ve Turgay, Ö. (2014). Çeşitli Gıda Atıklarının Toplam Fenolik Madde İçeriğinin, Antioksidan ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 17(2), 24-33.



## EKLER

### Ek-1. Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin istatistiksel değerlendirme sonuçları



**Ek-1.1.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin toplam fenolik bileşen miktarına ilişkin varyans analiz çizelgesi

		<b>Kareler Toplamı</b>	<b>df</b>	<b>Kareler Ortalaması</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Nar Kabuğu	Gruplar Arası	12100,970	12	1008,414	19,441	0,000*
	Gruplar İçi	674,304	13	51,870		
	Toplam	12775,274	25			
Nar Çekirdeği	Gruplar Arası	5,585	12	0,465	12,231	0,000*
	Gruplar İçi	0,494	13	0,003		
	Toplam	5,635	25			

\* : p<0.05

**Ek-1.2.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin antioksidan aktivite (DPPH) miktarına ilişkin varyans analiz çizelgesi

		<b>Kareler Toplamı</b>	<b>df</b>	<b>Kareler Ortalaması</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Nar Kabuğu	Gruplar Arası	1257,467	12	104,789	4,571	0,005*
	Gruplar İçi	297,993	13	22,923		
	Toplam	1555,460	25			
Nar Çekirdeği	Gruplar Arası	0,051	12	0,004	69,657	0,000*
	Gruplar İçi	0,001	13	0,000		
	Toplam	0,052	25			

\* : p<0.05

**Ek-1.3.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin antioksidan aktivite (ABTS) miktarına ilişkin varyans analiz çizelgesi

		<b>Kareler Toplamı</b>	<b>df</b>	<b>Kareler Ortalaması</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Nar Kabuğu	Gruplar Arası	201,431	12	16,786	113,046	0,000*
	Gruplar İçi	1,930	13	0,148		
	Toplam	203,361	25			
Nar Çekirdeği	Gruplar Arası	0,320	12	0,027	46,951	0,000*
	Gruplar İçi	0,007	13	0,001		
	Toplam	0,328	25			

\* : p<0.05

**Ek-1.4.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin kondanse tanen miktarına ilişkin varyans analiz çizelgesi

		<b>Kareler Toplamı</b>	<b>df</b>	<b>Kareler Ortalaması</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Nar Kabuğu	Gruplar Arası	4211,906	12	350,992	27,144	0,000*
	Gruplar İçi	168,100	13	12,931		
	Toplam	4380,006	25			
Nar Çekirdeği	Gruplar Arası	2233,588	12	186,132	119,274	0,000*
	Gruplar İçi	20,287	13	1,561		
	Toplam	2253,875	25			

\* : p<0.05

**Ek-1.5.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin kondanse tanen miktarının Duncan testi ile karşılaştırması

Ekstraksiyon Solventi	Nar Kabuğu (mg CE/100 g)	Nar Çekirdeği (mg CE/100 g)
DÖS-1	65,72±3,47 <sup>d</sup>	9,97±0,23 <sup>H</sup>
DÖS-2	70,85±3,80 <sup>cd</sup>	10,29±0,68 <sup>H</sup>
DÖS-3	81,85±0,01 <sup>ab</sup>	8,84±0,91 <sup>H</sup>
DÖS-4	76,95±6,23 <sup>abc</sup>	10,29±0,68 <sup>H</sup>
DÖS-5	73,06±1,38 <sup>cd</sup>	9,97±0,23 <sup>H</sup>
DÖS-6	75,98±3,46 <sup>abc</sup>	14,48±0,68 <sup>FG</sup>
DÖS-7	74,27±0,35 <sup>bc</sup>	16,10±0,23 <sup>EF</sup>
DÖS-8	74,51±2,77 <sup>bc</sup>	33,20±3,88 <sup>B</sup>
DÖS-9	84,04±3,81 <sup>a</sup>	39,16±0,45 <sup>A</sup>
Su	52,27±7,26 <sup>e</sup>	13,19±1,14 <sup>G</sup>
%50M	64,74±1,38 <sup>d</sup>	18,67±0,68 <sup>E</sup>
%100M	53,00±0,11 <sup>e</sup>	25,13±0,23 <sup>C</sup>
%50E	37,84±3,46 <sup>f</sup>	22,06±0,91 <sup>D</sup>

a-f ve A-H: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

**Ek-1.6.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin hidrolize tanen miktarına ilişkin varyans analiz çizelgesi

		<b>Kareler Toplamı</b>	<b>df</b>	<b>Kareler Ortalaması</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Nar Kabuğu	Gruplar Arası	45236,229	12	3769,686	60,253	0,000*
	Gruplar İçi	813,334	13	62,564		
	Toplam	46049,563	25			
Nar Çekirdeği	Gruplar Arası	16550,521	12	1379,210	225,127	0,000*
	Gruplar İçi	79,643	13	6,126		
	Toplam	16630,164	25			

\* : p<0.05

**Ek-1.7.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin hidrolize tanen miktarının Duncan testi ile karşılaştırması

Ekstraksiyon Solventi	Nar Kabuğu (mg TAE/g)	Nar Çekirdeği (mg TAE/g)
DÖS-1	232,75±0,75 <sup>bc</sup>	31,55±2,36 <sup>EF</sup>
DÖS-2	233,32±14,16 <sup>bc</sup>	22,11±3,14 <sup>GH</sup>
DÖS-3	243,30±3,16 <sup>ab</sup>	18,22±0,79 <sup>H</sup>
DÖS-4	147,20±2,34 <sup>h</sup>	22,67±2,36 <sup>GH</sup>
DÖS-5	180,56±10,21 <sup>fg</sup>	19,33±2,36 <sup>H</sup>
DÖS-6	105,55±1,57 <sup>i</sup>	105,44±1,58 <sup>A</sup>
DÖS-7	196,64±6,30 <sup>ef</sup>	55,44±3,14 <sup>D</sup>
DÖS-8	216,08±16,51 <sup>cd</sup>	29,89±3,14 <sup>EF</sup>
DÖS-9	252,17±7,82 <sup>a</sup>	26,55±1,57 <sup>FG</sup>
Su	165,54±1,57 <sup>gh</sup>	28,78±3,14 <sup>EF</sup>
%50M	199,98±6,28 <sup>de</sup>	73,77±2,36 <sup>B</sup>
%100M	156,09±8,61 <sup>h</sup>	64,32±1,57 <sup>C</sup>
%50E	164,98±0,76 <sup>gh</sup>	34,33±3,15 <sup>E</sup>

a-ı ve A-H: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

**Ek-1.8.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin toplam monomerik antosiyanin miktarına ilişkin varyans analiz çizelgesi

		<b>Kareler Toplamı</b>	<b>df</b>	<b>Kareler Ortalaması</b>	<b>F</b>	<b>p</b>
Nar Kabuğu	Gruplar Arası	232,142	12	19,345	5,286	0,003*
	Gruplar İçi	47,577	13	3,660		
	Toplam	279,719	25			
Nar Çekirdeği	Gruplar Arası	519,874	12	43,323	29,356	0,000*
	Gruplar İçi	19,185	13	1,476		
	Toplam	539,060	25			

\* : p<0.05

**Ek-1.9.** Nar kabuğu ve nar çekirdeği örneklerinin toplam monomerik antosiyanin miktarının Duncan testi ile karşılaştırması

Ekstraksiyon Solventi	Nar Kabuğu (mg cyn-3-glu/100 g)	Nar Çekirdeği (mg cyn-3-glu/100 g)
DÖS-1	36,73±0,48 <sup>b</sup>	14,20±1,89 <sup>A</sup>
DÖS-2	35,73±2,36 <sup>b</sup>	6,51±1,42 <sup>C</sup>
DÖS-3	35,73±2,36 <sup>b</sup>	1,34±0,00 <sup>DE</sup>
DÖS-4	35,40±1,88 <sup>b</sup>	8,60±1,53 <sup>C</sup>
DÖS-5	38,57±0,71 <sup>ab</sup>	3,51±1,89 <sup>D</sup>
DÖS-6	37,40±0,94 <sup>ab</sup>	1,59±0,60 <sup>DE</sup>
DÖS-7	36,73±1,42 <sup>b</sup>	11,69±1,42 <sup>AB</sup>
DÖS-8	41,57±2,12 <sup>a</sup>	11,36±1,89 <sup>B</sup>
DÖS-9	36,40±1,41 <sup>b</sup>	8,43±1,06 <sup>C</sup>
Su	28,55±3,54 <sup>c</sup>	1,67±0,47 <sup>DE</sup>
%50M	39,57±2,12 <sup>ab</sup>	1,92±0,12 <sup>DE</sup>
%100M	39,90±0,23 <sup>ab</sup>	3,42±0,59 <sup>D</sup>
%50E	37,07±2,37 <sup>ab</sup>	0,50±0,24 <sup>E</sup>

a-c ve A-E: Aynı sütunda değişik harfleri taşıyan ortalamalar arasındaki fark önemlidir (p<0.05).

