



DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERİN PORTAKAL KABUĞUNDAN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONUNA ETKİSİ

Naciye KUTLU*, Hanife HACİBEKTAŞOĞLU

Bayburt Üniversitesi, Aydıntepe Meslek Yüksekokulu, Gıda İşleme Bölümü, Aydıntepe, Bayburt, Türkiye

Geliş/Received: 30.07.2024; Kabul /Accepted: 24.09.2024; Online baskı /Published online: 28.09.2024

Kutlu, N., Hacibektaşoğlu, H. (2024). Derin ötektik çözücülerin portakal kabuğundan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonuna etkisi. GIDA (2024) 49 (5) 934-945 doi: 10.15237/gida.GD24078

Kutlu, N., Hacibektaşoğlu, H. (2024). Effect of deep eutectic solvents on extraction of bioactive compounds from orange peel. GIDA (2024) 49 (5) 934-945 doi: 10.15237/gida.GD24078

ÖZ

Atık değerlendirme kapsamında en önemli meyve atıklarından biri olan portakal kabuğuna alternatif kullanım alanı oluşturmak adına bu çalışma planlanmıştır. Çalışmada, öncelikle organik çözücülerin (etanol, metanol ve su) yerine alternatif olabilecek farklı tipte derin ötektik çözücüler kullanılarak ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi eşliğinde portakal kabuğu ekstraktları hazırlanmış olup bu ekstraktların biyoaktif bileşik içerikleri (toplam fenolik bileşik, toplam flavonoid bileşik, antioksidan aktivite ve bireysel fenolik bileşik profili) değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, derin ötektik çözücülerin en yüksek toplam flavonoid madde ve antioksidan aktivite değerlerinin sağlanmasında istatistiksel olarak etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bireysel fenolik bileşik profili incelendiğinde en baskın bileşenin hesperidin olduğu görülmüş ve en yüksek değere kolin klorür:gliserol (1:2) kombinasyonu ile ulaşılmıştır. Sonuçta derin ötektik çözücülerin portakal kabuğundan fitokimyasal bileşiklerin ekstraksiyonunda organik çözücülere alternatif olabildikleri saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Portakal kabuğu, ultrasonik ekstraksiyon, yeşil çözücü, fenolik profil

EFFECT OF DEEP EUTECTIC SOLVENTS ON EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM ORANGE PEEL

ABSTRACT

This study was planned to create an alternative use for orange peel, which is one of the most important fruit wastes within the scope of waste utilization. In the study, firstly, orange peel extracts were prepared by ultrasonic assisted extraction using different types of deep eutectic solvents in the green solvent category that can be alternative to organic solvents and the bioactive compound contents of these extracts were evaluated. As a result, it was determined that deep eutectic solvents were statistically effective in providing the highest total flavonoid compound and antioxidant activity values. In addition, when the individual phenolic compound profile was examined, the most dominant component was hesperidin and the highest value was reached with choline chloride:glycerol (1:2) combination. In conclusion, it was determined that deep eutectic solvents can be an alternative to organic solvents in the extraction of phytochemical compounds from orange peel.

Keywords: Orange peel, ultrasonic extraction, green solvent, phenolic profile

* Yazışmalardan sorumlu yazar/ Corresponding author:

✉: naciye.kutlu@bayburt.edu.tr

☎: (+90) 458 311 4426

☎: (+90) 458 311 4466

Naciye Kutlu; ORCID no: 0000-0002-4075-8823

Hanife Hacibektaşoğlu; ORCID no: 0009-0004-2000-5578

GİRİŞ

Gıda endüstrilerinin karşılaştığı en büyük sorunlardan biri, işleme sonrasında açığa çıkan büyük miktarda atık oluşumudur. Bu durum dünyada küresel açıdan önem arz etmekte olup, kaynakların boşuna tüketimi anlamına gelmektedir (Caldeira vd., 2019). Dünyada üretilen gıdanın neredeyse 1/3'ü besin zinciri boyunca israf edilmektedir (Corrado vd., 2019). Bu nedenle gıda atıklarının (yan ürünlerinin) değerlendirilmesi, ilgili sorunları en aza indirmek adına birçok araştırmacının odak noktası olmuştur. Hatta gıda israfı konusunda farkındalık yaratmak dünya çapında siyasi bir öncelik haline gelmiştir (Kringel vd., 2019). Evlerde meydana gelen atıkların, Avrupa'da toplam gıda atıkların %50'sinden fazlasını, Amerika Birleşik Devletleri'nde ise toplam gıda atıklarının %60'ını oluşturduğu tahmin edilmektedir (Stancu vd., 2016). Ayrıca evlerdeki atıkların da %50'sinin meyve ve sebzelerden kaynaklandığı bilinmektedir. Oluşan bu atıklar hem gıda ve tarım sektöründe zararlara yol açmakta hem de ciddi derecede çevreye zarar vermektedir. Bu yüzden, atıkların değerlendirilerek katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi gerekmektedir (Kringel vd., 2019).

Dünyada turunçgil üretim alanlarının %45'ini portakal, %35'ini mandalina, %15'ini limon ve %4'ünü greyfurt oluşturmaktadır. USDA (United States Department of Agriculture- Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı) verilerine göre, 2021/22 piyasa yılı itibarıyla dünyada toplam 49 milyon ton portakal üretilmektedir ve portakalın bu denli ciddi bir paya sahip olmasının en önemli sebebi özellikle meyve suyu sanayisi tarafından en çok tercih edilen turunçgil türü olmasıdır (Anonim, 2023). Türkiye ise 1,8 milyon tonluk üretim miktarı ile dünya portakal üretiminde 7. sırada bulunmaktadır (TÜİK, 2023). Son zamanlarda, bazı çalışmalar, portakal gibi meyvelerin yan ürünlerinin, doğal bir antioksidan kaynağı olabileceğini rapor etmişlerdir (Lagha-Benamrouche ve Madani, 2013; Temirbekova, 2019). Portakalın meyve suyuna işlenmesi sırasında yaklaşık %50 oranında atık oluşmaktadır ve bu atığın büyük çoğunluğunu kabuk kısmı oluşturur (Hashmi vd., 2012; Kaynarca ve Aşkın,

2020). Portakal kabuğunun antioksidan, antimikrobiyal, antikarsinogenik ve antienflamatuar özelliğinin olduğu ve yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip olduğu rapor edilmiştir (Ghasemia vd., 2009; Khan vd., 2010; Güzel ve Akpınar, 2017).

Ultrasonik destekli ekstraksiyon yeşil teknolojiler arasında yer almaktadır. Ultrasonik destekli ekstraksiyonda, materyal ile ses dalgaları etkileşime girmekte ve hücrelerde bazı değişimler meydana gelmektedir. Bu yöntemde ana itici güç akustik kaviteasyon olarak tanımlanır. Bu etki ile ortamdaki moleküller bir dizi sıkışma ve gevşeme döngüsüne girmektedir. Bu şekilde değişen basınç, sıvı ortamdaki kabarcık oluşumuna ve etki sonunda bu kabarcıkların patlamasını sağlamaktadır (Piyasena vd., 2003). Ultrases teknolojisi ile oluşan mekanik etkiler kütle transferi olumlu yönde etkilenmektedir (Awad vd., 2012). Ek olarak, uygulama sırasında geleneksel yöntemlere kıyasla düşük çalışma sıcaklıkları ile biyoaktif bileşiklerinden sıcaklığa duyarlı/kararsız bileşenlerin de ekstraksiyonunu gerçekleştirerek daha yüksek başarıya ulaşmayı mümkün kılmaktadır (Madhu vd., 2019). Ayrıca, bu yöntemin en önemli avantajı işlem süresini kısaltmasıdır. Bunun yanı sıra, geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında, çözücü tüketimi ve enerji sarfıyatı azalmakta, son ürün kalitesi ve işlem verimi daha yüksek olmaktadır (Chemat vd., 2017).

Bununla birlikte, ekstraksiyonda kullanılan çözücünün türü, termal kararsızlığı, çözünürlüğü, polaritesi, toksisitesi ve konsantrasyonu gibi birçok faktör genel olarak ilgili üründen doğal biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon başarısı için oldukça önemlidir (Mbous vd., 2017). Metanol, asetonitril, etanol, hekzan ve aseton gibi geleneksel organik çözücüler, ekstraksiyon, ayırma ve ön konsantrasyon dahil olmak üzere gıda analizi için saflaştırma teknolojilerinde gereklidir. Bu geleneksel organik çözücüler düşük maliyetlidir ancak bunların kalıntı seviyeleri ve bunun sonucunda ortaya çıkan kirlilik endişe vericidir (Chen vd., 2019). Bu nedenle son yıllarda gıda ürünlerinden doğal biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için çözücü arayışı derin ötektik

çözücülerin de dahil olduğu bazı yeşil çözücü tiplerinin keşfine yol açmıştır (Mbous vd., 2017).

Derin ötektik çözücüler, en az bir hidrojen bağı alıcı (HBA) ve bir hidrojen bağı donörün (HBD) karışımlarıdır. Bu formülasyonda iki ya da daha fazla bileşimin karışmasıyla, bu karışımı oluşturan bileşiklerin erime noktalarından daha düşük değere sahip olan bir karışım oluşabilmektedir (Kutlu vd., 2021). Derin ötektik çözücüler geleneksel iyonik sıvılardan farklı kimyasal özelliğe sahip olmalarına rağmen benzer fiziksel özelliğe sahiptirler. Bununla birlikte derin ötektik çözücüler düşük buhar basıncı, yanmazlık, kolay hazırlama, toksik olmama, ham maddenin ucuz olması gibi belirli avantajlara sahiptir (Smith vd., 2014). En yaygın derin ötektik çözücüler hidrojen bağ alıcı olarak kolin klorür (ChCl)'ün, hidrojen bağ donörü olarak ise üre, sitrik asit, süksinik asit ya da gliserol vb. bileşiklerin kullanıldığı kombinasyonlardır (Paiva vd., 2014). Bu gibi doğal ürünler (birincil metabolitlere dayanan), muazzam kimyasal çeşitlilikleri, biyolojik olarak bozunabilir özellikleri ve farmasötik olarak kabul edilebilir toksisite profiline sahip olmaları nedeni ile ideal çözücü olarak değerlendirilmektedir (Dai vd., 2013a). Derin ötektik çözücüler sınıfında sınıflandırılan çözücüler farklı uygulama alanlarında eşsiz sonuçlar ortaya çıkarmasına rağmen biyolojik ve endüstriyel uygulamaları ile alakalı yeterli bilimsel verinin olmaması nedeniyle bu çözücülerin özellikle ticari formülasyonlarda kullanımına dikkate edilmesi gerektiği rapor edilmektedir. (Hayyan vd., 2013). Bu nedenle son birkaç yıldır gıda ve farklı uygulama alanlarında sıklıkla tercih edilmeye başlanan bu çözücüler kullanılarak yapılacak olan çalışmaların sonuçları sürdürülebilirlik açısından önem arz etmektedir.

Yapılan literatür taramasında portakal kabuğundan biyoaktif bileşik eldesinde çözücü olarak derin ötektik çözücünün kullanıldığı sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Ozturk vd. (2018) kolin klorür bazlı gliserol ve etilen glikol kombinasyonlarında hazırladıkları derin ötektik çözücüler ile portakal kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanarak işlem uygulamışlardır. Bizim çalışmamızda daha fazla sayıda ve farklı derin ötektik çözücü

kombinasyonları kullanılmış olması ve ultrasonik destekli ekstraksiyon kullanımını bu çalışmadan farkımızı göstermektedir. Ek olarak geleneksel ekstraksiyon yöntemleri yerine ultrasonik destekli ekstraksiyon kullanmak çalışmamızın diğer bir önemli özelliğidir. Gómez-Urios vd. (2022) ve Viñas-Ospino vd. (2023) yaptıkları çalışmalarda, portakal kabuğunun ekstraksiyonunda farklı derin ötektik çözücülerin karotenoidler üzerine etkilerini incelemişler, fakat bizim çalışmamızda kullanılan derin ötektik çözücü kombinasyonlarını değerlendirmemişlerdir. Lin (2022) portakal kabuğundan fenolik asit ekstraksiyonunda sadece kolin klorür:glukoz (farklı molar oranlarında) kombinasyonunu kullanmıştır. Bu çalışmada kullanılan çözücü ile de bizim çalışmamızda kullanılan çözücüler farklıdır. Zhou vd. (2023) ise portakal kabuğundan fitokimyasal bileşik ekstraksiyonunda sadece kolin klorür:laktik asit (molar oran 1:2) kombinasyonunu kullanmıştır. Farklı materyallerle yapılan çalışmalar incelendiğinde, Dai vd., (2013b) *Carthamus tinctorius* L. bitkisinden derin ötektik çözücüler ile hem polar hem de daha az polar metabolitlerin ekstrakte edilebilirliğinin geleneksel çözücülerden daha fazla olduğunu göstermiştir ve derin ötektik çözücülerin çok çeşitli metabolitler için mükemmel çözücüler olduğunu kanıtlamıştır (Dai vd., 2013a). Benzer şekilde yapılan araştırmalarda farklı derin ötektik çözücü uygulamalarının gıda materyallerinden biyoaktif bileşik ekstraksiyonunda kullanımının kozmetik ve gıda endüstrilerinde kullanım potansiyeli için umut verici olduğu rapor edilmiştir (Dai vd., 2013b). Bu nedenle bu çalışma, portakal kabuğundan farklı derin ötektik çözücülerin (Kolin klorür:gliserol – molar oran 1:2, Kolin klorür:laktik asit – molar oran 1:2, Kolin klorür:asetik asit – molar oran 1:2 ve Kolin klorür:üre – molar oran 1:2) birlikte kullanılması ile biyoaktif içeriklerinin belirlenmesi konusunda özgün çalışma niteliğindedir.

Bu çalışmada, öncelikle organik çözücülerin (etanol, metanol ve su) yerine alternatif olabilecek farklı tipte derin ötektik çözücüler çözücülerin (Kolin klorür:gliserol – molar oran 1:2, Kolin klorür:laktik asit – molar oran 1:2, Kolin klorür:asetik asit – molar oran 1:2 ve Kolin klorür:üre – molar oran 1:2) kullanılarak

ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi eşliğinde portakal kabuğu ekstraktları hazırlanmış olup bu ekstraktların biyoaktif bileşik içerikleri (toplam fenolik bileşik, toplam flavonoid bileşik, antioksidan aktivite ve bireysel fenolik bileşik profili) değerlendirilerek en yüksek verime sahip derin ötektik çözücü kombinasyonu belirlenmiştir. Gıda üretiminin her aşamasında gıda kalite/güvenilirlik analizlerinin zorunlu hal aldığı günümüzde hem insan sağlığı ve hem de çevre sağlığını korumak adına, biyoaktif maddelerin eldesinde organik çözücülere alternatif olarak yeşil bir alternatif çözücü oluşturma öngörüsü ile çalışma yürütülmüştür.

MATERYAL VE YÖNTEM

Materyal

Portakal (*Citrus sinensis*) kabuğu, Bayburt'ta bulunan yerel meyve suyu üreticilerinden temin edilmiştir. Portakal kabuğu öncelikle 60 °C sıcaklıkta sıcak hava ile kurutulmuş toz haline getirilmiş (Fakir, Aromatic, Almanya) ve ekstraksiyon işlemlerinde kullanılmaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır. Analizlerde ve derin ötektik çözücü hazırlanmasında kullanılan kimyasallar, analitik saflıktadır.

Yöntem

Derin ötektik çözücülerin (DES) hazırlanması

Çalışmada hidrojen bağ alıcısı (HBA) olarak kuarterner amonyum tuzu olan kolin klorür kullanılmıştır. Hidrojen bağ donörü (HBD) olarak ise 4 farklı bileşen belirlenmiştir. Ekstraksiyon deneylerinde kullanılan kolin klorür bazlı DES kombinasyonları, su ve molar oranları Çizelge 1'de sunulmuştur. Derin ötektik çözücüler oluşturulduktan sonra, yüksek viskozite

olumsuzluğunu bertaraf etmek adına %30 oranında (Zhang ve Wang, 2017) su ilave edilmiştir. Karışım daha sonra homojen renksiz bir sıvı elde edilene kadar çalkalamalı inkübatör kullanılarak 30 °C ve 180 devir/dk'da karıştırılmıştır. Ardından, reaksiyona girmemiş serbest asitleri uzaklaştırmak amacıyla, 80 °C'de 12 saat kadar bekletilmiştir (Xu vd., 2016). Ek olarak geleneksel çözücülerden ekstraksiyon proseslerinde en çok tercih edilenler (etanol, metanol ve saf su) de çalışma kapsamında kullanılmıştır. Ekstraksiyon veriminde derin ötektik çözücüler ile karşılaştırılan grup, çözücü olarak etanol kullanılan gruptur. Bunun nedeni ise, organik çözücülerden olan etanolün literatürde fenolik bileşik ekstraksiyonunda sıklıkla kullanılan çözücülerden biri olmasıdır (Plaskova ve Mlcek, 2023).

Ultrasonik destekli ekstraksiyon

Ultrasonik ekstraksiyon öncesinde, kurutulmuş ve toz haline getirilmiş olan portakal kabuğu ve Çizelge 1'de verilen çözücüler katı:çözücü oranı 1/30 g/mL olacak şekilde hazırlanmıştır. Ardından ultrasonik banyoda (Kudos, SK2210HP, Hindistan) 150 W ultrasonik güçte, 40 °C sıcaklıkta, 45 dk bekletildikten sonra buradan alınan çözeltiler daha sonra 3500 devir/dk'da 40 dk boyunca santrifüj (Hermle Z 326K, Hermle Labortechnik, Wehngen, Almanya) edilmiştir. Ekstraksiyon koşulları literatür baz alınarak belirlenmiştir (İnce vd., 2014; Çelik vd., 2022). Santrifüj sonunda çözeltinin süpernatant kısmı alınarak 0.45 µm çapında filtreden filtre edilerek analizlerde kullanılmaya kadar -18 °C'de muhafaza edilmiştir.

Çizelge 1. Çalışmada kullanılan derin ötektik ve geleneksel çözücüler

Table 1. Deep eutectic and conventional solvents used in the study

No	Bileşen 1 (HBA) Component 1 (HBA)	Bileşen 2 (HBD) Component 2 (HBD)	Su oranı (%) Water ratio (%)	Molar oran Molar ratio
1	Kolin Klorür	Gliserol	30	1:2
2	Kolin Klorür	Laktik asit	30	1:2
3	Kolin Klorür	Asetik asit	30	1:2
4	Kolin Klorür	Üre	30	1:2
5		Metanol	70	-
6		Etanol	70	-
7		Saf su (Distilled water)	100	-

Toplam fenolik madde (TFM)

Çalışmada hazırlanan portakal kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik bileşik tayini Folin-Ciocalteu metoduna göre gerçekleştirilmiştir (Slinkard ve Singleton, 1977). Fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgediği bir redoks reaksiyonuna dayanan spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir. Bu amaçla örnekler Folin-Ciocalteu ayracı ve sodyum karbonat (NaCO₃) ile muamele edilerek, 765 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülmüştür. Toplam fenolik madde miktarı gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak hesaplanmış ve sonuçlar mg GAE/100 g kuru madde şeklinde ifade edilmiştir.

Toplam flavonoit madde (TFlaM)

Portakal kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoit madde analizi, Zhishen vd. (1999) tarafından uygulanan yöntemin modifiye edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Buna göre 1 mL ekstrakt, 0.3 mL NaNO₂ (%5) çözeltisi ilave edildikten sonra 0.3 mL AlCl₃.6H₂O (%10) çözeltisi ile karıştırıldı. 2 mL 1 M NaOH çözeltisi, ardından 2.4 mL su ilave edildi ve karışım karıştırıldı. Karışımın absorbansı, bir Epoch2 mikropilaya okuyucusu (Bio-Tek Instruments, Winooski, VT, ABD) tarafından 510 nm'de ölçülmüştür. Oluşturulan kuersetin standart eğrisinde örneklerin gösterdiği absorbans değerine karşılık gelen toplam flavonoit madde miktarı kuersetin eşdeğeri (KE) olarak hesaplanmış ve sonuçlar mg KE/100 g kuru madde şeklinde ifade edilmiştir.

Antioksidan aktivite

Portakal kabuklarının farklı çözücüler ile hazırlanan ekstraktlarında antioksidan aktivite testleri 3 farklı yöntem (CUPRAC, CERAC ve DPPH•) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) yöntemi: Portakal kabuğu ekstraktlarının CUPRAC yöntemi kullanılarak antioksidan kapasite ölçümleri Apak vd. (2004) önerdiği yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Toplam antioksidan kapasite hesaplanırken troloks referans olarak kullanılmış ve sonuçlar mg troloks eşdeğeri (TE)/100 g kuru madde şeklinde ifade edilmiştir.

Seryum (IV) indirgeyici antioksidan kapasite (CERAC) yöntemi: Portakal kabuğu ekstraktlarının CERAC yöntemi kullanılarak antioksidan kapasite ölçümleri Özyurt vd. (2007) tarafından önerilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Toplam antioksidan kapasite hesaplanırken troloks referans olarak kullanılmış ve sonuçlar mg troloks eşdeğeri (TE)/100 g kuru madde şeklinde ifade edilmiştir.

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•) radikal söndürücü kapasite yöntemi: Portakal kabuğu ekstraktlarının DPPH• yöntemi kullanılarak antioksidan kapasite ölçümleri Szabo vd. (2007) önerdiği yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Toplam antioksidan kapasite hesaplanırken troloks referans olarak kullanılmış ve sonuçlar mg troloks eşdeğeri (TE)/100 g kuru madde şeklinde ifade edilmiştir.

Bireysel fenolik bileşik profili

Portakal kabuğu ekstraktlarının bireysel fenolik bileşik profili LC-MS/MS kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Ecem Bayram vd., 2020; Ecem Bayram vd., 2021). Toplam 28 farklı fenolik bileşimin taraması portakal kabuğu ekstraktlarında gerçekleştirilmiştir. Hidroliz yöntemiyle ekstraksiyon, 100 µl numunenin 200 µl 2 mol-l-1 HCl ile karıştırılmasını ve 30 saniye boyunca vortekle karıştırılmasını içermektedir. Daha sonra, çözelti 90 °C'de 40 dakika boyunca bir sonikatör kullanılarak hidrolize edilmiştir. 700 µl ekstraksiyon çözücüsü eklendikten sonra örnekler 22400 ×g'de 5 dakika santrifüjlenmiş ve berrak süpernatant LC-MS/MS ile kantitatif analiz için kullanılmıştır.

Ekstraksiyon verimi

Ekstraksiyon verimi son ürünlerde yapılan analizler sonucunda, çözücü olarak etanolün kullanıldığı ekstraktta elde edilen toplam bireysel fenolik madde miktarı üzerinden hesaplanmıştır. Ekstraksiyon verimi, aşağıdaki Eşitlik 1 kullanılarak belirlenmiştir (Pereira vd., 2016; Dumitraşcu vd., 2019; Kutlu, 2019):

$$Y (\%) = \frac{TBFM_i}{TBFM_0} \times 100 \quad (1)$$

Bu denklemde;

Y: Verim, TBFM₀: Derin ötektik çözücü ile ekstrakte edilen numunenin toplam bireysel fenolik madde miktarıdır. TBFM₀: Etanol ekstraktının toplam bireysel fenolik madde miktarıdır.

İstatistiksel analiz

Bulgulara yönelik istatistiksel analizler MINITAB 15.1.1.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bağımlı değişkenler arasındaki farklılık, ANOVA-Tukey testi ile %95 güven aralığında belirlenmiştir. Tüm analizler 2 tekerrür ve 2 paralel olarak yapılmıştır.

BULGULAR VE TARTIŞMA

Derin ötektik çözücülerin TFM, TFLaM, CUPRAC, CERAC ve DPPH• verimine etkisi
Portakal kabuklarına farklı çözücüler ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktlarda belirlenen TFM, TFLaM, CUPRAC, CERAC ve DPPH• değerleri Çizelge 2'de verilmiştir. Ekstraktların TFM değerlerine bakıldığında, istatistiksel olarak en yüksek değer su ile (No 7) sağlandığı ve bunu etanol (No 6) ve metanolün (No 5) takip ettiği saptanmıştır. Derin ötektik

çözücüler ile elde edilen ekstraktların TFM değerleri kontrol gruplarına göre oldukça düşük bulunmuştur. Derin ötektik çözücüler kendi aralarında değerlendirildiğinde, 137.95 mg GAE/100 g kuru madde değeriyle en yüksek değer kolin klorür:gliserol kombinasyonu (No 1) ile istatistiksel olarak en düşük değerler ise 32.95 mg GAE/100 g kuru madde değeriyle kolin klorür:asetik asit (No 3) ve 14.81 mg GAE/100 g kuru madde değeriyle kolin klorür:üre (No 4) kombinasyonlarıyla belirlenmiştir. En yüksek TFLaM değerleri, kolin klorür:gliserol (No 1) ve su (No 7) kullanılarak elde edilen ekstraktlarda saptanmış olup, bu koşullarda değerler sırasıyla 45.95 ve 46.47 mg KE/100 g kuru madde olarak bulunmuştur. En düşük TFLaM miktarı ise 28.08 mg KE/100 g kuru madde değeri ile kolin klorür:asetik asit (No 3) kombinasyonunda elde edilmiştir. Antioksidan aktivite değerleri incelendiğinde, CUPRAC yöntemi ile kontrol grubunda (metanol-No 5) en yüksek değer bulunurken, CERAC ve DPPH• yöntemleri ile derin ötektik çözücü (kolin klorür:laktik asit-No 2) ile en yüksek değerlere erişilmiştir.

Çizelge 2. Farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların biyoaktif bileşik içerikleri

Table 2. Bioactive compound contents of extracts obtained with different solvents

No	TFM (mg GAE/100 g kuru madde) TPC (mg GAE/100 g dry matter)	TFLaM (mg KE/100 g kuru madde) TFC (mg QE/100 g dry matter)	CUPRAC (mg TE/100 g kuru madde) CUPRAC (mg TE/100 g dry matter)	CERAC (mg TE/100 g kuru madde) CERAC (mg TE/100 g dry matter)	DPPH• (mg TE/100 g kuru madde) DPPH• (mg TE/100 g dry matter)
1	137.95±0.01 ^d	45.95±0.01 ^a	35.30±0.01 ^c	284.01±0.15 ^{bc}	33.29±0.03 ^{ab}
2	100.92±0.01 ^d	34.54±0.01 ^c	20.11±0.00 ^e	442.61±0.33 ^a	38.13±0.02 ^a
3	32.95±0.02 ^e	28.08±0.01 ^d	30.60±0.00 ^d	329.49±0.25 ^b	32.50±0.00 ^b
4	14.81±0.00 ^e	31.80±0.00 ^c	39.65±0.02 ^b	303.53±0.28 ^{bc}	24.65±0.00 ^c
5	217.74±0.11 ^c	41.84±0.01 ^b	43.89±0.02 ^a	297.75±0.32 ^{bc}	32.18±0.03 ^b
6	340.74±0.22 ^b	32.42±0.01 ^c	36.51±0.01 ^{bc}	236.25±0.26 ^{cd}	29.88±0.02 ^{bc}
7	543.43±0.31 ^a	46.47±0.02 ^a	33.01±0.02 ^{cd}	187.83±0.18 ^d	32.90±0.01 ^{ab}

Aynı sütundaki farklı harflere ait (a, b, c, d, e) değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($P < 0.05$)

Values of different letters (a, b, c, d, e) in the same column are statistically different from each other ($P < 0.05$)

Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında derin ötektik çözücülerin en yüksek TFlaM, antioksidan aktivite (CERAC ve DPPH•) değerlerinin sağlanmasında etkili olduğu görülmüştür. TFM ve CUPRAC üzerine ise organik çözücüler kadar etkili olamamıştır. Literatür incelendiğinde, Ozturk vd. (2018) farklı molar oranlarda (1:2, 1:3 ve 1:4) hazırladıkları kolin klorür:gliserol ve kolin klorür:etilen glikol çözücülerini portakal kabuğundan TFM ekstraksiyonu için kullanmışlar ve istatistiksel olarak en yüksek TFM miktarlarının klorür:gliserol (1:2) ve kolin klorür:etilen glikol (1:4) ile elde edildiğini saptamışlardır. Aynı çalışmada antioksidan aktivite üzerine ise en etkili derin ötektik çözücü kombinasyonunun klorür:gliserol (1:2) olduğu rapor edilmiştir. Viñas-Ospino vd. (2023) ise derin ötektik çözücüler ile verimin istatistiksel olarak düşük kalmasına rağmen, stabilitesinin yüksek olduğu ve bu nedenle bu çözücülerin kullanımının desteklenmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Farklı olarak Pal ve Jadeja (2019), soğan kabuklarından polifenol ekstraksiyonunda derin ötektik çözücülerden yararlanmışlardır. En yüksek TFM ve antioksidan aktivite verimine kolin klorür:üre:su (1:2:4) kombinasyonunda erişilmiştir. Hidrojen bağ donörü olarak, Amid grubu olan ürenin soğan kabuğundan biyoaktif bileşik eldesinde geleneksel çözücülere alternatif olabileceği bildirilmiştir. Jeong vd. (2017) ise yeşil çaydan (*Camellia sinensis*) kateşin ekstraksiyonu için dokuz betain bazlı, sekiz sitrik asit bazlı ve dokuz gliserol bazlı derin ötektik çözücü dahil olmak üzere 26 farklı çözücüyü test etmişlerdir. Elde edilen verilere göre, betain, gliserol ve D-(+)-glukoz karışımının (4:20:1 molar oran), diğer organik çözücülere kıyasla daha yüksek flavonoid madde verimi sağladığı belirlenmiştir. Bu bulgu bizim çalışmamızla da uyumludur.

Derin ötektik çözücülerin bireysel fenolik bileşik profili üzerine etkisi

Portakal kabuklarına farklı çözücüler ile yapılan ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktlarda 28 farklı bireysel fenolik taraması yapılmış olup, saptanan değerler Çizelge 3'te verilmiştir. Çizelge incelendiğinde en baskın fenolik bileşenin hesperidin olduğu belirlenmiştir. En yüksek hesperidin değeri, kolin klorür:gliserol (No 1)

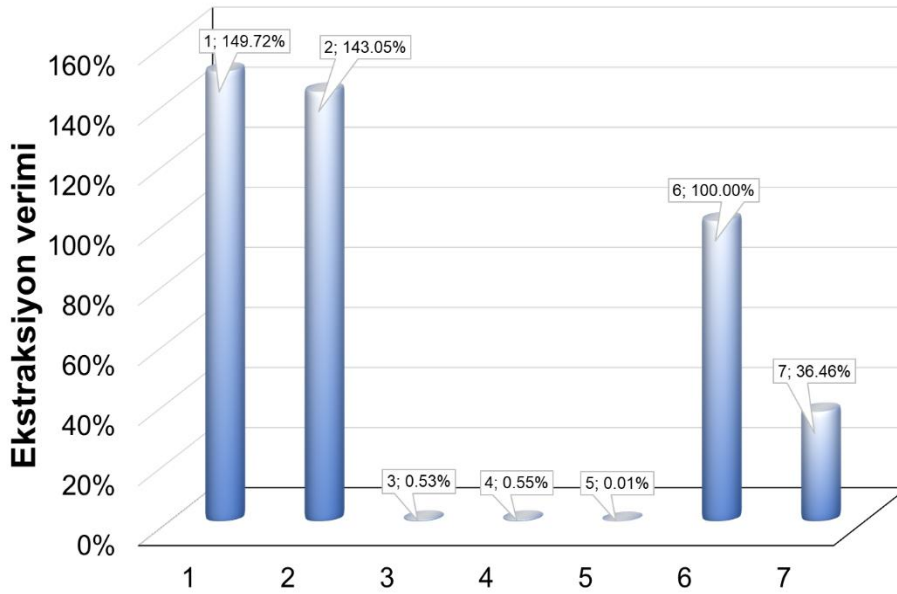
kombinasyonu ile elde edilmiş olup, bu değer etanol (No 6) ve su (No 7) kullanılarak belirlenen değerlere göre sırasıyla 1.5 ve 4.1 kat daha fazla bulunmuştur. Metanol ekstraktında ise hesperidin bileşiği tespit edilememiştir. Hesperidin, turuncgillerde bol miktarda bulunan bir flavanon glikozit olup, antioksidan, antienflamatuar, antikarsinojenik ve antialerjik etki göstermektedir (Garg vd., 2001; Parhiz vd., 2015). Ayrıca hesperidin bildiren antikarsinojenik etkilerinin, antioksidan ve antienflamatuar aktiviteleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Aggarwal vd., 2020). Bu bilgiler ışığında, derin ötektik çözücüler ile elde edilen ekstraktların bu bileşeni yüksek miktarda içermesi oldukça önemlidir. Tüm derin ötektik çözücülerde, organik çözücülere (etanol ve su) nazaran daha yüksek verimde elde edilmiştir. Toplam bireysel fenolik bileşik miktarları incelendiğinde, 486.35 ppm ile en yüksek değer çözücü olarak kolin klorür:gliserol (No 1) kombinasyonu kullanıldığında elde edildiği görülmektedir. Bu kombinasyonu, 464.68, 324.83, 118.41, 1.79, 1.73 ve 0.02 ppm değerleriyle sırasıyla kolin klorür:laktik asit (No 2), etanol (No 6), su (No 7), kolin klorür:üre (No 4), kolin klorür:asetik asit (No 3) ve metanol (No 5) takip etmektedir. Derin ötektik çözücüler ile elde edilen TFM değerlerinin geleneksel çözücülere göre daha düşük olmasına karşın, bireysel fenolik bileşik verimlerinin yüksek olması bu çözücülerin bazı polifenolik bileşiklere karşı çok daha seçici olduğunu göstermektedir. Benzer bulgular Ozturk vd. (2018) tarafından da bildirilmiştir.

Farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimleri Şekil 1'de görülmektedir. Yöntem kısmında değinildiği üzere ekstraksiyon verimi hesaplanırken etanol (No 6) ile elde edilen toplam bireysel fenolik bileşik değeri (324.83 ppm) baz alınmıştır. Şekil 1 incelendiğinde, kolin klorür:gliserol (No 1) ve kolin klorür:laktik asit (No 2) kombinasyonlarının ekstraksiyon veriminin en yüksek olduğu belirlenmiştir. Derin ötektik çözücülerden kolin klorür:asetik asit (No 3) ve kolin klorür:üre (No 4) kombinasyonlarının ise portakal kabuğundan bireysel fenolik bileşik ekstraksiyonunda başarılı olamadığı ve verimin çok düşük kaldığı saptanmıştır.

Çizelge 3. Farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların bireysel fenolik bileşik miktarları
 Table 3. Individual phenolic compound of extracts obtained with different solvents

Fenolik bileşik (ppm) Phenolic compounds (ppm)	1	2	3	4	5	6	7
(-)-Epicatechin	0.00206±0.00 002	0.00293±0.00 019	0.00279±0. 00022	0.00185±0. 00018	0.00381±0. 00032	0.02646±0.00 220	ND±ND
Apigenin	0.01891±0.00 178	0.01901±0.00 038	0.00145±0. 0002	0.00158±0. 00015	0.00128±0. 00023	0.06385±0.00 202	0.00573±0.0 0059
Artepillin C	0.00145±0.00 001	0.00134±0.00 023	0.00180±0. 00021	0.00151±0. 00017	0.00158±0. 00014	0.00376±0.00 012	0.00134±0.0 0020
Caffeic acid phenethyl ester	0.05388±0.00 195	0.04480±0.00 652	0.00355±0. 0001	0.00253±0. 00017	ND±ND	0.15926±0.00 772	0.02651±0.0 0251
Catechol	0.05745±0.00 173	0.03458±0.00 414	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.02366±0.00 249	0.04077±0.0 0844
Chlorogenic acid	0.00518±0.00 049	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.00688±0.0 0056
Chrysin	0.10939±0.00 398	0.10927±0.01 097	0.00627±0. 00077	0.00593±0. 00038	ND±ND	0.50047±0.01 832	0.03529±0.0 0057
Epicatechin gallate	0.01422±0.00 210	0.01672±0.00 079	0.00503±0. 00056	ND±ND	ND±ND	0.56024±0.04 098	0.00781±0.0 0017
Galangin	0.08026±0.00 858	0.06982±0.00 985	0.00767±0	0.00440±0. 00029	0.00814±0. 00083	0.23225±0.00 698	0.02396±0.0 0131
Gallic acid	0.00487±0.00 047	0.00768±0.00 054	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.03936±0.00 306	0.01412±0.0 0013
Gallocatechin+Epiga llocatechin	0.02044±0.00 072	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.11134±0.00 574	0.00754±0.0 0034
Hesperidin	484.98875±1 0.09868	463.42792±1 8.09361	1.69281±0. 23536	1.76556±0. 06223	ND±ND	321.38156±1 8.26524	117.07681±1 .36424
Hyperosid	0.19547±0.01 084	0.19241±0.00 514	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.21041±0.00 640	0.15179±0.0 1051
Kaempferol	0.02026±0.00 382	0.01305±0.00 293	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.08425±0.00 259	0.03948±0.0 0441
Luteolin	0.04067±0.00 249	0.03213±0.00 223	0.00892±0. 00096	0.00518±0. 00029	0.00754±0. 00081	0.03097±0.00 162	0.00623±0.0 0036
Myricetin	0.00047±0.00 013	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.00387±0.00 003	ND±ND
Naringenin	0.03617±0.00 086	0.04370±0.00 075	0.00029±0. 00002	0.00028±0. 00006	ND±ND	0.04354±0.00 326	0.08298±0.0 0344
Neochlorogenic acid	0.00052±0.00 002	0.00882±0.00 073	0.00007±0. 00001	0.00020±0. 00003	ND±ND	0.00144±0.00 005	0.00271±0.0 0032
p-coumaric acid	ND±ND	0.00264±0.00 035	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND
Pinobanksin	0.18834±0.00 189	0.17514±0.00 385	0.00331±0. 00029	0.00168±0. 00008	ND±ND	0.28513±0.01 077	0.40092±0.0 1831
Pinocembrin	0.07091±0.00 331	0.06890±0.00 930	0.00198±0. 00022	0.00165±0. 00011	ND±ND	0.21695±0.00 867	0.03617±0.0 0058
Protocatechuic acid	0.05756±0.00 257	0.06487±0.00 395	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.36918±0.04 665	0.09654±0.0 0709
Quercetin	0.01475±0.00 235	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND
Quercitrin	0.00484±0.00 002	0.00563±0.00 113	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.01148±0.00 101	0.00155±0.0 0008
Rutin	0.28540±0.01 404	0.29642±0.00 838	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.36066±0.01 418	0.31463±0.0 2032
t-cinnamic acid	0.03959±0.00 421	0.04279±0.00 300	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.03558±0.00 239	0.03983±0.0 0175
Trans-caffeic acid	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND
Trans-ferulic acid	0.04218±0.00 069	ND±ND	ND±ND	ND±ND	ND±ND	0.07952±0.00 068	ND±ND
<i>Total</i>	486.35±10.1	464.68±18.1	1.74±0.2	1.79±0.1	0.02±0.0	324.84±18.3	118.42±1.4

*ND: Tespit edilemedi. *Not detected.*



Şekil 1. Farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimleri
 Figure 1. Extraction yields of extracts obtained with different solvents

SONUÇ

Kolin klorür bazlı 4 farklı derin ötektik çözücü ile organik çözücülerin (metanol, etanol ve su) ekstraksiyon verimleri karşılaştırıldığında, kolin klorür:gliserol ve kolin klorür:laktik asit kombinasyonlarının en yüksek değeri aldıkları görülmüştür. Derin ötektik çözücülerin en yüksek TFlaM, antioksidan aktivite (CERAC ve DPPH•) değerlerinin sağlanmasında istatistiksel olarak etkili olduğu, fakat TFM ve CUPRAC üzerine organik çözücüler kadar etkili olamadığı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra bireysel fenolik bileşik belirlenmesinde kolin klorür:gliserol ve kolin klorür:laktik asit kombinasyonlarının özellikle hesperidin verime etkisinin yüksek olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak, derin ötektik çözücüler portakal kabuğundan biyoaktif bileşik ekstraksiyonunda, spektrofotometrik analiz sonuçlarına göre organik çözücülere yakın değerler alsalar da bireysel fenolik bileşik eldesinde çok daha başarılı bulunmuşlardır. Yeni ve yeşil çözücü kategorisinde bulunan bu çözücülerin, gelecekte farklı gıda materyallerinden farklı fitokimyasal bileşiklerin ekstraksiyonunda organik çözücülere alternatif olabilecekleri düşünülmektedir.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) tarafından yürütülen 2209-A Üniversite Öğrencileri Araştırma Projeleri Destekleme Programı kapsamında desteklenmiştir (Proje No: 1919B012304269).

KAYNAKLAR

- Aggarwal, V., Tuli, H. S., Thakral, F., Singhal, P., Aggarwal, D., Srivastava, S., Pandey, A., Sak, K., Varol, M., Khan, A., Sethi, G. (2020). Molecular mechanisms of action of hesperidin in cancer: Recent trends and advancements. *Experimental Biology and Medicine*, 245(5):486-497.
- Anonim, 2023. Ürün Raporu Turunçgiller 2022. Erişim adresi: <https://www.tarimorman.gov.tr/> Erişim tarihi: 20.05.2023.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S.E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26):7970-7981.

- Awad, T.S., Moharram, H.A., Shaltout, O. E., Asker, D.Y.M.M., Youssef, M.M. (2012). Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. *Food Research International*, 48(2):410-427.
- Caldeira, C., De Laurentiis, V., Corrado, S., van Holsteijn, F., Sala, S. (2019). Quantification of food waste per product group along the food supply chain in the European Union: A mass flow analysis. *Resources, Conservation and Recycling*, 149:479-488.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., 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.
- Chen, J., Li, Y., Wang, X., Liu, W. (2019). Application of deep eutectic solvents in food analysis: A review. *Molecules*, 24(24):4594.
- Corrado, S., Caldeira, C., Eriksson, M., Hanssen, O.J., Hauser, H.E., van Holsteijn, F., Liu, G., Östergren, K., Parry, A., Secondi, L., Stenmarck, A., Sala, S. (2019). Food waste accounting methodologies: Challenges, opportunities, and further advancements. *Global Food Security*, 20:93-100.
- Çelik, S., Kutlu, N., Gerçek, Y. C., Bayram, S., Pandiselvam, R., Bayram, N. E. (2022). Optimization of ultrasonic extraction of nutraceutical and pharmaceutical compounds from bee pollen with deep eutectic solvents using response surface methodology. *Foods*, 11(22):3652.
- Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G.J., Verpoorte, R. Choi, Y.H. (2013a). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766:61-68.
- Dai, Y., Witkamp, G.J., Verpoorte, R., Choi, Y.H. (2013b). Natural deep eutectic solvents as a new extraction media for phenolic metabolites in *Carthamus tinctorius* L. *Analytical Chemistry*, 85(13):6272-6278.
- Dumitraşcu, L., Enachi, E., Stănciuc, N., Aprodu, I. (2019). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cornelian cherry fruits using response surface methodology. *CyTA-Journal of Food*, 17(1):814-823.
- Ecem Bayram, N., Canli, D., Gerçek, Y.C., Bayram, S., Celik, S., Güzel, F., Morgil, H., Oz, G. C. (2020). Macronutrient and micronutrient levels and phenolic compound characteristics of monofloral honey samples. *J. Food Nutr. Res.*, 59:311-322
- Ecem Bayram, N., Gerçek, Y.C., Çelik, S., Mayda, N., Kostić, A.Ž., Dramićanin, A.M., Özkök, A. (2021). Phenolic and free amino acid profiles of bee bread and bee pollen with the same botanical origin—similarities and differences. *Arab. J. Chem.*, 14(3):103004.
- Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L.J.D., Singla, A.K. (2001). Chemistry and pharmacology of the citrus bioflavonoid hesperidin. *Phytotherapy Research*, 15(8):655-669.
- Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ebrahimzadeh, M.A. (2009). Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of 13 citrus species peels and tissues. *Pak. J. Pharm. Sci.*, 22(3):277-281.
- Gómez-Urios, C., Viñas-Ospino, A., Puchades-Colera, P., López-Malo, D., Frígola, A., Esteve, M.J., Blesa, J. (2022). Sustainable Development and Storage Stability of Orange By-Products Extract Using Natural Deep Eutectic Solvents. *Foods*, 11(16):2457.
- Güzel, M., Akpınar, Ö. (2017). Turunçgil kabuklarının biyoaktif bileşenleri ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2):153-167.
- Hashmi, S.H., Ghatge, P., Machewad, G.M., Pawar, S. (2012). Studies on extraction of essential oil and pectin from sweet orange. *J. Food Proc. Tech.*, 1(5):1-3.
- Hayyan, M., Hashim, M.A., Al-Saadi, M.A., Hayyan, A., AlNashef, I.M., Mirghani, M.E.S. (2013). Assessment of cytotoxicity and toxicity for phosphonium-based deep eutectic solvents. *Chemosphere*, 93:455-459.

- Ince, A. E., Sahin, S., Sumnu, G. (2014). Comparison of microwave and ultrasound-assisted extraction techniques for leaching of phenolic compounds from nettle. *Journal of Food Science and Technology*, 51:2776-2782.
- Jeong, K.M., Ko, J., Zhao, J., Jin, Y., Han, S.Y., Lee, J. (2017). Multi-functioning deep eutectic solvents as extraction and storage media for bioactive natural products that are readily applicable to cosmetic products. *Journal of Cleaner Production*, 151:87-95.
- Kaynarca, G.B., Aşkın, B. (2020). Portakal kabuğunun farklı yöntemlerle kurutulması ve bazı teknolojik özelliklerinin incelenmesi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 10(4):2604-2617.
- Khan, M.K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.S., Dangles, O., Chemat, F. (2010). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel. *Food Chemistry*, 119(2):851-858.
- Kringel, D.H., Dias, A.R.G., Zavareze, E.D.R., Gandra, E.A. (2020). Fruit wastes as promising sources of starch: Extraction, properties, and applications. *Starch-Stärke*, 72(3-4):1900200.
- Kutlu, N. (2019). Kızılcık meyvesinden (*Cornus mas*) ohmik destekli mikrodalga ve ultrasonik yöntemleri ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s. 49.
- Kutlu, N., Yılmaz, M.S., İşci, A., Şakıyan, Ö. (2021). Gıdalardan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda derin ötektik çözücülerin kullanımı. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(2):591-597.
- Lagha-Benamrouche, S. Madani, K. (2013). Phenolic contents and antioxidant activity of orange varieties (*Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L.) cultivated in Algeria: Peels and leaves. *Industrial Crops and Products*, 50:723-730.
- Lin, L. (2022). Phenolic acid extraction from orange peel with natural deep eutectic solvents. *In Journal of Physics: Conference Series* (Vol. 2321, No. 1, p. 012020). IOP Publishing.
- Madhu, B., Srinivas, M.S., Srinivas, G., Jain, S.K. (2019). Ultrasonic technology and its applications in quality control, processing and preservation of food: A review. *Current Journal of Applied Science and Technology*, 32(5):1-11.
- Mbous, Y.P., Hayyan, M., Hayyan, A., Wong, W.F., Hashim, M.A., Looi, C.Y. (2017). Applications of deep eutectic solvents in biotechnology and bioengineering-Promises and challenges. *Biotechnology Advances*, 35(2):105-134.
- Ozturk, B., Parkinson, C., Gonzalez-Miquel, M. (2018). Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents. *Separation and Purification Technology*, 206:1-13.
- Özyurt, D., Demirata, B., Apak, R. (2007). Determination of total antioxidant capacity by a new spectrophotometric method based on Ce (IV) reducing capacity measurement. *Talanta*, 71(3):1155-1165.
- Paiva, A., Craveiro, R., Aroso, I., Martins, M., Reis, R.L., Duarte, A.R.C. (2014). Natural deep eutectic solvents—solvents for the 21st century. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(5):1063-1071.
- Pal, C.B.T., Jadeja, G.C. (2019). Deep eutectic solvent-based extraction of polyphenolic antioxidants from onion (*Allium cepa* L.) peel. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4):1969-1979.
- Parhiz, H., Roohbakhsh, A., Soltani, F., Rezaee, R., Iranshahi, M. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models. *Phytotherapy Research*, 29(3):323-331.
- Pereira, R.N., Rodrigues, R.M., Genisheva, Z., Oliveira, H., de Freitas, V., Teixeira, J.A., Vicente, A.A. (2016). Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. *LWT*, 74:493-503.
- Piyasena, P., Mohareb, E., McKellar, R.C. (2003). Inactivation of microbes using ultrasound: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 87(3):207-216.
- Plaskova, A., Mlcek, J. (2023). New insights of the application of water or ethanol-water plant extract

- rich in active compounds in food. *Frontiers in Nutrition*, 10:1118761.
- Slinkard, K., Singleton, V.L. (1977). Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28:49–55.
- Smith, E.L., Abbott, A.P., Ryder, K.S. (2014). Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical Reviews*, 114(21):11060-11082.
- Stancu, V., Haugaard, P., Lähteenmäki, L. (2016). Determinants of consumer food waste behaviour: Two routes to food waste. *Appetite*, 96:7-17.
- Szabo, M., Idițoiu, C., Chambre, D., Lupea, A.J.C.P. (2007). Improved DPPH determination for antioxidant activity spectrophotometric assay. *Chemical Papers*, 61(3):214-216.
- Temirbekova, A. (2019). Farklı oranlarda portakal kabuğu ekstraktı kullanılarak fonksiyonel kurut üretimi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek lisans tezi, s. 6-9.
- TÜİK, 2023. Türkiye İstatistik Kurumu, (<http://www.tuik.gov.tr>).
- Viñas-Ospino, A., Panić, M., Bagović, M., Radošević, K., Esteve, M.J., Redovniković, I.R. (2023). Green approach to extract bioactive compounds from orange peel employing hydrophilic and hydrophobic deep eutectic solvents. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 31:100942.
- Xu, G.C., Ding, J.C., Han, R.Z., Dong, J.J., Ni, Y. (2016). Enhancing cellulose accessibility of corn stover by deep eutectic solvent pretreatment for butanol fermentation. *Bioresource Technology*, 203:364-369.
- Zhang, L., Wang, M. (2017). Optimization of deep eutectic solvent-based ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Dioscorea opposita* Thunb. *International Journal of Biological Macromolecules*, 95:675-681.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4):555-559.
- Zhou, L., Luo, J., Xie, Q., Huang, L., Shen, D., Li, G. (2023). Dietary fiber from navel orange peel prepared by enzymatic and ultrasound-assisted deep eutectic solvents: Physicochemical and prebiotic properties. *Foods*, 12(10):2007.