



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BARTIN YÖRESİNDE YETİŞEN KESTANE MEYVE
KABUKLARINDAKİ GALLİK ASİTİN DERİN ÖTEKTİK
ÇÖZÜCÜLERLE ELDESİ

HİKMET ÇIKLAÇICI

DANIŞMAN

PROF. DR. AYBEN KILIÇ PEKGÖZLÜ

BARTIN-2023



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

ORMAN ENDÜSTRİ MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**BARTIN YÖRESİNDE YETİŞEN KESTANE MEYVE KABUKLARINDAKİ
GALLİK ASİTİN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERLE ELDESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hikmet ÇIKLAÇIĞI

BARTIN-2023

KABUL VE ONAY



BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Prof. Dr. Ayben KILIÇ PEKGÖZLÜ danışmanlığında hazırlamış olduğum “BARTIN YÖRESİNDE YETİŞEN KESTANE MEYVE KABUKLARINDAKİ GALLİK ASİTİN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERLE ELDESİ ” başlıklı Yüksek Lisans Tezi tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

30.01.2023

Hikmet ÇIKLAÇI



ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, her konuda desteğini esirgemeyen, tez konumun planlanmasından yazılmasına kadar yüksek derecede ehemmiyetle ve titizlikle yanımda olan kıymetli hocam Prof. Dr. Ayben KILIÇ PEKGÖZLÜ'ye teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmamda bilgi ve tecrübeleriyle yardımlarını esirgemeyen değerli hocamlarım Doç. Dr. Sezgin Koray GÜLSOY ve Doç. Dr. Rıfat KURT'a teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım sırasında büyük yardımları bulunan ve özellikle HPLC analizlerinde emeğini esirgemeyen Arş. Gör. Esra CEYLAN'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, deneyler ile ilgili ilk adımları sade bir şekilde anlatması ve uygulamamda yardımlarını esirgemeyen bilgisi, anlayışı ve özellikle güler yüzüyle yanımda olan Doktora öğrencisi Özge ÖZGÜRLÜK'e teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması, Bartın Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından Proje No: (2021-FEN-CY-004) desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Bartın Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne' ne teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde maddi manevi desteklerini esirgemeyen kıymetli ailem ve eşim'e şükranlarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Hikmet ÇIKLAÇIĞI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BARTIN YÖRESİNDE YETİŞEN KESTANE MEYVE KABUKLARINDAKİ GALLİK ASİTİN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLERLE ELDESİ

Hikmet ÇIKLAÇIĞI

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ayben KILIÇ PEKGÖZLÜ

Bartın-2023, sayfa: 64

Dünya’da kestane üretiminde 2.sırada olan ülkemizde, kestane meyvesi farklı şekillerde değerlendirilirken, perikarp (husks) olarak adlandırılan dış kabuğu ne yazık ki atık olarak nitelendirilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu atıl kaynağın biyolojik aktiviteye sahip fenolik bileşikler içerdiği tespit edilmiştir. Söz konusu fenolik bileşiklerin bitki materyalinden ayrıştırılması için kullanılan organik çözücülerin çevreye ve insan sağlığına zararlı olduğu ve kullanımlarının 2050 yılında kısıtlanacağı bildirilmiştir. Bu noktadan hareketle çevre dostu, toksit olmayan derin ötektik çözücülerle kestane perikarp’ında bulunan fenolik bileşiklerden gallik asitin eldesi ve veriminin artırması hedeflenmiştir.

Çalışma kapsamında Bartın Amasra-Yahyayazıcılar mevkiinden toplanan kestane meyve perikarpları örnekleri kontrol, suda haşlama ve 150-200°C’de fırında kavurma ile muamele edilmiştir. Daha sonra MeOH: su ve aseton: su (90:10 v/v) çözücülerini ile ekstrakte edilmiştir. Bu 3 farklı örnekler ayrıca, 3 farklı Derin Ötektik Çözücü (DÖÇ) türü (kolin klorür: formik asit, kolin klorür: etilen glikol ve kolin klorür: laktik asit), 3 farklı ekstraksiyon süresi (10,35,60 dak.), 3 farklı ekstraksiyon sıcaklığı (30,50,70°C), 3 farklı sıvı: katı oranı (10,20,30 mL/g), 3 farklı su miktarı (% 10,20,30) gibi farklı parametreler uygulanarak Box – Behnken deney tasarım modellemesi ile optimum koşullar belirlenmiştir. Örnekler HPLC ile analiz edilmiştir. Ayrıca, kestane meyve iç kabuklarında bulunan holoselüloz, α-selüloz ve lignin miktarları da tespit edilmiştir.

Tüm örnek grupları incelendiğinde en iyi sonucu MeOH: su verdiği görülmüştür. Örnek grupları içinde de fırınlanmış örneklerde gallik asit miktarı diğer örneklerle göre 5 kat daha fazla bulunmuştur. En düşük miktarı veren haşlanmış örneklerde ise gallik asit, ellagik asit gibi hidroliz olabilen tanenlerin suya karışarak uzaklaşmış olabileceği düşünülmüştür.

Elde edilen verilere göre holoselüloz miktarı % 45,3; α -selüloz %29,2; klason lignin % 42,5; ekstraktif madde miktarı ise MeOH: su karışımında % 3,2 olarak tespit edilmiştir. MeOH: su ve aseton: su örnekleri GC-MS’de analiz edilerek gallik asit varlığı tespit edilmiştir. Tez kapsamında kütle spektrometresi kullanılmasının amacı gallik asidin varlığının tespit edilmesi olmuştur. Bu analizler sırasında örneklerde görmeyi planladığımız ellagik asit tespit edilememiştir. DÖÇ örneklerinin viskoziteleri ve su içerikleri nedeniyle, analizler bu aşamadan sonra gallik asit odaklı olarak HPLC’ de gerçekleştirilmiştir.

Yapılan 243 analiz sonunda, her bir DÖÇ çözeltisi kendi içinde değerlendirildiğinde elde edilen en yüksek gallik asit miktarı ile sokshelet cihazında organik çözücülerle yapılan deney sonuçları karşılaştırıldığında DÖÇ çözeltilerinin, belirgin bir şekilde her üç örnek türünde de gallik asit miktarını artırdığı görülmüştür.

Organik çözücülerle sokselet ekstraksiyonunda 6 saat süre ile yapılan ekstraksiyon ve her üç DÖÇ çözeltisi kullanılan ultrason banyosundaki ekstraksiyon sonuçları karşılaştırıldığında DÖÇ çözeltileri özellikle kolin klorür: etilen glikol (1:2) karışımı metanol: su örneğine göre fırınlanmış kabukta gallik asit oranını 3 kat artırdığı görülmüştür.

Tez çalışmasında, gallik asit değerini maksimize eden değişkenler belirlenmiş ve model Minitab ile çözümlenerek optimum gallik asit değeri tahmin edilmiştir. En iyi sonucu veren deney koşulları ekstraksiyon süresi: 35 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı: 60°C, su miktarı:18 ml, sıvı: katı oranı: 10 ml DÖÇ ve 1 g örnek, materyal: fırınlanmış ve DÖÇ: kolin klorür: etilen glikol olarak belirlenmiştir. Söz konusu koşullarda gallik asit miktarı 116 ppm (Logaritmik değer: 4,75) olarak tahmin edilmiştir. Arzu edilebilirlik fonksiyonu (d), tahmin edilen ve deneysel değerler arasında mükemmel bir uyum olduğunu gösteren 1 değerine eşit bulunmuştur. Bununla birlikte aynı modeli kullanarak deneylerimizde en iyi sonucu veren şartlar ile tahmin yaptığımızda (Ekstraksiyon süresi: 30 dakika –Ekstraksiyon sıcaklığı:

60°C – Su miktarı: 20 ml – sıvı: katı oranı 1 g örnek 10 ml çözelti –Fırınlanmış örnek- Kolin Klorür: Etilen Glikol DÖÇ çözeltisi) gallik asit değeri 115,07 ve 0,99 ppm arzu edilebilirlik oranı ile hemen hemen gerçek ölçümlerle aynı sonucu vermiştir.

Anahtar Kelimeler: Derin ötektik çözücü, Kestane, Gallik asit, Perikarp



ABSTRACT

M. Sc. Thesis

EXTRACTION OF GALLIC ACID FROM THE CHESTNUT HUSK GROWING IN BARTIN WITH DEEP EUTECTIC SOLVENTS

Hikmet ÇIKLAÇI

Bartın University

Graduate School

Department of Forest Industry Engineering

Thesis Advisor: Prof. Dr. Ayben KILIÇ PEKGÖZLÜ

Bartın-2023, pp: 64

In our country, which ranks 2nd in chestnut production in the world, chestnut fruit is evaluated in different ways, but its outer shell, called the pericarp (husks), is unfortunately considered as waste. In recent studies, it has been determined that this inert source contains phenolic compounds with biological activity. It has been reported that organic solvents used for the separation of said phenolic compounds from plant material are harmful to the environment and human health and their use will be restricted in 2050. From this point of view, it is aimed to obtain and increase the yield of gallic acid, one of the phenolic compounds found in the chestnut pericarp, with environmentally friendly, non-toxic deep eutectic solvents.

Within the scope of the study, chestnut fruit pericarp samples collected from Bartın Amasra-Yahyayazıcılar locality were treated with control, boiling in water and roasting in an oven at 150-200°C. It was then extracted with MeOH: water and acetone: water (90:10 v/v) solvents. These 3 different samples are also 3 different types of Deep eutectic solvents (DES) (choline chloride: formic acid, choline chloride: ethylene glycol and choline chloride: lactic acid), 3 different extraction times (10, 35, 60 min.), 3 different extraction temperatures (30 Optimum conditions with Box – Behnken experimental design modeling by applying different parameters such as (30, 50, 70°C), 3 different liquid: solid ratio (10, 20, 30 mL/g), 3 different water amounts (10, 20, 30 %) determined. Samples were analyzed by HPLC. In addition, the amounts of holocellulose, α -cellulose and lignin in the inner shells of chestnut fruit were determined.

When all sample groups were examined, it was seen that MeOH: water gave the best result. Within the sample groups, the amount of gallic acid was found to be 5 times higher in the baked samples compared to the other samples. It was thought that hydrolyzable tannins such as gallic acid and ellagic acid in the boiled samples, which gave the lowest amount, may have disappeared by mixing with the water.

According to the data obtained, the amount of holocellulose is 45.3 %; α -cellulose 29.2 %; Klason lignin 42.5 %; the amount of extractive substance was determined as 3.2 % in the MeOH: water mixture. The presence of gallic acid was determined by analyzing MeOH: water and acetone: water samples in GC-MS. The purpose of using mass spectrometry within the scope of the thesis was to detect the presence of gallic acid. During these analyses, ellagic acid, which we planned to see in the samples, could not be detected. Because of the viscosity and water content of the DES samples, the analyzes were carried out in HPLC with a gallic acid focus after this stage.

At the end of the 243 analyzes performed, when the highest amount of gallic acid obtained when each DES solution was evaluated in itself, and the results of the experiment performed with organic solvents in the Soxhlet device, it was seen that DES solutions significantly increased the amount of gallic acid in all three sample types.

When the 6-hour extraction with organic solvents in Soxhlet extraction and the extraction results in the ultrasound bath using all three DES solutions were compared, it was observed that the DES solutions, especially the choline chloride: ethylene glycol (1:2) mixture, increased the gallic acid ratio in the baked crust 3 times compared to the methanol: water sample.

In the thesis study, the variables that maximize the gallic acid value were determined and the optimum gallic acid value was estimated by solving the model with Minitab. Experiment conditions that give the best results, extraction time: 35 minutes, extraction temperature: 60°C, amount of water: 18 ml, liquid: solid ratio: 10 ml DES and 1 g sample, material: baked and DES: choline chloride: ethylene glycol determined. Under these conditions, the amount of gallic acid was estimated as 116 ppm (Logarithmic value: 4.75). The desirability function (d) was found to be equal to 1, indicating a perfect agreement between the predicted and experimental values. However, when we make predictions using the same model with the conditions that give the best results in our experiments (Extraction time: 30 minutes – Extraction temperature: 60°C – Amount of water: 20 ml – liquid: solid ratio 1 g sample 10

ml solution – Baked sample – choline chloride: ethylene glycol DES solution) gallic acid value with 115.07 and 0.99 ppm desirability ratio gave almost the same result with actual measurements.

Keywords: Deep eutecthic solvent, Chestnut, Gallic acid, Husk



İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
BEYANNAME	iii
ÖNSÖZ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Genel Bilgiler.....	1
1.2. Çalışmanın Amacı.....	2
1.3. Kestane (<i>Castanea sativa</i> Mill.) Hakkında Genel Bilgiler	2
1.3.1 Kestanenin Sistematikteki Yeri ve Doğal yayılışı.....	2
1.3.2 Kestane Meyve Üretimi ve Ticareti	3
1.3.3 Kestane Ürünleri, Besin Değeri ve Kimyasal Yapısı.....	5
1.4.1 Fenolik Asitler	9
1.4.2 Tanenler	10
1.4.3 Lignanlar.....	11
1.4.4 Stilbenler	11
1.4.5 Flavanoidler	12
1.5 Derin Ötetik Çözücüler (DÖÇ).....	12
1.5.1 Derin Ötetik Çözücülerin Özellikleri (Yoğunluk, Viskozite, Elektrokimyasal Özellikleri).....	13
1.5.2 Derin Ötetik Çözücülerin Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	14
1.5.3 Derin Ötetik Çözücü Kullanılan Alanlar	17
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	18
2.2 Derin Ötetik Çözücüler ile İlgili Yapılan Çalışmalar.....	21
3. MATERYAL VE METOD	25
3.1 Materyal.....	25
3.2 Metod	25
3.2.1 Kestane Kahverengi İç Kabuğuna ait Genel Kimyasal Analizler	27
3.2.2 DÖÇ'ler ile Ultrason Banyosunda Ekstraksiyon	27

3.3.3 Kalitatif ve Kantitatif Analizler	28
3.3.4 İstatistiksel Analizler	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	30
4.1 Kestane İç Kabuğu Genel Kimyasal Analiz Bulguları	30
4.2 Kestane İç Kabuğuna ait Sokselet Ekstraksiyon Bulguları	30
4.3 Kestane İç Kabuğuna ait Ultrason Banyosu Ekstraksiyon Bulguları	34
4.4 DÖÇ Tipinin Etkisi	50
4.5 Su Miktarının Etkisi	51
4.6 Sıvı: Katı Oranının Etkisi	51
4.7 Ekstraksiyon Sıcaklığının ve Süresinin Etkisi	52
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	55
ÖZGEÇMİŞ	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
No	No
1.1: Anadolu Kestanesinin ülkemizdeki yayılışı.....	3
1.2: Kestane kreması ve Kestane balı.....	6
1.3: Kestane örme mobilya.....	7
1.4: Fenolün genel yapısı.	7
1.5: Fenolik Bileşiklerin sınıflandırılması.....	8
1.6: Hidroksisinamik (a) ve Hidroksibenzoik (b) asitlere ait molekül yapısı	9
1.7: Tanenlere ait kimyasal yapılar	10
1.8: Gallik asit formülü	11
1.9: Stilben	12
1.10: İki bileşenin ötektik çözücü oluşturmak için karıştırılması, E: en düşük erime noktası (ötektik nokta).	13
1.11: Kolin klorürün kimyasal yapısı	15
1.12: Etilen glikol'un kimyasal yapısı.....	15
1.13: Formik asitin kimyasal yapısı	16
3.1: Haşlanmış ve fırınlanmış kestane örnekleri	26
3.2: Kahverengi iç kabuğun beyaz pamuksu kısmından temizlenmesi.....	26
3.3: Kestane kabuğu deney akış şeması	27
4.1: Kontrol örneğine ait metanol:su ve aseton:su GC-MS kromatogramları.....	31
4.2: Fırınlanmış örneğe ait metanol:su ve aseton:su GC-MS kromatogramları.....	32
4.3: En yüksek gallik asit verimi veren etilen glikol DÖÇ çözeltisi örneği (Örn:211).....	35
4.4: DÖÇ ve organik çözücülerde elde edilen gallik asit miktarları (ppm)	44
4.5: Gallik asite ilişkin artık (kalıntı) analiz grafikleri.	49
4.6: Gallik asit ana etki grafiği	50
4.7: Faktör ve seviyelere ilişkin optimizasyon grafiği	50
4.8: Gallik asit değerlerine ait yüzey etki grafiği: su miktarı ve katı/sıvı oranı	52
4.9: Gallik asit değerlerine ait yüzey etki grafiği: Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi.	52

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No	Tablo No
1.1: Dünya Kestane Üretimi (Ton).....	4
1.2: Yıllara göre Türkiye kestane meyve üretim miktarları	5
1.3: Hidroksisinamik ve Hidroksibenzoik Asit ve Çeşitleri.....	9
1.4: DÖÇ oluşturulurken hidrojen bağı veren ve alan maddeler.....	17
3.1: Hazırlanan DÖÇ'lere ait bilgiler	25
3.2: Kestane kabuklarına uygulanan deney şablonu	28
3.3: HPLC-DAD Cihaz Analiz Şartları.....	29
4.1: Kestane kahverengi kabuklarına (<i>Castanea sativa</i> Mill.) örneğine ait kimyasal analiz sonuçları (%).....	30
4.2: Kestane kontrol örneğinde tespit edilen kimyasal maddeler (%).....	33
4.3: HPLC ile kestane kabuğunda farklı çözücülerde tespit edilen gallik asit miktarı.	34
4.4: Ultrason banyosunda ekstrakte edilmiş Kestane kabuğunda HPLC ile tespit edilen gallik asit miktarı (ppm).	35
4.5: Box Behnken deney tasarımının seviyeleri.....	45
4.6: Kestane iç kabuğu için tasarlanan Box-Behnken Deneysel Tasarım Modeli ve ölçüm değerleri.	45
4.7: ANOVA Sonuçları	47
5.1: Sonuçların en verimli olduğu değerler	54

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm ³	: Santimetre Küp
dk	: Dakika
g	: Gram
kg	: Kilogram
m	: Metre
ml	: Mililitre
mg.	: Miligram
nm	: Nanometre
µm	: Mikrometre
Ppm	: Milyonda bir

KISALTMALAR

DÖÇ	: Derin Ötektik Çözücüler
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü
GC	: Gaz Kromatografisi
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HBA	: Hidrojen alıcı
HBD	: Hidrojen verici
pH	: Potential Of Hydrogen (Hidrojen potansiyeli)
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
URL	: Uniform Resource Locator
vb	: Ve benzeri
vd	: Ve diğerleri
s.	: Sayfa

1.GİRİŞ

1.1. Genel Bilgiler

İnsanoğlunun kendi eli ile yarattığı ve tüm dünyayı etkileyen çevre sorunlarından biri atık malzemelerdir. Atık malzemeler farklı şekillerde sınıflandırılabilirler. Bu sınıflandırma, atığın kaynağına göre, içeriğine göre, zararına göre ve işlenebilirliğine göre yapılabileceği gibi maden atıkları, orman-tarım atıkları, endüstri atıkları, yapısal atıklar, evsel atıklar ve atık-su şeklinde de olabilir. Orman ve tarım atıkları organik maddelerden oluşmakla birlikte biyo bozunur yapıdadırlar. Birinci adımda atık olarak değerlendirilseler de aslında farklı yeni bir ürününü hammaddeyi olma potansiyeline sahiptirler. Atık önlemek, 1998 yılında ortaya konulan yeşil kimyanın on iki prensibinden biridir.

Güvenli kimyasalların tasarımı ve güvenli çözücülerin kullanımı da yine yeşil kimyanın diğer prensipleridir. Derin Ötektik Çözücüler (DÖÇ) bu kapsamda kullanılan maddelerdir. Klasik organik çözücülere göre biyobozunur olmaları, düşük toksit özellikleri, basit ve kolayca hazırlanabilmeleri DÖÇ'leri alternatif çözücüler olarak karşımıza çıkarmaktadır.

Anadolu kestanesi (*Castanea sativa* Mill.- sweet chestnut) Anadolu'da doğal olarak yayılış gösteren, *Fagaceae* familyasının bir türü olup, eski çağlarda "Ekmek ağacı" olarak adlandırılmış. Ticari öneme sahip olan meyveleri, karbonhidratça zengindir ve gıda sanayinde farklı şekillerde değerlendirilmektedir. Taze meyvenin yaklaşık % 20'sini oluşturan kestane meyve kabuğu (kahverengi dış kabuk) ise fenoliklerce zengin bir yapıya sahip olmasına rağmen günümüzde yukarıda bahsedildiği gibi bir orman atığı olarak nitelendirilmektedir.

Kestane kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin geri kazanılarak farklı endüstrilerde kullanımı, bir atığın değerlendirilmesini sağlayacaktır. Gallik asit bu fenolik bileşiklerden biridir. Bitkilerde ve meyvelerde yaygın olarak bulunur ve geniş bir endüstriyel kullanımasahiptir. Ester formu özellikle gıda, kozmetik ve farmakoloji de antioksidan olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, boya ve mürekkep endüstrisinde değerlendirilmektedir. Dodesil gallat ise yaygın olarak kozmetikte ve gıda katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır (Ow ve Stupans, 2003; Flórez-Fernández vd., 2020). Antimikrobial, antioksidan ve antikanser etkileri olan bu maddenin ayrıştırılmasında polar organik çözücüler kullanılmaktadır (Kashif vd., 2017). Klasik organik çözücüler gallik asit ve benzeri maddelerin gıda ve farmakoloji alanlarında kullanımını içerdikleri kalıntılar nedeniyle kısıtlamaktadır. Bu bağlamda DÖÇ'ler öne çıkmaktadır.

1.2. Çalışmanın Amacı

Bartın yöresinde yetişen kestane meyve kabuklarından DÖÇ yardımı ile ekstrakte edilerek gallik asit eldesi hakkında daha önce bir çalışma yapılmamıştır. Çalışmanın amacı, Bartın yöresinde doğal olarak yetişen Kestane meyvesine ait kahverengi dış kabukta bulunan fenolik maddelerin DÖÇ'ler yardımıyla ultrason banyosunda ekstrakte edilerek elde edilmesidir. Böylece;

- ✓ Atık olarak değerlendirilen kestane kabuklarının değerlendirilmesi,
- ✓ Petrol esaslı organik çözücüler yerine DÖÇ ile doğa dostu, toksit olmayan çözücülerin kullanımı,
- ✓ Ekstrakte edilen gallik asit miktarının artırılması,
- ✓ Ekstraksiyon süresinin azaltılması,
- ✓ Ekstraksiyon sıcaklığının azaltılması,

hedeflenmiştir.

1.3. Kestane (*Castanea sativa* Mill.) Hakkında Genel Bilgiler

Kestane, perikarpları sert, tek tohumlu (nuks) bir tür olup, eski çağlardan itibaren beslenme ihtiyacını karşılamıştır (Gerçek, 1992; Gondard vd., 2006). Sadece meyve kısımları değil, çiçekleri, yaprakları, odun ve kabuk kısımları da geleneksel olarak farklı şekilde değerlendirilmiştir (Selek, 2011). Yapılan bilimsel çalışmalar bu geleneksel kullanım alanlarını kestane türü için çeşitlendirmiş ve kültürel olarak kestane ağacı dikimini artırmıştır.

1.3.1 Kestanenin Sistematikteki Yeri ve Doğal yayılışı

Kestane, *Fagales* takımı, *Fagaceae* familyası, *Castanea* cinsine ait 13 farklı türü (*Castanea sativa*, *C.mollissima*, *C.crenata*, *C.dentata*, *C.seguinii*, *C.davidii*, *C.pumila*, *C.ashei*, *C.alnifolia*, *C.floridana*, *C.pauscipina*, *C.ozarkensis*, *C.henryi*) bulunan ekonomik açıdan değerli bir orman ağacıdır. Güney Avrupa, Asya ve Amerika kıtalarında yayılış göstermektedir. Ülkemizde doğal yayılış gösteren *C.sativa* Mill. yayılımı en geniş olan türdür (Bodet vd., 2001; Pereira-Lorenzo ve Ramos-Cabrer, 2004; Selek, 2011).

Anadolu kestanesi olarak da bilinen *Castanea sativa* Mill. asıl yayılış bölgesinin Anadolu olduğu ifade edilmektedir. Ülkemizde, Karadeniz kıyılarından başlayarak Batı Anadolu'dan itibaren Akdeniz kıyılarına kadar devam etmekte aynı zamanda Marmara bölgesinde de zaman zaman 1200 m yükseltilere kadar çıkmaktadır (Şekil 1.1). Kestanenin ,Kütahya-

Simav’da 1800 m. yükseltiye kadar çıktığı ifade edilmiştir (Soylu, 1984; Subaşı, 2004; Özçağırın vd.,2014). Genellikle, meşe, kayın, ıhlamur vb. türlerle karışık meşçere oluşturur.

20-30 m boylanabilen Anadolu kestanesi gövdesi iri ve çok düz değildir. Tepesi aralıksız ve dalları oldukça büyük hacimlidir. Farklı ağaçlara nazaran çok düşük seviyelerde ışık almalarına rağmen dayanıklı köklere sahiptirler(Mayer ve Aksoy, 1998). Diri odun sarımsı beyaz renkte, özodunu kirli sarı renkte olup, odununda tanen kokusu bulunmaktadır. Halkalı traheli olduğu için yıllık halkaları oldukça belirgindir (Gerçek, 1992). 10-25 cm uzunluğunda, kenarları sivri dişli ve sert yapılı yaprakları olup ilkbahar sonuna doğru çiçeklenme gerçekleşmektedir. Erkek çiçekler, 1-5 salkımlı dik vaziyette olup brahteler karşılıklıdır. Tüylü dişi organları gelişmemiş dişi çiçekler erkek çiçeklerin yakınında bulunmaktadır. 2-4 arasında çenekleri bulunan kupulalar içerisinde 1-3 adet meyve bulunur. Brahteler ise dikensi yapıdadır (OGM, 2012) .



Şekil 1.1: Anadolu Kestanesinin ülkemizdeki yayılışı (OGM, 2012).

1.3.2 Kestane Meyve Üretimi ve Ticareti

Kestane ağacının ekonomik açıdan en fazla gelir getiren kısmı meyvesidir. Günümüzde çeşitli diyetlerin vazgeçilmez unsuru haline gelen kestane meyvesi eski çağlarda da “ekmek ağacı” olarak adlandırılan önemli bir besin kaynağı olmuştur.

Dünya kestane üretiminin % 90’dan fazlası Asya ülkeleri (Çin, G.Kore, Japonya vb.) tarafından karşılanırken, % 6,6 Avrupa ülkeleri (Türkiye, İtalya, Yunanistan vb.) ve % 2,9’u Amerika kıtası ülkeleri (Bolivya vb.) tarafından karşılanmaktadır (Tablo 1.1) . FAO (2022)

verilerine göre Çin % 75 ile birinci sırada yer alırken, % 8,3 ile İspanya ikinci, % 3,48 ile Bolivya üçüncü ve Türkiye dördüncü sırada yer almaktadır.

Tablo 1.1: Dünya Kestane Üretimi (Ton) (ZMO, 2019)

Ülkeler	1980	2000	2010	2015	2016	2017
Çin	115.000	598.185	1.644.717	1.668.895	1.903.939	1.939.719
Bolivya	0	34.400	60.213	84.467	84.632	85.047
Türkiye	58.500	50.000	59.171	63.750	64.750	62.904
G.Kore	84.470	92.844	68.630	55.593	53.600	52.764
İtalya	63.384	50.000	55.240	51.601	52.240	52.356
Yunanistan	14.300	15.303	16.993	30.049	28.280	36.000
Portekiz	20.224	34.200	22.350	27.628	26.780	29.875
Japonya	47.000	26.700	23.500	16.300	16.500	18.700
İspanya	24.303	9.230	17.900	16.413	16.178	15.623
Fransa	24.428	9.152	9.464	7.943	8.642	8.406
Diğer	20.404	20.897	21.536	24.296	26.108	26.102
Toplam	472.013	940.911	1.999.714	2.046.935	2.281.649	2.327.496

Türkiye kestane ihracatının büyük bir kısmını (% 80) İtalya'ya yaparken 2019 yılında 14 bin ton kestane ihracatından 36 milyon \$ gelir elde etmiştir İtalya'nın yanı sıra Lübnan, Almanya, Fransa, Suudi Arabistan vb. ihracat yapılan diğer ülkelerdir (ZMO, 2019).Ülkemizde genel olarak tatlı gıda sektöründe tercih edilen büyük meyveli kestaneler ithal olmaktadır (Karahocagil ve Tosun, 2004).

İller bazında ise kestane üretiminin en fazla yapıldığı il Aydın % 30,4 olup onu sırasıyla İzmir %27,9, Bartın %6,69, Sinop %4,85, Zonguldak %4,39, Kastamonu %4,03 ve Düzce %0,90 izlemektedir (TÜİK, 2022). Son beş yılda Türkiye'de üretilen kestane meyve miktarı Tablo 1.2'de verilmiştir.

Tablo 1.2: Yıllara göre Türkiye kestane meyve üretim miktarları (TÜİK 2022).

Yıllar	Ağaç sayısı-meyve veren (Bin)	Üretim (ton)
2017	1.979	62.904
2018	1.954	63.580
2019	2.114	72.655
2020	2.307	76.045
2021	2.470	77.792
2022	-	80.200

1.3.3 Kestane Ürünleri, Besin Değeri ve Kimyasal Yapısı

Kestane meyvesi, genel olarak sonbahar mevsiminde hasat edilen, katı ve parlayan bir dış kabuğu olan oval yarım daire görünümünde yapraklı bir ağaç meyvesidir. İşlem görmemiş veya işlem görmüş olarak tüketilmektedir. Ayrıca, konserve, kestane reçeli, kestane ezmesi, kestane şekeri, kestane unu vb. ürünler olarak da tüketilmektedir (Şekil 1.2) (Oral, 2006; Squillaci vd., 2018; Fernández-Agulló vd., 2014). Son yıllarda düşük yağ oranından dolayı glutensiz beslenme diyetlerinde kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu durum Avrupa’da kestane üretimini önemli oranda artırmıştır (Vella vd. 2018).

Besin değeri olarak kestane meyvesinin içeriğinde genel olarak % 40-45 karbonhidrat, % 40-45 su, % 3-5 yağ, % 3-6 protein, % 1,3 civarında kül mevcuttur. C, B1 ile B2 vitaminleri bakımından büyük ölçüde zengin olan kestane meyvesinin enerji değeri yüksektir. Ayrıca, değerli minerallerden kalsiyum, fosfor, magnezyum, potasyum, demir, sodyum, klor da yapısında mevcuttur (Şenel ve Eltan, 2016).

Kestane meyvesi diğer kabuklu kuruyemişlere oranla çok daha az miktarda yağ oranı ihtiva etmektedir (Ensminger vd., 1995; McCarthy ve Meredith 1988; Miguelez vd., 2004). Yağ miktarı 2-3g/100 g şeklinde tespit edilmiştir. Yurdumuz da yetişen *Castanea sativa* Mill.’de yağ oranı 0,66-5,59g/100 g’dır (Ensminger vd., 1995; McCarthy ve Meredith, 1988; Miguelez vd., 2004). Şeker bakımından kestane meyvesi 8-20g/100 g sakaroz içermektedir (Ertürk vd., 2006; Künsch vd., 2001; Miguelez vd., 2004; Pinnavalı vd., 1993).

Polisakkaritler kestanenin yapısını meydana getiren lifli maddelerdir. Taze kestane meyvesinde 8–10 g / 100 g civarında lifli maddeler mevcuttur. Kabızlığı engellemekte,

bağırsak hareketlerini arttırmaktadır. Kestane meyvesi kanda bulunan vücuda zararlı kolesterolün düşürülmesinde etkilidir. Bu yararlarından dolayı beslenmede önemli derecede kullanılması gerektiğini öneren Amerikan Kanser Birlikleri ile Amerikan Kalp hastalıkları uzmanları kanser ve kalp, damar hastalıklarının oranlarının düşürülmesinde kestane tüketimini önermektedirler (Yurdakul, 2007).



Şekil 1.2: Kestane kreması ve Kestane balı (URL-2 ve 3, 2022)

Kestane meyvesinin yanı sıra kestane ağacının kerestesi, estetik ve dirençlilik konusunda tercih edilen bir ürün olarak kullanmaya elverişlidir. Sağlık bakımından yapıştırıcılar ile çivi, vida ile oldukça uyumludur. Üst yüzey işlemi olarak cila ile boyanın nüfuz etmesi için elverişlidir. Mobilya üretiminde rahat bir biçimde şekil verilebilmesi ve liflerinin yeterince esnek olması nedeniyle tercih edilir. Suyu direncinin oldukça yüksek olması dolayısıyla ilk olarak iskele yapımında ve buna ek olarak gemi, kayık ve yat vb. araçların imalatında kestanenin kerestesi kullanılmaktadır. Diğer kullanım alanları olarak ofis ve ev dekorasyonları, ev içi kaplamaları ve oyun parkları, bahçe mobilyalarında da kullanılmaktadır (Anon., 2013).

Kestanenin kullanım alanlarından bir diğeri de ormanlarının baltalık olarak işletilmesidir. Kestane ağacının direk ve sırık şekilleri orman işletmelerinde üç beş senede üretilmektedir. Sele, sepet gibi ürünlerin üretiminde genç sürgünlerin belli bir bölümü kullanılmaktadır. Mobilya çeşitlerinden olan bambu mobilya ya eşdeğer özellikteki örme mobilya üretiminde (Şekil 1.3) (Köse, 2018), belli bir bölümü de domates ve fasulye çubuk üretiminde değerlendirilmektedir. Fırınlanmış biçimiyle kestane, ceviz, zeytin meyvelerini toplamakta gerekli olan sırık imalatında değerlendirilir.



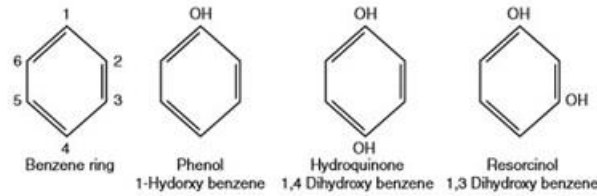
Şekil 1.3: Kestane örme mobilya (URL-1, 2022)

Kestane balı üretimi son yıllarda giderek artan bir ilgi oluşturmıştır. Özellikle Karadeniz bölgesindeki kestane ağaçlarından kestane balı üretimi oldukça fazladır (Turna vd., 2014).

Kestane meyve kabuğu, yaprağı ve dalları içerdikleri tanen nedeniyle boya endüstrisinde kahverengi renk elde etmek için kullanılır.

1.4. Fenolik Bileşikler

Bir yada daha fazla hidroksil gruplarının aromatik bir benzen halkasına bağlanmasıyla oluşan fenolik bileşikler glikozit yapıda ya da ester şeklindedirler (Vermerris, 2006). Şekil 1.4’de fenolün genel yapısı verilmiştir.

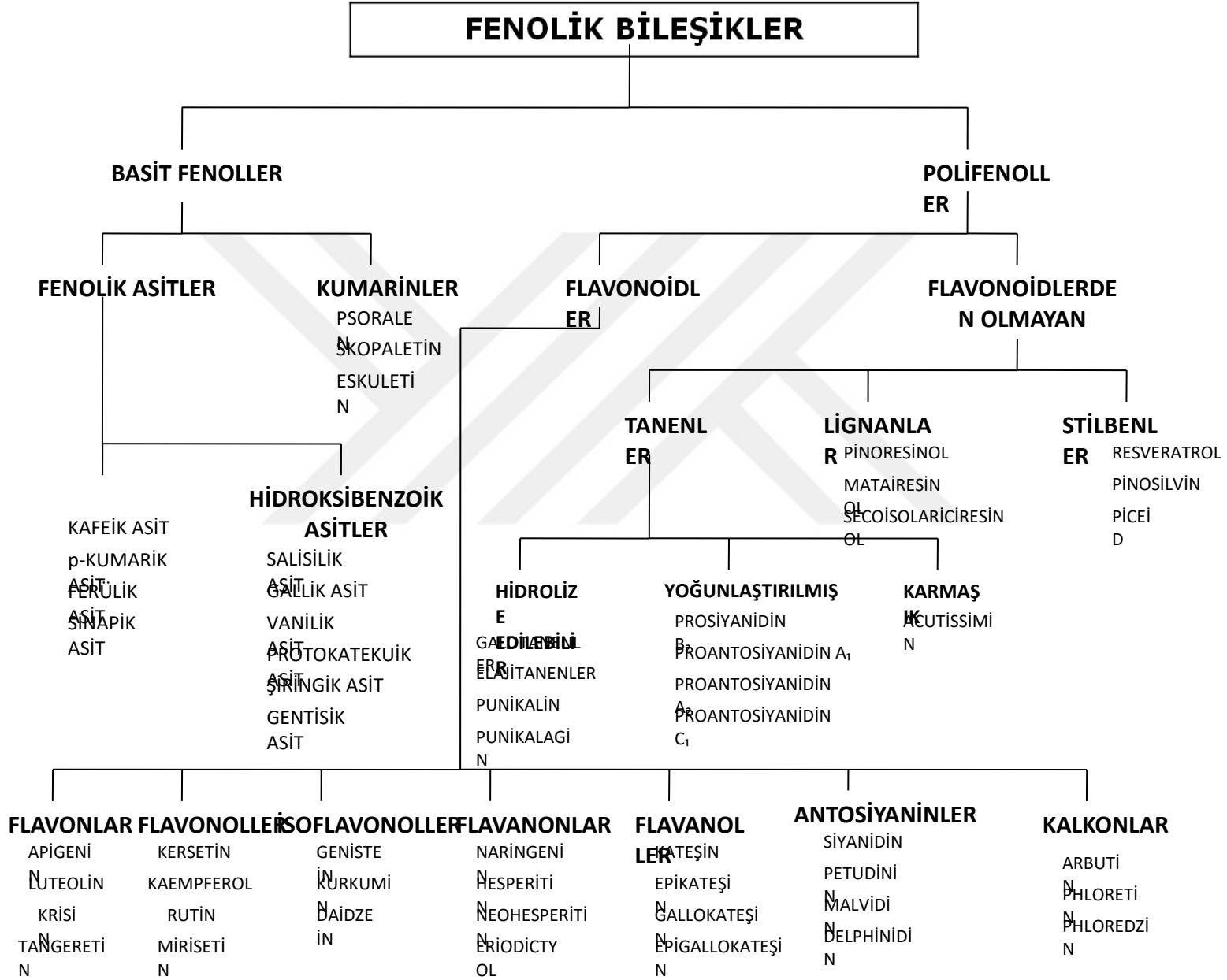


Şekil 1.4: Fenolün genel yapısı (URL-5, 2022).

Fenoller, Şekil 1.5’de görüldüğü gibi basit fenoller ve polifenoller olarak iki ana gruba ayrılmakta olup bitkilerin yapısında çok farklı fenolik yapıda madde bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, sekonder metabolitlerinin pigmentasyon görevini yerine getirirken UV ile mantar hasarlarından koruyarak, atmosferdeki azotu yakalarlar (Jourdes, 2003; Chira, 2009).

Son yıllarda fenolik bileşiklere olan ilgi giderek artmaktadır. Bu ilginin nedeni anti-inflamatuar anti-mikrobiyal, anti-alerjik ve antioksidan etkilere sahip olmalarıdır (Manach vd., 2004).

Ayrıca, kardiyovasküler hastalıklar, koroner hastalıklar ve arter rahatsızlıklarına karşıda etkilidirler (Hercberg vd., 1999; Akaydın vd., 2003). Kansere vb. birçok önemli hastalığa da yakalanma riskini azalttıkları ifade edilmektedir (Eberhardt, vd., 2000).



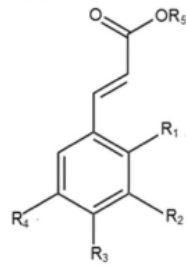
Şekil 1.5: Fenolik Bileşiklerin sınıflandırılması (URL-4, 2022)

1.4.1 Fenolik Asitler

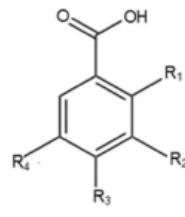
Bitkiler âleminde doğal olarak 8000 farklı şekilde bulunan fenolik asitler, benzer özelliklere (ana iskelet biçimleri) sahip olsalarda, bağ yapan hidroksil gruplarının sayıları ve bağ yerleri açısından farklı aromatik halka türlerinin oluşturur. Fenolik asitlerin ana yapısı C6-C1'dir ve hidroksisinamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olmak üzere ikiye gruba ayrılır (Tablo 1.3 ve Şekil 1.6) (Robbins, 2003).

Tablo 1.3: Hidroksisinamik ve Hidroksibenzoik Asit ve Çeşitleri

Hidroksisinamik Asit	R₁	R₂	R₃	R₄	R₅
Kafeik Asit	H	OH	OH	H	H
Ferulik Asit	H	OCH ₃	OH	H	H
p-kumarik Asit	H	H	OH	H	H
Sinamik Asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	H
Klorojenik Asit	H	H	OH	OH	QA
Hidroksibenzoik Asit	R₁	R₂	R₃	R₄	
Salisilik Asit	OH	H	H	H	
Gallik Asit	H	OH	OH	OH	
Vanilik Asit	H	OCH ₃	OH	H	
Protokatekuik Asit	H	OH	OH	H	
Şiringik Asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃	
Gentisik Asit	OH	H	H	OH	



a)



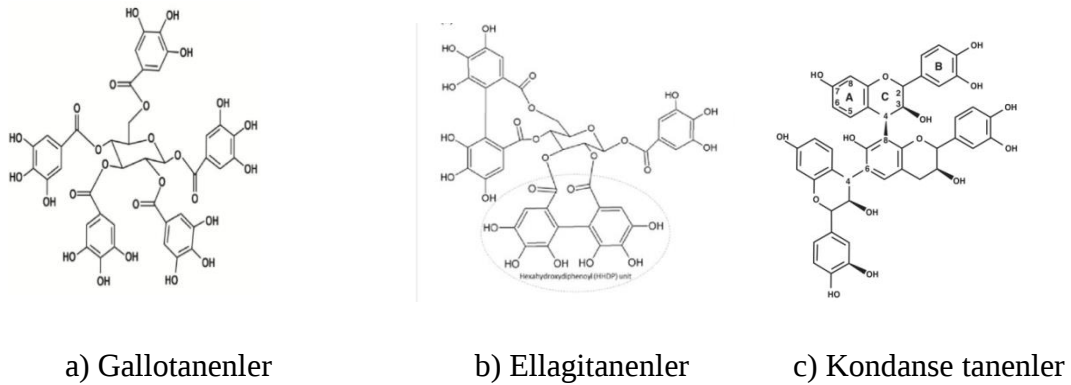
b)

Şekil 1.6: Hidroksisinamik (a) ve Hidroksibenzoik (b) asitlere ait molekül yapısı

1.4.2 Tanenler

“Tanen” bir diğer deyişle meşe, keltçe diye adlandırılan ve eski Avrupalıların kullandığı bir sözcükten türemiştir. Amorf toz şeklinde, tadı ekşimsi, kokusu kendine özgü olan ve renkleri açıktan, koyu kahveye doğru değişen fenolik yapıda bir bileşendir (Gönültaş, 2013). Tanen kelimesinin geldiği diğer dil Fransızcadır polifenoller bir diğer deyişle tanen şeklinde ifade edilir (Falbe ve Regitz, 1997). Bitkilerdeki fonksiyonları ve molekül yapıları dikkate alınarak tanenle ilgili bir başka tanım da “polifenolik sekonder metabolitler” olup gallol esterleri ve bunların türevleri (gallotanen, ellagitanen vb.) ile oligomerik ve polimerik proantisiyanitler (kondense tanenler)” olarak verilir. Yapısal olarak tanenler dört ana grupta sınıflandırılır; gallotanenler, ellagitanenler, kompleks tanenler ve kondense tanenler (Khanbabaee ve Ree, 2001). Şekil 1.7’de gallotanen, ellagitanen ve kondanse tanenlere ait kimyasal yapılar verilmiştir (Nauman vd., 2013; Girard ve Bee, 2019).

Tanenlere ait daha basit bir diğer sınıflandırma ise hidroliz olan tanenler ve kondense tanenler şeklindedir. Hidroliz tanenler gallotanneleri ve ellagitanenler içerir. Merkezde bir D-Glukoz ünitesi bulunur. Tanen olarak sınıflandırabilmek için, glukozun en az üç hidroksil grubunu esterleştirerek, gallik asit oligomerine dönüştürebilmesi gerekir. Hidroliz işlemi sonucunda gallotanenler, glukoz ve gallik asit üretirler. Ellagitanenler ise, diester formunda bir ya da daha fazla glukozla bağlı heksahidroksidifenol’den oluşur ve hidroliz işlemi sonunda tanenden, heksahidroksidifenol ayrışır (Own ve Stupans, 2003).

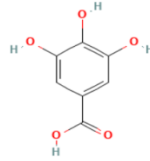


Şekil 1.7: Tanenlere ait kimyasal yapılar

Tanenler, ağaçlarda, yıllık bitkilerde ve çok sayıda mantarda bulunmaktadır (Bisanda vd., 2003). Kan durdurucu görevinin yanı sıra geleneksel ilaçların içeriğinde de yer alırlar. Bazı ağaç türlerinin (*Castanea sativa* ve *Q. robur* ve *Q. patraea* vb.) öz odunlarında yaklaşık %

10 yakın oranında bulunan tanenler çürüklük mantarlarına karşı ağacı korumaktadır (Dağdelen, 2010).

Gallotanenlerin önemli bir üyesi olan gallik asit, ilk kez 1736 yılında Carl Wilhem Scheele tarafından bitkilerde bulunmuştur. Bir şeker ünitesi ve farklı sayıda fenolik asit molekülü içerir. Kristal katı, renksiz ya da açık sarı renktedir. $C_7H_6O_5$ molekül formülüne sahip olup suda, alkolde, eterde ve gliserolde çözünmektedir (Şekil 1.8) (Fernandes ve Salgado, 2016).



Şekil 1.8: Gallik asit formülü (Fernandes ve Salgado, 2016)

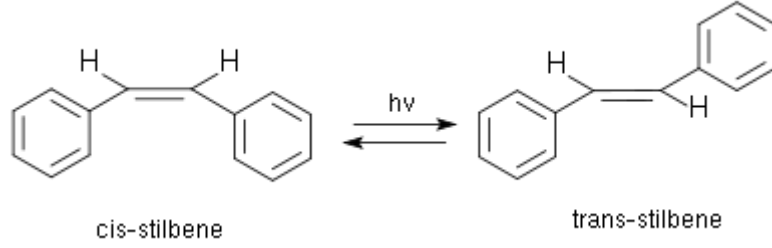
Gallik asit, antioksidan etkisi ile dikkat çekmesine rağmen, antikanser, anti-HIV, antiünser, anti-inflammatuar, antimikrobial ve antifungal gibi farmakolojik etkilere sahiptir. Ayrıca, son yıllarda yapılan çalışmalarda Alzehir hastalığının ilk basamağında oluşan amyloid plaklarına karşıda etili olduğu bildirilmiştir. Aslında gallik asitin ilk kullanım alanı deri sanayinde şelatlama işlemi ile olmuştur. Fotoğrafçılarda film banyosu ilacı olarak kullanmışlardır (Fernandes ve Salgado, 2016).

1.4.3 Lignanlar

Farklı biyolojik özellikleri ve insan vücuduna faydalı olan antioksidan niteliklerinden dolayı son yıllarda lignanlara olan ilgi giderek artmıştır. Günlük hayatımızda tükettiğimiz birçok meyve ve sebzede lignanlara rastlanılmaktadır (Umezawa, 2003). Doğal bileşenlerdir ve β -hidroksifenilpropanınoksidatif şekilde bir araya gelmesinden meydana gelirler. Antivirüs ile antitümör özellikleri olduğu da bilinmektedir. En fazla keten tohumu ve susamda bulunmaktadır. Bazı ağaç kabuklarında da lignanlar tespit edilmiştir (Budowsky, 1964).

1.4.4 Stilbenler

Bitki fenolleri içerisinde küçük bir grubu oluştursalarda stilbenler yapraklı ve iğne yapraklı türlerin odun, kabuk ve yapraklarında önemli bir doğal ürün grubudur. $C_6-C_2-C_6$ anayapısının yanında üç adet Manolyl-CoA ve bir adet p-coumarolyl-CoA sentezi ile elde edilir. Stilbenlere ait genel yapı Şekil 1.9'da gösterilmiştir (Çakal, 2021; Katsuyama, vd., 2007).



Şekil 1.9: Stilben

Stilbenler bitkinin kendini korumak için sentezlediği maddeler olarak bilinirler. Yapılan çalışmalarda sağlıklı öz odununa oranla özellikle budaklarda 100 kat daha fazla bulunduğu ortaya koymuştur (Çakal, 2021).

1.4.5 Flavanoidler

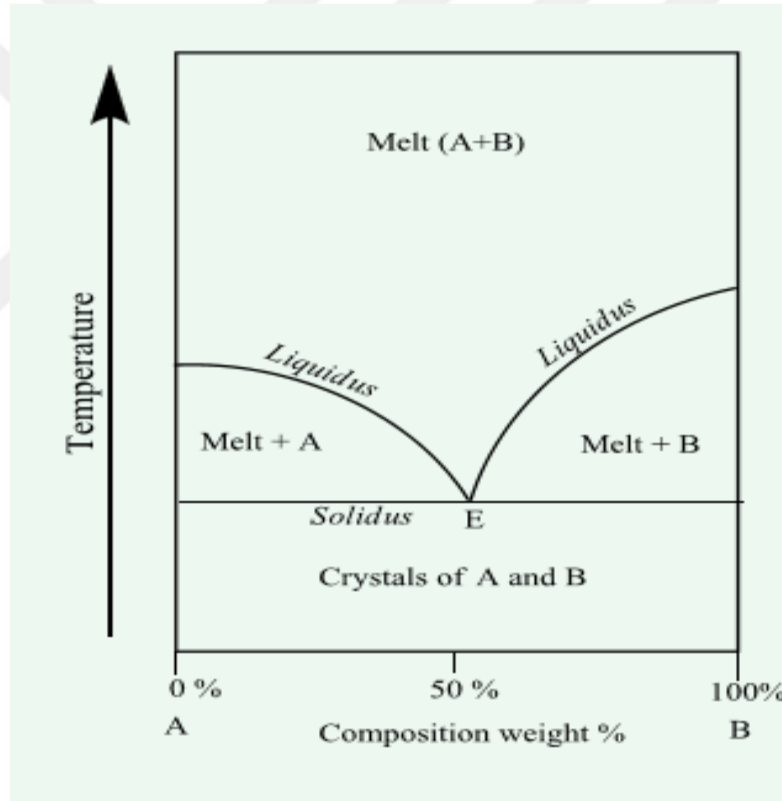
Polifenolik yapıda olup, değerli bir doğal üründür (Panche vd., 2016). İkincil metabolitlerin farmakolojik hareket türleriyle görevli oldukları yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (Mahomoodally vd.,2005). Flavanoidlerin polimerizasyon dereceleri, hidroksilasyon dereceleri, yapısal sınıfları ve yerini alabilen konjugasyonları kimyasal şekillerini meydana getirmektedir (Heim vd., 2002). Flavanoidlerin yapısında bir *benzo-y-pirone* ünitesi mevcuttur. Bitkiler vasıtasıyla sentezlenebilen bununla birlikte önemli enfeksiyonları önleyebilen fenol grubundandır (Dixon vd., 1983).

Kronik rahatsızlıklara karşı etkili olup, antioksidan görevleri sayesinde ilgi günden güne artmaktadır. Flavanoidler şelatlama işlemini metal iyonları üzerinde gerçekleştirirler bununla beraber serbest radikalleri bünyesinde bulunan hidroksil grupları vasıtasıyla temizlemektedirler (Kumar vd., 2013).

1.5 Derin Ötetik Çözücüler (DÖÇ)

Büyük ilgi duyulmalarının en büyük nedeni olarak yeşil çözücü sınıfında mevcut olmaları bununla birlikte hususi derecede fiziksel ve kimyasal niteliklerindendir. Son dönemlerde yeşil kimyanın varlığının artmasıyla birlikte araştırmacılar yeşil çözücülerin ortaya çıkması ve uygulanma işlemine devam edilebilmesi için büyük miktarda çalışmalar ortaya koymaya başlamışlardır. Verimli ve çevre dostu durumuna gelmelerinin en büyük nedenleri arasında yüksek kaynama noktasına ve düşük buhar basıncına sahip olmaları söylenebilir. Bununla beraber iyonik sıvıların düşük biyobozunurluluk ve yüksek maliyet gibi dezavantajları vardır. İyonik sıvıların bu dezavantajları sebebiyle derin ötetik çözücülerin (DÖÇ) meydana gelmesine neden olmaktadır (Tang, vd. 2015).

DÖÇ'ler ilk kez 2003 yılında Abbott tarafından ortaya konulmuştur. Bir iyonik sıvı türü olan iki veya üç adet bileşenin karıştırılması ile yeni, çevre dostu çözücülerdir. Hidrojen bağı donörüne sahip bileşenlerle kuaterner amonyum tuzlarının karıştırılması neticesinde DÖÇ'ler meydana gelir. Bir derin ötektik çözücü meydana gelmesi için bu bileşenlerin arasında hidrojen bağı etkileşmesi var olması gerekmektedir. Meydana gelen derin ötektik çözücünün en önemli özelliği kendi erime noktasının onu oluşturan bileşenlerin erime noktasından daha düşük olması olarak söylenebilmektedir (Şekil 1.10). “DÖÇ hazırlamada kullanılan ürenin erime noktası 133 °C'dir. Kolin klorür'ün erime noktası 302 °C'dir. Bu iki maddeden DÖÇ oluşturmak için 2 mol üre ile 1 mol kolin klorür karıştırılır ve relin elde edilir (DÖÇ) erime noktası 12 °C'dir” (Abbott vd., 2003).



Şekil 1.10: İki bileşenin ötektik çözücü oluşturmak için karıştırılması, E: en düşük erime noktası (ötektik nokta) (Abbott, 2010).

1.5.1 Derin Ötektik Çözücülerin Özellikleri (Yoğunluk, Viskozite, Elektrokimyasal Özellikleri)

Bir çözücünün kimyasal ve endüstriyel işlemlerde potansiyel olarak kullanılabilmesi, şunlara bağlıdır: viskozite, toksisite, buhar basıncı, kırılma indisi, yüzey gerilimi, yoğunluk, iletkenlik, sertlik, karışabilirlik, pH, polarite vb. özelliklere bakılarak belirlenmektedir. Literatürlerde DÖÇ'lerin özellikleri ve bu özelliklerin nasıl meydana gelebileceği hakkında çok fazla çalışmalar vardır. DÖÇ'lerin özellikleri bunların işlevi üzerinde çok hususi bir görevleri vardır ve daha iyi işlem görebilmek için ayarlanabilmektedir. Derin ötektik çözücüler için en yaygın olarak rapor edilen fiziksel özellikler viskozite ve yoğunluktur bunlar çok önemli özelliklerdir (Zhang vd., 2012).

DÖÇ ağındaki boş kısımlar yoğunluk varlığına bağlıdır. Sistemin boyutunu ve maliyetini tahmin edebilmek için yoğunluğu bilmek gerekir. Bu nedenle yoğunluk DÖÇ'lerin çok önemli bir özelliğidir (Cardellini vd., 2014).

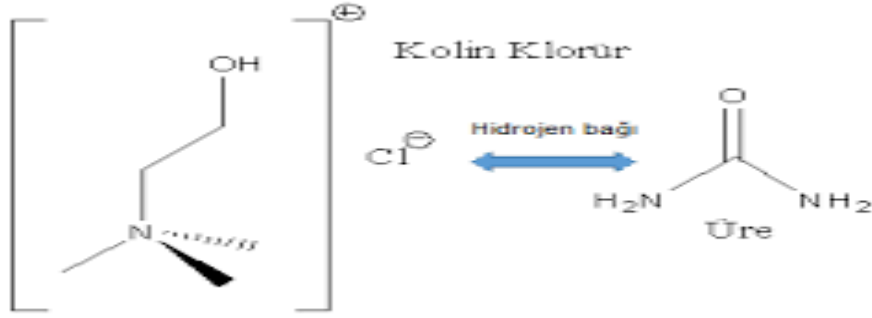
Derin ötektik çözücü meydana gelmesinin temel yapısı dirençli hidrojen bağı etkileşimleri nedeniyle yüksek erime ısısına sahip olmalarıdır. Hidrojen bağı ve tuz veren bir sisteme sahiptir. İyonik sıvılarla kıyaslandığında termal kararlılığı mevcuttur ve uçuculuğu çok az, viskoziteleri yüksek olan nitelikleri vardır. Polariteleri oldukça yüksek olduğundan dolayı derin ötektik çözücüler, klasik çözücülerde çözünmeyen selüloz gibi vb. pek çok inorganik veya organik maddeyi çözebilme niteliğine sahiptir. Bununla birlikte, derin ötektik çözücüler, çevreci çözücüler olarak da adlandırılmaktadır. Bazı organik çözücülerle çözelti meydana getirebildikleri gibi, suyla da çözelti oluşturabilirler ve aynı zamanda, elektriği iyi iletmeleri, kimyasal olarak inert olmaları, oldukça kararlı olmaları ve yanıcı olmamaları olumlu nitelikleridir (Shamsuri ve Daik, 2012).

1.5.2 Derin Ötektik Çözücülerin Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Derin Ötektik Çözücülerin hazırlanmasında kullanılan hidrojen bağı alıcısı (HBA) ve hidrojen bağı donörü (HBD) aşağıda verilmiştir.

Kolin Klorür ($C_5H_{14}ClNO$)

Kolin klorür tavuk yemlerinde katkı maddesi olarak (B4 vitamini) kullanılan zehirli özelliği olmayan, biyolojik olarak bozunur ve organik bir kuaternar amonyum tuzudur (Abbott, 2010). Kolin klorürde klor anyonu ve kolin katyonu bulunur. Kolin klorürün kimyasal yapısı Şekil:1.11'de verilmiştir. Molekül ağırlığı 139,6'dır.



Şekil 1.11: Kolin klorürün kimyasal yapısı

Etilen Glikol (CH_2OH)₂

Etilen glikol (CH_2OH)₂, bir diol türüdür. Temel olarak iki amaçla kullanılır. Polyester elyaf üretiminde hammadde olarak ve antifriz formülasyonları için kullanılır. Kokusuz, renksiz, tatlı tatma şurubu olup orta düzeyde toksiktir (Rebsdats ve Mayer, 2000).

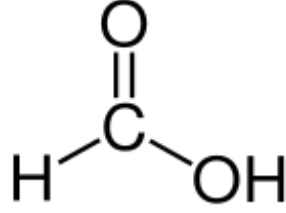
Molekül ağırlığı 62,07'dir. Kaynama noktası 197,3 °C'dir. Yoğunluğu 1,1132 g/cm³ erime noktası -12,9 °C'dir. Şekil 1.12'de Etilen glikolün kimyasal yapısı görülmektedir (URL-6, 2022).



Şekil 1.12: Etilen glikol'un kimyasal yapısı (URL-6, 2022)

Formik Asit ($HCOOH$)

Formik asit, adını 1670 yıllarında keşfedildiği kırmızı karınca *Formica rufa*'dan almıştır. Karınca asidi diye de bilinmektedir. Formik asit, diğer böceklerin, karıncaların ve arıların zehirlerinde veya savunma sistemlerinde bulunmuştur. Ayrıca formik asit, hidrokarbonların sıvı faz oksidasyonu ile asetik asit üretiminin bir yan ürünüdür. Aseton, su, eter, metanol, etanol vb. çözücülerde güçlü şekilde çözülmemektedir. Dericilik, kauçuk, ilaç, kimya ve tekstil endüstrilerinde kullanımı vardır (Hietala vd., 2016). Şekil 1.13'de formik asitin kimyasal yapısı görülmektedir.



Şekil 1.13: Formik asitin kimyasal yapısı (URL-7, 2022)

Asetik Asit (CH₃COOH)

Asetik asit, keskin bir kokuya, yakıcı tada ve zararlı şekilde kabarma özelliklerine sahip aşındırıcı bir organik asittir. Okyanus suyunda, petrol sahası tuzlu suyunda, yağmurda ve eser miktarda birçok bitki ve hayvan sıvısında bulunmaktadır. Biyolojik yolların merkezidir. Herhangi bir şeker içeren bitki özü, meyve suyu, bakteri veya mantar işlemleriyle seyreltik asetik aside dönüştürülebilir. Sentetik asetik asit için başlıca sentez yolları, metanol karbonilasyonu, asetaldehit oksidasyonu, bütan/nafta oksidasyonu ve metil asetat karbonilasyonunu içerir. Şu anda Cativa (iridyum katalizörü) veya Monsanto (rodyum katalizörü) işlemi kullanılarak metanol karbonilasyonu ana yoldur. Konsantrasyonun % 99'dan fazla olması koşuluyla asetik asit, alüminyum içinde depolanabilir veya sevk edilebilir. Asetik asidin başlıca kullanımları vinil asetat, tereftalik asit ve asetik anhidrit üretimindedir (Wagner, 2014).

Hidrojen Vericiler ve Hidrojen Alıcılar

DÖÇ oluşturulurken hidrojen verici ve hidrojen alıcı maddelerin tablosu Tablo 1.4'de verilmiştir.

Tablo 1.4: DÖÇ oluşturulurken hidrojen bağı veren ve alan maddeler (Abbott, 2010).

Proton verici (Proton sağlayan)			PROTON KABUL EDİCİ (Elektron sağlayan)
Asitler ($\text{HO}_2\text{C}-\text{R}_1$)	Amidler ($\text{H}_2\text{N}-\text{C}=\text{O}-\text{R}_2$)	Alkoller ($\text{HO}-\text{R}_3$)	
Oksalik asit ($\text{HO}_2\text{CCO}_2\text{H}$)	Üre (NH_2CONH_2)	Gliserin($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$)	Kolin Klorür
Malonik asit ($\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{CO}_2\text{H}$)			Betain
Laktik Asit			Alain
Malik Asit	Tiyoüre (NH_2CSNH_2)	Etilen Glikol($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$)	Glisin
Nikotinik Asit			Histidin
			Prolin

1.5.3 Derin Ötetik Çözücü Kullanılan Alanlar

Derin ötetik çözücüler çok fazla kullanım alanına sahiptir. Lewis asidi katalizliğinde ilerleyen reaksiyonlarda (Selülozun asitlenmesi, Friedel Crafts reaksiyonları, Fischer Indol sentezi gibi) reaksiyon alanı şeklinde kullanıldığında yer seçimli yani bağlanmanın belirli bir yerden meydana geldiği (regioselektif) koşullarda ve yüksek verimli ürünler elde edilmektedir. Ayrıca ürünler ayrı bir fazda bulunup dekante edilerek alınabildiğinde çözücü kalıntısına denk gelinmemektedir.

Metal işleme proseslerinde yer verildiğinde, korozyon direncinin yükselmesine neden olur, kaplamada yüksek akım randımanı sağlar ve mikro çatlakların oluşumuna engel olur. Ayriyeten derin ötetik çözücüler elektrokimyada da kullanılmaktadır. Derin ötetik çözücüler bazı polimerlerde akışkanlaştırıcı olarak kullanılır ve polimerlerin mekanik dirençlerini yükseltmektedirler. Biyoyakıtların gelecekteki kullanımını daha uygun hale getirmek için biyodizel sentezinde kullanılabildikleri için maliyet değerini düşürerek katkı sağlarlar (Abbott vd., 2004).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Kestane kabuğu ekstraksiyon işlemi, çevre dostu bir yolla yüksek konsantrasyonda polifenol elde etmek için incelenmiştir. Bu amaçla, ekstraksiyon işlemi için yeşil bir çözücü, biyolojik olarak yenilenebilir, ucuz ve kolayca geri dönüştürülebilir su seçilmiştir. 9 mL/g sabit su-katı oranında optimize edilmiş ekstraksiyon sıcaklığı koşulları (50 °C) altında maksimum toplam fenol içeriği, 6,6 g Gallik Asit Eşdeğerleri (GAE)/L ekstrakt olmuştur. UF işlemi, berrak bir sulu ekstrakt üreterek askıda katı maddelerin tamamen çıkarılmasına izin vermiş. 30,16 g/L toplam polifenol ve 6,2 g/L toplam flavonoid içeren ve ellagic ve tannik asitlerle zenginleştirilmiş (sırasıyla 3,83 g/L ve 1,49 g/L ortalama konsantrasyonla) bir NF retentatı elde edilmiş. Sonuçlar, döngüsel ekonomi yaklaşımına dayanan önerilen sürecin, değerli bileşiklerin geri kazanılması yoluyla kestane kabuklarının etkili bir şekilde endüstriyel olarak değerlendirilmesi ve bunların bertaraf edilme riskinin en aza indirilmesi için umut verici olduğunu göstermiş (Conidi vd. 2022).

An, vd. (2021)'de yaptıkları çalışmada, kolin klorür bazlı derin ötektik çözücüler (DÖÇ'ler) ile atık kestane kabuklarından oldukça değerli fenolik bileşik olan ellagik asidin çıkarılması ve geri kazanılması DÖÇ ile ekstraksiyon yöntemini kullanmışlar. DÖÇ olarak Kolin klorür/n-propanol, 40 mg/mL katı-sıvı oranı, 70 dakikalık ekstraksiyon süresi ve 200 W ekstraksiyon gücü ile optimize edilmiş ultrasonik yardımcı ekstraksiyon koşullarını kullanarak, 4,64 mg/ellagik asit için yüksek verimli ekstraksiyon değeri elde etmişlerdir. Bu yöntem, farmasötik ve biyokimyasal uygulamalar için doğal kaynaklardan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu ve geri kazanımı için yeşil, kirlilik içermeyen bir alternatif yöntem olarak da kullanılabilir olduğunu bulmuşlardır (An, vd., 2021).

Kestane kabuklarının ve kestane yapraklarının antioksidan özelliklerini çeşitli kimyasal ve biyokimyasal deneylerle değerlendirmişlerdir. Test edilen tüm yan ürünler, özellikle lipid peroksidasyon inhibisyonu için (140 ug/mL'den düşük) çok düşük EC50 değerleriyle (380 ug/mL'den düşük) birlikte iyi antioksidan özellikler ortaya koyduğunu söylemişlerdir. Toplam fenol ve flavonoid içeriklerini de belirlemişlerdir. Test edilen tüm yan ürünlerin yeni antioksidan formülasyonlarında yüksek uygulama potansiyeline sahip olduğu kanıtlanırsa da, kestane kabukları ve yapraklarının daha iyi sonuçlar verdiğini tespit etmişlerdir (Barreira, J. C. M. vd. ,2010).

Seçilen lignoselülozik atıklar, 200-240°C aralığındaki sıcaklıklarda (sıcak sıkıştırılmış su içeren ortamda) otohıroliz işlemeine tabi tutulmuş. İşlemlerden elde edilen sulu fazlar, etil asetat ile ekstre edilmiş ve çözünür katılar, % 80 etanol içinde yeniden çözündürölmüş (daha fazlasını elde etmek için). Elde edilen ekstraktlar verimi fenolik bileşim ve antioksidan kapasite açısından test edilmiş. Otohıroliz sonrasında en yüksek katı çözünme yüzdeleri (% 31 ve %29) sırasıyla mısır koçanı ve badem kabukları için gözlenmiş. Badem kabuklarından kestane burguları ve üzümden etil asetat ekstraktlarının etanol yeniden çözünmesi prına, fenolik içeriğini azaltmış ve antioksidan kapasiteleri daha düşük konsantrelerle sonuçlanmış (DPPH radikal temizleme yöntemiyle ölçölmüş). En iyi konsantre içeriğinin, ana fenolik bileşenler olarak benzoik ve sinnamik asitleri içerdiiğini bulmuşlar (Conde, E.,2011).

Kestane kabuğu muamelelerini tanen ve hemiselüloz bileşenlerini serbest bırakmak için yapmışlar. Yüksek sıcaklıkta ekstraksiyon (HTE) seçilen teknolojiymiş ve seçilen çözöcüler sulu ve alkalın ortamda yapılmış. Muameleler, kestane kabuğunun %37,7'sinin çözünmesine izin vermiş, maksimum değerler %55,5 fenolik bileşiklerin 180°C muamele sıcaklığında çözünmesine izin verdiğini tespit etmişler.

Optimum işlem alkali koşulları altında üretilen ekstrakt, membran teknolojisi ile işlenmiş ve nihai üründeki fenolik konsantrasyon, hidrolizatlardaki ilk fenolik konsantrasyondan yaklaşık % 15 daha yüksekmiş. Bu ürün, sentetik antioksidanlarınkine benzer bir antioksidan aktivite göstermiş (López, vd., 2012).

Castanea sativa'nın yeterince kullanılmayan kısımlarının (yapraklar, uçlar, kabuklar) sulu ekstraksiyonu, farklı çözünür ve çözünmez fraksiyonlar elde etmek için önermişlerdir. Optimum ekstraksiyon ve konsantrasyon koşulları, daha önce yayınlanmış çalışmalara dayanarak seçilmiş. Yapraklardan ve kabuklardan elde edilen ekstraktlar, membranlar tarafından konsantre edilmiş ve frezlerden elde edilenler, radikal temizleme kapasitesi gösteren aktif fenolik bileşikleri konsantre etmek için adsorpsiyon-desorpsiyon ile rafine edilmiş. Ekstraktların farmasötik potansiyelini araştırmak için bir ön tarama yapılmış, temsili insan tümör hücrelerine karşı hücre canlılığı değerlendirilmiş ve bir kozmetik bileşen olarak potansiyeli de kolajenaz, elastaz ve tirozinaza karşı inhıbe edici aktiviteleri açısından değerlendirilmiş. Ayrıca, ilginç mekanik özelliklere sahip potasyum sabunları formüle etmeye uygun potasyum üretimi için alternatif bir kaynak olarak kestane kabuğu külleri kullanılmıştır (Flórez-Fernández, vd., 2020).

Lignoselülozik malzemeler arasında, kestane kabukları (CNS), bir biyorafineri programında kullanılmak üzere uygun bir hammadde olarak umut verici olanaklara sahip tarımsal gıda endüstrisinden reddedilen bir hammadde olduğu bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, lignin ve biyo-etanolün birlikte üretimi için CNS'nin alkali delignifikasyonunu optimize etmekmiş. Optimum koşullar altında (%7,2 NaOH, 80°C ve 30 dakika), %92,6 delignifikasyon elde edildi ve %60,5 glukan geri kazanılmış. Bu delignifiye katı, *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak eşzamanlı bir sakarifikasyona ve fermentasyona tabi tutulmuş ve 14,6 g/L'lik bir etanol üretimine ulaşılmış (% 97 etanol dönüşümü). Ayrıca, CNS'den ekstrakte edilen lignin, kimyasal bileşim (piroliz-GC/MS), moleküler ağırlık dağılımı (HPSEC), termal stabilite (TGA), yapısal özellikler ve fonksiyonel gruplar (MR ve NMR) açısından ilk kez karakterize edilmiş ve toplam fenolik içerik (Folin-Ciocalteu) belirlenmiş. Bir ön ekonomik analiz, ligninin ortak üretiminin, CNS biyorafinerisinin kârlılığındaki kilit faktör olduğunu ve alkali delignifikasyonun, bu kullanılmayan kalıntının uygun bir şekilde yeniden değerlendirme stratejisi olabileceğini göstermiş (Morales vd., 2018).

Son on yılda polifenolik antioksidanlara ilgiden dolayı, önemli ölçüde artmıştır. Bazı çalışmalar, diyet polifenollerinin koruyucu bir etkiye sahip olduğunu göstermiş. Çeşitli hastalıklarla ilişkili serbest radikalleri temizlemedeki yüksek kapasiteleri ve (Silva vd., 2007) koroner kalp hastalığına karşı etkisi (Weisburger,1999; Engler ve Engler, 2006), kanser (Fang vd., 2002; Nichenametla vd., 2006), nörodejeneratif hastalıklar için kestane ve badem önemli fenolik kaynaklar olduğunu söylemişler (Barreira, J.C.M. vd.,2008).

Kestane meyvesinin işlenmesi, (iç kabuk; % 6,3–10,1) ve perikarp (dış kabuk; % 8,9-13,5). Bu malzemeler değerli yan ürünlerin kaynakları olma potansiyeline sahipmiş. Dört Portekiz kestane çeşidinin (Judia, Longal, Martaínha ve Lada) toplam fenoliklerin, düşük moleküler ağırlıklı fenoliklerin önemli içeriğini ortaya çıkarmış. Gallik ve ellagik asit, yoğunlaştırılmış tanenler ve castalagin, vescalagin, acutissimin dâhil ellagitanninler A ve acutissimin B. Deri dokuları en yüksek toplam fenolik seviyelerine sahipmiş. Toplam fenolikler, toplam yoğunlaştırılmış tanenler ve düşük moleküler ağırlıklı fenolikler (Longal'da) 20°C'de 70:30 aseton: suyuş. Perikarp ve integument Longal çeşidinin dokuları gallik asit ve castalagin açısından en zenginleri olduğunu tespit etmişler. Sonuç olarak bu malzemeler değerli fenoliklerin ekstraksiyonu için kullanılabilir olduğunu tespit etmişler (Vasconcelos vd., 2009).

Kestane kabuğu ve okaliptüs kabuğu özütlerinin fenol ikameleri potansiyeli olarak deri tabaklamada krom ikameleri olarak ve yapıştırıcı formülasyonunun bir kaynağı olarak antioksidan bileşikleri incelenmiştir. Ekstraksiyon koşullarının etkisi, tip ve alkali bileşiklerin (NaOH , Na_2SO_3 ve Na_2CO_3) konsantrasyonu ve sıcaklık, ekstraksiyon verimi ve ekstrakt özellikleri üzerine: Stiasny sayısı, tanen içeriği, toplam fenol içeriği, FRAP (ferrik indirgeyici/antioksidan güç) antioksidan kapasitesi ve moleküler ağırlık dağılımı analiz edilmiş. Okaliptüs kabuğu özütlerinden Kestane kabuğu özlerinin özellikleri çok daha iyi olduğunu tespit etmişler ve önemli ölçüde daha yüksek özütlenme verimleri elde edilmiş. Sıcaklığın 70'den 90 °C'ye yükselmesi, sadece ekstraksiyonu arttırmamış. Aynı zamanda verimin yanı sıra ekstraktların kalitesini de iyileştirmiş. Her iki malzeme için de % 2,5 Na_2SO_3 –90 °C özütü, kestane için %2,5 NaOH –% 2,5 Na_2SO_3 –90 °C özütü ile birlikte kabuk, tüm uygulamalar için yüksek ekstraksiyon verimleri ve en iyi özellikleri göstermiş ve kestane kabuğu önerilmiş (Vázquez vd., 2008).

2.2 Derin Ötektik Çözücüler ile İlgili Yapılan Çalışmalar

2001 yılında Abbott vd. tarafından yapılan bir çalışmada, bir dizi kuaterner amonyum tuzu ZnCl_2 ile ısıtmışlar ve elde edilen sıvıların donma noktalarını ölçmüşler. En düşük erime noktası olan 23–25°C'nin, amonyum tuzu olarak kolin klorür kullanıldığında elde edildiğini bulmuşlardır (Abbott vd., 2001). Bu ilk çalışma genişletilmiş ve ötektik tuz karışımlarından ve hidrojen bağı donörlerinden oluşan bir dizi sıvı geliştirilmiş. Bu sıvılara, yalnızca ayrık anyonlar içeren iyonik sıvılardan ayırt edilmeleri için derin ötektik çözücüler adı verilmiş. DÖÇ terimi, kendisini oluşturan karışımların ötektik bileşiminden, DÖÇ'ün en düşük erime noktasını verdiği molar oranına yakın sıvıları ifade ettiği bulunmuştur (Abbott vd., 2003).

Kloroalüminat iyonik sıvılarının önemli bir sınırlaması, AlCl_3 'ün nem ile temas ettiğinde hızlı hidrolizi nedeniyle doğal hava ve nem duyarlılığı olduğunu tespit etmişler. Bu sistemlerin nem duyarlılığı, ötektik bazlı iyonik sıvılar oluşturmak için AlCl_3 'ün ZnCl_2 gibi daha kararlı metal halojenürlerle değiştirilmesiyle bir şekilde azaltılabileceğini savunmuşlar. AlCl_3 ve ZnCl_2 ile organik katyonlardan oluşan iyonik sıvılar genellikle birinci nesil iyonik sıvılar olarak adlandırılmış. Bu sınıftaki iyonik sıvılar, karışımın ötektik bileşimlerinde hacimli kloroalüminat veya klorozinkat iyonlarının oluşması nedeniyle düşük sıcaklıklarda akışkan olduğunu dile getirmişler. Bu, iyonların yük yoğunluğunu azaltmış, bu da sistemin kafes enerjisini azaltmış ve bu da karışımın donma noktasında bir azalmaya yol açmış. İkinci

nesil iyonik sıvılar, birinci nesil iyonik sıvılarda görülen kompleks iyonların ötektik karışımından ziyade tamamen ayırık iyonlardan meydana gelenlermiş. Alkilimidazolyum tuzları ile çalışan Wilkes ve Zaworotko, ötektik iyonik sıvılarda kullanılan $AlCl_3$ 'ü tetrafloroborat ve asetat parçaları gibi ayırık anyonlarla değiştirerek hava ve neme dayanıklı sıvıların sentezlenebileceğini keşfetmişler (Wilkes ve Zaworotko, 1992). Genel olarak hava ve nem kararlı olmasına rağmen, bazı çalışmalar neme maruz kalmanın kimyasal ve fiziksel özelliklerini etkileyebildiğini ve su içeriği arttıkça HF'nin geliştiğini gözlemlemiştir (Endres ve El Abedin, 2006).

Shahbaz vd. farklı sıcaklıklarda DÖÇ'ler için yoğunluğu tahmin etmek için bir yöntem önermiş (Shahbaz vd.,2011). Ölçülen ve tahmin edilen yoğunlukların değerleri karşılaştırılmış ve test edilen tüm DÖÇ'ler için ortalama mutlak bağıl yüzde hatası (ARPE) %1,9 olarak bulunmuş. Tahmin edilen DÖÇ yoğunluklarında tuzun HBD'ye molar oranının ARPE üzerindeki etkisi de araştırılmış. Aynı grup, farklı hidrojen bağı donörlerine sahip fosfonyuma bazlı tuzlardan oluşan DÖÇ'leri de incelemişler (Kareem vd., 2010).

Erime sıcaklığı, yoğunluk, viskozite, pH, iletkenlik ve çözünmüş oksijen içeriği, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçülmüş. Bu çalışmayı yapanlar, tuz tipi ve HBD'nin ve her iki bileşiğin mol oranının çalışılan özellikler üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. DÖÇ'lerin diğer iyonik sıvılara ve moleküler çözücülere göre viskoziteleri oldukça yüksek, iletkenlikleri ise daha düşüktür. Bu eşitsizliğin kaynağının, iyonların büyük boyutundan ve iyonik sistemlerdeki nispeten serbest hacimden kaynaklandığı ileri sürmüşlerdir. İyonik sıvıların viskozitesi, en yaygın moleküler çözücülerden çok daha yüksektir ve viskozitedeki sıcaklıkla değişimin, viskoz akış için aktivasyon enerjisi için büyük değerlerle Arrhenius tarzında değiştiğini bulmuşlar. Bunun, iyon boyutunun oranı ve sıvıdaki boşlukların ortalama yarıçapı ile ampirik olarak ilişkili olduğunu tespit etmişler. (Abbott vd.,2004).

Abbott, delik teorisinin bir sonucu olarak, yük aktarımını sınırlayanın iyonlar değil, sonsuz seyrelmede olan delikler olduğunu göstermiştir. Bu model kullanılarak Nernst-Einstein denkleminin geçerli olduğu gösterilebilir olduğunu ileri sürmüşler. Hidrojen bağı donörleri gliserol, etilen glikol ve 1,4-bütandiol içeren kolin klorür bazlı sıvıların kırılma indisi ölçülmüş ve bir atomik katkı yöntemi kullanılarak tahmin edilen değerlerle karşılaştırılmış. Seçilen yöntemi kullanarak bu sıvıların kırılma indekslerini tahmin etmenin mümkün olduğu

bulunmuş, burada kırılma indeksinin tuz ve HBD değerleri arasında yer aldığı bulunmuş (Shahbaz vd., 2013).

Bekledikleri gibi, viskozite ve sıcaklık arasındaki ilişki ile, DÖÇ'lerin elektriksel iletkenliğinin sıcaklığa bağlı olduğunu göstermişler (Bagh vd.,2013).

Mantle ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, DÖÇ'lerin ilk darbeleri alan gradyanlı nükleer manyetik rezonans (PEG-NMR) çalışmasını açıklayarak doğrulamışlardır. Hem kolin katyonunun hem de hidrojen bağı donörünün moleküler dengesi kendi kendine difüzyon katsayısı, standart bir madde kullanılarak araştırılmış. Sıcaklığı artırmanın kolin katyonu ile ilgili HBD arasında daha zayıf bir etkileşime yol açtığını göstermişlerdir. Bulgular ayrıca HBD'nin moleküler yapısının tüm sistemin hareketliliğini büyük ölçüde etkileyebileceğinin altını çizmiştir (D'Agostino vd., 2011).

Cunha ve Fernandes (2018), DÖÇ'lerin geleneksel organik çözücülerle kıyaslandığında ne kadar çevre dostu olduğunun belirlenmesi ile ilgili ekstraksiyon çalışmaları yapmışlardır. DÖÇ'lerin sadece çevre dostu olması değil aynı zamanda düşük maliyetli olmaları da tercih edilme nedenleri arasında gösterilmiştir (Cunha ve Fernandes,2018). Tang vd. (2015), derin ötektik çözücülerin ve derin ötektik-çözücü bazlı malzemelerin bazı benzersiz özelliklerinin yanı sıra bunların ekstraksiyon ve ayırmadaki uygulamalarını vurgulamışlar ve bunların çeşitlenmesi gerektiğini düşünmüşlerdir (Tang vd., 2015).

Zainal-Abidin vd. (2017), Fenolik asit, flavonoidler, tanshinon, keratin, tokoller, terpenoidler, karragenanlar, ksantonlar gibi çeşitli biyoaktif bileşikler için potansiyel özütleyiciler olarak DÖÇ'lerin kullanımına vurgu yaparak geleneksel ve yakın zamanda geliştirilen ekstraksiyon tekniklerini tanıtmışlardır (Zainal-Abidin vd., 2017).

Vilková vd. (2020), Özellikle katı numunelerin ön işleme için, analitik kimya açısından DÖÇ bazlı ekstraksiyonda suyun rolünü tartışmışlardır. Bu incelemenin, araştırmalarını DÖÇ'lerle ilişkilendirenlere fayda sağlayacağına ve çalışmalarını hızlandırmalarına yardımcı olacağını düşünmüşlerdir (Vilková vd., 2020).

Ivanović vd. (2020)'de yaptıkları çalışmada, çeşitli bitki materyallerinden biyoaktif bileşiklerin izolasyonu için yenilikçi ekstraksiyon teknikleriyle birlikte DÖÇ'lerin kullanımına ilişkin güncel sistematik bir genel bakış sağlamışlardır. Kataliz, elektrokimya

veya organik sentez gibi diğer araştırma alanlarında da en yaygın kullanılan çözücüler olmasını beklemişler (Ivanović vd., 2020).

Dai vd. (2013)'de yaptıkları çalışmada DÖÇ ekstraktlarından bileşiklerin geri kazanılması için, DÖÇ hacmi (mg/mL) (40:1, 30:1, 20:1 ve 10:1), DÖÇ teki su miktarı (% 0, % 10, % 25, % 50 ve % 75) ve ekstraksiyon süresi (30, 60, 90, 120 ve 180 dakika) şartlarında deney yapmışlar. Başlıca fenolik bileşiklerin çoğu, DÖÇ'ten % 75 ile % 97 arasında bir verimle geri kazanılabileceğini bulmuşlardır (Dai vd., 2013).

Kestane kabuğu atıklarından (CSW) katma değerli bileşikler elde etmek için bir mikrodalga (MW) / DÖÇ destekli (MWDA) ekstraksiyon işlemi yapmışlar. Oksalik asit bazlı DÖÇ'ün polifenol ekstraksiyonu sırasında aynı anda lignini uzaklaştırma yeteneğini vurgulamışlar. Gallik asit, ellagik asit, kateşin hidrat ve prosiyanidin B2, MWDA ekstraksiyon koşullarının bir fonksiyonu olarak değişen nispi oranları ile tanımlamışlar ve miktarlarını belirlemişlerdir (González Rivera, vd.,2021).

Moccia vd. (2022)'de İlk olarak, 90 dakika boyunca 50°C'de bir kolin klorür (ChCl)/tartarik asit DÖÇ kullanılarak hafif bir deney işlemi yapmışlar. Ellagik asit (EA), ekstraktın tek düşük moleküler ağırlıklı fenolik bileşeni olarak bulmuşlar. Diğer deneylerde, CWF'nin ChCl bazlı DÖÇ'lerle 120 °C'de 8 saat süreyle deneyler içeren daha uzun süreli araştırma yapmışlar; bu, yüksek fenolik içerik (1,0 mg'a kadar gallik asit eşdeğeri/mg numune) ile karakterize edilen katı bir numune sağladığını ve antioksidan özellik gösteren EA ile birlikte guaiasil-syringyl lignin içerdiğini tespit etmişler. DÖÇ çözeltilerinin, kestane ağacı lifinden diğer tarımsal atıkların DÖÇ tabanlı işlenmesi durumunda rapor edilenden önemli ölçüde daha yüksek olan %2,3 w/w EA verimi elde edilmiş. DÖÇ'lerin yeşil, ucuz ve kolay erişilebilir bir yüksek değerli ürün kaynağı olarak tamamen kullanılmasına izin verebilir olduğunu söylemişler (Moccia vd. 2022).

3. MATERYAL VE METOD

3.1 Materyal

Çalışma kapsamında Bartın ili Amasra-Yahyayazıcılar mevkiinden toplanan kestane meyve perikarpları (kahverengi kabuğu) kullanılmıştır.

Temin edilen kestane meyveleri 3 gruba ayrılmıştır. 1. grup hiç işlem görmemiş kestane meyve kabuğu, 2. grup haşlanmış kestane meyve kabuğu, 3.grup fırınlanmış kestane kabuğu olarak sınıflandırılmıştır. Yenilenebilir kısımları çıkarıldıktan sonra, kahverengi kabuğun iç kısımdaki pamuksu doku temizlenmiş ve örnekler derin dondurucularda bekletilmiştir.

Çözücü olarak üç farklı derin ötektik (DÖÇ) kullanılmıştır. Kolin klorür bazlı hazırlanan DÖÇ çözeltilerinde Sigma Aldrich 109621 marka % 99'luk Etilen glikol, Merck 100264 marka % 98-100'lük Formik asit, Merck 100056 marka % 100'lük Asetik asit ve Merck 500117 marka Kolin klorür kullanılmıştır. Gallik asit standart olarak: Sigma- Aldrich marka 27645 kodlu gallik asit monohidrat kullanılmıştır. Çözücülere ait mol oranları ve kısaltmaları Tablo 3.1'de verilmiştir.

Tablo 3.1: Hazırlanan DÖÇ'lere ait bilgiler

Elektron alıcı (HBA)	Elektron verici (HBD)	Kısaltma	Mol Oranı(v/v)
Kolin Klorür (ChCl)	Formik asit (FA)	DÖÇ-1	1:2
	Asetik asit (AA)	DÖÇ-2	
	Etilen Glikol (EG)	DÖÇ-3	

3.2 Metod

Toplanan kestane meyvelerinin kahverengi kabukları üç gruba ayrılmıştır;

- İşlem görmemiş (kontrol) kahverengi kestane meyve kabuğu
- Haşlanmış kahverengikestane meyve kabuğu
- Kavrulmuş kahverengi kestane meyve kabuğu

Haşlama işlemi örnekler suyun içerisine konularak 25 dk. süre ile ısıtılarak gerçekleştirilmiştir. Kavrulmuş örnekler ise elektrikli fırınlarda üzerlerine çizik atılan

kestane örnekleri 150-200°C de 25 dk. süre ile muamele edilmesiyle elde edilmiştir. Şekil 3.1’de haşlanmış ve fırınlanmış kestane örnekleri görülmektedir.



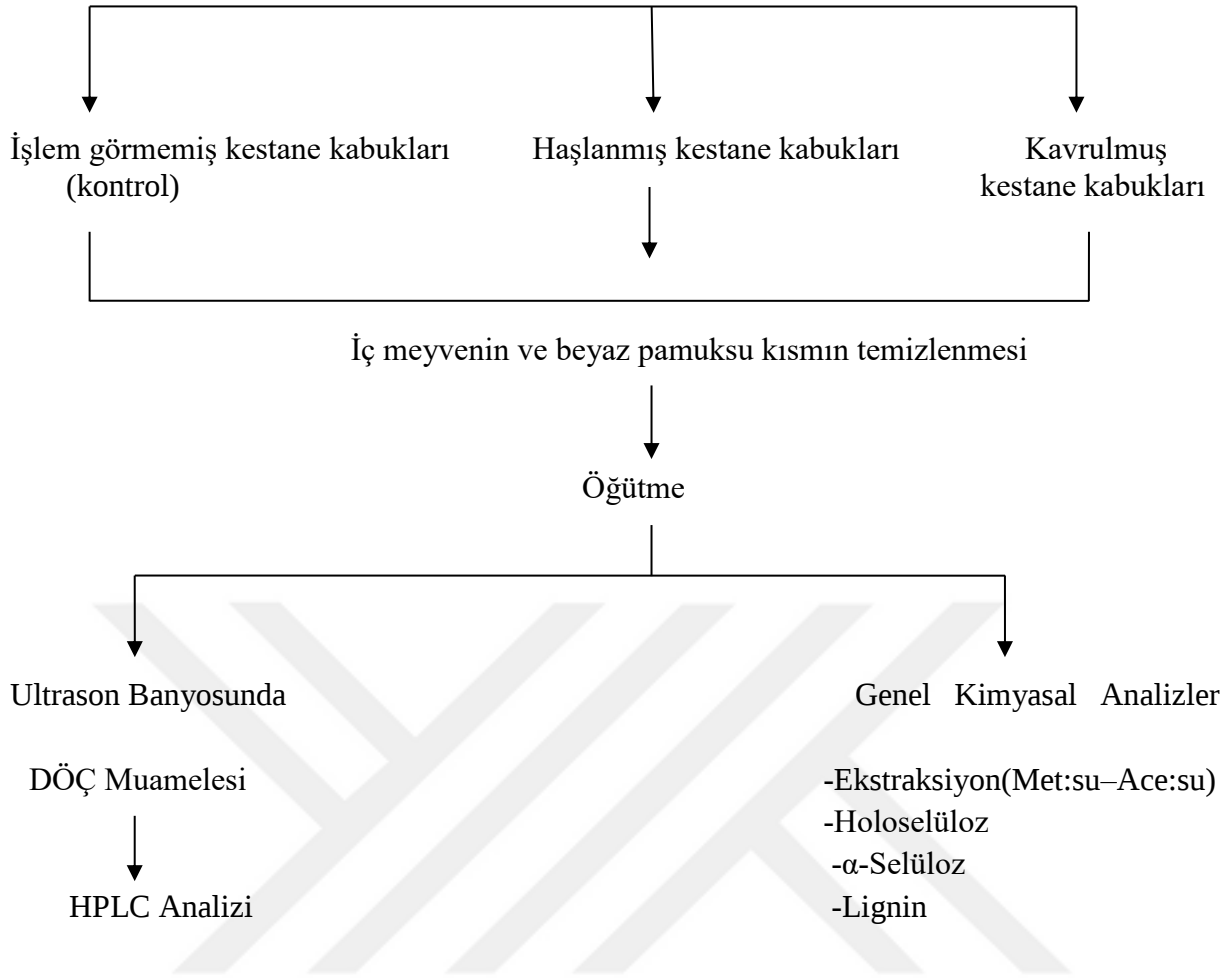
Şekil 3.1: Haşlanmış ve fırınlanmış kestane örnekleri (Fotoğraf: Hikmet ÇIKLAÇIĞI, 2022)

Şekil 3.2’ de kahverengi kestane kabuğunun beyaz pamuklu kısımdan temizlenmiş hali görülmektedir. Her bir örnek grubu daha sonra kahverengi kısmı iç meyveden ayrılarak kabuğun içindeki beyaz pamuklu kısımlarından temizlenmiştir. Kimyasal analizler öncesi örnekler ev tipi kahve öğütücüsünde öğütülmüş ve cam kavanozlar içerisinde ışık görmeyen dolapta saklanmıştır. Örnekler ait rutubet ölçümleri deneyler öncesinde yapılmıştır.



Şekil 3.2: Kahverengi iç kabuğun beyaz pamuksu kısmından temizlenmesi (Fotoğraf: Hikmet ÇIKLAÇIĞI, 2022).

Tez çalışması kapsamında yapılan analizlere ait deney akış şeması Şekil 3.3’de verilmiştir. Beyaz pamuksu kısmından temizlenen örnekler öğütme işlemini takiben genel kimyasal analizler ve DÖÇ çözeltileri ile muamele olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.



Şekil 3.3: Kestane kabuğu deney akış şeması

3.2.1 Kestane Kahverengi İç Kabuğuna ait Genel Kimyasal Analizler

Öğütülen kahverengi kabuklar (yaklaşık olarak 1 ml örnek) sırasıyla ekstraksiyon, holoselüloz, α -selüloz ve lignin deneylerine tabii tutulmuştur. Ekstraksiyon işleminde Metanol: su (95:5 v/v) ve Aseton: su (90:10 v/v) karışımı kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi için 5 gr örnek ve 300 ml çözücü karışımı ile 6 saat süre ile sokslette gerçekleştirilmiştir. Süre sonunda ekstraktif madde miktarı krozedeki örnekler tartılarak gravimetrik olarak hesaplanırken, balon içindeki çözücü kısmı içerik tespiti için GC-MS’de analiz edilmiştir.

Kromatogramlarda gallik asidin varlığı tespit edildikten sonra DÖÇ örnekleriyle karşılaştırılmak üzere Metanol: su (95:5 v/v) ve aseton: su (90:10 v/v) ekstreleri HPLC’ye enjekte edilmiştir.

Uygulanan diğer kimyasal analizler ise sırasıyla Holoselüloz tayini (Wise and Jahn, 1952), α - selüloz (Rowell, 2005) ve klason lignin (TAPPI T 222om-02, 2002) deneyleridir.

3.2.2 DÖÇ’ler ile Ultrason Banyosunda Ekstraksiyon

Yapılan literatür çalışmalarında DÖÇ'ler ile fenolik bileşiklerin eldesinde ultrason banyosu yaygın kullanılan ve maliyeti yüksek olmayan bir metot olarak belirtilmiştir (Wang vd., 2020; Lakka vd. 2020). Bu çalışmada da DÖÇ'lerle asit miktarı belirlemede ultrason banyosunda ekstraksiyon işlemi uygulanmış ve farklı parametreler denenmiştir. Uygulanan deney tasarımı Tablo 3.2' de verilmiştir. Buna göre üç farklı DÖÇ çözeltisi, üç farklı ekstraksiyon süresi, üç farklı sıcaklık, üç farklı su miktarı (%) ve üç farklı sıvı: katı oranı (ml/g) uygulanmıştır. 1 g kahverengi kestane kabuğu cam tüpler içerisine konularak üzerine DÖÇ çözeltisi eklenmiş ve JETOTECH marka ultrason banyosunda muamele edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası örnekler süzölmüş ve HETTICH Rotofix 32 A marka santrifüjde santrifüjlenerek askıda partikül kalmaması sağlanmıştır. Hazırlanan DÖÇ çözeltileri non-steril PTFE 45/25 mm şırınga filtresinden geçirilerek HPLC analizlerine kadar buzdolabında + 4 °C bekletilmiştir.

Tablo 3.2: Kestane kabuklarına uygulanan deney şablonu

Yöntem	DÖÇ	Mol Oran ₁	Su miktarı (%)			Katı: sıvı Oranı (g/mL)			Ekstraksiyon Süresi(dak.)			Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)		
Ultrason	ChCl: FA	1:2	10	20	30	10	20	30	10	30	60	30	50	70
	ChCl: EG	1:2	10	20	30	10	20	30	10	30	60	30	50	70
	ChCl: AA	1:2	10	20	30	10	20	30	10	30	60	30	50	70

3.3.3 Kalitatif ve Kantitatif Analizler

Metanol: su ve aseton: su örnekleri ayrı ayrı aşağıda belirtilen analiz koşullarında enjekte edilmiştir. Kestane kahverengi kabuğunda gallik asit varlığını tespit etmek için Shimadzu GCMS- QP2010 marka kütle spektroskopi cihazı kullanılmıştır. Kolon tipi, RTX-5MS (30 m x 0,25µm x 0,25 mm), He gazı, 1,10mL7min akış, İon kaynağı sıcaklığı 200°C, Interface sıcaklığı 250 °C, Sıcaklık programı, 120°C (1dak./6°C) 310°C'de 15 dak.

Kantitatif analizler ise Shidamzu marka HPLC'de yapılmıştır. Inertsil ODS-4 (5µm, 250 mm x 4,6 mm ID) tipi kolon, mobil fazlar % 0,1 o-fosforik asit (A) ve Asetonitril (B) kullanılmıştır. Akış hızı 0,8 ml / dk, izotronik akış % 92 A fazı , % 8 B fazı – Kolon sıcaklığı 40°C Dedektör: DAD dedektörü, tarama aralığı 220 nm. Gradient programı aşağıdaki tabloda verilmiştir. (Tablo 3.3)

Tablo 3.3: HPLC-DAD Cihaz Analiz Şartları

Kolon	ODS-4(5µm, 250 mm x 4,6 mm id)
Mobil faz A	% 0.1 o-fosforik asit
Mobil faz B	Asetonitril
Akış hızı	0.8 ml / dk
Kolon sıcaklığı	40°C
Dedektör	DAD dedektörü
Dedektör dalga boyu	220 nm.
Enjeksiyon hacmi	20 µL
Analiz süresi	45 dk

3.3.4 İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamında 18 farklı parametre denenmiştir. Gerek kullanılacak kimyasal madde miktarının azaltılması gerekse zamanın daha verimli kullanılması için son yıllarda matematiksel modeller kullanılmaktadır. Box – Behnken deney tasarımı kullanılarak ANOVA uygulanarak optimal deney şartları belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Kestane İç Kabuğu Genel Kimyasal Analiz Bulguları

Kestane (*Castanea sativa* Mill.) kahverengi kabuklarına ait kimyasal analiz sonuçları Tablo 4.1’de verilmiştir. Tablo 4.1’de görüldüğü gibi ekstraktif madde miktarı % 3,20, holoselüloz miktarı % 45,27 , α - selüloz miktarı % 29,18 ve lignin miktarını % 42,5 olduğu tespit edilmiştir. Morales vd. (2018)’ de yaptıkları çalışmada ekstraksiyon miktarını % 1,5, α -selüloz miktarını % 25,6 ve lignin miktarını % 36,4 olarak hesaplamışlar. Gonzalez Lopez vd.(2012)’ de yaptıkları çalışmada ekstraksiyon miktarını % 9,9 , α -selüloz miktarını % 25,6 ve lignin miktarını % 44,9 olarak tespit etmişler. Dönmez vd. (2016)’da yaptıkları çalışmada ekstraksiyon miktarını % 17,96, holoselüloz miktarını % 49,39, lignin miktarını % 34,82 ve α - selüloz miktarını % 40,03 olarak tespit etmişler. Boran Torun (2019) ise kestane kupula lif örneklerinin ekstraksiyon miktarını % 4,35, holoselüloz miktarını % 59,08 ve lignin miktarını % 22,95 olarak tespit etmiştir.

Tablo 4.1: Kestane kahverengi kabuklarına (*Castanea sativa* Mill.) örneğine ait kimyasal analiz sonuçları (%)

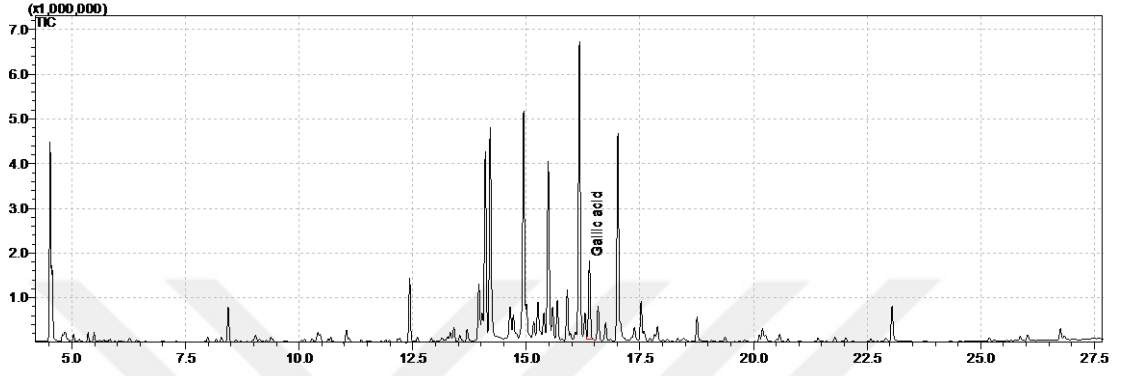
	Tespit	Morales vd. (2018)	González López vd. (2012)	Dönmez vd. (2016)	Boran Torun vd. (2019) kupala
Ekstraksiyon	3,20	1,5	9,9	17,96	4,35
Holoselüloz	45,27	-	-	49,39	59,08
α -selüloz	29,18	25,6	25,2	40,03	-
Klason lignini	42,5	36,4	44,9	34,82	22,95

4.2 Kestane İç Kabuğuna ait Sokselet Ekstraksiyon Bulguları

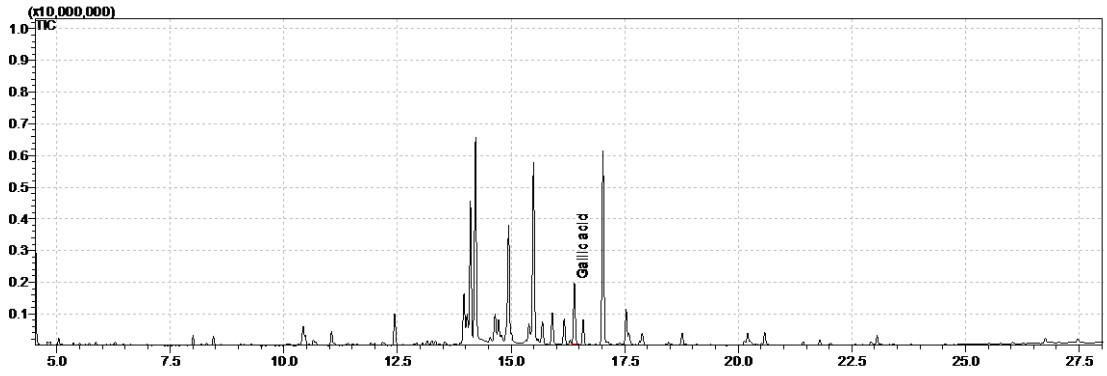
DÖÇ çözeltilerinin ekstraksiyon performanslarını belirlemek ve fenolik yapının tespiti amacıyla, kestane iç kabuğu örnekleri 6 saat süre ile Sokslet cihazında ayrı ayrı metanol: su (95:5 v/v) ve aseton: su (90:10 v/v) ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraktlar daha sonra kimyasal yapının belirlenmesi amacıyla GC-MS’de analiz edilmiştir. Tez kapsamında kütle spektrometresi kullanılmasının amacı gallik asidin varlığının tespit edilmesidir. Kontrol ve

fırınlanmış örneklerle ait kromatogram sonuçları Şekil 4.1-a, 4.1-b ve Şekil 5.1-a, 5.1-b’de verilmiştir.

4.1-a MeOH: su

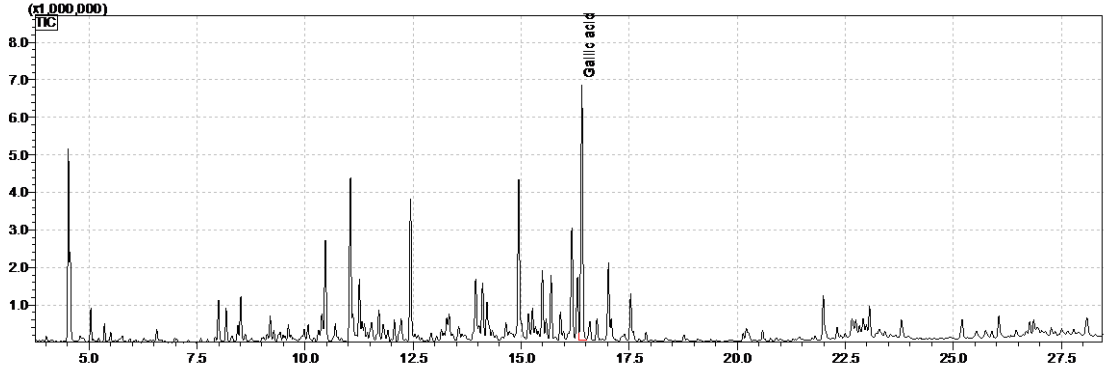


4.1-b Aseton: su

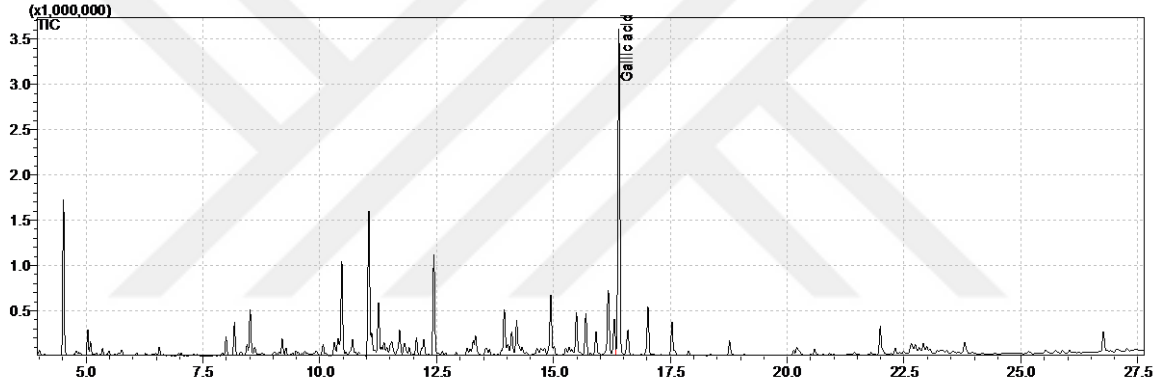


Şekil 4.1: Kontrol örneğine ait metanol:su ve aseton:su GC-MS kromatogramları.

5.1-a MeOH: su



5.1-b Aseton: su



Şekil 4.2: Fırınlanmış örneğe ait metanol:su ve aseton:su GC-MS kromatogramları.

Kromatogramlardan gerek kontrol gerekse fırınlanmış örneğin her iki çözeltisinde de tez çalışması kapsamında üzerinde durduğumuz fenolik bileşiklerden gallik asidin 16,38 gibi bir tutunma zamanında geldiği görülmüştür. Ellagik asit ise hiç bir örnekte tespit edilmemiştir. Gallik asit dışında MeOH: su ve aseton: su örneklerinde Tablo 4.2’de verilen bileşikler tespit edilmiştir.

Tablo 4.2: Kestane kontrol örneğinde tespit edilen kimyasal maddeler (%).

No	RT	Madde	MeOH: Su	Ace: Su
1	12.43	Xylitol	3,15	2,5
2	13.95	Şeker (MW 437)	3,34	4,68
3	14.02	Şeker (MW 437)	1,48	11,93
4	14.09	D-Fruktoz-1	10,37	-
5	14.20	D- Fruktoz -2	12,84	18,78
6	14.93	n.i	13,5	11,3
7	15.00	Şeker (MW 437)	1,55	-
8	15.48	α -D-galactopyranose	9,92	16,6
9	15.58	Galactoside	1,63	-
10	15.68	D-Galactose	2,15	2,08
11	15.90	Myo-Inositol	2,88	2,64
12	16.16	Glucitol	16,15	2,03
13	16.38	Gallik asit	4,06	5,2
14	16.58	Inositol	1,87	2,12
15	17.01	α -D-glucopyranose	11,23	17,12
16	17.52	16:0	2,04	3,01
17	23.05	D-Glucuronik asit	1,84	-

Tablo 4.2’de görüldüğü gibi kestane iç kabuğunun % 70’i şeker gruplarından oluşmaktadır. Aynı ayrı yapılan MeOH: su ve aseton: su örneklerinde en fazla fruktoz (% 23,2-% 18,8) belirlenmiştir. Bu maddeyi sırasıyla % 16 glucitol ve % 11,2 glucose izlemektedir. Ayrıca tespit edilemeyen ve molekül ağırlığı 437 (MW) olan şeker grupları da bulunmaktadır. Barros vd. (2010), kestane çiçeğinde fruktoz miktarını 5g/100 g olarak tespit etmişlerdir. Glukoz ise, Gullón vd. (2018) tarafından kestane meyvesinde % 20,6 olarak tespit edilmiştir.

DÖÇ çözeltilerinin su içermesi ve silillendirme öncesi buharlaştırma işleminin tam anlamıyla gerçekleşmemesi nedeniyle, gallik asidin varlığının belirlenmesinden sonra analizler HPLC ile yapılmıştır. Kontrol, fırınlanmış ve haşlanmış örneklerdeki gallik asit miktarı ait MeOH: su ve aseton: su için Tablo 4.3’de ayrı ayrı verilmiştir.

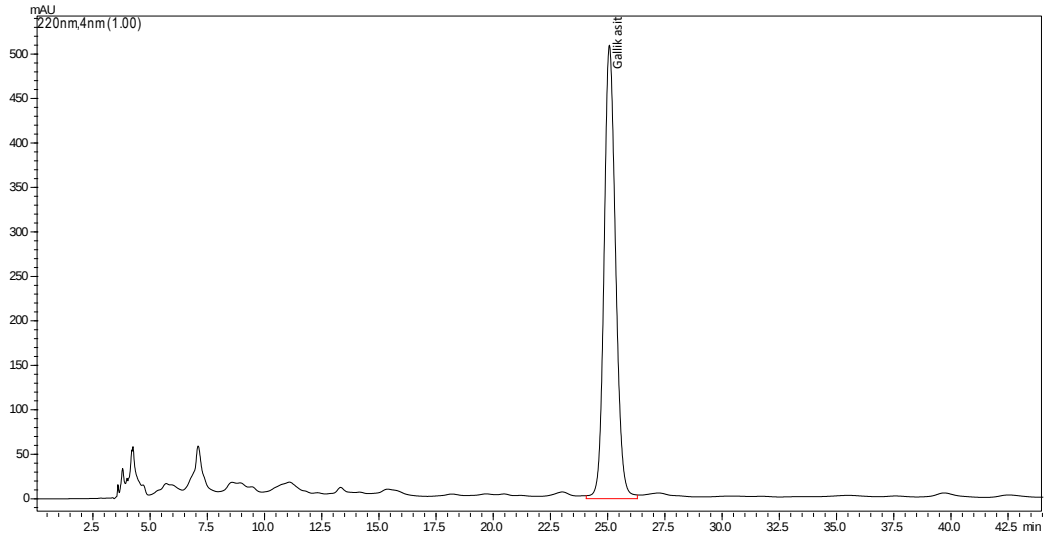
Tablo 4.3: HPLC ile kestane kabuğunda farklı çözücülerde tespit edilen gallik asit miktarı.

Örnek	Çözücü	ppm
Kontrol kahverengi kestane kabuğu	Metanol: su	5,691
	Aseton: su	2,797
Haşlanmış kahverengi kestane kabuğu	Metanol: su	0,790
	Aseton: su	0,264
Fırınlanmış kahverengi kestane kabuğu	Metanol: su	30,295
	Aseton: su	14,035

Tablo 4.3’de değerleri incelendiğinde, tüm örnek gruplarında en iyi sonucu MeOH: su verdiği görülmektedir. Örnek grupları içinde de fırınlanmış örneklerde gallik asit miktarı diğer örneklerle göre 5 kat daha fazla bulunmuştur. En düşük miktarı veren haşlanmış örneklerde ise gallik asit, ellagik asit gibi hidroliz olabilen tanenlerin suya karışarak uzaklaşmış olabileceği kanaatindeyiz. Kestane kabuklarının 70 °C’de 48 saat süre ile % 70’lik etanol ve metanolla ekstraksiyonu sonucunda gallik asit miktarı sırasıyla 760 ppm ve 840 ppm olarak bulunmuştur. Vasconcelos vd., (2010); Pinto vd.(2021) ise 80°C’de 10 dak. ve 220°C’de 30 dak. süre ile yaptıkları çalışmada gallik asit oranını 1360 ppm ve 540 ppm olarak tespit etmişlerdir.

4.3 Kestane İç Kabuğuna ait Ultrason Banyosu Ekstraksiyon Bulguları

DÖÇ çözeltileri ile ekstraksiyon işleminde basit ve etkili bir yöntem olan ultrason banyosunda ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Örnekler daha sonra HPLC’de analiz edilmiştir (Şekil 4.3). Metod kısmında detaylı olarak açıklanan farklı parametreler (DÖÇ tipi, su miktarı, katı: sıvı oranı, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı) uygulanarak hazırlanan örneklerle ait gallik asit miktarları Tablo 4.4’de verilmiştir. Elde edilen veriler istatistiksel olarak bir makine öğrenmesi olan Box-Behnken modellemesi ile değerlendirilmiş ve ilgili bölümlerde ele alınmıştır.



Şekil 4.3: En yüksek gallik asit verimi veren etilen glikol DÖÇ çözeltisi örneği (Örn:211).

Tablo 4.4: Ultrason banyosunda ekstrakte edilmiş Kestane kabuğunda HPLC ile tespit edilen gallik asit miktarı (ppm).

No	A	B	C	D	E	F	Gallik asit (ppm)
1	10	30	20	20	Kontrol	ChCl:FA	1,686
2	60	30	20	20	Kontrol	ChCl:FA	3,748
3	10	70	20	20	Kontrol	ChCl:FA	2,928
4	60	70	20	20	Kontrol	ChCl:FA	7,455
5	35	50	10	10	Kontrol	ChCl:FA	5,888
6	35	50	30	10	Kontrol	ChCl:FA	9,831
7	35	50	10	30	Kontrol	ChCl:FA	2,039
8	35	50	30	30	Kontrol	ChCl:FA	3,082
9	10	50	20	10	Kontrol	ChCl:FA	7,16
10	60	50	20	10	Kontrol	ChCl:FA	6,506
11	10	50	20	30	Kontrol	ChCl:FA	1,608
12	60	50	20	30	Kontrol	ChCl:FA	3,694
13	35	30	10	20	Kontrol	ChCl:FA	1,818
14	35	70	10	20	Kontrol	ChCl:FA	5,052
15	35	30	30	20	Kontrol	ChCl:FA	4,494

16	35	70	30	20	Kontrol	ChCl:FA	6,318
17	10	50	10	20	Kontrol	ChCl:FA	0,865
18	60	50	10	20	Kontrol	ChCl:FA	3,854
19	10	50	30	20	Kontrol	ChCl:FA	3,764
20	60	50	30	20	Kontrol	ChCl:FA	4,653
21	35	30	20	10	Kontrol	ChCl:FA	6,957
22	35	70	20	10	Kontrol	ChCl:FA	11,319
23	35	30	20	30	Kontrol	ChCl:FA	2,381
24	35	70	20	30	Kontrol	ChCl:FA	4,336
25	35	50	20	20	Kontrol	ChCl:FA	4,114
26	35	50	20	20	Kontrol	ChCl:FA	4,091
27	35	50	20	20	Kontrol	ChCl:FA	3,787
28	10	30	20	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	6,432
29	60	30	20	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	16,402
30	10	70	20	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	8,532
31	60	70	20	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	20,342
32	35	50	10	10	Fırınlanmış	ChCl:FA	37,072
33	35	50	30	10	Fırınlanmış	ChCl:FA	38,412
34	35	50	10	30	Fırınlanmış	ChCl:FA	6,68
35	35	50	30	30	Fırınlanmış	ChCl:FA	11,246
36	10	50	20	10	Fırınlanmış	ChCl:FA	37,786
37	60	50	20	10	Fırınlanmış	ChCl:FA	39,423
38	10	50	20	30	Fırınlanmış	ChCl:FA	11,38
39	60	50	20	30	Fırınlanmış	ChCl:FA	9,685
40	35	30	10	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	3,052
41	35	70	10	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	13,702
42	35	30	30	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	17,439
43	35	70	30	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	17,943
44	10	50	10	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	1,757

45	60	50	10	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	6,646
46	10	50	30	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	12,084
47	60	50	30	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	15,409
48	35	30	20	10	Fırınlanmış	ChCl:FA	10,126
49	35	70	20	10	Fırınlanmış	ChCl:FA	35,873
50	35	30	20	30	Fırınlanmış	ChCl:FA	10,415
51	35	70	20	30	Fırınlanmış	ChCl:FA	9,108
52	35	50	20	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	13,588

A: Ekstraksiyon Süresi, **B:** Ekstraksiyon Sıcaklığı, **C:** Su Miktarı, **D:** Sıvı: Katı Oranı **E:** Materyal **F:** DÖÇ Türü.

Tablo 4.4: Devam ediyor.

No	A	B	C	D	E	F	Gallik asit (ppm)
53	35	50	20	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	18,357
54	35	50	20	20	Fırınlanmış	ChCl:FA	12,409
55	10	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:FA	0,94
56	60	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:FA	0,645
57	10	70	20	20	Haşlanmış	ChCl:FA	2,465
58	60	70	20	20	Haşlanmış	ChCl:FA	5,892
59	35	50	10	10	Haşlanmış	ChCl:FA	4,095
60	35	50	30	10	Haşlanmış	ChCl:FA	8,57
61	35	50	10	30	Haşlanmış	ChCl:FA	0,289
62	35	50	30	30	Haşlanmış	ChCl:FA	1,356
63	10	50	20	10	Haşlanmış	ChCl:FA	4,93
64	60	50	20	10	Haşlanmış	ChCl:FA	6,55
65	10	50	20	30	Haşlanmış	ChCl:FA	1,706
66	60	50	20	30	Haşlanmış	ChCl:FA	2,201
67	35	30	10	20	Haşlanmış	ChCl:FA	1,516
68	35	70	10	20	Haşlanmış	ChCl:FA	2,23
69	35	30	30	20	Haşlanmış	ChCl:FA	3,52

70	35	70	30	20	Haşlanmış	ChCl:FA	6,037
71	10	50	10	20	Haşlanmış	ChCl:FA	2,074
72	60	50	10	20	Haşlanmış	ChCl:FA	2,529
73	10	50	30	20	Haşlanmış	ChCl:FA	2,852
74	60	50	30	20	Haşlanmış	ChCl:FA	2,827
75	35	30	20	10	Haşlanmış	ChCl:FA	5,047
76	35	70	20	10	Haşlanmış	ChCl:FA	12,867
77	35	30	20	30	Haşlanmış	ChCl:FA	1,423
78	35	70	20	30	Haşlanmış	ChCl:FA	4,636
79	35	50	20	20	Haşlanmış	ChCl:FA	3,078
80	35	50	20	20	Haşlanmış	ChCl:FA	3,684
81	35	50	20	20	Haşlanmış	ChCl:FA	3,526
82	10	30	20	20	Kontrol	ChCl:AA	1,028
83	60	30	20	20	Kontrol	ChCl:AA	0,997
84	10	70	20	20	Kontrol	ChCl:AA	4,367
85	60	70	20	20	Kontrol	ChCl:AA	8,791
86	35	50	10	10	Kontrol	ChCl:AA	6,355
87	35	50	30	10	Kontrol	ChCl:AA	10,409
88	35	50	10	30	Kontrol	ChCl:AA	1,756
89	35	50	30	30	Kontrol	ChCl:AA	2,468
90	10	50	20	10	Kontrol	ChCl:AA	2,163
91	60	50	20	10	Kontrol	ChCl:AA	7,817
92	10	50	20	30	Kontrol	ChCl:AA	0,65
93	60	50	20	30	Kontrol	ChCl:AA	2,499
94	35	30	10	20	Kontrol	ChCl:AA	1,372
95	35	70	10	20	Kontrol	ChCl:AA	9,71
96	35	30	30	20	Kontrol	ChCl:AA	2,463
97	35	70	30	20	Kontrol	ChCl:AA	10,215

A: Ekstraksiyon Süresi, **B:** Ekstraksiyon Sıcaklığı, **C:** Su Miktarı, **D:** Sıvı: Katı Oranı **E:** Materyal **F:** DÖÇ Türü

Tablo 4.4: Devam ediyor.

No	A	B	C	D	E	F	Gallik asit (ppm)
98	10	50	10	20	Kontrol	ChCl:AA	0,182
99	60	50	10	20	Kontrol	ChCl:AA	3,118
100	10	50	30	20	Kontrol	ChCl:AA	1,809
101	60	50	30	20	Kontrol	ChCl:AA	4,076
102	35	30	20	10	Kontrol	ChCl:AA	3,653
103	35	70	20	10	Kontrol	ChCl:AA	24,936
104	35	30	20	30	Kontrol	ChCl:AA	3,341
105	35	70	20	30	Kontrol	ChCl:AA	6,226
106	35	50	20	20	Kontrol	ChCl:AA	2,827
107	35	50	20	20	Kontrol	ChCl:AA	2,664
108	35	50	20	20	Kontrol	ChCl:AA	2,175
109	10	30	20	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	4,145
110	60	30	20	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	8,705
111	10	70	20	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	30,479
112	60	70	20	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	24,671
113	35	50	10	10	Fırınlanmış	ChCl:AA	12,007
114	35	50	30	10	Fırınlanmış	ChCl:AA	23,215
115	35	50	10	30	Fırınlanmış	ChCl:AA	3,811
116	35	50	30	30	Fırınlanmış	ChCl:AA	5,440
117	10	50	20	10	Fırınlanmış	ChCl:AA	20,514
118	60	50	20	10	Fırınlanmış	ChCl:AA	26,517
119	10	50	20	30	Fırınlanmış	ChCl:AA	3,823
120	60	50	20	30	Fırınlanmış	ChCl:AA	4,896
121	35	30	10	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	3,525
122	35	70	10	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	33,135
123	35	30	30	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	14,282
124	35	70	30	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	24,947

125	10	50	10	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	3,628
126	60	50	10	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	8,556
127	10	50	30	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	7,951
128	60	50	30	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	12,899
129	35	30	20	10	Fırınlanmış	ChCl:AA	26,350
130	35	70	20	10	Fırınlanmış	ChCl:AA	52,537
131	35	30	20	30	Fırınlanmış	ChCl:AA	3,942
132	35	70	20	30	Fırınlanmış	ChCl:AA	17,080
133	35	50	20	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	10,392
134	35	50	20	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	10,518
135	35	50	20	20	Fırınlanmış	ChCl:AA	7,155
136	10	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:AA	0,475
137	60	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:AA	0,979
138	10	70	20	20	Haşlanmış	ChCl:AA	0,576
139	60	70	20	20	Haşlanmış	ChCl:AA	1,446
140	35	50	10	10	Haşlanmış	ChCl:AA	1,901
141	35	50	30	10	Haşlanmış	ChCl:AA	10,290
142	35	50	10	30	Haşlanmış	ChCl:AA	0,655
143	35	50	30	30	Haşlanmış	ChCl:AA	1,675
144	10	50	20	10	Haşlanmış	ChCl:AA	6,451
145	60	50	20	10	Haşlanmış	ChCl:AA	8,486
146	10	50	20	30	Haşlanmış	ChCl:AA	0,918
147	60	50	20	30	Haşlanmış	ChCl:AA	3,037
148	35	30	10	20	Haşlanmış	ChCl:AA	0,717
149	35	70	10	20	Haşlanmış	ChCl:AA	1,337
150	35	30	30	20	Haşlanmış	ChCl:AA	2,764
151	35	70	30	20	Haşlanmış	ChCl:AA	1,395
152	10	50	10	20	Haşlanmış	ChCl:AA	0,807

A: Ekstraksiyon Süresi, **B:** Ekstraksiyon Sıcaklığı, **C:** Su Miktarı, **D:** Sıvı: Katı Oranı **E:** Materyal **F:** DÖÇ Türü

Tablo 4.4: Devam ediyor.

No	A	B	C	D	E	F	Gallik asit (ppm)
153	60	30	10	20	Haşlanmış	ChCl:AA	1,569
154	10	30	30	20	Haşlanmış	ChCl:AA	1,899
155	60	30	30	20	Haşlanmış	ChCl:AA	4,841
156	35	0	20	10	Haşlanmış	ChCl:AA	6,263
157	35	60	20	10	Haşlanmış	ChCl:AA	7,081
158	35	0	20	30	Haşlanmış	ChCl:AA	1,313
159	35	60	20	30	Haşlanmış	ChCl:AA	0,709
160	35	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:AA	3,416
161	35	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:AA	1,494
162	35	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:AA	2,359
163	10	0	20	20	Kontrol	ChCl:EG	4,253
164	60	0	20	20	Kontrol	ChCl:EG	7,902
165	10	60	20	20	Kontrol	ChCl:EG	9,417
166	60	60	20	20	Kontrol	ChCl:EG	15,889
167	35	30	10	10	Kontrol	ChCl:EG	14,434
168	35	30	30	10	Kontrol	ChCl:EG	22,897
169	35	30	10	30	Kontrol	ChCl:EG	7,175
170	35	30	30	30	Kontrol	ChCl:EG	4,599
171	10	30	20	10	Kontrol	ChCl:EG	8,679
172	60	30	20	10	Kontrol	ChCl:EG	16,534
173	10	30	20	30	Kontrol	ChCl:EG	3,411
174	60	30	20	30	Kontrol	ChCl:EG	8,551
175	35	0	10	20	Kontrol	ChCl:EG	7,524
176	35	60	10	20	Kontrol	ChCl:EG	14,653
177	35	0	30	20	Kontrol	ChCl:EG	7,288
178	35	60	30	20	Kontrol	ChCl:EG	12,722
179	10	30	10	20	Kontrol	ChCl:EG	3,782

180	60	30	10	20	Kontrol	ChCl:EG	10,097
181	10	30	30	20	Kontrol	ChCl:EG	7,953
182	60	30	30	20	Kontrol	ChCl:EG	12,965
183	35	0	20	10	Kontrol	ChCl:EG	15,930
184	35	60	20	10	Kontrol	ChCl:EG	27,540
185	35	0	20	30	Kontrol	ChCl:EG	5,799
186	35	60	20	30	Kontrol	ChCl:EG	9,717
187	35	30	20	20	Kontrol	ChCl:EG	9,289
188	35	30	20	20	Kontrol	ChCl:EG	9,761
189	35	30	20	20	Kontrol	ChCl:EG	7,243
190	10	0	20	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	8,688
191	60	0	20	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	8,426
192	10	60	20	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	24,827
193	60	60	20	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	40,433
194	35	30	10	10	Fırınlanmış	ChCl:EG	19,468
195	35	30	30	10	Fırınlanmış	ChCl:EG	56,799
196	35	30	10	30	Fırınlanmış	ChCl:EG	12,478
197	35	30	30	30	Fırınlanmış	ChCl:EG	19,052
198	10	30	20	10	Fırınlanmış	ChCl:EG	61,882
199	60	30	20	10	Fırınlanmış	ChCl:EG	62,075
200	10	30	20	30	Fırınlanmış	ChCl:EG	8,225
201	60	30	20	30	Fırınlanmış	ChCl:EG	16,441
202	35	0	10	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	9,407
203	35	60	10	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	34,904
204	35	0	30	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	16,952
205	35	60	30	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	33,974
206	10	30	10	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	59,113
207	60	30	10	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	24,645

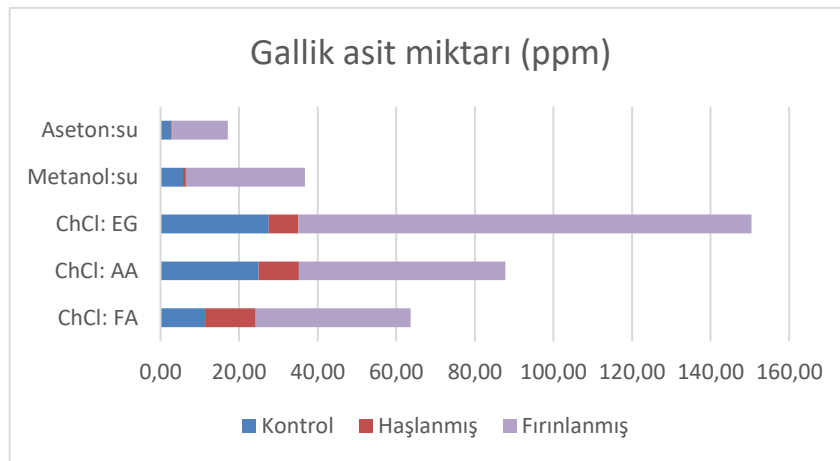
Tablo 4.4: Devam ediyor.

No	A	B	C	D	E	F	Gallik asit (ppm)
208	10	30	30	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	26,241
209	60	30	30	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	24,154
210	35	0	20	10	Fırınlanmış	ChCl:EG	29,251
211	35	60	20	10	Fırınlanmış	ChCl:EG	115,382
212	35	0	20	30	Fırınlanmış	ChCl:EG	8,829
213	35	60	20	30	Fırınlanmış	ChCl:EG	28,890
214	35	30	20	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	32,605
215	35	30	20	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	33,809
216	35	30	20	20	Fırınlanmış	ChCl:EG	32,503
217	10	0	20	20	Haşlanmış	ChCl:EG	0,365
218	60	0	20	20	Haşlanmış	ChCl:EG	2,927
219	10	60	20	20	Haşlanmış	ChCl:EG	1,657
220	60	60	20	20	Haşlanmış	ChCl:EG	2,944
221	35	30	10	10	Haşlanmış	ChCl:EG	3,728
222	35	30	30	10	Haşlanmış	ChCl:EG	5,008
223	35	30	10	30	Haşlanmış	ChCl:EG	0,785
224	35	30	30	30	Haşlanmış	ChCl:EG	1,051
225	10	30	20	10	Haşlanmış	ChCl:EG	2,481
226	60	30	20	10	Haşlanmış	ChCl:EG	4,415
227	10	30	20	30	Haşlanmış	ChCl:EG	0,823
228	60	30	20	30	Haşlanmış	ChCl:EG	1,902
229	35	0	10	20	Haşlanmış	ChCl:EG	0,501
230	35	60	10	20	Haşlanmış	ChCl:EG	2,845
231	35	0	30	20	Haşlanmış	ChCl:EG	2,561
232	35	60	30	20	Haşlanmış	ChCl:EG	2,278
233	10	30	10	20	Haşlanmış	ChCl:EG	0,464
234	60	30	10	20	Haşlanmış	ChCl:EG	0,641

235	10	30	30	20	Haşlanmış	ChCl:EG	1,212
236	60	30	30	20	Haşlanmış	ChCl:EG	3,641
237	35	0	20	10	Haşlanmış	ChCl:EG	7,494
238	35	60	20	10	Haşlanmış	ChCl:EG	7,472
239	35	0	20	30	Haşlanmış	ChCl:EG	1,781
240	35	60	20	30	Haşlanmış	ChCl:EG	0,403
241	35	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:EG	1,419
242	35	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:EG	1,736
243	35	30	20	20	Haşlanmış	ChCl:EG	1,485

A: Ekstraksiyon Süresi, B: Ekstraksiyon Sıcaklığı, C: Su Miktarı, D: Sıvı: Katı Oranı E: Materyal F: DÖÇ Türü.

Yapılan 243 analiz sonunda, her bir DÖÇ çözeltisi kendi içinde değerlendirildiğinde elde edilen en yüksek gallik asit miktarı ile sokslet cihazında organik gözücülerle yapılan deney sonuçları karşılaştırıldığında DÖÇ çözeltilerinin, belirgin bir şekilde her üç örnek türündede gallik asit miktarını artırdığı görülmektedir (Şekil 4.4). Özellikle fırınlanmış örnekte bu artış daha belirgin olarak görülmektedir. Benzer sonuçlar, kolin klorür: oksalik asit dihidrat ile elde edilen gallik asidin % 70'lik metanol ile 65°C'de 24 saat süre ile yapılan ekstraksiyondan 4 kat daha fazla olduğunu göstermiştir (Valanciene vd. 2020).



Şekil 4.4: DÖÇ ve organik çözücülerde elde edilen gallik asit miktarları (ppm)

DeneySEL ölçümleri karşılaştırma amacıyla Box-Behnken deney tasarımı kullanılmıştır. Ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı, su miktarı, sıvı : katı oranı, örnek türü ve DÖÇ şeklinde 6 parametre ve bunlara ait seviyeler Tablo 4.5' de verilmiştir.

Tablo 4.5: Box Behnken deney tasarımının seviyeleri

Kod	Parametreler	Seviyeler		
		-1	0	1
A	Ekstraksiyon Süresi	10	35	60
B	Ekstraksiyon Sıcaklığı	0	30	60
C	Su Miktarı	10	20	30
D	Sıvı: Katı Oranı	10	20	30
		1	2	3
E	Materyal	Kontrol	Fırınlanmış	Haşlanmış
F	DÖÇ	ChCl:FA	ChCl:AA	ChCl:EG

Yapılan deney tasarımına göre elde edilen ölçüm değerleri Tablo 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.6: Kestane iç kabuğu için tasarlanan Box-Behnken Deneysel Tasarım Modeli ve ölçüm değerleri.

N	A	B	C	D	E	F	GA	No	A	B	C	D	E	F	GA	N	A	B	C	D	E	F	GA	N	A	B	C	D	E	F	GA
1	-1	-1	0	0	1	1	1,686	62	0	0	1	1	3	1	1,356	123	0	-1	1	0	2	2	14,282	184	0	1	0	-1	1	3	27,540
2	1	-1	0	0	1	1	3,748	63	-1	0	0	-1	3	1	4,93	124	0	1	1	0	2	2	24,947	185	0	-1	0	1	1	3	5,799
3	-1	1	0	0	1	1	2,928	64	1	0	0	-1	3	1	6,55	125	-1	0	-1	0	2	2	3,628	186	0	1	0	1	1	3	9,717
4	1	1	0	0	1	1	7,455	65	-1	0	0	1	3	1	1,706	126	1	0	-1	0	2	2	8,556	187	0	0	0	0	1	3	9,289
5	0	0	-1	-1	1	1	5,888	66	1	0	0	1	3	1	2,201	127	-1	0	1	0	2	2	7,951	188	0	0	0	0	1	3	9,761
6	0	0	1	-1	1	1	9,831	67	0	-1	-1	0	3	1	1,516	128	1	0	1	0	2	2	12,899	189	0	0	0	0	1	3	7,243
7	0	0	-1	1	1	1	2,039	68	0	1	-1	0	3	1	2,23	129	0	-1	0	-1	2	2	26,350	190	-1	-1	0	0	2	3	8,688
8	0	0	1	1	1	1	3,082	69	0	-1	1	0	3	1	3,52	130	0	1	0	-1	2	2	52,537	191	1	-1	0	0	2	3	8,426
9	-1	0	0	-1	1	1	7,16	70	0	1	1	0	3	1	6,037	131	0	-1	0	1	2	2	3,942	192	-1	1	0	0	2	3	24,827
10	1	0	0	-1	1	1	6,506	71	-1	0	-1	0	3	1	2,074	132	0	1	0	1	2	2	17,080	193	1	1	0	0	2	3	40,433
11	-1	0	0	1	1	1	1,608	72	1	0	-1	0	3	1	2,529	133	0	0	0	0	2	2	10,392	194	0	0	-1	-1	2	3	19,468
12	1	0	0	1	1	1	3,694	73	-1	0	1	0	3	1	2,852	134	0	0	0	0	2	2	10,518	195	0	0	1	-1	2	3	56,799
13	0	-1	-1	0	1	1	1,818	74	1	0	1	0	3	1	2,827	135	0	0	0	0	2	2	7,155	196	0	0	-1	1	2	3	12,478
14	0	1	-1	0	1	1	5,052	75	0	-1	0	-1	3	1	5,047	136	-1	-1	0	0	3	2	0,475	197	0	0	1	1	2	3	19,052
15	0	-1	1	0	1	1	4,494	76	0	1	0	-1	3	1	12,867	137	1	-1	0	0	3	2	0,979	198	-1	0	0	-1	2	3	61,882
16	0	1	1	0	1	1	6,318	77	0	-1	0	1	3	1	1,423	138	-1	1	0	0	3	2	0,576	199	1	0	0	-1	2	3	62,075
17	-1	0	-1	0	1	1	0,865	78	0	1	0	1	3	1	4,636	139	1	1	0	0	3	2	1,446	200	-1	0	0	1	2	3	8,225
18	1	0	-1	0	1	1	3,854	79	0	0	0	0	3	1	3,078	140	0	0	-1	-1	3	2	1,901	201	1	0	0	1	2	3	16,441

19	-1	0	1	0	1	1	3,764	80	0	0	0	0	3	1	3,684	141	0	0	1	-1	3	2	10,290	202	0	-1	-1	0	2	3	9,407
20	1	0	1	0	1	1	4,653	81	0	0	0	0	3	1	3,526	142	0	0	-1	1	3	2	0,655	203	0	1	-1	0	2	3	34,904
21	0	-1	0	-1	1	1	6,957	82	-1	-1	0	0	1	2	1,028	143	0	0	1	1	3	2	1,675	204	0	-1	1	0	2	3	16,952
22	0	1	0	-1	1	1	11,319	83	1	-1	0	0	1	2	0,997	144	-1	0	0	-1	3	2	6,451	205	0	1	1	0	2	3	33,974
23	0	-1	0	1	1	1	2,381	84	-1	1	0	0	1	2	4,367	145	1	0	0	-1	3	2	8,486	206	-1	0	-1	0	2	3	59,113
24	0	1	0	1	1	1	4,336	85	1	1	0	0	1	2	8,791	146	-1	0	0	1	3	2	0,918	207	1	0	-1	0	2	3	24,645
25	0	0	0	0	1	1	4,114	86	0	0	-1	-1	1	2	6,355	147	1	0	0	1	3	2	3,037	208	-1	0	1	0	2	3	26,241
26	0	0	0	0	1	1	4,091	87	0	0	1	-1	1	2	10,409	148	0	-1	-1	0	3	2	0,717	209	1	0	1	0	2	3	24,154
27	0	0	0	0	1	1	3,787	88	0	0	-1	1	1	2	1,756	149	0	1	-1	0	3	2	1,337	210	0	-1	0	-1	2	3	29,251
28	-1	-1	0	0	2	1	6,432	89	0	0	1	1	1	2	2,468	150	0	-1	1	0	3	2	2,764	211	0	1	0	-1	2	3	115,382
29	1	-1	0	0	2	1	16,402	90	-1	0	0	-1	1	2	2,163	151	0	1	1	0	3	2	1,395	212	0	-1	0	1	2	3	8,829
30	-1	1	0	0	2	1	8,532	91	1	0	0	-1	1	2	7,817	152	-1	0	-1	0	3	2	0,807	213	0	1	0	1	2	3	28,890
31	1	1	0	0	2	1	20,342	92	-1	0	0	1	1	2	0,65	153	1	0	-1	0	3	2	1,569	214	0	0	0	0	2	3	32,605
32	0	0	-1	-1	2	1	37,072	93	1	0	0	1	1	2	2,499	154	-1	0	1	0	3	2	1,899	215	0	0	0	0	2	3	33,809
33	0	0	1	-1	2	1	38,412	94	0	-1	-1	0	1	2	1,372	155	1	0	1	0	3	2	4,841	216	0	0	0	0	2	3	32,503
34	0	0	-1	1	2	1	6,68	95	0	1	-1	0	1	2	9,71	156	0	-1	0	-1	3	2	6,263	217	-1	-1	0	0	3	3	0,365
35	0	0	1	1	2	1	11,246	96	0	-1	1	0	1	2	2,463	157	0	1	0	-1	3	2	7,081	218	1	-1	0	0	3	3	2,927
36	-1	0	0	-1	2	1	37,786	97	0	1	1	0	1	2	10,215	158	0	-1	0	1	3	2	1,313	219	-1	1	0	0	3	3	1,657
37	1	0	0	-1	2	1	39,423	98	-1	0	-1	0	1	2	0,182	159	0	1	0	1	3	2	0,709	220	1	1	0	0	3	3	2,944
38	-1	0	0	1	2	1	11,38	99	1	0	-1	0	1	2	3,118	160	0	0	0	0	3	2	3,416	221	0	0	-1	-1	3	3	3,728
39	1	0	0	1	2	1	9,685	100	-1	0	1	0	1	2	1,809	161	0	0	0	0	3	2	1,494	222	0	0	1	-1	3	3	5,008
40	0	-1	-1	0	2	1	3,052	101	1	0	1	0	1	2	4,076	162	0	0	0	0	3	2	2,359	223	0	0	-1	1	3	3	0,785
41	0	1	-1	0	2	1	13,702	102	0	-1	0	-1	1	2	3,653	163	-1	-1	0	0	1	3	4,253	224	0	0	1	1	3	3	1,051
42	0	-1	1	0	2	1	17,439	103	0	1	0	-1	1	2	24,936	164	1	-1	0	0	1	3	7,902	225	-1	0	0	-1	3	3	2,481
43	0	1	1	0	2	1	17,943	104	0	-1	0	1	1	2	3,341	165	-1	1	0	0	1	3	9,417	226	1	0	0	-1	3	3	4,415
44	-1	0	-1	0	2	1	1,757	105	0	1	0	1	1	2	6,226	166	1	1	0	0	1	3	15,889	227	-1	0	0	1	3	3	0,823
45	1	0	-1	0	2	1	6,646	106	0	0	0	0	1	2	2,827	167	0	0	-1	-1	1	3	14,434	228	1	0	0	1	3	3	1,902
46	-1	0	1	0	2	1	12,084	107	0	0	0	0	1	2	2,664	168	0	0	1	-1	1	3	22,897	229	0	-1	-1	0	3	3	0,501
47	1	0	1	0	2	1	15,409	108	0	0	0	0	1	2	2,175	169	0	0	-1	1	1	3	7,175	230	0	1	-1	0	3	3	2,845
48	0	-1	0	-1	2	1	10,126	109	-1	-1	0	0	2	2	4,145	170	0	0	1	1	1	3	4,599	231	0	-1	1	0	3	3	2,561
49	0	1	0	-1	2	1	35,873	110	1	-1	0	0	2	2	8,705	171	-1	0	0	-1	1	3	8,679	232	0	1	1	0	3	3	2,278
50	0	-1	0	1	2	1	10,415	111	-1	1	0	0	2	2	30,479	172	1	0	0	-1	1	3	16,534	233	-1	0	-1	0	3	3	0,464
51	0	1	0	1	2	1	9,108	112	1	1	0	0	2	2	24,671	173	-1	0	0	1	1	3	3,411	234	1	0	-1	0	3	3	0,641
52	0	0	0	0	2	1	13,588	113	0	0	-1	-1	2	2	12,007	174	1	0	0	1	1	3	8,551	235	-1	0	1	0	3	3	1,212
53	0	0	0	0	2	1	18,357	114	0	0	1	-1	2	2	23,215	175	0	-1	-1	0	1	3	7,524	236	1	0	1	0	3	3	3,641
54	0	0	0	0	2	1	12,409	115	0	0	-1	1	2	2	3,811	176	0	1	-1	0	1	3	14,653	237	0	-1	0	-1	3	3	7,494
55	-1	-1	0	0	3	1	0,94	116	0	0	1	1	2	2	5,440	177	0	-1	1	0	1	3	7,288	238	0	1	0	-1	3	3	7,472
56	1	-1	0	0	3	1	0,645	117	-1	0	0	-1	2	2	20,514	178	0	1	1	0	1	3	12,722	239	0	-1	0	1	3	3	1,781
57	-1	1	0	0	3	1	2,465	118	1	0	0	-1	2	2	26,517	179	-1	0	-1	0	1	3	3,782	240	0	1	0	1	3	3	0,403

58	1	1	0	0	3	1	5,892	119	-1	0	0	1	2	2	3,823	180	1	0	-1	0	1	3	10,097	241	0	0	0	0	3	3	1,419
59	0	0	-1	-1	3	1	4,095	120	1	0	0	1	2	2	4,896	181	-1	0	1	0	1	3	7,953	242	0	0	0	0	3	3	1,736
60	0	0	1	-1	3	1	8,57	121	0	-1	-1	0	2	2	3,525	182	1	0	1	0	1	3	12,965	243	0	0	0	0	3	3	1,485
61	0	0	-1	1	3	1	0,289	122	0	1	-1	0	2	2	33,135	183	0	-1	0	-1	1	3	15,930								

Çalışmada parametrik testlerin uygulanabilmesi ve analizlerin yapılabilmesi amacıyla verilerin doğal logaritması alınarak normallik varsayımı ($p > 0,05$) sağlanmıştır. Daha sonra deneysel verilere ait parametrelerin anlamlılık düzeyini değerlendirmek için varyans analizi (ANOVA) yapılmıştır. Tablo 4.7’de parametreler ile bunların ikili etkileşimlerine ait varyans analizi sonuçları verilmiştir.

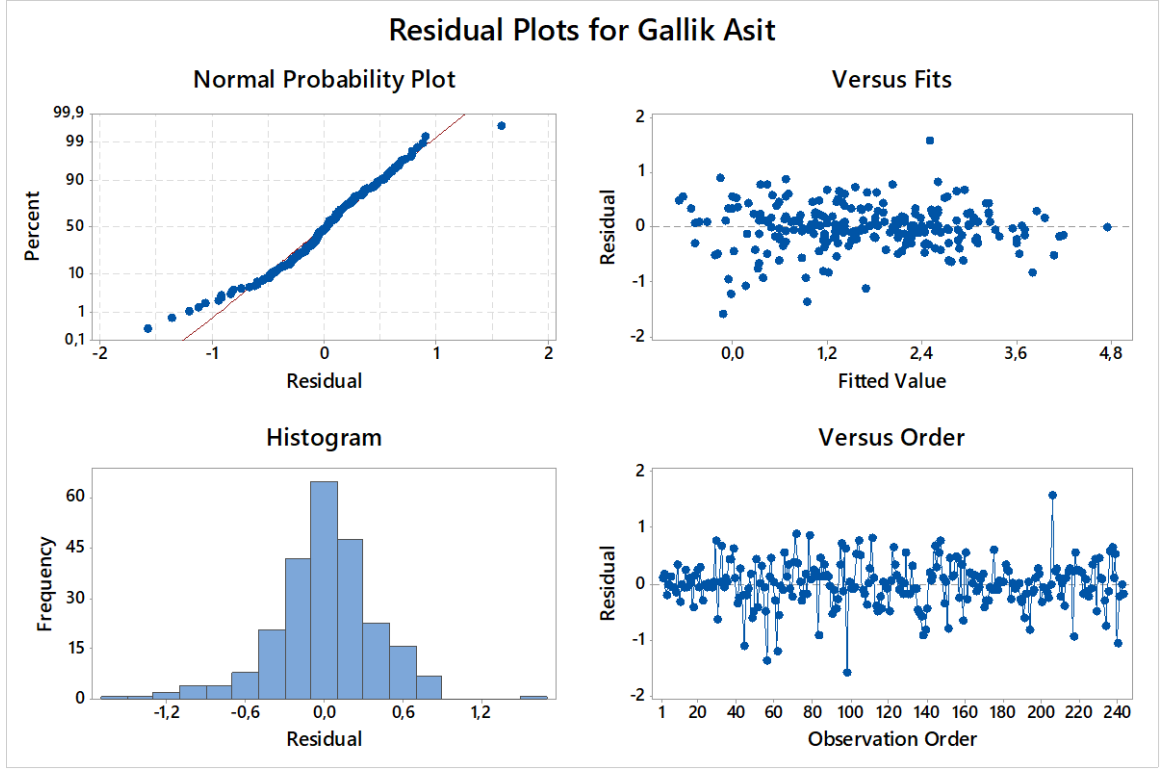
Tablo 4.7: ANOVA Sonuçları

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F-Değeri	P-Değeri
Model	38	297,379	7,8258	40,01	0,000
Linear	8	261,377	32,6722	167,05	0,000
A	1	9,822	9,8217	50,22	0,000
B	1	17,315	17,3154	88,53	0,000
C	1	10,528	10,5277	53,83	0,000
D	1	45,669	45,6690	233,50	0,000
E	2	162,803	81,4013	416,19	0,000
F	2	15,241	7,6204	38,96	0,000
Kare	4	9,610	2,4026	12,28	0,000
AA	1	2,546	2,5465	13,02	0,000
BB	1	0,102	0,1015	0,52	0,472
CC	1	0,850	0,8499	4,35	0,038
DD	1	2,948	2,9478	15,07	0,000
2-yönlü etkileşim	26	26,391	1,0150	5,19	0,000
AB	1	0,001	0,0012	0,01	0,938

AC	1	0,367	0,3666	1,87	0,172
AD	1	0,233	0,2327	1,19	0,277
AE	2	1,261	0,6304	3,22	0,042
AF	2	0,444	0,2220	1,13	0,323
BC	1	1,825	1,8245	9,33	0,003
BD	1	0,445	0,4452	2,28	0,133
BE	2	1,794	0,8972	4,59	0,011
BF	2	0,417	0,2083	1,06	0,347
CD	1	0,068	0,0685	0,35	0,555
CE	2	0,693	0,3465	1,77	0,173
CF	2	0,839	0,4197	2,15	0,120
DE	2	1,194	0,5969	3,05	0,049
DF	2	0,149	0,0746	0,38	0,683
EF	4	16,662	4,1654	21,30	0,000
Hata	204	39,899	0,1956		
Lack-of-Fit	186	39,242	0,2110	5,78	0,000
Saf Hata	18	0,657	0,0365		
Toplam	242	337,278			

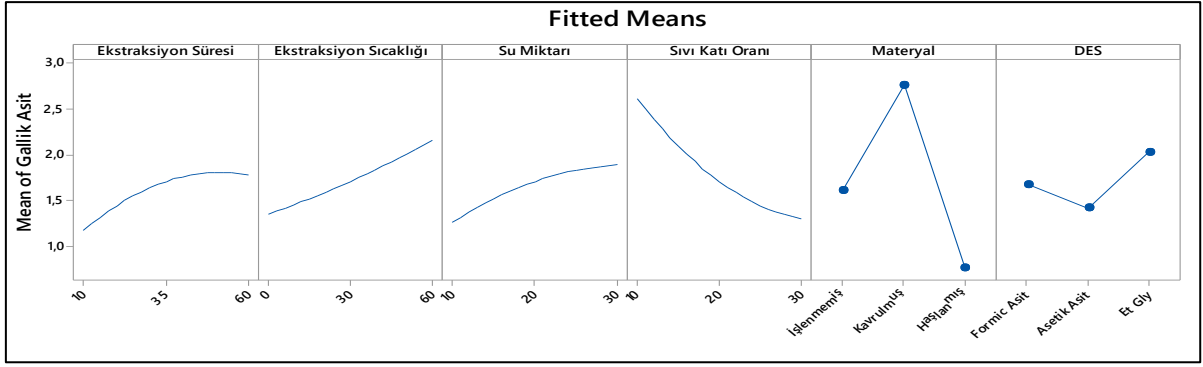
Tablo 4.7 incelendiğinde tüm doğrusal değişkenlerin anlamlı olduğu ($p < 0,05$) görülmektedir. Kararlılık katsayısı (R^2) % 88,17 olup, deneysel veriler ile model tarafından tahmin edilen veriler arasında iyi bir uyum olduğunu söylenebilir. F değeri, test edilen modeldeki her bir kontrol edilen değişkenin önemini temsil etmektedir. Varyans analizine göre, incelenen koşullar altında gallik asit miktarını etkileyen en önemli parametreler sırasıyla materyal > sıvı: katı oranı > ekstraksiyon sıcaklığı > su miktarı > ekstraksiyon süresi > DÖÇ türü olmuştur.

Modelin yeterliliğini belirlemede uygulanan diğer bir yolu da artıkların normalliğini değerlendirmektir. Şekil 4.5'te logaritmik dönüşümlü verilere ait olasılık dağılımının gösterildiği artık analizi sonuçlarına ait grafikler verilmiştir. Genel olarak incelendiğinde artıkların normal dağılımdan uzak olmadığı, bir çarpıklık ve aykırı değer içermediği görülmektedir. Yine versus fit ve order fit grafiklerinden artıkların rastgele dağıldığı, sabit varyansa sahip olduğu ve herhangi bir rasyonel örüntü oluşturmadığı görülmektedir.

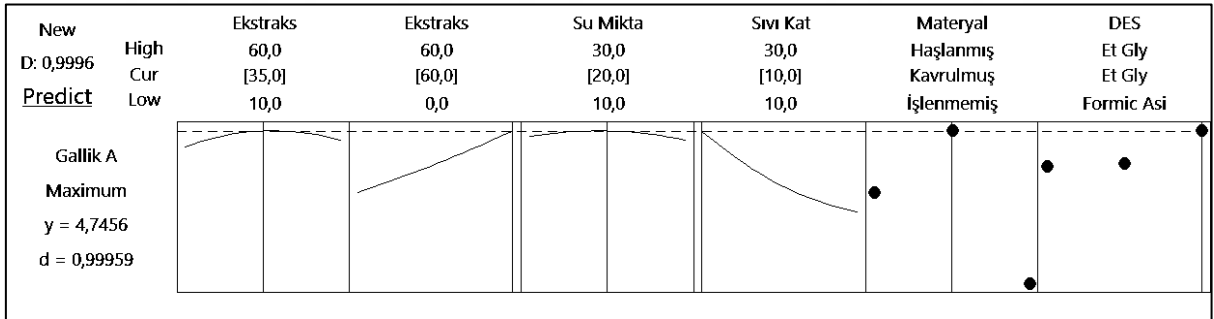
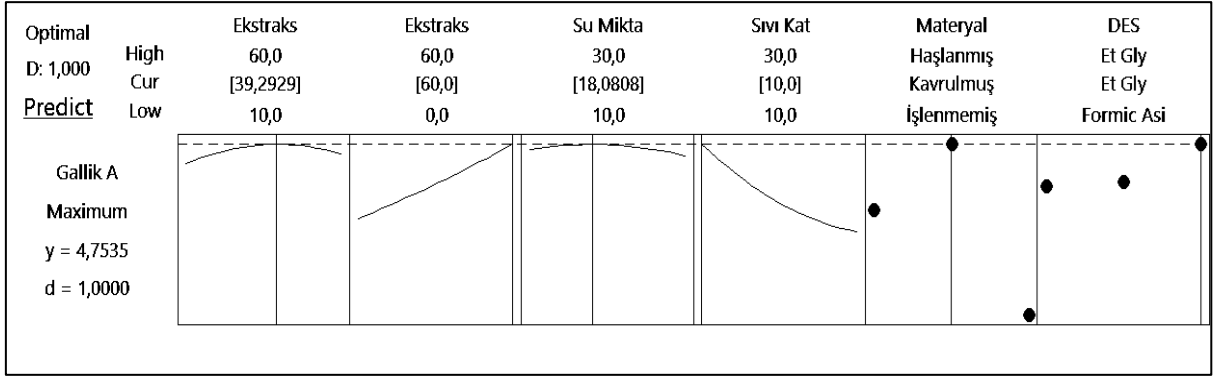


Şekil 4.5: Gallik asite ilişkin artık (kalıntı) analiz grafikleri.

Box-Behnken Deneysel Tasarım Modeli sonuçlarına göre belirlenen optimum koşullar Şekil 4.6'da faktör ve seviyelere ilişkin optimizasyon grafiği ise Şekil 4.7'de verilmiştir. Deney faktörlerinin gallik asit miktarına etkileri detaylı olarak ilgili bölümlerde ele alınmıştır. Deney materyali olarak fırınlanmış örnek kullanımı gallik asit miktarını artırmıştır (Şekil 4.6). Bu durumun, fırınlanma sırasında kabuklarda bulunan suyun buharlaşması nedeniyle gallik asit miktarının, örnek ağırlığına oranının artmasından kaynaklandığı kanaatindeyiz (Şekil 4.7).



Şekil 4.6: Gallik asit ana etki grafiği



Şekil 4.7: Faktör ve seviyelere ilişkin optimizasyon grafiği

4.4 DÖÇ Tipinin Etkisi

Farklı HBD ve HBA karışımlarından oluşmaları nedeniyle DÖÇ çözeltileri yoğunluk, pH ve viskozite açısından farklılıklar göstermektedirler. Bu durum, kullanılan DÖÇ çözeltisinin deney materyaline nüfuzunu ve ayrıştırma özelliğini etkilemektedir (Gülsoy ve Kılıç Pekgözlü; 2021). Ayrıca, kullanılacak DÖÇ çözeltisinin polaritesi ile hedef maddenin polaritelerinde birbirine yakın olması ekstraksiyon performansını önemli derecede etkilemektedir (Skarpalezos ve Detsi, 2019).

Kolin klorür bazlı üç farklı DÖÇ çözeltisi (asetik asit, formik asit ve etilen glikol) kullanılan bu tez kapsamında, 1:2 oranında hazırlanan kolin klorür: etilen glikol kullanımının gallik asit miktarını arttırdığı görülmüştür (Şekil 4.6). Asetik asit ise en düşük değeri vermiştir. Husanu vd.(2020) tarafından yapılan çalışmada ise kestane iç kabuğu farklı DÖÇ ile 65°C sıcaklıkta 24 saat süre ile cam reaktör tüplerinde muamele edilmiş ve polifenollerin eldesinde en iyi sonucu kolin klorür: oksalik asit (1:1) verdiğini ifade edilmiştir.

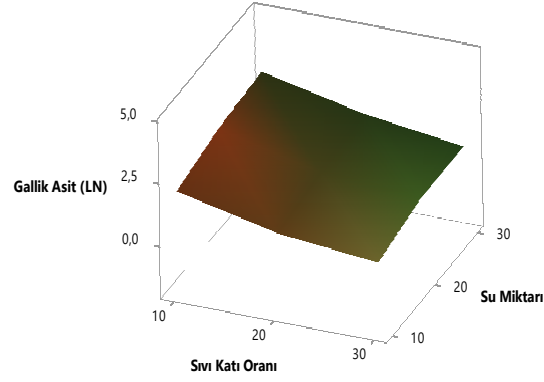
4.5 Su Miktarının Etkisi

Fenolik maddelerin DÖÇ ile ekstraksiyonda diğer önemli bir faktörde su miktarıdır. Su, doğrudan DÖÇ sistemine eklenebileceği gibi bazen de istenmeden sistemde oluşur. Su viskoziteyi azalttığı gibi, ekstraksiyon giderlerini de (daha az saf DÖÇ kullanımı sayesinde) azaltmaktadır. Literatüre göre su oranı % 20-80 arasında değişmekte olup optimum su miktarı % 20 oranındadır. Su miktarının artması DÖÇ yapısındaki hidrojen bağıını kırdığı için ekstraksiyonu olumsuz etkilemektedir (Skarpalezos ve Detsi, 2019).

Gallik asit eldesinde üç farklı su miktarı (% 10, 20, 30) denenmiştir. En düşük gallik asit miktarı % 10'luk su ilavesinde görülmüştür. Su miktarının artması gallik asit miktarını artırmıştır, % 30 su ilavesinde ise artış sabitlenmiştir. Kestane iç kabuğundan DÖÇ ile gallik asit eldesinden yüksek verim % 20 su ilavesiyle elde edilmiştir. Bu değer daha önce belirtilen literatür bilgisini doğrulamaktadır.

4.6 Sıvı: Katı Oranının Etkisi

DÖÇ işlemlerinde çözücü ve çözünen arasında bir denge bulunmaktadır. Çözünme belli bir dengeye ulaşınca durmaktadır. Fazla sıvı: katı kullanımı maliyetleri artırmaktadır. Genellikle 20:1 oranı tercih edilmektedir (Gülsoy ve Kılıç Pekgözlü; 2021). Tez çalışması kapsamında 1 g örnek 10, 20 ve 30 mL DÖÇ çözeltisi ile ultrason banyosunda muamele edilmiştir. Sıvı: katı oranının artması gallik asit verimini azaltmıştır. En yüksek verim 1 g örnek ve 10 mL DÖÇ çözeltisi kullanıldığında elde edilmiştir. Ayrıca düşük sıvı/katı oranı ile yüksek su miktarı kullanımı da gallik asit miktarını pozitif etkilemiştir (Şekil 4.8).

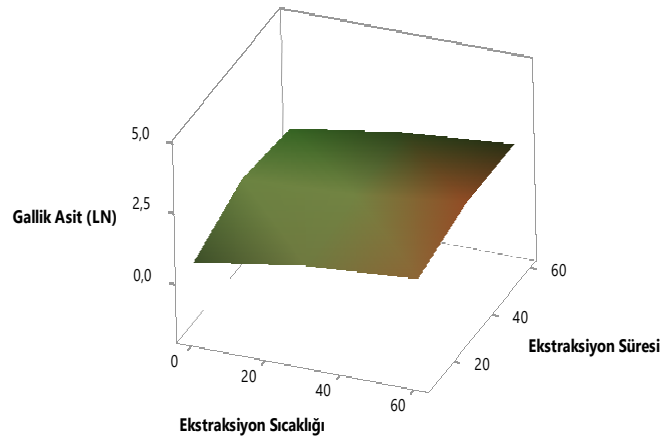


Şekil 4.8: Gallik asit değerlerine ait yüzey etki grafiği: su miktarı ve katı/sıvı oranı

4.7 Ekstraksiyon Sıcaklığının ve Süresinin Etkisi

Sıcaklık, ekstraksiyon süresini doğrudan etkileyen bir parametredir. Sürenin uzun olması maliyetleri artırdığı gibi, kısa ekstraksiyon süresi ise hedef maddenin yeterli düzeyde ayrışmamasına neden olur. Sıcaklığın artması, moleküllerin daha hızlı hareket etmesine ve çözücünün daha hızlı nüfuz etmesini sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda fenolik bileşikler için DÖÇ çözeltilerine uygulanacak sıcaklık değerleri 25-60°C en uygun sıcaklıklar olarak belirtilmektedir. Süre ise 20 dakika ve 2 saat arasında denenmiştir (Skarpalezos ve Detsi, 2019).

Tez çalışması kapsamında elde edilen veriler değerlendirildiğinde, gallik asit miktarının ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi artması ile doğru orantılı olduğunu göstermiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı arttıkça gallik asit miktarı artmıştır (Şekil 4.9). Kestane iç kabuğundan DÖÇ kullanılarak gallik asit eldesinde en uygun sıcaklık değeri 60°C ve en uygun süre 35 dakika olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.9: Gallik asit değerlerine ait yüzey etki grafiği: Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması ile daha çevre dostu ve daha ucuz bir çözücü olan derin ötektik çözücüler (DÖÇ) kullanarak günümüzde endüstriyel kullanım alanı bulamamış, atık bir materyal olarak değerlendirilen kestane meyve dış kabuğundaki antioksidant özelliğe sahip gallik asit verimini artırmak hedeflenmiştir.

Çalışma kapsamında Bartın Amasra-Yahyayazıcılar mevkiinden toplanan kestane meyve örnekleri kontrol, suda haşlama ve 150-200°C’de fırında kavurma ile muamele edilmiş, daha sonra MeOH: su (95:5 v/v) ve Aseton: su (90:10 v/v) çözücüler ile ekstrakte edilmiştir. Örnekler ayrıca, 3 farklı DÖÇ türü (Kolin klorür: formik asit, Kolin klorür: Etilen glikol ve Kolin klorür: laktik asit), 3 farklı ekstraksiyon süresi (10, 35, 60 dak.), 3 farklı ekstraksiyon sıcaklığı (30, 50, 70°C), 3 farklı sıvı: katı oranı (10, 20, 30 mL/g), 3 farklı su miktarı (% 10, 20, 30) gibi farklı parametreler uygulanarak Box – Behnken deney tasarım modellemesi ile optimumkoşullar belirlenmiştir. GC’ de gallik asit varlığı tespit edildikten sonraörnekler HPLC ile analiz edilerek gallik asit miktarı araştırılmıştır. Ayrıca, kestane meyve iç kabuklarında bulunan holoselüloz, α -selüloz ve lignin miktarları da tespit edilmiştir.

MeOH: su ile ekstrakte edilen kontrol örneklerinde, ekstraktif madde miktarı % 3,2 olarak tespit edilmiştir. Holoselüloz miktarı % 45,3, α -selüloz %29,2 ve klason lignin % 42,5 bulunmuştur. Değerler, kestane meyve iç kabuğunun lignince zengin olduğunu göstermektedir. Lignin, dünyada selülozdan sonra 2. önemli sürdürülebilir hammadde olup son yıllarda akıllı malzeme olarak yıldızı parlayan bir polimer olmuştur.

Gerek MeOH: su gerekse aseton: su ekstraktları GC-MS’de uygun koşullar sağlandıktan sonra analiz edilerek gallik asit varlığı tespit edilmiştir. Bu analizler sırasında örneklerde olmasını beklediğimiz ellagik asit tespit edilememiştir. Ellagik asiti tespit edilememesi nedeninin DÖÇ türünden ve uyguladığımız deney koşullarından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz. Bu koşullar değiştirilirse tespit edilebilmesi mümkün olabilir. DÖÇ örneklerinin viskoziteleri ve su içerikleri nedeniyle, analizler bu aşamadan sonra gallik asit odaklı olarak HPLC’ de gerçekleştirilmiştir.

Organik çözücülerle sokslet ekstraksiyonunda 6 saat süre ile yapılan ekstraksiyon ve her üç DÖÇ çözeltisi kullanılan ultrason banyosundaki ekstraksiyon sonuçları karşılaştırıldığında DÖÇ çözeltileri özellikle kolin klorür: etilen glikol (1:2) karışımı metanol: su örneğine göre fırınlanmış kabukta gallik asit oranını 3 kat artırdığı görülmektedir. Bu durum, sadece verim artışı olarak görülmemeli, ayrıca süre ve kullanılan çözücü bakımından da tasarruf sağladığı için önemli bir kazançtır.

Tez çalışmasında, gallik asit değerini maksimize eden değişkenler belirlenmiş ve model Minitab ile çözülerek optimum gallik asit değeri tahmin edilmiştir. En iyi sonucu veren deney koşulları ekstraksiyon süresi: 35 dakika, ekstraksiyon sıcaklığı: 60°C, su miktarı: 18 ml, sıvı: katı oranı: 10 ml DÖÇ ve 1 g örnek, materyal: fırınlanmış ve DÖÇ: Kolin Klorür: Etilen Glikol olarak belirlenmiştir. Söz konusu koşullarda gallik asit miktarı 116 ppm (Logaritmik değer: 4,75) olarak tahmin edilmiştir. Arzu edilebilirlik fonksiyonu (d), tahmin edilen ve deneysel değerler arasında mükemmel bir uyum olduğunu gösteren 1 değerine eşit bulunmuştur. Bununla birlikte aynı modeli kullanarak deneylerimizde en iyi sonucu veren şartlar ile tahmin yaptığımızda (Ekstraksiyon süresi: 30 dakika –Ekstraksiyon sıcaklığı: 60°C – Su miktarı: 20 ml – sıvı: katı oranı 1 g örnek 10 ml çözelti –Fırınlanmış örnek- Kolin Klorür: Etilen Glikol DÖÇ çözeltisi) gallik asit değeri 115,07 ve 0,99 arzu edilebilirlik oranı ile hemen hemen gerçek ölçümlerle aynı sonucu vermiştir. En iyi koşullar aşağıdaki Tablo 5.1’de verilmiştir.

Tablo 5.1: Sonuçların en verimli olduğu değerler

DÖÇ Türü	Örnek Türü	Ekstraksiyon Süresi	Ekstraksiyon Sıcaklığı	Su Miktarı	Sıvı: Katı Oranı	Gallik Asit Miktarı
ChCl: EG	Fırınlanmış Kestane Kabuğu	35 dk.	60°C	18 ml	10 ml. DÖÇ + 1 gr Örnek	116 ppm

DÖÇ ile elde edilen gallik asit’in antioksidan olarak doğal ürünlerde kullanımı sırasında organik çözücü kalıntısı bulunmadığı için kullanım alanları da genişleyebilir. Sonuç olarak yeni nesil çevreci DÖÇ çözeltileri kestane meyve perikap’ında gallik asit eldesi için organik asit’e kıyasla daha uygun bir çözücüdür.

Antioksidant, anti bakteriyel gibi birçok biyolojik aktivite özelliği olan fenolik bileşiklerin özellikle bitkilerden elde edilerek gıda, kozmetik gibi farklı endüstrilerde sentetik maddeler yerine kullanımı giderek yaygın hale gelmekte ve bu konuda büyük bir talep bulunmaktadır. Yapılan bu çalışma ile kestane meyve kabuğunun bu bağlamda DÖÇ ile ekstrakte edilerek kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

- Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Munro, H. L., Rasheed, R. K. ve Tambyrajah, V. (2001-2010). Preparation of novel, moisture-stable, Lewis-acidic ionic liquids containing quaternary ammonium salts with functional side chains, *Chemical Communications*. <https://doi.org/10.1039/B106357J>
- Abbott, A.P., Capper, G., Davies, D.L., Rasheed, R. K. ve Tambryrajah, V. (2003). Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures, *Chemical Communications*, 1:70-71. <https://doi.org/10.1039/b210714g>
- Abbott, A., (2010). *Deep Eutectic Solvents*, in Leuven Summer School on Ionic Liquids.
- Abbott, A., Boothby, D., Capper, G., Davies, D. ve Rasheed, R. (2004). Deep eutectic solvents formed between cholin chloride and carboxylic acids: versatile alternatives to ionic liquids, *Journal Of The American Chemical Society*, 126(29): 9142–9147. <https://doi.org/10.1021/ja048266j>
- Akaydın, S.Y., Özkan, Y., Özkan, E., Torun, M., Şimşek, B., (2003). The role of plasma thiol compounds and antioxidant vitamins in patients with cardiovascular diseases, *CLINICA CHIMICA ACTA*, 338(1-2): 99-105 (*SCI-Expanded*). <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.07.021>
- An, J. Y., Wang, L. T., Lv, M. J., Wang, J. D., Cai, Z. H., Wang, Y. Q., Zhang, S., Yang, Q., Fu, Y. J. (2021). An efficiency strategy for extraction and recovery of ellagic acid from waste chestnut shell and its biological activity evaluation, *Microchemical Journal*, 160(Part A): 105616. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105616>
- Anonim, (2013). T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, Kestane Eylem Planı (2013-2017).
- Bagh, F. S. G., Shahbaz, K., Mjalli, F. S., AlNashef, I. M., Hashim, M. A. (2013). Electrical conductivity of ammonium and phosphonium based deep eutectic solvents: Measurements and artificial intelligence-based prediction, *Fluid Phase Equilibria*, 356(30-37). <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2013.07.012>
- Barreira, J.C.M., Ferreira I.C.F.R., Oliveira, M.B.P.P. ve Pereira, J.A. (2008). Antioxidant activity of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chemistry*, 107(3): 1106-1113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.030>
- Barreira, J. C.M., Ferreira, I. C., Oliveira, M. B. ve Pereira, J. A. (2010). Antioxidant potential of chestnut (*Castanea sativa L.*) and almond (*Prunus dulcis L.*) by-products. *Food Science and Technology International*, 16(3): 209–216. <https://doi.org/10.1177/1082013209353983>
- Barros, L., Oliveira, S., Carvalho, A. M. ve Ferreira, I. C. F. R. (2010). In vitro antioxidant properties and characterization in nutrients and phytochemicals of six medicinal plants from the Portuguese folk medicine. *Industrial Crops and Products*, 32(3): 572-579. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.07.012>

- Bisanda, E.T.N., Ogola, W.O. ve Tesha, J.V. (2003). Characterisation of tannin resin blends for particle board applications, *Cement and Concrete Composites*, 25(6): 593-598. [https://doi.org/10.1016/S0958-9465\(02\)00072-0](https://doi.org/10.1016/S0958-9465(02)00072-0)
- Bodet, L., Ernst, M., Allan, D., Woods, T. (2001). The international chestnutmarketing situation. *Department of Agricultural Economics Staff Paper* No. 411, University of Kentucky.
- Budowski, P. (1964). Recent research on sesamin, sesamol, and related compounds, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 41: 280–285. <https://doi.org/10.1007/BF02667019>
- Cardellini, F., Tiecco, M., Germani, R., Cardinali, G., Corte, L.; Roscini, L. ve Spreti, N. (2014), Novel zwitterionic deep eutectic solvents from trimethylglycine and carboxylic acids: Characterization of their properties and their toxicity, *RSC Advances*, 4(99): 55990–56002. <https://doi.org/10.1039/C4RA10628H>
- Chi, X., Xing, Y., Xiao Y., Dong, Q. ve Hu, F. (2014). Separation and purification of three stilbenes from the radix of polygonum cillinerve (nakai) ohwl by macroporous resin column chromatography combined with high-speed counter-current chromatography, *Química Nova*, 37(9):1465–1468. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20140256>
- Chira, K. (2009). Structures moléculaire et perception tannique des raisins et des vins (Cabernet-Sauvignon, Merlot) du Bordelais. Ph. D. Thesis. Université de Bordeaux; Bordeaux, France, Bordeaux 2.
- Conde, E., Moure, A., Domínguez, H., ve Parajó, J. C. (2011). Production of antioxidants by non-isothermal autohydrolysis of lignocellulosic wastes, *LWT Food Science and Technology*, 44(2): 436–442. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.08.006>
- Conidi, C., Donato, L., Algieri, C. ve Cassano, A. (2022). Valorization of chestnut processing by-products: A membrane-assisted green strategy for purifying valuable compounds from shells. *Journal of Cleaner Production*, 378: 134564. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.134564>.
- Cunha, S.C. ve Fernandes, J. O. (2018). Extraction techniques with deep eutectic solvents, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105: 225-239. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.05.001>.
- Cushman, M., Nagarathnam, D., Gopal, D., Chakraborti, A. K., Lin, C. M., Hamel, E. (1991). Synthesis and Evaluation of Stilbene and Dihydrostilbene Derivatives as Potential Anticancer Agents That Inhibit Tubulin Polymerization. *Journal of Medicinal Chemistry*, 34(8): 2579-2588. <https://doi.org/10.1021/jm00112a036>
- Çakal, Ö. (2021). Karaçam (Pinus Nigra) Budaklarındaki Stilbenlerin Derin Ötektik Çözücülerle (DÖÇ) Geri Kazanılması. Yüksek Lisans Tezi, Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı, Bartın, 152 sayfa.
- Dağdelen, R. (2010). Bazı Tanenli ve Tanensiz Ağaçların Amonyak ile Reaksiyonu Sonucu Oluşan Mekanik ve Fiziksel Değişiklikler, Yüksek Lisans Tezi, Karabük Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Mobilya ve Dekorasyon Eğitimi Ana Bilim Dalı, Karabük, 87 sayfa.
- Dai, Y., Witkamp, G.-J., Verpoorte, R. ve Choi, Y. H. (2013). Natural Deep Eutectic Solvents as a New Extraction Media for Phenolic Metabolites in *Carthamus tinctorius* L., *Analytical Chemistry*, 85(13): 6272–6278. <https://doi.org/10.1021/ac400432p>

- Dixon, R.A., Dey, P.M. and Lamb, C.J. (1983). Phytoalexins: enzymology and molecular biology, *Advances in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*, 55: 1–136.
- D'Agostino, C., Harris, R. C., Abbott, A. P., Gladden, L. F., Mantle, M. D. (2011). Molecular motion and ion diffusion in choline chloride based deep eutectic solvents studied by ¹H pulsed field gradient NMR spectroscopy, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 13(48):21383-21391. <https://doi.org/10.1039/c1cp22554e>
- Dönmez, İ. E., Selçuk, S., Sargın, S. ve Özdeveci, H. (2016). Chemical composition of chestnut, hazelnut and pistachios fruits rind, *Turkish Journal of Forestry (Türkiye Ormancılık Dergisi)*, 17(2):174-177. <https://doi.org/10.18182/tjf.09817>
- Eberhardt, M. V., Lee, C. Y., ve Liu, R. H. (2000). Antioxidant activity of fresh apples, *Nature*, 405: 903-904. <https://doi.org/10.1038/35016151>
- Endres, F. ve El Abedin, S. Z., (2006). Air and water stable ionic liquids in physical chemistry, *Physical chemistry chemical physics*, 8: 2101-2116. <https://doi.org/10.1039/B600519P>
- Engler, M. B., Engler, M. M., (2006). The Emerging Role of Flavonoid-Rich Cocoa and Chocolate in Cardiovascular Health and Disease, *Nutrition Reviews*, 64(3): 109–118. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2006.tb00194.x>
- Ensminger, A.H., Ensminger, M.E., Konlande, J.E., Robson, J.R.K.(1995). The concise encyclopedia of foods and nutrition, (2nd ed.). CRC Press, Boca Raton Florida. <https://doi.org/10.1201/9780367801878>
- Ertürk, Ü., Mert, C., Soylu, A. (2006). Chemical Composition of Fruits of Some Important Chestnut Cultivars, *Brazilian Archives Of Biology And Technology*, 49(2):183-188. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132006000300001>
- FAO, (2022). Crops and livestock products. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Erişim Tarihi:14.10.2022).
- Falbe, J. and Regitz, M. (1997). *Römmpp Lexikon Chemie [Römmpp dictionary of Chemistry]*. 10th ed. (CD-Version). Thieme, Stuttgart.
- Fang, Y-Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, 18(10): 872–879. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(02\)00916-4](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4)
- Fernandes, F. H. A. ve Salgado, H. R. N. (2016). Gallic Acid: Review of the Methods of Determination and Quantification. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 46(3): 257-265. <https://doi.org/10.1080/10408347.2015.1095064>
- Fernández-Agulló, A., Freire, M. S., Antorrena, G., Pereira, J. A., ve González-Álvarez, J. (2014). Effect of the extraction technique and operational conditions on the recovery of bioactive compounds from Chestnut (*Castanea sativa*) bur and shell. *Separation Science and Technology* (Philadelphia), 49(2): 267–277. <https://doi.org/10.1080/01496395.2013.838264>
- Flórez-Fernández, N., Torres, M. D., Gómez, S., Couso, S. ve Domínguez, H., (2020). Potential of Chestnut Wastes for Cosmetics and Pharmaceutical Applications, *Waste and Biomass Valorization*, 11: 4721–4730. <https://doi.org/10.1007/s12649-019-00784-w>

- Gerçek, Ziya (1992). Genel Botanik. *Trabzon: KTÜ Orman Fakültesi Yayınları*. Yayın No:160/ Fakülte Yayın No:18.
- Girard, M. ve Bee, G. (2020). Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs, *Animal*, 14(1): 95-107. <https://doi.org/10.1017/S1751731119002143>
- Gondard, H., Romane, F., Regina, I.S. ve Leonardi S. (2006). Forest management and plant species diversity in chestnut stands of three Mediterranean areas. *Biodiversity and Conservation*, 15: 1129–1142. <https://doi.org/10.1007/s10531-004-3103-8>
- González-Rivera, J., Mero, A., Husanu, E., Mezzetta, A., Ferrari, C., D'Andrea, F., Bramanti, E., Pomelli, C. S. ve Guazzelli, L. (2021). Combining acid-based deep eutectic solvents and microwave irradiation for improved chestnut shell waste valorization. *Green Chemistry*, 23(24): 10101-10115. <https://doi.org/10.1039/D1GC03450B>
- Gönültaş, O. (2013). Doğu Ladini (*Picea orientalis*) ve Meşe (*Quercus spp.*) Kabukları Taneninin Biyotutkal Üretiminde Kullanılması. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı, İstanbul, 152 s.
- Gullón, B., Eibes G., Dávila I., Moreira M.T., Labidi J. ve Gullón P. (2018). Hydrothermal treatment of chestnut shells (*Castanea sativa*) to produce oligosaccharides and antioxidant compounds. *Carbohydrate Polymers*, 192: 75-83. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.03.051>
- Gülsoy, Sezgin Koray ve Pekgözlü, Ayben Kılıç, Bölüm 10 Derin Ötektik Çözücüler Ve Delignifikasyon Uygulamaları, Ziraat, Orman Ve Su Ürünlerinde Araştırma Ve Değerlendirmeler, (Mayıs 2021). Cilt 2. *Gece Yayınları*.
- Heim, K. E., Tagliaferro, A. R., ve Bobilya, D. J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10): 572–584. [https://doi.org/10.1016/S0955-2863\(02\)00208-5](https://doi.org/10.1016/S0955-2863(02)00208-5)
- Hercberg, S., Galan, P., Preziosi, P., Alfarez, M. J. and Vasquez, C., (1998). The Potential Role Of Antioxidant vitamins in Preventing Cardiovascular Disease and Cancers. *Nutrition*, 14(6): 513-520. [https://doi.org/10.1016/S0899-9007\(98\)00040-9](https://doi.org/10.1016/S0899-9007(98)00040-9)
- Hietala, J., Vuori, A., Johnsson, P., Pollari, I., Reutemann, W. ve Kieczka, H. (2016). Health & Environmental Research Online (HERO), *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, A12.
- Husanu, E., Mero, A., Rivera, J. G., Mezzetta, A., Ruiz, J. C., D'Andrea, F., Pomelli, C. S. ve Guazzelli, L. (2020). Exploiting Deep Eutectic Solvents and Ionic Liquids for the Valorization of Chestnut Shell Waste, *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 8(50): 18386-18399. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c04945>.
- Ivanović, M., Islamčević Razobršek, M. ve Kolar, M. (2020). Innovative Extraction Techniques Using Deep Eutectic Solvents and Analytical Methods for the Isolation and Characterization of Natural Bioactive Compounds from Plant Material, *Plants*, 9(11): 1428. <https://doi.org/10.3390/plants9111428>.
- Jourdes, M., (2003). *Réactivité, synthèse, couleur et activité biologique d'ellagitannins C-glycosidiques et flavano-ellagitannins*. (Doctoral dissertation, Bordeaux 1).

- Karahocagil, P. ve Tosun, İ., (2004). Kestane. Yalova, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, T.E.A.E – BAKİŞİ; Sayı 7(13).
- Kareem, M. A., Mjalli, F. S., Hashim, M. A. ve Al Nashef, I. M. (2010). Phosphonium-Based Ionic Liquids Analogues and Their Physical Properties, *Journal of Chemical & Engineering Data*, 55(11): 4632-4637. <https://doi.org/10.1021/jc100104v>
- Kashif, M., Akhtar, N. ve Mustafa, R. (2017). An overview of dermatological and cosmeceutical benefits of Diospyros kaki and its phytoconstituents, *Revista Brasileira de Farmacognosia (Brazilian Journal of Pharmacognosy)*, 27(5):650-662. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.06.004>
- Katsuyama, Y., Funa, N., Miyahisa, I. ve Horinouchi, S. (2007). Synthesis of Unnatural Flavonoids and Stilbenes by Exploiting the Plant Biosynthetic Pathway in Escherichia coli. *Chemistry & Biology*, 14(6): 613–621. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2007.05.004>
- Khanbabaee, K., Ree, T.V. (2001). Tannins: Classification and Definiton, *Natural product reports*, 18(6): 641-649. <https://doi.org/10.1039/B101061L>
- Köse, M., (2018). Kestane Çubuğunun Verimli Kullanım Olanaklarının İncelenmesi, 4.Uluslararası Odun Dışı Orman Ürünleri Sempozyumu
- Kumar, S. ve Pandey, A.K., (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, *Hindawi Publishing Corporation The Scientific World Journal*, Article ID 162750, 16 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>
- Künsch, U., Schärer, H., Patrian, B., Höhn, E., Conedera, M., Sassella, A., Jermini, M. ve Jelmini, G., (2001). Effects of roasting on chemical composition and quality of different chestnut (*Castanea sativa* Mill.) varieties, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(11): 1106-1112. <https://doi.org/10.1002/jsfa.916>
- Lakka, A., Grigorakis, S., Kaltsa, O., Karageorgou, I., Batra, G., Bozinou, E., Lalas, S. ve Makris, D. P. (2019). The Effect of Ultrasonication Pretreatment on the Production of Polyphenol-Enriched Extracts from *Moringa oleifera* L. (Drumstick Tree) Using a Novel Bio-Based Deep Eutectic Solvent, *Applied Sciences*, 10(1): 220. <https://doi.org/10.3390/app10010220>
- López, N. G., Moure, A., Domínguez, H., ve Parajó, J. C. (2012). Valorization of chestnut husks by non-isothermal hydrolysis. *Industrial Crops and Products*, 36(1): 172–176. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2011.09.002>
- Mahomoodally, M.F., Gurib-Fakim, A. ve Subratty A.H. (2005). Antimicrobial activities and phytochemical profiles of endemic medicinal plants of Mauritius, *Pharmaceutical Biology*, 43(3): 237–242. <https://doi.org/10.1080/13880200590928825>
- Mayer, H. ve Aksoy, H.,(1998). *Türkiye Ormanları (Wälder der Türkei)*, Batı Karadeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Orman Bakanlığı Yayın No. 038, Müdürlük Yayın No. 2, Muhtelif Yayın No. 1, (Çeviren: Hüseyin Aksoy, Gülen Özalp), Bolu.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C. ve Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5): 727-747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>

- McCarthy, M. A. ve Meredith, F. I., (1988). Nutrient data on chestnuts consumed in the United States. *Economic Botany*, 42: 29-36. <https://doi.org/10.1007/BF02859026>
- Míguez, J. D. L. M., Bernárdez, M. M. ve Queijeiro, J. M. G. (2004). Composition of varieties of chestnuts from Galicia(Spain), *Food Chemistry*, 84(3): 401–404. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00249-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00249-8).
- Moccia, F., Gallucci, N., Giovando, S., Zuurro, A., Lavecchia, R., D’Errico, G., Panzella, L. ve Napolitano, A. (2022). A tunable deep eutectic solvent-based processing for valorization of chestnut wood fiber as a source of ellagic acid and lignin, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(3): 107773. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107773>.
- Morales, A., Gullón, B., Dávila, I., Eibes, G., Labidi, J. ve Gullón, P. (2018). Optimization of alkaline pretreatment for the co-production of biopolymer lignin and bioethanol from chestnut shells following a biorefinery approach, *Industrial Crops and Products*, 124: 582-592. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.08.032>.
- Naumann, H. D., Muir, J. P., Lambert, B. D., Tedeschi, L. O. ve Kothmann, M. M. (2013). Condensed tannins in the ruminant environment: a perspective on biological activity, *Journal of Agricultural Sciences*, 1(1): 8-20.
- Nichenametla, S. N., Taruscio, T. G., Barney, D. L., ve Exon, J. H. (2006). A review of the effects and mechanisms of polyphenolics in cancer, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(2): 161–183. <https://doi.org/10.1080/10408390591000541>
- Nisula, L., (2018). Wood extractives in conifers: a study of stemwood and knots of industrially important species, *Åbo Akademi University Press*.
- OGM , (2012). Kestane Eylem Planı.
- Oral, M. A., (2006). Anadolu kestanesinin (*Castanea sativa* Mill.) sağlıklı ve hastalıklı odunlarının bazı anatomik ve fiziksel özellikleri. Yüksek lisans tezi, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Endüstri Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Zonguldak, 98 s.
- Ow, Y.Y. ve Stupans, I. (2003). Gallic acid and gallic acid derivatives: effects on drug metabolizing enzymes, *Current Drug Metabolism*, 4(3): 241-248. <https://doi.org/10.2174/1389200033489479>
- Özçağır, R., Ünal, A., Özeker, E., ve İsfendiyaroğlu, M. (2014). Ilıman iklim meyve türleri, sert kabuklu meyveler, Cilt-III, Ege Üniversitesi Yayınları, Ziraat Fakültesi Yayın No: 566.
- Panche, A.N., Diwan, A.D. ve Chandra, S. R., (2016). Flavonoids: an overview, *Journal of Nutritional Science*, 5: e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- Pereira-Lorenzo, S. ve Ramos Cabrer, A. M. (2004). Chestnut, an ancient crop with future, *Production practices and quality assessment of food crops, Preharvest Practice* 1: 105–161. https://doi.org/10.1007/1-4020-2533-5_5
- Pinnaivalia, G.G., Pizziriani, S., Severini, C., Bassi, D. (1993). Chemical and functional characterization of some chestnut varieties. Uluslar arası Kestane Kongresi, Spoleto, İtalya.
- Pinto, D., Vieira, E. F., Peixoto, A. F., Freire, C., Freitas, V., Costa, P., Delerue-Matos, C. ve Rodrigues, F. (2021). Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from chestnut

- shells by subcritical water extraction using response surface methodology, *Food Chemistry*, 334: 127521. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127521>
- Rebsdatt, S., Mayer D. (2000). Ethylene Glycol, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 13. Weinheim: Wiley-VCH. https://doi.org/10.1002/14356007.a10_101
- Robbins, R. J. (2003). Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology, *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(10): 2866-2887. <https://doi.org/10.1021/jf026182t>
- Rowell, R.M. (2005). *Handbook of wood chemistry and wood composites*, CRC Press, USA. <https://doi.org/10.1201/9780203492437>
- Selek, İ. (2011). Ceviz ve Kestane de Bazı Fenolik Bileşiklerin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, İzmir, 170 s.
- Shahbaz, K., Mjalli, F. S., Hashim, M. A. ve Al Nashef, I. M. (2011). Prediction of deep eutectic solvents densities at different temperatures, *Thermochimica acta*, 515(1-2): 67-72. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2010.12.022>
- Shahbaz, K., Bagh, F. S. G., Mjalli, F. S., AlNashef, I. M. ve Hashim, M. A. (2013). Prediction of refractive index and density of deep eutectic solvents using atomic contributions, *Fluid Phase Equilibria*, 354: 304-311. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2013.06.050>
- Shamsuri, A.A. ve Daik, R. (2012). Plasticizing effect of choline chloride/urea eutectic-based ionic liquid on physicochemical properties of agarose films, *BioResources*, 7(4): 4760-4775.
- Silva, E.M., Souza, J.N.S., Rogez, H., Rees, J.F. ve Larondelle, Y. (2007). Antioxidant activities and polyphenolic contents of fifteen selected plant species from the Amazonian region, *Food Chemistry*, 101(3): 1012-1018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.02.055>
- Skarpalezos, D. ve Detsi, A. (2019). Deep eutectic solvents as extraction media for valuable flavonoids from natural sources, *Applied Sciences*, 9(19): 4169. <https://doi.org/10.3390/app9194169>
- Subaşı, B. (2004). İstanbul Ticaret Odası Etüt Araştırma Şubesi Kestane Sektör Profili.
- Soylu, A., (1984). Kestane yetiştiriciliği ve özellikleri. *Atatürk Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü* Yayın No:59.
- Squillaci, G., Apone, F., Sena, L. M., Carola, A., Tito, A., Bimonte, M., De Lucia, A., Colucci, G., La Cara, F. ve Morana, A. (2018). Chestnut (*Castanea sativa* Mill.) industrial wastes as a valued bioresource for the production of active ingredients, *Process Biochemistry*, 64: 228-236. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2017.09.017>
- Şenel R. ve Eltan C., (2016). Kestane Eylem Planı. Bursa Orman Genel Müdürlüğü.
- TAPPI T 222 om-02 (2002). Acid-insoluble lignin in wood and pulp. TAPPI. Atlanta, GA, USA, TAPPI Press. <https://www.tappi.org>
- Tang, B., Zhang, H. ve Row, K. H. (2015). Application of deep eutectic solvents in the extraction and separation of target compounds from various samples, *Journal of Separation Science*, 38(6): 1053–1064. <https://doi.org/10.1002/jssc.201401347>

- Torun, S. B., Peşman, E. ve Çavdar, A. D. (2019). Effect of alkali treatment on composites made from recycledpolyethylene and chestnut cupula. *Polymer Composites*, 40(11):4442-4451. <https://doi.org/10.1002/pc.25305>
- Turna İ., Atar, F. ve Atar, E., (2014). Important of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) as non-wood forest products in forestry of Turkey, 3rd International Non-wood ForestProducts Symposium, Turkey, 958–967. Ürünleri Sempozyumu, 4-6 Ekim, Bursa, Bildiri Kitabı: 94.
- TÜİK,(2022). Meyveler içecek ve baharat bitkileri. <https://biruni.tuik.gov.tr/medas/?kn=92&locale=tr>. / (Erişim Tarihi: 14.10.2022).
- Umezawa, T. (2003). Phylogenetic distribution of lignan producing plants. *Wood research: bulletin of the wood research institute Kyoto university*, 90: 27-110.
- URL-1 (2022). <https://www.yenihaberden.com/kestane-agaclari-bambu-mobilyalara-donusuyor-675631h.htm>, (04.10.2022).
- URL-2 (2022). <https://migrosv.migros.com.tr/kestane-kremasi>, (04.10.2022).
- URL-3 (2022). <https://www.egricayir.com/tr/blog-detay/kestane-bali-nedir-kestane-bali-nasil-tuketilir>, (04.10.2022).
- URL-4 (2022). https://www.researchgate.net/figure/Schematic-representation-of-classification-of-phenolic-compounds_fig1_318476026, (16.10.2022).
- URL-5 (2022). <https://sarkac.org/2020/09/bitkilerde-bulunan-saglikli-maddeler-polifenol-nedir>, (04.10.2022).
- URL-6 (2022). https://tr.wikipedia.org/wiki/Etilen_glikol, (19.10.2022).
- URL-7 (2022). https://tr.wikipedia.org/wiki/Formik_asit, (21.12.2022).
- Valanciene, E., Jonuskiene, I., Syrpas, M., Augustiniene, E., Matulis, P., Simonavicius A. ve Malys, N. (2020). Advances and prospects of phenolic acids production, biorefinery and analysis. *Biomolecules*, 10(6): 874. <https://doi.org/10.3390/biom10060874>.
- Vasconcelos, M. do C. B.M. de, Bennett, R. N., Quideau, S., Jacquet, R., Rosa, E.A.S. ve Ferreira-Cardoso, J. V. (2010). Evaluating the potential of chestnut (*Castanea sativa* Mill.) fruit pericarp and integument as a source of tocopherols, pigments and polyphenols, *Industrial crops and products*, 31(2): 301-311. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.11.008>
- Vázquez, G., Fontenla, E., Santos, J., Freire, M. S., González-Álvarez, J. ve Antorrena, G. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts, *Industrial Crops and Products*, 28(3), 279-285. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.03.003>
- Vella, F. M., Laratta, B., La Cara, F. ve Morana, A. (2018). Recovery of bioactive molecules from chestnut (*Castanea sativa* Mill.) by-products through extraction by different solvents. *Natural Product Research*, 32(9), 1022–1032. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1378199>

- Vermeris, W. ve Nicholson, R. (2007). *Phenolic Compound Biochemistry*, Springer Science & Business Media. Dordrecht, Netherlands, 285 sayfa
- Vilková, M., Płotka-Wasyłka, J. ve Andruch, V. (2020). The role of water in deep eutectic solvent-base extraction, *Journal of Molecular Liquids*, 304: 112747. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.112747>
- Wagner, F. S. (2014). *Acetic Acid*. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology. <https://doi.org/10.1002/0471238961.0103052023010714.a01.pub3>
- Wang, X., Wu, Y., Li, J., Wang, A., Li, G.; Ren, X. ve Yin, W. (2020). Ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of echinacoside and oleuropein from *Syringa pubescens* Turcz., *Industrial Crops and Products*, 151:112442. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112442>
- Weisburger, J. H. (1999). Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea, *Food and chemical toxicology*, 37(9-10): 943-948. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(99\)00086-1](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(99)00086-1)
- Wilkes, J. S. ve Zaworotko, M. J. (1992). Air and water stable 1-ethyl-3-methylimidazolium based ionic liquids. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, (13): 965-967. <https://doi.org/10.1039/C39920000965>
- Wise, L.E. ve Jahn, E.C., (1952). *Wood Chemistry, Eeinhold Publication Corporation, 2nd Edition*, 2, New York, USA.
- Yurdakul, E. (2007). Kahvaltılık Gevrekleri Zenginleştirmek Amacıyla Üretilen Dondurarak Kurutulmuş Kestanenin Kalite Kriterlerinin Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim dalı, İzmir, 165 sayfa
- Zainal-Abidin, M. H., Hayyan, M., Hayyan, A. ve Jayakumar, N. S. (2017). New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvents: A review, *Analytica Chimica Acta*, 979: 1-23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.05.012>.
- Zhang Q., Vigier, K. D. O., Royer, S. ve Jérôme, F. (2012). Deep eutectic solvents: Syntheses, properties and applications, *Chemical Society Reviews*, 41(21), 7108-7146. <https://doi.org/10.1039/C2CS35178A>
- ZMO, (2019). Türk Mühendis ve Mimar Odaları Birliği Ziraat Mühendisleri Odası, Kestane Raporu

ÖZGEÇMİŞ

