



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**GELENEKSEL VE GÜNCEL YÖNTEMLERLE HÜNNAP MEYVESİNDEN
FENOLİK BİLEŞENLERİNİN EKSTRAKSİYONU VE
KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Işık Hazal KÜPCÜ

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Kader TOKATLI

TOKAT- 2024



Bu tez çalışması;

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: 2022/13)
tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Kader TOKATLI danışmanlığında hazırlamış olduğum “GELENEKSEL VE GÜNCEL YÖNTEMLERLE HÜNNAP MEYVESİNDEN FENOLİK BİLEŞENLERİNİN EKSTRAKSİYONU VE KARAKTERİZASYONU” adlı Yüksek Lisans tezinin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

02/02/2024

Işık Hazal KÜPCÜ

JÜRİ KABUL VE ONAY

Işık Hazal KÜPCÜ tarafından hazırlanan “**Geleneksel ve Güncel Yöntemlerle Hünnap Meyvesinden Fenolik Bileşenlerinin Ekstraksiyonu ve Karakterizasyonu**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 02.02.2024 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmzası

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Kader TOKATLI

Üye

Prof. Dr. Aslıhan DEMİRDÖVEN

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Melih GÜZEL

ONAY

...../...../.....

Doç. Dr. Yusuf TEMÜR

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

Önsöz/Teşekkür

Yüksek lisans dönemim boyunca, ders ve tez dönemlerinde bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, bu konuda çalışma imkanı sunan, sabırla ve hoşgörüyle her konuda destek olan, düşüncelerine son derece saygı duyduğum çok değerli danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Kader TOKATLI'ya; kıymetli görüşleriyle katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Aslıhan DEMİRDÖVEN ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Melih GÜZEL'e; tez dönemi ve laboratuvar çalışmaları boyunca bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TOKATLI'ya, laboratuvar çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyerek motivasyonumu arttıran çok değerli arkadaşım Ahmet Buğra YILDIZ'a, ömrümün her anında bütün kalpleriyle beni destekleyen, her daim yanımda olan, maddi ve manevi destekleri ile bugüne kadar gelmemde paha biçilemez bir emek sahibi olan, bu süreci en az benim kadar heyecan ve hevesle yaşayan çok değerli aileme ve son olarak sonsuz destekle her daim yanımda olan biricik kız kardeşim Ayşe ÜZÜM'e teşekkürlerimi sunuyorum.

Işık Hazal KÜPCÜ

Tokat, Şubat 2024

ÖZET

GELENEKSEL VE GÜNCEL YÖNTEMLERLE HÜNNAP MEYVESİNDEN FENOLİK BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU VE KARAKTERİZASYONU

Küpcü, Işık Hazal

Yüksek Lisans, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Kader Tokatlı

Şubat 2024, 94 sayfa

Bu tez çalışmasında, fenolik madde içeriği yüksek olan hünnap meyvesinden, fenolik bileşiklerin cevap yüzey yöntemi kullanılarak geleneksel, ultrases ve mikrodalga destekli yöntemlerle ekstraksiyonunun optimizasyonu, ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması ve elde edilen fenolik ekstraktların bazı biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmanın ilk aşamasında geleneksel ekstraksiyon (GE) koşullarının optimizasyonunda süre (120-1440dakika), sıcaklık (40-80°C) ve çözgen konsantrasyonu (%40-100); ultrases destekli ekstraksiyon (UDE) koşullarının optimizasyonunda süre (5-20dakika), sonikatör gücü (50-200Watt), görev döngüsü (10:6-10:10 sn:sn) ve çözgen konsantrasyonu (%40-100); mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) koşullarının optimizasyonunda ise süre (30-180saniye), mikrodalga gücü (300-600Watt) ve çözgen konsantrasyonu (%40-70) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, cevap olarak ise tüm ekstraksiyon yöntemleri için maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan ekstraksiyon koşulları esas alınmıştır. Optimum ekstraksiyon koşulları olarak GE için ekstraksiyon süresinin 1410 dakika, ekstraksiyon sıcaklığının 80°C ve metanol konsantrasyonunun %40 olduğu; UDE için ekstraksiyon süresinin 20 dakika, görev döngüsünün 10:7 sn:sn, sonikatör gücünün 130 Watt ve metanol konsantrasyonunun %40 olduğu; MDE için ise mikrodalga gücünün 300 Watt, ekstraksiyon süresinin 127 saniye ve metanol konsantrasyonunun ise %43 olduğu belirlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında GE, UDE ve MDE ile optimum noktalarda üretilen ekstraktların ekstraksiyon verimi, pH, toplam titre edilebilir asitlik, toplam fenolik madde, toplam antosiyanin, toplam flavonoid madde, askorbik asit, antioksidan kapasite (TEAC ve FRAP) ve fenolik ve flavonoid bileşenlerinin kompozisyonları belirlenmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen ekstraktların biyoaktif özellikleri incelendiğinde en yüksek toplam fenolik madde 3.3455 ± 0.0843 mgGAE/g olarak MDE’de, en yüksek toplam flavonoid madde 1671.1111 ± 25.4587 mgQE/kg olarak UDE’de, en yüksek askorbik asit 2.2489 ± 0.0589 mg/100g olarak UDE’de, en yüksek troloks eşdeğeri antioksidan kapasite 3449.79 ± 133.1608 mgTE/kg olarak MDE’de ve en yüksek demir (III) indirgeme antioksidan gücü 670 ± 10.1835 mgTE/kg olarak GE’de saptanmıştır. LC-MSMS analiz sonuçlarına göre ekstraktlarda farklı miktarlarda kateşin, süksinik asit, siyanidin klorür, rosmarinik asit, salisilik asit, rutin, oksalik asit ve kuersetin dihidrat tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hünnap, Fenolik Bileşen, Karakterizasyon, Ultrases, Mikrodalga

ABSTRACT

EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF JUJUBE FRUIT PHENOLIC COMPONENTS WITH TRADITIONAL AND CURRENT METHODS

Küpcü, Işık Hazal

Master's Thesis, Institute of Science Department of Food Engineering

Advisor: Asst. Prof. Dr. Kader Tokatlı

February 2024, 94 pages

In this thesis study, it was aimed to optimize the extraction of phenolic compounds from jujube fruit, which has a high phenolic content, by traditional, ultrasound and microwave-assisted methods using the response surface methodology, to compare the extraction methods and to determine some bioactive properties of the obtained phenolic extracts. For this purpose, in the first stage of the study, time (120-1440 minutes), temperature (40-80°C), and solvent concentration (40-100%) for traditional extraction (TE) conditions; time (5-20 minutes), sonicator power (50-200Watt), duty cycle (10:6-10:10 sec:sec) and solvent concentration (40-100) for ultrasound-assisted extraction (UAE) conditions; time (30-180 seconds), microwave power (300-600Watt) and solvent concentration (40-70%) for microwave-assisted extraction (MAE) conditions were optimized using the independent variables. The extraction conditions providing the maximum total phenolic substance content for all extraction methods was determined as response. The optimum extraction conditions for TE were determined as extraction time 1410 minutes, extraction temperature 80°C and methanol concentration 40%; for UAE were determined as the extraction time was 20 minutes, the duty cycle was 10:7 sec:sec, the sonicator power was 130 Watt and the methanol concentration was 40%; for MAE were determined as the microwave power was 300 Watt, the extraction time was 127 seconds and the methanol concentration was 43%. In the second stage of the study, extraction efficiency, pH, total titratable acidity, total phenolic substance, total anthocyanin, total flavonoid substance, ascorbic acid, antioxidant capacity (TEAC and FRAP) and compositions of phenolic and flavonoid components of the extracts obtained under optimum extraction conditions has been determined. When the bioactive properties of the extracts produced under optimum extraction conditions were examined, the highest total phenolic substance was in MAE as 3.3455 ± 0.0843 mgGAE/g, the highest total flavonoid substance in UAE as 1671.1111 ± 25.4587 mg/kg, the highest ascorbic acid in UAE as 2.2489 ± 0.0589 mg/100g, and the highest total flavonoid substance in UAE as 1671.1111 mgQE/kg, the highest trolox equivalent antioxidant capacity in MAE as 3449.79 ± 133.1608 mgTE/kg, and the highest iron (III) reduction antioxidant power in TE as 670 ± 10.1835 mgTE/kg were detected. According to the LC-MSMS analysis results, different amounts of catechin, succinic acid, cyanidin chloride, rosmarinic acid, salicylic acid, rutin, oxalic acid and quercetin dihydrate were detected in the extracts.

Key Words: Jujube, Phenolic Component, Characterization, Ultrasound, Microwave

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ETİK SÖZLEŞME SAYFASI	i
JÜRİ KABUL VE ONAY	ii
ÖNSÖZ/TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELER LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ	x
1.GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. Hünnap.....	4
2.2. Fenolik Bileşikler.....	7
2.2.1. Fenolik asitler	10
2.2.2.2. Flavon ve flavonoller	14
2.2.2.3. Flavanonlar	14
2.2.2.5. Proantosiyanidin	16
2.2.2.6. Tanenler	17
2.2.2.7. Stilbenler	18
2.2.2.8. Lignanlar	18
2.3. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu.....	18

2.3.1. Geleneksel Ekstraksiyon Yöntemleri.....	20
2.3.2. Geleneksel Olmayan (Güncel) Ekstraksiyon Yöntemleri.....	22
2.4. Cevap Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology)	37
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	40
3.1. Materyal	40
3.2. Ekstraksiyon Yöntemleri	40
3.2.1. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Geleneksel Yöntemle Ekstraksiyonu ...	40
3.2.2. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Geleneksel Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu	41
3.2.3. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Ultrases Destekli Ekstraksiyon	41
3.2.4. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Ultrases Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu	42
3.2.6. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu	43
3.3. Analiz Yöntemleri.....	44
3.3.1. Ekstraksiyon Verimi	44
3.3.2. pH Değeri.....	44
3.3.3. Titrasyon Asitliği	44
3.3.4. Toplam Fenolik Madde.....	44
3.3.5. Toplam Antosiyanin Tayini	45
3.3.6. Toplam Flavonoid Madde.....	45
3.3.7. Askorbik Asit.....	45

3.3.8. Antioksidan Kapasite	46
3.3.9. Fenolik ve Flavonoid Bileşenlerin Kompozisyon Analizi.....	47
3.4. İstatistiksel Analiz.....	47
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	49
4.1. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Geleneksel Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu	50
4.2. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Ultrases Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu	54
4.3. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu	60
4.4 Hünnap Meyvesi Fenolik Ekstraktlarının Karakterizasyonu	64
4.4.1. Ekstraksiyon Verimi	64
4.4.2. pH Değeri.....	65
4.4.3. Titrasyon Asitliği	66
4.4.4. Toplam Fenolik Madde.....	66
4.4.5. Toplam Antosiyanin Tayini	69
4.4.6. Toplam Flavonoid Madde.....	69
4.4.7. Askorbik Asit.....	71
4.4.9. Fenolik ve Flavonoid Bileşen	75
5.SONUÇ	79
6. KAYNAKLAR	81
7.EKLER.....	89

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3. 1 Geleneksel ekstraksiyon ile incelenen parametreler ve seviyeleri	41
Çizelge 3. 2. Ultrases destekli ekstraksiyon ile incelenmesi planlanan parametreler ve seviyeleri.....	42
Çizelge 3. 3.Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile incelenen parametreler ve seviyeleri	43
Çizelge 4. 1.Ön denemelerle denenmiş ekstraksiyon koşulları.....	49
Çizelge 4. 2.Hünnap meyvesi fenolik bileşenlerinin geleneksel ekstraksiyon koşullarına ait Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri	50
Çizelge 4. 3.Hünnap meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ile üretilen fenolik ekstraktlar için ANOVA tablosu	52
Çizelge 4. 4.Hünnap meyvesi fenolik bileşenlerinin ultrases destekli ekstraksiyon koşullarına ait Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri.....	55
Çizelge 4. 5.Hünnap meyvesinden ultrases ekstraksiyon ile üretilen fenolik ekstraktlar için ANOVA tablosu	56
Çizelge 4. 6.Hünnap meyvesi fenolik bileşenlerinin mikrodalga destekli ekstraksiyon koşullarına ait Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri.....	60
Çizelge 4. 7.Hünnap meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile üretilen fenolik ekstraktlar için ANOVA tablosu.....	62
Çizelge 4. 8.Hünnap meyvesinden üretilen ekstraktların ekstraksiyon verimi, pH ve titrasyon asitliği değerleri	64
Çizelge 4. 9.Hünnap meyvesinden üretilen ekstraktların toplam antosiyanin, askorbik asit, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde değerleri.....	67
Çizelge 4. 10.Hünnap meyvesinden üretilen ekstraktların antioksidan kapasite (TEAC ve FRAP) değerleri	72
Çizelge 4. 11.Hünnap meyvesinden üretilen ekstraktların fenolik ve flavonoid bileşik kompozisyonları (ppm).....	76

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2. 1 Fenolik asitler ve başlıca kaynakları (Osorio-Tobo'n, 2020)	11
Şekil 2. 2 Flavonoidler ve başlıca kaynakları (Osorio-Tobo'n, 2020).....	12
Şekil 2. 3 Ultrases destekli ekstraksiyon uygulamalarında kullanılan ultrason banyosu ve ultrason probu ekipmanları	34
Şekil 3. 1 Toz haline getirilmiş Hünnap meyvesi.....	40
Şekil 4. 1 Hünnap meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri (a: metanol konsantrasyonu-sıcaklık; b: metanol konsantrasyonu-süre; c: sıcaklık-süre).....	53
Şekil 4. 2 Hünnap meyvesinden ultrases destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri (a: metanol konsantrasyonu-görev döngüsü; b: sonikatör gücü-görev döngüsü; c: görev döngüsü-süre; d: metanol konsantrasyonu-süre; e: sonikatör gücü-metanol konsantrasyonu, f: sonikatör gücü-süre)	59
Şekil 4. 3. Hünnap meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri (a: mikrodalga gücü-metanol konsantrasyonu; b: süre-metanol konsantrasyonu; c: süre-mikrodalga gücü)	63

1.GİRİŞ

Günümüzde tüketicilerin sağlık üzerine olumlu etkileri olan, antosiyanin içeren, fenolik bileşikler açısından zengin ve antioksidan özelliğe sahip olan meyvelere olan eğilimleri artmıştır. Bu önemli biyoaktif özelliklere sahip olan meyvelerden biri de Hünnap'tır. Hünnap meyvesi, biyoaktif özelliklerinin ortaya konması ile son yıllarda popülerlik kazanmıştır. Çin orijinli bir bitki olan hünnapın (*Zizyphus jujuba*) doğal yayılma alanı Rusya, Hindistan, Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Ortadoğu ve Anadolu'dur. Ülkemizde ılıman iklimin hâkim olduğu Denizli, Aydın, Antalya gibi yerlerde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Kavas ve Dalkılıç, 2015). Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre Ülkemizde 2022 yılında 2248 ton olan Hünnap üretimi %27.7 oranında artarak 2023 yılında 2659 tona ulaşmıştır (TÜİK, 2023).

Fenolik bileşikler bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması esnasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitlerdir. Benzen halkasına bağlı bir veya daha fazla hidroksil ve fonksiyonel gruba sahip maddedir. Bitkisel kökenli materyallerde bulunan fenolik bileşikler, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Gıda bileşeni olarak fenolik bileşikler; insan sağlığı üzerine etkileri, enzimlerin inhibisyonuna neden olmaları ve biyolojik aktivite göstermeleri nedeniyle önem taşımaktadır. Fenolik bileşiklerin sahip olduğu biyolojik aktivite; antioksidatif, antimikrobiyal, antienflamatuvar ve antiviral özellikler göstermesinden kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte lezzet, burukluk, renk gibi birden fazla duyusal gıda özelliklerini etkileyerek bitkisel kökenli birçok gıda ürününün tadına ve aromasına katkıda bulunur (Saldamlı, 1998; Cemeroğlu ve ark., 2001).

Fenolik bileşiklerin bitkilerden izolasyonu, tanımlanması ve kullanımındaki en önemli aşamalardan biri ekstraksiyondur. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için standart bir yöntem olmamakla birlikte kullanılan yöntemler ekstrakte edilmek istenen fenolik maddenin yapısına ve ekstraksiyon için kullanılan çözücünün doğasına göre değişiklik göstermektedir (Atak ve Uslu, 2018). Katı-sıvı ekstraksiyonu, sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve maserasyonu içeren geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde genellikle daha büyük ekstraksiyon çözücü hacimleri, çoğunlukla araştırmacıya bağlı olan ve yoğun emek

gerektiren manuel prosedürler kullanıldığından dolayı tutarlı teknikler değildir (Alara ve ark., 2021). Bu nedenlerle de geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin eksik kalan boşluklarını doldurmak amacıyla günümüzde güncel ekstraksiyon yöntemlerinin kullanımı artmıştır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrases (ultrason) destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı ekstraksiyonu ve enzim destekli ekstraksiyon güncel ekstraksiyon yöntemleri içerisinde en çok kullanılan yöntemlerdir. Bu güncel ekstraksiyon yöntemleri, daha az çözücü hacmi, daha yüksek verim, azaltılmış toksik kalıntı varlığı, daha iyi işlem tekrarlanabilirliği ve daha kısa ekstraksiyon süresi gibi avantajlar sundukları için geleneksel yöntemlere kıyasla tercih edilen yöntemler olarak görülmektedir (Khoddami ve ark., 2013; Alara ve ark., 2021).

Ses dalgalarının saniyede 20.000 veya daha fazla titreşimleri sonucunda üretilen bir enerji olan ultrases, gıda işlemede hücre parçalanması ve ekstraksiyon amacıyla çok yönlü olarak kullanılan basit bir yöntemdir. Gıda işlemede, ekstraksiyon amaçlı ultrases uygulamalarıyla, ekstraksiyon verimi ve ekstraksiyon hızında artış sağlanmaktadır (Baysal ve İçier, 2012). Deneysel süreç, hücre duvarı geçirgenliğini artırmak ve kavitasyon oluşturmak için genellikle 20 ile 2000 kHz arasında bir frekans aralığına sahip ultrases kullanılmasını gerektirir (Alara ve ark., 2021). Literatürde fenolik bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyon ile ekstraksiyonu kırmızı üzümünden (Carrera ve ark., 2012), kırmızı ve sarı tamarillo meyvesinden (Rohilla ve Mahanta, 2021), *Pistacia lentiscus* yapraklarından (Dahmoune ve ark., 2014), zeytin yapraklarından (Shirzad ve ark., 2017), *Clinacanthus nutans* bitkisinden (Yu ve ark., 2017) ve hünnap çekirdeklerinden (Berkani ve ark., 2020) başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, çözünen-çözücü karışımını ısıtmak için mikrodalga radyasyon enerjisinin kullanımını içeren bir tekniktir. Üretilen ısı, hedef fitokimyasalların numuneden difüzyonunu iyileştirmek için çözücülerin numuneye yayılmasını kolaylaştırır. Çözücünün numuneden difüzyonu, numuneyi tutan hidrojen bağlarının bozulmasını arttırır, böylece hedef bileşiklerin ekstraksiyon sıvısı içinde çözülmesine izin verir (Alara ve ark., 2021). Ballard ve ark. (2010) fıstık kabuklarından, Rafiee ve ark. (2011) zeytin yapraklarından, Setyaningsih ve ark. (2015) pirinç tanesinden, Araujo ve ark. (2021) avokado kabuklarından, Kurtulbaş Şahin ve ark. (2021) ise vişne

kabuklarından fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunu mikrodalga destekli ekstraksiyon ile başarılı bir şekilde gerçekleştirmişlerdir.

Bu tez çalışmasında, fenolik madde içeriği yüksek olan hünnap meyvesinden, fenolik maddelerin geleneksel, ultrases ve mikrodalga destekli yöntemlerle ekstraksiyonu, ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması ve elde edilen fenolik ekstraktlarının bazı biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışma kapsamında öncelikle Hünnap meyvesinden fenolik bileşenlerin geleneksel ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu yapılmış, optimum ekstraksiyon parametreleri belirlenmiş ve belirlenen optimum noktalarda fenolik ekstrakt üretimleri yapılmıştır. Çalışmanın son aşamasında ise 3 farklı yöntemle üretilmiş olan hünnap fenolik ekstraktlarının biyoaktif özellikleri, fenolik ve flavonoid bileşenlerinin kompozisyonları belirlenmiş ve karşılaştırılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Hünnap

Hünnap (*Ziziphus jujuba*), çeşitli sağlık yararları olan yenilebilir ve lezzetli bir meyvedir. Tropikal ve subtropikal bölgelerde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Raswan ve ark., 2020). Anavatanı olan Çin'de 4000 yıldan beri yetiştirilmekte olup bunu Doğu Asya (Çin, Hindistan), Kuzey Afrika ve Orta Doğu ülkeleri izlemektedir. Bitkiler aleminin, Spermatophyta şubesi, Angiospermae alt şubesi, Magnoliopsida sınıfı, Rhamnales takımının Rhamnaceae familyasında yer almaktadır. Çin kökenli bir bitki olan Hünnap; Hindistan, Rusya, Kuzey Afrika, Orta Doğu ve Anadolu'ya yayılmıştır (Kavas ve Dalkılıç, 2015). Ülkemizde ılıman iklimin hâkim olduğu Denizli, Aydın, Antalya gibi yerlerde yaygın olarak yetiştirilirken, yağışa dayanıklı türleri de bulunan Hünnap Karadeniz'in Çoruh havzasında, soğuğa dayanıklı türleri Kayseri, Ankara, Aksaray gibi karasal iklimin hâkim olduğu illerimizde yetiştirilebilmektedir. Ait olduğu familyaya bakıldığında morfolojik olarak ağaç veya çalı formda nadiren de otsu yapıdadır. Hünnap yaz aylarında sarı renkli çiçek açan, 4-11 metre yüksekliğinde ağaçta yetişen kırmızı kabuklu, sert çekirdekli bir meyvedir. Meyvenin en dış çeperi ince kabuklu ve olgunlaşmış safhası kahverengi, pulpası ise sarımtırak ve tatlıdır (Sur, 2021).

Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre ülkemizde 2022 yılında 2248 ton olan Hünnap üretimi %27.7 oranında artarak 2023 yılında 2659 tona ulaşmıştır (TÜİK, 2023). Hünnap meyvesinin sahip olduğu fenolik bileşiklerin miktarının ortaya konması meyvenin üretim ve tüketimi üzerinde olumlu etki yaratacaktır.

Hünnap meyvesi, içerdiği yüksek oranda fenolik bileşikler, alkaloidler, vitaminler, mineraller, yağ asitleri, karbonhidratlar ve proteinlerle birlikte besleyici değeri yüksek besinler içerisinde yer almaktadır. İçerdiği bu maddeler bakımından zengin oluşu Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından onaylanmıştır (Kundi ve ark., 1991).

Hünnap meyvesi yüksek lif içeriği ve içerdiği fruktoz sayesinde sindirimi yavaşlatarak kan şekeri düzeyini kontrol altında tutmaya katkı sağlar. Zengin lif içeriği doyurucu olmasını sağlarken kalori alımını da kontrol altında tutmaya yardımcı olmaktadır. Hünnap meyvesi esansiyel yağ asitlerinin önemli bir kaynağı olup doymamış yağ asitleri

bakımından zengindir. Kurutulmuş meyvesinde 33 yağ asidi bulunmaktadır. İçeriğinde yoğun olarak bulunan yağ asitleri; oleik, linoleik, palmitik ve palmitoleik asitlerdir. Sitrik, süksinik ve malik asitler de bileşiminde tespit edilen diğer organik asitleri oluşturur. Hünnap meyvesi ayrıca farklı tiplerde amino asitler de içermektedir (Korkut ve ark., 2022).

Hünnap meyvesi içeriğinde vücudun enzim ve hormon sistemi için gerekli niasin ve riboflavin gibi maddeler ile magnezyum, çinko, bakır, demir, fosfor gibi iz elementler bulunur. Hünnap meyvesi, B ve C vitaminleri bakımından oldukça zengin bir içeriğe sahip olup, C vitamini açısından turuncgillerden daha zengin olduğu bilinmektedir. Ayrıca bitkisel A vitamini ve bağışıklık sistemini güçlendiren antioksidanları da içermektedir. Kundi ve ark. (1991) tarafından yapılan bir araştırmada 7 çeşit hünnap meyvesi ile çalışılmış ve elde edilen analiz sonuçlarına göre su içeriğinin %78.5-84.2; toplam şeker içeriğinin %7.98-11.52; protein içeriğinin %1.24-2.96; kuru madde/asit oranının 41.15-50.53 ve C vitamini içeriğinin 60.53-101.47 mg/100 g arasında değiştiği sonucuna varılmıştır (Yaşa, 2016).

Hünnap meyvesi, yüksek miktarda fenolik bileşenler içermektedir. Genetik farklılıkla birlikte rakım ve yıllık yağışların oranı da bu meyvelerdeki toplam fenolik madde miktarını etkilemektedir. Rakımın yüksek ve şiddetli kuraklığın hâkim olduğu alanlarda yetişen hünnap meyveleri, diğer bölgelerde yetişenlere kıyasla daha fazla fenolik bileşen içermekte olup antioksidan özellikleri bakımından da güçlüdür (Sun ve ark., 2011). Hünnap meyvesi içeriğindeki fenolik bileşenler bakımından zengin olması ile güçlü bir antioksidan özelliğe sahip olmasını sağlar (Tanmay ve ark., 2011). Fenolik bileşikler serbest radikallerle birlikte metal iyonlarını bağlayarak lipoksijenaz enzimini inaktive ederek antioksidan özellik göstermektedir (Oğuz, 2008).

Gıda işlemenin ortak amacı, depolama süresi boyunca gıda bozulmalarına yol açabilecek bakteri, maya ve küf gelişimini önlemektir. Bu durum mevsimlik ürünleri de uzun süre kullanılabilir hale getirir. Gıdaların tipik organoleptik ve beslenme özelliklerinin korunmasında uygun ürün işleme önemlidir ve bu da insan sağlığı için fayda sağlar. Hünnap meyvesi normal şartlarda sonbaharda hasat edilir ve hasat sonrası raf ömrü çok kısadır, kontrolsüz koşullar altında on günden fazla saklanamaz. Bu nedenle raf ömrünü

kontrol altına almak için hünnap meyvesini işleme ve koruma şartlarını bilmek gereklidir (Rashwan ve ark., 2020).

Meyve ve sebzeler yenilebilirlik ve lezzetlerinin arttırılmasının yanında raf ömrünü de uzatmak için çeşitli metotlarla işlenerek daha dayanıklı hale getirilir (Kaplan ve ark., 2020). Hünnap meyvesinin taze tüketiminin yanında çeşitli işlemlere tabi tutularak işlenmesi kullanımı açısından önem arz etmektedir. Hünnap meyvesi üzerine gerçekleştirilen bazı çalışmalarda çeşitli işleme yöntemleri incelenmiş olup; kurutulmuş meyve, nektar, re  el, marmelat, sirke ve çay eldesi umut verici yöntemler olarak belirlenmiştir (Rashwan ve ark., 2020).

Nem aracılı bozulma reaksiyonlarını en aza indirerek ve/veya gidererek ürünün raf ömrünü uzatabilen kurutma yöntemi ile hünnap meyvesinden bütün meyve, meyve dilimleri, hünnap cipsleri ve toz ürünler gibi m  kemm  l tadı ve yüksek besin değeri ile tüketici tarafından tercih edilen ürünlere dönüştürülebilir. Zengin biyoaktif bileşik kaynağına sahip oluşundan dolayı meyve suyu, çay, şarap gibi çeşitli hünnap içecekleri de tüketici tarafından tercih edilen ürünler arasındadır. Sirke, çeşitli gıda formülasyonlarında yaygın olarak kullanılan, mikroorganizmaların büyümesini önlemek için gıdaların pH değerini azaltabilen ve gıdaların lezzetini arttırabilen önemli gıda sınıfı ajanlardan biri olarak kabul edilir. Hünnap sirkesinin yüksek miktarda antioksidan bileşiğe sahip olması da fonksiyonel bir sirke olarak kullanılabilen hünnap meyvesi ürünlerinden biri olarak belirlenmiştir (Rashwan ve ark., 2020). Diğer bir yöntem ise şeker ilave ederek meyve ve sebzelerin dayandırılması işlemidir. Yüksek oranda şeker ilavesi meyveden farklı ürünler elde edilmesinin yanında mikroorganizma gelişimini de engellemektedir. Bu hünnap meyvesi ürünlerine örnek olarak re  el ve marmelat verilebilir (Kaplan ve ark., 2020).

Gıda katkı maddeleri ürünün besin değerini arttırmak, tadı iyileştirmek, gıdanın lezzetini ve görünümünü korumak için gıdaya eklenen bileşenler olarak bilinir. Sentetik gıda katkı maddelerinin zararlı sağlık etkilerini önlemek için doğal gıda katkı maddelerinin kullanımı daha uygun bir alternatif olarak belirlenmiş olup hünnap meyvesi de bu doğal katkı maddelerinden biri olarak kullanılmaktadır (Rashwan ve ark., 2020). Hünnap meyvesi, sağlık yararları nedeniyle hem gıda hem de bitkisel tıbbi ürünlerde uygulanan

doğal gıda bileşenlerinden biri olarak kabul edilir. Örneğin, hünnap ekstraktının ekmek hamuruna eklenmesi, artan su emme oranını göstermiştir. Ek olarak, hamur geliştirme süresi, stabilitesi ve uzatma derecesi azalırken, zayıflık derecesi ve direnç derecesi artmıştır (Lee ve ark., 2005).

Hünnap meyvesi içeriğindeki fitokimyasallar dolayısıyla geleneksel tıpta ilaç yapımında kullanılmakta olup kanser, diyabet, antimikrobiyal, antienflamatuvar, sedatif, laksatif, kardiyovasküler, gastrointestinal ve immün sistem üzerindeki etkileriyle hünnap meyvesindeki fitokimyasalların bu hastalıkların tedavisinde etkili olduğu belirtilmiştir (Hürkan, 2019).

2.2. Fenolik Bileşikler

Bitkilerde aromatik aminoasit mekanizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitlere fenolik bileşikler denilmektedir (Saldamlı, 1998). Fenolik bileşikler meyve ve sebzelerde çok az miktarda bulunmalarına rağmen bunların işlenmelerinde önemli sorunlara neden olabilecek bileşim öğelerindendir (Cemeroğlu ve ark., 2001). Doğadaki bütün bitkiler yoğun stres altında korunmak amaçlı birçok fenolik bileşiği farklı nitelik ve konsantrasyonda üretmektedir. Fenolik bileşiklerin miktarları farklılık göstermesine rağmen bitkilerde en bol bulunan sekonder metabolitlerdir. Araştırmalar günümüzde 5000'den fazla fenolik bileşiğin yapısının tanımlandığını göstermektedir (Atak ve Uslu, 2018).

Fenolik bileşikler meyve ve sebzelerin lezzetinin oluşmasında ve ağızda kendilerine özgü buruk tadını vermede etkilidirler. Bu algılama fenolik bileşiklerin ağız mukozasındaki protein ve polisakkaritlerle gerçekleşen tepkimelerine bağlanmaktadır. Bazı fenolik bileşikler ise acı tadın oluşmasında etkilidir (Saldamlı, 1998). Fenolik bileşikler sebzelerde, meyvelerde, tahıl ve baklagillerde, çay, kahve, şarap, bira vb. bitki kaynaklı içeceklerde bulunur (Atak ve Uslu, 2018).

Fenolik bileşikler 80 monomerli bileşiklere kadar kondanse olabilmekle birlikte proteinlerle kompleks oluşturarak tortu yapar. Bu özelliklerinden dolayı meyve suyu ve şarap endüstrisinde durultma ajanı olarak kullanılabilir. Fenolik bileşikler gıdalarda renk değişimlerine sebep olur. Bunlar arasında en önemlisi enzimatik olan

esmerleşmedir. Fenolik bileşiklerin oksidasyonuna neden olan bu reaksiyonları katalize eden enzimlere polifenoloksidaz enzimleri (PPO) denilmektedir. Fenolik bileşikler hemen her meyve ve sebzede az veya çok miktarda bulunurken bu bileşikler bakımından meyveler sebzelerden daha zengindir. Bu bileşiklerin yer aldığı her bitkisel dokuda polifenoloksidaz enzimi de mutlaka bulunmaktadır (MEGEP, 2013). Sağlam bir hücrede fenolik bileşikler vakuollerde, polifenoloksidaz enzimi ise sitoplazmada bulunduğundan birbirlerine temas etmez. Ancak parçalama, dilimleme ve pulpa işleme gibi işlemler sonucu fenolik bileşikler ile polifenoloksidaz enzimi bir araya gelerek esmerleşme reaksiyonlarını başlatır. Gıdalarda enzimatik esmerleşme bir kalite kaybı olarak değerlendirilmekte olup meyve ve sebzelerin işlenmesi sırasında fenolik bileşiklerin oksidasyonu çeşitli yöntemlerle kontrol altına alınmaya veya önlenmeye çalışılmaktadır (Saldamlı, 1998).

Fenolik bileşikler ve/veya polifenoller benzen halkası içeren bileşikler olduğundan hidroksi benzen çoğunlukla fenol adı ile anılan en basit fenolik bileşik yani bir tane hidroksil grubu içeren benzen olan fenoldür. Diğer tüm bileşikler bundan türemişlerdir (Saldamlı, 1998).

Bitkilerdeki fenolik bileşikler; fenolik asitler (veya fenolkarbonik asitler), flavonoidler ile küçük molekül ve çoğunlukla uçucu olan bileşiklerdir. Gıdaların yapılarında yer alan fenolik asitler ve flavonoidler bunlar içerisinde önem taşımaktadır (Saldamlı,1998). Fenolik asitler, bitkilerde önemli bir fenolik bileşik sınıfını oluşturan ve serbest veya bağlı formlarda bulunan bileşiklerdir. Fenolik asitler hidroksibenzoik asit (HBA) ve hidroksisinamik asit (HSA) şeklinde iki alt gruba ayrılır. Bu fenolik asitler, bitkilerde çeşitli biyolojik ve fizyolojik fonksiyonlara sahip olabilirler ve aynı zamanda besin değeri ile de ilgili bir araştırma konusudur (Cong-Cong ve ark., 2017). Flavonoidler, bitki fenoliklerinin en geniş ve çeşitli grubunu oluşturur ve doğal olarak oluşan sekiz bin fenolik bileşiğin yarısından fazlasını içerir. Bu bileşikler, düşük molekül ağırlığına sahip olan ve C₆-C₃-C₆ konfigürasyonunda düzenlenmiş on beş karbon atomundan oluşan bir yapıya sahiptir. Temel olarak, yapıları genellikle heterosiklik bir C halkası formunda bulunan ve birbirine bağlı iki aromatik halka A ve B'den oluşur. Flavonoidler, bitkilerde genellikle renk pigmentleri olarak görev yapar ve birçok biyolojik aktiviteye sahip

olabilirler, bu nedenle biyoteknoloji, tıp ve gıda endüstrisi gibi birçok alanda araştırma konusu olmuştur (Karakaya ve Taş, 2001).

Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, fenol halkasındaki -OH grubu sayısı arttıkça artmakta olup aynı bileşikte meta-, orto- ve para- sırası ile yükselmektedir. Bu bileşikler içinde en fazla antioksidan etkiyi gallik asit, floroglusitik asit, kafeik asit ve gentisik asit göstermektedir. Antioksidan etkiyi gösteren bütillenmiş hidroksitoluen (BHT), bütillenmiş hidroksianisol (BHA), propilgallat (PG) gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılan bileşiklerdir. Parabenler veya başka bir deyişle p-hidroksi benzoik asitin alkil esterleri (p-HB esterleri); metil, etil ve propil esterleri antimikrobiyal özelliklerinden dolayı koruyucu madde olarak kullanılır. Bunlar aynı zamanda pH değişimlerine karşı fazla duyarlı olmadıklarından gıda endüstrisinde kullanım alanı geniştir. Örneğin zeytinin bileşimindeki oleuropin, bazı baharatların bileşimindeki ojenol ve kapsaisin gibi fenolik bileşiklerin antimikrobiyal etkileri bulunmaktadır (Saldamlı, 1998).

Fenolik bileşiklere, beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkilere sahip olmaları; biyoflavonoid ve kılcak dolaşım sisteminde geçirgenliği düzenleyici ve kan basıncı düşürücü etkilerinden dolayı P faktörü (Permeabilite Faktörü) veya P vitamini adı verilmektedir. Ancak bu isimlendirme FDA (Food and Drug Administration) tarafından belirlenen vitamin tanımına uymadığı düşüncesiyle çoğu zaman benimsenmemektedir. Fenolik bileşikler doğal antioksidanlar ve antimikrobiyal ajanlar olarak yaygın olarak kullanılmaktadır, antimutajenik ve antikarsinojenik etkiye sahiptirler. Klorojenik asit ve asetofenon türevlerinin antimikrobiyal ve antifungal etkileri bulunmaktadır. Sübstitüe (bağlı) olmayan fenolik bileşikler daha etkili olmasına rağmen hidrolize olan flavonoidler daha zayıf etkiye sahiptirler. Fenolik bileşikler ayrıca gıda ve ilaç endüstrileri tarafından kullanılabilecek antialerjenik, antiaterojenik ve antienflamatuar aktiviteler sergiler. Fenolik bileşikler, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıkların yanı sıra kanser riskini azaltan ürünlerin değerli bileşenleri olabilir. Fenolik bileşiklerin antioksidan gücü, işlevsel gıdalara doğal katkı maddeleri olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Osorio-Tobón, 2020).

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal kimyasallardır ve bitki besinleri tüketildiğinde, bu fitokimyasallar insan beslenmesinde doğal antioksidan alımına katkıda

bulunabilir. Tarımsal sanayi yan ürünleri, fenolik bileşikler açısından zengin kaynaklar olup, doğal antioksidanların potansiyel kaynakları olarak araştırılmışlardır. Bu bileşiklerin gıda antioksidanları olarak kullanılması, doğal kaynaklardan elde edilen antioksidanların sağlığa olan olumlu etkileri nedeniyle büyük ilgi çekmektedir (Blasundram ve ark., 2006).

Fenolik bileşikler yapısal unsurlara ve sahip oldukları halka yapısına göre isim alırlar. Fenolik bileşikler; fenolik asitler, flavonoidler, tanenler, stilbenler ve lignanlar olmak üzere sınıflandırılmaktadır (Ignat ve ark., 2011).

2.2.1. Fenolik asitler

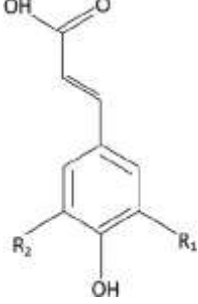
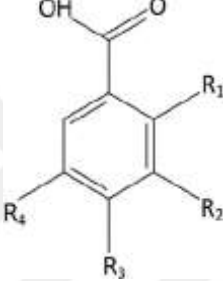
Fenolik asitler canlı bitkisel dokularda serbest halde bulunmazlar ancak bunların işlenmesi sırasında hidrolizle ortaya çıkarlar. Karboksil grupları karbonhidratlar, glikozitler, aminoasitler veya proteinlerle reaksiyona girebilir ya da alkollerle fenol esterler, amino bileşikler ile amidleri oluştururlar. Fenolik asitlerin fenolik hidroksil grupları ise çok aktiftir, şekerlerle birleşerek glikozitleri oluştururlar (Saldamlı,1998).

Fenolik asitler hem bağlı hem de serbest formda bulunurlar, ancak sıklıkla bağlı durumda bulunma eğilimindedirler. Bu bağlı formlar genellikle ester bağları, eter bağları ve asetat bağları aracılığıyla bitki hücre yapılarına bağlanabilirler. Fenolik asitler, içerdikleri -OH ve -OHC₃ gruplarına göre iki ana alt gruba ayrılabilirler. Hidroksisinamik asitler ve hidroksibenzoik asitler, bu alt grupları temsil eder. Hidroksisinamik asitler, fenolik asitlerin aromatik halkalarının içinde yer alan -OH gruplarına sahipken, hidroksibenzoik asitler, fenolik asitlerin aromatik halkalarının kenarındaki -OHC₃ gruplarına sahiptir. Bu yapısal çeşitlilik, fenolik asitlerin bitki hücrelerinde farklı biyolojik roller üstlenmelerine ve bitki öz savunma sistemlerinde etkili olmalarına olanak tanımaktadır (Atak ve Uslu, 2018).

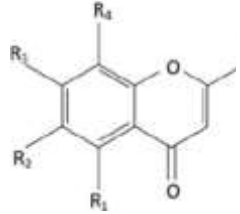
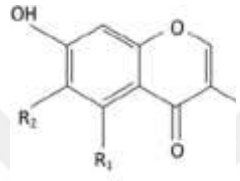
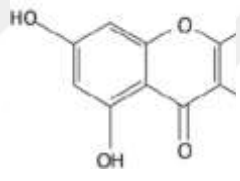
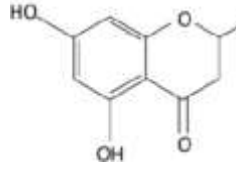
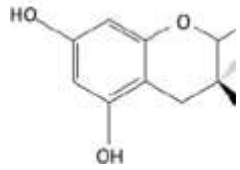
2.2.1.1. Hidroksisinamik Asitler

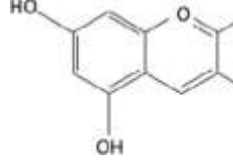
Fenolik asitlerden hidroksisinamik asitler C₆-C₅ fenilpropan yapısında olup yapısal formülü Şekil 2.1’de verilmiştir.

Şekil 2.1. Fenolik asitler ve başlıca kaynakları (Osorio-Tobón, 2020)

Hidroksisinamik Asitler		Başlıca Bileşikler	Bulunduğu Kaynaklar
Hidroksibenzoik Asitler		o-Kumarik Asit p-Kumarik Asit Kafeik Asit Ferulik Asit İzoferulik Asit	Erik, çilek, nektarin, şeftali, elma, armut, brokoli, domates, hindiba, marul, zeytin, havuç ve tahıllar
		Sinapik Asit Salisilik Asit	Meyveler, fındık, çay, hindiba ve bazı baharatlar
		m-Hidroksibenzoik Asit	
		p-Hidroksibenzoik Asit	
		Pirokateşuik Asit	
		Rezorsilik Asit	
		a-Rezorsilik Asit	
		Gallik Asit	
		Vanillik Asit	
		İzovanillik Asit	
		Siringik Asit	

Şekil 2. 2 Flavonoidler ve başlıca kaynakları (Osorio-Tobón, 2020)

Flavononlar 	Başlıca Bileşikler Apigenin, Luteolin, Tangeretin, Nobiletin, Trisin, Krizoeriyol	Bulunduğu Kaynaklar Kereviz, maydanoz, kekik, kavun, karpuz, narenciye kabukları, biber, lahana ve enginar
İzoflavonlar 	Daidzein, Genistein, Glisitin	Soya fasulyesi, baklagiller, fasulye ve yer fıstığı
Flavonoller 	Kamferol, Kuersetin, Mirisetin, İzoramnetin	Üzüm, kiraz, enginar, lahana, acı biber, marul, soğan ve ceviz
Flavanonlar 	Naringenin, Eriodictyol, Hesperitin	Narenciye ve meyve suları, kekik ve nane
Flavan-3-oller 	Kateşin, Epikateşin, Gallokateşin, Epigallokateşin, Kateşin gallat, Epikateşin gallat, Gallokateşin gallat, Epigallokateşin gallat	Çay, çikolata, kırmızı şarap, fındık, üzüm, çilek, böğürtlen, şeftali, nektarin, tahıllar, erik ve elma

Antosiyanidinler

Pelargonidin,
Siyanidin, Delfinidin,
Peonidin, Petunidin,
Malvidin

Üzüm, kiraz, erik, nektarin,
şeftali, siyah fasulye,
kırmızı marul ve kırmızı
soğan

2.2.2.1. Antosiyanidinler

Bu grup maddeler şekerlerle glikozit yapmış olarak bulunmakta olup antosiyanin adını alırlar. Antosiyaninler meyvelerin, sebzelerin ve çiçeklerin kırmızıdan mora kadar değişen renklerini oluşturan maddeler olup bu tipik renkler glikozitten kaynaklanmaktadır. Antosiyaninler, bitki dokularına çekici kırmızı-mor renk veren fenolik bileşikler olup renklendirici katkı maddesi olarak kullanımına EFSA tarafından E163 koduyla izin verilmektedir; ancak düşük stabilite ve fotodegradasyon gibi teknolojik sınırlamalar endüstriyel kullanımlarının önünde bazı engeller oluşturmaktadır. Buna rağmen antosiyaninlerin çeşitli ürün türlerinde renklendirici olarak uygulanmasıyla tatmin edici sonuçlar elde edildiği görülmüştür (Albuquerque ve ark., 2021). Antosiyanin pigmentleri hücre sitoplazmasında glikozit formda bulunmakta olup bu pigmentler vişne gibi meyvelerde hem meyve etinde hem meyve kabuğunda, siyah üzüm ve bazı erik çeşitlerinde ise yalnızca meyve kabuğunda bulunurlar. Antosiyaninler glikozit yapıdaki bileşikler olduğundan bileşimleri bazı şekerler ve aglikon adı verilen şeker olmayan bazı maddelerden oluşmaktadır. Bu şeker olmayan bileşiklerden oluşan aglikon kısmını antosiyanidinler oluşturmaktadır. Antosiyaninlerin aglikon kısmını oluşturan fenolik bileşiklerin molekülünde -OH grubu sayısı arttıkça renkteki mavilik, -OCH₃ grubu sayısı arttıkça renkteki kırmızılık artmaktadır. En yaygın bulunan antosiyanin siyanidin olup tüketilen meyvelerin %90'a varan kısmında bulunmaktadır. Siyanidinden sonra başlıca antosiyanidinlere örnek ise; pelargonidin, delfinidin, peonidin ve malvidindir (Saldamlı, 1998).

2.2.2.2. Flavon ve flavonoller

Flavonoller, gıdalardaki en yaygın flavonoid türüdür ve mirisetin, kaempferol ve kuersetin bu gruptaki başlıca temsilcileridir. Özellikle pırasa, brokoli, lahana ve soğan gibi sebzelerde, taze ağırlık başına 1.2 g/kg'ye kadar bol miktarda bulunurlar. Ayrıca, çay ve kırmızı şarap gibi içeceklerde, glikoz veya ramnoz gibi bazı basit şekerlerle glikosile edilmiş formda yoğun bir şekilde bulunabilirler. Bazı meyvelerin dış kısımları, yaklaşık 5-10 farklı flavonol glikozit içerebilir. Farklı meyvelerdeki flavonol konsantrasyonları, güneş ışığına maruz kalmalarıyla biyosentezlerindeki farklılıklara bağlı olarak gözlemlenebilir şekilde değişir. Bu durum, yapraklı sebzelerde daha yeşil olan dış kısımların, içteki soluk renkli olanlara kıyasla daha fazla flavonol içerdiği durumu gözlemlenen bir durumdur. Elma ve kıvılcık içecekleri gibi içecekler, flavonoller açısından zengindir. Flavonlar ise meyve ve sebzelerde flavonollerden daha düşük konsantrasyonda bulunurlar. Apigenin ve luteolin glikozitleri içerirler ve tatlı dolmalık biber, kereviz ve maydanoz gibi bazı sebzelerde sınırlı miktarda bulunabilirler. Tahıllarda, özellikle buğday ve darıda, flavonların glikozitleri olarak bulunabilirler. Turunçgil kabuğunda ise nobiletin, sinensetin ve tangeretin gibi polimetoksillenmiş flavonlar bulunabilir (Alara ve ark., 2021).

Flavonlar ve flavonoller arasındaki fark kimyasal yapılarında orta halkadaki C₃ atomunda OH- grubunun bulunmamasına, bunun yerini bir H'nin almasına dayanmaktadır. Flavonol glikozitleri hemen her bitkide bulunmakta olup hafif sarı renktedirler. Bitkilerde sentezlenmeleri için genellikle ışık gerektiğinden meyvelerin özellikle kabuk kısımlarında yoğun olarak bulunmaktadır. Flavonol grubu bileşikler gıdalarda genellikle glikozit formda bulunurlar. Başlıca flavonoller; kemferol, kuersetin, mirisetin ve izoremetindir. Bunların en yaygın olanı kuersetindir. Bu grup bileşiklerden flavoller; antienflamatuvar ve antioksidan etkiye sahip olup yapılan bazı araştırmalarda yumurtalık kanserinde etkili olabileceği belirtilmiştir. Flavonlar ise sakinleştirici, kas gevşetici ve anksiyolitik etkiye sahiptir (Saldamlı,1998).

2.2.2.3. Flavanonlar

36 bitki familyasına ait 160'tan fazla flavanon türü bulunmaktadır ve bunlar aynı zamanda birçok diğer flavonoidin öncüsüdür. Bu bileşikler kimyasal olarak, 4. pozisyonda bir

karboksil grubu içermeleri ile karakterize edilir. C2 ve C3 arasındaki çift bağ, flavanonların temel yapısını oluşturur (Albuerque ve ark., 2021). Flavanonların flavonlardan farkı kimyasal yapısındaki orta halkada bir çift bağ bulundurmasıdır. Flavanon glikozitleri özellikle turunçgil meyvelerinde yaygın olarak bulunmaktadır. Naringenin ve hesperidin, bu flavanon sınıfındaki bileşikler arasında en çok araştırılanlardır. Naringenin, hesperidin ve naringin bu flavanonlara örnek olup naringenin greyfurtlardaki acımsı (bitter) tadına sebep olurken naringenin naringindihidroalkona dönüşmesi ile oluşan bileşik tatlı bir tada sahiptir. Bundan dolayı tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır. Gıdalarda dihidroalkon yapısı çok az bulunur; bunlardan floretin ve floridzin gıda bileşenleri için önem taşımaktadır. Özellikle elma ve armutlarda önemli miktarlarda bir dihidroalkon glikoziti olan floridzin bulunmaktadır (Saldamlı, 1998).

2.2.2.4. Kateşinler ve Löykoantosiyininler

Kateşinler bitkisel gruplarda en yaygın halde bulunan flavonoidlerdir. Çoğunlukla serbest halde bulunmakta olup renksizdirler ve flavonoid oluşumunda ara ürün olarak görev alırlar. Kateşinler kimyasal yapıları bakımından flavan-3-ollerin C3 atomunda bir OH- grubu içeren monomerleridir. Yapılarında iki asimetric karbon atomu bulunduğundan 4 izomeri vardır. 2. ve 3. karbon atomundaki hidrojen trans konfigürasyonunda ise (+)-kateşin ve (+)-gallokateşin, cis konfigürasyonunda ise (-)-epikateşin ve (-)-epigallokateşin adı verilmektedir. Kateşinler havanın oksijeni ile kolaylıkla reaksiyona girerek kimyasal ve enzimatik olarak oligomer ve polimerlerle kondanse olup proantosiyanidinleri oluştururlar (Saldamlı, 1998).

Löykoantosiyanidinler de kateşinler gibi flavon türevlerinden flavan-3,4-diol olup C₃ ve C₄ atomlarında birer adet OH⁻ grubu içerirler. Löykoantosiyanidinlerin gıdalarda serbest halde bulunmadığı bildiriliyor olsa da bu bileşiklerin proantosiyanidin olduğu yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur (Söylemezoğlu, 2003).

2.2.2.5. Proantosiyanidin

Proantosiyanidinler veya yoğunlaştırılmış tanenler, değişken flavonollerin 4-6 veya 4-8'de C-C bağıyla bağlanan B tipi proantosiyanidinler gibi yoğunlaştırılmış formudur (Alara ve ark., 2021). Proantosiyanidinler, kateşinlerin flavan-3-ol veya löykoantosiyanidinlerin flavan-3,4-diol yapısının kimyasal veya enzimatik olarak dimer, oligomer ve polimerlerle kondensasyonu ile oluşan polimerik yapılara denir. Proantosiyanidinler aynı zamanda kondanse tanenler olarak da tanımlanmaktadır. Kateşin monomerlerinin kondensasyonu genellikle C₄-C₈ bağı ile gerçekleşmektedir.

Proantosiyanidinlerin molekül ağırlıkları 7000 Dalton'a (yaklaşık 20 flavan-3-ol ünitesi) kadar ulaşabilmektedir. Proantosiyanidinler birçok meyvenin kendine özgü tadının oluşmasında etkili olup bu bileşikler buruk veya acı tadın ortaya çıkmasını sağlarlar. Bu buruk veya acı tadın baskınlığı ise molekül ağırlığına bağlı olarak değişmektedir (Şen ve Karakış, 2018). Elma, üzüm, armut ve kivi gibi meyveler yoğunlaştırılmış flavanollerin ana kaynaklarıdır; ayrıca çay, kakao ve diğerlerinden de elde edilebilirler. Yoğunlaştırılmış flavanoller, tükürük proteinleri ile kompleksler üretme yetenekleri nedeniyle çikolataların acı tadının, içeceklerin ve meyvelerin burukluğunun nedenidir (Alara ve ark., 2021).

Proantosiyanidinler kısa zincir uzunluğunda renksiz olmasına karşın polimerizasyon derecesi arttıkça renkleri sarıdan kahverengine doğru değişmektedir. Organik çözücülerde seyreltik asitlerle ısıtıldıklarında ise antosiyanidinlere (çoğunlukla siyanidin, bazen delfinidin) dönüşerek tipik kırmızı-mor renk alırlar. Sadece kateşin ve/veya epikateşin ünitelerinin kondensasyonu ile oluşan bileşiğe prosiyanidin adı verilmektedir (MEGEP, 2013). Kateşin/gallokateşin kondensatlarına ise prodelfinidin denilmektedir (Saldamlı, 1998).

Bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan proantosiyanidinler; (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kombinasyonlarından oluşan dimerlerle iki (-)-epikateşin ünitesinden oluşan prosiyanidin B2'dir. Proantosiyanidinlerin diaizomerlerine ise proantosiyanidin B5, B6, B7 ve B8 adı verilmektedir. 6-8 monomerli proantosiyanidinler meyve ve sebzelerin buruk tadına neden olurken 3-5 monomerli proantosiyanidinlerin meyve ve sebzelere acı bir tat verdiği belirtilmiştir. Biyolojik olarak aktif olan proantosiyanidin bileşiklerinin

eksikliğinde, protein ve minerallerin beslenme ve biyolojik değerlerinin azalacağı bildirilmiştir. Yapılan bazı çalışmalar proantosiyandinlerin antiviral, antibakteriyel ve antioksidan özelliklerinin olduğunu göstermektedir. Güçlü antioksidatif etki göstermeleri nedeniyle kalp hastalıkları, kolesterol, yüksek tansiyon gibi önemli hastalıklarda etkili olabileceği belirtilmiştir. Araştırmalar antioksidan etkinliklerinin E vitamininden 50, C vitamininden ise 20 kat daha fazla olduğunu göstermiş, bu durum da cildin yaşlanma etkilerini azaltarak cildin gençlik ışıltısını korumasına fayda sağlayacağı düşünülmektedir (Şen ve Karakış, 2018)

2.2.2.6. Tanenler

Fenolik bileşikler sınıfından olan tanenler yüksek yapılı bitkilerin hemen hemen hepsinde bulunmakta olup, molekül ağırlıkları 500-20000 Dalton aralığındadır. Tanenler; gallotanenler, kompleks tanenler, ellagitanenler ve kondanse tanenler olmak üzere 4 temel gruba sahip olup aynı zamanda çok sayıda fonksiyonel ve hidroksil gruba sahiptirler. Bazı yüksek molekül ağırlığına sahip olanları hariç suda çözünürler, protein ve diğer makro moleküllerle çapraz bağlanabilirler ve çözünmeyen ya da çözünebilir tanen-protein kompleksi oluşturabilirler. Bu protein ve minerallerle oluşturduğu kompleks gıdaların besin değerinde azalmaya neden olur. Metal iyonları, aminoasitler ve polisakkaritlerle de kompleks oluşturabilirler. Azotsuz, amorf ve polifenolik yapıda olan tanenler, bitkilerin kabuk, odun, meyve, meyve tohumu, yaprak ve kök gibi çeşitli dokularında ve bitki özünde bulunabilmekte olup aynı zamanda bu dokuların gelişiminin düzenlenmesine yardımcı olurlar (Aydın ve Üstün, 2007).

Tanenler genellikle bir besin ögesi olarak değerlendirilmezler. Proteinlerle, nişastayla ve sindirim enzimleriyle kompleks oluşturarak gıdaların besin değerinde azalmaya neden olmakla birlikte polifenol oksidaz enziminin neden olduğu esmerleşme reaksiyonları nedeniyle gıda endüstrisinde kullanımları istenmez. Ayrıca vitamin ve minerallerin de yararlılığını olumsuz yönde etkilemektedirler. A ve B₁₂ vitaminlerinin tanen varlığında iki değerli demir iyonu ile kompleks oluşturarak demirin emilimini azaltmaktadır. Antikanserojenik ve antimutajenik etkileri, sahip oldukları antioksidatif özelliklerine bağlanmaktadır. Bunun yanı sıra yapılan bazı araştırmalar da tanen miktarının fazlalığıyla

doğru orantılı olarak tanen içeren besinlerin tüketilmesinin insan sağlığını olumsuz etkilemesinin yanında kanser türlerini de tetiklediği belirtilmiştir (Ergezer ve Çam, 2008).

2.2.2.7. Stilbenler

İnsanların kullanabileceği düşük miktarlarda stilben bulunur ve bunlardan en yaygın olanı hem cis hem de trans izomerik formlarda çoğunlukla glikolize formlarda bulunan resveratroidir. Üzüm, çilek ve yer fıstığı dahil olmak üzere 70'ten fazla bitki türünde tespit edilmiş olup bitkiler tarafından yoğun stres altında üretilirler ve patojenler tarafından gerçekleşen enfeksiyonu önlerler (Ignat ve ark., 2011).

Stilbenler besinlerle veya supplement olarak alınan fitoöstrojenlerden biri olarak kabul edilir. Bu fitoöstrojenik stilbenlerin temel kaynağı yer fıstığı ve kırmızı şaraptır ve şarapta bulunan türü en yaygın stilben olan resveratroidir. Resveratrol genel olarak üzümün et kısmında bulunmayıp kabuğunda bulunur. Yüksek biyoyararlılığa, yararlı fizyolojik ve farmakolojik etkilere sahip olan resveratrol antioksidatif, antiviral, kardiyoprotektif, yaşlanmayı geciktirici ve obeziteyi azaltıcı gibi insan sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahiptir (İnanç ve Tuna, 2005).

2.2.2.8. Lignanlar

Lignanlar, iki fenilpropanların oksidatif dimerizasyonu ile üretilmekte olup doğada çoğunlukla serbest formda bulunurlar (Ignat ve ark.,2011). Bitkilerde bulunan temel lignanlar; matairesinol, sekoizolarisiresinol, larisiresinol ve izolarisiresinoldür ve bu bileşikler insanlarda östrojenik aktivite gösteren enterolakton ve enterodiol temel bileşikleriyle benzer yapıya sahiptirler (Kolaç ve ark., 2017). Çeşitli bitkilerde, yağlı tohumlarda ve tahıl tanelerinde bulunabildikleri gibi lignanların en zengin kaynağı keten tohumudur. Yapılan bazı çalışmalarda lignanların; antioksidan, antienflamatuar ve kanser kemopreventif özelliklerinin potansiyel uygulamalar olabileceği belirtilmiştir (Cong-Cong ve ark., 2017).

2.3. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Son zamanlarda doğal ürünlere olan ilginin artmasıyla birlikte fenolik bileşiklerin yararları göz önünde bulundurulduğunda fenolik bileşiklerin ekstraksiyonuyla ilgili

alışmalar artmıştır. Fenolik bileşiklerin tanınması, izolasyonu ve aktif kullanımı için gerçekleştiren bu ekstraksiyon aşaması çok önemlidir (Atak ve Uslu, 2018). Gıdalardan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu örneğin hazırlanması için önemli bir aşamadır. Bazı gıdalarda ekstraksiyon aşamasına gerek duyulmaksızın örnek sadece filtrasyon işlemi sonrası analiz edilebilirken daha karmaşık yapıdaki bazı gıdalar için ekstraksiyon işlemi gereklidir (Yiğit, 2018). Fenolik bileşiklerin tamamen ekstraksiyonu numune n işleminde kritik adım olup ekstraksiyon için en yaygın teknikler, organik ve inorganik zcler kullanmaktır. Ekstraksiyon süresi, sıcaklık, üzücü-numune oranı, numunenin tekrarlanan ekstraksiyon sayısı ve üzücü tipi gibi belirlenen çeşitli parametreler ekstraksiyon verimini etkileyebilir. Dolayısıyla fenolik bileşiklerin optimum geri kazanımı numune çeşitine göre değişiklik göstermekte olup bitkinin türüne ve aktif bileşiklerine bağlıdır. Su, aseton, etil asetat, alkoller (metanol, etanol ve propanol) ve bunların karışımlarının ekstraksiyon zcs olarak seçimi, ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin verimini etkileyecektir. Bitkisel gıdalardan ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin verimini belirleyen diğer önemli parametreler ise sıcaklık ve zamandır. Artan zaman ve sıcaklık analit znrlğn arttırır ancak bitki fenolikleri bu artışla genellikle bozulur veya enzimatik oksidasyon gibi istenmeyen reaksiyonlara neden olabilir. Üzücü:numune oranı da ekstraksiyon veriminde önemli bir parametre olup fenolik bileşiklerin geri kazanımını etkilemektedir. Üzücü:numune oranını belirlemek için optimum nokta belirlenerek zcnn fenolik bileşikler tarafından üzücü girişi ve doygunluk etkileri en aza indirilmelidir (Khoddami ve ark., 2013).

Fenolik bileşiklerin znrlğ polimerizasyon işlemleri sırasında değişebilen özelliktedir. Protein ve karbonhidratlar gibi diğer bitki bileşenleri ile karşılaştırıldığında znmesi zor olan bir yapı oluştururlar ve zndkleri maddenin polaritesinden etkilenirler. Bundan dolayı tüm bitkisel bileşikler için farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu yöntemler geleneksel ve geleneksel olmayan (güncel) ekstraksiyon yöntemleri olmak üzere iki şekilde incelenmektedir.

2.3.1. Geleneksel Ekstraksiyon Yöntemleri

Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri çoğunlukla daha büyük hacimli ekstraksiyon çözücülerini ile araştırmacıya bağlı olan ve yoğun emek gerektiren manuel prosedürler kullanılarak belirlenir. Dolayısıyla bu teknikler ideal olarak tutarlı değildir.

Katı-sıvı ekstraksiyonu, sıvı-sıvı ekstraksiyonu ve maserasyonu içeren bu yöntemler en çok kullanılan yöntemlerdir.

2.3.1.1. Katı-Sıvı Ekstraksiyonu

Katı-sıvı ekstraksiyon, bitkilerden biyoaktif bileşiklerin eldesinde kullanılan en eski yöntemlerden biri olup aynı zamanda ekstraksiyon işlemlerinde en çok uygulanan yöntemdir. Katı-sıvı ekstraksiyonu, kullanılan çözücü yardımıyla katıdan istenilen maddenin ekstraksiyon işlemidir. Diğer ekstraksiyon işlemlerinin aksine, kompleks yapıları çok bileşenli karışımlar katı-sıvı ekstraksiyon işlemlerinden elde edilir ve bu yöntem fenolik bileşiklerin eldesinde kullanılan en basit yöntemdir. Katı hammadde çözücü ile karıştırılır ve ekstrakte edilir. Genellikle etanol, metanol, aseton veya çözücü karışımlarının sulu hali farklı çözücülerde bitkilerden ayrılması istenilen materyallerin doğrudan ekstraksiyonundan oluşur. Katı-sıvı ekstraksiyonu; çözücü türü, pH, katı-sıvı oranı, partikül boyutu ve sıcaklık gibi birçok parametreden etkilenmekte olup çözücü seçimi hedef bileşen üzerine seçimi etkilemektedir. Ekstrakte edilen maddenin yüksek verimde eldesi için doğru çözücü seçimi önemlidir. Katı-sıvı ekstraksiyon işlemi, şeker kamışı ve şeker pancarından şeker, bitkilerden uçucu yağlar, yağlı tohumlardan yağların ekstraksiyonu, bitkilerden eczacılık ürünleri ve nutrosötikler gibi birçok endüstride kullanılmaktadır (İlbay, 2016).

2.3.1.2. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu sıvı bir karışımından, maddelerden birinin çözücü yardımıyla ayrılması işlemidir. Karışımda bulunan herhangi bir madde bir çözücünden diğer bir çözücüye ayrılır. Genel olarak bu yöntem, çözeltide çözünmüş madde çözelti ile karışmayan ancak maddeyi çözen bir çözücü ile çalkalayarak ayırma işlemi şeklinde gerçekleştirilir. Bu işlem için genellikle ayırma hunisinden yararlanılır. Ayırma işleminde

birbiriyle karışmayan iki sıvı fazda bileşiklerin çözünürlüklerinin farklı olması gerekmektedir. Genellikle ilk faz su ile karışmayan organik bir çözücüdür. Örneğin, suda çözünmüş olan bir organik madde daha çok çözünebileceği ve su ile hiç karışmayan eter ya da kloroform gibi organik sıvılarla ekstrakte edilir. Basit, geniş ve hızlı uygulanabilirliği dolayısıyla sık kullanılan bir yöntemdir (Anonim, 2019; Kulaksızoğlu, 2011).

Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda ekstrakt bakımından zengin çözücü ve ekstraktın kalıntılarını içeren çözücü arasındaki yoğunluktan kaynaklanan kütle transferi sonucu solvent çözücülerin birine ya da daha fazlasına karşı afinite ve seçicilik sergiler. Uygun çözücülerin seçimi ile ekstraksiyon daha verimli olur. Araştırmalarda yaygın olarak kullanılan saf organik çözücülerin çok kutuplu fenolik asitleri çözmede yetersiz kaldığı anlaşıldığında çözücülerin karıştırılması metodu denenmiş ve daha az polar çözücüler bitki matriksinde polar olmayan yabancı bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun görülmüştür (Atak ve Uslu, 2018).

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu endüstride, organik bileşikleri asit-baz ile yıkamada, fermentasyon karışımından aktif materyalleri yeniden elde etmede, vitamin ve antibiyotik ürünlerini saflaştırmada, kahve ve çaydan kafein ayırmada, yağ özü (aroma ve koku) seperasyonları gibi işlemlerde kullanılır (Anonim, 2019).

2.3.1.3. Maserasyon

Maserasyon yoluyla ekstraksiyon, toz haline getirilmiş bir numunenin kapalı bir sistem içerisinde uygun çözücüye batırılması ve ardından oda sıcaklığında sabit veya ara sıra çalkalanmasının basit bir işlemidir. Bitki esaslı çözücü ekstraksiyonunda uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu yöntemle ekstraksiyonda, difüzyon ve kütle transfer katsayıları belli bir zamanda dengeye ulaşır ve sabit kalır. Çözeltiyle karıştırılmış olan hammadde ekstraksiyon süresince, istenilen konsantrasyona ulaşana kadar karıştırıcılar yardımıyla karıştırılarak sonrasında sıvı ayrılır. Tankta kalan katı kısım gerekliyse farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak ekstraksiyona devam edilir. Günümüzde maserasyon ekstraktörlerinin çalışma kapasitesinin 6000 L kadar olduğu bilinmektedir (İlbay, 2016).

Ekstraksiyon periyodundan sonra katı kısımları çözücünden ayırmak için bir ayırma işlemi uygulanır. Bu genellikle süzme, dekantasyon veya berraklaştırma yoluyla elde edilir. Bu yöntem kolay bir teknik olmasına rağmen zaman alıcı olması ve büyük hacimlerde çözücü gerektirmesi gibi dezavantajlara sahiptir.

2.3.2. Geleneksel Olmayan (Güncel) Ekstraksiyon Yöntemleri

Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin eksik kalan boşluklarını doldurmak amacıyla oluşturulmuş güncel ekstraksiyon yöntemlerinin kullanımı artmıştır.

Çoğu literatüre göre bu güncel ekstraksiyon yöntemleri daha az çözücü hacmi, daha yüksek verim, azaltılmış toksik kalıntılar, daha iyi işlem tekrarlanabilirliği ve daha az ekstraksiyon süresi gibi sayısız avantaj sundukları için geleneksel yöntemlere kıyasla tercih edilen yöntemlerdir.

2.3.2.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, geleneksel organik çözücü ekstraksiyon yöntemlerine iyi bir alternatif olabilen çevre dostu ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Bu yöntemde katı yapılarda veya sıvı çözeltilerdeki bileşenlerin süperkritik koşullardaki bir çözücü kullanarak alınması ve çözücünün atmosfer koşullarına ya da belirli basınç koşullarına getirilerek çözünen bileşiklerin çözücünden ayrılması işlemi olarak tanımlanabilir.

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yönteminin temel prensibi süperkritik çözücülerin akışkan formda kullanılmasıdır. Süperkritik akışkan, bir maddenin sahip olduğu kritik sıcaklık ve basınç değerinin üzerine getirilmesiyle oluşan madde olarak tanımlanır. Oluşan bu madde sıvı veya gaz olarak nitelendirilmeyip yüksek sıcaklık ve düşük basınçta akışkanın yoğunluğu düşük olduğunda gaz gibi, düşük sıcaklık ve yüksek basınçta akışkanın yoğunluğu arttığında ise sıvı gibi davranacaktır. Süperkritik koşullarda madde hem sıvı hem de gaz gibi davranmaktadır. Sıvılar gibi yüksek yoğunluk ve çözme gücüne sahipken, gazlar gibi düşük viskozite ve sıfır yüzey gerilimine sahiptir (Selvitopu, 2023).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda kullanılacak akışkan seçimi oldukça önemlidir. Akışkanın seçiminde hammaddenin akışkan içindeki çözünürlüğü, akışkanın kimyasal kararlılığı, akışkanın ekonomik ve kolay bulunabilmesi, zehirli, patlayıcı ve yanıcı

olmaması gibi özellikleri dikkate alınmalıdır. Ekstraksiyon işleminde en çok kullanılan akışkan karbondioksit (CO_2) olup etan (C_2H_6), etilen (C_2H_4), nitrozooksit (N_2O), klortriflor metan, propan (C_3H_8), propilen (C_3H_6), amonyak (NH_3) ve hekzan (C_6H_{14}) gibi maddeler de kullanılabilir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu toksik organik çözücülere olan gereksinimi azaltması, güvenliği ve seçiciliği artırması, ekstraksiyon süresini kısaltması ve ekstraktın süperkritik sıvılardan ayrılmasını kolaylaştırması gibi avantajlara sahiptir. Aynı zamanda ekstrakte edilen bileşiklerin parçalanması, hava ve ışığın yokluğunda önlenabilir ve numuneyi çözücü safsızlıklarıyla kirletme olasılığı diğer yöntemlerden çok daha düşüktür. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun ana dezavantajı ise ekipman için yüksek sermaye yatırımı gerektirmesidir (Khoddami ve ark., 2013).

Kazan ve ark. (2014) şeftali yapraklarının süperkritik sıvı ekstraksiyonu ve fenolik bileşik kaynağı olarak kullanım olanaklarını araştırdıkları çalışmalarında; basınç, sıcaklık ve yardımcı çözücü oranının ekstraksiyon üzerindeki etkilerini incelenmiş; sonuçlar, basınç ve yardımcı çözücü oranının toplam fenol ekstraksiyonu üzerinde en etkili faktörler olduğunu göstermiştir. Yeşil bir teknik olmasının ötesinde, süperkritik ekstraksiyon, bu biyolojik atığın endüstriyel kullanımı için temel oluşturan geleneksel ekstraksiyon yönteminden daha iyi aktiviteye sahip bir ekstrakt sağladığı görülmüştür.

Kaur ve Ubeyitoğulları (2023) süperkritik karbon dioksit (SC-CO_2) ekstraksiyonu kullanarak sıcaklık (40 ve 60 °C), basınç (30 ve 40 MPa) ve etanol konsantrasyonun (15 ve 25%, w/w) pirinç kabuğunun toplam fenolik içerik, toplam flavonoid ve antioksidan aktivitesi üzerine etkisini araştırmışlardır. Optimize edilmiş ekstraksiyon koşulları yardımcı çözücü olarak %25 etanol-su (50%, v/v) kullanımı ile 30 MPa basınç ve 60 °C olarak belirlenmiş ve bu koşullarda elde edilen ekstraktın toplam fenolik madde içeriği 1.29 mgGAE/g, toplam flavonoid içeriği 0.40mg CE/g ve antioksidan kapasitesi ise 0.23 mgTE/g olarak raporlanmıştır. Çalışmanın sonucunda pirinç kabuğundan süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu ile elde edilen fenolik bileşiklerin çoğunun daha yüksek biyoyararlılığa sahip olan serbest formdaki fenolik bileşiklerden oluştuğu bildirilmiştir.

Ferrentino ve ark. (2020) elma çekirdeklerinden süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile yağ ekstrakte etmek için basınç (10-30 MPa), sıcaklık (40-60 °C) ve karbondioksit akış hızının (1-8 L/saat) yağ verimi ve antioksidan aktivite üzerindeki etkilerini cevap yüzey

yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Çalışmada optimum noktanın 24 MPa basınç, 40 °C sıcaklık, 1 L/saat karbon dioksit akış hızı ve 140 dakikalık ekstraksiyon süresi olduğu belirlenmiştir. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktta verim %22.5 iken optimum noktada %20.5 olarak saptanmıştır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın linoleik asit içeriği (63.76 /100 g yağ) Soxhlet ile elde edileninden (49.03 /100 g yağ) daha yüksek bulunmuş ancak süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın daha yüksek oksidatif aktivite gösterdiği raporlanmıştır.

2.3.2.2. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu, katı ve yarı katı hammaddeleri bir ekstraksiyon hücreğine paketleyip çözücü tüketimini azaltarak kısa süreler için çözücünün kaynama noktasının (200 °C'ye kadar) üzerinde olabilen yüksek basınç ve sıcaklıklarda organik bir çözücü kullanılan bir yöntemdir (Adil, 2006). Bu yöntemin temel prensibi katıdan istenilen bileşiklerin, süperkritik koşullarda, yüksek sıcaklık (50 ve 200°C) ve basınçta (10-15 MPa) organik çözücü sistemi ile ekstrakte edilmesidir (Altınay, 2015).

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu kullanılan çözücüye bağlı olarak literatürde farklı isimlendirmelere sahiptir. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, basınçlı çözücü ekstraksiyonu, basınçlı akışkan ekstraksiyonu, basınçlı sıcak çözücü ekstraksiyonu, yüksek hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, yüksek basınç, yüksek sıcaklıkta çözücü ekstraksiyonu, subkritik çözücü ekstraksiyonu gibi isimlendirilmeleri dışında çözücü olarak su kullanıldığında subkritik su ekstraksiyonu, sıcak su ekstraksiyonu, basınçlı sıcak su ekstraksiyonu, yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu ve süper ısıtılmış su ekstraksiyonu şeklinde isimlendirmelere sahiptir.

Fenolik bileşiklerin bozulmasını önleyen, ışıktan korunan bir atmosferde gerçekleştirilen basınçlı sıvı ekstraksiyonu, yüksek basınç ve sıcaklığın etkisiyle çözünme oranını artırdığından ekstraksiyon avantajı sağlar (Adil, 2006).

Basınçlı sıvı ekstraksiyonun verimliliğini artırmak için bazı parametrelerin optimize edilmesi gerekir. Bu parametrelerin en önemlisi uygun solvent seçimidir. Çözücünün özellikleri yüksek sıcaklık altında değişebiliyor olsa da ekstraksiyon verimliliği yine de çözücüye bağlıdır. Fenolik bileşiklerin çeşitli hammaddelerden ekstraksiyonu için çeşitli

çözücü ve çözücü karışımları kullanılabilir ancak en sık kullanılan çözücüler metanol, etanol ve bunların çeşitli oranlarda su ile kombinasyonlarıdır (Alara ve ark., 2021).

Yaklaşık 200 °C veya daha yüksek sıcaklıklarda suyun dielektrik özelliklerinde oluşan değişiklik, suyun standart bir organik çözücü gibi davranmasını sağlayarak ekstraksiyon kapasitesini artırmaktadır. Çeşitli araştırmalara göre basınçlı sıvı ekstraksiyonun avantajları arasında klasik yöntemlerden elde edilen ekstraktlarla karşılaştırıldığında ekstraktların saflığı bulunmaktadır, bu durum herhangi bir saflaştırma adımına olan ihtiyacı ortadan kaldırmaktadır. Ekstraksiyon sırasında düşük analit seçiciliği, ekstraksiyon işlemi sırasında parazitlerin varlığı, özellikle birkaç döngü kullanıldığında yüksek düzeyde ekstrakt seyreltmesi ve maliyetli bir işlem olması ise basınçlı sıvı ekstraksiyonun bilinen dezavantajlarıdır. Buna rağmen basınçlı sıvı ekstraksiyonu, polifenollerin çeşitli kaynaklardan ekstraksiyonu için kullanılan yaygın bir ekstraksiyon yöntemidir (Alara ve ark., 2021).

Taş ve Ötleş (2016) tarafından yapılan çalışmada siyah üzüm çekirdeklerinden basınçlı su ekstraksiyonuyla polifenol ve organik asitçe zengin bir ekstraktın elde edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmada basınçlı su ekstraksiyonu sistemi kullanılarak 50 bar basınç ve 50°C sıcaklıkta 90 dakika süresince elde edilen üzüm çekirdeği ekstraktının polifenol ve organik asit içeriği hem kromatografik hem de spektroskopik yöntemlerle belirlenmiş, elde edilen üzüm çekirdeği ekstraktının toplam fenolik madde miktarı %49.77 (w/w GAE) olarak bildirilmiştir. Ayrıca, ekstraktın antioksidan aktivitesi % inhibisyon cinsinden 90.90 (DPPH), antiradikal etkinliği ise %98.13 olarak tespit edilmiştir. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) analizi sonucunda ekstrakt içerisinde tartarik, oksalik, L-malik ve fumarik asitlerin organik asit olarak bulunduğu, polifenol olarak ise hidroksitirosol ve (+)-kateşin'in tespit edildiği belirlenmiştir.

Pancar atıklarının geri kazanımı için Lasta ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada basınçlı sıvı ekstraksiyonu yöntemi kullanılmıştır. 40 °C sıcaklık, 7.5, 10 ve 12.5 MPa basınç, 3 mL/dk akış hızı şeklinde belirlenen farklı koşullar kullanılarak gerçekleştirilen çalışmanın amacı literatürdeki pancar atıklarıyla ilgili çalışmaların eksikliğini gidermek olup kalıntıların değerini artırarak basınçlı sıvı ekstraksiyon süreci, işlem verimi, toplam fenolik içeriği ve geri kazanılan ekstraktların antioksidan aktivitesi değerlendirilmiştir.

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu, özellikle pancar yaprakları için daha yüksek toplam ekstraksiyon verimi, fenolik içerik ve antioksidan aktivite sağlamıştır. Sıvı kromatografi analizi ile pancar yapraklarından ve saplarından sırasıyla 33 ve 24 fenolik bileşik belirlenmiştir. Ferulik asit, viteksin ve sinapaldehitin ekstraktlarda en çok bulunan fenolik bileşikler olduğu bildirilmiştir.

2.3.2.3. Enzim Destekli Ekstraksiyon

Enzim destekli ekstraksiyon, sitoplazmik içeriğin su gibi ekstraksiyon sıvısına hareketini sağlamak için enzimlerin hücre duvarı bileşenlerini hidrolize etme ve hücre duvarının yapısal karmaşıklığını bozma kabiliyetinden yararlanan güncel bir tekniktir. Bu ekstraksiyon sistemi hammaddenin karmaşık yapısını parçalayarak ilgili bileşiğin kolayca serbest kalmasını sağlar. Bu durum ekstraksiyon sistemi için daha yüksek verim sağlayarak hammaddenin istenmeyen bileşenlerini seçerek ortadan kaldırır ve doğal ürünlerin orijinal etkinliklerini korur, ekstraksiyon süresini ve kullanılan çözücünün hacmini azaltır (Ceyhan, 2022). Bu yöntemde kullanılan enzimler arasında selülozlar, hemiselülozlar, ksilanazlar, proteazlar, α -amilazlar, β -glukozidazlar ve pektinazlar yer alır. Enzim destekli ekstraksiyonun, meyve ve sebzeler de dahil olmak üzere bitki materyallerinden ekstrakte edilen antosiyaninlerin verimini ve kalitesini arttırdığı gösterilmiştir.

Çözücü ekstraksiyonu gibi geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında, enzim destekli ekstraksiyonun, daha kısa ekstraksiyon süresi, daha düşük solvent tüketimi ve ekstrakte edilen bileşiklerin gelişmiş kalitesi dahil olmak üzere çeşitli avantajları vardır. Ek olarak, enzim destekli ekstraksiyon, daha az atık ürettiği ve daha ılımlı ekstraksiyon koşulları kullandığı için daha çevre dostu bir ekstraksiyon yöntemidir.

Enzim destekli ekstraksiyonun etkinliği, kullanılan enzimin türü ve konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklığı ve pH gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Antosiyaninlerin maksimum verimini ve kalitesini elde etmek için her spesifik bitki materyalinden enzim destekli ekstraksiyona en uygun koşullar belirlenmelidir (Amulya ve Islam, 2023).

Enzim destekli ekstraksiyon sırasında kullanılan enzimler, hücresel içeriklerini ekstraksiyona maruz bırakmak için hücre duvarlarını kırabilir ve zayıflatabilir. Böylece

bu tür numunelerden polifenollerin ekstraksiyonu için daha iyi bir olanak sağlanır. Selülozlar, hemiselülozlar ve pektinazlar gibi enzimler bitki materyallerinden fitokimyasal bileşenlerin ekstraksiyonunu kolaylaştırmak için kullanılırlar. Ayrıca hücre duvarı ligninini hidrolize ederek ekstraksiyon verimliliğini artırır.

Gomez-Garcia ve ark. (2012) üzüm atıklarından enzim destekli ekstraksiyon ile biyoaktif bileşik eldesini Celluclast[®] 1.5 L, Pectinex[®] Ultra ve Novoferm[®] gibi farklı ticari enzimler kullanarak gerçekleştirmişlerdir. 12 saatlik ekstraksiyon süresi sonunda en yüksek antioksidan aktiviteler %86.8 ile Celluclast[®] 1.5 L’de , %82.9 ile Pectinex[®] Ultra ve %90 ile Novoferm[®] olarak belirlenmiştir. Üzüm atıklarından fenolik salınımı üzerinde en güçlü etkiyi ise sırasıyla Novoferm[®], Pectinex[®] Ultra ve Celluclast[®] 1.5 L’de göstermiştir.

Boulila ve ark. (2015) defne yapraklarından biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon verimliliğini artırmak için enzim destekli ekstraksiyonun etkinliğini selüloz, hemiselüloz, ksilanaz ve bunların üçlü karışımını kullanarak belirlemişlerdir. Sonuçlar değerlendirildiğinde, defne yapraklarından uçucu yağların geri kazanımının, selüloolitik ve hemiselüloolitik aktiviteye sahip enzimlerin kullanımıyla büyük ölçüde artırılabilir; esansiyel yağların niteliksel özelliklerinde küçük bir değişiklik olsa da enzimle ön muamelenin, bireysel bileşenlerin oranında kayda değer değişikliklere neden olduğu ve oksijenli monoterpenlerin miktarlarını arttırdığı, bunun sonucunda da daha iyi bir antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır.

2.3.2.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Mikrodalgalar, elektromanyetik spektrumun düşük frekanslı radyo frekansı ve yüksek frekanslı kızılötesi arasında bulunan, iyonlaştırıcı olmayan elektromanyetik (EM) dalgalarıdır (Routrey ve Orsat, 2011). Elektromanyetik spektrumun 300 MHz ve 300 GHz arasındaki bölümünü kapsayan bir frekans skalasıdır. Bu frekans aralığı, dalga boyu olarak 1 mm ile 1 m arasında değişir. Mikrodalgalar, enerji transferi ve ısıtma amacıyla kullanılır ve polar moleküllerin dönmesi ve çarpışmasıyla ısı oluşturur (Letellier ve Budzinski, 1999).

Mikrodalga uygulamalarında, 915 MHz frekansı endüstriyel uygulamalar için daha derin penetrasyon derinliği sağladığından yaygın olarak kullanılırken, evsel mikrodalga fırınlarda ve analitik kimya amaçları için tasarlanmış ticari ünitelerde genellikle 2.450 MHz frekansı kullanılır. Numunelerin dielektrik özellikleri, elektromanyetik enerjisinin dağılımı ve termal enerjiye dönüşümünü etkiler. Bu özellikler dielektrik sabiti, dielektrik kayıp faktörü ve kayıp açısı gibi parametrelerle tanımlanır (Routrey ve Orsat, 2011).

Mikrodalgalar, bilgi taşıma veya enerji iletimi için kullanılabilir. Enerji iletimi uygulamasında, mikrodalgalar, enerjinin bir kısmını emebilen ve ısıya dönüştürebilen malzemeler üzerinde doğrudan etki gösterir. Mikrodalgalar, polar moleküllerin düzensiz hareketlerine neden olarak enerji transferine yol açar. Bu dağınık hareket, moleküllerin çarpışması ve sürtünmesi sonucu ısı üretir. Bu nedenle, mikrodalgalar ısıtma amaçlarıyla kullanılır (Letellier ve Budzinski, 1999).

Mikrodalga sistemleri, genellikle magnetron kaynağı, dalga kılavuzu ve aplikatör olmak üzere üç ana parçadan oluşur. Mikrodalga fırınlar monomodlu veya çok modlu boşluklara sahip olabilir. Monomod boşluklar yalnızca bir rezonans modunu üretebilirken, çok modlu boşluklar birkaç rezonans modunu etkileyebilir. Mikrodalga ekstraksiyonu, basınç altında veya atmosferik basınçta gerçekleştirilebilir. Bu ekstraksiyonlarda kapalı kap ve açık kap sistemleri kullanılır. Kapalı kap sistemi mikrodalga destekli ekstraksiyon olarak adlandırılır ve birçok bileşiğin ekstraksiyonu için etkili bir yöntemdir. Açık kap sistemleri ise odaklanmış mikrodalga enerjisi ile mikrodalga emici bir çözücüye daldırılan numunenin ekstraksiyonunu gerçekleştirir ve odaklanmış mikrodalga yardımcı soxhlet veya çözücü ekstraksiyonu olarak bilinir (Routrey ve Orsat, 2011).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, mikrodalga radyasyon enerjisinin kullanılarak çözünen çözücü karışımının ısıtılmasını içeren bir tekniktir. Bu yöntem, hedef fitokimyasalların numunedeki difüzyonunu arttırmak için çözücülerin numuneye kolayca yayılmasını sağlayan ısıyı üretir. Bu yöntemin temelinde daha az zaman kaybı ve düşük çözücü hacimleri vardır. Bu yöntem, fenolik asitler ve flavonoidler gibi kısa zincirli polifenollerin ekstraksiyonunda faydalı bulunmuştur. Ancak polimerik polifenoller, antosiyaninler ve tanenler gibi ısıya duyarlı bileşiklerin yok olma riski nedeniyle mikrodalga destekli ekstraksiyonun ekonomik bir şekilde kullanılması zor olabilir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon sırasında kullanılan sıcaklık, zaman ve güç (watt) doğrudan ekstraksiyon süresiyle ilişkilidir, ancak çözücülerin numune kütlesi ve ısı kapasitesiyle ters orantılıdır. Daha yüksek sıcaklıklar ve küçük numune hacimleri kullanıldığında, çözücünün difüzyonu ve ekstraksiyon kinetiği tercih edilir. Bu yöntem, polifenoller de dahil olmak üzere çeşitli fitokimyasalların ekstraksiyonunda kullanılmıştır ve daha kısa sürede iyi bir polifenol verimi elde etmek ve daha az çözücü tüketmek mümkün olmuştur. Ancak, polifenol ekstraksiyonu için bu yöntemi kullanırken malzemenin türü, çözücünün türü ve saflığı, mikrodalga uygulamasının gücü ve süresi, mevcut numune yüzey alanı ve çalışma sıcaklığı gibi faktörler dikkate alınmalıdır. En önemli faktör, çözücünün seçimi olup, çözücünün türü hedef bileşiklere olan afinitesini ve mikrodalga enerjisini absorbe etme kabiliyetini dikkate alarak seçilmelidir. Bazı çözücüler, mikrodalga radyasyonu altında ısıtılamadıkları için mikrodalga destekli ekstraksiyonda uygun olmayabilir. Örneğin, hekzan veya diklorometan gibi şeffaf çözücüler mikrodalga enerjisini absorbe etme yeteneğine sahip olmadığı için kullanılamazlar. Ancak metanol, etanol veya su gibi diğer çözücüler iyi bir mikrodalga absorpsiyon kapasitesine sahip oldukları için tercih edilebilir. Ayrıca, bu çözücülerin termolabil bileşikler üzerinde önemli bir etkisi olmadığı da belirtilmektedir (Alara ve ark., 2021).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla birçok avantaj sunar. Bu avantajlar arasında şunlar vardır:

1. Daha kısa ekstraksiyon süresi: Mikrodalga destekli ekstraksiyon, mikrodalga enerjisinin çözeltiye doğrudan aktarılması sayesinde ekstraksiyon süresini önemli ölçüde azaltır. Geleneksel yöntemlerde, öncelikle ısıyı kabın içine iletme için zaman gerekmektedir. Mikrodalga yöntemi ise daha hızlı ve etkili bir şekilde ısı transferini gerçekleştirir.
2. Daha az çözücü tüketimi: Mikrodalga destekli ekstraksiyon, daha etkili bir ısı transferi sağladığı için daha az çözücü tüketimi gerektirir. Bu da ekonomik ve çevresel açıdan avantajlıdır.
3. Birden fazla numunenin aynı anda çalıştırılabilmesi: Mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemleri genellikle birden fazla numuneyi aynı anda işleme kabiliyetine sahiptir. Bu da verimliliği artırır ve zaman tasarrufu sağlar.

4. Daha homojen ısıtma: Mikrodalga enerjisi, çözeltinin içine doğrudan nüfuz ettiği için daha homojen bir ısıtma sağlar. Bu, sıcaklık gradyanını azaltır ve daha tutarlı sonuçlar elde etmeyi mümkün kılar.

Bu avantajlar, mikrodalga destekli ekstraksiyonun geleneksel tekniklere kıyasla cazip bir alternatif olmasını sağlar. Son yıllarda, bu teknikle ilgili yayınlanan bilimsel makalelerin sayısında artış görülmüştür, bu da mikrodalga destekli ekstraksiyonun popülerliğinin arttığını göstermektedir (Eskilsson ve Björklund, 2000).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, özellikle flavonoidler gibi bileşiklerin izolasyonu için önemli bir yöntemdir. Bu yöntem, mikrodalga radyasyonu ve çözücüler arasındaki etkileşimlerden yararlanır. Mikrodalga ısıtma, dipol dönmesi ve iyonik polarizasyon gibi mekanizmalarla enerji transferini gerçekleştirir. Bu, moleküller arasında homojen bir ısınma sağlar. Hidrojen bağları bozularak moleküllerin dönme hareketi teşvik edilir ve çözünen iyonlar matrise daha iyi penetre olabilir, bu da hedef bileşiklerin ekstraksiyonunu kolaylaştırır. Mikrodalga işlemi, biyolojik matrislerden kompleks bileşiklerin çıkarılması için uygun bir çözücüyle etkileşime geçmelerini sağlar. Bu işlem, basınç birikmesine ve gözenekliliğin artmasına neden olarak ekstraksiyon çözücüsünün matrise daha iyi nüfuz etmesini sağlar. Mikrodalga etkisi, hücrelerin şişmesine ve bazen bölünmelerine neden olabilir, bu da ekstraksiyon verimliliğini artırır. Ayrıca, mikrodalga ekstraksiyonu, bitki hücre duvarlarını kırmak için mekanik kesme modülüyle birleştirilebilir, bu da aktif bileşenlerin daha hızlı çözünmesini sağlar. Mikrodalga destekli ekstraksiyon, analitlerin hızlı bir şekilde elde edilmesini sağlayarak verimliliği artırabilir. Örneğin, mikrodalga ön işlemi, elma püresini ısıtarak meyve suyundaki flavonoid içeriğini artırabilir (Routrey ve Orsat, 2011).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon solvent seçimi, mikrodalga uygulama zamanı, sıcaklık ve temas yüzey alanından etkilenmektedir. Mikrodalga ekstraksiyonunda solvent seçimi önemlidir; yüksek dielektrik özelliklere sahip solventler daha etkili olabilir. Çözücü özellikleri, çözücülerin birleştirilmesiyle değiştirilebilir, bu da farklı bileşiklere özel seçicilik sağlar. Termolabil bileşiklerin ekstraksiyonu için çözücü sıcaklığının düşük olması gerekebilir, bu durumda daha düşük dielektrik özelliklere sahip çözücüler kullanılabilir. Çözücü türü, seyreltme seviyeleri ve pH seviyesi gibi faktörler ekstraksiyon

verimliliğini etkiler. Genelde, ekstraksiyon süresinin artması ekstraksiyon veriminde bir artışa yol açar, ancak bu artış zamanla azalır. Özellikle polar çözücülerin hızlı ısınması nedeniyle uzun süreli mikrodalga uygulaması bozunmaya neden olabilir. Uzun süreli uygulama yerine birden fazla adımda ekstraksiyon döngüleri kullanmak daha etkili olabilir. Yüksek sıcaklık, ekstraksiyon verimini artırabilir ancak her bileşiğin bozunma sıcaklığı farklı olduğundan optimum sıcaklık ve çözücü-katı oranını bulmak önemlidir. Yüksek güç seviyelerinin uzun süreli uygulanması bozunmaya neden olabilir. Bitki materyalinin temas yüzey alanı arttıkça, ekstraksiyon verimliliği genellikle artar. Bu nedenle, numune hazırlama adımları, biyolojik hücresel matrisin çözücü ile etkileşimini artırmak amacıyla önemlidir (Routrey ve Orsat, 2011).

Afoakwah ve ark. (2023) yer elmasından mikrodalga destekli ekstraksiyon ile polifenollerı ekstrakte etmek için mikrodalga gücü, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığının verim, toplam polifenol içeriğı, toplam flavonoid içeriğı ve antioksidan kapasite üzerindeki etkilerini cevap yüzey yöntemi kullanarak incelemişlerdir. Çalışmada mikrodalga gücü 13.49 W, ekstraksiyon sıcaklığı 79.18°C ve ekstraksiyon süresi 11.96 dakika olan koşullar optimum nokta olarak belirlenmiştir. Bu optimum noktada yapılan üretimler sonrasında ise ekstraktın toplam polifenol içeriğı 4483.33 mg GAE/kg, toplam flavonoid içeriğı 2731.59 mg RE/kg, %DPPH antioksidan aktivitesi %82.69 ve FRAP antioksidan aktivitesi ise 2.65 mmol/L olarak saptanmıştır. Elde edilen veriler sıvı ve ultrases destekli ekstraksiyon verileri ile karşılaştırıldığında mikrodalga destekli ekstraksiyonun daha yüksek antioksidan kapasite sağladığı görülmüştür.

Gallo ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada dört farklı baharatın (*Cinnamomum zeylanicum*, *Coriandrum sativum*, *Cuminum cyminum*, *Crocus sativus*) biyoaktif bileşenlerinin ekstraksiyonu için ultrases ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak sonuçlar karşılaştırılmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksiyonlar için teflon kap ve otomatik fiber optik sıcaklık kontrol sistemine sahip bir mikrodalga fırın kullanılmış ve ekstraksiyonlar 200 W ve 50 °C'de gerçekleştirilmiştir. Ultrases ekstraksiyon yöntemini için ise, numune 1:10 oranında etanol/su (50:50 v/v) ile ekstrakte edilmiş ve ekstraksiyonlar 33 KHz frekansına sahip bir ultrasonik banyoda gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar elde edilen çeşitli ekstraktların toplam polifenol içerikleri, özellikle *Cinnamomum zeylanicum*, *Cuminum cyminum*, *Crocus sativus* için mikrodalga

destekli yöntemin ultrases ekstraksiyon yöntemine göre daha etkili olduğunu; *Coriandrum sativum* için ise iki yöntem arasında anlamlı farklar olmadığını göstermiştir. ABTS, DPPH ve FRAP ile ölçülen antioksidan aktivitenin, mikrodalga ekstraksiyon kullanılarak elde edilen ekstraktlarda ultrasonik ekstraksiyonla elde edilenlerden daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Şeftali posasından fenolik maddelerin ekstraksiyonu için Baltacıoğlu ve ark. (2019) tarafından yapılan çalışmada; geleneksel, ultrases ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemlerinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerindeki etkileri incelenmiş ve yöntemler karşılaştırılmıştır. Fenolik bileşikler posadan %80'lik metanol (% 1 HCl içeren) kullanılarak, geleneksel yöntemle (30, 60, 120 ve 240 dakika); ultrases destekli ekstraksiyonla (% 60, 80 ve 100 genlik; 10, 20 ve 30 dakika); mikrodalga destekli ekstraksiyonla (360, 600 ve 900 W; 30, 60 ve 90 saniye) ekstrakte edilmiştir. Geleneksel ekstraksiyonda 4 saatlik ekstraksiyon sonunda toplam fenolik madde miktarı 1834.88 mgGAE/kg; ultrases destekli ekstraksiyonda toplam fenolik madde %100 genlikte 10 dakikalık süresi sonunda 1817.21 mgGAE/kg; mikrodalga destekli ekstraksiyonda toplam fenolik madde, 900 W mikrodalga gücü ve 90 s ekstraksiyon süresi sonunda 2802.464 mgGAE/kg olarak belirlenmiştir. Sonuçlara bakıldığında mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin en etkili ekstraksiyon yöntemi olduğu, onu ultrases destekli ekstraksiyon ve geleneksel yöntemin izlediği saptanmıştır.

2.3.2.5. Ultrases Destekli Ekstraksiyon

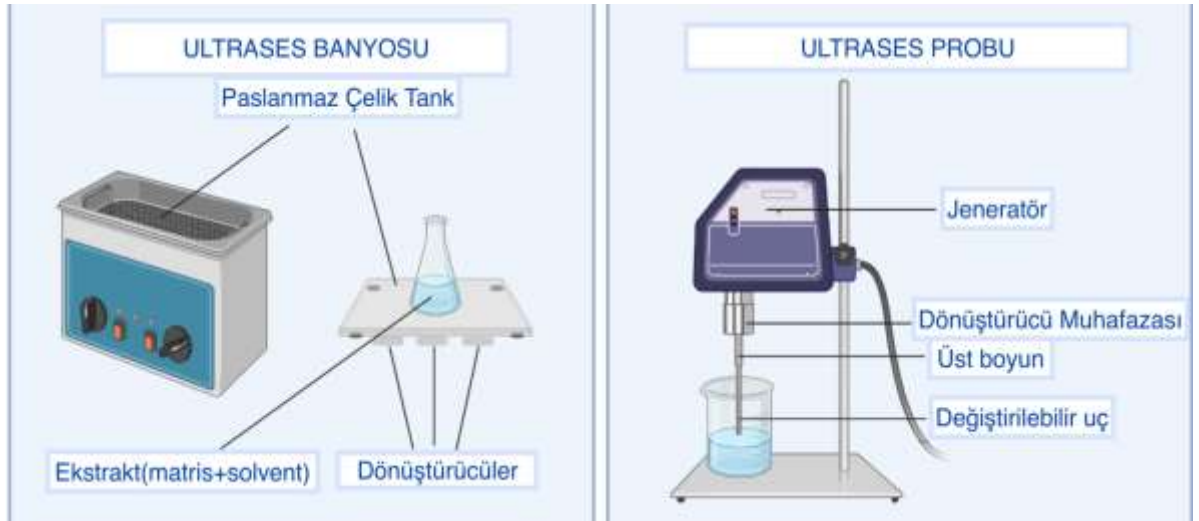
Ultrases, Isaac Newton'un 1687'deki ses dalgaları teorisiyle ilişkilendirilen ve ses çalışmalarına dayanan bir teknolojidir. Ultrases, duyulabilir seslerden farklı frekans aralıklarına sahip, insan işitmesinin üzerinde olan bir enerji kaynağıdır. Ultrasesin ana fiziksel parametreleri güç, frekans ve dalga boyudur. Ultrasonik yoğunluğun hesaplanmasıyla, ultrases uygulamalarının sınıflandırılması mümkündür. Son birkaç yılda, ultrases teknolojisi gıda mühendisliği süreçlerinde önemli bir araç olarak ortaya çıkmıştır. Bu alandaki araştırmalar oldukça aktiftir. Ultrases uygulaması için genellikle iki farklı yaklaşım kullanılmaktadır: ultrasonik titreşimin frekansı ve gücü. Yüksek frekanslı, düşük yoğunluklu ultrases kullanılarak ürünlerin veya süreçlerin kalite izlemesi yapılmaktadır. Güç ultrasesi ise yüksek yoğunluklu ve düşük frekanslıdır, ekstraksiyon

ve işleme uygulamalarında kullanılabilir (Rutkowska ve ark., 2017). Bu uygulamalarda, genellikle ultrases hızının ölçülmesi, sinyalin zayıflaması veya frekans spektrumlarının analizi gibi teknikler kullanılır. Bu yöntemler, proses veya ürün üzerinde herhangi bir etkide bulunmadan kalite izlemesi sağlar. Ultrases teknolojisi, gıda endüstrisinde kalite kontrolü, olgunlaşma süreçlerinin takibi ve bileşim analizi gibi alanlarda değerli bir araç olmuştur (Esclapez ve ark., 2011).

Ultrasesin neden olduğu etkilerin temelinde kavitasyon fenomeni yer almaktadır. Ultrases dalgası bir ortamdan geçerken, ortamın parçacıklarında sıkışma ve azalma hareketleri meydana gelir. Bu basınç değişimleri kavitasyon etkisi ve gaz kabarcıklarının oluşumuna neden olur. Ultrases dalgası sırasında oluşan kabarcıklar, boyutlarını değiştirir ve birkaç döngü boyunca büyüdüktan sonra şiddetli bir şekilde çökerler. Bu kabarcıkların çökmesi sonucunda yüksek basınç ve sıcaklık oluşur. Ultrasesin mekanik ve kavitasyonel etkileri, bileşenlerin ekstraksiyonu için önemlidir. Ultrases mekanik etkileriyle çözücünün matrise girmesini ve parçacıkların boyutunu azaltmasını sağlar. Bu da daha iyi çözücü penetrasyonu ve ekstraktların matristen serbest bırakılmasıyla sonuçlanır (Rutkowska ve ark., 2017).

Son yıllarda, ultrases teknolojisi geleneksel termal yöntemlere alternatif bir işleme seçeneği olarak öne çıkmaktadır. Ultrasonikasyon, ılımlı sıcaklık koşullarında birçok enzimi ve mikroorganizmayı etkisiz hale getirerek gıdaların pastörize edilmesini ve korunmasını sağlayabilir. Bu yöntem, gıdaların stabilitesini ve güvenliğini artırmanın yanı sıra genel gıda kalitesini iyileştirebilir. Ultrases ayrıca gıda kalite güvencesi uygulamalarında da kullanılmaktadır. Gıda maddelerinin neden olduğu saçılma ve zayıflama gibi fiziksel değişikliklerin izlenmesi, gıda ürünlerinin kalitesini kontrol etmek için önemli bir araç olabilir. Ultrases, insanın duyma sınırının ötesinde frekansa sahip ses dalgalarından oluşur ve frekansı ayarlanarak birçok endüstriyel uygulamada kullanılabilir. Bu teknikler, genellikle ucuz, basit ve enerji tasarruflu olduğundan, gıda ürünlerini incelemek ve değiştirmek için yaygın olarak kullanılan bir teknoloji haline gelmiştir. Bu avantajlar, gıda endüstrisinde yeni ve etkili işleme yöntemleri arayan araştırmacılar ve üreticiler için çekici kılmaktadır (Madhu ve ark., 2019).

Ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi uygulamalarında genel olarak ultrason banyosu ve ultrason probu ekipmanları analitik kimya ve gıda analizi alanlarında dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.3). Ultrases banyosu, ekonomik bir sistem olarak uygulama için sıkça tercih edilir ve düşük maliyetli olması ve enerjinin düzgün dağılımını sağlaması gibi avantajlara sahiptir. Ancak, özellikle karmaşık matrislere bağlı bileşenlerin geri kazanılması gibi durumlarda bazı zorluklarla karşılaşabilir. Ultrasonik banyoların genel dezavantajları arasında, ultrases dalgalarının konuma bağlı olarak değişmesi ve bu nedenle matrisin ve çözücünün kabın içindeki konumunun önemli olması bulunmaktadır. Ultrases probu, özellikle son yıllarda büyüyen bir yaklaşım olarak öne çıkar. Bu sistemler, ultrasonik enerjiyi direkt olarak ekstraktın içine ileterek banyolara kıyasla daha verimli olabilir. Ancak, her numune tipindeki analitin matrise farklı şekilde bağlanması nedeniyle ekstraksiyon optimizasyonu her bir bileşik ve matris için ayrı ayrı yapılmalıdır. Ultrases enerjisinin verimliliğini artırmak için ultrasonik prob doğrudan ekstraktın içine daldırılmaktadır. Bu sistemler, genel olarak ultrasonik banyolara göre daha verimli olabilir, ancak bazı durumlarda her iki tekniğin de benzer sonuçlar verdiği belirtilmiştir (Carreira-Casais ve ark., 2021).



Şekil 2. 3. Ultrases destekli ekstraksiyon uygulamalarında kullanılan ultrasonik banyo ve ultrasonik prob ekipmanları (Carreira-Casais ve ark., 2021)

Ultrases destekli ekstraksiyon, fitokimyasalların çözücüye geçişini kolaylaştıran bir yöntemdir. Mikro boyutlu kabarcıkların patlamasıyla oluşan mekanik etki kullanılarak, polifenoller gibi bileşiklerin hızlı ve etkili bir şekilde ekstrakte edilmesi sağlanır. Ultrases

dalgaları, hücre duvarı geçirgenliğini artırarak ve kavitasyon oluşturarak ekstraksiyon işlemini gerçekleştirir. Bu yöntem, geleneksel ekstraksiyon tekniklerine göre daha yüksek verim ve daha az bileşik parçalanması sağlar. Ultrases destekli ekstraksiyonun, farklı kaynaklardan polifenol ekstraksiyonunda etkili olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, bu yöntemle elde edilen ekstraktlarda daha yüksek fitokimyasal verim rapor edilmiştir. Ultrases destekli ekstraksiyon, çözücü hacmini azaltarak ve ekstraksiyon süresini kısaltarak daha düşük maliyetli bir seçenek sunar. Ancak, sonikasyon süresi ve enerji seviyesinin dikkatlice kontrol edilmesi gereklidir, aksi takdirde istenmeyen değişiklikler ve serbest radikal oluşumu gibi yan etkiler ortaya çıkabilir (Alara ve ark., 2021).

Ultrases genellikle katı/sıvı veya sıvı/sıvı ortamlarında kullanılırken, gaz veya katı/gaz sistemlerindeki uygulamalar daha nadirdir. Empedans uyumsuzluğu ve hava emilimi nedeniyle bu sistemlerde ultrases iletimi zorlaşabilir. Ancak, dönüştürücü teknolojisindeki ilerlemeler, güçlendirilmiş ultrases destekli kurutma yöntemlerinin daha iyi anlaşılmasını sağlamaktadır. Ultrasonik sistemler, numuneler arasında temaslı veya temassız olarak, titreşimli elemanlarda, örneğin titreşimli odalarda kullanılmıştır. Bu uygulamalarda güçlendirilmiş ultrases, yüzeydeki nemi buharlaşma hızını artırarak ve arayüzlerde salınım hızlarına neden olarak kütle transferini etkileyebilir. Güçlendirilmiş ultrases teknolojisi, katı/sıvı veya sıvı/sıvı sistemlerinde olduğu kadar, gaz veya katı/gaz sistemlerindeki uygulamaları da geliştirmektedir. Bu ilerleme, özellikle güçlendirilmiş ultrases destekli kurutma yöntemlerinde, kütle transferi ve malzeme davranışı üzerinde etkili olan farklı mekanizmaların anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Ultrases destekli ekstraksiyon, gıda ve ilaç endüstrilerinde son yıllarda etkili bir ekstraksiyon yöntemi olarak popüler hale gelmiştir. Bu yöntem, bitkisel dokulardan, protein, şeker, nişasta gibi bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Ultrases destekli ekstraksiyon, ekstraksiyon verimliliğini artırabilir, sıcaklık ihtiyacını azaltabilir, çözücü kullanımını düşürebilir ve hedeflenen bileşiklerin çözünürlüğünü destekleyebilir. Yerel sıcaklık artışı, analitlerin çözücüdeki çözünürlüğünü artırarak kütle transferini kolaylaştırabilir. Aynı zamanda, basınç artışı çözücünün matrise nüfuz etmesini ve bileşik transferini hızlandırabilir. Ultrases destekli ekstraksiyonun, geleneksel yöntemlere göre daha hızlı ve bazı durumlarda daha verimli olduğu gözlemlenmiştir (Esclapez ve ark., 2011).

Uğurlu ve Bakkalbaşı (2023) tarafından yapılan çalışmada yeşil cevizden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için ultrases destekli ekstraksiyon ile geleneksel ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırılmıştır. Bu amaçla fenolik bileşikler yeşil cevizden geleneksel ekstraksiyon (120, 240, 360 480, 720, 960 ve 1200 dakika) ve ultrases destekli ekstraksiyon (%25, 50, 75 ve 100 genlik; 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dakika) ile ekstrakte edilmiş, ve ekstraktlar toplam fenolik madde ile bazı fenolik asitler (gallik asit, neoklorojenik asit), flavonol (rutin) ve juglon açısından değerlendirilmiştir. Hem ultrases destekli hem de geleneksel ekstraksiyonda ekstraksiyon süresinin artması ile toplam fenolik madde miktarında artış olduğunu belirlenmiştir. Bununla birlikte ultrases destekli ekstraksiyonda ultrases genliğindeki artışa paralel olarak fenolik madde içeriğinin de arttığı ve en yüksek toplam fenolik madde miktarının %100 ultrases genliği kullanımıyla elde edildiği görülmüştür.

Berkani ve ark. (2020) hünnap çekirdeklerinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için ultrases destekli ekstraksiyonun etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında çözelti konsantrasyonu, sonikasyon sıcaklığı, sonikasyon süresi ve çözelti: numune oranının toplam fenolik madde üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Maksimum toplam fenolik madde içeriği (2383.10 mgGAE/100g); %50.16'lık etanol, 29.01°C'lik sonikasyon sıcaklığı, 34.1:1 çözücü:numune oranı ve 15.94 dakikalık sonikasyon süresi ile elde edilmiştir.

Carrera ve ark. (2012) kırmızı üzümlerde toplam fenolik bileşiklerin, yoğunlaştırılmış tanenlerin ve antosiyaninlerin ekstraksiyonu için klasik maserasyona bir alternatif olarak ultrases destekli ekstraksiyonun uygulanabilirliğini incelemişlerdir. Ultrasonik işlem, bir sıcaklık kontrol cihazına bağlı su banyosuna daldırılan sonifier (200 W, 24 kHz) ile uygulanmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığı (0-75°C), ultrases genliği (%20, 50 ve 100), görev döngüsü (0.2, 0.6 ve 1 sn), numune miktarı (0.5-2 g) ve toplam ekstraksiyon süresi (3-15 dakika) değişken parametreler olarak test edilmiştir. Klasik maserasyonda 60 dakikada gerçekleştirilen ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile 6 dakika gibi kısa bir sürede gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonuçları ultrases destekli ekstraksiyonun üzümde bulunan fenolik bileşiklerin kısa sürede kantitatif ve tekrarlanabilir şekilde ekstraksiyonuna olanak sağladığını göstermiştir.

2.4. Cevap Yüzey Yöntemi (Response Surface Methodology)

Cevap yüzey yöntemi, Box ve Wilson tarafından 1951 yılında geliştirilen bir tekniktir. Myers ve Montgomery'ye göre bu yöntem, istatistiksel ve matematiksel tekniklerin birleştirilerek proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için kullanılan bir yöntemdir. Cevap yüzey yöntemi, deneysel stratejileri kullanarak proses değişkenlerinin deneysel uzayını araştırır, sistemin yanıtını belirlemek için empirik modelleme tekniklerini kullanır ve optimizasyon için çeşitli teknikleri içerir. Genellikle üç aşamadan oluşan bu yöntem, eleme denemeleri ile başlar. Bu aşama, daha az sayıda ve daha verimli denemeler yapılmasını sağlar. Ardından, bölge araştırması aşamasında, eleme denemeleri ile belirlenen bağımsız değişkenlerin sistemin yanıtındaki etkilerini belirlemek amaçlanır. Son aşama ise işlem veya ürün optimizasyonunu içerir. Bu aşamada, gerçek yanıt fonksiyonu optimum noktaya yaklaştıkça belirgin bir eğrilik gösterir. Bu eğrilğin tahminlenmesinde genellikle ikinci dereceden polinomial, üssel veya eksponansiyel modeller kullanılır. Cevap yüzey yöntemi, sistem yanıtını optimize etmek için kullanılan etkili bir deneysel tasarım ve analiz aracıdır (Koç ve Kaymak-Ertekin, 2009).

Cevap yüzey yöntemi, bitkilerden fenolik bileşenlerin güncel yöntemler ile ekstraksiyonunun optimize edilmesinde başarılı bir şekilde kullanılmıştır. Bu çalışmalardan bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Hünnap yapraklarından fenolik bileşenlerin ultrases destekli ekstraksiyonu amacıyla cevap yüzey yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen bir çalışmada bağımsız değişkenler olarak solvent konsantrasyonu (metanol/su; %40-100), ultrases yoğunluğu (%20-100) ve ekstraksiyon süresi (3-15 dakika) kullanılarak 15 farklı noktada ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşulları %64.20 metanol, %73.60 ultrason yoğunluğu ve 13.27 dakika şeklinde belirlenmiş ve ekstraktın toplam polifenol içeriği 6098.14 mgGAE/100 g ve antioksidan aktivitesi ise 4010.63 mgAAE/100 g olarak saptanmıştır (Zemouri-Alioui ve ark., 2019).

Qu ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada hünnap meyvesinin ultrases destekli ekstraksiyonun polisakkarit verimi ve antioksidan aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Optimum ultrasonik ekstraksiyon koşulları, Box-Behnken istatistiksel deney tasarımına kullanılarak araştırılmış, polisakkaritlerin verimini ve antioksidan

aktivitesini optimize etmek için üç faktörden (ultrasonik güç, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığı) ve üç seviyeden oluşan yanıt yüzey metodolojisi (RSM) kullanılmıştır. Optimum ekstraksiyon koşulları, en yüksek verim (% 4.47) için 120 W, 15 dakika ve 55°C ve en yüksek hidroksil radikal temizleme aktivitesi (%67.30) için 80 W, 15 dakika ve 40°C olarak belirlenmiştir.

Amulya ve Islam (2023) tarafından yapılan çalışmada, enzim destekli ekstraksiyon ile patlıcan kabuğundan ekstrakte edilen antosiyaninlerin maksimum verim ve kalitede elde edilmesi için enzim konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi ve sıcaklık gibi koşulları cevap yüzey yöntemi kullanarak optimize edilmiş ve optimum nokta olarak 37.32°C sıcaklık, %5'lik selüloz enzim konsantrasyonu ve 1 saatlik ekstraksiyon süresi belirlenmiştir. Bu optimum noktada %71.45 verimle üretilen ekstraktın toplam antosiyanin miktarı 578.665 mg C3G/L, toplam fenolik madde miktarı 2040.87 mg GAE/L, DPPH %79.91 ve FRAP 29.90 mmol AAE/100 g olarak bildirilmiştir.

Altemimi ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada balkabağı ve şeftaliden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu optimize etmek için ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak ekstraksiyon sıcaklığı (30, 40 ve 50°C), ultrasonik güç seviyesi (%30, 50 ve 70) ve ekstraksiyon süresi (10, 20 ve 30 dakika) bağımsız değişkenler olarak ele alınmış ve bu değişkenlerin toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite üzerindeki etkileri incelenmiştir. Optimizasyon sonucunda en uygun koşulların balkabağından toplam fenoliklerin ekstraksiyonu için 41.45°C sıcaklık, %44.60 ultrasonik güç ve 25.67 dakikalık ekstraksiyon süresi; serbest radikal temizleme aktivitesinin (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)) geri kazanılması için ise 40.99°C'lik ekstraksiyon sıcaklığı, %56.01'lik ultrasonik güç ve 25.71 dakikalık süre olduğu belirlenmiştir. Şeftali ekstraktları için en uygun koşullar için ise, toplam fenolikler için 41.53°C ekstraksiyon sıcaklığı, %43.99 güç ve 27.86 dk; serbest radikal temizleme aktivitesi için ise 41.60°C'lik bir ekstraksiyon sıcaklığı, %44.88'lik bir ultrasonik güç ve 27.49 dakikalık süre olduğu saptanmıştır.

Mali ve Kumar (2023) tarafından yapılan çalışmada baklagil endüstrisi yan ürünü olarak açığa çıkan siyah fasulye atıklarının mikrodalga destekli ekstraksiyon ile fonksiyonel özelliklerini belirlemek amaçlanmıştır. Optimizasyon için mikrodalga gücü (100-600 W),

ekstraksiyon süresi (2-6 dakika) ve çözücü:kati oranı (20:1-50:1 mL/g) işlem parametreleri olarak belirlenmiş ve Box-Behnken deneme deseni kullanılarak değişkenlerin toplam antosiyanin, toplam fenolik içerik, toplam flavonoid içerik, DPPH ve ABTS aktivitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Optimum değişkenlerin, 344 W mikrodalga gücü, 6 dakika ekstraksiyon süresi ve 50 mL/g çözücü: kati oranı olarak belirlenen çalışmada optimum noktada üretilen ekstrakt 33.82 mg/g toplam antosiyanin içeriği, 200.37 mg GAE/g toplam fenolik içeriği, 86.02 mg QE/g toplam flavonoid içeriği ile %92.79 DPPH ve %89.36 ABTS aktivitesi göstermiştir. Sonuçlar, mikrodalga destekli ekstraksiyonun siyah fasulye atıklarından biyoaktif bileşenleri ekstrakte etmek için geleneksel ekstraksiyon yönteminden daha iyi olduğunu göstermiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Hünnap meyveleri Manisa ilinin Demirci ilçesindeki meyve bahçelerinden temin edilmiştir.

Hünnap meyveleri çekirdeklerinden ayrıldıktan sonra 50°C'de 12 saat etüvde (Mikrotest MST120, Türkiye) kurutulmuş, kurutulan meyveler bir değirmen yardımıyla (Demsan, Türkiye) öğütüldükten sonra (Şekil 3.1) analizlere kadar +4°C'de bekletilmiştir.



Şekil 3. 1 Toz haline getirilmiş Hünnap meyvesi

3.2. Ekstraksiyon Yöntemleri

Hünnap meyvesi fenolik bileşenlerinin ekstraksiyonu için çözen ve örnek miktarını belirlemek üzere çeşitli ön denemeler yapılmıştır. Bu ön denemelerde geleneksel ekstraksiyon metodu olan katı-sıvı ekstraksiyonu kullanılmıştır. Ekstraksiyon %70'lik etanol ve %70'lik metanol kullanılarak, 1:1, 1:4, 1:8 ve 1:9 katı:sıvı oranları ile 70°C'de 6 saatlik inkübasyon ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Geleneksel Yöntemle Ekstraksiyonu

Hünnap meyvesinden fenolik bileşiklerin geleneksel yöntemle ekstraksiyonu katı-sıvı ekstraksiyon metoduyla gerçekleştirilmiştir.

Toz haline getirilmiş hünnap meyvesinden 10 g tartılmış ve üzerine 90 mL belirlenen konsantrasyonda metanol (1:9, w/v) ilave edilmiştir. Hazırlanan bu karışım etüvde

(Mikrotest MST120, Türkiye) belirlenen koşullar (sıcaklık, süre ve çözgen konsantrasyonu) sağlanarak inkübasyona bırakılmıştır.

Geleneksel ekstraksiyon işlemi sonunda, ekstrakt vakum pompası (DRVAC 400, Tayvan) yardımı ile filtre edilerek elde edilen süzüntü toplama kabına alınmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen süzüntüde bulunan çözgen, rotary evaporatör (IKA RV 3 V, Almanya) de uzaklaştırılmıştır.

3.2.2. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Geleneksel Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Hünnap meyvesinin fenolik bileşiklerinin geleneksel ekstraksiyon koşulları Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda süre, sıcaklık ve çözgen konsantrasyonu bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, cevap olarak ise maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan üretim koşulları esas alınmıştır.

Geleneksel ekstraksiyon için deneysel tasarımda kullanılmış olan parametreler (bağımsız değişkenler) ve bu parametrelerin seviyeleri ön denemeler sonucunda tespit edilmiş olup Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3. 1 Geleneksel ekstraksiyon ile incelenen parametreler ve seviyeleri

Faktörler	Bağımsız Değişkenler	Değişkenler ve Seviyeleri		
		-1	0	+1
x_1	Süre (dakika)	120	780	1440
x_2	Sıcaklık (°C)	40	60	80
x_3	Çözgen konsantrasyonu (%)	40	70	100

3.2.3. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Ultrases Destekli Ekstraksiyonu

Hünnap meyvesi fenolik bileşiklerinin ultrases destekli ekstraksiyonu için 3mm proba sahip laboratuvar ölçekli bir ultrasonik homojenizatör (Nanolinker NL200, Çin) kullanılmıştır.

Toz haline getirilmiş hünnap meyvesinden 4 g örnek tartılmış, üzerine belirlenen konsantrasyonda 36 mL metanol [1:9 (w/v)] ilave edilerek 50 mL'lik santrifüj tüplerine alınmıştır. Santrifüj t  pleri ultrasonik homojenizatör cihazına yerleştirilmiş, belirlenen koşullar sağlanarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir.

Ultrases destekli ekstraksiyon işlemi sonunda, ekstrakt santrifüj tüplerine alınmış ve 4000 rpm'de 5 dk santrifüj (NUVE NF800, Türkiye) edildikten sonra vakum pompası ile filtre edilerek elde edilen s  z  nt   toplama kabına alınmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen s  z  nt  de bulunan   z  gen, rotary evaporatörde uzaklaştırılmıştır.

3.2.4. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Ultrases Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Hünnap meyvesinin fenolik bileşiklerinin ultrases destekli ekstraksiyon koşulları Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda süre, sonikatör gücü, görev döngüsü ve   z  gen konsantrasyonu bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, cevap olarak ise maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan üretim koşulları esas alınmıştır. Ultrases destekli ekstraksiyon için deneysel tasarımda kullanılacak olan parametreler (bağımsız değişkenler) ve bu parametrelerin seviyeleri   n denemeler sonucunda tespit edilmiş olup   izelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. Ultrases destekli ekstraksiyon ile incelenmesi planlanan parametreler ve seviyeleri

Faktörler	Bağımsız Değişkenler	Değişkenler ve Seviyeleri		
		-1	0	+1
x_1	Süre (dakika)	5	12	20
x_2	Görev döngüsü (sn:sn)	10:6	10:8	10:10
x_3	Sonikatör gücü (Watt)	50	125	200
x_4	��z��gen konsantrasyonu (%)	40	70	100

3.2.5. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonu

Hünnap meyvesi fenolik bileşiklerinin mikrodalga destekli ekstraksiyonunda ev tipi bir mikrodalga fırın (Samsung MS23 F300EEW, Malezya) kullanılmıştır. Toz haline getirilmiş hünnap meyvesinden bir cam behere 5 g tartılmış, üzerine 95 mL belirlenen konsantrasyonlarda metanol ilave edilmiş ve belirlenen koşullar sağ lanarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi sonunda, ekstrakt vakum pompası ile filtre edilerek elde edilen s  z  nt   toplama kabına alınmıştır. Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen s  z  nt  de bulunan çözen rotary evaporatörde uzaklaştırılmıştır.

3.2.6. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Hünnap meyvesinin fenolik bileşiklerinin mikrodalga ekstraksiyon koşulları Cevap Yüzey Yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunda süre, mikrodalga gücü ve çözen konsantrasyonu bağımsız değ i  kenler olarak belirlenmiş, cevap olarak ise maksimum toplam fenolik madde i  eriğ ini sağılayan üretim koşulları esas alınmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon için deneysel tasarımda kullanılan parametreler (bağımsız değ i  kenler) ve bu parametrelerin seviyeleri   n denemeler sonucunda tespit edilmiş olup   izelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3. 3.Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile incelenen parametreler ve seviyeleri

Faktörler	Bağımsız Değ�i��kenler	Değ�i��kenler ve Seviyeleri		
		-1	0	+1
x_1	Mikrodalga gücü (W)	300	450	600
x_2	Süre (saniye)	30	105	180
x_3	çözen konsantrasyonu (%)	40	55	70

3.3. Analiz Yöntemleri

Geleneksel ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon ile belirlenen optimum noktalarda üretimler yapılarak, elde edilen ekstraktlarda ekstraksiyon verimi, pH, titrasyon asitliği, toplam fenolik madde, toplam antosiyanin tayini, toplam flavonoid madde, askorbik asit ve antioksidan aktivite tayinleri gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte her bir yöntemle optimum noktalarda elde edilen fenolik ekstraktlarda fenolik ve flavonoid maddelerin kompozisyonları ortaya konulmuştur.

3.3.1. Ekstraksiyon Verimi

Kuru madde kaplarına alınan ekstraktlar etüvde sıcaklık kademeli yükseltilerek önce 80 °C’de sonra 105 °C’de kurutulmuştur. Kurutulmuş Hünnap meyvesinden optimizasyon sonucunda elde edilmiş olan fenolik ekstraktların verimleri hesaplanmıştır.

Verim= Kuru fenolik ekstraktın ağırlığı (g)/Kuru hünnap tozunun ağırlığı (g)×100

3.3.2. pH Değeri

Ekstraktların pH değeri WTW Inolab pH 7110 Set 2 (Almanya) model pH-metre kullanılarak ölçülmüştür (AOAC, 1995).

3.3.3. Titrasyon Asitliği

Ekstraktların titrasyon asitliği potansiyometrik olarak belirlenmiş, belli miktarda örnek pH 8.1'e ulaşıncaya kadar 0.1 N NaOH ile titre edilmiştir. Titrasyonda sarf edilen NaOH miktarı kullanılarak hesaplama yapılmış ve sonuçlar malik asit cinsinden verilmiştir (AOAC, 1995).

3.3.4. Toplam Fenolik Madde

Örneklerin toplam fenolik madde içerikleri Franke ve arkadaşlarının (2004) tanımladığı spektrofotometrik yöntemle uygun şekilde yürütülmüştür.

Örnek hazırlama aşamasında; 1mL örnek üzerine 5mL folin (%10'luk; v/v) ve 15mL NaHCO₃ (%20'lik; w/v) ilave edilerek 100mL'ye tamamlandıktan sonra 2 saat karanlık ortamda bekletilmiş 760nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Standart olarak Gallik asit kullanılmış ve sonuçlar standart grafiği kullanılarak absorbansa karşılık gelen konsantrasyon değerlerinden hesaplanmış (kullanılan kalibrasyon eğrisi Ek 1'de verilmiştir) ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri cinsinden verilmiştir.

3.3.5. Toplam Antosiyanin Tayini

Ekstraktların toplam monomerik antosiyanin miktarları pH-diferansiyel metodu kullanılarak belirlenmiştir (Lee ve ark., 2005).

Her bir ekstrakt için ön denemelerle belirlenmiş olan seyreltme faktörleri esas alınarak, ekstraktların pH-1 ve pH-4.5 tampon çözeltileri ile seyreltilmiş çözeltileri hazırlanmış ve 30 dk bekletildikten sonra UV/VIS spektrofotometre (PG Instruments T80+, İngiltere) ile 520 ve 700 nm'de okunan absorbans değerleri kaydedilmiştir. Ekstraktların toplam monomerik antosiyanin miktarları siyanidin 3-rutinosid cinsinden (MW = 595.2; ϵ = 28 800; ℓ) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Antosiyanin, (mg/L)=[(A_{520 nm} - A_{700nm}) pH 1.0 - (A_{520nm} - A_{700nm}) pH 4.5] (MW) (SF) 1000/(ϵ) ℓ

3.3.6. Toplam Flavonoid Madde

Örneklerin toplam flavonoid miktarları (Almaraz-Abarca ve ark. (2004)'a göre yapılmıştır. 1 mL örnek üzerine 4 mL saf su ve 0.3 mL %5 NaNO₂ ilave edilip karıştırılıp 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra 0.3 mL %10'luk AlCl₃ ve 2 mL 1M NaOH ilave edilerek karıştırıldıktan sonra son hacim 10 mL ye tamamlanacak şekilde saf su ilave edilmiştir. Bekleme süresi olmaksızın oluşan pembe renkli flavonoid-alüminyum kompleksinin absorbansı UV/VIS spektrofotometrede 510 nm'de okunmuştur. Standart olarak etanolde hazırlanmış kuersetin çözeltisi kullanılmış (kullanılan kalibrasyon eğrisi Ek 2'de verilmiştir) ve sonuçlar kuersetin eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

3.3.7. Askorbik Asit

Örneklerin askorbik asit değerleri spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlenmiştir. İlk deney tüpüne 9mL saf su + 1mL örnek, ikinci deney tüpüne 9mL boya çözeltisi (2,6-

dichloroindophenol, Na tuzu) + 1mL örnek konulmuş, 518 nm dalga boyunda su+örnek içeren tüp ile sıfırlama yapıp, boya+örnek içeren tüpün absorbans değeri kaydedilmiştir. Standart eğrinin oluşturulması için %0.1'lik stok askorbik asit çözeltisi (%4'lük okzalik asit çözeltisi içeren) kullanılmış ve standart grafikten (kullanılan kalibrasyon eğrisi Ek 3'de verilmiştir) absorbansa karşılık gelen konsantrasyon değeri seyreltmeler dikkate alınarak hesaplanmıştır (Hışıl, 2004).

3.3.8. Antioksidan Kapasite

Örneklerin antioksidan kapasiteleri TEAC ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiştir.

3.3.8.1. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi (TEAC)

TEAC yöntemi için Re ve ark. (1999) tarafından geliştirilmiş olan spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) (9.7mg) ve potasyum peroksidisülfat çözeltisi ($K_2O_8S_2$) (37.5mg) sırasıyla 2.5 ve 1mL saf suda çözündürülmüştür. Stok çözeltiyi hazırlamak için ABTS çözeltisine 44µL $K_2O_8S_2$ çözeltisinden ilave edilmiştir. ABTS radikal çözeltisi, karışımın oda sıcaklığında 12-16 saat karanlık ortamda bekletilmesi ile oluşturulmuştur. Çalışma çözeltisi; 1mL stok çözeltisinin 88mL etil alkol ile 734 nm'de 0.700-0.800 absorbans değeri verecek şekilde seyreltilmesi ile hazırlanmış ve başlangıç absorbans değeri belirlenmiştir. 3mL çalışma çözeltisi üzerine 300µL örnek ya da standart ilave edilip karıştırıldıktan sonra reaksiyonun gerçekleşmesi için oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 6 dakika bekletilmiş ve 734 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Troloks ($\pm$ -6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) standart olarak kullanılmış ve sonuçlar standart grafiği (kullanılan kalibrasyon eğrisi Ek 4'de verilmiştir) kullanılarak absorbansa karşılık gelen konsantrasyon değerlerinden hesaplanmıştır. Sonuçlar seyreltmeler de hesaplanarak mg TE/mL olarak verilmiştir.

3.3.8.2. Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP)

FRAP yöntemi için Benzie ve Strain (1996)'e göre spektrofotometrik yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 20µL örnek üzerine 2.98mL FRAP 1 çözeltisi [FRAP 1 (3.979 g $C_2H_3NaO_2 \cdot 3H_2O$ tartılarak üzerine 14.5mL asetik asit ilave edilerek litreye saf su ile tamamlanmıştır), FRAP 2 (0.539 g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ tartılarak 100mL'ye saf su ile tamamlanmıştır) ve FRAP 3 (312mg TPTZ ve 0.33mL HCl karıştırılarak ve 100mL'ye

saf su ile tamamlanmıştır) çözeltileri 10:1:1 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır] ilave edilip karıştırılarak 30 dakika karanlık ortamda bekletilmiş ve 593nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Standart olarak Troloks ($\pm$ -6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) kullanılmış (kullanılan kalibrasyon eğrisi Ek 5'de verilmiştir) ve sonuçlar mg TE/mL örnek olarak verilmiştir.

3.3.9. Fenolik ve Flavonoid Bileşenlerin Kompozisyon Analizi

Üç farklı ekstraksiyon yöntemi ile optimum noktalarda elde edilen fenolik ekstraktların fenolik ve flavonoid bileşenlerinin kompozisyonları Tübitak Marmara Araştırma Merkezi'nde LC-MSMS analiz sistemi ile gerçekleştirilmiştir.

3.4. İstatistiksel Analiz

Elde edilen optimizasyon modelleri istatistiksel olarak değerlendirilerek, optimum işlem koşulları belirlenmiştir. Gerekli deneysel veriler "Box-Behnken" deneme planı seçilerek belirlenmiştir. Geleneksel ekstraksiyonun optimizasyonunda 17 deneysel noktadan (merkezde beş tekrarlı) oluşan ve üç değişken ile oluşturulan istatistiksel tasarım; ultrases destekli ekstraksiyonun optimizasyonunda 27 deneysel noktadan (merkezde üç tekrarlı) oluşan ve dört değişken ile oluşturulan istatistiksel tasarım; mikrodalga destekli ekstraksiyonun optimizasyonunda ise 17 deneysel noktadan (merkezde beş tekrarlı) oluşan ve üç değişken ile oluşturulan istatistiksel tasarım kullanılmıştır. Seviyeler, 0 merkez noktası olmak üzere, -1, 0, +1'dir. Her faktörün merkez noktasındaki gerçek seviyesi aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Gerçek seviye} = (\text{yüksek seviye} + \text{düşük seviye}) / 2$$

$$\text{Kodlanmış değer} = \frac{(\text{yüksek seviye} + \text{düşük seviye}) / 2 - \text{Gerçek seviye}}{\text{Gerçek seviye} - \text{düşük seviye}}$$

Elde edilen modelin deneysel verileri karşılayıp karşılamadığı varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Faktörlerin lineer, kuadratik ve interaksiyon etkilerinin yanıtlar üzerindeki istatistiksel önemlilikleri %95 güvenlik seviyesinde Fischer (F testi) uygulanarak bulunmuştur. Her bir etki için hesaplanan F_{tab} ve F_{cal} değerleri karşılaştırılmıştır. Bir model sistemin yanıtı uygun bir yaklaşım olup olmadığına; regresyondan kaynaklanan varyasyonun %95 güven aralığında önemli olması ve uyum eksikliğinden kaynaklanan hatanın ise önemsiz olması koşulu ile karar verilmiştir.

Ekstraktlara ait analiz verilerinin karşılaştırılmasında ise SPSS istatistiksel paket programı (SPSS 22, Inc., Chicago, IL, USA) kullanılarak, veriler Duncan testi ile değerlendirilmiş ve sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Tez çalışmasında Hünnap meyvesi fenolik bileşenlerinin ekstraksiyonu için 70°C sıcaklıkta 6 saatlik inkübasyon süresinde katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 2 farklı çözügen (%70'lik etanol ve %70'lik metanol) ile 4 farklı katı:sıvı oranının (1:1, 1:4, 1:8 ve 1:9) toplam fenolik madde üzerindeki etkisinin belirlenmesi için ön denemeler gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4. 1.Ön denemelerle denenmiş ekstraksiyon koşulları

Ekstraksiyon sıcaklığı, °C	Ekstraksiyon süresi, saat	Katı:sıvı oranı	Çözügen	Toplam Fenolik Madde Miktarı, mgGAE/g
70	6	1:1	%70 metanol	-
70	6	1:1	%70 etanol	-
70	6	1:4	%70 Metanol	0.9941
70	6	1:4	%70 Etanol	0.9981
70	6	1:8	%70 Metanol	2.1360
70	6	1:8	%70 Etanol	1.6042
70	6	1:9	%70 Metanol	2.6529
70	6	1:9	%70 Etanol	1.8507

1:1 katı:sıvı oranı kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda her iki çözücüde örnek çözücü içerisinde çözünmediğinden ekstraksiyon gerçekleştirilememiştir. Her iki çözücüyle gerçekleştirilen ekstraksiyonlar sonucunda katı:sıvı oranındaki çözücü miktarının artması ile toplam fenolik madde miktarının da arttığı saptanmıştır. Metanol ile ekstrakte edilen ekstraktların toplam fenolik içeriğinin, tüm uygulamalarda etanol ile ekstrakte edilen ekstraktların toplam fenolik içeriğinden daha yüksek olduğu bulunmuştur. En düşük toplam fenolik madde içeriği 1:4 katı:sıvı oranında %70 etanol ile 6 saatlik ekstraksiyon sonrasında 0.9941 mgGAE/g olarak; en yüksek toplam fenolik madde içeriği ise 1:9 katı:sıvı oranında %70 metanol ile 6 saatlik ekstraksiyon sonrasında

2.6529 mgGAE/g olarak kaydedilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde ekstraksiyonda kullanılacak çözücünün metanol, katı:sıvı oranının ise 1:9 olmasına karar verilmiştir.

4.1. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Geleneksel Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Hünnap meyvesinin fenolik bileşiklerinin geleneksel ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için süre (120-1440 dakika), sıcaklık (40-80°C) ve çözgen konsantrasyonu (%40-100) bağımsız değişkenler olarak alınmış ve maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan optimum işlem koşulları yanıt yüzey yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Modelin oluşturulmasında Box-Behnken deneme deseni kullanılarak üç bağımsız değişken ile oluşturulan ve merkezde 5 tekrarlı olan 17 farklı deneysel noktada ekstrakt üretimleri yapılarak toplam fenolik madde miktarları hesaplanmıştır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4. 2.Hünnap meyvesi fenolik bileşenlerinin geleneksel ekstraksiyon koşullarına ait Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri

No	Süre (dakika)	Sıcaklık (°C)	Çözgen Konsantrasyonu (%Metanol)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mgGAE/g)
1	120	60	100	0.3634
2	780	40	100	0.7143
3	120	60	40	2.6563
4	780	60	70	1.8171
5	1440	80	70	1.6029
6	780	80	40	3.0128
7	780	60	70	1.5447
8	780	60	70	1.6308
9	780	60	70	1.8107
10	1440	60	40	2.8667
11	780	40	40	1.9715
12	780	60	70	1.8159
13	1440	40	70	1.6166
14	120	40	70	1.5508
15	780	80	100	0.9136
16	1440	60	100	0.8144
17	120	80	70	1.4444

Optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi için yapılan denemelerde en yüksek toplam fenolik madde miktarı ekstraksiyon süresinin 780 dakika, ekstraksiyon sıcaklığının 80°C ve metanol konsantrasyonunun %40 olduğu 6 nolu denemede 3.0128 mgGAE/g olarak; en düşük toplam fenolik madde miktarı ise ekstraksiyon süresinin 120 dakika, ekstraksiyon sıcaklığının 60°C ve metanol konsantrasyonunun %100 olduğu 1 nolu denemede 0.3634 mgGAE/g olarak belirlenmiştir. Çözgen olarak %40 metanol kullanılan tüm denemelerde her koşulda en yüksek toplam fenolik madde miktarları, %100 metanol kullanılan tüm denemelerde ise en düşük toplam fenolik madde miktarları elde edilmiştir.

İşlem değişkenlerinin yanıt üzerine etkisi varyans (ANOVA) analizi yapılarak belirlenmiştir (Çizelge 4.3). Varyans analizi sonuçlarına göre hünnap meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretiminin model tahmini istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Modelin deneysel verileri ne ölçüde karşıladığı R^2 (regresyon katsayısı), $\text{adj-}R^2$ (düzeltilmiş regresyon katsayısı) ve C.V. (varyasyon katsayısı) değerleri hesaplanarak belirlenmiştir. R^2 (0.9160) ve $\text{adj-}R^2$ (0.8966) değerlerinin birbirine yakın olması modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini ifade etmektedir. Adeq Precision (yeterli kesinlik) değerinin en az 4 olması gerekmektedir ve elde edilmiş olan modelde bu değer 19.549 olarak hesaplanmıştır. Lack of fit (modelin matematiksel forma uygunluğu) testi elde edilen modelin matematiksel formunun deneysel veriyi temsil etmek için uygun olup olmadığını belirlemektedir ve geleneksel ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimi modelinde bu değer %95 güven seviyesinde önemsiz bulunmuştur. Ekstraksiyonda kullanılan metanol konsantrasyonunun lineer etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p > 0.05$), ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığının lineer etkileri istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0.05$).

Çizelge 4. 3.Hünnap meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ile üretilen fenolik ekstraktlar için ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare	F değeri	P değeri
Model	7.67	3	2.56	47.26	<0.0001
x_1	0.098	1	0.098	1.81	0.2012
x_2	0.16	1	0.16	2.90	0.1123
x_3	7.41	1	7.41	137.06	<0.0001
Kalıntı	0.70	13	0.054		
Matematiksel					
Forma	0.64	9	0.071	4.33	0.0859
Uygunluk					
Saf Hata	0.065	4	0.016		
Toplam	8.37	16			
R^2	0.9160				
Adj- R^2	0.8966				
Pred- R^2	0.8344				
PRESS	1.39				
CV	14.05				
Yeterli Kesinlik	19.549				

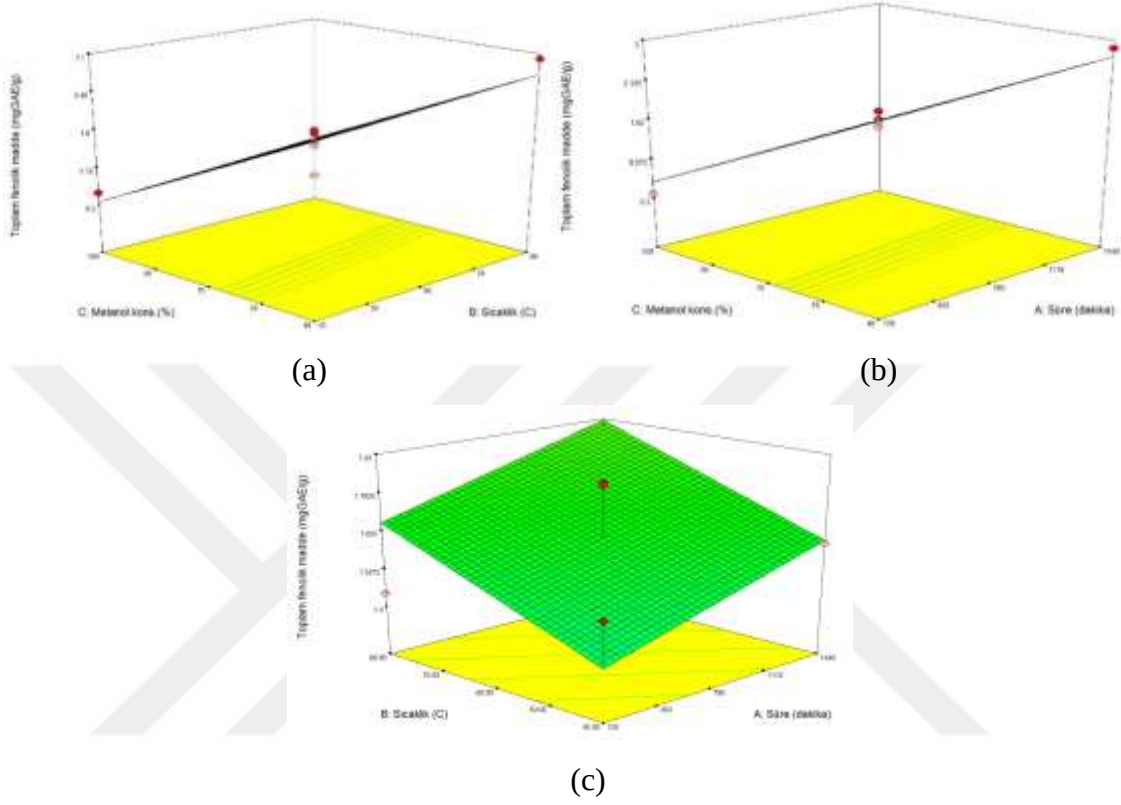
Hünnap meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait değişkenlerin kodlanmış seviyelerini gösteren çoklu regresyon eşitliği eşitlik 4.1'de verilmiştir.

$$\text{Toplam fenolik madde miktarı (mgGAE/g)} = 1.66 + 0.11x_1 + 0.14x_2 - 0.96x_3 \quad (\text{E.4.1})$$

x_1 : Ekstraksiyon süresi (dakika) x_2 : Ekstraksiyon sıcaklığı (°C) x_3 : Metanol konsantrasyonu (%)

Şekil 4.1'de Hünnap meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri gösterilmiştir. Hünnap meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretiminin gerçekleştirildiği optimum noktanın ekstraksiyon süresinin 1410 dakika, ekstraksiyon sıcaklığının 80°C ve metanol konsantrasyonunun ise %40 olduğu belirlenmiştir. Belirlenen optimum

noktadaki tahmini toplam fenolik madde miktarı 2.8640 mgGAE/g iken deneysel toplam fenolik madde miktarı 2.8653 mgGAE/g olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 1 Hünnap meyvesinden geleneksel ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri (a: metanol konsantrasyonu-sıcaklık; b: metanol konsantrasyonu-süre; c: sıcaklık-süre)

Han ve ark. (2015) tarafından yapılan çalışmada hünnap posası ve çekirdeklerinden maksimum toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite (DPPH radikal temizleme aktivitesi) veren geleneksel ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için ekstraksiyon sıcaklığı (30-70°C), ekstraksiyon süresi (2-42 saat) ve etanol konsantrasyonu (%40-100) bağımsız değişkenler olarak ele alınarak üç faktörlü ve beş seviyeli merkezi kompozit tasarım kullanılmıştır. 16 deneysel noktada gerçekleştirilen ekstraksiyonlar sonrasında optimum noktanın hünnap posası için 61.2°C, 38 saat ve %60.5 etanol konsantrasyonu; hünnap çekirdekleri için ise 58°C, 34 saat ve %59.3 etanol konsantrasyonu olduğu belirlenmiştir. Bu optimum noktalarda üretilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları 18 ve 18.3 µg GAE/mg ve antioksidan aktiviteleri ise sırasıyla %42.4 ve %45 olarak saptanmıştır.

Çiftçi ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada hünnap meyvesinden farklı çözücü türleri [etanol, metanol, aseton, su, etanol:su (1:1), metanol:su (1:1) ve aseton:su (1:1)] kullanılarak yapılan geleneksel ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların biyoaktif performansları incelenmiş ve çözücü tipine bağlı olarak biyoaktif parametrelerde meydana gelen değişim analiz edilmiştir. Örnekler 1:20 katı:sıvı oranı kullanılarak oda sıcaklığında (20-25°C) çalkalamalı su banyosunda 1 saat süreyle ekstraksiyona bırakılmıştır. Ekstraksiyon sonunda en düşük toplam fenolik madde miktarı 198.6 mg GAE/kg olarak aseton ile gerçekleştirilen ekstraksiyonda ölçülmüş onu 3766.7 mg GAE/kg ile etanol, 6750.5 mg GAE/kg ile metanol ve 8695.2 mg GAE/kg ile su izlemiştir. Tüm solventlerin sulu karışımları ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları solventlerin tek başlarına kullanılmaları ile edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarından daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Etanol:su karışımı ile elde edilen ekstraktın toplam fenolik madde miktarı 9034 mg GAE/kg olarak bulunurken bu değer metanol:su ve aseton:su örnekleri için sırasıyla 9115.4 ve 9504 mg GAE/kg olarak hesaplanmıştır.

4.2. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Ultrases Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Hünnap meyvesinin fenolik bileşiklerinin ultrases destekli ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için süre (5-20 dakika), görev döngüsü (10:6-10:10sn/sn), sonikatör gücü (50-200Watt) ve metanol konsantrasyonu (%40-100) bağımsız değişkenler olarak alınmış ve maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan optimum işlem koşulları yanıt yüzey yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Modelin oluşturulmasında Box-Behnken deneme deseni kullanılarak dört bağımsız değişken ile oluşturulan ve merkezde 3 tekrarlı olan 27 farklı deneysel noktada ekstrakt üretimleri yapılarak toplam fenolik madde miktarları hesaplanmıştır (Çizelge 4.4).

Optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi için yapılan denemelerde en yüksek toplam fenolik madde miktarı ekstraksiyon süresinin 20 dakika, görev döngüsünün 10:8 (sn:sn), sonikatör gücünün 125 watt ve metanol konsantrasyonunun %40 olduğu 19 nolu denemede 2.2289 mgGAE/g olarak; en düşük toplam fenolik madde miktarı ise

ekstraksiyon süresinin 12.5 dakika, görev döngüsünün 10:8 (sn:sn), sonikatör gücünün 200 watt ve metanol konsantrasyonunun %100 olduğu 22 nolu denemede 0.3523 mgGAE/g olarak belirlenmiştir. Çözgen olarak %100 metanol kullanılan tüm denemelerde her koşulda en düşük toplam fenolik madde miktarları elde edilmiştir.

İşlem değişkenlerinin yanıt üzerine etkisi varyans (ANOVA) analizi yapılarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Varyans analizi sonuçlarına göre hünnap meyvesinden ultrases destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretiminin model tahmini istatistiksel olarak önemli bulunmuştur.

Çizelge 4. 4. Hünnap meyvesi fenolik bileşenlerinin ultrases destekli ekstraksiyon koşullarına ait Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri

No	Ekstraksiyon Süresi (dk)	Görev Döngüsü (sn:sn)	Sonikatör Gücü (Watt)	Çözgen Konsantrasyonu (% Metanol)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mgGAE/g)
1	12.50	10:10	50	70	1.4201
2	12.50	10:8	125	70	1.5378
3	12.50	10:6	125	100	0.4386
4	12.50	10:8	50	100	0.4619
5	20.00	10:8	125	100	0.5313
6	20.00	10:6	125	70	1.6840
7	5.00	10:8	200	70	1.5695
8	12.50	10:6	200	70	1.3928
9	20.00	10:10	125	70	1.5165
10	12.50	10:8	125	70	1.7787
11	5.00	10:8	50	70	1.5048
12	12.50	10:8	50	40	1.6871
13	5.00	10:6	125	70	1.4678
14	12.50	10:6	50	70	1.3074
15	20.00	10:8	50	70	1.4342
16	12.50	10:6	125	40	1.7988
17	5.00	10:8	125	40	1.7846
18	5.00	10:8	125	100	0.7941
19	20.00	10:8	125	40	2.2289
20	12.50	10:10	200	70	1.2398
21	12.50	10:10	125	100	0.4121
22	12.50	10:8	200	100	0.3523
23	12.50	10:10	125	40	1.6644
24	12.50	10:8	200	40	1.7556
25	5.00	10:10	125	70	1.5562
26	20.00	10:8	200	70	1.3732
27	12.50	10:8	125	70	1.4455

Modelin deneysel verileri ne ölçüde karşıladığı R^2 (regresyon katsayısı), $\text{adj-}R^2$ (düzeltilmiş regresyon katsayısı) ve C.V. (varyasyon katsayısı) değerleri hesaplanarak belirlenmiştir. R^2 (0.9828) ve $\text{adj-}R^2$ (0.9628) değerlerinin birbirine yakın olması modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini ifade etmektedir. Adeq Precision (yeterli kesinlik) değerinin en az 4 olması gerekmektedir ve elde edilmiş olan modelde bu değer 25.043 olarak hesaplanmıştır. Lack of fit (modelin matematiksel forma uygunluğu) testi elde edilen modelin matematiksel formunun deneysel veriyi temsil etmek için uygun olup olmadığını belirlemektedir ve fenolik ekstrakt üretimi modelinde bu değer %95 güven seviyesinde önemsiz bulunmuştur. Anova tablosu incelendiğinde ekstraksiyonda kullanılan çözgen konsantrasyonun lineer etkisi, ekstraksiyon süresi-çözgen konsantrasyonun interaksiyon etkisi, görev döngüsü, sonikatör gücü ve çözgen konsantrasyonun ise kuadratik etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Bununla birlikte ekstraksiyon süresi, görev döngüsü ve sonikatör gücünün lineer etkileri, ekstraksiyon süresi-görev döngüsü, ekstraksiyon süresi-sonikatör gücü ve görev döngüsü-sonikatör gücünün interaksiyon etkileri ile ekstraksiyon süresinin kuadratik etkileri önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4. 5. Hünnap meyvesinden ultrases ekstraksiyon ile üretilen fenolik ekstraktlar için ANOVA tablosu

Varyasyon	Kareler	Serbestlik	Ortalama		
Kaynağı	Toplamı	Derecesi	Kare	F değeri	P değeri
Model	6.42	14	0.46	49.07	<0.0001
x_1	6.916E-004	1	6.916E-004	0.074	0.7902
x_2	6.574E-003	1	6.574E-003	0.70	0.4190
x_3	1.459E-003	1	1.459E-003	0.16	0.6998
x_4	5.24	1	5.24	560.47	<0.0001
x_1/x_2	0.016	1	0.016	1.75	0.2104
x_2/x_3	3.950E-003	1	3.950E-003	0.42	0.5279

x_1x_4	0.12	1	0.12	13.37	0.0033
x_2x_3	0.018	1	0.018	1.89	0.1945
x_2x_4	2.911E-003	1	2.911E-003	0.31	0.5871
x_3x_4	7.930E-003	1	7.930E-003	0.85	0.3752
x_1^2	0.034	1	0.034	3.62	0.0814
x_2^2	0.069	1	0.069	7.37	0.0188
x_3^2	0.14	1	0.14	15.28	0.0021
x_4^2	0.70	1	0.70	74.88	<0.0001
Kalıntı	0.11	12	9.348E-003		
Matematiksel					
Forma	0.053	10	5.298E-003		
Uygunluk					
Saf Hata	0.059	2	0.030	0.18	0.9765
Toplam	6.53	26			
R^2	0.9828				
Adj- R^2	0.9628				
Pred- R^2	0.9329				
PRESS	0.44				
CV	7.22				
Yeterli					
Kesinlik	25.043				

Hünnap meyvesinden ultrases destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait değişkenlerin kodlanmış seviyelerini gösteren çoklu regresyon eşitliği eşitlik 4.2’de verilmiştir.

$$\text{Toplam fenolik madde miktarı (mgGAE/g)} = 1.59 + 7.592E-0.03x_1 - 0.023x_2 - 0.011x_3 - 0.66x_4 - 0.064x_1x_2 - 0.031x_1x_3 - 0.18x_1x_4 - 0.066x_2x_3 + 0.027x_2x_4 - 0.045x_3x_4 + 0.080x_1^2 - 0.11x_2^2 - 0.16x_3^2 - 0.36x_4^2$$

(E.4.2)

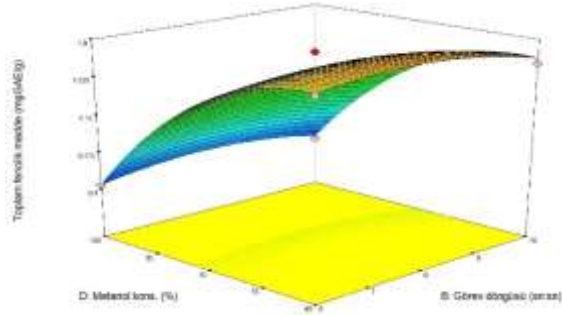
x_1 : Ekstraksiyon süresi (dakika) x_2 : Görev döngüsü (sn/sn) x_3 : Sonikatör gücü (Watt)

x_4 : Metanol konsantrasyonu (%)

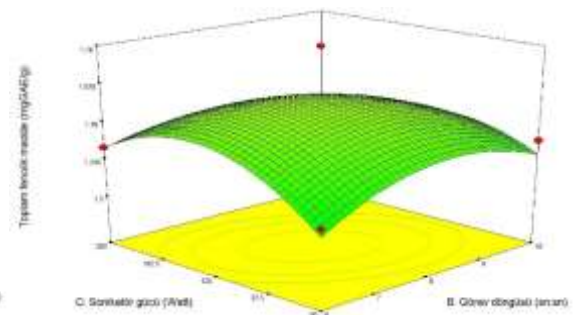
Şekil 4.2’de Hünnap meyvesinden ultrases destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri gösterilmiştir. Hünnap meyvesinden ultrases destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretiminin gerçekleştirildiği optimum noktanın ekstraksiyon süresinin 20 dakika, görev döngüsünün 10:7 sn/sn, sonikatör gücünün 130 Watt ve metanol konsantrasyonunun ise %40 olduğu belirlenmiştir. Belirlenen optimum noktadaki tahmini toplam fenolik madde miktarının 2.1801 mgGAE/g iken deneysel toplam fenolik madde miktarı 2.1729 mgGAE/g olarak hesaplanmıştır.

Berkani ve ark. (2020) hünnap çekirdeklerinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için ultrases destekli ekstraksiyonun etkinliğini yanıt yüzey metodolojisi kullanarak araştırmışlardır. Çalışmada çözelti konsantrasyonu, sonikasyon sıcaklığı, sonikasyon süresi ve çözelti:numune oranı bağımsız değişkenler olarak ele alınmış ve 27 deneysel noktada ekstraksiyonlar yapılmıştır. Ultrases destekli ekstraksiyon için optimum ekstraksiyon koşulları %50.16’lık etanol, 29.01°C’lik sonikasyon sıcaklığı, 34.1:1 çözücü:numune oranı ve 15.94 dakikalık sonikasyon süresi olarak belirlenmiş ve bu noktada toplam fenolik madde içeriği 2383.10 mgGAE/100g olarak saptanmıştır.

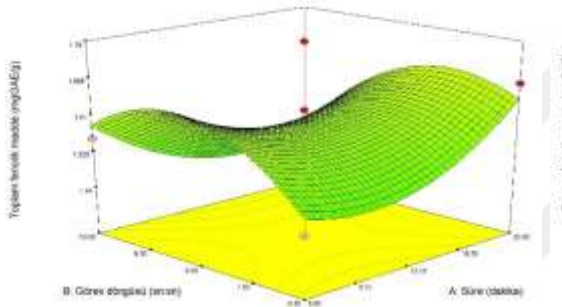
Rajaei ve ark. (2021) hünnap meyvesi posa ve çekirdeğinin toplam fenolik madde miktarları üzerine ultrases destekli ekstraksiyonun etkisini araştırmıştır. Ultrases destekli ekstraksiyon 24 kHz ve 200 W’lık yüksek yoğunluklu ultrases prob sistemi ile 2 mm’lik mikro uç kullanılarak 35°C’de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları hünnap meyve posasında 40.27 GAE mg/g, çekirdeğinde 4.33 GAE mg/g olarak bulunmuştur. Hünnap meyve posasının toplam fenolik madde miktarının hünnap çekirdeğinden daha yüksek olduğu görülmüştür.



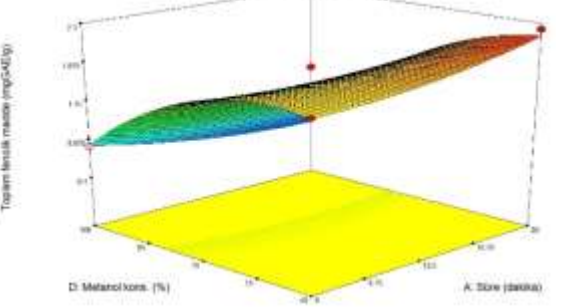
(a)



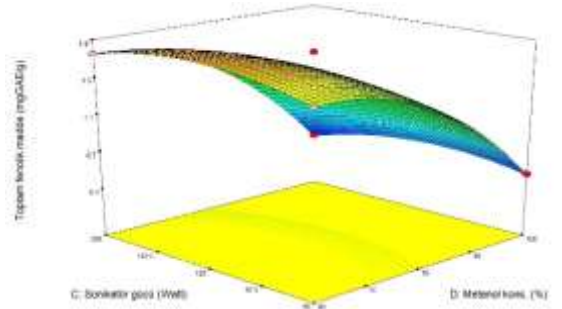
(b)



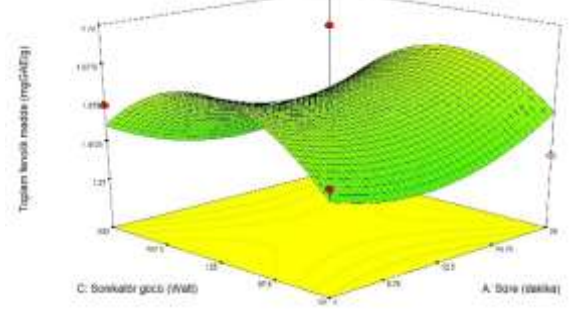
(c)



(d)



(e)



(f)

Şekil 4. 2. Hünnap meyvesinden ultrases destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri (a: metanol konsantrasyonu-görev döngüsü; b: sonikatör gücü-görev döngüsü; c: görev döngüsü-süre; d: metanol konsantrasyonu-süre; e: sonikatör gücü-metanol konsantrasyonu, f: sonikatör gücü-süre)

4.3. Hünnap Meyvesi Fenolik Bileşenlerinin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu

Hünnap meyvesinin fenolik bileşiklerinin mikrodalga destekli ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu için süre (30-180 saniye), mikrodalga gücü (300-600Watt) ve metanol konsantrasyonu (%40-70) bağımsız değişkenler olarak alınmış ve maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan optimum işlem koşulları RSM kullanılarak belirlenmiştir. Modelin oluşturulmasında Box-Behnken deneme deseni kullanılarak üç bağımsız değişken ile oluşturulan ve merkezde 3 tekrarlı olan 17 farklı deneysel noktada ekstrakt üretimleri yapılarak toplam fenolik madde miktarları hesaplanmıştır (  izelge 4.6).

Çizelge 4. 6. Hünnap meyvesi fenolik bileşenlerinin mikrodalga destekli ekstraksiyon koşullarına ait Box-Behnken deneme deseni deneysel yanıt değerleri

No	G��� (Watt)	Ekstraksiyon Süresi (sn)	���zgen Konsantrasyonu (% Metanol)	Toplam Fenolik Madde Miktarı (mgGAE/g)
1	450	105	55	3.1736
2	600	30	55	2.6682
3	600	105	40	2.9926
4	450	105	55	3.1289
5	300	105	70	2.6628
6	300	105	40	3.4608
7	450	180	70	2.6239
8	450	30	70	2.3847
9	450	180	40	3.3657
10	600	105	70	2.6342
11	450	30	40	2.9917
12	300	30	55	2.7727
13	450	105	55	3.1502
14	450	105	55	3.2269
15	300	180	55	3.2390
16	450	105	55	3.1465
17	600	180	55	2.9121

Optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi için yapılan denemelerde en yüksek toplam fenolik madde miktarı mikrodalga gücünün 300W, ekstraksiyon süresinin 105 saniye ve metanol konsantrasyonunun %40 olduğu 6 nolu denemede 3.4608 mgGAE/g olarak; en düşük toplam fenolik madde miktarı ise mikrodalga gücünün 450 W,

ekstraksiyon süresinin 30 saniye ve metanol konsantrasyonunun %70 olduğu 8 nolu denemede 2.3847 mgGAE/g olarak belirlenmiştir.

İşlem değişkenlerinin yanıt üzerine etkisi varyans (ANOVA) analizi yapılarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Varyans analizi sonuçlarına göre hünnap meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretiminin model tahmini istatistiksel olarak önemli bulunmuştur. Modelin deneysel verileri ne ölçüde karşıladığı R^2 (regresyon katsayısı), $\text{adj-}R^2$ (düzeltilmiş regresyon katsayısı) ve C.V. (varyasyon katsayısı) değerleri hesaplanarak belirlenmiştir. R^2 (0.9918) ve $\text{adj-}R^2$ (0.9812) değerlerinin birbirine yakın olması modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini ifade etmektedir. Adeq Precision (yeterli kesinlik) değerinin en az 4 olması gerekmektedir ve elde edilmiş olan modelde bu değer 33.860 olarak hesaplanmıştır. Lack of fit (modelin matematiksel forma uygunluğu) testi elde edilen modelin matematiksel formunun deneysel veriyi temsil etmek için uygun olup olmadığını belirlemektedir ve fenolik ekstrakt üretimi modelinde bu değer %95 güven seviyesinde önemsiz bulunmuştur. Anova tablosu incelendiğinde ekstraksiyonda kullanılan mikrodalga gücü, ekstraksiyon süresi ve çözgen konsantrasyonun lineer etkisi, mikrodalga gücü-ekstraksiyon süresi, mikrodalga gücü-çözgen konsantrasyonunun interaksiyon etkisi, mikrodalga gücü, ekstraksiyon süresi ve çözgen konsantrasyonun ise kuadratik etkileri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Bununla birlikte ekstraksiyon süresi-görev döngüsü ve sonikatör gücünün lineer etkileri, ekstraksiyon süresi-çözgen konsantrasyonunun interaksiyon etkisi önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur.

Hünnap meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait değişkenlerin kodlanmış seviyelerini gösteren çoklu regresyon eşitliği eşitlik 4.3'de verilmiştir.

$$\text{Toplam fenolik madde miktarı (mgGAE/g)} = 1.59 - 0.12x_1 + 0.17x_2 - 0.31x_3 - 0.056x_1x_2 + 0.11x_1x_3 - 0.034x_2x_3 - 0.066x_2x_3 - 0.086x_1^2 - 0.18x_2^2 - 0.14x_3^2$$

(E.4.3)

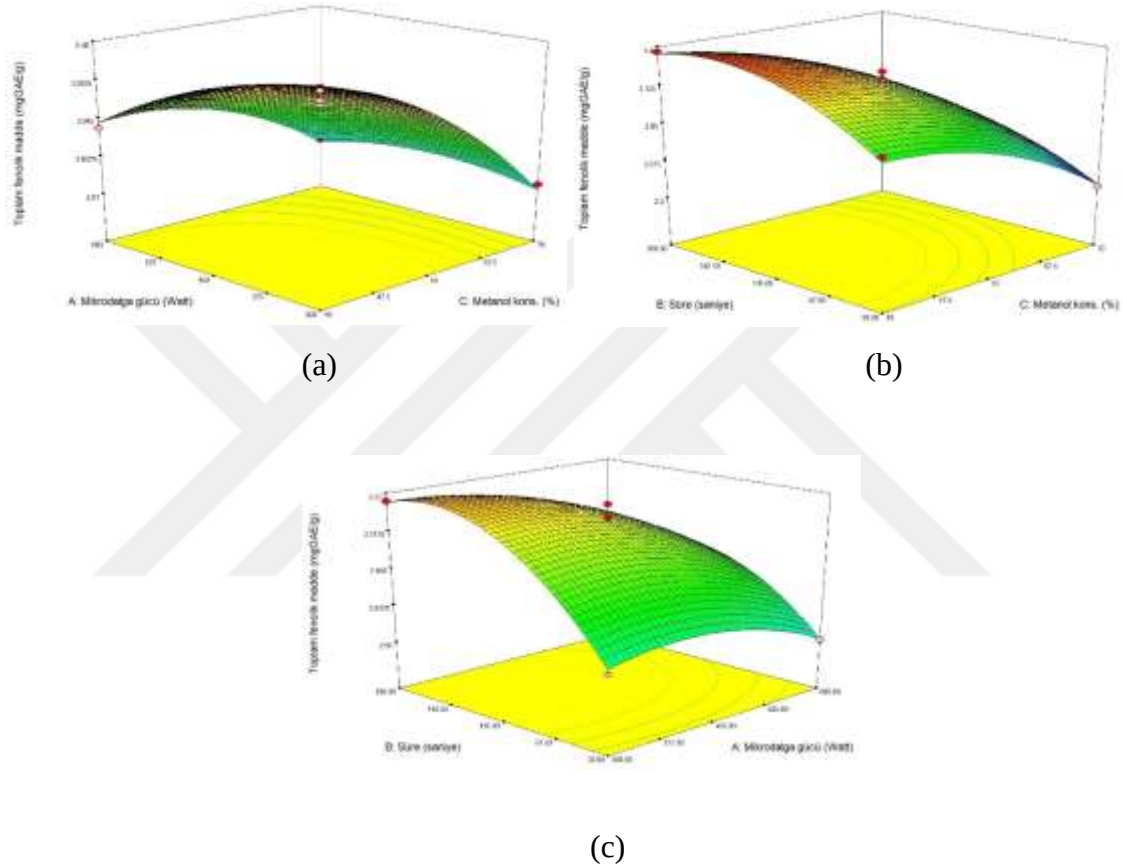
x_1 : Mikrodalga gücü (Watt) x_2 : Ekstraksiyon süresi (saniye) x_3 : Metanol konsantrasyonu (%)

Çizelge 4. 7. Hünnap meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile üretilen fenolik ekstraktlar için ANOVA tablosu

Varyasyon Kaynağı	Kareler Toplamı	Serbestlik Derecesi	Ortalama Kare	F değeri	P değeri
Model	1.46	9	0.16	93.64	<0.0001
x_1	0.11	1	0.11	62.26	<0.0001
x_2	0.22	1	0.22	126.57	<0.0001
x_3	0.78	1	0.78	453.55	<0.0001
x_1x_2	0.012	1	0.012	7.15	0.0318
x_1x_3	0.048	1	0.048	27.93	0.0011
x_2x_3	4.543E-003	1	4.543E-003	2.63	0.1491
x_1^2	0.031	1	0.031	17.82	0.0039
x_2^2	0.14	1	0.14	80.33	<0.0001
x_3^2	0.085	1	0.085	49.13	0.002
Kalıntı	0.012	7	1.730E-003		
Matematiksel Uygunluk					
Forma	6.338E-003	3	2.113E-003	1.46	0.3506
Saf Hata	5.770E-003	4	1.442E-003		
Toplam	1.47	16			
R^2	0.9918				
Adj- R^2	0.9812				
Pred- R^2	0.9249				
PRESS	0.11				
CV	1.40				
Yeterli Kesinlik	33.860				

Şekil 4.3’de Hünnap meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri gösterilmiştir. Hünnap meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt

üretiminin gerçekleştirildiği optimum noktanın mikrodalga gücünün 300 Watt, ekstraksiyon süresinin 127 saniye ve metanol konsantrasyonunun ise %43 olduğu belirlenmiştir. Belirlenen optimum noktadaki tahmini toplam fenolik madde miktarının 3.5035 mg/g iken deneysel toplam fenolik madde miktarı 3.3981 mgGAE/g olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 3. Hünnap meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretimine ait bağımsız değişkenlerin etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri (a: mikrodalga gücü-metanol konsantrasyonu; b: süre-metanol konsantrasyonu; c: süre-mikrodalga gücü

Solvent konsantrasyonu (%20-60), uygulama süresi (90-210sn) ve mikrodalga gücünün (400-600W) toplam fenolik madde üzerindeki etkisi merkezi kompozit tasarım ile belirlenmiştir. Optimizasyon sonucunda optimum parametreler %60'lık etanol ile 210 sn'de, 600 W mikrodalga gücü ile saptanmış ve optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktın toplam fenolik madde içeriğinin 6709.01 GAE mg/100 g olduğu bulunmuştur (Berkani ve ark., 2021).

4.4 Hünnap Meyvesi Fenolik Ekstraktlarının Karakterizasyonu

4.4.1. Ekstraksiyon Verimi

Hünnap meyvesinden geleneksel, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimleri  izelge 4.8’de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen verim %71.32, mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen verim %73.59, ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen verim %48.20 şeklinde hesaplanmış olup en yüksek verim mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmiştir. Geleneksel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0.05$). Geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyon ile ultrases ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri arasındaki fark ise istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 4. 8. Hünnap meyvesinden üretilen ekstraktların ekstraksiyon verimi, pH ve titrasyon asitliği değerleri

Ekstrakt	Ekstraksiyon verimi, %	pH	Titrasyon asitliği, % Malik asit
Geleneksel	71.32±2.50 ^b	5.05±0.02 ^a	0.1153±0.0030 ^b
Mikrodalga	73.59±1.88 ^b	5.27±0.01 ^c	0.0624±0.0027 ^a
Ultrases	48.20±0.85 ^a	5.19±0.01 ^b	0.1143±0.0026 ^b

± Verilere ait standart sapma; **a-b-c** aynı sütunda farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Çalışmamızda elde edilen verim sonuçları literatürdeki farklı ekstraksiyon yöntemleri ile farklı kaynaklardan elde edilen verimlerden yüksek bulunmuştur. Gasparini ve ark. (2023) elma çekirdeklerinden ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile ekstraksiyon verimini incelemiş, zamana bağlı olarak ekstraksiyon veriminin arttığını saptamışlardır. En düşük verim değeri 18 W (%20 genlik) ve 5 dakikada %14.7 iken en yüksek verim 44 W (%50 genlik) ve 30 dakikada %18 olarak bulunmuştur. Liu ve ark. (2022) nar çekirdeği yağı eldesi için mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemlerinin etkinliklerini inceledikleri çalışmalarında farklı   zgenler (n-hekzan ve petrol eter) kullanılarak elde

edilen yağ verimlerini sırasıyla n-hekzan ile %12.47 ve %13.63; petrol eter ile %11.72 ve %12.82 olarak bulmuşlardır. Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraktlarının verimlerinin %15.07 ile %19.67 arasında olduğu Kurt ve ark. (2023) tarafından yapılan çalışmada belirlenmiştir. Tontul ve ark. (2018) ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle çiya tohumundan en yüksek yağ verimi olan %49.45 değerini yaklaşık %75 ultrason gücü, 25 dakikalık işlem süresi ve 55°C sıcaklık parametreleri sonucunda elde etmişlerdir. Wong ve ark. (2019) geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile fındık yağı eldesinin verimini karşılaştırmışlardır. Ultrases destekli ekstraksiyonun optimizasyonunda ultrases genliği (%30, 60 ve 90), ekstraksiyon sıcaklığı (28, 38 ve 48°C) ve ekstraksiyon süresini (30, 60 ve 90 dakika) değişkenler olarak belirlemiş ve maksimum verimi de yanıt olarak seçmiştir. Optimizasyon sonucunda %90 ultrases genliği, 29°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 51 dakikalık ekstraksiyon süresi optimum nokta olarak belirlenmiştir. Çalışmada geleneksel ekstraksiyonla elde edilen yağ verimi %38.93 iken ultrases destekli ekstraksiyon uygulamasıyla elde edilen yağ verimi %79.88 olarak saptanmıştır.

4.4.2. pH Değeri

Hünnap meyvesinden geleneksel, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların pH değerleri çizelge 4.8’de verilmiştir. Örneklere ait pH değerlerinde en düşük pH değeri 5.05 ile geleneksel ekstraksiyonda, en yüksek pH değeri ise 5.27 ile mikrodalga destekli ekstraksiyonda ölçülmüştür. Üç yöntemle elde edilen ekstraktlardaki pH değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Geleneksel ekstraksiyon süresinin mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon sürelerinden daha uzun olması pH değerinde daha fazla düşüşe sebep olmuş olabilir.

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar literatürdeki farklı kaynaklardan üretilen ekstraktların pH değerlerinden yüksek bulunmuştur. Kutlu Kantar (2019) kıvılcık meyvesinden ultrasonik, ohmik ısıtma destekli ultrasonik, mikrodalga ve ohmik ısıtma destekli yöntemler ile ekstrakte ettiği fenolik ekstraktların pH değerlerini sırasıyla 2.95, 3.06, 2.30 ve 3.03 olarak belirlemiştir. Dinçer ve ark. (2020) hibiskus ekstraktlarından 40°C ve 75°C sıcaklıklarda geleneksel termal ve termosonikasyon uygulaması ile

gerçekleştirdikleri ekstraksiyonlar sonucunda ekstraktların pH değerlerinin 2.413-2.420 arasında olduğunu bildirmişlerdir. Demirdöven ve ark. (2021) vişne posasından 40 ve 60°C sıcaklıklarda geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde ettikleri ekstraktlardaki pH değerlerini 2.37-2.44 aralığında saptamışlardır.

4.4.3. Titrasyon Asitliği

Hünnap meyvesinden geleneksel, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların titrasyon asitliği değerleri (% Malik Asit, çizelge 4.8) incelendiğinde en yüksek titrasyon asitliği değeri %0.11 ile geleneksel ekstraksiyonda, en düşük titrasyon asitliği değeri ise %0.06 ile mikrodalga destekli ekstraksiyonda elde edilmiştir. Geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktlardaki titrasyon asitliği değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0.05$).

Demirdöven ve ark. (2021) vişne posasından 2 farklı sıcaklık uygulaması (40 ve 60°C) ile geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde ettikleri ekstraktlardaki titrasyon asitliği değerlerinin %6.06-8.80 aralığında olduğunu bildirmişlerdir. Demirdöven ve ark. (2015) tarafından yapılan bir diğer çalışmada; kırmızı lahana antosiyaninlerinin geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarının toplam titre edilebilir asitlik miktarları geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyon için sırasıyla %2.3 ve %2.12 olarak belirlenmiştir.

4.4.4. Toplam Fenolik Madde

Fenolik maddeler, meyvenin renk, tat, aroma ve lezzetine katkıda bulunmalarının yanı sıra antimikrobiyal ve antioksidan etki göstermeleri nedeniyle önemlidir. Bu bileşikler, meyvenin kalitesini artırarak sağlık açısından da faydalı olabilir (Saldamlı, 1998; Diaz-Mula ve ark., 2012).

Hünnap meyvesinden elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri çizelge 4.9'da verilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği en yüksek değer 3.3455 mg GAE/g ile mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta bulunmuştur. Üç yöntemle elde edilen ekstraktlardaki toplam fenolik madde içerikleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Her 3 yöntemde kullanılan çözügen

konsantrasyonlarının benzer olmasına karşın (GE: %40 metanol; UDE: %40 metanol; MDE: %43 metanol) ekstraksiyon süreleri arasında büyük farklılıklar bulunmaktadır. 127 sn'de gerçekleştirilen mikrodalga destekli ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktın toplam fenolik madde miktarı 3.3455 mg GAE/g iken 20 dk'de gerçekleştirilen ultrases destekli ekstraksiyonda 2.1729 mg GAE/g ve 1410 dk'da gerçekleştirilen geleneksel ekstraksiyonda 2.8653 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. Bu durum mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyona göre fenolik ekstrakt üretiminde daha etkili olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4. 9.Hünnap meyvesinden üretilen ekstraktların toplam antosiyanin, askorbik asit, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde değerleri

Ekstrakt	Toplam antosiyanin, mg siyanidin 3-rutinozid /kg	Askorbik asit, mg/100g	Toplam fenolik madde, mgGAE/g	Toplam flavonoid madde, mg QE/kg
Geleneksel	-	1.1577±0.1093 ^a	2.7552±0.1051 ^b	133.6667±4.4095 ^a
Mikrodalga	-	0.9852±0.2248 ^a	3.3455±0.0843 ^c	758.4444±29.1229 ^b
Ultrases	-	2.2489±0.0589 ^b	1.9416±0.2058 ^a	1671.1111±25.4587 ^c

± Verilere ait standart sapma; **a-b-c** aynı sütunda farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05)

Tez çalışmasında elde edilen toplam fenolik madde sonuçları literatürde yer alan hünnap meyvesi ile yapılan diğer çalışmalar ile karşılaştırıldığında, toplam fenolik madde miktarının daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durumun hünnap meyvesinin yetiştirilme koşulları ve olgunluk durumu ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Berkani ve ark. (2020) hünnap çekirdeklerinden ultrases destekli ekstraksiyon ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunu gerçekleştirdikleri çalışmalarında %50.16'lık etanol, 29.01°C'lik sonikasyon sıcaklığı, 34.1:1 çözücü:numune oranı ve 15.94 dakikalık sonikasyon süresi sonunda toplam fenolik madde içeriğini 2383.10 mgGAE/100g; Rajaei ve ark. (2021) hünnap meyvesi posa ve çekirdeğinden ultrases destekli ekstraksiyon ile 24 kHz ve 200 W'lık yüksek yoğunluklu ultrases prob sistemi ile 2 mm'lik mikro uç kullanılarak 35°C'de

toplam fenolik madde miktarları hünnap meyve posasında 40.27 GAE mg/g, çekirdeğinde ise 4.33 GAE mg/g; Berkani ve ark. (2021) hünnap meyvesi çekirdeklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu mikrodalga destekli ekstraksiyon ile %60'lık etanol ile 210 sn'de, 600 W mikrodalga gücü ile ekstraktın toplam fenolik madde içeriğinin 6709.01 GAE mg/100 g; Han ve ark. (2015) hünnap posası ve çekirdeklerinden geleneksel ekstraksiyon ile fenolik ekstrakt üretiminin optimizasyonu yaptıkları çalışmalarında; hünnap çekirdeklerinden 58  C'de %59.3'l  k etanol kullanarak 34 saatlik ekstraksiyon sonrasında elde ettikleri ekstraktın toplam fenolik madde miktarını 18   g GAE/mg; hünnap posasından 61.2  C'de %60.5 etanol kullanarak 38 saatlik ekstraksiyon sonunda üretilen ekstraktın toplam fenolik madde miktarını ise 18.3   g GAE/mg olarak saptanmışlardır.

Literatürde farklı kaynaklardan farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak üretilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerinin de değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Bayram ve Topuz (2023) tarafından yapılan çalışmada madımak (*Polygonum cognatum Meissn.*) bitkisinin geleneksel ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktın toplam fenolik madde miktarı 46.11 mg GAE/g, Palamutoğlu ve Kasnak (2020) ultrases destekli ekstraksiyon ile elma ekstraktında toplam fenolik madde miktarını 440 mg GAE/100 g, Kutlu ve ark. (2018) likapa (yaban mersini) meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde ettiği ekstraktın toplam fenolik madde içeriğini 156.5 mg GAE/L şeklinde hesaplamışlardır. Rodsamran ve Sothornvit (2019) limon kabuğu atıklarından mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemlerinin etkinliklerini yanıt yüzey metodolojisi ile inceleyerek optimum noktalarda elde ettikleri ekstraktlarda toplam fenolik madde miktarlarını incelemişlerdir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon için %55 etanol konsantrasyonu ile 140W mikrodalga gücünde, 45 saniyede gerçekleşen 8 tekrarlı ekstraksiyon sonunda ekstraktın toplam fenolik madde değeri 53 mg GAE/g; ultrases destekli ekstraksiyon için %55 etanol konsantrasyonu ile %38 genlik ve 4 dakikada gerçekleşen ekstraksiyon sonunda ekstraktın toplam fenolik madde değeri 54 mg GAE/g olarak kaydedilmiştir. Atalay ve İnanç (2020) ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile kırmızı biber tohumlarından elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerini incelemişlerdir. Yöntemde frekans (40 kHz) ve güç (330 W) sabit tutularak solvent hacmi (50, 75 ve 100 mL), ekstraksiyon sıcaklığı (40, 50 ve 60   C) ve s  re (20, 40 ve 60 dakika) parametreleri değişkenler olarak ele alınmıştır. En yüksek toplam

fenolik madde içeriği %50 solvent hacmi, 50 °C sıcaklık ve 60 dakika sürede belirlenmiş ve 363.67 mgGAE/100g olarak bildirilmiştir. Geleneksel ekstraksiyonda bu değer 262 mgGAE/100g olarak belirlenmiş olup ultrases destekli ekstraksiyonun geleneksel ekstraksiyon yöntemine bir alternatif olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

4.4.5. Toplam Antosiyanin Tayini

Hemen her meyvede az ya da çok miktarda bulunan renk maddeleri olan antosiyaninler, suda çözünür nitelikteki doğal renk maddeleridir. Antosiyaninlerin degradasyonu üzerine etkili olan faktörlerden en önemlisi sıcaklıktır. Meyve ve sebzelerin işlenmeleri sırasında uygulanan sıcaklığa bağlı olarak antosiyaninler hızlıca parçalanmakta ve kendilerine özgü çekici renklerini kaybetmektedirler (Cemeroğlu, 2001; Keleş, 2015). Tez çalışmasında her üç yöntemle optimum noktalarda üretilen ekstraktlarda antosiyanin tespit edilememiştir. Bu durumun ekstraksiyonlar sırasında açığa çıkan sıcaklık etkisiyle olabileceği düşünülmektedir.

Mali ve Kumar (2023) siyah fasulye kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile (mikrodalga gücü: 334.4W, solvent:kati oranı: 50:1 mL/g, ekstraksiyon süresi: 6 dakika) elde edilen ekstraktlardaki toplam antosiyanin içeriğini 34.14 mg/g olarak belirlemiş, solvent:kati oranının artmasının ekstraksiyon verimini artırarak daha verimli antosiyanin salınımına yol açtığını bildirmişlerdir. Zorlu (2023) mor soğan kabuklarından geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanarak farklı ekstraksiyon koşullarında (sıvı-kati solvent oranı, etanol konsantrasyonu, sıcaklık, süre) toplam monomerik antosiyanin değerlerini incelenmişler ve belirlenen 3 farklı çözüm noktasında üretilen ekstraktların toplam monomerik antosiyanin değerlerinin 1084.6-1423.8 mg GAE/100 g aralığında olduğunu belirlemişlerdir. Chen ve ark. (2007) geleneksel ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde ettikleri kırmızı ahududu ekstraktlarının antosiyanin içeriklerini geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle 35.1 mg/100g, ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle ise 34.5 mg/100g olduğunu saptamışlardır.

4.4.6. Toplam Flavonoid Madde

Hünnap meyvesinden elde edilen ekstraktlardaki (çizelge 4.9) en yüksek toplam flavonoid madde miktarı ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmiş olup 1671

mgQE/kg olarak bulunmuştur. En düşük toplam flavonoid madde miktarı ise geleneksel yöntemle elde edilen ekstraktlarda 133 mgQE/kg olarak kaydedilmiştir. Ekstraktlardaki toplam flavonoid madde miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Tez çalışmasında elde edilen toplam flavonoid madde miktarı sonuçları literatür ile benzerlik göstermektedir. Çiftçi ve ark. (2020) hünnap (*Z. jujube*) meyvesinin farklı solvent tipleri [etanol, metanol, aseton ve su ile organik solventlerin sulu karışımları (1:1)] ile ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarlarını 872.5-5037.5 mg CE/kg aralığında tespit etmişlerdir. Yılmaz (2019) ise hünnap ağacı yaprakları, olgunlaşmamış hünnap meyvesi ve olgunlaşmış hünnap meyvesinden metanol ve su kullanarak geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde ettikleri ekstraktların toplam flavonoid madde miktarlarını su ile gerçekleştirilen ekstraksiyonda 53.74-932.60 mg CE/L, metanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyonda ise 98.66-1047.00 mg CE/L aralığında bulmuştur. Her iki çözgen ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda en yüksek toplam flavonoid madde miktarları hünnap ağacı yapraklarından elde edilen ekstraktlarda tespit edilmiştir. Bununla birlikte Hünnap meyvesi ile yapılan farklı çalışmalarda tez çalışmasından daha yüksek toplam flavonoid sonuçları da mevcuttur. Berkani ve ark. (2020) hünnap çekirdeklerinden %50.16'lık etanol, 29.01°C'lik sonikasyon sıcaklığı, 34.1:1 çözücü:numune oranı ve 15.94 dakikalık sonikasyon süresi sonunda toplam flavonoid madde miktarını 486.50 mg QE/100g; Rajaei ve ark. (2021) hünnap meyvesi posa ve çekirdeğinden ultrases destekli ekstraksiyon ile elde ettikleri ekstraktların toplam flavonoid madde miktarlarını hünnap meyve posasında 71.53 mg kuersetin/g kuru ağırlık, çekirdeğinde 9.77 mg kuersetin/g kuru ağırlık olarak belirlemişlerdir.

Yolci ve ark. (2022) aspir bitkisi çiçeklerinin geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle ekstraksiyonu sonucunda elde ettiği ekstraktın toplam flavonoid madde miktarını 32.15 mg/100g; Mali ve Kumar (2023) mikrodalga destekli ekstraksiyon ile siyah fasulyenin kabuklarından elde edilen ekstrakttaki toplam flavonoid madde miktarının 86.02 mg QE/g; Yağcıoğlu (2015) ise ada çayından (*Salvia officinalis* L.) geleneksel, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon metotları kullanarak elde ettiği ekstraktların toplam

flavonoid madde miktarlarını geleneksel ekstraksiyonda 3250.90 mg CE/100 g, ultrases destekli ekstraksiyonda 3706.00 mg CE/100 g ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda 5033.00 mg CE/100 g olarak belirlemiştir.

4.4.7. Askorbik Asit

Hünnap meyvesinden geleneksel, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktların askorbik asit değerleri çizelge 4.9’da verilmiştir. Elde edilen ekstraktlardaki en yüksek askorbik asit değeri ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle 2.2489 mg/100g, en düşük askorbik asit değeri ise mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle 0.9852 mg/100 g olarak bulunmuştur. Bununla birlikte geleneksel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktlardaki askorbik asit değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir ($p>0.05$).

Elkhatim ve ark. (2017) tarafından yapılan çalışmada turunçgil (portakal, limon ve greyfurt) atıklarının C vitamini içerikleri araştırılmış, her turunçgil türünün tohumlarını içeren bütün meyve, kabuk ve posadan geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanılarak etanol ekstraktları elde edilmiştir. Greyfurt, portakal ve limon kabuklarının C vitamini içeriği sırasıyla 113.3, 110.4 ve 58.59 mg/100 g olarak bulunmuştur. Greyfurt, portakal ve limonun iç kısmında (posa ve çekirdek) ise C vitamini içerikleri sırasıyla 99.2, 89.8 ve 46.9 mg/g olarak saptanmıştır. Temizsoy (2023) ultrases destekli ekstraksiyon ile içdeden (*Elaeagnus Angustifolia L.*) C vitamini ekstraksiyonunun optimizasyonunu gerçekleştirmiştir. Optimizasyonda ultrases genliği (%60, 80 ve 100), sıcaklık (40, 50 ve 60 °C) ve süre (5, 10 ve 15 dk) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, en yüksek askorbik asit değeri yanıt olarak seçilmiştir. Belirlenen optimum nokta olan 60°C sıcaklık, %60 genlik ve 10 dk ekstraksiyon süresi sonunda ekstraktın askorbik asit değeri 39.79 mg/100g olarak saptanmış, geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktta 12.34 mg/100 g olduğu bildirilmiştir.

4.4.8. Antioksidan Kapasite

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşumunu engelleyerek veya mevcut radikalleri süpürerek hücrenin zarar görmesini engelleyen ve yapısında genellikle fenolik fonksiyon bulunduran moleküllerdir (Kahkönen ve ark., 1999). Bir bitkisel kaynağın antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde örnekteki antioksidan maddelerin moleküler çeşitliliği nedeni ile tek bir yöntem kullanılmamakta ve bu yöntemler arasında da her zaman doğrusal bir ilişki bulunmamaktadır (Ardağ, 2008). Bu nedenle de tez çalışmasında elde edilen fenolik ekstraktların antioksidan kapasiteleri TEAC ve FRAP yöntemleri ile belirlenmiştir.

Hünnap meyvesi ekstraktlarının troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) yöntemiyle bulunan antioksidan kapasite değerleri çizelge 4.10'da verilmiştir. Buna göre en yüksek antioksidan kapasite değeri 3449.29 mgTE/kg olarak mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktlarda bulunmuş olup, en düşük antioksidan kapasite değeri ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle 698.67 mgTE/kg olarak belirlenmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktta ise 3040.44 mgTE/kg olarak kaydedilmiştir. Üç yöntemle elde edilen ekstraktlardaki troloks eşdeğeri antioksidan kapasitesi (TEAC) değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$).

Çizelge 4. 10. Hünnap meyvesinden üretilen ekstraktların antioksidan kapasite (TEAC ve FRAP) değerleri

Ekstrakt	Antioksidan Kapasite	
	TEAC, mgTE/kg	FRAP, mgTE/kg
Geleneksel	3040.44±0.042 ^b	670±10.18 ^c
Mikrodalga	3449.79±133.16 ^c	351.984±25.66 ^b
Ultrases	698.67±93.07 ^a	292.237±14.95 ^a

± Verilere ait standart sapma; **a-b-c** aynı sütunda farklı harflere sahip ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır ($p<0.05$)

Hünnap meyvesi fenolik ekstraktlarının demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP) yöntemiyle belirlenen antioksidan kapasite değerleri (çizelge 4.10) incelendiğinde en yüksek değer (670 mgTE/kg) geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle, en düşük antioksidan kapasite değerinin (292.237 mgTE/kg) ise ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmiş olduğu görülmektedir. Üç yöntemle elde edilen ekstraktlardaki

demir (III) indirgeme antioksidan gücü (FRAP) antioksidan kapasite değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Çiftçi ve ark. (2020) tarafından yapılan çalışmada farklı solvent tipi ile yapılan ekstraksiyon işleminin hünnap (*ziziphus jujube*) meyvesinin antioksidan aktivite değerleri üzerine etkisini DPPH ve ABTS.+ radikali süpürme aktiviteleri açısından incelenmiştir. DPPH ve ABTS.+ radikali süpürme aktiviteleri sırasıyla %1.49-63.7 ve 0.38-13.65 µg Trolox/g aralığında belirlenmiş ve en yüksek değerler aseton:su karışımı ile elde edilen ekstre örneğinde tespit edilmiştir.

Rajaei ve ark. (2021) hünnap meyvesi posa ve çekirdeğinden ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile 24 kHz ve 200 W'lık yüksek yoğunluklu ultrases prob sistemi ile 35°C'de elde ettikleri ekstraktların antioksidan aktivitesini DPPH antioksidan analiz yöntemi ile hünnap meyve posasında ($IC_{50} = 53.97 \mu\text{g/ml}$) çekirdekten ($IC_{50} = 88.68 \mu\text{g/ml}$) daha yüksek bulmuşlardır.

Berkani ve ark. (2021) hünnap meyvesi çekirdeklerinden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile %60'lık etanol kullanarak 210 sn'de, 600 W mikrodalga gücü ile ekstraksiyon gerçekleştirmiş ve elde ettiği ekstraktın antioksidan aktivitesini DPPH yöntemi ile 0.000067 mg/mL, FRAP yöntemi ile 2039.60 mg GAE/100 g olarak belirlemiştir.

Han ve ark. (2015) hünnap posasından 61.2°C'de %60.4'lük etanol kullanarak 38 saatlik ve hünnap çekirdeklerinden 58°C'de %59.3'lük etanol kullanarak 34 saatlik geleneksel ekstraksiyon sonrasında ürettiği ekstraktların antioksidan aktivitelerinin DPPH yöntemi ile sırasıyla 379.3 µg ekstrakt/mL ve 343.24 µg ekstrakt/mL, ABTS yöntemi ile 28.5 µmol trolox/g kuru ağırlık ve 29.6 µmol trolox/g kuru ağırlık olduğunu bildirmişlerdir.

Turan ve ark. (2020) ultrases destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde ettiği kuşburnu ekstraktında TEAC yöntemiyle antioksidan aktivite değerini belirlemiştir. Çalışmada antioksidan aktivite değeri (TEAC) sonikasyon süresinin 3. dakikasında 303.4 µmol/g KM olarak belirlenmiş, ancak 3 dakikadan daha uzun süren sonikasyon işleminin antioksidan aktivitede azalmaya neden olduğu saptanmıştır.

Terpinc ve ark. (2023) yaban çileği (*Fragaria vesca* L.) yapraklarından mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktların TEAC ve FRAP yöntemleri ile antioksidan aktivite değerlerini incelenmişlerdir. 40:1 ml/g solvent-numune oranı, 80 °C sıcaklık ve 10 dakika ekstraksiyon süresi kullanarak ürettikleri ekstraktların antioksidan aktivite değerini TEAC yöntemi ile 683 mmol TE/g, FRAP yöntemi ile 2389 mmolTE/g olarak belirlemişlerdir.

Karakuş ve ark. (2023) mikrodalga destekli ekstraksiyon ile domates kabuğundan elde ettikleri ekstraktta FRAP antioksidan indirgeme gücü antioksidan aktivite değerini 13.95 mmol TE/g olarak belirlemişlerdir.

Verma ve ark. (2018) gooseberry ve guava meyvelerinden farklı konsantrasyon (%50, %70 ve %100) ve farklı çözücülerle (etanol, metanol, aseton ve su) oda sıcaklığında 24 saatlik ekstraksiyon sonunda ekstraktlardaki antioksidan aktivitelerin FRAP yöntemi ile 29.21-96.79 mgGAE/g ve DPPH yöntemi ile %13.64-83.14 aralığında olduğunu saptamışlardır. Her iki yöntem ile de elde edilen maksimum değerler %50 etanol kullanılan ekstraktlarda görülmüştür.

Uysal ve ark. (2017) portakal yapraklarının fenolik madde ve antioksidan aktivitesinin ekstraksiyon koşullarını yanıt yüzey metodolojisi kullanarak geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile yanıt yüzey metodu kullanarak optimize etmişlerdir. Optimum nokta olarak belirlenen %90 metanol konsantrasyonu, 60°C sıcaklık ve 180 dakika ekstraksiyon süresinde elde edilen ekstraktın antioksidan aktivitesi DPPH ile 43.04 mg TE/g, CUPRAC ile 139.34 mg TE/g ve FRAP ile 93.76 mg TE/g olarak belirlenmiştir.

Alberti ve ark. (2014) elmalardan fenolik bileşiklerin geleneksel yöntemle ekstraksiyonu için yanıt yüzey metodunu kullandıkları çalışmalarında bağımsız değişkenler olarak solvent konsantrasyonu [metanol (%70, 85 ve 99,9) ve aseton (%50, 65 ve 80)], sıcaklık (10, 25 ve 40°C) ve süreyi (10, 15 ve 20 dakika) esas alarak bu değişkenlerin toplam fenolik içerik, toplam flavonoid ve antioksidan kapasite (FRAP ve DPPH) üzerine etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada optimum işlem koşulları olarak belirlenen %84.5'luk metanol ile 28 °C'de 15 dakikalık ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktın antioksidan kapasitesi FRAP ile 1863.78 µM/100 g ve DPPH ile 2439.89 mg/100 g, %65'lik aseton ile 10 °C'de 20 dakikalık ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktın

antioksidan kapasitesi ise FRAP ile 1960.13 $\mu\text{M}/100\text{ g}$, DPPH ile 1856.00 mg/100 g olarak saptanmıştır.

4.4.9. Fenolik ve Flavonoid Bileşen

Ekstraktların fenolik ve flavonoid bileşen analizleri LC-MSMS analizi ile gerçekleştirilmiş, sonuçlar Çizelge 4.11’de verilmiştir. Ekstraktlarda 31 farklı bileşenin varlığı araştırılmıştır.

Ekstraktlarda en çok bulunan fenolik bileşikler sırasıyla kateşin (UDE), süksinik asit (UDE), siyanidin klorid (MDE), salisilik asit (GE), rosmarinik asit (GE), rutin (UDE), oksalik asit (MDE), kuersetin dihidrat (GE), kuersetin 3 beta D glikosid (UDE) ve pelargonin klorid (MDE) olmuştur.

Ultrases destekli ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktta 209.682 ppm kateşin tespit edilmiştir. Bu değer mikrodalga destekli ekstraksiyonla elde edilen ekstrakttakinden yaklaşık 15, geleneksel ekstraksiyonla elde edilen ekstrakttakinden yaklaşık 6 kat daha yüksektir.

Ekstraktlarda ikinci en çok bulunan fenolik bileşen olan süksinik asit mikrodalga destekli ekstraksiyonla elde edilen ekstraktta 158.155 ppm, ultrases destekli ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktta 156.179 ppm, geleneksel ekstraksiyonla elde edilen ekstraktta ise 11.353 ppm olarak saptanmıştır.

Ekstraktlarda gallik asit, 4 hidroksibenzoik asit, apigenin, naringenin, tartarik asit, (+)-l-allin, siyanin klorit, sirinjik asit, kamferol, luteolin ve ellajik asit miktarları tespit edilebilir sınırların altında bulunmuştur.

Sinapik asit sadece ultrases destekli ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktta, genistisi asit sadece mikrodalga destekli ekstraksiyonla elde edilen ekstraktta, kafeik asit ise sadece geleneksel ekstraksiyon sonunda elde edilen ekstraktta saptanmıştır.

Çizelge 4. 11.Hünnap meyvesinden üretilen ekstraktların fenolik ve flavonoid bileşik kompozisyonları (ppm)

FENOLİK/FLAVONOİD ADI	Geleneksel	Mikrodalga	Ultrases
Klorojenik asit	0.060	0.023	0.094
Pelargonidin HCL	1.917	0.383	1.176
Kuersetin dihidrat	9.539	2.343	2.729
Gallik asit	<0.05	<0.05	<0.05
Okzalik asit	5.756	15.090	7.240
4 Hidroksibenzoik asit	<0.05	<0.05	<0.05
Apigenin	<0.05	<0.05	<0.05
Kateşin	36.663	13.672	209.682
Siyanidin klorid	16.921	47.446	35.524
Naringenin	<0.05	<0.05	<0.05
Kuersetin 3 Beta D Glikozid	6.099	4.388	6.792
Rosmarinik asit	25.227	9.704	16.824
Rutin	14.412	10.287	16.238
Suksinik asit	11.353	158.155	156.179
Tartarik asit	<0.05	<0.05	<0.05
(+)-l-Allin	<0.05	<0.05	<0.05
Siyanin klorid	<0.05	<0.05	<0.05
M P Kumarik asit 10-12	0.124	0.082	0.114
T-3-OH Sinamik asit	0.124	0.082	0.114
Pelargonin klorid	0.351	1.373	0.550
Sirinjik asit	<0.05	<0.05	<0.05
Kafeik asit	0,057	<0.05	<0.05
Salisilik asit	31.398	7.860	16.453
Sinamik asit	0.401	0.281	0.351
Kamferol	<0.05	<0.05	<0.05
Luteolin	<0.05	<0.05	<0.05
Ferulik asit	0.481	0.451	0.603
Vanilik asit	0.542	0.429	0.032
Sinapik asit	<0.05	<0.05	0.241
Genistisi asit	<0.05	0.091	<0.05
Ellajik asit	<0.05	<0.05	<0.05

Ekstraktların fenolik bileşen dağılımları ve miktarları uygulanan ekstraksiyon yöntemlerine göre farklılık göstermiştir. Bu durumun ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, ultrasesin kavitasyon etkisi ya da mikrodalga gücü etkisiyle oluşan sıcaklığın fenolik bileşiklerin hücre içinden salınımları üzerindeki etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yılmaz (2019) olgunlaşmış ve olgunlaşmamış hünnap meyvelerinden metanol ve su kullanarak geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde ettiği ekstraktların fenolik madde kompozisyonunu incelemiştir. Olgun hünnap meyvesinden hem su hem de metanol ile gerçekleştirdiği ekstraksiyon sonrasında elde ettiği ekstraktlarda farklı miktarlarda gallik asit, 3-4 hidroksi benzoik asit, kateşin, epikateşin, kaftarik asit, kafeik asit, ferulik asit, rutin trihidrat, kamferol 3-glukozid ve kuersetin tespit etmiş, metanol ile elde edilen ekstraktta su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrakttan farklı olarak vanilik asit saptamıştır. Olgunlaşmamış hünnap meyvesinden hem su hem de metanol ile gerçekleştirdiği ekstraksiyon sonrasında elde ettiği ekstraktlarda ise farklı miktarlarda 3-4 hidroksi benzoik asit, kateşin, epikateşin, kaftarik asit, klorojenik asit, kafeik asit, kumarik asit, fenolik asit, rutin trihidrat, kamferol 3-glukozid ve kuersetin tespit etmiş, metanol ile elde edilen ekstraktta su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrakttan farklı olarak gallik asit saptanmıştır.

Ünsal (2022) gilaburu meyvesinin fenolik bileşenlerini mikrodalga destekli ekstraksiyon ile ekstrakte etmiş ve elde ettiği ekstraktın fenolik bileşenlerini yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile saptamıştır. Ekstraktta klorojenik asit, şirincik asit, kateşin, epikateşin, *p*-hidroksi benzoik asit ve gallik asit tespit edilmiş fakat protokateşik asit, kafeik asit, vanilin, *p*-kumarik asit, ferulik ve sinapinik asit bileşenleri tespit edilememiştir.

Alberti ve ark. (2014) fenolik bileşikleri elmadan geleneksel yöntemle metanol ve aseton kullanarak ekstrakte etmiş ve ekstraktların fenolik bileşenlerini HPLC ile tespit etmiştir. Çözgen olarak metanolün kullanıldığı ekstraktta, asetonun kullanıldığı ekstraktta göre daha fazla klorojenik asit ve floridzin; asetonun kullanıldığı ekstraktta, metanolün kullanıldığı ekstraktta göre daha fazla kateşin, epikateşin, prosiyanidin B1, prosiyanidin

B2 ve kuersetin glikozitleri saptanmıştır. Bununla birlikte her iki ekstraktta da gallik asit, kumarik asit, kafeik asit, floretin, kuersetin, kamferol ve mirisetin tespit edilmemiştir.

Kahveci (2022) nar kabuklarından fenolik maddelerin 1:40 katı sıvı oranı, %6 (%v/m) enzim konsantrasyonu ile 60 dakikalık ön işlem uygulaması ve sonrasında etanol ile 30 dakika ekstraksiyonunu gerçekleştirmiş ve ekstraktların fenolik madde profillerini HPLC ile belirlemiştir. Ekstraktlarda baskın olarak punikalajin, gallik asit, ellagik asit ve (-)-apigallokateşin içerdiği tespit edilmiştir.

Lasta ve ark. (2019) pancar yaprak ve saplarından basınçlı sıvı ekstraksiyonu ile elde ettiği ekstrakttaki fenolik bileşenleri LC-ESI-MS/MS ile incelemiştir. Pancar yapraklarından ve saplarından elde edilen ekstraktlarda sırasıyla 33 ve 24 fenolik bileşik belirlenmiş, ferulik asit, vitexin ve sinapaldehitin ekstraktlarda en çok bulunan fenolik bileşikler olduğu bildirilmiştir.

5. SONUÇ

Tez çalışmasında, hünnap meyvesinden GE, UDE ve MDE yöntemleri ile fenolik bile  şikler ekstrakte edilmiş, kullanılan ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırılmış ve elde edilen fenolik ekstraktların bazı biyoaktif özellikleri belirlenmiştir.

GE koşullarının optimizasyonunda süre (120-1440dakika), sıcaklık (40-80  C) ve   z  gen konsantrasyonu (%40-100) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, cevap olarak ise maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan ekstraksiyon koşulları esas alınmıştır. GE için optimum ekstraksiyon koşulları olarak ekstraksiyon süresinin 1410 dakika, ekstraksiyon sıcaklığının 80  C ve metanol konsantrasyonunun %40 olduğu belirlenmiş ve bu noktada toplam fenolik madde miktarı 2.7552 mgGAE/g olarak kaydedilmiştir.

UDE koşullarının optimizasyonunda süre (5-20dakika), sonikatör gücü (50-200Watt), görev döngüsü (10:6-10:10 sn:sn) ve   z  gen konsantrasyonu (40-100) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, cevap olarak ise maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan ekstraksiyon koşulları esas alınmıştır. UDE için optimum ekstraksiyon koşulları olarak ekstraksiyon süresinin 20 dakika, görev döngüsünün 10:7 sn:sn, sonikatör gücünün 130 Watt ve metanol konsantrasyonunun %40 olduğu belirlenmiş ve bu noktada toplam fenolik madde miktarı 1.9416 mgGAE/g olarak kaydedilmiştir.

MDE koşullarının optimizasyonunda süre (30-180saniye), mikrodalga gücü (300-600Watt) ve   z  gen konsantrasyonu (%40-70) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiş, cevap olarak ise maksimum toplam fenolik madde içeriğini sağlayan ekstraksiyon koşulları esas alınmıştır. MDE için optimum ekstraksiyon koşulları olarak mikrodalga gücünün 300 Watt, ekstraksiyon süresinin 127 saniye ve metanol konsantrasyonunun ise %43 olduğu belirlenmiş ve bu noktada toplam fenolik madde miktarı 3.3455 mgGAE/g olarak kaydedilmiştir.

GE, UDE ve MDE ile optimum noktalarda üretilen ekstraktların ekstraksiyon verimi, pH, toplam titre edilebilir asitlik, toplam fenolik madde, toplam antosiyanin, toplam flavonoid

madde, askorbik asit, antioksidan kapasite (TEAC ve FRAP) ve fenolik ve flavonoid bileşenlerinin kompozisyonları belirlenmiştir.

Optimum noktalarda üretilen ekstraktların pH değerleri 5.05-5.27; titrasyon asitliği değerleri %0.0624-0.1153; askorbik asit değerleri 0.9852-2.2488 mg/100g; toplam fenolik madde miktarları 1.9416-3.3455 mgGAE/g; toplam flavonoid madde miktarları 133.67-1671.11 mg/kg; troloks eşdeğeri antioksidan kapasite değerleri 698.67-3449.79 mgTE/kg ve demir (III) indirgeme antioksidan gücü 292.237-670 mgTE/kg aralığında tespit edilmiş, ekstraktların hiçbirinde antosiyanine rastlanmamıştır.

Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen ekstraktların biyoaktif özellikleri incelendiğinde MDE en yüksek toplam fenolik madde ve en yüksek troloks eşdeğeri antioksidan kapasite; UDE en yüksek toplam flavonoid madde ve en yüksek askorbik asit değeri; GE ise en yüksek demir (III) indirgeme antioksidan gücü göstermiştir.

LC-MSMS analiz sonuçlarına göre ekstraktlarda en çok bulunan fenolik bileşikler sırasıyla kateşin (UDE), süksinik asit (UDE), siyanidin klorid (MDE), salisilik asit (GE), rosmarinik asit (GE), rutin (UDE), oksalik asit (MDE), kuersetin dihidrat (GE), kuersetin 3 beta D glikosid (UDE) ve pelargonin klorid (MDE) olmuştur. Ekstraktlarda gallik asit, 4 hidroksibenzoik asit, apigenin, tartarik asit, tartaric acid, (+)-l-allin, siyanin klorit, sirinjik asit, kamferol, luteolin ve ellajik asit miktarları tespit edilebilir sınırların altında bulunmuştur.

Yapılan tez çalışması güncel ekstraksiyon yöntemleri arasında değerlendirilen mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemlerinin geleneksel ekstraksiyona göre üstünlüklerini ortaya koymuştur. Güncel yöntemlerin hünnap meyvesinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda iyi birer alternatif yöntem olarak kullanılabileceği saptanmıştır.

6. KAYNAKLAR

- Afoakwah, N. A., Zhao, Y., Tchabo, W., Dong, Y., Owusu, J., & Mahunu, G. K. (2023). Studies on The Extraction of Jerusalem Artichoke Tuber Phenolics Using Microwave-Assisted Extraction Optimized Conditions. *Food Chemistry Advances*, 3, 100507.
- Akyüz, A., & Ersus, S. (2021). Optimization of Enzyme Assisted Extraction of Protein from The Sugar Beet (*Beta Vulgaris* L.) Leaves for Alternative Plant Protein Concentrate Production. *Food Chemistry*, 335, 127673.
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of Phenolic Compounds: A Review. *Current Research In Food Science*, 4, 200-214.
- Alberti, A., Zielinski, A. A. F., Zardo, D. M., Demiate, I. M., Nogueira, A., & Mafra, L. I. (2014). Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. *Food chemistry*, 149, 151-158.
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A., Oliveira, M. B. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. (2021). Phenolic Compounds: Current Industrial Applications, Limitations and Future Challenges. *Food & Function*, 12(1), 14-29.
- Altemimi, A., Watson, D. G., Choudhary, R., Dasari, M. R., & Lightfoot, D. A. (2016). Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Peaches and Pumpkins. *Plos One*, 11(2), E0148758.
- Amulya, P. R., & Ul Islam, R. (2023). Optimization of Enzyme-Assisted Extraction of Anthocyanins from Eggplant (*Solanum Melongena* L.) Peel. *Food Chemistry: X*, 18, 100643.
- Anonim, 2019. 2.D. Ekstraksiyon (Özütleme) (Sıvı-Sıvı ve Katı-Sıvı) <https://Avys.Omu.Edu.Tr/Storage/App/Public/Hgenccelep/135872/Ekstraksiyon.Docx>, 12.12.2023
- AOAC. (1995). Official Methods of Analysis of AOAC International, 16th Ed.
- Araujo, R. G., Rodríguez-Jasso, R. M., Ruíz, H. A., Govea-Salas, M., Pintado, M., & Aguilar, C. N. (2021). Recovery of Bioactive Components from Avocado Peels Using Microwave-Assisted Extraction. *Food and Bioproducts Processing*, 127, 152-161.
- Ardağ, A. (2008). Antioksidan kapasite tayin yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, yüksek lisans tezi.
- Atak, E., & Uslu, M. E. (2018). Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon Metotları ve Analiz Yöntemleri. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, 3(27), 39-48.
- Atalay, A. B., & Inanc, A. L. (2020). Optimization Of Ultrasound-Assisted Phenolic Extraction From Red Pepper Seed By Response Surface Methodology. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(1), 132-140.
- Aydin, S., & Üstün, F. (2007). Tanenler 1 Kimyasal Yapıları, Farmakolojik Etkileri, Analiz Yöntemleri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 33(1), 21-31.
- Bakanlığı, T. M. E., & Teknolojisi, G. (2013). Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri. Erişim Adresi: https://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Fenolik%20Bileşikler%20Ve%20Doğal%20Renk%20Maddeleri.pdf

- Ballard, T. S., Mallikarjunan, P., Zhou, K., & O'keefe, S. (2010). Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Antioxidant Compounds from Peanut Skins. *Food Chemistry*, 120(4), 1185-1192.
- Baltacıoğlu, H., Şahin, E. M., & Karadağ, E. D. (2019). Şeftali Posasından Ultrason ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Yöntemleriyle Fenolik Bileşiklerin Eldesi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 8(2), 875-881.
- Baysal, T., & İçier, F. (2012). Gıda Mühendisliğinde Isıl Olmayan Teknolojiler. Nobel Kitap Yayın No: 428, Ankara.
- Benzie, I. F. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (Frap) as a Measure of "Antioxidant Power": The Frap Assay, *Analytical Biochemistry*, 239: 70-6.
- Berkani, F., Dahmoune, F., Serralheiro, M. L., Ressaissi, A., Dairi, S., Kadri, N., ... & Madani, K. (2021). New Bioactive Constituents Characterized by Lc–Ms/Ms in Optimized Microwave Extract of Jujube Seeds (*Zizyphus Lotus L.*). *Journal of Food Measurement And Characterization*, 15(4), 3216-3233.
- Berkani, F., Serralheiro, M. L., Dahmoune, F., Ressaissi, A., Kadri, N., & Remini, H. (2020). Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds From a Jujube By-Product With Valuable Bioactivities. *Processes*, 8(11), 1441.
- Boulila, A., Hassen, I., Haouari, L., Mejri, F., Amor, I. B., Casabianca, H., & Hosni, K. (2015). Enzyme-Assisted Extraction of Bioactive Compounds From Bay Leaves (*Laurus Nobilis L.*). *Industrial Crops And Products*, 74, 485-493.
- Carreira-Casais, A., Otero, P., Garcia-Perez, P., Garcia-Oliveira, P., Pereira, A. G., Carpena, M., ... & Prieto, M. A. (2021). Benefits And Drawbacks of Ultrasound-Assisted Extraction for The Recovery of Bioactive Compounds From Marine Algae. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 18(17), 9153.
- Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2012). Ultrasound Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732, 100-104.
- Cemeroğlu, B., Yemenicioğlu, A., Özkan, M. (2001), Fenolik Bileşikler. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi, Meyve ve Sebzelerin Soğukta İşlenmesi Ve Depolanmaları*, Editör:Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları. Ankara, S.77-88.
- Ceyhan, T. (2022). Üzüm Cibesinden Fenolik Bileşenlerin Enzim-Destekli Ekstraksiyonunun Optimizasyonu (Master's Thesis, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Chen, F., Sun Y., Zhao G., Liao X., Hu X., Wu J., Wang Z. (2007) Optimization of ultrasound- assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochem*, 14(6): 767-78.
- Cong-Cong, X. U., Bing, W. A. N. G., Yi-Qiong, P. U., Jian-Sheng, T. A. O., & Zhang, T. (2017). Advances in Extraction and Analysis of Phenolic Compounds from Plant Materials. *Chinese Journal Of Natural Medicines*, 15(10), 721-731.
- Çiftçi, B., Karaman, K., & Kaplan, M. (2020). Farklı Solvent Tipi ile Yapılan Ekstraksiyon İşleminin Hünnap (*Zizyphus Jujube*) Meyvesinin Biyoaktif Özellikleri Üzerine Etkisi. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(1), 256-268.
- Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini, H., Cherbal, A., & Madani, K. (2014). *Pistacia Lentiscus* Leaves as a Source of Phenolic Compounds: Microwave-

- Assisted Extraction Optimized and Compared with Ultrasound-Assisted and Conventional Solvent Extraction. *Ind. Crop. Prod.* 61, 31–40.
- Demirdöven, A., Özdoğan, K., & Erdoğan-Tokatlı, K. (2015). Extraction of anthocyanins from red cabbage by ultrasonic and conventional methods: optimization and evaluation. *Journal of Food Biochemistry*, 39(5), 491-500.
- Demirdöven, A., Tokatlı, K., & Korkmaz, Y. (2021). Geleneksel ve Ultrasonik Yöntemlerle Vişne Posası Antosiyaninlerinin Ekstraksiyonu. *Gıda*, 46(1), 168-179.
- Díaz-Mula, H. M., Serrano, M., Valero, D. (2012). Alginate Coatings Preserve Fruit Quality and Bioactive Compounds During Storage of Sweet Cherry Fruit. *Food Bioprocess Technology*. 5: 2990–2997.
- Dinçer, C., Tongur, T., & Erkeymaz, T. (2020). Farklı Ekstraksiyon Yöntemlerinin Hibiskus Ekstraktlarının Kalite Özellikleri Üzerine Etkisinin Araştırılması. *Gıda*, 45(3), 409-420.
- Ergezer, H., & Çam, M. (2008). Tanenler: Sınıflandırma, Yapıları ve Sağlık Üzerine Etkileri. *Türkiye*, 10, 229-232.
- Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A., & Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. *Food Engineering Reviews*, 3, 108-120.
- Eskilsson, C. S., & Björklund, E. (2000). Analytical-Scale Microwave-Assisted Extraction. *Journal of Chromatography A*, 902(1), 227-250.
- Ferrentino, G., Giampiccolo, S., Morozova, K., Haman, N., Spilimbergo, S., & Scampicchio, M. (2020). Supercritical Fluid Extraction of Oils From Apple Seeds: Process Optimization, Chemical Characterization and Comparison with a Conventional Solvent Extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 64, 102428.
- Franke, S.I.R., Chless, K., Silveria, J.D., & Robensam, G. (2004). Study of a Antioxidant and Mutagenic Activity of Different Orange Juices, *Food Chemistry*. 88: 45–55.
- Gallo, M., Ferracane, R., Graziani, G., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2010). Microwave Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Four Different Spices. *Molecules*, 15(9), 6365-6374.
- Gasparini, A., Ferrentino, G., Angeli, L., Morozova, K., Zatelli, D., & Scampicchio, M. (2023). Ultrasound Assisted Extraction Of Oils From Apple Seeds: A Comparative Study With Supercritical Fluid And Conventional Solvent Extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 86, 103370.
- Gómez-García, R., Martínez-Ávila, G. C., & Aguilar, C. N. (2012). Enzyme-Assisted Extraction of Antioxidative Phenolics from Grape (*Vitis Vinifera* L.) Residues. *3 Biotech*, 2, 297-300.
- Han, H. J., Lee, J. S., Park, S. A., Ahn, J. B., & Lee, H. G. (2015). Extraction Optimization and Nanoencapsulation of Jujube Pulp and Seed for Enhancing Antioxidant Activity. *Colloids And Surfaces B: Biointerfaces*, 130, 93-100.
- Hışıl, Y. (2004). Enstrümental Gıda Analizleri-Laboratuar Deneyleri. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları Yayın No:45, Bornova, İzmir
- Hürkan, Y. K. (2019). Hünnap (*Ziziphus Jujuba* Mill.) Meyvesi: Geçmişten Günümüze Tıbbi Önemi. *Journal of The Institute Of Science And Technology*, 9(3), 1271-1281.
- Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A Critical Review of Methods for Characterisation of Polyphenolic Compounds in Fruits and Vegetables. *Food Chemistry*, 126(4), 1821-1835.

- İlbay, Z. (2016). Turunçgil Meyve ve Yapraklarının Farklı Ekstraksiyon Yöntemleriyle Ekstraksiyonu ve Matematik Modellemesi. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı Doktora Tezi.
- İnanç, N., & Tuna, Ş. (2005). Fitoöstrojenler ve Sağlıktaki Etkileri. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2(2), 91-95.
- Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 3954-3962.
- Kaplan, B., & Okcu, Z. (2020). Hünnap Meyvesinden Üretilen Marmelatların Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi. Journal of The Institute of Science and Technology, 10(4), 2649-2658.
- Karakuş, M. Ş., Akalan, M., Başığit, B., Karaaslan, A., & Karaaslan, M. (2023). Domates Kabuğu Fenolikleri: Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu ve Mikroenkapsülasyonu. Journal of the Institute of Science and Technology, 13(3), 1755-1767.
- Karataş, İ., Polat, F., Karataş, R., Dal, T., & Elmastaş, M. (2018). Determination of Antioxidant Activity And Phenolic Compound Content Of Black Carrot Callus Culture. Ecological Life Sciences, 13(2), 87-93.
- Kaur, S., & Ubeyitogullari, A. (2023). Extraction of Phenolic Compounds from Rice Husk Via Ethanol-Water-Modified Supercritical Carbon Dioxide. Heliyon, 9(3).
- Kavas, İ., & Dalkılıç, Z. (2015). Bazı Hünnap Genotiplerinin Morfolojik, Fenolojik ve Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Melezleme Olanaklarının Araştırılması. Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 12(1), 57-72.
- Kazan, A., Koyu, H., Turu, I. C., & Yesil-Celiktas, O. (2014). Supercritical Fluid Extraction of Prunus Persica Leaves and Utilization Possibilities as a Source of Phenolic Compounds. The Journal of Supercritical Fluids, 92, 55-59.
- Keleş, Y. (2015). Antosiyanin pigmentlerin biyokimyası ve analizi. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, (1), 19-25.
- Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds. Molecules, 18(2), 2328-2375.
- Kolaç, T., Gürbüz, P., & Yetiş, G. (2017). Doğal Ürünlerin Fenolik İçeriği ve Antioksidan Özellikleri. İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi, 5(1), 26-42.
- Korkut, S., Hişmioğulları, Ş. E., & Hismioğulları, A. A. (2022). Hünnap (Ziziphus Jujuba) Meyvesinin Biyolojik Etkinliği ve Kimyasal Bileşimi. Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi, 11(Supplement 1), 44-50.
- Kulaksızoğlu, S. (2011). 4-Hidroksiasetofenon İçeren Azinlerin Geçiş Metal Komplekslerinin Sentezi ve Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon Özelliklerinin İncelenmesi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Muğla.
- Kundi, A. H. K., Wazir, F. K., Abdul Ghafoor, A. G., & Wazir, Z. D. K. (1991). Physico-chemical characteristics and organoleptic evaluation of different ber (Zizyphus jujuba Mill.) cultivars. (1991). "Physicochemical Characteristics and Organoleptic Evaluation of Different Ber (Ziziphus Jujuba Mill.) Cultivars", Sarhad Journal Of Agriculture, 5(2), 149-155.
- Kurtulbaş Şahin, E., Bilgin, M., & Şahin, S. (2021). Recovery of Anthocyanins from Sour Cherry (Prunus Cerasus L.) Peels Via Microwave Assisted Extraction: Monitoring

- The Storage Stability. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 51(7), 686-696.
- Lasta, H. F. B., Lentz, L., Rodrigues, L. G. G., Mezzomo, N., Vitali, L., & Ferreira, S. R. S. (2019). Pressurized Liquid Extraction Applied for The Recovery of Phenolic Compounds From Beetroot Waste. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 21, 101353.
- Lee, J. H., Kwon, K. I., & Bae, J. H. (2005). Phytochemical Properties of Bread Dough Added with Jujube Extracts. *Korean Journal of Food Science and Technology*, 37(4), 590-596.
- Letellier, M., & Budzinski, H. (1999). Microwave Assisted Extraction of Organic Compounds. *Analisis*, 27(3), 259-270.
- Liu, N., Ren, G., Faiza, M., Li, D., Cui, J., Zhang, K., ... & Zhao, M. (2022). Comparison Of Conventional And Green Extraction Methods On Oil Yield, Physicochemical Properties, And Lipid Compositions Of Pomegranate Seed Oil. *Journal Of Food Composition And Analysis*, 114, 104747.
- Madhu, B., Srinivas, M. S., Srinivas, G., & Jain, S. K. (2019). Ultrasonic Technology and Its Applications in Quality Control, Processing and Preservation of Food: A Review. *Current Journal of Applied Science And Technology*, 32(5), 1-11.
- Mali, P. S., & Kumar, P. (2023). Optimization of Microwave Assisted Extraction of Bioactive Compounds From Black Bean Waste and Evaluation of its Antioxidant and Antidiabetic Potential In Vitro. *Food Chemistry Advances*, 3, 100543.
- Marianne, L., Lucía, A., Jesús, M., Leonardo, H., Sánchez, M. (2023). Optimization of the green extraction process of antioxidants derived from grape pomace. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 37.
- Şen, N., & Karakış, H. (2018). *Spartium Junceum* L.(Katırtırnağı)'ın Kimyasal Kompozisyonu ve Proantosyanidin Özellikleri. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 44(1), 69-77.,
- Kurt, N., Aydın, E., & Özkan, G. (2023). Hass Avocado Leaves: Optimization of Microwave-Assisted Extraction Parameters, Phenolic Compounds, Antioxidant, And Antidiabetic Activities. *Gıda*, 48(5), 913-923.
- Oğuz A, 2008. Bazı Çerez Gıdaların Antioksidan Kapasiteleri. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*.
- Osorio-Tobón, J. F. (2020). Recent Advances and Comparisons of Conventional and Alternative Extraction Techniques of Phenolic Compounds. *Journal of Food Science And Technology*, 57, 4299-4315.
- Qu, C., Yu, S., Luo, L., Zhao, Y., & Huang, Y. (2013). Optimization of Ultrasonic Extraction of Polysaccharides from *Ziziphus Jujubamill.* by Response Surface Methodology. *Chemistry Central Journal*, 7(1), 1-7.
- Rafiee, Z., Jafari, S. M., Alami, M., & Khomeiri, M. (2011). Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Olive Leaves; A Comparison With Maceration. *J. Anim. Plant Sci*, 21(4), 738-745.
- Rajaei, A., Salarbashi, D., Asrari, N., Fazly Bazzaz, B. S., Aboutorabzade, S. M., & Shaddel, R. (2021). Antioxidant, Antimicrobial, and Cytotoxic Activities of Extracts from The Seed and Pulp of Jujube (*Ziziphus Jujuba*) Grown In Iran. *Food Science & Nutrition*, 9(2), 682-691.

- Rashmi, H. B., & Negi, P. S. (2020). Phenolic Acids from Vegetables: A Review on Processing Stability and Health Benefits. *Food Research International*, 136, 109298.
- Rashwan, A. K., Karim, N., Shishir, M. R. I., Bao, T., Lu, Y., & Chen, W. (2020). Jujube Fruit: A Potential Nutritious Fruit for The Development of Functional Food Products. *Journal Of Functional Foods*, 75, 104205.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved Abts Radical Cation Decolorization Assay, *Free Radical Biology & Medicine*. 26: 1231–7.
- Rodsamran, P., & Sothornvit, R. (2019). Extraction of phenolic compounds from lime peel waste using ultrasonic-assisted and microwave-assisted extractions. *Food bioscience*, 28, 66-73.
- Rohilla, S., & Mahanta, C. L. (2021). Optimization of Extraction Conditions for Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Tamarillo Fruit (*Solanum Betaceum*) Using Response Surface Methodology. *Journal Of Food Measurement And Characterization*, 15(2), 1763-1773.
- Routray, W., & Orsat, V. (2012). Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 409-424.
- Rutkowska, M., Namieśnik, J., & Konieczka, P. (2017). Ultrasound-Assisted Extraction. In *The Application of Green Solvents in Separation Processes* (Pp. 301-324). Elsevier.
- Saldamlı, İ. (1998), Fenolik Bileşikler ve Doğal Renk Maddeleri. *Gıda Kimyası*, Editör: Prof. Dr. İlbilge Saldamlı. Ankara, S. 435-443.
- Selvitopu, M. (2023). Yaban Mersini Tohumu Yağının Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Sivas.
- Setyaningsih, W., Saputro, I. E., Palma, M., & Barroso, C. G. (2015). Optimisation and Validation of The Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Rice Grains. *Food Chemistry*, 169, 141-149.
- Shirzad, H., Niknam, V., Taheri, M., & Ebrahimzadeh, H. (2017). Ultrasound-Assisted Extraction Process of Phenolic Antioxidants from Olive Leaves: A Nutraceutical Study Using Rsm And Lc–Esı–Dad–Ms. *J. Food Sci. Technol.* 54, 2361–2371.
- Sir Elkhatim, K. A., Elagib, R. A., & Hassan, A. B. (2018). Content of phenolic compounds and vitamin C and antioxidant activity in wasted parts of Sudanese citrus fruits. *Food science & nutrition*, 6(5), 1214-1219.
- Söylemezoğlu, G. (2003). Üzümde Fenolik Bileşikler. *Gıda*, 28(3).
- Tanmay Kk, Shweta W, Prerna N, Awasthi Op, Charanjit K. (2011). Nutraceutical Composition of *Zizyphus Mauritiana* Lamk (Indian Ber): Effect of Enzyme-Assisted Processing. *International Journal of Food Sciences And Nutrition*, 62 (3): 276–279.
- Taş, E. N., & Ötleş, S. (2016). Basınçlı Su Ekstraksiyonuyla Elde Edilen Üzüm Çekirdeği Ekstraktının Polifenol ve Organik Asit İçeriğinin Belirlenmesi. *Bahçe*, 45(2), 67-75.
- Temizsoy, B. (2023). Ultrases Destekli Ekstraksiyon Yöntemi Kullanılarak İğdeden (*Elaeagnus Angustifolia* L.) Fenolik Madde ve C Vitamini Ekstraksiyon Koşullarının Optimizasyonu. Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Niğde.

- Terpinc, P., Dobroslavić, E., Garofulić, I. E., Repajić, M., Cegledi, E., Dobrinčić, A., ... & Levaj, B. (2023). Maximizing the Recovery of Phenolic Antioxidants from Wild Strawberry (*Fragaria vesca*) Leaves Using Microwave-Assisted Extraction and Accelerated Solvent Extraction. *Processes*, 11(12), 3378.
- Tontul, S. A., Mutlu, C., Andaç, K. O. Ç., & Erbaş, M. (2018). Çiya Tohumundan Ultrason Destekli Yağ Ekstraksiyonunun Optimizasyonu. *Gıda*, 43(3), 393-402.
- Turan, S., Atalay, D., Solak, R., Özoğul, M., & Demirtaş, M. (2021). Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Parametrelerinin Kuşburnu (*Rosa Canina* L.) Meyvesinin Toplam Fenolik ve Karotenoid Miktarları ile Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkisi. *Gıda*, 46(3), 726-738.
- Türk, 2023. Meyveler, İçecek ve Baharat Bitkileri Üretim Miktarları. Erişim Tarihi: 20.01.2023. <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2023-49535>
- Uğurlu, S., & Bakkalbaşı, E. (2023). Yeşil Cevizlerden Ultrason Destekli Ekstraksiyon Yöntemiyle Fenolik Bileşiklerin Eldesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 28(1), 185-191.
- Uysal, S., Cvetanović, A., Zengin, G., Đurović, S., Zeković, Z., & Aktumsek, A. (2018). Effects of orange leaves extraction conditions on antioxidant and phenolic content: Optimization using response surface methodology. *Analytical Letters*, 51(10), 1505-1519.
- Ünsal, P. (2022). Gilaburu meyvesinden fenolik bileşiklerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunda işlem parametrelerinin optimize edilmesi ve ekstraktların enkapsülasyonu. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- Verma, M., Rai, G. K., & Kaur, D. (2018). Effect of extraction solvents on phenolic content and antioxidant activities of Indian gooseberry and guava. *International Food Research Journal*, 25(2).
- Wong, S. T., Tan, M. C., & Geow, C. H. (2019). Optimization of ultrasound-assisted ethanol extraction of hazelnut oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(10), e14138.
- Yağcıoğlu, P. (2015). Farklı ekstraksiyon metotları ile adaçayı (*Salvia officinalis* L.) bitkisinden antioksidan ekstraksiyonunun optimizasyonu (Doctoral dissertation, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Yaşa, F. (2016). Türkiye’de Yetiştirilen Hünnap Meyvesinin Bileşimi ve Meyvenin Kurutulması Sırasında Bileşiminde Meydana Gelen Değişimler (Master's Thesis), Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Yılmaz, G. (2019). Hünnap (*zizyphus zizyphus*) ağacı yaprak ve meyve ekstraktlarının antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerinin araştırılması (Master's thesis, Namık Kemal Üniversitesi).
- Yiğit, Ü. (2018). Kırmızı Lahana Antosiyaninlerinin Mikrodalga ve Konvansiyonel Yöntemler ile Özütleme.
- Yolci, M. S., Tunçtürk, R., & Tunçtürk, M. (2022). Farklı Ekstraksiyon Çözücüleri ve Hasat Zamanlarının Aspir (*Carthamus Tinctorius* L.) Çiçeklerinin Toplam Fenol ve Flavonoid Miktarları ile Antioksidan Aktivitesi Üzerine Etkileri. *International Journal of Life Sciences And Biotechnology*, 5(1), 97-109.
- Yu, Q., Li, C., Duan, Z., Liu, B., Duan, W., & Shang, F. (2017). Ultrasonic Microwave-Assisted Extraction of Polyphenols, Flavonoids, Triterpenoids, and Vitamin C from *Clinacanthus Nutans*. *Czech J. Food Sci.* 35, 89–94.

- Yuan, C., Liu, B. G., Chen, Y. S., & Chen, Y. Z. (2012). Optimization of Preparation of Jujube Juice by Response Surface Methodology. *Advanced Materials Research*, 455, 981-984.
- Zemouri-Alioui, S., Bachir Bey, M., Kurt, B. Z., Sonmez, F., & Louaileche, H. (2019). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Total Phenolic Contents and Antioxidant Activity Using Response Surface Methodology from Jujube Leaves (*Ziziphus Jujuba*) and Evaluation of Anticholinesterase Inhibitory Activity. *Journal Of Food Measurement And Characterization*, 13, 321-329.
- Zhang, Z. S., Wang, L. J., Li, D., Jiao, S. S., Chen, X. D., & Mao, Z. H. (2008). Ultrasound-Assisted Extraction of Oil From Flaxseed. *Separation and Purification Technology*, 62(1), 192-198.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., & Jianming, W. (1999). The Determination of Flavonoid Contents In Mulberry and Their Scavenging Effects on Superoxide Radicals. *Food Chemistry*, 64: 555-55.
- Zorlu, A. (2023). Mor soğan kabuğu antioksidan ve fenolik bileşiklerinin ultrasound destekli ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu. Bursa Teknik Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Bursa.

7.EKLER

Ek 1: Toplam fenolik madde tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi

Ek 2: Toplam flavonoid madde tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi

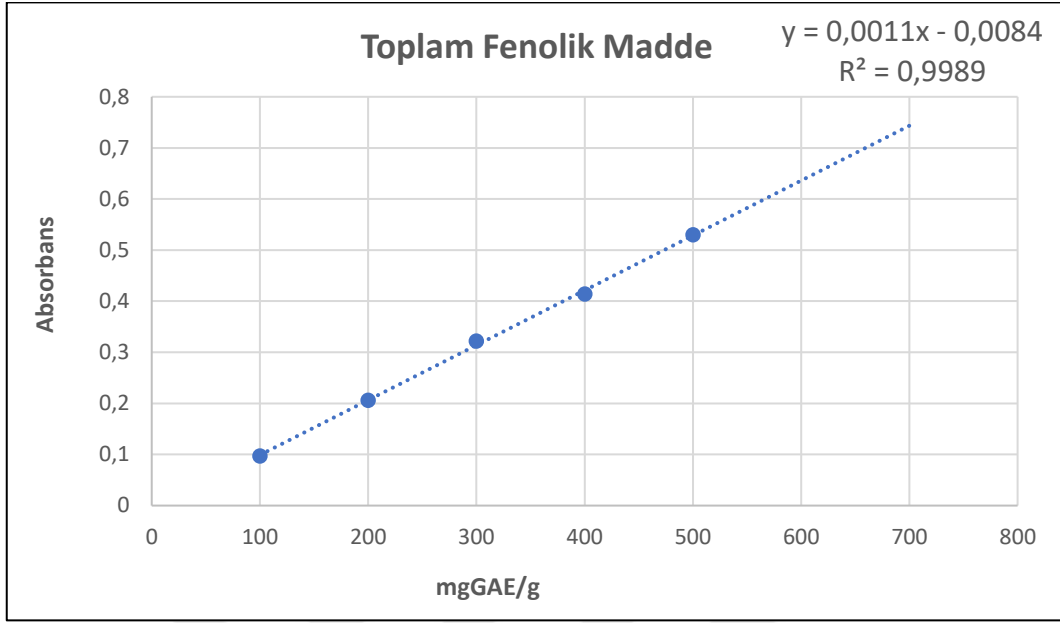
Ek 3: Askorbik asit tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi

Ek 4: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi

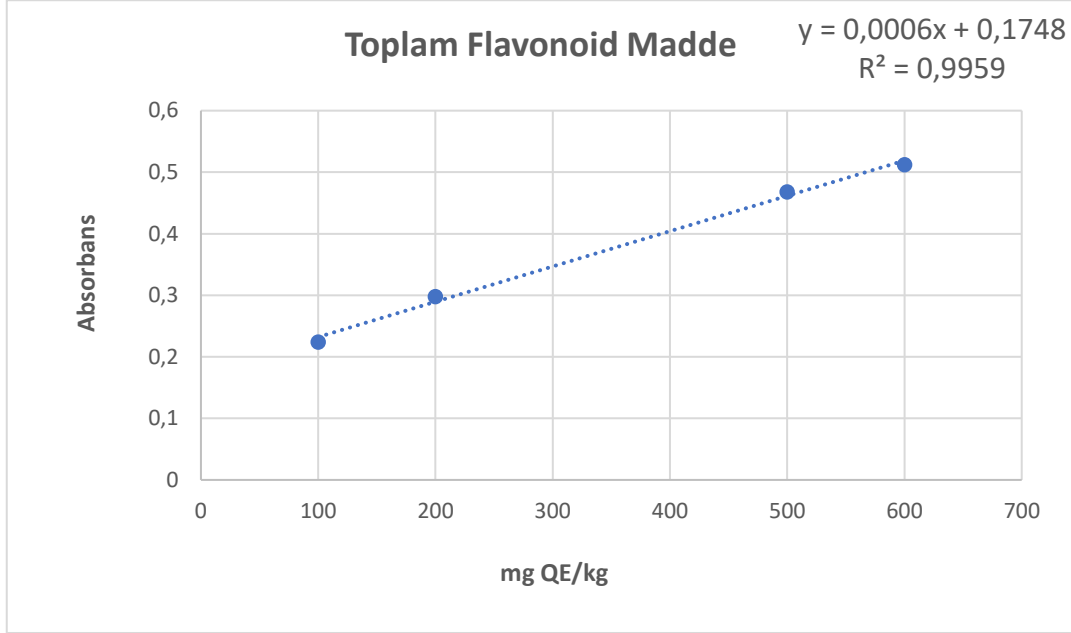
Ek 5: Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) tayinine ait kalibrasyon eğrisi

Ek 6: Özgeçmiş

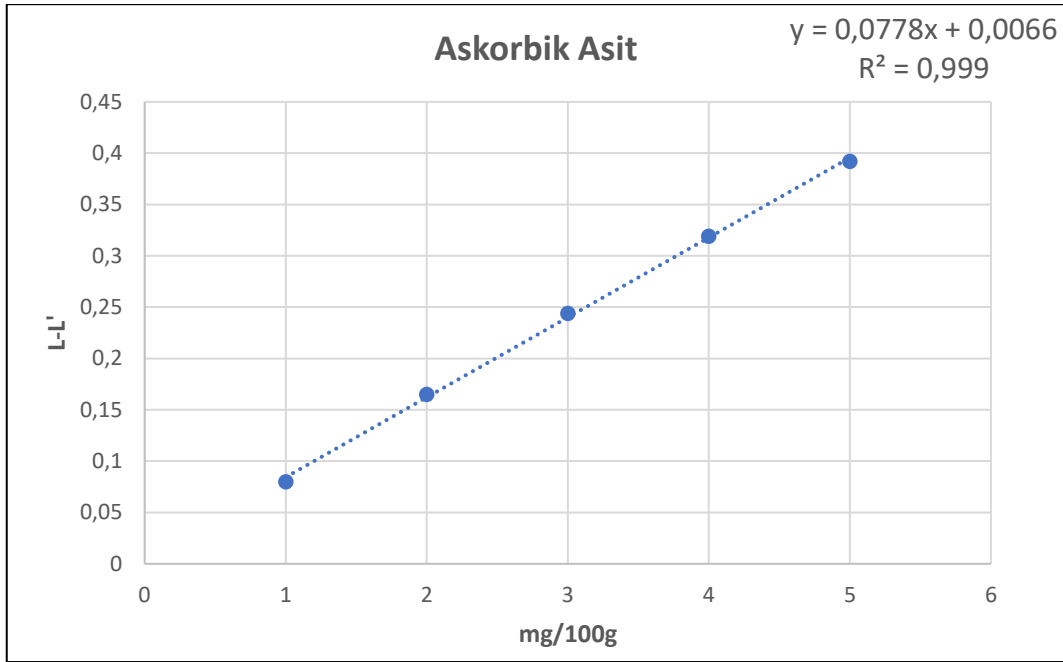
Ek 1: Toplam fenolik madde tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi



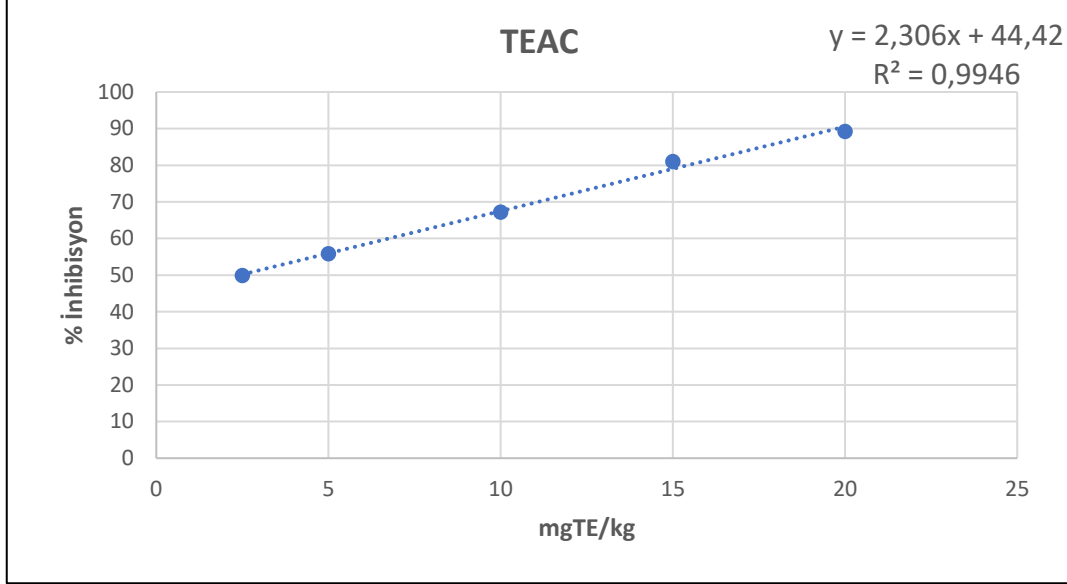
Ek 2: Toplam flavonoid madde tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi



Ek 3: Askorbik asit tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi



Ek 4: Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasite (TEAC) tayininde kullanılan kalibrasyon eğrisi



Ek 5: Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü (FRAP) tayinine ait kalibrasyon eğrisi

