



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İŞLEMİ İLE ÇEMEN
OTU TOHUMUNDAN BAZI BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN
EKSTRAKSİYONU, ELDE EDİLEN BİLEŞENLERİN
KARAKTERİZASYONU VE STABİLİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sedanur DAŞTAN

Danışman: Doç. Dr. Hilal İŞLEROĞLU

TOKAT- 2022



T.C.

TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İŞLEMİ İLE ÇEMEN
OTU TOHUMUNDAN BAZI BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN
EKSTRAKSİYONU, ELDE EDİLEN BİLEŞENLERİN
KARAKTERİZASYONU VE STABİLİTELERİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sedanur DAŞTAN

Danışman: Doç. Dr. Hilal İŞLEROĞLU

TOKAT- 2022

Her hakkı saklıdır.



Bu tez çalışması;

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (Proje No: 2020/125)
tarafından maddi olarak desteklenmiştir.

ETİK SÖZLEŞME

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Doç. Dr. Hilal İŞLEROĞLU danışmanlığında hazırlamış olduğum “Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon İşlemi ile Çemen Otu Tohumundan Bazı Biyoaktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu, Elde Edilen Bileşenlerin Karakterizasyonu ve Stabilitelerinin Belirlenmesi” 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.

28/06/2022

Sedanur DAŞTAN

Sedanur DAŞTAN tarafından hazırlanan “**Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon İşlemi ile Çemen Otu Tohumundan Bazı Biyoaktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu, Elde Edilen Bileşenlerin Karakterizasyonu ve Stabilitelerinin Belirlenmesi**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 28 HAZİRAN 2022 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen Jüri tarafından Oy Birliği ile Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Hilal İşleroğlu
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye
Doç. Dr. Aslıhan Demirdöven
Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Üye
Doç.Dr. Gülşah Çalışkan Koç
Uşak Üniversitesi

ONAY

.....

Prof. Dr. Mehmet GÜNEŞ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

---/---/2022

ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitimim boyunca değerli fikirleri ile beni yönlendiren, her anlamda yol gösteren, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, birlikte çalışmaktan onur ve zevk duyduğum çok kıymetli danışmanım Doç. Dr. Hilal İŞLEROĞLU'na derin ve sonsuz şükranlarımı sunmak isterim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca önemli katkılarda bulunan, ihtiyacım olduğunda yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, sık sık bilgi ve tecrübelerine başvurduğum Arş. Gör. İzzet TÜRKER'e sonsuz saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince her zaman yanımda olduğunu hissettiğim, hayatım boyunca büyük bir anlayış ve sabır içinde beni maddi ve manevi anlamda destekleyen sevgili arkadaşım Mertcan ŞANLI'ya ve aileme teşekkürlerimi sunarım.

Tezime mali yönden destek olan Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri'ne (Proje No: 2020/125) sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Sedanur DAŞTAN
28 Haziran 2022

ÖZET

ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İŞLEMİ İLE ÇEMEN OTU TOHUMUNDAN BAZI BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN EKSTRAKSİYONU, ELDE EDİLEN BİLEŞENLERİN KARAKTERİZASYONU VE STABİLİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Daştan, Sedanur

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Hilal İşleroğlu

Haziran 2022, x + 100 sayfa

Bu tez çalışmasında, çemen otu tohumunda bulunan fenolik bileşenler ve diyet lifinin klasik ve ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) işlemleri ile farklı işlem koşullarında ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Tüm ekstraksiyon koşullarında elde edilen fenolik ekstraktların toplam fenolik madde, toplam flavonoid, antioksidan aktivite ve toplam saponin içerikleri belirlenerek karakterizasyonu sağlanmıştır. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için, klasik ve UDE yöntemlerinde en yüksek antioksidan aktivitenin sağlandığı işlem değişkenlerinin (çözgen karışım oranı, katı/çözgen oranı, ultrasonik genlik, süre) optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Optimum koşullarda UDE işlemi (13.26 g/l katı-çözgen oranı, %54.72 ultrasonik genlik ve 59.71 dakika ekstraksiyon süresi) ile elde edilen fenolik ekstraktların toplam fenolik madde, toplam flavonoid ve toplam saponin içeriklerinin klasik ekstraksiyona göre, yarı işlem süresinde >%25, antioksidan aktivitenin ise (5.02 Trolox/g kuru örnek) %21 daha fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca, her iki ekstraksiyon işleminde optimum koşullarda elde edilen fenolik ekstraktların farklı sıcaklık (60-100°C) ve pH değerlerinde (pH 3.0-9.0) ısıl stabiliteleri belirlenmiş ve örneklerin ısıl stabilitesinin pH 3.0'te en yüksek, pH 9.0'da en düşük olduğu görülmüştür. UDE işlemi ile elde edilen ekstraktların her koşulda ısıl stabilitelerinin klasik ekstraksiyon ile elde edilenlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çemen otu tohumundan diyet lifi ekstraksiyonu için alkali ortamda klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri gerçekleştirilmiş ve en yüksek ekstraksiyon veriminin sağlandığı işlem değişkenlerinin (katı/çözgen oranı, NaOH konsantrasyonu, ultrasonik genlik, süre) optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Farklı koşullarda elde edilen ekstraktlardan çözünür ve çözünmez diyet liflerinin izolasyonu gerçekleştirilerek lif örneklerinin fiziko-kimyasal (su tutma kapasitesi, yağ tutma kapasitesi, şişme kapasitesi) ve fonksiyonel özellikleri (glukoz adsorpsiyon kapasitesi, α -amilaz inhibisyon kapasitesi) belirlenmiştir. UDE işlemi için en yüksek toplam diyet lifi veriminin (%79.35) elde edildiği optimum koşullar, 52.3 g/l katı/çözgen oranı, %57.86 ultrasonik genlik ve 24.68 dakika ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. En yüksek ekstraksiyon verimine ulaşılan sürenin UDE işleminde klasik ekstraksiyona göre 4.8 kat daha kısa olduğu görülmüştür. Her iki ekstraksiyon yöntemi için, farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen çözünmez diyet liflerine ait karakteristik özelliklerin çözünür diyet liflerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri ile ekstrakte edilen diyet liflerinin iki farklı depolama koşulunda (25°C ve %40 RH'da 6 ay, 38°C ve %90 RH'da 3 ay) fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin depolama süresince değişimleri takip edilerek depolama stabiliteleri belirlenmiştir. UDE ile elde edilen diyet liflerinin depolama

stabilitesinin klasik ekstraksiyon ile elde edilen örneklere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Ultrasonik destekli ekstraksiyon, Çemen otu tohumu, Diyet lifi, Fenolik bileşenler, Stabilite, Optimizasyon



ABSTRACT

EXTRACTION OF SOME BIOACTIVE COMPOUNDS FROM FENUGREEK SEEDS BY ULTRASONIC-ASSISTED EXTRACTION PROCESS, CHARACTERIZATION OF OBTAINED COMPOUNDS AND DETERMINATION OF THEIR STABILITY

Daştan, Sedanur

Master's Thesis, Food Engineering Division

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Hilal İşleroğlu

June 2022, x + 100 pages

In this thesis, phenolic compounds and dietary fiber from fenugreek seeds were extracted by classical and ultrasonic-assisted extraction (UAE) techniques at different process parameters. The phenolic compounds obtained at different extraction conditions were characterized by determination of total phenolic compounds, antioxidant activity, and total flavonoid and saponin contents. For the classical extraction and UAE of phenolic compounds, the process variables (solvent mixture percentage, solid/solvent ratio, ultrasonic amplitude, and extraction time) were optimized to ensure the highest antioxidant activity. The total phenolic compound, flavonoid, and saponin contents of the phenolic extracts obtained by UAE treatment (13.26 g/L solid/solvent ratio, 54.72% ultrasonic amplitude, and 59.71 minutes of extraction time) under optimum conditions are >25% higher, and the antioxidant activity (5.02 Trolox/g dry sample) was 21% higher, with half the processing time compared to classical extraction. Moreover, the thermal stability of extracts obtained at the optimum conditions in both extraction techniques were determined at different temperatures (60-100°C) and pH values (pH 3.0-9.0), and the highest thermal stability was obtained at pH 3.0, while the lowest was at pH 9.0. The thermal stability of extracts obtained by UAE technique was higher than by classical extraction at all process conditions.

For dietary fiber extraction from fenugreek seeds, classical extraction and UAE were carried out in alkaline medium, and the process variables (solid/solvent ratio, NaOH concentration, ultrasonic amplitude, and extraction time) were optimized to ensure the highest extraction yield. Soluble and insoluble dietary fibers were isolated from the extracts obtained at the different extraction conditions, and the samples' physicochemical (water holding capacity, oil holding capacity, swelling capacity) and functional (glucose adsorption capacity, α -amylase inhibition capacity) properties were determined. The optimum conditions ensuring the highest total dietary fiber yield (79.35%) for UAE technique were determined as 52.3 g/L solid/solvent ratio, 57.86% ultrasonic amplitude, and 24.68 minutes of extraction time. The time to reach the highest extraction yield was 4.8 times shorter in the UAE process compared to classical extraction. For both extraction techniques, the characteristic properties of insoluble dietary fibers obtained under different extraction conditions were higher than for soluble dietary fibers. By monitoring the physicochemical and functional properties at two different storage conditions (6 months at 25°C and 40% RH, 3 months at 38°C and 90% RH), the storage stability of the dietary fibers obtained by both extraction methods were determined. It was confirmed

that the storage stability of dietary fibers obtained by UAE is higher than the samples obtained by classical extraction.

KEY WORDS: Ultrasonic-assisted extraction, Fenugreek seed, Dietary fiber, Phenolic compounds, Stability, Optimization



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	viii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Çemen Otu Tohumu	3
2.2 Çemen Otu Tohumunda Bulunan Fenolik Bileşenler.....	5
2.3 Çemen Otu Tohumunda Bulunan Diyet lifleri	7
2.4 Ekstraksiyon İşlemi	10
2.4.1 Ultrasonik destekli ekstraksiyon.....	15
3. MATERYAL ve YÖNTEM	20
3.1 Materyal.....	20
3.2 Yöntem	20
3.2.1 Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu	20
3.2.2 Diyet lifi ekstraksiyonu ve karakterizasyonu	23
3.3 Analiz Yöntemleri	27
3.3.1 Fenolik ekstraktların karakterizasyonu.....	27
3.3.2 Diyet lifi karakterizasyonu	29
3.4 İstatistiksel Analiz ve Optimizasyon	31
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	33
4.1 Çemen Otu Tohumundan Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu, Karakterizasyonu ve Isıl Stabiliteleri	33
4.1.1 Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu	33

4.1.2	Fenolik ekstraktların ısıl stabiliteleri	51
4.2	Çemen Otu Tohumundan Diyet Lifi Ekstraksiyonu, Karakterizasyonu ve Depolama Stabiliteleri	56
4.2.1	Diyet lifi ekstraksiyonu ve karakterizasyonu	56
4.2.2	Diyet lifi depolama stabiliteleri	73
5.	SONUÇ	80
6.	KAYNAKLAR	83
7.	ÖZGEÇMİŞ	100



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

C.V.	Varyasyon katsayısı
düz-R ²	Düzeltilmiş regresyon katsayısı
K	Kodlanmış faktör sayısı
P	Önemlilik derecesi
PRESS	tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı
R ²	Regresyon katsayısı
α_i	Model katsayıları
β_0	Model katsayıları

Açıklama

Kısaltmalar

AA	Antioksidan aktivite
AAIK	α -amilaz inhibisyon kapasitesi
ABTS	2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu
ALPE	Alüminyum kaplı polietilen
ANOVA	Varyans analizi
ÇDL	Çözünür diyet lifi
ÇMZDL	Çözünmez diyet lifi
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
GAK	Glukoz adsorpsiyon kapasitesi
SD	Serbestlik derecesi
STK	Su tutma kapasitesi
ŞK	Şişme kapasitesi
TDL	Toplam diyet lifi
TFL	Toplam flavonoid
TFM	Toplam fenolik madde
TS	Toplam saponin
UDE	Ultrasonik destekli ekstraksiyon
YTK	Yağ tutma kapasitesi

Açıklama

ŞEKİL LİSTESİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Çemen otu tohumu	3
Şekil 2.2. (a) Ultrasonik banyonun şematik gösterimi, (b) ultrasonik probun şematik gösterimi	17
Şekil 3.1. Klasik ve ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemlerinde diyet lifi izolasyon aşamaları	26
Şekil 4.1. Klasik ekstraksiyon sonucunda elde edilen yanıt yüzey grafikleri (a) TFM, (b) TFL, (c) AA (DPPH), (d) AA (ABTS), (e) TS	37
Şekil 4.2. Klasik ekstraksiyon için tahminlenen ve deneysel veriler arasındaki ilişki (a) TFM, (b) TFL, (c) AA (DPPH), (d) AA (ABTS), (e) TS	41
Şekil 4.3. Ultrasonik destekli ekstraksiyon sonucunda elde edilen yanıt yüzey grafikleri (a) TFM, (b) TFL, (c) AA (DPPH), (d) AA (ABTS), (e) TS	45
Şekil 4.4. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için tahminlenen ve deneysel veriler arasındaki ilişki (a) TFM, (b) TFL, (c) AA (DPPH), (d) AA (ABTS), (e) TS	50
Şekil 4.5. Klasik ekstraksiyonda verim değerleri için yanıt yüzey grafikleri ile tahminlenen ve deneysel veriler arasındaki ilişki (a) toplam diyet lifi verimi (b) çözünür diyet lifi verimi (c) çözünmez diyet lifi verimi	59
Şekil 4.6. Ultrasonik destekli ekstraksiyonda verim değerleri için yanıt yüzey grafikleri ile tahminlenen ve deneysel veriler arasındaki ilişki (a) toplam diyet lifi verimi (b) çözünür diyet lifi verimi (c) çözünmez diyet lifi verimi	67
Şekil 4.7. Çözünür lif örneklerinin 25°C ve %40 RH'da depolanması	75
Şekil 4.8. Çözünmez lif örneklerinin 25°C ve %40 RH'da depolanması	76
Şekil 4.9. Çözünür lif örneklerinin 38°C ve %90 RH'da depolanması	78
Şekil 4.10. Çözünmez lif örneklerinin 38°C ve %90 RH'da depolanması	79

ÇİZELGE LİSTESİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Çemen otu tohumu içeriği	4
Çizelge 3.1. Klasik ekstraksiyon işlemi ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için uygulanan deneysel tasarım	21
Çizelge 3.2. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için uygulanan deneysel tasarım	22
Çizelge 3.3. Klasik ekstraksiyon işlemi ile diyet lifi ekstraksiyonu için uygulanan deneysel tasarım.....	23
Çizelge 3.4. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi ile diyet lifi ekstraksiyonu için uygulanan deneysel tasarım	25
Çizelge 4.1. Klasik ekstraksiyon işlemi için deneysel tasarım ve analiz sonuçları	35
Çizelge 4.2. Klasik ekstraksiyon işlemi için ANOVA tablosu ve istatistiksel veriler....	38
Çizelge 4.3. Klasik ekstraksiyon için optimum noktada tahminlenen ve deneysel değerler	40
Çizelge 4.4. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi için deneysel tasarım ve analiz sonuçları.....	43
Çizelge 4.5. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için ANOVA tablosu ve istatistiksel veriler	48
Çizelge 4.6. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için optimum noktada tahminlenen ve deneysel değerler	49
Çizelge 4.7. pH 3.0'te fenolik ekstraktların TFM, TFL, AA ve TS değerlerindeki değişim.....	53
Çizelge 4.8. pH 6.0'da fenolik ekstraktların TFM, TFL, AA ve TS değerlerindeki değişim.....	54
Çizelge 4.9. pH 9.0'da fenolik ekstraktların TFM, TFL, AA ve TS değerlerindeki değişim.....	55
Çizelge 4.10. Klasik diyet lifi ekstraksiyonu için oluşturulan deneysel tasarım ve ekstraksiyon verimleri.....	57

Çizelge 4.11. Klasik ekstraksiyon işlemi için ANOVA tablosu ve istatistiksel veriler..	58
Çizelge 4.12. Klasik ekstraksiyon için optimum noktada tahminlenen ve deneysel diyet lifi verimi değerleri.....	60
Çizelge 4.13. Klasik ekstraksiyon ile elde edilen çözünür diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler	63
Çizelge 4.14. Klasik ekstraksiyon ile elde edilen çözünmez diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler	64
Çizelge 4.15. Ultrasonik destekli diyet lifi ekstraksiyonu için oluşturulan deneysel tasarım ve ekstraksiyon verimleri.....	66
Çizelge 4.16. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi için ANOVA tablosu ve istatistiksel veriler.....	69
Çizelge 4.17. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için optimum noktada tahminlenen ve deneysel diyet lifi verimleri.....	70
Çizelge 4.18. Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen çözünür diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler	72
Çizelge 4.19. Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen çözünmez diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler	73

1. GİRİŞ

Çemen otu, baklagiller familyasında yer alan tek yıllık otsu bir bitkidir. Dünya üzerinde oldukça geniş bir yayılma alanına sahip olan çemen otu, ülkemizde buy otu olarak da bilinmektedir (Memiş ve ark., 2017; Bat, 2018). 30-60 cm yüksekliğe ulaşabilen çemen otu, 3-5 mm uzunluğunda yenilebilen tohumlara sahiptir (İlgar, 2019). Çemen otu tohumu sert köşeli, üzeri pürüzlü, koyu kırmızı veya sarımsı renktedir. Çemen otu tohumu yüksek oranda diyet lifi, protein ve fenolik bileşenler (viteksin, trisin, naringenin, kuersetin ve luteolin) içermektedir (Srinivasan, 2006). Bileşimine bağlı olarak çemen otu tohumunun kolesterol düşürücü, anti-kanserojenik, kabızlığı ve obeziteyi önleyici, diyabet semptomlarını azaltıcı ve mide ülserini önleyici etkileri literatürde yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bunlara ek olarak çemen otu tohumu lezzet arttırıcı, anti-bakteriyel ve raf ömrünü arttırıcı gibi etkilerinden dolayı gıda endüstrisinde farklı alanlarda kullanılmaktadır (Dixit ve ark., 2005; Bat, 2018).

Ekstraksiyon işlemi genel olarak bir bileşiğin bir çözücü kullanılarak karışımdan seçici olarak ayrılması işlemidir. Ekstraksiyon işlemleri sıvı-sıvı ve katı-sıvı ekstraksiyon işlemi olarak iki farklı şekilde uygulanmaktadır. Katı-sıvı ekstraksiyonu; katı matriks içinde bulunan bileşenlerin, matriksle temas halindeki bir çözgen içerisine alınması şeklinde tanımlanmaktadır. Son yıllarda kullanılan katı-sıvı ekstraksiyon yöntemleri arasında mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, vurgulu elektrik alan destekli ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon ve ultrasonik destekli ekstraksiyon bulunmaktadır (Tomaz ve ark., 2019; Cheetangdee, 2019).

Günümüzde, ulusal ve uluslararası kuruluşlar tarafından çevre düzenlemeleri çerçevesinde getirilen kısıtlamalar ile yeşil ekstraksiyon teknikleri desteklenmektedir. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi temiz, yeşil ve sürdürülebilir bir yöntem olup son yıllarda gıda işleme alanında uygulamaları artmaktadır. Ultrasonik destekli ekstraksiyon, ultrases varlığında gerçekleştirilen modern ekstraksiyon işlemlerinden biridir (Pico, 2013). Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi, ultrasonik dalgaları kullanarak hücre duvarında bozunmayı sağlayan ve akustik kavitasyon kuvveti ile kütle transferini hızlandırarak istenen bileşenlerin klasik ekstraksiyon yöntemlerine göre daha kısa sürede

ve daha yüksek verim ile elde edilmesini sağlayan bir tekniktir (Erte, 2007; Tavman ve ark., 2009; Santos ve ark., 2017; Machado ve ark., 2017; Pinela ve ark., 2019).

Bitkisel dokulardan biyoaktif bileşenlerin farklı ekstraksiyon yöntemleri (maserasyon, ultrasonik destekli, mikrodalga destekli, süperkritik akışkan ekstraksiyonu vb.) ile ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Literatürde ultrasonik destekli ekstraksiyon ile fenolik bileşenlerin; aronya meyve çekirdeğinden (Ramić ve ark., 2015), nilüfer tohumundan (Liu ve ark., 2013), hindistan cevizi tohumundan (Poorhashemi ve ark., 2020), üzüm çekirdeğinden (Ghafoor ve ark., 2009), nar çekirdeğinden (Abbasi ve ark., 2008) ve alıç çekirdeğinden (Pan ve ark., 2012), diyet lifinin; keten tohumundan (Moczkowska ve ark., 2019), kinoa tohumundan (Kurek ve ark., 2018) ve çiya tohumundan (Hassan ve ark., 2021) ekstrakte edildiği çalışmalar bulunmaktadır.

Bu tez çalışmasında, çemen otu tohumunda bulunan fenolik bileşenler ve diyet lifinin farklı koşullarda klasik ve ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi ile ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda en yüksek antioksidan aktivitenin sağlandığı işlem koşulları, diyet lifi ekstraksiyonunda ise en yüksek ekstraksiyon veriminin elde edildiği işlem koşullarının optimizasyonu sağlanmıştır. Tüm ekstraksiyon işlem koşullarında elde edilen fenolik ekstraktların ve diyet lifinin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, optimum koşullarda elde edilen fenolik ekstraktların ısı stabilitesi ile izole edilen çözünür ve çözünmez diyet liflerinin depolama stabiliteleri belirlenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Çemen Otu Tohumu

Ülkemizde buy otu olarak da isimlendirilen çemen otu, *Leguminosae* familyası içinde yer alan tek yıllık otsu bir bitkidir. Diğer baklagillerden görünüşü ve farklı kokusu ile ayrılmaktadır. Türkiye’de yetiştiriciliği yapılan çemen otu, genellikle Akdeniz çevresinde yetişmekte olup ülkemizde yaklaşık 50 türü mevcuttur. Bu türlerden 45’i doğal şartlar altında Türkiye’de yetiştirilmektedir. En yaygın yetiştiriciliği yapılan türü ise *Trigonella foenum-graecum* L.’dir. Çemen bitkisinin boy uzunluğu yaklaşık 30-60 cm arasında değişmektedir. Sapları gelişme evresinin başlarında tüylü olup, gelişim evresi tamamlandıktan sonra tüysüz bir yapı göstermektedir. Çiçekler 10-18 mm arası uzunluğunda, baklalar ise 6-11 cm arasındadır. Baklalarında 10-20 adet yenilebilen tohum bulunmaktadır ve bunlar çemen otu tohumu olarak isimlendirilmektedir (Żuk-Golaszewska ve Wierzbowska, 2017; Akbay ve ark., 2020).

Çemen otu tohumu *Trigonella foenum graecum* L. türünün olgun bir tohumudur. Çemen otu tohumu 3-5 mm uzunluğunda, sert köşeli, üzeri pürüzlü, esmer kırmızı veya sarımsı renktedir (Şekil 2.1). Kokusuz olan tohumların öğütülmüş hali kuvvetli bir kokuya sahiptir. Tohuma kendine özgü kokusunu 3-hidroksi-4,5-dimetil-2(5H)-furanon vermektedir (Baytop, 1984). Çemen otu tohumu oldukça zengin bileşime sahiptir (Çizelge 2.1, Srinivasan, 2006).



Şekil 2.1. Çemen otu tohumu

Çizelge 2.1. Çemen otu tohumu içeriği (Srinivasan, 2006)

Bileşen	Miktar	Bileşen	Miktar
Nem	7 g	S	16 mg
Protein	30 g	Cl	165 mg
Yağ	7.5 g	Mn	1.5 g
Lif	50 g	Zn	7 mg
Sapogenin	2 g	Cr	0.1 mg
Trigonellin	380 mg	Kolin	50 mg
Ca	160 mg	C vitamini	43 mg
Mg	160 mg	β -karoten	96 μ g
P	370 mg	Tiamin	340 μ g
Fe	14 mg	Riboflavin	290 μ g
Na	19 mg	Nikotinik asit	1.1 mg
K	530 mg	Folik asit	84 μ g
Cu	33 mg		

*Bileşen miktarları 100 g tohum için verilmiştir.

Çemen otu tohumu yüksek ve kaliteli protein içermesinin (30 g protein/100g tohum) yanı sıra; diyet lifi, yağ, azotlu bileşikler, fitin, kolin, rutin, nikotinik asit, flavonoid, trigonellin, yağlı embriyosunda hidroliz sonucu diosgenin veren steroidal saponinler ve çeşitli vitamin ve minerallerin kaynağıdır (Gökçe ve Efe, 2016). 100 g çemen otu tohumundan yaklaşık olarak 50 g diyet lifi elde edilebilmesi diyet lifinin tohumda dikkat çeken bir bileşen olduğunu göstermektedir (Çizelge 2.1). Çemen otu tohumundan elde edilen çözünür lifler jel oluşturma özelliğine sahipken, çözünmez lifler su tutma kapasitesini artırıcı etkiye sahiptir (Srinivasan, 2006). Bununla birlikte çemen otu tohumunda bulunan proteinler albümin, globülin, glutelin ve prolaminlerden oluşmaktadır (Leela ve Shafeekh, 2008). Çemen otu tohumundan elde edilen fenolik ekstraktların önemli oranda antioksidan madde içerdikleri bilinmektedir. Khorshidian ve ark. (2016) çemen otu ile ilgili hazırladıkları derleme çalışmada, çemen otu tohumunda viteksin, trisin, narinjenin, kuersetin ve luteolin gibi flavonoidlerin bulunduğunu bildirmişlerdir. Aynı zamanda çemen otu tohumu fenolik ekstraktlarının askorbik asit, glutatyon, β -karoten, α -tokoferol gibi antioksidan etkiye sahip molekülleri de içerdiği yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir (Kenny ve ark., 2013; Yadav ve Chowdhury, 2017).

Bileşimine bağlı olarak çemen otu tohumunun birçok alanda kullanıldığı bilinmektedir. Çemen otu tohumları gıda sanayinde körilere tat ve lezzet vermek, kullanıldıkları gıdada lezzeti artırmak, bakteriyel bulaşmayı önlemek ve raf ömrünü uzatmak gibi amaçlarla kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak, çemen otu tohumu fırıncılık ve et ürünleri, alkollü içecekler, şekerlemeler, çeşni ürünleri, şurup ve şekerli soslar, jelatin, çikletler, şekerli

kremalar gibi birçok gıda ürününe ilave edilmektedir. Çemen otu tohumları öğütülerek baharat karışımlarında kullanılmakta olup pastırma üzerine kaplanan karışımın da başlıca bileşenidir (Gökçe ve Efe, 2016). Gıda sanayisinde kullanımı yaygın olan çemen otu tohumundan sağlık alanında tahriş giderici, bağırsak yumuşatıcı, gaz giderici, sindirimi kolaylaştırıcı, süt artırıcı, göğüs yumuşatıcı, balgam söktürücü olarak faydalanılmaktadır. Ayrıca, bronşit, ateş düşürücü, boğaz ağrısını giderici, yara iyileştirici ve kan şekerini düşürücü özelliğinden dolayı şeker hastalığında ve kanser tedavisinde de kullanılmaktadır (Abdelgani ve ark., 1999; Dixit ve ark., 2005).

2.2 Çemen Otu Tohumunda Bulunan Fenolik Bileşenler

Çemen otu tohumunda yüksek miktarda bulunan önemli bileşenlerden biri fenolik bileşenlerdir. Fenolik maddeler insan sağlığı üzerine etkilerinin yanı sıra antimikrobiyal ve antioksidan etki göstermeleri, bazı gıdalarda saflık kalite kriteri olarak kullanılabilmesi gibi birçok etkiye sahip olduğundan özellikle son yıllarda oldukça çalışılan bileşenlerdir (Roshanpour ve ark., 2021). Bu bileşenler meyve ve sebzelerde renk, tat ve aroma gibi özellikler üzerine etkiye sahiptir (Tenderis, 2010). Ayrıca, fenolik bileşenler yağların oksidatif parçalanmasını geciktirmekte olup gıda endüstrisi tarafından yoğun ilgi görmektedir (Kahkönen ve ark., 1999).

Aromatik halkaya sahip fenolik bileşenler, üzerinde bir veya daha fazla hidroksil grubu bulunduran, monosakkarit ve polisakkaritlerle esterleşebilen maddelerdir ve fenol halkalarının sayılarına göre fenolik asitler, flavonoidler, lignanlar, stilbenler ve tanenler olarak sınıflandırılmaktadır (Atak ve Uslu, 2018).

Flavonoidler, fenolik maddelerin en büyük grubunu oluşturmaktadır. Bitkilerde genellikle glikozit formda bulunan flavonoidler, oksijen içeren bir piren halkası ile iki benzen halkasının bağlanması sonucu oluşmaktadır. Temel kaynakları meyve ve sebzeler olmasının yanı sıra baharatlarda, tohumlarda ve soya ürünlerinde de mevcuttur. Flavonoidler bitkilerde kırmızı, yeşil ve turuncu pigmentlerden sorumlu olup, *in vivo* ve *in vitro* çalışmalarla insan sağlığı üzerine etkileri belirlenmiştir (Birman, 2012).

Fenolik asitler, bir fenol halkası ve en az bir tane karboksil grubu içeren fenolik maddelerdir. Fenolik asitlerin çeşitliliği ise aromatik halka üzerindeki hidroksil

gruplarının sayısı ve konumu ile değişmektedir. Hidroksibenzoik asit ve hidroksisinamik asit olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Hidroksibenzoik asitler bitkilerde az miktarda bulunmakta olup p-hidroksibenzoik asit, protokateşik, vanilik, gallik ve şiranjik asitlerini, hidroksisinamik asit ise kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitlerini içermektedir (Mark ve ark., 2019; Gündoğdu, 2020).

Tanenler, protein ve diğer makro moleküllerle çapraz bağ yapan ve suda çözünme özelliğine sahip fenolik maddelerdir. Ellagitanenler, gallotanenler, kompleks tanenler ve kondense tanenler olmak üzere dört gruptan oluşmaktadır (Khanbabaee ve Van Ree, 2001).

Stilbenler, üç malonil-CoA ile birlikte p-koumaroil-CoA'dan sentezlenen ve suda çözünmeyen renksiz bileşiklerdir. Bitkilerde doğal koruyucu olarak rol oynamaktadırlar (Zuiter ve Jordan, 2014). Stilbenler, antioksidan, antiviral, yaşlanmayı geciktirici ve enfeksiyondan korunma gibi insan sağlığı üzerinde birçok olumlu etkiye sahiptir (Zuiter ve Jordan, 2014; Mark ve ark., 2019).

Lignanlar, iki fenilpropan ünitesinin dimerizasyonu ile üretilmekte olup basit lignanlar, monoepoksilignanlar, diepoksilignanlar, siklonlar ve laktonlulignanolitler olmak üzere beş gruptan oluşmaktadır. Keten tohumu, tahıllar, baklagiller, yağlı tohumlar, meyveler ve sebzelerde yaygın olarak bulunmaktadırlar (Gündoğdu, 2020).

Çemen otu tohumu yapısında flavonoid, saponin ve alkaloid gibi polifenoller içermektedir. Çemen otu tohumlarının acı tat ve kötü kokusuna neden olan iki ana bileşen alkaloidler ve uçucu bileşenlerdir. Çemen otundaki flavonoid seviyesi, g tohum başına 100 mg'dan fazladır (Madhava Naidu ve ark., 2011). Çemen otu tohumu yapısında bulunan fenolik bileşenler ile ilgili yapılan bir çalışmada, tanımlanan bileşenlerin çoğunun, aglikon olarak apigenin, luteolin ve kaempferol ile açillenmiş ve açillenmemiş flavonoidler olduğu tespit edilmiştir (Benayad ve ark., 2014). Çemen otu tohumunda bulunan flavonoid, saponin ve alkaloidler farmakolojik, antilipidemik, hipoglisemik ve kolagojik özelliklere sahiptir. Serum kolesterol düzeyini düşürücü etkileri sayesinde şeker hastalığı ve hiperkolesteroleminin önlenmesinde kullanılmaktadırlar (Izzo ve ark., 2005).

2.3 Çemen Otu Tohumunda Bulunan Diyet lifleri

Sebze ve meyvelerin kabuk, zar, sap ve çekirdek kısımlarında yüksek miktarda bulunan, gıda sanayisinde yan ürün olarak açığa çıkan diyet lifi ile ilgili çalışmalar ekonomik yönden katma değere sahip ürün eldesi açısından büyük oranda önem arz etmektedir (Dönmez ve ark., 2010). Diyet lifi, ince bağırsakta sindirim ve emilime yüksek direnç gösteren ve kalın bağırsakta tam ya da kısmi fermantasyona uğrayabilen yenilebilir bitki kısımlarının temel bileşenidir (Keçeli, 2016).

Diyet lifi açısından zengin olan gıdalar uzun süre çiğnenebilme özelliğine sahip olmasından dolayı tükürük bezlerinin çalışmasını hızlandırmaktadır. Enerji yoğunluğu düşük olan diyet lifleri mide içeriğinin viskozitesini arttırarak midenin geç boşalmasına sebep olmaktadır. Geç boşalan mide ile birlikte tokluk hissi artmakta ve kilo vermek isteyen bireyler açısından bu durum olumlu etki göstermektedir (Gül, 2007). Diyet lifi alımıyla birlikte kolorektal, prostat ve meme kanseri gibi çeşitli kanser türlerinin görülme olasılığında azalma meydana gelmektedir. Ayrıca diyet lifi karbonhidrat metabolizmasında önemli bir faktör olup glukoz düzeyinin ve insülin miktarının düşmesine yardımcı olmaktadır (Sharma ve Tandon, 2013).

Gıda endüstrisinde diyet lifi yağ absorblama, hidrasyon ve tekstürel özellikleri nedeniyle özellikle ısıtma işlemi uygulanmış et ürünlerinde, düşük yağ içerikli ürünlerde, fırıncılık ve süt ürünlerinde tercih edilmektedir. Yüksek su tutma kapasitesi ile sineresis önlenmekte ve böylece gıdanın yapısı korunmaktadır. Et gibi ürünlerin pişirilmesi sırasında yağın tutulması sağlanarak pişirme kayıplarının azaltılması, lezzet ve dokusal özelliklerin iyileştirilmesi diyet lifinin yüksek yağ tutma kapasitesi ile gerçekleştirilmektedir (Karaman, 2016).

Diyet lifleri, suda çözünür ve çözünmez lifler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Çözünür diyet lifleri pektinler, beta-glukanlar, galaktomannan, gamlar, inülin ve müsilajları içermektedir. Çözünür diyet lifleri, suyu bağlayarak jel ve sıkı bir yapı meydana getirmektedir. En fazla tahıl ürünleri, yulaf kepeği, yulaflı yiyecekler, fasulye, mısır kepeği, havuç ve elmanın yapısında bulunmaktadır (Karaman, 2016).

Pektin çözüner diyet lifi grubunda yer alan oldukça kompleks bir polisakkaritlerdir. Metille esterleşmiş galakturonik asit zincirinden meydana gelen bileşenlerdir. Pektin meyve ve sebzelerde yüksek, tahıllarda ise düşük miktarda bulunmaktadır. Ticari pektinler turunçgillerin kabuğundan ekstrakte edilerek gıda endüstrisinde çoğunlukla jel maddesi olarak kullanılmaktadır. Pektin kaynaklarına tam tahıllar, elma, baklagiller, lahana ve kök sebzeleri örnek verilebilmektedir (Harris ve Ferguson, 1999).

Beta-glukanlar, beta-glukosil yapıların β -(1→3) ve β -(1→4) bağlarıyla bağlanarak meydana gelen doğrusal zincirlerdir. Sahip oldukları karışık bağ yapısı nedeniyle oldukça güçlü jelleşme özelliği göstermektedir. Yulaf kepeği beta-glukanlar açısından zengin bir üründür. Bunun yanı sıra bakteriler, küfler ve mayalar tarafından da beta-glukan üretilmektedir (Rodica ve Adrian, 2011).

Galaktomannan tek üniteli olan α -d galaktopiranosil dallarına bağlı olan oksijen molekülüne lineer (1→4)- β -d mannopiranoz yapının bağlanmasıyla oluşmaktadır. Genel olarak suda çözünebilir galaktomannan zamlar, guar ve keçiyoynuzu çekirdekleri gibi bitkisel kaynaklıdır. Gıdalarda tekstürel özelliklerin geliştirilmesinde kullanılmaktadır (Ferna ve ark., 2006).

Çözüner diyet liflerinden biri olan gamlar, yüksek viskozite ve jel oluşturma özellikleri sayesinde gıdalarda duysal özelliklerin korunması amacıyla kullanılmaktadır. Karregenalar, aljinatlar ve galaktanlar gamlara örnek olarak verilebilmektedir. Gıda sektöründe gamların başlıca kullanım alanları, süt ve fırıncılık ürünleri ile sos ve şekerleme endüstrisidir (Dülger ve Şahan, 2011).

İnülin, fruktoz familyasından β -(2→1) bağı içeren fruktoz oligomerleri ve polimerlerinin bir karışımı olup sebze, meyve ve tahıllarda yaygın olarak bulunmaktadır (Fuentes-Alventosa ve ark., 2009). İnülin prebiyotik özelliği sayesinde gıda sanayisinde oldukça yaygın kullanıma sahiptir (Aleson-Carbonell ve ark., 2005).

Çözünmeyen diyet lifleri ise selüloz, diğer hemiselülozlar ve lignin fraksiyonlarını içermektedirler. Çözünmeyen diyet lifleri ağırlığının yaklaşık 20-30 katı kadar suyu absorblamakla beraber jel yapısı oluşturmaktadır. Tahıllarda çözünmeyen diyet lifi yüksek oranda bulunmaktadır (Jordi ve ark., 2006). Selüloz, hidrojen ve β -bağları ile birbirlerine

bağlanmış polisakkarit zincirlerinden oluşan düzenli yapısı nedeniyle suda çözünmemekte ve çözünmeyen diyet liflerinin ana bileşenini oluşturmaktadır. Selüloz alımı ile meme kanseri riskinin önemli ölçüde azalacağı bilinmektedir. Kepek, bezelye, kök sebzeler ve fasulye yapısında selüloz barındırmaktadır (Chau ve ark., 2004). Hemiselüloz, bitkilerin hücre duvarlarından alkali ile ekstrakte edilen polisakkarit yapılı bir bileşiktir. Genellikle ikiden fazla şekerden oluşmakta ve dallanma eğilimi gösteren küçük çeşitli heterosakkaridik polimerleri ifade etmektedir. Hemiselüloz yapı olarak selüloza benzemesine karşın selülozdan seyreltik alkali içinde çözünürlüğü ile ayrılmaktadır. Hemiselüloz yan zincirlerinde ksilosil, arabinosil, galaktosil veya fruktosil monomerleri de bulundurmaktadır. Tahıl taneleri hemiselüloz yönünden zengin ürünlerdir (Horzum, 2018). Lignin diyet lifinin önemli bir bileşenidir ve hidrofobik özelliği nedeniyle suda çözünmemektedir. Ligninler, enzimatik dehidrojenasyon ve ardından fenilpropanoidlerin polimerizasyonundan oluşan yüksek moleküler ağırlığa sahip bir aromatik polimerdir. Buğdayda bol miktarda bulunan lignin, vanilin aroması üretiminde kullanılmaktadır (Goni ve ark., 2009).

Çemen otu tohumları zengin çözünür diyet lifi kaynağıdır. 100 g tohumun yaklaşık olarak 50 gramı diyet lifinden oluşmaktadır. Bunların %30'unu çözünür diyet lifi, %20'sini çözünmez diyet lifi oluşturmaktadır. Çemen otu tohumundan elde edilen çözünür diyet lifleri guar gam gibi jel oluşturma özelliğine sahipken, çözünmez diyet lifleri ise su tutma kapasitesini artırıcı etkiye sahiptir (Srinivasan, 2006). Çemen otu tohumu, yapısında safra tuzlarının yeniden emilimini azaltarak kandaki düşük yoğunluklu lipoprotein-kolesterol seviyesini düşürmeye yardımcı olan hemiselülozlar, müsila ve pektin barındırmaktadır. Çemen otu tohumlarının başlıca çözünür diyet liflerinden biri olan galaktomannan, vücutta nişasta sindiriminin ve emiliminin azalmasına yardımcı olmaktadır. Galaktomannanlar tohumların endosperminden ekstrakte edilmektedir. Çemen otu tohumundan elde edilen diyet lifleri uzun raf ömrü ile çok kararlı bir yapı göstermektedir (Madar ve Shomer, 1990; Mathern ve ark., 2009). Çemen otu tohumundan elde edilen diyet lifleri pizza, ekmek, tortilla, cips, çorba ve meyve suyu gibi ürünlerin üretiminde kullanılabileceği düşünülmektedir (Srinivasan, 2006).

2.4 Ekstraksiyon İşlemi

Ekstraksiyon işlemi genel olarak katı veya sıvı fazda bulunan hedef bileşenlerin çözgen faza alınması olarak tanımlanmaktadır. Sıvı-sıvı ve katı-sıvı ekstraksiyonu olmak üzere iki farklı uygulama şekli bulunmaktadır (Aguilera, 2003). Katı-sıvı ekstraksiyonu; katı içinde bulunan bileşenlerin, katı ile temas halindeki çözgen içerisine alındığı bir kütle transfer işlemidir. Katı fazdan arzu edilen çözünen bileşeni ekstrakte etmek veya istenmeyen bir bileşeni uzaklaştırmak için katı, sıvı bir faz ile temas ettirilir. Çözünen bileşenler katıdan sıvı faza difüzyonla; sonuçta katı içinde başlangıçta bulunan bileşenler ayrılırlar. Bu olayda difüzyon katsayıları, sınır tabakasındaki değişimler ve konsantrasyon gradienti gibi birçok faktör rol oynamaktadır (Corrales ve ark., 2009).

Ekstraksiyon işlemi üç temel basamaktan oluşmaktadır. İlk aşamada seçilmiş olan ekstraksiyon çözgeni katı matriks içine nüfuz etmekte ve bileşenler çözgen içerisinde çözünmektedir. Ardından çözünen bileşenler katı matriks dışına taşınmaktadır. En son aşamada ise, ekstrakte edilen bileşenler çözgen fazdan ayrılmaktadır (Tomaz ve ark., 2019).

Biyolojik maddeler hücresel yapıda olup çözünebilir kısımlar genel olarak hücrelerin içinde bulunur. Hücre duvarı difüzyona ilave direnç oluşturduğundan ekstraksiyon hızı oldukça yavaş olabilir. Bitkisel dokulardan biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda genellikle kullanılan klasik katı-sıvı ekstraksiyon yöntemleri maserasyon, Sokslet ekstraksiyonu ve reflüks (fraksiyonel destilasyon) ekstraksiyonudur (Zainal-Abidin ve ark., 2017). Klasik ekstraksiyon işleminde kullanılan maserasyon tekniği temel olarak, kabaca boyutu küçültülen veya toz haline getirilen bitki materyalinin, çalkalama işlemine tabi tutularak belirli miktardaki çözgen ile karıştırılması ve oda sıcaklığında 1-3 gün boyunca bekletilmesi esasına dayanmaktadır. Maserasyon işlemi bitki hücre duvarının parçalanması ile birlikte çözünür fitokimyasalların serbest kaldığı en basit ve kolay uygulanabilen ekstraksiyon yöntemidir. Isıya duyarlı bileşenlerin ekstraksiyonunda maserasyon yöntemi tercih edilmektedir. Fakat uzun ekstraksiyon süresi ve düşük ekstraksiyon verimi bu yöntemin dezavantajlarını oluşturmaktadır (Singh, 2008). Sokslet ekstraksiyon yöntemi ise özel bir cihazda gerçekleşen en eski ekstraksiyon işlemlerinden biridir. Sokslet ekstraksiyon yöntemi, maserasyon işlemine göre daha az süre ve çözgen

kullanımı ile gerçekleştirilen, yüksek ekstraksiyon verimine sahip otomatik ve sürekli ekstraksiyon işlemidir. Fakat, Sokslet ekstraksiyon işlemi uygulanan yüksek sıcaklıktan dolayı ısıya duyarlı bileşenlerin ekstraksiyonunda tercih edilmemektedir. Maserasyon yönteminden daha verimli olan bir diğer ekstraksiyon yöntemi ise reflüks ekstraksiyonudur. Bu yöntem sabit bir sıcaklıkta, belirli bir süre boyunca tekrarlanan ve çözgen kaybının önendiği buharlaşma-yoğuşma prensibine dayalı bir katı-sıvı ekstraksiyon işlemidir. Reflüks ekstraksiyon yöntemi kullanım kolaylığı ve ekonomik olmasından dolayı fitokimyasalların ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak ısıya duyarlı bileşenlerin ekstraksiyonu için uygun bir yöntem değildir (Wang ve ark., 2013; Chua ve ark., 2016).

Ekstraksiyon işleminde ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, çözgen tipi ve çözgen/katı oranı gibi faktörler ekstraksiyon verimini etkileyen parametrelerdir. Bu parametrelerin yanı sıra, ekstrakte edilecek materyalin parçacık boyutu da ekstraksiyon verimini etkilemektedir. Boyut küçültme işlemi uygulanarak yüzey alanı artırılır ve böylelikle difüzyon yolu kısaltılarak ekstraksiyon verimi artırılabilir. Ancak, parçacık boyutunun çok fazla azaltılması ekipmanda tıkanmalara ve/veya arzu edilmeyen bileşenlerin de ekstrakte edilmesi ile birlikte verimde düşüşe neden olmaktadır (Bosiljkov ve ark., 2017).

Ekstraksiyon işleminde çözgen seçimi ekstraksiyon verimini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Kullanılması gereken çözgen, ekstraksiyonu gerçekleştirilecek hedef biyoaktif bileşenin spesifik doğasına bağlı olarak değişmektedir. Arzu edilen biyoaktif bileşenin ekstraksiyonunda çözgen polaritesi önemli bir faktördür. Çözgenler polaritesine göre polar, yarı polar ve polar olmayan (apolar) çözgenler olarak sınıflandırılmaktadır. Su, asetonitril, metanol ve etanol polar çözgenlere, aseton, kloroform ve etil eter ise apolar çözgenlere örnek olarak verilebilir (Azmir ve ark., 2013; Altemimi ve ark., 2017). Fenolik asitler ve glikozitler gibi polar antioksidanlar genellikle su veya alkoller ile ekstrakte edilirken, bazı flavonoidlerin aglikonları ve karotenoidlerin çoğu apolar çözgenler ile ekstrakte edilmektedir (Tsao ve Deng, 2004). Yüksek yağ içeriğine sahip olan hammaddelerin ekstraksiyonunda ise hekzan, aseton ve petrol eteri gibi çözgenlerden yararlanılmaktadır (Durmuş, 2008). Bununla birlikte, biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda tek çözgen yerine relatif polaritelerine göre ikili çözgen

sistemleri (iyonik sıvılar ve/veya organik çözümler) de kullanılmaktadır (Othman ve ark., 2015). Ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan organik çözümler, yüksek uçuculukları nedeniyle çevre ve insan sağlığı için ciddi bir sorun oluşturmaktadır. Bundan dolayı son yıllarda, insan sağlığına ve çevreye daha az zarar veren ve 'yeşil çözümler' olarak adlandırılan yeni bir çözümler sınıfı ortaya çıkmıştır. Farklı yeşil çözümlerin, tohumlardan yağ ekstraksiyonunda kloroform ve hekzan gibi çözümlerin yerini alma potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir (Jesus ve Filho, 2020). İyonik sıvılar (NaCl , KCl , MgCl_2) ve derin ötektik çözümler (kolin klorür:1,2 propandiol, kolin klorür:malik asit sistemleri gibi) yeşil çözümlere örnek olarak verilmektedir (Cao ve Su, 2021).

Biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyon verimini etkileyen önemli parametrelerden bir diğeri ise ekstraksiyon sıcaklığıdır. Literatürde ekstraksiyon sıcaklığının artması ile biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyon veriminin arttığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Dorta ve ark., 2012; Benmeziiane ve ark., 2014). Yüksek sıcaklıklarda çözümlerin katı içerisindeki difüzyon hızındaki artış ile birlikte ekstraksiyon verimi artmaktadır (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2014). Buna karşın, yüksek sıcaklıklar fenolik maddeler gibi hassas bileşenlerin parçalanmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle ekstraksiyon işlemi için optimum sıcaklık değerinin belirlenmesi gerekmektedir (Daştan ve ark., 2021). Ballard ve ark. (2009), yer fıstığı kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine sıcaklığın (30, 45, 60°C) etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, optimum fenolik madde veriminin yaklaşık 31°C ekstraksiyon sıcaklığı ile sağlandığını belirlemişlerdir.

Ekstraksiyon verimini etkileyen bir başka parametre ise işlem süresidir. Ekstraksiyon süresi arttıkça verim artmakla birlikte uzun ekstraksiyon süresinin ekstrakte edilen bileşende değişikliklere neden olabileceği de bilinmektedir (Tiwari, 2015). Zuorro ve ark. (2016), farklı işlem parametrelerinin (sıcaklık, süre, çözümler/katı oranı) enginar atıklarından fenolik maddelerin ekstraksiyonu üzerine etkilerini incelemişlerdir. Ekstraksiyon işlemi ile fenolik bileşenlerin %90 oranında geri kazanıldığını ve ekstraksiyon süresinin verimi etkileyen en önemli parametre olduğunu bildirmişlerdir.

Ekstraksiyon işleminde en sık kullanılan yöntemlerden biri olan klasik ekstraksiyon işlemi birçok avantajının yanında dezavantaj da sunmaktadır. Fazla miktarda örnek kütlesi ekstrakte edilebilmesi, daha az işçilik ve basit donanım kullanılması gibi avantajlar sunarken, uzun ekstraksiyon süresi ve çok miktarda organik çözümler kullanımı

gibi dezavantajları da mevcuttur. Klasik ekstraksiyon işleminin sunduğu dezavantajlar göz önünde bulundurularak son yıllarda yeni ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemler arasında mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, vurgulu elektrik alan destekli ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon ve ultrasonik destekli ekstraksiyon gibi yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler ile ekstraksiyon süresi kısalmakta, örnek hazırlama maliyetleri düşmekte, organik çözücü tüketimi azalmakta ve analitik laboratuvarlarında kirliliğin önüne geçilmesi sağlanmaktadır (Büyüktuncel, 2012; Zainal-Abidin ve ark., 2017).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, frekansı 300 MHz ve 300 GHz arasında, iyonize olmayan elektromanyetik dalgaların kullanımı ile gerçekleştirilen ekstraksiyon yöntemidir (Manousi ve ark., 2019). Elektromanyetik dalgalar materyale nüfuz etmekte ve polar gruplarla etkileşime girerek ısı oluşumuna neden olmaktadır. Mikrodalga ısıtma, iyonlar ve dipoller arasında sürtünme ve çarpışmalara neden olan iyonik ve dipol rotasyona dayanmaktadır. Sonuç olarak, çözücü etkileşimi ile hücre yapısının değişimi ve bozulması meydana gelerek, biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu kolaylaşmaktadır (Caldas ve ark., 2018). Mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi klasik ekstraksiyon yöntemleri ile kıyaslandığında daha az miktarda çözen kullanılması, ekstraksiyon süresinin kısa sürmesi, ekstraksiyon parametrelerinin kontrolünün kolay ve verimin yüksek olması gibi avantajlar sunmaktadır. Sıcaklık, mikrodalga gücü, katı/çözen oranı, çözen tipi ve ekstraksiyon süresi gibi parametreler mikrodalga destekli ekstraksiyon verimini etkileyen faktörler arasında yer almaktadır (Cheetangdee, 2019; Türker ve ark., 2020). Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, fitokimyasalların ekstraksiyonu için klasik katı-sıvı ekstraksiyon yöntemine önemli alternatif olabilmektedir (Türker ve ark., 2020).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu son yıllarda tercih edilen ve süperkritik yapıdaki çözenlerin kullanılması ile gerçekleştirilen bir yöntemdir. Süperkritik akışkan, kritik sıcaklık üzerinde ısıtılabilen ve kritik basınç üzerinde sıkıştırılabilen madde olarak tanımlanmaktadır. Bu yöntemde temel esas, ekstrakte edilecek olan bileşenin süperkritik koşullardaki sıvı içerisinde çözünmesi ve ardından basıncın azaltılması ile bu bileşenin sıvı içerisinde ayrılmasına dayanmaktadır. Süperkritik akışkanlar genel olarak bitkisel ürünlerden doğal madde elde edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Düşük kritik sıcaklığa

sahip olması, yüksek saflıkta bulunması, toksik yapıda olmaması ve düşük maliyetli olmasından dolayı en sık kullanılan süperkritik akışkan karbondioksittir. Düşük kritik sıcaklığı sayesinde destilasyon işlemine tabi tutulamayan, ısıya duyarlı bileşenlerin ekstraksiyonunda tercih edilmektedir. Bu özelliklerinden dolayı karbondioksit; gıda, boya, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde ideal bir çözgen olmaktadır (Cadoni ve ark., 1999; Büyüktuncel, 2012).

Basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemi ise yüksek basınç (4-20 MPa) ve yüksek sıcaklıktaki (50-200°C) organik çözgenler ile gerçekleştirilen bir yöntemdir. Basınçlı sıvı ekstraksiyonunda ekstraksiyon işlemi klasik ekstraksiyon yöntemlerine göre daha hızlı ve daha az miktarda çözgenin kullanımı ile gerçekleşmektedir. Bu yöntemde yüksek sıcaklıkların kullanımı Van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı ve dipol çekim gibi çözgen-örnek matriks etkileşimlerinin bozulmasına sebep olarak ekstraksiyon verimini arttırmaktadır. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu işlemi polifenol ekstraksiyonu, lipit ekstraksiyonu, esansiyel yağ ekstraksiyonu gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Çam ve Hışıl, 2006).

Vurgulu elektrik alan destekli ekstraksiyon, ısıl olmayan ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Vurgulu elektrik alan sisteminin temel prensibi, bir seri elektrot arasına yerleştirilen ürüne 1-100 µs arasında değişen sürelerde elektrik vurguları uygulanarak hücre zarının yapısının parçalanması ve böylelikle ekstraksiyon veriminin artırılmasıdır. Ekstraksiyon verimi elektrik alan gücü, vurgu şekli (üssel azalma veya kare dalga) ya da sayısı gibi faktörlerden etkilenmektedir (Loeffler, 2006; Mohamed ve Eissa, 2012). Klasik ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında bu yöntemde, gıdanın fiziksel ve duyuşsal özelliklerinde değişim minimum düzeyde olmaktadır. Aynı zamanda vurgulu elektrik alan destekli ekstraksiyonda enerji verimliliği yüksek olup, ekstrakt daha az maliyet ile elde edilebilmektedir. Biyolojik materyallerden, değerli bileşenlerin ekstraksiyonu çalışmalarında bu yöntem sıklıkla kullanılmaktadır (Donsi ve ark., 2010; Martin-Belloso ve Soliva-Fortuny, 2011; Parniakov ve ark., 2014).

Enzim destekli ekstraksiyon işlemi, klasik ekstraksiyon işleminde çözgen ile erişilemeyen bağılı bileşenlerin serbest bırakılarak ekstraksiyon veriminin artırıldığı bir yöntemdir. Bazı fitokimyasallar hücre sitoplazması içerisinde dağılmış halde bulunurken, bazı

bileşenler hidrojen veya hidrofobik bağlar ile polisakkarit-lignin ağında tutulmaktadır. Bu nedenle, enzimatik ön muamele, klasik ekstraksiyon işleminde çözücünün ulaşamayacağı bağlı bileşenlerin serbest bırakılması ve verimin artırılması için etkili bir yöntem olmaktadır. Selüloz, α -amilaz ve pektinaz gibi bazı spesifik enzimlerin ekstraksiyon esnasında ilavesi, hücre duvarının parçalanmasını sağlamakta ve polisakkarit ile lipit bileşenlerinin hidrolizini artırmaktadır. Ekstraksiyon aşamasında çözen olarak genellikle su kullanılması, bu yöntemin çevre dostu bir teknoloji olarak kabul edilmesini sağlamaktadır (Azmir ve ark., 2013).

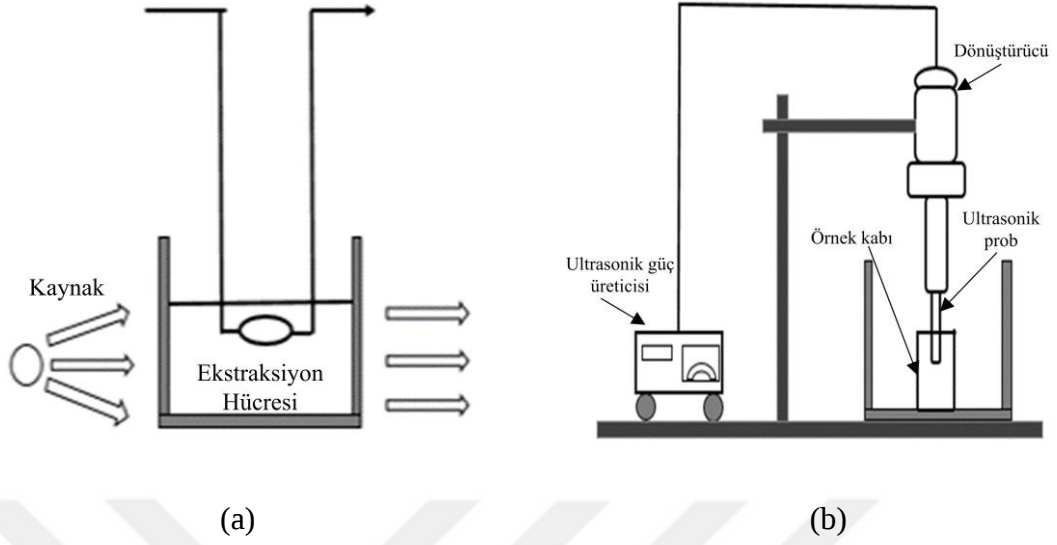
2.4.1 Ultrasonik destekli ekstraksiyon

Ultrasonik destekli ekstraksiyon, ultrases varlığında gerçekleştirilen modern ekstraksiyon işlemlerinden biridir (Pico, 2013). Ultrases sözlük anlamı itibariyle, duyulamayan frekanslardaki sesleri ifade etmek için kullanılan bir terimdir. Ses frekansları Hertz olarak ifade edilmekte olup saniyedeki titreşim 20 Hz-20 kHz aralığındadır. Ultrasonik frekanslar ise bu değerlerden daha yüksek olup 20 kHz-100 kHz aralığındadır. Ultrases, bir ortam içinden sıkıştırma ve genişleme yaratarak geçmektedir. Bu süreç, gaz kabarcıkların oluşması, büyümesi ve geri sönümlenmesi anlamına gelen kavitasyon işlemini oluşturmaktadır. Sadece sıvı ve sıvı içeren katılar kavitasyon etkisine sahiptir (Herrera ve Luque de Castro, 2005). Ultrases uygulamalarında 10^{10} K/s hızında ısınma ve soğuma gerçekleşerek kabarcıkların sıcaklığında 5000 K, basıncında ise 1000 atm'e varan anlık değişimler meydana gelmektedir (Suslick ve ark., 1999). Kavitasyon, kesme kuvvetinin etkisi ile hücre duvarına mekanik olarak zarar vererek organik ve inorganik bileşenlerin hücreden difüzyonunu kolaylaştırır. Ayrıca, işlem sırasında sıcaklık artışı sebebiyle ekstraksiyon verimi yükseltmektedir (Erte, 2007; Tavman ve ark., 2009; Santos ve ark., 2017).

Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) işlemi klasik ekstraksiyon yöntemleri ile kıyaslandığında birçok avantaj sunmaktadır. UDE işleminin avantajları az miktarda çözen kullanımı, düşük enerji tüketimi, düşük ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi olarak sıralanmaktadır. Ayrıca, UDE ile ekstrakte edilen materyalde daha az yapısal ve moleküler değişiklik meydana gelmektedir. (Turker ve Isleroglu, 2021). UDE işlemi özellikle ısıya duyarlı biyoaktif maddelerinin ekstraksiyonunu kolaylaştırmak ve iyileştirmek için kullanılan ucuz, tekrarlanabilir, basit ve etkili bir yöntem olarak tercih

edilmektedir. UDE işleminde kullanılarak bazı meyve-sebzelerin çeşitli kısımlarından fenolik ekstrakt, diyet lifi, protein, aroma maddeleri, mineral maddeler ve doğal renk maddelerinin elde edilmesi sağlanmakta ve ekstraksiyon verimini artırmak mümkün olmaktadır (Erte, 2007; Tavman ve ark., 2009; Santos ve ark., 2017; Machado ve ark., 2017; Pinela ve ark., 2019; Isleroglu ve Turker, 2022).

UDE işleminde ses dalgalarını ortama yaymak amacıyla elektrik enerjisinden ses üreten cihazlar kullanılmaktadır. Bu cihazlar kullanım alanlarına göre ultrasonik banyo (Şekil 2.2a) ve ultrasonik prob (Şekil 2.2b) olarak ikiye ayrılmaktadır (Yılmaz, 2011). Örnekler üzerine ultrasonun dolaylı olarak etki etmesini sağlayan ultrasonik banyolar, genellikle bir veya daha fazla ultrasonik dönüştürücü ve paslanmaz çelik bir tanktan oluşmaktadır. Yaklaşık 40 kHz frekansta çalışan ultrasonik banyoda bir sıcaklık kontrol mekanizması bulunmaktadır. Ucuz ve kolay erişilebilir olması ve çok sayıda örnek ile aynı anda çalışma imkânı sunması bu cihazın avantajlarını oluşturmaktadır. Fakat ultrasonik banyolar, sabit frekansta çalışması ve ultrasonik problemlere göre daha az şiddet uygulanması gibi dezavantajlar da sunabilmektedir (Chemat ve ark., 2017). Ultrasonik problemler ise laboratuvarlarda yaygın kullanılan cihazlar olup ultrasonik dalgaların herhangi bir engelle karşılaşmaksızın doğrudan örnek ile temas etmesini sağlamaktadır. Küçük hacimli ekstraksiyon uygulamalarında ultrasonik problemler sıklıkla tercih edilmektedir. Genellikle 20 kHz civarında çalışan bu sistemde dönüştürücü reaktöre daldırılmış bir proba bağlanmaktadır. Böylece ekstraksiyon ortamına ultrasesin doğrudan iletimi sağlanmakta olup bu cihazlarda minimum enerji kaybı gerçekleşmektedir. Kullanılan problemler uzunluk, çap ve uç şekillerine göre farklılık göstermektedir. Prob seçimi ise ekstraksiyon koşulları ve örnek hacmine göre yapılmaktadır (Yılmaz, 2011; Vinatoru, 2015). Prob tarafından sıvı ortama iletilen ultrases yoğunluğu reaktörde hızlı sıcaklık artışına neden olabilmektedir. Bu cihazlarda, sıcaklık kontrolünün zor oluşu sistemin en büyük dezavantajını oluşturmaktadır. Bundan dolayı ultrasonik cihazlarda soğutma suyu sirkülasyonunun sağlanması sıcaklığın belirli düzeyde sabit kalmasını sağlar. Böylece, ısıya duyarlı gıda bileşenlerinin düşük sıcaklıklarda ekstraksiyonu gerçekleştirilebilir (Erte, 2007; Tavman ve ark., 2009).



Şekil 2.2. (a) Ultrasonik banyonun şematik gösterimi, (b) ultrasonik probun şematik gösterimi (Chemat ve ark., 2017)

Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemini etkileyen faktörler

UDE işleminde ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, ultrasonik güç/genlik, katı/çözgen konsantrasyonu gibi faktörler ekstraksiyon verimini etkileyen parametrelerdir (Chemat ve ark., 2017; Massa ve ark., 2019; Turker ve Isleroglu, 2021).

Ekstraksiyon sıcaklığının verim üzerine etkisi farklı şekillerde görülmektedir. Yüksek sıcaklıkta ekstrakte edilecek bileşenlerin çözünürlüğü ve difüzyon katsayıları artmakta, çözgen viskozitesi ve yoğunluğu azalmakta ve çözgenin bitki materyalinin iç kısımlarına daha kolay nüfuz etmesi sağlanmaktadır. Böylece sıcaklık artışı ile ekstraksiyon veriminde artış gözlenmektedir (Milella ve ark., 2019). Hadidi ve ark. (2020), yaptıkları çalışmada UDE ile yonca yapraklarından fenolik madde ekstrakte etmişler ve ekstraksiyon sıcaklığının artması ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyon veriminin arttığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, UDE ile narenciye yapraklarından fenolik madde ekstrakte edilmiş ve ekstraksiyon sıcaklığının 32°C'den 42°C'ye yükseltildiğinde fenolik madde miktarında hızlı bir artış olduğu belirlenmiştir (Ciğeroğlu ve ark., 2017). Chen ve ark. (2011) ise UDE kullanarak bakladan diyet lifi elde etmişlerdir. Araştırmacılar, çalışma sonucunda ekstraksiyon sıcaklığının yükselmesi ile ekstraksiyon veriminin arttığını bildirmişlerdir.

Ekstraksiyon verimini etkileyen önemli parametrelerden biri olan çözen/katı oranının artması ile ekstraksiyon veriminde artış gözlenmektedir. Sabit miktardaki katı örnek için kullanılan çözen miktarının artması, katı madde ile çözen arasındaki konsantrasyon farkını yükseltmekte ve böylece ekstraksiyon işlemi daha hızlı gerçekleşmektedir. Ancak, çözen/katı oranının belirli bir noktadan sonra artırılması ekstraksiyon işlemi sonrası çözenin uzaklaştırılması için daha fazla zaman ve enerji tüketimi gerektirmektedir (Escalpez ve ark., 2011). Cavuldak ve ark. (2019), UDE işlemi ile gerçekleştirdikleri karadut yaprağındaki fenolik maddelerin ekstraksiyon verimi üzerine, çözen/katı oranının etkili olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar, çözen oranının artmasıyla ultrasonik ses dalgaları ile bitki materyalinin parçalanmasının kolaylaştığını bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada ise moringa bitkisinden fenolik madde ekstraksiyonu amacıyla UDE işlemi kullanılmış ve çözen/katı oranının ekstraksiyon verimini etkilediği belirlenmiştir (Lin ve ark., 2021).

Ekstraksiyon verimini etkileyen parametrelerden bir diğeri ise genliktir. Genlik, probun uç noktasından itibaren oluşturulan salınımın mesafe olarak ölçüm değeridir ve ultrasonikasyon işleminde genlik artırıldıkça ultrasonikasyon uygulanan çözenin kavitasyon yoğunluğu artmaktadır (Isleroglu ve Turker, 2022). Oluşan kavitasyon ile lokal ısınma meydana gelerek bitki hücre duvarının yıkımı gerçekleşmektedir. Yıkım sonucu ekstraksiyon veriminde artış gözlenmektedir (Turan ve ark., 2021). Aynı zamanda belirli bir noktadan sonra ultrason genliğinin artışı, bitkinin daha fazla ısınmasına neden olarak bitki içindeki biyoaktif bileşenlere zarar vereceği de unutulmamalıdır (Chemat ve ark., 2017). Begum ve Deka (2019), muzdan diyet lifi elde etmek amacıyla UDE yöntemini kullanmışlardır. Araştırmacılar, UDE ile klasik ekstraksiyona göre daha yüksek oranda diyet lifi elde ettiklerini ve ultrason genliği ile ekstraksiyon verimi arasında doğrusal bir ilişki olduğunu bildirmişlerdir. Başka bir çalışmada, UDE işlemi kullanarak cevizin yeşil kabuklarından fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada bağımsız değişken olarak etanol konsantrasyonu (0, 15 ve 30%) ve ultrasonik genlik (%10, 50 ve 90) seçilmiş optimum koşul ~%65 ultrasonik genlik seviyesi olarak saptanmıştır (Sarıtaş, 2018).

UDE işleminde ekstraksiyon süresinin verimi önemli ölçüde etkilediği literatür çalışmalarında mevcuttur. UDE işleminde, bitki hücre duvarlarının mekanik olarak

parçalanması ve parçalanan bileşenlerin çözen içerisinde çözümleri için belirli bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır. İşlem süresinin artması ile bitki materyalinden çözücüye aktarılan bileşen miktarı ile birlikte verim artmaktadır. Ancak, uzun süreli ekstraksiyon uygulandığında biyoaktif bileşenlerin parçalanması da mümkün olabilmektedir (Zhou ve ark., 2013). Živković ve ark. (2018), UDE işlemi ile nar kabuğundan fenolik maddelerin ekstraksiyonunu gerçekleştirmişler ve farklı işlem parametrelerinin (sıcaklık, süre, katı/çözen oranı) ekstraksiyon üzerine etkilerini incelemişlerdir. Sonuçta, ekstraksiyon süresinin verimi etkileyen en önemli değişken olduğu belirlemişlerdir. Poorhashemi ve ark. (2020) ise hindistan cevizi tohumundan UDE ile fenolik madde ekstraksiyonunu gerçekleştirmişler ve uzun ekstraksiyon sürelerinde ekstrakttaki toplam fenolik madde içeriğinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Yerel bir satıcıdan temin edilen çemen otu tohumları (hasat dönemi 2020, coğrafi koordinatları; 39° 51' – 40° 55' kuzey enlemleri ve 35° 27' – 37° 29' doğu boylamları, 5 ay süre ile depolanmış) yabancı maddelerden arındırıldıktan sonra bir öğütücü (Sinbo SHB 3020, Türkiye) yardımı ile toz hale getirilerek 630 µm çaplı elekten geçirilmiştir. Tez kapsamında tüm ekstraksiyon işlemlerinde elek altı örnekleri (toplam öğütülen kütlenin %88'i) kullanılmıştır. Elek altı örneklerin nem içeriği %5.79±0.12 (yaş temel) ve yağ içeriği %16.15±1.02 (yaş temel) olarak belirlenmiştir. Diyet lifinin ekstraksiyon işlemlerinden önce örnekler hekzanla muamele edilerek yağ giderme işlemi yapılmıştır. Toz haline getirilen örnekler, analizler gerçekleştirilinceye kadar ağzı kapalı cam kavanozlarda, oda sıcaklığında, karanlık ortamda muhafaza edilmişlerdir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu

Klasik ekstraksiyon işlemi

Klasik ekstraksiyon işlemleri, ekstraksiyon süresi sabit olacak şekilde (2 saat) oda sıcaklığında 400 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir (Dastan ve ark., 2022). Klasik ekstraksiyon işleminde, ön denemeler sonucunda saf su oranı (0-100%, C₁), etanol oranı (0-100%, C₂) ve katı/çözgen oranı (g/l) bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Klasik ekstraksiyon işlemi ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için oluşturulan deneysel tasarım Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Klasik ekstraksiyon işlemi ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için uygulanan deneysel tasarım

Deneme No	Saf su (%) C ₁	Etanol (%) C ₂	Katı/çözgen (g/l) X ₁
1	100	0	2.0
2	75	25	15.5
3	25	75	15.5
4	50	50	11.0
5	100	0	2.0
6	50	50	11.0
7	50	50	20.0
8	100	0	20.0
9	50	50	11.0
10	100	0	20.0
11	50	50	2.0
12	0	100	11.0
13	100	0	6.5
14	50	50	20.0
15	0	100	2.0
16	0	100	2.0
17	50	50	11.0
18	0	100	20.0
19	100	0	11.0
20	0	100	20.0
21	25	75	6.5
22	75	25	6.5

Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi

Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) işlemi ½" proba sahip laboratuvar ölçekli bir sonikatör (Q500, 500 W, 20 kHz, Q Sonica L.L.C., Newtown, CT, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Proben ve örneklerin aşırı ısınmasını engellemek amacı ile ön denemelerle α değeri 4/5 olarak belirlenmiştir ($\alpha = t_{\text{açık}} / (t_{\text{açık}} + t_{\text{kapalı}})$; $t_{\text{açık}}$: sonikasyonun aktif olduğu süre (s), $t_{\text{kapalı}}$: sonikasyonun pasif olduğu süre (s)). Toplam sonikasyon süresi $t_{\text{açık}}$ zamanı üzerinden uygulanmıştır. Örneklerin aşırı ısınmasını önlemek için buz banyosu kullanılmış ve ekstraksiyon sıcaklığı ~25°C’de sabit tutulmuştur. UDE işleminde, klasik ekstraksiyon işleminden elde edilen saf su ve etanolden oluşan optimum çözgen karışım oranı kullanılmıştır. UDE işlemi ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için işlem değişkenleri ön denemeler ile katı/çözgen oranı (2–20 g/l, X₁), ultrasonik genlik (%30–80, X₂) ve ekstraksiyon süresi (20–120 dakika, X₃) olacak şekilde belirlenmiştir. UDE işlemi için oluşturulan deneysel tasarım Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi ile fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için uygulanan deneysel tasarım

Deneme No	Katı/çözgen (g/l) X ₁	Genlik (%) X ₂	Ekstraksiyon süresi (dak) X ₃
1	2	80	20
2	2	30	20
3	11	55	70
4	11	55	20
5	20	30	120
6	11	55	70
7	2	80	120
8	11	55	70
9	11	30	70
10	11	55	70
11	20	80	20
12	2	30	120
13	11	55	120
14	20	30	20
15	2	55	70
16	20	55	70
17	11	80	70
18	20	80	120
19	11	55	70
20	11	55	70

Fenolik ekstraktların ısıl stabilitelerinin belirlenmesi

Klasik ve UDE işlemleri ile en yüksek ekstraksiyon veriminin sağlandığı koşullarda elde edilen fenolik ekstraktların ısıl stabiliteleri, 5 farklı sıcaklık (60, 70, 80, 90, 100°C), 3 farklı pH değeri (pH 3.0, 6.0, 9.0) ve farklı sürelerde (0-72 saat) belirlenmiştir. Bu amaçla, klasik ve UDE işlemleri ile optimum noktalarda elde edilen ekstraktlar hazırlanmış ve her bir ekstrakt farklı pH değerlerine ayarlanarak farklı sıcaklıklarda ve farklı sürelerde su banyosunda (Memmert WB 22, Almanya) inkübasyona bırakılmıştır. Belirli zaman aralıkları (Çizelge 4.7-4.9) ile örneklerin toplam fenolik madde (TFM), toplam flavonoid (TFL), antioksidan aktivite (AA) ve toplam saponin (TS) içerikleri belirlenmiş ve bu değerler başlangıç değerlerine oranlanarak fenolik ekstraktların ısıl stabilitesi ortaya konmuştur.

3.2.2 Diyet lifi ekstraksiyonu ve karakterizasyonu

Klasik ekstraksiyon işlemi

Yağ giderme işlemi uygulanmış çemen otu tohumu örneklerinden klasik ekstraksiyon işlemi ile diyet lifi ekstraksiyonu, ekstraksiyon süresi sabit olacak şekilde (2 saat) oda sıcaklığında 450 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir (Türker ve ark., 2022). Diyet lifi ekstraksiyonunda çözen olarak farklı konsantrasyonlarda NaOH çözeltisi kullanılmış ve bağımsız değişkenler ön denemeler ile katı/çözen oranı (20-60 g/l, X_1) ve NaOH konsantrasyonu (0.5-2.0 M, X_2) olarak belirlenmiştir. Klasik ekstraksiyon işlemi ile diyet lifi ekstraksiyonu için oluşturulan deneysel tasarım Çizelge 3.3'te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Klasik ekstraksiyon işlemi ile diyet lifi ekstraksiyonu için uygulanan deneysel tasarım

Deneme No	Katı/çözen (g/l) (X_1)	NaOH konsantrasyonu (M) (X_2)
1	20	1.25
2	20	0.50
3	100	2.00
4	60	2.00
5	60	2.00
6	60	0.50
7	60	1.25
8	100	1.25
9	100	0.50
10	60	0.50
11	100	1.25
12	60	1.25
13	20	1.25
14	20	2.00
15	60	1.25

Çizelge 3.3'e göre gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinin ardından örnekler, 4500 rpm'de 15 dakika santrifüj (Hettich Universal 320 R, Almanya) işlemine tabi tutulmuştur. Süpernatant faz toplanarak, bu fazın 4 katı kadar hacimde %96'lık etanol ile karıştırılmış ve 1 saatlik süre ile 4°C'de bekletilmiştir. 1 saat sonunda örnekler santrifüj uygulanarak presipitat toplanmıştır. Ardından presipitat saf suda çözündürüldükten sonra pH değeri 7.0'ye ayarlanmış ve tekrar %96'lık etanol ile çöktürme işlemi uygulanmıştır. 2 saat süren çöktürme işlemi sonrasında, üst fazda kalan etanol uzaklaştırılmış ve kalıntı etanolün de

uzaklaştırılması amacı ile örnekler 50°C’de 12 saatlik süre ile sabit tartıma gelene kadar kurumaya bırakılmıştır. Kuru kısım tartılarak çözünür diyet lifi elde edilmiştir. İlk santrifüj işleminden sonra, presipitat saf su ile yıkanarak pH değeri 7.0 düzeyine gelecek şekilde ayarlanmıştır. Ardından %96’lık etanol ile iki kez yıkanan örnekler 50°C’de 12 saat süre ile sabit tartıma gelene kadar kurutulmuş ve çözünmez diyet lifi elde edilmiştir. Çözünür ve çözünmez diyet lifi miktarları toplanarak toplam diyet lifi içeriği hesaplanmıştır. Çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi için ekstraksiyon verimleri, elde edilen diyet lifi miktarının ekstraksiyonda kullanılan yağsız çemen otu tohumu miktarına oranlanması ile hesaplanmıştır (Eşitlik 3.1, Eşitlik 3.2 ve Eşitlik 3.3).

$$\text{Çözünür Diyet Lifi Verimi (\%)} = \frac{\text{çözünür diyet lifi miktarı (g)}}{\text{yağsız çemen otu tohumu miktarı (g)}} \times 100 \quad (3.1)$$

$$\text{Çözünmez Diyet Lifi Verimi (\%)} = \frac{\text{çözünmez diyet lifi miktarı (g)}}{\text{yağsız çemen otu tohumu miktarı (g)}} \times 100 \quad (3.2)$$

$$\text{Toplam Diyet Lifi Verimi (\%)} = \frac{\text{çözünür diyet lifi} + \text{çözünmez diyet lifi miktarı (g)}}{\text{yağsız çemen otu tohumu miktarı (g)}} \times 100 \quad (3.3)$$

Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi

Yağı giderilmiş çemen otu tohumlarından UDE işlemi ile diyet lifi ekstraksiyonu ½" proba sahip laboratuvar ölçekli sonikatör kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminde örneklerin aşırı ısınmasını engellemek için kullanılan α değeri ve buz banyosu düzeneği fenolik bileşenlerin UDE işleminde kullanıldığı şekli ile uygulanmıştır. Klasik ekstraksiyonda optimum noktada belirlenen konsantrasyonda NaOH çözgen olarak kullanılmış ve bu konsantrasyon tüm koşullar için sabit tutulmuştur. Bağımsız değişkenler ön denemeler ile katı/çözgen oranı (20-60 g/l, X_1), ultrasonik genlik (%30-80, X_2) ve ekstraksiyon süresi (5-40 dakika, X_3) olarak belirlenmiştir. İşlem yanıtı olarak toplam diyet lifi verimi kullanılmıştır. Diyet liflerinin UDE işlemi için oluşturulan deneysel tasarım Çizelge 3.4’te verilmiştir. UDE işleminde ekstrakte edilen çözünür diyet lifi ve çözünmez diyet lifinin izolasyon aşamaları klasik ekstraksiyon ile aynı olacak şekilde uygulanmıştır. Klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri ile diyet lifi ekstraksiyon ve izolasyon basamakları şematik olarak Şekil 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.4. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi ile diyet lifi ekstraksiyonu için uygulanan deneysel tasarım

Deneme No	Katı/çözgen (g/l) (X ₁)	Genlik (%) (X ₂)	Ekstraksiyon süresi (dak)
1	60	80	22.5
2	100	80	5.0
3	20	30	40.0
4	100	55	22.5
5	60	55	22.5
6	60	30	22.5
7	20	55	22.5
8	60	55	5.0
9	20	55	22.5
10	100	30	40.0
11	100	80	40.0
12	20	80	40.0
13	60	55	22.5
14	20	80	5.0
15	20	30	5.0
16	60	55	40.0
17	60	55	40.0
18	60	80	22.5
19	60	30	22.5
20	60	55	5.0
21	100	30	5.0
22	100	55	22.5
23	60	55	22.5

Klasik Ekstraksiyon

0.5-2.0 M NaOH
20-60 g/l katı/çözgen oranı
(250 ml toplam hacim)



120 dakika 450 rpm'de karıştırma



50 ml'lik santrifüj tüplerine aktarma, 4500 rpm'de 15 dak santrifüj işlemi (4°C)



Süpernatantların toplanması,
toplanan süpernatantlara 4 kat fazla
hacimde %96'lık etanol ilavesi ve
1 saat süre ile çöktürme (4°C)



6000 rpm'de 5 dakika santrifüj
(4°C)



Elde edilen presipitatların saf suda
çözündürülmesi, pH'nın 7.0'ye
ayarlanması ve tekrar %96'lık
etanol ile çöktürme (4°C)



Etanolün uzaklaştırılması ve
50°C'de 12 saatlik kurutma işlemi
(etüvde)



Çözünür Diyet Lifi

Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon

1.01 M NaOH
20-60 g/l katı/çözgen oranı
%30-80 genlik (250 ml toplam hacim)



5-40 dakika süre ile ultrasonikasyon



50 ml'lik santrifüj tüplerine aktarma, 4500 rpm'de 15 dak santrifüj işlemi (4°C)



Presipitatların Toplanması



Saf su ile yıkama (iki defa) ve
pH'nın 7.0'ye ayarlanması



%96'lık etanol ile yıkama (iki defa)



Etanolün uzaklaştırılması ve
50°C'de 12 saatlik kurutma işlemi
(etüvde)



Çözünmez Diyet Lifi

Şekil 3.1. Klasik ve ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemlerinde diyet lifi izolasyon aşamaları

Diyet lifi depolama stabilitelerinin belirlenmesi

Klasik ve UDE işlemi ile optimum koşullarda elde edilen çözünür ve çözünmez diyet lifleri ayrı ayrı alüminyum kaplı polietilen (ALPE) (10 µm polietilen tereftalat + 6 µm alüminyum + 40 µm düşük yoğunluklu polietilen) ambalaj materyali içerisinde 25°C’de %40 RH koşulunda 6 ay, 38°C’de %90 RH koşulunda ise 3 ay süre ile depolanmıştır. Örneklerin fonksiyonel ve fiziko-kimyasal özelliklerindeki değişim 6 aylık depolamada her 30 günde bir, 3 aylık depolamada her 15 günde bir takip edilmiştir. Depolama denemeleri 2 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.3 Analiz Yöntemleri

3.3.1 Fenolik ekstraktların karakterizasyonu

Toplam fenolik madde tayini

Toplam fenolik madde tayininde Singleton ve Rossi (1965) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktlar belirli oranlarda seyreltildikten sonra 250 µl örneğin üzerine %50’lik (suda) Folin-Ciocalteu çözeltisi eklenmiştir. Bu karışımın üzerine 500 µl Na₂CO₃ (210 g/l) çözeltisi ve 4 ml saf su eklenmiştir. 25 dakika süre ile oda sıcaklığında ve karanlıkta bekletilen örnekler 3800 rpm’de 10 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Ayrılan süpernatant fazların 760 nm dalga boyunda absorbanları okunarak (Perkin-Elmer Lambda EZ 201, ABD) toplam fenolik madde miktarları gallik asit eşdeğeri (mg gallik asit /g kuru örnek) cinsinden ifade edilmiştir (Singleton ve Rossi, 1965).

Toplam flavonoid tayini

Örneklerin toplam flavonoid miktarı Belguith-Hadriche ve ark. (2013) tarafından bildirilen alüminyum klorür yöntemi kullanarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Seyreltilmiş 1 ml örnek 10 ml’lik bir tüpe alınarak üzerine 4 ml saf su eklenmiştir. Bu karışıma 0.3 ml %5’lik NaNO₂ eklenmiş ve 5 dakikalık inkübasyon sonunda 0.3 ml %10’luk AlCl₃ çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra, 2 ml NaOH (1 M) çözeltisi eklenerek toplam hacim 10 ml’ye saf su ile tamamlanmıştır. Örneklerin absorban değerleri 510

nm’de okunarak toplam flavonoid miktarı mg kuersetin/g kuru örnek cinsinden hesaplanmıştır (Belguith-Hadriche ve ark., 2013).

Toplam saponin tayini

Örneklerin toplam saponin miktarı Akbari ve ark. (2019) tarafından bildirilen yöntemin modifiye edilmiş hali kullanılarak belirlenmiştir. Öncelikle, 0.2 ml ekstrakt 0.35 ml %0.8 vanilin ve 0.8 ml saf su karıştırılmıştır. Sonrasında, 1.25 ml H₂SO₄ (%72, v/v) eklenen örnekler vorteks (Isolab MI0101002, Almanya) ile karıştırılmış ve su banyosunda 60°C’de 10 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda örnekler hızlı bir şekilde buz banyosuna alınarak soğutulmuştur. Örneklerin absorbens değerleri 544 nm’de okunarak toplam saponin miktarı mg diosgenin/g kuru örnek cinsinden belirlenmiştir (Akbari ve ark., 2019).

Antioksidan aktivite tayini

Ekstraksiyon işlemlerinde uygulanan deneysel tasarıma göre tüm koşullarda elde edilen fenolik ekstraktların antioksidan aktiviteleri iki farklı yöntem kullanılarak belirlenmiştir. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) analizi Pajak ve ark. (2019) tarafından bildirilen yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Belirli oranlarda seyreltilen ekstraktlardan 50 µl örnek bir tüp içerisine aktarılmış ve üzerine 0.1 mM konsantrasyonda 1.95 ml DPPH çözeltisi eklenmiştir. 30 dakika süre ile oda sıcaklığında karanlıkta bekletilen örneklerin 515 nm dalga boyunda absorbensleri okunarak antioksidan aktivitesi mg Trolox/g kuru örnek cinsinden ifade edilmiştir (Pajak ve ark., 2019).

ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) diamonyum tuzu) analizi Pajak ve ark. (2019) tarafından bildirilen yöntem modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. İlk olarak ABTS-K₂S₂O₈ çözeltisi hazırlanmıştır. Bu amaçla, 7 mM ABTS stok çözeltisi ve 2.45 mM K₂S₂O₈ hazırlanarak eşit oranda karıştırılmış ve 16 saat süre ile karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında hazırlanan çözeltiden 1 ml alınarak 54 ml tampon çözelti (20 mM sodyum asetat, pH 4.5) içerisinde seyreltilmiştir. ABTS-K₂S₂O₈ çözeltisinin 734 nm dalga boyunda okuma değeri 0.700±0.02 olarak elde edilmiştir. 2850 µl çözelti, 150 µl ekstrakt ile karıştırıldıktan sonra bu karışım 30 dakikalık süre ile oda sıcaklığında karanlıkta bekletilmiştir. Ekstraktta bulunan antioksidan aktivite gösteren

bileşenlerin ABTS radikalini süpürme kapasitesi 734 nm dalga boyunda mg Trolox/g kuru örnek cinsinden belirlenmiştir (Pajak ve ark., 2019).

3.3.2 Diyet lifi karakterizasyonu

Klasik ekstraksiyon ve UDE işlemlerinde deneysel tasarıma göre tüm koşullarda izole edilen çözünür ve çözünmez diyet lifi örnekleri için fiziko-kimyasal özellikler (su tutma kapasitesi, yağ tutma kapasitesi, şişme kapasitesi) ve fonksiyonel özellikler (glukoz adsorpsiyon kapasitesi ve α -amilaz inhibisyon kapasitesi) belirlenmiştir.

Fiziko-kimyasal özellikler

Su tutma kapasitesi

Su tutma kapasitesi Ma ve Mu (2016) tarafından bildirilen yöntem ile gerçekleştirilmiştir. 15 ml saf su, 50 ml'lik santrifüj tüpü içerisinde yer alan 0.1 g örnek üzerine eklenmiştir. Vorteks ile karıştırılan örnekler 1 saat oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. 3000 rpm hızında 20 dakikalık santrifüj sonrasında, süpernatant faz uzaklaştırılarak kalan örnek tartılmıştır. Su tutma kapasitesi, g su/g kuru örnek cinsinden ifade edilmiştir (Ma ve Mu, 2016).

Yağ tutma kapasitesi

Diyet lifi örneklerinin yağ tutma kapasitesinin belirlenmesi amacı ile su tutma kapasitesi analizinde uygulanan yöntemde su yerine natürel sızma zeytinyağı (Kırlangıç, Türkiye) kullanılmıştır. Yağ tutma kapasitesi g yağ/g kuru örnek cinsinden hesaplanmıştır (Ma ve Mu, 2016).

Şişme kapasitesi

Örneklerin şişme kapasitesi Sun ve ark. (2018) tarafından bildirilen yöntem ile gerçekleştirilmiştir. Öncelikle 0.2 g diyet lifi örneği 10 ml'lik mezür içerisine tartılmıştır. Örneği içeren mezüre %0.02 konsantrasyonda (suda) 5 ml sodyum azid eklenmiş ve oluşan kabarcıkların giderilmesi amacıyla mezür yavaşça çalkalanmıştır. En az 12 saat oda sıcaklığında bekletilen örneklerin şişme kapasitesi (ml/g kuru örnek) Eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Şişme Kapasitesi (ml/g kuru örnek)} = (v_1 - v_0)/m_0 \quad (3.4)$$

Burada,

v_1 su çeken örneğin hacmi (ml), v_0 örneğin başlangıç hacmi (ml) ve m_0 örneğin başlangıç kütlesidir (g).

Fonksiyonel özellikler

Glukoz adsorpsiyon kapasitesi

Diyet lifi örneklerinin glukoz adsorpsiyon kapasitesi için Chu ve ark. (2019) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. 0.1 g lif örneği 100 mmol/l konsantrasyonda 5 ml glukoz çözeltisi ile bir deney tüpü içinde karıştırılmıştır. Örnekler 37°C’de 6 saat inkübe edildikten 6000 rpm’de 10 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır. Süpernatant faza DNS (dinitrosalisilik asit) ile şeker tayini uygulanmış (Miller, 1959) ve glukoz adsorpsiyon kapasitesi mmol glukoz/g kuru örnek cinsinden Eşitlik 3.5 ile hesaplanmıştır.

$$\text{Glukoz adsorpsiyon kapasitesi (mmol/g kuru örnek)} = (G_1 - G_2)/m \times V \quad (3.5)$$

Burada,

G_1 adsorpsiyon öncesi glukoz konsantrasyonu (mmol/g), G_2 adsorpsiyon sonrası glukoz konsantrasyonu (mmol/g), m örnek kütlesi (g) ve V süpernatant hacmi (ml) olarak ifade edilmiştir.

α -amilaz inhibisyon kapasitesi

Diyet lifi örneklerinin α -amilaz inhibisyon kapasitesi için Ma ve Mu (2016) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. α -amilaz %4’lük nişasta çözeltisi ile diyet lifi örnekleri karıştırılarak önce 37°C’de 30 dakika, sonrasında 100°C’de 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonrasında örnekler 3219 g’de (5370 rpm) 30 dakika santrifüj işlemine (Hettich EBA 21, Almanya) tabi tutulmuştur. Toplanan süpernatantların glukoz içeriği DNS (dinitrosalisilik asit) metodu ile belirlenmiştir (Miller, 1959). Örneklerin α -amilaz inhibisyon kapasitesi Eşitlik 3.6 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\alpha\text{-amilaz inhibisyon kapasitesi (\%)} = \frac{(A_2 - A_1)}{A_2} \times 100 \quad (3.6)$$

Burada,

A₁ diyet lifi içeren örneklerin, A₂ diyet lifi içermeyen örneğin 540 nm'deki absorbanlarıdır.

3.4 İstatistiksel Analiz ve Optimizasyon

İstatistiksel analizler SPSS 21.0 (SPSS Inc., USA) ve Design Expert 7.0 paket programları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tahminlenen değerler ile deneysel veriler arasında fark olup olmadığını belirlemeye yönelik tek örnek t-testi ile diyet lifi örneklerinin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin karşılaştırılmasında kullanılan 'Univariate Varyans Analizi, Duncan post hoc' testi SPSS 21.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fenolik bileşenler ve diyet lifi ekstraksiyon işlemlerinde tüm işlem değişkenlerinin etkisinin belirlenmesinde uygulanan regresyon analizi, istatistiksel analizler, izohips grafikleri, yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon işlemleri Design Expert 7.0 (Stat-Ease, Inc., USA) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Fenolik bileşenlerin klasik ekstraksiyon işleminde D-optimal Karışım Dizaynı (Çizelge 3.1), UDE işleminde ise Merkezi Tümlleşik Tasarım (Çizelge 3.2) kullanılmış ve 'istenirlik (desirability)' fonksiyonu yaklaşımına göre işlem koşulları en yüksek antioksidan aktiviteyi (DPPH) sağlayacak şekilde optimize edilmiştir (Çizelge 3.1). Optimum koşulların belirlenmesinde yanıt için elde edilen ikinci dereceden polinomiyal modeller kullanılmış ve numerik optimizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Yanıtın regresyon analizinde, klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri için kullanılan modeller sırasıyla Eşitlik 3.7 ve 3.8'de verilmiştir.

$$\text{Antioksidan aktivite, DPPH} = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i C_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} C_i^2 + \sum_{i=1}^k \alpha_i X_i + \sum_{i=1}^k \alpha_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \alpha_{ij} C_{ij} X_{ij} \quad (3.7)$$
$$k = 1, 2$$

$$\text{Antioksidan aktivite, DPPH} = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} X_{ij} \quad (3.8)$$
$$k = 1, 2, 3$$

Diyet lifi ekstraksiyonu için uygulanan klasik ekstraksiyon ve UDE işlemlerinde Merkezi Tümlleşik Tasarım kullanılarak ‘isteninirlik’ fonksiyonu yaklaşımına göre işlem koşulları en yüksek toplam diyet lifi verimini sağlayacak şekilde optimize edilmiştir (Çizelge 3.3 ve Çizelge 3.4). Optimum koşulların elde edilmesinde ikinci dereceden polinomiyal modeller kullanılmış ve nümerik optimizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Diyet lifi ekstraksiyonunda hem klasik ekstraksiyon hem de UDE işlemleri için regresyon analizinde kullanılan model Eşitlik 3.9’da verilmiştir.

$$\text{Toplam diyet lifi verimi (\%)} = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k \beta_{ij} X_{ij} \quad (3.9)$$

$$k = 1, 2, 3$$

Eşitliklerde, β_0 sabit katsayıyı, C_i i’inci çözgen karışım oranını, α katsayıyı, α_{ij} i’inci gözlemin katsayısını, β_i i’inci gözlemin katsayısını, β_{ij} i’inci gözlemin j’inci katsayısını, k bağımsız değişken sayısını, X_i i’inci bağımsız değişkeni, X_{ij} ise i’inci gözlemin j’inci bağımsız değişkenini ifade etmektedir.

Fenolik bileşen ve diyet lifi ekstraksiyonunda elde edilen sonuçlara göre işlem değişkenlerinin yanıt üzerindeki etkisi varyans analizi (ANOVA) tablosu kullanılarak belirlenmiştir. Varyans analizleri Design Expert Version 7.0 paket programı kullanılarak yapılmıştır. Ayrıca, her bir bağımsız değişkenin yanıt üzerindeki lineer, interaksiyon ve kuadratik etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği de belirlenmiştir. Etkilerin istatistiksel olarak model açısından önemliliği p değerinden bulunmuştur. Ayrıca, deneysel dizaynların merkez noktalarında yapılan tekrarlar ile kalıntı hata değerleri, saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu olarak ayrılmış ve ANOVA çizelgesinde gösterilmiştir. İdeal olarak modelin, matematiksel formunun uygunsuzluğu (model uygunsuzluğu) için önemsiz ve regresyon modeli için önemli olması gerekmektedir. Belirlenen optimum koşullarda üç adet deneme yapılarak optimum nokta doğrulama testleri gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Çemen Otu Tohumundan Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu, Karakterizasyonu ve Isıl Stabiliteleri

4.1.1 Fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu

Klasik ekstraksiyon işlemi

Çemen otu tohumundan klasik ekstraksiyon ile fenolik ekstraktların eldesi için kullanılan deneysel tasarım ve analiz sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Klasik ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstraktlar için sonuçlar incelendiğinde, çözgen karışım oranı ve katı/çözgen oranının TFM ve TFL değerleri üzerinde etkili olduğu görülmektedir (Çizelge 4.1). Çözgen olarak yalnızca etanol kullanıldığında, TFM ve TFL değerlerinin azaldığı tespit edilmiştir. Buna karşın, saf su ve etanol ikili karışımında her iki çözgenin de eşit oranda kullanıldığı durumda ekstraktların TFM ve TFL değerlerinin önemli ölçüde arttığı görülmektedir (Çizelge 4.1). Ayrıca artan katı/çözgen oranı değerlerinde TFM ve TFL değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Saf su ve etanol karışım oranının eşit olduğu ve katı/çözgen oranının 6.5 ve 11 g/l olduğu koşullarda en yüksek TFM ve TFL değerlerinin elde edildiği bulgulanmıştır. Ek olarak, çözgen karışımında etanolün %50’den yüksek olduğu ekstraksiyon koşullarında TFM ve TFL değerlerinin azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.1). Bu durum, aktif bileşenlerin farklı çözgenlerdeki çözünürlüğü ve çözgen karışımının polaritesi ile ilişkilendirilmektedir (Liu ve ark., 2012). Fenolik bileşiklerdeki aromatik halkalarda bulunan hidroksil gruplarından dolayı her bileşen farklı polarite derecelerine sahip çözgenler ile ekstrakte edilebilmektedir (Dastan ve ark., 2022). Etanol konsantrasyonunun %50’den fazla olduğu durumda çözgen karışımının polaritesi azalmaktadır (Alcantara ve ark., 2019). Bu durumun çemen otu tohumundaki fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu sınırlayarak TFM ve TFL değerlerinin azalmasına neden olduğu düşünülmektedir. Literatürde klasik ekstraksiyon (maserasyon) işlemi kullanılarak çemen otu tohumundan fenolik ekstraktların elde edildiği birkaç çalışma mevcuttur (Dixit ve ark., 2005; Bhanger ve ark., 2008; Belguith-Hadriche ve ark., 2013; Kenny ve ark., 2013; Mashkor, 2014; Akbari ve ark., 2019; Pajak ve ark., 2019; Daştan ve ark., 2021) Dixit ve ark. (2005), çimlendirilmiş çemen otu tohumu

ekstraktlarının antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Fenolik maddeler 100 g/l katı/çözgen (saf su) oranında 1 saat karıştırılarak ekstrakte edilmiş ve TFM içeriği 64.61 mg gallik asit/g kuru örnek, TFL içeriği 19.14 mg kuersetin/g kuru örnek olarak belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, çimlendirilmiş çemen otu tohumundan fenolik madde ekstraksiyonunda çözgen olarak yalnızca saf su kullanılabileceği bildirilmiştir (Dixit ve ark., 2005). Gerçekleştirilen tez çalışmasında ise çemen otu tohumlarından klasik ekstraksiyon ile fenolik ekstraktların eldesi amacıyla çözgen olarak saf su ve etanol karışımı kullanılmış ve en uygun katı/çözgen oranı tespit edilmiştir. Katı/çözgen oranının ekstraksiyon işlemleri için önemli bir parametre olduğu bilinmektedir. Akbari ve ark. (2019) çemen otu tohumlarından klasik ekstraksiyon işlemi ile fenolik bileşen ve flavonoid ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada farklı etanol karışım oranları (%40-80) ve katı/çözgen oranları (1:8-1:12, 0.083-0.125 g/ml) kullanılmıştır. Sonuçlara göre en yüksek değerlerin %60'lık etanol ve 1:10 (0.1 g/ml) katı/çözgen oranı için elde edildiği belirlenmiştir. Saf suyun dielektrik özelliğine bağlı olarak, çözgen olarak saf su ve etanol karışımı kullanıldığında TFM ve TFL değerlerinin artış gösterdiği bildirilmiştir (Akbari ve ark., 2019). Buna karşın, saf suyun oranı artırıldığında daha yüksek oranda gam ekstrakte edileceği için fenolik madde ve flavonoidlerin veriminin düşeceği belirtilmiştir (Wani ve ark., 2016). Gerçekleştirilen tez çalışmasında da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Yüksek katı/çözgen oranlarında ve çözgen olarak yalnızca saf su kullanıldığında, ürünün yapısında bulunan gamların yüksek oranda ekstraksiyonu sebebiyle oldukça kıvamlı bir ekstrakt elde edilmesine bağlı olarak TFM ve TFL değerlerinin azaldığı düşünülmektedir. Yüksek kıvamlı ekstraktların filtrasyon işlemi de zorlaştığından, TFM ve TFL değerlerinde azalma görüldüğü tahmin edilmektedir. TFM ve TFL değerlerinde görülen değişimler Şekil 4.1a ve Şekil 4.1b'de yanıt yüzey grafikleri ile gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. Klasik ekstraksiyon işlemi için deneysel tasarım ve analiz sonuçları

Deneme No	Saf Su (%) C ₁	Etanol (%) C ₂	Katı/çözgen (g/l) X ₁	TFM	TFL	AA (DPPH)	AA (ABTS)	TS
1	100	0	2	98.89 (±4.21)	67.38 (±2.92)	3.45 (±0.05)	17.34 (±0.64)	183.96 (±1.85)
2	75	25	15.5	105.12 (±0.87)	70.64 (±1.38)	3.33 (±0.02)	16.41 (±0.12)	102.25 (±3.98)
3	25	75	15.5	67.58 (±0.11)	46.90 (±0.25)	2.21 (±0.06)	11.25 (±0.50)	90.42 (±1.59)
4	50	50	11	116.10 (±3.06)	79.24 (±1.59)	3.86 (±0.10)	19.10 (±0.06)	128.71 (±0.45)
5	100	0	2	95.92 (±1.68)	68.76 (±0.01)	3.35 (±0.05)	16.75 (±0.06)	180.91 (±1.23)
6	50	50	11	116.64 (±1.07)	79.87 (±1.06)	3.85 (±0.21)	18.81 (±0.12)	124.27 (±0.45)
7	50	50	20	87.24 (±0.25)	59.71 (±0.29)	3.02 (±0.07)	15.00 (±0.06)	71.82 (±1.23)
8	100	0	20	74.51 (±0.59)	51.99 (±0.10)	2.46 (±0.04)	12.22 (±0.22)	61.79 (±3.09)
9	50	50	11	111.88 (±1.07)	75.24 (±0.18)	3.52 (±0.03)	17.57 (±0.35)	119.83 (±2.24)
10	100	0	20	73.14 (±0.67)	50.47 (±0.88)	2.03 (±0.01)	10.25 (±0.38)	62.66 (±0.62)
11	50	50	2	116.74 (±0.84)	79.09 (±0.97)	4.01 (±0.12)	20.28 (±0.32)	196.62 (±2.47)
12	0	100	11	22.52 (±1.38)	15.48 (±0.35)	0.71 (±0.08)	3.75 (±0.23)	121.10 (±2.24)
13	100	0	6.5	96.52 (±2.07)	65.04 (±1.20)	3.33 (±0.03)	16.58 (±0.49)	188.39 (±1.90)
14	50	50	20	86.41 (±1.09)	58.26 (±0.19)	2.97 (±0.07)	14.80 (±0.42)	71.39 (±4.32)
15	0	100	2	35.82 (±0.84)	23.63 (±1.46)	1.27 (±0.07)	6.12 (±0.26)	210.14 (±4.32)
16	0	100	2	34.63 (±0.84)	21.56 (±0.49)	1.18 (±0.12)	5.80 (±0.32)	213.20 (±2.47)
17	50	50	11	110.15 (±1.07)	73.23 (±0.53)	3.42 (±0.03)	17.12 (±0.64)	122.37 (±0.45)
18	0	100	20	16.73 (±1.51)	10.79 (±1.07)	0.57 (±0.06)	2.90 (±0.16)	81.86 (±3.09)
19	100	0	11	87.98 (±1.22)	59.20 (±1.59)	2.93 (±0.08)	14.69 (±0.23)	168.38 (±0.90)
20	0	100	20	17.62 (±1.43)	10.44 (±0.19)	0.63 (±0.08)	3.10 (±0.32)	82.73 (±1.85)
21	25	75	6.5	92.13 (±2.07)	61.43 (±0.60)	2.88 (±0.05)	14.29 (±0.20)	155.90 (±0.76)
22	75	25	6.5	116.84 (±2.85)	79.67 (±1.20)	4.11 (±0.08)	20.76 (±0.49)	163.42 (±0.77)

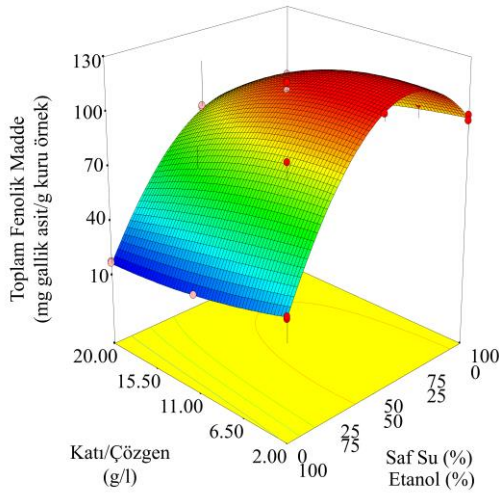
TFM: Toplam fenolik madde (mg gallik asit/g kuru örnek), TFL: Toplam flavonoid (mg kuersetin/g kuru örnek), AA: Antioksidan aktivite (mg Trolox/g kuru örnek), TS: Toplam saponin (mg diosgenin/g kuru örnek)

AA değerlerinde meydana gelen değişimlerin TFM ve TFL değerlerinde gözlenen değişimler ile benzer olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). Dolayısıyla, çemen otu tohumu örneklerinin antioksidan aktivitesinin çoğunlukla fenolik maddeler ve flavonoidler ile sağlandığı düşünülmektedir. Şekil 4.1c ve Şekil 4.1d incelendiğinde, iki farklı yöntemle belirlenen AA için elde edilen yanıt yüzey grafiklerinin TFM ve TFL grafikleri ile oldukça benzer olduğu görülmektedir. Literatürde, çemen otu tohumu ekstraktlarında antioksidan aktivitenin fenolik madde içeriği ile doğru orantılı olduğunu bildirilmiştir (Bhanger ve ark., 2008; Mashkor, 2014; Akbari ve ark., 2019). Pajak ve ark. (2019), içerisinde çemen otu tohumlarının da bulunduğu farklı bitkisel materyallerin antioksidan aktivitelerini incelemiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çemen otu tohumu ekstraktlarında DPPH ve ABTS cinsinden antioksidan aktivite değerleri sırasıyla 2.15 ve 15.73 mg Trolox/g kuru örnek olarak tespit edilmiştir.

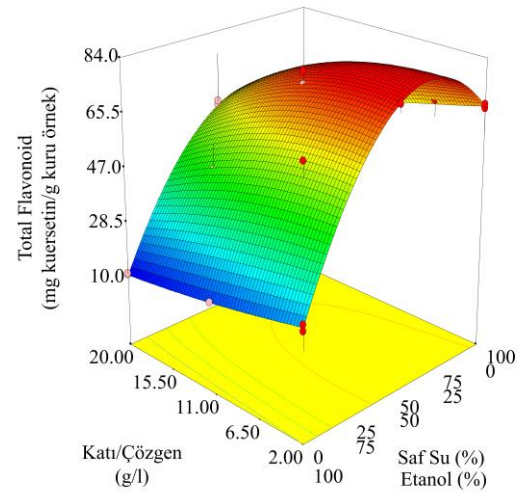
Fenolik ekstraktların TS içeriği incelendiğinde, orta seviyedeki katı/çözgen oranlarında artış görüldüğü belirlenmiştir (Şekil 4.1e). Özellikle katı/çözgen oranı 20 g/l olduğunda görülen düşük TS değerleri, TFM ve TFL değerlerinde olduğu gibi fazla miktarda gam ekstrakte edilmesi ile ilişkilendirilebilir (Akbari ve ark., 2019). Katı/çözgen oranının artması sonucunda çözgenin bitki dokusuna geçişinin zayıflaması sebebiyle ekstraksiyon

veriminin azaldığı, katı/çözgen oranının azalması durumunda ise konsantrasyon gradyanının artması sebebiyle artan difüzyon hızı ile birlikte ekstraksiyon veriminin arttığı bilinmektedir (Cacace ve Mazza, 2003). Ancak, biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda denge noktasına ulaşıldığında çözgen miktarının artırılması ekstraksiyon verimini değiştirmemektedir. Bu nedenle ekstraksiyonda kullanılacak olan optimum katı/çözgen oranının, ekstraksiyonda hedef bileşenin en yüksek verimde elde edilebilmesi için tespit edilmesi gerekmektedir (Barbosa-Cánovas, 2013).

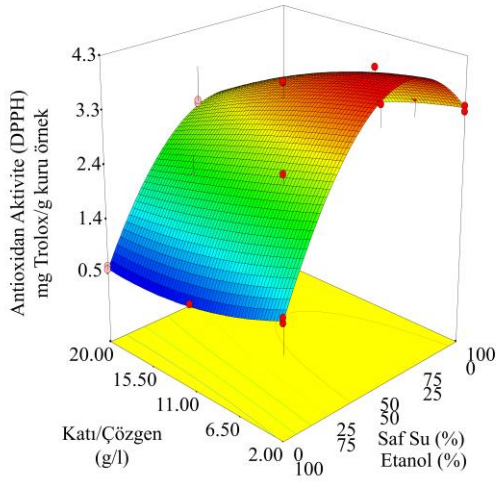
Çizelge 4.2’de çemen otu tohumundan klasik ekstraksiyon ile elde edilen biyoaktif bileşenler için oluşturulan ANOVA tablosu gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre TFM, TFL ve AA (DPPH ve ABTS) değerleri için model ve lineer karışım etkileri istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$), model uygunsuzluğu değerleri ise istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) bulunmuştur. Çizelge 4.2 incelendiğinde çözgen karışım oranı ve katı/çözgen oranının TFM, TFL ve AA (DPPH ve ABTS) değerlerini istatistiksel olarak etkilediği görülmektedir ($p < 0.05$). TS için ise çözgen karışım oranının doğrusal etkisinin istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) olduğu tespit edilmiştir. Diğer yandan, katı/çözgen oranı ile çözgenlerin bireysel doğrusal ve kuadratik interaksiyonları TS değerleri için istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



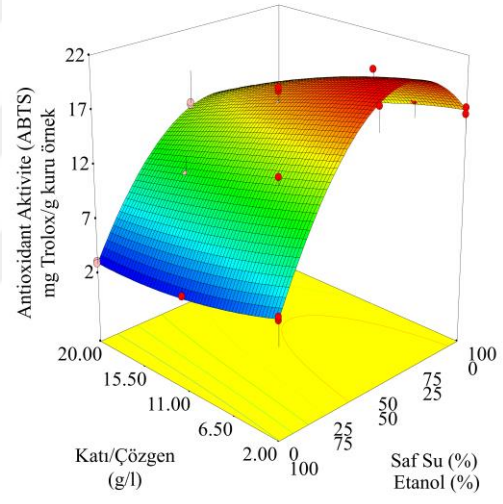
(a)



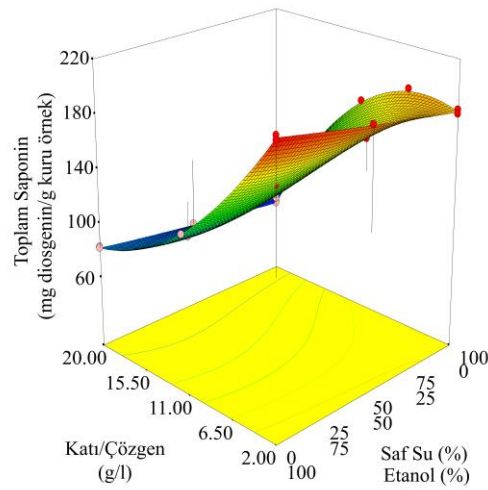
(b)



(c)



(d)



(e)

Şekil 4.1. Klasik ekstraksiyon sonucunda elde edilen yanıt yüzey grafikleri (a) TFM, (b) TFL, (c) AA (DPPH), (d) AA (ABTS), (e) TS

Çizelge 4.2. Klasik ekstraksiyon işlemi için ANOVA tablosu ve istatistiksel veriler

Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Toplamı						F Değeri				p - Değeri				
		TFM	TFL	TS	AA (DPPH)	AA (ABTS)	TFM	TFL	TS	AA (DPPH)	AA (ABTS)	TFM	TFL	TS	AA (DPPH)	AA (ABTS)
Model	8	24398.5	11557.8	52954.7	27.17	676.99	335.4	328.4	909.7	134.96	170.20	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Lineer Karışım	1	10235.0	5103.5	18.4	11.43	287.10	1125.6	1160.3	2.5	454.18	577.44	< 0.0001	< 0.0001	0.1361	< 0.0001	< 0.0001
C ₁ C ₂	1	5055.1	2336.5	746.1	5.03	119.02	556.0	531.2	102.5	199.93	239.40	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
C ₁ X ₁	1	588.5	301.7	15430.2	1.49	37.87	64.7	68.6	2120.7	59.16	76.17	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
C ₂ X ₁	1	373.2	159.7	17098.3	0.42	9.05	41.1	36.3	2350.0	16.69	18.20	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0013	0.0009
C ₁ C ₂ X ₁	1	60.3	23.2	6.1x10 ⁻⁴	0.023	1.10	6.6	5.3	8.3x10 ⁻⁵	0.91	2.21	0.0230	0.0390	0.9929	0.3564	0.1606
C ₁ X ₁ ²	1	11.6	0.02	2252.8	0.031	0.75	1.3	5.3x10 ⁻³	309.6	1.24	1.51	0.2792	0.9431	< 0.0001	0.2855	0.2406
C ₂ X ₁ ²	1	11.9	1.0	550.4	0.049	0.69	1.3	0.23	75.7	1.95	1.39	0.2739	0.6410	< 0.0001	0.1860	0.2598
C ₁ C ₂ X ₁ ²	1	112.3	55.7	379.0	0.024	0.18	12.4	12.7	52.1	0.96	0.37	0.038	0.0035	< 0.0001	0.3460	0.5537
Kalıntı	13	118.21	57.18	94.59	0.33	6.46										
Model Uygunsuzluğu	5	81.07	21.29	42.21	0.068	1.54	3.49	0.95	1.29	0.42	0.50	0.0570	0.4995	0.3562	0.8212	0.7677
Saf hata	8	37.14	35.89	52.38	0.26	4.92										
Toplam	21	24516.7	11615.0	53049.2	27.50	683.45										

R²: 0.9881, adj- R²: 0.9808, Adequate Precision: 34.289, PRESS: 1.03, C.V. (%):5.91

C₁: Saf su (%), C₂: Etanol (%), X₁: katı/çözgen (g/l), TFM: Toplam fenolik madde, TFL: Toplam flavonoid, AA: Antioksidan aktivite, TS: Toplam saponin SD: Serbestlik derecesi

Klasik ekstraksiyon işleminin optimizasyonu için AA (DPPH) değerleri yanıt olarak seçilmiş ve ikinci dereceden polinomiyal bir model oluşturulmuştur. İkinci dereceden polinomiyal modeller ayrıca TFM, TFL, AA (ABTS) ve TS için de elde edilmiştir. Kodlu faktörler cinsinden yazılan model eşitlikleri Eşitlik 4.1-4.5 ile verilmiştir. Ayrıca, matematiksel modellerden tahminlenen TFM, TFL, AA (DPPH), AA (ABTS) ve TS verileri ile deneysel veriler arasındaki ilişkiyi gösteren grafikler Şekil 4.2’de gösterilerek oluşturulan modellerin uygunluğu kıyaslanan değerlerin birbirine yakınlığı ile doğrulanmıştır. Çizelge 4.2’de klasik ekstraksiyon işleminde yanıt için oluşturulan modele ait R^2 , düzeltilmiş R^2 (düz- R^2), yeterli tahminleme (adequate precision), tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı (PRESS) ve varyasyon katsayısı (C.V.) değerleri verilmiştir. İstatistiksel veriler ile modelin uygunluğu tekrar doğrulanmıştır. Ayrıca, R^2 ve düz- R^2 değerlerinin birbirine yakın olması (%0.74), modelin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini ifade etmektedir.

$$\begin{aligned} \text{TFM} = & +88.95C_1 + 22.53C_2 + 229.15C_1C_2 - 11.78C_1X_1 - 9.57C_2X_1 \\ & - 20.71C_1C_2X_1 - 45.81C_1C_2X_1^2 \end{aligned} \quad (4.1)$$

$$\begin{aligned} \text{TFL} = & +59.53C_1 + 15.55C_2 + 155.79C_1C_2 - 8.43C_1X_1 - 6.26C_2X_1 \\ & - 12.84C_1C_2X_1 - 32.28C_1C_2X_1^2 \end{aligned} \quad (4.2)$$

$$\text{AA (DPPH)} = +3.00C_1 + 0.67C_2 + 7.23C_1C_2 - 0.59C_1X_1 - 0.32C_2X_1 \quad (4.3)$$

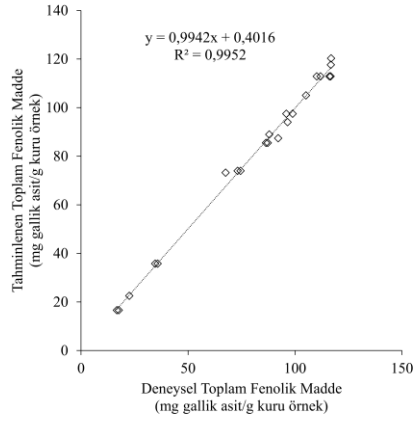
$$\text{AA (ABTS)} = +15.00C_1 + 3.58C_2 + 35.16C_1C_2 - 2.99C_1X_1 - 1.49C_2X_1 \quad (4.4)$$

$$\text{TS} = -88.03C_1C_2 + 60.31C_1X_1 - 64.78C_2X_1 - 45.33C_1X_1^2 + 25.00C_2X_1^2 + 84.17C_1C_2X_1^2 \quad (4.5)$$

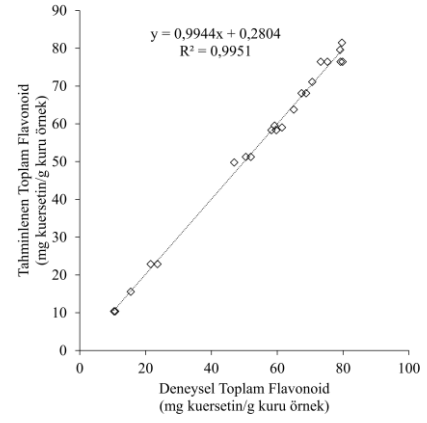
Bağımsız değişkenler cinsinden klasik ekstraksiyonda optimum nokta nümerik optimizasyon çalışması ile belirlenmiştir. Desirability değeri 1.0 olan birbirine oldukça yakın 11 adet çözüm tespit edilmiştir. Bu çözümlerden saf su oranı %60.938, etanol oranı %39.062 ve katı/çözgen oranı 5.21 g/l olan koşul optimum nokta olarak seçilmiştir. Optimum nokta doğrulama denemeleri üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Yanıt için optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek t-testi uygulanarak belirlenmiş, yanıtlar arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı saptanmıştır ($p > 0.05$) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Klasik ekstraksiyon için optimum noktada tahminlenen ve deneysel değerler

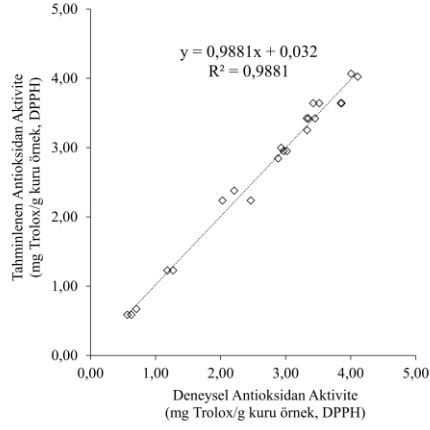
Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer	p-değeri
Toplam fenolik madde (mg gallik asit/g kuru örnek)	123.00	119.43 (± 3.72)	0.238
Toplam flavonoid (mg kuersetin /g kuru örnek)	83.31	79.95 (± 1.91)	0.093
Antioksidan aktivite (DPPH) (mg Trolox/g kuru örnek)	4.11	4.15 (± 0.13)	0.717
Antioksidan aktivite (ABTS) (mg Trolox/g kuru örnek)	20.89	20.52 (± 0.54)	0.421
Toplam saponin (mg diosgenin/g kuru örnek)	188.77	191.85 (± 3.90)	0.299



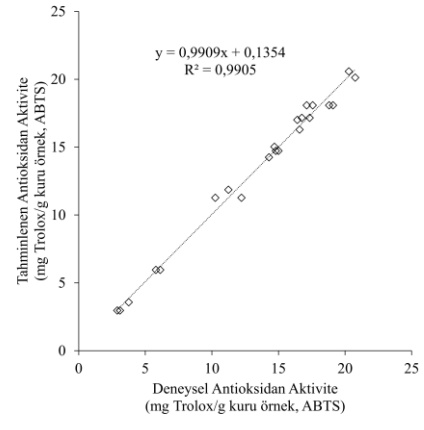
(a)



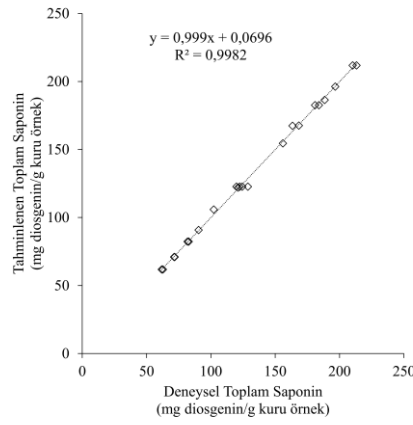
(b)



(c)



(d)



(e)

Şekil 4.2. Klasik ekstraksiyon için tahminlenen ve deneysel veriler arasındaki ilişki (a) TFM, (b) TFL, (c) AA (DPPH), (d) AA (ABTS), (e) TS

Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi

Klasik ekstraksiyon işleminden sonra, çemen otu tohumundan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) işlemi gerçekleştirilmiştir. Klasik ekstraksiyon için optimum noktada elde edilen çözgen karışımı (saf su oranı %61, etanol oranı %39) UDE işleminde sabit tutulmuştur. Çemen otu tohumundan UDE işlemi ile elde edilen ekstraktlara uygulanan analiz sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Sonuçlara göre, en yüksek TFM ve TFL değerleri (149.53 mg gallik asit/g kuru örnek ve 99.54 mg kuersetin/g kuru örnek) 11 g/l katı/çözgen oranı, %55 ultrasonik genlik ve 70 dakikalık ekstraksiyon süresinde elde edilmiştir. UDE işlemi ile elde edilen en yüksek değerlerin, klasik ekstraksiyonda elde edilen en yüksek değerlerden TFM için %28, TFL için %25 oranında daha yüksek olduğu görülmüştür. UDE işlem süresi klasik ekstraksiyon işlem süresinin yarısı kadar olmasına rağmen, TFM ve TFL değerlerinin önemli oranda artış gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Literatürde de benzer şekilde UDE işleminin, çemen otu tohumundan fenolik bileşenlerce zengin ekstraktların eldesi için ekstraksiyon süresi ve verimi açısından daha faydalı olduğu bildirilmiştir (Al-Juhaimi ve ark., 2016).

Tez çalışmasında ayrıca katı/çözgen oranı, ultrasonik genlik ve ekstraksiyon süresi işlem parametrelerinin TFM, TFL, AA ve TS değerleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Farklı katı/çözgen oranları için %55 oranında ultrasonik genlik kullanımı ile %30 ve %80 genlik değerlerine göre TFM ve TFL değerlerinin artış gösterdiği tespit edilmiş ve en yüksek değere %55 genlikte ulaşılmıştır (11 g/l katı/çözgen oranı, 70 dakika ekstraksiyon süresi) (Çizelge 4.4). Buna karşın, %55 ultrasonik genlik için 2 g/l katı/çözgen oranında TFM ve TFL değerlerinin, 11 g/l katı/çözgen oranında elde edilenlere göre azaldığı belirlenmiştir. Bu düşüş, seyreltik ortamda sonikasyonun fenolik maddelerde bulunan bağların kırılmasına yol açabilmesi ile açıklanabilmektedir. Bu durum, daha yüksek biyoaktif bileşen eldesinin sağlanabilmesi için kullanılan çözgen miktarının azaltılması gerektiğini göstermektedir (Kumar ve ark., 2020; Castañeda-Valbuena ve ark., 2021). Bu doğrultuda, UDE işlem koşullarının optimizasyonu, ekstraksiyon işlemlerinin yüksek verimde gerçekleştirilmesi için büyük önem taşımaktadır (Dzah ve ark., 2020). Klasik ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında, UDE işleminde orta (11 g/l) ve yüksek (20 g/l) düzeyde katı/çözgen oranı kullanıldığında ekstraktlarda fenolik madde içeriğinin artış gösterdiği tespit edilmiştir. Al-Juhaimi ve ark. (2016) çemen otu tohumlarında bulunan

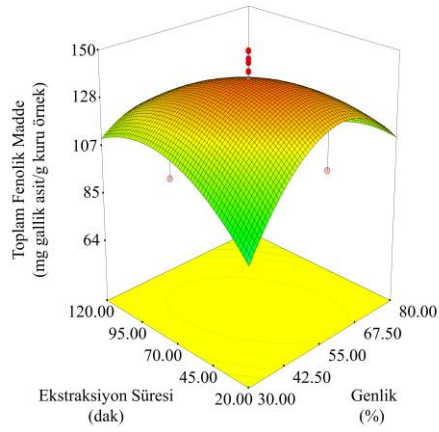
fenolik maddelerin ekstraksiyonunu UDE işlemi (40 kHz, 110 W güç kaynağı, %20-40 etanol, 10-40 dakika ekstraksiyon süresi) ile gerçekleştirmişler ve işlem parametrelerinin optimizasyonunu sağlamışlardır. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre, ekstraksiyon süresi fenolik madde verimini etkileyen en önemli parametre olarak tespit edilmiş ve optimum noktada TFM değeri 8.41 mg gallik asit/g kuru örnek olarak belirlenmiştir (Al-Juhaimi ve ark., 2016). Tez çalışmasında UDE işlem parametrelerinin TFM ve TFL üzerine etkisi yanıt yüzey grafikleri ile gösterilmiş (11 g/l katı/çözgen oranı için) ve elde edilen sonuçlar görsel olarak desteklenmiştir (Şekil 4.3a ve Şekil 4.3b).

Çizelge 4.4. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi için deneysel tasarım ve analiz sonuçları

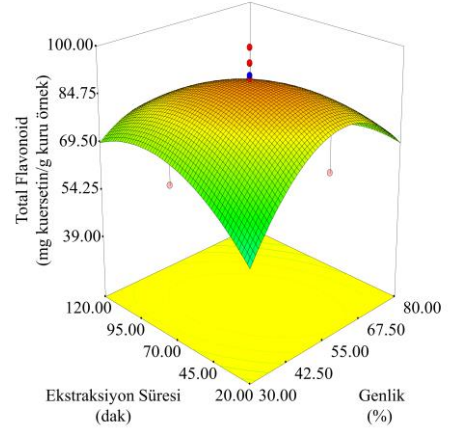
Deneme No	Katı/çözgen (g/l) X_1	Genlik (%) X_2	Süre (dak) X_3	TFM	TFL	AA (DPPH)	AA (ABTS)	TS
1	2	80	20	86.40 (± 1.68)	53.60 (± 0.97)	3.00 (± 0.02)	15.03 (± 0.06)	210.14 (± 8.02)
2	2	30	20	67.95 (± 2.52)	41.89 (± 0.97)	2.44 (± 0.02)	11.96 (± 0.06)	109.35 (± 2.47)
3	11	55	70	140.55 (± 0.61)	90.89 (± 0.71)	4.87 (± 0.06)	24.11 (± 0.76)	241.69 (± 2.24)
4	11	55	20	110.91 (± 0.92)	70.48 (± 0.18)	3.94 (± 0.08)	19.71 (± 0.23)	185.20 (± 3.14)
5	20	30	120	89.20 (± 0.17)	55.02 (± 0.68)	3.14 (± 0.05)	15.31 (± 0.06)	144.26 (± 3.70)
6	11	55	70	136.44 (± 2.45)	90.02 (± 0.18)	4.85 (± 0.10)	24.07 (± 0.12)	236.61 (± 4.94)
7	2	80	120	41.18 (± 1.68)	26.04 (± 0.97)	1.42 (± 0.11)	7.16 (± 0.19)	236.76 (± 6.17)
8	11	55	70	146.07 (± 0.15)	94.78 (± 0.53)	5.14 (± 0.03)	26.62 (± 0.35)	241.37 (± 3.59)
9	11	30	70	107.45 (± 0.92)	66.72 (± 0.53)	3.69 (± 0.08)	14.32 (± 0.29)	183.93 (± 1.35)
10	11	55	70	135.36 (± 1.22)	88.14 (± 0.35)	4.70 (± 0.02)	23.41 (± 0.12)	246.13 (± 1.35)
11	20	80	20	116.40 (± 3.11)	73.42 (± 0.78)	4.08 (± 0.02)	20.08 (± 0.64)	158.22 (± 3.70)
12	2	30	120	103.65 (± 2.52)	67.04 (± 3.41)	3.72 (± 0.11)	18.11 (± 0.19)	159.09 (± 11.11)
13	11	55	120	120.22 (± 1.53)	75.24 (± 0.53)	4.20 (± 0.06)	21.11 (± 0.23)	236.61 (± 4.04)
14	20	30	20	87.48 (± 0.59)	53.56 (± 0.39)	3.04 (± 0.02)	15.19 (± 0.35)	96.26 (± 3.70)
15	2	55	70	117.93 (± 0.84)	74.62 (± 1.46)	4.44 (± 0.02)	22.05 (± 0.64)	237.63 (± 7.41)
16	20	55	70	117.05 (± 1.84)	75.90 (± 0.19)	4.18 (± 0.06)	20.91 (± 0.41)	208.84 (± 9.87)
17	11	80	70	99.44 (± 0.31)	61.58 (± 1.77)	3.49 (± 0.03)	17.37 (± 0.29)	245.50 (± 4.94)
18	20	80	120	56.48 (± 0.17)	33.73 (± 0.78)	1.99 (± 0.05)	9.26 (± 0.47)	211.89 (± 5.55)
19	11	55	70	144.34 (± 0.76)	94.65 (± 1.06)	5.06 (± 0.05)	25.47 (± 0.12)	247.72 (± 1.80)
20	11	55	70	149.53 (± 0.15)	99.54 (± 1.95)	5.24 (± 0.03)	26.71 (± 0.35)	243.59 (± 0.45)

AA: Antioksidan aktivite (mg Trolox/g kuru örnek), TFM: Toplam fenolik madde (mg gallik asit/g kuru örnek), TFL: Toplam flavonoid (mg kuersetin/g kuru örnek), TS: Toplam saponin (mg diosgenin/g kuru örnek)

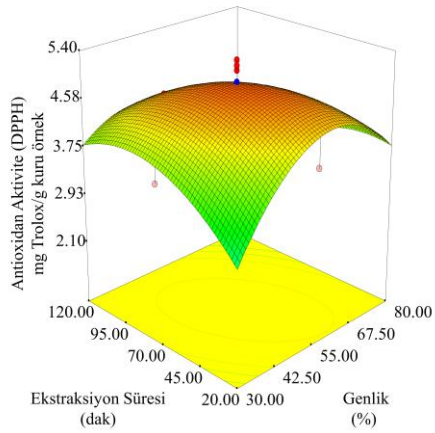
Çemen otu tohumundan UDE işlemi ile elde edilen ekstraktlarda AA değerlerinin TFM ve TFL değerlerine paralel olarak değiştiği belirlenmiştir. AA değerlerinin uzun sonikasyon işlemi sonucunda (120 dakika) azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.4). Fenolik maddelerin parçalanması ile birlikte AA değerlerinin azaldığı düşünülmektedir. Diğer yandan, TFM ve TFL değerlerinde olduğu gibi, ekstraktların antioksidan aktivitesinin UDE işlemi ile klasik ekstraksiyona oranla daha yüksek değerlerde olduğu tespit edilmiştir. AA sonuçları ayrıca yanıt yüzey grafikleri ile desteklenmiştir (Şekil 4.3c ve Şekil 4.3d). UDE işleminde 11 g/l katı/çözgen oranında, %55 ultrasonik genlikte ve 70 dakikalık ekstraksiyon süresinde en yüksek TS değerine ulaşılmıştır (246.13 mg diosgenin/g kuru örnek). Klasik ekstraksiyona oranla TS değerinde en yüksek değerler için %26 oranında bir artış gözlenmiştir. Tez çalışmasında elde edilen TS değerlerinin çemen otu tohumu için literatürde belirlenenlere göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Akbari ve ark. (2019) çemen otu tohumu ekstraktlarında TS değerlerini 172.18-122.01 mg diosgenin/g kuru örnek aralığında belirlemişlerdir. Çalışmada ayrıca çemen otu tohumlarından saponin eldesinde en önemli parametrenin ekstraksiyon süresi olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$) (Akbari ve ark., 2019). TS değerlerine işlem parametrelerinin etkisi Şekil 4.3e’de gösterilmiştir.



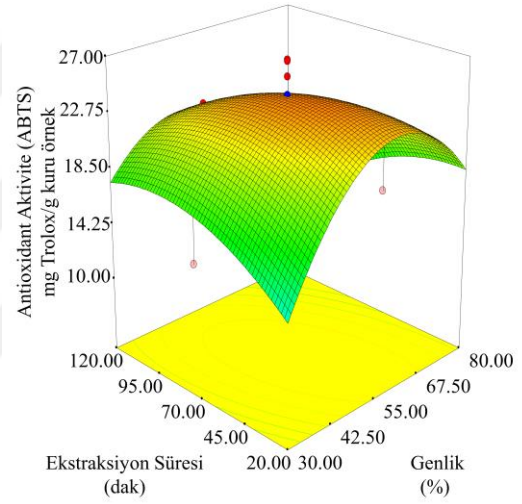
(a)



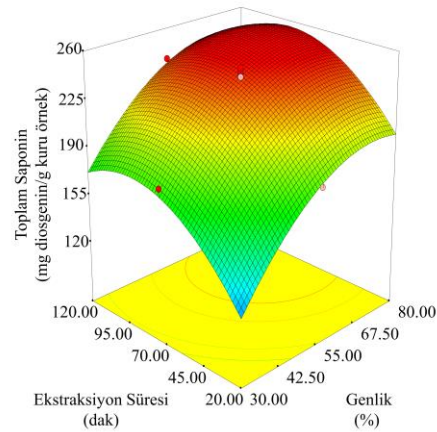
(b)



(c)



(d)



(e)

Şekil 4.3. Ultrasonik destekli ekstraksiyon sonucunda elde edilen yanıt yüzey grafikleri (a) TFM, (b) TFL, (c) AA (DPPH), (d) AA (ABTS), (e) TS

Çizelge 4.5'te, çemen otu tohumlarından UDE ile elde edilen fenolik bileşenler için oluşturulan ANOVA tablosu görülmektedir. Sonuçlara göre, tüm analizler için model istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0.05$), model uygunsuzluğu değerleri ise istatistiksel olarak anlamsız ($p > 0.05$) bulunmuştur. TFM, TFL ve AA (DPPH ve ABTS) değerleri için ultrasonik genlik-ekstraksiyon süresi interaksyonu en önemli faktör olarak göze çarpmaktadır ($p < 0.05$). Buna karşın, TFM, TFL ve AA (DPPH ve ABTS) değerleri için bağımsız değişkenlerin doğrusal etkileri istatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$) bulunmuştur. TS için ise tüm bireysel işlem değişkenlerinin etkisi anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca, katı/çözgen oranı-ultrasonik genlik interaksyonu TS değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

UDE işlemi için AA (DPPH) değerleri yanıt olarak seçilmiş ve ikinci dereceden polinomiyal bir model oluşturulmuştur. İkinci dereceden polinomiyal modeller ayrıca TFM, TFL, AA (ABTS) ve TS için elde edilmiş ve kodlu faktörler cinsinden yazılan model eşitlikleri Eşitlik 4.6-4.10 ile verilmiştir. Ayrıca, matematiksel modellerden tahminlenen TFM, TFL, AA (DPPH), AA (ABTS) ve TS verileri ile deneysel veriler arasındaki ilişkiyi gösteren grafikler Şekil 4.4'te gösterilmiştir. Oluşturulan modelin uygunluğu, deneysel ve tahminlenen veriler arasındaki yüksek korelasyon ile doğrulanmıştır (Şekil 4.4). Çizelge 4.5'te UDE işlemi için oluşturulan modele ait R^2 , düzeltilmiş R^2 , yeterli tahminleme, tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı ve varyasyon katsayısı değerleri verilmiş, istatistiksel veriler ile modelin AA (DPPH) verilerinin tahminlenmesi için uygunluğu ve başarısı tekrar doğrulanmıştır.

$$TFM = +137.88 - 17.82X_2X_3 - 28.87X_2^2 - 16.05X_3^2 \quad (4.6)$$

$$TFL = +89.47 - 11.73X_2X_3 - 20.02X_2^2 - 11.32X_3^2 \quad (4.7)$$

$$AA (DPPH) = +4.85 - 0.63X_2X_3 - 1.08X_2^2 - 0.63X_3^2 \quad (4.8)$$

$$AA (ABTS) = +24.13 - 3.12X_2X_3 - 6.89X_2^2 \quad (4.9)$$

$$TS = +242.47 - 13.35X_1 + 36.96X_2 + 22.94X_3 - 6.11X_1X_2 - 18.67X_1^2 - 27.19X_2^2 - 31.00X_3^2 \quad (4.10)$$

UDE işlemleri için oluşturulan deneysel tasarımda belirlenen noktalarda ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirildikten sonra, sonuçlar için nümerik optimizasyon uygulanmıştır. Paket program tarafından verilen üç farklı sonuçtan 0.911 ile en yüksek desirability değerine sahip olan çözüm optimum nokta olarak seçilmiştir. 13.26 g/l katı/çözgen oranı, %54.72 ultrasonik genlik ve 59.71 dakika ekstraksiyon süresi UDE işlemleri için optimum nokta olarak tespit edilmiştir. Optimum noktada tespit edilen AA değerinin klasik ekstraksiyon için belirlenen AA değerinden %21 oranında daha yüksek olduğu elde edilen bulgular arasındadır. Klasik ekstraksiyon ve UDE için elde edilen optimum noktalarda meydana gelen en önemli farklılıklardan biri belirlenen katı/çözgen oranıdır. Elde edilen sonuçlara göre, UDE işleminde yüksek katı/çözgen oranı değerlerinde AA değerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, UDE işleminde klasik ekstraksiyona göre daha az miktarda çözüne ihtiyacı duyulduğunun bir göstergesidir. Optimum noktada tahminlenen ve deneysel değerler Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Uygulanan t-testine göre tahminlenen değer ile ortalama deneysel değerler arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığı belirlenmiştir ($p>0.05$) (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.5. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için ANOVA tablosu ve istatistiksel veriler

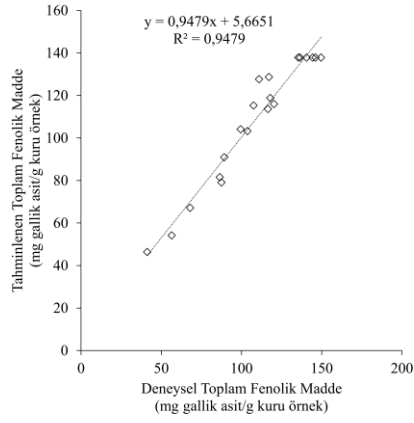
Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Toplamı					F Değeri					p - Değeri				
		TFM	TFL	TS	AA (DPPH)	AA (ABTS)	TFM	TFL	TS	AA (DPPH)	AA (ABTS)	TFM	TFL	TS	AA (DPPH)	AA (ABTS)
Model	9	16653.06	7775.21	42951.50	20.80	551.32	20.21	18.64	158.35	21.88	11.76	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001	0.0003
X ₁	1	245.08	80.91	1782.81	0.20	4.17	2.68	1.75	59.16	1.89	0.80	0.1329	0.2158	< 0.0001	0.1992	0.3921
X ₂	1	311.87	128.55	13662.24	0.42	3.58	3.41	2.77	453.33	3.95	0.69	0.0947	0.1268	< 0.0001	0.0751	0.4262
X ₃	1	341.16	128.73	5264.21	0.41	12.15	3.73	2.78	174.67	3.88	2.33	0.0824	0.1265	< 0.0001	0.0771	0.1577
X ₁ X ₂	1	202.24	96.91	298.54	0.33	5.64	2.21	2.09	9.91	3.16	1.08	0.1681	0.1787	0.0104	0.1057	0.3227
X ₁ X ₃	1	296.13	160.35	80.06	0.35	10.08	3.23	3.46	2.66	3.35	1.94	0.1023	0.0925	0.1342	0.0969	0.1943
X ₂ X ₃	1	2540.64	1100.91	38.08	3.17	77.90	27.75	23.76	1.26	30.04	14.95	0.0004	0.0006	0.2872	0.0003	0.0031
X ₁ ²	1	548.68	218.63	958.92	0.37	4.36	5.99	4.72	31.82	3.46	0.84	0.0344	0.0550	0.0002	0.0923	0.3818
X ₂ ²	1	2182.39	1102.55	2033.68	3.22	130.51	23.83	23.79	67.48	30.50	25.05	0.0006	0.0006	< 0.0001	0.0003	0.0005
X ₃ ²	1	708.77	352.21	2643.12	0.99	14.84	7.74	7.60	87.70	9.40	2.85	0.0194	0.0202	< 0.0001	0.0119	0.1224
Kalıntı	10	915.66	463.38	301.37	1.06	52.10										
Model Uygunsuzluğu	5	759.82	377.78	223.90	0.85	42.20	4.88	4.41	2.89	4.04	4.26	0.0535	0.0645	0.1345	0.0760	0.0687
Saf Hata	5	155.84	85.60	77.48	0.21	9.90										
Toplam	19	17568.72	8238.58	43252.87	21.86	603.42										

R^2 : 0.9517, adj - R^2 : 0.9082, Adequate Precision: 14.010, PRESS: 6.61, C.V. (%):8.48

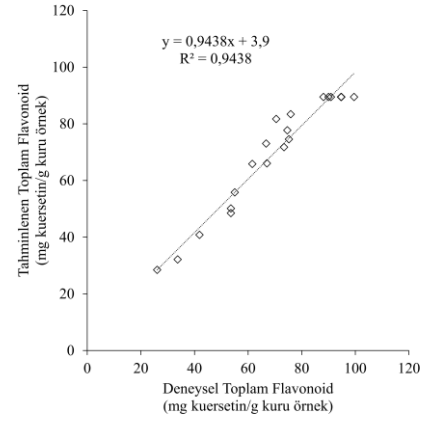
X₁: Katı/çözgen (g/l), X₂: Genlik (%), X₃: Ekstraksiyon Süresi (dak), TFM: Toplam fenolik madde, TFL: Toplam flavonoid, TS: Toplam saponin, AA: Antioksidan aktivite, SD: Serbestlik derecesi

Çizelge 4.6. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için optimum noktada tahminlenen ve deneysel değerler

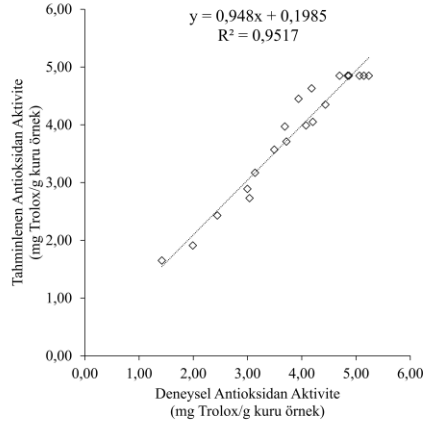
Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer	p-değeri
Toplam fenolik madde (mg gallik asit/g kuru örnek)	139.03	136.36 (± 3.26)	0.291
Toplam flavonoid (mg kuersetin /g kuru örnek)	90.11	88.11 (± 2.20)	0.255
Antioksidan aktivite (DPPH) (mg Trolox/g kuru örnek)	4.89	5.02 (± 0.24)	0.456
Antioksidan aktivite (ABTS) (mg Trolox/g kuru örnek)	24.59	24.88 (± 0.90)	0.351
Toplam saponin (mg diosgenin/g kuru örnek)	233.29	236.03 (± 4.05)	0.114



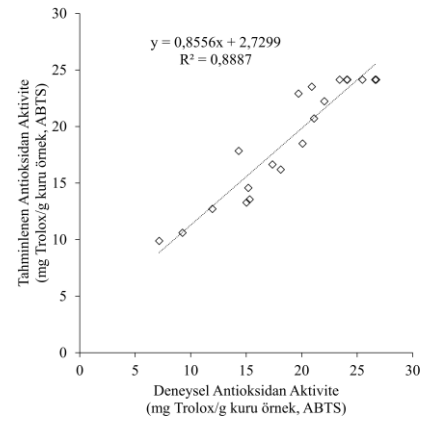
(a)



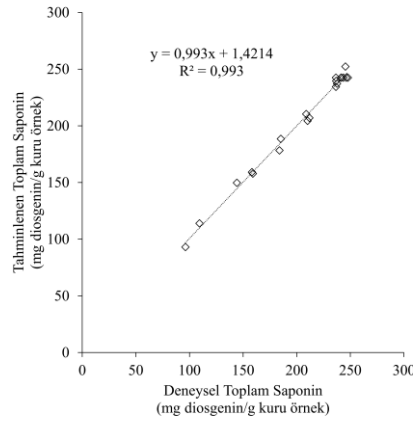
(b)



(c)



(d)



(e)

Şekil 4.4. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için tahminlenen ve deneysel veriler arasındaki ilişki (a) TFM, (b) TFL, (c) AA (DPPH), (d) AA (ABTS), (e) TS

4.1.2 Fenolik ekstraktların ısıl stabiliteleri

Çemen otu tohumundan klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri ile optimum koşullarda elde edilen fenolik ekstraktların ısıl stabiliteleri belirlenmiştir. Bu amaçla, farklı ekstraksiyon yöntemleri ile optimum koşullarda elde edilen iki farklı fenolik ekstrakt, farklı pH değerlerinde (pH 3.0, 6.0 ve 9.0), farklı süre (0-72 saat) ve farklı sıcaklıklarda (60-100°C) inkübasyona bırakılmış ve örneklerin TFM, TFL, AA ve TS değerlerindeki değişimler incelenmiştir.

Klasik ve UDE işlemleri ile elde edilen örnekler için TFM, TFL, AA ve TS değerlerinin üç farklı pH değerinde farklı sıcaklık ve sürelerdeki değişimleri Çizelge 4.7, Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9'da verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, ısıl stabilitesi en yüksek olan örneklerin pH 3.0'te, en düşük ısıl stabiliteye sahip örneklerin ise pH 9.0 değerinde elde edildiği görülmüştür. Bu durumun altındaki temel nedenin asidik koşullarda kopigmentlerin interaksiyonunun artışı olduğu düşünülmektedir. Dolayısı ile, fenolik maddelerin asidik koşullarda termal stabilitesi daha yüksek olabilmektedir (Hubbermann ve ark., 2006). Üç farklı pH değeri için, sıcaklık artışı ile birlikte TFM değerlerinin azaldığı belirlenmiştir. Ancak, farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktların TFM değerleri incelendiğinde, UDE işlemi ile elde edilen ekstraktların her koşulda klasik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlara oranla daha stabil olduğu görülmüştür. Her iki ekstraktın da yüksek sıcaklıklara karşı önemli oranda stabilite gösterdiği tespit edilmiştir. pH 3.0 için, 100°C'de 12 saatlik inkübasyon sonucunda klasik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların TFM içeriğinin %46.21, UDE ile elde edilenlerin ise %49.06 oranında korunduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Genel olarak meyve-sebzelerden elde edilen fenolik maddelerin sıcaklığa oldukça duyarlı olduğu bilinmektedir. Nambi ve ark. (2016), farklı meyve ve sebzelerden (bezelye, patlıcan, yeşil biber ve kırmızı pancar) elde edilen ekstraktların ısıl stabilitesini belirlemişler ve 70°C'de örneklerin fenolik madde içeriklerinin %50-52 oranında azaldığını bildirmişlerdir. Benzer şekilde İsmail ve ark. (2004), bezelye ve biberden elde edilen fenolik ekstraktların 90°C'de 15 dakika inkübasyon sonucunda TFM içeriğinin %80'inin parçalandığını bildirmişlerdir. Bu durum fenolik bileşenlerin sıcaklık etkisiyle parçalanması ya da polifenollerin bozunması ile açıklanmaktadır (Turkmen ve ark.,

2005). Çemen otu tohumlarından elde edilen fenolik ekstraktlar için ise 70°C’de TFM içeriğinin %50’sinin korunduğu süre ~18 saat olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.7). Ayrıca, çemen otu tohumu fenolik ekstraktlarında (pH 3.0) 90°C’de %80 oranında parçalanma yaklaşık 30 saatlik sürede gerçekleşmiştir. Çemen otu tohumunda bulunan fenolik ekstraktların ısı stabilitesinin bu denli yüksek oluşunun gamlar gibi sıcaklığa karşı direnç gösteren materyallerin de fenolik madde ekstraksiyonu sırasında ekstrakte edilmesi olduğu düşünülmektedir (Wani ve ark., 2016).

TFL ve AA değerleri için oluşturulan tablolar incelendiğinde, TFM değerlerine oldukça benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir (Çizelge 4.7, Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9). AA değerlerinde meydana gelen azalmanın TFM ve TFL içeriği ile benzer oranda olduğu görülmektedir. Chaaban ve ark. (2019) farklı flavonoidlerin ısı stabilitesini inceledikleri çalışmada, antioksidan aktivite değerlerinin flavonoidlerin parçalanması ile doğru orantılı olacak şekilde azaldığını tespit etmişlerdir. Flavonoidlere ısı işlem uygulandığında pigmentlerde bulunan glikozidik bağların hidrolizi gerçekleşmekte ve stabil olmayan moleküller meydana gelmektedir (Scibisz ve ark. 2010). Buna karşın ortamda gamlar gibi fenolik maddelere ısı direnç kazandırabilecek bileşenlerin bulunması durumunda stabilitede önemli oranda artış görülebilmektedir (Wani ve ark., 2016).

TFM, TFL ve AA’ye kıyasla, TS içeriğinin daha kısa sürede azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.7-Çizelge 4.9). Nafiunisa ve ark. (2019) 60°C’de saponin degradasyonunun başladığını bildirmişlerdir. Heng ve ark. (2006) bezelyeden elde edilen saponinlerin 30°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda bozunmaya başladığını bulgulamışlardır.

Çizelge 4.7. pH 3.0'te fenolik ekstraktların TFM, TFL, AA ve TS değerlerindeki değişim

Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Klasik Ekstraksiyon						Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon					
		TFM (%)	TFL (%)	AA (DPPH) (%)	AA (ABTS) (%)	Süre (Saat)	TS (%)	TFM (%)	TFL (%)	AA (DPPH) (%)	AA (ABTS) (%)	Süre (Saat)	TS (%)
60	0	100.00 (±1.09) ^a	100.00 (±0.42) ^a	100.00 (±0.78) ^a	100.00 (±1.81) ^a	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±2.05) ^a	100.00 (±0.24) ^a	100.00 (±0.88) ^a	100.00 (±0.51) ^a	0	100.00 (±0.79) ^a
	2	98.02 (±1.31) ^{ab}	97.58 (±0.39) ^b	97.76 (±0.69) ^b	98.11 (±0.37) ^b	0.5	91.84 (±0.38) ^b	98.75 (±0.61) ^a	98.90 (±0.42) ^b	98.06 (±0.39) ^b	99.08 (±1.24) ^a	0.5	96.61 (±0.28) ^b
	4	96.24 (±0.88) ^b	96.25 (±0.31) ^c	96.03 (±0.39) ^c	95.56 (±0.40) ^c	1	87.38 (±0.54) ^d	96.61 (±0.42) ^b	96.30 (±0.47) ^c	95.21 (±0.51) ^c	95.72 (±0.53) ^b	1	89.22 (±0.69) ^d
	8	88.81 (±1.46) ^d	88.53 (±0.45) ^b	87.97 (±0.61) ^f	87.99 (±0.77) ^e	2	78.38 (±0.50) ^f	88.97 (±0.18) ^e	86.49 (±0.24) ⁱ	86.95 (±0.49) ^b	91.08 (±0.72) ^d	2	80.44 (±0.54) ^b
	12	75.73 (±0.82) ^b	76.32 (±0.40) ^j	75.71 (±0.79) ^j	74.36 (±0.64) ^b	4	55.10 (±1.14) ⁱ	76.44 (±0.24) ^b	78.51 (±0.27) ⁱ	74.63 (±0.42) ^j	85.09 (±0.71) ^e	4	60.60 (±0.75) ⁱ
	24	48.78 (±1.5) ^m	46.80 (±0.27) ^q	47.67 (±0.51) ^p	48.82 (±1.27) ^m	8	42.10 (±0.63) ^o	49.99 (±0.55) ⁱ	50.81 (±0.24) ^q	52.06 (±0.93) ^a	63.21 (±1.63) ^j	8	46.80 (±1.30) ^o
	36	29.66 (±1.35) ^p	30.40 (±0.30) ⁱ	30.00 (±0.98) ⁱ	30.59 (±0.84) ^y	6	27.41 (±0.50) ⁱ	35.35 (±0.58) ^o	35.57 (±0.41) ⁱ	35.41 (±1.55) ^y	42.50 (±1.78) ^a	6	27.77 (±0.45) ^u
	72	8.26 (±1.23) ^u	8.29 (±0.63) ^z	8.76 (±1.02) ^{yz}	9.00 (±0.47) ^y	12	18.95 (±0.85) ^w	11.12 (±0.43) ^w	10.92 (±0.47) ^a	10.44 (±1.51) ^y	10.11 (±1.12) ^y	12	19.65 (±0.87) ^y
70	0	100.00 (±1.09) ^a	100.00 (±0.42) ^a	100.00 (±0.78) ^a	100.00 (±1.81) ^a	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±2.05) ^a	100.00 (±0.24) ^a	100.00 (±0.88) ^a	100.00 (±0.51) ^a	0	100.00 (±0.79) ^a
	2	96.63 (±1.04) ^b	96.34 (±0.23) ^c	96.72 (±0.39) ^{bc}	96.32 (±0.57) ^c	0.5	88.57 (±0.37) ^c	96.29 (±1.58) ^b	96.58 (±0.25) ^c	95.38 (±0.49) ^c	96.27 (±0.54) ^b	0.5	90.36 (±0.30) ^c
	4	91.48 (±1.09) ^c	91.55 (±0.28) ^f	91.48 (±0.42) ^e	90.48 (±0.74) ^d	1	83.65 (±0.57) ^e	93.65 (±.55) ^c	93.30 (±0.19) ^f	92.87 (±0.42) ^d	93.16 (±0.58) ^c	1	85.18 (±0.64) ^f
	8	79.39 (±1.98) ^f	79.45 (±0.74) ^j	79.68 (±0.51) ^j	78.52 (±0.82) ^b	2	67.84 (±1.06) ⁱ	72.16 (±0.43) ⁱ	70.77 (±0.36) ^a	71.44 (±1.13) ^k	82.40 (±1.14) ^f	2	70.93 (±0.35) ^j
	12	65.52 (±1.35) ^j	65.92 (±0.59) ^m	66.33 (±0.39) ^m	65.00 (±0.65) ^j	4	47.92 (±0.51) ^j	64.16 (±0.71) ^{ji}	65.23 (±0.21) ^o	66.77 (±1.85) ⁱ	71.95 (±1.06) ^h	4	54.76 (±1.09) ^a
	24	35.90 (±1.02) ^o	35.50 (±0.24) ^s	34.61 (±1.23) ^s	32.48 (±3.34) ^p	8	35.56 (±0.54) ^q	44.92 (±1.15) ^m	43.63 (±0.85) ^s	42.08 (±0.86) ^q	44.21 (±1.06) ^m	8	39.57 (±0.64) ^f
	36	17.87 (±1.53) ^j	18.13 (±0.38) ^w	17.80 (±1.39) ^w	17.50 (±0.82) ^f	6	21.63 (±0.84) ^y	23.18 (±0.39) ^y	25.31 (±0.33) ^w	24.18 (±1.39) ^u	26.79 (±1.40) ^p	6	24.59 (±0.78) ^w
	48	7.17 (±3.01) ^u	7.22 (±0.56) ^a	7.84 (±0.87) ^z	8.03 (±0.74) ^y	12	9.86 (±0.66) ^{yz}	11.26 (±1.32) ^w	9.73 (±0.37) ^h	9.47 (±0.51) ^y	9.44 (±0.53) ^z	12	9.68 (±0.35) ^y
80	0	100.00 (±1.09) ^a	100.00 (±0.42) ^a	100.00 (±0.78) ^a	100.00 (±1.81) ^a	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±2.05) ^a	100.00 (±0.24) ^a	100.00 (±0.88) ^a	100.00 (±0.51) ^a	0	100.00 (±0.79) ^a
	2	92.77 (±2.34) ^c	92.48 (±0.41) ^e	92.34 (±0.39) ^e	92.05 (±0.60) ^d	0.5	87.17 (±0.70) ^d	94.04 (±0.71) ^c	94.91 (±0.64) ^d	92.13 (±0.60) ^{de}	93.09 (±0.92) ^c	0.5	90.04 (±0.35) ^{cd}
	4	84.45 (±1.95) ^e	84.05 (±0.23) ^h	84.86 (±0.95) ^b	83.93 (±0.99) ^j	1	76.76 (±0.45) ^b	87.18 (±1.31) ^f	87.76 (±0.37) ^h	86.15 (±0.54) ^b	85.70 (±1.11) ^e	1	79.10 (±0.55) ^h
	8	72.95 (±1.46) ^h	73.59 (±0.73) ^k	73.58 (±0.61) ^k	73.33 (±1.12) ^h	2	59.94 (±0.58) ^j	71.23 (±1.15) ⁱ	72.04 (±0.46) ^m	71.67 (±1.19) ^k	72.93 (±1.64) ^h	2	65.66 (±0.57) ^k
	12	63.15 (±1.39) ^j	63.21 (±0.91) ⁿ	45.89 (±0.78) ^q	61.75 (±0.92) ^j	4	39.68 (±0.85) ^p	65.45 (±1.59) ^k	58.64 (±0.36) ^p	53.14 (±1.14) ⁿ	63.21 (±0.96) ^j	4	42.55 (±0.66) ^q
	24	34.30 (±0.43) ^o	35.22 (±1.57) ^s	24.98 (±0.63) ^u	34.49 (±0.91) ^o	8	30.65 (±0.51) ^s	43.00 (±1.59) ^q	35.92 (±1.04) ^o	33.74 (±1.68) ^s	42.82 (±1.10) ^{mm}	8	33.61 (±1.63) ^j
	36	15.00 (±1.50) ^s	15.45 (±0.19) ^x	10.78 (±0.55) ^x	17.39 (±0.78) ^j	6	15.00 (±0.69) ^x	21.25 (±0.96) ^s	18.16 (±0.40) ^y	20.13 (±0.81) ^y	18.48 (±2.01) ⁱ	6	16.75 (±0.54) ^z
	48	4.10 (±0.68) ^y	4.07 (±0.25) ^h	3.58 (±0.38) ^a	5.11 (±0.92) ^w	12	8.12 (±0.85) ^a	7.40 (±0.98) ^w	7.61 (±0.24) ^y	7.37 (±0.32) ^z	7.30 (±0.67) ⁱ	12	8.05 (±0.30) ^h
90	0	100.00 (±1.09) ^a	100.00 (±0.42) ^a	100.00 (±0.78) ^a	100.00 (±0.45) ^a	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±2.05) ^a	100.00 (±0.24) ^a	100.00 (±0.88) ^a	100.00 (±0.51) ^a	0	100.00 (±0.79) ^a
	2	93.46 (±1.60) ^c	94.19 (±0.56) ^d	94.70 (±0.50) ^d	91.23 (±0.80) ^d	0.5	83.43 (±0.76) ^e	94.54 (±0.18) ^c	94.06 (±0.42) ^e	91.28 (±0.81) ^e	91.20 (±1.22) ^d	0.5	86.89 (±0.49) ^e
	4	83.65 (±4.12) ^e	83.42 (±0.59) ^h	82.79 (±0.81) ^h	79.60 (±0.55) ^b	1	69.20 (±1.16) ^h	86.86 (±0.51) ^f	85.21 (±0.34) ^j	83.64 (±0.71) ^h	83.32 (±0.42) ^f	1	73.95 (±0.43) ^j
	8	72.56 (±3.01) ^h	71.94 (±0.29) ^j	69.03 (±0.61) ^j	64.34 (±0.57) ⁱ	2	53.15 (±0.75) ^m	72.23 (±0.32) ⁱ	71.59 (±0.31) ^m	71.50 (±0.88) ^k	72.87 (±1.14) ^h	2	58.23 (±1.02) ^m
	12	60.08 (±1.45) ^k	61.09 (±0.50) ^o	61.60 (±0.93) ⁿ	57.64 (±0.70) ^j	4	31.78 (±0.86) ^f	48.70 (±0.53) ⁱ	49.59 (±0.31) ^j	50.58 (±1.18) ^o	61.32 (±1.06) ^k	4	36.39 (±0.51) ^s
	24	24.31 (±1.31) ^j	26.48 (±0.24) ^u	25.63 (±1.32) ^u	26.39 (±0.87) ^j	8	18.78 (±0.74) ^w	29.46 (±0.24) ^q	28.79 (±0.30) ^y	27.43 (±0.49) ^j	43.84 (±1.92) ^{mm}	8	23.32 (±0.69) ^x
	36	10.64 (±0.68) ^j	12.16 (±0.53) ^y	9.39 (±0.72) ^y	11.34 (±0.54) ^y	6	10.76 (±0.37) ^y	12.29 (±0.30) ^u	11.79 (±0.24) ^z	13.98 (±0.42) ^x	27.46 (±1.52) ^p	6	15.36 (±0.36) ^q
	48	2.22 (±1.17) ^w	2.04 (±0.31) ^y	2.14 (±0.73) ^h	3.24 (±0.45) ^s	12	5.49 (±0.50) ^h	6.33 (±0.43) ^w	5.46 (±0.27) ^h	6.05 (±0.75) ^a	9.31 (±0.32) ^s	12	8.46 (±0.56) ^h
100	0	100.00 (±1.09) ^a	100.00 (±0.42) ^a	100.00 (±0.78) ^a	100.00 (±1.81) ^a	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±2.05) ^a	100.00 (±0.24) ^a	100.00 (±0.88) ^a	100.00 (±0.51) ^a	0	100.00 (±0.79) ^a
	2	89.00 (±1.17) ^d	88.70 (±0.46) ^b	87.91 (±0.30) ^f	87.67 (±0.67) ^e	0.5	76.68 (±0.60) ^b	91.72 (±0.32) ^d	92.03 (±0.29) ^b	89.74 (±0.78) ^f	89.67 (±0.88) ^c	0.5	78.36 (±0.89) ^h
	4	73.25 (±0.38) ^h	73.02 (±0.52) ^k	73.64 (±0.30) ^k	73.17 (±0.84) ^h	1	56.38 (±0.58) ^k	78.37 (±0.73) ^b	79.08 (±0.51) ^k	77.25 (±0.54) ^j	78.67 (±0.42) ^b	1	59.66 (±0.52) ^j
	8	57.10 (±1.46) ^j	55.83 (±0.58) ^p	55.45 (±0.31) ^o	55.75 (±1.16) ^k	2	40.06 (±0.71) ^p	63.34 (±0.31) ^j	65.09 (±0.34) ^p	63.86 (±0.63) ^{mm}	65.60 (±1.25) ^j	2	44.51 (±0.54) ^p
	12	46.21 (±1.02) ⁿ	44.07 (±0.93) ^j	43.82 (±0.75) ^j	42.60 (±1.52) ⁿ	4	23.33 (±0.50) ^u	49.06 (±0.61) ⁱ	49.34 (±0.30) ^j	47.78 (±0.68) ^p	48.24 (±0.81) ^j	4	26.55 (±0.67) ^v
	18	19.16 (±1.23) ^f	19.35 (±0.82) ^y	20.39 (±0.39) ^y	21.66 (±1.12) ^s	8	8.93 (±0.56) ^{zm}	32.00 (±0.41) ^p	30.99 (±0.25) ^u	28.69 (±1.40) ^f	31.01 (±0.94) ^o	8	13.40 (±0.49) ^h
	24	8.36 (±0.51) ^u	8.46 (±0.32) ^z	8.07 (±1.07) ^z	8.24 (±0.29) ^h	6	5.62 (±0.29) ^h	19.65 (±0.31) ^f	18.86 (±0.94) ^y	17.80 (±0.94) ^w	17.32 (±0.88) ^q	6	8.54 (±0.61) ^h
	30	1.43 (±0.56) ^w	1.84 (±0.33) ^y	1.28 (±0.47) ^h	1.43 (±0.47) ^y	12	1.67 (±0.22) ^y	10.69 (±0.70) ^y	9.50 (±0.25) ^h	9.25 (±0.39) ^y	8.40 (±0.54) st	12	3.19 (±0.28) ^e

TFM: Toplam fenolik madde, TFL: Toplam flavonoid, AA: Antioksidan aktivite, TS: Toplam saponin. Değerler ekstrakta uygulanan ısıtış işlem sonrası elde edilen analiz değeri başlangıç değere oranlanması ile belirlenmiştir.

Çizelge 4.8. pH 6.0’da fenolik ekstraktların TFM, TFL, AA ve TS değerlerindeki değişim

Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Klasik Ekstraksiyon						Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon					
		TFM (%)	TFL (%)	AA (DPPH) (%)	AA (ABTS) (%)	Süre (Saat)	TS (%)	TFM (%)	TFL (%)	AA (DPPH) (%)	AA (ABTS) (%)	Süre (Saat)	TS (%)
60	0	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.45) ^a	100.00 (±1.01) ^a	100.00 (±0.45) ^a	0	100.00 (±0.54) ^a	100.00 (±0.66) ^a	100.00 (±0.31) ^a	100.00 (±1.05) ^a	100.00 (±0.69) ^a	0	100.00 (±0.81) ^a
	2	97.95 (±0.67) ^b	96.38 (±0.24) ^b	95.85 (±0.60) ^b	95.80 (±0.35) ^b	0.5	98.23 (±0.47) ^b	98.42 (±0.86) ^a	98.68 (±0.21) ^b	96.56 (±0.50) ^b	97.88 (±0.44) ^b	0.5	97.38 (±0.60) ^b
	4	95.81 (±1.75) ^{bc}	94.65 (±0.38) ^c	94.26 (±0.29) ^c	94.29 (±0.43) ^c	1	91.16 (±0.69) ^d	95.81 (±1.64) ^b	95.08 (±0.24) ^c	93.17 (±0.65) ^c	93.53 (±0.57) ^c	1	94.03 (±0.41) ^d
	8	84.02 (±1.23) ^f	82.75 (±0.56) ^g	79.26 (±0.60) ^g	81.47 (±0.69) ^g	2	79.59 (±0.47) ^g	90.22 (±0.81) ^d	89.59 (±0.38) ^f	88.14 (±0.37) ^e	87.48 (±0.21) ^e	2	81.30 (±1.72) ⁱ
	12	69.12 (±1.07) ^{ij}	65.31 (±0.62) ^j	68.13 (±0.66) ^j	69.84 (±0.85) ^j	4	64.37 (±1.18) ^k	74.84 (±0.64) ^b	78.90 (±0.85) ^j	76.80 (±0.62) ^j	84.58 (±1.57) ^f	4	70.67 (±0.91) ^j
	24	44.08 (±1.03) ^m	44.28 (±0.35) ^p	42.17 (±0.50) ^p	42.17 (±0.55) ^o	8	47.13 (±1.76) ⁿ	51.26 (±0.30) ^m	55.69 (±0.36) ^q	49.07 (±0.41) ^m	61.65 (±1.37) ^k	8	51.70 (±0.45) ^p
	36	23.52 (±0.67) ^q	25.36 (±0.70) ^r	24.33 (±1.21) ^q	24.78 (±0.35) ^r	6	33.23 (±0.68) ^r	32.07 (±0.30) ^o	33.91 (±0.47) ^j	29.60 (±0.91) ^o	38.79 (±0.93) ^p	6	35.05 (±0.72) ⁱ
	72	5.88 (±1.21) ^u	6.00 (±0.44) ^z	5.64 (±0.39) ^z	5.52 (±0.74) ^z	12	24.88 (±0.50) ^u	7.53 (±0.45) ^y	7.49 (±0.38) ^u	7.18 (±0.29) ^w	7.22 (±0.72) ^{xy}	12	25.95 (±0.77) ^w
70	0	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.45) ^a	100.00 (±1.01) ^a	100.00 (±0.45) ^a	0	100.00 (±0.54) ^a	100.00 (±0.66) ^a	100.00 (±0.31) ^a	100.00 (±1.05) ^a	100.00 (±0.69) ^a	0	100.00 (±0.81) ^a
	2	96.30 (±1.17) ^{bc}	95.93 (±0.42) ^b	95.51 (±0.81) ^b	93.98 (±0.66) ^c	0.5	95.38 (±0.66) ^c	96.74 (±0.46) ^b	95.08 (±0.24) ^c	93.28 (±0.39) ^c	93.59 (±0.75) ^c	0.5	95.88 (±0.57) ^c
	4	91.91 (±1.89) ^d	92.06 (±0.51) ^d	91.08 (±0.47) ^d	91.64 (±0.46) ^d	1	85.66 (±0.56) ^e	93.89 (±0.64) ^c	92.94 (±0.38) ^d	91.42 (±0.77) ^{cd}	89.96 (±1.32) ^d	1	89.67 (±0.26) ^f
	8	75.74 (±1.78) ^h	76.40 (±0.70) ^j	77.56 (±0.41) ^h	76.48 (±0.90) ^j	2	73.41 (±1.26) ⁱ	80.19 (±1.54) ^g	80.53 (±0.43) ^j	78.88 (±0.58) ^h	79.38 (±1.02) ^g	2	77.06 (±0.48) ^j
	12	52.36 (±1.16) ^k	53.03 (±0.35) ^m	54.04 (±1.06) ^j	50.17 (±0.45) ^m	4	60.07 (±0.21) ^j	62.59 (±0.71) ^j	62.69 (±0.40) ^m	60.93 (±0.65) ^j	61.90 (±0.82) ^k	4	63.65 (±1.00) ^m
	24	25.76 (±0.93) ^p	23.58 (±0.70) ^s	26.77 (±0.78) ^p	24.00 (±0.90) ^s	8	43.60 (±0.63) ^o	32.45 (±0.76) ^o	34.70 (±0.35) ^j	31.06 (±0.39) ^o	36.86 (±1.29) ^q	8	47.04 (±0.92) ^q
	36	13.09 (±1.39) ^s	12.10 (±0.29) ^w	13.13 (±0.92) ^y	14.66 (±0.54) ^y	6	29.21 (±0.59) ^s	18.65 (±0.92) ^y	18.69 (±0.38) ^x	19.72 (±0.41) ^j	20.59 (±0.58) ^j	6	31.12 (±0.57) ^u
	48	3.74 (±0.71) ^v	4.16 (±0.38) ^z	4.04 (±0.44) ^z	4.17 (±0.55) ^z	12	11.38 (±0.56) ^y	7.12 (±0.23) ^u	6.31 (±0.37) ^h	5.49 (±1.12) ^w	8.55 (±0.64) ^w	12	13.73 (±0.26) ^z
80	0	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.45) ^a	100.00 (±1.01) ^a	100.00 (±0.45) ^a	0	100.00 (±0.54) ^a	100.00 (±0.66) ^a	100.00 (±0.31) ^a	100.00 (±1.05) ^a	100.00 (±0.69) ^a	0	100.00 (±0.81) ^a
	2	95.32 (±2.06) ^c	95.04 (±0.79) ^c	95.46 (±0.39) ^b	94.55 (±0.35) ^c	0.5	90.40 (±0.53) ^d	95.61 (±0.30) ^b	95.08 (±0.24) ^c	92.94 (±0.56) ^e	92.44 (±0.98) ^c	0.5	91.10 (±0.32) ^e
	4	88.50 (±2.82) ^e	88.74 (±0.35) ^f	87.96 (±0.39) ^e	86.97 (±1.06) ^e	1	82.65 (±0.69) ^f	91.21 (±3.28) ^d	91.00 (±0.67) ^e	89.78 (±0.39) ^g	89.66 (±0.62) ^d	1	83.77 (±0.65) ^h
	8	70.77 (±2.13) ^j	70.80 (±0.50) ^j	70.80 (±0.75) ^j	68.85 (±0.94) ^k	2	69.43 (±0.53) ^j	75.39 (±0.83) ^b	75.41 (±0.46) ^k	74.25 (±0.29) ^j	73.69 (±1.28) ^h	2	71.59 (±0.33) ^j
	12	44.08 (±1.03) ^m	48.43 (±0.35) ^o	56.60 (±0.63) ^k	44.35 (±0.45) ⁿ	4	51.03 (±0.73) ^m	53.15 (±0.70) ^j	55.68 (±0.48) ^q	49.58 (±0.75) ^m	49.20 (±0.87) ⁿ	4	56.29 (±0.55) ^o
	24	23.03 (±0.50) ^q	22.07 (±0.48) ^j	33.93 (±0.93) ^o	23.69 (±0.84) ^d	8	34.32 (±0.66) ^q	31.69 (±4.72) ^{op}	26.76 (±0.75) ^y	23.05 (±0.62) ^f	38.55 (±1.39) ^p	8	40.52 (±0.48) ^f
	36	10.46 (±1.40) ^t	11.07 (±0.45) ^x	19.61 (±0.81) ^s	10.66 (±0.52) ^x	6	22.06 (±0.54) ^y	18.21 (±0.30) ^f	14.33 (±0.32) ^y	13.28 (±0.65) ^y	16.84 (±0.71) ^y	6	26.41 (±0.33) ^w
	48	3.16 (±0.50) ^v	3.07 (±0.31) ^z	4.84 (±0.67) ^x	3.97 (±0.49) ^z	12	10.73 (±0.68) ^y	5.81 (±0.86) ^w	5.01 (±0.51) ^y	4.98 (±0.79) ^y	6.25 (±0.41) ^y	12	11.30 (±0.40) ^z
90	0	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.45) ^a	100.00 (±1.01) ^a	100.00 (±0.45) ^a	0	100.00 (±0.54) ^a	100.00 (±0.66) ^a	100.00 (±0.31) ^a	100.00 (±1.05) ^a	100.00 (±0.69) ^a	0	100.00 (±0.81) ^a
	2	90.06 (±2.05) ^{de}	91.03 (±0.49) ^e	91.19 (±0.41) ^d	91.80 (±0.60) ^d	0.5	85.58 (±0.53) ^e	93.89 (±0.23) ^c	94.68 (±0.67) ^c	92.49 (±0.67) ^c	92.98 (±0.93) ^c	0.5	86.62 (±0.45) ^g
	4	79.73 (±3.86) ^g	79.72 (±0.29) ^h	79.15 (±0.49) ^g	79.24 (±0.45) ^h	1	72.52 (±0.92) ^j	85.00 (±0.72) ^f	85.34 (±0.27) ^h	83.06 (±0.70) ^g	83.97 (±0.94) ^f	1	73.63 (±1.65) ^k
	8	70.19 (±2.52) ^{ij}	70.08 (±0.64) ^j	68.07 (±0.68) ^j	66.57 (±0.38) ^j	2	60.71 (±0.80) ^j	69.14 (±0.40) ^j	69.28 (±0.40) ^m	70.36 (±0.75) ^k	68.43 (±0.80) ^j	2	62.07 (±0.52) ⁿ
	12	40.67 (±1.02) ⁿ	52.58 (±0.54) ^m	42.96 (±0.86) ⁿ	39.42 (±0.69) ^p	4	43.27 (±1.09) ^q	52.63 (±0.30) ^{lm}	47.89 (±0.39) ^j	49.70 (±0.39) ^m	55.06 (±1.20) ^m	4	44.34 (±0.92) ^r
	24	17.67 (±1.07) ^r	19.62 (±0.40) ^u	18.42 (±1.39) ^j	19.59 (±0.90) ^u	8	25.80 (±0.65) ^j	24.49 (±0.71) ^q	22.43 (±3.66) ^w	25.65 (±1.50) ^p	43.15 (±1.70) ^o	8	29.92 (±0.42) ^v
	36	6.57 (±1.07) ^u	7.11 (±0.44) ^y	7.28 (±0.60) ^v	7.44 (±0.60) ^y	6	16.36 (±0.75) ^w	12.92 (±0.40) ^s	11.26 (±0.43) ^y	12.09 (±0.96) ⁱ	24.16 (±1.11) ^f	6	18.86 (±0.52) ^x
	48	1.99 (±0.81) ^v	1.90 (±0.19) ^y	1.83 (±0.47) ^y	2.15 (±0.35) ^z	12	4.47 (±0.53) ^y	4.75 (±0.40) ^y	4.09 (±0.57) ^y	3.79 (±0.29) ^w	8.85 (±0.86) ^w	12	8.30 (±0.54) ^y
100	0	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.45) ^a	100.00 (±1.01) ^a	100.00 (±0.45) ^a	0	100.00 (±0.54) ^a	100.00 (±0.66) ^a	100.00 (±0.31) ^a	100.00 (±1.05) ^a	100.00 (±0.69) ^a	0	100.00 (±0.81) ^a
	2	83.73 (±1.29) ^f	82.95 (±0.49) ^g	82.33 (±0.41) ^f	83.18 (±0.45) ^f	0.5	77.90 (±1.37) ^h	87.37 (±0.39) ^e	88.13 (±0.31) ^g	86.05 (±0.50) ^f	83.97 (±1.02) ^f	0.5	80.49 (±0.41) ⁱ
	4	68.04 (±1.31) ^j	66.82 (±0.62) ^k	67.11 (±0.49) ^j	68.18 (±0.92) ^k	1	59.63 (±0.73) ^j	74.57 (±0.79) ^h	73.64 (±0.47) ^j	71.77 (±0.54) ^k	71.76 (±1.42) ^j	1	63.61 (±0.51) ^m
	8	50.12 (±1.77) ^j	50.77 (±0.29) ^j	50.06 (±0.49) ^m	49.85 (±0.65) ^m	2	40.74 (±0.30) ^p	60.25 (±0.38) ^k	60.98 (±0.59) ^o	60.31 (±1.17) ^j	58.81 (±0.83) ^j	2	46.65 (±0.51) ^q
	12	36.77 (±1.16) ^o	35.14 (±0.47) ^q	34.27 (±0.71) ^o	32.46 (±0.99) ^q	4	24.59 (±0.58) ^u	46.49 (±0.62) ⁿ	46.18 (±0.65) ^s	43.09 (±0.95) ⁿ	43.33 (±1.27) ^o	4	29.84 (±0.34) ^v
	18	22.16 (±1.36) ^q	23.46 (±0.90) ^s	22.96 (±0.50) ^r	21.67 (±0.95) ^j	8	13.47 (±0.33) ^x	30.22 (±0.53) ^p	30.73 (±0.57) ⁿ	29.71 (±0.70) ^p	26.94 (±1.60) ^f	8	15.81 (±0.60) ^y
	24	13.48 (±1.31) ^s	13.52 (±1.06) ^y	13.65 (±0.39) ^y	13.36 (±0.52) ^w	6	7.76 (±0.95) ^z	17.69 (±0.73) ^f	18.01 (±0.55) ^x	15.76 (±0.91) ^f	13.93 (±0.81) ^y	6	9.61 (±0.52) ^z
	30	1.79 (±0.32) ^v	1.45 (±0.43) ^y	1.20 (±0.41) ^y	4.38 (±0.43) ^z	12	3.30 (±0.36) ^z	8.53 (±0.43) ^f	8.39 (±0.71) ^g	8.31 (±0.87) ^u	7.95 (±0.87) ^w	12	5.02 (±0.46) ^z

TFM: Toplam fenolik madde, TFL: Toplam flavonoid, AA: Antioksidan aktivite, TS: Toplam saponin. Değerler ekstrakta uygulanan ısıtma işlemi sonrası elde edilen analiz değerinin başlangıç değere oranlanması ile belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. pH 9.0’da fenolik ekstraktların TFM, TFL, AA ve TS değerlerindeki değişim

Sıcaklık (°C)	Süre (Saat)	Klasik Ekstraksiyon					Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon						
		TFM (%)	TFL (%)	AA (DPPH) (%)	AA (ABTS) (%)	Süre (Saat)	TS (%)	TFM (%)	TFL (%)	AA (DPPH) (%)	AA (ABTS) (%)	Süre (Saat)	TS (%)
60	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±0.46) ^a	100.00 (±0.83) ^a	100.00 (±0.46) ^a	0	100.00 (±0.48) ^a	100.00 (±0.77) ^a	100.00 (±0.20) ^a	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.82) ^a	0	100.00 (±0.85) ^a
	2	96.57 (±1.33) ^b	96.43 (±0.25) ^b	96.03 (±0.50) ^b	96.31 (±0.66) ^b	0.5	92.28 (±0.65) ^b	97.87 (±0.87) ^b	99.45 (±0.52) ^a	97.91 (±0.64) ^b	97.72 (±0.45) ^b	0.5	93.31 (±0.81) ^b
	4	93.24 (±0.84) ^c	93.38 (±0.50) ^c	93.64 (±0.52) ^c	93.06 (±0.48) ^c	1	80.30 (±0.61) ^d	93.88 (±0.73) ^d	95.14 (±0.59) ^c	93.90 (±0.30) ^d	93.95 (±0.74) ^c	1	83.39 (±0.51) ^d
	8	84.47 (±1.33) ^f	84.36 (±0.92) ^f	84.77 (±0.84) ^f	83.70 (±1.12) ^f	2	67.23 (±1.10) ^f	84.64 (±0.46) ^f	82.21 (±0.27) ^h	83.08 (±1.09) ^h	89.26 (±0.76) ^d	2	70.04 (±0.75) ^e
	12	70.85 (±2.11) ⁱ	69.01 (±0.52) ^j	69.94 (±0.70) ^j	69.17 (±0.89) ^j	4	49.85 (±0.48) ^k	68.06 (±0.31) ^j	67.59 (±0.4) ^k	71.51 (±0.40) ^j	79.87 (±1.09) ^e	4	54.41 (±0.47) ^j
	24	39.28 (±2.68) ^o	38.87 (±0.47) ^q	37.78 (±0.30) ^r	37.40 (±1.02) ^q	8	37.95 (±1.04) ^m	48.15 (±0.44) ^m	47.96 (±0.55) ⁿ	41.05 (±0.64) ^p	53.81 (±1.58) ^j	8	42.08 (±0.60) ^m
	36	22.84 (±1.04) ^q	22.41 (±0.55) ^t	22.02 (±1.54) ^t	21.71 (±0.95) ^t	6	25.11 (±0.57) ^p	24.57 (±0.30) ^q	26.84 (±0.25) ^q	25.88 (±1.33) ^r	29.11 (±0.86) ^q	6	32.21 (±1.03) ^p
	72	5.08 (±2.38) ^{wx}	5.11 (±0.36) ^z	4.68 (±0.79) ^z	4.37 (±0.38) ^{zm}	12	13.13 (±0.61) ⁱ	6.10 (±0.30) ^y	6.37 (±0.20) ^x	5.24 (±0.40) ^w	5.58 (±0.83) ^y	12	14.03 (±0.63) ^y
70	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±0.46) ^a	100.00 (±0.83) ^a	100.00 (±0.46) ^a	0	100.00 (±0.48) ^a	100.00 (±0.77) ^a	100.00 (±0.20) ^a	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.82) ^a	0	100.00 (±0.85) ^a
	2	95.97 (±1.25) ^b	96.00 (±0.73) ^b	95.86 (±0.40) ^b	95.38 (±0.81) ^b	0.5	88.02 (±0.56) ^c	95.80 (±0.94) ^c	97.39 (±0.51) ^b	95.35 (±0.40) ^c	94.13 (±0.51) ^c	0.5	90.51 (±1.10) ^c
	4	90.72 (±1.25) ^d	80.59 (±0.38) ^b	82.72 (±0.91) ^b	82.16 (±0.68) ^b	1	75.44 (±1.17) ^e	91.46 (±0.94) ^e	91.44 (±0.52) ^f	90.76 (±0.50) ^f	90.74 (±0.65) ^f	1	76.91 (±0.35) ^f
	8	67.32 (±1.66) ^j	63.02 (±0.87) ^j	63.29 (±0.52) ^j	64.38 (±0.96) ^k	2	61.69 (±0.52) ^h	69.53 (±1.33) ^h	69.74 (±0.41) ^j	69.48 (±0.30) ^k	68.88 (±0.89) ^h	2	65.60 (±0.78) ^h
	12	50.68 (±1.92) ^m	49.18 (±0.57) ^o	51.14 (±0.77) ^o	50.23 (±1.03) ^o	4	41.90 (±2.02) ^j	54.69 (±2.96) ^k	54.23 (±0.85) ^m	54.42 (±0.81) ⁿ	53.75 (±0.83) ^j	4	44.41 (±0.71) ^j
	24	21.53 (±1.33) ^q	23.89 (±0.35) ^s	22.19 (±0.52) ^j	22.87 (±0.75) ^s	8	33.23 (±0.31) ^p	31.78 (±0.84) ^o	32.65 (±1.01) ^p	31.52 (±0.61) ^q	32.32 (±1.07) ^p	8	34.92 (±0.94) ^o
	36	11.54 (±1.89) ^j	10.96 (±0.68) ^w	11.57 (±0.96) ^w	12.08 (±0.73) ^w	6	19.07 (±1.27) ^f	17.44 (±0.57) ^s	17.48 (±0.68) ^j	17.57 (±1.26) ^j	16.94 (±0.64) ^q	6	22.29 (±0.62) ^j
	48	3.37 (±1.06) ^{wx}	2.77 (±0.39) ^z	3.51 (±0.40) ^z	3.55 (±0.38) ^z	12	8.18 (±0.50) ^y	5.54 (±1.13) ^{wx}	5.55 (±0.36) ^y	5.07 (±0.30) ^w	5.27 (±0.76) ^y	12	9.71 (±0.31) ^z
80	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±0.46) ^a	100.00 (±0.83) ^a	100.00 (±0.46) ^a	0	100.00 (±0.77) ^a	100.00 (±0.77) ^a	100.00 (±0.20) ^a	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.82) ^a	0	100.00 (±0.85) ^a
	2	91.53 (±1.45) ^{cd}	92.35 (±0.35) ^d	91.19 (±0.72) ^d	91.52 (±0.95) ^d	0.5	87.47 (±0.62) ^c	92.62 (±0.71) ^e	93.10 (±0.72) ^d	92.27 (±0.82) ^e	92.71 (±0.86) ^e	0.5	90.34 (±0.65) ^c
	4	81.94 (±2.39) ^g	81.54 (±0.84) ^g	81.32 (±0.99) ^h	80.79 (±0.94) ^h	1	64.69 (±1.12) ^g	84.43 (±1.01) ^f	82.79 (±0.93) ^h	81.80 (±0.55) ⁱ	81.47 (±0.68) ^j	1	76.65 (±0.57) ^f
	8	60.96 (±2.25) ^k	60.53 (±0.44) ^m	60.07 (±1.03) ^m	59.43 (±0.66) ^j	2	49.35 (±0.67) ^k	66.97 (±1.18) ⁱ	68.19 (±0.91) ^k	67.27 (±0.74) ^j	66.65 (±0.86) ^j	2	53.39 (±0.47) ^k
	12	45.13 (±2.47) ⁿ	44.27 (±1.07) ^p	42.16 (±0.96) ^p	44.34 (±1.26) ^o	4	31.28 (±0.66) ^o	50.25 (±1.16) ^j	47.96 (±0.24) ⁿ	46.34 (±0.78) ^o	45.16 (±1.27) ^k	4	37.12 (±0.97) ⁿ
	24	17.69 (±0.69) ^f	20.15 (±0.19) ^u	20.73 (±0.73) ^u	18.35 (±0.58) ^j	8	22.16 (±0.64) ^q	25.73 (±0.24) ^{pq}	25.12 (±0.74) ^s	23.03 (±0.77) ^s	34.36 (±3.31) ^m	8	24.54 (±0.92) ^f
	36	8.31 (±0.87) ^u	8.57 (±0.19) ^x	7.95 (±0.61) ^x	8.34 (±0.73) ^x	6	14.99 (±0.48) ^s	13.20 (±0.53) ^f	13.68 (±0.40) ^u	12.34 (±0.79) ^u	13.30 (±1.13) ^s	6	15.22 (±0.66) ^u
	48	2.66 (±1.19) ^x	2.49 (±0.21) ^z	2.52 (±0.56) ^{ab}	2.44 (±1.06) ^g	12	6.68 (±0.52) ^w	4.39 (±0.24) ^w	3.74 (±0.29) ^z	4.43 (±0.77) ^w	4.47 (±0.32) ^y	12	7.17 (±0.50) ^y
90	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±0.46) ^a	100.00 (±0.83) ^a	100.00 (±0.46) ^a	0	100.00 (±0.48) ^a	100.00 (±0.77) ^a	100.00 (±0.20) ^a	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.82) ^a	0	100.00 (±0.85) ^a
	2	88.60 (±1.28) ^e	88.13 (±0.19) ^e	88.38 (±0.40) ^e	88.82 (±0.58) ^e	0.5	79.89 (±0.54) ^d	91.64 (±0.46) ^e	92.27 (±0.76) ^e	90.93 (±0.40) ^f	90.74 (±1.47) ^d	0.5	80.04 (±0.57) ^e
	4	78.52 (±1.68) ^h	76.57 (±0.84) ^j	76.30 (±0.73) ^j	75.89 (±0.65) ^j	1	58.42 (±1.47) ^j	82.51 (±0.58) ^g	82.82 (±0.80) ^h	81.57 (±0.82) ^j	81.23 (±1.11) ^h	1	59.96 (±0.35) ^j
	8	56.22 (±1.75) ^j	56.42 (±0.35) ⁿ	53.42 (±0.30) ⁿ	55.13 (±0.66) ^m	2	41.77 (±1.46) ^j	65.05 (±0.46) ^j	66.12 (±0.33) ^j	65.70 (±0.52) ^m	65.48 (±1.11) ^j	2	45.34 (±1.25) ^j
	12	41.19 (±0.52) ^o	39.27 (±0.30) ^q	39.88 (±0.73) ^q	39.94 (±0.61) ^q	4	25.34 (±1.21) ^p	48.26 (±0.46) ^m	47.82 (±0.38) ⁿ	46.40 (±0.69) ^o	44.92 (±1.42) ^k	4	29.46 (±0.35) ^q
	24	13.96 (±1.19) ^s	14.22 (±0.44) ^z	14.37 (±0.64) ^z	15.77 (±0.48) ^z	8	15.99 (±0.99) ^s	20.10 (±0.30) ^r	21.18 (±0.74) ^s	18.61 (±0.84) ^t	33.74 (±1.70) ^{mm}	8	18.61 (±0.22) ^r
	36	5.69 (±1.25) ^v	6.23 (±0.52) ^y	6.02 (±1.23) ^y	6.30 (±0.48) ^y	6	9.99 (±0.50) ^y	11.77 (±0.18) ^z	11.13 (±0.21) ^z	10.53 (±0.68) ^y	15.09 (±1.11) ^f	6	11.70 (±0.74) ^w
	48	1.96 (±0.89) ^x	2.17 (±0.27) ^z	1.53 (±0.77) ^{br}	2.11 (±0.60) ^{br}	12	3.82 (±0.70) ^z	2.36 (±0.46) ^z	2.82 (±0.20) ^z	4.26 (±1.23) ^y	7.13 (±0.42) ^y	12	5.35 (±0.58) ^z
100	0	100.00 (±0.89) ^a	100.00 (±0.46) ^a	100.00 (±0.83) ^a	100.00 (±0.46) ^a	0	100.00 (±0.48) ^a	100.00 (±0.77) ^a	100.00 (±0.20) ^a	100.00 (±0.84) ^a	100.00 (±0.82) ^a	0	100.00 (±0.85) ^a
	2	81.74 (±0.87) ^g	81.45 (±0.38) ^g	80.80 (±0.40) ^h	80.90 (±0.77) ^h	0.5	76.22 (±1.19) ^e	84.40 (±0.48) ^f	85.46 (±0.38) ^g	85.06 (±0.48) ^g	84.38 (±0.88) ^g	0.5	76.70 (±0.56) ^f
	4	65.81 (±1.07) ^j	66.93 (±0.48) ^k	66.79 (±0.72) ^k	64.82 (±0.96) ^k	1	59.74 (±0.17) ^j	70.37 (±0.37) ^h	71.09 (±0.62) ^j	69.71 (±0.98) ^k	69.87 (±1.07) ^h	1	60.51 (±0.70) ^j
	8	49.97 (±1.11) ^m	49.66 (±0.41) ^o	50.68 (±0.40) ^o	49.90 (±1.30) ^o	2	38.59 (±0.60) ^m	54.87 (±0.92) ^k	54.69 (±0.36) ^m	54.37 (±0.98) ⁿ	53.75 (±0.83) ^j	2	42.89 (±0.56) ^m
	12	32.52 (±1.44) ^p	32.79 (±0.48) ^j	32.29 (±0.87) ^s	32.50 (±0.74) ^r	4	21.30 (±0.76) ^q	42.21 (±0.75) ⁿ	41.99 (±0.42) ^o	40.53 (±1.06) ^p	39.73 (±1.13) ^j	4	24.37 (±0.63) ^r
	18	10.93 (±0.84) ^r	11.05 (±0.47) ^w	11.04 (±0.60) ^w	12.57 (±0.85) ^w	8	9.81 (±0.79) ^q	26.01 (±0.54) ^p	26.15 (±0.44) ^q	25.07 (±1.03) ^r	25.34 (±0.73) ^p	8	11.49 (±0.63) ^w
	24	5.18 (±0.89) ^{wx}	5.03 (±0.19) ^z	5.15 (±0.64) ^{yz}	5.20 (±0.78) ^z	6	3.91 (±0.31) ^x	13.80 (±0.59) ^t	12.39 (±0.54) ^y	10.94 (±0.69) ^y	10.71 (±0.84) ^j	6	4.97 (±0.31) ^z
	30	1.25 (±1.53) ^x	1.40 (±0.30) ^g	1.12 (±0.86) ^y	1.18 (±0.38) ^y	12	0.51 (±0.43) ^y	5.05 (±0.59) ^{wx}	5.35 (±0.50) ^y	4.95 (±0.85) ^w	4.78 (±0.55) ^y	12	3.10 (±0.37) ^z

TFM: Toplam fenolik madde, TFL: Toplam flavonoid, AA: Antioksidan aktivite, TS: Toplam saponin. Değerler ekstrakta uygulanan ısıtış işlem sonrası elde edilen analiz değeri başlangıç değeriyle oranlanmıştır.

4.2 Çemen Otu Tohumundan Diyet Lifi Ekstraksiyonu, Karakterizasyonu ve Depolama Stabiliteleri

4.2.1 Diyet lifi ekstraksiyonu ve karakterizasyonu

Klasik ekstraksiyon işlemi

Çemen otu tohumundan diyet lifi ekstraksiyonu amacıyla katı/çözgen oranı (g/l) ve çözgen olarak kullanılan NaOH konsantrasyonunun etkisi incelenmiş ve elde edilen çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi verimleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. En yüksek toplam diyet lifi veriminin (%77.79) katı/çözgen oranının 60 g/l olduğu koşulda elde edildiği görülmüştür. Buna karşın en düşük toplam diyet lifi verimi (%50.19) 100 g/l katı/çözgen oranı için belirlenmiştir. Toplam diyet lifi verimi için bir diğer parametre çözgen olarak kullanılan NaOH konsantrasyonudur (Türker ve ark., 2022). Çizelge 4.10 incelendiğinde, tüm katı/çözgen oranları için 1.25 M NaOH ile en yüksek verim değerlerine ulaşıldığı görülmektedir. Çözgen (NaOH) konsantrasyonu 1.25 M olduğu durumda düşük konsantrasyona (0.5 M) göre daha yüksek diyet lifi verimlerinin elde edilmesi, yapıda bulunan lignin ve hemiselülozun ster bağlarının bu konsantrasyon değerinde daha kolay hidrolize olması ile açıklanabilmektedir (Chaturvedi ve Verma, 2013). 2.0 M NaOH konsantrasyonu için ise en düşük verim değerleri elde edilmiştir. Çözünür ve çözünmez diyet lifi için benzer sonuçlar gözlenmiş ve en yüksek verim değerlerine 60 g/l katı/çözgen oranı ve 1.0 M NaOH ile ulaşılmıştır. Çözünür diyet lifi için 1.25 M NaOH konsantrasyonundaki artış, bu konsantrasyonda diyet lifinin uygun şekilde hidrolizasyonunun sağlanması ve çözünürlüğünün artması ile açıklanabilmektedir (Ding ve ark., 2020; Türker ve ark., 2022).

Çizelge 4.10. Klasik diyet lifi ekstraksiyonu için oluşturulan deneysel tasarım ve ekstraksiyon verimleri

Deneme No	Katı/çözgen (g/l) (X ₁)	NaOH (M) (X ₂)	Çözünür diyet lifi (%)	Çözünmez diyet lifi (%)	Toplam diyet lifi (%)
1	20	1.25	21.50	46.71	68.21
2	20	0.50	18.34	45.81	64.16
3	100	2.00	15.84	34.36	50.19
4	60	2.00	19.60	46.29	65.89
5	60	2.00	19.72	46.66	66.38
6	60	0.50	17.08	57.72	74.80
7	60	1.25	20.15	56.88	77.02
8	100	1.25	15.94	44.06	60.00
9	100	0.50	13.47	44.18	57.65
10	60	0.50	18.67	56.11	74.78
11	100	1.25	17.29	44.12	61.41
12	60	1.25	18.27	58.77	77.05
13	20	1.25	21.37	46.07	67.44
14	20	2.00	15.77	42.13	57.89
15	60	1.25	22.03	55.76	77.79

Çizelge 4.11’de çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi verimleri için ANOVA tablosu verilmiştir. Tüm sonuçlar için oluşturulan kuadratik modeller istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) ve model uygunsuzluğu değerleri istatistiksel olarak anlamsızdır ($p>0.05$). Toplam diyet lifi verimi için katı/çözgen oranı ve NaOH konsantrasyonunun doğrusal etkilerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$). Ayrıca, her iki bağımsız değişkenin de çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi verimi üzerine kuadratik etkileri istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Bağımsız değişkenlerin doğrusal interaksiyonunun çözünmez diyet lifi verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$) olmasına karşın, çözünür ve toplam diyet lifi verimi üzerine bağımsız değişkenlerin doğrusal interaksiyonunun istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p>0.05$).

Yanıt olarak seçilen toplam diyet lifi verimi için ikinci dereceden polinomiyal bir model oluşturularak çözünür ve çözünmez diyet lifi verimleri için de polinomiyal modeller elde edilmiştir. Oluşturulan modeller toplam, çözünür ve çözünmez diyet lifi verimleri için sırasıyla Eşitlik 4.11, 4.12 ve 4.13 ile verilmiştir. Ayrıca, bağımsız değişkenlerin toplam, çözünür ve çözünmez diyet lifi verimi üzerine etkisini gösteren yanıt yüzey grafikleri ile

modellerden tahminlenen veriler ile deneysel veriler arasındaki ilişkiyi gösteren grafikler Şekil 4.5'te verilmiştir. Yanıt yüzey grafiğinde 60 g/l katı/çözgen oranında ve 1.25 M NaOH ile en yüksek değerlerin elde edildiği görülmektedir (Şekil 4.5). Diyet lifi ekstraksiyon verimleri için deneysel ve tahminlenen veriler arasında yüksek korelasyon sağlayan kuadratik modellerin uygunluğunu kanıtlanmıştır (Şekil 4.5). Modelin yanıt uygunluğu ayrıca R^2 , düzeltilmiş R^2 (düz- R^2), yeterli tahminleme, tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı ve varyasyon katsayısı değerleri ile de desteklenmiştir. R^2 ve düz- R^2 değerlerinin birbirine oldukça yakın oluşu, yanıt için oluşturulan modelin istatistiksel anlamda önemsiz terimleri içermediğinin göstergesidir (Çizelge 4.11).

$$\text{TDL verimi (\%)} = 37.51 + 1.01X_1 + 27.83X_2 - 0.01X_1^2 - 12.12X_2^2 + 7.48 \times 10^{-4}X_1^2X_2 \quad (4.11)$$

$$\text{ÇDL verimi (\%)} = 14.58 + 0.06X_1 - 1.31X_1^2 - 4.17X_2^2 \quad (4.12)$$

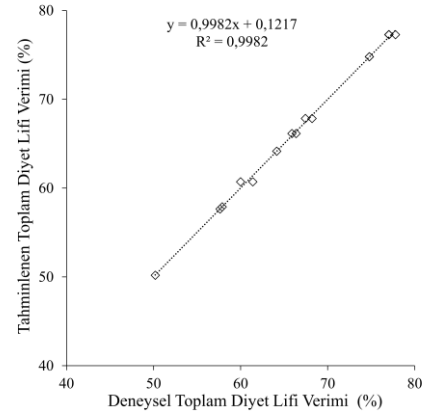
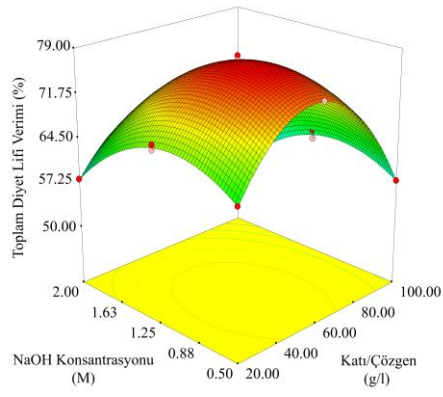
$$\text{ÇMZDL verimi (\%)} = 25.57 + 0.84X_1 + 17.18X_2 - 0.007X_1^2 - 7.94X_2^2 \quad (4.13)$$

Çizelge 4.11. Klasik ekstraksiyon işlemi için ANOVA tablosu ve istatistiksel veriler

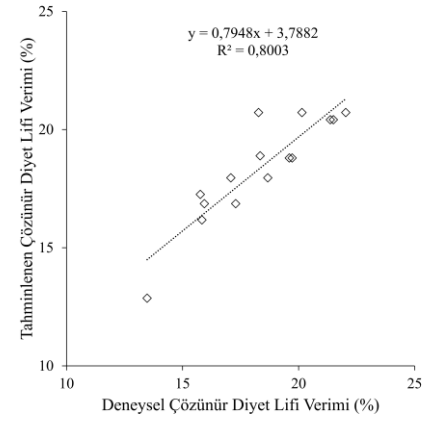
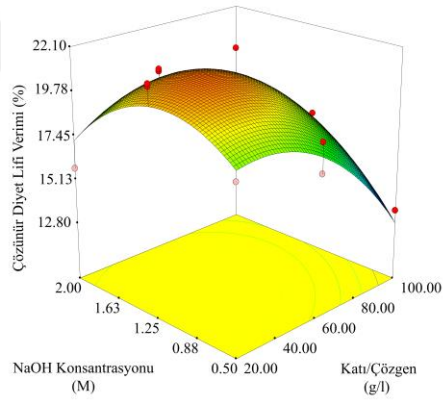
Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Toplamı			F Değeri			p – Değeri		
		ÇDL	ÇMZDL	TDL	ÇDL	ÇMZDL	TDL	ÇDL	ÇMZDL	TDL
Model	7	72.46	684.51	980.57	5.95	73.93	548.53	0.0157	< 0.0001	< 0.0001
X ₁	1	23.21	5.30	50.69	13.34	4.01	198.50	0.0082	0.0854	< 0.0001
X ₂	1	3.18	108.94	74.89	1.83	82.36	293.24	0.2184	< 0.0001	< 0.0001
X ₁ X ₂	1	6.10	9.40	0.36	3.51	7.11	1.39	0.1033	0.0322	0.2766
X ₁ ²	1	16.21	442.49	628.09	9.31	334.53	2459.46	0.0185	< 0.0001	< 0.0001
X ₂ ²	1	20.41	74.02	172.15	11.72	55.96	674.08	0.0111	0.0001	< 0.0001
X ₁ ² X ₂	1	1.79	6.80	1.61	1.03	5.14	6.31	0.3444	0.0578	0.0403
X ₁ X ₂ ²	1	2.92	2.88	1.30x10 ⁻⁴	1.68	2.18	5.07x10 ⁻⁴	0.2361	0.1833	0.9827
Kalıntı	7	12.18	9.26	1.79						
Model Uygunsuzluğu	1	2.94	3.06	1.21x10 ⁻³	1.91	2.96	4.05x10 ⁻³	0.2163	0.1359	0.9513
Saf Hata	6	9.24	6.20	1.79						
Toplam	14	84.65	693.77	982.36						

R^2 : 0.9982, adj- R^2 : 0.9964, Adequate Precision: 73.41, PRESS: 5.25, C.V. (%): 0.76

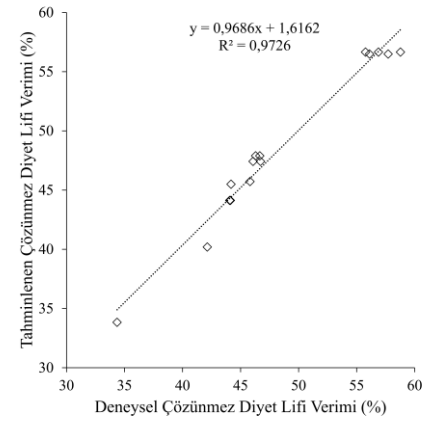
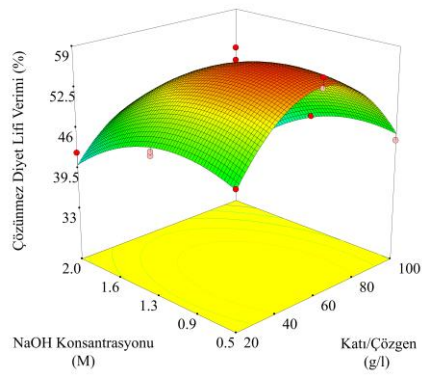
X₁: Katı/çözgen (g/l), X₂: NaOH konsantrasyonu (M), ÇDL: Çözünür diyet lifi (%), ÇMZDL (%): Çözünmez diyet lifi (%), TDL: Toplam diyet lifi, SD: Serbestlik derecesi



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.5. Klasik ekstraksiyonda verim değerleri için yanıt yüzey grafikleri ile tahminlenen ve deneysel veriler arasındaki ilişki (a) toplam diyet lifi verimi (b) çözünür diyet lifi verimi (c) çözünmez diyet lifi verimi

Yağı giderilmiş çemen otu tohumu örneklerinden klasik ekstraksiyon işlemi ile diyet lifi eldesi için katı/çözgen oranı ve NaOH konsantrasyonu bağımsız değişkenler olarak seçilmiş ve nümerik optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Desirability değerleri 1.0 olan birbirine oldukça yakın 9 farklı çözüm içerisinde 52.50 g/l katı/çözgen oranı ve 1.01 M NaOH konsantrasyonu optimum koşul olarak seçilmiştir. Optimum koşulda toplam diyet lifi verimi %77.92 olarak hesaplanmıştır. Üç tekrarlı optimum nokta doğrulama denemelerinde ortalama deneysel toplam diyet lifi verimi %78.52±1.76 olarak belirlenmiştir. Optimum noktada çözünür diyet lifi verimi %19.16±1.58, çözünmez diyet lifi verimi ise %59.36±1.08 olarak tespit edilmiştir. Tek örnek t-testine göre, deneysel ve tahminlenen veriler arasında istatistiksel bir fark bulunmadığı görülmüştür ($p>0.05$) (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.12. Klasik ekstraksiyon için optimum noktada tahminlenen ve deneysel diyet lifi verimi değerleri

Yanıtlar	Tahminlenen Değer	Deneysel Değer	p-değeri
Toplam diyet lifi verimi (%)	77.92	78.52 (±1.76)	0.211
Çözünür diyet lifi verimi (%)	20.92	19.16 (±1.58)	0.085
Çözünmez diyet lifi verimi (%)	56.94	59.36 (±1.08)	0.081

Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14’te farklı koşullarda ekstraksiyonu gerçekleştirilen çözünür ve çözünmez diyet lifi örneklerinin fiziko-kimyasal özellikleri verilmiştir. Su tutma kapasitesi (STK) diyet lifinin suyu adsorplama özelliği olarak tanımlanmaktadır (Ma ve Mu, 2016). Çözünmez diyet lifi için en yüksek STK değeri 60 g/l katı/çözgen oranı ve 1.0 M NaOH değerinde elde edilmiştir. Buna karşın, 2.0 M NaOH için en düşük STK değerleri gözlenmiştir (Çizelge 4.14). Bu sonuçlara göre, 2.0 M NaOH kullanımı ile çözünmez liflerin yapısının bozulduğu, buna bağlı olarak STK değerlerinin azaldığı düşünülmektedir (Ding ve ark., 2020). Benzer sonuçlar çözünür diyet lifi için de belirlenmiştir (Çizelge 4.13). Diyet lifi için bir diğer önemli fiziko-kimyasal özellik yağ tutma kapasitesidir (YTK) ve diyet lifinin yağı adsorbe etme özelliği olarak tanımlanmaktadır (Navarro-González ve ark., 2011). Çözünür ve çözünmez diyet lifleri

için YTK değerleri 1.28-3.03 g yağ/g kuru örnek aralığında belirlenmiştir (Çizelge 4.13, Çizelge 4.14). En düşük değerler, STK değerlerinde olduğu gibi, 2.0 M NaOH konsantrasyonunda tespit edilmiş ve yüksek NaOH konsantrasyonunun diyet lifi örneklerinin yüzey karakteristiklerini olumsuz etkilediği düşünülmüştür (Dong ve ark., 2019). STK analizlerine benzer şekilde, YTK için en yüksek değerler 60 g/l katı/çözgen oranı ve 1.0 M NaOH değerinde elde edilmiştir. Zhang ve ark. (2020), uygun alkali çözelti konsantrasyonunda selüloz, lignin ve hemiselülozun ekstrakte edilebildiğini ve bu konsantrasyonda ekstraksiyon gerçekleştirilmesi ile farklı fonksiyonel grupların oluşması sonucunda diyet liflerinin YTK değerlerinin artabileceğini bildirmişlerdir (Zhang ve ark., 2020). Meng ve ark. (2019) karabuğday saplarından diyet lifi eldesinde alkali ekstraksiyon kullanarak benzer sonuçlara ulaşmışlardır. Çözünmez diyet lifine benzer şekilde, çözünür diyet lifi örneklerinde en düşük YTK değerleri 2.0 M NaOH konsantrasyonunda elde edilmiştir. Literatürde çemen otu tohumundan diyet lifi eldesine dair sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Krishnakumar ve ark. (2012) çemen otu tohumundan çözünür diyet lifi elde ettikleri çalışmada, çözünür diyet lifinin β -d-mannopyranosyl kalıntılarının (1 $\rightarrow$ 4) α -d-galactopyranosyl gruplarına (1 $\rightarrow$ 6) glikozidik bağlarla bağlanmış bir yapıya sahip olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, çalışmada çözünür diyet lifi örneklerinin STK değerlerinin 20 ml/g ve YTK değerlerinin 3 ml/g olduğu tespit edilmiştir (Krishnakumar ve ark., 2012). Diğer bir fiziko-kimyasal özellik olan şişme kapasitesi (ŞK), diyet lifinin fazla miktarda su ile muamele edilmesi sonucunda lifin hacminde meydana gelen artış (denge hali sağlandıktan sonra) olarak ifade edilmektedir (Ma ve Mu, 2016). Alkali ekstraksiyon işleminin, selüloz zincirlerini bozması ve gözenekli yapıda lif oluşumunu sağlaması nedenleriyle ŞK değerlerini artıracığı bildirilmiştir (Meng ve ark., 2019). Gerçekleştirilen tez çalışmasında klasik ekstraksiyon işlemi ile elde edilen çözünmez diyet lifi için ŞK değerleri 6.07-12.08 ml/g kuru örnek aralığında belirlenmiş ve bu değerlerin bezelye ve nohuttan elde edilen çözünmez diyet liflerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür (Tosh ve Yada, 2010). Çeşitli gıda formülasyonlarında farklı özelliklere sahip diyet lifleri kullanılmaktadır. Yüksek STK değerlerine sahip diyet lifi viskoziteyi artırırken, yüksek YTK değerlerine sahip diyet lifi safra asidi ve kolestreolü bağlayabilmektedir (Hassan ve ark., 2011). Tez çalışmasında klasik ekstraksiyon yöntemi ile optimum noktada elde edilen diyet lifi örneklerinin asidik ekstraksiyon ile elde edilen portakal kabuğu lifi (Wang ve ark., 2015), enzimatik

ekstraksiyon ile elde edilen mısır kepeği (Dong ve ark., 2019) ve yalnızca saf su kullanılarak elde edilen havuç lifi (Chau ve ark., 2007) örneklerine oranla daha yüksek STK, YTK ve ŞK değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14). Çemen otu tohumundan elde edilen diyet lifi örneklerinin yüksek fiziko-kimyasal özelliklere sahip olması, çözgen olarak NaOH kullanılması ile açıklanabilir. Alkali ekstraksiyon sonucunda hemiselülozlar arasındaki hidrojen bağlarının kırılması nedeniyle diyet lifi örneklerinde hidrofilik grupların sayısının artırıldığı ve dolayısı ile diyet lifinin hidrasyon kapasitesinin yükseldiği düşünülmektedir (Zhang ve ark., 2020).

Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14'te farklı ekstraksiyon koşulları için diyet lifi örneklerinin fonksiyonel özellikleri (glukoz adsorpsiyon kapasitesi ve α -amilaz inhibisyon kapasitesi) verilmiştir. Glukoz adsorpsiyon kapasitesi (GAK), bir diyet lifinin karbonhidratları bağlama özelliğini ifade etmekte ve hipoglisemik aktivitenin temel mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir (Chau ve ark., 2003; Jia ve ark., 2020). GAK değerlerinin çözünmez diyet lifi için 60 g/l katı/çözgen oranında ve 0.5 M ile 1.25 M NaOH konsantrasyonlarında en yüksek değerlere ulaştığı (13.21 ve 13.42 mmol/g kuru örnek) ve bu iki koşul arasında istatistiksel olarak önemli bir farklılık bulunmadığı görülmüştür ($p>0.05$) (Çizelge 4.14). Ayrıca, çözünür diyet lifi örneklerinin GAK değerlerinin 3.36-7.17 mmol/g kuru örnek aralığında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.13). Benzer şekilde, Wang ve ark. (2021), kividenden diyet lifi elde ettikleri çalışmada çözünmez diyet lifi örneklerinin GAK değerlerinin çözünür diyet lifi örneklerine göre daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Dong ve ark. (2020) ise, kahve çekirdeği kabuklarından alkali ekstraksiyon ile çözünür diyet lifi elde ettikleri çalışmada oldukça yüksek GAK değerlerine (162.40 mmol/g kuru örnek) ulaşmışlardır. Literatürde bulunan çalışmalar incelendiğinde, diyet liflerinin fonksiyonel özelliklerinin ekstraksiyon yöntemi, ekstraksiyon koşulları ve hammadde çeşidi gibi değişkenlerden etkilendiği görülmektedir.

Alfa-amilaz (α -amilaz) oligosakkaritlerden monosakkaritlerin üretimi için kullanılan temel enzimlerden biridir ve bu enzimin baskılanması kanda mevcut olan glukozun artışı geciktirmektedir (Hua ve ark., 2020). Bu nedenle tip 2 diyabetin önlenmesi amacıyla α -amilazın inhibisyonu büyük önem taşımaktadır (Im ve Yoon, 2015). Tez çalışmasında çemen otu tohumundan elde edilen çözünür ve çözünmez diyet lifi

örneklerinin α -amilaz inhibisyon etkisine sahip olduğu tespit edilmiştir. Çözünmez diyet lifi örneklerinin çözünür diyet lifi örneklerine kıyasla daha yüksek α -amilaz inhibisyon kapasitesi (AAIK) değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.13 ve Çizelge 4.14). AAIK genel olarak hidroksil grubu gibi fonksiyonel grupların varlığından, ortamın glukoz konsantrasyonundan ve diyet lifinin moleküler ağırlığından etkilenmektedir (Jiang ve ark., 2021). Ayrıca, diyet lifi konsantrasyonu, yüzey alanı ve partikül boyutu örneklerin AAIK değerlerini etkileyebilmektedir (Ma ve Mu, 2016).

Çözünür ve çözünmez diyet lifi örnekleri için klasik ekstraksiyonda belirlenen optimum nokta için GAK ve AAIK değerlerinin en yüksek düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak, optimum koşullarda çözünmez diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerin çözünür diyet lifinden daha yüksek olduğu elde edilen bulgular arasındadır. Çözünür ve çözünmez diyet lifleri için benzer sonuçlar Ding ve ark. (2020) ve Dong ve ark. (2019) tarafından da bildirilmiştir.

Çizelge 4.13. Klasik ekstraksiyon ile elde edilen çözünür diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler

DN	Katı/çözgen (g/l)	NaOH (M)	STK (g su/g kuru örnek)	YTK (g yağ/g kuru örnek)	ŞK (ml/g kuru örnek)	GAK (mmol/g kuru örnek)	AAIK (%)
1	20	1.25	3.40 (± 0.30) ^b	1.92 (± 0.01) ^d	5.11 (± 0.20) ^{cd}	6.05 (± 0.06) ^d	5.17 (± 0.66) ^{cd}
2	20	0.5	2.95 (± 0.18) ^{cd}	1.63 (± 0.06) ^e	5.58 (± 0.11) ^{ab}	6.61 (± 0.23) ^{bc}	5.49 (± 0.22) ^{bcd}
3	100	2	1.70 (± 0.06) ^e	1.03 (± 0.13) ^g	2.86 (± 0.19) ^f	3.36 (± 0.42) ^h	2.98 (± 0.28) ⁱ
4	60	2	1.99 (± 0.04) ^e	1.17 (± 0.12) ^{fg}	2.86 (± 0.17) ^f	3.78 (± 0.18) ^g	3.61 (± 0.22) ^{gh}
5	60	2	1.95 (± 0.11) ^e	1.21 (± 0.04) ^f	3.09 (± 0.17) ^f	3.60 (± 0.24) ^{gh}	4.08 (± 0.44) ^{fg}
6	60	0.5	3.81 (± 0.22) ^a	2.17 (± 0.01) ^c	4.83 (± 0.14) ^d	6.58 (± 0.12) ^{bc}	6.11 (± 0.22) ^{ab}
7	60	1.25	4.03 (± 0.23) ^a	2.41 (± 0.06) ^{ab}	5.82 (± 0.23) ^a	6.86 (± 0.06) ^{ab}	6.27 (± 0.44) ^{ab}
8	100	1.25	2.80 (± 0.20) ^d	1.69 (± 0.02) ^e	4.85 (± 0.19) ^d	5.42 (± 0.30) ^e	5.02 (± 0.45) ^{cde}
9	100	0.5	3.26 (± 0.03) ^{bc}	1.96 (± 0.05) ^d	4.48 (± 0.02) ^e	5.20 (± 0.12) ^{ef}	5.64 (± 0.46) ^{bcd}
10	60	0.5	3.83 (± 0.07) ^a	2.31 (± 0.16) ^{bc}	5.23 (± 0.03) ^{bc}	7.17 (± 0.12) ^a	6.74 (± 0.02) ^a
11	100	1.25	2.76 (± 0.05) ^d	1.68 (± 0.01) ^e	4.23 (± 0.02) ^e	4.92 (± 0.18) ^f	4.23 (± 0.12) ^{efg}
12	60	1.25	4.06 (± 0.05) ^a	2.52 (± 0.06) ^a	5.59 (± 0.17) ^{ab}	6.33 (± 0.18) ^{cd}	5.80 (± 0.22) ^{bc}
13	20	1.25	3.26 (± 0.03) ^{bc}	1.99 (± 0.06) ^d	5.09 (± 0.17) ^{cd}	6.15 (± 0.06) ^d	4.86 (± 0.68) ^{def}
14	20	2	1.75 (± 0.09) ^e	1.01 (± 0.06) ^g	2.86 (± 0.19) ^f	3.82 (± 0.06) ^g	3.45 (± 0.84) ^{gh}
15	60	1.25	4.08 (± 0.09) ^a	2.44 (± 0.01) ^{ab}	5.36 (± 0.18) ^{bc}	6.40 (± 0.06) ^{cd}	6.74 (± 0.22) ^a
ON	52.50	1.01	4.20 (± 0.09)	2.44 (± 0.05)	5.22 (± 0.24)	6.70 (± 0.10)	6.53 (± 0.33)

STK: Su tutma kapasitesi, YTK: Yağ tutma kapasitesi, ŞK: Şişme kapasitesi, GAK: Glukoz adsorpsiyon kapasitesi, AAIK: α -amilaz inhibisyon kapasitesi, ON: Optimum nokta, DN: Deneme no

^{a-h} Her bir sütunda bulunan farklı harflere ait ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05).

Çizelge 4.14. Klasik ekstraksiyon ile elde edilen çözünmez diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler

DN	Katı/çözgen (g/l)	NaOH (M)	STK (g su/g kuru örnek)	YTK (g yağ/g kuru örnek)	ŞK (ml/g kuru örnek)	GAK (mmol/g kuru örnek)	AAIK (%)
1	20	1.25	6.81 (±0.02) ^f	2.56 (±0.22) ^c	10.06 (±0.19) ^c	12.44 (±0.06) ^{de}	11.29 (±0.44) ^{de}
2	20	0.5	5.79 (±0.13) ^g	2.27 (±0.01) ^d	10.79 (±0.07) ^b	12.96 (±0.18) ^{bc}	11.91 (±0.43) ^b
3	100	2	2.13 (±0.14) ^j	1.28 (±0.02) ^g	6.09 (±0.17) ^e	7.15 (±0.30) ⁱ	6.74 (±0.21) ^j
4	60	2	3.01 (±0.06) ⁱ	1.56 (±0.01) ^f	6.07 (±0.16) ^e	7.35 (±0.12) ⁱ	7.05 (±0.20) ^{ij}
5	60	2	2.94 (±0.02) ⁱ	1.54 (±0.03) ^f	6.58 (±0.17) ^e	8.14 (±0.06) ^h	7.37 (±0.22) ⁱ
6	60	0.5	8.18 (±0.02) ^d	2.80 (±0.00) ^b	11.08 (±0.23) ^b	13.42 (±0.06) ^a	11.76 (±0.22) ^{bc}
7	60	1.25	8.62 (±0.30) ^{bc}	3.03 (±0.05) ^a	11.07 (±0.13) ^b	13.21 (±0.30) ^{ab}	11.13 (±0.23) ^{de}
8	100	1.25	4.76 (±0.12) ^g	2.01 (±0.02) ^e	9.07 (±0.22) ^d	10.71 (±0.24) ^{fg}	9.56 (±0.12) ^h
9	100	0.5	7.33 (±0.13) ^e	2.48 (±0.04) ^c	9.06 (±0.14) ^d	10.32 (±0.06) ^g	10.34 (±0.01) ^g
10	60	0.5	8.35 (±0.10) ^{cd}	2.79 (±0.01) ^b	12.08 (±0.94) ^a	13.25 (±0.06) ^{ab}	12.70 (±0.21) ^a
11	100	1.25	4.84 (±0.21) ^h	1.97 (±0.05) ^e	8.44 (±0.33) ^d	10.76 (±0.29) ^f	9.25 (±0.22) ^h
12	60	1.25	9.46 (±0.29) ^a	2.99 (±0.04) ^a	10.54 (±0.12) ^{bc}	12.70 (±0.24) ^{cd}	11.44 (±0.14) ^{bcd}
13	20	1.25	6.80 (±0.07) ^f	2.56 (±0.02) ^c	10.53 (±0.29) ^{bc}	12.09 (±0.23) ^e	10.82 (±0.23) ^{fg}
14	20	2	2.29 (±0.10) ^j	1.34 (±0.02) ^g	6.10 (±0.16) ^e	6.53 (±0.18) ^j	6.74 (±0.22) ^j
15	60	1.25	8.79 (±0.08) ^b	2.98 (±0.07) ^a	11.05 (±0.23) ^b	12.31 (±0.06) ^{de}	13.01 (±0.22) ^a
ON	52.50	1.01	9.26 (±0.07)	2.99 (±0.04)	10.29 (±0.25)	12.56 (±0.13)	12.59 (±0.50)

STK: Su tutma kapasitesi, YTK: Yağ tutma kapasitesi, ŞK: Şişme kapasitesi, GAK: Glukoz adsorpsiyon kapasitesi, AAIK: α -amilaz inhibisyon kapasitesi, ON: Optimum nokta, DN: Deneme no

^{a-j} Her bir sütunda bulunan farklı harflere ait ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05).

Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi

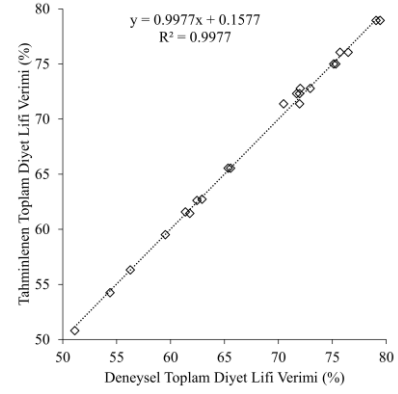
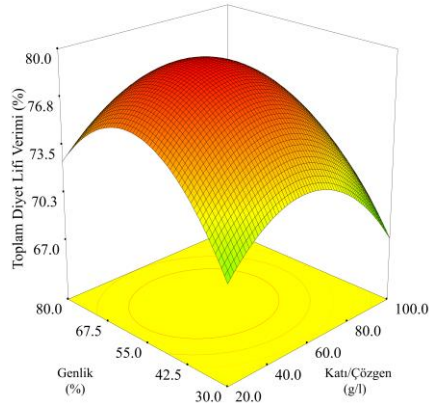
Klasik ekstraksiyon işleminde optimum NaOH konsantrasyonunun belirlenmesinin ardından, çemen otu tohumlarından UDE işlemi için oluşturulan deneysel tasarım ile birlikte çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi verimleri Çizelge 4.15’de verilmiştir. Klasik ekstraksiyonda belirlenen 1.01 M NaOH konsantrasyonu UDE işleminde tüm koşullarda sabit tutulmuştur. Sonuçlara göre, toplam diyet lifi veriminin en yüksek olduğu noktanın tasarımın orta noktası olduğu görülmüştür. 5 dakikalık ekstraksiyon süreleri incelendiğinde elde edilen verim değerlerinin, 22.5 ve 40 dakikalık ekstraksiyon sürelerine oranla daha düşük olduğu gözlenmiştir. Buna karşın, özellikle yüksek ultrasonik genlik (%80) değerlerinde ekstraksiyon süresinin artması ile birlikte toplam diyet lifi veriminin azaldığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.15). Bu durumun özellikle çözünmez liflerin sonikasyon etkisi ile degradasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Sun ve ark, 2018; Jiang ve ark., 2019). Elde edilen sonuçlar incelendiğinde 60 g/l katı/çözgen oranında en yüksek verim değerlerine ulaşıldığı saptanmıştır. UDE işleminde bir diğer parametre ultrasonik genlik olup sonuçlara göre %80 genlik değerlerinde çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi verimlerinin %55 genlik değerlerine göre azaldığı belirlenmiştir. Ultrasonik kavitasyon kabarcıklarının

gereğinden fazla miktarda üretilmesi sonucunda bitkisel dokuların hücre duvarında parçalanmalar meydana gelerek hedef bileşenin ekstraksiyon veriminde azalmalar görülebilmektedir (Jalili ve ark., 2018). Jiang ve ark. (2019) mısır kepeğinden UDE işlemi ile diyet lifi üretimini gerçekleştirmişler ve yüksek genlik değerlerinin diyet lifi verimini düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

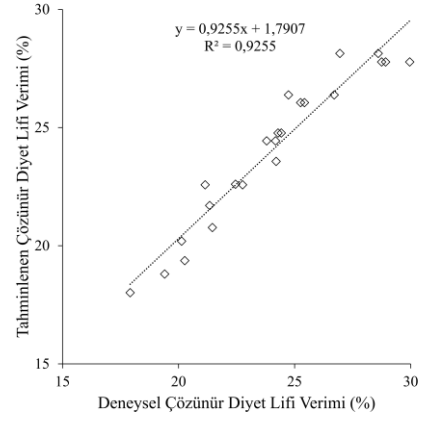
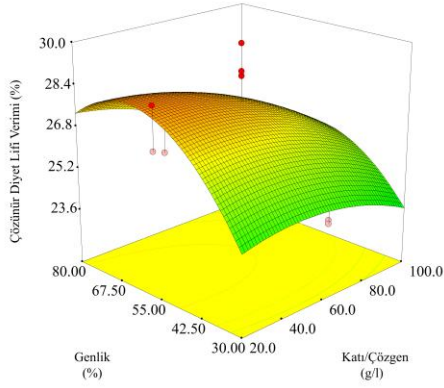
UDE işlemi sonucunda toplam diyet lifi verimi, çözünür diyet lifi verimi ve çözünmez diyet lifi verimi için elde edilen yanıt yüzey grafikleri Şekil 4.6'da gösterilmiştir. Bağımsız değişkenlerin toplam, çözünür ve çözünmez diyet lifi verimleri üzerine etkisinin gösterildiği yanıt yüzey grafiklerine göre, toplam diyet lifi verimi için en yüksek değerlerin 22.5 dakika ekstraksiyon süresi, 60 g/l katı/çözgen oranı ve %55 ultrasonik genlikte elde edildiği görülmüştür (Şekil 4.6). Benzer durum çözünmez diyet lifi için de gözlenmiştir. Çözünmez diyet lifi verimi üzerine ise katı/çözgen oranının doğrusal etkisinin toplam diyet lifi verimine kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. Şekil 4.6'da ayrıca deneysel veriler ile tahminlenen verilerin kıyaslaması yapılmış, tespit edilen yüksek korelasyon değerleri ile oluşturulan modellerin doğruluğu ve uygunluğu kanıtlanmıştır.

Çizelge 4.15. Ultrasonik destekli diyet lifi ekstraksiyonu için oluşturulan deneysel tasarım ve ekstraksiyon verimleri

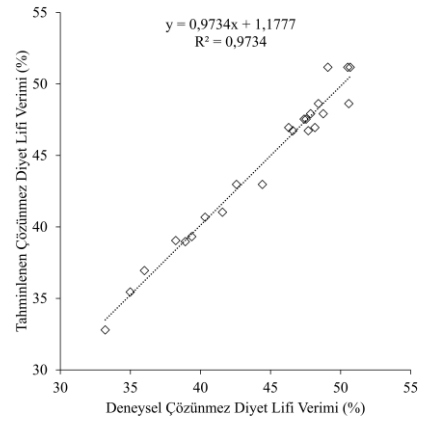
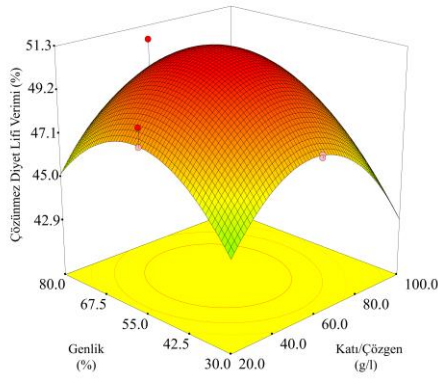
Deneme No	Katı/çözgen (g/l) (X_1)	Genlik (%) (X_2)	Ekstraksiyon Süresi (dak)	Çözünür diyet lifi (%)	Çözünmez diyet lifi (%)	Toplam diyet lifi (%)
1	60	80	22.5	50.59	24.73	75.32
2	100	80	5	36.00	20.27	56.27
3	20	30	40	41.57	21.34	62.91
4	100	55	22.5	47.69	25.26	72.95
5	60	55	22.5	50.51	28.92	79.43
6	60	30	22.5	47.40	24.29	71.68
7	20	55	22.5	47.86	28.60	76.46
8	60	55	5	42.57	22.76	65.33
9	20	55	22.5	48.76	26.95	75.71
10	100	30	40	40.33	21.46	61.78
11	100	80	40	39.38	20.13	59.51
12	20	80	40	38.23	24.20	62.44
13	60	55	22.5	49.09	29.96	79.05
14	20	80	5	38.92	22.45	61.37
15	20	30	5	34.99	19.40	54.39
16	60	55	40	46.30	24.18	70.47
17	60	55	40	48.16	23.80	71.96
18	60	80	22.5	48.41	26.70	75.12
19	60	30	22.5	47.54	24.43	71.96
20	60	55	5	44.42	21.15	65.56
21	100	30	5	33.20	17.91	51.12
22	100	55	22.5	46.60	25.43	72.02
23	60	55	22.5	50.68	28.75	79.43



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.6. Ultrasonik destekli ekstraksiyonda verim değerleri için yanıt yüzey grafikleri ile tahminlenen ve deneysel veriler arasındaki ilişki (a) toplam diyet lifi verimi (b) çözünür diyet lifi verimi (c) çözünmez diyet lifi verimi

Çizelge 4.16’da UDE işlemi kullanılarak yağı giderilmiş çemen otu tohumlarından elde edilen çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi verimleri için oluşturulan ANOVA tablosu verilmiştir. Oluşturulan tüm kuadratik modellerin istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.05$), model uygunsuzluğu değerlerinin ise istatistiksel olarak anlamsız ($p>0.05$) olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.16). Ayrıca, tüm bağımsız değişkenlerin kuadratik etkisinin toplam diyet lifi verimi üzerinde anlamlı etkiye sahip olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Ek olarak bağımsız değişkenlerin doğrusal interaksiyonları da toplam diyet lifi verimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahiptir ($p<0.05$). Ultrasonik genlik-ekstraksiyon süresi interaksiyonu çözünmez diyet lifi verimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Buna karşın diğer doğrusal interaksiyonların çözünür ve çözünmez diyet lifi verimi üzerinde anlamlı bir etkisi bulunmamaktadır ($p>0.05$). Çözünür ve çözünmez diyet lifi için ekstraksiyon süresi, verimi etkileyen en önemli faktör olarak belirlenmiştir ($p<0.05$). Buna karşın katı/çözgen oranı-ultrasonik genlik interaksiyonu ile katı/çözgen oranı-ekstraksiyon süresi interaksiyonları çözünür ve çözünmez lif verimi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip değildir ($p>0.05$) (Çizelge 4.16).

Yanıt olarak seçilen toplam diyet lifi verimi için ikinci dereceden polinomiyal bir model oluşturulmuştur. Ayrıca, çözünür ve çözünmez diyet lifi verimleri için polinomiyal eşitlikler elde edilmiştir. Toplam, çözünür ve çözünmez diyet lifi verimleri için oluşturulan modeller Eşitlik 4.14-4.16 ile verilmiştir. UDE için oluşturulan modele ait R^2 , düzeltilmiş R^2 , yeterli tahminleme, tahminlenmiş kalıntı hata kareler toplamı ve varyasyon katsayısı değerleri toplam diyet lifi verimi için hesaplanmış ve modelin toplam diyet lifi verilerinin tahminlenmesindeki başarısı doğrulanmıştır (Çizelge 4.16).

$$\begin{aligned} \text{TDL verimi (\%)} = & 15.87 + 0.31X_1 + 1.11X_2 + 1.89X_3 - 4.54 \times 10^{-4}X_1X_2 \\ & + 7.71 \times 10^{-4}X_1X_3 - 4.25 \times 10^{-4}X_2X_3 - 2.83 \times 10^{-3}X_1^2 - 8.46 \times 10^{-3}X_2^2 - 3.42 \times 10^{-2}X_3^2 \end{aligned} \quad (4.14)$$

$$\text{ÇDL verimi (\%)} = 3.68 + 0.06X_1 + 0.48X_2 + 0.74X_3 - 3.52 \times 10^{-3}X_2^2 - 0.014X_3^2 \quad (4.15)$$

$$\begin{aligned} \text{ÇMZDL verimi (\%)} = & 12.19 + 1.15X_3 - 3.15 \times 10^{-3}X_2X_3 - 2.41 \times 10^{-3}X_2^2 \\ & - 4.94 \times 10^{-3}X_3^2 - 0.02X_3^2 \end{aligned} \quad (4.16)$$

Çizelge 4.16. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi için ANOVA tablosu ve istatistiksel veriler

Varyasyon Kaynağı	SD	Kareler Toplamı			F Değeri			p – Değeri		
		ÇDL	ÇMZDL	TDL	ÇDL	ÇMZDL	TDL	ÇDL	ÇMZDL	TDL
Model	9	219.06	624.88	1536.44	17.95	52.90	624.66	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
X ₁	1	13.02	4.24	32.11	9.60	3.23	117.49	0.0085	0.0956	< 0.0001
X ₂	1	7.79	3.52	21.80	5.75	2.69	79.75	0.0323	0.1252	< 0.0001
X ₃	1	10.39	47.49	102.30	7.66	36.18	374.32	0.0160	< 0.0001	< 0.0001
X ₁ X ₂	1	2.99	0.20	1.65	2.20	0.15	6.03	0.1616	0.7044	0.0289
X ₁ X ₃	1	9.9x10 ⁻³	2.65	2.33	7.3x10 ⁻³	2.02	8.53	0.9332	0.1792	0.0119
X ₂ X ₃	1	1.87	15.15	27.66	1.38	11.54	101.19	0.2617	0.0048	< 0.0001
X ₁ ²	1	2.27	72.88	100.90	1.68	55.53	369.19	0.2178	< 0.0001	< 0.0001
X ₂ ²	1	23.88	46.97	137.83	17.61	35.79	504.34	0.0010	< 0.0001	< 0.0001
X ₃ ²	1	89.85	190.00	541.17	66.27	144.78	1980.17	< 0.0001	< 0.0001	< 0.0001
Kalıntı	7	17.63	17.06	3.55						
Model Uygunsuzluğu	1	12.06	8.71	1.55	3.47	1.67	1.24	0.0580	0.2473	0.3746
Saf Hata	6	5.56	8.35	2.00						
Toplam	14	236.68	641.94	1539.99						

X₁: Katı/çözgen (g/l), X₂: Ultrasonik genlik (%), X₃: Ekstraksiyon süresi (dak), ÇDL: Çözünür diyet lifi verimi (%), ÇMZDL (%): Çözünmez diyet lifi verimi (%), TDL: Toplam diyet lifi verimi (%), SD: Serbestlik derecesi

UDE işlemi için uygulanan nümerik optimizasyon işlemi ile en yüksek toplam diyet lifi veriminin sağlanması hedeflenmiş ve bu doğrultuda optimum katı/çözgen oranı, ultrasonik genlik ve ekstraksiyon süresi değerleri belirlenmiştir. Paket program tarafından 0.997 desirability değerine sahip bir adet çözüm üretilmiş ve bu çözüme göre; 52.3 g/l katı/çözgen oranı, %57.86 ultrasonik genlik ve 24.68 dakika ekstraksiyon süresi optimum koşul olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda toplam diyet lifi verimi %79.35 olarak hesaplanmıştır. Optimum koşulun deneysel olarak doğrulanması için, optimum noktada 3 tekrarlı ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş ve deneysel ortalama toplam diyet lifi verimi %79.40±0.43 olarak belirlenmiştir. Deneysel değer ile modelden tahminlenen değer arasında istatistiksel olarak fark bulunmadığı tek örnek t-testi ile gösterilmiştir (p>0.05). Optimum noktada çözünür ve çözünmez lif için deneysel verim değerleri sırası ile %28.67±0.39 ve %50.73±0.55 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için optimum noktada tahminlenen ve deneysel diyet lifi verimleri

Yanıtlar	Tahminlenen Değer	Deneysel Değer	p-değeri
Toplam diyet lifi verimi (%)	79.35	79.40 (± 0.43)	0.791
Çözünür diyet lifi verimi (%)	28.23	28.67 (± 0.39)	0.685
Çözünmez diyet lifi verimi (%)	50.93	50.73 (± 0.55)	0.742

Farklı koşullarda elde edilen çözünür ve çözünmez diyet lifi örneklerine ait fiziko-kimyasal özellikler sırası ile Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19’da verilmiştir. Çözünmez diyet lifi örnekleri için en yüksek STK değerleri 20 g/l katı/çözgen oranı, %55 ultrasonik genlik ve 22.5 dakika ekstraksiyon süresi için tespit edilmiştir. Buna karşın en düşük STK değerleri çözünmez lif örnekleri için 5 dakikalık ekstraksiyon süresinde gözlenmiştir. Benzer sonuçlar Huang ve ark. (2018) tarafından UDE ile sarımsak sapından çözünmez lif üretiminin gerçekleştirildiği çalışmada da belirlenmiş, düşük ekstraksiyon sürelerinde örneklerin STK değerlerinin uzun sürelerde ekstrakte edilen örneklere oranla daha düşük olduğu gözlenmiştir. Tez çalışmasında çözünür diyet lifi için ise optimum noktada STK değerleri 4.93 ± 0.13 g su/g kuru örnek olarak belirlenmiştir. Çözünür ve çözünmez diyet lifi örneklerinin YTK değerleri ise 0.53-5.03 g yağ/g kuru örnek aralığında hesaplanmıştır. En düşük YTK değerlerinin çözünür diyet lifinde deneysel tasarımdaki en düşük ultrasonik genlik ve en kısa ekstraksiyon süresinde elde edildiği belirlenmiştir. Buna karşın en yüksek YTK değerleri çözünmez lif için %55 ultrasonik genlik ve 22.5 dakikalık ekstraksiyon süresinde elde edilmiştir (Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19). Ultrasonik destekli diyet lifi ekstraksiyonunda, alkali işlem uygulaması ile selüloz, lignin ve hemiselüloz parçalanabilmekte ve ultrasonikasyon işlemi farklı fonksiyonel grupların oluşumunu sağlayarak diyet lifi örneklerinin YTK değerlerini artırabilmektedir (Huang ve ark., 2018).

Alkali ekstraksiyon işleminde ultrasonikasyon işleminin uygulanması ile diyet lifi örneklerinin ŞK değerlerinin artırılabilceği bilinmektedir (Huang ve ark., 2018; Meng ve ark., 2019). Tez çalışmasında UDE işlemi ile çözünür lif örneklerinin ŞK değerlerinin

1.37 ml/g kuru örnek ile 6.21 ml/g kuru örnek, çözünmez lif örneklerinin ŞK değerlerinin ise 2.61 ml/g kuru örnek ile 13.20 ml/g kuru örnek aralığında değiştiği belirlenmiştir (Çizelge 4.18 ve Çizelge 4.19). Optimum noktada elde edilen çözünmez diyet lifi örneklerinin ŞK değerinin (12.35 ± 0.19 ml/g kuru örnek) bezelye ve nohut çözünmez liflerine göre (Tosh ve Yada, 2010) daha yüksek olduğu bulgulanmıştır.

Klasik ekstraksiyonda olduğu gibi GAK ve AAIK değerleri UDE işlemi ile elde edilen diyet lifleri için de tespit edilmiştir. Optimum noktada çözünür ve çözünmez lif örnekleri için GAK değerleri sırasıyla 7.75 ± 0.18 mmol/g kuru örnek ve 15.74 ± 0.14 mmol/g kuru örnek olarak hesaplanmıştır. Begum ve Deka (2019) muz çiçeği yapraklarından çözünmez diyet lifini UDE (alkali koşullar) ile elde ettikleri çalışmada GAK değerini 7.95 ± 0.13 mmol/g kuru örnek olarak belirlemiştir. Araştırmacılar, sonikasyon işleminin lif örneklerinin partikül boyutunu düşürdüğünü, dolayısı ile glukoz moleküllerinin daha kolay hapsedildiğini ve glukoz salınımının engellenerek GAK değerlerinin yükseldiğini bildirmişlerdir. Alfa-amilaz inhibisyon etkisinin UDE ile elde edilen örneklerde klasik ekstraksiyon örneklerine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ding ve ark. (2020), *Nannochloropsis oceanica* (mikroalg) örneklerinden diyet lifi eldesi üzerine UDE ve klasik ekstraksiyon yöntemlerinin etkilerini inceledikleri çalışmada, UDE işlemi ile elde edilen liflerin α -amilaz inhibisyon etkisinin klasik ekstraksiyon ile elde edilen örneklere göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. UDE işleminin AAIK değerlerini artırması, bu işlemde elde edilen liflerin saflığının daha yüksek olması sayesinde moleküler düzeyde α -amilaz enziminin lifler arasına daha iyi hapsedilmesi ve enzim ile temas eden liflerin yüzey alanının daha yüksek olabilmesi ile açıklanmıştır (Ding ve ark., 2020). Benzer etkinin çemen otu tohumu diyet lifi örnekleri için gerçekleştiği düşünülmektedir. Çemen otu tohumlarından elde edilen diyet lifi örneklerinin önemli antidiyabetik aktiviteye sahip olabileceği elde edilen önemli bulgular arasındadır.

Çizelge 4.18. Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen çözünür diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler

DN	Katı/ çözgen (g/l) (X ₁)	Genlik (%) (X ₂)	Ekstraksiyon Süresi (dak)	STK (g su/g kuru örnek)	YTK (g yağ/g kuru örnek)	ŞK (ml/g kuru örnek)	GAK (mmol/g kuru örnek)	AAIK (%)
1	60	80	22.5	4.23 (±0.18) ^{cd}	2.23 (±0.06) ^{bcd}	5.49 (±0.34) ^{ef}	6.94 (±0.06) ^{cd}	9.19 (±0.22) ^{cde}
2	100	80	5	3.33 (±0.14) ^e	1.72 (±0.05) ^g	4.23 (±0.01) ^h	5.16 (±0.18) ^g	6.70 (±0.22) ^h
3	20	30	40	1.94 (±0.23) ^f	0.96 (±0.18) ^h	2.49 (±0.01) ⁱ	3.44 (±0.06) ^h	4.52 (±0.22) ⁱ
4	100	55	22.5	4.48 (±0.09) ^{abcd}	2.25 (±0.18) ^{bcd}	5.85 (±0.20) ^{abcd}	7.43 (±0.06) ^{ab}	9.81 (±0.22) ^{abc}
5	60	55	22.5	4.61 (±0.12) ^{abc}	2.51 (±0.10) ^a	6.10 (±0.15) ^{ab}	7.70 (±0.12) ^a	9.97 (±0.44) ^{abc}
6	60	30	22.5	1.96 (±0.05) ^f	1.08 (±0.01) ^h	2.61 (±0.19) ⁱ	3.24 (±0.06) ^{hi}	4.21 (±0.22) ⁱ
7	20	55	22.5	4.66 (±0.13) ^{ab}	2.21 (±0.19) ^{bcd}	6.07 (±0.19) ^{ab}	7.59 (±0.06) ^a	10.12 (±0.22) ^{ab}
8	60	55	5	3.43 (±0.04) ^e	1.95 (±0.08) ^{efg}	4.47 (±0.02) ^{gh}	5.41 (±0.41) ^g	7.17 (±0.44) ^{gh}
9	20	55	22.5	4.41 (±0.20) ^{abcd}	2.06 (±0.16) ^{def}	5.61 (±0.17) ^{def}	6.81 (±0.18) ^{de}	8.72 (±0.88) ^{def}
10	100	30	40	2.07 (±0.06) ^f	1.09 (±0.10) ^h	2.62 (±0.17) ⁱ	3.31 (±0.18) ^h	4.36 (±0.44) ⁱ
11	100	80	40	4.10 (±0.01) ^d	2.12 (±0.08) ^{cde}	5.37 (±0.17) ^f	6.47 (±0.12) ^{ef}	8.57 (±0.22) ^{ef}
12	20	80	40	4.23 (±0.01) ^{cd}	2.15 (±0.12) ^{bcd}	5.42 (±0.17) ^f	6.74 (±0.06) ^{de}	9.19 (±0.22) ^{cde}
13	60	55	22.5	4.48 (±0.06) ^{abcd}	2.20 (±0.18) ^{bcd}	5.84 (±0.02) ^{bcd}	7.11 (±0.12) ^{bcd}	9.35 (±0.44) ^{bcde}
14	20	80	5	3.63 (±0.22) ^e	1.85 (±0.12) ^{fg}	4.72 (±0.17) ^g	5.39 (±0.24) ^g	7.32 (±0.22) ^{gh}
15	20	30	5	1.03 (±0.06) ^g	0.47 (±0.02) ⁱ	1.37 (±0.18) ^j	1.67 (±0.18) ^j	2.02 (±0.22) ^j
16	60	55	40	4.34 (±0.21) ^{bcd}	2.20 (±0.10) ^{bcd}	5.71 (±0.01) ^{cdef}	6.77 (±0.12) ^{de}	8.57 (±0.22) ^{ef}
17	60	55	40	4.30 (±0.46) ^{bcd}	2.26 (±0.04) ^{bcd}	5.57 (±0.11) ^{def}	6.34 (±0.06) ^f	7.94 (±0.22) ^{fg}
18	60	80	22.5	4.60 (±0.34) ^{abc}	2.38 (±0.08) ^{abc}	5.97 (±0.03) ^{abc}	6.89 (±0.18) ^{cd}	9.50 (±0.44) ^{bcd}
19	60	30	22.5	1.93 (±0.09) ^f	1.01 (±0.04) ^h	2.48 (±0.01) ⁱ	2.93 (±0.18) ⁱ	3.89 (±0.22) ⁱ
20	60	55	5	3.41 (±0.11) ^e	1.75 (±0.09) ^g	4.45 (±0.04) ^{gh}	5.28 (±0.18) ^g	7.01 (±0.22) ^h
21	100	30	5	1.07 (±0.02) ^g	0.53 (±0.02) ⁱ	1.37 (±0.18) ^j	1.81 (±0.12) ^j	2.34 (±0.44) ^j
22	100	55	22.5	4.60 (±0.09) ^{abc}	2.40 (±0.02) ^{ab}	5.97 (±0.03) ^{abc}	7.24 (±0.06) ^{bc}	9.66 (±0.88) ^{abc}
23	60	55	22.5	4.76 (±0.06) ^a	2.34 (±0.09) ^{abc}	6.21 (±0.03) ^a	7.61 (±0.12) ^a	10.44 (±0.22) ^a
OP	52.83	57.86	24.68	4.93 (±0.13)	2.69 (±0.10)	6.21 (±0.12)	7.75 (±0.18)	10.64 (±0.39)

STK: Su tutma kapasitesi, YTK: Yağ tutma kapasitesi, ŞK: Şişme kapasitesi, GAK: Glukoz adsorpsiyon kapasitesi, AAIK: α -amilaz inhibisyon kapasitesi, ON: Optimum nokta, DN: Deneme no

^{a-j} Her bir sütunda bulunan farklı harflere ait ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05).

Çizelge 4.19. Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen çözünmez diyet lifine ait fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler

DN	Katı/ çözgen (g/l) (X ₁)	Genlik (%) (X ₂)	Ekstraksiyon Süresi (dak)	STK (g su/g kuru örnek)	YTK (g yağ/g kuru örnek)	ŞK (ml/g kuru örnek)	GAK (mmol/g kuru örnek)	AAIK (%)
1	60	80	22.5	8.71 (±0.35) ^c	4.35 (±0.14) ^c	10.94 (±0.03) ^c	13.41 (±0.70) ^e	17.76 (±0.88) ^e
2	100	80	5	5.89 (±0.25) ^f	2.98 (±0.01) ^f	7.87 (±0.18) ^e	9.45 (±0.48) ^h	12.93 (±0.69) ^g
3	20	30	40	5.08 (±0.11) ^g	2.59 (±0.26) ^g	6.46 (±0.01) ^g	7.93 (±0.24) ⁱ	10.75 (±0.62) ^h
4	100	55	22.5	9.63 (±0.45) ^{ab}	4.89 (±0.08) ^{ab}	12.70 (±0.42) ^a	15.90 (±0.06) ^b	20.56 (±0.44) ^{ab}
5	60	55	22.5	9.68 (±0.28) ^{ab}	4.76 (±0.17) ^{ab}	12.16 (±0.31) ^b	15.04 (±0.24) ^c	20.09 (±0.22) ^{bc}
6	60	30	22.5	5.53 (±0.10) ^{fg}	2.77 (±0.04) ^{fg}	6.95 (±0.03) ^{fg}	8.79 (±0.12) ⁱ	11.37 (±0.20) ^h
7	20	55	22.5	10.02 (±0.29) ^a	5.03 (±0.23) ^a	13.20 (±0.32) ^a	16.53 (±0.06) ^a	21.34 (±0.21) ^a
8	60	55	5	5.89 (±0.00) ^f	3.03 (±0.18) ^f	7.73 (±0.35) ^e	9.37 (±0.06) ^h	12.46 (±0.45) ^g
9	20	55	22.5	9.62 (±0.46) ^{ab}	4.93 (±0.01) ^{ab}	11.97 (±0.03) ^b	14.72 (±0.24) ^{cd}	19.47 (±0.23) ^{cd}
10	100	30	40	5.16 (±0.13) ^g	2.61 (±0.19) ^g	6.96 (±0.06) ^{fg}	8.38 (±0.12) ^{ij}	11.06 (±0.21) ^h
11	100	80	40	7.01 (±0.10) ^e	3.55 (±0.04) ^e	9.18 (±0.32) ^d	11.30 (±0.12) ^f	14.49 (±0.20) ^f
12	20	80	40	7.03 (±0.17) ^e	3.47 (±0.17) ^e	9.20 (±0.01) ^d	11.46 (±0.24) ^f	15.11 (±0.02) ^f
13	60	55	22.5	9.63 (±0.34) ^{ab}	4.71 (±0.04) ^b	12.93 (±0.07) ^a	15.72 (±0.19) ^b	20.87 (±0.45) ^{ab}
14	20	80	5	6.70 (±0.05) ^e	3.39 (±0.07) ^e	8.70 (±0.39) ^d	10.78 (±0.18) ^g	14.17 (±0.28) ^f
15	20	30	5	2.43 (±0.11) ^h	1.23 (±0.18) ^h	3.36 (±0.17) ^h	4.12 (±0.06) ^k	5.14 (±0.22) ⁱ
16	60	55	40	7.93 (±0.34) ^d	3.92 (±0.04) ^d	10.59 (±0.19) ^c	13.09 (±0.17) ^e	17.13 (±0.88) ^e
17	60	55	40	8.05 (±0.25) ^d	3.93 (±0.13) ^d	10.72 (±0.02) ^c	13.16 (±0.06) ^e	17.45 (±0.44) ^e
18	60	80	22.5	8.67 (±0.49) ^c	4.33 (±0.15) ^c	11.81 (±0.16) ^b	14.43 (±0.12) ^d	18.85 (±0.21) ^d
19	60	30	22.5	5.50 (±0.10) ^{fg}	2.79 (±0.09) ^{fg}	7.09 (±0.13) ^f	8.64 (±0.25) ⁱ	11.21 (±0.49) ^h
20	60	55	5	5.94 (±0.01) ^f	3.06 (±0.01) ^f	7.69 (±0.39) ^e	9.59 (±0.06) ^h	12.62 (±0.20) ^g
21	100	30	5	2.22 (±0.31) ^h	1.08 (±0.04) ^h	2.61 (±0.18) ⁱ	3.28 (±0.23) ^j	4.21 (±0.15) ^j
22	100	55	22.5	9.67 (±0.15) ^{ab}	4.87 (±0.06) ^{ab}	12.70 (±0.39) ^a	15.75 (±0.18) ^b	20.72 (±0.16) ^{ab}
23	60	55	22.5	9.33 (±0.06) ^b	4.69 (±0.08) ^b	12.08 (±0.19) ^b	14.80 (±0.04) ^{cd}	19.31 (±0.03) ^{cd}
OP	52.83	57.86	24.68	10.38 (±0.31)	4.84 (±0.05)	12.35 (±0.19)	15.74 (±0.14)	20.30 (±0.48)

STK: Su tutma kapasitesi, YTK: Yağ tutma kapasitesi, ŞK: Şişme kapasitesi, GAK: Glukoz adsorpsiyon kapasitesi, AAIK: α -amilaz inhibisyon kapasitesi, ON: Optimum nokta, DN: Deneme no

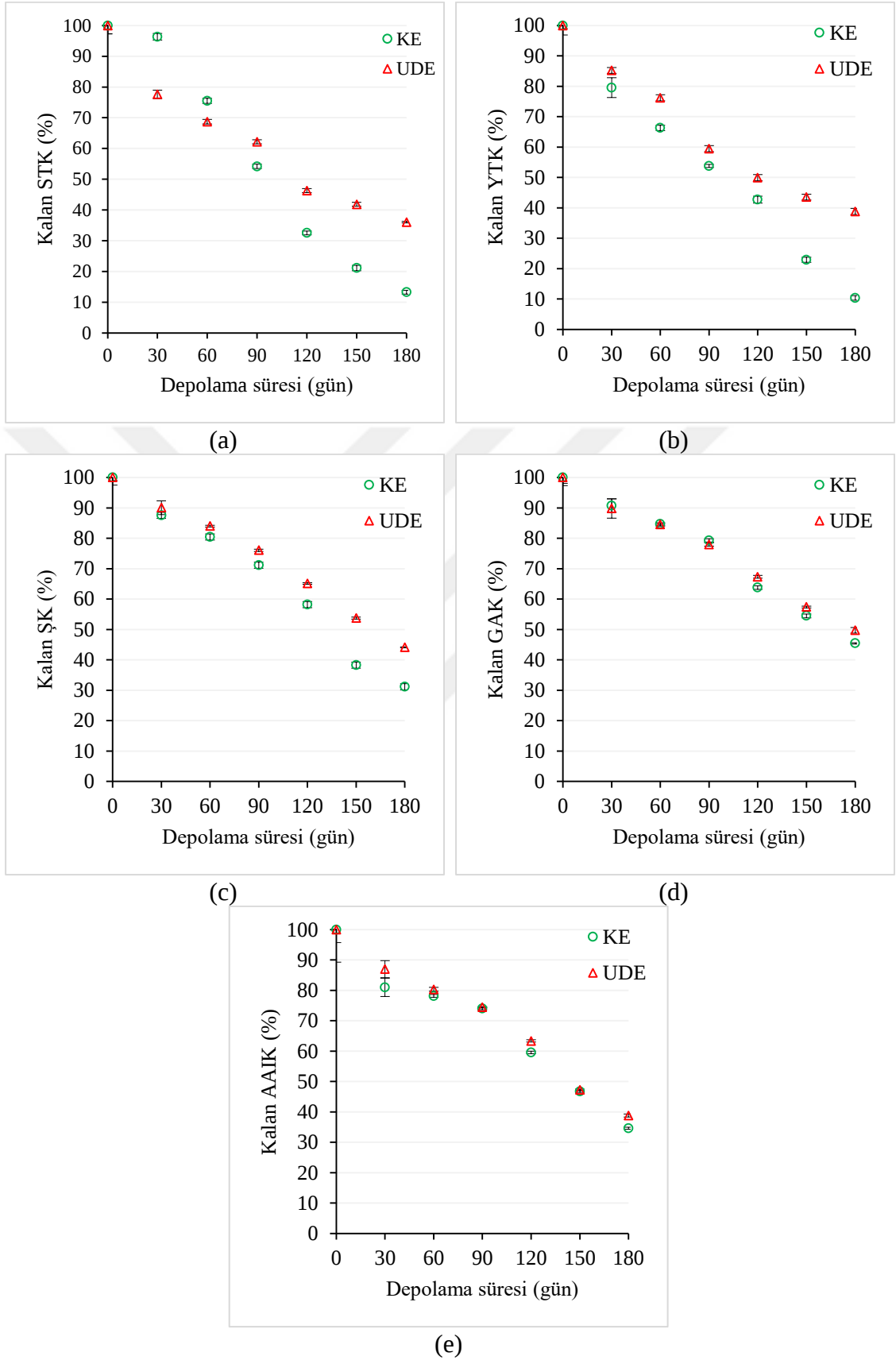
^{a-1} Her bir sütunda bulunan farklı harflere ait ortalama değerler istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0.05).

4.2.2 Diyet lifi depolama stabiliteleri

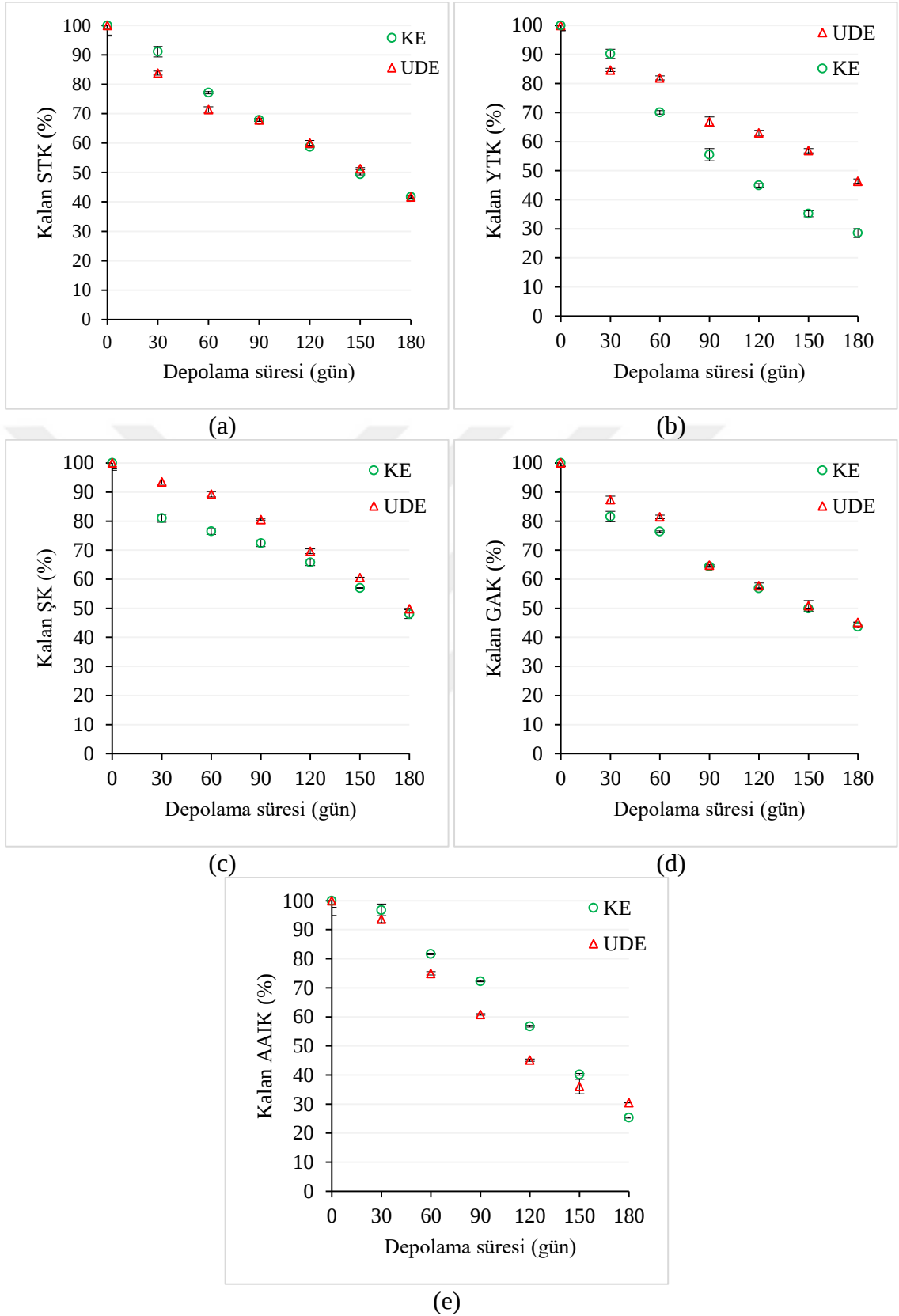
Klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri ile optimum koşullarda elde edilen diyet lifi örnekleri (çözünür ve çözünmez diyet lifi) 25°C ve %40 RH'da 6 ay, 38°C ve %90 RH'da 3 ay süre ile alüminyum kaplı polietilen (ALPE) ambalaj materyali içerisinde depolanmıştır. 25°C ve %40 RH'da 6 ay depolanan, farklı ekstraksiyon yöntemleri ile izole edilmiş çözünür ve çözünmez diyet lifi örneklerinin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin zamana karşı değişimini gösteren grafikler sırası ile Şekil 4.7 ve Şekil 4.8 ile gösterilmiştir. 38°C ve %90 RH'da 3 ay depolanan çözünür ve çözünmez lif örneklerinin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin zamana karşı değişimini

gösteren grafikler ise sırası ile Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Klasik ekstraksiyon ve UDE ile elde edilen örneklerin başlangıç fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değerleri farklılık gösterdiğinden, karşılaştırmada kolaylık sağlaması için tüm analiz sonuçları başlangıç değerlerine (sıfırıncı gün) oranlanarak belirlenen özelliklerin kalan kısmı yüzde ile ifade edilmiştir.

25°C ve %40 RH'da 6 ay depolanan klasik ve UDE işlemi ile optimum noktalarda üretilen çözünür ve çözünmez lif örneklerinin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin farklı oranlarda değişime uğradığı tespit edilmiştir. 6 aylık depolama sonucunda klasik ve UDE işlemleri ile elde edilen çözünür diyet lifine ait STK değerleri %86.73 ve %63.95, YTK değerleri %89.63 ve %61.21, ŞK değerleri %68.89 ve %55.92, GAK değerleri %54.57 ve %50.26 ve AAIK değerleri %65.39 ve %61.22 oranında azalmıştır (Şekil 4.7). Sonuçlar incelendiğinde tüm fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler için UDE işlemi ile elde edilen diyet lifi örneklerinin klasik ekstraksiyona göre stabilitesinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çözünmez diyet lifi örneklerinin 6 aylık depolama stabilitesi incelendiğinde klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri ile üretilen örneklerin STK değerleri sırasıyla %58.32 ve %58.23, YTK değerleri %71.45 ve %53.61, ŞK değerleri %51.99 ve %50.24, GAK değerleri %56.40 ve %54.88 ve AAIK değerleri %74.65 ve %69.48 oranında düşüş göstermiştir (Şekil 4.8). Çözünmez diyet lifi örnekleri için, benzer şekilde, UDE işlemi ile elde edilen örneklerin depolama stabilitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür.

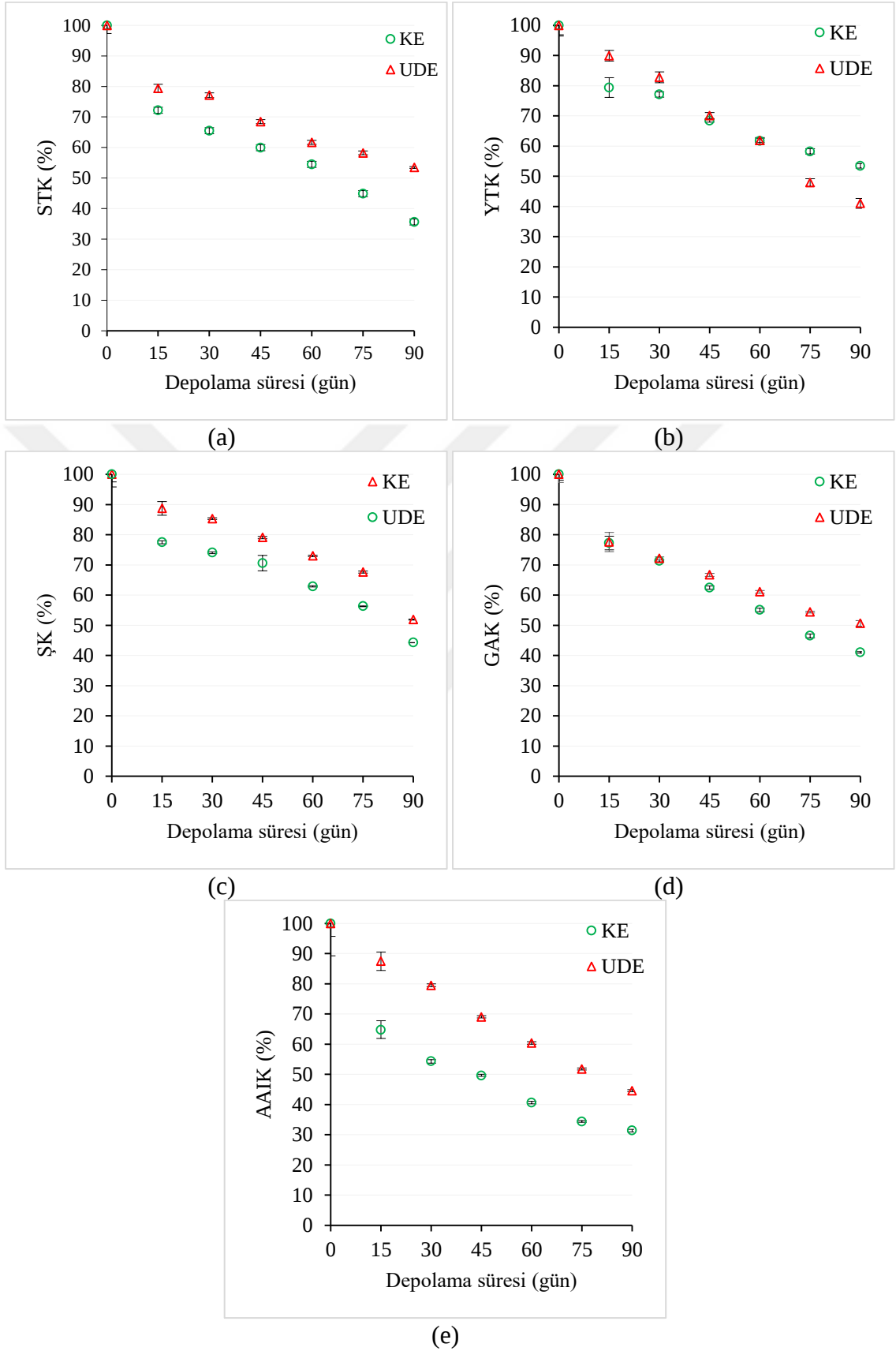


Şekil 4.7. Çözünür lif örneklerinin 25°C ve %40 RH’da depolanması

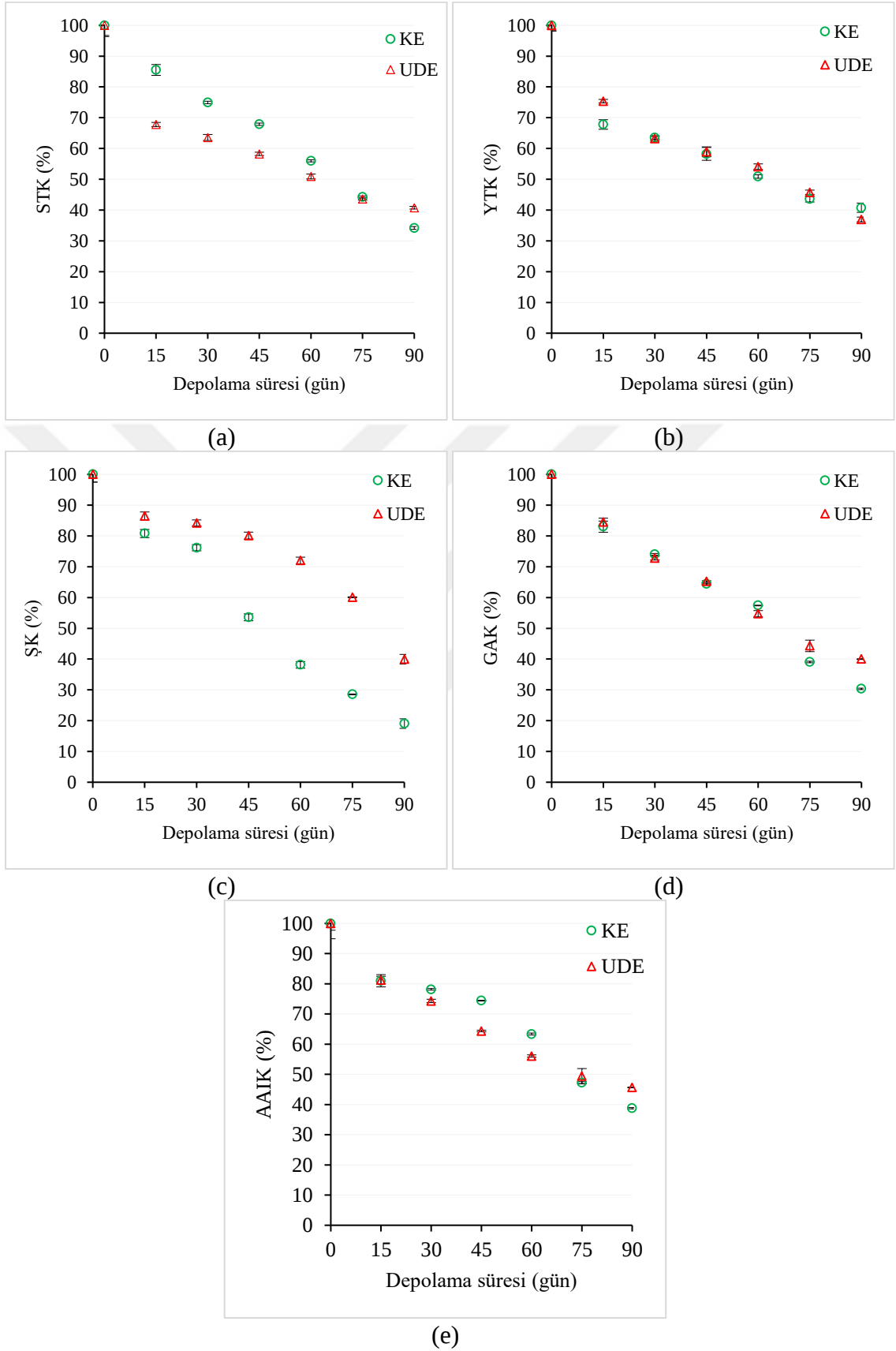


Şekil 4.8. Çözünmez lif örneklerinin 25°C ve %40 RH'da depolanması

Klasik ve UDE işlemleri ile optimum noktalarda üretilen çözünür ve çözünmez lif örneklerinin 38°C ve %90 RH'da 90 gün depolanması sonucunda fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değişime uğradığı görülmektedir (Şekil 4.9 ve Şekil 4.10). Klasik ve UDE işlemleri ile üretilen çözünür diyet lifi için 90 gün sonunda STK değerleri sırasıyla %65.81 ve %59.24, YTK değerleri %63.05 ve %53.40, ŞK değerleri %80.95 ve %60.03, GAK değerleri %69.67 ve %60.00 ve AAİK değerleri %61.22 ve %54.54 oranında düşüş göstermiştir (Şekil 4.9). 38°C ve %90 RH'da 90 günlük depolama sonucunda klasik ve UDE yöntemi ile üretilen çözünmez diyet lifi için ise STK değerleri sırasıyla %64.34 ve %46.52, YTK değerleri %58.97 ve %58.00, ŞK değerleri %55.75 ve %47.03, GAK değerleri %58.99 ve %49.37 ve AAİK değerleri %68.55 ve %55.43 oranında azalmıştır (Şekil 4.10). Sonuçlara göre, tüm özellikler için UDE işlemi ile elde edilen diyet liflerinin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin klasik ekstraksiyon örneklerine göre daha iyi oranda koruduğu tespit edilmiştir. Bu durum sonikasyonun etkisi ile lif moleküllerinin yüzey yapısında meydana gelen yapısal değişiklikler ile açıklanabilmektedir. Ultrasonikasyon uygulanan diyet lifi örneklerinin geliştirilmiş fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklere sahip olduğu, dolayısı ile klasik ekstraksiyon ile elde edilenlere göre depolama koşullarına daha stabil karakter sergilediği düşünülmektedir (Wang ve ark., 2021). Ayrıca, çözünmez diyet lifi örneklerinin genel olarak çözünür diyet lifi örneklerine kıyasla, depolama koşullarına daha dayanıklı olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.9. Çözünür lif örneklerinin 38°C ve %90 RH’da depolanması



Şekil 4.10. Çözünmez lif örneklerinin 38°C ve %90 RH'da depolanması

5. SONUÇ

Tez çalışması kapsamında, çemen otu tohumundan klasik ekstraksiyon ve ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemleri kullanılarak fenolik bileşenler ve diyet lifi açısından zengin ekstraktlar elde edilmiştir. Klasik ekstraksiyon ve ultrasonik destekli ekstraksiyon işlem koşullarının optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve tüm işlem koşullarında elde edilen ekstraktlar karakterize edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen en yüksek antioksidan aktiviteye sahip fenolik ekstraktların ısıl stabiliteleri ile en yüksek ekstraksiyon veriminin sağlandığı koşullardan izole edilen çözünür ve çözünmez diyet liflerinin depolama stabiliteleri belirlenmiştir.

Çemen otu tohumundan fenolik bileşenlerin klasik ekstraksiyon işlemi manyetik karıştırıcıda çözgen olarak saf su-etanol karışımı kullanılarak sabit sürede (2 saat) gerçekleştirilmiştir. Bağımsız işlem değişkenleri olarak çözgen karışım oranı (%0-100 saf su-etanol) ve katı/çözgen oranı (2-20 g/l) seçilmiş ve tüm koşullarda elde edilen fenolik ekstraktların toplam fenolik madde (TFM), toplam flavanoid (TFL), antioksidan aktivite (AA) ve toplam saponin (TS) içerikleri belirlenerek karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. Çözgen olarak yalnızca etanol kullanıldığında TFM ve TFL değerlerinin azaldığı gözlenirken, saf su ve etanol ikili karışımında her iki çözgenin de eşit oranda kullanıldığı durumda ekstraktların TFM ve TFL değerlerinin önemli ölçüde arttığı belirlenmiştir. Yüksek katı/çözgen oranı değerlerinde ise ekstrakte edilen gam miktarındaki artışa bağlı olarak TFM ve TFL değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. Fenolik bileşenlerin klasik ekstraksiyonunda en yüksek DPPH antioksidan aktivitenin (4.11 Trolox/g kuru örnek) elde edildiği optimum koşullar (saf su: ~%61, etanol: ~%39, katı/çözgen oranı: 5.21 g/l) desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenmiştir.

Fenolik bileşenlerin ultrasonik destekli ekstraksiyon işleminde, klasik ekstraksiyonda belirlenen optimum saf su-etanol oranında hazırlanan karışım çözgen olarak kullanılmış ve katı/çözgen oranı (2-20 g/l), ultrasonik genlik (%30–80) ile ekstraksiyon süresi (20-120 dak) bağımsız işlem değişkenleri olarak belirlenmiştir. Klasik ekstraksiyon ile karşılaştırıldığında, UDE ile orta ve yüksek düzeyde katı/çözgen oranı (11 ve 20 g/l) kullanıldığında ekstrakte edilen fenolik bileşen miktarında artış tespit edilmiştir. Her iki ekstraksiyon işlemi kıyaslandığında, UDE işlemi ile elde edilen en yüksek TFM değerinin

klasik ekstraksiyon ile elde edilen TFM değerinden %28, TFL değerinin %25 ve TS değerinin %26 daha fazla olduğu belirlenmiştir. Fenolik bileşenlerin UDE ile ekstraksiyonunda optimum işlem koşulları ~13 g/l katı-çözgen oranı, ~%55 ultrasonik genlik ve ~60 dakika ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiş ve optimum koşulda belirlenen DPPH antioksidan aktivitenin (5.02 Trolox/g kuru örnek) klasik ekstraksiyon işleminde optimum koşulda elde edilen antioksidan aktiviteden %21 daha fazla olduğu görülmüştür.

Klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri ile ekstrakte edilen fenolik bileşenlerin farklı pH, sıcaklık ve süre koşullarında TFM, TFL, AA ve TS içeriklerindeki değişim takip edilerek ısıl stabiliteleri belirlenmiştir. Sonuçta, ısıl stabilitesi en yüksek olan örneklerin pH 3.0'te, en düşük ısıl stabiliteye sahip örneklerin ise pH 9.0 değerinde elde edildiği görülmüştür. Ekstraksiyon yöntemleri kıyaslandığında, UDE işlemi ile elde edilen ekstraktların her koşulda ısıl stabilitelerinin klasik ekstraksiyon ile elde edilenlere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Çemen otu tohumundan klasik ekstraksiyon işlemi ile diyet lifi ekstraksiyonu amacıyla ekstraksiyon süresi sabit tutularak (2 saat), katı/çözgen oranı (20-100 g/l) ve çözgen olarak kullanılan NaOH konsantrasyonunun (0.5-2.0 M) etkisi incelenmiş ve ekstraksiyon işlemlerinden sonra çözünür, çözünmez ve toplam diyet lifi verimleri hesaplanmıştır. Diyet liflerinin klasik ekstraksiyonunda en yüksek toplam diyet lifi veriminin (~%78) elde edildiği optimum koşullar 52.50 g/l katı/çözgen oranı ve 1.01 M NaOH konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Klasik ekstraksiyonda belirlenen optimum NaOH konsantrasyonu UDE işleminde sabit tutularak farklı katı/çözgen oranları (20-60 g/l), farklı ultrasonik genlik (%30-80) ve farklı ekstraksiyon sürelerinde (5-40 dak) diyet lifi ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. UDE işlemi için en yüksek toplam diyet lifi veriminin (~%79) elde edildiği optimum koşullar, 52.3 g/l katı/çözgen oranı, ~%58 ultrasonik genlik ve ~25 dakika ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Her iki ekstraksiyon işleminde optimum koşullarda elde edilen toplam diyet lifi verimleri birbirine çok yakın olmasına rağmen ekstraksiyon süresinin UDE işleminde çok daha kısa olduğu görülmüştür.

Çemen otu tohumundan farklı ekstraksiyon işlemleri ile ekstrakte edilen diyet liflerinin izolasyonu gerçekleştirilerek çözünür ve çözünmez diyet lifi fraksiyonlarına ayrılmış ve bu fraksiyonların fonksiyonel ve fiziko-kimyasal özellikleri belirlenmiştir. Çemen otu tohumundan izole edilen çözünür diyet liflerinin su tutma kapasitelerinin 1.03-4.76 g su/g kuru örnek, yağ tutma kapasitelerinin 0.47-2.52 g yağ/g kuru örnek, şişme kapasitelerinin 1.37-6.21 ml/g kuru örnek, glukoz adsorpsiyon kapasitelerinin 1.67-7.70 mmol/g kuru örnek, α -amilaz inhibisyon kapasitelerinin ise %2.02-10.44 aralığında değiştiği görülmüştür. Her iki ekstraksiyon yönteminde de elde edilen çözünmez diyet liflerini karakterize eden fonksiyonel ve fiziko-kimyasal özelliklerin çözünür diyet liflerinden daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Çözünmez diyet liflerinin su tutma kapasiteleri 2.13-10.02 g su/g kuru örnek, yağ tutma kapasiteleri 1.08-5.03 g yağ/g kuru örnek, şişme kapasiteleri 2.61-13.20 ml/g kuru örnek, glukoz adsorpsiyon kapasiteleri 3.28-16.53 mmol/g kuru örnek ve α -amilaz inhibisyon kapasiteleri %4.21-20.87 aralığında değişmiştir. Hem çözünür hem de çözünmez diyet lifleri için belirlenen özelliklerin UDE işlemi ile ekstrakte edilen diyet liflerinde klasik ekstraksiyona göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri ile ekstrakte edilen diyet liflerinin iki farklı depolama koşulunda (25°C ve %40 RH'da 6 ay, 38°C ve %90 RH'da 3 ay) fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin depolama süresince değişimleri takip edilerek depolama stabiliteleri belirlenmiştir. Klasik ekstraksiyon ve UDE işlemleri ile elde edilen çözünür ve çözünmez diyet lifi örneklerinin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özelliklerindeki değişimler kıyaslandığında, UDE ile elde edilen diyet lifi örneklerinin her iki depolama koşulu için de daha yüksek stabiliteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, çözünmez lif örneklerinin fiziko-kimyasal ve fonksiyonel özellikler açısından çözünür lif örneklerine göre farklı depolama koşullarında stabilitesinin daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Abbasi, H., Rezaei, K., Emamdjomeh, Z. ve Mousavi, S.M.E., 2008. Effect of various extraction conditions on the phenolic contents of pomegranate seed oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110(5), 435-440.
- Abdelgani, M.E., Elsheikh, E.A.E. ve Mukhtar, N.O., 1999. The effect of rhizobium inoculation and chemical fertilization on seed quality of fenugreek. *Food Chemistry*, 64 (3), 289-293.
- Aguilera, J.M., 2003. Solid-liquid extraction. In *Extraction Optimization in Food Engineering*, Ed: Tzia, C. ve Liadakis, G. CRC Press, 51-70.
- Akbari, S., Abdurahman, N.H., Yunus, R.M., Alara, O.R. ve Abayomi, O.O., 2019. Extraction, characterization and antioxidant activity of fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) seed oil. *Materials Science for Energy Technologies*, 2(2), 349-355.
- Akbay, F., Erol, A. ve Kamalak, A., 2020. Farklı hasat döneminin çemen (*Trigonella foenum-graecum* L.) otunun kimyasal bileşimi, metan üretimi ve kondense tanen içeriği üzerine etkisi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(6), 1663-1668.
- Alcantara, M.A., Polari, I.D.L.B., de Albuquerque Meireles, B.R.L., de Lima, A.E.A., da Silva Junior, J.C., de Andrade Vieira, E. ve de Magalhães Cordeiro, A.M.T., 2019. Effect of the solvent composition on the profile of phenolic compounds extracted from chia seeds. *Food Chemistry*, 275, 489-496.
- Aleson-Carbonell, L. Fernandez-Lopez, J., Perez-Alvarez, J.A. ve Kuri, V., 2005. Characteristics of beef burger as influenced by various types of lemon albedo. *Innovative Food Science and Engineering Technologies*, 6, 247-255.
- Al-Farsi, M.A. ve Lee, C.Y., 2008. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food Chemistry*, 108(3), 977-985.
- Al-Juhaimi, F., Adiamo, O.Q., Ghafoor, K. ve Babiker, E.E., 2016. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) seed. *CyTA-Journal of Food*, 14(3), 369-374.

- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D.G. ve Lightfoot, D.A., 2017. Phytochemicals: Extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants*, 6(4), 42.
- Atak, E. ve Uslu, M.E., 2018. Fenolik bileşikler, ekstraksiyon metotları ve analiz yöntemleri. *M C B Ü Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimleri Dergisi*, 27(3), 40-48.
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F. ve Omar, A.K.M., 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- Ballard, T.S., Mallikarjunan, P., Zhou, K. ve O'Keefe, S.F., 2009. Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from peanut skins using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(8), 3064-3072.
- Barbosa-Cánovas, G.V., 2013. *Microwave-Assisted Extraction for Bioactive Compounds* (Springer, New York).
- Bat, M., 2018. Çemen Otunun Antioksidan Özelliklerinin İncelenmesi. (Yüksek Lisans Tezi). Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Baytop, T., 1984. Türkiye'de Bitkiler İle Tedavi. İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 3255, 444s, İstanbul.
- Begum, Y.A. ve Deka, S.C., 2019. Effect of processing on structural, thermal, and physicochemical properties of dietary fiber of culinary banana bracts. *Journal of Food Processing and Preservation*, 43(12), 4256.
- Belguith-Hadriche, O., Bouaziz, M., Jamoussi, K., Simmonds, M.S., El Feki, A. ve Makni-Ayedi, F., 2013. Comparative study on hypocholesterolemic and antioxidant activities of various extracts of fenugreek seeds. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1448-1453.
- Benayad, Z., Gómez-Cordovés, C. ve Es-Safi, N.E., 2014. Identification and quantification of flavonoid glycosides from fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) germinated seeds by LC–DAD–ESI/MS analysis. *Journal of Food Composition and Analysis*, 35(1), 21-9.
- Benmeziane, F., Djamai, R., Cadot, Y. ve Seridi, R., 2014. Optimization of extraction parameters of phenolic compounds from Algerian fresh table grapes, (*Vitis Vinifera*). *International Food Research Journal*, 21(3), 1025- 1029.

- Bhanger, M.I., Bukhari, S.B. ve Memon, S., 2008. Antioxidative activity of extracts from fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*). Pakistan Journal of Analytical and Environmental Chemistry, 9(2), 6.
- Birman, H., 2012. Bioactivities of plant flavonoids and the possible action mechanisms. Journal of İstanbul Faculty of Medicine, 75 (3), 46-49.
- Bosiljkov, T., Dujmić, F., Bubalo, M. C., Hribar, J., Vidrih, R., Brnčić, M. ve Jokić, S., 2017. Natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins. Food and Bioproducts Processing, 102, 195-203.
- Büyüktuncel, E., 2012. Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32(2), 209-242.
- Cacace, J.E. ve Mazza, G., 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. Journal of Food Engineering, 59(4), 379-389.
- Cadoni, E., De Giorgi, M.R., Medda, E. ve Poma, G., 1999. Supercritical CO₂ extraction of lycopene and β -carotene from ripe tomatoes. Dyes and Pigments, 44(1), 27-32.
- Caldas, T.W., Mazza, K.E.L., Teles, A.S.C., Mattos, G.N., Brigida, A.I.S., Conte-Junior, C.A., Borguini, R.G., Godoy, R.L.O., Cabral, L.M.C. ve Tonon, R.V., 2018. Phenolic compounds recovery from grape skin using conventional and non-conventional extraction methods. Industrial Crops and Products, 111, 86-91.
- Cao, J. ve Su, E., 2021. Hydrophobic deep eutectic solvents: The new generation of green solvents for diversified and colorful applications in green chemistry. Journal of Cleaner Production, 314, 127965.
- Castañeda-Valbuena, D., Ayora-Talavera, T., Lujan-Hidalgo, C., Alvarez-Gutierrez, P., Martinez-Galero, N. ve Meza-Gordillo, R., 2021. Ultrasound extraction conditions effect on antioxidant capacity of mango by-product extracts. Food and Bioproducts Processing, 127, 212-224.
- Cavuldak, Ö., Vural, N., Akay, M.A. ve Anlı, R.E., 2019. Optimization of ultrasound-assisted water extraction conditions for the extraction of phenolic compounds from black mulberry leaves (*Morus nigra* L.). Journal of Food Process Engineering, 42(5), 13132.

- Chaaban, H., Ioannou, I., Chebil, L., Slimane, M., Gerardin, C., Paris, C. ve Ghoul, M., 2017. Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5), 13203.
- Chaturvedi, V. ve Verma, P., 2013. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and valueadded products. *3 Biotech*, 3(5), 415-431.
- Chau, C.F. ve Huang, Y.L., 2004. Characterization of passion fruit seed fibres-a potential fibre source. *Food Chemistry*, 85(2), 189-194.
- Chau, C.F., Huang, Y.L. ve Lee, M.H., 2003. In vitro hypoglycemic effects of different insoluble fiber-rich fractions prepared from the peel of *Citrus sinensis* L. cv. Liucheng. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6623-6626.
- Chau, C.F., Wang, Y.T. ve Wen, Y.L., 2007. Different micronization methods significantly improve the functionality of carrot insoluble fibre. *Food Chemistry*, 100(4), 1402-1408.
- Cheetangdee, N., 2019. Rice Phenolic: Extraction, Characterization and Utilization in Foods. *Polyphenols in Plants*, Ed: Watson, R.R. Academic Press, Cambridge, 217-242.
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S. ve Abert-Vian, M., 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540-560.
- Chen, S., Jiang, L., Li, Y. ve Sui, X., 2011. Ultrasound-assisted enzymatic extraction of dietary fiber from pods. *Procedia Engineering*, 15, 5056-5061.
- Chu, J., Zhao, H., Lu, Z., Lu, F., Bie, X. ve Zhang, C., 2019. Improved physicochemical and functional properties of dietary fiber from millet bran fermented by *Bacillus natto*. *Food Chemistry*, 294, 79-86.
- Chua, L.S., Abd Latiff, N. ve Mohamad, M., 2016. Reflux extraction and cleanup process by column chromatography for high yield of andrographolide enriched extract. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 3(2), 64-70.
- Ciğeroğlu, Z., Kırbaşlar, Ş.İ., Şahin, S. ve Köprücü, G., 2017. Optimization and kinetic studies of ultrasound-assisted extraction on polyphenols from satsuma mandarin

- (*Citrus Unshiu Marc.*) leaves. Iranian Journal of Chemistry and Chemical Engineering, 36(5), 163-171.
- Corrales, M., García, A.F., Butz, P. ve Tauscher, B., 2009. Extraction of anthocyanins from grape skins assisted by high hydrostatic pressure. Journal of Food Engineering, 90(4), 415-421.
- Çam, M. ve Hışıl, Y., 2006. Basınçlı solvent ekstraksiyonu ve uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 79-86.
- Daştan, S., Türker, İ. ve İşleroğlu, H., 2021. Çemen otu tohumundan fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için optimizasyon çalışması. Gıda, 46(4), 959-970.
- Dastan, S., Turker, I. ve Isleroglu, H. (2022). Enhanced recovery of bioactive compounds from *Trigonella-foenum graecum* seeds by ultrasonic-assisted extraction. Journal of Food Measurement and Characterization, 16(2), 1073-1086.
- Ding, Q., Li, Z., Wu, W., Su, Y., Sun, N., Luo, L., Ma, H. ve He, R., 2020. Physicochemical and functional properties of dietary fiber from *Nannochloropsis oceanica*: A comparison of alkaline and ultrasonic-assisted alkaline extractions. LWT, 133, 110080.
- Dong, J.L., Wang, L., Lü, J., Zhu, Y.Y. ve Shen, R.L., 2019. Structural, antioxidant and adsorption properties of dietary fiber from foxtail millet (*Setaria italica*) bran. Journal of the Science of Food and Agriculture, 99(8), 3886-3894.
- Dong, W., Wang, D., Hu, R., Long, Y. ve Lv, L., 2020. Chemical composition, structural and functional properties of soluble dietary fiber obtained from coffee peel using different extraction methods. Food Research International, 136, 109497.
- Dixit, P., Ghaskadbi, S., Mohan, H. ve Devasagayam, T.P., 2005. Antioxidant properties of germinated fenugreek seeds. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 19(11), 977-983.
- Donsì, F., Ferrari, G. ve Potaro, G., 2010. Applications of pulsed electric field treatments for the enhancement of mass transfer from vegetable tissue. Food Engineering Reviews, 2(2), 109-130.
- Dorta, E., Lobo, M.G. ve Gonzalez, M., 2012. Reutilization of mango byproducts: study of the effect of extraction solvent and temperature on their antioxidant properties. Journal of Food Science, 77(1), 80- 88.

- Dönmez M., Cankurtaran M., İlseven S., Sancak N., İpekcioglu P. ve Turan A.R., 2010. Diyet lifleri ve insan sağlığı üzerindeki etkileri. Ulusal Meslek Yüksek Okulları Öğrenci Sempozyumu. 21-23 Ekim, 2010, Düzce.
- Dülger, D. ve Şahan, Y., 2011. Diyet lifin özellikleri ve sağlık üzerindeki etkileri. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 25(2), 147-157.
- Durmuş, E., 2008. Kırmızıbiber Tohumunun Endüstriyel Olarak Değerlendirilmesi: Protein Ekstraksiyonu, Fonksiyonel Özellikleri ve Mayonez Üretiminde Kullanımı. (Doktora Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G. ve Ma, H., 2020. The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review. Food Bioscience, 35, 100547.
- Erte, E., 2007. Siyah Üzümde (*Vitis Vinifera* L.) Bulunan Resveratrol'ün Üretim Veriminin Artırılmasına Ses Ötesi Dalgaların Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi), Ankara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Esclapez, M D., García-Pérez, J.V., Mulet, A. ve Cárcel, J.A., 2011. Ultrasound-assisted extraction of natural products. Food Engineering Reviews, 3(2), 108-120.
- Ferna, J., Jime, A., Guille, R. ve Heredia, A., 2006. Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. Trends in Food Science and Technology, 17 (1), 3–15.
- Fuentes-Alventosa, J.M., Jaramillo-Carmona, S., Rodríguez-Gutiérrez, G., RodríguezArcos, R., Fernández-Bolaños, J., Guillén-Bejarano, R. ve Jiménez-Araujo, A., 2009. Effect of the extraction method on phytochemical composition and antioxidant activity of high dietary fibre powders obtained from asparagus by-products. Food Chemistry, 116(2), 484–490.
- Ghafoor, K., Choi, Y.H., Jeon, J.Y. ve Jo, I.H., 2009. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(11), 4988-4994.

- Goni, I., Diaz-Rubio, M.E., Perez-Jimenez, J. ve Saura-Calixto, F., 2009. Towards an updated methodology for measurement of dietary fiber, including associated polyphenols, in food and beverages. *Food Research International*, 42(7), 840–846.
- Gökçe, Z. ve Efe, L., 2016. Çemen (*Trigonella foenum-graecum L.*) bitkisinin kullanım alanları ve tıbbi önemi. *Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 5, 355-363.
- Gül, H., 2007. Mısır ve Buğday Kepeğinin Hamur Ve Ekmek Nitelikleri Üzerindeki Etkilerinin İncelenmesi. (Doktora Tezi), Çukurova Üniversitesi. Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Adana.
- Gündoğdu, B., 2020. Farklı Kurutma Yöntemlerinin Balkabağı Posasından Fenolik Madde Ekstraksiyonuna Etkisinin Belirlenmesi. (Yüksek Lisans Tezi), Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüleri Ortak Yüksek Lisans Programı, Osmaniye.
- Hadidi, M., Ibarz, A. ve Pagan, J., 2020. Optimisation and kinetic study of the ultrasonic-assisted extraction of total saponins from alfalfa (*Medicago sativa*) and its bioaccessibility using the response surface methodology. *Food Chemistry*, 309, 125786.
- Harris, P.J. ve Ferguson, L.R., 1999. Dietary fibres may protect or enhance carcinogenesis. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 443 (1-2), 95-110.
- Hassan, F.A., Ismail, A., Hamid, A.A., Azlan, A. ve Al-sheraji, S.H., 2011. Characterisation of fibre-rich powder and antioxidant capacity of *Mangifera pajang* K. fruit peels. *Food Chemistry*, 126(1), 283-288.
- Hassan, Z., Imran, M., Ahmad, M.H. ve Khan, M.K., 2021. Ultrasound-Assisted modification of insoluble dietary fiber from chia (*Salvia hispanica L.*) seeds. *Journal of Food Quality*, 5035299, 1-10.
- Heng, L., Vincken, J.P., Hoppe, K., Van Koningsveld, G.A., Decroos, K., Gruppen, H. ve Voragen, A.G.J., 2006. Stability of pea DDMP saponin and the mechanism of its decomposition. *Food Chemistry*, 99(2), 326-334.
- Herrera, M.C. ve Luque de Castro, M.D., 2005. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A*, 1100(1), 1-7.

- Horzum, M., 2018. Endüstriyel Artık Olan Elma Posasından Diyet Lifi Üretimi Optimizasyonu Ve Partikül Boyutun Teknolojik Özelliklere Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi. Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Kayseri.
- Hua, M., Sun, Y., Shao, Z., Lu, J., Lu, Y. ve Liu, Z., 2020. Functional soluble dietary fiber from ginseng residue: Polysaccharide characterization, structure, antioxidant, and enzyme inhibitory activity. *Journal of Food Biochemistry*, 44(12), 13524.
- Huang, L., Ding, X., Zhao, Y., Li, Y. ve Ma, H., 2018. Modification of insoluble dietary fiber from garlic straw with ultrasonic treatment. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), 13399.
- Hubbermann, E. M., Heins, A., Stöckmann, H. Schwarz, K., 2006. Influence of acids, salt, sugars and hydrocolloids on the colour stability of anthocyanin rich black currant and elderberry concentrates. *European Food Research and Technology*, 223(1), 83-90.
- Im, H. J. ve Yoon, K.Y., 2015. Production and characterisation of alcohol-insoluble dietary fibre as a potential source for functional carbohydrates produced by enzymatic depolymerisation of buckwheat hulls. *Czech Journal of Food Sciences*, 33(5), 449-457.
- Izzo, A.A., Di Carlo, G., Borrelli, F. ve Ernst, E., 2005. Cardiovascular pharmacotherapy and herbal medicines: The risk of drug interaction. *International Journal of Cardiology* 98(1), 1-14.
- İsleroglu, H. ve Turker, İ., 2022. Ultrasonic-Assisted extraction and thermal stability of phytochemicals from fenugreek leaves. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 30, 12.
- İlgar, B.A., 2019. Çemen Otu (*Trigonella foenum-graecum* L.) Dokularında CYP450 Gen Anlatımı ve Diosgenin Üretimi Arasındaki İlişkinin Saptanması. (Yüksek Lisans Tezi), İstanbul Üniversitesi. Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul.
- Jalili, F., Jafari, S. M., Emam-Djomeh, Z., Malekjani, N. ve Farzaneh, V., 2018. Optimization of ultrasound-assisted extraction of oil from canola seeds with the use of response surface methodology. *Food Analytical Methods*, 11(2), 598-612.

- Jesus, S.S. ve Maciel Filho, R., 2020. Recent advances in lipid extraction using green solvents. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 133, 110289.
- Jia, F., Yang, S., Ma, Y., Gong, Z., Cui, W., Wang, Y. ve Wang, W., 2020. Extraction optimization and constipation-relieving activity of dietary fiber from *Auricularia polytricha*. *Food Bioscience*, 33, 100506.
- Jiang, G., Bai, X., Wu, Z., Li, S., Zhao, C. ve Ramachandraiah, K., 2021. Modification of ginseng insoluble dietary fiber through alkaline hydrogen peroxide treatment and its impact on structure, physicochemical and functional properties. *LWT-Food Science and Technology*, 150, 111956.
- Jiang, Y., Bai, X., Lang, S., Zhao, Y., Liu, C. ve Yu, L., 2019. Optimization of ultrasonic-microwave assisted alkali extraction of arabinoxylan from the corn bran using response surface methodology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 128, 452-458.
- Jordi, S.S., Bullo, M., Ana, P.H. ve Emilio, R., 2006. Dietary fibre, nuts and cardiovascular diseases. *British Journal of Nutrition*, 96(2), 45–51.
- Kahkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. ve Heinonen, M., 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954-3962.
- Karaman, E., 2016. Narenciye Çekirdeklerinden Diyet Lifi Elde Edilmesi Ve Lifi Kraker Üretiminde Kullanılması. (Yüksek Lisans Tezi), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale.
- Keçeli, M., 2016. Keçiboynuzu Pekmez Posasından Elde Edilen Lifi Kimyasal Yapısının Aydınlatılması Ve Gıdalarda Kullanımının Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi), Mersin Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- Kenny, O., Smyth, T.J., Hewage, C.M. ve Brunton, N.P., 2013. Antioxidant properties and quantitative UPLC-MS analysis of phenolic compounds from extracts of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds and bitter melon (*Momordica charantia*) fruit. *Food Chemistry*, 141(4), 4295-4302.
- Khanbabaee, K. ve Van Ree, T., 2001. Tannins: classification and definition. *Natural Product Reports*, 18(6), 641-649.

- Khorshidian, N., Yousefi Asli, M., Arab, M., Adeli Mirzaie, A. ve Mortazavian, A.M., 2016. Fenugreek: potential applications as a functional food and nutraceutical. *Nutrition and Food Sciences Research*, 3(1), 5-16.
- Krishnakumar, I.M., Ravi, A., Kumar, D., Kuttan, R. ve Maliakel, B., 2012. An enhanced bioavailable formulation of curcumin using fenugreek-derived soluble dietary fibre. *Journal of Functional Foods*, 4(1), 348-357.
- Kumar, K., Srivastav, S. ve Sharanagat, V.S., 2020. Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325.
- Kurek, M.A., Karp, S., Wyrwicz, J. ve Niu, Y., 2018. Physicochemical properties of dietary fibers extracted from gluten-free sources: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), amaranth (*Amaranthus caudatus*) and millet (*Panicum miliaceum*). *Food Hydrocolloids*, 85, 321-330.
- Leela N.K. ve Shafeekh K.M., 2008. Fenugreek. *Chemistry of Spices*, Ed: Parthasarathy, V.A., Chempakam, B. ve Zachariah, T.J. Cabi International, Calicut, 242-56.
- Lin, X., Wu, L., Wang, X., Yao, L. ve Wang, L., 2021. Ultrasonic-assisted extraction for flavonoid compounds content and antioxidant activities of *India Moringa oleifera* L. leaves: Simultaneous optimization, HPLC characterization and comparison with other methods. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 20, 3-7.
- Liu, Y., Kakani, R. ve Nair, M.G., 2012. Compounds in functional food fenugreek spice exhibit anti-inflammatory and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 131(4), 1187-1192.
- Liu, Y., Wei, S. ve Liao, M., 2013. Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Euryale ferox* seed shells using response surface methodology. *Industrial Crops and products*, 49, 837-843.
- Loeffler, M.J., 2006. Generation and Application of High Intensity Pulsed Electric Fields. *Pulsed Electric Fields Technology for The Food Industry*, Ed: Raso, J. ve Heinz, V. Gelsenkirchen, Germany, 27-72.
- Ma, M.M. ve Mu, T.H., 2016. Effects of extraction methods and particle size distribution on the structural, physicochemical, and functional properties of dietary fiber from deoiled cumin. *Food Chemistry*, 194, 237-246.

- Machado, A.P.D.F., Pereira, A.L.D., Barbero, G.F. ve Martínez, J., 2017. Recovery of anthocyanins from residues of *Rubus fruticosus*, *Vaccinium myrtillus* and *Eugenia brasiliensis* by ultrasound assisted extraction, pressurized liquid extraction and their combination. *Food Chemistry*, 231, 1-10.
- Madar, Z. ve Shomer, I., 1990. Polysaccharide composition of a gel fraction derived from fenugreek and its effect on starch digestion and bile acid absorption in rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 38(7), 1535-9.
- Madhava Naidu, M., Shyamala, B., Pura Naik, J., Sulochanamma, G. ve Srinivas, P., 2011. Chemical composition and antioxidant activity of the husk and endosperm of fenugreek seeds. *LWT-Food Science and Technology*, 44(2), 451-6.
- Manousi, N., Sarakatsianos, I. ve Samanidou, V., 2019. Extraction Techniques of Phenolic Compounds and Other Bioactive Compounds From Medicinal And Aromatic Plants. *Engineering Tools in the Beverage Industry*, Ed: Holban, A.M. ve Grumezescu, A.M. Woodhead Publishing, Cambridge, 283-314.
- Mark, R., Lyu, X., Lee, J., Parra-Saldivar, R. ve Chen, W.N., 2019. Sustainable production of natural phenolics for functional food applications. *Journal of Functional*, 57, 233-254.
- Martin-Belloso, O. ve Soliva-Fortuny, R., 2011. Pulsed electric fields processing basics. *Nonthermal Processing Technologies for Food*, 155-175.
- Mashkor, I.M., 2014. Phenolic content and antioxidant activity of fenugreek seeds extract. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 6(4), 841-844.
- Massa, T.B., Stevanato, N., Cardozo-Filho, L. ve da Silva, C., 2019. Pumpkin (*Cucurbita maxima*) by-products: Obtaining seed oil enriched with active compounds from the peel by ultrasonic-assisted extraction. *Journal of Food Process Engineering*, 42(5), 13125.
- Mathern, J.R., Raatz, S.K., Thomas, W. ve Slavin, J.L., 2009. Effect of fenugreek fiber on satiety, blood glucose and insulin response and energy intake in obese subjects. *Phytotherapy Research*, 23(11), 1543-8.
- Memiş, S., Tornuk, F., Bozkurt, F. ve Durak, M.Z., 2017. Production and characterization of a new biodegradable fenugreek seed gum based active nanocomposite film

- reinforced with nanoclays. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 669-675.
- Meng, X., Liu, F., Xiao, Y., Cao, J., Wang, M. ve Duan, X., 2019. Alterations in physicochemical and functional properties of buckwheat straw insoluble dietary fiber by alkaline hydrogen peroxide treatment. *Food Chemistry*: X, 3, 100029.
- Milella, R.A., Basile, T., Alba, V., Gasparro, M., Giannandrea, M.A., Debiase, G. ve Antonacci, D., 2019. Optimized ultrasonic-assisted extraction of phenolic antioxidants from grape (*Vitis vinifera* L.) skin using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 56(10), 4417-4428.
- Miller, G.L., 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, 31(3), 426-428.
- Moczkowska, M., Karp, S., Niu, Y. ve Kurek, M.A., 2019. Enzymatic, enzymatic-ultrasonic and alkaline extraction of soluble dietary fibre from flaxseed—A physicochemical approach. *Food Hydrocolloids*, 90, 105-112.
- Mohamed, M.E. ve Eissa, A.H.A., 2012. Pulsed electric fields for food processing technology. *Structure and Function of Food Engineering*, 11, 275-306.
- Nafiunisa, A., Aryanti, N. ve Wardhani, D.H., 2019. Kinetic study of saponin extraction from *Sapindus rarak* DC by ultrasound-assisted extraction methods. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering and Catalysis*, 14(2), 468.
- Nakilcioğlu, E. ve Ötleş, S., 2014. Basınçlı çözgen ekstraksiyonu ve gıda sanayiindeki uygulamaları. *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 12(2), 88-94.
- Nambi, V., Gupta, R.K., Kumar, S. ve Sharma, P.C., 2016. Degradation kinetics of bioactive components, antioxidant activity, colour and textural properties of selected vegetables during blanching. *Journal of Food Science and Technology*, 53(7), 3073-3082.
- Navarro-González, I., García-Valverde, V., García-Alonso, J. ve Periago, M.J., 2011. Chemical profile, functional and antioxidant properties of tomato peel fiber. *Food Research International*, 44(5), 1528-1535.
- Othman, Z.S., Hassan, N.H., Yusop, M.R. ve Zubairi, S.I., 2015. Development of a new binary solvent system using ionic liquids as additives to improve rotenone extraction yield from *Malaysia derris sp.* *Journal of Chemistry*, 468917, 7.

- Pająk, P., Socha, R., Broniek, J., Królikowska, K. ve Fortuna, T., 2019. Antioxidant properties, phenolic and mineral composition of germinated chia, golden flax, evening primrose, phacelia and fenugreek. *Food chemistry*, 275, 69-76.
- Parniakov, O., Lebovka, N.I., Van Hecke, E. ve Vorobiev, E., 2014. Pulsed electric field assisted pressure extraction and solvent extraction from mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food and Bioprocess Technology*, 7(1), 174-183.
- Pan, G., Yu, G., Zhu, C. ve Qiao, J., 2012. Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) of flavonoids compounds (FC) from hawthorn seed (HS). *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 486-490.
- Pico, Y., 2013. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 43, 84-99.
- Pinela, J., Prieto, M.A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L. ve Ferreira, I.C., 2019. Optimization of heat-and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, 275, 309-321.
- Poorhashemi, S., Arianfar, A. ve Mohammadi, A., 2020. Ultrasound-assisted extraction and optimization process parameters of antioxidant and phenolic compounds from myristica fragrans. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 15(1), 63423.
- Ramić, M., Vidović, S., Zeković, Z., Vladić, J., Cvejin, A. ve Pavlić, B., 2015. Modeling and optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from *Aronia melanocarpa* by-products from filter-tea factory. *Ultrasonics Sonochemistry*, 23, 360-368.
- Rodica, C. ve Adrian, C., 2011. Chemical methods for the determination of soluble and insoluble non-starch polysaccharides-review. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 44(2), 73-80.
- Roshanpour, S., Tavakoli, J., Beigmohammadi, F. ve Alaei, S., 2021. Improving antioxidant effect of phenolic extract of *Mentha piperita* using nanoencapsulation process. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 15(1), 23-32.
- Santos, L.E., Esparza-Estrada, J. ve Vanegas-Mahecha, P., 2017. Ultrasound-assisted extraction of total carotenoids from mandarin epicarp and application as natural

- colorant in bakery products. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 139, 110598.
- Sarıtaş, N., 2018. Ceviz Yeşil Kabuğundan Ultrases Yardımıyla Fenolik Madde Ekstraksiyonu, Kinetik Modellenmesi ve Optimizasyonu. (Yüksek Lisans Tezi), Pamukkale Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli.
- Scibisz, I., Kalisz, S. ve Mitek, M., 2010. Thermal degradation of anthocyanins in blueberry fruit. *Zywnosc Nauka Technologia Jakosc Poland*, 5(72), 56-66.
- Sharma, R. ve Tandon, R.K., 2013. Nutrition, Dietary Fibers, and Cholelithiasis: Apple Pulp, Fibers, Clinical Trials. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease*, Ed: Watson, R.R. and Preedy, V.R. America, 349–368.
- Singh, J., 2008. Maceration, Percolation and Infusion Techniques for the Extraction of Medicinal and Aromatic Plants. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*, Ed: Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G. ve Rakesh, D.D. CIMAP, Lucknow, India, 67-82.
- Singleton, V.L. ve Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Srinivasan, K., 2006. Fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*): A review of health beneficial physiological effects. *Food Reviews International*, 22(2), 203-224.
- Sun, J., Zhang, Z., Xiao, F., Wei, Q. ve Jing, Z., 2018. Ultrasound-assisted alkali extraction of insoluble dietary fiber from soybean residues. *Materials Science and Engineering*, 392(5), 052005.
- Suslick, K.S., Didenko, Y., Fang, M.M., Hyeon, T., Kolbeck, K.J., McNamara III, W.B. ve Wong, M., 1999. Acoustic cavitation and its chemical consequences. *Philosophical Transactions of the Royal Society*, 357(1751), 335-353.
- Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S. ve Akkaya, Z., 2009. Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda*, 34(3), 175-182.

- Tenderis, B., 2010. Üzüm Çekirdeğinden Fenolik Madde Ekstraksiyonu. (Yüksek Lisans Tezi), Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü. Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kocaeli.
- Tiwari, B.K., 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology. Trends in Analytical Chemistry, 71, 100-109.
- Tomaz, I., Hazanic, N., Preiner, D., Stupic, D., Andabaka, Z., Maletic, E., Kontic, J. ve Asperger D., 2019. Extraction Methods of Polyphenol from Grapes. Extraction Of Grape Polyphenols, Ed: Watson, R.R. Polyphenol in Plants (second edition), Academicpress, Cambridge, 151-167.
- Tosh, S. M. ve Yada, S., 2010. Dietary fibres in pulse seeds and fractions: Characterization, functional attributes, and applications. Food Research International, 43(2), 450-460.
- Tsao, R. ve Deng, Z., 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. Journal of Chromatography B, 812(1-2), 85-99.
- Turan, S., Atalay, D., İslamoğlu, R.S., Özoğlu, M. ve 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.
- Turkmen, N., Sari, F. ve Velioglu, Y.S., 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. Food Chemistry, 93(4), 713-718.
- Türker, İ., Daştan, S. ve İşleroğlu, H. 2022. Alkali extraction of dietary fiber from *Trigonella-foenum graecum* L. seeds. Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology, 10(4), 621-628.
- Türker, İ., Güneyparlak, M., Yılmaz, Y. ve İşleroğlu, H., 2020. Extraction of antioxidant components by microwave assisted homogenization from artichoke leaves. Gaziosmanpaşa Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 37(3), 167-174.
- Turker, I. ve Isleroglu, H., 2021. Optimization of extraction conditions of bioactive compounds by ultrasonic-assisted extraction from Artichoke Wastes. Acta Chimica Slovenica, 68(3), 658-666.
- Vinatoru, M., 2015. Ultrasonically assisted extraction (UAE) of natural products some guidelines for good practice and reporting. Ultrasonics Sonochemistry, 25, 94-95.

- Wang, D.G., Liu, W.Y. ve Chen, G.T., 2013. A simple method for the isolation and purification of resveratrol from *Polygonum cuspidatum*. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3(4), 241-247.
- Wang, K., Li, M., Wang, Y., Liu, Z. ve Ni, Y., 2021. Effects of extraction methods on the structural characteristics and functional properties of dietary fiber extracted from kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Hydrocolloids*, 110, 106162.
- Wang, Y., Xu, Y., Dong, S., Wang, P., Chen, W., Lu, Z. ve Gao, G., 2021. Ultrasonic activation of inert poly (tetrafluoroethylene) enables piezocatalytic generation of reactive oxygen species. *Nature Communications*, 12(1), 1-8.
- Wang, L., Xu, H., Yuan, F., Fan, R. ve Gao, Y., 2015. Preparation and physicochemical properties of soluble dietary fiber from orange peel assisted by steam explosion and dilute acid soaking. *Food Chemistry*, 185, 90-98.
- Wani, S.A., Bishnoi, S. ve Kumar, P., 2016. Ultrasound and microwave assisted extraction of diosgenin from fenugreek seed and fenugreek-supplemented cookies. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(3), 527-532.
- Yadav, R. ve Chowdhury, P., 2017. Screening the antioxidant activity of trigonella foenum graecum seeds. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 2(1), 65-70.
- Yılmaz, T., 2011. Domates İşleme Atıklarından Ultrason Destekli Likopen Ekstraksiyonu İşleminin Optimizasyonu. (Yüksek Lisans Tezi), Ege Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Zainal-Abidin, M.H., Hayyan, M., Hayyan, A. ve Jayakumar, N.S., 2017. New horizons in the extraction of bioactive compounds using deep eutectic solvent: A review. *Analytica Chimica Acta*, 979, 1-23.
- Zhang, Y., Liao, J. ve Qi, J., 2020. Functional and structural properties of dietary fiber from citrus peel affected by the alkali combined with high-speed homogenization treatment. *LWT - Food Science and Technology*, 128, 109397.
- Zhou, J., Zheng, X., Yang, Q., Liang, Z., Li, D., Yang, X. ve Xu, J., 2013. Optimization of ultrasonic-assisted extraction and radical-scavenging capacity of phenols and flavonoids from *Clerodendrum cyrtophyllum Turcz* leaves. *Plos One*, 8(7), 68392.
- Živković, J., Šavikin, K., Janković, T., Čujić, N. ve Menković, N., 2018. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel

- using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, 194, 40-47.
- Zuiter, A. ve Jordan, Z., 2014. Proanthocyanidin: chemistry and biology: from phenolic compounds to proanthocyanidins. *Reference Modul in Chemistry Molecular Science and Chemical Engineering*, Ed: Reedijk, J. Elsevier.
- Żuk-Gołaszewska, K. ve Wierzbowska J., 2017. Fenugreek: productivity, nutritional value and uses. *Journal of Elementology*, 22(3), 1067-1080.
- Zuorro, A., Maffei, G. ve Lavecchia, R., 2016. Reuse potential of artichoke (*Cynarascolimus* L.) waste for the recovery of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production*, 111, 279-284.

7. ÖZGEÇMİŞ

