



**T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**ENGİNAR GENOTİPLERİNİN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİNİN
BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ
Seda KAYAHAN
165307002**

**Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Kimya ve Süreç Mühendisliği Programı**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Didem SALOĞLU DERTLİ

ARALIK 2021



**T.C.
YALOVA ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**ENGİNAR GENOTİPLERİNİN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİNİN
BELİRLENMESİ**

**DOKTORA TEZİ
Seda KAYAHAN
165307002**

**Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Kimya ve Süreç Mühendisliği Programı**

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Didem SALOĞLU DERTLİ

ARALIK 2021

ÖNSÖZ

Tezimin tüm aşamalarında engin bilgi ve tecrübesiyle yanımda olan, çalışmama büyük emek ve destek verip, her daim motive eden, güzel kalbiyle en zor günlerimin en büyük destekçilerinden, her zaman yoluma ışık tutan çok değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Didem SALOĞLU DERTLİ'ye sonsuz teşekkür ederim. Tüm çalışma sürecinde, çok değerli fikirleriyle pusulam olan değerli hocam Sayın Halil DERTLİ'ye sonsuz teşekkürler.

Doktora tezimi destekleyen, Yalova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Koordinasyon Dairesi Başkanlığı ve T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırma ve Politikalar Müdürlüğü'ne teşekkür ederim.

Doktora sürecimi başlatmama vesile olan, çok iyi ekip arkadaşı, yol gösterici ve iyi bir dost olan Dr. Yasin ÖZDEMİR'e desteğinden dolayı minnettarım. Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü Gıda Teknolojisi bölümünden Sn. Hasret ALTUNKANAT'a, Sn. Aysun ÖZTÜRK'a, değerli Bölüm Başkanım Sn. Dr. Zekiye GÖKSEL'e ve tüm Enstitü yöneticilerine çalışmam boyunca desteklerinden dolayı sonsuz teşekkür ederim. Çalışmamın zor zamanlarında, pozitif enerjileriyle beni motive eden, hayata renkli gözlüklerle bakmama vesile olan değerli çalışma arkadaşlarım Sn. Gülhan GÜLBASAR KANDİLLİ ve Sn. Özlem UTKU iyiki vardınız.

Doktora sürecine annesinin karnında başlayan, tüm süreç içinde harika bir evlat olarak her daim annesine muhteşem sevgisiyle yorgunluğunu unutturan Deniz KAYAHAN ve hayattaki en büyük şansım, yol arkadaşım, eşim Sn. Dr. Ufuk KAYAHAN'a sonsuz teşekkürler. Çok değerli kardeşlerim Sn. Fatma CAN, Sn. Fatih GÜNDOĞDU sonsuz teşekkürler. Beni hep sevgiyle sarıp sarmalayan, son nefesine kadar arkamda olan en büyük çıkarım canım BABACIĞIM (Ferhat Usta), en değerlim, kıymetlim ANNECİĞİM sizin hakkınızı asla ödeyemem.

Ekim 2021

Seda Kayahan

Kimya Yüksek Mühendisi



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
	No
KISALTMALAR.....	xiii
ÇİZELGE LİSTESİ	xxiii
ŞEKİL LİSTESİ	xvii
ÖZET	xxiii
ABSTRACT	xxv
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Enginar	1
1.1.1 Dünyada ve Türkiye’de Enginar Üretimi.....	2
1.1.2 Dünyada ve Türkiye’de Enginar Çeşitliliği.....	2
1.1.3 Enginar Bitkisinin Etkin Madde İçeriği.....	4
1.1.4 Enginarın Kullanım Şekilleri.....	9
1.2 Enginar Ekstraktı Üretimi	10
1.3 Fenolik Bileşikler.....	11
1.3.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması.....	12
1.3.2 Fenolik Bileşiklerin Metabolizması	14
1.3.3 Fenolik Bileşiklerin Farmakolojik Etkisi	15
1.4 Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyon Yöntemleri	16
1.4.1 Soxhlet Ekstraksiyonu.....	17
1.4.2 Ultrases Destekli Ekstraksiyon	18
1.4.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE).....	21
1.4.4 Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon	25
1.4.5 Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu	28
1.5 Ekstraksiyonu Etkileyen Parametreler	30
1.5.1 Çözücünün Etkisi	30
1.5.2 Sıcaklığın Etkisi.....	30
1.5.3 Partikül Boyutunun Etkisi	31



1.5.4	Sürenin Etkisi	31
1.5.5	Katı/Sıvı Oranı.....	32
1.6	Deneysel Tasarım ve Optimizasyon	32
1.6.1	Yanıt Yüzey Deney Tasarımları	33
1.6.2	Model Uygunsuzluğu (Lack of Fit) Testi.....	35
1.7	Ekstraksiyon Kinetiği.....	35
2.	MATERYAL ve METOT	39
2.1	Materyal.....	39
2.2	Metot	40
2.2.1	Enginar Genotiplerinden Polifenollerin Farklı Çözücülerle Solvent Ekstraksiyonu	41
2.2.2	Enginar Genotiplerinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyon İşlemine Hazırlanması.....	41
2.2.3	Enginar Genotiplerinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonu	42
2.2.4	Enginar Genotiplerinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyon Sürecinin Merkezi Kompozit Tasarım Kullanılarak Modellenmesi.....	43
2.2.5	Enginarın Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyon Sürecinin Kinetik Modellenmesi	45
2.2.6	Avrupa Farmakopesi Ekstraksiyonu	46
2.3	Enginar Genotiplerinin Yenebilen Kısımlarına Uygulanan Pişirme Yöntemleri.....	46
2.3.1	Haşlama Yöntemi.....	46
2.3.2	Fırında Pişirme Yöntemi	46
2.3.3	Mikrodalgada Pişirme Yöntemi.....	47
2.4	Analiz Metotları	47
2.4.1	Kuru Madde Analizi.....	47
2.4.2	Toplam Fenolik Madde Analizi İçin Örnek Hazırlama	47
2.4.3	Toplam Fenolik Madde Analizi	47
2.4.4	Antioksidan Aktivite Analizi.....	48
2.4.4.1	DPPH analizi	48



2.4.4.2 CUPRAC (Copper Reducing Antioxidant Capacity) analizi	48
2.4.5 Biyoaktif Bileşen Analizi İçin Örnek Hazırlaması	48
2.4.6 Biyoaktif Bileşen Analizi	49
2.4.7 İstatiksel Analiz	50
3. TARTIŞMA ve SONUÇ	51
3.1 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Optimizasyonu, Kinetik Çalışmaları ve Biyoaktif Bileşenlerin İncelenmesi	51
3.1.1 Enginar Genotiplerinden Polifenollerin Farklı Çözücülerle Solvent Ekstraksiyonunun Değerlendirilmesi	51
3.1.2 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen ve Yenebilir Kısımlarının Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesine Ait Değerlendirmeler	52
3.1.3 Bayrampaşa Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Merkezi Kompozit Tasarımı	55
3.1.4 Bayrampaşa Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Yüzey Yanıt Yöntemi	58
3.1.5 Bayrampaşa Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Kinetik Modellemesi	64
3.1.6 Sakız Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Merkezi Kompozit Tasarımı	67
3.1.7 Sakız Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Yüzey Yanıt Yöntemi	70
3.1.8 Sakız Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Kinetik Modellemesi	75
3.1.9 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen ve Yenebilir Kısımlarının Biyoaktif Madde İçeriklerinin Değerlendirilmesi	78
3.2 Enginar Genotiplerinin Yenebilir Kısımlarının, Farklı Pişirme Uygulamalarının Değerlendirilmesi ve Biyoaktif Bileşenlerin İncelenmesi	84
3.2.1 Enginar Genotiplerinin Yenebilir Kısımlarına Uygulanan Farklı Pişirme Yöntemlerinin Polifenolik İçeriğe Etkisi	84
3.2.2 Enginar Genotiplerinin Yenebilir Kısımlarına Uygulanan Farklı Pişirme Yöntemlerinden Sonra Biyoaktif Maddelerin Kayıp ve Kazanım Oranları	92
4. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	97

KAYNAKLAR.....	103
EKLER.....	119
ÖZGEÇMİŞ.....	131





KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
AFE	: Avrupa Farmakop Ekstraksiyonu
ANOVA	: Analysis of Variance
CUPRAC	: Copper Reducing Antioxidant Capacity
DAD	: Diod Array Detector
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EtOH	: Etanol
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
HD	: Hidrodistilasyon
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
HMG-CoA	: β -Hydroxy β -Methylglutaryl-CoA
HPLC	: High-Performance Liquid Chromatography
KM	: Kuru Madde
LDL	: Low Density Lipoprotein
LSD	: Least Significant Difference
MDE	: Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon
MS	: Mass Spectrometry
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity
RSM	: Response Surface Methodology
SİME	: Solvent İçermeyen Mikrodalga Ekstraksiyonu
SMSS	: Sıralı Model Kareler Toplamı
TE	: Trolox Eşdeğeri
TEAC	: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity
TFM	: Toplam Fenolik Madde
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UPLC-MS	: Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
USDA	: United States Department of Agriculture
UV	: Ultraviolet



Çizelge 1.1 100 g taze enginarın besin içeriği	1
Çizelge 1.2 Başlıca enginar üreticisi ülkeler ve üretim miktarları	2
Çizelge 1.3 Ultrases destekli ekstraksiyon optimizasyon çalışmaları	21
Çizelge 1.4 Yaygın olarak kullanılan çözücülerin dipol momentum ve dielektrik sabitleri.....	22
Çizelge 2.1 Enginar tipleri	39
Çizelge 2.2 Yanıt yüzey analizinde kullanılan deneysel değişkenlerin seviyeleri	44
Çizelge 2.3 HPLC gradient programı	49
Çizelge 3.1 Enginar genotiplerine ait tüm kısımların TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri	53
Çizelge 3.2 Bayrampaşa enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının regresyon istatistik modelleri	56
Çizelge 3.3 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonuna ait ANOVA analizi ve F testi verileri	57
Çizelge 3.4 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonunun deneysel tasarım matrisi.....	59
Çizelge 3.5 Bayrampaşa enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonuna ait kinetik parametreler	65
Çizelge 3.6 Sakız enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının regresyon istatistik modelleri	68
Çizelge 3.7 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonuna ait ANOVA analizi ve F testi verileri	69
Çizelge 3.8 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonunun deneysel tasarım matrisi.....	71
Çizelge 3.9 Sakız enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE'sinin kinetik parametreleri.....	76
Çizelge 3.10 Enginar genotiplerinin farklı kısımlarındaki biyoaktif madde içeriği ...	80
Çizelge 3.11 Farklı pişirme yöntemleri uygulanmış enginar genotiplerinin toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktivite değerleri	85
Çizelge 3.12 Çiğ ve farklı yöntemler ile pişirilmiş enginarların biyoaktif madde içerikleri	90



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1.1 Enginar bitkisinin kısımları	2
Şekil 1.2 Katanya Üniversitesi'nde toplanan globe enginar germplazmında baş şekli ve renk faktörleri için genetik varyasyon	3
Şekil 1.3 Türkiye'deki yıllara göre enginar üretim miktarları	4
Şekil 1.4 Kafeolikinik asitin kimyasal yapıları	5
Şekil 1.5 Enginarın içeriğindeki önemli fenolik bileşikler	6
Şekil 1.6 Enginar özütünün potansiyel biyoaktiviteleri	7
Şekil 1.7 Enginar çiçeğinden yapılan gıda ürünleri: (A) Enginarlı kış, (B) Marine edilmiş enginar, (C) Extremadura, İspanya'daki Torta del Casar peyniri, (D) İspanyol Flor de Guia koyunu ve inek sütü peyniri dilimi	9
Şekil 1.8 Fenolik bileşiklerin sınıflandırması	12
Şekil 1.9 Bazı fenolik asitlerin kimyasal formülleri	13
Şekil 1.10 Flavonoidlerin temel yapısı	14
Şekil 1.11 Gıdalarda bulunan bazı flovonoidler ve kimyasal yapıları	14
Şekil 1.12 Stres durumlarında fenolik bileşiklerin bitkilerde sentezlenmesi	15
Şekil 1.13 Polifenollerin biyolojik aktiviteleri	16
Şekil 1.14 Ekstraksiyon yöntemleri	17
Şekil 1.15 Soxhlet ekstraksiyon	17
Şekil 1.16 Farklı çözücüler ile bazı ekstrakte edilmiş biyoaktif bileşikler	18
Şekil 1.17 Ultrases kavitasyon gösterimi	19
Şekil 1.18 Ultrasonik sistemler (A: Ultrases prop), (B: Ultrases su banyosu)	19
Şekil 1.19 Ultrases frekans aralığı	20
Şekil 1.20 (a) konvansiyonel (b) mikrodalga ısıtmanın gösterimi	22
Şekil 1.21 Kapalı mikrodalga ekstraksiyonun şematik gösterimi	25
Şekil 1.22 Süperkritik karbondioksitin faz diyagramı	26
Şekil 1.23 Süperkritik ekstraksiyon prosesi	27
Şekil 1.24 Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu şematik gösterimi	29
Şekil 1.25 Partikülde kütle aktarım mekanizması	31
Şekil 1.26 Ekstraksiyon süresinin etkisi	32



Şekil 1.27 İki parametrenin yanıt yüzey ve izdüşüm grafiği	34
Şekil 1.28 Biyoaktif bileşenlerin genel ekstraksiyon eğrisi	36
Şekil 1.29 Difüzyon ara yüzeyi	37
Şekil 2.1 Enginar bitki kısımları.....	39
Şekil 2.2 Tezin uygulama deseni.....	40
Şekil 2.3 MDE numune hazırlama aşamaları.....	42
Şekil 2.4 Mikrodalga ekstraksiyon merkezi kompozit tasarım metodu.....	43
Şekil 3.1 Farklı solvent ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarının TFM miktarı ..	51
Şekil 3.2 Bayrampaşa enginar genotipinin tüm kısımlarımdaki TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri.....	52
Şekil 3.3 Sakız enginar genotipinin tüm kısımlarımdaki TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri	54
Şekil 3.4 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Ekstraksiyon süresi (dakika) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (c) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) TFM'ye etkisi.....	61
Şekil 3.5 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) DPPH antioksidan aktiviteye etkisi	62
Şekil 3.6 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) CUPRAC antioksidan aktiviteye etkisi	63
Şekil 3.7 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE kinetiği.....	66
Şekil 3.8 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Ekstraksiyon süresi (dakika) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (c) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) TFM, DPPH ve CUPRAC'a etkisi	73
Şekil 3.9 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) TFM ve DPPH antioksidan aktiviteye etkisi	74
Şekil 3.10 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için çözücü/katı ve etanol/su oranlarının DPPH değerlerine etkisi	75



Şekil 3.11 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE kinetiği	77
Şekil 3.12 Enginar yaprak ekstraktının: 320 nm kromatogramı (1: klorojenik asit, 2:sinarin; 3:luteolin 7-glikozit, 4:luteolin, 5:rhoifolin :280 nm kromatogramı 6: sirinjin).....	79
Şekil 3.13.Enginar genotiplerin yenebilir kısımlarına uygulanan farklı pişirme yöntemlerinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerinde neden olduğu kayıp ve kazanç oranları (%)	92
Şekil 3.14 Farklı pişirme uygulamalarının Bayrampaşa genotipine ait yenebilir kısımlarının fenolik bileşenleri üzerine etkisi	94
Şekil 3.15 Farklı pişirme uygulamalarının Sakız genotipine ait yenebilir kısımlarının fenolik bileşenleri üzerine etkisi.	95





ENGİNAR GENOTİPLERİNİN BİYOAKTİF BİLEŞENLERİNİN BELİRLENMESİ

ÖZET

Sunulan tez çalışmasında; temel olarak; Türkiye’de yoğun olarak yetiştiriciliği yapılan “Bayrampaşa” ve “Sakız” enginar genotiplerinin yenebilir ve yenemeyen tüm kısımlarının toplam fenolik madde miktarı, DPPH ve CUPRAC toplam antioksidan aktiviteleri ile biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, tezin ilk bölümünde bitkinin yenemeyen kısmı olan enginar artıklarından yüksek oranda biyoaktif bileşenlerin elde edilmesi amacıyla optimum ekstraksiyon yöntemi ve ekstraksiyon parametreleri tespit edilmiştir. Tezin ikinci kısmında ise, enginarın yenebilir kısmı olan enginar kalbinin sağlık açısından faydalı şekilde tüketilmesi amacıyla, en uygun pişirme tekniği belirlenmiş ve uygulanan her pişirme tekniğinin biyoaktif bileşenler üzerine etkisi incelenmiştir.

Tez kapsamında, enginarın tüm kısımlarında toplam fenolik madde miktarı, DPPH ve CUPRAC toplam antioksidan aktiviteleri ve en önemli biyoaktif bileşenleri olan klorojenik asit, sinarin, luteolin 7-glikozit, luteolin, rhoifolin ve sirinjin miktarları belirlenmiştir. Enginarın yenemeyen kısımlarındaki antioksidan ve biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyon süreci yeni bir teknoloji olan mikrodalga destekli ekstraksiyon kullanılarak yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalar kinetik modellemelerle desteklenmiştir. Enginarın yenebilir kısmı olan kalp kısmı Türk mutfağına uygun şekilde fırında pişirme, haşlama ve mikrodalga pişirme tekniklerine tabii tutularak biyoaktif bileşenlerinin en yüksek seviyede tutmayı sağlayacak uygun pişirme yöntemi belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar sonucunda, enginarın yenemeyen kısımları için, önemli iki biyoaktif bileşen olan sinarin ve klorojenik asidin Bayrampaşa genotipinin yaprak kısmında; Sakız genotipinin ise sap kısmında en yüksek olduğu tespit edilmiştir. Enginarın yenebilen kısmı olan kalbi için en uygun pişirme yönteminin Bayrampaşa genotipi için mikrodalga pişirme; Sakız genotipi için ise fırında pişirme tekniği olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Enginar; mikrodalga ekstraksiyon; fenolik bileşikler; pişirme.



DETERMINATION OF BIOACTIVE COMPONENTS OF ARTICHOKE GENOTYPES AND INVESTIGATION

ABSTRACT

In the present thesis; basically; it was aimed to determine the total phenolic content, DPPH and CUPRAC antioxidant activities and bioactive components of all parts of "Bayrampaşa" and "Sakiz" artichoke genotypes, which are extensively grown in Turkey. In this context, in the first part of the thesis, the optimum extraction method and extraction parameters were determined in order to obtain high bioactive components from artichoke residues, which is the inedible part of the plant. In the second part of the thesis, in order to consume artichoke heart in a beneficial way for health, the most beneficial cooking method was determined and the effect of each cooking method on bioactive components was examined.

In the thesis, the total phenolic compounds, DPPH and CUPRAC antioxidant activities and the most important bioactive components of artichoke such as chlorogenic acid, cynarin, luteolin 7-glycoside, luteolin, rhoifolin and syringin were determined in all parts of the artichoke. The extraction process of the antioxidant and bioactive components in the inedible parts of the artichoke was optimized by the response surface method using microwave assisted extraction as a new technology. In addition, experimental studies were supported by kinetic models. The heart of artichoke, which is the edible part, was cooked in accordance with Turkish cuisine using oven cooking, boiling and microwave cooking methods. A suitable cooking method was determined in order to obtain the highest level of bioactive components.

As a result of the experimental studies, for the inedible parts of artichoke, two important bioactive components, cynarin and chlorogenic acid, were found at the highest value in the leaf part of Bayrampaşa genotype and stem part of the Sakiz genotype. In addition, the most suitable cooking method for the heart, which is the edible part of the artichoke, was determined to be microwave cooking for the Bayrampaşa genotype and baking for the Sakiz genotype.

Keywords: Artichoke; microwave extraction; phenolic compounds; cooking.



1. GİRİŞ

1.1 Enginar

Enginar (*Cynara cardunculus* ssp. *scolymus* L., Hegi; Astreaceae familyası), Akdeniz havzasında antik çağlardan beri bilinen çok yıllık bir bitkidir [1]. ‘Enginar’ yani ‘Artichoke’; İtalyanca ‘Articoclos’ ve ‘Articiocco’ kelimelerinden türemiştir. Enginar bitkisi halk arasında deve dikenini olarak bilinen bitkinin seleksiyonu sonucu elde edilmiştir [2]. Enginar hakkında en eski bilgi Yunan yazar Theophrastus’a, M.Ö. 4. yy dayanmaktadır. Yunan ve Roma halkı arasında yiyecek olarak tüketiminin yanı sıra ilaç olarak kullanılan çok popüler bitki olarak bilinmektedir [3]. Enginar üretiminde modern ıslah ve yetiştirme uygulamaları M.S. 9. yy’da başlamıştır. Bazı kaynaklar enginarın kültürel olarak Filippo Strozzi tarafından Sicilya’dan Floransa’ya getirildiği, Arapların (Sarazenler) 200 yıl boyunca Sicilya’yı yönetmeleri esnasında İspanya Granada ve Ortadoğu’ya yayılarak yetiştirilmeye başladığını belirtmektedir [4].

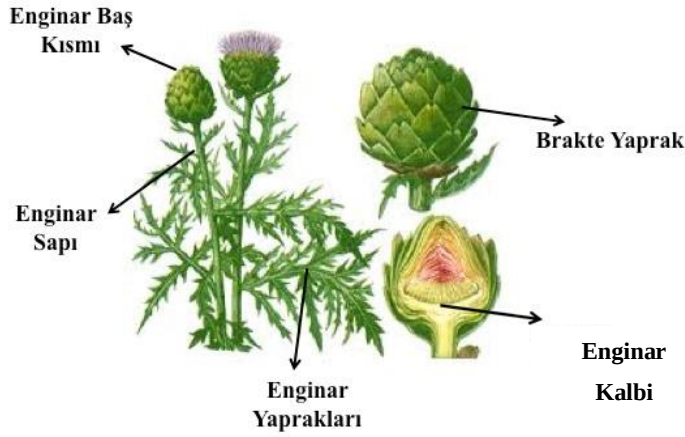
Enginar, içeriğinde bulunan yüksek düzeydeki polifenolik bileşikler, lif ve minareller sayesinde, değerli bir besin ve yüksek farmasöt özellikleri olan bir bitkidir [5]. Enginar kalbinin besin içeriği Çizelge 1.1’de verilmiştir.

Çizelge 1.1 :100 g taze enginarın besin içeriği [5].

Bileşenler	Miktar
Lif	6,15-6,47 g
Vitaminler	
Folik asit	68-72 µg
Vitamin C	11,7-13,1 mg
Mineraller	
Potasyum (K)	370-398 mg
Kalsiyum (Ca)	38-44 mg
Bakır (Cu)	0,175-0,231 mg
Demir (Fe)	1,49-1,58 mg
Magnezyum (Mg)	72-80 mg
Mangan (Mn)	0,198-0,256 mg
Fosfor (P)	73-96 mg
Selenyum (Se)	0,22-0,34 µg
Çinko (Zn)	0,49-0,65 mg

Bitkinin yenilebilir kısmı, etli yapraklar (brakte) ve kalp olarak adlandırılan olgunlaşmamış çiçek salkımının yuvasıdır. Bitkinin toplam biyokütlesinin yaklaşık %80-85’ine karşılık gelen ve enginar işleme endüstrisi tarafından atık olarak görülen yaprak, dış brakte ve sap kısımları, biyoaktif içeriğinin yüksek olması nedeniyle

potansiyel gıda katkı maddesi ve nutrasötik kaynağıdır [6]. Enginarın tüm organları Şekil 1.1’de gösterilmiştir.



Şekil 1.1 Enginar bitkisinin kısımları [7].

1.1.1 Dünyada ve Türkiye’de Enginar Üretimi

Dünyada en yüksek miktarda enginar üretimi yapan ülkelerin başında yıllık 350.000 tonun üzerinde üretimle İtalya gelirken, bunu yaklaşık 290.000 ton ile Mısır ve 200.000 tonun üzerinde üretim ile İspanya takip etmektedir. Türkiye yıllık 39.071 ton üretim miktarıyla dünya enginar üretiminde 10. sırada yer almaktadır [8].

Çizelge 1.2’de başlıca enginar üreticisi ülkeler ve üretim miktarları verilmiştir.

Çizelge 1.2 : Başlıca enginar üreticisi ülkeler ve üretim miktarları.

Ülke	Üretim (ton)	
	2018	2019
İtalya	373.430	378.820
Mısır	285.913	296.899
İspanya	208.460	199.940
Peru	154.552	131.882
Cezayir	124.659	119.636
Arjantin	110.464	111.853
Çin	90.416	92.907
ABD	47.190	45.722
Fas	44.591	44.774
Türkiye	39.477	39.071

1.1.2 Dünyada ve Türkiye’de Enginar Çeşitliliği

Dünyada enginarın en zengin birincil gen havuzu İtalya’da bulunmaktadır. Bunlar Violetto (mor başlı, orta boy), Spinoso Sardo (uzun, keskin dikenli ayraçlar ve yapraklar), Catanese (nispeten küçük boy, uzun başlı) ve Romanesco (yeşil-mor

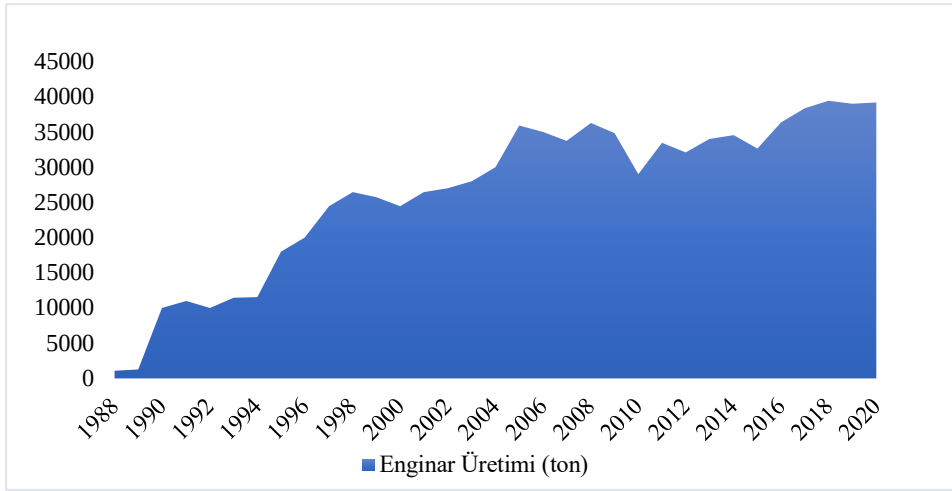
dikenli olmayan başlar) olarak bilinen dört çeşit baş morfolojisine göre sınıflandırılmıştır [9, 10]. Globe enginarı yabani ot olarak kabul edilen yabani enginar (*Cynara cardunculus* var. *sylvestris* Lam.) soyundan gelmektedir. *C. syriaca*, *C. cyrenaica*, *C. cornigera*, *C. baetica*, *C. algarbienis* ve *C. humilis* gibi türler günümüzde Akdeniz havzasının doğu ve batı kesimlerinde bulunmaktadır [9].

In vitro teknolojilerindeki ilerlemeler sayesinde Romanesco globe enginarı, özellikle Orta İtalya’da, Latium Bölgesi’nde geleneksel olarak yetiştirilen birçok Romanesco yerel türünün yerini alarak hızla genişlemiştir [10]. Ayrıca, piyasaya sunulan , tohumla çoğaltılan F1 hibritleri (örn. Tema, Romolo, Concerto, Opal, Madrigal) geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, geleneksel çeşitler ile tohumdan yapılan üretimler arasında polifenol içeriği açısından önemli ölçüde farklılık olduğu bildirilmiştir [11, 12]. Şekil 1.2’de genetik varvasyona sahip enginar tipleri gösterilmiştir.



Şekil 1.2 Katanya Üniversitesi’nde toplanan globe enginar germplazmında baş şekli ve renk faktörleri için genetik varyasyon [12].

Türkiye’deki yerli enginar tipleri, ‘Bayrampaşa’ ve ‘Sakız’ genotipleri ve bunların değişimi ile oluşan yerli tip enginar popülasyonlarıdır. Türkiye 2019 yılı TÜİK verilerine göre 39.280 ton enginar üretimi yapılmıştır ve geçmiş yıllara göre enginar üretiminde artış görülmektedir (Şekil 1.3) [13].



Şekil 1.3 Türkiye’deki yıllara göre enginar üretim miktarları [13].

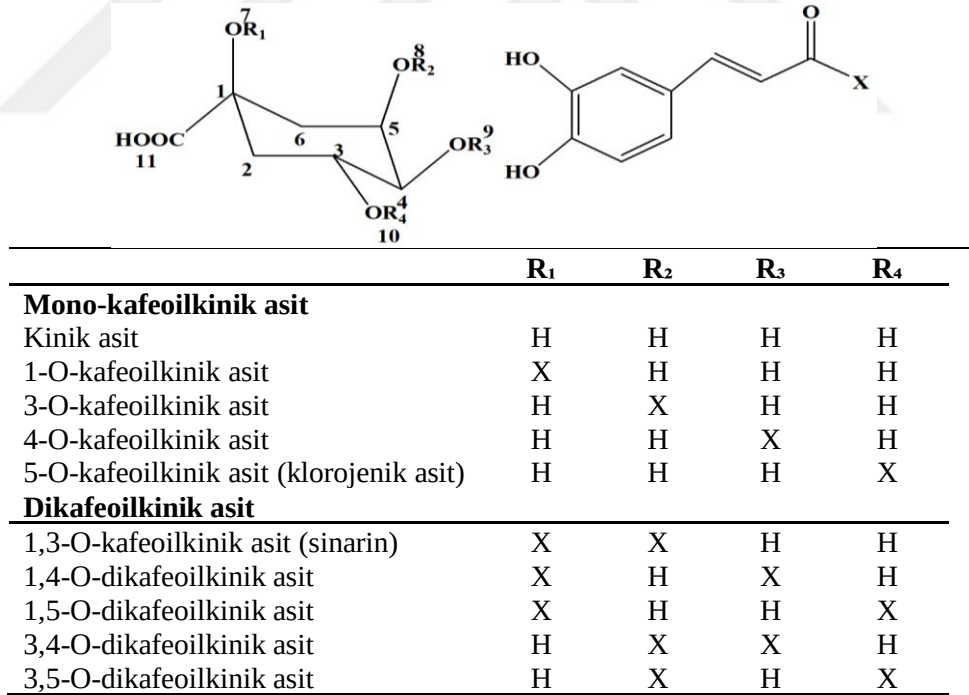
Ülkemizde geleneksel enginar üretiminin en yoğun yapıldığı bölgeler; Ege, Doğu Marmara ve Akdeniz’dir. Ege Bölgesinde ve Akdeniz Bölgesinde Sakız genotipi, Marmara Bölgesinde Bayrampaşa genotipi yetiştirilmektedir. 2011 yılında enginar üretim miktarının %51,89’u Ege Bölgesinde, %34,23’ü Doğu Marmara Bölgesinde, %11,42’si Akdeniz Bölgesinde gerçekleşmiştir. Bunu sırasıyla %1,20 oranla Batı Anadolu, %1,04 oranla Batı Marmara ve %0,21 oranla Batı Karadeniz Bölgeleri izlemektedir. Türkiye’de iller itibariyle geleneksel enginar üretim miktarı incelendiğinde; 2011 yılında enginar üretiminin %32,09’u İzmir, %23,19’u Bursa, %14,04’u Aydın, %5,88’i Antalya ve %5,25’i Adana illerinde gerçekleştiği görülmüştür [14]. Türkiye’de enginar vegetatif yöntem ile çoğaltılmaktadır. Tohumla çoğaltılan çeşitlerde tabla sayısı ve özelliklerinde istenilen düzeye ulaşamadığı bildirilmiştir. Vegetatif yöntem ile çoğaltılarak kurulmuş çok yıllık plantasyonlarda varyasyonlar olduğu ve bu tür varyasyonların tarla şartlarının yanı sıra *in vitro* şartlarda da görülebildiği belirtilmiştir [2].

1.1.3 Enginar Bitkisinin Etken Madde İçeriği

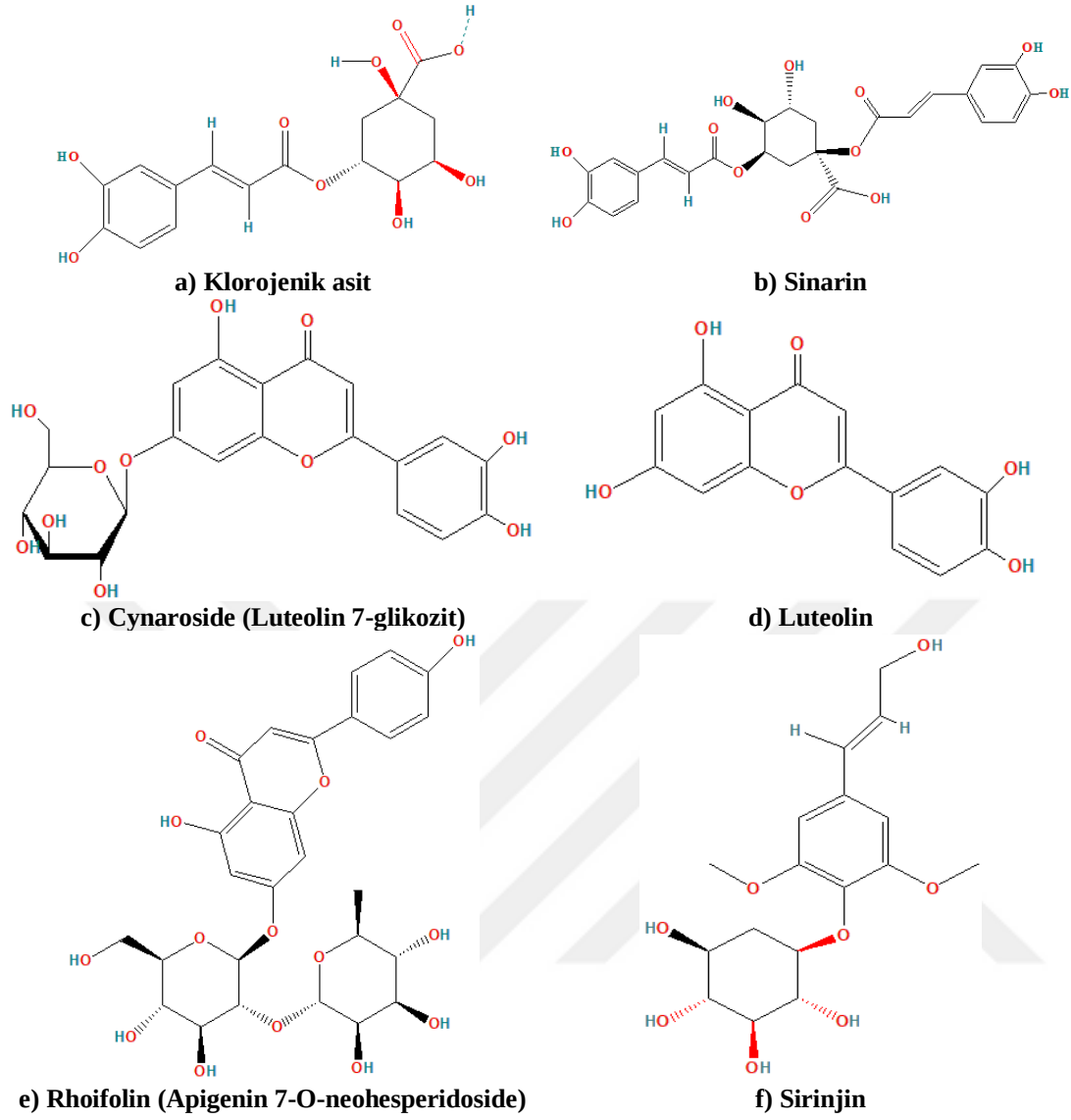
Globe enginarının besin içeriği incelendiğinde yaklaşık olarak %7 karbonhidrat, %3 protein ve %0,3’den daha az lipid içeriğine sahip olduğu görülmektedir. Enginar, yapısındaki polifenolik bileşikler ve lif (%5,5) içeriğinin yüksek olması nedeniyle, halk arasında önemli bir besin ve fonksiyonel bir gıda olarak kullanılmaktadır [6]. Enginarın yenilebilir kısmındaki toplam şeker içeriğinin %75’ini suda çözülür polisakkarit olan inülin oluşturmaktadır. Pazarlanabilir kalitede enginar başlarında, bitki gelişimine bağlı olmakla birlikte, yenilebilir kısmın %30’u inülin içeriğine

sahiptir [3]. İnülin, insan vücudunda, kolona parçalanmadan ulaşarak bifidobakterilerin büyümesi için substrat görevi gördüğünden, diyet lifi olarak kabul edilmektedir [15]. Enginar, inülin, kafeoilkinik asitler, flavonoidler, yağ asitleri, triterpenler ve seskiterpenlerden oluşan zengin bir polifenolik bileşik kaynağıdır. Bitkinin içeriğindeki bileşenlerin miktarı son derece değişkendir. Bitkinin genetik faktörleri, çevre, stres, hasat zamanı, tarımsal üretim gibi çeşitli değişkenlere bağlıdır [6, 16, 17].

Enginarın toplam fenolik içeriği, diğer sebzelere göre çok daha yüksektir [3]. Beslenme açısından bakıldığında, iç brakte, yaprak ve kalp kısımlarında yüksek seviyelerde biyoaktif polifenoller (kafeoilkinik asitler ve flavonoidler) bulunmaktadır [3, 12]. Enginarın içeriğinde yüksek miktarda bulunan fenolik asitler, 5-O-kafeoilkinik asit (klorojenik asit), 1,5-di-O-kafeoilkinik asit, 3,5-di-O-kafeoilkinik ile kafeoilkinik asit ve türevleridir [18] (Şekil 1.4). Yüksek miktarda bulunan flavonoidler ise ; apigenin ve luteolin (glikozit, rutinozit) bileşikleridir [3]. Enginarında bulunan antioksidan nitelikli bileşenlerin molekül yapıları Şekil 1.5’de verilmiştir.



Şekil 1.4 Kafeoilkinik asitin kimyasal yapıları [3].

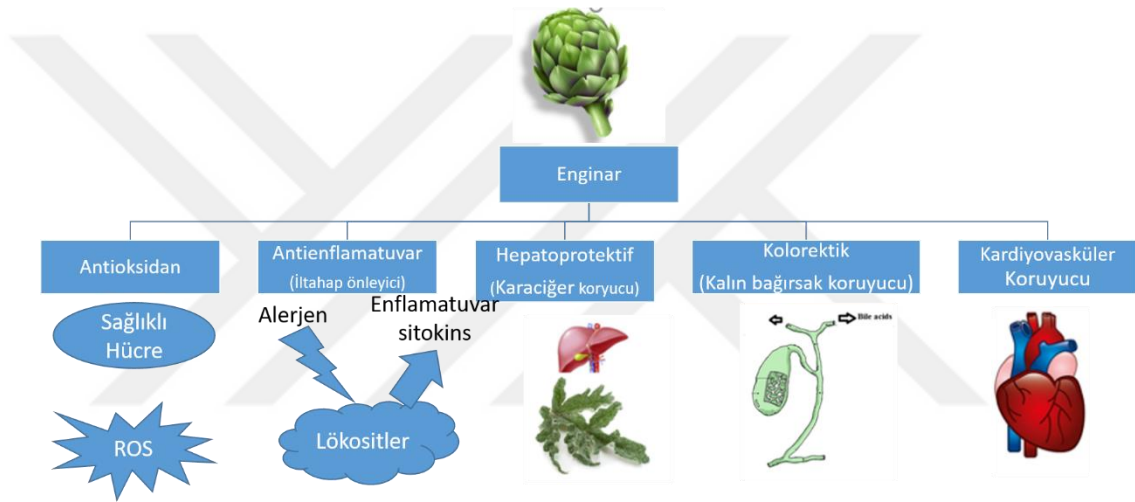


Şekil 1.5 Enginarın içeriğindeki önemli fenolik bileşikler.

Enginarın yapraklarının ticaretinde, kalite kontrolü için fenolik asitlerden klorojenik asit miktarı incelenmektedir. Avrupa Farmakopesi'ne göre, bitkisel ilaç olarak kullanılacak enginar yapraklarında en az %0,7 klorojenik asit bulunması gerekmektedir [18]. Enginar bitkisinin diğer kısımlarındaki klorojenik asit miktarı daha düşüktür. Enginar kalbindeki klorojenik asit konsantrasyonu yaklaşık olarak %0,46 seviyesindedir. Bu nedenle ilaç endüstrisinde kullanılması mümkün değildir [18].

Yapılan pek çok araştırmada, enginarın kolesterol düşürücü, LDL oksidasyonunu önleyici, anti-HIV, safra taşı önleyici, antioksidan, antikanser, diüretik, anti-inflammatory, antifungal ve antibakterial özellikleri olduğu bildirilmiştir [3]. İçeriğindeki önemli polifenolik bileşikler, diyet lifleri ve inülin sayesinde, bağırsak

enfeksiyonları, kabızlık, obezite, kolorektal kanser ve karaciğer hastalıklarında fonksiyonel gıda olarak kullanılmaktadır [19]. Hayvanların üzerinde yapılan *in vivo* çalışmalarda, enginar artıklarından ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin, oksidatif strese neden olan hidroperoksit oluşumuna karşı etkisi bulunmuştur. Enginar ekstraktı özellikle, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemede, lipoprotein oksidasyonunu önlemede etkilidir [20]. Enginar, içeriğindeki fenolik bileşenler sayesinde terapötik özellikler göstermektedir. Bu fenolik bileşikler farklı biyolojik aktivitelere sahiptir. Ayrıca bu fenolik bileşenlerin bir arada olmalarının sinerjik etkiler gösterdiği bildirilmiştir [3]. Enginar bitkisinin potansiyel farmakolojik etkileri Şekil 1.6’da verilmiştir [21].



Şekil 1.6 Enginar özütünün potansiyel biyoaktiviteleri [21].

Enginar dış brakteleri ve yapraklarının ham madde olarak kullanılması ile elde edilen sinarin tabletleri, karaciğer hastalıklarının tedavisinde kullanılmak üzere ticari olarak piyasada bulunmaktadır. Ayrıca, günümüzde enginarın yaprak, kök ve çiçek kısımları ilaç sanayisinde kullanıldığı gibi, bu kısımların yüksek inülin içeriğinin sağladığı prebiyotik özellik sayesinde, fonksiyonel gıda elde edilmesinde kullanılmaktadır [22].

Genetik ve çevresel faktörlere bağlı olmakla birlikte enginarın polifenolik içeriğinin literatürde belirtilen diğer birçok bitki türünden daha yüksek olduğu belirtilmiştir [23]. Enginardaki polifenollerin yüksek olmasının, *Asteraceae* familyasının karakteristik bir özelliği olduğu bildirmiştir [24]. Bu durumun, sekonder metabolitlerin biyosentezini uyaran *Asteraceae* üyelerinin olağan habitatında maruz kaldıkları zorlu iklim koşulları ile ilgili olabileceği belirtilmiştir [25].

Tunus'ta yapılan bir çalışmada yaprak, çiçek ve tohum kısımlarındaki flavonoid içeriklerinin farklılıkları ortaya konulmuştur. En yüksek flavonoid içeriğinin yapraklarda bulunduğu ve bu içeriğin tohumlara oranla istatistiksel olarak daha yüksek olduğu bildirilmiştir [25]. Flavonoidler, çiçeklerde toplam polifenol içeriğinin yaklaşık %80'ini oluştururken, tohum ve yapraklarda daha düşük oranlarda, sırasıyla %68 ve %61 oranında tespit edilmiştir. Yapraklarda en yüksek verimin yaklaşık %35 olduğu, tohum ve çiçeklerde ise yapraklardan sırasıyla 3,5 ve 4,6 kat daha düşük olduğu kaydedilmiştir. Yabani enginarın kültüre alınanlarından beş farklı çeşidin yaprak ve brakte kısımlarının fenolik içeriğini incelenmiştir. Bu çalışmada, braktelerin yapraklardan daha yüksek oranda fenol içerdiğine sahip olduğu bildirilmiştir [23]. Bu sonuçlar, farmakolojik amaçla kullanımda yaprakların yanı sıra enginar başlarının da önemli bir polifenol kaynağı olabileceğini göstermiştir [25, 26].

Yetiştirme şartları ve hasat sonrası işlemlerin enginardaki polifenolik kompozisyona etkisi belirlenmiştir. Hava sıcaklığı ve gün ışığının etkisini incelemek amacıyla Kasım ayından Nisan ayına kadar her ay hasat yapılmış, bir çok bölümünün polifenolik içerikler araştırılmıştır. Şubat ayında gün ışığının ve düşük sıcaklığın etkisi ile taç yapraklarda, çiçek sapında ve yapraklarda TFM içeriğinde artış meydana gelmiştir. Enginar kalp kısmının gün ışığından büyük oranda etkilendiği ve bu kısımdaki TFM değerinin özellikle Nisan ayında hasat edilen enginarlarda yüksek çıktığı bildirilmiştir [27].

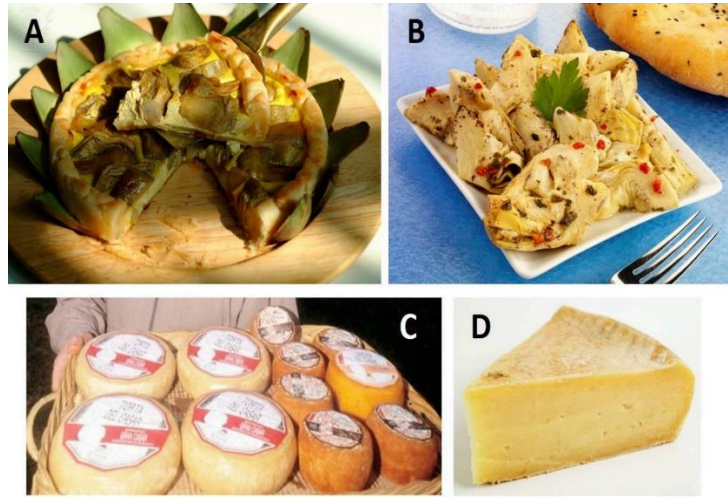
Enginar ekim zamanının polifenol ve mineral içeriğine etkisinin incelendiği çalışmada, Ekim ayında ekilen enginarların içeriğinde mineral kompozisyon daha yüksek bulunurken, Eylül ayında ekimi yapılan enginar genotiplerinde TFM ve antioksidan aktivitenin yüksek olduğu tespit edilmiştir [28].

Yunanistan'da yetiştirilen çeşitli enginar genotiplerinin besin değeri ve kimyasal bileşimlerinin değerlendirildiği çalışmada, genotiplerin nem, yağ, kül, protein ve karbonhidrat içeriğinde önemli farklılıklar olduğu görülmüştür. Tüm genotiplerde proteinler ve karbonhidratlar yüksek miktarlarda tespit edilirken, antioksidan aktivitesi genotipler arasında değişiklik göstermiştir. Enginar başlarında yağ asidi palmitik ve linoleik asitler yüksek miktarlarda bulunurken, stearik, oleik, alfa-linolenik, araşidik, behenik ve lignoserik asitler daha az miktarda bulunmaktadır. Ana fenolik bileşiklerin 3,5-O-kafeoilkinik asit ve 5-O-kafeoilkinik asit olduğu bildirilmiştir [29].

Kış ve ilkbahar döneminde hasat edilen 17 enginar çeşidinin farklı bitki kısımlarındaki (çiçek sapı, tabla, iç ve dış brakte yaprak) TFM içerikleri ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir [11]. TFM içeriği açısından çeşitler ve bitkinin parçaları arasında önemli ölçüde farklılık olduğu bildirilmiştir. TFM içeriğinin çiçek sapı ve tablada daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, bulgular, hasat zamanının polifenol içeriği üzerinde etkisinin olduğunu göstermektedir. Enginar bitkisinin yetiştirilmesi sırasında sıcaklık ve fotoperiyod gibi polifenol sentezini ve birikimini etkileyebilecek faktörlere özel bir önem verilmesi gerektiği vurgulanmıştır [12].

1.1.4 Enginarın Kullanım Şekilleri

Enginar Akdeniz diyetinde önemli bir yere sahip olup; salata, çorba ve yemeklerde kullanılan, çok amaçlı önemli bir gıdadır. Taze, konserve veya dondurulmuş olarak satışa sunulmaktadır [3, 30]. Ayrıca, içki, boya, eczacılık, hayvan yemi gibi sanayi kollarında önemli bir hammadde kaynağıdır [31]. Enginar çiçeklerinden yapılan binden fazla kullanım tarifi vardır. Enginardan yapılan bazı yemek ve ürünler Şekil 1.7’de gösterilmektedir. Enginarın kurutulmuş çiçeklerinin süt ürünlerinde sebze mayası olarak kullanılması, vejeteryanlar ve bazı dini gruplar (örneğin Yahudiler ve Müslümanlar) tarafından değerli bir ürün olarak kabul edilmiştir [10].



Şekil 1.7 Enginar çiçeğinden yapılan gıda ürünleri: (A) Enginarlı kiş, (B) Marine edilmiş enginar, (C) Extremadura, İspanya’daki Torta del Casar peyniri, (D) İspanyol Flor de Guia koyunu ve inek sütü peyniri dilimi [10].

Enginarın, insan vücudunda oluşan toksik maddelerin nötrleştirilmesine, kalp faaliyetlerinin düzenlenmesine, kan dolaşımına ve kılcal damar direncine pozitif yönde etkisi bulunmaktadır [32]. İçeriğinde bulunan sinarin, karaciğer, safra kesesi ve

bağırsakların çalışmasını düzenlemektedir. Bazı yörelerde yaprakları ve braktelerinin kaynatılarak, sularının içilmesinin böbrek taşlarının düşürülmesinde yardımcı olduğu belirtilmektedir. Ayrıca, vücuttaki ödemin giderilmesinde ve sarılık tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir [33, 34]. Bununla birlikte, potansiyel antioksidan etkisinin yanı sıra, sabit yağların otoksidasyonunu ve acılaşmasını önlemek için de gıda endüstrisinde bir katkı maddesi olarak enginar çiçeği ekstraktı kullanılmaktadır [21]. Enginar, fermantasyon yöntemiyle katı biyoyakıt, biyoetanol ve biyometan üretiminde de kullanılmakta, bu sayede sera gazı emisyonunun azaltılmasına katkı sağlamaktadır [21].

Enginar yan ürünleri olan yenemeyen yapraklar ve çiçek sapları çok önemli antioksidan kaynağıdır. Bu atık kısımlarından değerli biyoaktif bileşenlerin geri kazanılmasıyla gıda katkı maddeleri elde edilmektedir. Enginar artıklarının kullanılması tarımsal gıda endüstrisi sorunlarını çözmede potansiyel olarak görülmektedir [35]. Ayrıca, Akdeniz Havzasında yaygın olarak bulunan yabancı otların mücadelesinde biyoherbisit olarak enginar yaprak ekstraktı kullanılmaktadır [21].

1.2 Enginar Ekstraktı Üretimi

Biyoaktif bileşiklerin, bitkisel materyallerden çözücü ekstraksiyon ile elde edilmesi endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır. Yüksek ekstraksiyon verimi elde etmek amacıyla genellikle büyük miktarlarda solvent ve uzun temas süresi uygulanmaktadır. Ancak bu tür uygulamalar, daha fazla çözücü, enerji ve işlem süresi gerektirmektedir [19]. Enginar yaprağı ekstraktları, tek başına veya diğer bitkilerle birlikte alkollü ve alkolsüz içecekler, bitkisel çaylar ve bitkisel tıbbi ürünler hazırlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu geniş uygulamalara rağmen, Avrupa Farmakopesi, enginar yaprağı ekstraktlarının aktif bileşenlerinin belirlenmesi için resmi bir yöntem bildirmemektedir. Yapılan bir çalışmada iki farklı laboratuvar ekstresi ile bazı enginar yaprağı ticari ekstraktlarının içeriği karşılaştırılmıştır. Enginar ekstraktlarında bulunan sinnamik asitleri ve flavonoidlerin, HPLC/DAD ve HPLC/MS teknikleriyle kantitatif tayini gerçekleştirilmiştir. Ticari ekstratların çoğu, 5-6 kat daha yüksek değere sahip benzer niceliksel bir model göstermiştir [36].

Enginarın (*Cynara scolymus* L.) dış yapraklarında bulunan inulinin etkili bir şekilde ekstraksiyonu için, mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) ve basınçlı sıvı ekstraksiyon metotları incelenmiştir. İki ekstraksiyon yöntemi karşılaştırıldığında

MDE metodu kullanılarak daha yüksek konsantrasyonlarda inülin ekstrakte edildiği tespit edilmiştir. Öte yandan endüstriyel yan ürünlerin ekstraksiyonu için her iki metodolojinin de uygun olduğu belirtilmiştir [37].

Enginar endüstrisi atıklarından prebiyotik şeker (inulin) ekstraktesinin verimini arttırmaya yönelik, doğrudan ve dolaylı olacak şekilde iki farklı ultrases (sonikasyon) uygulamasının etkisi incelenmiştir. Direkt sonikasyonlu ultrasonun, geleneksel ve indirekt sonikasyon işlemlerine göre zengin prebiyotik şeker ekstraktlerinin üretilmesinde daha etkili olduğu görülmüştür. Elde edilen inülini tanımlamak ve ölçmek için ultra performanslı sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (UPLC-MS) yöntemi kullanılmıştır [38].

Enginar bitkisinin dış yapraklar ve saplarda, fenolik bileşiklerin geri kazanımı incelenmiştir [17]. Aseton, etanol, heksan, etil laktat, su ve 50:50 etanol-su karışımı dâhil olmak üzere farklı çözücüler, ekstraksiyon verimleri için denenmiş ve sulu etanolün en etkili çözücü olduğu saptanmıştır. Enginar atıklarının bir fenolik antioksidan kaynağı olarak kullanılabilmesi için ekstraksiyon veriminin iyileştirilmesi gerektiği bildirilmiştir [17].

Cynara cardunculus L. ve *Cynara scolymus* L.'nin farklı parçalarının (baş, brakte ve sap) ultrason destekli ekstraksiyon ve klasik ekstraksiyon tekniği kullanılarak elde edilen ekstraktlarının TFM ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Ayrıca, bitki kısımlarının infüzyonları da analiz edilmiş ve daha önce belirtilen örneklerle karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, baş kısmı ekstraktlarının incelenen infüzyonlar ve diğer ekstraktlara kıyasla en yüksek TFM değerlerini gösterdiğini, en yüksek DPPH aktivitesini ve en yüksek ABTS radikal temizleme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Ayrıca, ultrason destekli ekstraksiyon tekniğinin, antiradikal ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için daha uygun ve etkili bir teknik olduğu bildirilmiştir [39].

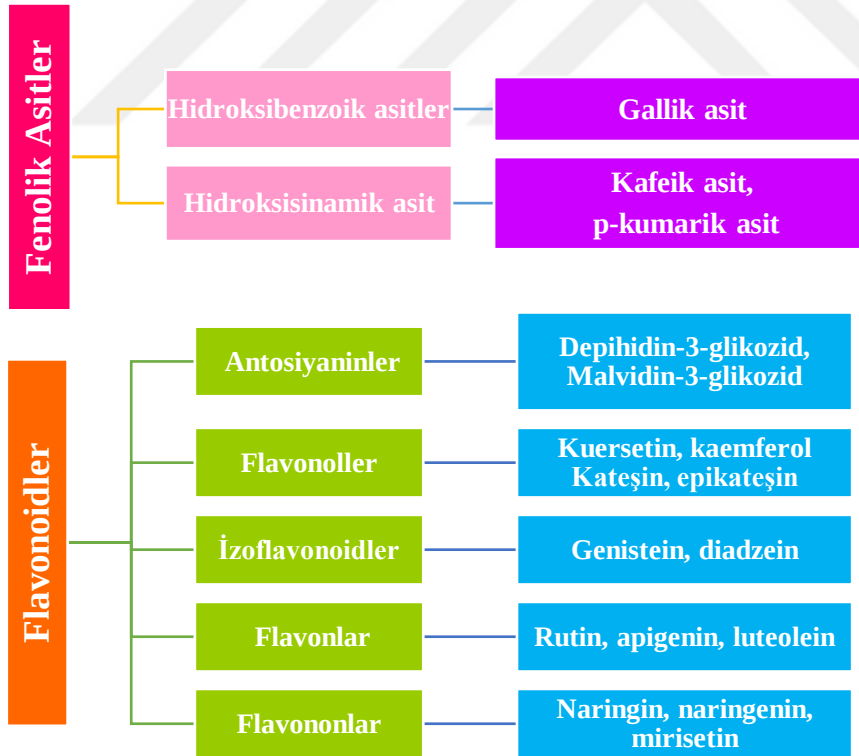
1.3 Fenolik Bileşikler

Bitkiler tarafından üretilen primer ve sekonder maddeler, insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Bitkilerin canlılıklarını sürdürmesi ve büyüyebilmesi için; proteinler, karbonhidratlar ve yağlar gibi primer metabolitler üretilmektedir. Bunun yanında saponinler, glikozitler ve terpenler gibi sekonder metabolitlerin çoğu polifenolik bileşiklerden oluşmaktadır [40]. Fenolik bileşikler sebze, meyve ve farklı bitkisel

ürünlerin içerisinde doğal olarak bulunan aroma, renk, tat, koku gibi karakteristik özelliklere sebep olan önemli bileşenlerdir. Genelde “fenolik” veya “polifenolik” terimleriyle tanımlanmaktadır. Bitkinin büyüme ve gelişme aşamasında, çeşitli dış faktörlere; ultraviyole (UV) ışınları, yaralanma ve bitkiyi reaktif oksijen bileşikler gibi ekolojik ve fizyolojik baskılara karşı sentezlenmektedir. Ayrıca, bitkilerin patojen, virüs, parazit, bakteri, böcek saldırısı gibi çeşitli zararlılara karşı savunma mekanizmasında önemli rol almaktadır [41].

1.3.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

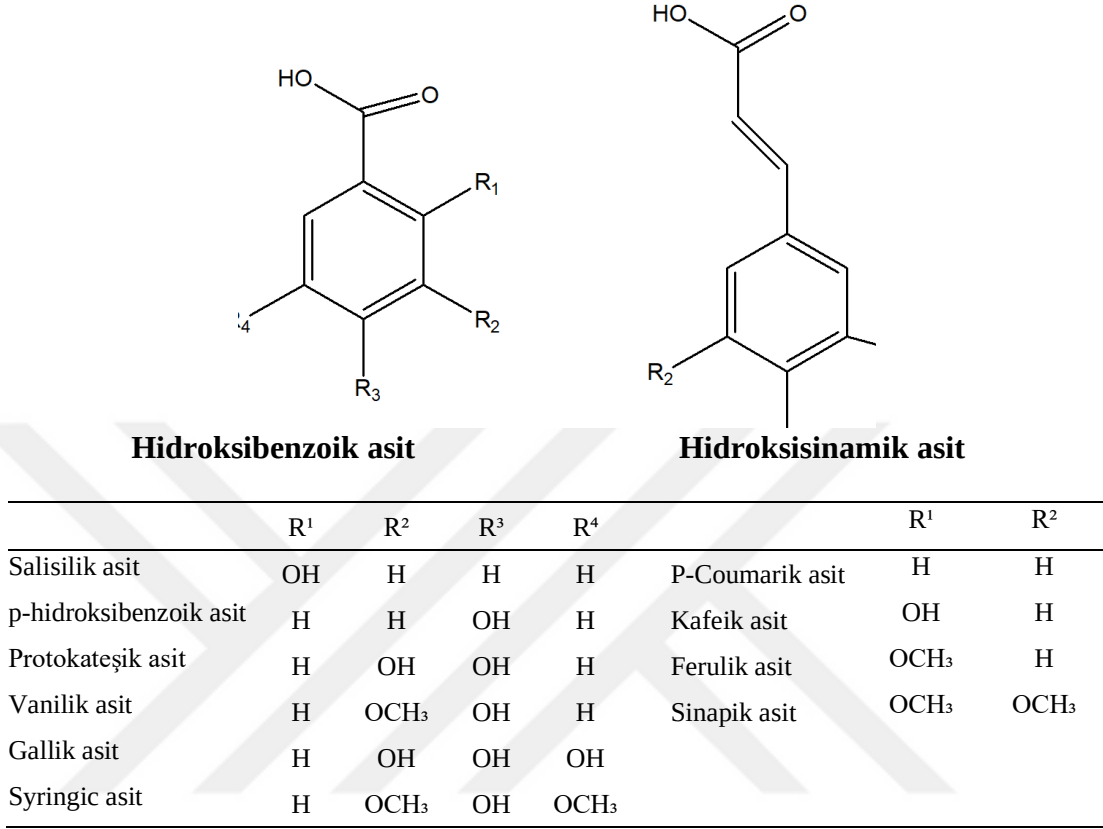
Günümüze kadar tanımlanmış olan 8.000’den fazla polifenolik bileşik, fonksiyonları ve kimyasal yapılarına göre farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Fenolik bileşikler, fenolik asit ve flavonoidler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Fenolik asitler; hidroksibenzoik asit, hidroksisinamik asit olmak üzere iki alt gruba; flavonoidler ise; antosiyaninler, flavonoller, izoflavonoidler, flavonlar ve flavononlar olmak üzere alt sınıflara ayrılmaktadır (Şekil 1.8).



Şekil 1.8 Fenolik bileşiklerin sınıflandırması [42].

Hidroksi benzoik asitler C6-C1 kimyasal yapısına sahiptirler. Gallik asit, vanilik asit, p-hidroksi benzoik asit, salsilik asit bazı hidroksi benzoik asit türevleridir.

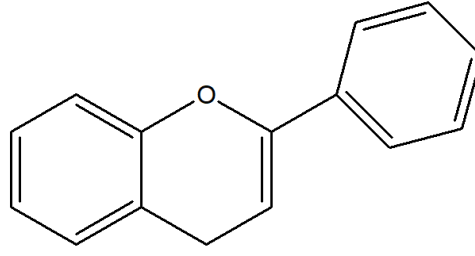
Hidroksisinamik asit ise C6-C3 yapısına sahip bileşikler oluşturur. Sinamik asit, ferulik asit, kafeik asit bazı hidroksisinamik asit türevlerini oluşturmaktadır. Fenolik bileşiklerin yapısında mutlaka -OH grubu bulunmaktadır [43] (Şekil 1.9).



Şekil 1.9 Bazı fenolik asitlerin kimyasal formülleri [44].

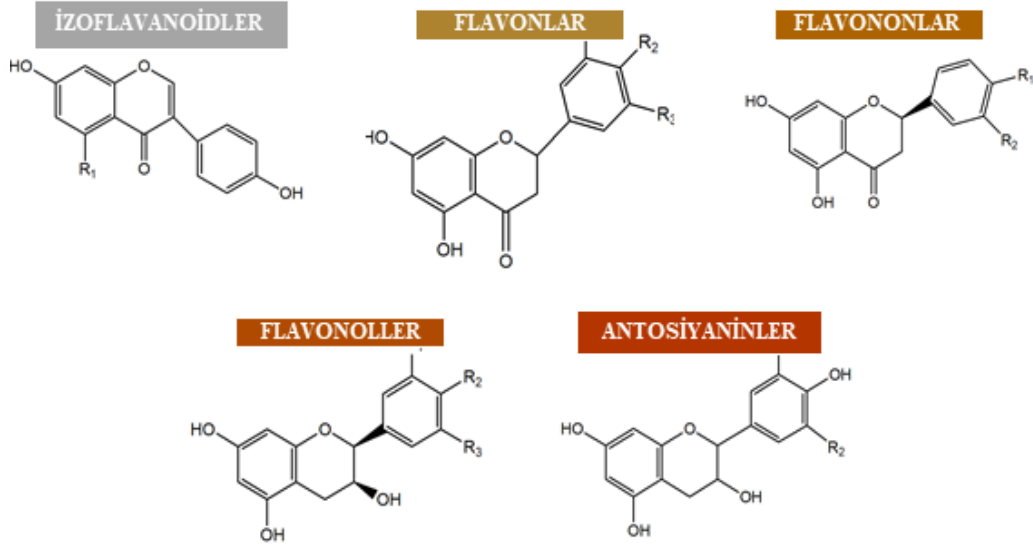
Meyve ve sebzelerde genelde hidroksisinamik asitler ve hidroksibenzoik asitler bulunmaktadır. Benzen halkasına bağlı olan hidroksil, metoksi ve hidrojen gruplarının konumu ve sayısına bağlı olarak özellikler değişmektedir. Fenolik asitler, alkoller ile reaksiyona girdiklerinde fenol esterlerini, amidler ile reaksiyona girdiklerinde amino bileşiklerini, glikozitlerle reaksiyona girdiklerinde ise glikozit yapılarını oluşturmaktadır. Glikozit reaksiyonun sebebi fenol halkasında bulunan hidroksil gruplarının çok aktif olmasıdır [45]. Genellikle sebze ve meyvelerdeki fenolik asitlerin ekstraksiyonu için etanol, metanol ve aseton gibi çözümler kullanılmaktadır [46].

Bitkilerin içerisindeki en önemli ve büyük fenolik bileşikler flavonoidlerdir. Temel yapısında iki aromatik halkanın üç karbonlu köprüyle bağlanmasıyla düzenlenmiş 15 C iskelet yapıdan oluşmaktadır. Bu karbon yapısı C6-C3-C6 olarak kısıtlanabilir ve yapıda birden fazla hidroksi grubu bulunmaktadır (Şekil 1.10) [43].



Şekil 1.10 Flavonoidlerin temel yapısı.

Flavonoidlar bitkilere renk veren maddelerdir bu yüzden bitkisel pigmentler olarak isimlendirilmektedir. Antosiyaninler bitkilerin meyveleri, yaprakları ve çiçeklerine kırmızı, mavi, mor ve menekşe rengini veren renk maddeleridir. Ayrıca renksiz özellikte olan flavonoidler de bulunmaktadır [47]. Flavonoidler, bitkileri mikroorganizmalara ve UV ışınlarına karşı korumaktadır. Bitkilerin kısa dalga boylu güneş ışıklarının etkisine rağmen gelişmesi flavonoidlerin çok miktarda sentezlenmesinden kaynaklanmaktadır. Bitkilerin dokularında polifenolik maddelerin sentezlenmesini, fotomorfogenez reaksiyonları ile güneş ışığının etkisi başlatmaktadır [48]. Flavonoidler; flavonlar, antosiyaninler, flavononlar, izoflavonoidler, flavonoller olmak üzere halka yapılarına göre 5 alt gruba ayrılmaktadır [49].

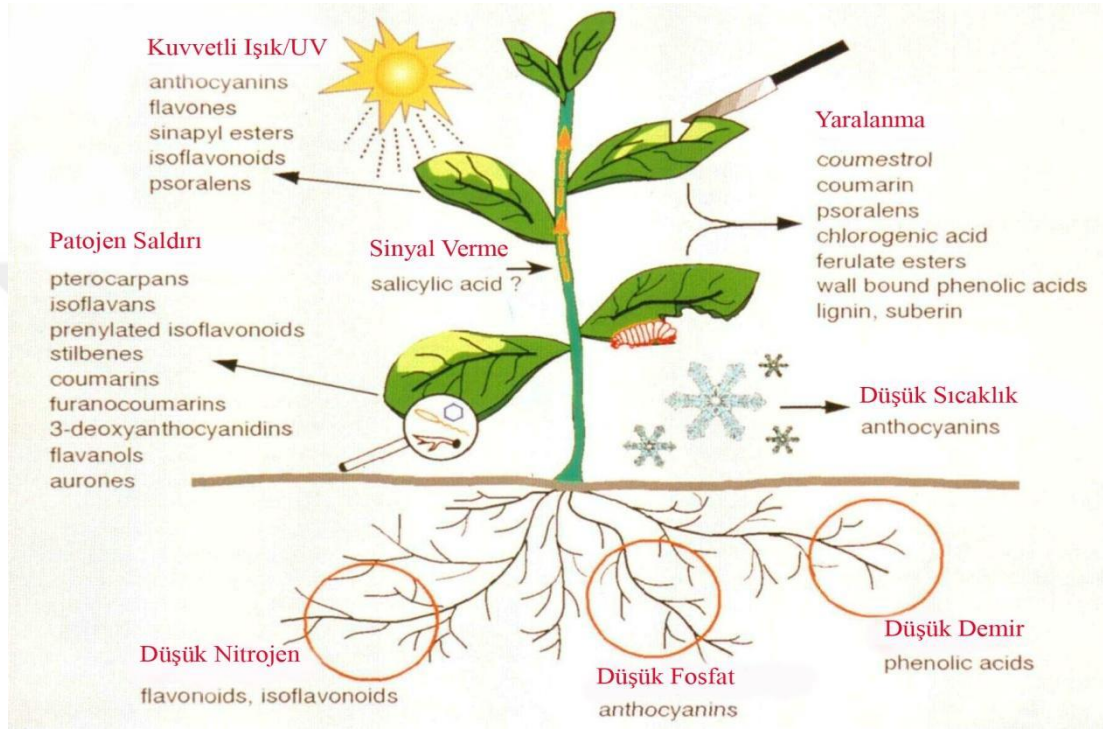


Şekil 1.11 Gıdalarda bulunan bazı flavonoidler ve kimyasal yapıları [49].

1.3.2 Fenolik Bileşiklerin Metabolizması

Bitkilerde biyotik ve abiyotik stres durumlarında indüklenen fenolik bileşikler Şekil 1.12’de gösterilmiştir. Fenolik bileşiklerin bitkiler tarafından antimikrobiyel

özellikleri nedeniyle patojen saldırılarından korunmak için sentezlendiği bildirilmektedir. Örneğin, tütün ve salatalık bitkilerinde enfeksiyona ve UV ışınına maruz kalınması sonrası, yanıt olarak salisilik asit seviyesinde artış olduğu görülmüştür [50]. Ancak patojene karşı olan direnç, tek başına antimikrobiyel aktiviteye sahip salisilik asitten çok, sistemik kazanılmış direnç ile sonuçlanan bir dizi fenolik bileşenin üretilmesi ile ilişkilendirilmektedir [50].

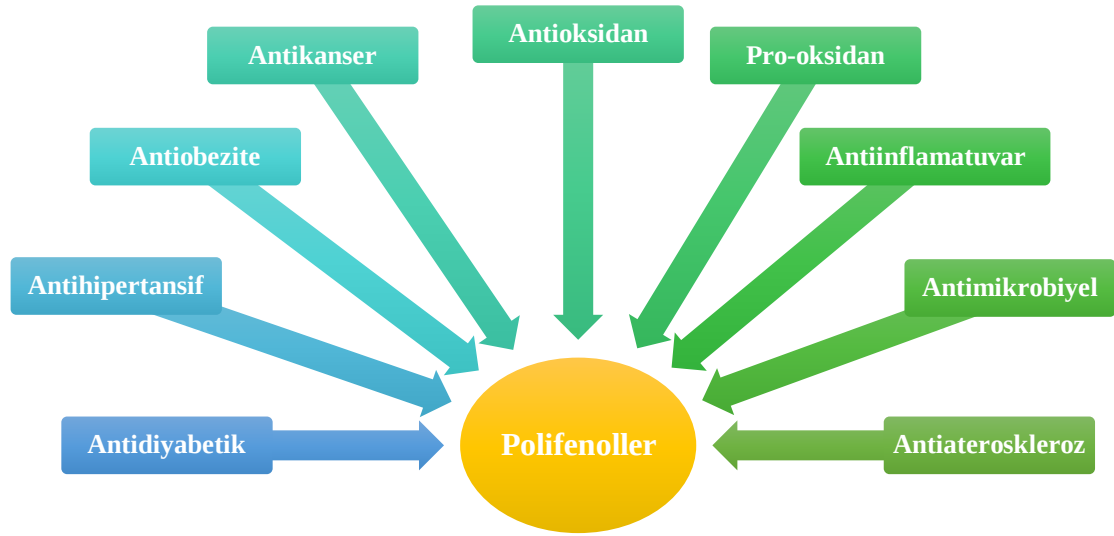


Şekil 1.12 Stres durumlarında fenolik bileşiklerin bitkilerde sentezlenmesi [50].

Bir çok polifenolik bileşik yaralanmaya veya otçullar tarafından beslenmeye yanıt olarak sentezlenir. Kumestrol ve kumarin toksik özellikte olup, östrojenik ve antikoagülan etkilere neden olmaktadır [51]. Bitkilerde yara kaynaklı sorunlarda, klorojenik asit, alkil ferulat esterleri ve hücre duvarına bağlı fenolik esterler doğrudan savunma bileşikleri olarak görev yapar. Flavonoidler, bulunduğu ortamdaki mikrobiyel enfeksiyonu önlemek için görev alırlar [50].

1.3.3 Fenolik Bileşiklerin Farmakolojik Etkisi

Fenolik bileşenler bir çok biyolojik aktiviteye sahiptirler. En önemli özellikleri antioksidan aktivite göstermeleridir [40]. Şekil 1.13’de polifenollerin başlıca biyolojik aktiviteleri gösterilmiştir. Polifenoller kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi kronik hastalıkların tedavisinde veya önlenmesinde son derece önemli bir yere sahiptir [52].



Şekil 1.13 Polifenollerin biyolojik aktiviteleri.

Antioksidan aktiviteye sahip polifenoller, hücre ve dokuları oksidatif hasara karşı korumaktadırlar. Polifenoller DNA'yı oksidatif hasara, LDL'yi peroksidasyona karşı korumakta ve radikalleri temizlemektedir [40]. *Lamiaceae* familyasındaki bitkilerin içeriğinde bulunan karvakrol gibi fenolik terpenlerin, oksidatif stresin neden olduğu kanser gibi hastalıkların önlenmesinde çok etkili olduğu belirtilmiştir [40, 52]. Polifenoller bazı kanser türlerine karşı koruyucu, kanserin büyümesini inhibe edici ve tümörlerin sayısını azaltıcı etki göstermektedir. Polifenolik bileşiklerin bu etkilerinin sitotoksit ve pro-oksidan aktiviteleri ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Antioksidan aktivitenin, fenolik bileşiğin dozu, ortamın oksidatif durumu, molekül yapısı, bakır ve serbest demir varlığı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [40]. Polifenoller, farklı mekanizmalarla (HDL'yi artırıcı, LDL'nin oksidasyonunu engelleyici, LDL ve trigliseritleri azaltıcı) kardiyovasküler hastalıklar üzerine koruyucu özellik taşımaktadır [53].

1.4 Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyon Yöntemleri

Bitki materyallerinin içeriğindeki fenolik bileşenlerin elde edilmesinde klasik ekstraksiyona alternatif yeni teknolojiler çalışmaya başlanmıştır. Bu teknolojiler konvansiyonel yöntemlere göre üstün özelliklere sahiptir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon gibi enerji tasarrufu sağlayan, çevre dostu ve yüksek kalitede ürün elde etmede etkili olan yenilikçi bir tekniktir [54]. Ekstraksiyon yöntemleri Şekil 1.14'de verilmiştir.

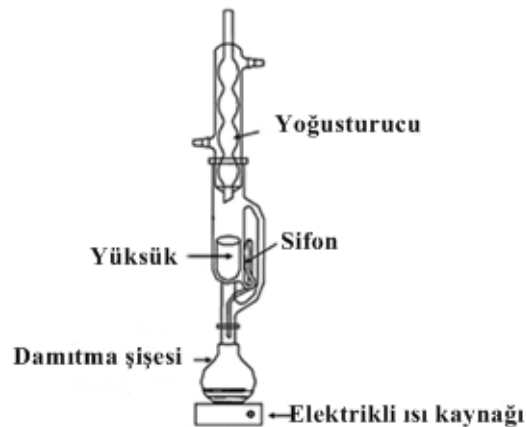


Şekil 1.14 Ekstraksiyon yöntemleri [55].

1.4.1 Soxhlet Ekstraksiyonu

Soxhlet ekstraksiyonu ilk olarak Alman kimyager Franz Ritter Von Soxholet (1879) tarafından önerilmiştir. Esas olarak lipid ekstraksiyonu için tasarlanmış, ancak çeşitli doğal kaynaklardan değerli biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için de yaygın olarak kullanılmıştır [56].

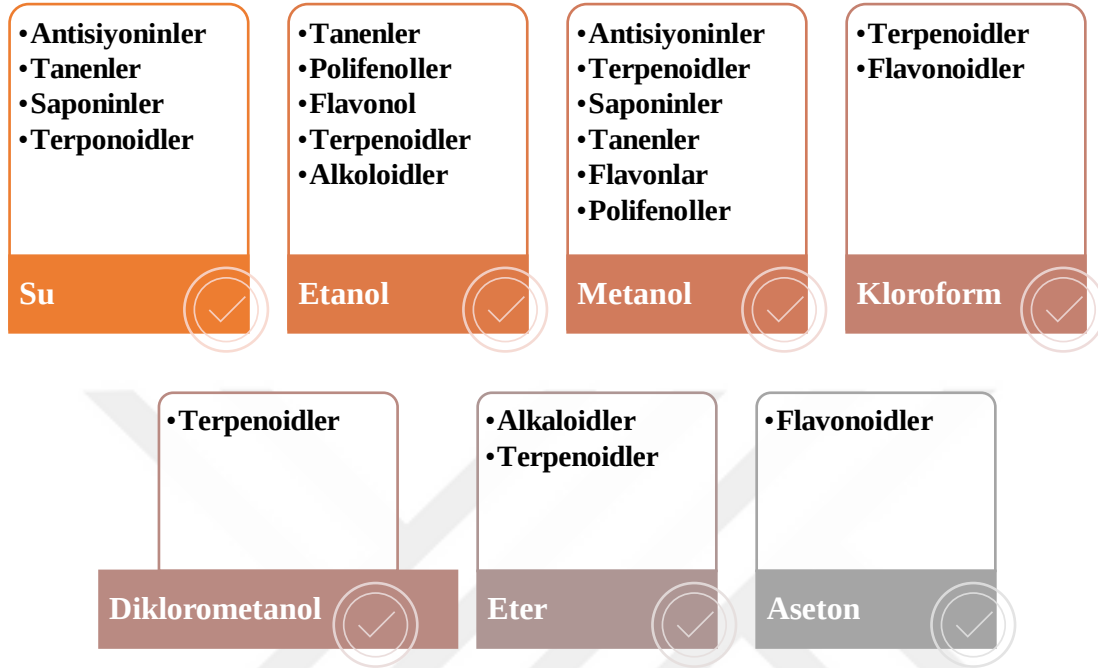
Soxhlet ekstraksiyonunda, ekstrete edilecek numune Şekil 1.15’de gösterildiği gibi, bir hazne içine yerleştirilir ve sürekli yoğusturucudan inen taze çözücü ile temas eder. Çözücü sistem taşma seviyesine ulaştığında, bir sifon onu hazneden aspire eder ve tekrar damıtma şişesine boşaltır, böylece ekstrete edilen analitleri yığın sıvıya taşır [57].



Şekil 1.15 Soxhlet ekstraksiyon [57].

Ekstraksiyon verimini etkileyen en önemli faktörler; hedeflenen bileşiğin polaritesi ve solvent seçimidir. Biyoaktif bileşik ekstraksiyonu için çözücü seçiminde, çözücü ve

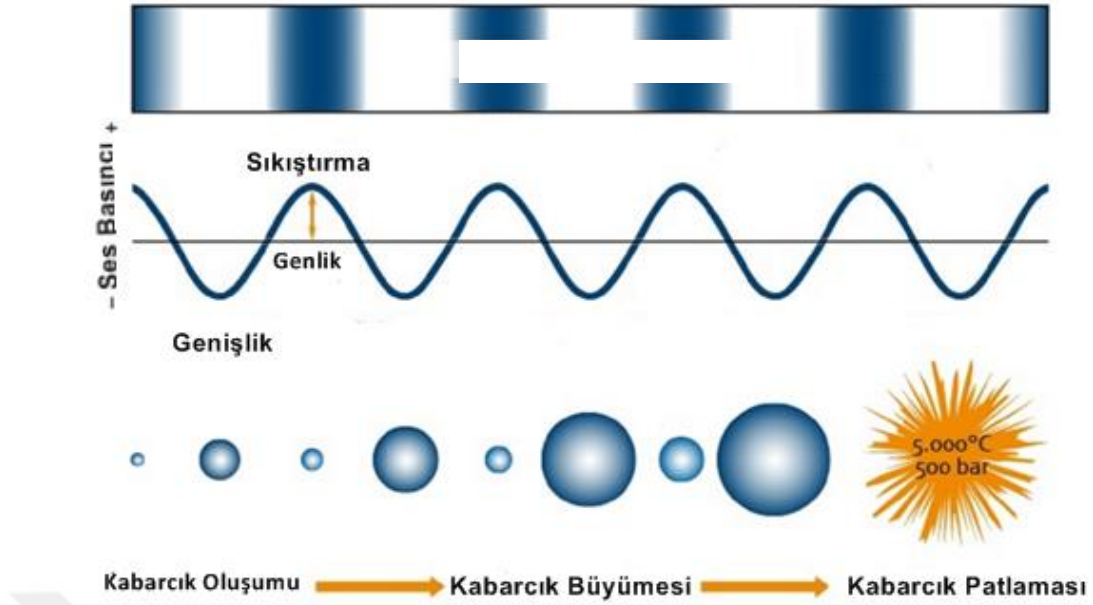
çözünen arasındaki moleküler afinite, kütle transferi, yardımcı çözücü kullanımı, çevre güvenliği, insan toksisitesi ve finansal fizibilite dikkate alınmalıdır. Farklı çözücüler kullanılarak ekstrakte edilen bileşikler Şekil 1.16’da verilmiştir [56].



Şekil 1.16 Farklı çözücüler ile bazı ekstrakte edilmiş biyoaktif bileşikler.

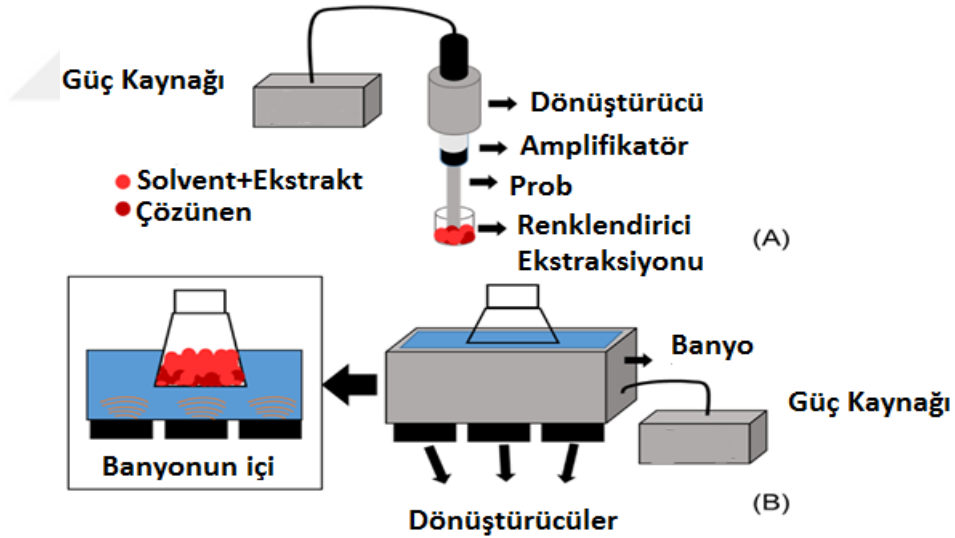
1.4.2 Ultrases Destekli Ekstraksiyon

Ultrases 20 kHz’den daha yüksek frekanslara sahip olan ses dalgalarıdır. Ultrases destekli ekstraksiyon, ultrasonik dalga enerjisinin ekstraksiyon uygulamalarında kullanılmasıdır [46]. Elektromanyetik dalgalardan farklı olarak ultrases; katı, sıvı ve gaz fazlarının içinde hareket edebilmektedir [54]. Ses dalgaları maddenin içerisinden geçerken kavitasyon (boşluk oluşumu) meydana gelir (Şekil 1.17). Ultrasesden kaynaklı akustik kavitasyonun mekanik etkisi, çözücü ve numune arasındaki yüzey temasıyla hücre duvarının geçirgenliğini artırır. Ultrasese maruz kalan malzemelerin fiziksel özellikleri değişir, bitki hücre duvarı bozulur [58]. Bu sayede katı ve çözücü sistemin teması artar [54], çözücü maddenin çözünmesi, difüzyonu ve ısı transferi hızlanır, bu sayede ekstraksiyon verimliliği artar [59].



Şekil 1.17 Ultrases kavitasyon gösterimi [60].

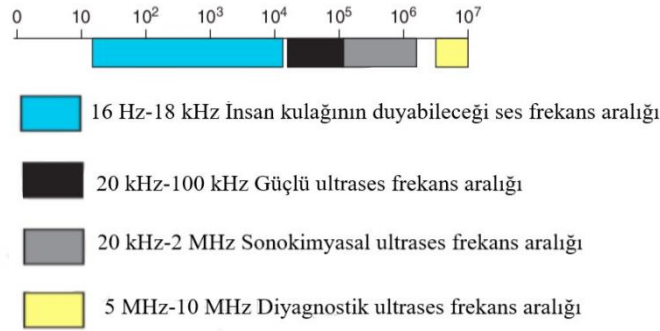
Ultrases destekli ekstraksiyon probu Şekil 1.18-A'da, su banyosu Şekil 1.18-B'de gösterilmiştir [61].



Şekil 1.18 Ultrasonik sistemler (A: Ultrases prop), (B: Ultrases su banyosu) [61].

Ultrases prob sistemi (Şekil 1.18-A), güç kaynağı, dönüştürücü, yükseltici ve prob içermektedir. Güç kaynağı, dönüştürücü sayesinde 20 kHz'lik yüksek frekanslı elektrik enerjisi üretir, akustik enerji prob sayesinde dalgalar şeklinde dağıtılır [62]. Ultrases su banyo sistemi (Şekil 1.18-B), güç kaynağı, dönüştürücü ve banyodan oluşur. Jenaratör 40 kHz'lik bir enerji üretir. Dönüştürücü akustik enerjiyi dalgalar halinde banyoya yayar. Bu sistem, prob sisteminde olduğu gibi dalgaları doğrudan

iletmez [61]. İki sistem karşılaştırıldığında su banyosu 37 kHz frekansa sahiptir, ancak daha düşük frekanslarda fiziksel etkilerin daha üstün olduğu belirtilmiştir [61]. Düşük frekanslı ultrases “güçlü ultrases” olarak belirtilir. Güçlü ultrases 20-100 kHz frekans aralığındadır ve dondurma, köpük kırma, ekstraksiyon, kurutma, temizleme disagregasyon, mikroorganizmaların inaktivasyonu gibi gıda uygulamalarında kullanılır [63]. Şekil 1.19’de ultrases frekans aralıkları verilmiştir.



Şekil 1.19 Ultrases frekans aralığı [62].

Ultrases destekli ekstraksiyonda bitkinin nem içeriği ve partikül boyutuna dikkat edilmesi gerekir. Ekstraksiyon verimi ayrıca, solvent, frekans, basınç, sıcaklık, sonikasyon süresi gibi bir çok faktöre bağlıdır [54]. Ultrases destekli ekstraksiyon uygulamalarında, ultrasonik ekipmana ait dalga boyu, frekans, dalga genişliği ve yoğunluğu optimize edilmelidir. Ultrases destekli sistemler kullanılarak yapılan optimizasyon çalışmaları Çizelge 1.3’de verilmiştir. Ultrases destekli ekstraksiyon, geleneksel ekstraksiyonlara göre çok daha az çözücü tüketimi, daha kısa ekstraksiyon süresi, polifenollerin hızlı geri kazanımı, altyapı ve ekipman maliyetlerinin düşük olması gibi önemli avantajlara sahiptir [54].

Çizelge 1.3 : Ultrases destekli ekstraksiyon optimizasyon çalışmaları.

Ultrases Sistem	Bileşen	Çözücü	Çözücü/ katı oranı	Sıcaklık (°C)	İşlem Süresi (<f)	Güç (W)	Ekstraksiyon Verimi
Prop	Curcumin	Etanol	25	35	60	250	9,18 mg/g [64]
Prop	Naratikları/karoten oidler	Soya yağı	10	51,5	30	130	0,67 mg/100 g [65]
Prop	İncir Kabuğu Antosiyanin	Etanol	5	30-35	21	310	3,82 mg/g [66]
Prop	<i>Gomphrena globosa</i> L./Betasianinler	Su	73	-	22	500	46,9 mg/g [67]
Prop	ebegümeci sabdariffa kaliks/Antosiyanin	Etanol/Su	30	30-35	45	500	51,7 mg/g [68]
Prop	Dut (<i>Morus nigra</i>) Antosiyaninler	Metanol/Su	8	48	10	200	149,9 µg/g [69]
Su Banyosu	Mor tatlı patates/ antosiyaninler	Etanol/Su	10	60	60	200	214,92 mg/100 g [70]
Su Banyosu	Şarap tortuları/antosiyaninler	Malik Asit/Su	10	35	30,6	341,5	6,55 mg/g [71]
Su Banyosu	<i>Rubus fruticosus</i> kalıntısı, <i>Vaccinium myrtillus</i> ve <i>Eugenia brasiliensis</i> / antosiyaninler	Etanol/Su	20	80	90	580	2,38 ve 0,87 mg/g [72]

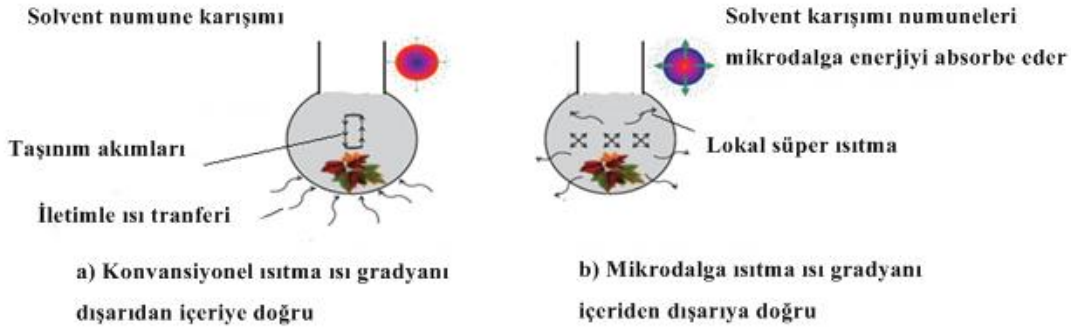
1.4.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE)

Mikrodalga, 0,3 ile 300 GHz arasında bir frekansa sahip elektromanyetik radyasyonlardır [73]. Evsel ve endüstriyel mikrodalgalar genellikle 2,45 GHz’de çalışır. Elektromanyetik özellikleri nedeniyle, mikrodalgalar birbirine dik olan elektrik ve manyetik alanlara sahiptir. Elektrik alanı, iki eş zamanlı mekanizma, yani dipolar rotasyon ve iyonik iletim yoluyla ısınmaya neden olmaktadır [74]. Çizelge 1.4’de yaygın olarak kullanılan çözücülerin dipol momentum ve dielektrik sabitleri verilmiştir. Çözücünün dielektrik sabiti büyüdükçe ısınması daha yüksek seviyede gerçekleşmektedir [75, 76].

Çizelge 1.4 : Yaygın olarak kullanılan çözücülerin dipol momentum ve dielektrik sabitleri.

Çözücü	Dielektrik sabiti (20°C)	Dipol moment (25°C) Debye
Hekzan	1,8	<0,1
Toluen	2,4	0,36
Diklorometan	8,9	1,14
Aseton	20,7	2,69
Etanol	24,3	1,69
Metanol	32,6	2,87
Su	70,5	1,87

Sadece polar moleküller mikrodalga ile ısıtılabilir bu nedenden dolayı mikrodalga ısıtma sistemi seçici bir özellik taşımaktadır. Mikrodalga ısıtmada numunenin her noktasında eş zamanlı ısıtma gerçekleşmektedir. Klasik (iletken) ısıtmada ısıtılan kütlenin dış yüzeyi önce ısınırken mikrodalga ısıtmada çözücü matris karışımının merkezinde ısınma gerçekleşmektedir. Böylece iletken ısıtmanın aksine hacimsel ısıtma meydana gelmektedir [73]. Bu durum Şekil 1.20’de konvansiyonel ve mikrodalga ısıtmanın şematik gösterilmiştir.



Şekil 1.20 (a) konvansiyonel (b) mikrodalga ısıtmanın gösterimi [77].

Mikrodalga ekstraksiyonundaki; ilerlemeler mikrodalga destekli solvent ekstraksiyonu, vakumlu mikrodalga hidrodistilasyonu, mikrodalga hidrodistilasyonu, basınçlı hava mikrodalga damıtma ve solvent içermeyen mikrodalga hidrodistilasyonu gibi bir dizi teknikle sonuçlanmıştır. Yıllar geçtikçe mikrodalga ekstraksiyonuna dayanan prosedürler, kimyasal laboratuvarlarda uzun süredir kullanılan geleneksel yöntemlerin ve diğer termal ekstraksiyon tekniklerinin yerini almıştır [78].

Ekstraksiyon uygulamasında ilk olarak, hedef analitin çözünür olduğu bir çözücü

seçilmelidir. Yüksek dielektrik sabitlerine sahip olan çözücülerin daha fazla mikrodalga enerjisini absorbe ettiği bildirilmiştir. Mikrodalga ekstraksiyonunda çözücünün polaritesi çok önemlidir [54, 79]. Ekstraksiyon işlemini gerçekleştirmek için çözücü olarak yoğun şekilde su, dietil eter, petrol eteri, hekzan, etanol, metanol, aseton ve etil asetat gibi birçok madde kullanılmaktadır. İdeal bir çözücünün viskozitesinin düşük, ekstrakte edilecek bileşene karşı özgün, çözgenlik özelliğinin yüksek, ısıl işleme dayanıklı, toksik ve patlayıcı olmayan, ekonomik olan ve çevreye/insana zararı olmayan özelliklere sahip olması gerekir. Son yıllarda, solvent ekstraksiyonunda mikrodalga ısıtmanın uygulanması giderek yaygınlaşmaktadır. Uçucu yağlar, aromalar, pestisitler, fenoller ve dioksinler gibi organik bileşikler toprak, tortu, hayvansal dokular, gıda ve bitki materyalleri gibi matrislerden etkili bir şekilde elde edilmektedir [80].

Konvansiyonel ekstraksiyon ve MDE kullanılarak farklı çözücülerle tıbbi bitkilerden elde edilen fenolik maddelerin ekstraksiyonu incelenmiştir [79]. Geleneksel yöntem kullanılarak ekstrakte edilen fenolik madde miktarının, % 60 metanol, % 60 aseton ve % 66,7 etil asetat içinde çözücünün polaritesinin azalmasıyla azaldığı tespit edilmiştir. MDE gerçekleştirildiğinde ise, % 60 aseton, % 60 metanol ve % 66,7 etil asetat olarak sıralamanın değiştiği görülmüştür. MDE'nin kullanılmasıyla, ekstraksiyon süresinin azaldığı, daha az çözücü kullanıldığı ve ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin miktarında artış olduğu bildirilmiştir [79].

Solvent içermeyen mikrodalga ekstraksiyonu (SİME), herhangi bir solvent veya su eklenmeden atmosferik basınçta yapılan mikrodalga ısıtma ve kuru distilasyon kombinasyonudur. Uçucu bileşiklerin izolasyonu ve konsantrasyonu tek bir aşamada gerçekleştirilmektedir. SİME, fesleğen (*Ocimum basilicum* L.), nane (*Mentha crispa* L.) ve kekik (*Thymus vulgaris* L.) gibi üç aromatik bitkiden uçucu yağın ekstraksiyonu için geleneksel bir teknik olan hidrodistilasyon (HD) ile karşılaştırılmıştır. SİME ile 30 dakika boyunca özütlenen uçucu yağlar, geleneksel hidrodistilasyon ile 4 saat 30 dakika boyunca elde edilenlere göre kantitatif ve kalitatif özellikler açısından benzer sonuçlar göstermiştir. Ayrıca SİME yönteminin zaman, enerji ve bitki materyali açısından önemli ölçüde tasarruf sağladığı tespit edilmiştir. SİME yeşil bir teknolojidir ve aromatik bitkilerden uçucu yağların ekstraksiyonu için iyi bir alternatif olarak görülmektedir [80].

Yeşil çay yapraklarından çay polifenolleri ve çay kafeininin ekstraksiyonu için MDE

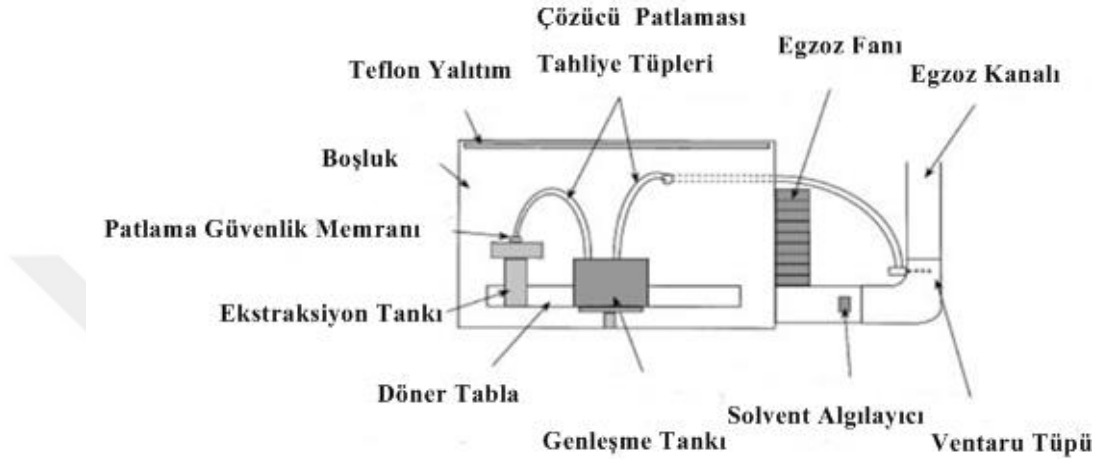
yöntemi kullanılmış ve bu yöntem farklı ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırılmıştır. Çalışmada MDE'yi optimize etmek için etanol konsantrasyonu (0/100 %, v/v), MDE süresi (0,5/8 dakika), sıvı/katı oranı (10: 1/25: 1 mL/g), ön hazırlık süresi (0/90 dakika) gibi çeşitli deneysel şartlar ve farklı solventlerin etkisi araştırılmıştır. MDE ile 4 dakikada gerçekleştirilen çay polifenoller ve kafeini ekstraksiyonunun (% 30 ve % 4), oda sıcaklığında ekstraksiyonla 20 saatte, ultrasonik ekstraksiyonla 90 dakikada ve ısı geri akış ekstraksiyonu ile 45 dakikada (% 28 ve % 3,6) gerçekleştiği tespit edilmiştir. MDE yönteminin ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon verimi ve ekstraktlardaki çay polifenoller veya çay kafein yüzdeleri açısından, incelenen diğer geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden daha etkili olduğu bildirilmiştir [81].

Yer fıstığından fenolik antioksidanları ekstre etmek için, mikrodalga destekli bir ekstraksiyon sistemi kullanılmıştır. Mikrodalga gücünün (% 10, % 50, % 90 nominal) ışınlama süresinin (30, 90, 150 sn) ve numune kütlesinin (1,5, 2,5, 3,5 g) toplam fenolik içerik (TFM), resveratrol içeriği ve ORAC (oksijen radikali) üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Fıstık kabukları su içinde 37,5 mL %30 etanol (EtOH) ile ekstre edilmiştir. TFM, ORAC seviyesi ve resveratrol içeriğine dayanarak optimum ekstraksiyon koşullarını tespit etmek amacıyla yanıt yüzey yöntemi kullanılmıştır. Optimum koşullar altında maksimum TFM 143,6 mg GAE/g olarak bulunmuştur. En yüksek ORAC değerinin, % 90 güçte, 150 s ve 1,5 g şartlarda meydana gelen 2789 mmol Trolox eşdeğerleri/g olduğu görülmüştür [82].

Ticari MDE sistemlerinde yaygın olarak iki tip sistem kullanılmakta ve farklı yaklaşımlar bulunmaktadır. En yaygın yöntem kontrollü basınç ve sıcaklık altında kapalı bir kapta ekstraksiyonu gerçekleştirmektir. Buna alternatif bir yaklaşım olarak ise atmosferik basınç altında açık bir ekstraksiyon kabı kullanılmaktadır. Laboratuvar amaçlı çalışmalarda ev tipi mikrodalga fırının kullanılması önerilmemektedir. Mikrodalga enerjisinin yüksek derecede yanıcı organik solventlere uygulanmasının ciddi tehlikelere yol açabileceği belirtilmiştir. Ayrıca ev tipi fırınların mikrodalga alanında homojenite tam olarak gerçekleşmemektedir. Bu nedenle, sadece MDE için onaylanmış ekipmanın kullanılmasının gerektiği bildirilmektedir [76].

Kapalı mikrodalga genellikle zorlu şartlar altında gerçekleşen ekstraksiyonlar, asit minarilasyonları ya da sindirim işlemlerinde tavsiye edilmektedir. Çünkü çözücüler atmosferik kaynama noktasının üstünde ısıtılabilir [83, 84], bu sayede hem ekstraksiyon hızı hem de verimlilik artırılmıştır.

Yüksek derecede yanıcı çözücülerin ısıtılmasıyla ortaya çıkan tehlikeler, yüksek kapasiteli egzoz fanları, çözücü buhar detektörleri veya her bir kaba yerleştirilmiş basınç patlaması güvenlik membranları gibi güvenlik tekniklerinin kullanılmasıyla aşılmaktadır [84, 85]. Şekil 1.21’de kapalı bir MDE sisteminin şematik gösterimi verilmiştir. Bu çalışmada alanın homojen olmasını sağlamak için, hücrelerin döner bir tabla üzerine yerleştirildiği görülmektedir.

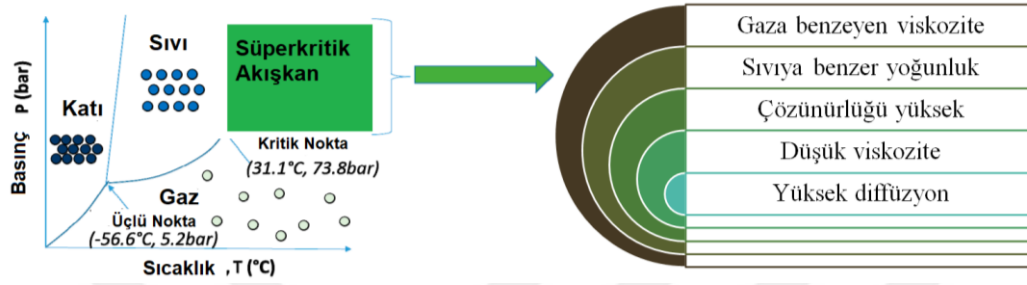


Şekil 1.21 Kapalı mikrodalga ekstraksiyonun şematik gösterimi [75].

1.4.4 Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon

Süperkritik faz, bir maddenin sıcaklığı ve basıncı kritik değerinin üzerine çıktığında meydana gelen durumdur. Süperkritik akışkan, hem gazların hem de sıvıların özelliklerine sahiptir. Sıvı çözücülerle karşılaştırıldığında, süperkritik akışkanların avantajları; (1) çözücünün çözme gücü, ortamın basıncı ve/veya sıcaklığı değiştirilerek değişen yoğunlukla ayarlanabilir, (2) süperkritik akışkanlar, sıvıdan daha yüksek bir difüzyon katsayısına, daha düşük viskoziteye ve yüzey gerilimine sahip olduğu için daha hızlı kütle transferi meydana gelir [54]. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda en önemli faktörler; süperkritik akışkanın seçimi, bitki materyalinin hazırlanması ve ekstraksiyon şartlarıdır [54]. Süperkritik akışkanların seçimi, prosesin geliştirilmesinde kritik öneme sahiptir. Karbondioksit, fiyatının düşük olması, diğer organik çözücülerin kullandığı kısıtlamalar, kalıntı bırakmaması, toksik olmaması ve kritik sıcaklık (304 K) ile kritik basıncın (7,3 MPa) uygun olmasından dolayı süperkritik ekstraksiyonunda kullanılan ana çözücüdür [86]. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu, hidrokarbonlar gibi apolar bileşiklerin ekstraksiyonu için iyi bir çözücüdür.

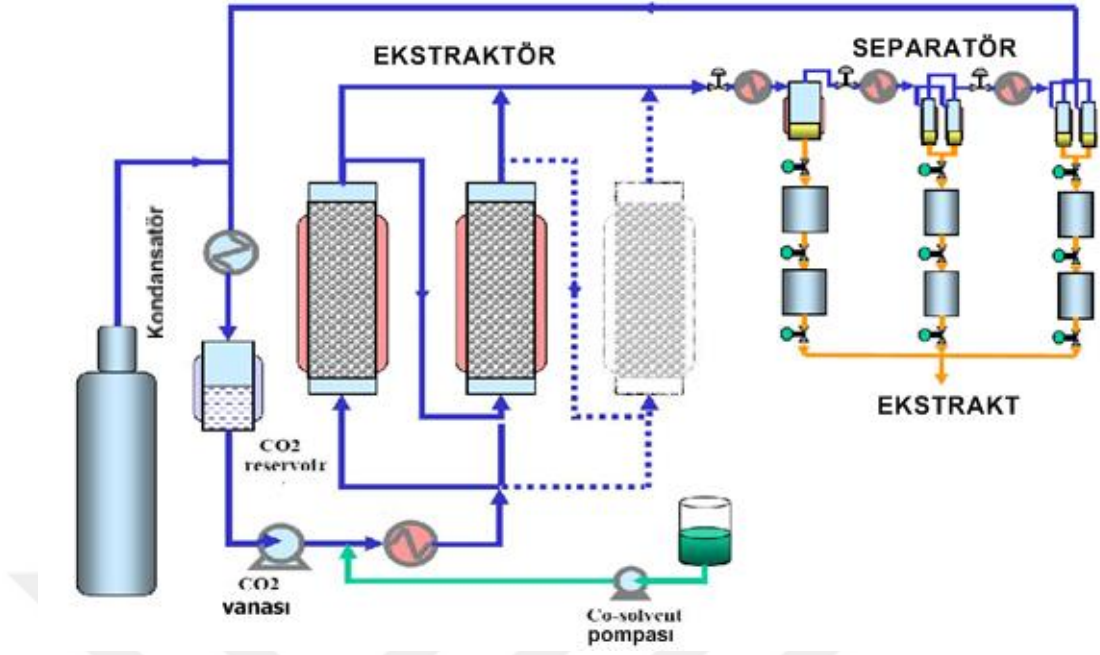
Polar bileşikler ekstraksiyonu için Freon-22 ve nitröz oksit gibi bazı çözücüler önerilmiştir, fakat güvenlik ve çevresel hususlar açısından elverişsiz özellikleri nedeniyle kullanımları sınırlıdır [87]. Süperkritik su, polar bileşikler için daha yüksek ekstraksiyon kabiliyetine sahip olsa da, termal olarak kararsız bileşikler için uygun değildir [87]. Şekil 1.22’de süperkritik karbondioksit faz diyagramı ve uygulamaları verilmiştir.



Şekil 1.22 Süperkritik karbondioksitin faz diyagramı [86].

Süperkritik ekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon verimliliğini etkileyen en önemli parametreler; besleme materyalinin sıcaklığı, basınç, partikül boyutu, nem içeriği, ekstraksiyon süresi, CO₂ akış hızı ve çözücü/katı oranıdır. Bu teknikten maksimum fayda sağlanması için bu parametrelerin hassas bir şekilde kontrol edilmesi gerekir [56]. Bitki türüne göre ekstraksiyon süresi değişmekle birlikte, süperkritik akışkan ekstraksiyonu prosesi 20 dakikadan daha kısa bir sürede tamamlanır. Bu yöntem ısıya dayanıklı olmayan bileşenlerin ekstraksiyonunda düşük kritik sıcaklığa sahip süperkritik akışkan kullanılmasından dolayı avantajlı bir ekstraksiyon yöntemidir [89].

Süperkritik ekstraksiyon prosesi Şekil 1.23’de verilmiştir. Bitki materyali, istenen ekstraksiyon koşullarının sağlamak için hem giriş hemde çıkışta sıcaklık kontrolörleri ve basınç valfleri ile donatılmış bir ekstraksiyon kabına konulur. Akışkan bir ısıtma bölgesine pompalarak süperkritik koşullara ısıtılır. Bu noktada, ekstraksiyon kabına gönderilen süperkritik akışkan bitki materyali ile etken maddeyi çözer. Ürün daha sonra separatörlerin alt kısmında bulunan valf vasıtasıyla toplanır. Süperkritik akışkan ise soğutulabilir, yeniden sıkıştırılabilir ve döngüden sürekli kullanılabilir [54].



Şekil 1.23 Süperkritik ekstraksiyon prosesi.

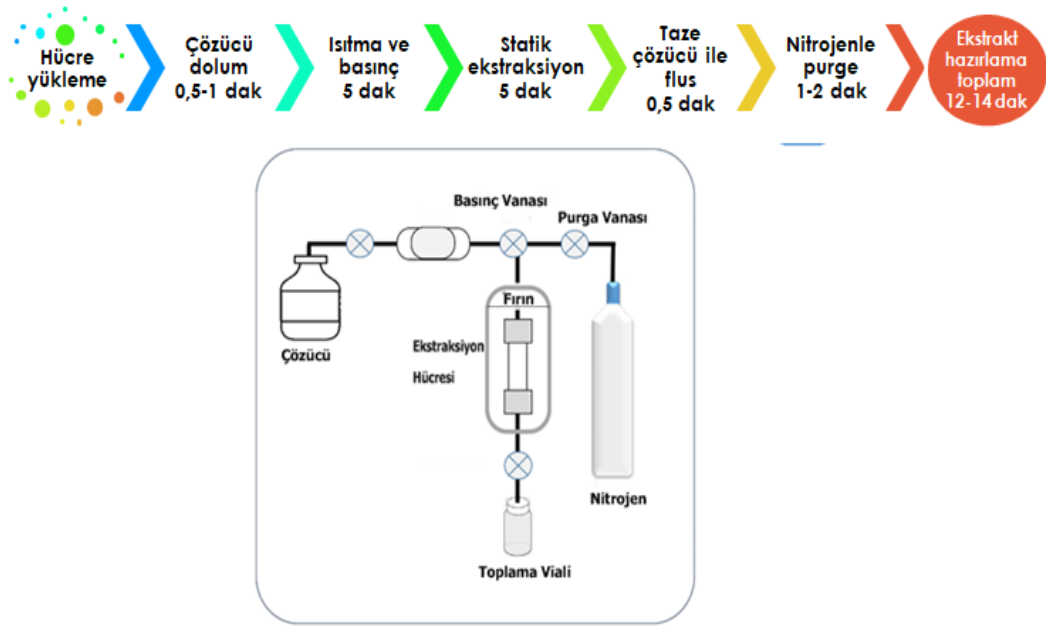
Biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için süperkritik akışkanların kullanılmasının avantajları aşağıdaki verilmiştir [87].

1. Süperkritik akışkan, sıvı bir çözücünden daha yüksek bir difüzyon katsayısına ve daha düşük viskoziteye ve yüzey gerilimine sahiptir. Bu sayede numune matrisine daha fazla nüfuz ederek kütle transferini artırır.
2. Ekstraksiyon süresi, geleneksel yöntemlere kıyasla önemli ölçüde azalır.
3. Süperkritik akışkanın numuneye tekrarlanan geri akışı, tam ekstraksiyon sağlar.
4. Çözülme gücü, sıcaklık ve/veya basınç değiştirilerek ayarlanabildiğinden, süperkritik akışkanın seçiciliği sıvı çözücünden daha yüksektir.
5. Geleneksel ekstraksiyon işleminde çözünenin çözücünden ayrılması için daha fazla zaman harcanır. Süperkritik akışkanın basıncının düşürülmesiyle çözücü kolayca uzaklaştırılır.
6. Süperkritik ekstraksiyon, çalışma sıcaklıklarının düşük olmasından dolayı termokararsız bileşik ekstraksiyonu için ideal bir yöntemdir.
7. Az miktarda organik çözücü kullanır ve çevre dostu olarak kabul edilir.

8. Süperkritik akışkanın geri dönüşümü ve yeniden kullanımı mümkündür ve böylece atık oluşumunu en aza indirir.
9. Laboratuvardaki birkaç miligram numuneden endüstrilerdeki tonlarca numuneye kadar belirli bir amaca göre düzenlenebilir.

1.4.5 Hızlandırılmış Çözücü Ekstraksiyonu

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, geliştirilmiş solvent ekstraksiyonu ve yüksek basınçlı solvent ekstraksiyon olarak farklı isimlerle bilinir [88]. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu, genellikle 50°C ile 200°C arasındaki yüksek sıcaklıklarda ve 10 ile 15 MPa arasındaki basınçlarda gerçekleştirilen bir katı-sıvı ekstraksiyon işlemidir. Çözücüyu yüksek sıcaklıkta sıvı halde tutmak için basınç altında ekstraksiyon işlemi yapılır [54]. Yüksek ekstraksiyon sıcaklığı, hem çözünürlüğü hem de kütle transfer oranını artırır, daha yüksek analit çözünürlüğü sağlar, ayrıca solventlerin viskozitesini ve yüzey gerilimini azaltarak ekstraksiyonu hızını iyileştirir [56]. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, yüksek ekstraksiyon verimi, daha az zaman ve solvent tüketimi sağlayan etkili ekstraksiyon proseslerden biridir [54]. Sıcaklık, yüksek basınç, numunenin içinde kolayca ilerlemesi için çözücünün penetrasyon gücünü artırarak ekstraksiyon verimliliğinin artmasına sebep olur [56]. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, az solvent, hızlı ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon verimliliğinin avantajlarının yanında pahalı ekipmaları olan bir proses olmasına rağmen bu yöntemin kullanımı yaygınlaşmaktadır [89]. Bir hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu sisteminin şematik diyagramı Şekil 1.24'de gösterilmektedir [90].



Şekil 1.24 Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu şematik gösterimi [90].

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonunu gerçekleştirmek için, ekstraksiyon hücresine 5-100 g arasında numune yüklenir ve iki filtrasyon uç bağlantısı ile kapatılır. Ekstraksiyon ünitesinde 1-100 mL arasında değişen hacimde hücreler kullanılır, en yaygın kullanılan hücre 33 mL'dir. Sistem otomatik olarak örnekleri ısıtmaya ve basınç uygulamaya başlar. Statik modda, ekstrakte edilen solvent otomatik olarak nitrojen kabına aktarılır. Ekipmanların çoğu 24 hücreye kadar yükleme kapasitesine sahiptir, tüm proses otomatik olarak çalışır [90]. Bu ekstraksiyon uygulamasında her bir numunede sıcaklık ve basınç kontrol edilebilir. Ekstraksiyon süresi bir saatten daha az sürede gerçekleşir [58]. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonunda, sıcaklık, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon döngülerinin sayısı ve çözücü dahil bir çok parametreyi optimize etmek gerekir. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ile geleneksel soxhlet ekstraksiyonu karşılaştırıldığında, ekstraksiyon süresi ve solvent miktarının önemli ölçüde azaldığı görülmüştür [56]. Günümüzde polar bileşiklerin ekstraksiyonu için hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, süperkritik sıvı ekstraksiyonuna potansiyel bir alternatif teknik olarak kabul edilmektedir [76].

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonunda solvent seçimi çok önemlidir. Güçlü asitler, bazlar ve tutuşma sıcaklığı 40-200°C arasında olanlar (karbon disülfid, dietil eter ve 1,4-dioksan) dışında çok çeşitli çözücüler kullanılabilir. Metanol, su, toluen, diklorometan, etil asetat ve asetonitril gibi çeşitli çözücüler hızlandırılmış çözücü

ekstraksiyonunda kullanılan çözücülerdir [89]. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonun dezavantajı ısı kararlılığı olmayan bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılmasının uygun olmamasıdır. Yüksek sıcaklıklar, istenmeyen bileşiklerin çözünmesine ve biyoaktif bileşiklerin bozunmasına neden olabilir [91]. Diğer dezavantajı ise içeriğinde şeker ve pektin oranı yüksek materyallerin kullanılmasında tıkanmalar meydana gelmesi nedeniyle karşılaşılan kullanım zorluğudur [92]. Ekipmanların çok pahalı olması prosesin en önemli dezavantajıdır [93].

1.5 Ekstraksiyonu Etkileyen Parametreler

1.5.1 Çözücünün Etkisi

Ekstraksiyon işleminde hedeflenen bileşeni elde edebilmek amacıyla en uygun çözücünün seçilmesi gerekmektedir. Her çözücünün farklı kompozisyonlarında farklı verimler elde edilmektedir [54]. “Benzer benzeri çözer” ilkesiyle ekstrakte edilmek istenen bileşenlerin kimyasal yapısına benzer çözücü seçimi, ekstraksiyonu etkileyen ilk parametredir [94].

Gıda bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılan çözücüler, genellikle kaynama noktası düşük organik sıvılar olup bu çözücülerin aşağıda belirtilen özellikleri taşıması gerekmektedir.

- Ekstrakte edilmesi istenen bileşen için çözücü sistemin kaynama noktası, yüzey gerilim katsayısı, buharlaşma ısısı özelliklerinin uygun olması
- Kolay elde edilebilir ve ucuz olması
- Ekstrakte edilecek ürünle kimyasal reaksiyona girmemesi
- Çözme hızı ve çözme kapasitesinin yüksek olması gerekir.

Gıda bileşenlerin ekstraksiyonunda genellikle, su, organik çözücüler ya da organik sıvılar ile suyun değişik oranlardaki kompozisyonları kullanılmaktadır [95].

1.5.2 Sıcaklığın Etkisi

Çözücü sisteminin seçilmesinin yanı sıra ekstraksiyon sıcaklığı da ekstraksiyon verimini etkileyen en önemli faktördür. Ekstraksiyon sıcaklığı fenolik bileşenlerin özütlenmesi aşamasında pozitif etkiye sahiptir [96]. Ekstraksiyon sürecinde yüksek sıcaklıklarda çalışıldığında çözünen maddenin çözücüye geçişi hızlanmaktadır. Ancak yüksek sıcaklık, ekstraksiyon verimini önemli derecede artırmasına rağmen, bazı

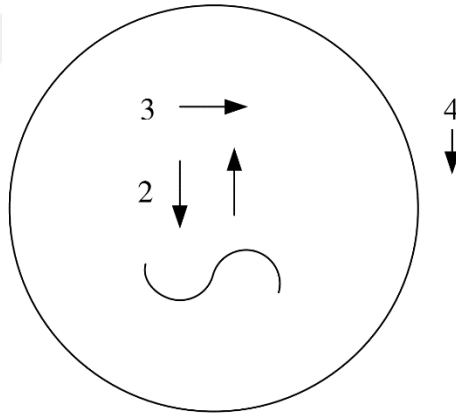
bileşenlerin yapılarının bozulmasına sebep olur ve arzu edilemeyen bileşikler çözücü sistemde çözünebilir [97].

1.5.3 Partikül Boyutunun Etkisi

Kütle transferinde teorik olarak katı ve sıvı arasındaki ara yüzey orantılıdır. Söz konusu ara yüzey parçacık boyutunun azalmasıyla yani katı partiküllerin öğütülmesi ile artar [98].

Şekil 1.25’de gösterildiği gibi modelleme dört basamaklı düşünülebilir:

1. Çözücü sistemin katı partiküle nüfuz etmesi,
2. Katı sistemden desorpsiyon veya biyolojik membran penetrasyonu gibi tersinir süreç,
3. Çözücü sistemin partikül yüzeyinden difüzyonla taşınımı,
4. Çözelti ile akışkan içinde yer değiştirmesi.



Şekil 1.25 Partikülde kütle aktarım mekanizması [95].

1.5.4 Sürenin Etkisi

Ekstraksiyon sürecinde madde ile çözücünün temas süresinin artmasıyla ekstraksiyon verimi artmaktadır. Ancak, ekstraksiyon süresinin artması proses maliyetini artırmaktadır (Şekil 1.26) [97].



Şekil 1.26 Ekstraksiyon süresinin etkisi.

1.5.5 Katı/Sıvı Oranı

Ekstraksiyon prosesinde çözücü miktarının artması ekstraksiyon verimini artırmaktadır. Çözücü/katı oranının artmasıyla sistemde çözülebilen maddelerin çözücü sisteme geçmesi sağlanır. Aslında çözücü oranının artması ekstraksiyon verimi açısından avantaj olmasına rağmen, çözücü sistemi buharlaştırmak için harcanan enerji miktarı ve kullanılan çözücünün maliyeti açısından dezavantajdır [98].

1.6 Deneysel Tasarım ve Optimizasyon

Optimizasyon, proseslerin istenilen hedefler doğrultusunda, bağımsız değişkenlerin birbirleriyle etkileşimlerine ve bağımlı değişkenler üzerindeki etkilerine göre uygulanması işlemidir. Optimizasyon sistemin performansı ve elde edilen ürünün kalitesi ile birlikte değerlendirilir. Optimizasyon çalışmasındaki parametrelerin bazı durumlarda maksimum seviyede, bazı durumlarda hedef değerde bazı durumlarda ise minimum seviyede tutulması istenir. Optimizasyon çalışması, önceden çerçevesi belirlenmiş kriterler kapsamı içerisinde hedef fonksiyonun belirlenen koşullara ayarlanmasıdır [99]. Optimizasyon, proses tasarımlarında üretimi verimli hale getirmek, kaliteyi iyileştirmek ve/veya maliyeti düşürmek için kullanılır. Bağımsız değişkenlerin fazla sayıda olduğu çalışmalarda, diğer bağımsız değişkenleri sabit tutup, bir tane bağımsız değişkeni değiştirmek çok fazla sayıda deney yapılmasını gerektirmektedir. Ayrıca, bağımsız değişkenlerin kendi aralarında etkileşimlerinin incelenmesi mümkün değildir. Bu nedenle optimizasyon çalışmalarında istatistiksel deney ve proses tasarımları kullanılarak daha az deney ile daha doğru sonuçların elde edilmesi

mümkün olmaktadır [100]. Deneysel tasarım, ekstrapolasyona imkan tanınması ve parametrelerin grafiklenebilmesi sayesinde proses ve ürünlerin optimizasyonunu kolaylaştırmaktadır [101].

1.6.1 Yanıt Yüzey Deney Tasarımları

Yanıt yüzey yöntemi, Box and Wilson tarafından 1951 yılında geliştirilmiş ve “Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması” ismi ile tanımlanmıştır. Yanıt yüzey yöntemi proseslerin geliştirilmesi ve optimizasyonu için gerekli matematiksel ve istatistiksel tekniklerin beraber kullanıldığı bir yöntemdir [102]. Yöntem, eleme denemeleri, bölge belirleme işlemi ve optimizasyon olmak üzere üç aşamadan oluşmaktadır. Eleme çalışmaları, çok daha az sayıda ve verimi yüksek deneme yapılmasını sağlamaktadır. Bölge belirleme, eleme çalışmaları ile bağımsız değişkenlerin, sisteme verdiği yanıtların optimum noktaya ulaşp ulaşmadığını kontrol eder. Üçüncü aşamada ise optimum noktaya ulaşan sistem çizilen eğriler neticesinde tespit edilir. Eğrilerin çizilmesinde genellikle doğrusal olmayan modeller, ikinci dereceden veya üssel modeller kullanılır [100].

Yanıt yüzey yönteminde, regresyon, çoklu regresyon ve varyans analizlerini içeren teknikler bulunmaktadır. Bağımsız değişkenlere göre sistemin yanıtı lineer fonksiyon olarak uyum veriyorsa birinci dereceden denklemler model olabilir. Eğer yanıt yüzeyde eğrilik bulunuyorsa, ikinci dereceden polinomiyal denklemler kullanılmalıdır. İkinci dereceden modeller karmaşık hesaplar yapmadan, en küçük kareler yöntemi sayesinde optimum noktayı kolayca belirleyerek yanıt yüzey yönteminde çoğunlukla kullanılır [103]. Yanıt yüzey yöntemleriyle oluşturulan modeller regresyon analiziyle gerçekleştirilmektedir. Regresyon katsayısı yardımıyla, bir faktörün veya interaksiyon etkisinin ne derece önemli olduğu belirlenir [102].

Bağımlı değişken y , x_1 ve x_2 'nin ve e (epsilon) ile ifade edilen deneysel hata teriminin bir fonksiyonudur. Hata terimi e , yanıtta herhangi bir ölçüm hatasını ve fonksiyonda sayılamayan diğer türdeki varyasyonları temsil eder.

Fonksiyonu geliştirmek için genellikle düşük dereceli polinomla başlanır. Yaklaşım fonksiyonu doğrusal ise birinci dereceden bir modeldir. Birinci dereceden model, **(Denk.1)**'deki eşitlik ile ifade edilir.

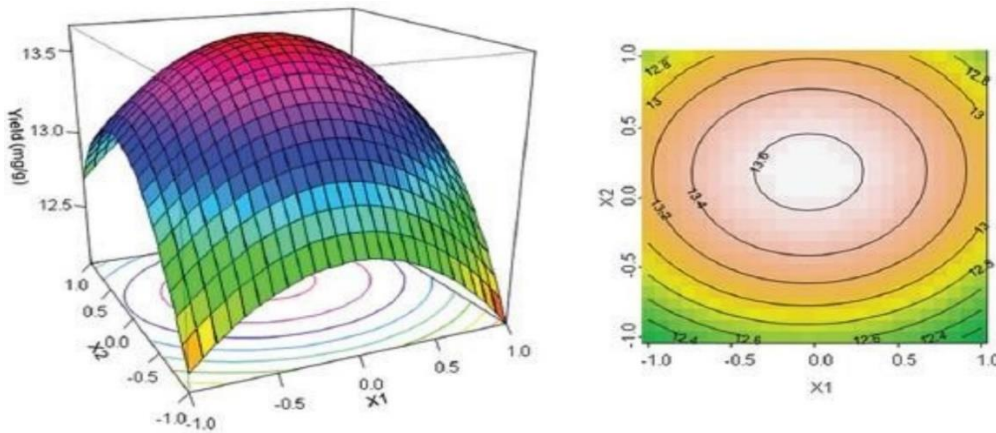
$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \varepsilon \quad (1)$$

Eğer yanıt yüzeyinde bir eğrilik varsa, daha yüksek dereceli bir polinom kullanılmalıdır.

İki dereceden model, **(Denk.2)**'deki eşitlik ile belirtilen fonksiyon ile ifade edilmektedir [104].

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_{ii}^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{\substack{j=1 \\ i < j}}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (2)$$

Denklemden, β_0 ortalama etkiyi, β_i , β_{ij} , β_{ii} ise sırasıyla değişkenlerin lineer, ikili ve ikinci dereceden etkileşimleri için belirlenen katsayıları, y tepki parametrelerini ifade etmektedir. Yanıt yüzey çalışmasında yapılan analizlerin verileri regresyon analizi sayesinde matematiksel formülle ifade edilmektedir. Modelde elde edilen katsayılar sayesinde tüm etkileşimler hakkında bilgi elde edilir [103]. Elde edilen denklemin ne derece hassas olduğunun araştırılması gerekmektedir. Çalışmada varsayım olarak seçilen modelin matematiksel formunun uygunluğu test edilmesi gerekmektedir. ANOVA testiyle belirlenen, regresyon katsayısının (R^2), düzeltilmiş regresyon katsayısının hesaplanması (R^2_{adj}), model uygunsuzluğunun test edilmesi (lack of fit testi), varyasyon katsayısının (C.V) hesaplanması ile incelenir [100]. Yanıt yüzey yöntemi ile elde edilen sonuçlar 3D ve izdüşüm (contour) grafikleri kullanılarak yorumlanmaktadır (Şekil 1.27).



Şekil 1.27 İki parametrenin yanıt yüzey ve izdüşüm grafiği [105].

Yanıt yüzey yönteminde “Box-Behnken” ve “Merkezi Kompozit” tasarımları en sık kullanılan tasarımlardır. Box-Behnken tasarımında her parametre için üç seviye kullanılırken, Merkezi kompozit tasarımda her parametre beş farklı seviye kullanılarak optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmektedir [106].

Merkezi kompozit tasarımda birkaç merkez noktası, işaret noktası olarak eklenmek suretiyle meydana gelmektedir. Örneğin beş seviye kullanıldığında -a, a, -1, 1, 0 şeklinde kodlanır. En alt ve üst noktalar -a, a noktaları iken, -1 ve 1 düşük ve yüksek, 0 ise orta seviyeyi ifade etmektedir [107].

1.6.2 Model Uygunsuzluğu (Lack of Fit) Testi

Yanıt yüzey yöntemi kullanılarak tasarlanmış denemelerden elde edilen cevapların regresyon modelini fit ettirmek gerekmektedir. Deneysel verilerle tahmin değerler arasındaki fark sadece deneysel hata kaynaklı değildir, modelin matematiksel fonksiyona uygunsuzluğundan kaynaklanan hatayı da içermektedir. Elde edilen modelin matematiksel fonksiyonun uygunsuzluğundan oluşan hata, model uygunsuzluğu olarak ifade edilmektedir. Çalışmada yanıt yüzey yönteminin kullanılması için, istatistiksel olarak modelin matematiksel fonksiyona uygunsuzluğunun önemsiz ve regresyon modelinin önemli olması gerekmektedir [100].

1.7 Ekstraksiyon Kinetiği

Kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik olarak meydana gelen değişimlerin zamana bağlı incelenmesine kinetik denir. Deneyler ve bilgi kullanılarak meydana gelen değişimler matematiksel dilde ifade eden denklemlere çevrilir [108]. Kimyasal reaksiyon kinetiği, reaktantların konsantrasyonu, reaksiyon oranı ve sabit parametrelerle bağlantılı genel oran kanunu temel alır. Kapalı sistemde A bileşiğinin harcanma oranı **(Denk.3)**'de gösterilmiştir.

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A]^n \quad (3)$$

[A] bileşiğin konsantrasyonu, k reaksiyon hız sabiti ve n reaksiyon kademesidir. Reaksiyon kademesi genellikle 0 ile 2 arasındadır. 0 dereceden **(Denk.4)**, 1. Dereceden **(Denk.5)**, 2. Dereceden reaksiyon **(Denk.6)** eşitliği gösterilmiştir.

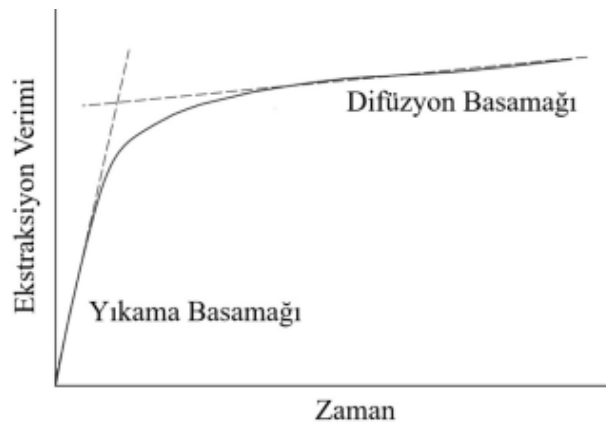
$$[A] = [A]_0 - kt \quad (4)$$

$$[A] = [A]_0 - e^{kt} \quad (5)$$

$$\frac{1}{[A]} = \frac{1}{[A]_0} + kt \quad (6)$$

Sıfır, birinci ve ikinci dereceden kinetik modeller, yalnızca bir ölçülen bileşikle ilgilenir, mekanizma hakkında bilgi sağlamaz. Bir reaksiyon sırası, matematiksel bir tanımla zaman veya konsantrasyon bağımlılığını tanımlar ama reaksiyon mekanizması hakkında herhangi bir bilgi sağlamaz [109]. Örneğin şekerin bozunmasındaki reaktif ara maddeler, birinci dereceden kinetik modelden ziyade, reaksiyon koşulları ve çevre ile ilişkili karmaşık bir kinetik gösterir. Karmaşık reaksiyonlarla model geliştirmek, reaktanları, ara maddeleri ve ürünleri birlikte gözlemlemek, modellemek ve gıda ürünlerinin kalitesini optimize etmek için daha iyi bir yaklaşımdır [110].

Solvent ekstraksiyonunun verimliliği artırmak için mikrodalga, ultrason ve elektrik alanları gibi desteklenen yeni sistemler geliştirilmiştir. Bu destekli teknikler, belirli ekstraksiyonlar için uygun olan benzersiz avantajlar ve özellikler sunar. Bu nedenle söz konusu ekstraksiyon uygulamalarında geliştirilen teorik temelli kinetik modeller, ölçek büyütme amacıyla kullanılmaktadır [111]. Şekil 1.28’de gösterildiği gibi, yıkama basamağı (hızlı aşama) ve difüzyon basamağı (yavaş aşama) olmak üzere iki adımdan oluştuğu görülür [111]. Bitkinin dış yüzeyindeki biyoaktif bileşikler yıkama aşamasında çözünür, difüzyon aşamasında ise biyoaktif bileşikler, bitki yapısının iç kısmından çözücü sisteme kütle aktarımı gerçekleşir [112].



Şekil 1.28 Biyoaktif bileşenlerin genel ekstraksiyon eğrisi [110].

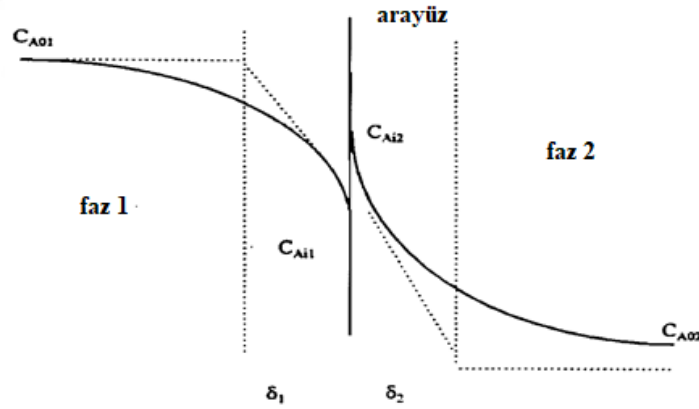
Ekstraksiyon sürecini modellemek için birçok matematiksel yaklaşım kullanılabilir. Modelleme denklemleri ya teorik olarak türetilmiştir ya da ampirik olarak formüle edilmiştir. Yaygın olarak kullanılan Fick difüzyon yasası, kimyasal kinetik denklemler

ve diğer parametrik ampirik denklemler, çoğu ekstraksiyon eğrisi için geçerlidir [111]. Ekstraksiyonda katı numunenin yapısına bağlı olarak kütle transferinin kinetiği değişebilir. Fick yasasına göre, çözünür bileşenlerin difüzyonu katı ve sıvı faz arasındaki konsantrasyon gradyeniyle bağlıdır. Bu gradyen, iki faz arasında bir denge oluşturmak için gelişir. Fick yasası formülasyonu **(Denk.7)**'de gösterilmiştir.

$$N = -D \frac{dC}{dx} \quad (7)$$

burada N, çözünenin kütle akışı, C, katı parçacıktaki çözünenin konsantrasyonu, x, transfer yönündeki mesafe, D, çözücüdeki çözünün için yayılma veya yayılma katsayısı olarak bilinir.

Whitman film teorisi, bir arayüze yakın difüzyon süreçlerini tanımlamıştır. Bu teoride, türbülans ara yüzeye yakın bir yerde yok olur ve ara yüzeye yakın iki akışkanın her birinde laminar alt katman oluşur. Laminer alt katmanlar arasında taşıma için tek mekanizma difüzyondur ve bu nedenle o bölgedeki konsantrasyon gradyeni Şekil 1.29'de gösterildiği gibi doğrusaldır.



Şekil 1.29 Difüzyon ara yüzeyi [112].

Kesik çizgiler varsayımsal konsantrasyon gradyenini gösterir, düz çizgiler ise gerçek konsantrasyon gradyenini temsil eder. Arayüzde dengenin var olduğu varsayılır ve bu nedenle arayüzey konsantrasyonları C_{Ai1} ve C_{Ai2} , denge ilişkisi yoluyla ilişkilidir [113]. Kütle transferi bir durağan hal süreci olarak ele alınır, bu nedenle Fick kanunu **(Denk.8)**'de gösterildiği şekilde yazılabilir:

$$N_A = \frac{D_1}{\delta_1} (C_{A01} - C_{Ai1}) = k_1 (C_{A01} - C_{Ai1}) \quad (8)$$

Arayüzde malzeme birikmediği için iki oran aynıdır ve **(Denk.9)**'da gösterildiği gibi ifade edilebilir [113].

$$\frac{k_1}{k_2} = \frac{(C_{Ai2} - C_{A02})}{(C_{A01} - C_{Ai1})} \quad (9)$$

Difüzyon aşamasında hız sınırlayıcı mekanizmanın belirlenmesi, matematiksel yaklaşımı belirlediği için kinetik modellemede önemlidir. Literatürdeki kinetik modellemelerin çoğu, çözücü ekstraksiyonunda difüzyon veya diğer kütle transfer katsayılarını araştırır [114].

Geleneksel ekstraksiyon uygulamalarında süreçlerin genellikle Fick yasası türev modelleri kullanılarak modellendiği görülmüştür [115]. Öte yandan mikrodalga, ultrasonik ve elektriksel alan destekli solvent ekstraksiyon teknikleri, çok daha karmaşık kütle transfer problemlerini içerdiğinden, bu tekniklerin modellenmesinde; modifiye edilmiş Fick kanunundan basitleştirilmiş ampirik modeller tercih edilir [116]. En yaygın olarak kullanılan ampirik model, So ve Macdonald (1986) ve Patricelli (1997) tarafından önerilmiş ve **(Denk.10)**'da gösterilen forma sahiptir.

$$c = c_w[1 - \exp(-k_w t)] + c_d[1 - \exp(-k_d t)] \quad (10)$$

Burada c_w ve c_d , sırasıyla yıkama aşaması ve difüzyon aşaması sırasında çözücü içinde ekstrakte edilen çözünen miktarlarıdır [111]. Ekstrakte edilen çözünen miktarı, kullanılan numune kütlesi başına ifade edilebilir veya denge verimi ile karşılaştırılarak fraksiyon olarak ifade edilebilir. k_w ve k_d sırasıyla yıkama aşaması ve difüzyon aşaması sırasındaki ekstraksiyon kinetiğinin katsayılarını temsil eder [111]. Çözücü ekstraksiyonu için önerilen diğer ampirik modeller arasında Peleg modeli, Ponomaryov denklemi ve parabolik difüzyon modeli ile güç yasası gibi parametrik ampirik modeller bulunmaktadır [117].

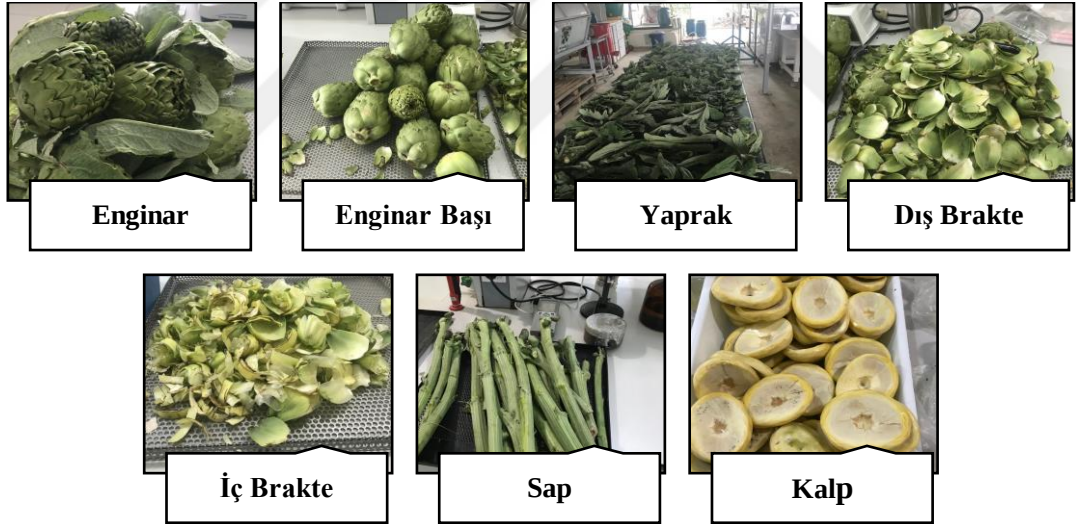
2. MATERYAL ve METOT

2.1 Materyal

Sunulan tez çalışmasında kullanılan genotipler, Çizelge 2.1’de belirtilen illerden temin edilmiştir. Her bir genotip için 20’şer bitkiden örnek (sap, yaprak, dış brakte, iç brakte, kalp) alınarak paçal haline getirilmiştir. Numuneler bitkinin alt 1/3’lük kısmının üstünden alınmış, her bitkiden birer adet sap, yaprak, dış brakte, iç brakte ve kalp kısımları kullanılmıştır (Şekil 2.1). Laboratuvara getirilen bitki materyali, sap, dış brakte, iç brakte, yaprak ve kalp olarak ayrılarak analizleri yapılncaya kadar -18°C’de saklanmıştır.

Çizelge 2.1 : Enginar tipleri.

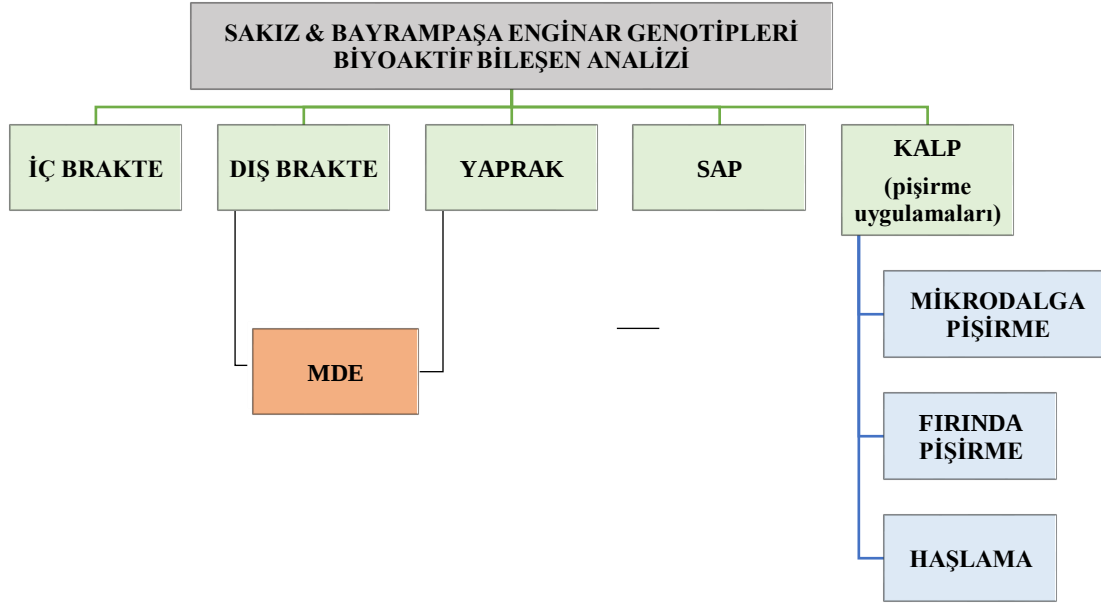
	Tip	Toplama tarihi	İl
1	Bayrampaşa	05.2019	Bursa
2	Sakız	03.2019	İzmir



Şekil 2.1 Enginar bitki kısımları.

2.2 Metot

Tez çalışmasında izlenen uygulama deseni ve yapılan deneysel çalışmaların algoritması Şekil 2.2’de verilmiştir.



Şekil 2.2 Tezin uygulama deseni.

Şekil 2.2’de görüldüğü gibi sunulan tez çalışması temel olarak iki kısımda kurgulanmıştır. Tezin ilk bölümünde Bayrampaşa ve Sakız enginar genotiplerinin yenemeyen kısımları olan iç brakte, dış brakte, yaprak, sapları ve yenebilir kısmı olan kalp kısımlarının toplam fenolik madde miktarı, DPPH ve CUPRAC toplam antioksidan aktiviteleri ve biyoaktif bileşenleri belirlenmiştir. Bu kısımdan elde edilen sonuçlardan yola çıkarak, enginarların yaprak ve dış brakte kısımları paçal hale getirilmiş, bu kısımların sahip olduğu yüksek orandaki biyoaktif bileşenlerin elde edilmesi amacıyla mikrodalga ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Tezin ikinci kısmında ise, enginarın yenebilir kısmı olan enginar kalbinin sağlık açısından faydalı şekilde tüketilmesi amacıyla, mikrodalga pişirme, fırında pişirme ve haşlama yöntemleri ile pişirme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Uygulanan her pişirme tekniğinden sonra enginar kalplerine biyoaktif bileşen analizi yapılarak en uygun pişirme tekniği belirlenmiştir.

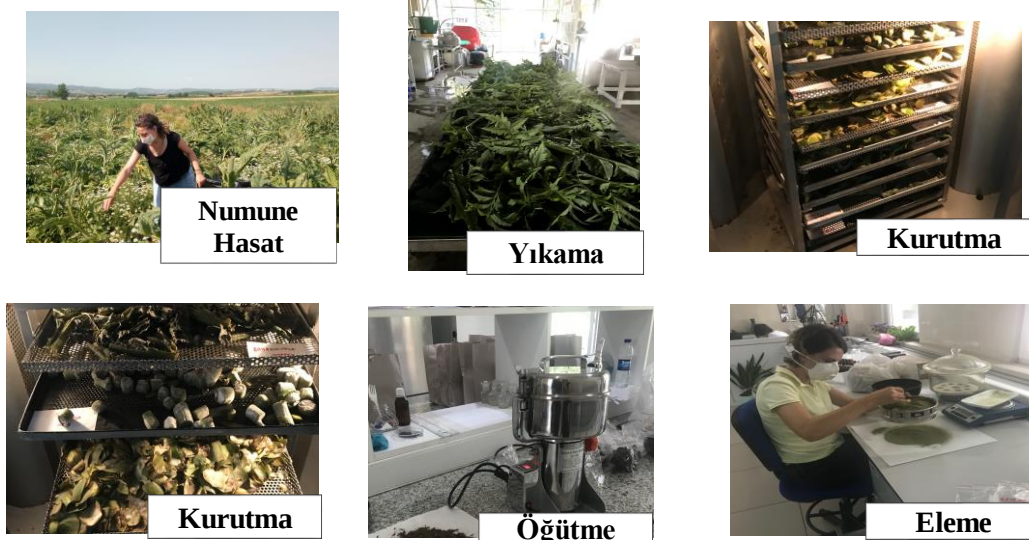
2.2.1 Enginar Genotiplerinden Polifenollerin Farklı Çözücülerle Solvent Ekstraksiyonu

Enginarın yenemeyen kısımları olan iç brakte, dış brakte, yaprak ve sapları ve yenebilir kısımları olacak kalbin sahip olduğu fenolik bileşenlerinin ekstraksiyonunda kullanılması gereken en uygun çözücüyü belirlemek amacıyla farklı çözücülerle solvent ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon denemelerinde, Sakız tipi enginara ait yaprak kısımları kullanılmıştır. Numuneden 3 g tartılmış, farklı solvent ve bu solventlerin su ile farklı oranlardaki karışımlarından (%100 asetonitril, 80:20 asetonitril:su, 60:40 asetonitril:su, 80:20 etilasetat:su, 80:20 etanol:su, 60:40 etanol:su, %100 metanol, 80:20 metanol:su ve 60:40 metanol:su) 25 mL kullanılarak karışım 2 dakika homojenize edilmiştir. Homojenize katı ve çözücü faz, oda sıcaklığında 24 saat çalkalayıcıda karıştırılarak solvent ekstraksiyonu tamamlanmıştır.

Uygun çözücünün seçiminden sonra, enginar numunelerinin yenebilir ve yenemeyen tüm kısımlarına ekstraksiyon işlemi uygulanmış, ekstrakt fazda TFM ve toplam antioksidan aktivite (DPPH ve CUPRAC) analizleri yapılmıştır.

2.2.2 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyon İşlemine Hazırlanması

Bayrampaşa ve Sakız enginarlarının yenemeyen kısımlarından olan iç brakte, dış brakte, yaprak ve saplarının ayrı ayrı birer adet numune oluşturulmuştur. Hazırlanan örnekler, üzerlerindeki kaba kirlerin giderilmesi amacıyla şehir şebeke suyuyla iki kez yıkanmış ve ardından süzölmüştür. Fazla suyu giderilen örnekler, sıcaklığı 50°C'ye ve bağıl nemi %8'e ayarlanmış kurutucuda, nem miktarı %8-10 düzeyine gelene dek kurutulmuştur. Kurutulan örnekler bitki öğütücüsünde öğütülmüş ve homojen bir karışım yapılmıştır. Daha sonra ekstrakt eldesinde 500 µm elekten geçirilmiş partiküller ekstraksiyon hammaddesi olarak kullanılmıştır (Şekil 2.3) [37].



Şekil 2.3 MDE numune hazırlama aşamaları.

2.2.3 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonu

Bölüm 2.2.2’de hazırlanan enginar numunelerinin mikrodalga ekstraksiyonu için 2.455 MHz 1800 W MARS 6 (CEM, Matthews, NC) sistem kullanılmıştır. Ekstraksiyon süresi 3, 4, 6, 8, 10 dakika ve 60°C, 70°C, 80°C sıcaklık değerlerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga fırın sabit 320 W güce ayarlanmıştır. Ayarlanan bu mikrodalga gücü yaklaşık 70-80°C aralığına tekabül etmektedir. Mikrodalga ekstraksiyon uygulamalarında her parametrede eşit miktarda solvent ve ekstraksiyon numunesi kullanılmıştır. 1 g örnek 100 mL Teflon PFA (perfloroalkoksi) ekstraksiyon kabına yerleştirilmiş, 15 mL saf etanol çözücü olarak kullanılmıştır. Mikrodalga ekstraksiyonunda metanol yerine etanol kullanılmasının sebebi ekstraksiyon sonucu elde edilecek olan ekstrakt fazların biyoaktif bileşenlerinin incelenmesidir. Bölüm 2.2.1’de metanolün iyi bir çözücü tespit edilmesine rağmen, biyoaktif bileşenleri içeren ekstraktların insan diyetinde kullanılmasından dolayı, metanol yerine, metanolden sonra en yüksek fenolik içerik elde edilen etanol/su çözücü sistemi kullanılmıştır.

Enginarların yenemeyen kısımlarında bulunan polifenollerin eldesi için uygulanan mikrodalga ekstraksiyon işlemleri sonrasında, her iki enginar genotipi için de özellikle yaprak ve dış brakte kısımlarında yüksek ekstraksiyon verimlerine rastlanmıştır. Bu sebeple çalışmanın ilerleyen kısımlarında, Bayrampaşa ve Sakız genotipleri için, %50 yaprak ve %50 dış brakte fraksiyonlarının karıştırılması ve mikrodalga ekstraksiyon işlemlerinin bu karışımlara yapılması uygun bulunmuştur.

Tezin ilerdeki kısımlarında ‘enginarın yenemeyen kısımları’ ifadesi, Bayrampaşa ve Sakız genotipleri için, %50 yaprak ve %50 dış brakte karışımını temsil etmektedir.

Enginar yaprak ve brakte karışımı için aynı mikrodalga ekstraksiyon prosedürü uygulanmıştır. Elde edilen ekstraktlarda TFM ve toplam antioksidan aktivite (DPPH ve CUPRAC) analizleri yapılmıştır. Tüm mikrodalga ekstraksiyon deneyleri üç kez tekrarlanmıştır. Ekstraksiyon verimi (**Denk.11**)’e göre hesaplanmıştır.

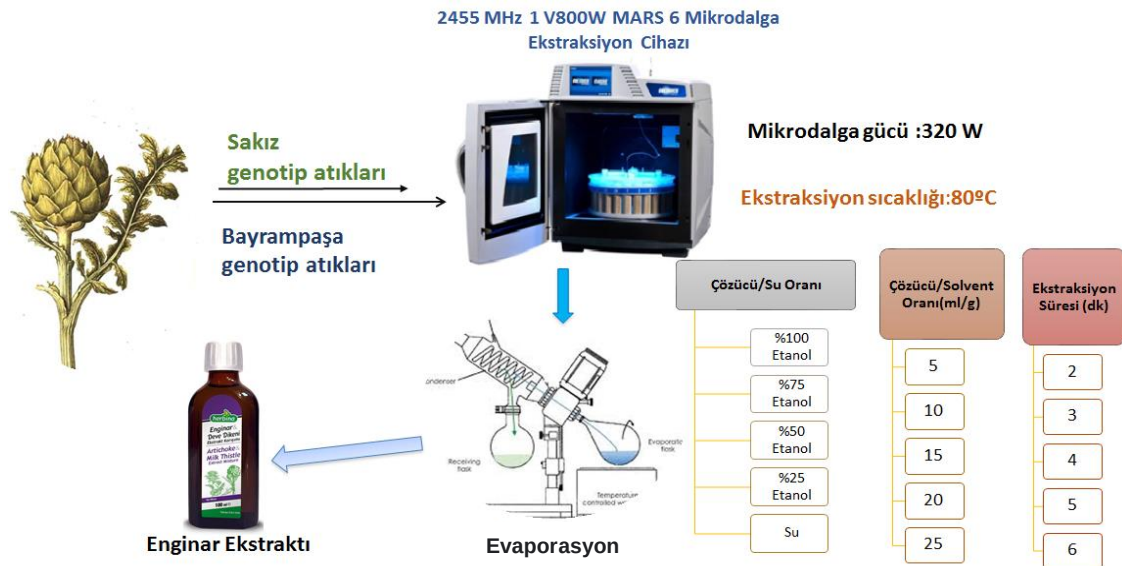
$$\text{Verim \%} = (\text{MDE} / \text{AFE}) \times 100 \quad (11)$$

MDE: Mikrodalga destekli ekstraksiyon kullanılarak belirlenen TFM, DPPH, CUPRAC antioksidan aktivitesi;

AFE (Avrupa Farmakop Ekstraksiyonu) ise, Stumpf vd. (2019)’a göre ekstraksiyon prosedürü kullanılarak belirlenen TFM, DPPH, CUPRAC antioksidan aktivitesidir.

2.2.4 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyon Sürecinin Merkezi Kompozit Tasarım Kullanılarak Modellenmesi

Enginar dış brakte ve yaprak karışımının mikrodalga ekstraksiyon işlemini optimize etmek için beş seviye ve üç bağımsız değişken uygulanmıştır. Üç bağımsız değişken ve seviyeleri, ekstraksiyon süresi: 2-6 dakika, çözücü/katı oranı:hacimce 5-25 ve etanol/su oranı: 0-100 mL/mL olarak belirlenmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Mikrodalga ekstraksiyon merkezi kompozit tasarım metodu.

Çizelge 2.2 : Yanıt yüzey analizinde kullanılan deneysel değişkenlerin seviyeleri.

Bağımsız Değişkenler	Kod	Değişim	Değişkenlerin seviyesi				
			-2	-1	0	+1	+2
Çözücü/Katı oranı (mL/g)	A	5-25	5	10	15	20	25
Ekstraksiyon süresi (dakika)	B	2-6	2	3	4	5	6
Etanol/su oranı (mL/mL)	C	0-100	0	25	50	75	100

Proses değişkenleri ve yanıtları için deneysel tasarım matrisi Çizelge 2.2’de listelenmiştir. Düzeltilmiş bir belirleme katsayısı, belirleme katsayısı, %95 güven aralığında olasılık değeri, öngörülen R^2 , varyasyon katsayısı, lack of feet değeri ve varyans (ANOVA) analizi istatistiksel gösterge olarak kullanılmıştır. Enginar genotiplerinin dış brakte ve yaprak karışımının mikrodalga ekstraksiyonuna yönelik optimum koşulların belirlenmesi için yanıt yüzeyi metodu kullanılmıştır. Yanıt yüzey metodu, Design Expert yazılımı (Sürüm 11.0.0, Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bağımlı değişkenler (TFM, DPPH Antioksidan aktivite, CUPRAC Antioksidan aktivite) üzerindeki üç bağımsız değişkenin (çözücü/katı oranı, ekstraksiyon süresi ve etanol/su oranı) etkilerini araştırmak için merkez kompozit tasarım kullanılmıştır. Belirlenen model genellikle, ikinci dereceden model denklemlerin (**Denk.12**)’deki açıklanmasında ve tasarımında kullanılır.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^3 \sum_{j=1, i < j}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (12)$$

Y’nin öngörülen yanıt olduğu durumlarda, X_i ve X_j bağımsız değişkenler, β_0 sabit katsayısı, β_i doğrusal terimlerin regresyon katsayısı, β_{ii} : ikinci dereceden terimlerin regresyon katsayısı, i ve j değişkenlerinin etkileşim katsayısıdır. Yazılım bu ikinci dereceden modeli yanıt yüzey grafiğini oluşturmak için kullanır.

Modelin doğruluğu yazılım tarafından ortaya konulan varyans analizi (ANOVA) sonuçları, Fisher test değeri (F değeri) ve belirleme katsayısı (R^2) incelenerek tespit edilmiştir. Üç boyutlu yanıt yüzey grafiğinde, bir tepki değişkeni optimal düzeyde tutularak ve iki faktöre (bağımsız değişkenler) göre çizilerek kontur grafikleri belirlenmiştir.

2.2.5 Enginarın Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyon Sürecinin Kinetik Modellenmesi

Çalışmada, TFM, DPPH ve CUPRAC analizinin deneysel verileri ile enginarın yaprak ve brakte karışımının mikrodalga ekstraksiyon süreçlerini değerlendirmek için dört matematiksel model kullanılmıştır. Deneysel verilere en uygun matematiksel modeli belirlemek için 1. dereceden kinetik model, 2. dereceden kinetik model, Peleg'in modeli ve Page'in modeli tanımlanmış ve modeller karşılaştırılmıştır.

1. dereceden kinetik model, bitkiler için kinetik ekstraksiyonda kullanılır [116]. Bu nedenle model, karışım ekstraktlerinin TFM, CUPRAC ve DPPH değerlerinin MDE kinetik modelini tanımlamak için kullanılmıştır.

Fick yasasına dayanan kinetik bir yaklaşım **(Denk.13)**'de gösterildiği şekilde tanımlanabilir:

$$dC_t/dt = k(C_e - C_t) \quad (13)$$

Burada C_t : sıvıdaki çözünen konsantrasyon (mg/g), C_e : sıvı fazda (mg/g) dengedeki çözünen konsantrasyonu, k : kütle transfer katsayısını (1/dakika) ve t : ekstraksiyon süresini (dakika) temsil etmektedir.

2. dereceden kinetik model denklemi, katı-sıvı ekstraksiyon kinetiği için kullanılmıştır [116]. 2. dereceden oran, **(Denk.14)**'de gösterildiği gibi tanımlanabilir:

$$dC_t/dt = k(C_e - C_t)^2 \quad (14)$$

Burada dC_t/dt : ekstraksiyon hızı (mg/gdakika), k : ekstraksiyon işleminin hız sabiti (g/mgdakika), C_t : sıvıdaki çözünen konsantrasyon (mg/g), C_e : sıvı fazda (mg/g) dengede çözünen konsantrasyon ve t : ekstraksiyon süresi (dakika) olarak ifade edilmiştir. Başlangıç ekstraksiyon hızı h , $k.C_e^2$ 'ye eşittir [116].

Peleg modeli katı-sıvı ekstraksiyonunun kinetik davranışını açıklamak için kullanılmıştır [118]. Peleg modelin eşitliği **(Denk.15)**'deki gibidir:

$$C_t = t/(k_1 + k_2 t) \quad (15)$$

C_t : çözünen madde konsantrasyonu (mg/g), t : ekstraksiyon süresi (dakika), k_1 : Peleg'in hız sabiti (dakikag/mg) ve k_2 : Peleg'in kapasite sabitidir (g/mg).

Page's modeli katı sıvı ekstraksiyon işleminde yaygın olarak kullanılmaktadır [118].

Page's model denklemi, **(Denk.16)**'da belirtildiği gibi tanımlanabilir:

$$C_t = \exp(-kt^n) \quad (16)$$

Burada; C_t (mg/g): t ekstraksiyon süresinde çözünen madde konsantrasyonu, k (mg/g): page sabiti, t (dakika): ekstraksiyon süresidir.

2.2.6 Avrupa Farmakopesi Ekstraksiyonu

500 mg enginar örneği vakumlu evaporatör (Heidolph marka) kullanılarak atmosferik basınçta, geri akış altında %100 metanol ile 1 saat boyunca ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyondan sonra, ekstrakt fazları Whatman No. 1 filtre kağıdından süzölmüş ve ham ekstraktlar, analiz edilinceye kadar amber şişelerde -18°C 'de saklanmıştır. Tüm deneyler üç tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Ekstrakt faz, vakum evaporatörde konsantre edilmiştir.

2.3 Enginar Genotiplerinin Yenebilen Kısımlarına Uygulanan Pişirme Yöntemleri

Tez çalışmasının ikinci bölümü olan bu kısımda, enginarın yenebilir olan kalp kısmının uygun pişirme yönteminin belirlenmesi için farklı pişirme teknikleri ile pişirilmiştir. Pişen kısımların TFM ve toplam antioksidan aktivite (DPPH ve CUPRAC) analizleri ile biyoaktif bileşenlerinin analizleri yapılmıştır. Tezin bu kısmında kullanılan 'enginarın yenebilir kısmı' ifadesi enginar kalbini temsil etmektedir.

2.3.1 Haşlama Yöntemi

Kaynamakta olan suyun içine önceden soyulmuş olan Bayrampaşa ve Sakız genotiplerine ait kalp kısımları konulmuştur. 1 kg enginar kalbi /5 kg su oranı ile haşlama işlemi yapılmıştır. Kısık ateşte yaklaşık 15 dakika boyunca enginar kalpleri pişirilmiştir. Pişirme sonrasında enginar kalpleri süzölerek 10 dakika soğumaya bırakılmıştır. Her deneme 3 tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Denemelerde kullanılan pişmiş enginar örnekleri analiz yapılıncaya kadar -18°C 'de vakum ambalaj içinde saklanmıştır [119].

2.3.2 Fırında Pişirme Yöntemi

Önceden 170°C 'ye ısıtılmış fırına oda sıcaklığındaki Bayrampaşa ve Sakız tiplerine ait enginar kalpleri fırın tepsisine yerleştirilerek konulmuş ve 170°C 'de 20 dakika pişirilmiştir. Pişirme sonrasında enginar kalpleri 10 dakika soğumaya bırakılmıştır. Her deneme 3 tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Numuneler analiz yapılıncaya kadar -18°C 'de vakum ambalajı içinde saklanmıştır [119].

2.3.3 Mikrodalgada Pişirme Yöntemi

Bayrampaşa ve Sakız tiplerine ait enginar kalpleri 1 L'lik beherlere (enginar kalbi/su, 1/1) konularak mikrodalga fırında 12,5 dakika süresince 800 W'de pişirilmiştir. Pişirme sonrasında enginar kalpleri süzülerek 10 dakika soğumaya bırakılmıştır. Her deneme 3 tekrar halinde gerçekleştirilmiştir. Numuneler analiz yapılncaya kadar -18°C'de vakum ambalajı içinde saklanmıştır.

2.4 Analiz Metotları

2.4.1 Kuru Madde Analizi

Sabit tartıma getirilen ve daraları alınmış kurutma kaplarına, 1-2 g örnek tartılarak konulmuş, 105°C'deki etüvde (Nüve FN300, Türkiye) örnekler sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Kurutma sonrasında örnekler desikatöre alınarak, oda sıcaklığına kadar soğutulmuş ve ağırlıkları belirlenerek, **(Denk.17)**'deki formül yardımıyla % kuru madde miktarları belirlenmiştir [120].

$$\% \text{ KM} = [(G2 - G) / (G1 - G)] \times 100 \quad (17)$$

% KM : Örneğin kuru madde yüzdesi

G : Tartım kabının darası

G1 : Örnek + Tartım kabının darası

G2 : Kurutma sonrası kuru örnek + Tartım kabının darası

2.4.2 Toplam Fenolik Madde Analizi İçin Örnek Hazırlama

Bayrampaşa ve Sakız enginarlarının yenemeyen kısımları ile yenebilir kısımları kurutulup toz haline getirilmiştir. Örneklerden 3 g alınarak 25 mL saf metanolle 2 dakika homojenize edilmiş, daha sonra bir gece 4°C bekletilmiştir. Ertesi gün santrifüjde 10.000 rpm devirde 20 dakika santrifüj yapılmış üstte biriken faz renkli amber şişelere pastör pipetiyle toplanarak analiz anına kadar -20°C muhafaza edilmiştir. Hazırlanan bu ekstraktlar hem toplam fenolik madde miktarı hem de antioksidan aktivite analizinde kullanılmıştır [123].

2.4.3 Toplam Fenolik Madde Analizi

Toplam fenolik madde miktarı; Folin-Ciocalteu yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Daha önce hazırlanan ve -20°C'de muhafaza edilen numunelerden alınan 150 µL ekstrakta, 2400 µL saf su, 0,25 N 150 µL Folin Ciocalteu çözeltisi ilave

edilerek 4 dakika vortekste karıştırılmıştır. Bu karışım üzerine 1N 300 µL sodyum karbonat (Na_2CO_3) ilave edilerek oda sıcaklığında 2 saat bekletilmiş, daha sonra örneklerin absorbansı Hitachi marka spektrofotometrede 725 nm dalga boyunda okunmuştur. Gallik asitin farklı konsantrasyonlarında (mg/mL) hazırlanan standart çözelti ile kalibrasyon eğrisi çizilmiş ve elde edilen formülden, örneklerin absorbans sonuçları gallik asit eşdeğerinde mg/100 g kuru madde olarak hesaplanmıştır [123].

2.4.4 Antioksidan Aktivite Analizi

2.4.4.1 DPPH analizi

Örneklerin antioksidan aktiviteleri DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) metodu uygulanarak analiz edilmiştir. Stok çözeltisi; 0,12 mg DPPH tartılarak 50 mL'lik balon jojede çözündürülüp -20°C 'de muhafaza edilmiştir. Çalışma solüsyonu; 10 mL stok çözeltiye 45 mL metanol ilave edilerek spektrofotometrede 515 nm dalga boyunda $1,1 \pm 0,02$ absorbans değeri okunarak elde edilmiştir. Daha önce hazırlanan ve -20°C 'de muhafaza edilen numunelerden alınan 150 µL ekstrakta 2850 µL DPPH solüsyonu ilave edilerek 24 saat karanlıkta bekletilmiştir. Hitachi marka spektrofotometrede 515 nm dalga boyunda okuma yapılmış ve 0,1 ve 0,4 mg/mL Trolox standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi yardımıyla örneklerin antioksidan aktiviteleri mg/100 g Trolox eş değeri olarak hesaplanmıştır [123].

2.4.4.2 CUPRAC (Copper Reducing Antioxidant Capacity) analizi

CUPRAC (Copper Reducing Antioxidant Capacity) analizi yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. 100 µL ekstrakt 1'er mL, 10 mM CuCl_2 , 7,5 mM neocuproin ve 1 M $\text{NH}_4\text{CH}_3\text{CO}_2$ (pH 7) ile karıştırılmıştır. Hemen son hacmini 4,1 yapmak için karışım 1 mL damıtılmış su eklenmiştir. Oda sıcaklığında 60 dakika bekletildikten sonra, 450 nm'de absorbans boş bir reaktife karşı okunmuş ve 0,1 ile 4 mg/mL Trolox standardı ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi ile örneklerin antioksidan aktiviteleri mg/100 g Trolox eş değeri olarak hesaplanmıştır [124].

2.4.5 Biyoaktif Bileşen Analizi İçin Örnek Hazırlaması

Bayrampaşa ve Sakız enginarlarının yenemeyen kısımları ile yenebilir kısımlarına ait örnekler üzerlerindeki kaba kirlerin giderilmesi amacıyla şehir şebeke suyuyla iki kez yıkanmış ve ardından süzülmüştür. Enginar kısımlarından oluşan örnekler sıvı azot kullanılarak havanda parçalanmıştır. Enginar parçalarından 4 g tartılmış, 200 mL

etanol/su: 50/50 (v/v) karışımı ile 70°C’de 1 saat süreyle çalkalamalı su banyosunda muamele edilerek fenolik bileşenler ekstrakte edilmiştir. Çözücü ekstrakt karışımı Whatman No. 40 filtre kâğıdı üzerinden süzölmüş ve ardından vakum altında döner buharlaştırıcıda alkol uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan ekstrat faz, analiz işlemlerine kadar -18°C’de depolanmıştır [121].

2.4.6 Biyoaktif Bileşen Analizi

Bayrampaşa ve Sakız enginarlarının yenemeyen kısımları ile yenebilir kısımlarından elde edilen ekstrakt fazlarda bulunan fenolik bileşikler, HPLC (HPLC 1100, Hewlett-Packard, Waldbronn, Germany) cihazı kullanılarak belirlenmiştir [122].

Kolon: A Phenomenex prodigy (ODS3, 2,6 µm, 100A, 150×4,6 mm, 00F-4477-E0)

- Dedektör: HP 1100 model Diod Array (DAD) dedektör
- Dalga boyu: 320 nm ve 335 nm dalga boyunda ölçüm yapılmıştır.
- HPLC Mobil faz çözeltileri:
 - Solvent A= %0,2 Fosforik asit: Su
 - Solvent B= Asetonitril
- Mobil faz akış hızı: 0,6 mL/dakika
- Enjeksiyon hacmi: 10 µL
- Kolon sıcaklığı: 27°C

Çalışmada standart maddeler; klorojenik asit, sinarin (1,3-dikaffeoilkinik asit), luteolin 7-glukozit, luteolin, sirinjin, rhoifolin (apigenin-7-O-neohedperidoside)’dir. Uygulanan gradyan programı Çizelge 2.3’de verilmiştir.

Çizelge 2.3 : HPLC gradient programı.

Zaman (dakika)	A %	B %
0	94	6
10	15	75
15	17	72
20	20	80
25	20	80
30	15	75
40	10	90
50	6	94

2.4.7 İstatiksel Analiz

Deneme planı ‘Tasadüf Parselleri Deneme Desenine göre 3 tekerrürlü olarak yapılmıştır. Varyans analizi ile uygulamalar arasında anlamlı bir fark olup olmadığına bakılmıştır. Uygulamalar arasında anlamlı bir fark bulunduğunda uygulamalar çoklu karşılaştırma prosedürlerinden Fischer’in LSD testi ile test edilerek değerlendirilmiştir. Anlamlılık değeri 0,05 olarak alınmıştır. Analizler JMP istatistik paket programı kullanılarak yapılmıştır.



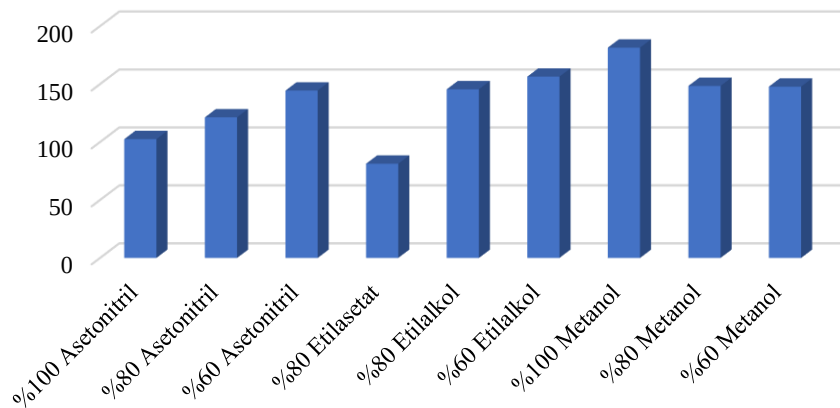
3. TARTIŞMA ve SONUÇ

3.1 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Optimizasyonu, Kinetik Çalışmaları ve Biyoaktif Bileşenlerin İncelenmesi

Bayrampaşa ve Sakız enginar genotiplerinin yenemeyen kısımları olan iç brakte, dış brakte, yaprak ve sapları ile yenebilir kısmı olan kalp kısımlarının toplam fenolik madde miktarı, DPPH ve CUPRAC toplam antioksidan aktiviteleri ile biyoaktif bileşenleri belirlenmiştir. Bu kısımdan elde edilen sonuçlardan yola çıkarak, enginarların yaprak ve dış brakte kısımları paçal hale getirilmiş, bu kısımların sahip olduğu yüksek orandaki biyoaktif bileşenlerin elde edilmesi amacıyla mikrodalga ekstraksiyon optimizasyonu yanıt yüzey yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga ekstraksiyon sürecinin kinetik süreci dört farklı model kullanılarak incelenmiştir.

3.1.1 Enginar Genotiplerinden Polifenollerin Farklı Çözücülerle Solvent Ekstraksiyonunun Değerlendirilmesi

Enginar genotiplerinin polifenolik bileşenlerinin ekstraksiyonu için en uygun solventin belirlenmesi amacıyla, farklı solventler kullanılarak çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda asetonitril, etilasetat, etil alkol ve metil alkol kullanılarak enginar ekstraksiyonları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstrakt fazdaki toplam fenol miktarı (TFM) belirlenmiştir. Çalışmada en yüksek TFM içeriğine sahip enginar ekstraktı %100 metanol kullanılarak 181,54 mg/100 GAE elde edilmiştir (Şekil 3.1).

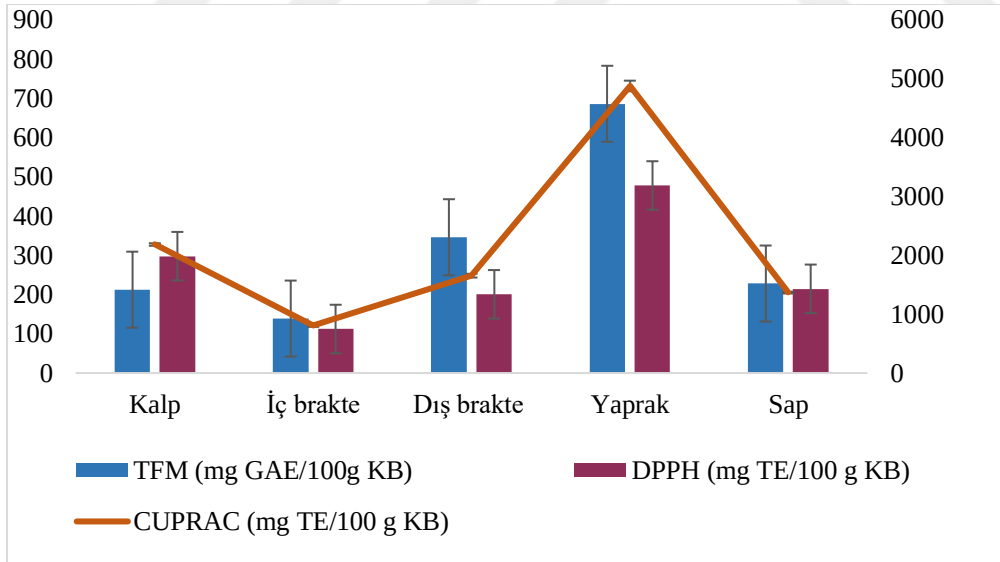


Şekil 3.1 Farklı solvent ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarının TFM miktarı.

Literatürde, enginar bitkisinin çiçek açma öncesi ve sonrasında sahip olduğu polifenol ve klorojenik asit içerikleri farklı çözeltiler kullanarak (%80 metanol, %60 metanol, %40 metanol, %50 etanol, %70 etanol ve su) belirlenmiştir. Çalışmada en yüksek verim %60 metanol çözeltisi ile elde edilirken, klorojenik asit değeri enginar tablasında 2,0 g/100 g, taç yapraklarında 1,1 g/100 g, yaprak kısmında ise 3,3 g/100 g değerleri tespit edilmiştir [125]. Bu çalışma, sunulan tezde elde edilen sonucu destekler niteliktedir.

3.1.2 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen ve Yenebilir Kısımlarının Fenolik İçeriklerinin Belirlenmesine Ait Değerlendirmeler

Tez çalışmasında incelenen Bayrampaşa ve Sakız enginarlarının yenemeyen kısımları ile yenebilir kısımlarının TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivite değerlerinin istatistiksel olarak değerlendirilmiş verileri Çizelge 3.1’de sunulmuştur. Bayrampaşa enginar genotipinin TFM içerikleri incelendiğinde kalp, iç brakte, dış brakte ve sap kısımlarındaki değerleri sırasıyla 212,37, 138,75, 346,74 ve 228,22 mg GAE/100 g olarak belirlenmiştir. Şekil 3.2’de Bayrampaşa enginar genotipinin farklı kısımlarındaki TFM, DPPH ve CUPRAC değerlerine ait grafik verilmiştir.



Şekil 3.2 Bayrampaşa enginar genotipinin tüm kısımlarındaki TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri.

Bu grafik incelendiğinde, Bayrampaşa enginar genotipindeki TFM içeriği yaprak kısmında 685,90 mg GAE/100 g değerinde bulunurken, bu değerin diğer kısımlardan önemli derece yüksek olduğu görülmektedir. DPPH antioksidan aktivite değerleri Şekil 3.2’de gösterildiği gibi TFM değerlerine benzer sonuçlar göstermiştir.

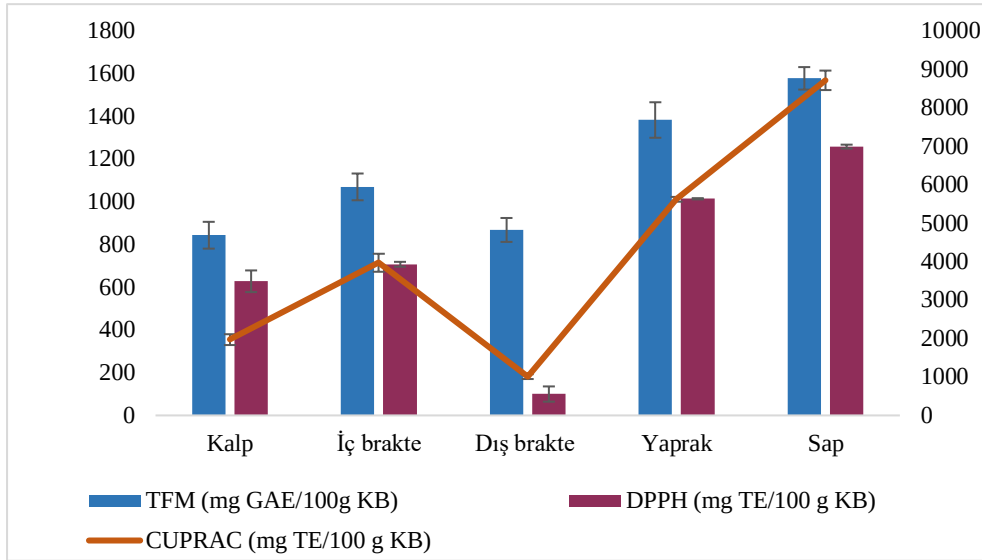
Bayrampaşa enginarının DPPH değerleri; kalp, iç brakte, dış brakte, yaprak ve sapta sırasıyla 297,73, 112,2, 200,57, 477,82 ve 214,56 mg TE/100 g olarak bulunmuştur (Çizelge 3.1).

Bayrampaşa genotipindeki CUPRAC antioksidan değerleri kalp, iç brakte, dış brakte ve sap kısmında sırasıyla; 2.183,80, 807,85, 1.653,68, ve 1.366,38 mg TE/100 g olarak belirlenmiştir. Bayrampaşa enginar genotiplerinin yaprakları 4.875,19 mg TE/100 g ile diğer kısımlara göre önemli ölçüde yüksek CUPRAC antioksidan aktivite göstermiştir.

Çizelge 3.1 : Enginar genotiplerine ait tüm kısımların TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri.

Enginar Genotipi	Kısım	TFM (mg GAE/100 g KB)		DPPH	CUPRAC	
				Antioksidan Aktivite (mg TE/100 g KB)	Antioksidan Aktivite (mg TE/100 g KB)	
Bayrampaşa Genotipi	Kalp	212,38±17,60	c	297,73±4,20	b	2.183,80±21,80
	İç Brakte	138,75±10,51	d	112,20±4,10	d	807,85±23,19
	Dış Brakte	346,74±3,16	b	200,57±13,94	c	1.653,68±32,75
	Yaprak	685,90±5,59	a	477,82±16,81	a	4.875,19±70,40
	Sap	228,22±9,99	c	214,56±12,95	c	1.366,38±15,20
CV		3,46		7,22		2,12
Sakız Genotipi	Kalp	844,02±62,77	d	628,38±50,71	d	808,69±14,07
	İç Brakte	1070,45±62,68	c	707,96±11,37	c	1.628,78±23,45
	Dış Brakte	868,77±56,06	d	100,17±35,75	e	413,94±62,75
	Yaprak	1.383,65±83,11	b	1.014,75 ±2,86	b	2.305,71±62,12
	Sap	1.578,88±52,67	a	1.259,11±0,92	a	3.574,90±25,35
CV		5,57		3,77		9,7

Sakız enginar genotipindeki TFM değerleri kalp, iç brakte, dış brakte, yaprak kısımlarında sırasıyla; 844,02, 1.070,45, 868,77, 1.383,65 GAE/100 g olarak bulunmuştur. Sakız enginar genotipinde en yüksek TFM miktarı sap kısmında 1.578,88 GAE/100 g olarak belirlenmiştir. Sakız enginarında DPPH antioksidan aktivite değerleri, kalp, iç brakte, dış brakte, yaprak ve sap değerleri sırasıyla; 628,38, 707,96, 100,17, 1.014,75 ve 1.259,11 mg TE/100 g olarak belirlenirken diğer kısımlara göre yaprak ve saptaki DPPH antioksidan aktivite değerleri daha yüksek bulunmuştur (Şekil 3.3). Sakız enginarının tüm kısımlarında CUPRAC değerlerinin değişimi ile TFM değerleri arasında paralellik olduğu görülmüştür. Sakız enginarının CUPRAC antioksidan aktivite değeri en düşük dış brakte 413,94 mg TE/100 g olarak belirlenirken, en yüksek sap kısmında 3.574,90 mg TE/100 g olarak bulunmuştur.



Şekil 3.3 Sakız enginar genotipinin tüm kısımlarındaki TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri.

Sakız enginar genotipinin TFM, DPPH ve CUPRAC verileri arasında ($R^2 > 0,95$) önemli korelasyon olduğu gözlenmiştir, enginarın içeriğindeki yüksek polifenolik bileşik seviyelerinin, toplam antioksidan kapasitelerini etkilediği belirtilmiştir [10]. Tunus Bölgesinde yapılan çalışmada [126] yaygın olarak tüketilen enginarın farklı kısımlarının fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri incelendiğinde, en yüksek yaprak kısmında görülürken, en düşük çiçek kısmında (tohum kısmına göre 3,5 kat daha düşük) bulunmuştur. Tüm organların, 7,5 ve 15 mg GAE/g aralığında yüksek polifenol içeriğine sahip olduğu belirlenmiştir. İtalya’da yapılan başka bir çalışmada 5 farklı enginar tipinin (Cardoon, Bianco, Violet, Tondo, C3, Aquara) farklı organlarının TFM içeriği incelendiğinde, enginar çeşitleri ve çeşitlerine ait organların içerikleri arasında farklılıklar olduğu görülmüştür. TFM içeriği Cardoon’da en düşük bulunurken, en yüksek C3, Aquara ve Tondo di Paestum çeşitlerinde görülmüştür. En yüksek TFM iç brakte ve yaprak kısımlarında görülürken, en düşük dış brakte kısmında bulunmuştur [23]. Tunus’ta yapılan başka bir çalışmada iki farklı çeşit enginarın (Blanc d’Oran ve Violet d’Hyères) TFM içeriği sırasıyla 60 ve 73 mg GAE/100 g, DPPH antioksidan aktivite yöntemine göre 0,48 ve 0,56 mmol TE/kg değerleri belirlenmiştir [127]. Yine Tunus’ta yapılan başka bir çalışmadan 6 farklı enginar çeşidin (Bahra, Tiwirif, Wad mliz, Zriba, Bouficha ve Enfidha) sap kısmındaki TFM 1,49-8,5 mg GAE/g KM değer aralığında tespit edilirken, DPPH antioksidan yöntemi kullanılmış IC_{50} değeri ise 3-12 aralığında bulunmuştur [128]. Farklı bir çalışmada, 5 farklı enginar çeşidin polifenol içeriğini incelemiş, TFM içeriği 7,31-

13,05 mg klorojenik asit eşdeğeri/g olarak tespit edilmiştir [129]. Enginaradaki polifenol içeriğinin yüksek olmasının Asteraceae familyasının özelliği olduğu belirtilmiştir. Bu polifenoller gibi ikincil metabolitlerin biyosentezinin uyarılmasının, Asteraceae ait doğal habitatının (sıcaklık, yüksek güneşe maruz kalma, kuraklık, tuzluluk) sert iklim koşulları ile ilgili olduğu belirtilmiştir [24]. Bitkinin fenolik içeriğinin içsel (genetik) ve dışsal (çevresel, taşıma ve depolama) faktörlere önemli derece bağlı olduğu bulunmuştur [129].

3.1.3 Bayrampaşa Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Merkezi Kompozit Tasarımı

Enginarın artık olarak ortaya çıkan yenemeyen kısımlarının, fonksiyonel ürünler elde edilmesi amacıyla, enginar ekstraktı olarak üretimi önem arz etmektedir. Mikrodalga ekstraksiyonu çok kısa süreye ve daha az solvente ihtiyaç duyan, yüksek verimli bir ekstraksiyon yöntemidir. Mikrodalga ekstraksiyon verimliliği biyoaktif bileşiklerin özelliklerine bağlı olarak değiştiği için ekstraksiyon koşullarını seçmek ve optimize etmek önemlidir. Ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu, bağımsız faktörler arasındaki etkileşimin anlaşılmasına ve ekstraksiyon için optimal parametrelerin elde edilmesine yardımcı olur [59, 143].

Merkezi kompozit tasarım matrisine göre doğrusal, iki faktörlü etkileşimli (2FI), ikinci dereceden ve kübik modellerin regresyon ve istatistik değerleri Çizelge 3.2’de verilmiştir. Yapılan tez çalışmasında, Bayrampaşa genotipinin MDE yöntemiyle optimizasyon çalışmasında TFM, DPPH ve CUPRAC cevaplarına göre ikinci dereceden model istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. İkinci dereceden modelin sıralı p değeri $<0,0001$, R^2 0,90 değerininin üzerinde olduğu tespit edilmiştir. Bayrampaşa genotipinin, ikinci dereceden model yanıtları ile bağımsız süreç değişkenleri arasındaki ilişkinin tanımlanmasında R^2 değerleri TFM için 0,99; DPPH için 0,96; CUPRAC için 0,97 olarak belirlenmiştir. İkinci dereceden modellerin düzeltilmiş- R^2 ve tahmin edilen- R^2 değerleri arasındaki farklar, kübik modelden önemli ölçüde daha düşük olduğundan, Bayrampaşa enginar genotipinin MDE’sinin modellenmesi için ikinci dereceden model uygun model olarak seçilmiştir.

Çizelge 3.2 : Bayrampaşa enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının regresyon istatistik modelleri.

	Sıralı p-değeri	Lack of fit p- değeri	Ayarlanmış R ²	Tahmin edilmiş R ²	
TFM					
Doğrusal	0,1799	<0,0001	0,1175	-0,1718	
Etkileşimli (2FI)	0,8851	<0,0001	-0,0350	-0,3072	
İkinci dereceden	<0,0001	0,1037	0,9905	0,9668	Önerildi
Kübik	0,3839	0,0461	0,9913	0,6718	
DPPH					
Doğrusal	0,2402	0,0005	0,0800	-0,2577	
Etkileşimli (2FI)	0,5620	0,0004	0,0274	-0,2880	
İkinci dereceden	<0,0001	0,2354	0,9650	0,9266	Önerildi
Kübik	0,2167	0,2859	0,9605	0,4180	
CUPRAC					
Doğrusal	0,5245	0,0002	-0,0367	-0,3884	
Etkileşimli (2FI)	0,3779	0,0002	-0,0145	-0,2497	
İkinci dereceden	<0,0001	0,3426	0,9745	0,9664	Önerildi
Kübik	0,1858	0,9843	0,8760	0,8891	

Regresyon denklemlerinin istatistiksel önemi, yanıt yüzeyi metodolojisi için ANOVA ve Fisher'in F-test değeri (f-değeri) ile incelenmiştir (Çizelge 3.3). Bağımsız değişkenler ve cevaplar arasındaki ilişki ikinci dereceden model ile ifade edilmiştir (TFM için (**Denk.18**), DPPH için (**Denk.19**) ve CUPRAC için (**Denk.20**)):

$$\text{TFM} = 561,48 + 88,19A - 16,31B + 20,94C + 27,13AB + 22,88AC - 32,37BC - 71,89A^2 - 31,01B^2 - 111,14C^2 \quad (18)$$

$$\text{DPPH} = 799,52 + 114,62A - 11,00B + 58,12C - 7,00AB + 55,25AC - 114,25BC - 91,36A^2 - 35,49B^2 - 162,74C^2 \quad (19)$$

$$\text{CUPRAC} = 1.010,59 + 98,75A + 21,62B + 56,62C - 22,50AB + 79,75AC - 176,00BC - 125,08A^2 - 67,08B^2 - 194,95C^2 \quad (20)$$

Çizelge 3.3 : Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonuna ait ANOVA analizi ve F testi verileri.

Kaynak	df	TFM			DPPH			CUPRAC		
		Karelerin Toplamı	f-değeri	p-değeri	Karelerin Toplamı	f-değeri	p-değeri	Karelerin Toplamı	f-değeri	p-değeri
Model	9	5,26E+05	220,7	<0,0001	1,15E+06	37,31	<0,0001	1,66E+06	57,97	<0,0001
A	1	1,24E+05	470,2	<0,0001	2,10E+05	61,5	<0,0001	1,56E+05	49,06	<0,0001
B	1	4.257,56	16,09	0,0025	1.936	0,57	0,4691	7.482,25	2,35	0,1561
C	1	7.014,06	26,5	0,0004	54.056,25	15,81	0,0026	51.302,25	16,13	0,0025
AB	1	5.886,13	22,24	0,0008	392	0,11	0,7419	4.050	1,27	0,2854
AC	1	4.186,13	15,82	0,0026	24.420,5	7,14	0,0234	50.880	16	0,0025
BC	1	8.385,12	31,69	0,0002	1,04E+05	30,55	0,0003	2,48E+05	77,93	<0,0001
A ²	1	1,30E+05	490,97	<0,0001	2,10E+05	61,39	<0,0001	3,93E+05	123,69	<0,0001
B ²	1	24180	91,37	<0,0001	31.666	9,26	0,0124	1,13E+05	35,58	0,0001
C ²	1	3,11E+05	1.173,48	<0,0001	6,66E+05	194,79	<0,0001	9,56E+05	300,5	<0,0001
Residual	10	2.646,38			34.185,07			31.800,59		
Lack of Fit	5	2.042,38	3,38	0,1037	22.721,57		0,2354	18.795,26	1,54	0,348

df: Serbestlik derecesi

A, B ve C sırasıyla bir çözücü/katı oranı (mL/g), ekstraksiyon süresi (dakika), etanol/çözücü oranı (mL/mL) olarak ifade edilmiştir (Çizelge 3.3). AB, AC, BC ve A², B², C² gibi denklem terimleri, sırasıyla iki bağımsız değişkenin etkileşimini ve bağımsız değişkenlerin kare etkisini tanımlar. Bağımsız değişkenler, iki bağımsız değişkenin etkileşimlerini ve bağımsız değişkenlerin karesel etkilerini enginarın yaprak ve brakte karışımının TFM, DPPH ve CUPRAC profilleri üzerindeki etkileri (**Denk.18**), (**Denk.19**) ve (**Denk.20**) 'de göstermiştir.

ANOVA testi ile Bayrampaşa genotipinin yaprak ve dış brakte paçal karışımının MDE optimizasyonunun cevapları, TFM, DPPH ve CUPRAC değişkenlerine ait p ve f değerleri kullanılarak, ikinci dereceden modelin istatistiksel anlamlılığı değerlendirilmiştir. ANOVA'da p değeri <0,05 olan ve yüksek f değeri olan bir model uygun olarak kabul edilmektedir [143]. İkinci dereceden model için TFM, DPPH ve CUPRAC'a ait p ve f değerleri Çizelge 3.3'de verilmiştir. DPPH ve CUPRAC sonuçlarının çözücü/katı oranı (mL/g) ve ekstraksiyon süresinin(dakika) interaksyonu (AB) ile ekstraksiyon süresi (B) hariç tüm p değerleri 0,003'ten daha küçük bulunmuştur. Ayrıca tüm f değerleri TFM, DPPH ve CUPRAC'a ait modeller için 7'den büyük bulunmuştur. Düşük p değerleri ve yüksek f değerleri, ikinci dereceden modelin anlamlı olduğunu ve TFM, DPPH ve CUPRAC verileri için yanıt ve bağımsız değişkenler arasında iyi bir ilişki olduğunu göstermiştir. Ayrıca model değişkenlerinin en düşük hesaplanan p değeri veya en yüksek hesaplanan f değeri, yanıt üzerinde en

etkili değişkenleri göstermiştir. Dolayısıyla, TFM için A, B, C, A², B², C², AB, AC ve BC; DPPH için A, C, AC, BC, A², B² ve C²; ve CUPRAC için A, C, AC, BC, A², B² ve C² dikkate değer değişkenlerdir. Ayrıca f değerlerine göre TFM, DPPH ve CUPRAC için en etkili model değişkenleri çözücü/katı oranı (mL/g) (A) ve etanol/su oranı (mL/mL) (C) olarak bulunmuştur. Bayrampaşa enginarının yaprak ve dış brakte karışımının MDE'sinin yanıt üzerinde en etkili değişkenlerin sıralaması; TFM için C²>A²>A>B²>BC>C>AB=AC>B; DPPH için C²>A²=A>BC>C>B²>AC; ve CUPRAC sonuçları için C²>A²>BC>A>B²>C=AC olarak bulunmuştur.

Enginar bitkisine ait yenemeyen kısımların en büyük oranını yaprak ve dış brakte kısmı oluşmaktadır. Bu yüzden bu iki karışımın içeriğindeki biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunu değerlendirmek önemli grlmştir. Biyoaktif bileşenleri elde etmek için mikrodalga ekstraksiyona ait ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu birkaç önemli bağımsız değişkene bağlıdır. Bu nedenle, çözücü/katı oranı (mL/g), ekstraksiyon süresi (dakika) ve etanol/su oranı (mL/mL) etkileri incelenmiştir.

3.1.4 Bayrampaşa Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Yüzey Yanıt Yöntemi

Merkezi kompozit tasarım kullanılan bağımsız değişkenler ve deneysel cevaplar izelge 3.4'de verilmiştir. Bağımsız değişkenler, çözücü/katı oranı (mL/g), ekstraksiyon süresi (dakika) ve etanol/su oranı (mL/mL); bağımlı değişkenler, TFM (mg/100 g GAE), DPPH antioksidan aktivitesi (mg TE/100 g) ve CUPRAC antioksidan aktivite (mg TE/100 g) yanıt yüzey metoduna göre incelenmiştir.

Çizelge 3.4 : Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonunun deneysel tasarım matrisi.

Run	Bağımsız değişkenler			Cevaplar					
	Çözücü/katı oranı (mL/g)	Ekstraksiyon süresi (dakika)	Etanol/su oranı (mL/mL)	Değerler			% Verim		
				TFM	DPPH	CUPRAC	TFM	DPPH	CUPRAC
1	15	4	50/50	563	801	2.663	77	85	91
2	15	4	50/50	573	833	2.354	79	88	81
3	10	3	25/75	249	223	668	34	24	23
4	15	4	50/50	571	722	2.359	79	76	81
5	15	2	50/50	486	716	1.851	67	76	63
6	20	5	25/75	432	563	1.876	59	60	64
7	5	4	50/50	117	213	768	16	23	26
8	20	3	25/75	339	357	907	47	38	31
9	25	4	50/50	446	685	1.722	61	72	59
10	15	4	50/50	544	845	2.402	75	89	82
11	15	4	100/0	157	214	761	22	23	26
12	10	5	75/25	176	308	995	24	33	34
13	20	3	75/25	499	870	2.478	69	92	85
14	20	5	75/25	466	635	1.793	64	67	61
15	15	4	50/50	561	781	2.561	77	83	88
16	10	3	75/25	321	531	1.524	44	56	52
17	15	4	50/50	572	845	2.456	79	89	84
18	15	6	50/50	404	629	1.771	56	67	61
19	10	5	25/75	237	473	1.920	33	50	66
20	15	4	0/100	92	113	366	13	12	13

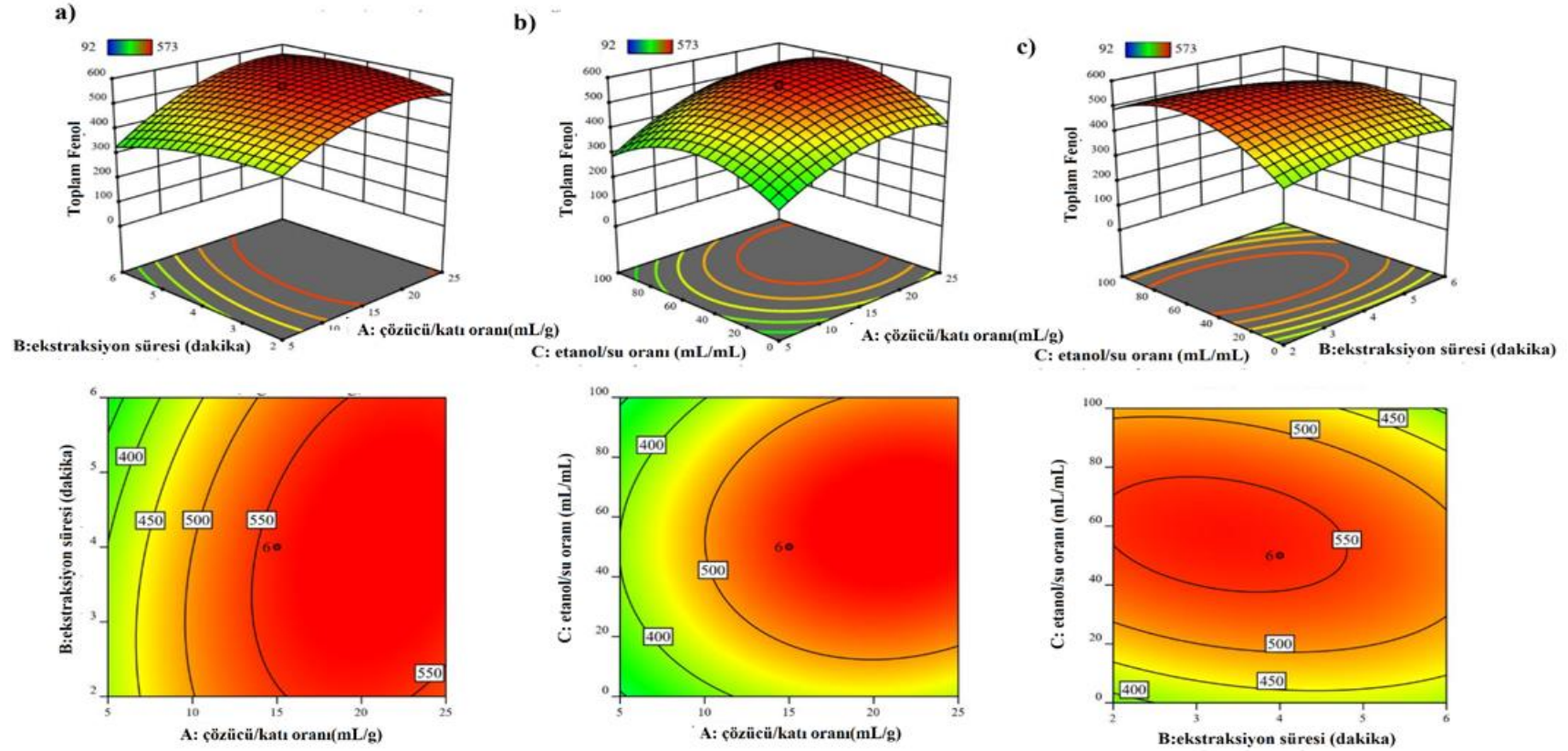
Bağımsız değişkenlerin birbirleri ile interaksiyonun etkisini anlamak için üç boyutlu yüzey yanıt grafikleri gereklidir. Yaprak ve brakte karışımının TFM, DPPH ve CUPRAC profilleri için üç boyutlu (3-D) tepki yüzey grafikleri (Şekil 3.4, Şekil 3.5, Şekil 3.6), ikinci dereceden model (**Denk.18**), (**Denk.19**) ve (**Denk.20**) kullanılarak belirlenmiştir. 3D yanıt grafikleri, TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri ve bağımsız faktörlerin her biri ile arasında etkileşimler göstermiştir [59].

3D-tepki grafiğinde (Şekil 3.4) ve (**Denk.18**)’de Bayrampaşa genotipine ait yaprak ve dış brakte karışımının MDE’si için çözücü/katı (mL/g) değişkeni ve ekstraksiyon süresi değişkeni (dakika) arasındaki etkileşime ait TFM cevapları belirlenmiştir. TFM değeri 2 dakika boyunca 486 mg GAE/100 g (%67 verim), 4 dakika boyunca 573 mg GAE/100 g (%79 verim) ve 6 dakika boyunca 404 mg GAE/100 g (%56 verim) olarak

belirlenmiştir. Ekstraksiyonun ilk 4 dakikası boyunca TFM değerleri artış gösterirken, 4 dakikadan sonra bu değerlerde önemli bir düşüş gözlemlendiği söylenebilir (Çizelge 3.4).

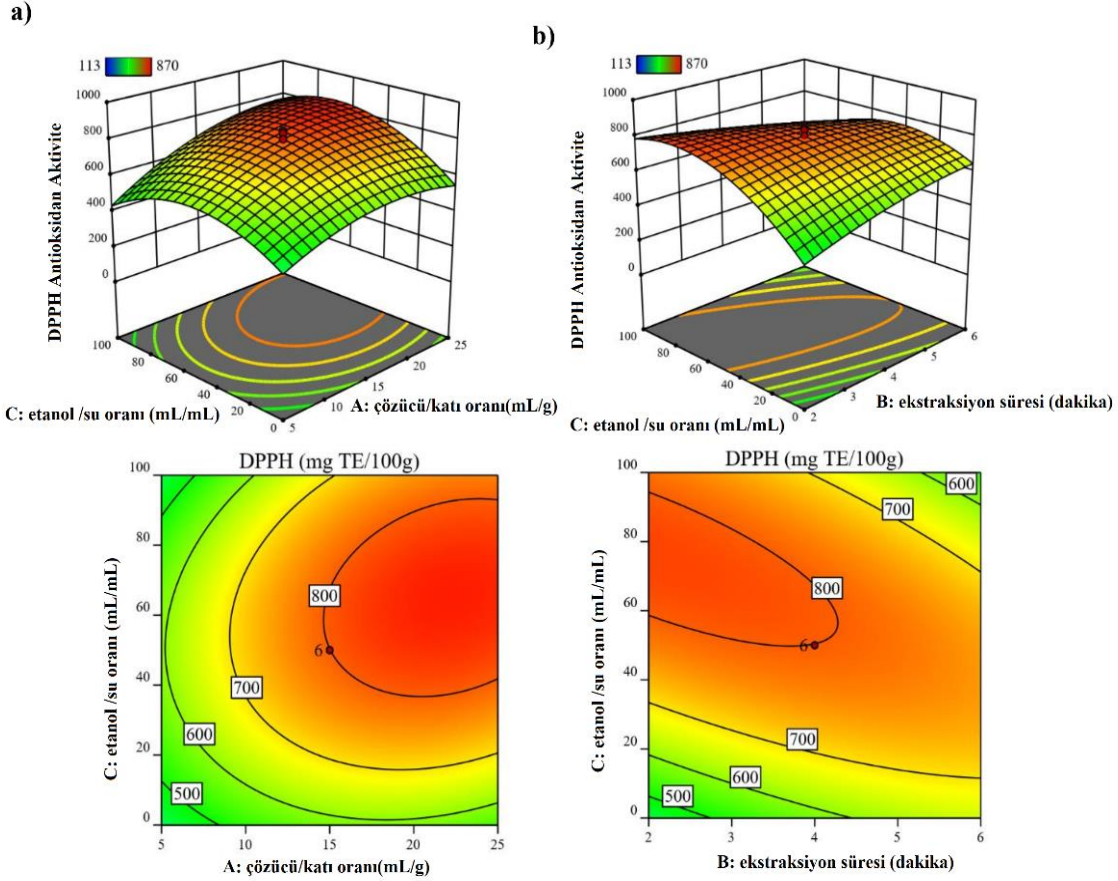
Katı oranı 15/1 (mL/g) ve ekstraksiyon süresi 4 dakika olduğunda, TFM, DPPH ve CUPRAC parametrelerinin değerleri 50/50 etanol/su oranı için sırasıyla, 563 mg GAE/100 g, 801 mg TE/100 g ve 2.663 mg TE/100 g olarak tespit edilirken, 100/0 etanol/su oranı için 157 mg GAE/100 g, 214 mg TE/100 g, 761 mg TE'ye/100 g ve saf su için 92 mg GAE/100 g, 113 mg TE/100 g, 366 mg TE/100 g olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre 50/50 etanol/su oranında çözücü fazından hem etanol fazına hem de su fazına geçişte fenolik içeriğinde keskin bir şekilde düşüş olduğu görülmektedir (Çizelge 3.4).

Ayrıca, yanıt yüzey metoduna göre çizilen üç boyutlu grafikler etanol/su oranının 25/75'den 75/25'e yükselmesi durumunda, TFM ve antioksidan aktiviteleri üzerinde pozitif bir etki yarattığını göstermektedir. Ekstraksiyon süresi 5 dakika, çözücü/katı oranı 20/1 (mL/g) olduğunda, TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri etanol/su oranı 25/75 için sırasıyla, 432 mg GAE/100 g (%59 verim), 563 mg TE/100 g (%60 verim) ve 1.876 mg TE/100 g'dan (%64 verim); etanol/su 75/25 için sırasıyla 466 mg GAE/100 g (%64 verim), 635 mg TE/100 g (%67 verim), 1.793 mg TE/100 g (%61 verim) olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.4 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Ekstraksiyon süresi (dakika) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (c) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) TFM'ye etkisi.

Etanol /su oranı ve çözücü/katı oranı arasındaki etkileşimde ekstraktların TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri üzerinde pozitif ve istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) bir etkisi olduğu görülmüştür (Çizelge 3.4). Etanol/su oranının değişmesiyle sistemin polaritesinde değişimler meydana gelmekte, ekstrakte edilen fenolik bileşiklerinin çözünürlüğü değişmektedir.

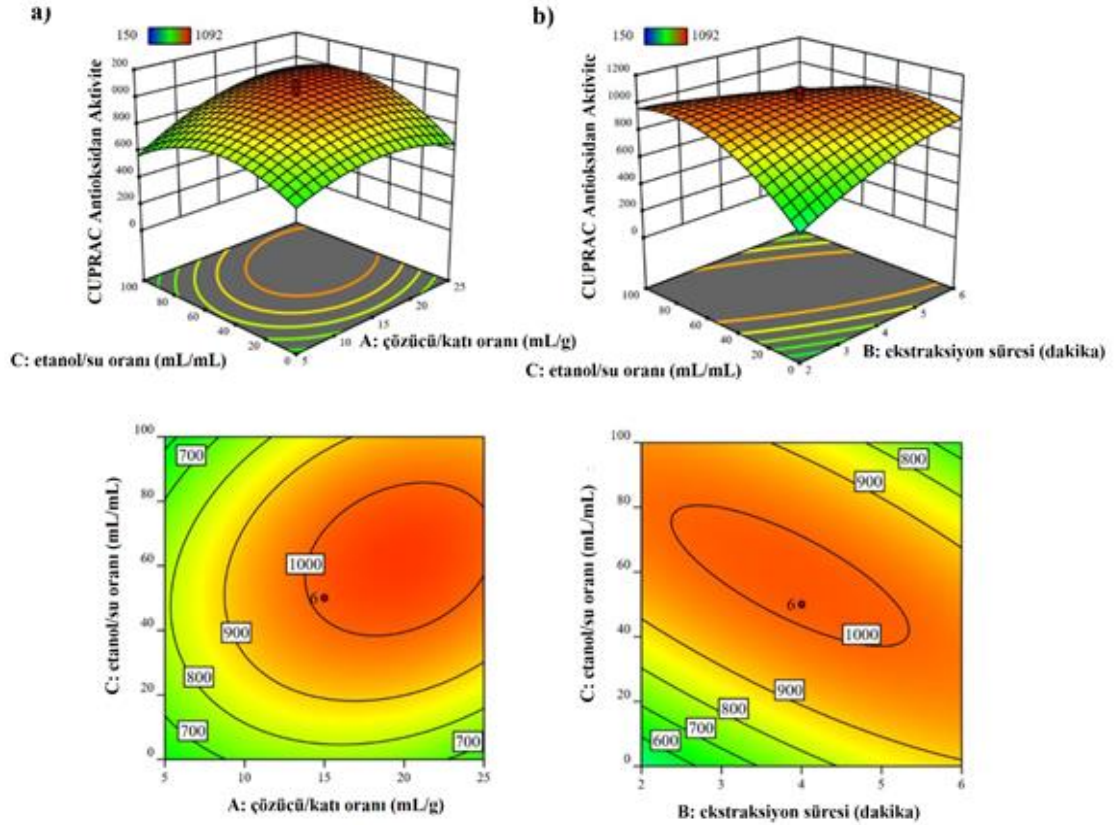


Şekil 3.5 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) DPPH antioksidan aktiviteye etkisi.

3D boyutlu grafikler aynı zamanda çözücü/katı oranının (mL/g) TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri üzerindeki etkilerini göstermektedir. TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri, çözücü/katı oranları 10/1'den 20/1'e (mL/g) arttığında artmıştır. Ayrıca, bağımsız değişkenler etanol/su oranı 25/75 ve ekstraksiyon süresi 3 dakikada sabitken; TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri, çözücü katı oranı 10/1 (mL/g) için sırasıyla 249 mg GAE/100 g, 223 mg TE/100 g ve 668 mg TE/100 g; çözücü katı oranı 20/1 (mL/g) için sırasıyla 339 mg GAE/100 g, 357 mg TE/100 g ve 907 mg TE/100 g olarak bulunmuştur. Ekstraksiyon süresi 4 dakika ve etanol/su oranı 50/1'de sabit

tutulduğunda, çözücü/katı oranı değeri 5/1'den 15/1'e (mL/g) yükseldiğinde TFM, DPPH ve CUPRAC değerlerinde artış görülmüştür. TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri çözücü/katı oranı 5/1 (mL/g) için sırasıyla, 117 mg GAE/100 g (%16 verim), 213 mg TE/100 g (%23 verim), 768 mg TE/100 g (%26 verim) bulunurken; 15/1 (mL/g) için ise sırasıyla; 563 mg GAE/100 g (%77 verim), 801 mg TE/100 g (%85 verim), 2.663 mg TE/100 g (%91 verim) değerlerinde bulunmuştur (Çizelge 3.4). Çözücü/katı oranı 15/1 (mL/g)'den sonraki artışlarda önemli bir değişim gözlenmemiştir.

Bu durum kütle aktarım prensipleri ile açıklanabilir, daha yüksek çözücü/katı oranları, katı ile çözücünün kütlesi arasında daha yüksek konsantrasyon gradyeni anlamına gelir ve bu da bileşiklerin çözücüye difüzyonu için daha büyük bir itici güç sağlar.



Şekil 3.6 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) CUPRAC antioksidan aktiviteye etkisi.

Ekstraksiyon süresi 5 dakika, çözücü/katı oranı 20/1'de (mL/g) sabit tutulduğunda etanol/su oranı 25/75 için TFM değeri 432 mg GAE/100 g (%59 verim) bulunurken, etanol/su oranı 75/25'e çıktığında TFM değerinde 466 mg GAE/100 g'ye (%64 verim)

düşük bir yükseliş görülmüştür (Çizelge 3.4, Şekil 3.4). Bu durum, farklı çözücü/su oranlarının (mL/mL) çözücü sisteminin polaritesini etkilemesi ve böylece ekstraktların fenolik bileşiklerinin çözünürlüğünü değiştirmesi ile açıklanabilir. DPPH ve CUPRAC değerleri etanol/su oranı 25/75, çözücü/katı oranı 10/1 (mL/g), ekstraksiyon süresi 3 dakika için 223 mg TE/100 g ve 668 mg TE/100 g'den, ekstraksiyon süresi 5 dakika için 473 mg TE/100 g ve 1.920 mg TE/100 g değerlerine yükseldiği tespit edilmiştir. Şekil 3.4, etanol/su oranının (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) TFM yanıtı üzerindeki etkisini göstermektedir. Çözücü/katı oranı 15/1 (mL/g), etanol/su oranı 50/50 için ekstraksiyon süresi 2 dakikadan 4 dakikaya yükseltildiğinde TFM değerlerinin 486 mg GAE/100 g'dan (%67 verim) 563 mg GAE/100 g'a (%77 verim) yükseldiği görülmüştür.

3.1.5 Bayrampaşa Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Kinetik Modellemesi

Bayrampaşa enginar genotipinin mikrodalga ekstraksiyon süresince, polifenollerin ekstraksiyonun zamana göre değişimini incelemek için kinetik modeller kullanılması önemlidir. Söz konusu çalışmayı, sanayi ölçekli sistemlere aktarılması aşamasında teorik temelli kinetik modellere ihtiyaç bulunmaktadır. Tez çalışması kapsamında, ekstraksiyon süresince sistemin zamana bağlı olarak TFM, DPPH ve CUPRAC değişimleri incelenmiştir. Ekstraksiyon kinetik modellemesinde, sıfır, birinci ve ikinci dereceden kinetik modeller, yalnızca bir ölçülen komponentle ilgilenir ve mekanizma hakkında bilgi sağlamaz [109].

Mikrodalga ile desteklenen ekstraksiyon sistemleri çok daha karmaşık kütle transfer mekanizmaları içerdiğinden, birinci dereceden ve ikinci dereceden kinetik modellerin yetersiz geldiği görülmüştür. Bu sistemlerin ekstraksiyon sürecini modellemek için birçok matematiksel yaklaşım kullanılmıştır. Modelleme denklemleri teorik olarak ampirik olarak formülle edilmiştir. Mikrodalga ekstraksiyon sistemlerinin matematiksel modellemelerinde, modifiye edilmiş Fick yasasından türetilmiş modeller kullanılmaktadır. Bu sebeplerden dolayı Bayrampaşa enginarın genotiplerine ait dış brakte ve yaprak karışımının MDE deneysel sonuçlarının matematiksek olarak incelenmesinde, birinci ve ikinci dereceden kinetik modellerin yanında, Page ve Peleg ampirik modeller de kullanılmıştır.

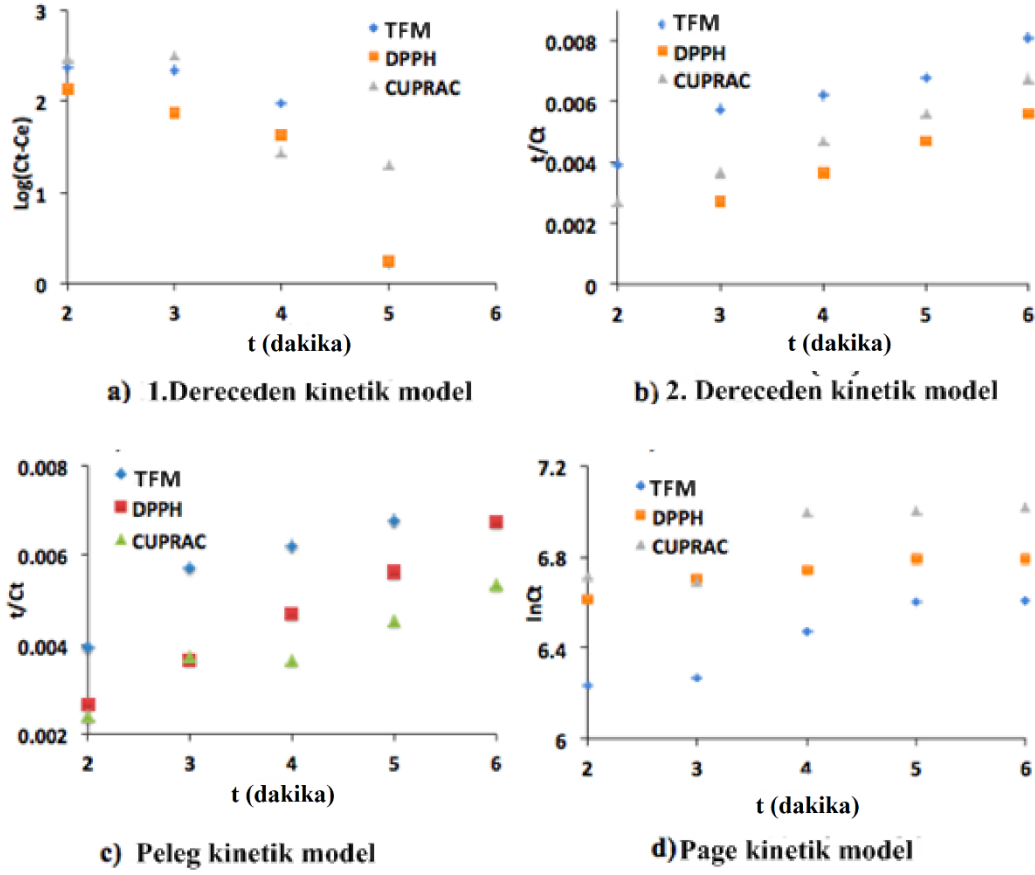
Log ($C_e - C_t$)'ye karşı t grafiği, birinci dereceden modele göre doğrusal bir formda

sunulabileceğini göstermiştir (Şekil 3.7a). Grafiğin eğimi ve kesişmesinden k , C_e ve R^2 değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 3.5). TFM, DPPH ve CUPRAC'ın k değerleri sırasıyla 1,55, 1,35 ve 1,05 dakika⁻¹ olarak belirlenmiştir. TFM, DPPH ve CUPRAC için $C_{e,deneyse}$ ve $C_{e,hesaplanan}$ değerleri sırasıyla 740 ve 12.217 mg GAE/100 g, 891 ve 3.388 mg TE/100 g ve 1.120, 3.311 mg TE/g olarak bulunmuştur. Modelde $C_{e,hesaplanan}$ değeri, $C_{e,deneyse}$ değerlerden oldukça farklı olarak belirlenmiştir. Bu sonuca göre, Bayrampaşa genotipine ait dış brakte ve yaprak karışımının mikrodalga ekstraksiyonunun karakterizasyonu için birinci dereceden kinetik model uygun bulunmamıştır.

MDE'nin ilk 4 dakikasında TFM, DPPH ve CUPRAC değerlerinde doğrusal bir artış görülürken 4. dakikadan sonraki aşamalarda doğrusallık bozulmuştur. Bu nedenle, MDE'nin başlangıcının bu modele uyduğu ifade edilebilse de, sonraki süreçte birinci dereceden kinetik model uyumu bozulmuştur. MDE'nin ilk 4 dakikasında maksimum fenolik bileşiklerin çözüldüğü ve etkin bir şekilde ekstrakte edildiği söylenebilir. Ekstraksiyonun 4 ve 10 dakikası arasında ise kalan fenolik bileşikler ekstrakte edilmiş ve düşük verimli bir ekstraksiyon gerçekleşmiştir.

Çizelge 3.5 : Bayrampaşa enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonuna ait kinetik parametreler.

1. Derece kinetik model	k (1/dakika)	C _e (mg/g)	R ²	
TFM	1,55	12.217	0,83	
DPPH	1,35	3.388	0,82	
CUPRAC	1,05	3.311	0,74	
2. Derece kinetik model	h (mg/gdakika)	C _e (mg/g)	k (g/mgdakika)	R ²
TFM	416,7	1.111	3×10 ⁻⁴	0,95
DPPH	1.000	1.333	9×10 ⁻⁵	0,99
CUPRAC	1.428,5	1.000	1,4×10 ⁻³	0,99
Peleg's kinetik model	k ₁ (gdakika/mg)	k ₂ (g/mg)	R ²	
TFM	0,0024	0,0009	0,95	
DPPH	0,0007	0,0010	0,99	
CUPRAC	0,0013	0,0007	0,92	
Page's kinetik model	k (mg/g)	n (mg/g)	R ²	
TFM	-6,00	0,108	0,76	
DPPH	-6,55	0,044	0,84	
CUPRAC	-6,51	0,092	0,81	



Şekil 3.7 Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE kinetiği.

Bayrampaşa enginar genotiplerinin yaprak ve brakte karışım ekstraktlarının TFM, DPPH ve CUPRAC verileri ikinci dereceden kinetik modeli kullanılarak analiz edilmiştir. Denge ekstraksiyon kapasitesi (C_e), ilk ekstraksiyon hızı (h), ekstraksiyon hız sabiti (k) ve regresyon katsayısı (R^2) Çizelge 3.5’de verilmiştir. TFM, DPPH ve CUPRAC için h değerleri sırasıyla 416,7, 1000 ve 1.428,5 mg/g dakika olarak hesaplanmıştır, k değerleri DPPH için 9×10^{-5} g/mgdakika ve CUPRAC için $1,4 \times 10^{-3}$ g/mgdakika olarak belirlenmiştir. Birinci dereceden model ile karşılaştırıldığında, ikinci dereceden model yüksek R^2 ($>0,95$) değeri göstermiştir. Ayrıca deneysel C_e ve hesaplanan C_e değerleri TFM için 621 ve 871 mg GAE/100 g; DPPH için 891 ve 1.296 mg TE/100 g; ve CUPRAC için 2.450 ve 2.000 mg TE/100 g olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar, yaprak ve dış brakte karışımının MDE’sinin birinci dereceden modele göre ikinci dereceden kinetik model tarafından daha iyi karakterize edildiğini göstermiştir.

Peleg’in TFM, DPPH ve CUPRAC modelinin kinetik parametreleri Çizelge 3.5’de verilmiştir. k_1 değerlerinin düşük olması MDE’nin daha hızlı olduğunu ifade

etmektedir ve aynı zamanda MDE maksimum verim için k_2 değerlerinin düşük olması gerekmektedir. k_1 ve k_2 değerleri TFM için 0,0024 gdakika/mg ve 0,0009 g/mg; DPPH için 0,0007 g dakika/mg ve 0,0010 g/mg ve CUPRAC için 0,0013 gdakika/mg ve 0,0007 g/mg değerleri hesaplanmıştır. Peleg'in modelinde, birinci dereceden modelde ve Page kinetik modellerinde elde edilenden daha yüksek R^2 değerleri ($>0,92$) elde edilmiştir. Page modeline göre R^2 değerleri 0,76 ile 0,84 arasında elde edilmiştir (Çizelge 3.5) TFM, DPPH ve CUPRAC'ın k değerleri sırasıyla -6,0, -6,55 ve -6,51 mg/g olarak hesaplanmıştır.

Tez kapsamında, Bayrampaşa genotipinin mikrodalga ekstraksiyon sürecinde, dört farklı kinetik modele uyumu incelenmiş ve en yüksek R^2 değeri belirlenerek en uygun model seçimi yapılmıştır (Çizelge 3.5). İncelenen modeller arasında ikinci derece kinetik modelin ve Peleg modelinin en yüksek R^2 değerlerine sahip olduğu, en iyi şekilde uyduğu görülmüştür. Bu nedenle modellerin TFM, DPPH, CUPRAC değerlerinin davranışını tanımlamak için ikinci derece ve Peleg modelleri en uygun modeller olarak seçilmiştir. Birinci derece ve Page kinetik modellerinde düşük R^2 değerleri elde edilmiştir. Sunulan tez çalışmasında, Bayrampaşa genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyon sürecinin matematiksel olarak ifade eden en uyumlu yaklaşımların, ikinci dereceden ve Peleg ifadeleri kullanılarak açıklanabileceği görülmüştür. İkinci dereceden modelin hız sabiti belirlenirken, Peleg modelindeki matematiksek ifadelerden, k_1 (Peleg'in hız sabiti) ve k_2 (Peleg'in kapasite sabiti) değerleri belirlenmiştir. Bayrampaşa genotipinin mikrodalga ekstraksiyon sürecinin, belirlenen matematiksel ifadelerle daha büyük ekstraksiyon sistemlerin planlanmasında kullanılması önerilmektedir.

3.1.6 Sakız Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Merkezi Kompozit Tasarımı

Merkezi kompozit tasarım deneysel matrisine göre liner, iki faktörlü etkileşimli (2FI), ikinci dereceden ve kübik modellerin yeterlilikleri Çizelge 3.6'da gösterilmiştir. Modeller Sakız genotipinin dış brakte ve yaprak karışımlarının mikrodalga ekstraksiyon deneylerinde ölçülen TFM, DPPH ve CUPRAC değerlerinin regresyon istatistik modellerini belirlemek için uygulanmıştır. Modellerin yeterliliğine sıralı model kareler toplamı (SMSS) ve model özet istatistik testleri olmak üzere iki farklı test ile karar verilmiştir. Mikrodalga ekstraksiyon deneysel sonuçlarının fit değerlerine göre, sıralı p değeri $<0,0001$ olduğundan ve regresyon sabiti kabul edilebilir

olduğundan TFM, DPPH ve CUPRAC için ikinci dereceden model istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Bu nedenle, Sakız enginarının mikrodalga ekstraksiyonunun optimizasyon çalışmasında, ikinci dereceden model en uygun model olarak kabul edilmiştir. TFM, DPPH ve CUPRAC verilerinin ikinci dereceden modelinin, doğrusal, etkileşimli (2FI) ve kübik modellerden nispeten daha yüksek ayarlanmış R² değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayarlanmış R² değerleri TFM için 0,97, DPPH için 0,96 ve CUPRAC için 0,98 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 3.6).

Çizelge 3.6 : Sakız enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının regresyon istatistik modelleri.

Kaynak	Sıralı p-değeri	Lack of fit p-değeri	Ayarlanmış R ²	Tahmin edilmiş R ²	
TFM					
Doğrusal	< 0,0001	0,0076	0,6748	0,4730	
Etkileşimli (2FI)	0,4170	0,0066	0,6758	0,5502	
İkinci dereceden	< 0,0001	0,8620	0,9726	0,9539	Önerildi
Kübik	0,7216	0,9640	0,9662	0,9839	
DPPH					
Doğrusal	0,0009	0,0020	0,5653	0,2779	
Etkileşimli (2FI)	0,5955	0,0014	0,5350	0,3312	
İkinci dereceden	< 0,0001	0,3626	0,9628	0,9001	Önerildi
Kübik	0,9226	0,0662	0,9457	-0,8534	
CUPRAC					
Doğrusal	0,0016	0,0003	0,5312	0,2419	
Etkileşimli (2FI)	0,8732	0,0002	0,4522	0,2620	
İkinci dereceden	< 0,0001	0,5125	0,9845	0,9609	Önerildi
Kübik	0,5122	0,3383	0,9839	0,80	

ANOVA ve Fisher's f testi kullanılarak regresyon eşitliklerinin istatistiksel önemi kontrol edilmiştir (Çizelge 3.6).

Bağımsız değişkenler ve cevaplar arasındaki ampirik ilişki, quadratik modelin TFM için **(Denk.21)**, DPPH için **(Denk.22)** ve CUPRAC için **(Denk.23)** değişkenler bağlantılı modellenmiştir.

$$\begin{aligned} \text{TFM} = & 368,39 + 109,69A + 60,06B - 22,56C + 31,37AB + 2,62AC \\ & + 36,37BC - 18,81A^2 + 30,69B^2 - 32,81C^2 \end{aligned} \quad (21)$$

$$\begin{aligned} \text{DPPH} = & 432,41 + 165,56A + 68,81B - 1,06C + 38,62AB + 42,38AC \\ & - 39,63BC - 4,92A^2 + 69,83B^2 - 51,92C^2 \end{aligned} \quad (22)$$

$$\begin{aligned} \text{CUPRAC} = & 404,45 + 177,38A + 129,88B + 26,38C + 50,75AB + 22,75AC \\ & - 12,00BC + 14,48A^2 + 127,35B^2 - 23,15C^2 \end{aligned} \quad (23)$$

A, B ve C, sırasıyla çözücü/katı oranı (mL/g), ekstraksiyon süresi (dakika) ve etanol/su oranı (mL/mL) olarak tanımlanmıştır. AB, AC ve BC gibi denklem terimleri, iki bağımsız değişkenin etkileşimini tanımlamaktadır, A^2 , B^2 ve C^2 bağımsız değişkenlerin kare etkisini belirler. TFM, DPPH ve CUPRAC yanıtlarını etkileyen bağımsız değişkenleri, iki bağımsız değişkenin etkileşimlerini ve bağımsız değişkenlerin kare etkilerini (Denk.21), (Denk.22), (Denk.23) göstermektedir. ANOVA yardımıyla p ($p < 0,05$) ve f ($f > 5,0$) değerleri kullanılarak mikrodalga ekstraksiyon cevaplarının modele uyumlu olup olmadıkları kontrol edilmiştir [144]. TFM, DPPH ve CUPRAC yanıtlarının ikinci dereceden model p değerleri ve f değerleri için ANOVA sonuçları Çizelge 3.10’da verilmiştir. Düşük p değerleri ve yüksek f değerleri, ikinci dereceden modellerin çok anlamlı olduğunu ve bağımsız değişkenler ile TFM, DPPH ve CUPRAC yanıtları arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3.7 : Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonuna ait ANOVA analizi ve F testi verileri.

Kaynak	df	TFM			DPPH			CUPRAC		
		Karelerin Toplamı	f-değeri	p-değeri	Karelerin Toplamı	f-değeri	p-değeri	Karelerin Toplamı	f-değeri	p-değeri
Model	9	3,507E+05	75,99	< 0,0001	7,955E+05	55,68	< 0,0001	7,647E+06	134,73	< 0,0001
A	1	1,925E+05	375,43	< 0,0001	4,386E+05	276,28	< 0,0001	2,994E+06	474,70	< 0,0001
B	1	57.720,06	112,57	< 0,0001	75.762,56	47,73	< 0,0001	1,606E+06	254,64	< 0,0001
C	1	8.145,06	15,89	0,0026	18,06	0,0114	0,9172	65.920,56	10,45	0,0090
AB	1	7.875,13	15,36	0,0029	11.935,12	7,52	0,0208	1,228E+05	19,47	0,0013
AC	1	55,13	0,1075	0,7498	14.365,12	9,05	0,0132	24.753,13	3,92	0,0757
BC	1	10.585,13	20,64	0,0011	12.561,12	7,91	0,0184	6.903,13	1,09	0,3201
A^2	1	8.892,94	17,34	0,0019	608,73	0,3835	0,5496	31.503,98	5,00	0,0494
B^2	1	23.686,37	46,19	< 0,0001	1,226E+05	77,23	< 0,0001	2,426E+06	384,73	< 0,0001
C^2	1	27.060,94	52,78	< 0,0001	67.778,44	42,70	< 0,0001	79.843,12	12,66	0,0052
Residual	10	5.127,52			15.874,40			63.065,84		
Lack of Fit	5	1.334,02	0,3517	0,8620	9.239,57	1,39	0,3626		0,9705	0,5127

df: Serbestlik derecesi

En düşük p değerine veya en yüksek f değerine sahip değişkenler, yanıtları en yüksek seviyede etkilemiştir.

p-değerlerine göre TFM için A, B, C, AB, BC, A^2 , B^2 ve C^2 ; DPPH için A, B, AB, AC, BC, B^2 ve C^2 ve CUPRAC için A, B, C, AB, A^2 , B^2 ve C^2 önemli model değişkenleridir. Ayrıca f değerlerine göre en etkili model değişkenlerinin TFM, DPPH ve CUPRAC

için (etanol/su oranı), çözücü/katı oranı (mL/g) ve ekstraksiyon süresi (dakika) olduğu bulunmuştur. En etkili değişkenlerin sıralaması;

TFM için $A > B > C^2 > B^2 > BC > A^2 > AB = C$

DPPH için $A > B^2 > B > C^2 > AC > AB = BC$

CUPRAC yanıtları için $A > B^2 > B > AB > C^2 > C > A^2$

3.1.7 Sakız Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Yüzey Yanıt Yöntemi

Sakız enginar genotiplerinin mikrodalga ekstraksiyonundaki optimizasyon çalışmasında 3 farklı bağımsız değişkenin, merkezi kompozit tasarımı kullanılarak optimum parametreler belirlenmiştir. Merkezi kompozit tasarımda cevaplar olarak TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri kullanılırken, bağımsız değişkenler olarak; ekstraksiyon süresi (2-6 dakika), çözücü/katı oranı (5:1-25:1 mL/g) ve etanol/su oranı (mL/mL) parametreleri kullanılmıştır. Üç bağımsız değişkenin her bir kombinasyonuna karşılık gelen yanıtlar Çizelge 3.8’de gösterilmektedir. Ekstraktların bağımsız değişkenlere bağlı olarak TFM, DPPH ve CURPAC değerleri, sırasıyla 83-607 mg GAE/100 g, 94-878 mg TE/100 g, 271-2.922 mg TE/100 g arasında değişmektedir.

MDE yönteminde fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimlilikleri ve etkinliği, ekstraksiyon süresi, solvent tipi ve çözücü/katı oranı gibi birkaç değişkenle artırılabilir. Çizelge 3.8’de Sakız genotipinin yaprak ve brakte karışımı ekstraktlarındaki fenolik bileşikler ve antioksidanların ekstraksiyonu üzerine MDE süresinin etkisi gösterilmiştir. Mikrodalga süresinin artmasıyla TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivite değerlerinin arttığı belirlenmiştir. Aynı zamanda TFM, DPPH ve CUPRAC cevaplarına en etkili parametrenin ekstraksiyon süresi olduğu tespit edilmiştir [59]. Etanol/su oranı 50/50 (mL/mL) ve çözücü/katı oranı 15/1 (mL/g) sabit değerlerinde ekstraksiyon süresi TFM için 2 dakikada 376 mg GAE/100 g, 4 dakikada 398 mg GAE/100 g ve 6 dakika için 607 mg GAE/100 g; DPPH değerleri 2 dakika için 590 mg TE/100 g, 4 dakika için 402 mg TE/100 g ve 6 dakika için 878 mg TE/100 g; CUPRAC değerleri 2 dakika için 1.580 mg TE/100 g, 4 dakika için 1.112 mg TE/100 g ve 6 dakika için 2.922 mg TE/100 g bulunmuştur. Bu sonuçlara göre Sakız enginar genotipi için optimum ekstraksiyon süresi 6 dakika olarak tespit edilmiştir.

Çizelge 3.8 : Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının mikrodalga ekstraksiyonunun deneysel tasarım matrisi.

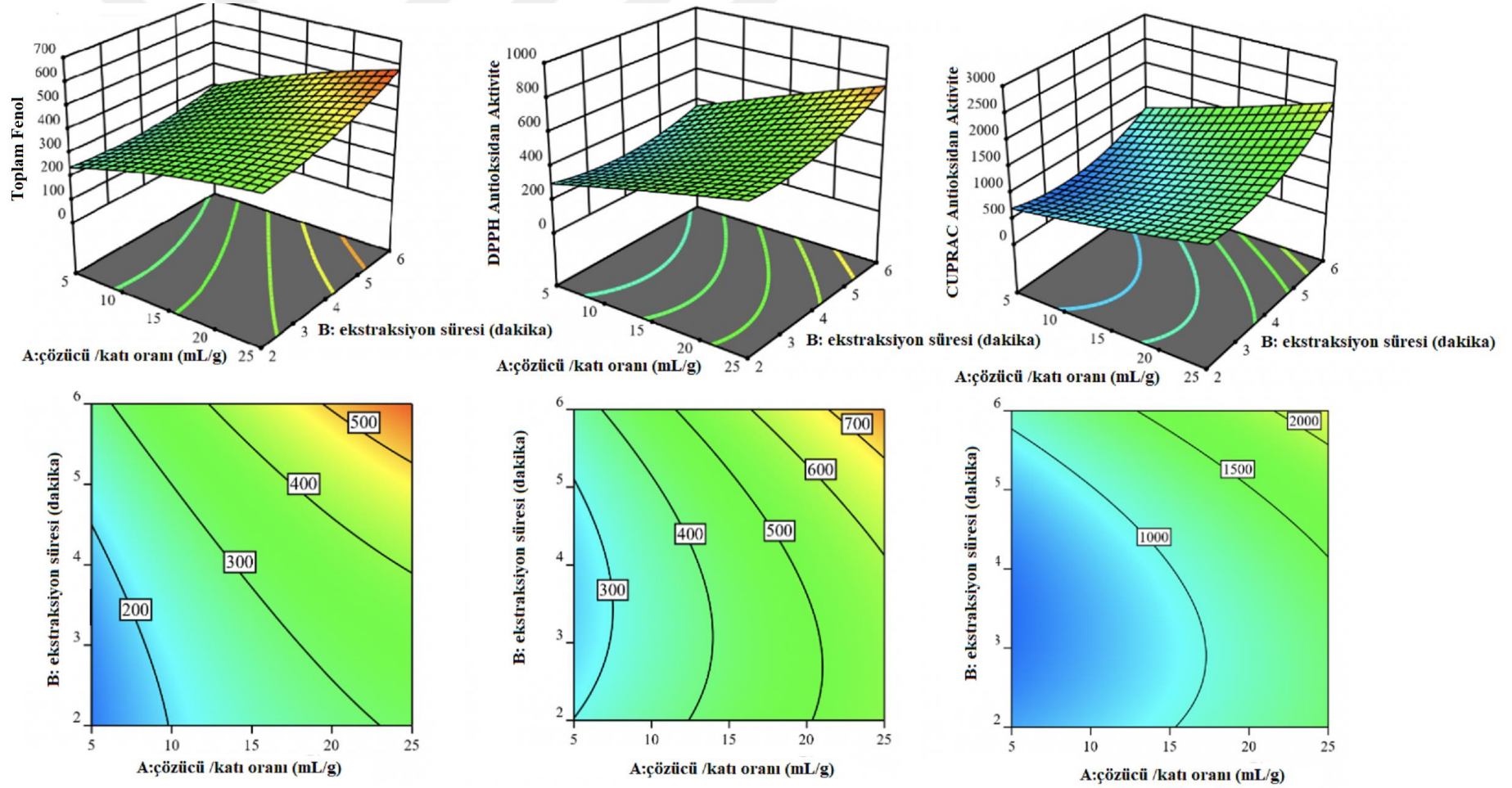
Run	Bağımsız değişkenler			Cevaplar					
	Çözücü/katı oranı (mL)/g	Ekstraksiyon süresi (dakika)	Etanol/su oranı (mL/mL)	Değerler			%Verim		
				TFM	DPPH	CUPRAC	TFM	DPPH	CUPRAC
1	10	5	75/25	286	221	1.007	45	24	41
2	10	3	75/25	144	220	732	23	24	30
3	15	4	50/50	341	445	968	54	49	40
4	10	3	25/75	260	251	576	41	27	23
5	15	6	50/50	607	878	2.922	97	96	119
6	20	3	75/25	322	575	1.432	51	63	58
7	20	5	25/75	535	698	1.971	85	76	80
8	15	4	50/50	398	402	1.112	63	44	45
9	15	2	50/50	376	590	1.580	60	64	64
10	15	4	0/100	297	252	720	47	27	29
11	15	4	50/50	368	472	1034	59	51	42
12	15	4	50/50	331	395	939	53	43	38
13	15	4	50/50	394	486	1.024	63	53	42
14	15	4	100/0	178	242	846	28	26	35
15	25	4	50/50	504	776	2.029	80	85	83
16	10	5	25/75	242	358	998	38	39	41
17	15	4	50/50	379	439	885	60	48	36
18	5	4	50/50	83	94	271	13	10	11
19	20	3	25/75	413	384	1.083	66	42	44
20	20	5	75/25	575	678	2.232	91	74	91

Çizelge 3.8’de çözücü/katı oranının artmasıyla TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivitelerinin oldukça yükseldiği görülmüştür. Ekstraksiyon süresi 4 dakika, etanol /su oranı 50:50 mL/mL’de sabit tutulmuşken, çözücü/katı oranının 5:1 mL/g’den 15:1 mL/g ve 25:1 mL/g’a doğru artırılmasıyla, TFM, DPPH ve CUPRAC değerlerinin arttığı görülmüştür. TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri sırasıyla 5:1 mL/g için 83 mg GAE/100 g, 94 mg TE/100 g, 271 mg TE/100 g; 15:1 mL/g için 394 mg GAE/100 g, 486 mg TE/100 g, 1.024 mg TE/100 g ve 25:1 mL/g için 504 mg GAE/100 g, 776 mg TE/100 g, 2.029 mg TE/100 g olarak belirlenmiştir.

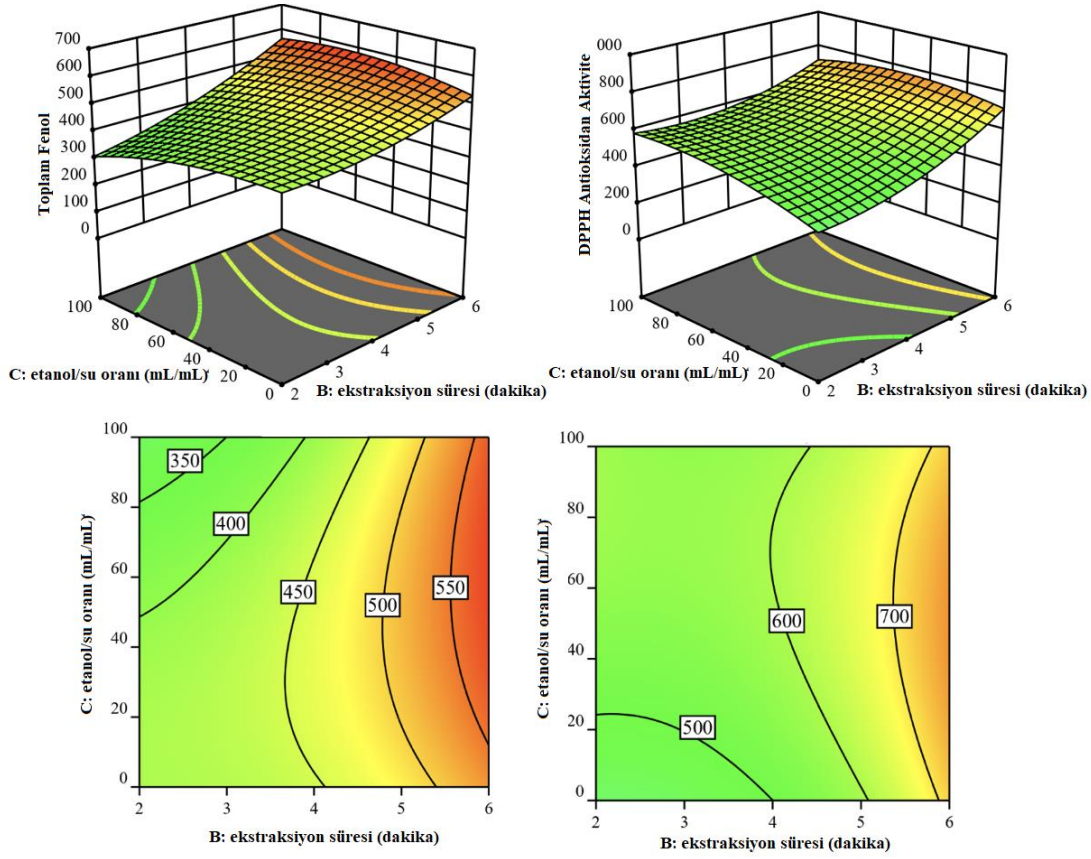
Çizelge 3.8’de sudaki etanol konsantrasyonunun enginar içeriğindeki fenolik bileşikleri ve antioksidanları önemli derecede etkilediği görülmektedir. Ekstraksiyon süresi 3 dakika ve çözücü/katı oranı 10:1 mL/g olduğunda TFM ve DPPH değerleri etanol/su oranı 75/25 için sırasıyla 144 mg GAE/100 g ve 220 mg TE/100 g; etanol/su oranı

25/75 için sırasıyla 260 mg GAE/100 g ve 251 mg TE/100 g olarak bulunmuştur (Çizelge 3.8). Aynı zamanda etanol/su oranı 75/25'den 25/75'e azalırken, CUPRAC değerleri de 732'den 576 mg TE/100'e azalmaktadır. Ekstraksiyon süresi 3 dakika, çözücü/katı oranı 20:1 mL/g için TFM ve DPPH değerleri etanol/su oranı 75/25'de sırasıyla 322 mg GAE/100 g, 384 mg TE/100 g; etanol su oranı 25/75'de sırasıyla 413 mg GAE/100 g ve 575 mg TE/100 g olarak bulunmuştur. Fakat CUPRAC değerleri aynı şartlarda keskin bir şekilde azalmıştır. Ekstraksiyon süresi 4 dakika, çözücü/katı oranı 15:1 mL/g olduğu zaman TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri 100/0 etanol/su oranında 178 mg GAE/100 g, 242 mg TE/100 g, 846 mg TE/100 g, 50/50 etanol/su oranında 398 mg GAE/100 g, 402 mg TE/100 g, 1.112 mg TE/100 g, çözücü saf su olduğunda 297 mg GAE/100 g, 252 mg TE/100 g, 720 mg TE/100 g olarak belirlenmiştir. Sakız enginar genotiplerinin MDE ekstraksiyonunda optimum etanol/su oranının 50/50 olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 3.8).

Üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri, bağımsız değişkenlerin ve yanıtların etkileşimlerini anlamada çok önemlidir. Şekil 3.8, Şekil 3.9 ve Şekil 3.10 sırasıyla **(Denk.21)**, **(Denk.22)**, **(Denk.23)** ile bulunan ikinci dereceden modellere dayalı olarak bağımsız değişkenler ve yanıtlar arasındaki etkileşimleri göstermektedir. Şekil 3.8'de çözücü/katı oranı (mL/g) (A) ve ekstraksiyon süresi (dakika) (B) ile TFM, DPPH ve CUPRAC yanıtları arasındaki etkileşimler verilmiştir. Çözücü/katı oranı ve ekstraksiyon süresinin TFM, DPPH ve CUPRAC değerlerinde en büyük etkiye sahip değişkenler olarak belirlenmiştir ($p < 0,05$). Ekstraksiyon süresinin ve çözücü/katı oranının arttırılması enginarın TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri üzerinde artış sağlamıştır. Bu durum, daha yüksek çözücü/katı oranları ile katı ve çözücünün kütlesi arasında daha yüksek konsantrasyon gradyanları anlamına geldiğinden difüzyon için yüksek değerlerde itici güç oluşturmaktadır. Ayrıca çözücü/katı oranını belirli bir limite yükseltmek ekstraksiyon verimini arttırmakta ve iyi bir kütle transferini desteklemektedir.

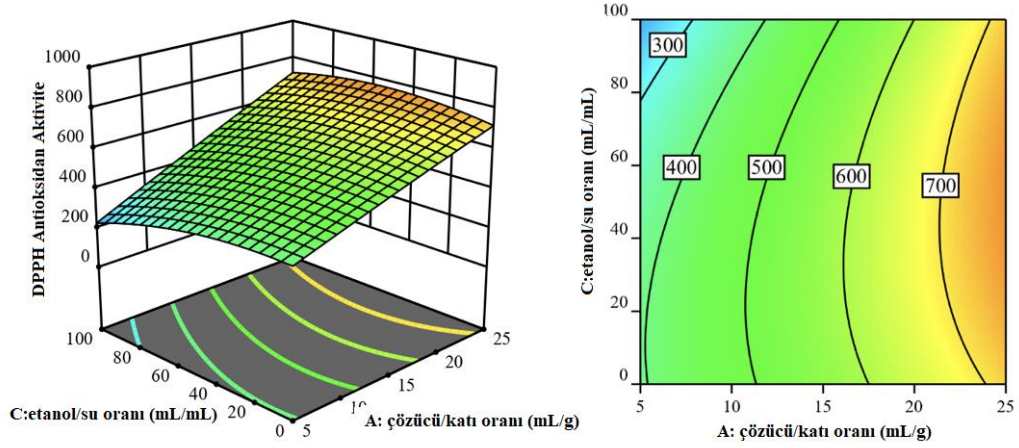


Şekil 3.8 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Ekstraksiyon süresi (dakika) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (c) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) TFM, DPPH ve CUPRAC'a etkisi.



Şekil 3.9 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için (a) Etanol/su oranı (mL/mL) ve çözücü/katı oranının (mL/g), (b) etanol/su oranı (mL/mL) ve ekstraksiyon süresinin (dakika) TFM ve DPPH antioksidan aktiviteye etkisi.

Şekil 3.9’da diğer faktörler sabit tutularak ekstraksiyon süresinin (dakika) ve etanol/su oranının (mL/mL), TFM ve DPPH cevaplarına etkisi gösterilmektedir. MDE ekstraksiyon süresi 6 dakika olduğunda, TFM ve DPPH cevaplarına göre en yüksek ekstraksiyon verimi etanol/su oranı 50/50 değerinde bulunmuştur. Yaprak ve dış brakte karışımları etanol/su çözücü sistemine uzun süre maruz bırakıldığında istenen polifenoller çözücüye yayılır. Bu durum ayrıca, çözücü sisteminin polaritesini etkileyen farklı etanol/su oranlarıyla, dolayısıyla antioksidanların çözünürlüğünü değiştirmesiyle açıklanabilir. Saf etanol, yaklaşık 5,1’lik polarite indeksine sahiptir ve yüksek TFM ve antioksidan içeriği değerleri verir. Polarite indeksi 9,0 olan su ilavesi, istenen bileşiklerin çözünürlüğünü arttırmış ve dolayısıyla polifenollerin genel ekstraksiyon verimini iyileştirmiştir [145].



Şekil 3.10 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE için çözücü/katı ve etanol/su oranlarının DPPH değerlerine etkisi.

Şekil 3.10’da, çözücü/katı oranı (mL/g) ve etanol/su oranının (mL/mL), diğer faktör sabit olduğunda DPPH değerleri üzerindeki etkileri göstermektedir. Çözücü/katı oranının önemli ölçüde DPPH antioksidan aktivitesini etkilemektedir. Çözücü/katı oranında meydana gelen artış ile daha yüksek DPPH antioksidan aktivitesi sağlanmıştır. Bu durum kütle aktarımı ilkeleri ile uyumludur. Kütle aktarımı sırasındaki itici güç, katı- sıvı arasındaki konsantrasyon gradyeni olup, daha yüksek çözücü/katı oranı kullanıldığında daha büyüktür.

3.1.8 Sakız Genotipinin Yenemeyen Kısımlarının Mikrodalga Ekstraksiyonunun Kinetik Modellemesi

Sakız genotipinin kinetik modelleme çalışmalarında da Bayrampaşa genotipindeki matematiksel ve ampirik modeller kullanılmıştır.

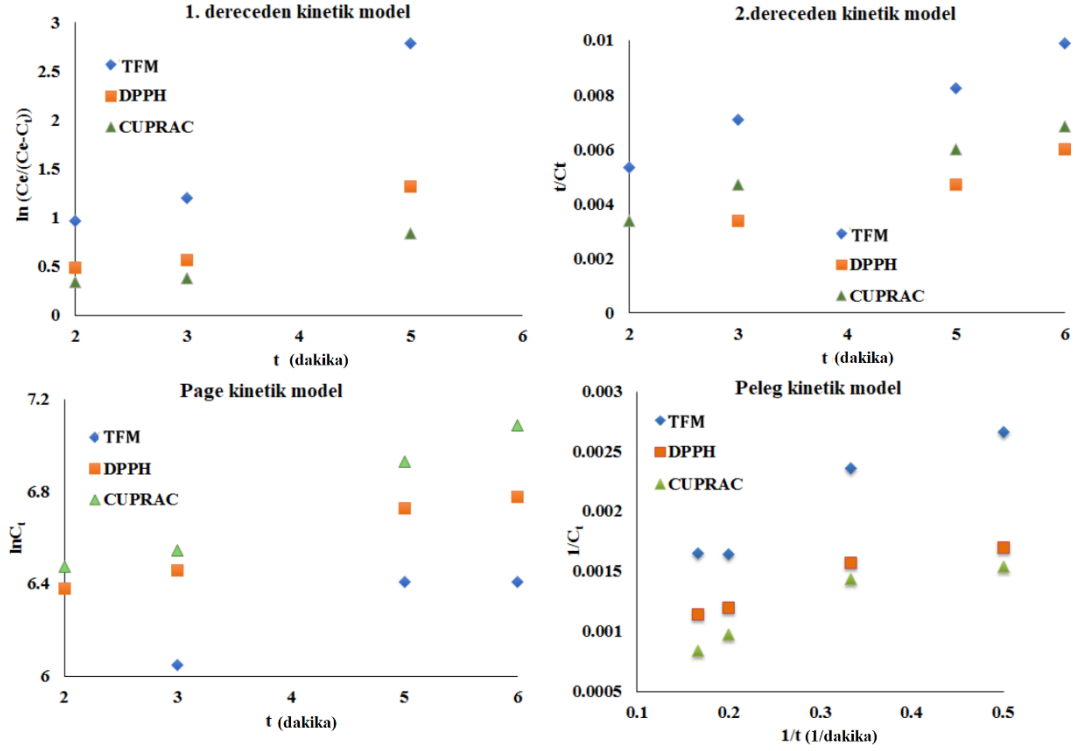
Sakız genotipinin yaprak ve dış brakte karışımının mikrodalga ekstraksiyonuna ait TFM, DPPH ve CUPRAC değerlerinin zamana göre değişimi incelendiğinde bu değerlerin, asimptotik olarak sınırlayıcı bir denge değerine (C_e) yaklaşımadan önce ilk 4 dakika içinde hızla yükseldiği ve 5 ile 6 dakika arasında denge durumunun gerçekleştiği görülmüştür. Bu durum, Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının etanol/su karışımıyla ekstraksiyonu gerçekleştirildiğinde, enginar yüzeyindeki polifenolik bileşikler ve antioksidanların çözünmesi, polifenolik bileşikler ile antioksidanların hızlı bir şekilde difüze olmasıyla açıklanabilir. Sakız enginarının dış brakte ve yaprak karışımının mikrodalga ekstraksiyonunda TFM, DPPH ve CUPRAC

değerlerinin zamana göre verilerinin dört kinetik modele uyumu incelenerek en uygun R^2 değeri seçilmiştir (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9 : Sakız enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE'sinin kinetik parametreleri.

1. Derece kinetik model	k _{model} (/dakika)	k _{hesaplanan} (1/dakika)	R ²	
TFM	0,49	0,63	0,95	
DPPH	0,51	0,29	0,93	
CUPRAC	0,16	0,18	0,93	
2. Derece kinetik model	h (mg/gdakika)	C _e (mg/g)	k (g/mgdakika)	R ²
TFM	280	1.000	2,8×10 ⁻⁴	0,95
DPPH	50	1.250	3,2×10 ⁻⁵	0,96
CUPRAC	387,5	2.500	6,2×10 ⁻⁵	0,98
Peleg's kinetik model	k ₁ (gdakika/mg)	k ₂ (g/mg)	R ²	
TFM	0,0033	0,0011	0,94	
DPPH	0,0017	0,0009	0,92	
CUPRAC	0,0021	0,0006	0,88	
Page's kinetik modek	k (mg/g)	n (mg/g)	R ²	
TFM	5,67	0,132	0,94	
DPPH	6,15	0,106	0,98	
CUPRAC	6,11	0,161	0,98	

Şekil 3.11'de Sakız enginar genotipine ait dört farklı MDE kinetik modelinin TFM, DPPH ve CUPRAC cevaplarına göre grafikleri gösterilmektedir. $\ln (C_e/(C_e - C_t))$ 'ye karşı t grafiği incelendiğinde enginar dış brakte ve yapraktan mikrodalga ekstraksiyon ile elde edilen fenolik bileşiklerin ve antioksidanların, birinci dereceden modele göre doğrusal bir formulla uyumlu olduğu görülmektedir.



Şekil 3.11 Sakız genotipinin yenemeyen kısımlarının MDE kinetiği.

TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri için k_{model} ve $k_{\text{hesaplanan}}$ değerleri sırasıyla 0,49 ve 0,63 dakika⁻¹; 0,51 ve 0,29 dakika⁻¹; 0,16 ve 0,18 dakika⁻¹ belirlenmiştir (Çizelge 3.9) [146].

Sakız enginarının brakte ve yaprak karışımının MDE ile TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri ikinci dereceden kinetik model kullanılarak analiz edilmiştir. Sonuçlar t/C_t 'ye karşı t grafiği ile gösterilmiştir (Şekil 3.11) [147]. Çizelge 3.9'de R^2 , k (ekstraksiyon oran sabiti), h (ilk ekstraksiyon hızı), C_e (denge ekstraksiyon kapasitesi) verilmiştir. TFM, DPPH ve CUPRAC için h ve k değerleri sırasıyla 280 mg/gdakika ve $2,8 \times 10^{-4}$ g/mgdakika; 50 mg/gdakika ve $3,2 \times 10^{-5}$ g/mgdakika; 387,5 g/mgdakika ve $6,2 \times 10^{-5}$ g/mgdakika olarak hesaplanmıştır. TFM, DPPH ve CUPRAC'ın h değerlerine bakıldığında ekstraksiyonun başlangıçta çok hızlı gerçekleştiği, daha sonra yavaşlayarak ekstraksiyonun 4. dakikasından sonra yatay bir seyir takip ettiği görülmüştür. Fenolik bileşikler ve antioksidanların %60'dan daha fazlası ekstraksiyonun ilk 4 dakikasında elde edilmiştir. Diğer taraftan ikinci dereceden model yüksek belirleme katsayısı ($> 0,95$) vermiştir. $C_{e,\text{deneysel}}$ ve $C_{e,\text{hesaplanan}}$ TFM için; 607 ve 1.000 mg GAE/100 g, DPPH için; 878 ve 1.250 mg TE/100 g, CUPRAC için; 2.922 ve 2.500 mg TE/100 g olarak belirlenmiştir. $C_{e,\text{hesaplanan}}$ değerler $C_{e,\text{deneysel}}$

değerlerinden bir miktar farklılık göstermiş, bu durum da, ikinci dereceden kinetik modelin, Sakız enginarının yaprak ve dış brakte karışımının MDE'sini karakterize etmek için uygun olmadığı şeklinde yorumlanmıştır.

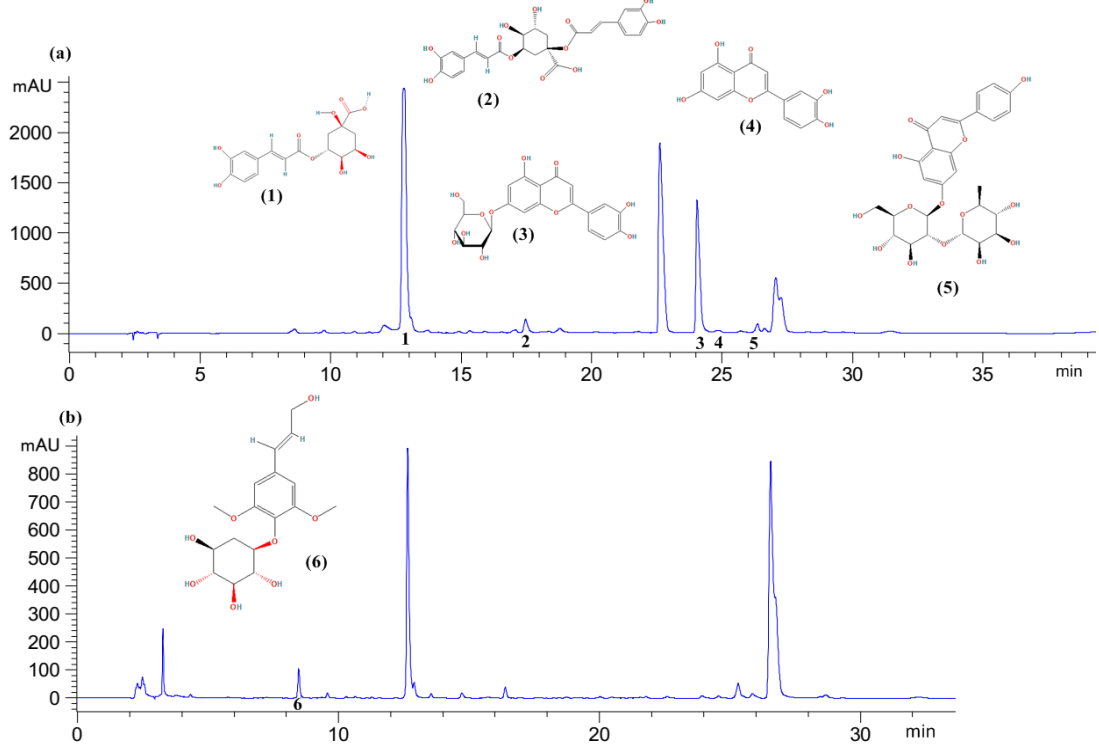
Peleg modelinin Sakız enginarına ait TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri için parametreleri Çizelge 3.9'da gösterilmiştir. Düşük k_1 değerlerinin daha hızlı bir ekstraksiyonu ifade ettiği [96], düşük k_2 değerlerinin maksimum verimi ifade ettiği söylenebilir. k_1 ve k_2 değerleri, TFM için 0,0033 dakikag/mg ve 0,0011 g/mg; DPPH için 0,0017 dakikag/mg ve 0,0009 g/mg; CUPRAC için 0,0021 dakikag/mg ve 0,0006 g/mg olarak belirlenmiştir. Peleg modeli, deneysel ve hesaplanmış veriler arasında iyi bir uyum anlamına gelen daha yüksek regresyon katsayısı ile ($>0,92$) temsil edilmektedir.

R^2 değerleri, Page modelinde 0,94'ten yüksek bulunmuştur. k ve n değerleri, TFM için 5,65 ve 0,132; DPPH için 6,15 ve 0,106; CUPRAC için 6,11 ve 0,161 olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak Sakız enginarının yenemeyen kısımları için uygulanan mikrodalga ekstraksiyonu kinetiği çalışmalarında kullanılan dört farklı kinetik modelinin regresyon değerleri 1'e yakın bulunmuş olsa da, modeller kullanılarak hesaplanan değerler ile deneysel bulgular arasında her modelde tam bir uyum gözlenmemiştir. Model sonuçları ile deney sonuçlarının birbirine uyumlu olduğu tek model olarak birinci dereceden kinetik model belirlenmiştir. Bu nedenle Sakız genotipinin mikrodalga destekli ekstraksiyonu için büyük ölçekli bir sistem öncesi yapılacak tasarım çalışmalarında birinci dereceden kinetik modelin kullanılması önerilmektedir.

3.1.9 Enginar Genotiplerinin Yenemeyen ve Yenebilir Kısımlarının Biyoaktif Madde İçeriklerinin Değerlendirilmesi

Enginar genotiplerine ait yenemeyen ve yenebilir tüm kısımlarının önemli biyoaktif bileşikleri incelenmiştir. Şekil 3.12'de 320 nm ve 280 nm'de enginar yaprak ekstraktının UV kromatogramı gösterilmiştir.



Şekil 3.12 Enginar yaprak ekstraktının: 320 nm kromatogramı (1: klorojenik asit, 2:sinarin; 3:luteolin 7-glikozit, 4:luteolin, 5:rhoifolin :280 nm kromatogramı 6: sirinjin).

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözeltiler kullanılarak HPLC-DAD cihazıyla fenolik bileşenlerin kantitatif analizleri yapılmıştır. Klorojenik asit (5-O-kaffeoilkinik asit) için 200-5.000 ppm, sinarin (1,3-di-O-kaffeoilkinik asit) için 0-100 ppm aralığında 320 nm’de standart eğrisi çizilmiştir. Luteolin 7-glikozit, luteolin ve rhoifolin 335 nm UV değerinde en yüksek pik vermiştir. Luteolin 7-glikozit 0-360 pmm, luteolin 0-100 ppm, rhoifolin 0-100 ppm aralıklarında 335 nm’de standart madde kullanılarak hesaplanmıştır. Sirinjin 280 nm’de 0-340 ppm aralığında standart eğrisi çizilerek tespit edilmiştir [130].

Tez çalışmasında kullanılan enginar genotiplerinin yenemeyen ve yenebilir tüm organlarında major bileşiğin %0,95 ile %6,9 arasında klorojenik asit olduğu görülmüştür (Çizelge 3.10). *In vivo* çalışmalarda klorojenik asitin antikanserojen antioksidan özellikleri olduğu için bu sonuçların enginar içeriğinde yüksek çıkması önem taşımaktadır [130]. Enginar içeriğinde klorojenik asitin yüksek olması, klorojenik asitin fenolik asitleri üreten birçok biyokimyasal reaksiyon için bir substrat olmasıyla açıklanabilir [131].

Çizelge 3.10 : Enginar genotiplerinin farklı kısımlarındaki biyoaktif madde içeriği.

	Yaprak	Sap	Dış Brakte	Kalp	İç Brakte
Bayrampaşa	Klorojenik asit (mg/kg)	6.904,92±115,35 A	6.123,7±66,78 b	5.488,79±10,25 c	1.016,72±17,6 d
	Sinarin (mg/kg)	29,05±0,20 A	26,62±1,20 a	20,40±0,13 b	11,70±0,99 c
	Luteolin 7-glikozit (mg/kg)	1.892,16±2,31 A	31,66±4,55 c	151,83±1,48 b	26,15±4,19 c
	Luteolin (mg/kg)	10,32±3,46 C	28,47±1,09 b	40,43±1,56 a	6,61±0,55 d
	Rhoifolin (mg/kg)	64,75±12,06 D	27,15±1,78 e	170,93±3,87 a	105,95±1,18 b
	Sirinjin (mg/kg)	10,96±0,44 A	2,28±1,05 b	1,86±0,29 b	0,82±1,66 b
					TE
Sakız	Klorojenik asit (mg/kg)	2.484,09±7,27 A	1.957,5±72,45 b	891,97±5,69 c	2.484,17±73,8 a
	Sinarin (mg/kg)	20,26±0,37 bc	18,28±0,99 c	22,83±0,82 a	22,38±1,49 ab
	Luteolin 7 - glikozit (mg/kg)	3.352,17±14,91 A	53,52±1,47 b	40,75±7,84 b	37,62±4,58 b
	Luteolin (mg/kg)	16,89±0,98 C	4,51±0,26 e	22,02±4,18 b	10,62±0,03 d
	Rhoifolin (mg/kg)	123,73±5,44 A	45,08±3,70 d	105,21±15,09 b	64,45±2,51 c
	Sirinjin (mg/kg)	40,83±0,14 A	30,71±1,54 b	25,39±0,89 c	12,68±0,14 e
					17,51±0,74 d

Klorojenik asitin en yüksek değeri her iki enginar genotipinde de yaprak kısmında (6.904,92 mg/kg (Bayrampaşa), 2.482,09 mg/kg (Sakız)) bulunmuştur. Bayrampaşa enginarında sap ve dış brakte kısmında sırasıyla; 6.123,7 ve 5.488,79 mg/kg görülürken en düşük klorojenik asit kalp kısmında 1.016,72 mg/kg ve iç brakte kısmında 995,80 mg/kg olarak belirlenmiştir. Sakız enginarının sap kısmında klorojenik asit miktarı 2.484,17 mg/kg belirlenirken, yaprak kısmıyla istatistiksel olarak fark görülmemiştir. Sakız genotipinin klorojenik asit miktarı, dış brakte 891,97, kalp 2.484,17, iç brakte 971,26 mg/kg olarak belirlenmiştir.

Bayrampaşa enginarında sinarin en yüksek yaprak ve sap kısmında sırasıyla 29,05 mg/kg, 26,62 mg/kg değerleri ile görülürken, Sakız genotipinde sinarin en yüksek dış brakte 22,83 mg/kg, kalp kısmında 22,38 mg/kg olarak bulunmuştur. En düşük sinarin her iki enginar genotipinde de iç brakte kısmında görülmüştür.

İtalya’da beş farklı çeşit enginarın organlarındaki sinarin miktarı incelenmiştir. En yüksek sinarin kalp organında, en düşük sinarin dış brakte kısmında olduğu

belirtilmiştir [23]. Enginarın metanolik ekstraktındaki sinarinin çok düşük olduğu ve yaprağın özünde majör bileşen olduğu belirtilmiştir [132].

Luteolin 7-glikozit, Avrupa Farmakopisinde belirtildiği gibi enginar yaprağındaki majör bileşiklerden biridir. Tez çalışmasında her iki yerli çeşidin yaprak kısmındaki en önemli majör bileşenin luteolin 7-glikozit olduğu görülmüştür. Sakız genotipindeki yaprak dışındaki organlarda luteolin 7-glikozit düşük oranda (%0,03-0,06) bulunurken, organlar arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir. Bayrampaşa genotipinde yaprakta luteolin 7-glikozit 1.892,16 mg/kg bulunurken, diğer organlarda çok daha düşük oranlarda tespit edilmiştir.

Enginar yapraklarında bulunan bileşikler HMG-CoA redüktaz üzerinde inhibitör etki göstererek kolesterol oluşumunu önlemektedir [121, 133]. Yaprak ekstresinde bulunan luteolin 7-glikozit ve luteolin HMG-CoA redüktaz enzimini kuvvetli bir şekilde inhibe ederken, klorojenik asitin HMG-CoA redüktaz enzimi üzerinde daha az etkili olduğu görülmüştür [20].

Luteolin miktarı enginar genotipinin dış brakte kısmında bayrampaşa için 40,43 mg/kg iken Sakız enginarında iç brakte ve dış brakte kısmında sırasıyla 27,50 ve 22,02 mg/kg'dır ve diğer kısımlara göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bayrampaşa enginarının yaprak kısmı 10,32 , sap kısmında 28,47, kalp kısmında 6,61mg/kg değerleri tespit edilirken, en düşük iç brakte kısmında 2,18 mg/kg olduğu bulunmuştur. Sakız genotipinde yaprak kısmında 16,80, kalp kısımlarında 10,62 mg/kg değerleri belirlenirken, en düşük sap kısmında 4,51 mg/kg olduğu tespit edilmiştir.

Luteolin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olmasından dolayı önemli bir bileşendir ve düşük yoğunluklu lipoproteinleri oksidasyondan korumaktadır [3].

Rhoifolin (apigenin-7-O-neohedperidoside) Bayrampaşa genotipinde en yüksek dış brakte kısmında 170,93 mg/kg olarak tespit edilirken, Sakız enginarında yaprak kısmında 123,73 mg/kg değeri bulunmuştur. Bayrampaşa genotipinde rhoifolin içeriği yaprak 64,75 mg/kg, iç brakte 75,49 mg/kg, kalp 105,95 mg/kg tespit edilirken en düşük sap kısmında 27,15 mg/kg olduğu belirlenmiştir. Sakız genotipinde iç brakte 100,54 mg/kg ve dış brakte 105,21 mg/kg olarak belirlenmiş olup enginarın bu kısımları arasında istatistiksel fark görülmezken, kalp kısmında 64,45 mg/kg ve sap kısmında 45,08 mg/kg değerlerinin arasında istatistik olarak farklılıklar görülmüştür. Apigen ve türevlerinin anti kanserojen, serbest radikal süpürme gibi özellikleri, birçok

in vivo çalışmaları ile belirlenmiştir. Apigenin ve türevleri enginar dışında, maydanoz, soğan, portakal, çay, buğday filizi, papatya ve bazı baharatlar gibi bir çok meyve ve sebzede fazla oranda bulunmaktadır [134].

Sirinjin fenolik bileşiği Bayrampaşa ve Sakız genotiplerinin yaprak kısımlarında en yüksek değerlerde, sırasıyla 10,96 ve 40,83 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Bayrampaşa genotipinde sap kısmında 2,28, dış brakte kısmında 1,86, kalp kısmında 0,82 mg/kg olarak bulunmuş olup bu değerler arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir. Bayrampaşa genotipinin iç brakte kısmında sirinjin bileşeni tespit edilememiştir. Sakız genotipinde ise sap kısmında 30,71, dış brakte kısmında 25,39, kalp kısmında 12,68, iç brakte kısımlarında 17,51 mg/kg değerleri belirlenmiştir. Sirinjin içeriği Sakız ve Bayrampaşa genotipleri karşılaştırıldığında Sakız genotipinde daha yüksek olduğu görülmektedir.

Tez çalışmasında tespit edilmiş olan sonuçlar literatür ile kıyaslanmıştır. Akdeniz ülkelerinde yetiştirilen 6 farklı enginar çeşidi üzerine yapılan benzer bir çalışmada yaprak, dış brakte, kalp ve iç brakte kısımlarındaki majör bileşenlerin bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda tespit edildiği gibi, klorojenik asit, sinarin, luteolin 7-glikozit, luteolin 7-rutinozit olduğu görülmüştür. Klorojenik asit içeriği Tondo di paestum enginar türünde 919,98 mg/kg olarak en yüksek değerde tespit edilmiştir. Bu değer hem Bayrampaşa hem de Sakız genotipinin sahip olduğu klorojenik asit içeriğinden daha düşüktür. Violet de çeşidinin luteolin 7-glikozit içeriği 69.658,27 mg/kg değeri ile Bayrampaşa ve Sakız enginarlarının çok üstünde olarak tespit edilmiştir. Aynı çeşidin sinarin içeriği ise Türk genotiplerine benzer şekilde 21,62 mg/kg olarak bulunmuştur [135].

İtalya, Fransa ve Brezilya kökenli altı farklı enginar çeşidi üzerine yapılan başka bir çalışmada ise, en yüksek klorojenik içeriği 4.158 mg/kg olarak Violetto di Sicilia çeşidinde tespit edilmiştir. Çeşitlerin üç tanesinde ise hiç klorojenik asit tespit edilememiştir. Aynı çeşitlerin luteolin miktarına bakıldığında değerlerin üç farklı çeşitte 23 ile 83 mg/kg arasında değiştiği görülmüştür. Diğer üç çeşitte ise, luteoline rastlanmamıştır. Bu sonuçlar tez sonuçları ile karşılaştırıldığında Bayrampaşa ve Sakız genotiplerinin klorojenik asit miktarlarının söz konusu 6 tipten daha yüksek olduğu, luteolin miktarlarının ise yaklaşık olarak aynı olduğu görülmüştür [27].

Yunanistanda yapılan çalışmada, altı farklı globe enginar genotipi ve iki farklı yabancı enginar genotiplerinin bazı biyoaktif içerikleri incelenmiştir. Çalışmada en yüksek klorojenik asit miktarı 28,5 mg/g ile 57,2 mg/g değerleri arasında bulunurken, yabancı enginar genotiplerinde 30,2 ve 33,2 mg/g değerleri bulunmuştur. Türk enginar genotiplerinde bulunan klorojenik asit değerlerinin çok yüksek olduğu görülmüştür [136].

Amerika'da yapılan başka bir çalışmada, üç farklı enginar çeşidi (Green Globe, Imperial Star, Violet) yaprak, olgun baş ve olgun olmayan baş kısımlarının biyoaktif içerikleri değerlendirilmiştir. Biyoaktif bileşiklerden en yüksek Imperial Star yaprak kısmında bulunmuştur. Klorojenik asit %4,713, luteolin 7-glikozit %0,252, sinarin %1,617 olarak belirlenmiştir. Türkiye'deki enginar genotiplerinden klorojenik asit miktarları benzerlik gösterirken, luteolin 7-glikozit Türkiye'deki genotiplerde daha yüksek bulunmuştur. Sinarin ise Türk enginar genotiplerinde daha düşük miktarda bulunmuştur.

Dünyada enginar çeşitleri ve organlarının biyoaktif içerikleri karşılaştırılmış bir çok çalışmada; çeşitler ve organların içeriklerinde büyük farklılıklar olduğu görülmektedir. Tez çalışmamızda benzer şekilde Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin yenebilir ve yenemeyen tüm kısımlarında farklılıklar tespit edilmiştir. Bayrampaşa genotipinin yaprak kısmında en yüksek klorojenik asit değerleri görülürken, Sakız genotipinin yaprak kısmındaki luteolin 7-glikozit Bayrampaşa genotipinden çok daha yüksek bulunmuştur.

Bitkilerdeki polifenolik ve antioksidan aktivite miktarının, biyolojik faktörlerin (genotip, organ ve ontogenez) yanı sıra çevresel koşullardan (sıcaklık, tuzluluk, su stresi ve ışık şiddeti) etkilendiği bilinmektedir [135]. Elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, enginarın polifenol içeriğinin esas olarak genotipe ve bitkinin organlarına bağlı olarak değişiklik gösterdiği değerlendirilmiştir. Aynı zamanda, Sakız genotipi Ege Bölgesinde erkenci olarak kış aylarının sonunda hasat edilirken, geççi olarak nitelendirilen Bayrampaşa genotipi mayıs aylarında hasat edilmektedir. İki enginar genotipinin yetiştirilme koşulları, iklimleri ve hasat dönemlerindeki farklılıklar biyoaktif içeriklerini önemli derecede etkilediği görülmektedir.

Tez çalışmasında yapılan deneysel sonuçlara genel olarak bakıldığında, Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin yenemeyen kısımlarından olan yaprak ve sap kısımlarında en yüksek TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivite değerleri bulunurken, yaprak kısmında diğer enginar kısımları ile karşılaştırıldığında klorojenik asitin 3-5 kat daha yüksek, luteolin 7-glikozitin 50-150 kat daha yüksek olduğu görülmüştür.

Ülkemizde enginar hasadından hemen sonra araziye bırakılan ve hayvan yemi olarak kullanılan yaprak kısmının en yüksek biyoaktif içeriye sahip organ olduğu belirlenmiştir. Araziye bırakılan bu kısım, enginar bitkisinin yaklaşık %50'den fazlasını oluşturmaktadır. Genellikle sektörde artık olarak değerlendirilen bu kısmın sahip olduğu polifenol içeriği tez çalışması kapsamında belirlenerek katma değeri yüksek ürüne dönüştürme potansiyelinin olduğu tespit edilmiştir. Enginarın yaprak kısmında büyük oranda tespit edilen biyoaktif bileşenlerin, karaciğer hastalıklarına karşı koruyucu, LDL oksidasyonu ve safra taşı önleyici, antidiyabetik gibi etkileri bulunmaktadır. Bu sağlığa faydalı etkileri düşünüldüğünde, insan tüketimine uygun olmayan yaprak kısmının, biyoaktif bileşiklerinin ekstraksiyonun yapılması ve elde edilen ekstraktların çok daha yüksek katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi hem ekonomi hemde sağlık açısından önem arz etmektedir.

3.2 Enginar Genotiplerinin Yenebilir Kısımlarının, Farklı Pişirme Uygulamalarının Değerlendirilmesi ve Biyoaktif Bileşenlerin İncelenmesi

Enginarın yenebilir kısmı olan enginar kalbinin sağlık açısından faydalı şekilde tüketilmesi amacıyla, mikrodalga pişirme, fırında pişirme ve haşlama yöntemleri ile pişirme işlemleri gerçekleştirilmiştir. Uygulanan her pişirme tekniğinden önce ve sonrasında enginar kalplerinin, toplam fenolik madde miktarı, toplam antioksidan aktivite (DPPH ve CUPRAC) ve biyoaktif bileşen analizleri gerçekleştirilmiş ve en uygun pişirme yöntemi belirlenmiştir. Ayrıca yapılan bu işlemlerin polifenolik içeriğine etkisi ile biyoaktif madde kayıp ve kazanım oranları incelenmiştir.

3.2.1 Enginar Genotiplerinin Yenebilir Kısımlarına Uygulanan Farklı Pişirme Yöntemlerinin Polifenolik İçeriğe Etkisi

Önemli bileşenlere sahip olan enginar akdeniz diyetinde salata, çorba ve yemeklerde kullanılan çok amaçlı bir bitkidir [126]. Günümüzde tüketiciler, yiyeceklerin faydalı polifenolik bileşenlerini etkileyebilecek pişirme yöntemlerinden kaçınmaktadırlar. Sebzelerin farklı pişirme yöntemlerinin (haşlanmış, mikrodalgada pişirilmiş, buharda

pişirilmiş, ızgarada pişirilmiş veya kızartılmış) fitokimyasal profillerine ve antioksidan aktivitelerine etkisinin araştırılması konularına büyük ilgi vardır. Genellikle sebzelerin çoğu pişirildikten sonra tüketilir. Bu nedenle, kaynatma, kızartma, mikrodalgada pişirme, fırında pişirme gibi yaygın ev içi işlemler sırasında antioksidan aktivitelerine veya serbest radikal kapasitelerinin nasıl değiştiğini saptamak sağlık açısından çok önemlidir. Sebze ve meyvelerin içeriğinde bulunan antioksidan bileşikler insan diyetinde büyük öneme sahiptir [148]. Enginar içeriğinde yüksek biyoaktif bileşiklerden dolayı, antioksidan, antikansorejen, karaciğer hastalıklarında koruyucu, kolesterol düşürücü, antiobakteriyel, anti-HIV, safra atıcı ve idrar söktürücü özellikleri bulunmaktadır [149]. Enginar sağlık için faydaları eski çağlardan beri bilinmekte ve sofralarda genellikle pişirme işlemlerinden sonra tüketilmektedir. Sebzelerin fonksiyonel aktivitelerini, antioksidan kapasitelerini ve radikal süpürme aktivitesini en yüksek seviyede tutmayı sağlayacak optimum pişirme yöntemleri üzerinde çalışmalar yürütülmektedir.

Sunulan tez çalışmasında, Türkiye’de en çok sofralarda tüketilen Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin yenebilir kısmı olan kalp kısımlarının, Türk toplumunun kullandığı geleneksel pişirme yöntemlerinin uygulanması sonrasında, enginarın biyoaktif içeriğinin değişiminin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu nedenle, tez çalışmasının ikinci bölümü olarak, öncelikle üç farklı pişirme yönteminin toplam fenol ve antioksidan aktivite değerleri üzerine olan etkisi incelenmiştir (Çizelge 3.11).

Çizelge 3.11 : Farklı pişirme yöntemleri uygulanmış enginar genotiplerinin toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan aktivite değerleri.

	Yerel Genotipler	Pişirme Uygulamaları							Ort.	CV
		Pişmemiş	Haşlama		Mikrodalga pişirme		Fırında pişirme			
TFM (mg GAE/100 g)	Sakız	3.020±23	1.836±14	b	1.511± 12	c	1.870±14	b	1.739B	5,83
	Bayrampaşa	2.980±23	2.447±17	a	2.478± 78	a	1.524±8	c	2.149A	
	Ort.		2.142A		1.995B		1.697C			
DPPH (mg TE/100 g)	Sakız	3.644±78	5.724±72	d	4.790±27	e	7.093±27	c	5.869B	7,63
	Bayrampaşa	4.581±29	10.374±16	b	12.815±114	a	6.146±59	d	9.779A	
	Ort.		8.049B		8.803A		6.619C			
CUPRAC (mg TE/100 g)	Sakız	15.089±116	10.035±157	b	10.015±108	b	13.386±107	a	11.145	2,39
	Bayrampaşa	19.943±122	9.548±54	b	14.600±166	a	7.767±113	c	10.639	
	Ort.		9.792B		12.307A		10.577B			

Enginar genotipleri istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, pişirme sonrası en yüksek TFM içeriği Bayrampaşa genotipinde görülmüştür. Bayrampaşa genotipi için, pişirme yöntemlerinde en yüksek TFM içeriği, haşlama işleminde bulunduğu tespit edilirken, en düşük TFM içeriği fırında pişirme yönteminde belirlenmiştir. Bayrampaşa genotipinin en yüksek TFM içerikleri pişirme yöntemlerinden haşlama (2.447 mg GAE/100 g) ve mikrodalga pişirmede (2.478 mg GAE/100 g) elde edilmiştir. DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivitesinin en yüksek değerleri Bayrampaşa genotipinin mikrodalga pişirme uygulamasında sırasıyla 12.815 ve 14.600 mg TE/100 g olarak bulunurken, en düşük değerleri Bayrampaşa genotipinin fırında pişirme uygulamasında 6.146 ve 7.767 mg TE/100 g olarak bulunmuştur.

Sakız genotipinde ise uygulanan pişirme yöntemlerinden en düşük TFM içeriği mikrodalga uygulamasında (1.511 mg GAE/100 g) bulunmuştur. Sakız genotipi için farklı pişirme uygulamalarından DPPH antioksidan aktivitesi, mikrodalga pişirme uygulamasında ön plana çıkarken, fırında pişirme en düşük antioksidan aktiviteyi gösteren yöntem olmuştur.

Elde edilen sonuçlar literatür verileri ile karşılaştırılarak yorumlanmıştır. Buna göre, literatürde yapılan bir çalışmada, evde pişirme yöntemlerinin (kaynatma, mikrodalgada, basınçlı pişirme, ızgara, kızartma ve fırınlama) sebzelerin antioksidan aktivitesi üzerindeki etkisi, farklı antioksidan aktivite deneyleri (lipoperoksil ve hidroksil radikalleri temizleme kapasiteleri) kullanılarak 20 sebze de değerlendirilmiştir. Çalışmada enginarın, tüm pişirme yöntemlerinde çok yüksek lipoperoksil radikal kapasitesini koruyan tek sebze olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu sebzelerin ABTS radikal temizleme kapasitesinin analizi yapılmış, mikrodalga dışındaki tüm pişirme yöntemlerinde en yüksek kaybın sarımsakta meydana geldiği görülmüştür. Pişirme yöntemleri incelendiğinde ızgara pişirme ve mikrodalga pişirmede en düşük kaybın gerçekleştiği görülürken, basınçlı pişirme ve kaynatma yöntemleri en büyük kayıplara yol açmış, kızartma sonucunda ise bu değerler arasında önemli bir sonuç elde edilmiştir. Sebzelerin pişirilmesinde su kullanımının artmasının biyoaktif içeriğin düşmesinde çok önemli bir dezavantaj olduğu görülmüştür [148]. Sunulan tez kapsamında yapılan çalışmalarda, literatüre benzer şekilde, mikrodalga pişirme ve fırında pişirme yöntemlerini ön plana çıkarmıştır. Haşlama yöntemi, enginar genotipinde önemli kayıplara sebep olmuştur ve bu durum su kullanımının pişirme uygulamalarındaki kayıplarla ilişkisi olduğu şeklinde yorumlanabilir. Bu

çalışmada da, haşlama yönteminde diğer yöntemlere göre çok daha fazla su kullanılmasından kaynaklı, TFM ve CUPRAC antioksidan aktivitede kayıp meydana geldiği düşünülmektedir. Tez çalışmasında bulunan değerler literatür çalışmaları ile uyumlu ve literatürü destekler niteliktedir.

İtalya’da yapılan başka bir çalışmada, marketten alınan ve ayrıca yetiştirilen toplam altı farklı enginar kalbinde mikrodalga pişirme ve buharda pişirme yöntemleri kullanılmıştır. Farklı pişirme işlemlerinin toplam antioksidan aktivite değerlerinde artışa neden olduğunu görülmüştür. En yüksek antioksidan aktivite pişmiş enginarlarda tespit edilmiştir. Enginar türleri ve pişirme yöntemleri arasında, TFM ve toplam antioksidan aktivite değerlerinde etkileşimler bulunmasına rağmen, buharda pişirme ve mikrodalga pişirme yöntemleri arasındaki farklılık önemli bulunmamıştır. Pişirilmemiş enginar kalbinde polifenol içeriği ne kadar düşük olursa, pişirme işleminden sonra polifenol içeriğinde artışın o kadar yüksek olduğu gözlenmiştir. Çalışmada buharda pişirilmiş enginarların TFM içeriği mikrodalga pişirme yöntemi uygulandığında daha yüksek bulunmuştur [149]. Aynı çalışmada pişirme uygulamalarının yanı sıra tarımsal uygulamaların da çeşitli fitokimyasalların konsantrasyonunu ve doku dağılımını derinden etkilediği raporlanmıştır. Tarla konumu, bitkinin her kısmındaki antioksidan aktiviteyi ve fenol içeriğini önemli ölçüde etkilediği belirtilmiştir [149].

Benzer şekilde karşılaştırmalı olarak bu tez kapsamında yaptığımız çalışmalar değerlendirildiğinde, pişirme uygulamaları ile genotipler arasında farklılıklar tespit edilmiştir. Literatüre benzer şekilde, pişirme işlemlerinde sonra genel olarak DPPH antioksidan aktivite değerlerinde artış görülmüştür. Fakat, CUPRAC yöntemine göre hesaplanan antioksidan aktivite değerlerinde, tüm pişirme yöntemlerinden sonra bir düşüş görülmüştür. Tez çalışmasında, farklı ekim alanlarında yetiştirilen Sakız (İzmir) ve Bayrampaşa (Bursa) genotiplerinde TFM içerikleri hem pişirilmeden önce, hem de farklı pişirme yöntemleriyle pişirildikten sonra değişiklikler tespit edilmiştir. Söz konusu farklılığın sebebi ekim alanları, genetik faktörler ve içeriğinde biyoaktif bileşenlerin kompozisyonlarındaki farklılıklardan kaynakladığı düşünülmektedir.

Literatürde, pişmemiş enginar kalbi ve haşlama yöntemiyle pişirilmiş enginar kalbinin, besin değerlerindeki değişimler incelenmiştir. Literatürdeki bu çalışmada TFM ve DPPH antioksidan aktivite değerlerinde pişirme sonrasında artış meydana geldiği

tespit edilmiştir [150]. İtalya’da yapılan başka bir çalışmada, pişmiş enginarın antioksidan kapasitesi, buharda pişirildikten sonra yaklaşık 15 kat ve kaynatıldıktan sonra ise yaklaşık 8 kat kadar arttığı raporlanmıştır. Enginar antioksidan profili üzerinde gözlemlenen pişirme etkisi, muhtemelen matris yumuşatma ve bileşiğin artan ekstrakte edilebilirliğinden kaynaklanmaktadır [119].

Türkiye’deki enginar genotiplerinin farklı pişirme uygulamalarının TFM ve toplam antioksidan aktiviteye etkisini incelediğimiz çalışmada, iki farklı toplam antioksidan aktivite yöntemi kullanılmıştır. Tüm genotip ve pişirme yöntemlerinde, çiğ enginara oranla, TFM ve CUPRAC antioksidan aktivite değerleri azalırken, DPPH antioksidan aktivite değerlerinde artış meydana gelmiştir. Antioksidanlar birincil (zincir kırıcı antioksidanlar) ve ikincil (önleyici antioksidanlar) olmak üzere iki sınıfa ayrılmıştır. DPPH antioksidan aktivite yöntemi, birincil (zincir kırıcı antioksidanlar), CUPRAC antioksidan aktivite yöntemi ise ikincil (önleyici antioksidanlar) antioksidanlar üzerinden yürümektedir [151]. İki antioksidan yönteminde etki mekanizmalarının farklı olduğu görülmektedir. Gıda analizlerinde tek bir antioksidan yönteminin kullanılması, toplam antioksidan aktivite miktarını açıklamak için yeterli değildir, toplam antioksidan aktiviteyi yorumlamak açısından en az iki farklı mekanizması olan antioksidan yönteminin kullanılması gerekli görülmektedir. Enginar genotiplerinin pişirme sonrasındaki DPPH antioksidan miktarındaki artış ile aynı uygulamada CUPRAC antioksidan miktarındaki azalmanın sebebi olarak, iki yöntemin farklı mekanizma içermesi ve farklı fenolik bileşiklerle tepkimelere girmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Pişirme uygulamalarından sonra meydana gelebilecek neo formdaki bileşikler, polifenolik bileşiklerin henüz tanımlanmamış çok aktif antioksidan türlerine dönüştürülmesine atfedilmiş olup, bu sinerjik etkiden sonra antioksidan kapasitede meydana gelen artış tam olarak açıklanamamaktadır [119].

Sunulan tez çalışmasında, Türkiye’de yetiştirilen yerli tip enginar genotiplerinin yenebilen kısımlarının yaygın pişirme uygulamalarının (haşlama, mikrodalga, fırında) polifenolik bileşenlerine etkisi de analiz edilmiştir (Çizelge 3.12).

Pişirme uygulamaları sonrasında kafeoilkinik asit türevleri (klorojenik asit ve sinarin) içeriğinde ciddi bir artış görülmüştür. Klorojenik asit içeriği en yüksek olarak mikrodalga ve fırında pişirme uygulamalarında görülürken, Sakız genotipinde fırında pişirme uygulamasında 72.030 mg/kg klorojenik asit tespit edilmiştir.

En yüksek sinarin içeriği, pişirme yöntemlerinden haşlama yönteminde tespit edilirken, genotipler içerisinde en yüksek sinarin içeriği Bayrampaşa genotipinde belirlenmiştir. En düşük sinarin içeriğinin Sakız enginar genotipinin haşlama (210,28 mg/kg) ve mikrodalga pişirme (181,46 mg/kg) uygulamalarında olduğu görölmüştür. Literatürde bulunan bir çalışmada, enginarın farklı pişirme uygulamalarında elde edilen klorojenik asit ve sinarin miktarlarının sırasıyla, 4.040-6.150 mg/kg ve 226-777 mg/kg aralığında bildirilmiştir [119]. Isıl işlem sırasında kafeoilkinik asit izomerlerinin içeriğinin artmasının, yüksek sıcaklıklar tarafından desteklenen 5-O kafeoilkinik ve 1,5-di-O-kaffeoilkinik asitlerinin molekül içi transesterifikasyonundan kaynaklandığını belirtilmiştir [152].

Çizelge 3.11’de luteolin 7-glikozit sadece Bayrampaşa genotipinin fırında pişirme uygulamasında 18,55 mg/kg olarak tespit edilmiştir. Ancak, Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin diğer tüm pişirme uygulamalarında saptanamamıştır.

Fırında pişirilmiş Sakız ve Bayrampaşa enginarlarının rhoifolin içeriği 327,68 mg/kg ve 277,5 mg/kg olarak bulunmuştur. Benzer şekilde, Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin haşlama ve mikrodalgada pişirme yöntemleri ile pişirilmesi sonrasında rhoifolin tespit edilememiştir.

Sakız genotipinin sirinjin miktarı haşlama sonrası 64,00 mg/kg, mikrodalga pişirme sonrası 63,00 mg/kg ve fırında pişirme sonrası 69,00 mg/kg olarak tespit edilirken aralarında istatistiksel olarak önemli bir fark bulunmamıştır. Pişirme öncesinde sirinjin içeriği Bayrampaşa enginarında 24,28 mg/kg olarak tespit edilirken, pişirme uygulamalarından sonra hiçbir örnekte sirinjin tespit edilememiştir.

Çizelge 3.12 : Çiğ ve farklı yöntemler ile pişirilmiş enginarların biyoaktif madde içerikleri.

	Yerel Genotipler	Pişirme Uygulamaları								
		Çiğ	Haşlanmış		Mikrodalga Pişirme		Fırında		Ortalama	CV
Klorojenik asit (mg/kg)	Sakız	46.789±1238	46.869,32±590,75	c	41.582,72±237,58	cd	72.030,03±494,42	a	53.494,027A	4,88
	Bayrampaşa	15.259±203	40.096,35±562,77	d	59.263,85±160,37	b	29.866,85±324,35	e	43.075,68B	
	Ortalama		43.482B		50.423,29A		50.948,44A			
Sinarin (mg/kg)	Sakız	56,00±1,70	210,28±17,80	d	181,46±23,32	d	364,49±90,59	c	252,08B	9,2
	Bayrampaşa	134,45±4,17	1.203,15±141,49	a	678,95±33,58	b	396,95±6,71	c	759,68A	
	Ortalama		706,72A		430,21B		380,72B			
Luteolin 7-glikozit (mg/kg)	Sakız	95,00±2,83	74,47±1,97		45,86±4,66		170,05±9,59		329,17A	3,5
	Bayrampaşa	952,41±13,17	224,20±13,43		424,45±16,20		338,85±3,18		96,79B	
	Ortalama		149,34		235,15		254,45			
Luteolin (mg/kg)	Sakız	197,94±6,53	Tespit edilemedi		Tespit edilemedi		Tespit edilemedi		-	6,9
	Bayrampaşa	226,15±19,51	Tespit edilemedi		Tespit edilemedi		18,55±1,20		-	
	Ortalama		-		-		-			
Rhoifolin (mg/kg)	Sakız	613,34±42,59	Tespit edilemedi		Tespit edilemedi		327,68±18,10		327,68	6,15
	Bayrampaşa	637,16±13,06	Tespit edilemedi		Tespit edilemedi		277,5±13,21		277,5	
	Ortalama				302,59					
Sirinjin (mg/kg)	Sakız	94,62±1,95	64,00±2,82		63,00±4,24		69,00±8,48		65,33	8.7
	Bayrampaşa	24,28±3,99	Tespit edilemedi		Tespit edilemedi		Tespit edilemedi		-	
	Ortalama		-		-		-		-	

Tez çalışmasında, çiğ enginarlarda bulunan en önemli flavanoidlerden olan luteolin, luteolin 7-glikozit, rhoifolin ve sirinjinin pişirme uygulamalarından önemli derecede etkilendiği görülmüştür. Literatürde sebzeler üzerine yapılan pişirme uygulamalarında flavonoidlerin termal degradasyona uğraması nedeniyle kayıplara neden olduğu belirtilmiştir. Sebzeleri mikrodalga [153], basınçlı pişirme, ızgara, fırınlama ve kızartma [154] gibi pişirme yöntemlerinin, sebzenin dokusunu derinden etkilediği, ayrıca besin değerinde ve flavonol miktarında kayıplarına neden olabileceği bildirilmiştir [148].

Enginarın pişirilme öncesinde uygulanan ağartma işleminden sonra fenolik içeriğinde ve antioksidan aktivitelerinde artış görülmüştür. Asitle yapılan ağartma işleminin, enginarın fenolik içeriğinde artış sağladığı bildirilmiş ve bu artış, polifenol oksidaz enziminin inaktif olmasıyla ilişkilendirilmiştir [18, 26]. Literatürdeki çalışmalara benzer şekilde, Sakız ve Bayrampaşa enginar genotiplerinin pişirme öncesi uygulanan asitle ağartma uygulamasıyla TFM ve toplam antioksidan aktivite değerlerinde artış görülmüştür.

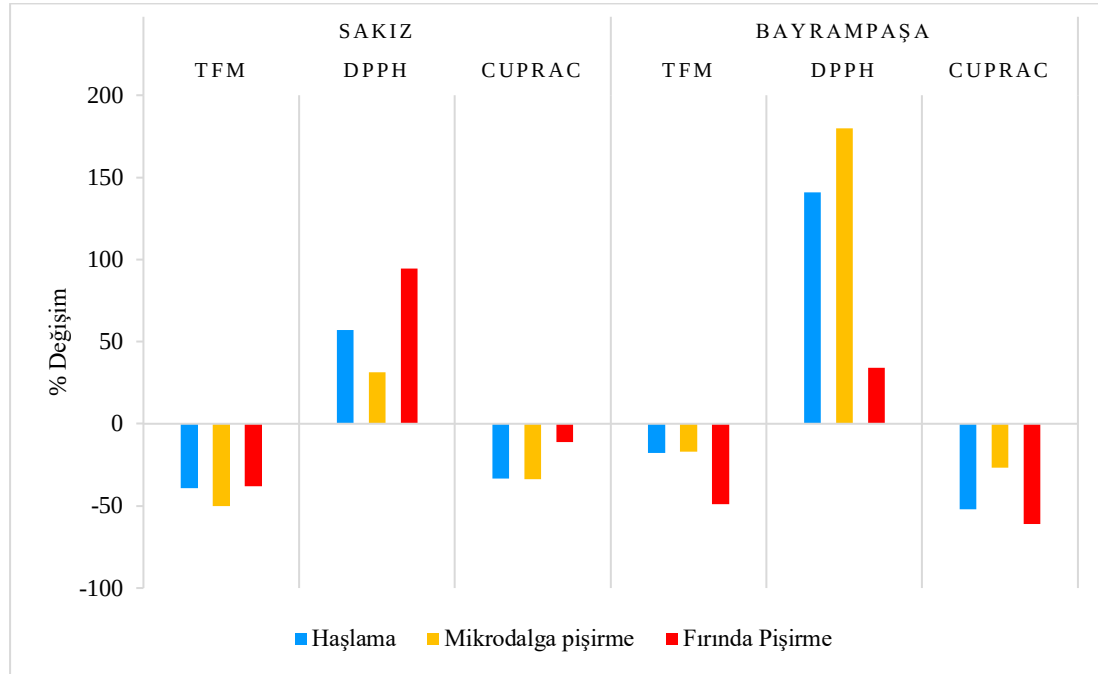
Fenolik bileşenler serbest radikallere ve oksijen türlerine karşı süpürücü ajan olarak önemli etki göstermektedir [155]. Kafeolkuinik asit ve türevlerinin yüksek antioksidan özelliğinin bulunmasının yanı sıra polifenol oksidaz enziminin substratı olması sebebiyle enginarlarda meydana gelen hızlı kararma sorunun sebebi olarak negatif özellik göstermektedir [3, 156]. Bazı araştırmalarda, pişirme sonrasında sebzelerdeki polifenolik bileşikler değişim göstermiştir. Pişirme, hücre duvarını yumuşatır ve karotenoidlerin ekstrakte olmasını kolaylaştırmaktadır. Sebzelerde, haşlama, mikrodalga pişirme, basınçlı pişirme, ızgara pişirme, fırınlama ve kızartma uygulamalarının genel olarak flavonoidlerde büyük kayıplara neden olduğu belirtilmiştir [150].

Sunulan tez çalışmasında da literatüre benzer şekilde, Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin yenebilir kısmı olan kalbine uygulanan pişirme yöntemlerinden sonra, luteolin 7- glikozit, luteolin, rhoifolin ve sirinjin değerlerinde ya tamamen ya da büyük oranda kayıp meydana geldiği görülmüştür. Klorojenik asit ve sinarin değerlerinde büyük oranda artışlar meydana gelmiştir. Bu söz konusu biyoaktif bileşiklerin yapılarına bakıldığında, flavonoid yapılı bileşiklerde kayıp olurken, fenolik asitlerde ise büyük miktarda artış olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, Türk enginar genotipleri, yaygın pişirme yöntemleri ile pişirildiğinde, bazı biyoaktif bileşenlerinin ve antioksidan aktivite değerlerinin arttığı, fiziksel özelliklerini olumsuz yönde etkilenmediği tespit edilmiştir.

3.2.2 Enginar Genotiplerinin Yenebilir Kısımlarına Uygulanan Farklı Pişirme Yöntemlerinden Sonra Biyoaktif Maddelerin Kayıp ve Kazanım Oranları

Tez çalışmasında, enginar genotipleri ağartma uygulaması yapıldıktan sonra çiğ materyalin toplam fenol ve antioksidan aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Farklı pişirme uygulamalarının toplam fenolik madde içeriğinde meydana gelen kayıp ve artış oranları Şekil 3.13’de verilmiştir.



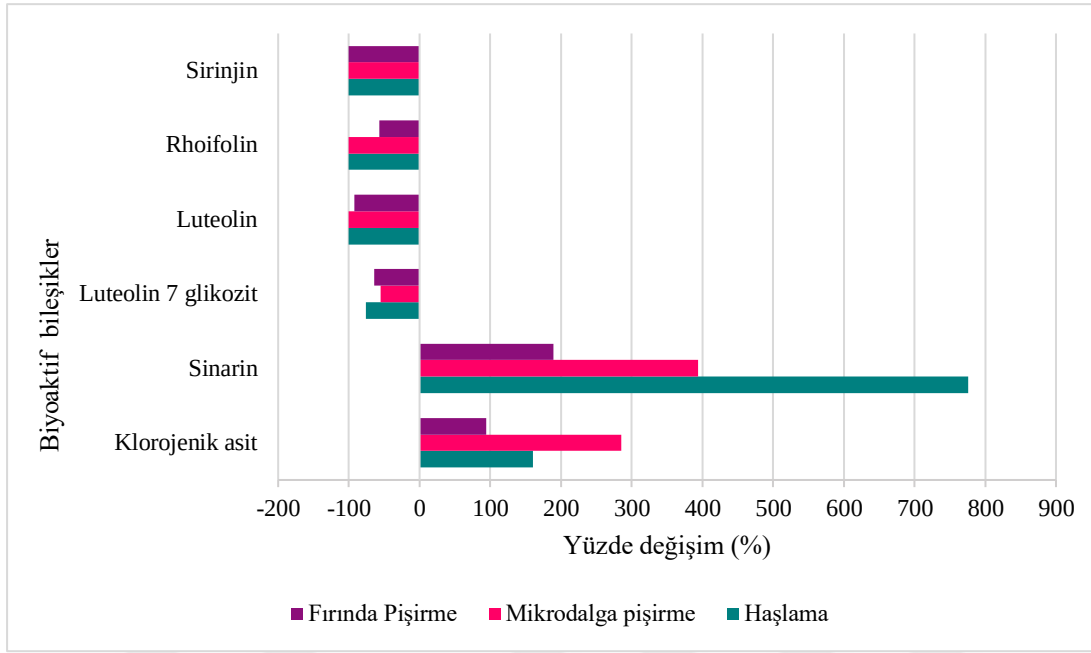
Şekil 3.13. Enginar genotiplerinin yenebilir kısımlarına uygulanan farklı pişirme yöntemlerinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite üzerindeki kayıp ve kazanç oranları (%).

Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin her ikisinde de pişirme uygulamaları fenolik içerikte kayba sebep olmuştur. Sakız genotipinde %40-50 aralığında toplam fenolik madde içeriğinde azalma meydana gelmiştir. En büyük kayıp mikrodalga pişirme uygulamasında olurken, en düşük kayıp fırında pişirmede görülmüştür.

Bayrampaşa genotipinde ise toplam fenol içeriğinde %16-49 aralığında kayıp görülmüştür. En düşük kayıp mikrodalga pişirme uygulamasında, en yüksek kayıp fırında pişirme uygulamasında bulunmuştur.

Her iki çeşit için de pişirme uygulamalarının DPPH antioksidan aktivite değerlerinde artış sağladığı görülmüştür. Sakız genotipinin fırında pişirme uygulamasında DPPH antioksidan aktivite değerinde %94 oranında artış görülürken, mikrodalga pişirmede %34 oranında artış olmuştur. Bayrampaşa genotipinde ise DPPH antioksidan aktivite değerinde mikrodalga pişirme uygulamasında 1,17 kat, haşlamada 1,40 kat artış görülmüş olup, fırında pişirme uygulamasında %34 kazanım bulunmuştur. Sakız genotipinde CUPRAC antioksidan aktivite incelendiğinde, fırında pişirmede %11 kayıp, mikrodalga pişirme ve haşlama uygulamalarında %33 kayıp görülmüştür. Bayrampaşa genotipinde CUPRAC antioksidan aktivitede, en düşük kayıp %26 ile mikrodalga pişirmede, en yüksek kayıp %61 ile fırında pişirmede belirlenmiştir.

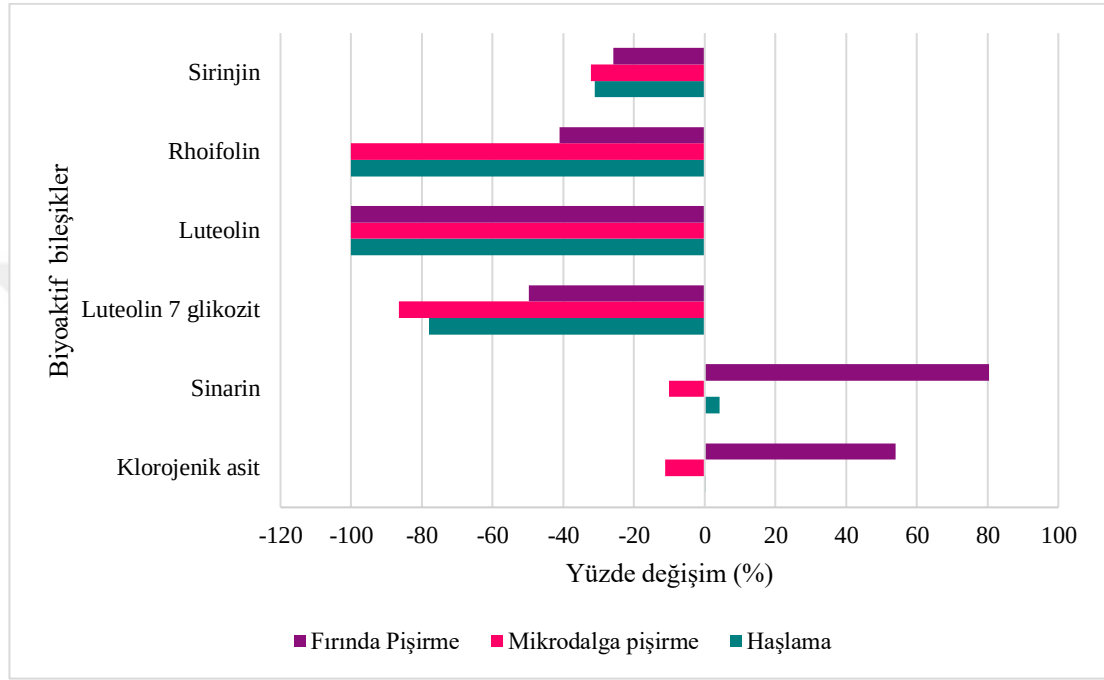
Sakız genotipinde en uygun pişirme fırında pişirme olarak tavsiye edilirken, besin değerinde en yüksek değer kaybı mikrodalga pişirme uygulamasında görülmüştür. Bayrampaşa genotipinde ise en az besin kaybı mikrodalga pişirme uygulamasında görülürken, Sakız genotipinde en çok kayıp mikrodalga uygulamasında tespit edilmiştir. Çalışmada, tek bir pişirme yöntemi ön plana çıkmamaktadır. Bu nedenle enginar genotipine göre pişirme yönteminin tüketiciye tavsiye edilmesi gerekmektedir. Enginar genotipine bağlı olarak pişirme uygulamalarının, fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değeri üzerinde önemli derecede etkili olduğu tespit edilmiştir. Enginarların pişirme sonrasındaki polifenol içeriğindeki yüzdesel değişimler Şekil 3.14 ve Şekil 3.15’da gösterilmiştir.



Şekil 3.14 Farklı pişirme uygulamalarının Bayrampaşa genotipine ait yenebilir kısımlarının fenolik bileşenleri üzerine etkisi.

Farklı pişirme yöntemlerinin enginar genotiplerinin sahip olduğu önemli fenolik bileşikler üzerine etkisi incelenmiştir. Çalışmada öne çıkan durum Bayrampaşa enginarlarının içeriğinde bulunan önemli fenolik bileşiklerden mono ve di-kaffeoilkuinik asit (klorojenik asit, sinarin) içeriğinde büyük bir artış görülmesidir. Bayrampaşa genotipinin haşlama uygulamasından sonra sinarin içeriğindeki 7,75 kat artış, en yüksek artış oranı olarak belirlenmiştir (Şekil 3.14). Bayrampaşa genotipinin sinarin içeriğinin mikrodalgada ve fırında pişirme uygulaması sonrasında 3,94 kat ve 1,88 kat oranında artış görülmüştür. Sakız ve Bayrampaşa genotipleri arasında çok farklı sonuçlar tespit edilmiştir. Sakız genotipinin fırında pişirilmesi sonrasında sinarin içeriğinde %80 oranında kazanım görülürken, haşlama sonrasında sadece %4 oranında sinarin kazanımı bulunmuştur. Sakız genotipinin mikrodalga pişirilmesi sonrasında ise sinarin içeriğinde %10 oranında kayıp meydana gelmiştir (Şekil 3.15). Çalışmada enginarın içeriğindeki en önemli fenolik bileşiklerinden biri olan sinarin miktarı enginarın bitki kısımlarında ve pişirme sonrasında incelenmiştir. En yüksek sinarin içeriği pişirme sonrasında tespit edilmiştir. Birçok sebze önemli biyoaktif içeriklerde pişirme sonrasında ciddi kayıp yaşanırken, enginardaki en değerli biyoaktif maddenin, pişirme sonrasında ciddi artış gösterdiği bulunmuştur.

Şekil 3.14'te Bayrampaşa genotipindeki klorojenik asit değişimi incelendiğinde en yüksek kazanımın 2,85 kat ile mikrodalga pişirme uygulamasında olduğu tespit edilmiştir. Onu haşlama ve fırında pişirme uygulamaları takip etmiştir. Sakız genotipinin klorojenik asit değişimi incelendiğinde fırında pişirme sonrasında 1,41 kat, haşlama sonrasında %56 ve mikrodalga pişirme sonrasında %39 artış görülmüştür (Şekil 3.15).



Şekil 3.15 Farklı pişirme uygulamalarının Sakız genotipine ait yenebilir kısımlarının fenolik bileşenleri üzerine etkisi.

Enginar içeriğindeki diğer önemli biyoaktif maddelerden luteolin 7-glikozit, luteolin, rhoifolin, sirinjin içeriğinde pişirme sonrasında ciddi kayıplar görülmüştür. Sakız genotipinin fırında pişirilmesi sonrasında luteolin 7-glikozit için %49, rhoifolin için %41 ve sirinjin için ise %25 kayıp tespit edilmiştir (Şekil 3.15). Sakız genotipinin pişirme uygulamalarından sonra luteolin tespit edilememiştir. Bayrampaşa enginarının mikrodalga pişirme sonrasında en az kayıp %54'lük oran ile luteolin 7-glikozitte tespit edilmiştir. Fırında pişirme sonrasında luteolin ve rhoifolin içeriğindeki kayıplar %92 ve %57 olarak belirlenmiştir. Haşlama sonrasında diğer flavonoidler tespit edilememiştir.

Tüm biyoaktif bileşikler birlikte değerlendirildiğinde Bayrampaşa enginarı için mikrodalga pişirme uygulamasının en uygun yöntem olduğu görülmüştür. Sakız

enginarı için ise tüm biyoaktif bileşiklerin kazanım ve kayıpları değerlendirildiğinde fırında pişirme yöntemi ön plana çıkmaktadır.

İtalya’da marketlerden alınan enginar çeşitleri , üç farklı pişirme yöntemiyle biyoaktif içeriklerde meydana gelen değişimleri incelenmiştir. Haşlama, buharda pişirme ve kızartma uygulamaları incelendiğinde; haşlama, buharda pişirme ve kızartma prosedürleri için toplam kafeoilkinik asitte önemli bir artış gözlemlenmiştir. Pişmemiş enginar içeriğine göre sırasıyla haşlama, buharda pişirme ve kızartma için %66, %94 ve %71’lik artışlar gösterilmiştir. Bu artış, özellikle buharda pişirilmiş ve kızartılmış numunelerde 5-O-kafeoilkinik ve 1,5-di-O-kafeoilkinik asit artışından kaynaklanmaktadır. Bu durum, hem izomerizasyon hem de hidroliz olaylarının sonucunda meydana gelmektedir. Pişirme sırasında meydana gelen büyük bir transesterifikasyon reaksiyonları nedeniyle fenolik asit konsantrasyonlarında önemli ölçüde değişiklik meydana gelir. Bu, özellikle ham üründe çok düşük konsantrasyonlara sahip olan ve işleme sırasında geniş ölçüde oluşan 3,5- ve 4,5-di-O-kafeoilkinik asitler için belirgindir [119]. Flavonoidler için pişirme işleminden sonra, apigenin 7-O-glukozit ve apigenin 7-O-glukuronid üzerinde genel bir olumsuz etki mevcuttur. Apigenin türevlerinin toplam azalmaları haşlama sonrasında %36, buharda pişirdikten sonra %24 ve kızartmadan sonra %59 olmuştur. Bu durumda flavonoidlerin termal bozunması ve matris yumuşatma etkisinden kaynaklanmaktadır [119]. Sonuç olarak, enginar için uygulanan yaygın pişirme yöntemlerinin bu sebzenin besin kalitesini artırdığını ve fiziksel özelliklerini olumsuz yönde etkilemediği gösterilmiştir. Özellikle buharda pişirme ve kaynatma sırasında kafeoilkinik asitler ve karotenoid konsantrasyonlarında belirgin artışlara, kızartma sırasında şiddetli hale gelen flavonoid konsantrasyonunda orta derecede bir azalma tespit edilmiştir [119].

4. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Türkiye’de yoğun olarak Sakız ve Bayrampaşa yerli enginar genotiplerinin yetiştiriciliği yapılmakta olup, bu genotiplerin yenebilir ve yenemeyen tüm kısımlarının toplam fenolik madde miktarı, DPPH ve CUPRAC toplam antioksidan aktiviteleri ile biyoaktif bileşenleri tespit edilmiştir. Bu kapsamda, tezin ilk bölümünde bitkinin yenemeyen kısmı olan enginar artıklarından yüksek oranda biyoaktif bileşenlerin elde edilmesi amacıyla mikrodalga ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Bu çalışmada ülkemizde yetiştirilen enginar genotiplerinin tüm organlarının biyoaktif içeriği ilk defa incelenmiş ve tüm organlar kendi içerisinde istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Bayrampaşa genotipinin yaprakları için TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri sırasıyla 685,90 mg GAE/100 g, 477,82 mg TE/100 g ve 4.875,19 mg TE/100 g ile en yüksek değer olarak bulunurken; Sakız genotipinin sapları için TFM, DPPH ve CUPRAC değerleri sırasıyla 1.578,88 mg GAE/100 g, 1.259,11 mg TE/100 g ve 2.305,71 mg TE/100 g ile en yüksek değerler olarak belirlenmiştir. Bayrampaşa ve Sakız çeşitlerinin yaprak, gövde, dış brakte, kalp ve iç braktelerindeki toplam fenolik bileşikler sırasıyla 6.904,92 ve 2.484,09 mg/kg; 6.123,70 ve 1.957,50 mg/kg; 5.488,79 ve 891,97 mg/kg; 1.016,72 ve 2.484,17 mg/kg ve 995,80 ve 971,16 mg/kg olarak bulunmuştur. Enginar bitkisinin yenemeyen kısımları yetiştiriciliği yapılan yerlerde artık olarak bırakılmakta ve genellikle hayvan yemi olarak kullanılmaktadır. Her iki enginar genotipinde de yenemeyen kısımların sahip olduğu TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan değerleri diğer organlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Özellikle, klorojenik asitin major fenolik bileşen olduğu görülürken, yaprak kısmında luteolin 7-glikozitin major fenolik bileşen olduğu belirlenmiştir.

İki yerli genotip incelendiğinde Ege Bölgesinde yetiştirilen ve erkenci olarak bilinen Sakız enginarının Bayrampaşa enginarına göre daha yüksek fenolik madde ve antioksidan aktivite değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca biyoaktif bileşenleri incelendiğinde, Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin organları arasında büyük farklılıklar tespit edilmiştir.

Tez çalışmasının ilk kısmında, daha önce de belirtildiği gibi, enginar bitkisinin tüm organları incelenmiş ve en yüksek fenolik içerik, bitkinin %80’lik kısmını oluşturan artık kısımlarında bulunmuştur. Enginarın değerli içeriğe sahip yenemeyen kısmından, katma değeri yüksek fonksiyonel ürün geliştirmek ekonomik olarak büyük avantajdır.

Bu amaçla, her iki enginar genotipinin yenemeyen kısımlarındaki önemli biyoaktif bileşiklerin optimizasyonu çalışması MDE kullanılarak yapılmıştır. Her iki enginar genotipine ait artık ürünlerden ekstrakte edilen polifenolik bileşiklerin ve antioksidanların verimini en üst düzeye çıkarmak amacıyla mikrodalga destekli ekstraksiyonu optimize etmek için merkezi kompozit tasarım uygulanmıştır.

Bayrampaşa genotip enginarında yaprak ve brakte kısımlarından ayrı ayrı fenolik bileşiklerin ve antioksidanların ekstraksiyonu için yeni bir teknolojik yöntem olan mikrodalga destekli sistem kullanılmıştır. Bayrampaşa enginarının, yaprak ve brakte kısımları için 60-80°C sıcaklık ve 3-10 dakika ekstraksiyon süresi parametreleri kullanılarak MDE optimizasyonu ön çalışması gerçekleştirilmiştir. Bayrampaşa enginarının yaprakları için %91-94, brakte için %87-90 değerlerinde ekstraksiyon verimleri elde edilmiştir. En yüksek TFM ve CUPRAC değerleri 4. dakikada elde edilirken, en yüksek DPPH aktivitesi yaprak ve brakte ekstraktları için 6. dakikada ve 80°C’de elde edilmiştir.

Optimizasyon çalışmasında 80° C’de sıcaklık sabit tutularak, 3 bağımsız değişkene (ekstraksiyon süresi (dakika), etanol/su oranı (mL/mL), çözücü/katı oranı (mL/g)) göre 3 bağımlı değişken (TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan aktivite) incelenmiştir. Bayrampaşa genotipine ait artık ürünleri için MDE optimum koşullarında; ekstraksiyon süresi 4 dakika., etanol:su oranı 50:50, çözücü: katı oranı 15:1 mL/g için TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan değerleri sırasıyla 563 mg GAE/100 g, 801 mg TE/100 g ve 2663 mg TE/100 g olarak belirlenmiştir. Bayrampaşa genotipinin yaprak ve brakte karışımı için dört farklı kinetik modelden, ikinci dereceden ve Peleg’in kinetik modellerinin mikrodalga ekstraksiyon kinetiğini tanımlamada en uygun olduğu tespit edilmiştir.

Sakız enginar genotipinin yenemeyen kısımlarına uygulanan mikrodalga ekstraksiyonu için belirlenen optimum koşullar; ekstraksiyon süresi 6 dakika, etanol/su oranı 50:50 ; çözücü/katı oranı 15:1 mL/g için TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan değerleri sırasıyla, 607 mg GAE/100 g, 878 mg TE/100 g ve 2.922 mg TE/100 g olarak elde edilmiştir. Sakız enginarından polifenolik bileşiklerin MDE ekstraksiyonu, birinci derece, ikinci derece, Peleg ve Page kinetik modellerine göre incelenmiştir. Çalışma sonucunda en uygun modelin birinci derece kinetik model olduğu görülmüştür. Sakız enginarının yenemeyen kısımlarına yönelik mikrodalga

ekstraksiyon yönteminin, polifenolik bileşiklerin ve antioksidanların ekstraksiyonu için büyük bir potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir.

Tezin ikinci kısmında ise, enginarın yenilebilir kısmı olan enginar kalbinin sağlık açısından faydalı şekilde tüketilmesi amacıyla, en uygun pişirme tekniği belirlenmiş ve uygulanan her pişirme tekniğinin uygulanmasından önce ve sonra, TFM, DPPH ve CUPRAC antioksidan miktarları ile biyoaktif bileşenleri tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, insan sağlığı için çok önemli bir fenolik bileşen olan sinarinin Sakız genotipinde tüm pişirme çeşitlerinde önemli ölçüde arttığı görülmüştür. Sakız ve Bayrampaşa genotipine ait kalp kısımlarında gerçekleştirilen tüm pişirme uygulamalarından sonra TFM ve CUPRAC değerlerinde azalma görülürken, DPPH değerinde artış olduğu görülmüştür. Bayrampaşa genotipinin mikrodalga pişirme uygulamasından sonra enginar içeriğinde en önemli biyoaktif molekül olan sinarin değerinde çok büyük bir artış olmuştur. Tüm pişirme uygulamalarından sonra klorojenik asit ve sinarin içeriklerinde artış görülürken, luteolin 7-glikozit, luteolin, rhoifolin, sirinjin değerlerinde %100'e yakın kayıplar meydana gelmiştir. Sakız enginar genotipinde ise fırında pişirme uygulamasından sonra sinarin ve klorojenik asit içeriğinde önemli derecede artış görülmüştür. Mikrodalga pişirme sonrasında sinarin değerinde düşüş görülürken, tüm pişirme uygulamalarından sonra klorojenik asit ve sinarin değerleri artmıştır. Luteolin 7-glikozit, luteolin, rhoifolin ve sirinjin içeriklerinde büyük oranda kayıp olduğu bulunmuştur. Flavonoid içeren bileşiklerin, termal uygulamalara karşı kararsız olduğu ve bozulmalar meydana geldiği görülmektedir.

Sunulan tez çalışmasında, Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan yerli enginar genotiplerinin tüm organlarının sağlığa faydalı özelliği olan biyoaktif bileşenleri ilk defa ayrıntılı olarak incelenmiştir. Her iki enginar genotipinin yenemeyen kısımlarının fenolik ve antioksidan potansiyeli ortaya konulmuştur. Çalışmada ilk defa Sakız ve Bayrampaşa genotiplerinin yenemeyen kısımlarında polifenolik bileşenlerinin mikrodalga teknolojisi kullanılarak ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir.

Çalışmanın, enginar ekstrakt üretiminde, endüstriye yeni bir teknolojinin aktarılması için faydalı olacağı düşünülmektedir. Elde edilen enginar ekstraktlarından yeni preparat ve fonksiyonel ürün üretiminde ara ürün olarak kullanılması planlanmaktadır. Mikrodalga ekstraksiyonun, fonksiyonel ekstraktların üretimi için, enginarın

yenemeyen kısımlarından polifenolik bileşiklerin ekstrakte edilmesinde önemli bir etkinliğe sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

Türkiye’de enginar kalbinin farklı pişirme uygulamaları kullanılarak, pişirme yöntemlerinin biyoaktif içeriğe etkisi yine ilk defa sunulan tez kapsamında incelenmiştir. Çalışmada her iki enginar genotipi için sağlığa faydalı bileşenleri koruyan veya artışı sağlayan en uygun pişirme yöntemi belirlenmiştir.

Tez kapsamında yapılan çalışmada öne çıkan sonuçlar şu şekilde özetlenebilir;

- Enginar genotiplerinin ve organlarının biyoaktif içerikleri büyük farklılıklar gösterebilmektedir.
- Hem Bayrampaşa hem de Sakız enginarının yenemeyen kısımlarının biyoaktif bileşen içerikleri yenebilir kısımların biyoaktif bileşen içeriklerinden yüksektir.
- Bayrampaşa ve Sakız enginarlarının yenemeyen kısımlarının biyoaktif bileşenleri karşılaştırıldığında Sakız enginarı yüksek içeriği ile ön plana çıkmaktadır.
- Enginarların farklı yöntemlerle pişirilmesi sonucunda bazı biyoaktif bileşenler artmakta bazıları ise azalmaktadır.
- Biyoaktif bileşenler açısından bakıldığında en uygun pişirme yöntemleri Bayrampaşa enginarı için mikrodalga pişirme, Sakız enginarı için fırında pişirme olarak tespit edilmiştir.

Tez kapsamında Türkiye’de en çok yetiştirilen iki enginar çeşidinin yenemeyen kısımlarının değerlendirilmesine, yenebilen kısımlarının ise daha sağlıklı ve verimli şekilde tüketilmesine yönelik çalışmalar yapılmıştır. Elde edilen bulguların uygulamaya aktarılması için bazı tamamlayıcı çalışmaların yapılması gereklidir. Bu kapsamda ekstraktların farklı koşullardaki stabiliteleri, elde edilen ekstraktların fonksiyonel ürünlerde kullanım seçeneklerinin değerlendirilmesi, gıda takviyesine yönelik enkapsülasyon çalışmaları ve biyoyararlılık çalışmaları yapılması önerilmektedir.

Destekleyen Kişi ve Kurum Bilgisi

Yalova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Koordinasyon Dairesi Başkanlığı
(Proje no.:2019/DR/0001) tarafından finansal olarak desteklenmiştir.

T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırma ve Politikalar Ar-Ge Destek
Programı (Proje no: TAGEM/HSGYAD/A/20/A3/P4/1927) tarafından finansal olarak
desteklenmiştir.





KAYNAKLAR

- [1] S.A. Petropoulos, C. Pereira, G. Ntatsi, N. Danalatos, L. Barros, I. Ferreira, Nutritional value and chemical composition of greek artichoke genotypes, *Food Chem*, 267 (2018) 296-302.
- [2] B. Eser, H. Ilbi, E. Düzyaman, Assessment of genetic variation among local artichoke varieties by rapds and morphological characters, III Balkan Symposium on Vegetables and Potatoes, 2004, Bursa, Türkiye.
- [3] V. Lattanzio, P.A. Kroon, V. Linsalata, A. Cardinali, Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients, *Journal of Functional Foods*, 1 (2009) 131-144.
- [4] D. Pignone, G. Sonnante, Wild artichokes of south italy: Did the story begin here?, *Genetic Resources Crop Evolution*, 51 (2004) 577-580.
- [5] G. Zakynthinos, T. Varzakas, Mikromani's artichoke (*cynara cardunculus* var. *Scolymus*)—a mediterranean nutraceutical, *Current Research in Nutrition Food Science Journal*, 4 (2016) 16-18.
- [6] B. de Falco, G. Incerti, M. Amato, V. Lanzotti, Artichoke: Botanical, agronomical, phytochemical and pharmacological overview, *Phytochemistry Reviews*, 14 (2015) 993-1018.
- [7] E. Sümer, G.E. Senturk, Ö.U. Demirel, E. Yesilada, Comparative biochemical and histopathological evaluations proved that receptacle is the most effective part of *cynara scolymus* against liver and kidney damages, *Journal of Ethnopharmacology*, 249 (2020) 1-8.
- [8] Crops and livestock products. Available from: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>, 2019.
- [9] A. Ciancolini, N.A. Rey, M.A. Pagnotta, P. Crinò, Characterization of italian spring globe artichoke germplasm: Morphological and molecular profiles, *Euphytica*, 186 (2012) 433-443.
- [10] A.L. Gostin, V.Y. Waisundara, Edible flowers as functional food: A review on artichoke (*cynara cardunculus* l.), *Trends in Food Science Technology*, 86 (2019) 381-391.
- [11] A. Bonasia, G. Conversa, C. Lazzizzera, G. Gambacorta, A. Elia, Morphological and qualitative characterisation of globe artichoke head from new seed-

- propagated cultivars, Journal of the Science of Food Agriculture, 90 (2010) 2689-2693.
- [12] S. Lombardo, G. Pandino, A. Ierna, G. Mauromicale, Variation of polyphenols in a germplasm collection of globe artichoke, J Food Research International, 46 (2012) 544-551.
- [13] Bitkisel üretim İstatistikleri. Available from: <https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2020-33737>, 2020.
- [14] Z.K. Bektaş, G. Saner, Türkiye'de enginar üretimi ve pazarlaması, Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 27 (2013) 115-128.
- [15] M.B. Roberfroid, Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose, Journal of Nutrition, 129 (1999) 1398-1401.
- [16] A. Gaafar, Z. Salama, Phenolic compounds from artichoke (*cynara scolymus l.*) by-products and their antimicrobial activities, Journal of Biology, Agriculture and Healthcare, 3 (2013) 1-6.
- [17] A. Zuorro, G. Maffei, R. Lavecchia, Effect of solvent type and extraction conditions on the recovery of phenolic compounds from artichoke waste, Chemical Engineering, 39 (2014) 463-468.
- [18] K. Schütz, D. Kammerer, R. Carle, A. Schieber, Identification and quantification of caffeoylquinic acids and flavonoids from artichoke (*cynara scolymus l.*) heads, juice, and pomace by hplc-dad-esi/ms n, Journal of Agricultural Food Chemistry, 52 (2004) 4090-4096.
- [19] G. Angelov, S. Georgieva, S. Boyadzhieva, L. Boyadzhiev, Optimizing the extraction of globe artichoke wastes, Comptes Rendus de L'Academie Bulgare des Sciences, 68 (2015) 1235-1240.
- [20] R. Gebhardt, M. Fausel, Antioxidant and hepatoprotective effects of artichoke extracts and constituents in cultured rat hepatocytes, Toxicology In Vitro, 11 (1997) 669-672.
- [21] A. Zayed, A. Serag, M.A. Farag, *Cynara cardunculus l.*: Outgoing and potential trends of phytochemical, industrial, nutritive and medicinal merits, Journal of Functional Foods, 69 (2020) 1-16.
- [22] N. Ceccarelli, M. Curadi, P. Picciarelli, L. Martelloni, C. Sbrana, M. Giovannetti, Globe artichoke as a functional food, Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism, 3 (2010) 197-201.

- [23] F. Fratianni, M. Tucci, M. De Palma, R. Pepe, F. Nazzaro, Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*cynara cardunculus* l. Var. *Scolymus* (L.) fiori), Food Chemistry, 104 (2007) 1282-1286.
- [24] A. Djeridane, M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker, N. Vidal, Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, Food Chemistry, 97 (2006) 654-660.
- [25] S. Ali, Leaf yield and polyphenols of artichoke (*cynara cardunculus* l.) influenced by harvest frequency and herbicide stress, Justus Liebig University, Faculty of Agricultural and Nutritional Sciences, Home Economics and Environmental Management, 2011.
- [26] R. Llorach, J.C. Espin, F.A. Tomas-Barberan, F. Ferreres, Artichoke (*cynara scolymus* l.) by products as a potential source of health-promoting antioxidant phenolics, Journal of Agricultural Food Chemistry, 50 (2002) 3458-3464.
- [27] G. Pandino, S. Lombardo, G. Mauromicale, G. Williamson, Profile of polyphenols and phenolic acids in bracts and receptacles of globe artichoke (*cynara cardunculus* var. *Scolymus*) germplasm, Journal of Food Composition, 24 (2011) 148-153.
- [28] Y. Rouphael, G. Colla, G. Graziani, A. Ritieni, M. Cardarelli, S. De Pascale, Phenolic composition, antioxidant activity and mineral profile in two seed-propagated artichoke cultivars as affected by microbial inoculants and planting time, Food Chemistry, 234 (2017) 10-19.
- [29] S.A. Petropoulos, C. Pereira, L. Barros, I.C. Ferreira, Leaf parts from greek artichoke genotypes as a good source of bioactive compounds and antioxidants, Food Function, 8 (2017) 2022-2029.
- [30] A. Costabile, S. Kolida, A. Klinder, E. Gietl, M. B  uerlein, C. Froberg, V. Landsch  tze, G.R. Gibson, A double-blind, placebo-controlled, cross-over study to establish the bifidogenic effect of a very-long-chain inulin extracted from globe artichoke (*cynara scolymus*) in healthy human subjects, British Journal of Nutrition, 104 (2010) 1007-1017.
- [31]  . Tavman, S. Kumcuo lu, Z. Akkaya, Bitkisel  r nlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu, Gıda, 34 (2009) 175-182.

- [32] E. Christaki, E. Bonos, P. Florou-Paneri, Nutritional and functional properties of cynara crops (globe artichoke and cardoon) and their potential applications: A review, *International Journal of Applied Science and Technology*, 2 (2012) 64-70.
- [33] G. Koçer, Sakız enginar çeşidinde (*cynara scolymus l.* Cv. Sakız) verim dağılımına bitki yaşı, uyandırma sulaması veriliş zamanı ve gibberellik asit uygulamalarının etkilerinin belirlenmesi üzerinde bir araştırma, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 1993.
- [34] İ.E. Ekbiç, Sakız enginar çeşidinde meydana gelen dönüşüm üzerinde araştırmalar, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bahçe Bitkileri Anabilim Dalı, 2005.
- [35] N. Jiménez-Moreno, F. Volpe, J.A. Moler, I. Esparza, C. Ancín-Azpilicueta, Impact of extraction conditions on the phenolic composition and antioxidant capacity of grape stem extracts, *Antioxidants*, 8 (2019) 597.
- [36] N. Mulinacci, D. Prucher, M. Peruzzi, A. Romani, P. Pinelli, C. Giaccherini, F. Vincieri, Commercial and laboratory extracts from artichoke leaves: Estimation of caffeoyl esters and flavonoidic compounds content, *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 34 (2004) 349-357.
- [37] D. Ruiz-Cano, F. Pérez-Llamas, M.J. Frutos, M.B. Arnao, C. Espinosa, J.Á. López-Jiménez, J. Castillo, S. Zamora, Chemical and functional properties of the different by-products of artichoke (*cynara scolymus l.*) from industrial canning processing, *Food Chemistry*, 160 (2014) 134-140.
- [38] M.T. Machado, K.S. Eca, G.S. Vieira, F.C. Menegalli, J. Martinez, M.D. Hubinger, Prebiotic oligosaccharides from artichoke industrial waste: Evaluation of different extraction methods, *Industrial Crops Products*, 76 (2015) 141-148.
- [39] E. Kollia, P. Markaki, P. Zoumpoulakis, C. Proestos, Antioxidant activity of *cynara scolymus l.* and *cynara cardunculus l.* Extracts obtained by different extraction techniques, *Natural Product Research*, 31 (2017) 1163-1167.
- [40] A. Güneş Bayır, A.N. Aksoy, A. Koçyiğit, Fonksiyonel besinlerden polifenollerin sağlıkta önemi, *Bezmiâlem Science*, 7 (2019) 157-163.
- [41] D.Ö. Vardar, S. Mollahaliloğlu, D. Öztaş, Medicine, Fitoterapide kullanılan bazı fitokimyasalların toplum sağlığına etkilerinin değerlendirilmesi, *Journal of Health Sciences*, 1 (2018) 95-105.

- [42] G. Karabulut, O. Yemiş, Fenolik bileşiklerin bağlı formları ve biyoyararlılığı, Akademik Gıda, 17 (2019) 526-537.
- [43] M.U. Civaner, Bazı fenolik bileşiklerin eldesi, kimyasal içeriğinin ve antibakteriyel aktivitesinin belirlenmesi, Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, 2019.
- [44] A. Laura, J.O. Moreno-Escamilla, J. Rodrigo-García, E. Alvarez-Parrilla, Phenolic compounds, (Eds.), in: Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables, Elsevier, 2019, pp. 253-271.
- [45] F. Shahidi, A. Chandrasekara, The use of antioxidants in the preservation of cereals and low-moisture foods, (Eds.), in: Handbook of antioxidants for food preservation, Elsevier, 2015, pp. 413-432.
- [46] X. Zhang, M. Zhang, L. Dong, X. Jia, L. Liu, Y. Ma, F. Huang, R. Zhang, Phytochemical profile, bioactivity, and prebiotic potential of bound phenolics released from rice bran dietary fiber during in vitro gastrointestinal digestion and colonic fermentation, Journal of Agricultural Food Chemistry, 67 (2019) 12796-12805.
- [47] Ç. Büyükkorkmaz, Türkiyede yetiştirilen kumkuat (*fortunella spp.*) meyve ve yapraklarının fenolik bileşikleri ve antioksidan aktiviteleri, İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Analitik Kimya Ana Bilim Dalı, 2020.
- [48] J. Justino, Flavonoids: From biosynthesis to human health, BoD–Books on Demand, 2017, 484.
- [49] C.A. Rice-Evans, J. Sampson, P.M. Bramley, D.E. Holloway, Why do we expect carotenoids to be antioxidants in vivo?, Free Radical Research, 26 (1997) 381-398.
- [50] R.A. Dixon, N.L. Paiva, Stress-induced phenylpropanoid metabolism, The Plant Cell, 7 (1995) 1085-1097.
- [51] D. Smith, Toxicity of phytoalexins, Phytoalexins/general editors, JA Bailey JW Mansfield, (1982) 218-252.
- [52] Y. Zhou, J. Zheng, Y. Li, D.-P. Xu, S. Li, Y.-M. Chen, H.-B. Li, Natural polyphenols for prevention and treatment of cancer, Nutrients, 8 (2016) 1-35.
- [53] R. Bahramsoltani, F. Ebrahimi, M.H. Farzaei, A. Baratpournoghaddam, P. Ahmadi, P. Rostamiasrabadi, A.H. Rasouli Amirabadi, R. Rahimi, Dietary

- polyphenols for atherosclerosis: A comprehensive review and future perspectives, *Critical Reviews in Food Science Nutrition*, 59 (2019) 114-132.
- [54] L. Wang, C.L. Weller, Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science Technology*, 17 (2006) 300-312.
- [55] K. Ameer, H.M. Shahbaz, J.H. Kwon, Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their by products: A review, *Comprehensive Reviews in Food Science Food Safety*, 16 (2017) 295-315.
- [56] J. Azmir, I.S.M. Zaidul, M.M. Rahman, K.M. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M.H.A. Jahurul, K. Ghafoor, N. Norulaini, A.K.M. Omar, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of Food Engineering*, 117 (2013) 426-436.
- [57] M. López-Bascón, M.L. De Castro, Soxhlet extraction, (Eds.), in: *Liquid-phase extraction*, Elsevier, 2020, pp. 327-354.
- [58] N. Azwanida, A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation, *Med Aromat Plants* 4(2015) 2167-0412.
- [59] G. Zhang, M. Hu, L. He, P. Fu, L. Wang, J. Zhou, Optimization of microwave-assisted enzymatic extraction of polyphenols from waste peanut shells and evaluation of its antioxidant and antibacterial activities in vitro, *Food Bioproducts Processing*, 91 (2013) 158-168.
- [60] Ö. Johansson, T. Pamidi, M. Khoshkhoo, Å. Sandström, Sustainable and energy efficient leaching of tungsten (w) by ultrasound controlled cavitation, *Luleå Tekniska Universitet*, 2017.
- [61] M.M. Strieder, E.K. Silva, M.A.A. Meireles, Specific energy: A new approach to ultrasound-assisted extraction of natural colorants, *Food and Public Health* 23 (2019) 30.
- [62] E.K. Silva, M.T.M. Rosa, M.A.A. Meireles, Ultrasound-assisted formation of emulsions stabilized by biopolymers, *Current Opinion in Food Science*, 5 (2015) 50-59.
- [63] A.R. Jambrak, Z. Herceg, Application of ultrasonics in food preservation and processing, *Conventional Advanced Food Processing Technologies*, (2014) 515-536.
- [64] S. Shirsath, S. Sable, S. Gaikwad, S. Sonawane, D. Saini, P. Gogate, Intensification of extraction of curcumin from curcuma amada using

- ultrasound assisted approach: Effect of different operating parameters, *Ultrasonics Sonochemistry*, 38 (2017) 437-445.
- [65] A.M. Goula, M. Ververi, A. Adamopoulou, K. Kaderides, Green ultrasound-assisted extraction of carotenoids from pomegranate wastes using vegetable oils, *Ultrasonics Sonochemistry*, 34 (2017) 821-830.
- [66] E. Backes, C. Pereira, L. Barros, M.A. Prieto, A.K. Genena, M.F. Barreiro, I. Ferreira, Recovery of bioactive anthocyanin pigments from ficus carica l. Peel by heat, microwave, and ultrasound based extraction techniques, *Food Research International*, 113 (2018) 197-209.
- [67] C.L. Roriz, L. Barros, M. Prieto, M.F. Barreiro, P. Morales, I.C. Ferreira, Modern extraction techniques optimized to extract betacyanins from gomphrena globosa l, *Industrial Crops Products*, 105 (2017) 29-40.
- [68] J. Pinela, M. Prieto, E. Pereira, I. Jabeur, M.F. Barreiro, L. Barros, I.C. Ferreira, Optimization of heat-and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from hibiscus sabdariffa calyces for natural food colorants, *Food Chemistry*, 275 (2019) 309-321.
- [69] E. Espada-Bellido, M. Ferreiro-González, C. Carrera, M. Palma, C.G. Barroso, G.F. Barbero, Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*morus nigra*) pulp, *Food Chemistry*, 219 (2017) 23-32.
- [70] Z. Cai, Z. Qu, Y. Lan, S. Zhao, X. Ma, Q. Wan, P. Jing, P. Li, Conventional, ultrasound-assisted, and accelerated-solvent extractions of anthocyanins from purple sweet potatoes, *Food Chemistry*, 197 (2016) 266-272.
- [71] T. Bosiljkov, F. Dujmić, M.C. Bubalo, J. Hribar, R. Vidrih, M. Brnčić, E. Zlatic, I.R. Redovniković, S. Jokić, Natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins, *Food Bioproducts Processing*, 102 (2017) 195-203.
- [72] A.P.D.F. Machado, A.L.D. Pereira, G.F. Barbero, J. Martínez, 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 (2017) 1-10.
- [73] V. Camel, Recent extraction techniques for solid matrices supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: Their potential and pitfalls, *Analyst*, 126 (2001) 1182-1193.

- [74] A. Sinquin, T. Görner, E. Dellacherie, L'utilisation des micro-ondes en chimie analytique, *Analisis*, 21 (1993) 1-10.
- [75] S.J. Haswell, H.M. Kingston, *Microwave-enhanced chemistry: Fundamentals, sample preparation and applications*, American Chemical Society, 1997.
- [76] B. Kaufmann, P. Christen, Recent extraction techniques for natural products: Microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction, *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical Biochemical Techniques*, 13 (2002) 105-113.
- [77] M. Letellier, H. Budzinski, P. Garrigues, Focused microwave-assisted extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons, *LC-GC Int*, 12 (1999) 222-225.
- [78] M.A. Vian, X. Fernandez, F. Visinoni, F. Chemat, Microwave hydrodiffusion and gravity, a new technique for extraction of essential oils, *Journal of Chromatography A*, 1190 (2008) 14-17.
- [79] C. Proestos, M. Komaitis, Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds, *LWT-Food Science and Technology*, 41 (2008) 652-659.
- [80] M.E. Lucchesi, F. Chemat, J. Smadja, Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydro-distillation, *Journal of Chromatography A*, 1043 (2004) 323-327.
- [81] X. Pan, G. Niu, H. Liu, Microwave-assisted extraction of tea polyphenols and tea caffeine from green tea leaves, *Chemical Engineering Processing: Process Intensification*, 42 (2003) 129-133.
- [82] T.S. Ballard, P. Mallikarjunan, K. Zhou, S. O'Keefe, Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins, *Food Chemistry*, 120 (2010) 1185-1192.
- [83] I.J. Barnabas, J.R. Dean, I.A. Fowles, S.P. Owen, Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from highly contaminated soils using microwave energy, *Analyst*, 120 (1995) 1897-1904.
- [84] L. Jassie, R. Revesz, T. Kierstead, E. Hasty, S. Matz, "Microwave-assisted solvent extraction" *Microwave Enhanced Chemistry Fundamentals Sample Preparation and Applications*, American Chemical Society: Washington, DC, (1997) 569-609.

- [85] C. Demesmay, M. Olle, Utilisation des micro-ondes dans les laboratoires d'analyse: Préparation d'échantillons, *Spectra Analyse*, 22 (1993) 27-32.
- [86] S.H. Soh, L.Y. Lee, Microencapsulation and nanoencapsulation using supercritical fluid (scf) techniques, *Pharmaceutics*, 11 (2019) 21.
- [87] Q. Lang, C.M. Wai, Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—a practical review, *Talanta*, 53 (2001) 771-782.
- [88] A. Nieto, F. Borrull, E. Pocurull, R.M. Marcé, Pressurized liquid extraction: A useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29 (2010) 752-764.
- [89] H. Sun, X. Ge, Y. Lv, A. Wang, Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed, *Journal of Chromatography A*, 1237 (2012) 1-23.
- [90] V. Andreu, Y. Picó, Pressurized liquid extraction of organic contaminants in environmental and food samples, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 118 (2019) 709-721.
- [91] P. Panja, Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials, *Current Opinion in Food Science*, 23 (2018) 173-182.
- [92] R.K. Saini, Y.-S. Keum, Carotenoid extraction methods: A review of recent developments, *Food Chemistry*, 240 (2018) 90-103.
- [93] P.L. Buldini, L. Ricci, J.L. Sharma, Recent applications of sample preparation techniques in food analysis, *Journal of Chromatography A*, 975 (2002) 47-70.
- [94] Ö. Yılmaz, Aspir (*carthamus tinctorius* L.) tohumunun süperkritik CO₂ ekstraksiyonu / supercritical fluid extraction of safflower (*carthamus tinctorius* L.) seed, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 2009.
- [95] Ö. Kutlular, Bazı adaçayı ve kekik türlerinin uçucu yağlarının süper ısıtılmış su ile ekstraksiyonları ve GC-MS ile karakterizasyonları, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 2007.
- [96] A. Bucić-Kojić, M. Planinić, S. Tomas, M. Bilić, D. Velić, Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds, *Journal of Food Engineering*, 81 (2007) 236-242.

- [97] B. Tenderis, Üzüm çekirdeğinden fenolik madde ekstraksiyonu, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, 2010.
- [98] Ö. Kutlular, Bazı adaçayı ve kekik türlerinin uçucu yağlarının süper ısıtılmış su ile ekstraksiyonları ve GC-MS ile karakterizasyonları, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 2007.
- [99] J.R. Banga, E. Balsa-Canto, C.G. Moles, A.A. Alonso, Improving food processing using modern optimization methods, Trends in Food Science Technology, 14 (2003) 131-144.
- [100] B. Koç, F. Kaymak Ertekin, Yanıt yüzey yöntemi ve gıda işleme uygulamaları, The Journal of Food, 35 (2010) 1-8.
- [101] G. Balcıoğlu, Kabak çekirdeğinden enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesi ve yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyonu, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 2015.
- [102] M.A. Tekindol, Yanıt yüzeyi metodu ve bir uygulama, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstatistik Ana Bilim Dalı, 2009.
- [103] D. Baş, I.H. Boyacı, Modeling and optimization i: Usability of response surface methodology, Journal of Food Engineering, 78 (2007) 836-845.
- [104] N. Bradley, The response surface methodology, Indiana University South Bend, Department of Mathematical Sciences, 2007.
- [105] J.-H. Kim, H.-K. Shin, C.-S. Seo, Optimization of the extraction process for the seven bioactive compounds in yukmijihwang-tang, an herbal formula, using response surface methodology, Pharmacogn Mag, 10 (2014) 606-613.
- [106] A. DüNDAR, Farklı sıcaklık ve sürelerde pişirilen köftelerde heterosiklik aromatik aminlerin oluşumunun sınırlandırılmasında optimum tuz, askorbik asit ve yağ kullanım seviyelerinin yanıt yüzey yöntemi ile belirlenmesi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 2011.
- [107] B. Beşir, Havuç ve kiraz sapı tozları ile fermente sucuk üretiminde kullanılan sentetik nitrit miktarının azaltılabilme imkanlarının yanıt yüzey yöntemi ile modellenmesi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, 2019.
- [108] M.A. Van Boekel, Kinetic modeling of reactions in foods, CRC press, Boca Raton, 2008.

- [109] S.I. Martins, W.M. Jongen, M.A. Van Boekel, A review of maillard reaction in food and implications to kinetic modelling, *Trends in Food Science Technology*, 11 (2000) 364-373.
- [110] T. Labuza, Interpreting the complexity of the kinetics of the maillard reaction, (Eds.), in: *Maillard reactions in chemistry, food and health*, Elsevier, 2005, pp. 176-181.
- [111] C.-H. Chan, R. Yusoff, G.-C. Ngoh, Modeling and kinetics study of conventional and assisted batch solvent extraction, *Chemical Engineering Research Design*, 92 (2014) 1169-1186.
- [112] D.M. Patil, K.G. Akamanchi, Ultrasound-assisted rapid extraction and kinetic modelling of influential factors: Extraction of camptothecin from *nothapodytes nimmoniana* plant, *Ultrasonics Sonochemistry*, 37 (2017) 582-591.
- [113] G.W. Stevens, J.M. Perera, Kinetics of solvent extraction processes, *Mineral Processing Extractive Metallurgy Review*, 17 (1997) 205-226.
- [114] E.E. Perez, A.A. Carelli, G.H. Crapiste, Temperature-dependent diffusion coefficient of oil from different sunflower seeds during extraction with hexane, *Journal of Food Engineering*, 105 (2011) 180-185.
- [115] I. Seikova, E. Simeonov, E. Ivanova, Protein leaching from tomato seed experimental kinetics and prediction of effective diffusivity, *Journal of Food Engineering*, 61 (2004) 165-171.
- [116] H.A. Harouna-Oumarou, H. Fauduet, C. Porte, Y.-S. Ho, Comparison of kinetic models for the aqueous solid-liquid extraction of tilia sapwood in a continuous stirred tank reactor, *Chemical Engineering Communications*, 194 (2007) 537-552.
- [117] S. Kitanović, D. Milenović, V.B. Veljković, Empirical kinetic models for the resinoid extraction from aerial parts of st. John's wort (*hypericum perforatum* l.), *Biochemical Engineering Journal*, 41 (2008) 1-11.
- [118] K. Kaderides, L. Papaoikonomou, M. Serafim, A.M. Goula, Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction, *Chemical Engineering Processing-Process Intensification*, 137 (2019) 1-11.
- [119] R. Ferracane, N. Pellegrini, A. Visconti, G. Graziani, E. Chiavaro, C. Miglio, V. Fogliano, Effects of different cooking methods on antioxidant profile,

- antioxidant capacity, and physical characteristics of artichoke, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56 (2008) 8601-8608.
- [120] B. Cemeroglu, *Gıda analizlerinde genel yöntemler*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınlar, Bizim Grup Basımevi, 2010.
- [121] B. Stumpf, M. Kuenne, L. Ma, M. Xu, F. Yan, H.-P. Piepho, B. Honermeier, Optimization of the extraction procedure for the determination of phenolic acids and flavonoids in the leaves of globe artichoke (*cynara cardunculus* var. *Scolymus* l.), *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, 177 (2020) 112879.
- [122] M. Wang, J.E. Simon, I.F. Aviles, K. He, Q.-Y. Zheng, Y. Tadmor, Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*cynara scolymus* l.), *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51 (2003) 601-608.
- [123] K. Thaipong, U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos, D.H. Byrne, Comparison of abts, dpsh, frap, and orac assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *Journal of Food Composition Analysis*, 19 (2006) 669-675.
- [124] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, S.E. Karademir, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins c and e, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52 (2004) 7970-7981.
- [125] S. Song, H. He, X. Tang, W. Wang, Determination of polyphenols and chlorogenic acid in artichoke (*cynara scolymus* l.), *International Society for Horticultural Science*, 856 (2010) 167-172.
- [126] H. Falleh, R. Ksouri, K. Chaieb, N. Karray-Bouraoui, N. Trabelsi, M. Boulaaba, C. Abdelly, Phenolic composition of *cynara cardunculus* l. Organs, and their biological activities, *Comptes Rendus Biologies*, 331 (2008) 372-379.
- [127] S. Dabbou, S. Dabbou, G. Flamini, P.G. Peiretti, G. Pandino, A.N. Helal, Biochemical characterization and antioxidant activities of the edible part of globe artichoke cultivars grown in tunisia, *International Journal of Food Properties*, 20 (2017) 810-819.
- [128] K. Soumaya, F. Chaouachi, R. Ksouri, M. El Gazzah, Polyphenolic composition in different organs of tunisia populations of *cynara cardunculus* l. And their antioxidant activity, *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 1 (2013) 1-6.

- [129] F. Fratianni, R. Pepe, F. Nazzaro, Polyphenol composition, antioxidant, antimicrobial and quorum quenching activity of the “carciofo di montoro”(*cynara cardunculus* var. *Scolymus*) global artichoke of the campania region, southern italy, Food Nutrition Sciences, 5 (2014) 2053.
- [130] M.-P. Gonthier, M.-A. Verny, C. Besson, C. Rémésy, A. Scalbert, Chlorogenic acid bioavailability largely depends on its metabolism by the gut microflora in rats, The Journal of Nutrition, 133 (2003) 1853-1859.
- [131] S. Wittemer, M. Ploch, T. Windeck, S. Müller, B. Drewelow, H. Derendorf, M. Veit, Bioavailability and pharmacokinetics of caffeoylquinic acids and flavonoids after oral administration of artichoke leaf extracts in humans, Phytomedicine, 12 (2005) 28-38.
- [132] M.B. Salem, H. Affes, K. Ksouda, R. Dhouibi, Z. Sahnoun, S. Hammami, K.M. Zeghal, Pharmacological studies of artichoke leaf extract and their health benefits, Plant Foods for Human Nutrition, 70 (2015) 441-453.
- [133] J. Fritsche, C.M. Beindorff, M. Dachtler, H. Zhang, J.G. Lammers, Isolation, characterization and determination of minor artichoke (*cynara scolymus* l.) leaf extract compounds, European Food Research Technology, 215 (2002) 149-157.
- [134] G. Duthie, A. Crozier, Plant-derived phenolic antioxidants, Current Opinion in Lipidology, 11 (2000) 43-47.
- [135] D. Negro, V. Montesano, S. Grieco, P. Crupi, G. Sarli, A. De Lisi, G. Sonnante, Polyphenol compounds in artichoke plant tissues and varieties, Journal of Food Science, 77 (2012) 244-252.
- [136] S.A. Petropoulos, C. Pereira, G. Ntatsi, N. Danalatos, L. Barros, I.C. Ferreira, Nutritional value and chemical composition of greek artichoke genotypes, Food Chemistry, 267 (2018) 296-302.
- [137] R.A. Carciochi, C.A. Sologubik, M.B. Fernández, G.D. Manrique, L.G. D'Alessandro, Extraction of antioxidant phenolic compounds from brewer's spent grain: Optimization and kinetics modeling, Antioxidants, 7 (2018) 45.
- [138] Z. Hodzic, H. Pasalic, A. Memisevic, M. Srabovic, M. Saletovic, M. Poljakovic, The influence of total phenols content on antioxidant capacity in the whole grain extracts, European Journal of Scientific Research, 28 (2009) 471-477.

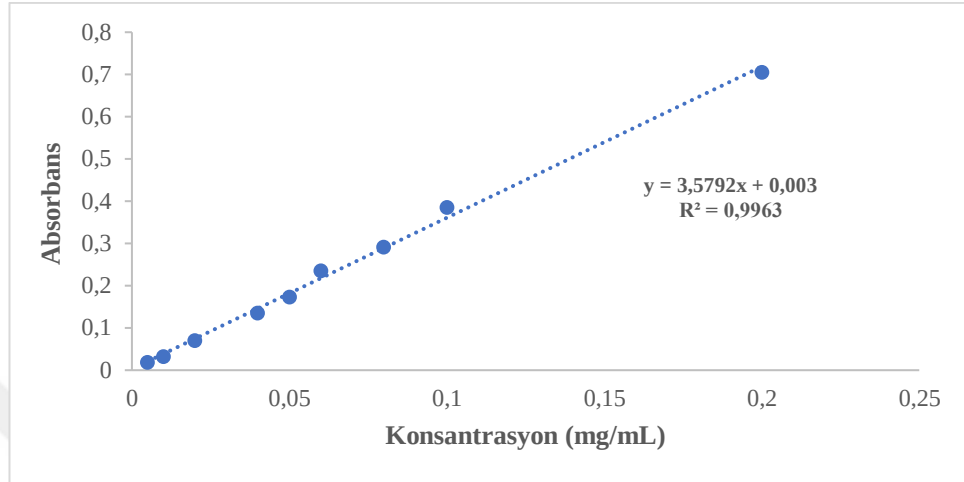
- [139] V. Dragovic-Uzelac, I.E. Garofulic, M. Jukic, M. Penic, M. Dent, The influence of microwave-assisted extraction on the isolation of sage (*salvia officinalis* l.) polyphenols, *Food Technology Biotechnology*, 50 (2012) 377.
- [140] K. Chew, M. Khoo, S. Ng, Y.Y. Thoo, W.W. Aida, C.W. Ho, Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of orthosiphon stamineus extracts, *International Food Research Journal*, 18 (2011) 1427-1435.
- [141] J. Ahmad, T. Langrish, Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: The importance of the maillard reaction, *Journal of Food Engineering*, 109 (2012) 162-174.
- [142] A. Khoddami, M.A. Wilkes, T.H. Roberts, Techniques for analysis of plant phenolic compounds, *Molecules*, 18 (2013) 2328-2375.
- [143] O.I. Sahin, B. Saygi-Yalcin, D. Saloğlu, Adsorption of ibuprofen from wastewater using activated carbon and graphene oxide embedded chitosan–pva: Equilibrium, kinetics, and thermodynamics and optimization with central composite design, *Desalination Water Treatment*, 179 (2020) 396-417.
- [144] S. Kayahan, D. Saloğlu, Optimization and kinetic modelling of microwave-assisted extraction of phenolic contents and antioxidants from turkish artichoke, *CyTA-Journal of Food*, 18 (2020) 635-643.
- [145] N. Muhamad, S.A. Muhmed, M.M. Yusoff, J. Gimbun, Influence of solvent polarity and conditions on extraction of antioxidant, flavonoids and phenolic content from averrhoa bilimbi, *Journal of Food Science Engineering*, 4 (2014) 255-260.
- [146] A.R. Linares, S.L. Hase, M.L. Vergara, S.L. Resnik, Modeling yerba mate aqueous extraction kinetics: Influence of temperature, *Journal of Food Engineering*, 97 (2010) 471-477.
- [147] S. Sayyar, Z.Z. Abidin, R. Yunus, A. Muhammad, Extraction of oil from jatropha seeds-optimization and kinetics, *American Journal of Applied Sciences*, 6 (2009) 1390-1395.
- [148] A. Jiménez-Monreal, L. García-Diz, M. Martínez-Tomé, M. Mariscal, M. Murcia, Influence of cooking methods on antioxidant activity of vegetables, *Journal of Food Science*, 74 (2009) 97-103.

- [149] M. Palermo, G. Colla, G. Barbieri, V. Fogliano, Polyphenol metabolite profile of artichoke is modulated by agronomical practices and cooking method, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 61 (2013) 7960-7968.
- [150] S.A. El Sohaimy, The effect of cooking on the chemical composition of artichoke (*cynara scolymus l.*), *African Journal of Food Science Technology*, 4 (2013) 182-187.
- [151] R. Apak, K. Güçlü, B. Demirata, M. Özyürek, S.E. Çelik, B. Bektaşoğlu, K.I. Berker, D.J.M. Özyurt, Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the cuprac assay, 12 (2007) 1496-1547.
- [152] C. Miglio, E. Chiavaro, A. Visconti, V. Fogliano, N. Pellegrini, Effects of different cooking methods on nutritional and physicochemical characteristics of selected vegetables, *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 56 (2008) 139-147.
- [153] D. Zhan, Y. Hamauzu, Phenolics, ascorbic acids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking, *Food Chemistry*, 88 (2004) 503-509.
- [154] G. Young, P. Jolly, Microwaves: The potential for use in dairy processing, *Australian Journal of Dairy Technology*, 45 (1990) 34-37.
- [155] G. Pandino, S. Lombardo, G. Mauromicale, Globe artichoke leaves and floral stems as a source of bioactive compounds, *Food Research International Industrial Crops Products*, 44 (2013) 44-49.
- [156] M. Cefola, I. D'Antuono, B. Pace, N. Calabrese, A. Carito, V. Linsalata, A. Cardinali, Biochemical relationships and browning index for assessing the storage suitability of artichoke genotypes, *Food Research International*, 48 (2012) 397-403.

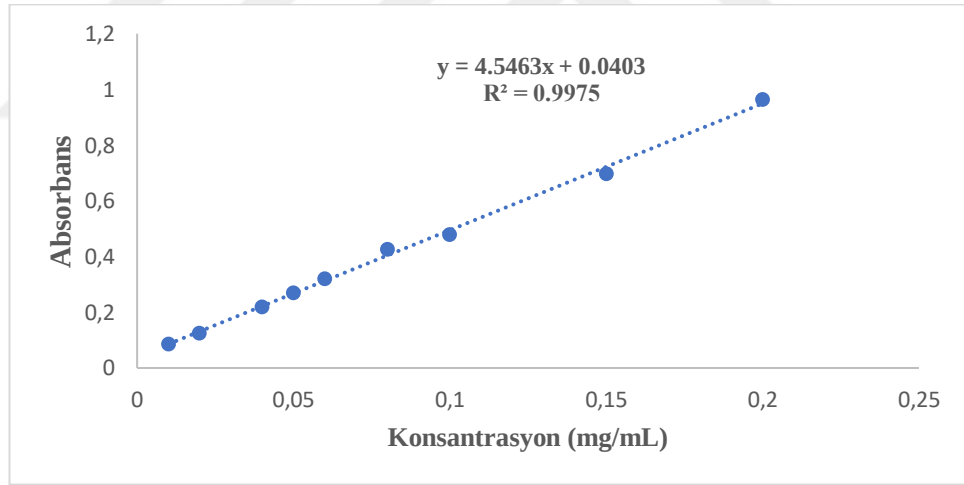


EKLER

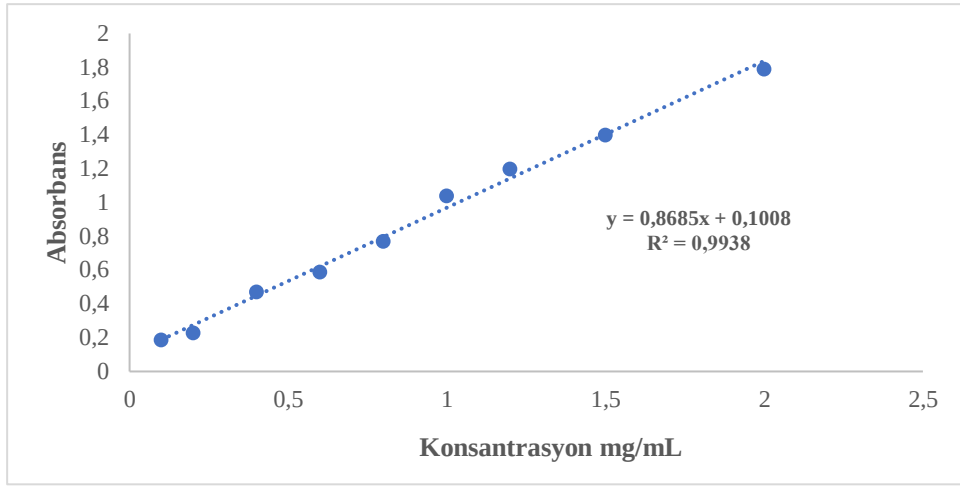
EK A	Standart eğrileri
EK B	HPLC kromatogramları



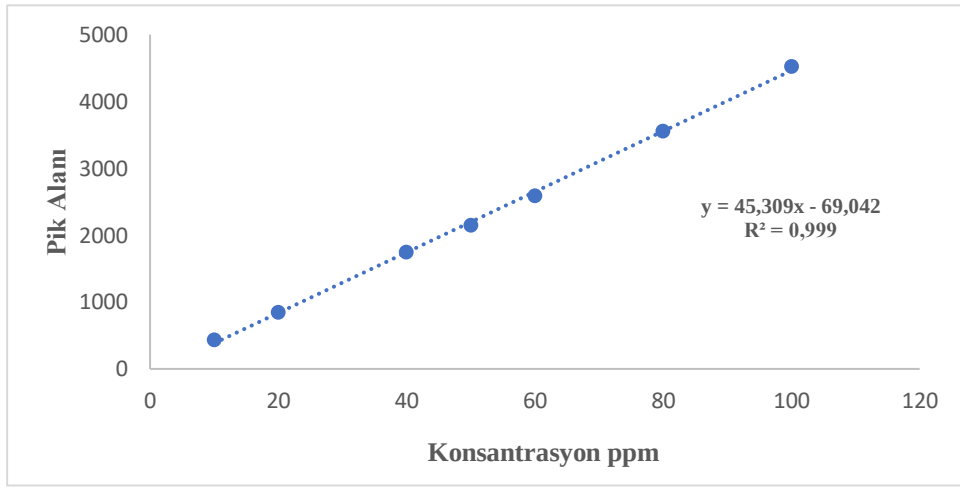
Şekil A.1 Toplam fenolik madde gallik asit standart eğrisi.



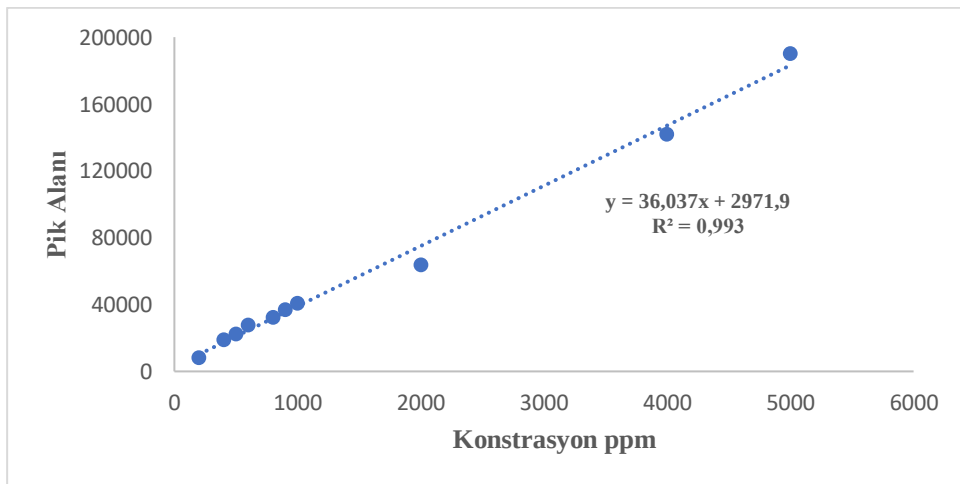
Şekil 1 A.2 DPPH antioksidan aktivite trolox standart eğrisi.



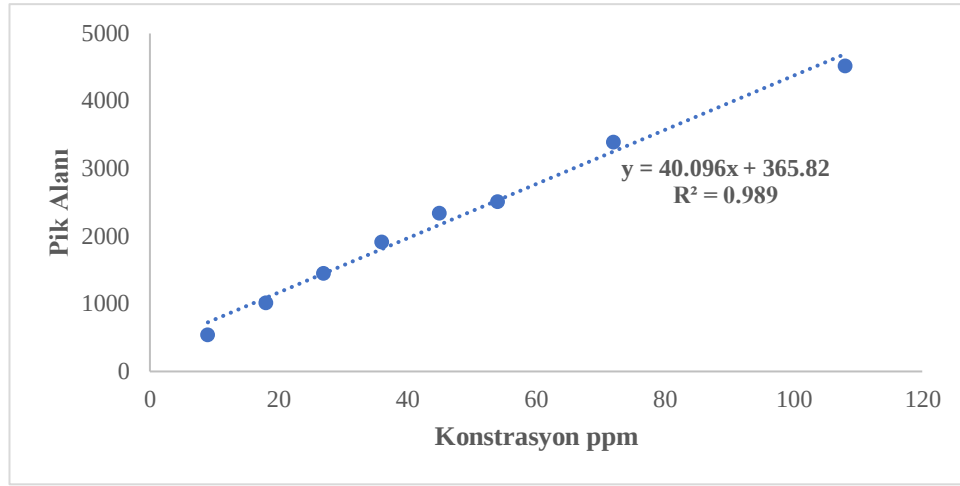
Şekil A.3 CUPRAC antioksidan aktivite trolox standart eğrisi.



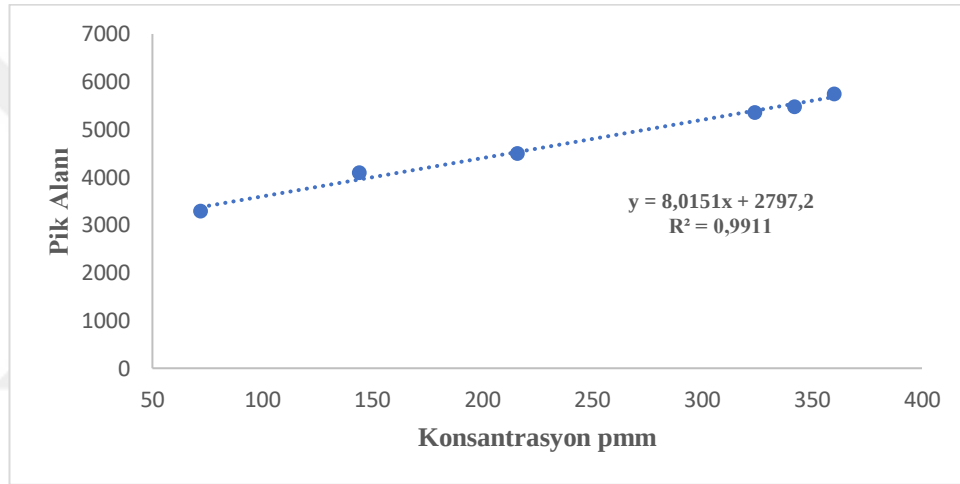
Şekil A.4 Sinarin standart eğrisi (320 nm).



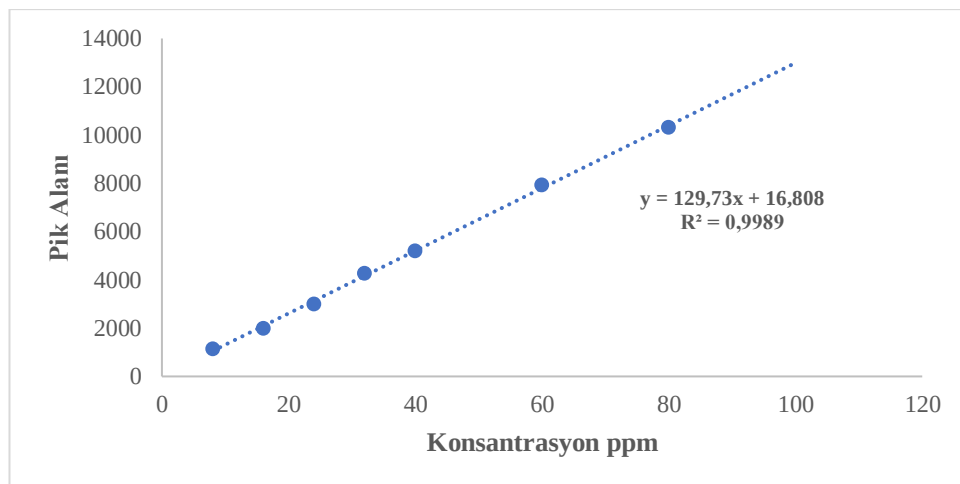
Şekil A.5 Klorojenik asit standart eğrisi (320 nm).



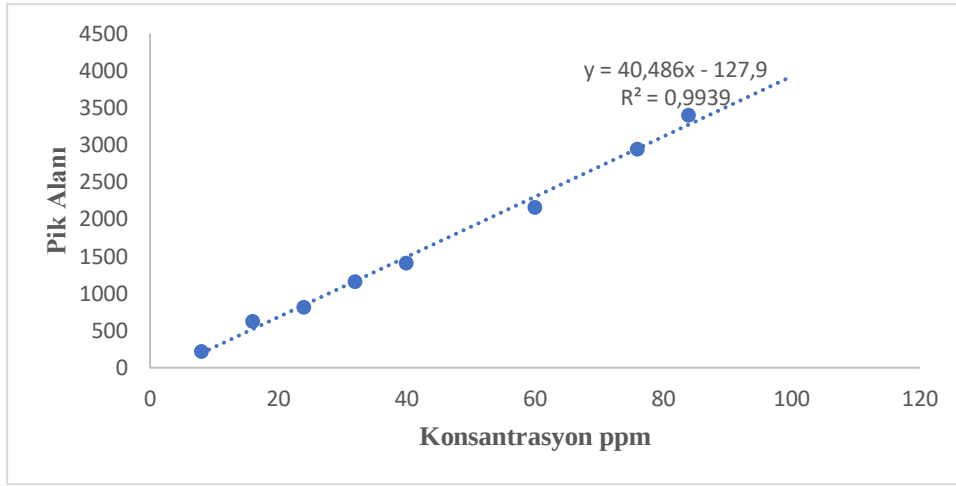
Şekil A.6 Luteolin 7-glikozit 20-100 ppm konsantrasyon standart eğrisi.



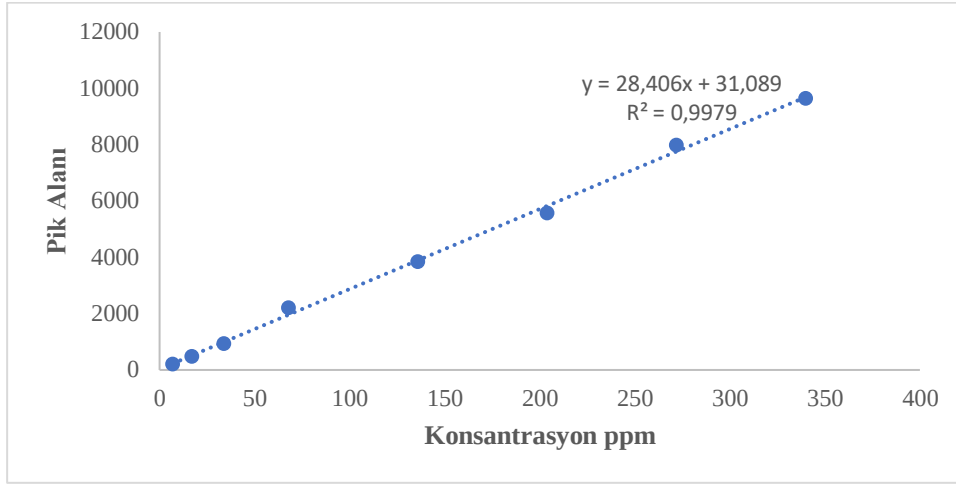
Şekil A.7 Luteolin 7-glikozit 60-380 ppm konsantrasyon standart eğrisi.



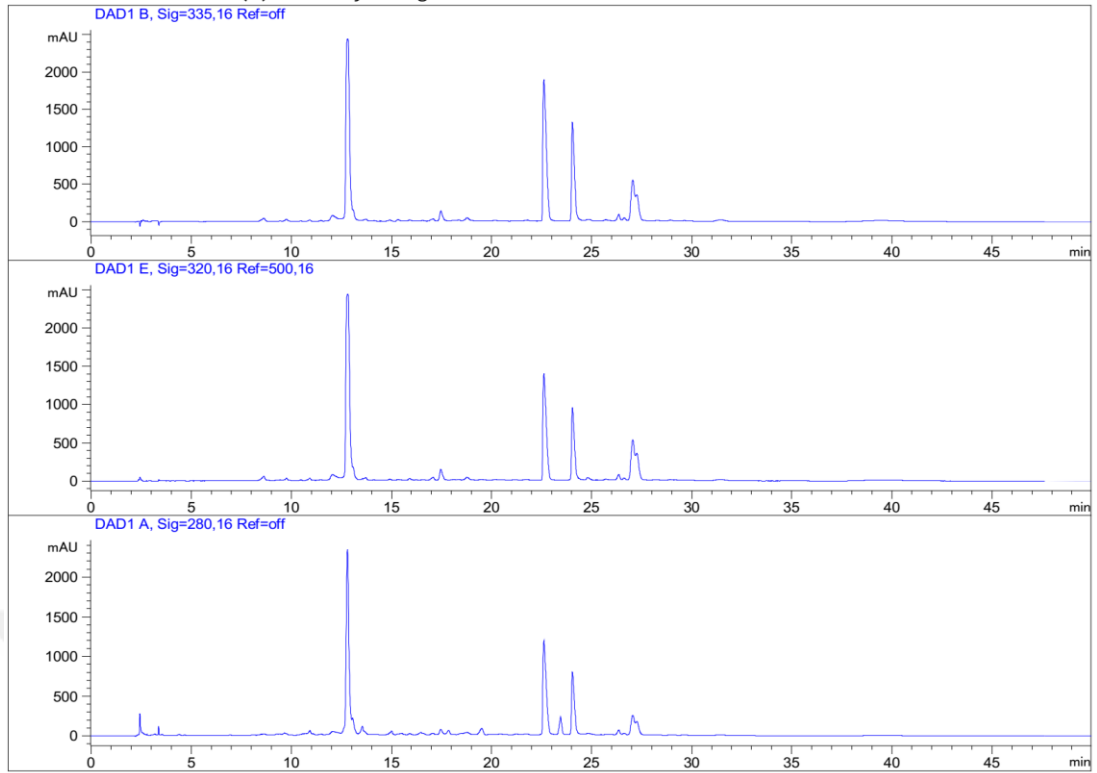
Şekil A.8 Luteolin standart eğrisi.



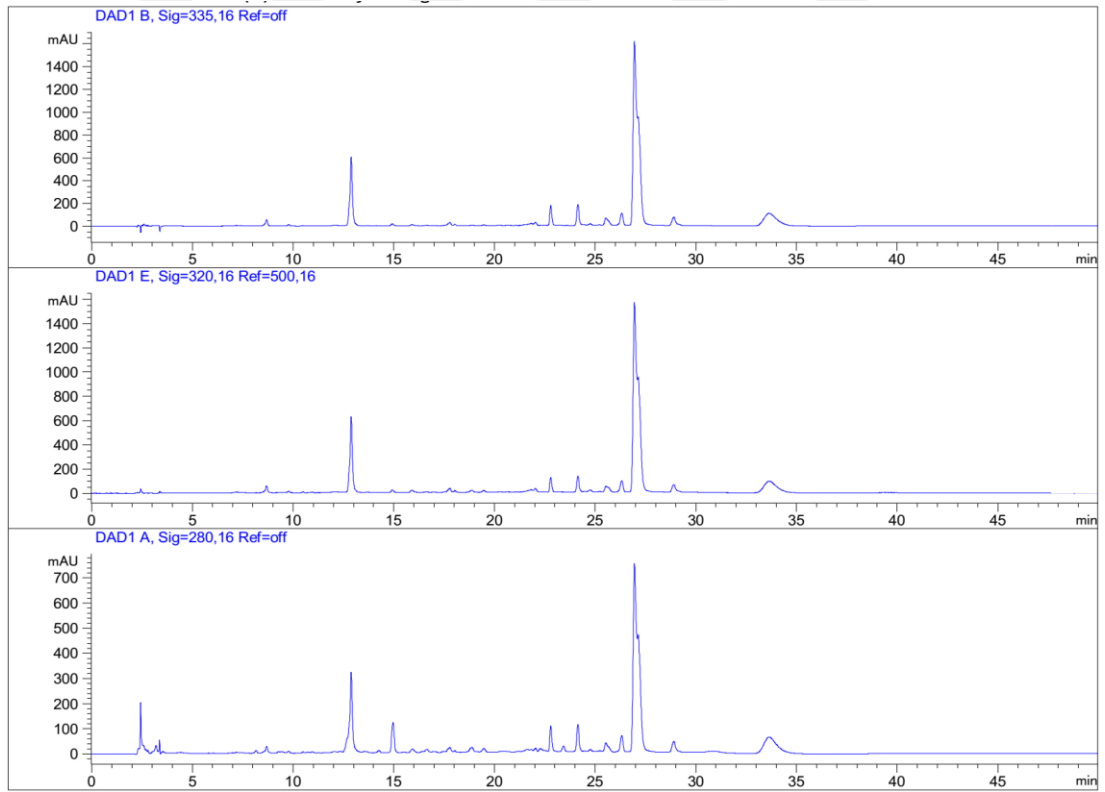
Şekil A.9 Apigenin 7-O-neohesperidoside standart eğrisi.



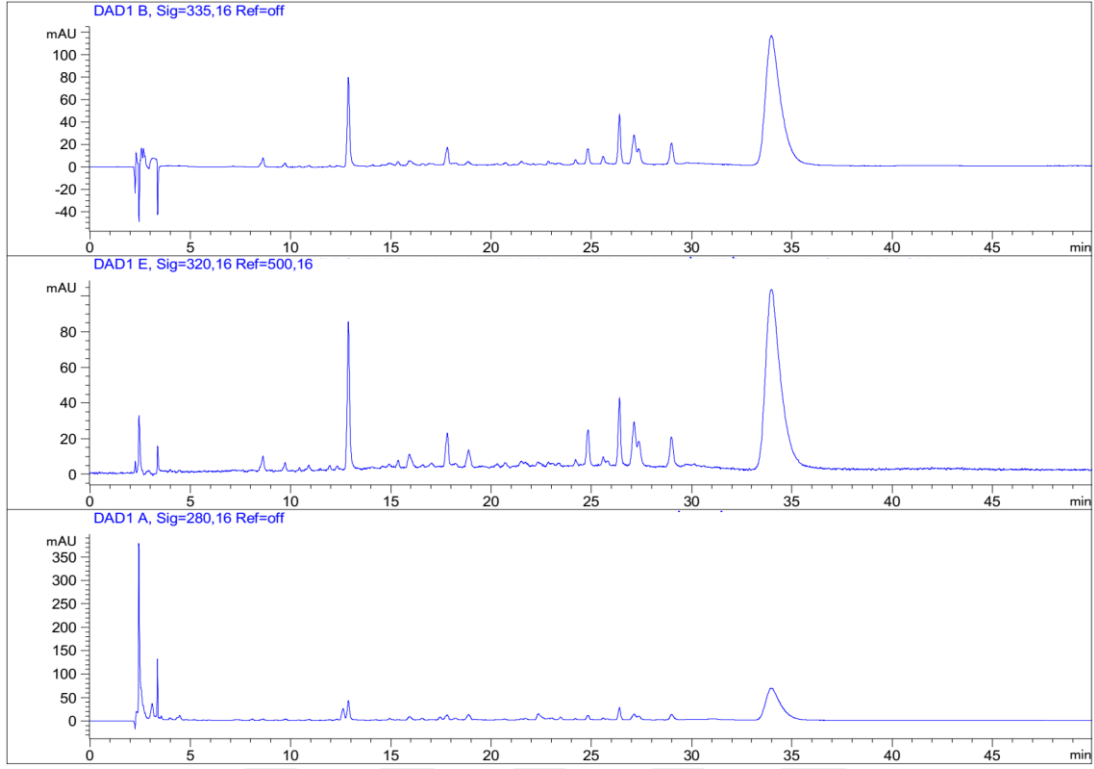
Şekil A.10 Sirinjin standart eğrisi.



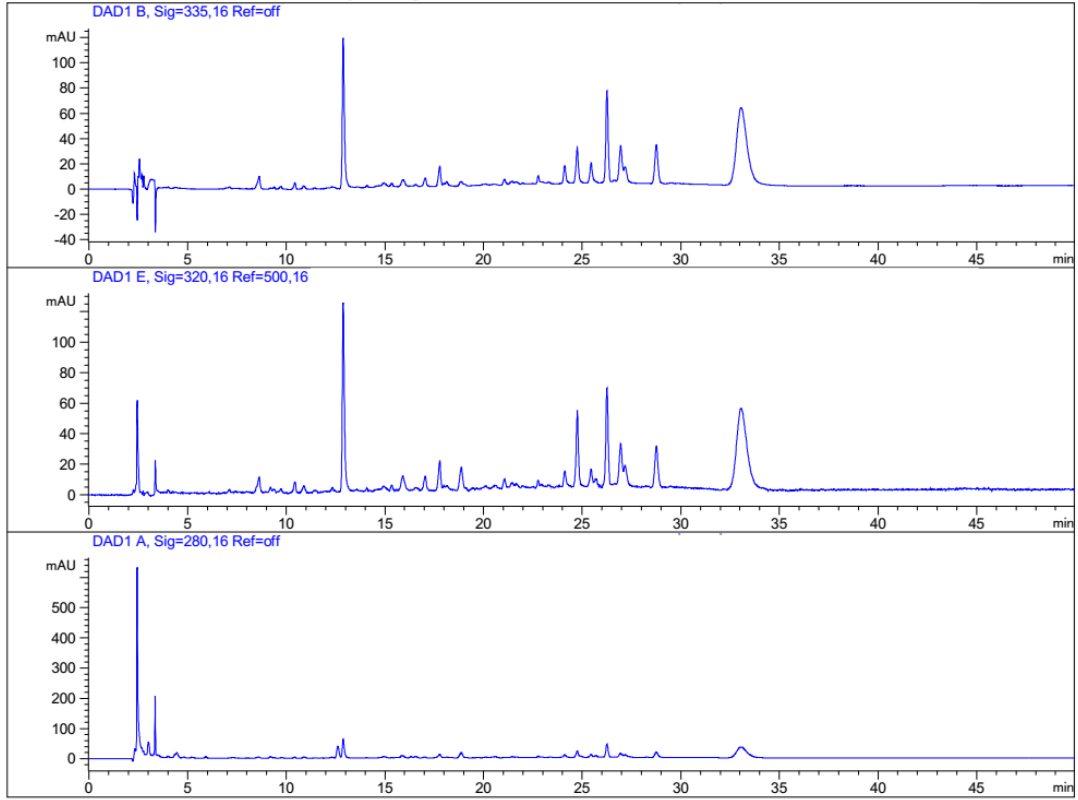
Şekil B.1 Bayrampaşa enginar yaprak HPLC kromatogramları.



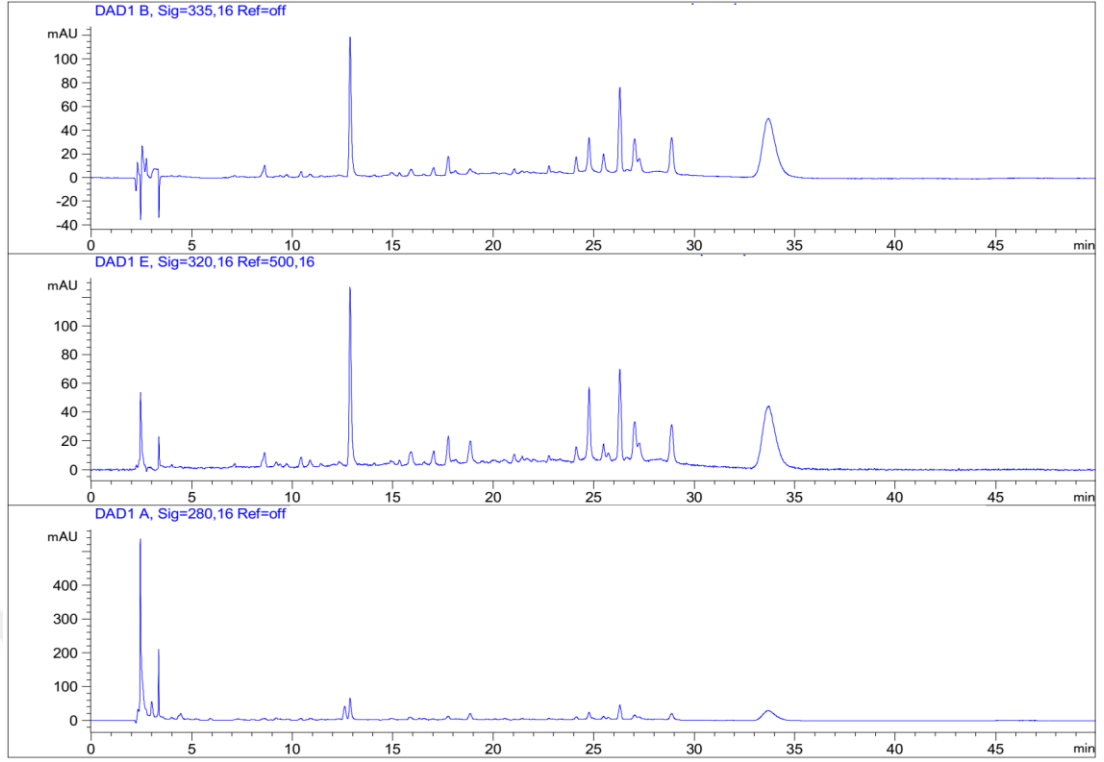
Şekil B.2 Bayrampaşa enginar dış brakte HPLC kromatogramları.



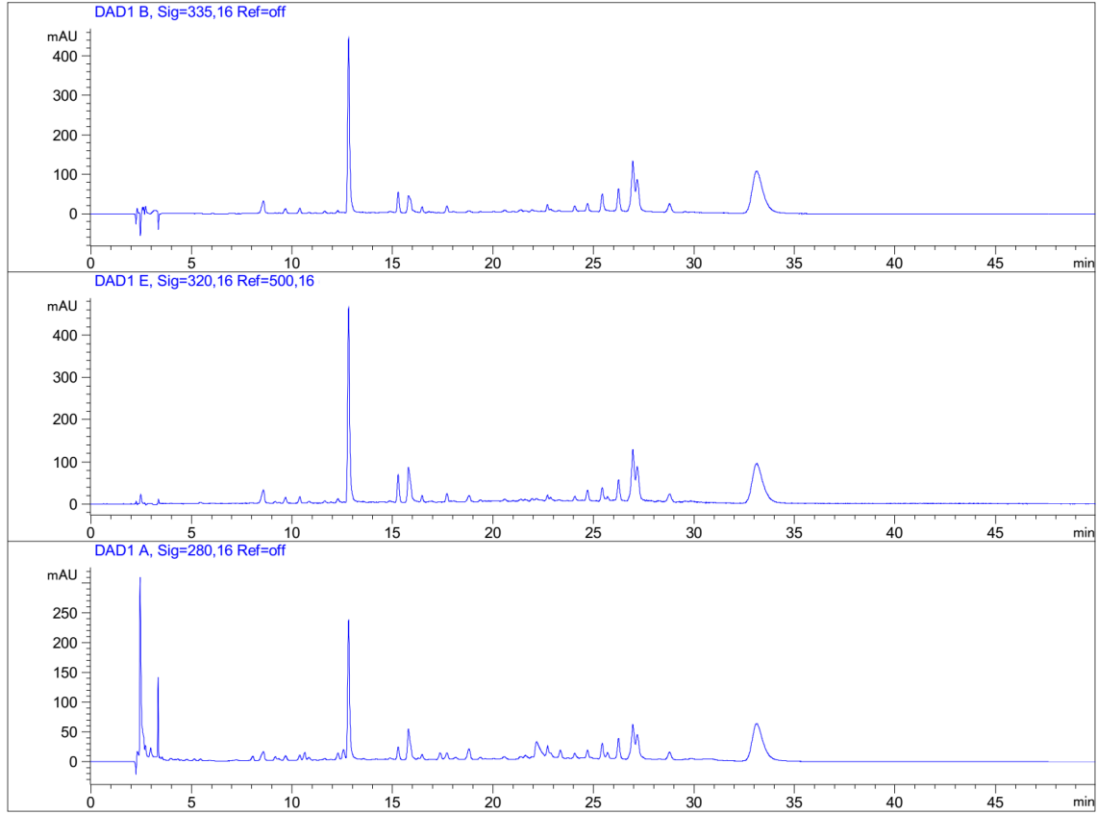
Şekil B.3 Bayrampaşa enginar iç brakte HPLC kromatogramları.



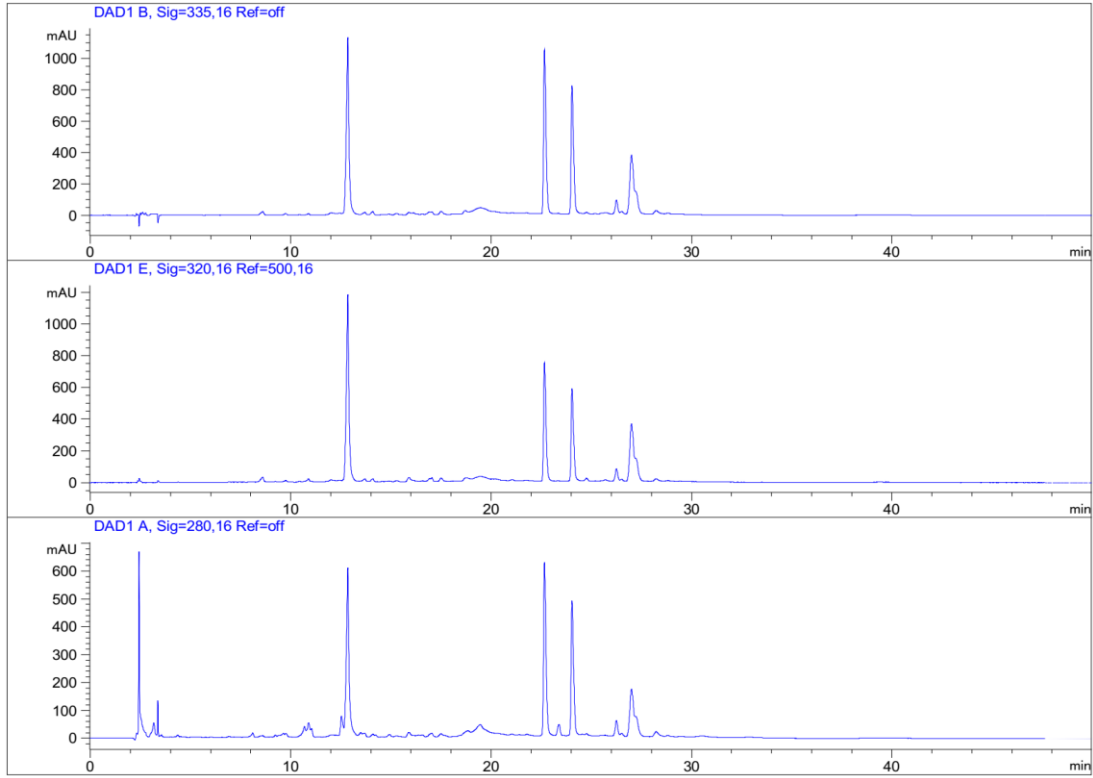
Şekil B.4 Bayrampaşa enginar kalp HPLC kromatogramları.



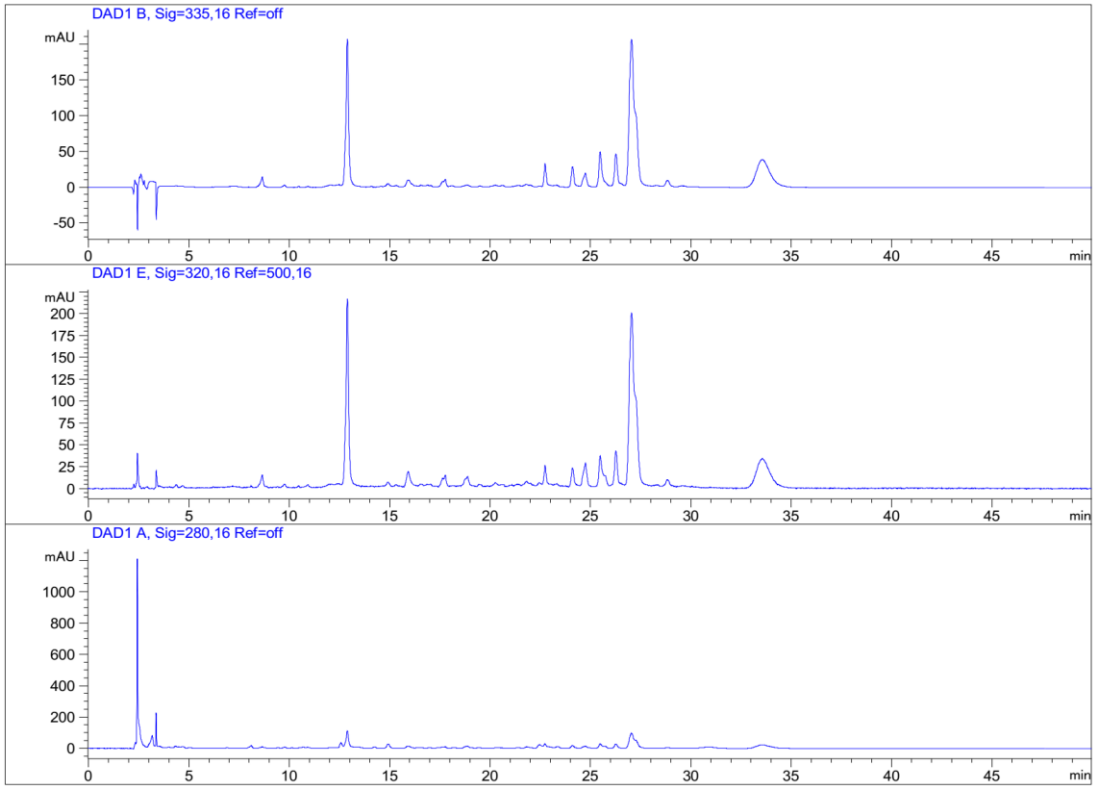
Şekil B.5 Bayrampaşa enginar sap HPLC kromatogramları.



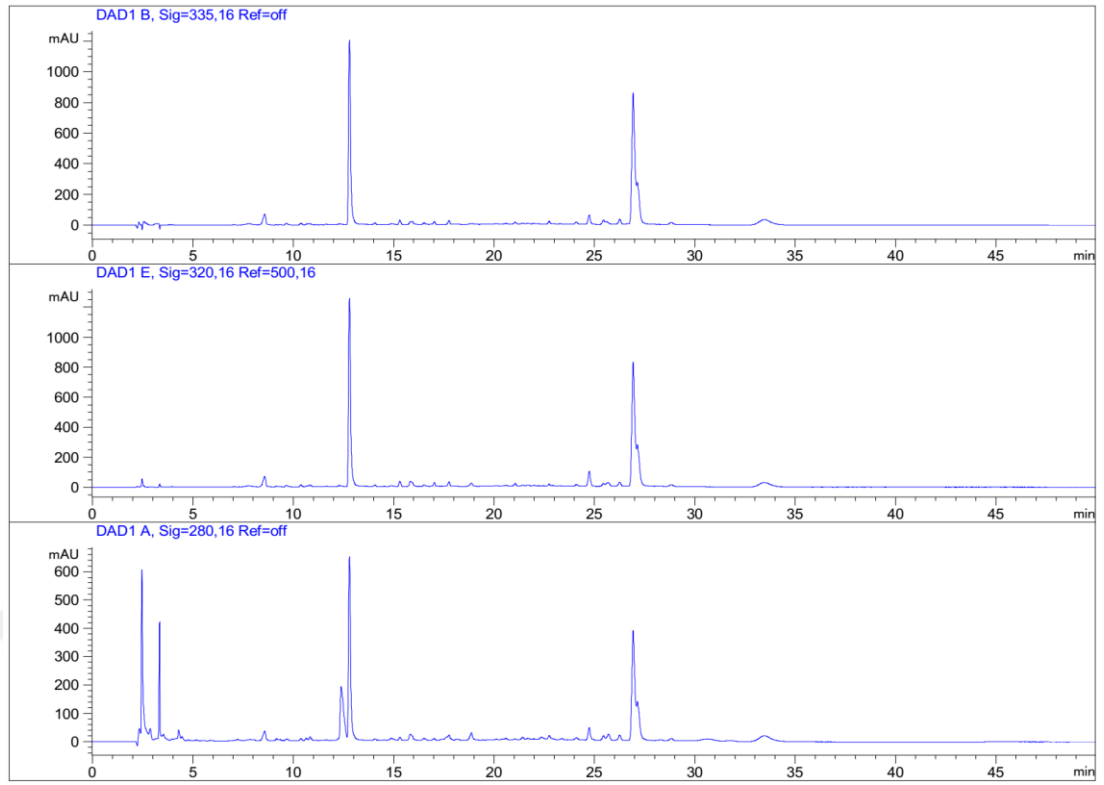
Şekil B.6 Sakız enginar dış brakte HPLC kromatogramları.



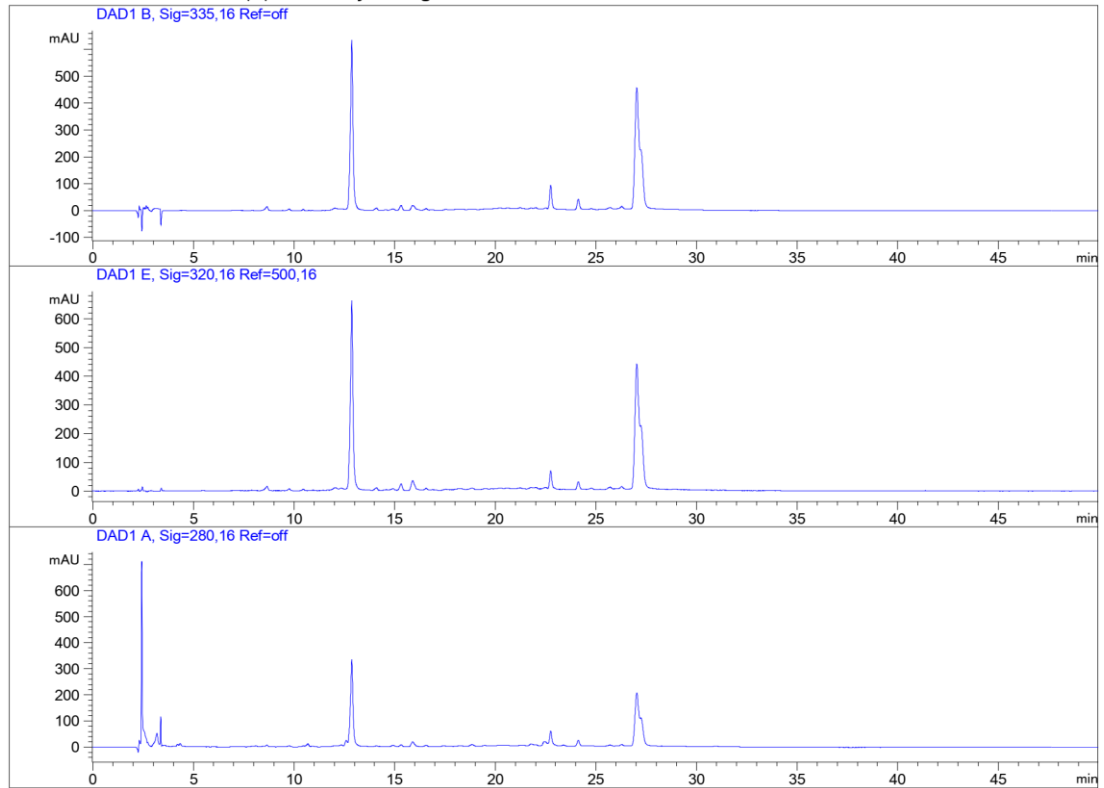
Şekil B.7 Sakız enginar yaprak HPLC kromatogramları.



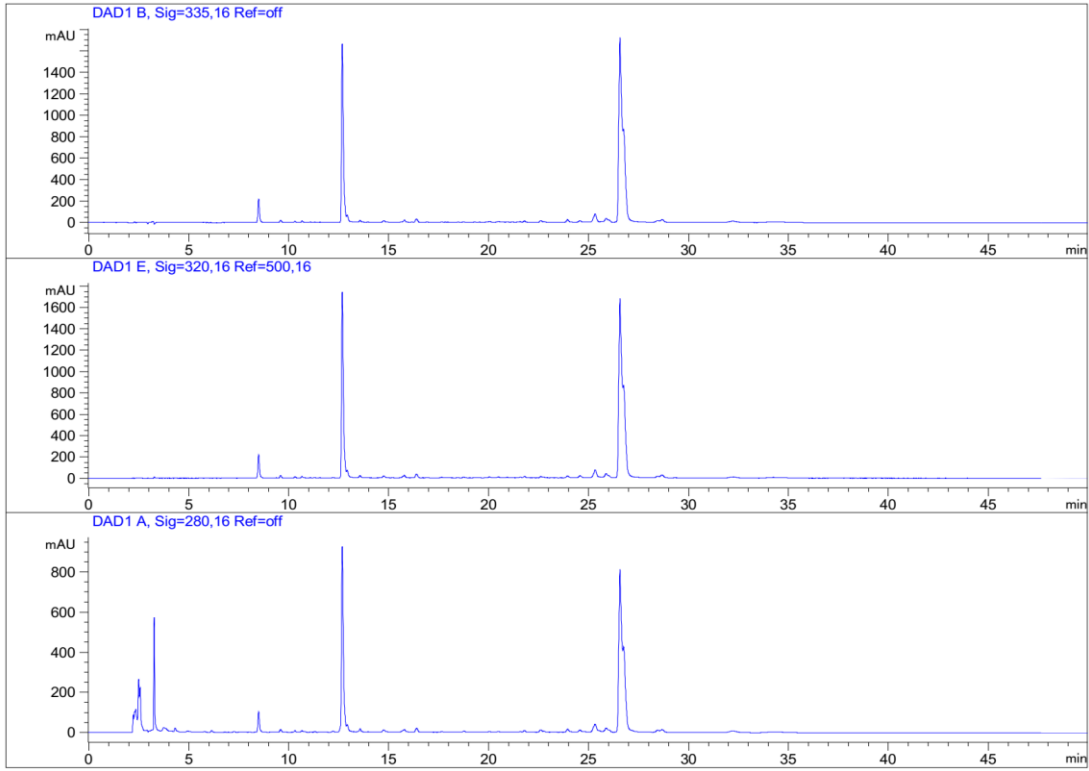
Şekil B.8 Sakız enginar iç brakte HPLC kromatogramları.



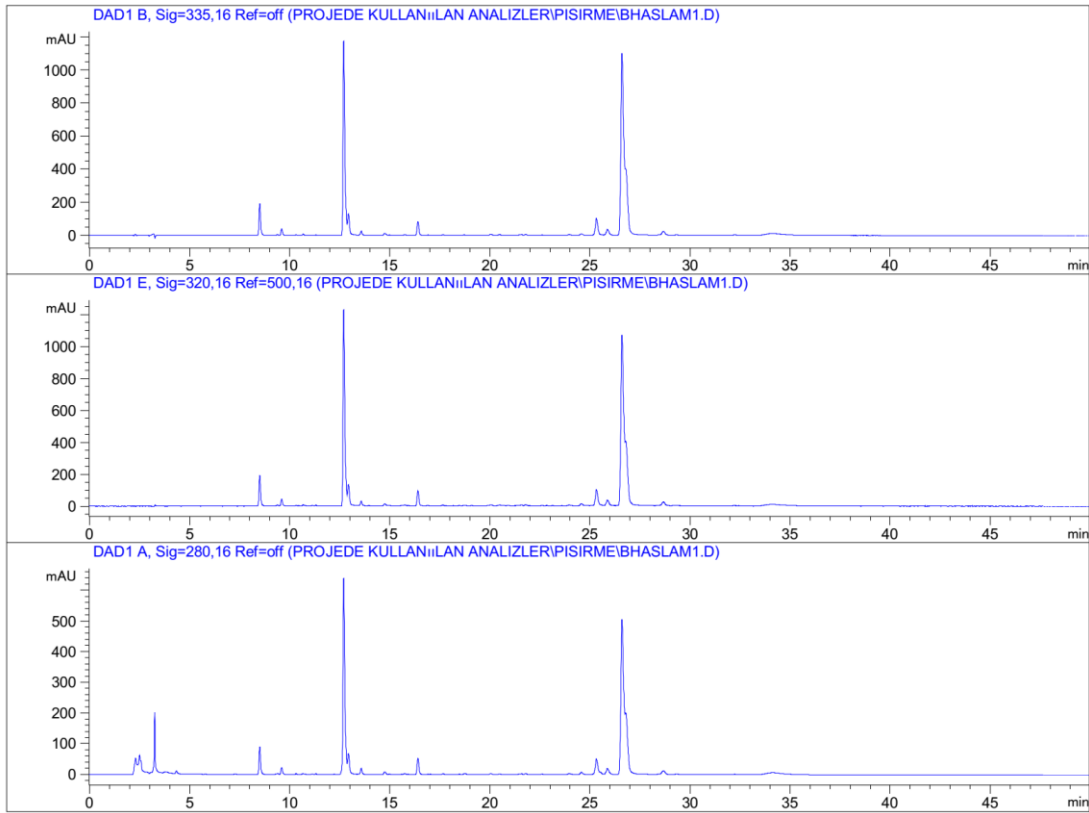
Şekil B.9 Sakız enginar kalp HPLC kromatogramları.



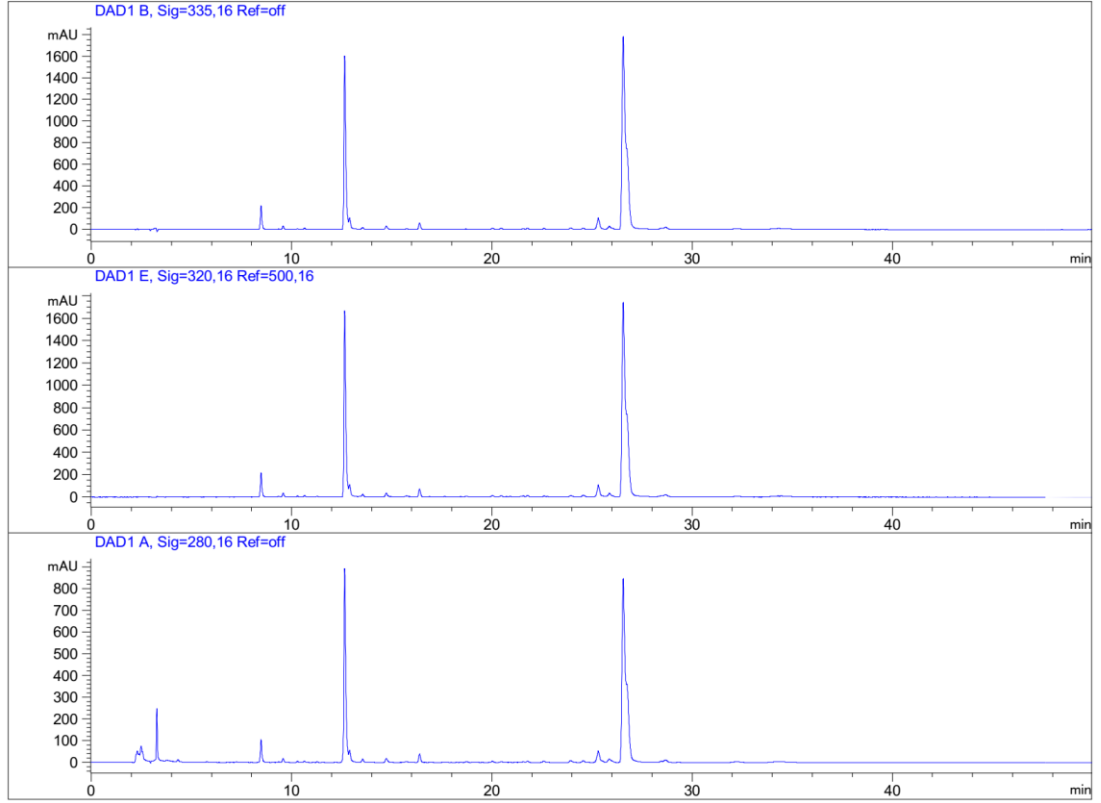
Şekil B.10 Sakız enginar sap HPLC kromatogramları.



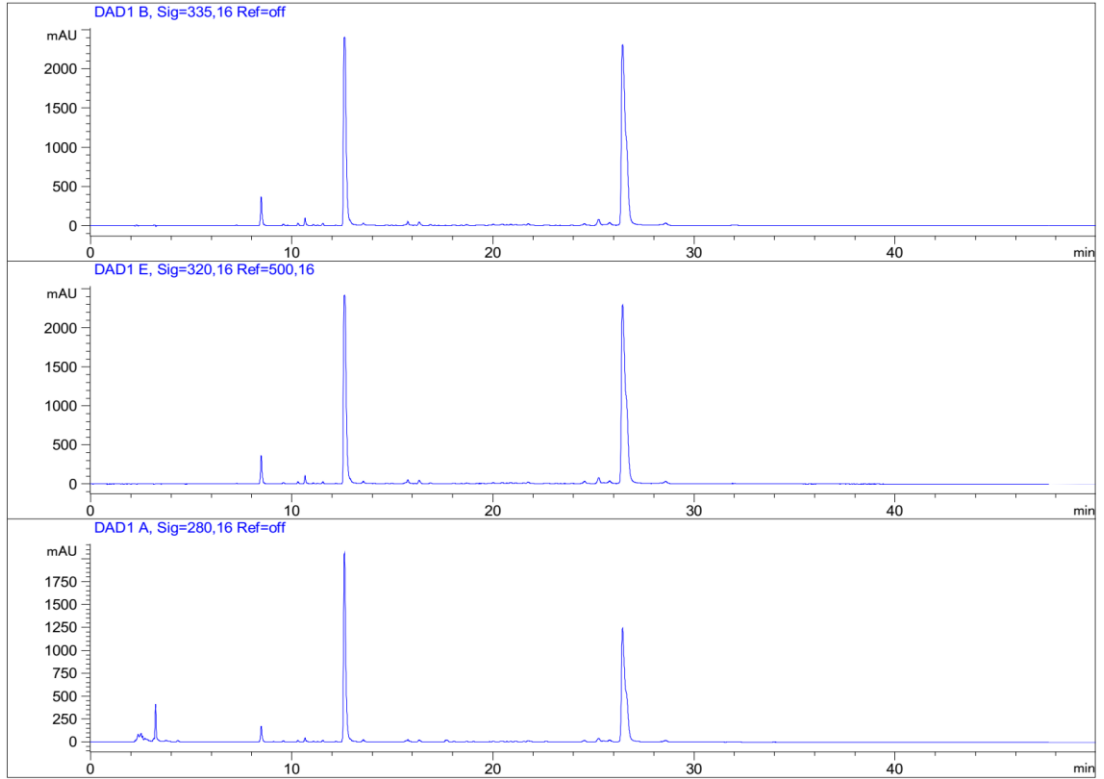
Şekil B.11 Bayrampaşa fırında pişirme HPLC kromatogramları.



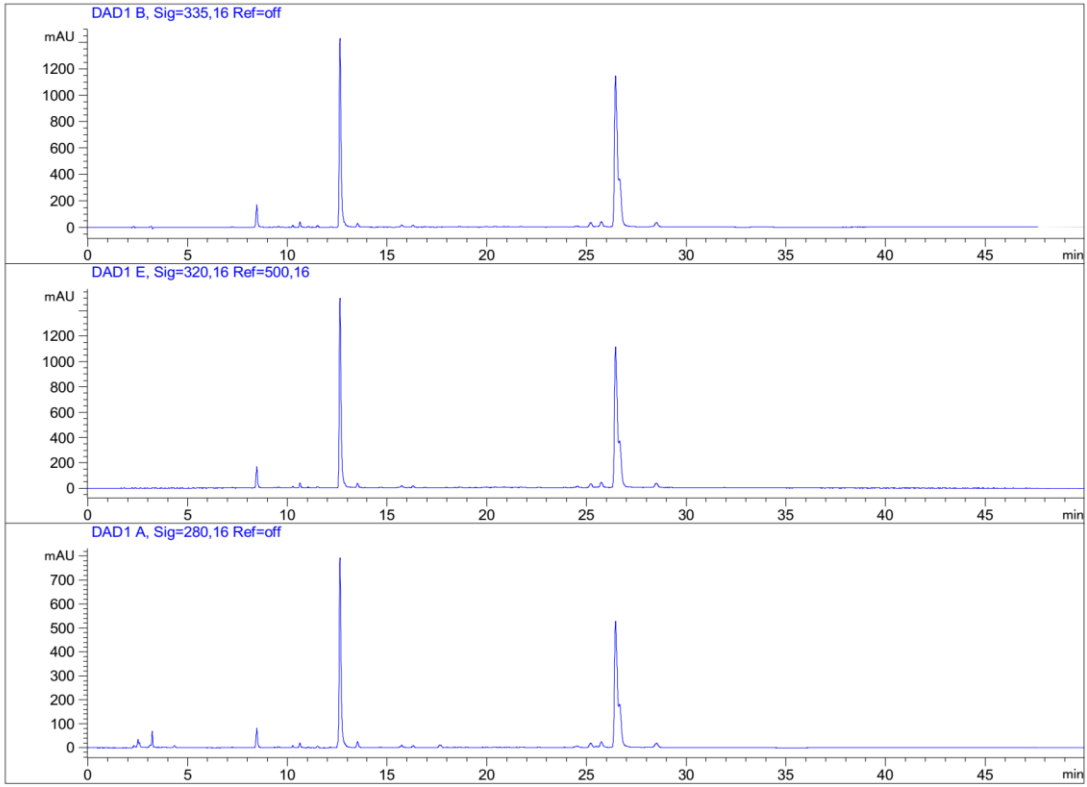
Şekil B.12 Bayrampaşa haşlama pişirme HPLC kromatogramları.



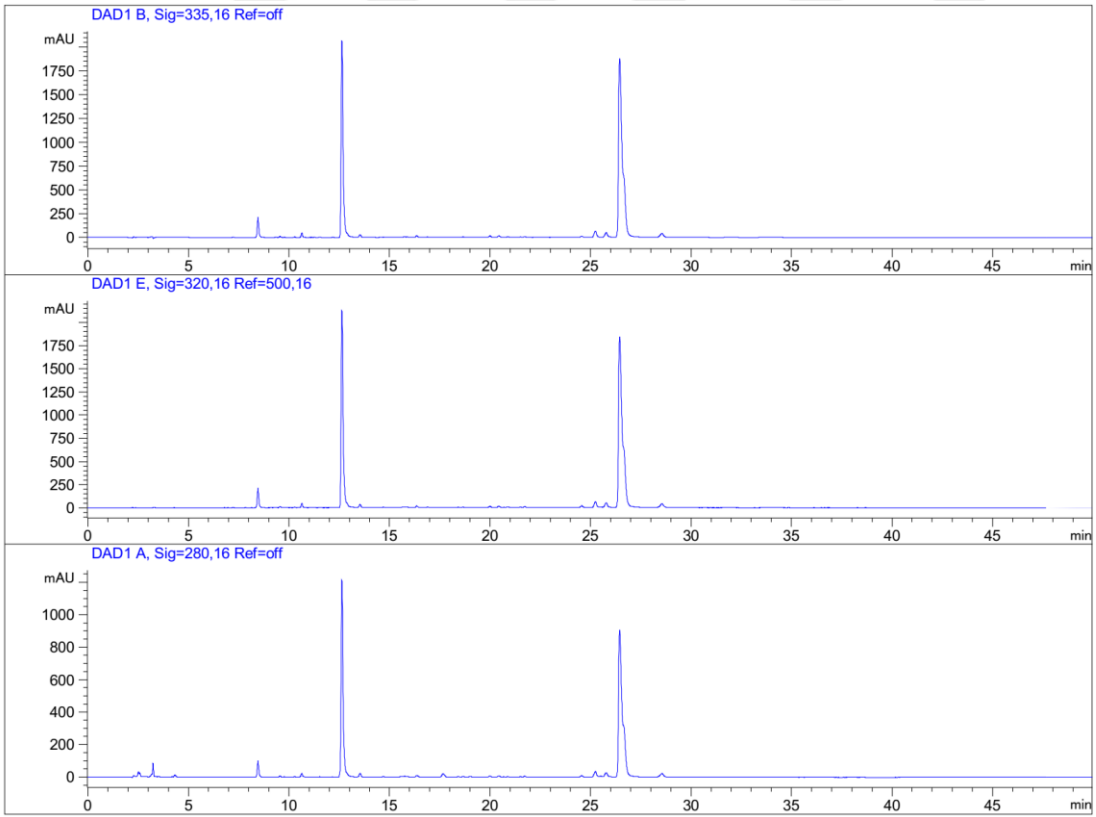
Şekil B.13 Bayrampaşa mikrodalga pişirme HPLC kromatogramları.



Şekil B.14 Sakız fırında pişirme HPLC kromatogramları.



Şekil B.15 Sakız haşlama pişirme HPLC kromatogramları.



Şekil B.16 Sakız mikrodalga pişirme HPLC kromatogramları.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Seda KAYAHAN

Lisans: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümü (Çift Anadal) Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (Anadal) 2009

Yüksek Lisans: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü-Organik Kimya Bilim Dalı 2013

Mesleki Deneyim ve Ödüller:

2011-2011 Starwood Orman Ürünleri A.Ş Tutkal Üretim Prosesi

2011-2014 Türkiye Kömür İşletmeleri Garp Linyitleri İşletmesi Müessesesi Müdürlüğü Ar-Ge Başmühendisliği

2014-2015 Soma Elektrik Üretim Ve Tic. Aş. Bursa Linyitleri İşletmesi Müdürlüğü Laboratuvar Başmühendisliği

2015-... Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsü -Yalova

Yayın ve Patentler

1. Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayınlanan Makaleler

- [1] Y. Özdemir, S. Kayahan, N. Aktepe Tangu, Quality, sensory and oxidative stability characteristics of olive oils obtained by crossing of Ascolana with Karamürselsu, Tavşanyuregi and Uslu cultivars, International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research, 4 (2020) 407-413
- [2] Y. Özdemir, A. Ozturk, S. Kayahan, O. Keskinel, Determination of table olive and olive oil consumption and preference of children from Yalova/Turkey, Eurasian Journal of Food Science and Technology, 1 (2017) 9-15.
- [3] Y. Özdemir, S. Kayahan, S.S. Erdogan, U. Ozyurt, Oil content and fatty acid composition of seeds of selected 13 cherry laurel types, Journal of Food Science and Nutrition Research, 3 (2020) 1-6.

- [4] A. Öztürk, Y. Özdemir, S. Kayahan, S., Total phenolic content and antioxidant activity of aronia fruit of neo and viking cultivars cultivated in Yalova, The International 3. Halal and Healthy Food Congress, 3 (2015)14-40.

2. Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

- [5] Y. Özdemir, Y., Kayahan, S., Keskinel, Ö., Tüketicinin ambalajlı ve ambalajsız sofralık zeytin satın alma tercihleri ve buna etki eden bazı faktörler. Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi, 17 (2017) 41-50.
- [6] Y. Özdemir, S. Kayahan, Ö. Keskinel, Tüketicinin ambalajlı ve ambalajsız sofralık zeytin satın alma tercihleri ve buna etki eden bazı faktörler, Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi, 17 (2017) 1303-3107.
- [7] Y. Özdemir, S. Kayahan, Kurutma yöntemi ile sofralık tuzsuz zeytin üretimi, Agrotime, 25 (2017) 2147-7639.
- [8] Y. Özdemir, S. Kayahan, A. Öztürk, Zeytin 20 dakikada işlenecek, Türk Tarım, 240 (2017) 1303-2364.
- [9] Y. Özdemir, S. Kayahan, Ö. Keskinel, Tüketicilerin sofralık zeytin tercihinin belirlenmesi, Bahçe, 45 (2016) 1300-8943.
- [10] Y. Özdemir, N. Aktepe Tangu, M.A. Nebioğlu, S. Kayahan, Gemlik ve Edincik Su melezlemesi ile elde edilmiş zeytin tiplerinin yağ miktarlarının ve yağ asitleri kompozisyonlarının belirlenmesi, Zeytin Bilimi, 6 (2016) 41-47.
- [11] Y. Özdemir, S. Kayahan, Ö. Keskinel, Tüketicinin sofralık zeytin tercihlerinin belirlenmesi, Bahçe, 45 (2016) 11-19.
- [12] Y. Özdemir, S. Kayahan, M. Özkan, Ö. Keskinel, Kontrolsüz şartlar altında geleneksel yöntem ile hazırlanan zeytinlerin neden olduğu botulizm zehirlenmesinin incelenmesi, İtalya Vakası. Analiz, 35 (2016) 2146-6106.

3. Katıldığı Eğitim, Kongre ve Sempozyumlar:

- [13] S. Kayahan, Y. Özdemir, Ceviz yağının oksidasyonu ve ürün kalitesine etkisi. 3. Ulusal Ceviz Sempozyumu, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, 2016, Bolu, Türkiye

- [14] A. Öztürk, S. Kayahan, Y. Özdemir, A. Fidancı, Türkiye’de yeni bir üzüksü: aronya türkiye’de yeni bir üzüksü: Aronya (*Aronia melanocarpa*), Türkiye 12. Gıda Kongresi, 2016, Edirne, Türkiye
- [15] Tarımsal Araştırmalarda İstatistiksel SPSS Paket Kullanımı, 11-15.04.2016, Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Eğirdir/Isparta.
- [16] Tarımsal Araştırmalarda İstatistiksel Yazılım Paketi Kullanımı, 03-06.11.2015, Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Eğirdir/Isparta.
- [17] İstatistik ve Deneme Teknikleri 05-08.10.2015, Meyvecilik Araştırma Enstitüsü, Eğirdir/Isparta.
- [18] TS EN ISO/17025 Deney Laboratuvarları Akreditasyonu Temel ve Dokümantasyon Eğitimi, 06-07.05.2013, Kimya Mühendisleri Odası, Ankara.
- [19] TS EN ISO/17025 Kapsamında Laboratuvar İstatistiği Eğitimi. 08-10.05.2013, Kimya Mühendisleri Odası, Ankara.
- [20] TS EN ISO/IEC 17025 İç Tetkik Eğitimi. 06-07.06.2013, Kimya Mühendisleri Odası, Ankara.
- [21] TS EN ISO/IEC 17025 Kapsamında Metot Validasyonu Eğitimi. 25-26.09.2013, Kimya Mühendisleri Odası, Ankara.
- [22] TS EN ISO/IEC 17025 Kapsamında İstatistiksel Proses Kontrol ve Kontrol Kartları Oluşturulması ve Uygulaması Eğitimi. 23-24.09.2013, Kimya Mühendisleri Odası, Ankara.
- [23] TS EN ISO/IEC 17025 Kapsamında Laboratuvarda Olası Uygunsuzluk Kaynakları, Uygunsuzlukların Değerlendirilmesi ve Laboratuvar Denetimi Eğitimi. 27.09.2013, Kimya Mühendisleri Odası, Ankara.
- [24] Workshop on Clean Coal Technologies, 08-10.12.2011, Türkiye Kömür İşletmeleri, Antalya.



TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR/SUNUMLAR

Dergideki Bir Makale:

- [1] S. Kayahan, D. Saloğlu, Optimization and kinetic modelling of microwave-assisted extraction of phenolic contents and antioxidants from Turkish Artichoke, *CyTA-Journal of Food*, 18 (2020) 635-643
- [2] S. Kayahan, D. Saloğlu, Microwave-assisted extraction of antioxidant phenolic compounds from artichoke (*Cynara scolymus L.* cv Bayrampasa): optimisation and kinetic modelling, *International Food Research Journal*, 28 (2021) 704 -715
- [3] S. Kayahan, D. Saloğlu, Comparison of phenolic compounds and antioxidant activities of raw and cooked Turkish artichoke cultivars, in *Frontiers in Sustainable Food Systems*, section Nutrition and Sustainable Diets, 5 (2021) 1-8
- [4] S. Kayahan, D. Saloğlu, Farklı olgunluklarda tüketilen Sakız enginarının (*Cynara scolymus L.*) biyoaktif bileşenlerinin incelenmesi, *Journal of Advanced Research in Natural and Applied Sciences*, doi.org/10.28979/jarnas.940286

Bildiri:

- [5] S. Kayahan, D. Saloğlu, Bursa’da Yetiştirilen ‘Bayrampaşa’ enginarının farklı kısımlarının toplam fenol ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, *INSAC Doğa ve Sağlık Bilimleri*, 2020, İstanbul, Türkiye
- [6] S. Kayahan, D. Saloğlu, Bursa’da yetiştirilen “Imperial Star” enginarın farklı kısımlarının toplam fenol ve antioksidan aktivitesi, 31. Kimya Kongresi, 2019, İstanbul, Türkiye
- [7] S. Kayahan, D. Saloğlu, İzmir’de yetiştirilen “Sakız” enginarın farklı kısımlarının toplam fenol ve antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, 3. Fitoterapi, Aromaterapi, Apiterapi ve Kozmetikte Yenilikler Kongresi, 2019, İstanbul, Türkiye

- [8] S. Kayahan, D. Saloğlu, Enginar genotiplerinin biyoaktif bileşenlerinin belirlenerek artıklarından biyoaktif madde ekstraksiyonu, enkapsülasyonu ve in vitro biyoerişilebilirliğinin incelenmesi, Uşak Üniversitesi TTO 2.Ar-Ge ve Tasarım Proje Pazarı, 2019, Uşak, Türkiye
- [9] S. Kayahan, D. Saloğlu, Y. Özdemir, Effect of Preparation Methods on the Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Artichoke Extracts, 3 rd International Eurasian Conference On Science, Engineering and Technology, 2021, Ankara,Turkey
- [10] S. Kayahan, D. Saloğlu, Y. Özdemir, Sensory and color characteristics of artichoke leaf mixed herbal tea, 3 rd International Eurasian Conference On Science, Engineering and Technology, 2021, Ankara,Turkey

Projeler:

- [11] S. Kayahan, D. Saloğlu, ‘Enginar genotiplerinin biyoaktif bileşenlerinin belirlenerek artıklarından biyoaktif madde ekstraksiyonu’ isimli Yalova Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Geliştirme Destekleme Birimi, Doktora Projesi, 2019- devam. (Proje no.:2019/DR/0001).
- [12] S. Kayahan, D. Saloğlu, ‘Enginar genotiplerinin biyoaktif bileşenlerinin belirlenerek artıklarından biyoaktif madde ekstraksiyonu, enkapsülasyonu ve in vitro biyoerişilebilirliğinin incelenmesi’ isimli T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırma ve Politikalar Ar-Ge Destek Programı, Akademik, 2019-devam (Proje no: TAGEM/HSGYAD/A/20/A3/P4/1927)