

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**NAR KABUĞUNDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN FARKLI EKSTRAKSİYON
YÖNTEMLERİ İLE ELDESİ**

Selin Duygu YÜCELEN

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2021**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

NAR KABUĞUNDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN FARKLI EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ İLE ELDESİ

Selin Duygu YÜCELEN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Afife GÜVENÇ

Gıda ve Tarım Örgütü verilerine göre, insanların tükettiği ürünlerin yaklaşık üçte biri atık olarak doğaya karışmaktadır. Gıda atıkları yapısındaki yüksek antioksidan içeriğiyle kanser, kalp hastalıkları gibi hastalıklara yakalanma riskini azaltabilmekte ya da tedavi sürecinde etkili olabilmektedir. Son yıllara bakıldığında polifenolik bileşenler içeren bitkiler arasında nar atıklarına (kabuk, çekirdek) ilgi artmaktadır. Yapısında punikalagin, elajit asit gibi değerli fenolik bileşenler içeren nar kabuğu ve çekirdeğine, sahip olduğu antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinden dolayı her geçen gün ilgi ve yapılan araştırmalar artmaktadır. Bu çalışmada, kuru nar kabuğundan polifenollerin klasik ekstraksiyonu (Soxhlet ve karıştırmalı ekstraksiyon yöntemleri) ve ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu amaçlanmıştır. Nar kabuğunun ekstraksiyonu, polifenoller en yüksek miktarda elde etmek için farklı çözücüler (n-pentan, etil asetat, aseton, 2-propanol, %96 etanol) ve farklı yöntemler kullanılarak optimize edildi. Karıştırmalı ekstraksiyon yönteminde farklı sıcaklıklarda (20°C, 40°C, 60°C ve 80°C), farklı etanol derişimlerinde (%30-96 EtOH:saf su) çalışılarak ekstraksiyon verimi ve antioksidan aktivitesi üzerine etkileri araştırıldı. Elde edilen ekstraktların DPPH ile antioksidan aktivitesi ve Folin Ciocalteu toplam fenolik madde miktarları spektrofotometrik olarak (UV-VIS) belirlendi. En yüksek ekstraksiyon verimi Soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle %96 Etanol kullanılarak elde edilmiştir ve ekstraksiyon verimi %58.56 bulunmuştur. Karıştırmalı ekstraksiyon yönteminde en yüksek ekstraksiyon verimi %70 Etanol ve 40°C koşullarında elde edilmiştir ve ekstraksiyon verimi %49.58 olarak bulunmuştur. Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yönteminde ise en yüksek ekstraksiyon verimi %70 Etanol ile elde edilmiştir ve ekstraksiyon verimi %54 çıkmıştır. Antioksidan aktivitelerine bakıldığında ise karıştırmalı ekstraksiyon yönteminde çözücü aseton ve sıcaklık 40°C koşullarında elde edilen ekstraktın antioksidan aktivitesi en yüksek çıkmıştır (3.38µg/ml).

Ocak 2021, 156 sayfa

Anahtar kelimeler: Nar kabuğu, klasik ekstraksiyon, ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon, antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde miktarı

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

EXTRACTION OF PHENOLIC CONTENTS FROM POMEGRANATE PEEL BY DIFFERENT EXTRACTION METHODS

Selin Duygu YUCELEN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Afife GUVENC

According to the data of the Food and Agriculture Organization, approximately one third of the products produced for human consumption are waste. In recent years, interest in pomegranate wastes has increased as it contains phenolic compounds in high concentration, such as elagic acid, punicalagin and punic acid. In this study, classical extraction of polyphenols from dry pomegranate peel (using Soxhlet stirred extraction methods and ultrasound assisted extraction) was aimed. The extraction of pomegranate peel was optimized using different solvents (*n*-pentane, ethyl acetate, acetone, 2-propanol, 96% ethanol) and different methods to obtain the polyphenols in the highest amount. The effects of extraction temperature and ethanol-water ratio on the extraction yield and the on the amount of polyphenols were also investigated running the stirred extraction at different temperature (20°C, 40°C, 60°C, and 80°C) and at different ethanol:water ratio (with 30-96% EtOH and with distilled water purely). The antioxidant activity with DPPH of the obtained extracts were determined spectrophotometrically (UV-VIS). The highest yield was obtained with Soxhlet extraction method using 96% Ethanol and the yield was 58.56%. In the stirred tank extraction method, the highest yield was obtained at 70% Ethanol and 40°C conditions and the yield was found as 49.58%. In the ultrasound assisted *çözücü* extraction method, the highest efficiency was obtained with 70% ethanol and the yield was 54%. When the antioxidant activities are examined, the antioxidant activity of the extract obtained in the acetone and temperature 40°C conditions in the stirred extraction method was the highest (3.38µg / ml).

January 2021, 156 pages

Key words: Pomegranate peel, conventional extraction, ultrasound assisted extraction, antioxidant activity, total phenolic content

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Yüksek lisans hayatıma başladığım andan bu yana güler yüzünü eksik etmeyen, her zaman yanımda olan danışmanım Prof. Dr. Afife GÜVENÇ hocama teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans hayatımın en büyük kazançlarından birisi olan, her daim bana destek olan, gece geç saatlere kadar birlikte çalıştığımız ve çıkmaz anları eğlenceli hale dönüştürmemi sağlayan, sıcak bir poğaçayı asla eksik etmeyen sevgili takım arkadaşım Merve Hüseyinbaş başta olmak üzere, bu üç yıllık süreçte hem Ankara’da hem de yurtdışında edindiğim muhteşem deneyimimde; her sıkıntıda yanımda olan ve bana güç veren, bana asla kendimi yalnız hissettirmeyen, bu noktaya gelmemi sağlayan ve en büyük şansım olan sevgili arkadaşlarım Begüm Kaya, Selin Satar, Elif Ünal, Ferda İdil Lostar, Arda Bayrav, Ceren Hancı, Aykut Kaya, Tuğba Honolulu, Bengisu Mısır, Benan Yaşamış, Yağmur Arıkan, Berk Peker Cofrey, Nurcan Bal, Ezgi Tarhan, Seda Osan’a ve Samet Şen’e çok teşekkür ederim. Bu başarımda her birinizin katkısı var.

Yurtdışında olduğum süre zarfında hem güler yüzü hem de deneyimi ile bana çok şey katan sevgili hocam Dr. Erika Vagi ve süperkritik ekstraksiyon laboratuvar ekibine çok teşekkür ederim.

Yardımlarını hiçbir zaman eksik etmeyen, bana yol gösteren ve bilgi, deneyimlerini benimle paylaşan güler yüzlü Dr. Nilüfer VURAL ve Dr. Rahime SONGÜR hocama çok teşekkür ederim.

Son olarak maddi ve manevi her daim yanımda olan, her zaman bana cesaret veren, her sıkıntıda bana kalkan olan ve her güzel anımı benimle içten paylaşan annem Nur YÜCELEN, babam Selami YÜCELEN, ablam Aydan ÖZET ve varlığıyla bana güç veren sevgili yeğenim Alp'e sonsuz teşekkür ederim.

Selin Duygu YÜCELEN

Ankara, Ocak 2021



İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI	
ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1.GİRİŞ	1
2.KURAMSAL TEMELLER.....	4
2.1 Nar	4
2.2 Antioksidanlar	7
2.2.1 Antioksidanların kaynakları.....	8
2.2.2 Doğal ve sentetik antioksidanların karşılaştırılması.....	10
2.2.3 Antioksidanların hastalıklar ve metabolizma üzerine etkileri.....	11
2.3 Fenolik Maddeler	12
2.4 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres	14
2.5 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri.....	15
2.6 Ekstraksiyon	16
2.7 Ses Ötesi Dalgalar	18
2.7.1 Ses ve ses ötesi dalgaların fiziği.....	18
2.7.2 Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu	19
3.KAYNAK ARAŞTIRMASI	21
4.MATERYAL ve YÖNTEM.....	36
4.1 Materyaller	36
4.1.1 Bitkisel Materyal	36
4.1.2 Kullanılan Kimyasallar	36
4.2 Yöntemler.....	37
4.2.1 Nem tayini analizi.....	37
4.3 Kimyasal Analizler	45
4.3.1 Antioksidan testi.....	45
4.3.2 Toplam fenolik madde miktarı	47
5.BULGULAR	55
5.1 Nem İçeriği Analizi	50
5.2 Soxhlet Ekstraksiyon Metodu	50
5.3 Karıştırmalı Tank Ekstraksiyonu	52
5.4 Ses Ötesi Dalga Destekli Çözücü Ekstraksiyon	55
5.5 DPPH ile Antioksidan Aktivitesi Tayini	60
5.6 Toplam Fenolik Madde Miktarı Analizi	67
KAYNAKLAR	82
EKLER.....	84
ÖZGEÇMİŞ.....	156

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

T	Sıcaklık
Min	dakika
h	saat
g	gram
mg	miligram
µg	mikro gram
IC ₅₀	Enzim aktivitesini %50 oranında inhibe eden konsantrasyon
SE	Soxhlet Ekstraksiyonu
SÖD	Ses ötesi dalga
SÖDE	Ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon
UBE	Ses ötesi dalga destekli banyo ekstraksiyonu
UB	Ses ötesi dalga destekli banyo
KTE	Karıştırmalı Tank Ekstraksiyon
DPPH	2,2-Difenil-1pikrihidraliz
FRAP	Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü
TFM	Toplam fenolik madde miktarı
GAE	Gallik Asit eşleniği
GA	Gallik asit
AA	Antioksidan aktivitesi
UV	Ultraviyole
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
TÜİK	Türk İstatistik Kurumu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Nar	4
Şekil 2.2 Antioksidanların sınıflandırılması	8
Şekil 2.3 Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması	13
Şekil 2.4 Gıdalarda daha yaygın bulunan flavonoidlerin adları ve kimyasal yapıları ...	14
Şekil 3.1 Güç seviyesinin PSÖD ekstraksiyon ekstraksiyon verimii ve antioksidan aktivitesine etkisi	26
Şekil 3.2 Ses ötesi dalga uygulama süresinin ekstraksiyon süresi ve antioksidan aktivitesine etkisi	27
Şekil 3.3 Atış tekrarının TPM ve antioksidan aktivitesine etkisi.....	28
Şekil 3.4 Ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması.....	28
Şekil 3.5 Çözücü türünün ekstraksiyon ekstraksiyon verimiine etkisi	29
Şekil 3.6 Çözücü türünün ekstraksiyon ekstraksiyon verimii üzerine etkisi.....	30
Şekil 3.7 Sıcaklığın, genliğin, açık/kapalı süresinin, çözücü/katı oranının ekstraksiyon ekstraksiyon verimi üzerine etkisi.....	31
Şekil 3.8 Kurutan havanın akış sıcaklığı ve giriş hava sıcaklığının ekstraksiyon verimine etkisi	32
Şekil 3.9 SÖD ekstraksiyon süreci.....	33
Şekil 3.10 Gerçekleştirilen fiziksel ve kimyasal analizler	33
Şekil 3.11 Nar kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin HPLC ile kromatografik analizi.....	34
Şekil 3.12 Güç seviyesi, sürenin ve açık/kapalının TFM'ye etkisi.....	35
Şekil 4.1 Nem tayini için hazırlanan numuneler.....	38
Şekil 4.2 Soxhlet ekstraksiyon aparatı	39
Şekil 4.3 Ekstraksiyon öncesi hazırlanan numuneler.....	40
Şekil 4.4 Soxhlet ekstraksiyon yönteminin aşamaları.....	41
Şekil 4.5 Döner buharlaştırıcı sistemi	41
Şekil 4.6 Karıştırılmalı tank ekstraksiyonu	43
Şekil 4.7 Vakumda süzme düzeneği	43
Şekil 4.8 Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon cihazı (30 kHz).....	45
Şekil 4.9 Analiz hazır hale getirilen çözeltiler	47
Şekil 4.10 Toplam fenolik madde miktarı analizi için hazırlanan çözeltiler	49
Şekil 5.1 Çözücü olarak n-pentan kullanıldığında elde edilen ekstrakt.....	51
Şekil 5.2 Çözünün ekstraksiyon verimine etkisi	52
Şekil 5.3 Çözücünün ekstraksiyon verimine etkisi	53
Şekil 5.4 Sıcaklık ve çözücü derişiminin ekstraksiyon verimine etkisi	54
Şekil 5.5 Çözücü derişiminin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi	54
Şekil 5.6 SÖDE için çözücü cinsinin ekstraksiyon verimine etkisi (30 kHz).....	56
Şekil 5.7 SÖDE ekstraksiyon verimi sonuçları (20 kHz)	57
Şekil 5.8 Ses ötesi dalga destekli banyo ekstraksiyonu verimi sonuçları	58
Şekil 5.9 Ekstraktların IC ₅₀ değerleri	60
Şekil 5.10 Çözücü konsantrasyonu ve sıcaklığın IC ₅₀ değerlerine etkisi (KTE)	61
Şekil 5.11 Çözücü derişiminin IC ₅₀ değerlerine etkisi (KTE)	62
Şekil 5.12 Ekstraktların IC ₅₀ değerleri (UBE)	63
Şekil 5.13 Ekstraktların IC ₅₀ değerleri (SÖD, 20kHz)	63

Şekil 5.14 SÖDE ekstraktlarının IC50 değerlerinin karşılaştırılması	64
Şekil 5.15 SÖDE ekstraktlarının sonuçlarının karşılaştırılması (UB, 20kHz,30 kHz) ..	65
Şekil 5.16 SÖDE ekstraktlarının TFM sonuçları (20 kHz).....	66
Şekil 5.17 SÖDE ekstraktlarının TFM sonuçları (UBE)	67



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Nar suyunun kimyasal bileşimi	6
Çizelge 2.2 Narın kısımları ve fitokimyasal içerikleri	7
Çizelge 5.1 Kurutulmuş nar kabuğunun nem içeriği	50
Çizelge 6.1 Bu çalışmada elde edilen deneysel bulgular ile literatür sonuçlarının karşılaştırılması	80



1.GİRİŞ

Gıda ve Tarım Örgütü verilerine göre, insanların tüketimi için üretilen ürünlerin yaklaşık üçte biri 1.6 milyar ton atık olarak doğaya karışmaktadır. Bu atıkların değerlendirilmediği takdirde doğada büyük bir çevre kirliliğine yol açacağı açıktır. Su, toprak ve hava kirliliği gibi çevresel zararlar küresel kaygılardır ve yeni ürünlerin kaynağı olarak tarım ve sanayi atıklarına farklı stratejilerin geliştirilmesinin ana sebebidir. Buna ek olarak, gıda atıkları yapısındaki yüksek antioksidan içeriği ile kanser, kalp hastalıkları, şeker hastalıkları, erken yaşlanma gibi birçok hastalığa yakalanma riskini azaltabilmekte ya da tedavi sürecinde etkili olabilmektedir (Turhan, 2006).

Doğal ve dengeli beslenme sayesinde, besin kaynaklarından vücudumuza belirli antioksidanlar almaktayız. Antioksidanlar; serbest radikal kaynakları oksidasyonları önlemektedir, serbest radikalleri yakalamakta, stabilize etmektedir. Günümüzde mikroorganizmalar antibiyotiklere karşı direnç kazanmış durumdadırlar ve bu durum sonucunda da yeni patojen mikroorganizmalar oluşmuştur. Bundan dolayı, araştırmacılar tıbbi bitkilerin sahip olduğu antimikrobiyal özellikleri araştırmaya yönelmişlerdir.

Özellikle son yıllara bakıldığında polifenolik bileşenler içeren tıbbi bitkiler arasında nar atıklarına (kabuk, çekirdek) olan ilgi artmaktadır. Yapısında punikalagin, punikik asit, elajit asit gibi değerli fenolik bileşenler içeren nar kabuğu ve çekirdeğine, sahip olduğu antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinden dolayı her geçen gün ilgi ve üzerinde yapılan araştırmalar artmaktadır. Sahip olduğu bu özellikler sayesinde gıdaların muhafazasını etkin kılmaktadır ve gıda katkı malzemesi olarak kullanılan ama sağlığa zararları konusunda büyük endişe taşıyan sentetik antioksidanlara alternatif doğal bileşik haline de gelmektedir (Şimşek, 2017).

Nar; antimikrobiyal özelliklere sahip olmasının yanı sıra antifungal, antikanserojenik, antiinflamatuvar ve antimujenik özelliklere de sahiptir. Narın yapısına bakıldığında; kabuk kısmı %48'ini, çekirdek kısmı %22'sini ve su kısmı da %30'unu oluşturmaktadır. Bu durumu değerlendirdiğimizde ise, gıda endüstrisinde nar meyve suyu, nar ekşisi, şarap gibi birçok üretim alanında kullanılmaktadır ve bu kullanılan narların yaklaşık %70'i atık olarak doğaya geri dönmektedir (Tamer,2006).

Yapısında bol miktarda polifenol ve yağ asitleri gibi değerli bileşenleri barındıran nar kabuğu ve çekirdeğinin geri kazanılması için önerilen yöntem çözücü ekstraksiyonudur. Endüstriyel işlemler sonucu ya da günlük hayatımızda tüketimimiz sonucu oluşan gıda atıklarının uygulamaları için yenilenebilir kaynakların kullanıldığı ve çevre dostu kimyasallar önerilmektedir.

Bu amaçla tezde, Katırbaşı cinsi narın (*Punica Granatum L.*) kabuğundaki polifenollerin, klasik ekstraksiyon metotları olan Soxhlet ve karıştırmalı tank ekstraksiyonu, ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonunun gerçekleştirilmesi ve bu ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması hedeflenmektedir. Bu kapsamda, nar kabuğundan yüksek miktarda polifenol elde etmek için; Soxhlet ekstraksiyon metodunda çözücünün etkisine (%96 Etanol, *n*-pentan, Aseton, 2-propanol, Etil asetat), karıştırmalı ekstraksiyon metodunda, farklı derişimlerde (%30, 50, 70, 96) etanolün ve sıcaklığın (20, 40, 60, 80°C) ekstraksiyon verimii üzerinde etkisi araştırılmıştır.

Buna ek olarak, ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon metodunun etkisine bakılması için ses ötesi dalga destekli banyo ve problu homojinezer kullanılmıştır. Her iki yöntem için de çözücünün (Aseton, %70 Etanol, Saf su), ekstraksiyon süresinin (10, 30, 60 min) ve sıcaklığın (20,40,60°C) ekstraksiyon verimii üzerinde etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Ayrıca, elde edilen ekstraktların DPPH ile antioksidan aktiviteleri ve Folin-Ciocalteu ile Toplam Fenolik Madde Miktarları UV-VIS spektrofotometrik analiz ile belirlenmiştir. Elde edilen

sonuçlar, sentetik antioksidan olan BHA ve BHT'nin antioksidan aktivitesi ile karşılaştırılmıştır.



2.KURAMSAL TEMELLER

2.1 Nar

Nar (*Punicagranatum L.*), yaşam, sağlık, uzun ömür ve ölümsüzlüğün yüzyıllardır sembolüdür. Çok yıllık bir bitki olan nar, *Lythraceae* familyasının (Kınagiller) *Punica* cinsine aittir. Tarihi M.Ö 3000 yıl öncesine dayanmaktadır ve tarihin en eski meyve türleri arasında yer almaktadır. Nar, insan sağlığına olan faydaları ve endüstriyel açısından değeri bir yana insanlığın kültürel hayatı için de kayda değer bir yere sahiptir.

Narın anavatanı için İran, Türkiye'nin güney ve güneydoğusu, Kafkasya ve Hindistan'ın kuzeyi olarak ifade edilebilmektedir. Tropikal ve subtropikal iklim bitkisiidir. Toprak seçimi çok olmayan ve ortam koşullarına çabuk adapte olan nar, bu özellikleri ile geniş bir alanda yetişmektedir. Bununla birlikte, çoğunlukla yetiştiği alanlara bakıldığında Akdeniz yazları sıcak ve kurak ve yağış rejiminin etkili olduğu kışları yağışlı olan bölgelerdir. Ülkemizde, Akdeniz, Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri'nde yetişmektedir (Gülsoy M., 2010).



Şekil 2.1 Nar (Anonim,2020)

Türkiye’de ve Dünya’da nar yetiştiriciliği tarım sektöründeki gelişmelerle birlikte önemli ölçüde artış göstermektedir. Özellikle son yıllarda nar; yetiştirme, depolama, taşıma ve işlenmesindeki gelişmelerle öne çıkmaktadır ve bundan dolayı üretimi, tüketimi ve ticareti günden güne artmaktadır. Dünya bazında bakıldığında nar üretiminde Türkiye önde gelen üreticilerdendir. TÜİK verilerine göre, 2000’li yılların başında toplam üretim 59 000 ton iken; 2014 yılında 397 335 tona yükselmiştir. Nar taze olarak tüketilmesinin yanında; meyve suyu, reçel, şarap, nar ekşisi, likör, meyve suyu konsantresi olarak da tüketilmektedir.

Nar meyvesine bakıldığında üç kısımdan oluşmaktadır. Bu kısımlar; çekirdek, kabuk ve narın suyudur. Yenilebilir kısımları, taneleri, meyvenin yaklaşık %52’lik kısmını oluşmaktadır ve tanelerin %78’i meyvenin eti, %22’si ise çekirdek kısmından oluşmaktadır. Çizelge 2.1’de nar suyunun kimyasal bileşimi verilmektedir. Meyvenin kimyasal kompozisyonuna bakıldığında; yetiştiği bölge, iklim, olgunluk, kültüre bağlı uygulamalar, çeşit ve depolama şekli önemli faktörler olarak gösterilmektedir ve bu faktörlere bağlı olarak da değişim göstermektedir (Gülsoy M. 2010).

Nar suyu üretimi esnasında nar kabuğu ve çekirdeğinden oluşan bir posa açığa çıkmaktadır. Farklı çalışmalarda meyve, kabuk, kök ve yapraklarının terapötik özellikleri çalışmalarda araştırılmış ve değerlendirilmiştir.

Nar; hidrolize olabilen tanenler (punikalin, punicalagin, gallik ve elajik asit esterleri, pedunkalagin), flavanoisler (katesin, antosiyanin ve diğer kompleks flavanoisler), polifenoller, konjuge ve konjuge olmayan yağ asitleri, aminoasitler, aromatik bileşikler, tokoferoller, terpenoidler, alkaloidler, steroller gibi antioksidan aktivitesinin yaklaşık %92’lik kısmını oluşturan fenolik bileşikler bakımından zengin olan bir kaynaktır (Okumuş G. 2015).

Narın içerisindeki antosiyaninlerin yaklaşık %30'u kabuk kısmında bulunmaktadır. Kabuğuna rengini vermesinde de büyük bir etkisi olan bu bileşiklerin konsantrasyonu yetiştirilen meyvenin çeşidi ve gelişim aşamalarına bağlı olarak da değişiklik göstermektedir (Fischer ve ark., 2011; Kumar ve ark., 2012; Zhao ve ark., 2013). Kabuk meyvenin ağırlığının yaklaşık %50'lik kısmını oluşturmaktadır. Kabuklar antimüjanik, antimikrobiyel ve antioksidan özelliklere sahiptir. Ayrıca yüksek molekül ağırlıklı fenolikler, proantosiyandinler, kompleks polisakkaritler, flavonoidler, flavonoidler ve mikroelementler açısından da iyi bir kaynaktır. Kendi aralarında hidrolize edilebilen tanenler özellikle de elajitanenler, nar kabuğundan bulunan en yüksek antioksidan özelliğe sahip polifenollerdir.

Nar çekirdeği de nar kabuğu gibi biyoaktif bileşenler için iyi bir kaynak olarak görülmektedir. Nar çekirdeğinin yapısında bulunan punikik asit yüksek bir antioksidan kaynağıdır ve çoklu doymamış yağ asidi sebebiyle nörokoruyucu etkiye sahiptir. Çizelge 2.2'de narın kısımlarının fitokimyasal içerikleri gösterilmektedir (Okumuş G. 2015).

Çizelge 2.1 Nar suyunun kimyasal bileşimi (Okumuş G. 2015)

Toplam Suda Çözünabilir Madde Miktarı	11,37-22,03
Titre Edilebilir Asitlik (Sitrik Asit Cinsinden) (g 100 g-1)	0,33-3,36
Toplam Şeker (g 100 g-1)	13,23-21,72
İndirgen Şeker (g 100 mL-1)	13,89-29,83
Askorbik asit (mg 100 g-1)	9,68-20,92
Pektin (g 100 g-1)	1,4
Potasyum (mg L-1)	2,093-2,517
Fosfor (mg L-1)	93-151
Kalsiyum (mg L-1)	11-149
Magnezyum (mg L-1)	21-104
Sodyum (mg L-1)	20-128
Toplam Antosiyanin (mg 100 g-1)	5,56-30,11
Toplam Fenolik (mg 100 g-1)	295,79-985,37

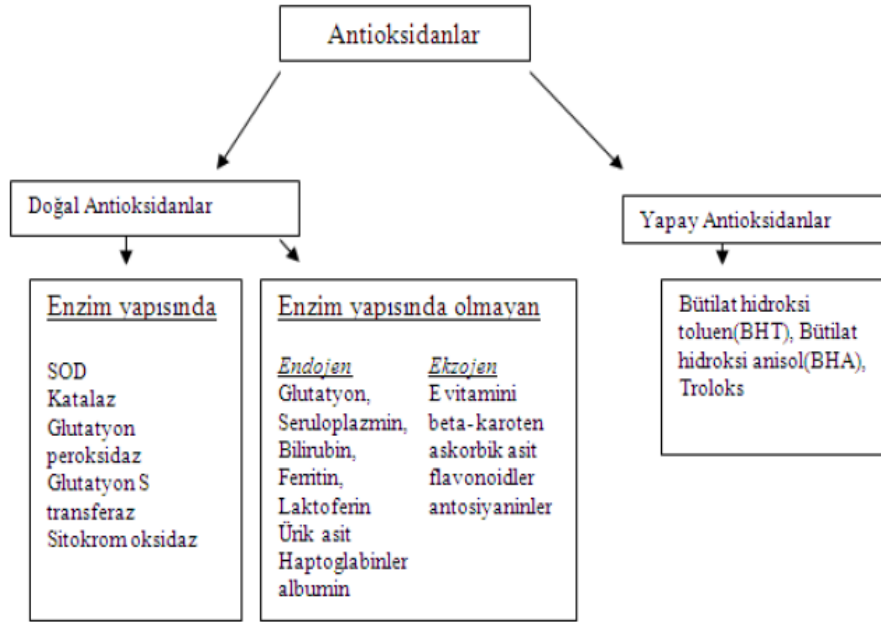
Çizelge 2.2 Narın kısımları ve fitokimyasal içerikleri (Okumuş G. 2015)

Nar Meyvesinin Kısımları	Fitokimyasal İçerik
Nar Suyu	Antosiyanin, askorbik asit, elajik asit, kateşin, Fe ⁺
Nar Kabuğu	Punikalajinler, gallik asit, kateşinler, flavonoller, antosiyanidinler
Nar Çekirdeği	Punikik asit, konjugelinoleik asit, linolenik asit, oleik asit
Nar Çiçeği	Gallik asit, ursolik asit
Nar Yaprığı	Tanin, flavon glikozitler
Nar Yağı	Punisik asit, elajik asit, steroller
Nar Ağacı Kökü ve Kabuğu	Elajitaminler, piperidinalkoloidler

2.2 Antioksidanlar

Antioksidanlar serbest radikallerin sebep olduğu oksidasyonları önlemektedir. Ayrıca, serbest radikalleri yakalama ve stabilize etme özelliklerine sahiptir. Antioksidanlar vücut hücreleri tarafından da üretilmektedir, gıdalarla da alınabilmektedir.

Antioksidanlar mekanizmalarına göre ikiye ayrılmaktadır. Birincil antioksidanlar ortamda bulunan radikallerle tepkimeye girerek radikallerin daha zararlı forma dönüşmelerini, yeni serbest radikaller oluşumunu engellemektedirler. Süperoksitdismutaz (SOD), glutatyonperoksidaz (GSHPx) ve katalaz gibi enzim sistemleri birinci antioksidan olarak bilinmektedir ve serbest radikalleri yok etme yeteneğine sahiptir. Bu enzimler serbest radikallerin protein, lipid, DNA gibi hücrel bileşenlere bir hasar vermesini sınırlamak amacıyla hücrel bölgeden diğerine geçişini önleyebilmektedir. İkincil antioksidanlar ise, oksijen radikalini tutan ve radikal zincir tepkimelerini engelleyen polifenolik (C vitamini, E vitamini vb.) bileşiklerdir.



Şekil 2.2 Antioksidanların sınıflandırılması (Turhan S. 2006)

2.2.1 Antioksidanların kaynakları

Antioksidan özelliğine sahip olan maddelerin bir kısmını beslenme ile almak mümkünken, bir kısmını ise vücut kendisi serbest radikallere karşı savunma amaçlı olarak üretmektedir. Katalaz, glutasyonperoksidaz, SOD (superoksitdismutaz) gibi enzimler antioksidan olarak değerlendirilebilmektedir.

Doğal antioksidan bileşikler:

- **Askorbik asit:** Bir diğer adıyla C vitamini, insan sağlığı için önemli bir besin kaynağı olmasının yanında sahip olduğu antioksidan özellikler dolayısıyla büyük önem taşımaktadır. C vitamini kaynaklarına bakıldığında; kuşburnu, yeşil sivri biber, maydanoz, karnabahar, çilek, karalahana, limon, portakal, brokoli, ıspanak, greyfurt, kabak gibi sebze ve meyveleri başta sıralayabiliriz. C vitamini

çok çabuk okside olmaktadır, bu yüzden yemek hazırlarken veya pişirirken vitaminlerin çoğu insan vücudu için iŖe yaramaz hale gelmektedir. C vitamini olan besinlerin ya çok hafif ısıda pişirilmesi ya da çiğ tüketilmesi bu sebeplerden dolayı önerilmektedir (Turhan S. 2006).

- **Alfa tokoferol:** Bir diğer adıyla E vitamini, buğday, darı, pirinç, mısır gibi birçok tahılda bulunmaktadır. Tahılların dıŖında ayçiçek yağı, ceviz, badem gibi kuruyemişlerde ve yeşil sebzelerde de bulunmaktadır. Aynı zamanda E vitamini pişirme ve ısıya da dayanıklıdır. Bu özellikleriyle pişirme esnasında yapısında herhangi bir bozunma söz konusu değildir.
- **Karotenoidler:** Karotenoidler birçok meyvede bulunmaktadır. Çoklu doymamış yapıları sayesinde bazı pigmentlere (sarı, turuncu ve kırmızı) kolayca okside olabilmektedirler. Karotenoidler; hidrokarbon (α -, β -, γ -karoten, likopen) ve ksantofil (lutein, kapsantin) olarak 2 gruba ayrılmaktadır. Karotenoidlerin ift bağ sayısı arttıkça antioksidan aktivitelerinde de artıŖ görülmektedir. Likopen, karotenoidler arasında en etkili antioksidandır. β -kriptoksantin ve β -karoten antioksidanları da likopeni takip etmektedir. Kırmızı, turuncu, sarı renkli meyve ve sebzeler en önemli karotenoid kaynaklarıdır.
- **Flavonoid:** Birçok sebze ve meyvede bulunan, sarı-beyaz pigmentlerdir. Özellikle bu tür beslenme ile vücuda yüksek miktarda alınabilmesi mümkündür. ilek, zm gibi meyveler, çikolata ve özellikle de ayda bol miktarda flavonoid bulunmaktadır (Turhan S. 2006).
- **Koenzim q:** Bu antioksidanın özellikle de kanser ve belli nörolojik hastalıklara pozitif etkisi bulunmaktadır. Hem vücut tarafından üretilmektedir hem de beslenme yolu ile de alınabilmektedir. Balık, et, böbrek, kalp ve ciğer de yüksek oranda koenzim q antioksidanı bulunmaktadır.

- **Likopen:** Birçok meyveye kırmızı rengini veren likopen beta-karoten ve litoein ile aynı aile üyesidir. Bağışıklık sistemi, kalp hastalıkları ve kansere karşı pozitif etkileri bulunmaktadır. Özellikle domateste yüksek miktarda likopen bulunmaktadır. Kalın bağırsak ve prostat kanserinin risklerini azalttığı yapılan araştırmalar ile kanıtlanmıştır.

2.2.2 Doğal ve sentetik antioksidanların karşılaştırılması

Antioksidanlar, besin aldıktan sonra canlı vücudunun içinde oluşan serbest radikaller sebebiyle sağlık açısından önemli duruma gelmektedir (Yavaş R. 2011):

Lipid serbest radikallerin miktarı; depolama, ısıtma ve sindirim sonucu artmaktadır. Antioksidanlar, lipid oksidasyonu engellemektedir veya geciktirmektedir. Bu özelliği sayesinde gıdaların kalitesini korumakla birlikte raf ömürlerini de uzatmaktadır. Bu sebeple, bütillenmişhidroksitoluen (BHT), bütillenmişhidroksianisol(BHA) ve tersiyer bütillhidroksikinon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanları gıdalara eklenmektedir. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalara göre, bu tür bileşiklerin zararlı olduğu ve doğal antioksidanlara göre daha az etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bunlara ek olarak, doğal antioksidanlara göre daha fazla maliyet gerektirdiği de ortaya koyulmaktadır. Bu sebeple hem ekonomik hem de daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olması, doğal antioksidanlara olan ilgiyi artırmıştır.

Besin ve ilaçlarda kullanılan sentetik antioksidanların, insan vücudunda karaciğer, akciğer gibi hasarlara sebep olduğu gözlemlenmiştir ve bundan dolayı doğal antioksidanlara yönelim günden güne artmaktadır. Doğal antioksidanlara olan ilginin artması ile birlikte bitkiler üzerine araştırmalar da artmaktadır (Yavaş R. 2011).

2.2.3 Antioksidanların hastalıklar ve metabolizma üzerine etkileri

Kanser: Bir hücrenin kanserleşme sürecine bakıldığında üç aşamadan oluşmaktadır. Bunlar başlangıç, gelişme ve son aşamadır. Kanser sürecinin başlamasına sebep olan birçok faktör bulunmaktadır. Örnek verecek olursak; kahve, alkol, nitritler, doğmuş yağlar ve pestisitler faktörler arasında sayılabilmektedir.

Kansere sebep olan beslenme ve çevresel faktörlerle birlikte insan vücudundan süperoksit denilen radikaller oluşmaktadır. Bunların etkilerini azaltmak veya yok etmek için antioksidanlar üzerinde araştırmalar yoğunlaşmıştır. Örneğin; vitamin E ve C birlikte güçlü bir nitrit yok edici özelliğe sahiptir. Yeşil çay tüketimi ise DNA'daki hasarı azaltmaktadır. C vitamininin hormonlara bağlı olmayan kanser tiplerinde koruyucu olduğu araştırmalar sonucunda belirlenmiştir. Buna ek olarak, beta karotenin kimyasalların indüklediği kanser türlerinde ve radyasyonda tümör gelişimi engellediği saptanmıştır (Yavaşer R. 2011).

Kardiyovasküler Hastalıklar: Kardiyovasküler hastalıklar insan sağlığını tehdit eden hastalıkların başında gelmektedir. Kalpte oksidatif zarara uğrama ve damarın iç kısmında mekanik stres sonucu tahribatın oluşması, plak yapısında yapılar oluşmasına sebep olur. Bunun sonucunda aktive olmuş makrofajlar ve monositler oksijen radikali üretmektedir. C ve E vitamini gibi temel antioksidanların kan kolesterol düşürücü gibi etkileri vardır.

Yaşlanma: Yaşlanma konusunda birçok teori ortaya atılmaktadır. En çok Kabul gören teori ise normal metabolik olaylar sonucunda serbest radikallerin oluşması ve bu serbest radikallerin yaşlanmaya yol açmasıdır. Serbest radikal molekülleri vücutta tahribata sebep olmaktadır, bu tahribatların bir kısmı onarılmamaktadır ve bunun sonucunda da yaşlanmaya yol açmaktadır. SOD enzimi, yaşlanmaya karşı vücudun savunmasında en önemli rolü oynamaktadır. Bu enzim sayesinde zararlı oksijen radikalleri hidrojen

perokside dönüşmektedir. Vücudun savunmasında antioksidanlar önemli rol oynamaktadır ve yaşlılığa karşı büyük etkisi bulunmaktadır (Turhan S. 2006).

Bağışıklık Sistemi: Bağırsak sisteminde bulunan bazı hücreler reaktif oksijen ve serbest radikal üretmektedir ve bunları kullanmaktadır. Fakat reaktif türler gerektiğinden fazla üretilirse kendisine ve diğer hücelere zarar verebilmektedir. E vitamini, sahip olduğu antioksidan özellikleri ve yağda çözünme özellikleriyle bağışıklık sisteminde çok önemlidir. Hücrelerdeki oksidatif zararlarda nötrofillerin tahribini vitamin E antioksidan etkileri sayesinde önleyebilmektedir. C vitamini ise bağışıklık sisteminin daha düzenli çalışmasını sağlamaktadır. Örnek vermek gerekirse; Vitamin C bağışıklık sisteminin salgı yapmasında etkili olmaktadır ve interferon üretiminde etkilidir (Yavaş R. 2011).

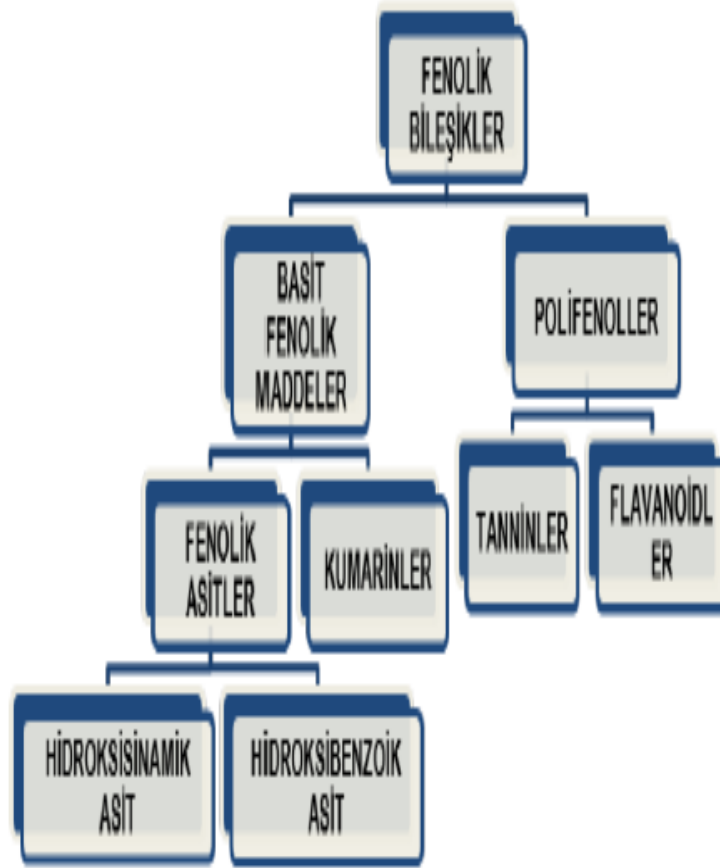
2.3 Fenolik Maddeler

Sekonder metabolit olan fenolik maddeler; bitki metabolizmalarında oluşmaktadır. Doğal antioksidan özellik gösteren fenolik maddelerin kendine özgü renkleri vardır ve meyvelere buruk tat vermektedir.

Fenolik maddeler, birincil metabolitler kadar önem taşımaktadır. Farklı niteliklere sahip fenolik maddeler bitki kökenli gıdalarda bulunmaktadır. Fenolik maddelerin kanser gibi insan sağlığını önemli ölçüde tehdit eden hastalıklara karşı riski azaltma etkisi bulunmaktadır (Nizamlioğlu N. 2010).

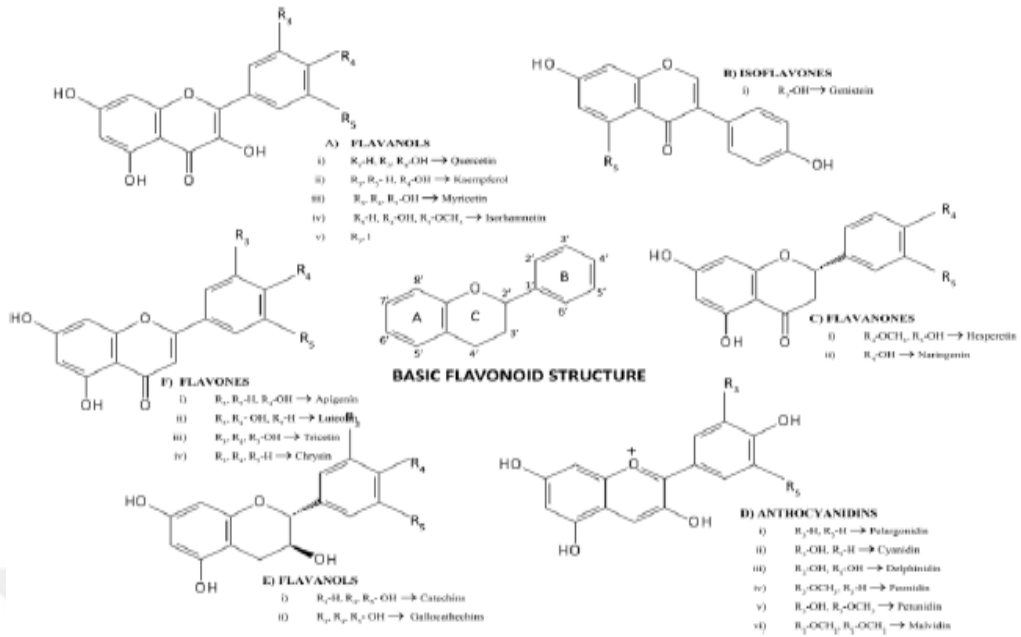
Gıdaların tat, koku ve renk gibi özelliklerinin oluşmasında fenolik bileşikler etkilidir. Bitkilerin yapısında bulunmasının yanı sıra Maillard reaksiyonları gibi kimyasal reaksiyonlar sonucunda da oluşmaktadır. Fenolik bileşikler basit fenolik maddeler ve polifenoller olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

Fenolik bileşikler serbest radikalleri yok etmektedir, oksijen oluşumu engellemektedir ve azaltmaktadır, enzim inhibitörüdür ve sahip olduğu mekanizma sayesinde gıdaları mikrobiyolojik ve kimyasal bozulmalara karşı korumaktadır ve raf ömürlerini uzatmaktadır. Oksidatifin olumsuz etkilerine karşı otoimmün sistemine destek olmaktadır (Okumus G. 2015).



Şekil 2.3 Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Okumuş G. 2005)

Fenolik bileşikler sekonder metabolitlerin büyük bir kısmını oluşturmaktadır ve hidroksil grupların sayısı ve yerine göre de farklı gruplara ayrılmaktadır. Flavonoidler halka yapılarına göre; flavonlar, katesinler, antosiyaninler, flavonoller ve izoflavonoidler olarak ayrılmaktadır.



Şekil 2.4 Gıdalarda daha yaygın bulunan flavonoidlerin adları ve kimyasal yapıları (Okumuş G. 2005)

2.4 Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres

Atom veya moleküllerdeki ortaklanmamış elektronlar serbest radikale büyük miktarda reaktivite kazandırmaktadır. Serbest radikaller, düşük aktivasyon enerjisine sahiptirler, ömürleri kısadır ve küçük moleküllerdir. Küçük molekül oldukları için hücre membranlarından kolaylıkla geçebilmektedirler.

Oksidatif stresin insan sağlığı üzerine çok fazla olumsuz etkisi olması sebebiyle zamanla önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Süperoksit iyonu ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) vücutta metabolik yollarla veya dış kaynaklı sebepler ile oluşmaktadır. Aerobik yaşam için en önemli element oksijendir. Birçok toksik kimyasal reaksiyon da yer almaktadır. Reaktif oksijen türleri (ROS), oksijenden türeyen radikal türlerinin en önemli sınıfıdır. Serbest oksijen radikalleri oksidatif fosforilasyon solunum döngüsü sonuncunda salınmaktadır. DNA, lipid, protein ve karbonhidrat gibi örnek vereceğimiz makro moleküllere saldırılmaktadır ve bu saldırı

sonucunda hücrelerde yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, kanserli hücrelerin oluşumu ve büyümesi gibi insan sağlığına zararlı etkilerin oluşumuna yol açmaktadır. Reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller ile reaksiyona giren antioksidanlar, sağlık risklerinin ortadan kaldırma veya vücutta istenmeyen değişikliklerle savaşmanın etkin bir yoludur.

Lipid peroksidasyonu, besinlerin işlenmesi, dağıtılması, depolanması esnasında organoleptik bozunmanın temel sebebidir. Bu sebeple, besinlerin bozunmalara karşı korunması gıda endüstrisi için büyük bir önem taşımaktadır (Baykal G. 2013).

2.5 Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemleri

Her geçen gün antioksidanların önemi biraz daha anlaşılmaktadır ve bu konu üzerinde araştırmalara, çalışmalar artmaktadır. Antioksidan aktivitesi tayin yöntemlerine bakıldığında iki temel prensipten söz edilmektedir. Bunlar; Hidrojen Atom Transferi (HAT) ve Elektron Transferi (ET) analizleridir.

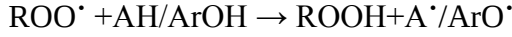
HAT reaksiyon mekanizmasına dayanan analizler;

- Oksijen radikal absorbands kapasitesi (ORAC) analizi,
- Radikal-tutuklama antioksidan parametresi (TRAP) analizidir.

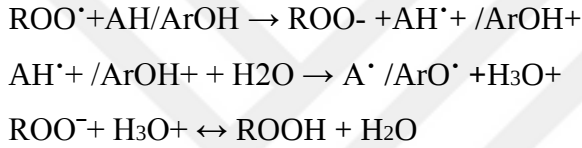
ET reaksiyon mekanizmasına dayanan analizler;

- Ferriktiyosiyanat (FTC) yöntemiyle total antioksidan aktivite tayin yöntemi,
- Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite yöntemi (ABTS/TEAC),
- Kuprik iyon (Cu^{2+}) indirgeme antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC),
- Demir iyonlarını indirgeme antioksidan kapasitesi yöntemi (FRAP),
- DPPH radikal süpürücü aktivite tayini,
- Toplam fenolik madde miktarı analizi için Folin-Ciocalteu yöntemidir (Apak vd.2007).

HAT reaksiyon mekanizmasına dayanan yöntemler antioksidanın H-atomu vererek serbest radikali (genellikle peroksil radikallerini) süpürme yeteneğini ölçmektedir. Antioksidan etki fenolden (Ar-OH) bir hidrojen atomunun (H[•]) peroksil radikaline (ROO[•]) transferi ile gerçekleşmektedir.



ET reaksiyon mekanizmasına dayanan yöntemlerin etki mekanizmasında gerçekleşmekte olan reaksiyonlar ise şu şekildedir:



ET yöntemleri HAT yöntemlerine göre daha yavaş gerçekleşmektedir ve çözücü-pH faktörlerinden etkilenmektedir. Spektrofotometrik ET yöntemleri indirgendiği zaman renk değiştiren oksidanın antioksidan tarafından ne kadar güçlü indirgenebildiğini ölçer. Renk değişimi çalışılan dalga boyunda absorbansın artması ya da azalması ile ifade edilebilir (Baykal G. 2013).

2.6 Ekstraksiyon

Bitkilerde bulunan bileşenlerin analizini gerçekleştirmek için ilk yapılması gereken adım ekstraksiyon işlemidir. Ekstraksiyon işlemi hızlı gerçekleşmelidir, kolay ve ucuz olmalıdır. Ekstraksiyon; katı ya da sıvı fazda bulunan bir ya da birden fazla bileşiğin çözünürlük özellikleri ile diğer sıvı faza geçmesine denmektedir. Ekstraksiyon prensibi, hedef bileşenlerin sıvı fazda çözünmesine dayanmaktadır (Çam, 2009).

Günden güne ekstraksiyon teknikleri geliştirilmekte ve bu yönde çalışmalar da devam etmektedir. En çok kullanılan ekstraksiyon metodu Çözücü ekstraksiyon yöntemidir. Çok kullanılmasına rağmen çok fazla çözücü kullanımı gerekmektedir ve işlem yavaş sürmektedir. Bu sebepten dolayı yeni ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmeye başlanmıştır. Ekstraksiyon verimini artırma, az örnek ve çözücü miktarını esas alma, çevreye daha az zarar vermeye yönelik etkenler gelişimde etkili faktörler olmaktadır (Kaufmann, 2002).

Katı sıvı ekstraksiyonu dört aşama ile gerçekleşmektedir:

- Çözünen maddenin faz değiştirerek çözücü fazına geçmesi
- Ekstrakt fazın mekanik olarak ayrılması
- Çözünmüş olan maddenin ekstrakt faz ile ayrılması
- Rafine edilmiş olan çözücünün uzaklaştırılması

Katı numunelerden istenen bileşiklerin elde edilmesi uygun bir çözücü ile çözülmesi sonucu gerçekleşmektedir. Bu örneklerin ekstraksiyonu çözücünün türüne, sıcaklığa, basınca, zamana bağlıdır. Bu parametrelere ek olarak, analitin iç matristen çözücüye geçmesi yani kütle aktarımını kolaylaştıracak şekilde düşük viskoziteli çözücünün olması, parçacık boyutunun büyük olmasından ziyade küçük boyutlarda olması, karıştırılmalı ekstraksiyon uygulanması ekstraksiyon işlemini kolaylaştırmaktadır (Self., 2005).

Ekstraksiyon işlemi esnasında yüksek sıcaklık uygulanması durumunda, katı fazdaki maddelerden ekstraksiyon işlemini güç hale getiren van der waals bağları, hidrojen bağlarının kırılması ile bileşenlerin çözücü ile teması kolaylaşmaktadır. Bunun yanı sıra, yüksek sıcaklıklarda çalışmak ürünlerdeki bileşenlere zarar da verebilmektedir. Yüksek basınçlarda çalışıldığında çözücünün örnek matriksine daha iyi bir şekilde nüfuz etmesi sağlanabilmektedir (Richter, 1996).

Parçacık boyutunun belli orandan küçük olması durumunda hedef alınan bileşenler dışında da bileşenlerin elde edilmesi istenen ekstrakta karışması mümkündür. Katı örnekten elde edilmesini istediğimiz bileşenlere uygun çözücünün ilave edilmesi sonucunda örnekte bulunan bileşenler çözücünün içerisine doğru nüfuz etmeye başlamaktadır. Daha sonrasında iki faz arasında denge oluşmaktadır ve bundan dolayı da kütle aktarımı yavaşlar, belli bir süre sonrasında da durduğu görülmektedir (Self., 2005).

2.7 Ses Ötesi Dalgalar

2.7.1 Ses ve ses ötesi dalgaların fiziği

Ses dalgaları, ortam içinde yayılan boyuna dalgalardır. Bu boyuna dalgalar herhangi bir ortamda, ortam özelliklerine bağlı hızla yayılmaktadırlar. Parçacık hareketi, dalganın hareketinin yönüne dik bir hareket göstermektedir. Yer değiştirmeler sonucunda ses dalgaları ortaya çıkmaktadır ve denge konumundan itibaren her molekül boyuna yer değiştirmelidir. Bu durum sonucunda sıkışma ve genişleme ile yüksek ve alçak basınçlar oluşmaktadır. Frekanslarına göre, boyuna mekanik dalgalar üç gruba ayrılır (Tiwari B. 2015).

1. İşitilebilir dalgalar: İnsan kulağının duyabilme sınırında olan ses dalgalarına denilmektedir. Bu dalgalar 20 Hz ile 20000 Hz frekansları arasında yer almaktadır.
2. Ses altı dalgalar: İnsan kulağının işitebildiği dalgaların altında olan frekanstaki boyuna dalgalardır.
3. Ses ötesi dalgalar: İnsan kulağının işitebildiği dalgaların üzerinde olan frekanstaki boyuna dalgalardır.

Ses ötesi dalgaların da frekans aralıkları 3'e ayrılmaktadır:

1. Düşük frekans - Yüksek Güçlü Ultras: 20-100 kHz

2. Orta frekans-Düşük Güçlü Ultrases: 300kHz-1mHz
3. Yüksek frekans-Düşük Güçlü Ultrases: 2-10 mHz

2.7.2 Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu

Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu, ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon olarak da bilinmektedir. Bu ekstraksiyon yönteminde, örneğe 20 kHz'in üzerinde frekans uygulanmaktadır. Bu frekansın akustik titreşimleri sıvının içerisinde geçtiğinde kavitasyonlar oluşmaktadır. Ses ötesi dalga enerjisinin sebep olduğu kavitasyon, sıvı ortamda çok sayıda kabarcıklar oluşturur ve katı maddelerin mekanik olarak sarsılmasına sebep olarak parçacıklarda kopmayı sağlar.

Ses dalgaları, katı ve çözücü madde arasında kuvvetli bir temas sağlamaktadır. Ayrıca hem katı hem de sıvı örneklerin hazırlanmasında kullanılmaktadır. Katı halinde bulunan örneklerin özütlenmesi, digesyonu, bulamaç oluşumu işlemlerini desteklemek amacıyla kullanılmaktadır. Sıvı halinde bulunan örneklerde ise ekstraksiyon, emülsiyon haline gelmesini desteklemektedir.

Katı numunelerin ekstraksiyon işlemi su banyosunda ses ötesi dalga destekli dalgaların radyasyonunun uygulanmasıyla ya da prob ile gerçekleşmektedir. Ses ötesi dalga destekli banyo en yaygın kullanılan, en ucuz yöntemdir. Buna ek olarak ise güçlü silindir halindeki problar da gelişmiş, daha etkin bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Yapılacak olan analizlere bağlı olarak ses ötesi dalga destekli banyo ve prob arasında seçim yapılabilmektedir. Eğer araştırmanın amacı katı-sıvı ekstraksiyon gerçekleştirmek ise banyodan ziyade probun kullanılması daha etkili olabilmektedir. Prob kullanıldığında daha kısa sürede daha çok ekstraksiyon verimi elde edilebilmektedir. Bunun yanı sıra, çok sayıda örnek ile analiz yapılacak ise ses ötesi dalga destekli banyo kullanılarak analizlerin gerçekleştirilmesi daha iyi bir seçenektir. Sonikasyon problemleri, işlem esnasında enerji dağılımında homojenliği sağlamaktadır. Fakat daha pahalıdır ve daha kısa ömürlüdürler. Bundan dolayı da daha düşük sayıda örnek işlenebilmektedir.

Ekstraksiyon verimini artırmak için çözücünün türü, sıcaklık, zaman, genlik, katı/çözücü oranı gibi birçok faktörü optimize etmek gerekmektedir. Ekstraksiyon verimini etkileyen diğer parametreler için örnek parçacık boyutu, örnek miktarı, kullanılan cihazın özellikleri de söylenebilir. Son zamanlarda, kullanılan çözücünün miktarını azaltmaya yönelik analizler yapılmakta ve buna yönelik örnek hazırlama işlemlerine giderek önem verilmektedir (Büyüktunçel S. 2012).



3.KAYNAK ARAŞTIRMASI

Zahra vd. (2017) Tunus bölgesinde yetiştirilen narların yenilebilir ve yenilemeyen kısımlarının analizlerini yaparak sonuçlarını karşılaştırmıştır. Nar çiçeği, suyu, kabuğu ve yapraklarını ayrı ayrı metanol ile yaklaşık 24 saat boyunca oda sıcaklığında karıştırmıştır. Nar çekirdeğinden değerli yağ asitlerini elde etmek amacıyla Soxhlet ekstraksiyon metodunu kullanmıştır. Çözücü olarak bu yöntemde n-hekzan tercih edilirken; ekstraksiyon süresi 6 h ve sıcaklık olarak da oda sıcaklığında çalışılması tercih edilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarı, toplam antosiyanin içeriği, toplam karotenoid içeriği, toplam ortodifenol madde miktarı, DPPH ile antioksidan aktivitesi, toplam yağ asidi içeriği ve istatistiksel analizleri incelenmiştir. Toplam fenolik madde miktarına bakılacak olursa; en yüksek nar çiçeğinde çıkmıştır (328.38 mg GAE/g kuru kabuk). Toplam ortodifenol madde miktarına bakıldığında nar kabuğunda en yüksek sonuca ulaşılmıştır (150.25 mg tyrosol/g kuru kabuk). Toplam flavonoid madde miktarına bakıldığında ise yine nar kabuğunda en fazla miktarda bulunmuştur (68.5 mg catechin/g kuru kabuk). Toplam tannin içeriğinde meyve suyu ekstraktı en yüksek sonucu vermiştir (89.63 tannic acid/g kuru kabuk). Toplam antosiyanin içeriğine bakıldığında meyve suyu ekstraktı 518.69 mg/g kabuk ile en yüksek sonucu vermiştir. DPPH ile yapılan antioksidan aktivitesi analizinde her bir ekstraktın E50 değerleri karşılaştırıldığında en yüksek antioksidan aktivitesi 0.34 ve 0.66 mg/ml değerleri ile nar çiçeği ve nar kabuğu olmuştur. Yağ asidi analizine bakıldığında ise %22.15 ile cis-11-octadecanoic asit en baskın bileşen olarak bulunmuştur.

Mansour vd. (2013) nar kabuğunun Soxhlet klasik ekstraksiyonunu araştırmıştır. Çözücü olarak polariteyi artıran su ve metanol tercih edilmiştir. Yaklaşık 4 h ekstraksiyon süresi, 1:10 katı: çözücü oranı ile klasik ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Analiz olarak toplam fenolik madde miktarı (TFM), DPPH ile antioksidan aktivitesi (AA) ve antimikrobiyal analizler, HPLC ile kromatografik analiz ve istatistiksel analizi gerçekleştirilmiştir. Çözücü metanol iken TFM 230.4 mgGAE/g

kuru kabuk, çözücü su iken 59.8 mg GAE/g kuru kabuk olarak bulunmuştur. Metanol ekstraktlarının AA değeri suya göre daha yüksek aktivite göstermektedir. Metanol ekstraktının IC₅₀ değeri 1.9 µg/ml ve su ekstraktlarının IC₅₀ değeri 10.2 µg/ml'dir.

Alcaraz- Marmol vd. (2017) 20 farklı çeşit narın analizini gerçekleştirmiştir. Bu 20 çeşit nar; ekşi (5), tatlı-ekşi (2) ve tatlı (13) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Mineral analizi için kurutulan numuneler 2 h boyunca mikrodalgada 200°C ısıya maruz bırakıldılar. Organik asit ve şeker analizi için meyve suları 20 min boyunca santrifüjlendi. TFM, DPPH ve ABTS ile antioksidan aktivitesi ve istatistiksel analizi gerçekleştirildi. Ham lif %2.85, potasyum 1.19 g/ 100 g kuru kabuk, toplam şeker 15.9 g/100 ml, toplam asit 4.89 g/100 ml, TFM 1791 mg GAE/100 g kuru kabuk, ABTS ile AA 4.24 mmol trolox/kg taze kabuk, DPPH ile AA 7.74 mmol trolox/kg taze meyve olarak bulunmuştur.

Masci vd. (2016) nar kabuklarının klasik ekstraksiyonunu araştırmıştır. Çözücü olarak etanol, metanol, etanol:asidik su (%10 asetik asit) kullanılmıştır. Çözücü: katı oranı 4:1 (ml/g)'dır. Oda sıcaklığında 24 h boyunca belirlenen koşullarda karıştırmalı ekstraksiyon uygulanmıştır. Ayrıca katı: çözücü oranı 1:4 iken ve çözücü etil asetat iken 3 farklı zamanda (3,6,12 h) soxhlet ekstraksiyon yöntemi araştırılmıştır. Toplam fenolik madde miktarı, Toplam flavonoid madde miktarı, Toplam antosiyanin madde miktarı, HPLC ile madde tayini analizleri yapıldı. Ayrıca NBT, ABTS ve DPPH ile antioksidan aktivitesi analizleri de araştırıldı. HPLC ile yapılan analiz sonucunda en baskın bileşen elajik asit çıkmıştır. Karıştırmalı ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların analiz sonuçlarına bakıldığında; en yüksek ekstraksiyon verimi etanol: asit çözücü iken elde edilmiştir ve ekstraksiyon verimi %14.8 olarak bulunmuştur. Soxhlet ekstraksiyon metodunda; çözücü etil asetat iken NBT ile AA değeri 8.530 µg/ml, ABTS ile AA değeri 1.643 µg/ml, DPPH ile AA değeri 2.120 µg/ml olarak bulunmuştur. TFM değeri 3.750 mmol GAE/g kuru kabuk olarak elde edilmiştir. Toplam flavonoid madde miktarı 1.298 mmol rutin/g kuru kabuk, Toplam antosiyanin madde mikatrı 0.476 µmol cynamidin/g kuru kabuk olarak bulunmuştur.

Matin vd. (2017) İran bölgesinde toplanan narların ekstraksiyonunu araştırmışlardır. Parçacık boyutu olarak 0.35- 0.6 mm arasında çalışılmıştır. Ekstraksiyon işlemi inkübatör karıştırıcıda gerçekleştirilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda etanol (%40,50,60), katı:çözücü oranı (10,20,30), ekstraksiyon sıcaklığı (25,45,65°C) ve ekstraksiyon süresi (2,4,6 h) belirlenen parametrelerdir. Toplam fenolik madde miktarı, toplam flavonoid madde miktarı, DPPH ve FRAP antioksidan aktivitesi, LC/MS ve HPLC ile kantitatif analiz gerçekleştirilmiştir. Etanol konsantrasyonu %60, katı:çözücü oranı 1:30 g/ml, ekstraksiyon süresi 6h ve sıcaklık 46°C iken en yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiştir. Bu koşullarda TFM 204.95 mg GAE/ g kuru kabuk, FRAP AA değeri 9240.78 $\mu\text{m Fe(II)/g}$ kabuk, DPPH ile AA değeri %79.12 olarak bulunmuştur.

Zahin vd. (2010) Hindistan bölgesinin narlarını toplayıp karıştırmalı ekstraksiyonunu gerçekleştirmiştir. Ekstraksiyon süresi 5 gün, katı:çözücü oranı 1:5 g/ml'dir. Çözücü olarak petrol eter, benzen, etil asetat, aseton, metanol ve etanol ile çalışılmıştır. DPPH, FRAP ve CUPRAC antioksidan aktivitesi incelenmiştir. Bunlara ek olarak HPLC ve LC-MS ile kantitatif analizi yapılmıştır. Ekstraksiyon verimine bakıldığında çözücülerin sıralamasını baz alarak sırasıyla; 0.2, 0.16, 1.2, 5.2, 10.2, 6.1'dir. En iyi çözücü metanol çıkmıştır. Metanol ekstraktının DPPH ile AA değeri %90.53'tür. TFM değeri ise 5067.7 $\mu\text{mol/mg}$ kuru kabuk olarak bulunmuştur.

Pan vd. (2012) Ekstraksiyon verimi, aktivite ve ekstraksiyon kinetiği nar kabuğundan alınan antioksidanlar, ses ötesi dalga yardımcı sürekli ve darbeli modlarda elde edilen sonuçlar, geleneksel ekstraksiyon (CE) ile karşılaştırıldı. 25 ± 2 C sıcaklık ve su / kabuk oranı 50/1'dir. Çalışılan faktörler güç yoğunluğu ve sürekli ses ötesi dalga yardımcı ekstraksiyon (CUAE) için güç yoğunluğu, darbeli ses ötesi dalga yardımcı ekstraksiyon (PUAE) için atım süresi ve aralığıdır. Sonuçlar, tüm faktörlerin antioksidan verimi önemli ölçüde etkilediğini göstermiştir. CE'ye kıyasla, 59.2 W / cm^2 yoğunluk seviyesinde ve 5 s'lik bir darbe süresi ve 5s dinlenme aralığı ile PUAE, antioksidan verimini % 22 arttırmış ve ekstraksiyon süresini %87 azaltmıştır. Benzer şekilde, CUAE

aynı güç yoğunluğu antioksidan verimi % 24 oranında artırmış ve ekstraksiyon süresini % 90 azaltmıştır. PUAE, CUAE'ye kıyasla % 50 enerji tasarrufu sağladığından antioksidan ekstraksiyon verimi % 14.5 ve DPPH (antioksidan aktivitesi) 8 g /100 g olan ekstraksiyon için PUAE kullanılması önerilmektedir.

Tabaraki vd. (2012) Ultrason destekli ekstraksiyon (UAE), gıda sınıfı bir çözücü olarak etanol-su karışımı kullanılarak nar kabuğundan polifenol ve antioksidanların ekstraksiyonu için uygulanmıştır. Polifenol ve antioksidanların ekstraksiyonu için deneysel koşulları optimize etmek için merkezi bir kompozit tasarım (CCD) ve tepki yüzeyi metodolojisi (RSM) kullanılmıştır. Bağımsız işlem değişkenleri, çözücü türü, çözücü - katı oranı, parçacık boyutu, etanol konsantrasyonu (% v: v), sıcaklık (°C) ve zaman (min) dır. Bağımlı değişkenler, toplam fenolik içerik (TPC), ferrik indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) ve ekstraksiyon verimidir. TPC, 5506.42 ile 8923.24 mg gallikasit eşdeğeri / 100 g kuru ağırlık arasında değişmektedir. FRAP ve DPPH değerleri, 24.30 ila 63.37 mmol Fe²⁺/100 g kuru ağırlık arasında değişmekle birlikte ve %60.12- %83.52 inhibisyon olmuştur. Ekstraksiyon verimleri % 29.78 ila % 45.38 arasında değişmektedir. En uygun koşullar, çözücü olarak % 70 etanol-su karışımı, 60°C sıcaklık ve 30 dakika ekstraksiyon zamanıdır.

Goula vd. (2015) yaptıkları çalışmalarında, nar kabuğundan polifenollerin ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu işleminde; katı/çözücü oranı, sıcaklık, periyod, genlik seviyesi, parçacık boyutu parametrelerini esas almıştır. Çözücü olarak su kullanılmıştır. Ekstraksiyon verimi; 10 dakika ekstraksiyon süresi, 35 °C sıcaklık, 1: 32 katı / çözücü oranı, %40 genlik seviyesi, 0. 2 mm parçacık boyutu, 7/ 6 periyod koşullarında %12.6 (g/ 100 g kuru kabuk) olarak bulunmuştur.

Kaderides vd. (2015) yaptıkları çalışmalarında, nar kabuğundan polifenollerin ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu işleminde; katı/çözücü oranı, sıcaklık, periyod, çözücü türü ve genlik parametrelerini esas almıştır. Kullanılan çözücüler ise; su, metanol, %50 metanol, etanol ve etil asetattır. Çözücünün ekstraksiyon verimine etkisine bakıldığında; en iyi çözücü su olarak bulunmuştur. Ekstraksiyon verimi; 10

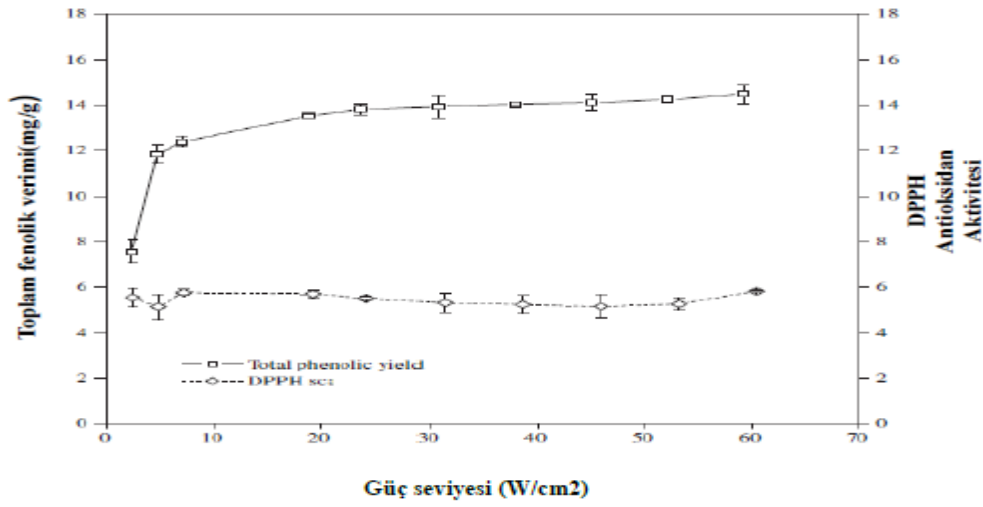
dakika ekstraksiyon süresi, 1: 33 katı/ çözücü oranı, 34. 5° C sıcaklık, 39.8% genlik seviyesi ve 6/ 5 periyod koşullarında %13.85 (g GAE/100 g kuru kabuk) olarak bulunmuştur.

Kazemi vd. (2016) Malas çeşidi nar kabuğundan ses ötesi dalga ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyonun optimizasyonu amaçlanmıştır. Kullanılan cihazın frekansı 24 kHz'dir. SÖD üretici 105 W / cm²'ye kadar farklı yoğunluk seviyelerinde 1.53 cm²'lik bir alana bir prob kullanılmıştır. Çözücü olarak etanol (%70) kullanılmıştır. Ekstraksiyon zamanı (2, 6 ve 10 min); Periyot (%50, %70 ve %90); güç yoğunluğu (53, 79 ve 105 W/cm²) koşullarında deneyler gerçekleştirilmiştir. Toplam fenolik içeriği saptanması için Folin-ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Antioksidan aktivitesi için ise DPPH kullanılmıştır. Malas çeşidinin, daha önce test edilen diğer çeşitlere göre daha düşük gallik asit oranına sahip olduğu ortaya çıktı. Bu çalışmaya dayanılarak, PUAE yüksek ekstraksiyon verimli, güvenli ekstraksiyon süresini ve enerji tüketimini azaltan bir uygulama olarak görülmüştür. Güç yoğunluğu ekstraksiyon verimi üzerinde RSM sayesinde hem olumlu hem olumsuz etkisi görülmüştür.

Zivkovic vd. (2018) RSM kullanarak nar kabuğundan polifenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için ses ötesi dalga destekli ekstraksiyonun optimizasyonu yapılmıştır. Ekstraksiyon zamanı (X1: 10-60 min), etanol konsantrasyonu (X2: %10-90), katı ile çözücü oranı (X3: 1:10-1:50) ve ekstraksiyon sıcaklığının (X4: 20-80 °C)) toplam polifenol içeriğine (TPC) ve ayrıca polifenolik bileşiklerin (elajik asit, gallik asit, punikajin ve punikalın) içeriği üzerine olan etkisi araştırılmıştır. En uygun ekstraksiyon işlemi koşulları şunlardır: ekstrakte etme süresi 25 min, etanol konsantrasyonu %59, katı ile çözücü oranı 1:44 ve ekstraksiyon sıcaklığı 80°C. Deneysel olarak elde edilen değerler, RSM modeli tarafından tahmin edilenler ile uyumludur ve bu da kullanılan modelin uygunluğunu ve ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesinde RSM'nin başarısını belirtmiştir. Merkezi kompozit tasarıma dayanan çok yönlü bir optimizasyon çalışması, toplam polifenollerin, ellajik asit, gallik asit, punikalın ve punikalagin'in yüksek oranda ekstraksiyonu için en uygun koşulların tahmin edilmesini sağlamıştır. Ekstraksiyon süresi 25 min, etanol konsantrasyonu %59, 1:44 oranında katı ile çözücü

oranı ve 80°C'lik ekstraksiyon sıcaklığının, nar kabuğu fenoliklerde optimal olduğu kanıtlanmıştır.

Pan vd. (2012) nar kabuğundan polifenollerin sürekli ve periyotlu ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu ile eldesini ve klasik ekstraksiyon ile karşılaştırmasını araştırmıştır. Belirlenen parametreler ise; ekstraksiyon metodu, ekstraksiyon süresi, güç yoğunluğu ve periyottur.

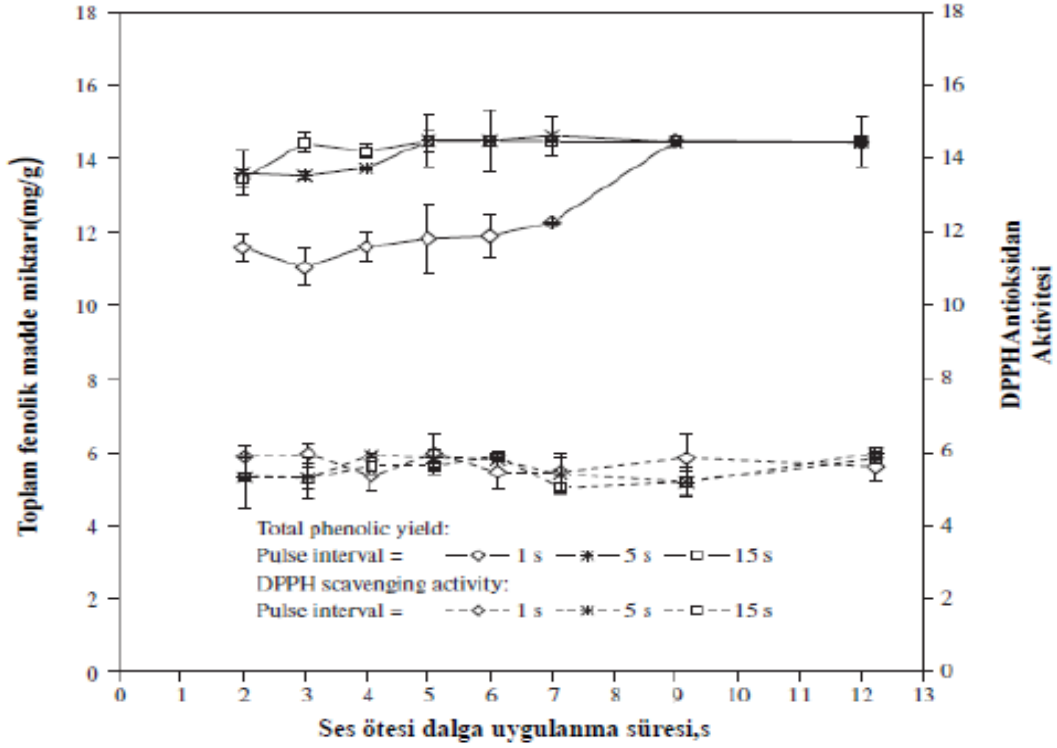


Şekil 3.1 Güç seviyesinin PSÖD ekstraksiyon verimi ve antioksidan aktivitesine etkisi (Pan, 2012)

Güç seviyesinin periyotlu ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon verimine ve antioksidan aktivitesine etkisi Şekil 3.1' de verilmektedir. Güç seviyesi 2.4'ten 7.1 W/cm²'ye yükseldiğinde toplam fenolik madde verimi hızla %7.6'dan %12.4'e yükselmektedir. Ekstraksiyon süresi 60 min, %50 periyod ve güç yoğunluğu 59.2 W/cm² iken maksimum ekstraksiyon verimi elde edilmiştir ve ekstraksiyon verimi %14.5 olarak bulunmuştur.

Ses ötesi dalganın uygulanma süresinin antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde ekstraksiyon verimine etkisi şekil 3.2'de verilmiştir. Güç yoğunluğu 59.2 W/cm² ve atış tekrarı 360 iken; periyod 9/1, 5/5 ve 7/3 açık/kapalılığında değerlendirilmiştir. Atış

tekrarına bağlı olarak ekstraksiyon süresi ise sırasıyla 60 min ve 108 min olarak bulunmuştur.



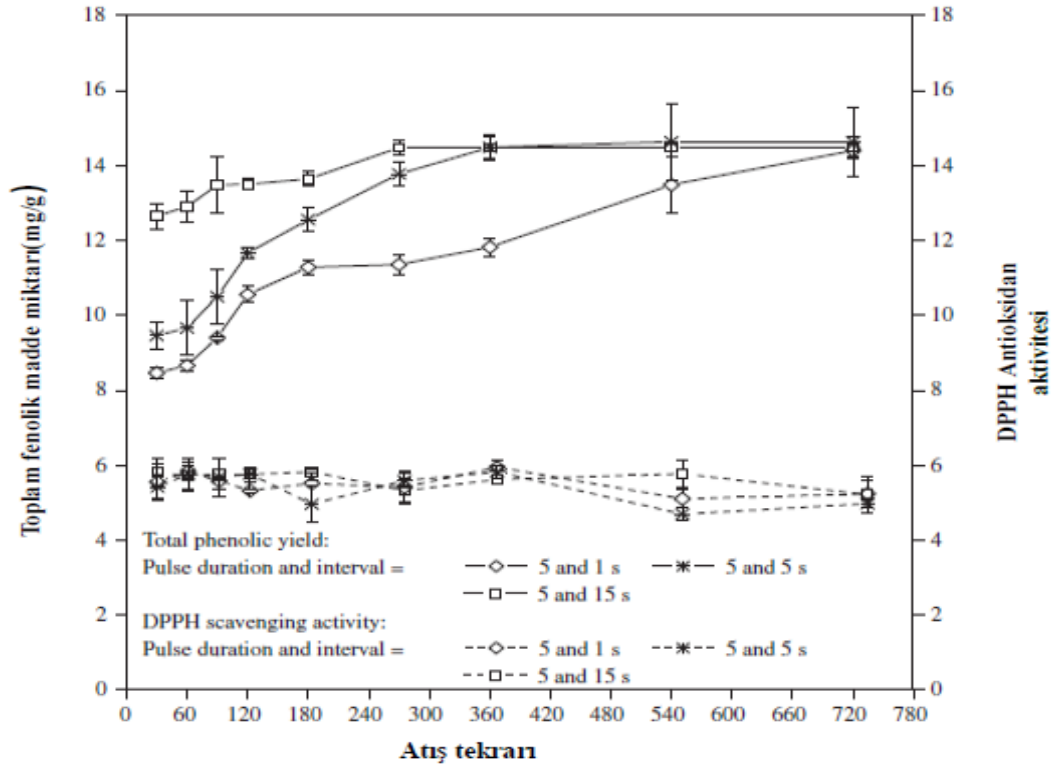
Şekil 3.2 Ses ötesi dalga uygulama süresinin ekstraksiyon süresi ve antioksidan aktivitesine etkisi (Pan, 2012)

Her üç parametrede de ekstraksiyon verimi sırasıyla %14.4, %14.4 ve %14.5 olarak elde edilmiştir. Ekstraksiyon verimi değerleri birbirine çok yakın olduğu için ekstraksiyon süresi daha az olduğunda enerjiden tasarruf edileceği sonucuna varılmıştır.

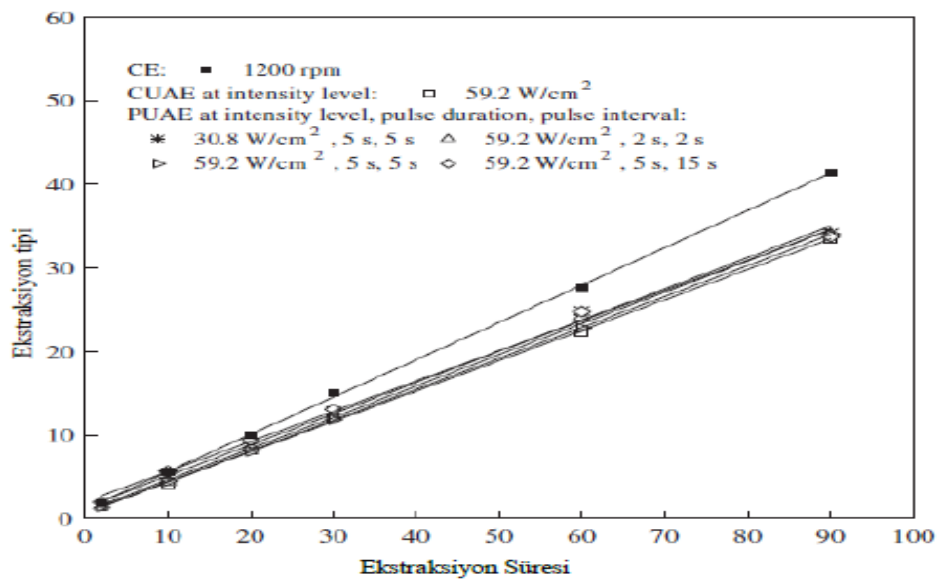
Atış tekrarının antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde verimine etkisi şekil 3.3’de verilmiştir. Atış tekrarı 270’e ulaştıktan sonra ekstraksiyon verimin ve antioksidan aktivitesinin artışında çok önemli bir artış olmadığı görülmektedir.

Şekil 3.4’ de ekstraksiyon süresinin klasik, sürekli ve periyotlu ekstraksiyon metotlarına etkileri verilmiştir. Ekstraksiyon süresi 60 min, güç yoğunluğu 59.2 W/cm² iken her üç ekstraksiyon tipinde de en yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiştir. Ekstraksiyon

verimler sırasıyla; %14.4, %14.4 ve %14.5 olarak bulunmuştur. En iyi ekstraksiyon tipinin sürekli ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 3.3 Atış tekrarının TPM ve antioksidan aktivitesine etkisi (Pan, 2012)

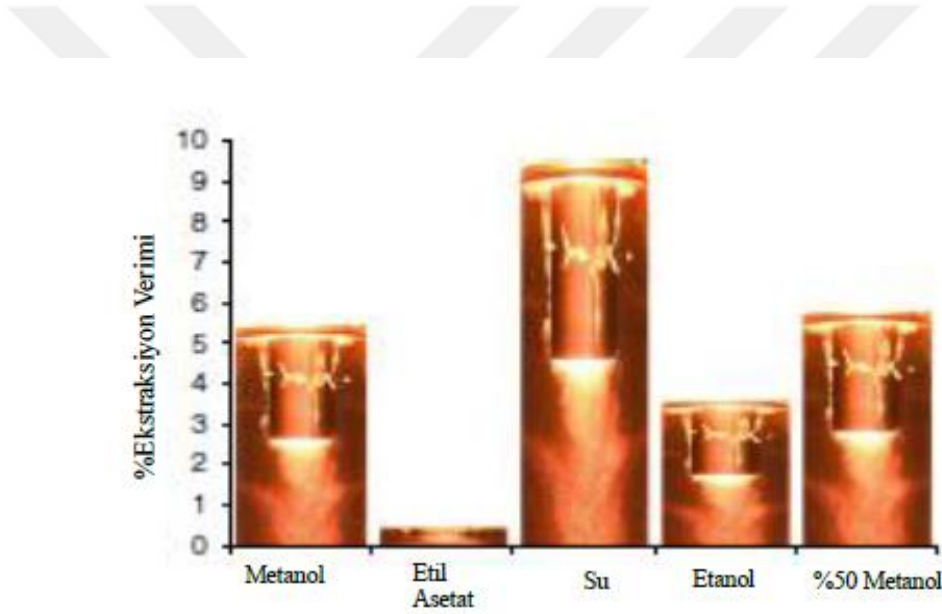


Şekil 3.4 Ekstraksiyon yöntemlerinin karşılaştırılması (Pan, 2012)

Kaderides vd. (2015) nar kabuğundan polifenollerin ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu ile eldesini ve elde edilen ekstraktların enkapsülasyonunu araştırmıştır.

Ekstraksiyon sürecinde belirlediği parametreler:

- Katı/Sıvı oranı
- Genlik seviyesi
- Çözücü tipi
- Periyod
- Sıcaklık

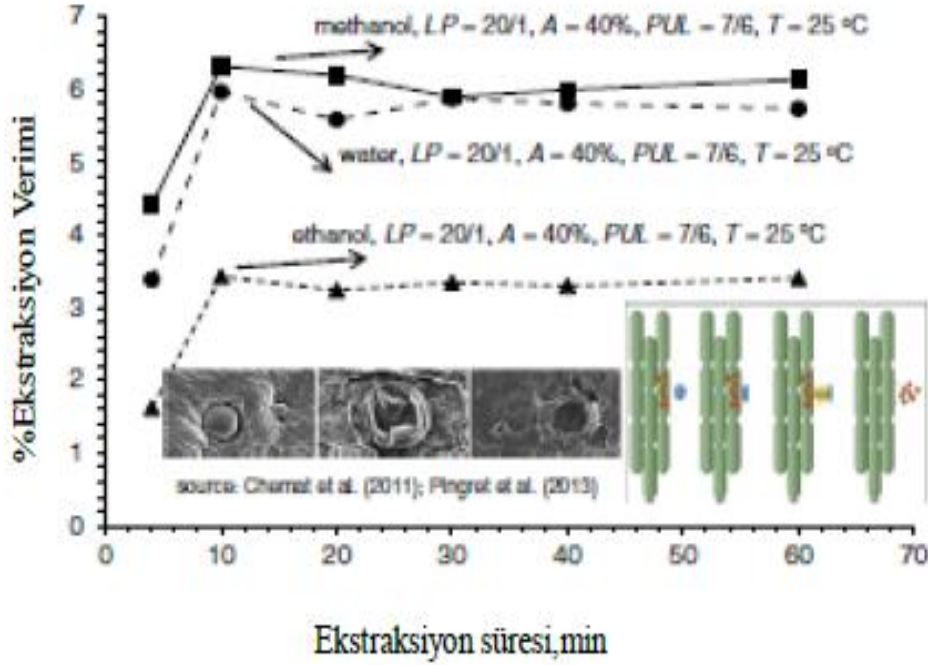


Şekil 3.5 Çözücü türünün ekstraksiyon verimine etkisi (Kaderides, 2015)

Çözücü türünün ekstraksiyon verimine etkisini incelemek için ise çözücü olarak su, metanol, etanol, etil asetat, %50 metanol-su kullanılmıştır. Çözücü su iken ekstraksiyon verimi en yüksek bulunmuştur.

Ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimine etkisi Şekil 3.6'da incelenmektedir. Tüm parametreler sabit tutulup, farklı çözücülerde ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon

verimine etkisine bakıldığında; her üç çözücüde de ekstraksiyon süresi 10 min iken maksimum ekstraksiyon verimi elde edilmiştir.

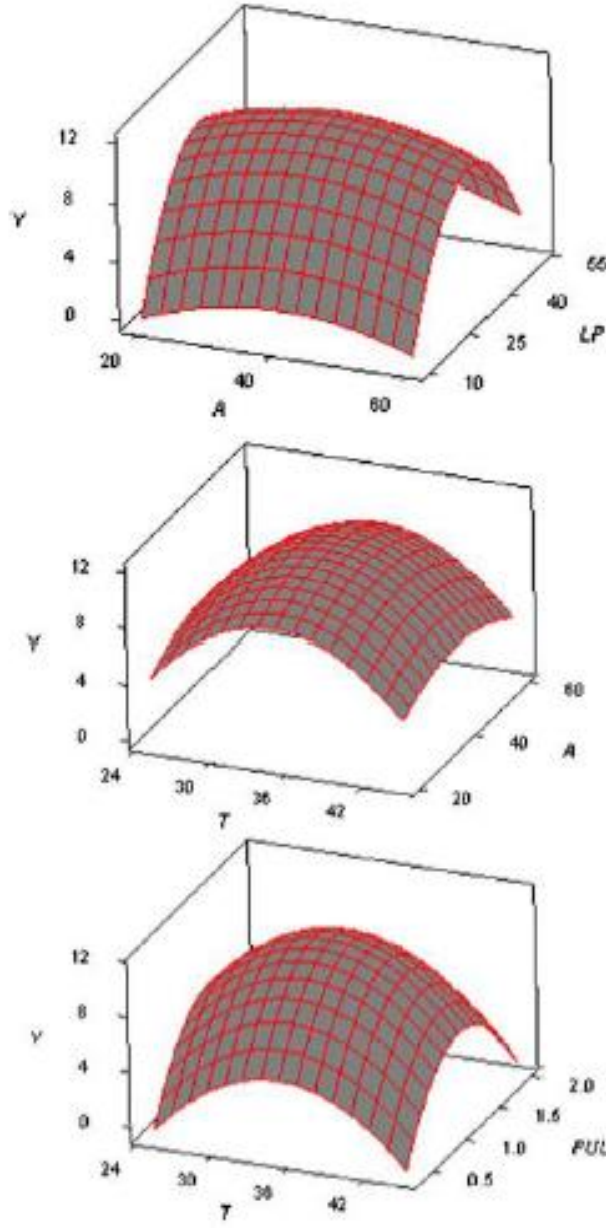


Şekil 3.6 Çözücü türünün ekstraksiyon verimi üzerine etkisi (Kaderides, 2015)

Elde edilen ekstraktların enkapsülasyonu için püskürtmeli kurutma yöntemi tercih edilmiştir. Enkapsülasyon süreci için belirlenen parametreler ise; kurutan havanın akış hızı, kullanılan duvar malzemesi ve püskürtmeli kurutucuda havanın giriş sıcaklığıdır.

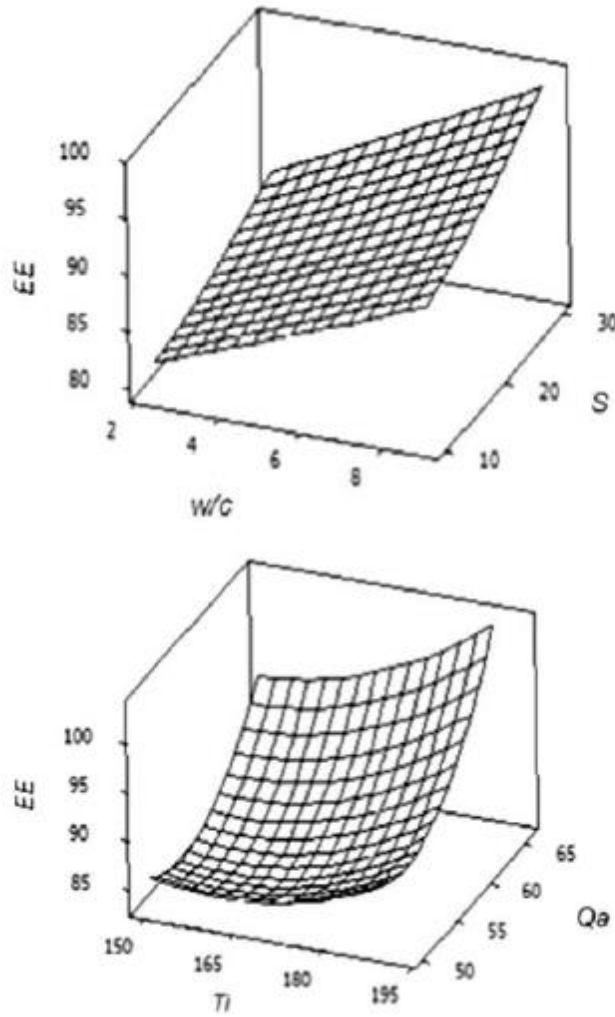
Kurutan havanın akış hızının ve havanın giriş sıcaklığının enkapsülasyon verimine etkisine bakıldığında her iki parametrenin de artması ile verimin arttığı Şekil 3.8’de görülmektedir.

Duvar malzemesinin enkapsülasyon verimine etkisini araştırmak için kullanılan duvar malzemeleri; maltodekstrin, maltodekstrin/peynir altı suyu izolatu, arap zıncı, yağsız süttozu, maltodekstrin/ yağsız süttozudur. En iyi duvar malzemesi maltodekstrin/peynir altı suyu izolatu olarak bulunmuştur ve enkapsülasyon etkinliği %98.64 sonucuna ulaşılmıştır.



Şekil 3.7 Sıcaklığın, genliğin, açık/kapalı süresinin, çözücü/katı oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisi (Kaderides, 2015)

Çözücü olarak su kullanıldığında sıcaklığın, genlik seviyesinin, periyodun ve çözücü/katı oranının ekstraksiyon verimine etkisine bakıldığında; Genlik seviyesi %39.8, sıcaklık 38°C, periyod 1.2/1 ve katı/çözücü oranı 1/32 optimum koşullar olarak seçilmiştir. Bu optimum koşullarda ekstraksiyon verimi %9 olarak bulunmuştur.

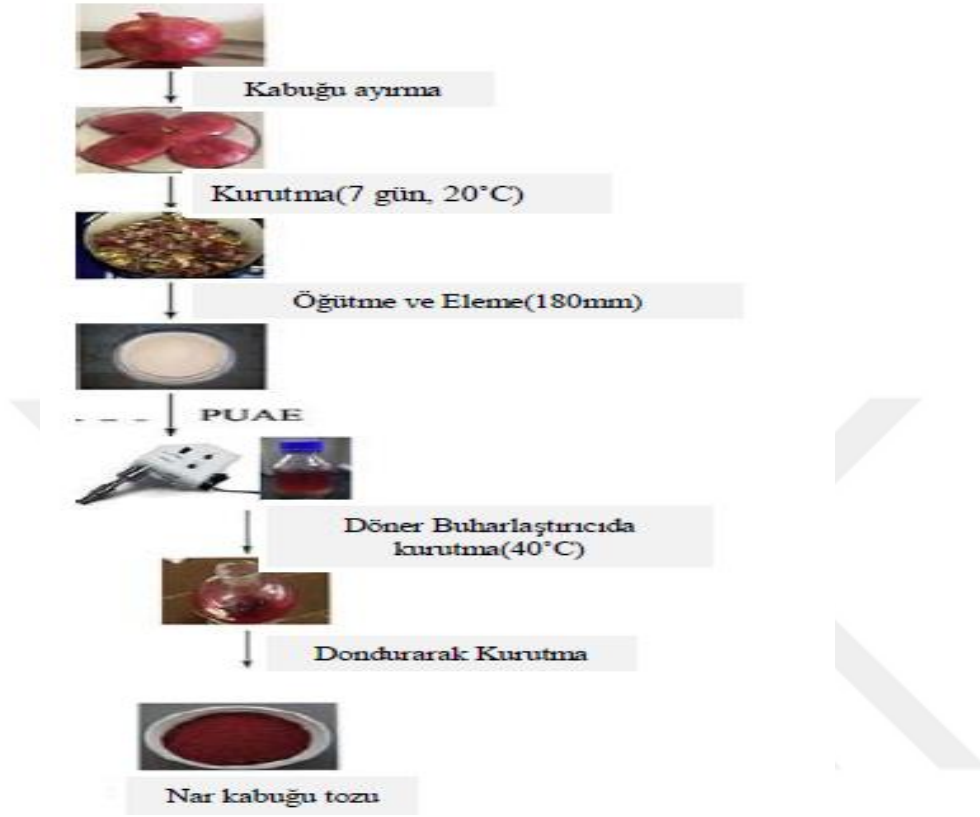


Şekil 3.8 Kurutan havanın akış sıcaklığı ve giriş hava sıcaklığının ekstraksiyon verimine etkisi (Kaderides, 2015)

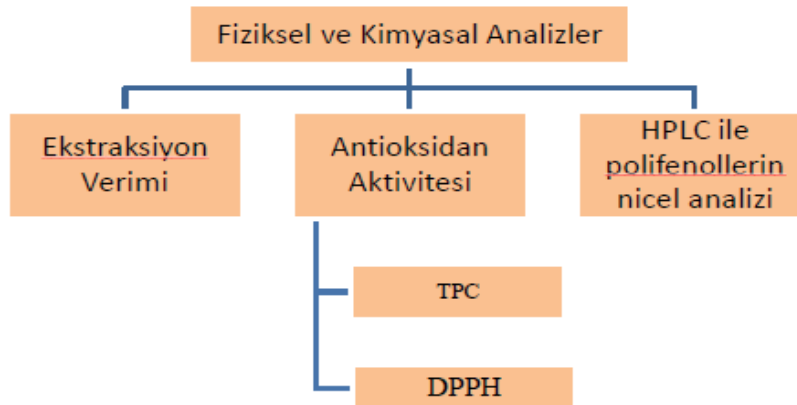
Kazemi vd. (2016) ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu yöntemi ile nar kabuğundan polifenollerin eldesini araştırmıştır.

Yerel marketlerden alınan nar kabukları tanelerinden ayrılıp, daha sonra yıkanıp yedi gün boyunca 20°C’ de kurutulmuştur. Kurutulan nar kabukları öğütülüp elendikten sonra %70 etanol- su ile periyotlu ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra, çözücünün uzaklaştırılması için

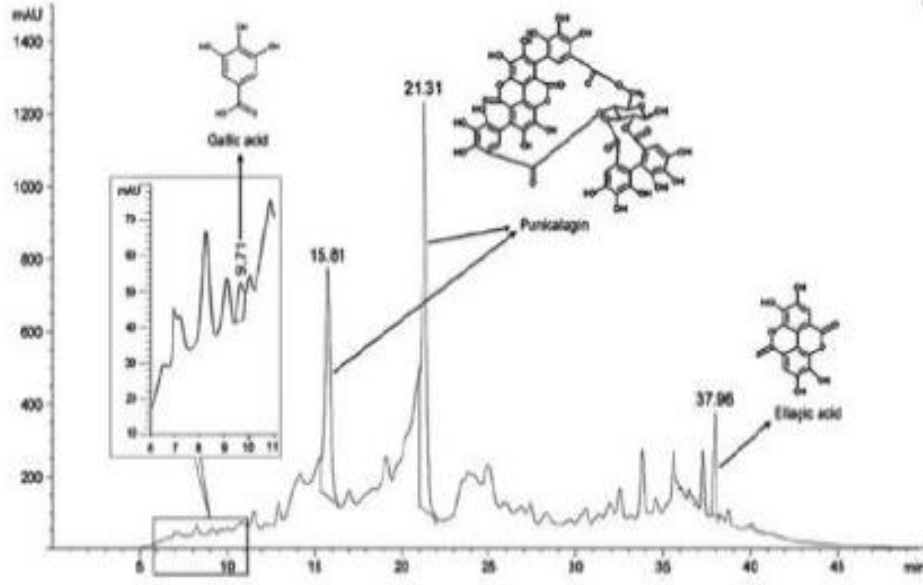
çözelti 40°C’ de döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktlara dondurarak kurutma işlemi uygulanmıştır ve analize hazır hale getirilmiştir.



Şekil 3.9 SÖD ekstraksiyon süreci (Kazemi, 2016)



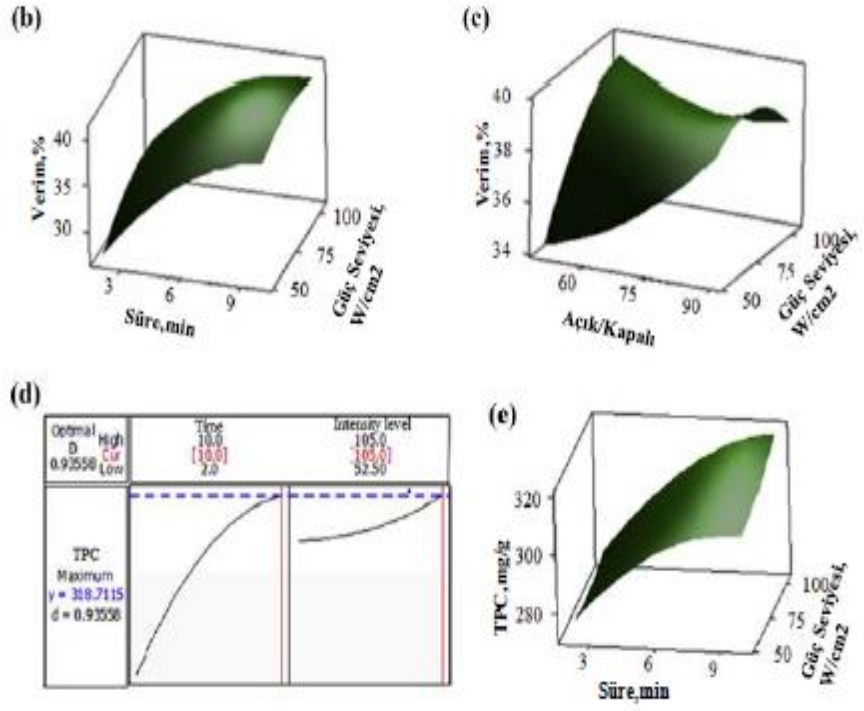
Şekil 3.10 Gerçekleştirilen fiziksel ve kimyasal analizler (Kazemi, 2016)



Şekil 3. 11 Nar kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin HPLC ile kromatografik analizi (Kazemi, 2016)

Nar kabuğunda en fazla bulunan polifenolik bileşenin analizi için HPLC kromatografik yöntemi kullanılmıştır. Yapılan analizler sonucunda nar kabuğunda bulunan en baskın polifenolik bileşen punikalagin çıkmıştır.

Toplam fenolik madde miktarı ve ekstraksiyon verimine güç seviyesinin, periyodun ve ekstraksiyon süresinin etkileri Şekil 3.12’de verilmiştir. Güç seviyesinin ekstraksiyon verimine etkisine bakıldığında; 64 W/cm^2 ‘ye kadar gücün artmasıyla ekstraksiyon verimi artış gösterirken 64 W/cm^2 ’ den sonra ekstraksiyon veriminde düşüş görülmektedir. Ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimine ve toplam fenolik madde miktarına etkisine bakıldığında; ekstraksiyon süresi 10 min iken en yüksek ekstraksiyon verimi ve TFM elde edilmiştir. Çözücü %70 etanol-su, 10 min ekstraksiyon süresi, 64 W/cm^2 güç seviyesi, 5/5 açık kapalı koşullarında ekstraksiyon verimi %40, toplam fenolik madde miktarı 168.55 mg GAE/g kuru kabuk olarak bulunmuştur.



Şekil 3.12 Güç seviyesi, sürenin ve açık/kapalının TFM'ye etkisi (Kazemi, 2016)

4.MATERYAL ve YÖNTEM

4.1 Materyaller

4.1.1 Bitkisel materyal

DeneYleri gerçekleştirmek üzere Hatay bölgesinden “Katırbaşı” cinsi yaklaşık 100 kg nar satın alınmıştır. Narların kabuk ve çekirdekleri ayrılarak temizlenmiştir. Oda sıcaklığında yaklaşık bir hafta gölgede kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutma işlemi sonrasında kabuklar öğütölüp, elenmiştir.

4.1.2 Kullanılan kimyasallar

DeneYler boyunca aşağıdaki kimyasallar ve özölçölçer kullanılmıştır.

- Saf su
- Metanol: Molar Chemicals Kft. tarafından tedarik edildi. (Saflık: %99.99)
- Etanol: Molar Chemicals Kft. tarafından tedarik edildi. (Saflık: %99.99)
- Etanol: Molar Chemicals Kft. tarafından tedarik edildi. (Saflık: %96)
- Etil asetat: Molar Chemicals Kft. tarafından tedarik edildi. (Saflık: %99.98)
- *n*-pentane: Molar Chemicals Kft. tarafından tedarik edildi. (Saflık: %98.03)
- Aseton: Molar Chemicals Kft. tarafından tedarik edildi. (Saflık: %99.95)
- 2-Propanol: Molar Chemicals Kft. tarafından tedarik edildi. (Saflık: %99.92)
- DPPH, serbest radikal
- Sodyum Karbonat: Sigma Aldrich Co. tarafından tedarik edildi.
- Folin Ciocalteu’s phenol reagent Merck Kft. tarafından tedarik edildi.
- Tert-butyl-hydroxyanisole (BHA)
- 2,6-di-tert-butyl-p-hydroxytoluene (BHT)

4.2 Yöntemler

4.2.1 Nem tayini analizi

Nem gravimetrik yöntemle göre belirlenmiştir.

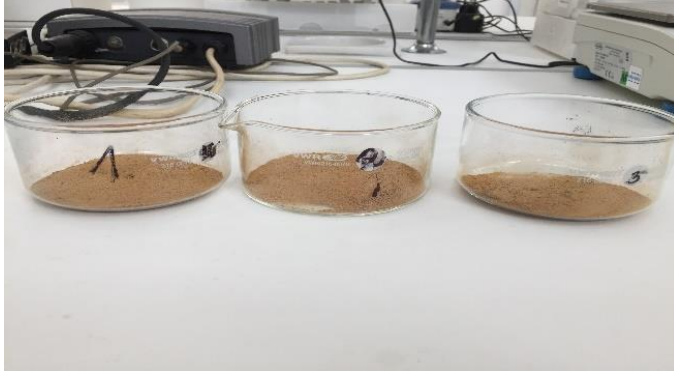
- Öğütölmüş bitki materyali bir Petri camlarına konularak ağırlığı ölçölmüştür (M₁). Deney üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.
- Numuneler 105 °C sıcaklığa ayarlanmış etüve konulmuştur ve sabit kütleye gelene kadar en az 24 saat bekletilmiştir.
- Petri camları fırından çıkarılmıştır ve oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır.
- Petri camları soğutulduktan sonra tekrardan tartılmıştır (M₂).

Nemin hesaplanması bir sonraki denklemi takip eder:

$$\%Nem = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100$$

M₁, bitkinin kurutulmadan önceki ağırlığıdır. M₂, kuru (nemsiz) malzemenin ağırlığı.

Nem içeriğı bitki materyalleri için hesaplanmıştır.



Şekil 4.1 Nem tayini için hazırlanan numuneler

4.2.2 Ekstraksiyon yöntemleri

4.2.2.1 Soxhlet ekstraksiyon yöntemi

Soxhlet ekstraktör ünitesi, katı bir malzemedен çözünebilir bileşikler elde etmek için kullanılan bir yöntem olarak tarif edilebilmektedir. Laboratuvar ölçeğinde, farklı çözücülerle katıların ekstraksiyonu için uygun özel bir Soxhlet cihazı kullanılmaktadır. Bir Soxhlet aparatı, katı bir malzemedен istenen bileşiklerin, uygulanan çözücünün çözünürlük gücüne göre ekstrakte edilebildiği bir laboratuvar cihazıdır. Ünite kurulumu (Gonzalez, 2004):

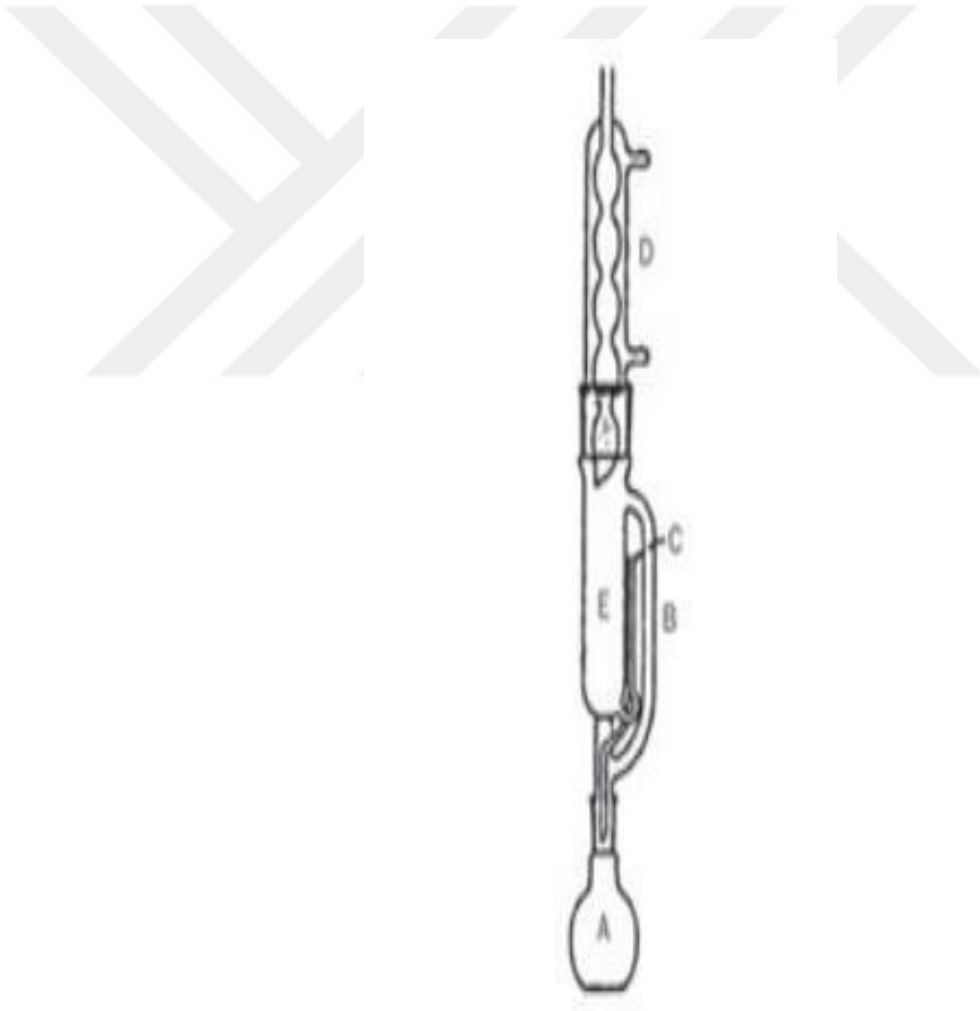
Isıtıcı: Çözücüyü kaynatmak için gerekli ısıya katkıda bulunan dirençli silikon yağı ile dolu bir kaptır.

Cam yuvarlak tabanlı şişe (A): Çözücüyü içeren camdır ve silikon yağ banyosuna daldırılır.

Kondansatör (C): Buhar olarak gelen ve sıvı bir faza düşen çözücünün yoğunlaşmasını indükleyen su kullanan ceketli bir kap

Kağıt kartuş: Bitki materyalini tutan kağıttan yapılmış filtre.

Sokslet cihazı (D): Kartuş yerleştirildiği ve yoğunlaştırılmış çözücünün düştüğü cam, bazı bileşiklerin bitki materyalinden çıkarılması.



Şekil 4.2 Soxhlet ekstraksiyon aparatı (Handa, 2008)

Proses

- Kartuş öğütölmüş malzeme ile doldurulmuştur ve her biri 20 g ağırlığındadır.
- Kartuştan partiköllerin çıkmasını önlemek için zemin malzemesinin üstüne pamuk yünü konulmuştur.
- Pamuk da yerleştirildikten sonra kartuş cam Soxhlet aparatına yerleştirilmiştir.
- Ekstraksiyona bağılı olarak, yuvarlak tabanlı şişeye 100 ml farklı çözücüler dökölmüştür.
- Soxhlet ekstraksiyon ünitesi dikkatlice monte edilmiştir.
- Soğutma için su buharı açılmıştır.
- Isıtıcı açılmıştır. Kullanılan çözücünün kaynama noktasının üzerinde sıcaklık ayarlanmıştır ve ekstraksiyon işlemi süresince yağ banyosunun sıcaklığı kontrol edilmiştir.

Çözücü kaynama noktasına ulaştığında, buhar fazına dönüşür. Buhar fazı Soxhlet tüpünde yükselerek kondensere gelir. Burada soğutma suyu çözücüü soğutmaktadır ve materyal ile doldurulmuş kartuşa damlayan sıvı bir faza dönüşür. Çözücü, çözünür parçacıkları alarak filtreyi geçer. Kartuş neredeyse tamamen dolduğunda, sifon ile boşaltılır. Çözücü şişeye geri döner ve burada tekrar buharlaşır. Bu döngü, yoğunlaştırılmış çözücü berraklaşana kadar saatler ve günler boyunca birçok kez tekrarlanır.



Şekil 4.3 Ekstraksiyon öncesi hazırlanan numuneler



Şekil 4.4 Soxhlet ekstraksiyon yönteminin aşamaları

Ekstraksiyon işleminden sonra; çözücü ekstrakt çözücü içermeyene kadar döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmıştır. Daha sonra kuru ekstrakt geri tartılmıştır ve ekstraksiyon verimi hesaplanmıştır. Üç tekrarlı ölçüm gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.5 Döner buharlaştırıcı sistemi

4.2.2.2 Karıştırılmalı tank ekstraksiyon yöntemi

Karıştırılmalı tank ekstraksiyonu sırasında (Şekil 4.6), hammadde ve çözücü, belirlenen bir karıştırma hızında, katlanabilir bir bıçak karıştırıcısı ile sürekli olarak karıştırılmaktadır. Seçilen bir sıcaklıkta ve ekstraksiyon süresinde doğrudan temas halindedir. Farklı ekstraksiyon sürelerinde ve farklı sıcaklıklarda uygulanabilmektedir. Ayrıca seçilen farklı çözücüler ve çözücülerin karışımları da uygulanabilmektedir. Katı / çözücü oranı da ayarlanabilmektedir ve optimize edilebilmektedir. Yapılan çalışmada:

- Yaklaşık 50 g bitki materyali, 250 ml çözücü ile bir cam yuvarlak tabanlı şişeye konulmuştur. Bu çalışmada, EtOH (% 96), % 70 EtOH: H₂O; % 50 EtOH: H₂O, % 30 EtOH: H₂O ve su (% 100) kullanılmıştır.
- Bu karışımlar, farklı sıcaklıklarda (20, 40, 60, 80°C) bir su banyosunda 3 saat boyunca 450 rpm'de çalkalamaya tabi tutulmuştur. Ekstraksiyon bittikten sonra; karışım ekstraksiyon kalıntısını ortadan kaldırmak için Buchner vakum filtrasyonu kullanılarak filtre edilmiştir. Daha sonra çözücü bir döner buharlaştırıcı ile uzaklaştırılmıştır. Ekstrakt kütlesi tartılmıştır ve ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır.

Ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildikten sonra, vakumda süzme işlemi ile çözeltinin süzme işlemi gerçekleştirilmektedir.

Süzme işlemi sonucu elde edilen çözelti döner buharlaştırıcıya konulur. Kullanılan çözücünün kaynama noktası esas alınarak daha düşük sıcaklıkta cihaz çalıştırılır ve çözücünün çözeltiden uzaklaştırılması sağlanır. Uzaklaştırma işlemi sonucunda balonda ekstraktlar kalır ve ekstraksiyon verimi ölçüm hesaplaması için hazır hale getirilir.



Şekil 4.6 Karıştırılmalı tank ekstraksiyonu



Şekil 4.7 Vakumda süzme düzeneği

4.2.2.3 Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yöntemi

Ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon sırasında (Şekil 4.8) hammadde ve çözücü, seçilen bir sıcaklıkta ekstraksiyon süresi için, sürekli veya periyotlu ses ötesi dalga ile ayarlanmış bir karıştırma hızında doğrudan temas halindedir. Farklı ekstraksiyon sürelerinde ve farklı sıcaklıklarda, farklı çözücü ve çözücü karışımları uygulanabilmektedir. Katı / çözücü oranı da ayarlanabilmektedir. Cihazın frekansı 30kHz'dir.

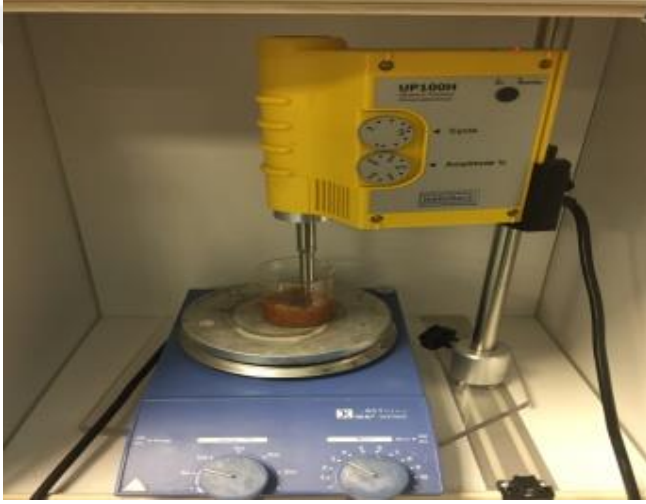
Yapılan çalışmada:

- Yaklaşık 5 g bitki materyali, 25 ml çözücü içeren bir cam behere konuldu. Bu çalışmada, çözücü olarak EtOH: H₂O (% 70), Aseton ve Saf su kullanılmıştır.
- Araştırmada sıcaklık 20 °C, ekstraksiyon süresi 10 min, genlik %40 ve darbenin uygulama oranı, açık/kapalı, 6/4 koşullarında çalışılmıştır.
- Ekstraksiyon bittikten sonra; karışım ekstraksiyon kalıntısını ortadan kaldırmak için Buchner vakum filtrasyonu kullanılarak filtre edilmiştir ve daha sonra çözücü bir döner buharlaştırıcı ile buharlaştırılarak uzaklaşması sağlanmıştır. Elde edilen ekstrakt kütlesi tartılmıştır ve ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır.

Bu yönteme ek olarak ses ötesi dalganın etkisine bakmak amacıyla ses ötesi dalga destekli banyo ve 20 kHz frekansta problu homojinezer de kullanılmıştır. Yapılan bu çalışmada her iki yöntem için de;

- Çözücü olarak %70 EtOH kullanılmıştır.

- Ekstraksiyon süresi olarak 10 min, 30 min ve 60 min seçilmiştir ve etkisi araştırılmıştır.
- Sıcaklığın etkisine bakmak amacıyla tercih edilen parametreler 20, 40 ve 60°C'dir.
- Ekstraksiyon bittikten sonra; karışım ekstraksiyon kalıntısını ortadan kaldırmak için Buchner vakum filtrasyonu kullanılarak filtre edilmiştir ve daha sonra çözücü bir döner buharlaştırıcı ile buharlaştırılarak uzaklaşması sağlanmıştır. Elde edilen ekstrakt kütlesi tartılmıştır ve ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır.



Şekil 4.8 Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon cihazı (30 kHz)

4.3 Kimyasal Analizler

4.3.1 Antioksidan testi

Antioksidanları ölçmek için kullanılan en popüler yöntemlerden biri DPPH yöntemidir. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) molekülü, yedek elektronun molekül üzerinde delokalizasyonu nedeniyle kararlı bir serbest radikal olarak karakterize edilir.

Delokalizasyon ayrıca yaklaşık 520 nm'de merkezlenmiş etanol çözeltisindeki bir emme bandı ile karakterize edilen derin menekşe rengine yol açar. Bir DPPH çözeltisi, bir hidrojen atomu bağışlayabilen bir madde ile karıştırıldığında, bu mor rengin kaybı ile azaltılmış forma neden olur. Yöntemin bir kolorimetrik titrasyon olduğu açıktır, ancak genel reaksiyonun yavaşlığı (karışımlar absorbans okuması yapılmadan önce 30 dakika bekletilmek zorundadır) deney prosedürünü zorlaştırmaktadır (Molyneux., 2004).

Prosedür:

- Spektrofotometre 517 nm dalga boyuna ayarlanır ve saf metanol kullanılır
- DPPH solüsyonu 0.4 mg / ml derişimde metanol içinde hazırlanır.
- Bu çözeltinin bir kısmı, 0.7-0.9 arasında bir absorbansa ulaşmak için başka bir balon jodede metanol ile seyreltilir.
- MeOH ekstraktında 0.5 mg / ml derişimde ekstrakt numune çözeltisi hazırlanır.
- Her küvette 2,5 ml seyreltilmiş DPPH çözeltisi ve artan hacimde numune çözeltisi (0-500 µl) eklenir.
- Her küvet vorteks içinde homojenize edilmeli, folyo ile kapatılmalı ve oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta tutulmalıdır.
- Spektrofotometrede her örneğin absorbansı ölçülür.
- Her bir ekstrakt için her derişim için üç paralel ölçüm gerçekleştirilmiştir.
- Her örnek için antioksidan aktivitesini belirlemek için Denklem (1) i kullanmak gerekir.

$$\% \text{ Antioksidan aktivitesi} = (A_0 - A_1 / A_0) * 100 \dots\dots\dots(1)$$

A_0 , ekstre örneği olmadan seyreltilmiş çözeltinin absorbansdır (kontrol DPPH çözeltisi). A_1 , ekstrakt çözeltisinin absorbansdır. İlgilenilen veriler, IC50 değeri olarak adlandırılan "ekstraksiyon verimli derişimdir" ve DPPH aktivitesinin %50 kaybına

neden olan substrat derişimi olarak tanımlanır. IC50 değeri ne kadar düşükse, antioksidan aktivitesi de o kadar yüksek olması anlamındadır (Molyneux., 2004).



Şekil 4.9 Analiz hazır hale getirilen çözeltiler

4.3.2 Toplam fenolik madde miktarı

Toplam polifenol içeriği, Macar Farmakopesinde açıklanan bir yöntem olan referans standart olarak gallik asit kullanılarak 760 nm'de spektrofotometrik bir yöntemle ölçüldü. Bu yöntem, Folin reaktifi ile redoks reaksiyonu ile mavi renkli ürünlerin oluşumuna dayanmaktadır. Polifenoller, sarı renkli Folin-Ciocalteu reaktifini baz pH'ta düşürür, bu nedenle 760 nm'de maksimum absorbansa sahip mavi renkli Mo- ve W-oksitler üretilir. Yöntem, ekstraktların polifenol içeriğine eşdeğer olan mavi renkli komplekslerin kantitatif ölçümüne dayanmaktadır. Referans malzeme olarak: gallik asit kullanılır ve hesaplama için ilk olarak eğri bir gallik asit kalibrasyonu ölçülür.

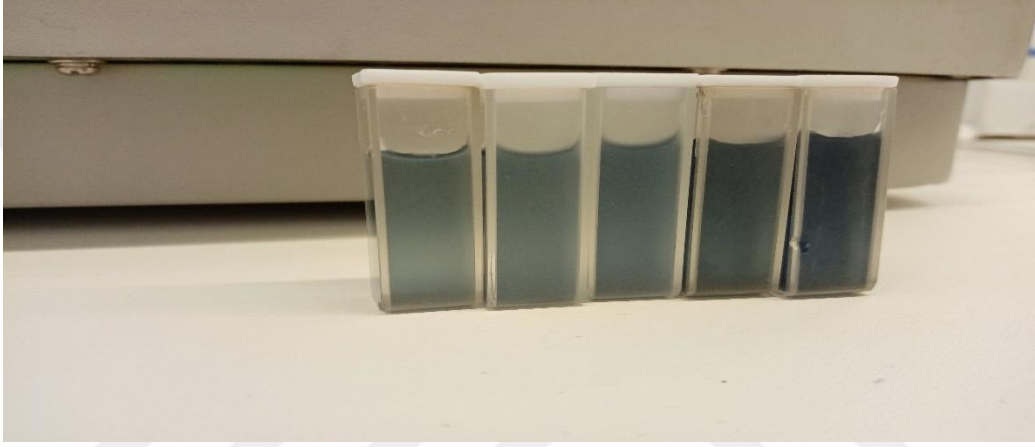
Gallik asit kalibrasyonu aşamaları:

- 20 ml'lik bir balon jodede 40 mg gallik asit tartılır, işarete kadar damıtılmış su ile doldurulur. Üç kez tekrarlanır.
- İlk çözeltiden, 1 ml'sini ve 1.6 ml'sini ayrı ayrı 20 ml'lik balon jojelere alınır ve üzerine %96 EtOH eklenir.
- İkinci çözeltiden ise 2.2. ve 2.8 ml alınır ve 20 ml'lik jojelere aktarılır.
- Üçüncü çözeltiden ise 3.4 ml alınır ve jojeye aktarılır. Her bir çözelti %96 EtOH ile 20 ml'ye tamamlanır.
- 5 şişenin her birinden, bu gallik asit çözeltisinden 800 µl alınır ve 400 µl Folin-Ciocalteu reaktifi, 4 ml damıtılmış su ve 14,8 ml Na₂CO₃ (29 g / l) ile 20 ml koyu renkli bir balon jodede karıştırılır.
- Vortex yardımıyla homojen hale getirilir.
- Çözeltiler oda sıcaklığında 30 min boyunca analize hazır hale gelmesi için bekletilir.
- 30 min sonrasında 5 çözeltisinde 760 nm de absorbans değerleri not edilir.
- Elde edilen eğim gallik asit konsantrasyonu ile absorbansı grafiksel olarak temsil eder.

Toplam Fenolik Madde Miktarı:

- 0.5- 2.5 mg/ml konsantrasyonda ekstrakt ve %96 EtOH içerikli bir çözelti hazırlanır.
- Bu çözelti ekstrakt %96 EtOH içerisinde tamamen çözünene kadar ses ötesi dalga destekli banyoda karıştırılır.
- Koyu renkli şişe içine konulur.
- 800 µl çözeltiden alınır ve 400 µl Folin-Ciocalteu reaktifi, 4 ml damıtılmış su ve 14,8 ml Na₂CO₃ (29 g / l) ile 20 ml koyu renkli bir balon jodede karıştırılır.
- Her bir ekstrakt için 3 tekrarlı ölçüm yapılır.
- Vortex yardımıyla homojen hale getirilir.

- Çözeltiler oda sıcaklığında 30 min boyunca analize hazır hale gelmesi için bekletilir.
- 30 min sonrasında 5 çözeltisinde 760 nm de absorbans değerleri not edilir.
- Her şişeden bir küvete bir miktar çözelti koyulur ve absorbansı ölçülür.
- Sonuçlar gallik asit eğrisinin eğimi üzerinden hesaplanır ve g gallik asit eşdeğeri / 100 g ekstrakt (%) olarak ifade edilir.



Şekil 4.10 Toplam fenolik madde miktarı analizi için hazırlanan çözeltiler

5. BULGULAR

5.1 Nem İçeriği Analizi

Çizelge 5.1 Kurutulmuş nar kabuğunun nem içeriği

$m_{\text{petri kabı (g)}}$	$m_{\text{material (g)}}$	Kuru ağırlık +petri kabı (g)	Kuru ağırlık (g)	Kuru içerik (%)
97.64	9.01	105.7	8.06	89.456
112.45	5.82	117.69	5.24	90.034
105.14	7.68	112.02	6.88	89.583
			Ortalama($\pm$):	89.691 0.304
			Nem içeriği	10.309

Bu çalışmadaki hedeflerimizden biri de nar kabuk ve çekirdeğinin endüstriyel değerlendirilebilirliğini belirlemektir. Güneşte kurutma en çok kullanılan ve en ucuz yöntemdir. Nar kabukları ve çekirdekleri enzim aktivitesini ve mikrobiyolojik aktiviteyi önlemek için ekstraksiyon işleminden önce kurutulmuştur. Kurutma işleminde, numunelerde yaklaşık %10 nem içeriği hedef alınmıştır. Kurutma koşulları kontrolsüz olduğundan, numunelerin nem içeriği farklı seviyelerdedir.

5.2 Soxhlet Ekstraksiyon Metodu

Bu ekstraksiyon metodunda çözücü olarak aseton, %96 Et-OH, 2-propanol, etil asetat ve n-pentan kullanılmıştır. Ekstraksiyon süresi her bir çözücü için yaklaşık 40 h'tir. Ekstraksiyon ekstraksiyon verimi sırasıyla %40.02, %58.56, %43.32, % 6.30 olarak elde edilmiştir. En yüksek ekstraksiyon verimi çözücü %96 Et-OH iken bulunmuştur.

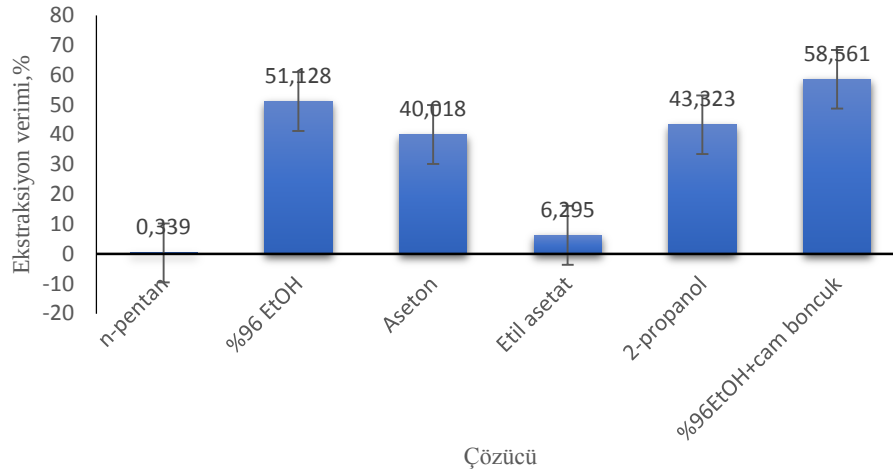
Çözücü olarak %96 Et-OH ile çalışılırken kartuş içindeki numunede bir patlama gerçekleşmiştir. Bunun sebebinin parçacık boyutu veya pamuğun sıkıştırılma şekli kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Madde kaybı ekstraksiyon verimini etkilemiştir. Bundan dolayı, deney ikinci defa cam boncuk eklenerek denenmiştir. Sadece nar kabuğu tozu ile çalışıldığında ekstraksiyon verimi %51.13 çıkarken, cam boncuk eklenerek çalışıldığında ekstraksiyon verimi %58.56 olarak bulunmuştur.

Çözücü n-pentan iken ekstraksiyon verimi çok düşük çıkmıştır (%0.039). Diğer çözücüler ile elde edilen ekstraktların rengi turuncu, kırmızı renkleri arasında iken n-pentan ile elde edilen ekstraktın rengi fıstık yeşiline yakın bir renktir.

Çözücü 2-propanol iken ekstraksiyon verimi asetona göre daha yüksek çıkmıştır (%43.323). Fakat döner buharlaştırıcıda çözücüyü uzaklaştırma esnasında hem çözücünün zor uzaklaşması hem de numunenin yapışkan bir hal alması ve madde kaybına yol açmasından dolayı, karşılaştırma amaçlı diğer ekstraksiyon metotlarında çözücü olarak aseton kullanılmıştır.



Şekil 5.1 Çözücü olarak n-pentan kullanıldığında elde edilen ekstrakt



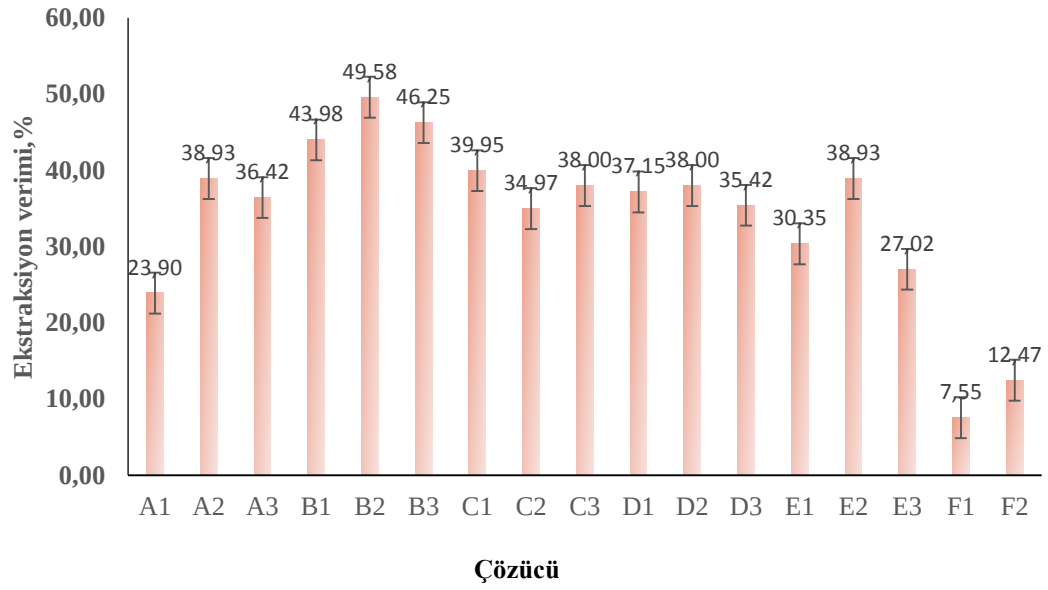
Şekil 5.2 Soxhlet ekstraksiyon yönteminde çözücü türünün ekstraksiyon verimine etkisi (t: 40 h)

5.3 Karıştırmalı Tank Ekstraksiyonu

Karıştırmalı tank ekstraksiyonu sırasında, hammadde ve çözücü 3 h doğrudan temas halindedir ve sabit bir hızda, belirli bir sıcaklıkta sürekli olarak karıştırılmaktadır.

Bu ekstraksiyon metodunda; ekstraksiyon sıcaklığının (20°C, 40°C, 60°C ve 80°C) ve etanol-su çözücü oranının (%30-96 Et-OH-saf su) ekstraksiyon verimine etkisi araştırılmıştır. En yüksek ekstraksiyon verimi çözücü %70 Etanol ve sıcaklık 40 °C iken elde edilmiştir (%49.58).

Soxhlet ekstraksiyon yöntemi için çözücü olarak aseton kullanıldığında, diğer çözücülere oranla daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edildi (%40.02). Bu nedenle, karıştırmalı ekstraksiyon yöntemi için karşılaştırma amacıyla çözücü olarak asetonun da kullanımına karar verildi. Aseton için kaynama noktası esas alınarak 20 ve 40°C sıcaklıklarda çalışılmaya karar verilmiştir. Elde edilen ekstraksiyon verimleri sırasıyla %7.55 ve %12.47 olarak bulunmuştur.



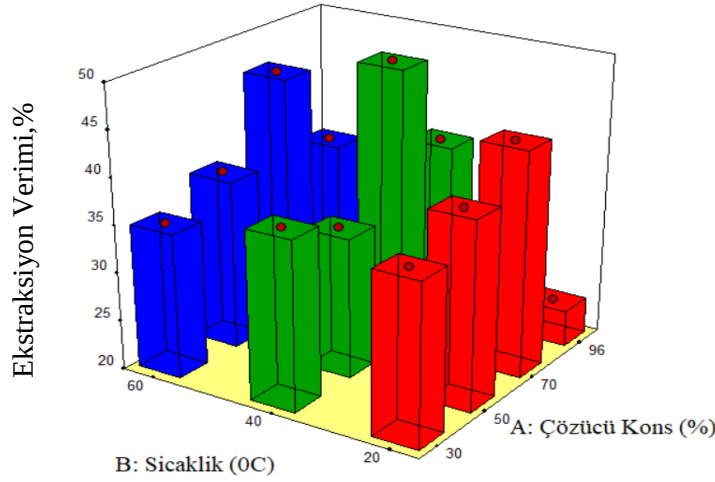
Şekil 5.3 Karıştırmalı tank ekstraksiyon yönteminde çözücü türünün ekstraksiyon verimine etkisi (t: 3 h)

(A1: %96 Etanol, 20°C; A2: %96 Etanol, 40°C; A3: %96 Etanol, 60°C; B1: %70 Etanol, 20°C; B2: %70 Etanol, 40°C; B3: %70 Etanol, 60°C; C1: %50 Etanol, 20°C; C2: %50 Etanol, 40°C; C3: %50 Etanol, 60°C; D1: %30 Etanol, 20°C; D2: %30 Etanol, 40°C; D3: %30 Etanol, 60°C; E1: Saf su, 20°C; E2: Saf su, 40°C; E3: Saf su, 60°C; F1: Aseton, 20°C; F2: Aseton, 40°C)

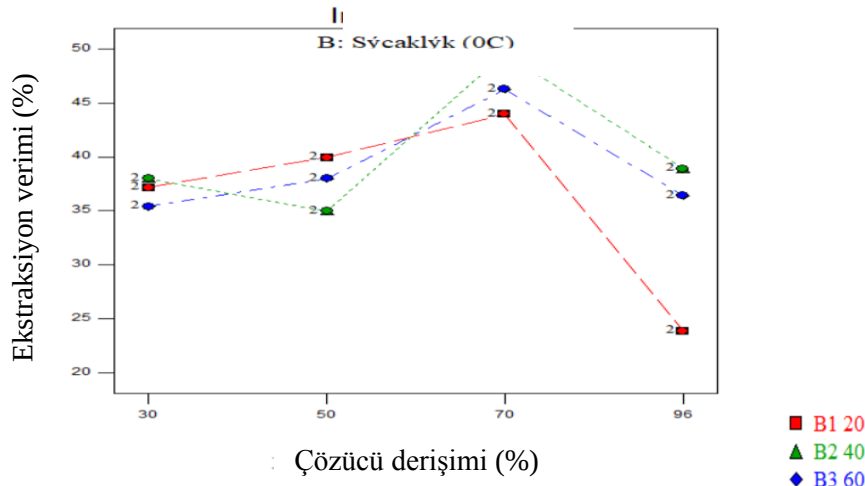
Sıcaklığın ekstraksiyon verimi üzerine etkisine bakıldığında; çözücü %96 Etanol, %70 Etanol, %30 Etanol ve saf su iken, 40°C’de maksimum ekstraksiyon verimi elde edilmiştir ve daha sonrasında sıcaklık artışı ile ekstraksiyon veriminde düşme görülmektedir. Çözücü olarak aseton kullanıldığında sıcaklık artışı ile birlikte ekstraksiyon veriminde de artış görülmektedir.

Şekil 5.4’de sıcaklık ve çözücü derişiminin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi görülmektedir. Hem Şekil 5.4 hem de Şekil 5.5 ‘de görüldüğü üzere, her 3 sıcaklık (20°C, 40°C, 60°C) için de çözücü %70 Etanol iken en yüksek ekstraksiyon verimleri

elde edilmiştir. Sıcaklık 20 °C iken ekstraksiyon verimi %43.98, 40°C iken ekstraksiyon verimi %49.58, 60°C iken ekstraksiyon verimi %46.25'tir.



Şekil 5.4 Karıştırmalı tank ekstraksiyon yönteminde farklı konsantrasyonlarda etanol ve ekstraksiyon sıcaklıklarının ekstraksiyon verimine etkisi



Şekil 5.5 Etanolün derişimin (%30, 50, 70, 96) ekstraksiyon verimi üzerinde etkisi (KTE)

Çözücü derişimi %96 Etanol iken ekstraksiyon verimleri her üç sıcaklıkta da diğer çözücülere oranla düşük çıkmıştır. Çözücü %70 Etanol'e göre kıyasladığımızda, çözücü içerisindeki saf su oranı arttıkça her üç sıcaklıkta da ekstraksiyon veriminde düşme görülmektedir.

5.4 Ses Ötesi Dalga Destekli Çözücü Ekstraksiyon

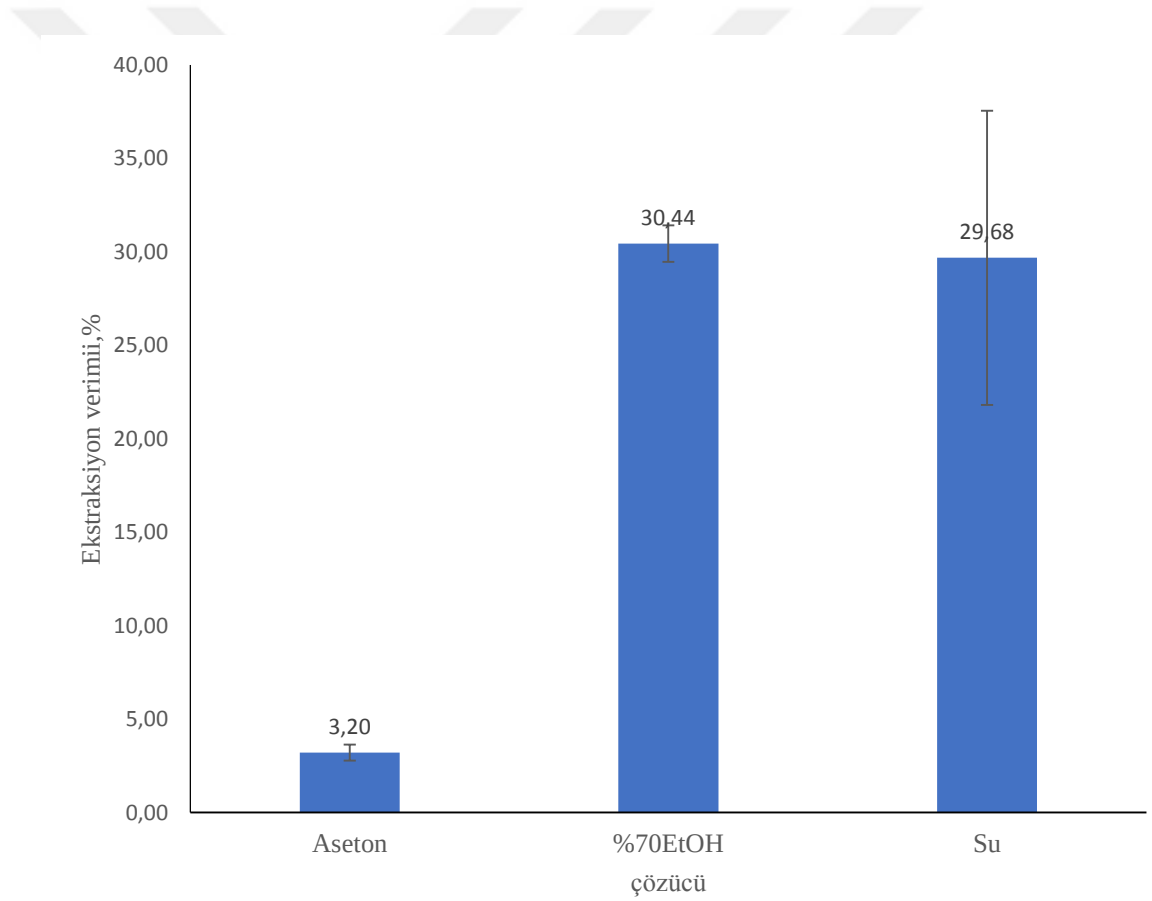
Bu ekstraksiyon metodunda iki farklı yöntemin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu yöntemlerden ilki problu söddür. Frekansları 20 kHz ve 30 kHz olan iki farklı problu södde ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir ve sonuçları karşılaştırılmıştır. Bir diğer yöntem ise ses ötesi dalga destekli banyodur. Farklı sıcaklık (20, 40, 60°C) ve ekstraksiyon sürelerinde (10, 30, 60 min) ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Bu yöntemlerden ilk problu södden bahsedilecek olursa; farklı çözücü tiplerinin (Aseton, %70 Et-OH, Saf su) ekstraksiyon verimine etkileri araştırılmıştır. Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon koşulları; 30 kHz frekans, %40 genlik seviyesi, 20°C sıcaklık, 6/4 on /off ve 10 min ekstraksiyon süresidir. Ekstraksiyon verimleri sırasıyla %3.20, %30.44, %30 olarak bulunmuştur. Çözücü %70 Et-OH iken en yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiştir.

En yüksek ekstraksiyon verimi %70 Et-OH ile elde edilse de aslında sonuçlara bakıldığında hem saf su hem de %70 Et-OH ile elde edilen ekstraksiyon verimleri birbirine çok yakındır. Aseton ile elde edilen ekstraksiyon verimine bakıldığında ise soxhlet ve karıştırılmalı tank ekstraksiyonuna göre daha düşük ekstraksiyon verimi elde edilmiştir (%3.19).

Çözücü %70 Et-OH iken SÖDE koşullarında ekstraksiyon verimi %30.44 olarak bulunmuştur. Karıştırmalı ekstraksiyonda; 3 h ekstraksiyon süresi ve 20°C sıcaklıkta ekstraksiyon verimi %43.98 olarak elde edilmiştir.

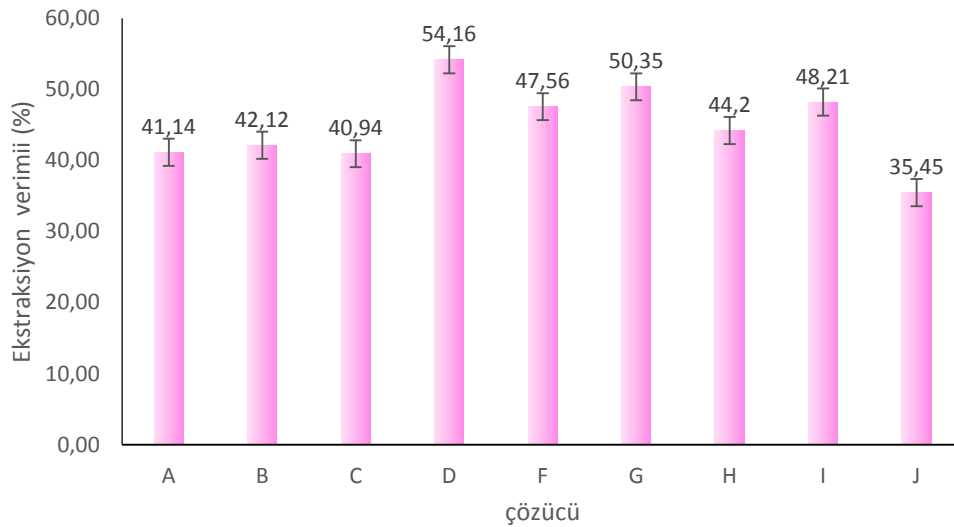
Karıştırmalı ekstraksiyonda; ekstraksiyon süresi 3 h, çözücü saf su ve sıcaklık 20°C iken ekstraksiyon verimi ekstraksiyon verimi %30,35 olarak bulunmuştur. SÖDE ile kıyasladığımızda ekstraksiyon süresi 10 min iken %30 ekstraksiyon verimi elde edilmiştir.



Şekil 5.6 Çözücü türünün SÖDE (30 kHz) yönteminde ekstraksiyon verimine etkisi (t: 10 min)

Bu yöntemlerden 20 kHz frekansa sahip problu södden bahsedilecek olursa; çözücü olarak %70 EtOH kullanılmıştır ve parametre olarak sıcaklık (20,40,60°C) ile ekstraksiyon süresi (10,30,60 min) seçilmiştir. Bu parametrelerin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon koşulları; 20 kHz frekans, %20 genlik seviyesi, 6/4 açık/kapalı'dır.

Şekil 5.7'ye bakıldığında en yüksek ekstraksiyon verimi; sıcaklık 40 °C ve ekstraksiyon süresi 10 min iken elde edilmiştir (%54.16). Bu sıcaklık değerinde ekstraksiyon süresi 60 min iken ekstraksiyon verimi %50.35 olarak bulunmuştur. Sıcaklık 20 °C iken ekstraksiyon süresi ile ekstraksiyon veriminde çok değişiklik olmamıştır. Bu sıcaklık değerinde en yüksek ekstraksiyon verimi ekstraksiyon süresi 30 min iken elde edilmiştir (%42.12). Ekstraksiyon süresi 10 min iken ekstraksiyon verimi %41.14 olarak bulunmuştur. Her iki sıcaklık değerine bakıldığında da ekstraksiyon süresi arttıkça ekstraksiyon veriminde kayda değer bir artış olmadığı görülmektedir.

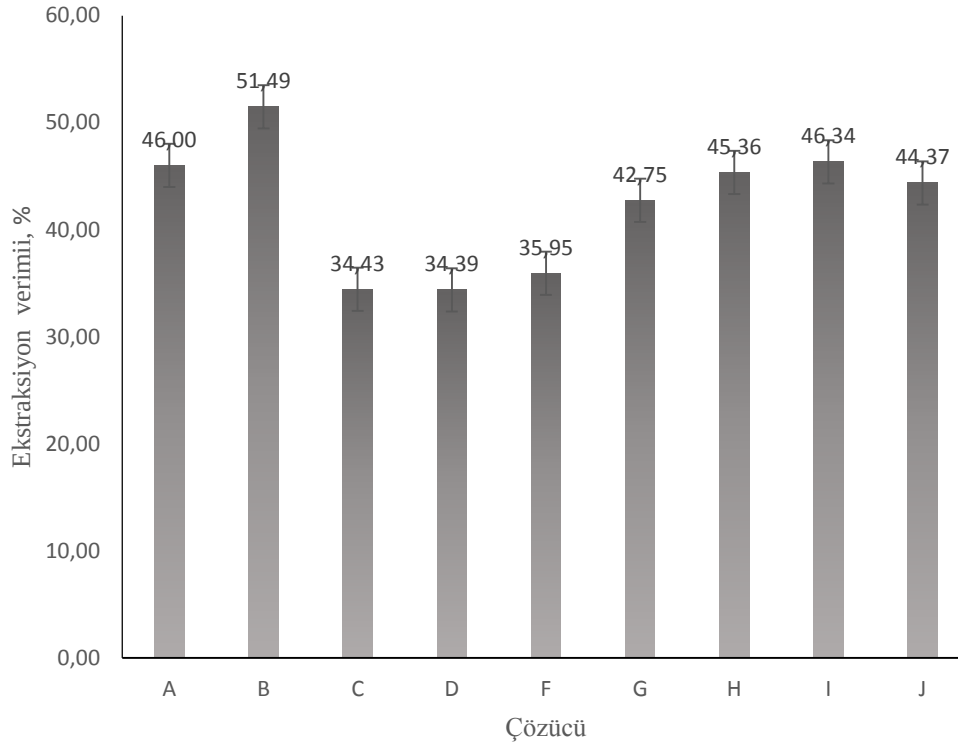


Şekil 5.7 SÖDE (20 kHz) yönteminde çözücü %70 EtOH iken sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi

A: T:20 °C, t:10 min, B: T:20 °C, t:30 min, C: T:20 °C, t:60 min, D: T:40 °C, t:10 min, F: T:40 °C, t:30 min, G: T:40 °C, t:60 min, H: T:60 °C, t:10 min, I: T:60 °C, t:30 min, J: T:60 °C, t:60 min

Sıcaklık 60°C değerindeyken ekstraksiyon verimlerine bakıldığında en yüksek ekstraksiyon verimi 30 min ekstraksiyon süresinde elde edilmiştir (%48.21). Ekstraksiyon süresi 60 min iken en düşük ekstraksiyon verimi elde edilmiştir (%35.45). Ekstraksiyon verimindeki düşüşün yüksek sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin uzun olmasından dolayı bileşenlerin bozunmasından kaynaklı olduğu düşünülebilmektedir.

Ses ötesi dalga destekli banyoda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilirken iki parametre esas alınmıştır. Bunlardan biri sıcaklık (20,40,60°C) diğeri ise ekstraksiyon süresidir (10,30,60 min). Çözücü olarak %70 EtOH kullanılmıştır. Şekil 5.8'e bakıldığında en yüksek ekstraksiyon verimi; sıcaklık 20 °C ve ekstraksiyon süresi 30 min iken elde edilmiştir (51.49). Sıcaklık 40 °C iken zamanla ekstraksiyon veriminde artış görülmektedir ve en yüksek ekstraksiyon verimi bu sıcaklık için ekstraksiyon süresi 60 min'de elde edilmiştir ve %42.75 olarak bulunmuştur.



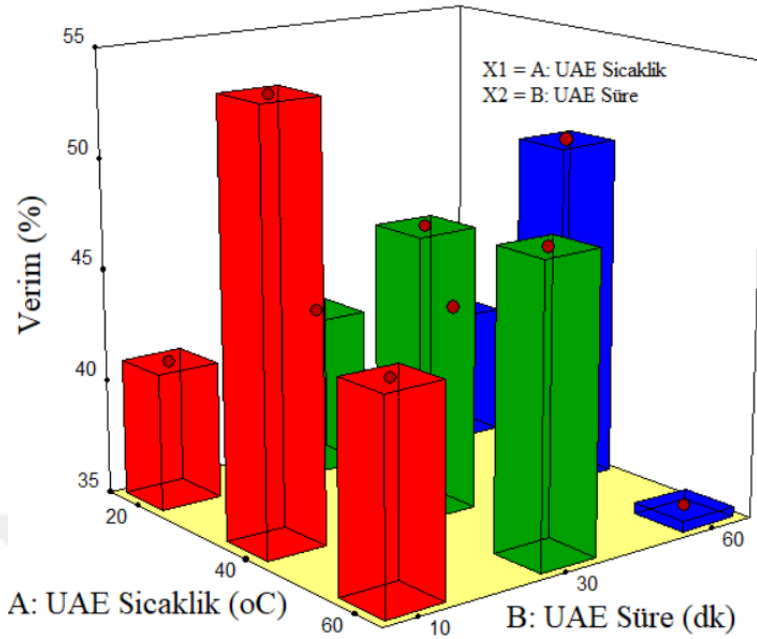
Şekil 5.8 Ses ötesi dalga destekli banyo ekstraksiyon (20 kHz) yönteminde çözücü %70 EtOH iken sıcaklık (20, 40, 60°C) ve ekstraksiyon süresinin (10, 30, 60 min) ekstraksiyon verimi üzerine etkisi

A: T:20 °C, t:10 min, B: T:20 °C, t:30 min, C: T:20 °C, t:60 min, D: T:40 °C, t:10 min, F: T:40 °C, t:30 min, G: T:40 °C, t:60 min, H: T:60 °C, t:10 min, I: T:60 °C, t:30 min, J: T:60 °C, t:60 min

Sıcaklık 60 °C iken ekstraksiyon süresinin artmasıyla ekstraksiyon veriminde kayda değer bir artış görülmemektedir. En yüksek ekstraksiyon verimi bu sıcaklık değerinde ekstraksiyon süresi 30 min iken %46.34 olarak bulunmuştur. Şekil 5.8’de de görüldüğü üzere sıcaklık 20 °C ve ekstraksiyon süresi 10 min iken ekstraksiyon verimi %46 olarak elde edilmiştir. Bu iki sonuç karşılaştırıldığında ekstraksiyon verimi olarak büyük bir fark yoktur.

Bu üç yöntemdeki sonuçları karşılaştırdığımızda ise en yüksek ekstraksiyon verimi 20 kHz frekanslı problu södde, sıcaklık 40 °C ve ekstraksiyon süresi 10 min iken elde edilmiştir (54.16). Ses ötesi dalga destekli banyoda sıcaklık 20 °C ve ekstraksiyon süresi 30 min iken ekstraksiyon verimi %51.49 olarak bulunmuştur. Bu iki sonuca bakıldığında problu söd ile daha kısa sürede daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edildiği görülmektedir.

Şekil 5.9’da görüldüğü üzere ekstraksiyon süresi 30 min iken sıcaklık artışı ile ekstraksiyon veriminde artış görülmektedir. Ekstraksiyon süresi 10 min iken 40 °C iken maksimum ekstraksiyon verimi elde edilmiştir ve daha sonrasında sıcaklık artışıyla ekstraksiyon veriminde düşme görülmüştür. Aynı şekilde ekstraksiyon süresi 60 min iken de sıcaklık 20 °C’den 40 °C’ye çıktığında ekstraksiyon verimi artmıştır ve daha sonrasında sıcaklık artışıyla ekstraksiyon veriminde azalma görülmektedir.



Şekil 5.9 Ses ötesi dalga destekli (20 kHz) ekstraksiyonu yönteminde farklı sıcaklık (20, 40, 60 °C) ve ekstraksiyon süreleri (10, 30, 60 min) ile elde edilen ekstraksiyon verimi sonuçları

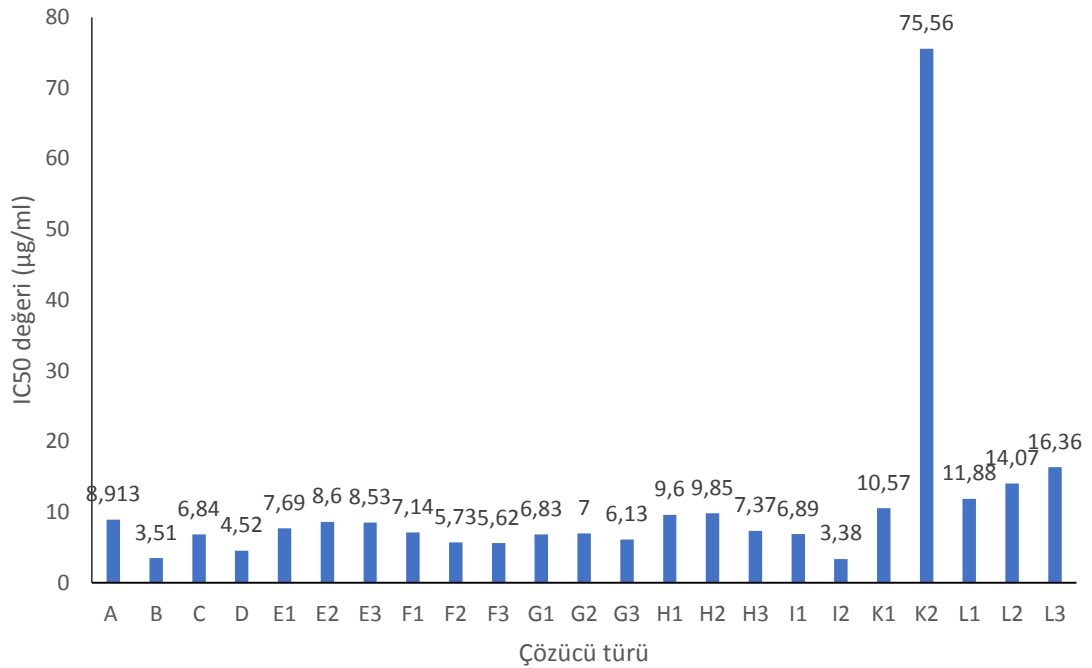
5.5 DPPH ile Antioksidan Aktivitesi Tayini

Nar kabuğundan değerli polifenollerin eldesi için klasik ekstraksiyon yöntemi (soxhlet, karıştırılmalı tank) ve ses ötesi dalga destekli (problu söd, ses ötesi dalga destekli banyo) ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemler ile elde edilen ekstraktların DPPH ile antioksidan aktiviteleri tayin edilmiştir ve sonuçlar karşılaştırılmıştır.

Şekil 5.10' da görüldüğü gibi, nar kabuğundan elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi sentetik antioksidanların antioksidan aktiviteleri ile karşılaştırılmıştır. Sentetik antioksidan olarak BHA ve BHT kullanılmıştır. Sonuçlar gösteriyor ki, sentetik antioksidanlar yerine nar kabuğu ekstraktları kullanılabilir.

Hem soxhlet hem de karıştırılmalı tank ekstraksiyon metodunda çözücü olarak kullanılan asetondan elde edilen ekstraktlar en yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir. Sonuçlara bakılacak olursa; soxhlet için değer 3.51 ve karıştırılmalı ekstraksiyonda 40 °C için değer 3.38 $\mu\text{g/ml}$ 'dir. Ayrıca, farklı etanol konsantrasyonlarının antioksidan aktivite değerlerine bakıldığında ise her iki metotta da yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir.

SÖDE için ekstraktların değerlerine bakıldığında; diğer iki metot kadar etkili olmasa da sentetik antioksidanlar yerine kullanılabilir.

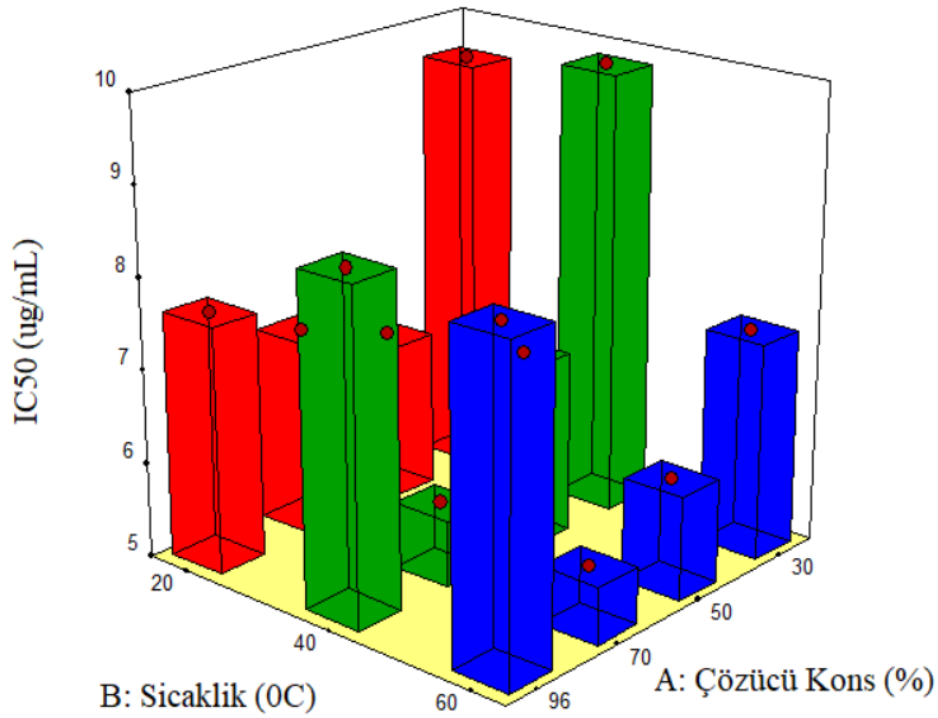


Şekil 5.10 Karıştırılmalı tank ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların IC₅₀ değerleri

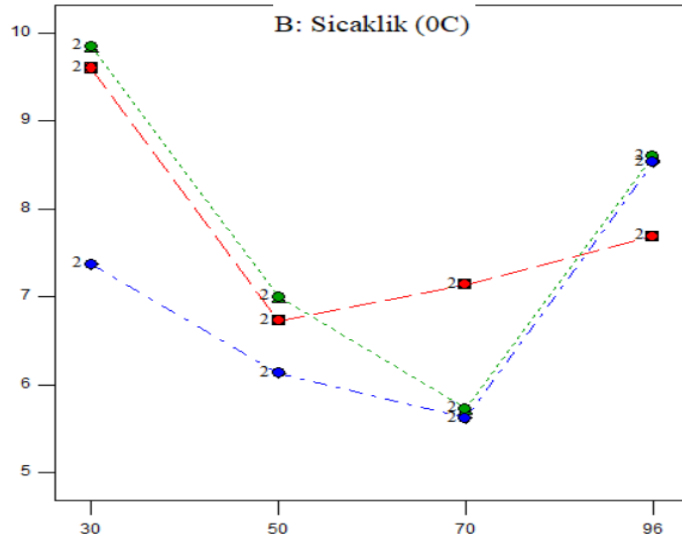
(A: Etil asetat (SE), B:Aseton (SE), C: 2-propanol (SE), D: %96 Etanol (SE), E1: %96 Etanol 20°C (KTE), E2: %96 Etanol 40°C (KTE), E3: %96 Etanol 60°C (KTE), F1: %70 Etanol 20°C (KTE), F2: %70 Etanol 40°C (KTE), F3: %70 Etanol 60°C (KTE), G1: %50 Etanol 20°C (KTE), G2: %50 Etanol 40°C (KTE), G3: %50 Etanol 60°C (KTE), H1: %30 Etanol 20°C (KTE), H2: %30 Etanol 40°C (KTE), H3: %30 Etanol

60°C (KTE), I1: Aseton 20°C (KTE), I2: Aseton 40°C (KTE), K1: BHA, K2: BHT, L1: Aseton 20°C (SÖDE), L2: %70 Etanol 20°C (SÖDE), L3: Saf su 20°C)

Şekil 5.11 ve Şekil 5.12'ye bakıldığında, karıştırmalı tank ekstraksiyonunda çözücü %70 Etanol iken, her üç sıcaklıkta da en düşük IC₅₀ değerini göstermektedir. Yani en yüksek antioksidan aktiviteye sahip ekstraktlar %70 Etanol ile elde edilen ekstraktlardır. Çözücü %30 Etanol iken, sıcaklık artışı ile birlikte IC₅₀ değerinde düşme görülmektedir. Sıcaklık %30 Etanol ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesini artırmıştır. Fakat yine de diğer çözücülere oranla daha az antioksidan aktivitesi göstermektedir.



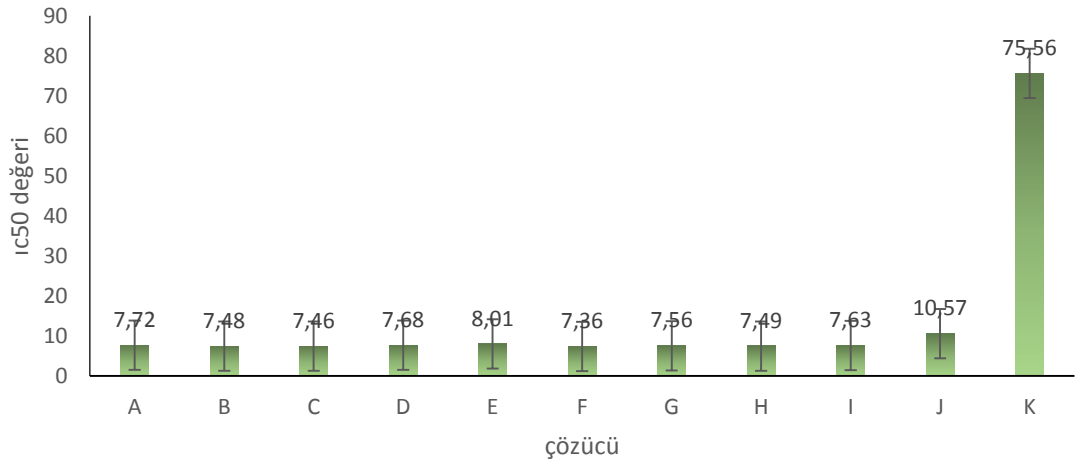
Şekil 5.11 Karıştırmalı tank ekstraksiyonu yönteminde farklı konsantrasyonlarda etanolün (%30, 50, 70, 96) ve sıcaklığın (20, 40, 60°C) IC₅₀ değerlerine etkisi



X1: A: Çözücü Kons (%)
Y: IC₅₀ (ug/mL)

■ B1 20
▲ B2 40
◆ B3 60

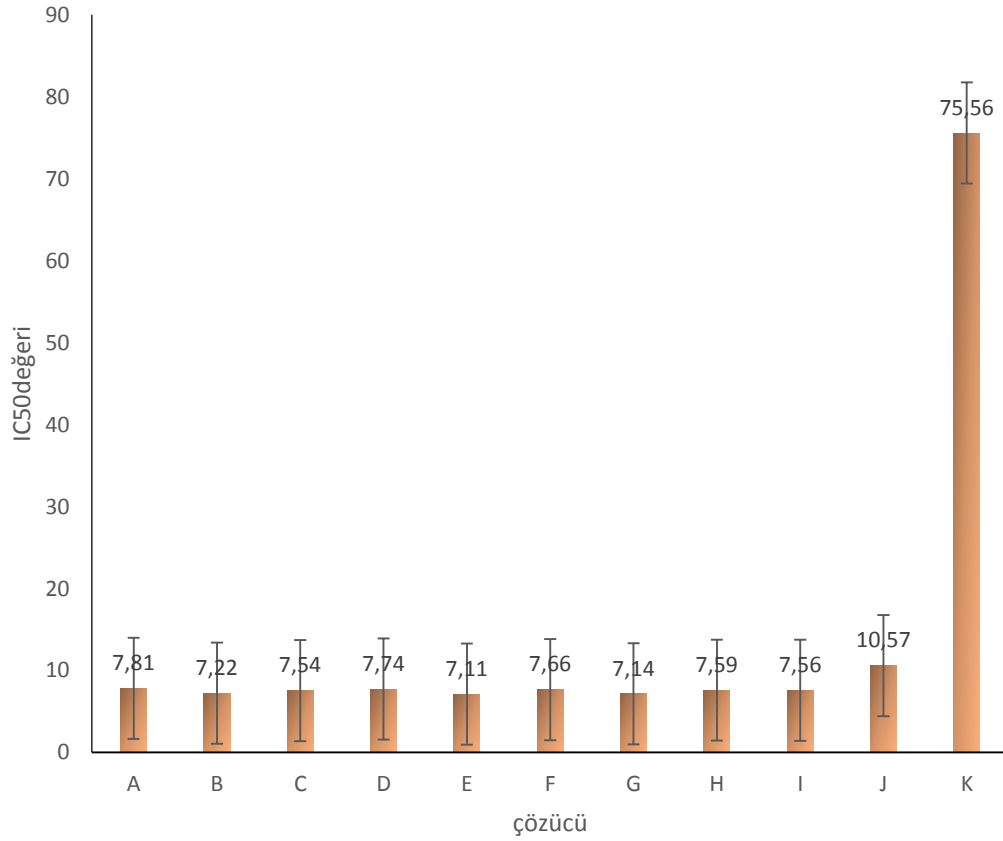
Şekil 5.12 Etanolün farklı konsantrasyonları (%30, 50, 70, 96) ile elde edilen IC₅₀ değerleri (KTE)



Şekil 5.13 Ses ötesi dalga destekli banyoda %70 Etanol ile gerçekleşen ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktların IC₅₀ değerleri

A: T:20 °C, t:10 min, B: T:20 °C, t:30 min, C: T:20 °C, t:60 min, D: T:40 °C, t:10 min, E: T:40 °C, t:30 min, F: T:40 °C, t:60 min, G: T:60 °C, t:10 min, H: T:60 °C, t:30 min, I: T:60 °C, t:60 min, J: BHA, K: BHT

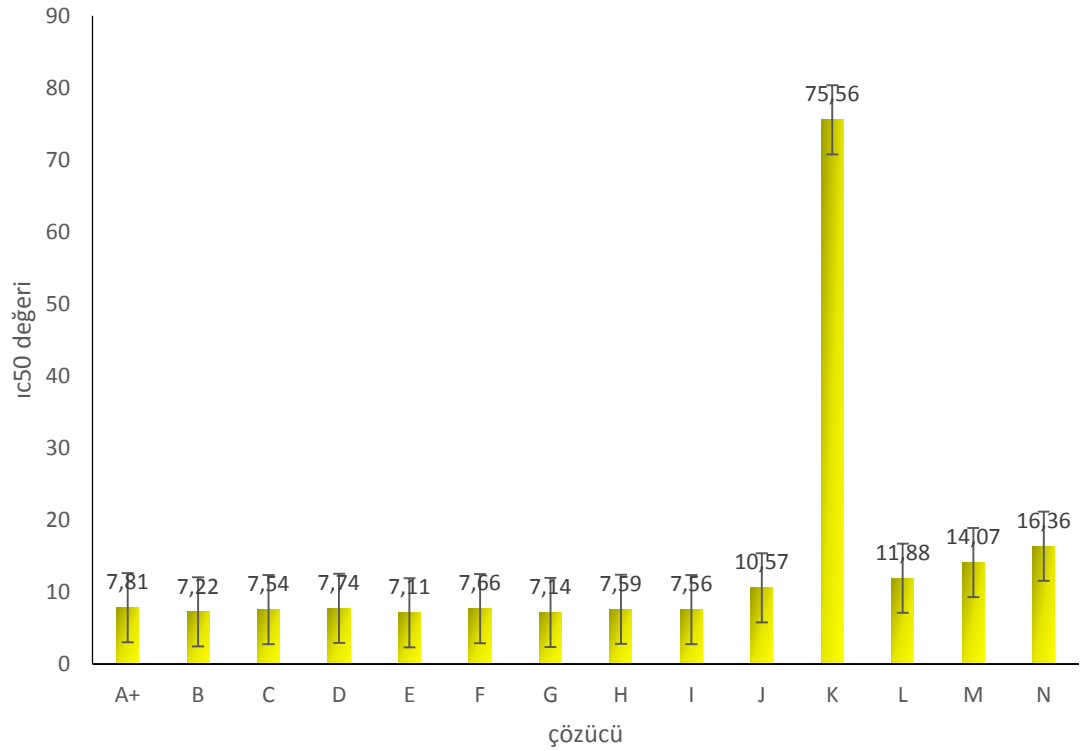
Ses ötesi dalga destekli banyo kullanılarak elde edilen ekstraktların IC_{50} değerlerine bakıldığında değerlerin birbirine yakın olduğu görülmektedir. Her bir ekstraktın antioksidan aktivitesini sentetik antioksidanlarla kıyasladığımızda daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. En düşük IC_{50} değerine 40°C sıcaklık ve 60 min ekstraksiyon süresinde ulaşılmıştır (17.36 $\mu\text{g/ml}$). BHA'nın IC_{50} değerine bakıldığında 21.33 $\mu\text{g/ml}$ olduğu görülmektedir. Şekil 5.13'e göre sonuçlar gösteriyor ki ses ötesi dalga destekli banyo ile elde edilen nar kabuğu ekstraktları BHA ve BHT'den daha düşük IC_{50} değerlerine sahiptir.



Şekil 5.14 Çözücü %70 Etanol ile elde edilen ekstraktların IC_{50} değerleri (SÖD, 20kHz)

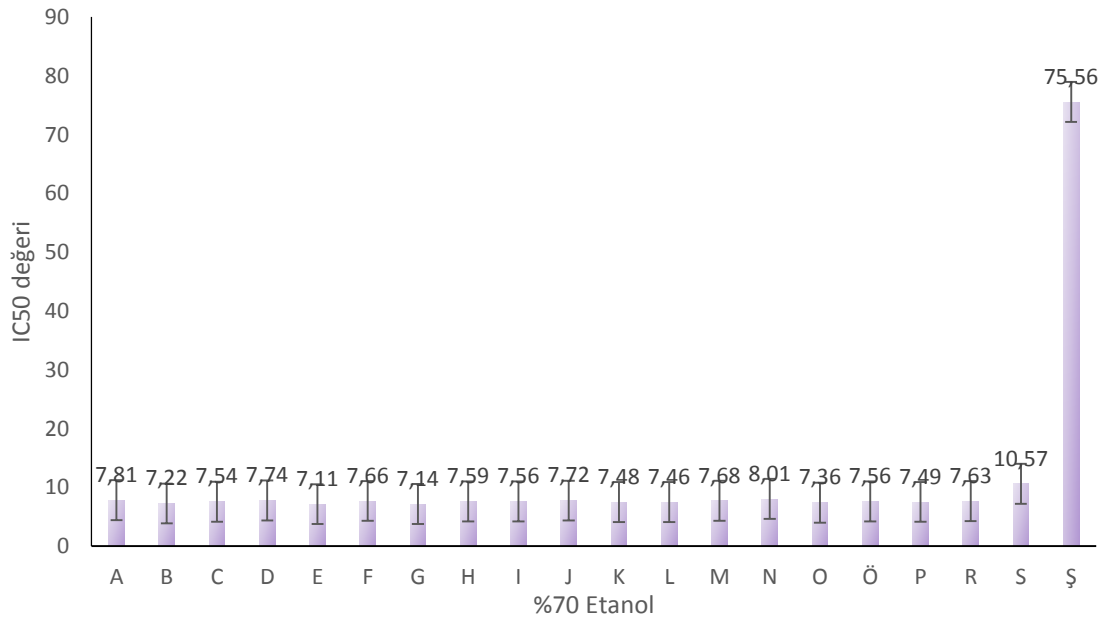
A: T:20 °C, t:10 min, B: T:20 °C, t:30 min, C: T:20 °C, t:60 min, D: T:40 °C, t:10 min, E: T:40 °C, t:30 min, F: T:40 °C, t:60 min, G: T:60 °C, t:10 min, H: T:60 °C, t:30 min, I: T:60 °C, t:60 min, J: BHA, K: BHT

Frekansı 20 kHz değerinde problu sdle gerçekleşen ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların IC₅₀ değerleri ekil 5.14'te görülmektedir. Sonuçlar sentetik antioksidan olan BHA ve BHT ile karılatırılmıtır. Ekstraksiyon koşulları sıcaklık 40°C ve ekstraksiyon süresi 30 min iken en yüksek antioksidan aktivitesine ulaşılmıştır (7.11 µg/ml). Ekstraksiyon sıcaklığı 60°C ve ekstraksiyon süresi 10 min iken IC₅₀ değeri 7.14 µg/ml olarak bulunmuştur. Sıcaklık 20°C iken her üç zamanda (10,30,60 min) sırasıyla IC50 değerleri 7.81, 7.74 ve 7.14 µg/ml'dir. Bu üç parametrede de elde edilen sonuçlar gösteriyor ki nar kabuğu ekstraktları BHA (10.57 µg/ml) ve BHT (75.56 µg/ml) yerine kullanılabilmektedir.



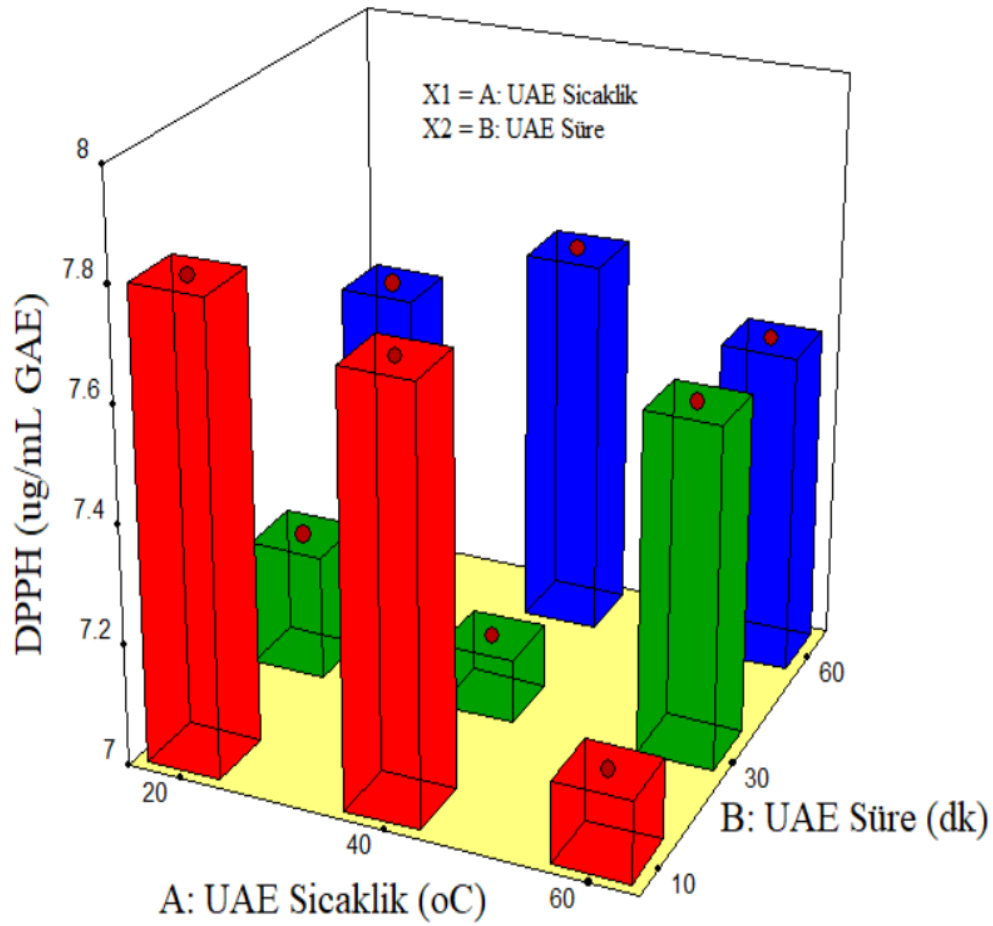
Şekil 5.15 Farklı frekanslarda (20, 30 kHz) SDE yöntemiyle elde edilen ekstraktlarının IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması (A-I aralığında zc :%70 Etanol)
A: T:20 °C, t:10 min (20 kHz), B: T:20 °C t:30 min (20 kHz), C: T:20 °C, t:60 min (20 kHz), D: T:40 °C, t:10 min (20 kHz), E: T:40 °C, t:30 min (20 kHz), F: T:40 °C, t:60 min (20 kHz), G: T:60 °C, t:10 min (20 kHz), H: T:60 °C, t:30 min (20 kHz), I: T:60 °C, t:60 min (20 kHz), J:BHA, K:BHT, L:Aseton, T:20 °C, t:10 min (30 kHz), M: %70 EtOH T:20 °C, t:10 min (30 kHz), N: Su, T:20 °C, t:10 min (30 kHz)

Farklı frekans değerlerine sahip (20, 30 kHz) problu sdlerle gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemine sonucunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri şekil 5.15'te karşılaştırılmıştır. 20 kHz problu sd ekstraktlarının sonuçlarına bakıldığında, her parametrede 30 kHz problu sd ekstraktlarından daha yüksek antioksidan aktivitesi gösterdiği görülmektedir. Sıcaklık 20 °C ve ekstraksiyon süresi 10 min iken 30 kHz frekansta IC₅₀ değeri 11.88 µg/ml; 20 kHz frekansta 7.81 µg/ml'dir.



şekil 5.16 Ses tesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonunda kullanılan  yöntemin ekstraktlarının IC₅₀ değerlerinin karşılaştırılması (UBE, 20kHz,30 kHz) A: T:20 °C, t:10 min (20 kHz), B: T:20 °C t:30 min (20 kHz), C: T:20 °C, t:60 min (20 kHz), D: T:40 °C, t:10 min (20 kHz), E: T:40 °C, t:30 min (20 kHz), F: T:40 °C, t:60 min (20 kHz), G: T:60 °C, t:10 min (20 kHz), H: T:60 °C, t:30 min (20 kHz), I: T:60 °C, t:60 min (20 kHz), J: T:20 °C, t:10 min (UB), K: T:20 °C, t:30 min (UB), L: T:20 °C, t:60 min (UB), M: T:40 °C, t:10 min (UB), N: T:40 °C, t:30 min (UB), O: T:40 °C, t:60 min (UB), : T:60 °C, t:10 min (UB), P: T:60 °C, t:30 min (UB), R: T:60 °C, t:60 min (UB), S: BHA, ř: BHT

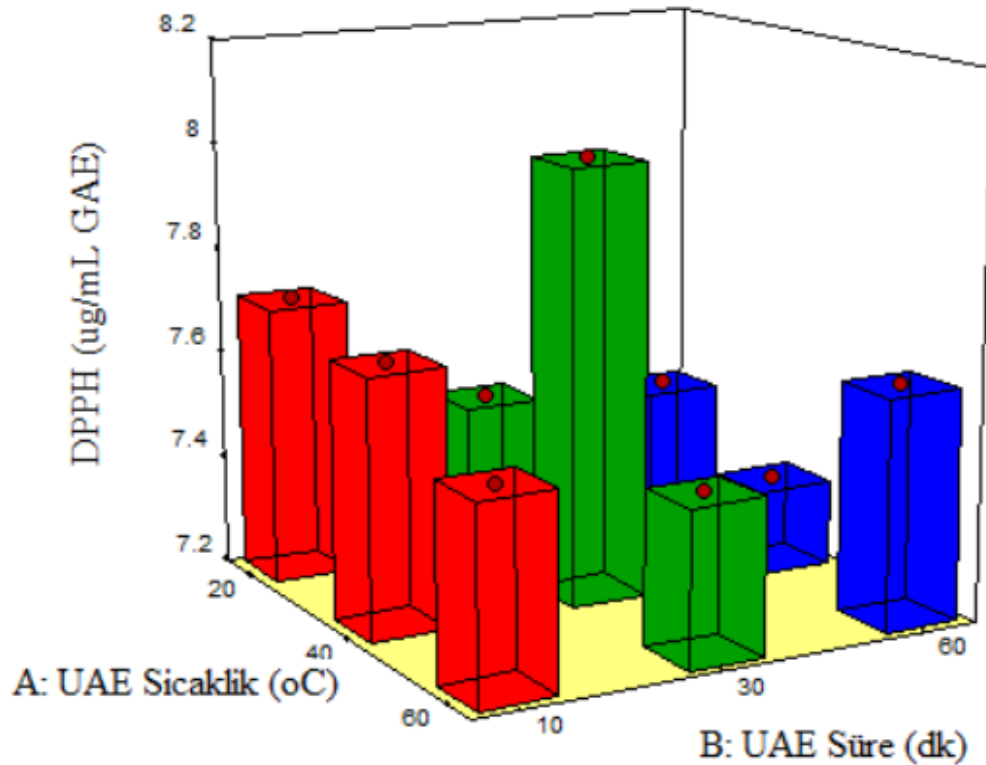
Şekil 5.16’da ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Ses ötesi dalga destekli banyo ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri problu sódle elde edilen ekstraktlara göre daha düşük bir antioksidan aktivitesi göstermekle beraber değerler birbirine yakındır. Bu verilerin sentetik antioksidanlara (BHA, BHT) karşı kullanılabilirliğine bakıldığında ise sonuçlar gösteriyor ki doğal anitoksidanlar olan nar kabuğu ekstraktları endüstride kullanılan sentetik antioksidanlardan daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve yerine kullanılabilir.



Şekil 5.17 Ekstraksiyon sıcaklığı (20, 40, 60°C) ve süresinin, SÖDE (20 kHz) yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesine etkisi

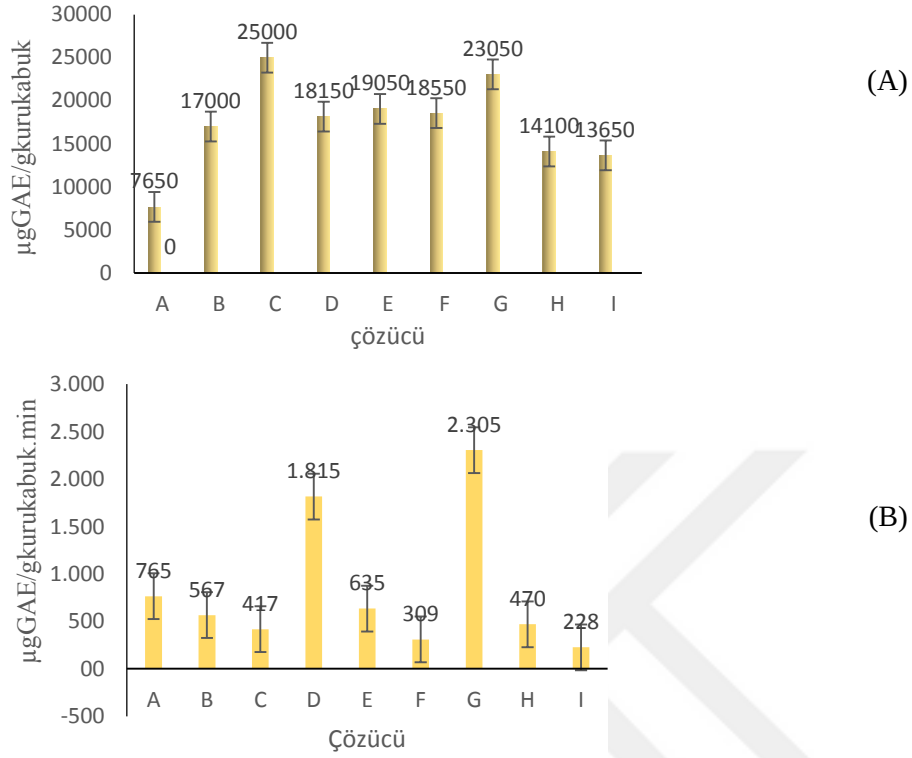
Ekstraksiyon süresi 10 min iken sıcaklık artışıyla antioksidan aktivitesinde artış görülmektedir. Şekil 5.17’de de görüldüğü üzere sıcaklık 20°C ve 40 °C iken; ekstraksiyon süresi 10 min’den 30 min’e yükseldiğinde antioksidan aktivitesinde artış görülmektedir. Ekstraksiyon süresi 60 min’e çıkarıldığında, her iki sıcaklıkta da antioksidan aktivitesinde azalma görülmektedir.

Şekil 5.18’de sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin ses ötesi dalga destekli banyoda antioksidan aktivitesine etkisi görülmektedir. Ekstraksiyon sıcaklığı 20 °C iken ekstraksiyon süresinin artmasıyla antioksidan aktivitesinin arttığı görülmektedir. Ekstraksiyon süresi 10 min iken sıcaklık artışıyla antioksidan aktivitesinde artış görülmektedir.



Şekil 5.18 Ekstraksiyon sıcaklığı (20, 40, 60°C) ve süresinin (10, 30, 60 min), UBE yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesine etkisi

5.6 Toplam Fenolik Madde Miktarı Analizi



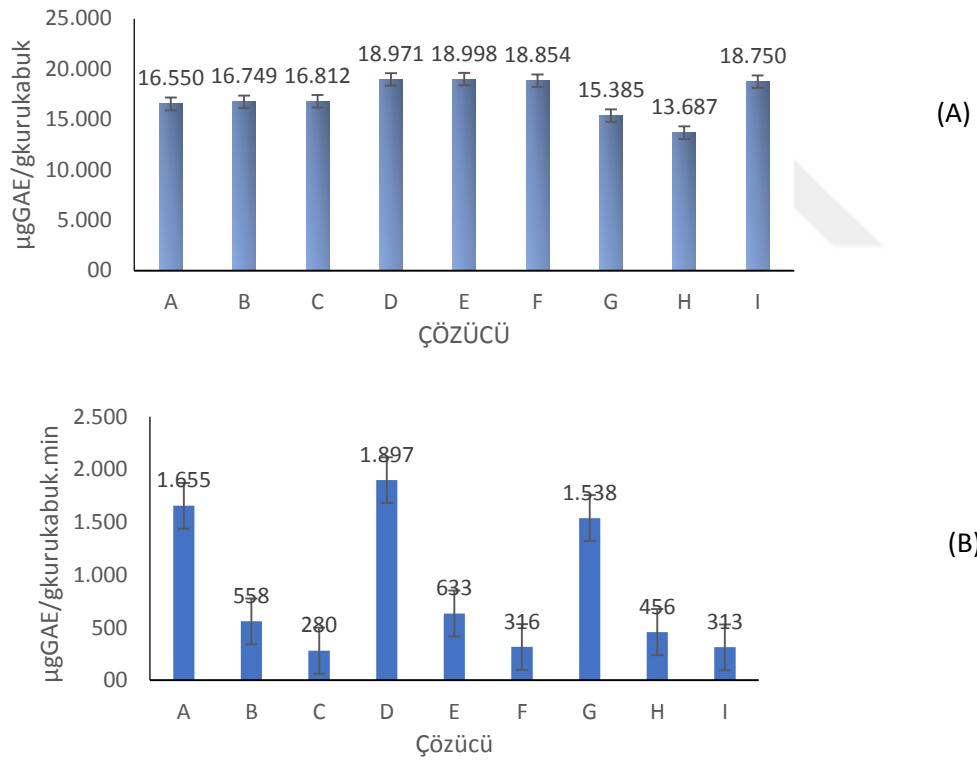
Şekil 5.19 SÖDE (20 kHz) yöntemi ve çözücü %70 etanol ile elde edilen ekstraktların (A) toplam fenolik madde miktarları, (B) birim zamanda toplam fenolik madde miktarları

A: T:20 °C, t:10 min , B: T:20 °C t:30 min C: T:20 °C, t:60 min , D: T:40 °C, t:10 min, E: T:40 °C, t:30 min , F: T:40 °C, t:60 min, G: T:60 °C, t:10 min , H: T:60 °C, t:30 min, I: T:60 °C, t:60 min

Frekansı 20 kHz problu södle gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen ekstraktların Folin-Ciocalteu ile toplam fenolik madde miktarları analiz edilmiştir. Şekil 5.19’da ekstraktların toplam fenolik madde miktarları verilmektedir. Şekilden de görüldüğü üzere en yüksek TFM sıcaklık 60°C ve ekstraksiyon süresi 10 min iken elde edilmiştir (2305 µgGAE/gkurukabuk.dk). Bu sıcaklık değerinde ekstraksiyon süresi ile toplam fenolik madde miktarının zamanla azaldığı görülmektedir. Ekstraksiyon süresi 30 min iken toplam fenolik madde miktarı 470 µgGAE/gkurukabuk.dk ve ekstraksiyon süresi 60 min iken 227.5 µgGAE/gkurukabuk.dk olarak bulunmuştur.

Sıcaklık 40°C iken ekstraksiyon süresinin etkisine bakıldığında en yüksek değer 10 min de iken elde edilmiştir (1815 µgGAE/gkurukabuk.dk). Ekstraksiyon süresinin bu sıcaklık değeri için toplam fenolik madde miktarı üzerinde, sıcaklık artışı ile azalma olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon süresi 30 min iken 635 µgGAE/gkurukabuk.dk ve 60 min iken ise 309.17 µgGAE/gkurukabuk.dk bulunmuştur.

Sıcaklık 20°C iken ise ekstraksiyon süresinin artmasıyla toplam fenolik madde miktarında azalma olduğu görülmektedir. Bu sıcaklıkta en yüksek madde miktarına 10 min ekstraksiyon süresinde ulaşılmıştır (765 µgGAE/gkurukabuk.dk). Ekstraksiyon süresi 30 min iken toplam fenolik madde miktarı 567 µgGAE/gkurukabuk.dk ve ekstraksiyon süresi 60 min iken ise 417 µgGAE/gkurukabuk.dk olarak elde edilmiştir.

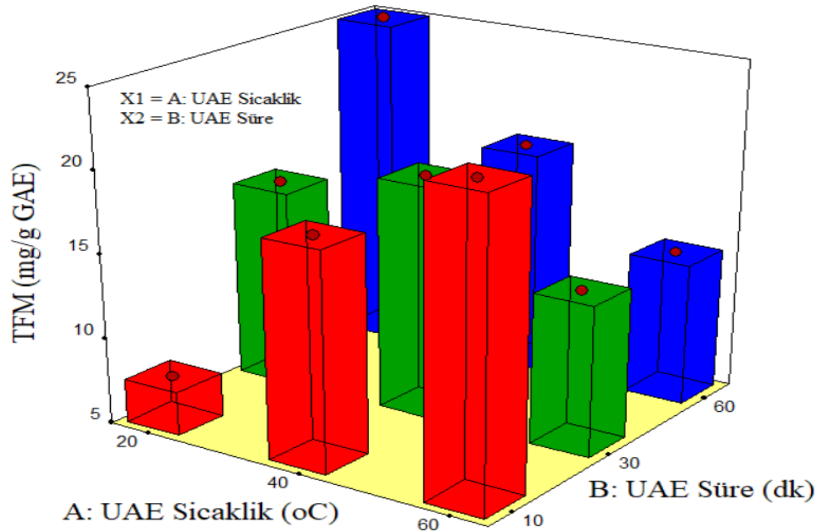


Şekil 5.20 Ses ötesi dalga destekli banyoda %70 etanol ile farklı sıcaklık (20, 40, 60°C) ve ekstraksiyon sürelerinde (10, 30, 60 min) elde edilen ekstraktların (A) toplam fenolik madde miktarları, (B) birim zamanda toplam fenolik madde miktarları

A: T:20 °C, t:10 min, B: T:20 °C, t:30 min, C: T:20 °C, t:60 min, D: T:40 °C, t:10 min, E: T:40 °C, t:30 min, F: T:40 °C, t:60 min, G: T:60 °C, t:10 min, H: T:60 °C, t:30 min, I: T:60 °C, t:60 min

Ses ötesi dalga destekli banyo ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları Şekil 5.20’de görülmektedir. Sıcaklık 20°C iken zamanla toplam fenolik madde miktarının azaldığı görülmektedir. Bu sıcaklık değerinde en yüksek toplam fenolik madde miktarı ekstraksiyon süresi 10 min iken elde edilmiştir (1695 µgGAE/gkurukabuk.dk). Ekstraksiyon süresi 30 min iken 558.3 µgGAE/gkurukabuk.dk ve 60 min iken 280.2 µgGAE/gkurukabuk.dk’ dır.

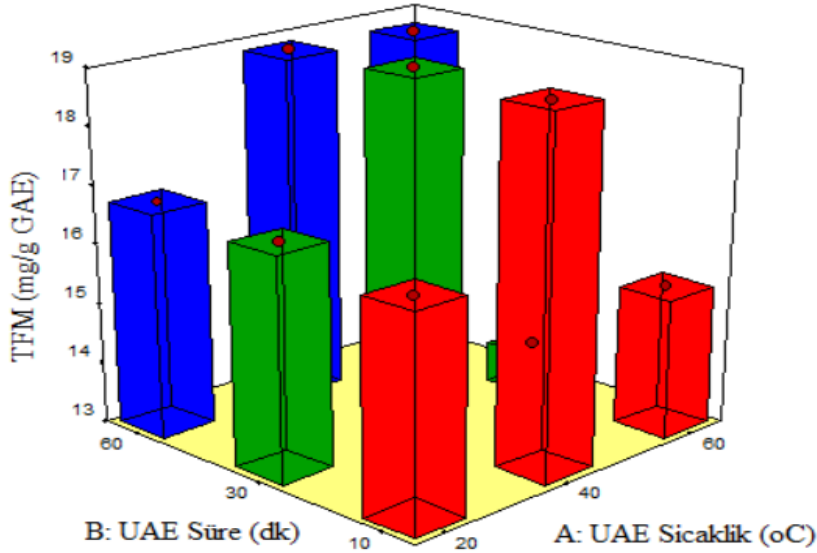
Şekilde de görüldüğü üzere en yüksek toplam fenolik madde miktarı ekstraksiyon sıcaklığı 40°C ve ekstraksiyon süresi 10 min iken elde edilmiştir (1897 µgGAE/gkurukabuk.dk). Ekstraksiyon süresi 30 min iken toplam fenolik madde miktarı değeri ise 638.3 µgGAE/gkurukabuk.dk’dır.



Şekil 5.21 Ekstraksiyon sıcaklığı (20, 40, 60°C) ve süresinin (10, 30, 60 min) SÖDE (20kHz) yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarına etkisi

Şekil 5.21’de görüldüğü üzere ekstraksiyon süresi 10 min iken toplam fenolik madde miktarı sıcaklık artışı ile artmaktadır. Ekstraksiyon süresi 60 min iken ise sıcaklık artışı ile toplam fenolik madde miktarında zamanla azaldığı görülmektedir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı sıcaklık 20°C ve ekstraksiyon süresi 60 min iken elde edilmiştir ve 2305 µgGAE/gkurukabuk.dk olarak elde edilmiştir.

Şekil 5.22’de ses ötesi dalga destekli banyoda sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin toplam fenolik madde miktarına etkisi görülmektedir. Sıcaklık 20°C ve 40°C iken ekstraksiyon süresinin artmasıyla toplam fenolik madde miktarında bir artış görülmeyişi gözükmemektedir. Sıcaklık 20°C’den 40°C’ye yükseldiğinde üç ekstraksiyon süresinde de toplam fenolik madde miktarında artış görülmektedir. Sıcaklık 60°C’ye yükseldiğinde ise azalma görülmektedir. Şekil 5.18 ve Şekil 5.19’da da görüldüğü üzere sonuçlara bakıldığında en iyi sonuçlar 20kHz frekansta 20°C, 60 min ve 60°C, 10 min koşullarında elde edilmiştir.



Şekil 5.22 Ekstraksiyon sıcaklığı (20, 40, 60°C) ve süresinin (10, 30, 60 min) UBE yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarına etkisi

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında nar kabuğundan polifenollerin ekstraksiyonu ve elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesi ile toplam fenolik madde miktarı incelenmiştir. Farklı ekstraksiyon yöntemleri, ekstraksiyon sıcaklıkları, ekstraksiyon süreleri ve farklı çözücülerin ekstraksiyon verimi, toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır.

Gıda işleme esnasında ortaya birçok atık çıkmaktadır. Bu atıkların hem çevre kirliliğinin önlenmesi hem de ekonomik açıdan bakıldığında katma değer yaratması açısından önemi her geçen gün artmaktadır. Kabuk ve çekirdek atıkları fenolik bileşikler açısından oldukça kıymetlilerdir. Bu kıymetli fenolik bileşikler ısı, ışık ve oksijene karşı oldukça hassas bileşikleridir. Fenolik bileşiklerin stabilitesini korumak amacıyla da etkili bir ekstraksiyon yöntemi kullanmak oldukça önemlidir. Bu amaçla bu çalışmada nar kabuklarına dört farklı ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır ve analizleri gerçekleştirilmiştir. Genel olarak bakıldığında, soxhlet, karıştırılmış tank ve ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak ekstraksiyon verimleri elde edilmiştir. Soxhlet ekstraksiyon yönteminde beş farklı çözücünün ekstraksiyon verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Yöntemde çözücü olarak; %96 Etanol, aseton, 2-propanol, etil asetat ve *n*-pentan kullanılmıştır. Çözücü %96 Etanol iken en yüksek ekstraksiyon verimi %51.28 olarak elde edilmiştir.

Karıştırmalı tank ekstraksiyon yöntemine baktığımız zaman ise, çözücü olarak farklı su içeriklerine sahip etanol çözeltileri kullanılarak farklı sıcaklıklarda ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır. Çözücü %96 Etanol ve %70 Etanol iken; ekstraksiyon 20, 40 ve 60°C sıcaklıklarında gerçekleştirilmiştir. Çözelti içerisinde suyun miktarı arttıkça döner buharlaştırıcıda çözücünün uzaklaştırılma süresi uzamıştır. Bu sebepten dolayı çözücü %50 Etanol, %30 Etanol ve saf su iken; 80°C ekstraksiyon sıcaklığının da etkisine bakılmıştır. Bu sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyonun döner buharlaştırıcıda çözücünün uzaklaşma süresinde kayda değer bir değişimi olmamakla birlikte

ekstraksiyon verimi ve antioksidan aktivitesinde de azalma görülmektedir. Çözücü %70 Etanol, sıcaklık 40°C, ekstraksiyon süresi 3 h iken bu yöntem için en yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmiştir (49.58%). Li (2006) yaptığı çalışmada nar kabuklarının farklı etanol konsantrasyonlarında ve farklı ekstraksiyon sürelerinde elde edilen ekstraktlarının ekstraksiyon verimlerini karşılaştırılmıştır ve en yüksek verim %63 etanol , 22 min ve 25°C koşullarında %14.8 olarak tespit edilmiştir.

Soxhlet ve karıştırmalı tank ekstraksiyon yöntemlerinin her ikisinde de %96 Etanol çözücü olarak kullanılmıştır. Karşılaştırma yapıldığında, soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile daha fazla ekstrakt elde edildiği görülmektedir (%51.28). Karıştırmalı tank ekstraksiyonunda sıcaklıklar 20, 40, 60 °C iken; ekstraksiyon verimi sırasıyla 23.90, 38.98, 36.42% olarak elde edilmiştir. Antioksidan aktivilerine bakıldığında ise; soxhlet ekstraksiyon için değer 4.52 µg/ml'dir. Karıştırmalı tank ekstraksiyonu için sırasıyla 7.69, 8.6, 8.62 µg/ml'dir. Karıştırmalı tank ekstraksiyonun antioksidan aktivitelerine bakıldığında; sıcaklık artışı ile birlikte aktivitenin azaldığı görülmektedir.

Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon metodunda iki farklı yöntemin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu yöntemlerden ilki problu problu söddür. Frekansları 20 kHz ve 30 kHz olan iki farklı problu södde ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir ve sonuçları karşılaştırılmıştır. Bir diğer yöntem ise ses ötesi dalga destekli banyodur. Farklı sıcaklık (20,40,60°C) ve ekstraksiyon sürelerinde (10,30,60 min) ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Frekansı 30 kHz olan problu södde kullanılan çözücüler aseton, saf su ve %70 EtOH'dür. En yüksek ekstraksiyon verimi (%30) %70EtOH ile elde edilmiştir. Karıştırılmış ekstraksiyon, aynı çözücü (%70 EtOH) kullanılarak ultrason ekstraksiyonu ile karşılaştırılırsa, sonuçlar, karıştırılan ekstraksiyon yöntemi ile daha fazla ekstraktın elde edildiğini göstermektedir. Frekans 20 kHz iken gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda ekstraksiyon verimlerine bakıldığında en yüksek ekstraksiyon verimi çözücü %70 EtOH, sıcaklık 40 °C ve ekstraksiyon süresi 10 min koşullarında %54.16 olarak bulunmuştur. Pan (2012) yaptığı araştırmada darbeli ses ötesi dalga destekli çözücü

ekstraksiyonu ile %14.5 ekstraksiyon verimi elde etmiştir. Goula (2015) yaptığı araştırmada %12.6 ekstraksiyon verimi elde etmiştir. Kaderides (2015) ise araştırmaları sonucunda %13.5 ekstraksiyon verimi elde etmiştir. Kazemi (2016) yılında çözücü olarak %70 EtOH, ekstraksiyon süresi 10 min koşullarında %40 ekstraksiyon verimi elde etmiştir.

Ses ötesi dalga destekli banyo ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda en yüksek ekstraksiyon verimi 20 °C sıcaklık ve 30 min ekstraksiyon süresi koşullarında elde edilmiştir ve ekstraksiyon verimi %51.49 olarak bulunmuştur. Ses ötesi dalga destekli işlem uygulanarak geleneksel ekstraksiyona kıyasla daha kısa sürede verim elde etmenin mümkün olduğu görülmektedir. Daha düşük sıcaklıkta ve daha kısa sürede benzer antioksidan özelliklere ve benzer fenolik madde miktarı içeriğine sahip ekstraktların elde edilmesinin mümkün olduğu çalışma sonuçları değerlendirildiğinde görülmektedir.

Bilindiği üzere fenolik bileşikler ısıya duyarlılardır. Isıl işlemlerin uygulanması sonucunda bitkilerin yapısında bulunan maddelerin etkilenmesi ile birlikte kalite özellikleri, duyu özellikleri, besinsel özelliklerinde değişimler olmaktadır. Uygulanan işlemin sonucunda işlem türü ve ısı derecesine göre fenolik özelliklerde artma ya da azalma gibi değişiklikler olmaktadır. Uygulanan ısıl işlemlerin derecelerine bağlı olarak pro-oksidan ve antioksidan moleküller oluşabilmektedir (Meral, 2016). Bunun yanı sıra, besinin yapısında doğal halde bulunan antioksidanların yıkıma uğraması veya yeni antioksidan aktiviteye sahip bileşenlerin de oluşabilme durumu olmaktadır. Sıcaklık artışı ile nar kabuğu yapısında bulunan fenolik bileşenlerin artması ya da antioksidan aktivitesinin artması belli nedenlerle açıklanabilir. Yapısında bulunan fitokimyasalların serbest kalması sonucunda nar kabuğunun antioksidan aktivitesi artmış olabilmektedir. Aynı şekilde yapısında bulunan fenolik bileşenlerin ısıya maruz kalması sonucunda serbest hale gelmesi ve böylelikle fenolik madde miktarının arttığı düşünülmektedir (Meral, 2016).

Nar kabuğu yapısında gallik asit bulundurmaktadır. Rakic ve ark. (2007) yaptığı araştırmada, Quercus robur (QR) ve Quercus cerris (QC) bitkilerine ısıt işlem uygulanmıştır ve ısıt işlem uygulanmış ve uygulanmamış bitkilerin toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktiviteleri karşılaştırılmıştır. Isıt işlem uygulanmış olan bitkilerin toplam fenolik madde miktarlarında uygulanmayanlara oranla düşüş gözlemlenmiştir. Fakat ısıt işlem görmüş olan bitkilerin yapısında ise ısıt işlem görmeyenlere oranla gallik asit miktarında artış görülmüştür. Bu çalışmada gallik asit türevlerinin antioksidan aktivitesini artırmada etkili olduğu gözlemlenmiştir. Aslında bu çalışma sonuçları ile bakıldığında, fenolik madde miktarının yanı sıra türünün de antioksidan aktivitesi üzerinde etkili olduğu görülmektedir. Bu çalışma da göz önüne alınırsa sıcaklık artışı ile madde yapısında bulunan gallik asit miktarının artması ile antioksidan aktivitesinin artmasının mümkün olduğu düşünülmektedir.

Nar kabuğunun yapısında bulunan bileşenlerin ve bu bileşenlerin oranlarının, hatta bileşenlerin birbirleri ile olan etkileşimlerinin, ısıt işleme maruz kalma sonucunda oluşabilecek reaksiyonların, bu reaksiyonlar ile birlikte nar kabuğunun yapısında bulunan toplam fenolik madde miktarının ve antioksidan aktivitesinin de değişebileceği düşünülmektedir.

Fenolik bileşiklerin kompleks yapıya sahip olmaları aslında ısıt işleme maruz kalmaları esnasında davranışlarını değiştirmektedir. Bazı fenolik bileşikler sıcaklık artışı ile serbest bir hale geçerken bazı fenolik bileşikler ise bu artış sonucunda inaktif olabilmektedirler. Genel olarak yorumlamak gerekirse, yapısında bulunan fenolik bileşikler ve sahip olduğu antioksidan aktivite sıcaklık artışı ile ve ısıt işleme maruz kalma süresiyle azalma veya artış gösterebilmektedir. Bunun sebebi olarak, nar kabuğu yapısındaki maddelerin miktarları, bu maddelerin birbirleri ile etkileşimi, bu yapıya uygulanan teknolojik işlemler, bu işlemlerin ne kadar süre uygulandığı, uygulanan sıcaklığın miktarı olarak düşünülebilir. Analiz esnasında kullanılan çözücü, çözücü/katı oranı, ekstraksiyon yöntemi, depolama koşulları hem sonuçların farklı olmasında hem de uygulanan koşullar sonucunda kabuğun yapısında bulunan fenolik

madde miktarı ve antioksidan aktivitenin artma ve azalmasında önemli etkenler olduğu düşünülmektedir.

Çalışma sonuçlarına bakıldığında, ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yöntemi ile daha kısa sürede ve daha düşük sıcaklıklarda daha yüksek verim elde edildiği görülmektedir. Bu durum bitkisel materyal açısından da endüstriyel açıdan da avantaj sağlamaktadır. Termal olarak kararsız olan materyallerde ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı arttıkça verim olarak genelde bir azalma görülmektedir. Bu durumun ise fenolik bileşiklerin ısıya karşı bozunması veya polimerizasyon reaksiyonlara bağlı olarak azalması kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerine bakıldığında; soxhlet ekstraksiyon yönteminde çözücü olarak kullanılan asetonun ekstraktlarının antioksidan aktivitesi yüksek çıkmıştır. Bu sebepten dolayı karşılaştırma amacıyla, aseton hem karıştırmalı tank hem de ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yöntemleri için çözücü olarak kullanılmıştır. Karıştırmalı tank ekstraksiyon yönteminde çözücü aseton iken; ekstraksiyon sıcaklıkları 20 ve 40°C'dir. Bu yöntemde ekstraksiyon verimi belirtilen sıcaklıklara göre sırasıyla; 7.55% ve 12.47%'dir. Soxhlet ekstraksiyon yöntemine bakıldığında ise ekstraksiyon verimi 40.02% olarak bulunmuştur. Antioksidan aktivitelerine bakılacak olursa karıştırmalı tank ekstraksiyonunda değerler sırasıyla; 6.89 ve 3.38 µg/ml'dir. Sıcaklık artışı ile birlikte hem ekstraksiyon verimi hem de antioksidan aktivitesinde doğru orantılı bir artış görülmektedir. Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktın antioksidan aktivite değeri ise 3.51 µg/ml'dir. Mansour (2013) yaptığı araştırmada metanol ekstraktlarının 1.9 µg/ml; su ekstraktlarının ise 10.2 µg/ml antioksidan aktivitesi değerlerine ulaşmıştır. Bu araştırmada ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yönteminde su çözücü olarak kullanıldığında antioksidan aktivite değeri 16.13 µg/ml olarak elde edilmiştir. Masci (2017) ise araştırmaları sonucunda etil asetat ekstraktlarının 2.120 µg/ml antioksidan aktivitesi gösterdiğini bulmuştur. Yapılan bu araştırmada soxhlet ekstraksiyon yönteminde etil asetat çözücü olarak kullanıldığında antioksidan aktivite değeri 8.913 µg/ml bulunmuştur.

Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu yöntemleri ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları tayin edilmiştir. Sonuçlara bakıldığında 20 kHz frekans, 60 °C sıcaklık ve 10 min ekstraksiyon süresinden en yüksek toplam fenolik madde miktarı elde edilmiştir ve 2305 µgGAE/gkurukabuk.dk olarak hesaplanmıştır. Matin (2017) TFM miktarını 204.95 mgGAE/gkurukabuk, Kazemi (2016) ekstraksiyon süresi 10 dakika, 105 W/cm² güç yoğunluğu, 5/5 periyod koşullarında 318 mgGAE/gkurukabuk; Zivkoviç (2018) ekstraksiyon süresi 25 dakika, etanol konsantrasyonu %59, çözücü/katı oranı 44 ve ekstraksiyon sıcaklığı 80 °C koşullarında 157.35 mgGAE/gkurukabuk olarak elde etmiştir. Wang 2008 yılında yaptığı çalışmada da en yüksek miktarda toplam fenolik madde miktarına 28.29 mg GAE/g nar kabuğu ile %64 etanol konsantrasyonunda, 60°C’de, 25 dk da elde edilmiştir. Pan (2011) yaptığı çalışmada ekstraksiyon sıcaklığı 45°C, ekstraksiyon süresi 60 min ve çözücü etanol iken toplam fenolik madde miktarını 283.28 mgGAE/gkurukabuk olarak elde etmiştir. Demir (2019) yılında yaptığı çalışmada %25 etanol, 80°C sıcaklık ve 70 min ekstraksiyon süresi koşullarında toplam fenolik madde miktarını 283.38 mg GAE/gkurukabuk olarak bulmuştur.

Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yönteminde düşük enerji ile yüksek verimlilik söz konusudur. Bu durumu klasik ekstraksiyon yöntemi ile kıyasladığımızda iyi bir alternatif olarak kullanılabilirliği görülmektedir. Geleneksel Soxhlet yöntemi veya karıştırmalı tank ekstraksiyon yöntemi yerine ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon kullanımı her geçen gün ilaç, gıda, kimyasal endüstride artmaktadır. Buna ek olarak, ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yönteminde kullanılan çözücü miktarının ve ekstraksiyon süresinin azalması uzun vadede düşük maliyetli bir yöntem olduğunu göstermektedir. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde, ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yönteminin güvenilir bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Bütün bu veriler değerlendirildiğinde ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon tekniği yeni, çağımız koşullarında en önemli etkenlerden birisi olan zaman açısından oldukça avantajlar sağlayan bir teknik olması nedeniyle ilerleyen yıllarda öneminin

daha da artıracığı, fiyatının daha da ucuzlayacağı düşünülmektedir. Ekstraksiyon verimliliği işlem esnasında kullanılan çözücüye de bağlı olarak, ses ötesi dalga uygulama gelişmişliği, etanol:su çözücü konsantrasyonu,yüksek verim ve düşük maliyet, çevreye düşük toksisite özelliği sayesinde uygun olması açısından en iyi çözücülerden birisi olarak seçilebilmektedir. Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde benzer şekilde ekstraksiyon verimi alınması baz alındığında; ses ötesi dalga destekli banyonun ses ötesi dalga destekli proba bir alternatif olarak kullanılabilirliği öngörülmektedir.

Genel olarak, polifenollerin güçlü antioksidan aktiviteleri olan ekstraktlar farklı ekstraksiyon yöntemlerinden elde edildi. Bu nedenle, bu kalıntılar doğal antioksidanların ekstraksiyonu için başarıyla uygulanabilir.

Bu doğal ekstratlar, çevre dostu çözücüler kullanarak endüstriyel atıklardan elde etmek için, başka türlü atılabilir bir malzemeye değer katabiliriz. Bu doğal özler gıda, ilaç veya kozmetik endüstrilerinde kullanılabilir ve toksik olmamaları nedeniyle onları sentetik antioksidanlarla karşılaştırmak daha uygundur.

Bu çalışmada bulunan bulgularla literatür araştırmaları karşılaştırıldığında; ekstraksiyon verimi literatüre göre daha yüksek çıkmışken; toplam fenolik madde miktarı literatüre kıyasla daha düşük çıkmıştır. Bunun sebebi olarak ise; narın yetiştiği bölge, yetişme koşulları, cihazın markası, uygulama teknikler ve uygulama esnasında fenolik bileşiklerin aktive veya inaktive olmasına bağlı olması düşünülmektedir.

Çizelge 6.1 Bu çalışmada elde edilen deneysel bulgular ile literatür sonuçlarının karşılaştırılması

Kaynak	Ekstraksiyon Tipi	Parametreler	Sonuçlar
Bu çalışmada	Klasik Ekstraksiyon	%70 Etanol, ekstraksiyon süresi 3h, Ekstraksiyon sıcaklığı 20°C	Ekstraksiyon Verimi: 49.58%
Li, 2006	Klasik Ekstraksiyon	%63 Etanol, ekstraksiyon süresi 3h, Ekstraksiyon sıcaklığı 20°C	Ekstraksiyon Verimi: 14.8%
Bu çalışmada	Ses ötesi dalga destekli Banyo	Çözücü %70 Etanol, ekstraksiyon süresi 30 min, ekstraksiyon sıcaklığı 40°C	Ekstraksiyon Verimi: 35.95%
Bargezar, 2007	Ses ötesi dalga destekli Banyo	Çözücü Etanol, ekstraksiyon süresi 30 min, ekstraksiyon sıcaklığı 40°C	Ekstraksiyon Verimi: 25.3%
Bu çalışmada	Probu ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu	%70 Etanol, 10 min ekstraksiyon süresi ve 20°C ekstraksiyon sıcaklığı	Ekstraksiyon Verimi: 54.16%
Kazemi, 2016	Probu ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu	%70 Etanol, 10 min ekstraksiyon süresi ve 20°C ekstraksiyon sıcaklığı	Ekstraksiyon Verimi: 40%

Çizelge 6.1 Bu çalışmada elde edilen deneysel bulgular ile literatür sonuçlarının karşılaştırılması (devamı)

Kaynak	Ekstraksiyon Tipi	Parametreler	Sonuçlar
	Ses ötesi dalga destekli banyo	%70 Etanol, ekstraksiyon sıcaklığı 60°C, ekstraksiyon süresi 20 min	TFM: 16.81 mg GAE/gkurukabuk
Wang, 2008	Ses ötesi dalga destekli banyo	%64 Etanol, ekstraksiyon sıcaklığı 60°C, ekstraksiyon süresi 25 min	TFM: 28.29 mg GAE/gkurukabuk
Bu çalışmada	Probu ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu	Çözücü su	Antioksidan aktivite: 10.2 µg/ml
Mansour, 2017	Probu ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyonu	Çözücü su	Antioksidan aktivite: 16.13 µg/ml

KAYNAKLAR

- Büyüktüncel E. S. 2012. “Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I” Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32, 209-242.
- C.J.Geankoplis. Transport processes and separation process. Pearson. Unites States of America.2014.803-809.
- Çam M., 2009. Basınçlı Çözücü Ekstraktörü Kullanılarak Nar Kabuğu ve Çekirdeğinin Antioksidan Bileşiklerin Su ile Ekstraksiyonu, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İzmir.
- Derakhshan Z., Ferrante M., Tadi M., Ansari F., Heydari A., Hooseni M., Conti O., Sadrabad E. 2018. “Antioxidant activitiy and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds, Food and Chemical Toxicology” 114, 108-111.
- Goula M.A., Lazarides H.N. 2015. “Integrated processes can turn industrial food waste into valuable food by-products and/or ingredients: The cases of olive mill and pomegranate wastes”, Journal of Food Engineering, 167, 45-50.
- Gökmen S., Palamutoğlu R., Sarıçoban C. 2012. “Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları”, Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7, 36-50.
- Hungarian Pharmacopeia 2.8.14.2008.232
- Kaderides K., Goula A., Adamopoulos K. 2015 “. A process for turning pomegranate peel into a valuable food ingredien using ultrasoun-assisted extraction and encapsulation”, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 31, 204-215.
- Kazemi M., Karim R., Mirhosseini H., Hamid A. A. 2016. “Optimization of pulsed ultrasonic-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: punicalagin and hydroxybenzoic acids” , Food Chem. 206 ,156–166.
- Kaufmann, B. and Christen, P., 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised çözücü extraction, Phytochemical Analysis, (13): 105-113.
- MERAL (2016). Farklı Isıl İşlem Uygulamalarının Fenolik Bileşenler Üzerine Etkisi. In *Journal of The Institute of Natural & Applied Sciences*. Vol. 21, Issue 1.
- Orak, H.H., Yagar, H., Isbilir, S.S. 2012. “Comparison of antioxidant activities of juice, peel, and seed of pomegranate (*Punica granatum* L.) and inter-relationships with total phenolic, tannin, anthocyanin, and flavonoid contents”, Food Sci. Biotechnol, 21, 373–387.
- Pan, Z., Qu, W., Ma, H., Atungulu, G. G. McHugh, T. H. 2012. “Continuous and pulsed ultrasound-assisted extractions of antioxidants from pomegranate peel” Ultrasonics Sonochemistry, 19, 365–372.

- P.Molyneux. *The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl(DPPH) for estimating antioxidant activity*. Songklanakarin J. Sci. Technol.2004.211-219.
- Rakic, S., Petrovic, S., Kukic, J., Jadranin, M., Tesevic, V., 2007. Influence of thermal treatment on phenolic compounds and antioxidant properties of oak acorns from Serbia. Food Chemistry, 2: 830-834.
- Richter, B.E., Jones, B.A., Ezzell, J.L. and Porter, N.L., 1996. Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation, Analytical Chemistry, (68): 1033.
- Self, R., 2005. Extraction of organic analytes from foods: a manual of methods, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 387 pp
- S. S. Handa; S. P. S. Khanuja; G. Longo; D. D. Rakesh. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International centre for science and high technology. Trieste.2008.23-24.
- Tabaraki, R., Heidarizadi, E., & Benvidi, A. 2012. "Optimization of ultrasonic assisted extraction of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel antioxidants by response surface methodology", Separation and Purification Technology, 98, 16–23.
- Tamer C. E. 2006. "Nar: Bileşimi ve insan sağlığı üzerine etkileri", Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi, 9, 48-51.
- Turhan S., Üstün N. Ş. 2006. "Doğal antioksidanlar ve gıdalarda kullanımı " Türkiye 9. Gıda Kongresi, 273-276.
- T.C.Lo; M.H.I.Baird; C.Hanson. *Handbook of Çözücü Extraction*. Wiley-Interscience Publication.1983.593-603.

EKLER

EK 1 Soxhlet Ekstraksiyon Metodu

EK 2 Kariştirmali Tank Ekstraksiyon Metodu

EK 3 Ses Ötesi Dalga Destekli Çözücü Ekstraksiyon

EK 4 Ekstrakstların DPPH ile Antioksidan Aktivitelerinin Analizi



EK 1 Soxhlet Ekstraksiyon Metodu

Elde edilen ekstraktın %96 EtOH ekstraksiyon verimi

m_{balon}	m_{materyal}	m_{kuruağırlıkta} materyalinkütlesi	m_{balon+ekstrakt}	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
135.3889	22.2842	19.9870	144.4199	9.031	45.184
113.9702	21.4472	19.2363	123.9329	9.9627	51.791
120.9585	22.212	19.9222	132.1966	11.2381	56.410
				Ortalama(±):	51.128 5.642

Elde edilen ekstraktın aseton ekstraksiyon verimi

m_{balon}	m_{materyal}	m_{kuruağırlıkta} materyalinkütlesi	m_{balon+ekstrakt}	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
118.055	23.081	20.7016	125.93	7.875	38.040
122.355	20.729	18.5921	130.63	8.275	44.508
134.634	21.3316	19.1326	141.81	7.176	37.507
				Ortalama(±):	40.018 3.897

Elde edilen ekstraktın n-pentan ekstraksiyon verimi

m_{balon}	m_{materyal}	m_{kuruağırlıkta} materyalinkütlesi	m_{balon+ekstrakt}	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
115.9403	23.0354	20.6607	116.0047	0.0644	0.312
115.173	20.6888	18.5561	115.2386	0.0656	0.354
119.0815	23.5051	21.0820	119.1556	0.0741	0.351
				Ortalama(±):	0.339 0.024

Elde edilen ekstraktın etil asetat ekstraksiyon verimi

m_{balon}	m_{materyal}	m_{kuruağırlıkta} materyalinkütlesi	m_{balon+ekstrakt}	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
115.9371	23.8461	21.3879	117.21	1.2729	5.952
111.248	23.764	21.3142	112.5	1.252	5.874
113.5009	23.2045	20.8124	114.97	1.4691	7.059
				Ortalama(±):	6.295 0.663

Elde edilen ekstraktın 2-propanol ekstraksiyon verimi

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuruağırlıkta}}$ $m_{\text{materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi (g/100 g kurukabuk)	
139.21	21.5659	19.3427	147.4133	8.2033	42.410	
115.16	21.8004	19.5531	123.7993	8.6393	44.184	
119.0798	22.0336	19.7622	127.6519	8.5721	43.376	
				Ortalama($\pm$):	43.323	0.888

EK 2 Karıştırılmalı Tank Ekstraksiyon Metodu

Elde edilen ekstraktın %96 EtOH ekstraksiyon verimi (20°C)

m_{balon}	$m_{materyal}$	$m_{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}$	$m_{balon+ekstrakt}$	$m_{ekstrakt}$	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
111.5	50.5652	45.3526	122.34	10.84	23.902

Elde edilen ekstraktın %96 EtOH ekstraksiyon verimi (40°C)

m_{balon}	$m_{materyal}$	$m_{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}$	$m_{balon+ekstrakt}$	$m_{ekstrakt}$	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
135.6056	50.47	45.2672	153.23	17.6244	38.934

Elde edilen ekstraktın %96 EtOH ekstraksiyon verimi (60°C)

m_{balon}	$m_{materyal}$	$m_{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}$	$m_{balon+ekstrakt}$	$m_{ekstrakt}$	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
120.95	50.2	45.0250	137.35	16.4	36.424

Elde edilen ekstraktın %70 EtOH ekstraksiyon verimi (20°C)

m_{balon}	$m_{materyal}$	$m_{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}$	$m_{balon+ekstrakt}$	$m_{ekstrakt}$	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
132.8117	50.2	45.025	155.3498	24	43.98

Elde edilen ekstraktın %70 EtOH ekstraksiyon verimi (40°C)

m_{balon}	$m_{materyal}$	$m_{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}$	$m_{balon+ekstrakt}$	$m_{ekstrakt}$	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
111.0157	50.58	45.3659	133.51	22.4943	49.584

Elde edilen ekstraktın %70 EtOH ekstraksiyon verimi (60°C)

m_{balon}	$m_{materyal}$	$m_{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}$	$m_{balon+ekstrakt}$	$m_{ekstrakt}$	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
121	50.86	45.6170	142.055	21.1	46.255

Elde edilen ekstraktın %50 EtOH ekstraksiyon verimi (20°C)

m_{balon}	$m_{materyal}$	$m_{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}$	$m_{balon+ekstrakt}$	$m_{ekstrakt}$	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
135.6156	50	44.8456	152.277	16.6614	37.153

Elde edilen ekstraktın %50 EtOH ekstraksiyon verimi (40°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
135.6051	50.16	44.9891	151.3387	15.7336	34.972

Elde edilen ekstraktın %50 EtOH ekstraksiyon verimi (60°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
132.8117	50.71	45.4825	150.0966	17.2849	38.003

Elde edilen ekstraktın %30 EtOH ekstraksiyon verimi (20°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
135.6156	50	44.8456	152.277	16.6614	37.153

Elde edilen ekstraktın %30 EtOH ekstraksiyon verimi (40°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
134.6436	50.34	45.1506	151.7969	17.1533	37.991

Elde edilen ekstraktın %30 EtOH ekstraksiyon verimi (60°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
132.8072	50.18	45.0071	148.7498	15.9426	35.422

Elde edilen ekstraktın Aseton ekstraksiyon verimi (20°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
111.018	50.26	45.0788	114.42	3.402	7.547

Elde edilen ekstraktın Aseton ekstraksiyon verimi (40°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
120.94	50.88	45.6349	126.63	5.69	12.469

Elde edilen ekstraktın Saf su ekstraksiyon verimi (20°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
134.67	50.11	44.9443	148.31	13.64	30.349

Elde edilen ekstraktın Saf su ekstraksiyon verimi (40°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
135.6056	50.47	45.2672	153.23	17.6244	38.934

Elde edilen ekstraktın Saf su ekstraksiyon verimi (60°C)

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuruağırlıktamateryalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)
110.99	52.23	46.8458	123.65	12.66	27.025

EK 3 Ses Ötesi Dalga Destekli Çözücü Ekstraksiyon

Elde edilen ekstraktın Aseton ekstraksiyon verimi

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)	
52.4145	5	4.4846	52.5357	0.1212	2.703	
52.5357	5	4.4846	52.688	0.1523	3.396	
52.688	5	4.4846	52.8444	0.1564	3.488	
				Ortalama($\pm$):	3.195	0.429

Elde edilen ekstraktın %70 Etanol ekstraksiyon verimi

m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)	
75.3413	5	4.4846	76.6659	1.3246	29.537	
76.6659	5	4.4846	78.0255	1.3596	30.317	
78.0255	5	4.4846	79.4371	1.4116	31.477	
				Ortalama($\pm$):	30.444	0.976

Elde edilen ekstraktın Saf su ekstraksiyon verimi

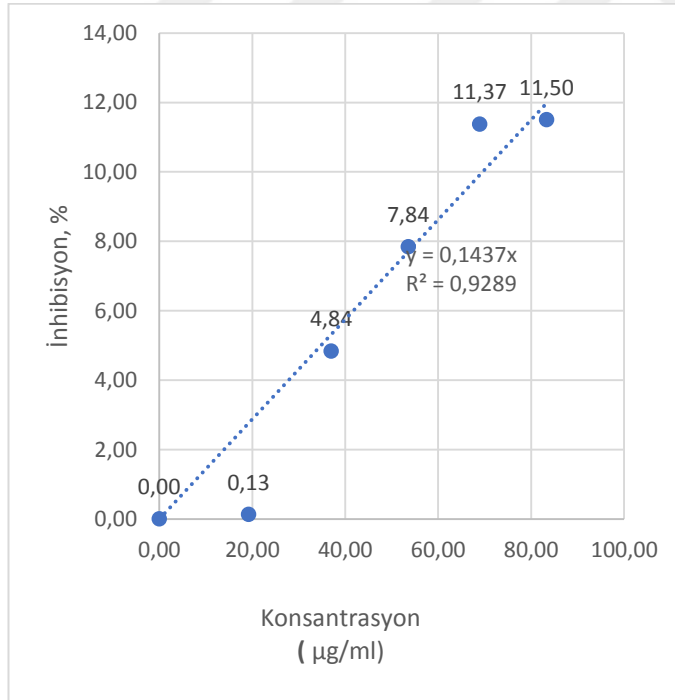
m_{balon}	m_{materyal}	$m_{\text{kuru ağırlıkta materyalinkütlesi}}$	$m_{\text{balon+ekstrakt}}$	m_{ekstrakt}	Ekstraksiyon verimi(g/100 g kurukabuk)	
69.0417	5	4.4846	70.3814	1.3397	29.874	
70.3814	5	4.4846	72.2677	1.8863	42.062	
72.2677	5	4.4846	73.4931	1.2254	27.325	
				Ortalama($\pm$):	33.087	7.877

EK 4 Ekstrakstların DPPH ile Antioksidan Aktivitelerinin Analizi

Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen n-pentan ekstaktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

n-pentan ekstraktlarının absorbansları

No	Örnek (μ l)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (μ g/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.765	0.00
2	100	2.5	19.23	0.764	0.13
3	200	2.5	37.04	0.728	4.84
4	300	2.5	53.57	0.705	7.84
5	400	2.5	68.97	0.678	11.37
6	500	2.5	83.33	0.677	11.50
				slope	0.1437
				IC ₅₀ [μ g/ml]	347.95

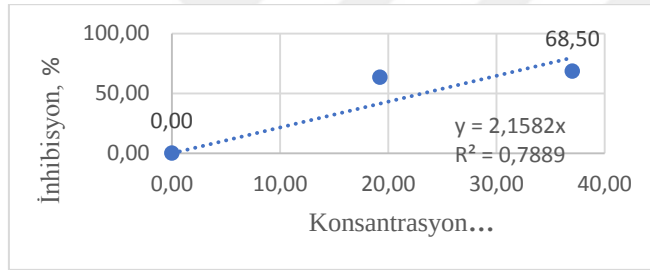


n-pentan örneklerinin inhibisyon eğimi

Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen %96 EtOH ekstaktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

%96 EtOH ekstraktlarının absorbanları

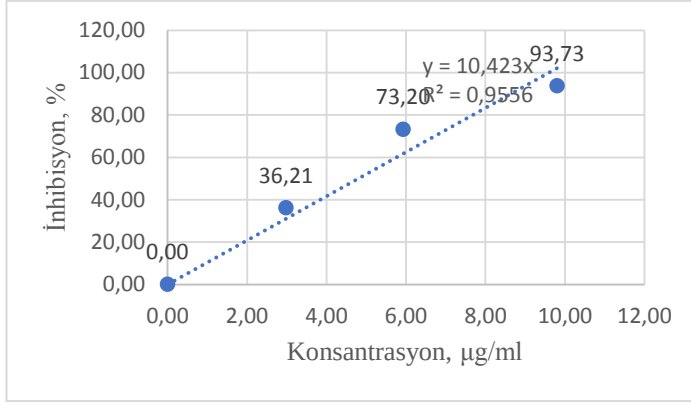
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.765	0.00
2	100	2.5	19.23	0.279	63.53
3	200	2.5	37.04	0.241	68.50
4	300	2.5	53.57	0.236	69.15
5	400	2.5	68.97	0.222	70.98
6	500	2.5	83.33	0.235	69.28
				slope	2.1582
				IC ₅₀ [µg/ml]	23.17



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi

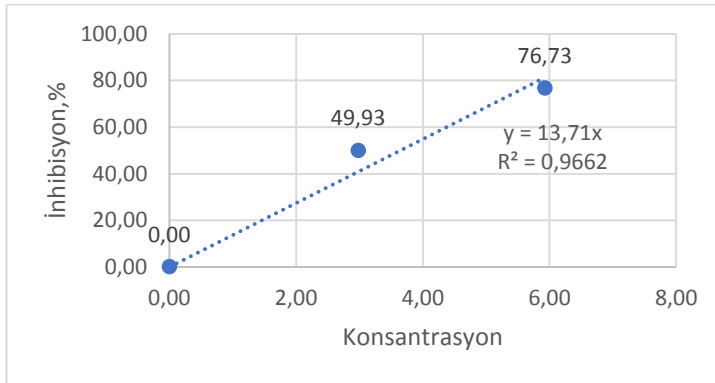
%96 EtOH ekstraktlarının absorbanları (1.tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.742	0.00
2	15	2.5	2.98	0.488	36.21
3	30	2.5	5.93	0.205	73.20
4	50	2.5	9.80	0.048	93.73
5	75	2.5	14.56	0.048	93.73
6	100	2.5	19.23	0.044	94.25
				slope	10.423
				IC ₅₀ [µg/ml]	4.80



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi (1.tekrar)
 %96 EtOH ekstraktlarının absorbansları (2.tekrar)

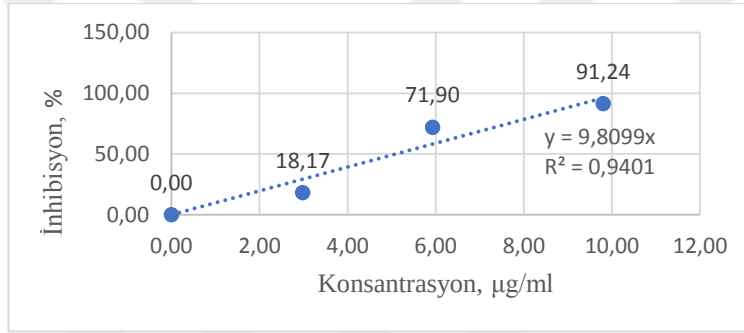
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.702	0.00
2	15	2.5	2.98	0.383	49.93
3	30	2.5	5.93	0.178	76.73
4	50	2.5	9.80	0.058	92.42
5	75	2.5	14.56	0.045	94.12
6	100	2.5	19.23	0.044	94.25
				slope	13.71
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.65



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi (2.tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbensları (3.tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.749	0.00
2	15	2.5	2.98	0.626	18.17
3	30	2.5	5.93	0.215	71.90
4	50	2.5	9.80	0.067	91.24
5	75	2.5	14.56	0.042	94.51
6	100	2.5	19.23	0.042	94.51
				slope	9.8099
				IC ₅₀ [µg/ml]	5.10

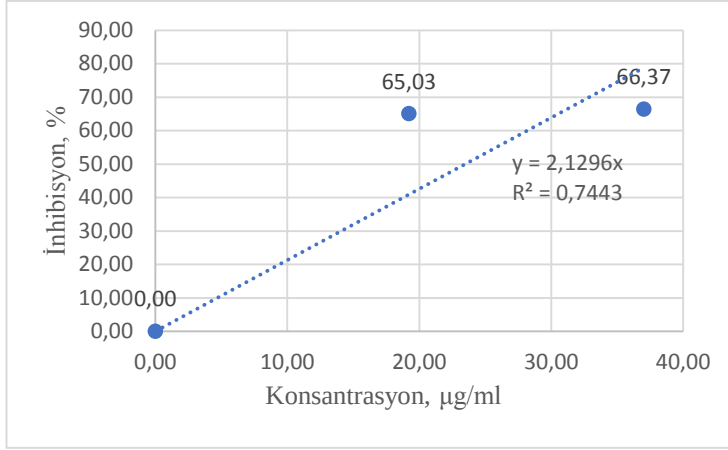


%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi (3.tekrar)

Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen Etil asetat ekstaktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

Etil asetat ekstraktlarının absorbensları

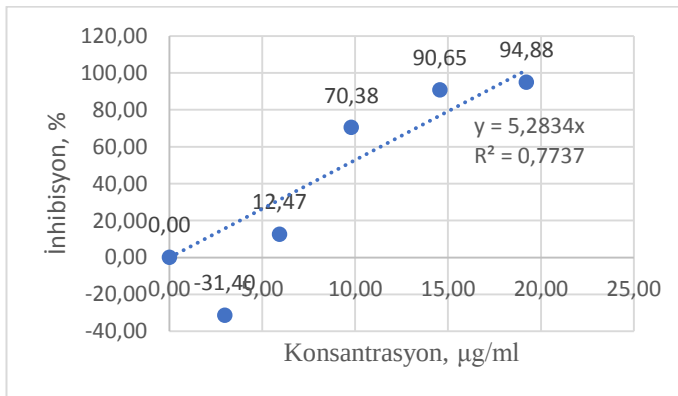
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.449	0.00
2	15	2.5	2.98	0.157	65.03
3	30	2.5	5.93	0.151	66.37
4	50	2.5	9.80	0.181	59.69
5	75	2.5	14.56	0.141	68.60
6	100	2.5	19.23	0.142	68.37
				slope	2.1296
				IC ₅₀ [µg/ml]	23.48



Etil asetat örneklerinin inhibisyon eğimi

Etil asetat ekstraktlarının absorbensları (1.tekrar)

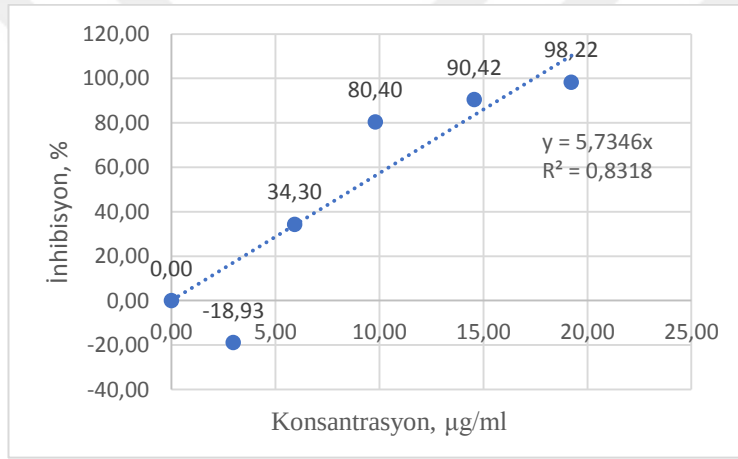
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.839	0.00
2	15	2.5	2.98	0.590	-31.40
3	30	2.5	5.93	0.393	12.47
4	50	2.5	9.80	0.133	70.38
5	75	2.5	14.56	0.042	90.65
6	100	2.5	19.23	0.023	94.88
				slope	5.2834
				IC ₅₀ [µg/ml]	9.46



Etil asetat örneklerinin inhibisyon eğimi (1.tekrar)

Etil asetat ekstraktlarının absorbensları (2.tekrar)

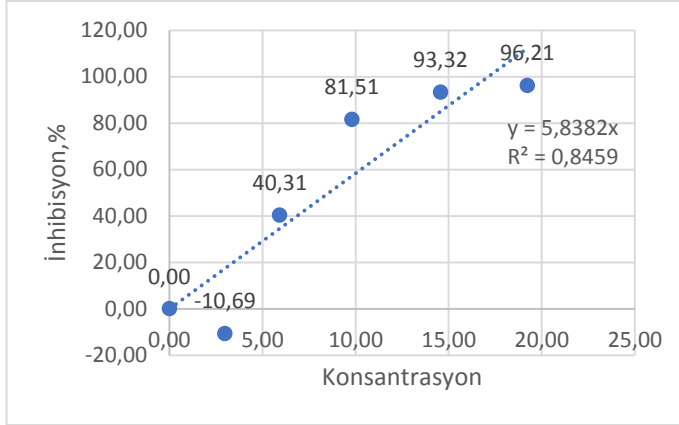
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.822	0.00
2	15	2.5	2.98	0.534	-18.93
3	30	2.5	5.93	0.295	34.30
4	50	2.5	9.80	0.088	80.40
5	75	2.5	14.56	0.043	90.42
6	100	2.5	19.23	0.008	98.22
				slope	5.7346
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.72



Etil asetat örneklerinin inhibisyon eğimi (2.tekrar)

Etil asetat ekstraktlarının absorbensları (3.tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.746	0.00
2	15	2.5	2.98	0.039	94.77
3	30	2.5	5.93	0.042	94.37
4	50	2.5	9.80	0.038	94.91
5	75	2.5	14.56	0.041	94.50
6	100	2.5	19.23	0.040	94.64
				slope	3.0534
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.38

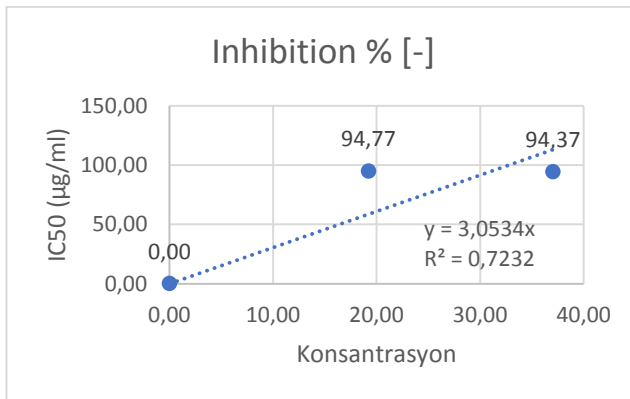


Etil asetat örneklerinin inhibisyon eğimi (3.tekrar)

Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen Aseton ekstaktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

Aseton ekstraktlarının absorbensları

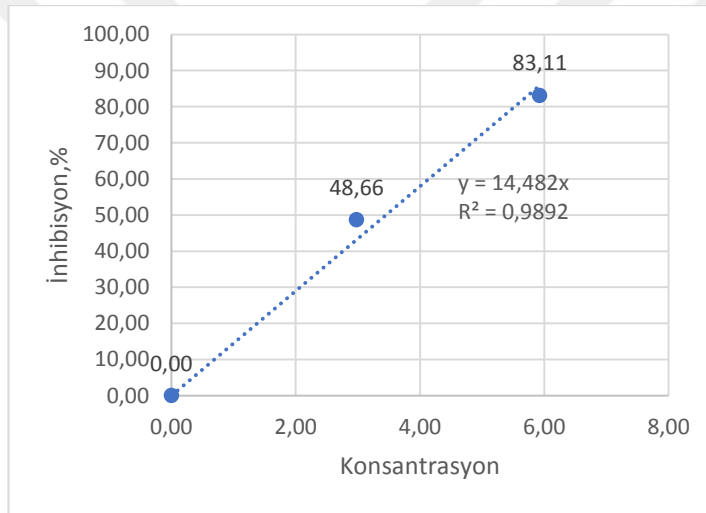
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.749	0.00
2	15	2.5	2.98	0.381	48.93
3	30	2.5	5.93	0.151	79.76
4	50	2.5	9.80	0.049	93.43
5	75	2.5	14.56	0.043	94.24
6	100	2.5	19.23	0.042	94.37
				slope	14.049
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.56



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi

Aseton ekstraktlarının absorbansları (1.tekrar)

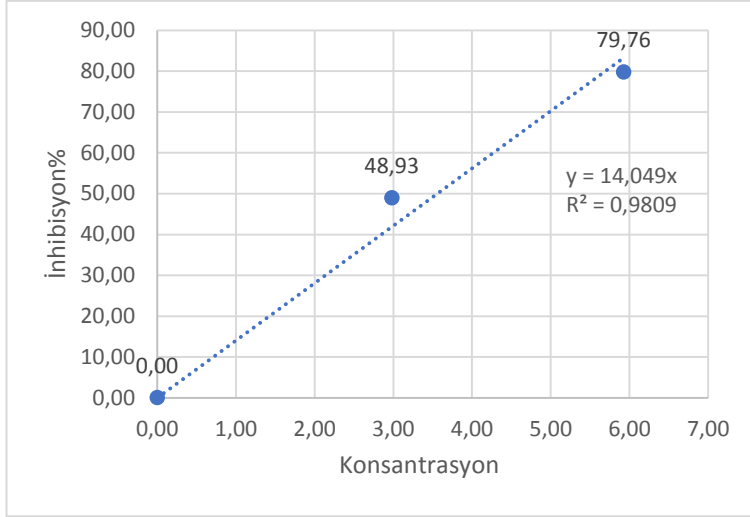
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.702	0.00
2	15	2.5	2.98	0.383	48.66
3	30	2.5	5.93	0.126	83.11
4	50	2.5	9.80	0.035	95.31
5	75	2.5	14.56	0.039	94.77
6	100	2.5	19.23	0.038	94.91
				slope	14.482
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.45



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi (1.tekrar)

Aseton ekstraktlarının absorbansları (2.tekrar)

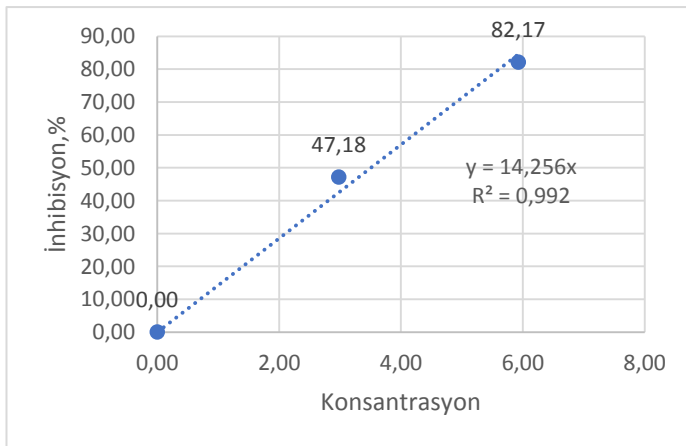
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.749	0.00
2	15	2.5	2.98	0.381	48.93
3	30	2.5	5.93	0.151	79.76
4	50	2.5	9.80	0.049	93.43
5	75	2.5	14.56	0.043	94.24
6	100	2.5	19.23	0.042	94.37
				slope	14.049
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.56



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi (2.tekrar)

Aseton ekstraktlarının absorbansları (3.tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.736	0.00
2	15	2.5	2.98	0.394	47.18
3	30	2.5	5.93	0.133	82.17
4	50	2.5	9.80	0.048	93.57
5	75	2.5	14.56	0.046	93.83
6	100	2.5	19.23	0.044	94.10
				slope	14.256
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.51

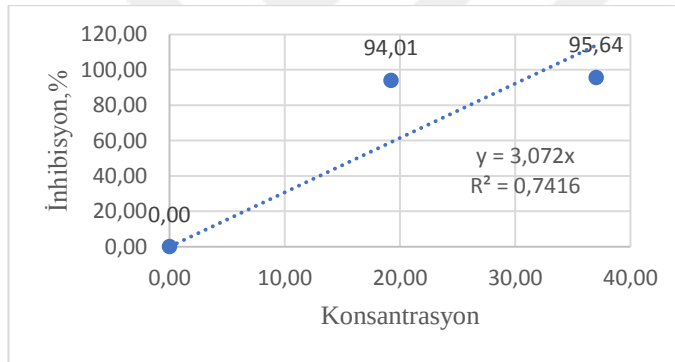


Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi (3.tekrar)

Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen 2-propanol ekstaktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

2-propanol ekstraktlarının absorbensları

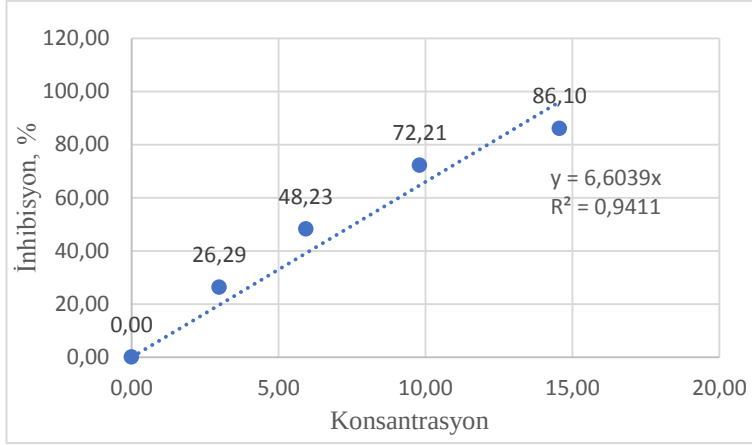
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.734	0.00
2	15	2.5	2.98	0.044	94.01
3	30	2.5	5.93	0.032	95.64
4	50	2.5	9.80	0.024	96.73
5	75	2.5	14.56	0.022	97.00
6	100	2.5	19.23	0.032	95.64
				slope	3.072
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.28



2-propanol örneklerinin inhibisyon eğimi

2-propanol ekstraktlarının absorbensları (1.tekrar)

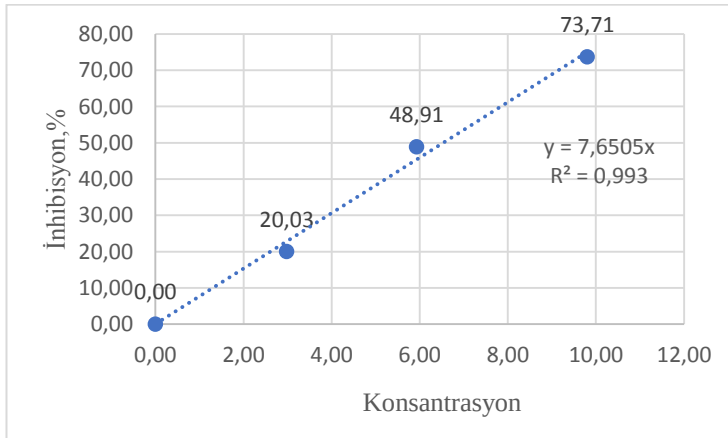
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.718	0.00
2	15	2.5	2.98	0.541	26.29
3	30	2.5	5.93	0.380	48.23
4	50	2.5	9.80	0.204	72.21
5	75	2.5	14.56	0.102	86.10
6	100	2.5	19.23	0.026	96.46
				slope	6.6039
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.57



2-propanol örneklerinin inhibisyon eğimi (1.tekrar)

2-propanol ekstraktlarının absorpsanları (2.tekrar)

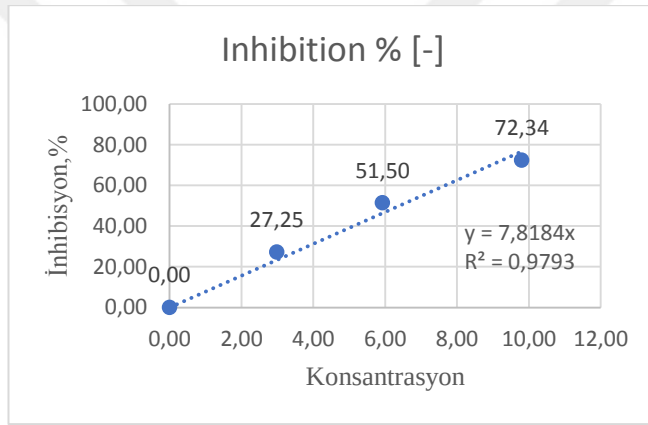
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.718	0.00
2	15	2.5	2.98	0.541	26.29
3	30	2.5	5.93	0.380	48.23
4	50	2.5	9.80	0.204	72.21
5	75	2.5	14.56	0.102	86.10
6	100	2.5	19.23	0.026	96.46
				slope	6.6039
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.57



2-propanol örneklerinin inhibisyon eğimi (2.tekrar)

2-propanol ekstraktlarının absorbansları (3.tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.714	0.00
2	15	2.5	2.98	0.534	27.25
3	30	2.5	5.93	0.356	51.50
4	50	2.5	9.80	0.203	72.34
5	75	2.5	14.56	0.078	89.37
6	100	2.5	19.23	0.035	95.23
				slope	7.8184
				IC ₅₀ [µg/ml]	6.40

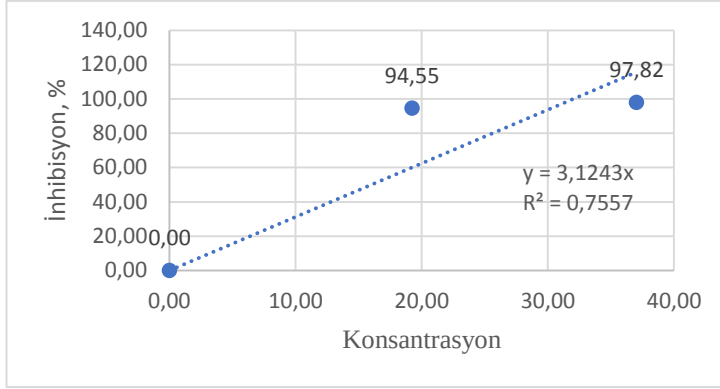


2-propanol örneklerinin inhibisyon eğimi (3.tekrar)

Karıştırmalı tank ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen %96 EtOH (20 °C) ekstaktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları (20°C)

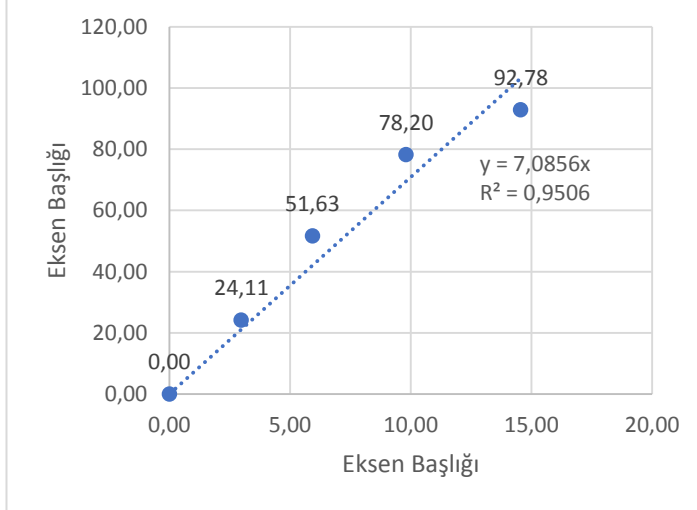
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.734	0.00
2	15	2.5	2.98	0.040	94.55
3	30	2.5	5.93	0.016	97.82
4	50	2.5	9.80	0.024	96.73
5	75	2.5	14.56	0.021	97.14
6	100	2.5	19.23	0.019	97.41
				slope	3.1243
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.00



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (1.tekrar)

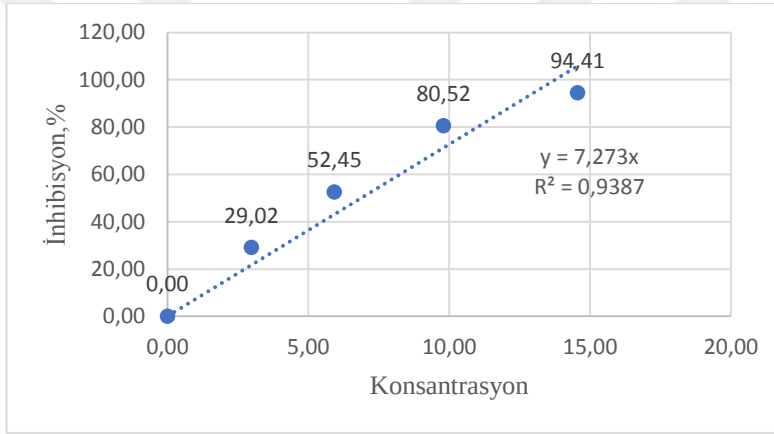
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.739	0.00
2	15	2.5	2.98	0.557	24.11
3	30	2.5	5.93	0.355	51.63
4	50	2.5	9.80	0.160	78.20
5	75	2.5	14.56	0.053	92.78
6	100	2.5	19.23	0.025	96.59
				slope	7.0856
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.06



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (1. tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (2. tekrar)

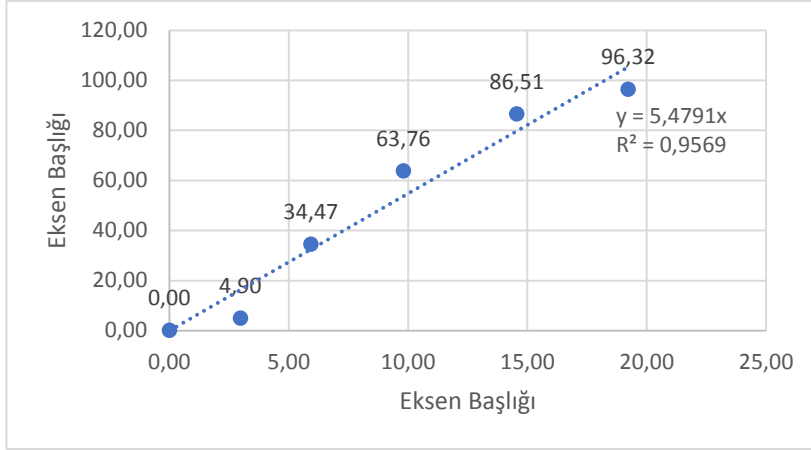
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.739	0.00
2	15	2.5	2.98	0.521	29.02
3	30	2.5	5.93	0.349	52.45
4	50	2.5	9.80	0.143	80.52
5	75	2.5	14.56	0.041	94.41
6	100	2.5	19.23	0.017	97.68
				slope	7.273
				IC ₅₀ [µg/ml]	6.87



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (2. tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (3. tekrar)

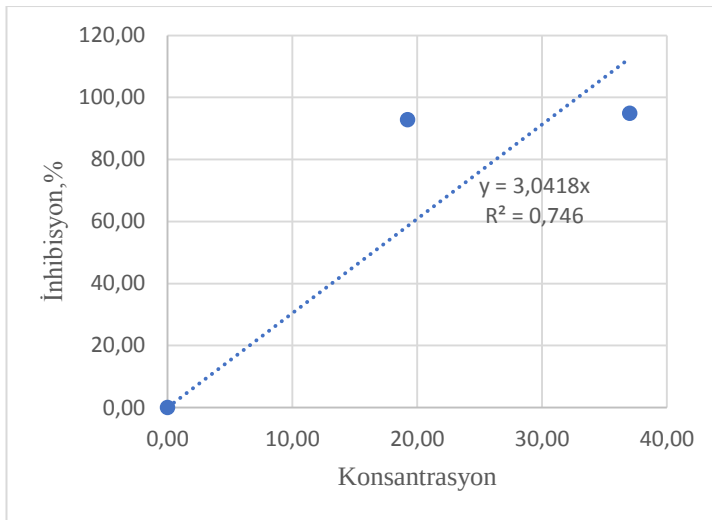
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.838	0.00
2	15	2.5	2.98	0.698	4.90
3	30	2.5	5.93	0.481	34.47
4	50	2.5	9.80	0.266	63.76
5	75	2.5	14.56	0.099	86.51
6	100	2.5	19.23	0.027	96.32
				IC ₅₀ [µg/ml]	9.13



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (3. tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C

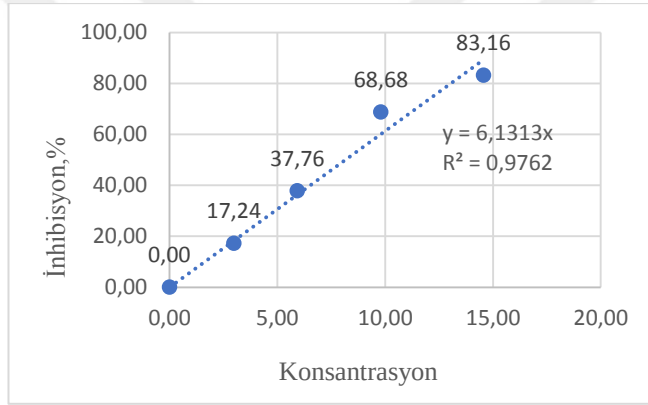
No	Örnek (μ l)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (μ g/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.760	0.00
2	15	2.5	2.98	0.055	92.76
3	30	2.5	5.93	0.039	94.87
4	50	2.5	9.80	0.035	95.39
5	75	2.5	14.56	0.031	95.92
6	100	2.5	19.23	0.020	97.37
				slope	3.0418
				IC ₅₀ [μ g/ml]	16.44



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (1.tekrar)

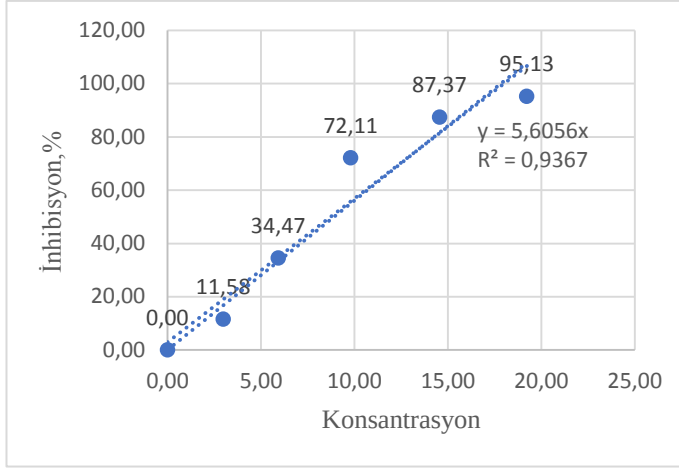
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.800	0.00
2	15	2.5	2.98	0.629	17.24
3	30	2.5	5.93	0.473	37.76
4	50	2.5	9.80	0.238	68.68
5	75	2.5	14.56	0.128	83.16
6	100	2.5	19.23	0.035	95.39
				slope	6.1313
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.15



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (1.tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (2.tekrar)

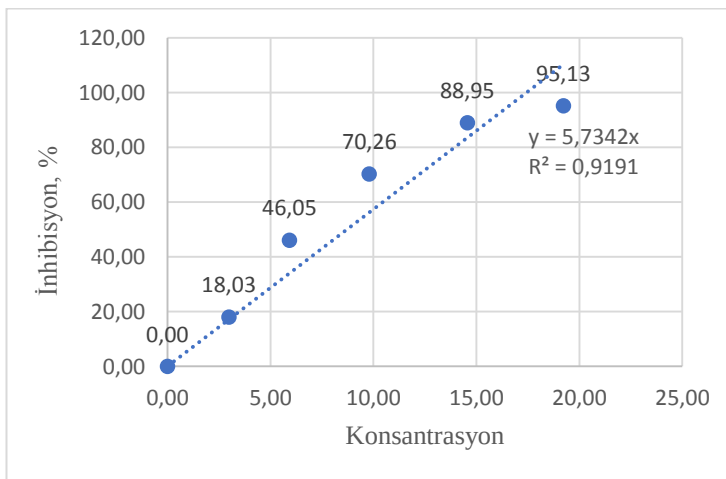
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.800	0.00
2	15	2.5	2.98	0.672	11.58
3	30	2.5	5.93	0.498	34.47
4	50	2.5	9.80	0.212	72.11
5	75	2.5	14.56	0.096	87.37
6	100	2.5	19.23	0.037	95.13
				slope	5.6056
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.92



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (2.tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (3.tekrar)

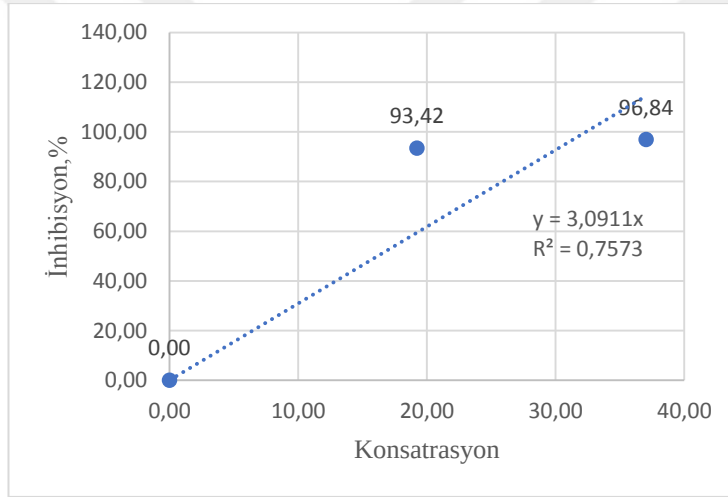
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.828	0.00
2	15	2.5	2.98	0.623	18.03
3	30	2.5	5.93	0.410	46.05
4	50	2.5	9.80	0.226	70.26
5	75	2.5	14.56	0.084	88.95
6	100	2.5	19.23	0.037	95.13
				slope	5.7342
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.72



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (3.tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C

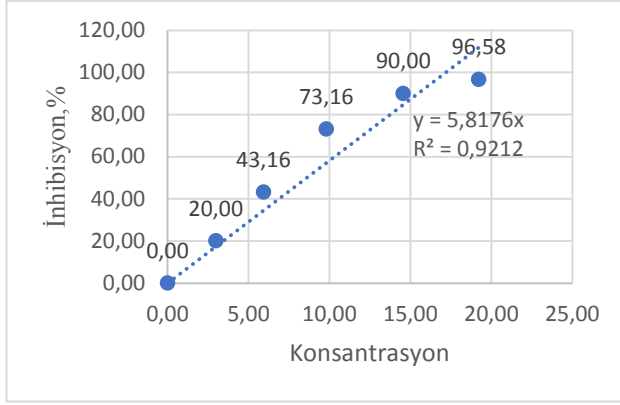
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.760	0.00
2	15	2.5	2.98	0.050	93.42
3	30	2.5	5.93	0.024	96.84
4	50	2.5	9.80	0.020	97.37
5	75	2.5	14.56	0.025	96.71
6	100	2.5	19.23	0.018	97.63
				slope	3.0911
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.18



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (1. Tekrar)

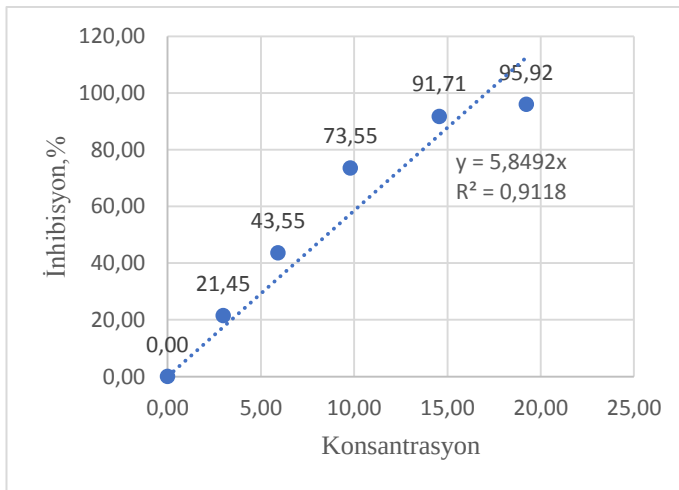
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.828	0.00
2	15	2.5	2.98	0.608	20.00
3	30	2.5	5.93	0.432	43.16
4	50	2.5	9.80	0.204	73.16
5	75	2.5	14.56	0.076	90.00
6	100	2.5	19.23	0.026	96.58
				slope	5.8176
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.59



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (1. Tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (2. Tekrar)

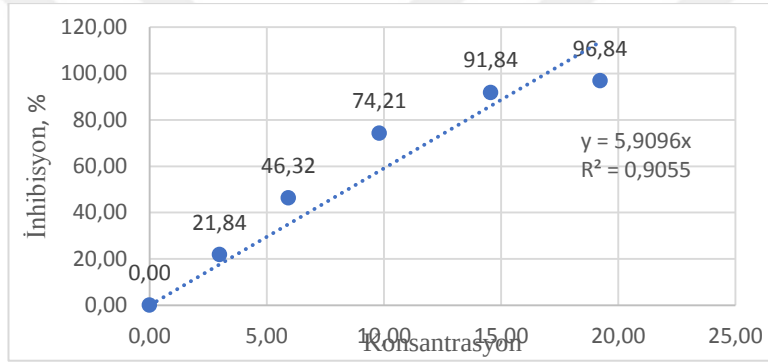
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.824	0.00
2	15	2.5	2.98	0.597	21.45
3	30	2.5	5.93	0.429	43.55
4	50	2.5	9.80	0.201	73.55
5	75	2.5	14.56	0.063	91.71
6	100	2.5	19.23	0.031	95.92
				slope	5.8492
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.55



%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (2. Tekrar)

%96 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (3. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.824	0.00
2	15	2.5	2.98	0.594	21.84
3	30	2.5	5.93	0.408	46.32
4	50	2.5	9.80	0.196	74.21
5	75	2.5	14.56	0.062	91.84
6	100	2.5	19.23	0.024	96.84
				slope	5.9096
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.46

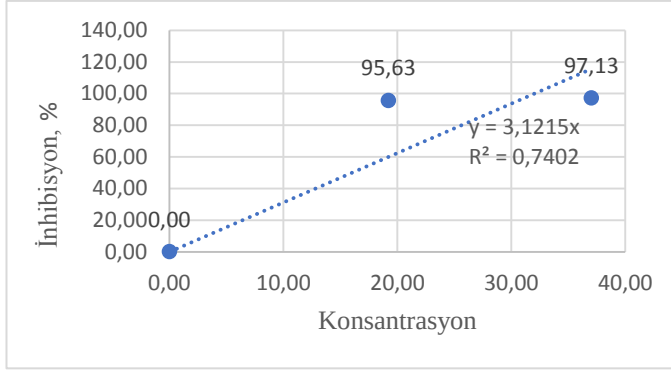


%96 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (3. Tekrar)

Karıştırmalı tank ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen %70 EtOH ekstaktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C

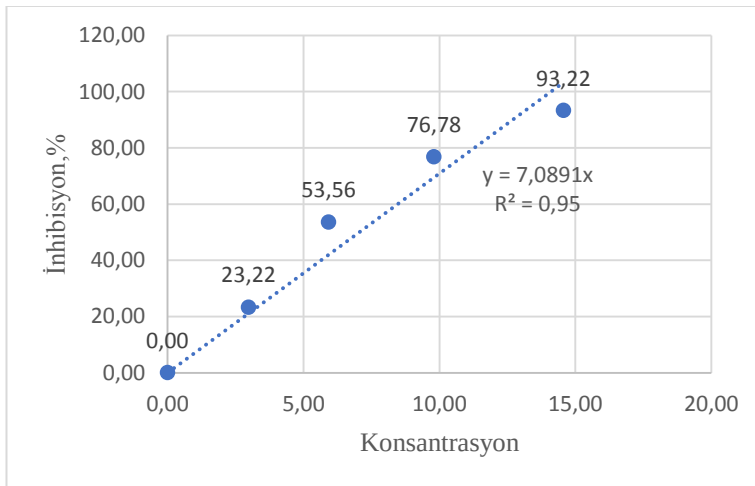
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.870	0.00
2	15	2.5	2.98	0.038	95.63
3	30	2.5	5.93	0.025	97.13
4	50	2.5	9.80	0.028	96.78
5	75	2.5	14.56	0.016	98.16
6	100	2.5	19.23	0.022	97.47
				slope	3.1215
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.02



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (1. Tekrar)

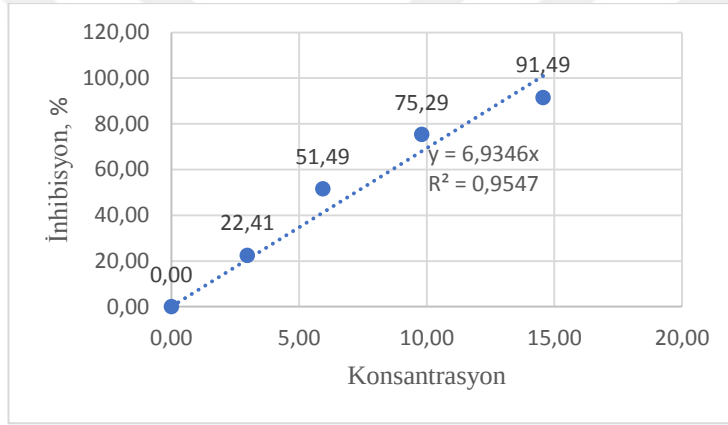
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.870	0.00
2	15	2.5	2.98	0.668	23.22
3	30	2.5	5.93	0.404	53.56
4	50	2.5	9.80	0.202	76.78
5	75	2.5	14.56	0.059	93.22
6	100	2.5	19.23	0.031	96.44
				slope	7.0891
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.05



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (1. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (2. Tekrar)

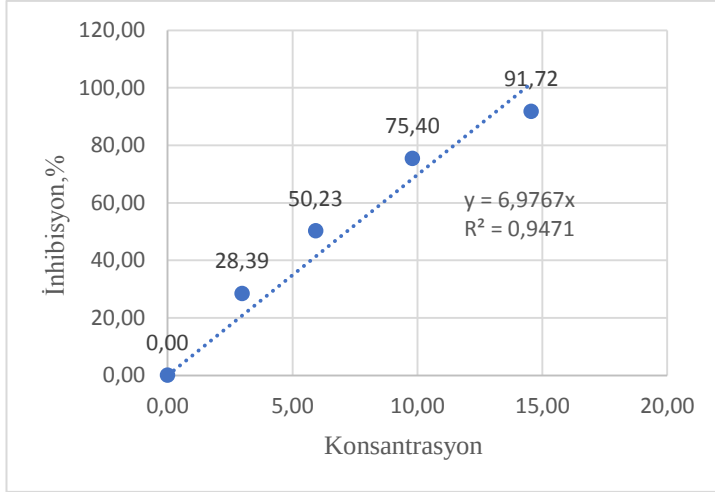
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.870	0.00
2	15	2.5	2.98	0.675	22.41
3	30	2.5	5.93	0.422	51.49
4	50	2.5	9.80	0.215	75.29
5	75	2.5	14.56	0.074	91.49
6	100	2.5	19.23	0.037	95.75
				slope	6.9346
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.21



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (2. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (3. Tekrar)

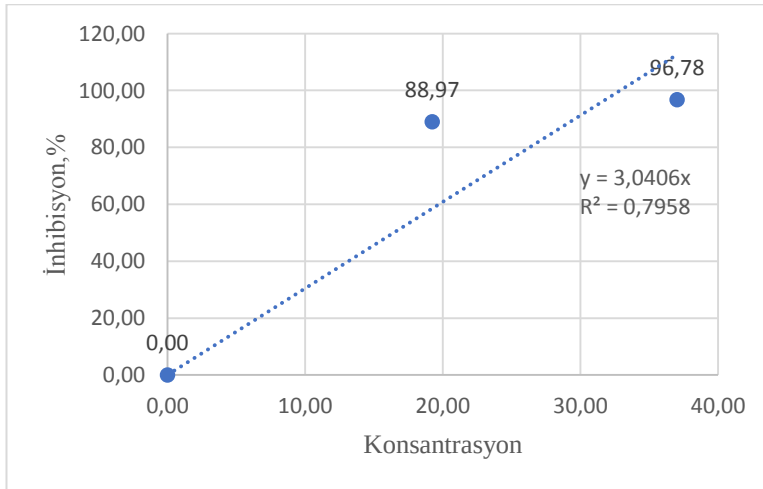
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.898	0.00
2	15	2.5	2.98	0.623	28.39
3	30	2.5	5.93	0.433	50.23
4	50	2.5	9.80	0.214	75.40
5	75	2.5	14.56	0.072	91.72
6	100	2.5	19.23	0.032	96.32
				slope	6.9767
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.17



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (3. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C

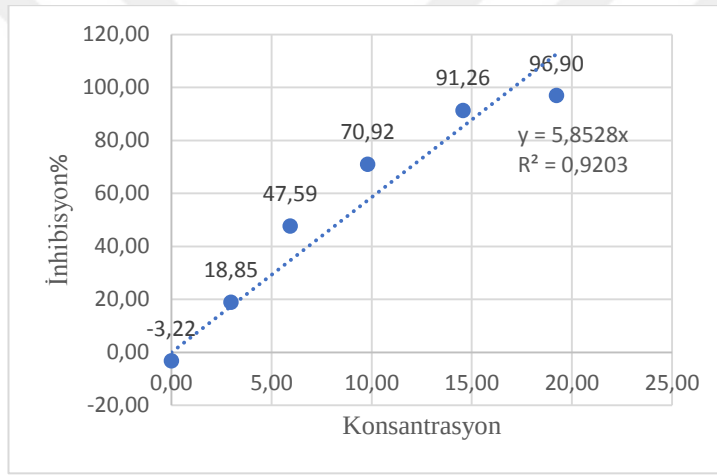
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.870	0.00
2	15	2.5	2.98	0.096	88.97
3	30	2.5	5.93	0.028	96.78
4	50	2.5	9.80	0.027	96.90
5	75	2.5	14.56	0.023	97.36
6	100	2.5	19.23	0.026	97.01
				slope	3.0406
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.44



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (1. tekrar)

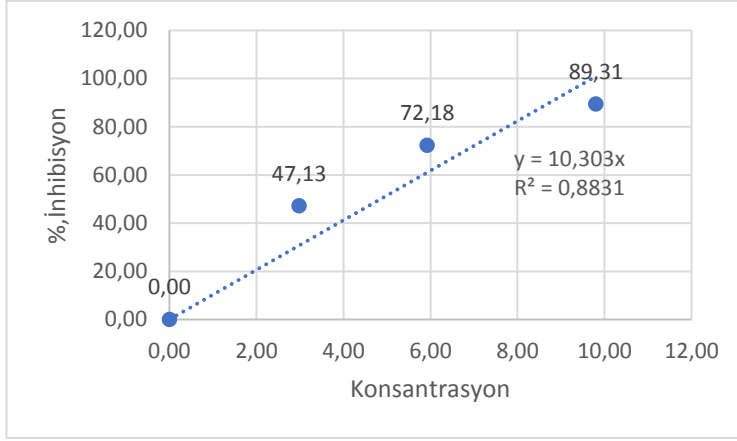
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.898	-3.22
2	15	2.5	2.98	0.706	18.85
3	30	2.5	5.93	0.456	47.59
4	50	2.5	9.80	0.253	70.92
5	75	2.5	14.56	0.076	91.26
6	100	2.5	19.23	0.027	96.90
				slope	5.8528
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.54



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (1. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (2. tekrar)

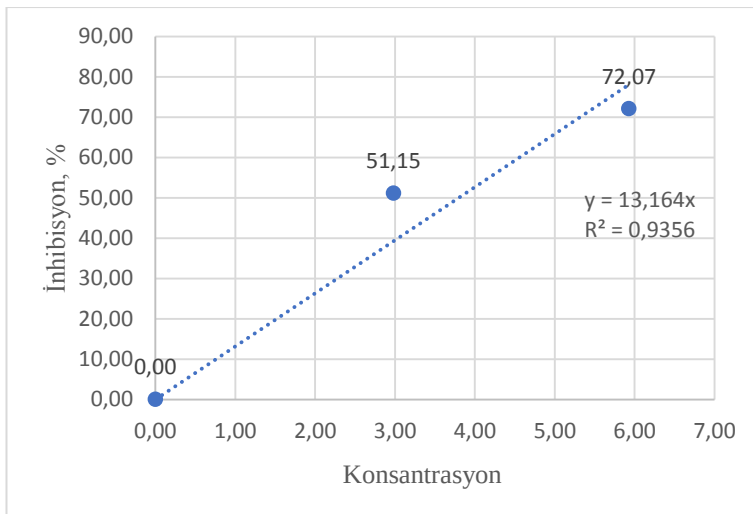
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.704	0.00
2	15	2.5	2.98	0.460	47.13
3	30	2.5	5.93	0.242	72.18
4	50	2.5	9.80	0.093	89.31
5	75	2.5	14.56	0.099	88.62
6	100	2.5	19.23	0.093	89.31
				slope	10.303
				IC ₅₀ [µg/ml]	4.85



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (2. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (3. tekrar)

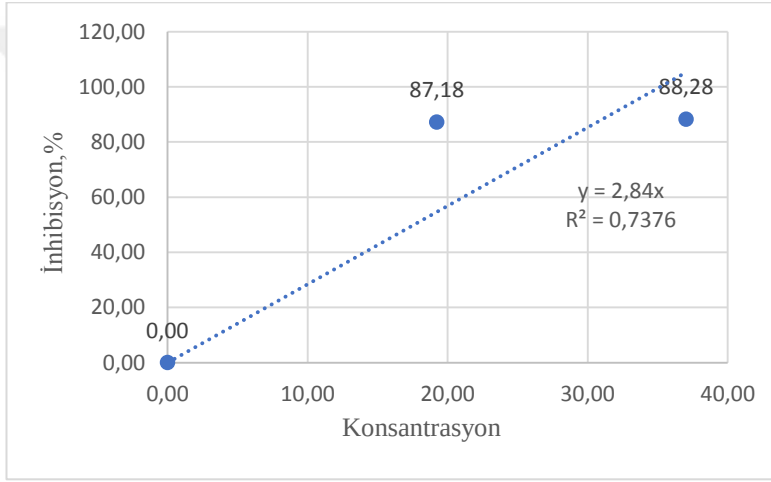
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.702	0.00
2	15	2.5	2.98	0.425	51.15
3	30	2.5	5.93	0.243	72.07
4	50	2.5	9.80	0.099	88.62
5	75	2.5	14.56	0.097	88.85
6	100	2.5	19.23	0.108	87.59
				slope	13.164
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.80



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (3. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C

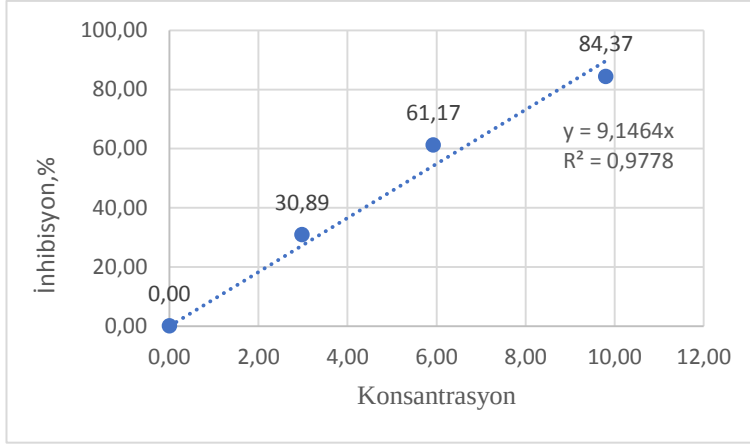
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.819	0.00
2	15	2.5	2.98	0.105	87.18
3	30	2.5	5.93	0.096	88.28
4	50	2.5	9.80	0.084	89.74
5	75	2.5	14.56	0.092	88.77
6	100	2.5	19.23	0.099	87.91
				slope	2.84
				IC ₅₀ [µg/ml]	17.61



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (1. Tekrar)

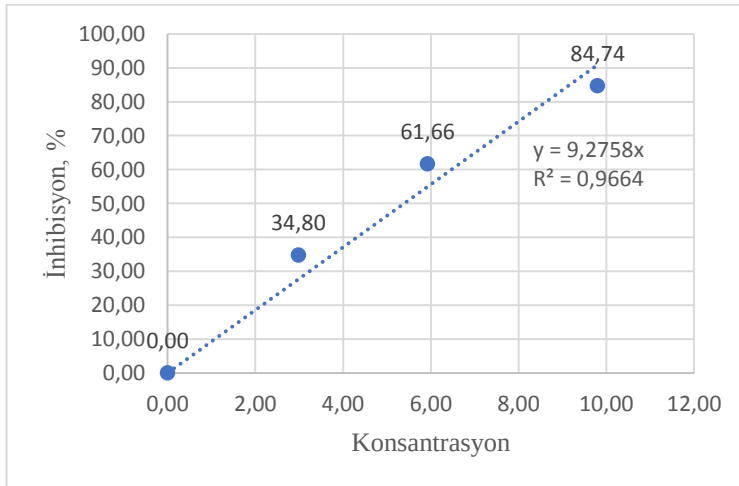
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.779	0.00
2	15	2.5	2.98	0.566	30.89
3	30	2.5	5.93	0.318	61.17
4	50	2.5	9.80	0.128	84.37
5	75	2.5	14.56	0.098	88.03
6	100	2.5	19.23	0.099	87.91
				slope	9.1464
				IC ₅₀ [µg/ml]	5.47



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (1. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (2. Tekrar)

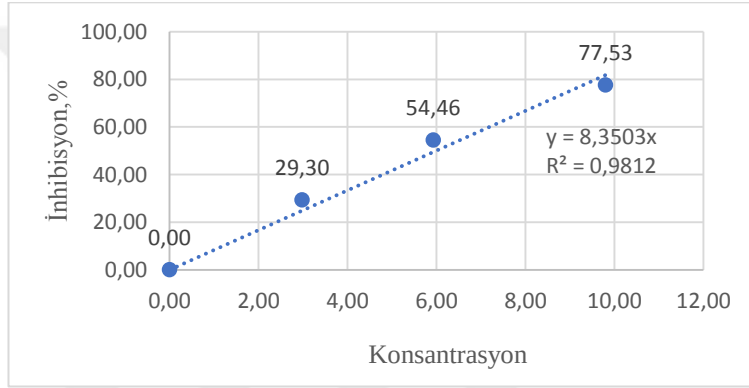
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.779	0.00
2	15	2.5	2.98	0.534	34.80
3	30	2.5	5.93	0.314	61.66
4	50	2.5	9.80	0.125	84.74
5	75	2.5	14.56	0.100	87.79
6	100	2.5	19.23	0.102	87.55
				slope	9.2758
				IC ₅₀ [µg/ml]	5.39



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (2. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (3. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.848	0.00
2	15	2.5	2.98	0.579	29.30
3	30	2.5	5.93	0.373	54.46
4	50	2.5	9.80	0.184	77.53
5	75	2.5	14.56	0.116	85.84
6	100	2.5	19.23	0.102	87.55
				slope	8.3503
				IC ₅₀ [µg/ml]	5.99

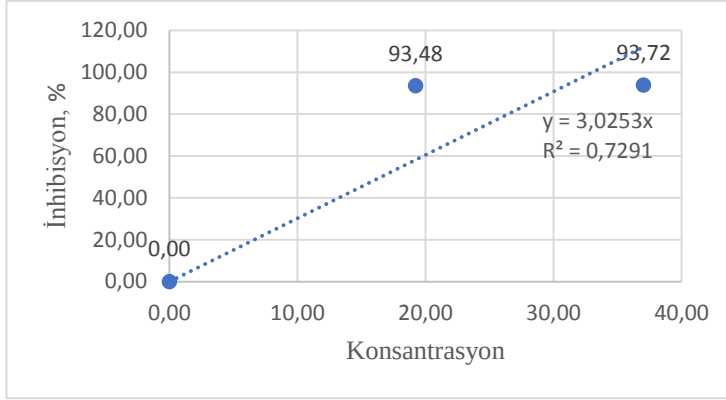


%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (3. Tekrar)

Karıştırırmalı tank ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen %50 EtOH ekstaktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C

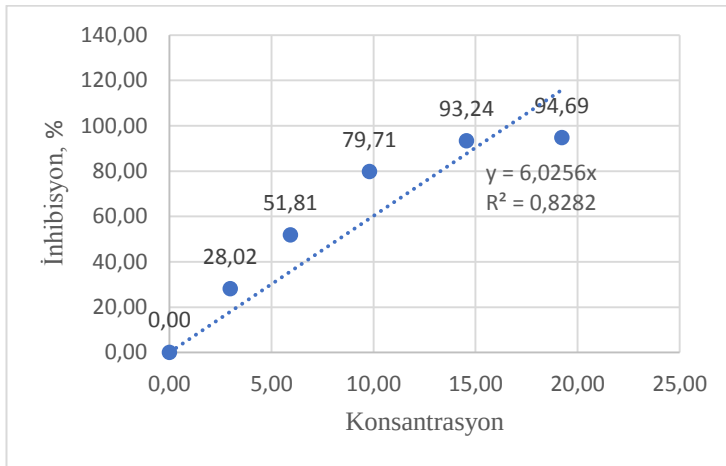
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.828	0.00
2	15	2.5	2.98	0.054	93.48
3	30	2.5	5.93	0.052	93.72
4	50	2.5	9.80	0.050	93.96
5	75	2.5	14.56	0.043	94.81
6	100	2.5	19.23	0.036	95.65
				slope	3.0253
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.53



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (1. Tekrar)

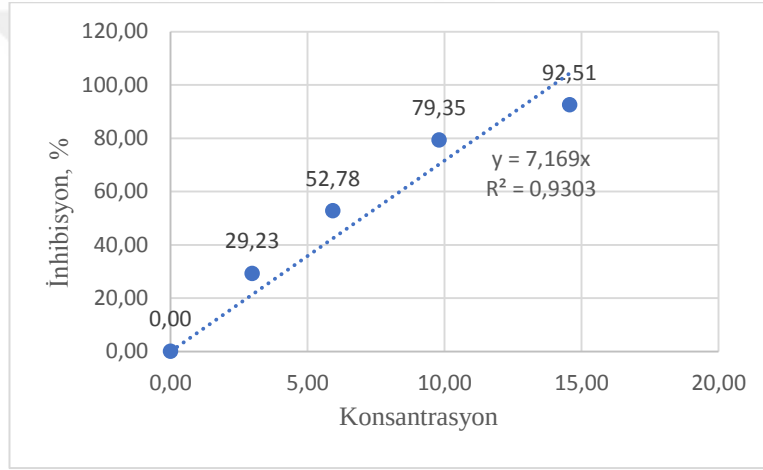
No	Örnek (µl)	DPPH Çözültisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.803	0.00
2	15	2.5	2.98	0.596	28.02
3	30	2.5	5.93	0.399	51.81
4	50	2.5	9.80	0.168	79.71
5	75	2.5	14.56	0.056	93.24
6	100	2.5	19.23	0.044	94.69
				slope	6.0256
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.30



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (1. Tekrar)

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (2. Tekrar)

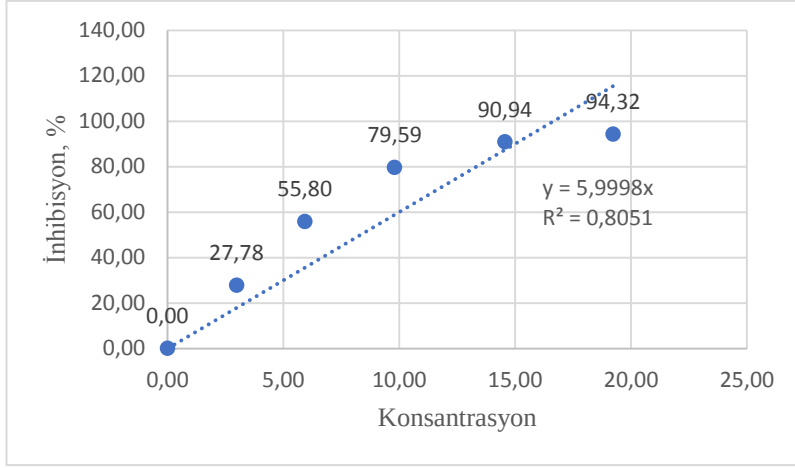
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.803	0.00
2	15	2.5	2.98	0.586	29.23
3	30	2.5	5.93	0.391	52.78
4	50	2.5	9.80	0.171	79.35
5	75	2.5	14.56	0.062	92.51
6	100	2.5	19.23	0.035	95.77
				slope	7.169
				IC ₅₀ [µg/ml]	6.97



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (2. Tekrar)

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (3. Tekrar)

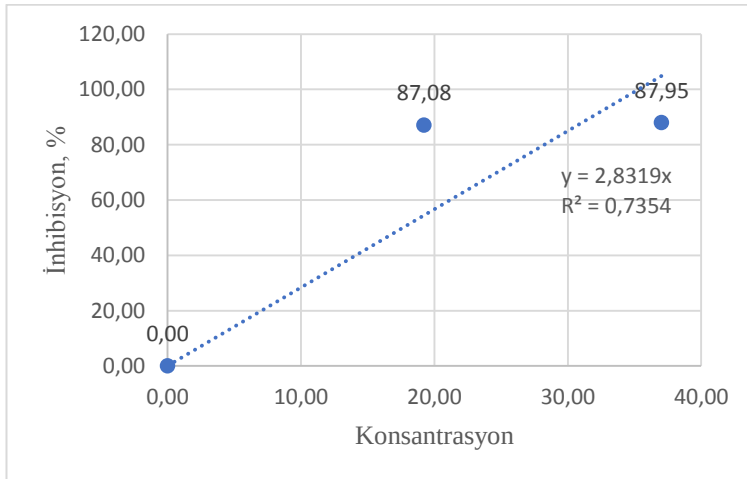
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.803	0.00
2	15	2.5	2.98	0.598	27.78
3	30	2.5	5.93	0.366	55.80
4	50	2.5	9.80	0.169	79.59
5	75	2.5	14.56	0.075	90.94
6	100	2.5	19.23	0.047	94.32
				slope	5.9998
				IC ₅₀ [µg/ml]	8.33



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (3. Tekrar)

%50 EtOH ekstraktlarının absorbensları, 40°C

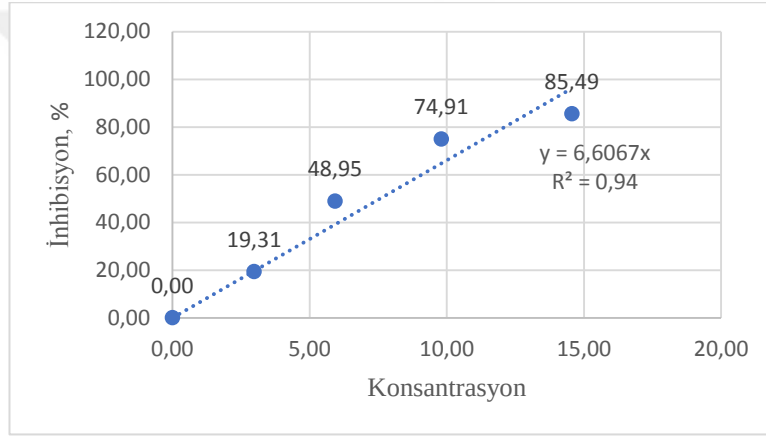
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.813	0.00
2	15	2.5	2.98	0.105	87.08
3	30	2.5	5.93	0.098	87.95
4	50	2.5	9.80	0.084	89.67
5	75	2.5	14.56	0.091	88.81
6	100	2.5	19.23	0.091	88.81
				slope	2.8319
				IC ₅₀ [µg/ml]	17.66



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (1. tekrar)

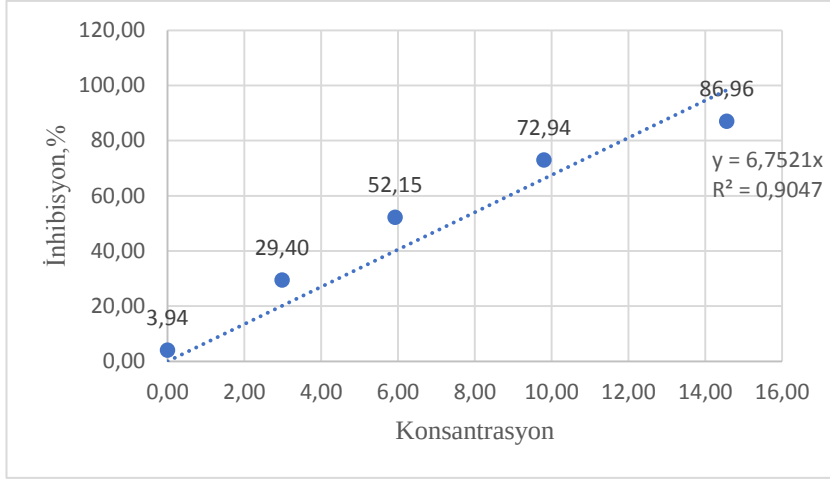
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.848	0.00
2	15	2.5	2.98	0.656	19.31
3	30	2.5	5.93	0.415	48.95
4	50	2.5	9.80	0.204	74.91
5	75	2.5	14.56	0.118	85.49
6	100	2.5	19.23	0.109	86.59
				slope	6.6067
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.57



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (1. Tekrar)

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (2. tekrar)

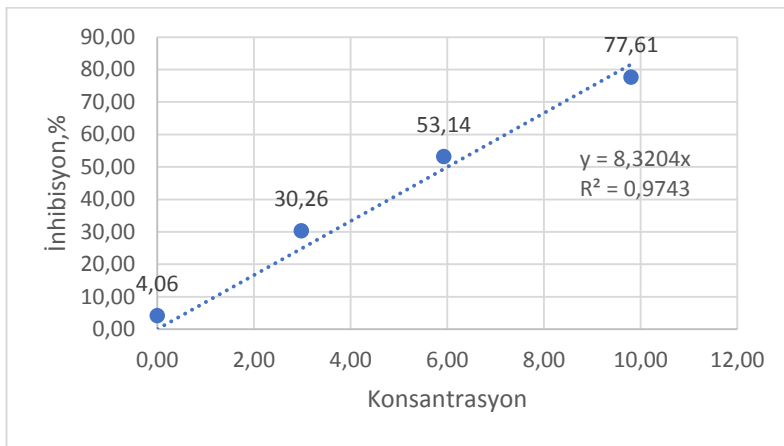
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.781	3.94
2	15	2.5	2.98	0.574	29.40
3	30	2.5	5.93	0.389	52.15
4	50	2.5	9.80	0.220	72.94
5	75	2.5	14.56	0.106	86.96
6	100	2.5	19.23	0.107	86.84
				slope	6.7521
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.41



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (2. Tekrar)

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (3. tekrar)

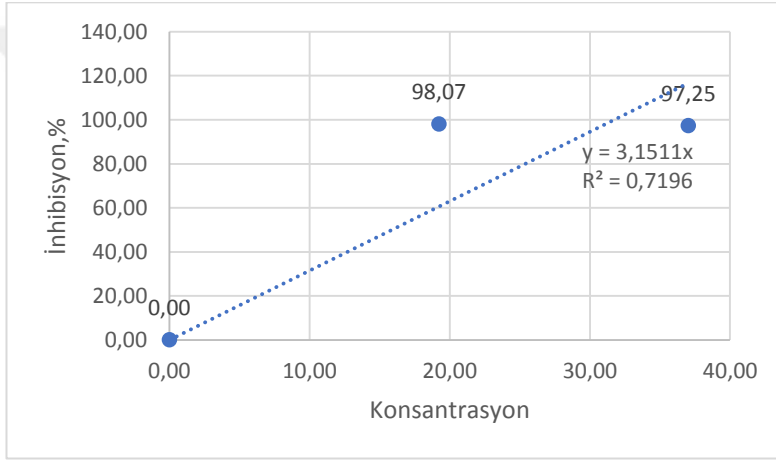
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.780	4.06
2	15	2.5	2.98	0.567	30.26
3	30	2.5	5.93	0.381	53.14
4	50	2.5	9.80	0.182	77.61
5	75	2.5	14.56	0.108	86.72
6	100	2.5	19.23	0.118	85.49
				slope	8.3204
				IC ₅₀ [µg/ml]	6.01



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 40°C (3. Tekrar)

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C

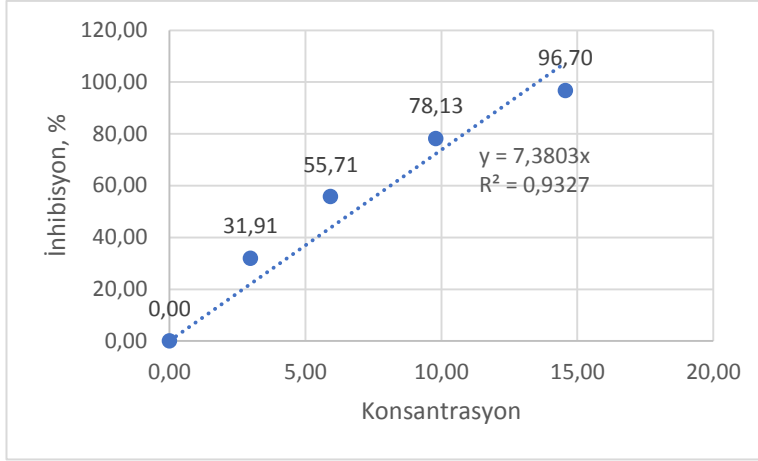
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.727	0.00
2	15	2.5	2.98	0.014	98.07
3	30	2.5	5.93	0.020	97.25
4	50	2.5	9.80	0.013	98.21
5	75	2.5	14.56	0.010	98.62
6	100	2.5	19.23	0.021	97.11
				slope	3.1511
				IC ₅₀ [µg/ml]	15.87



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (1. Tekrar)

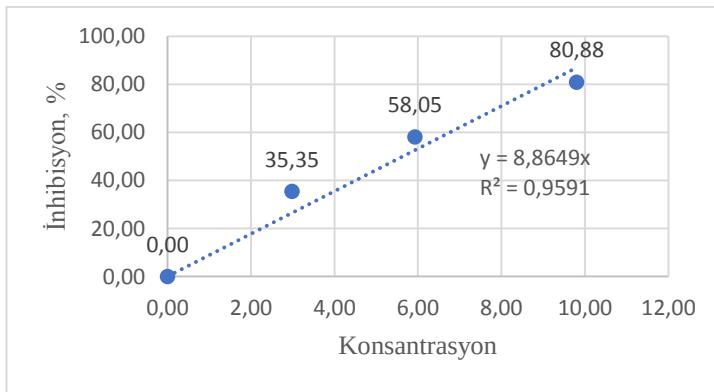
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.724	0.00
2	15	2.5	2.98	0.495	31.91
3	30	2.5	5.93	0.322	55.71
4	50	2.5	9.80	0.159	78.13
5	75	2.5	14.56	0.024	96.70
6	100	2.5	19.23	0.019	97.39
				slope	7.3803
				IC ₅₀ [µg/ml]	6.77



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (1. Tekrar)

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (2. Tekrar)

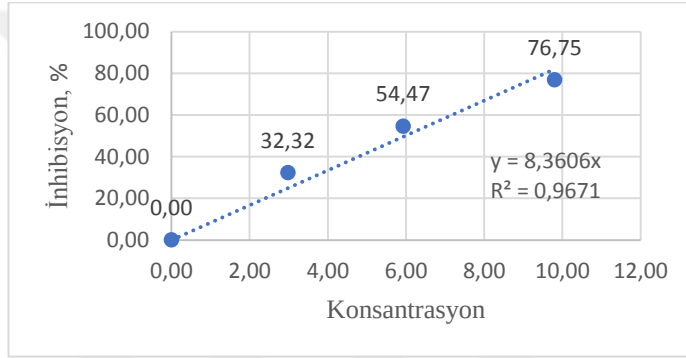
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.724	0.00
2	15	2.5	2.98	0.470	35.35
3	30	2.5	5.93	0.305	58.05
4	50	2.5	9.80	0.139	80.88
5	75	2.5	14.56	0.038	94.77
6	100	2.5	19.23	0.015	97.94
				slope	8.8649
				IC ₅₀ [µg/ml]	5.64



%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (2. Tekrar)

%50 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (3. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.709	0.00
2	15	2.5	2.98	0.492	32.32
3	30	2.5	5.93	0.331	54.47
4	50	2.5	9.80	0.169	76.75
5	75	2.5	14.56	0.073	89.96
6	100	2.5	19.23	0.018	97.52
				slope	8.3606
				IC ₅₀ [µg/ml]	5.98

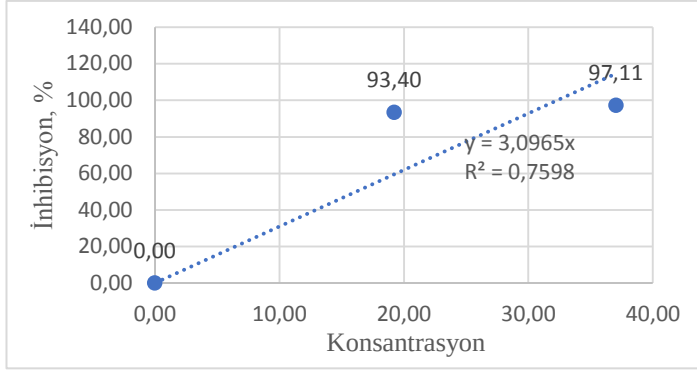


%50 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 60°C (3. Tekrar)

Karıştırmalı tank ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen %30 EtOH ekstraktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C

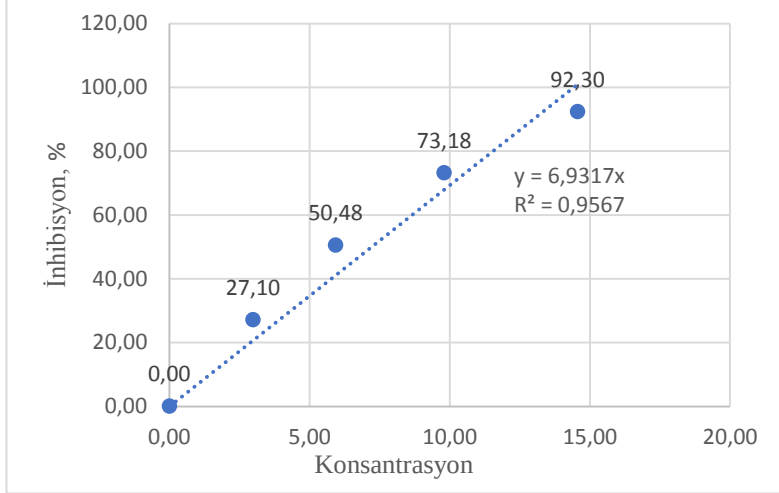
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.727	0.00
2	15	2.5	2.98	0.048	93.40
3	30	2.5	5.93	0.021	97.11
4	50	2.5	9.80	0.016	97.80
5	75	2.5	14.56	0.022	96.97
6	100	2.5	19.23	0.037	94.91
				slope	3.0965
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.15



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C

%30 EtOH ekstraktlarının absorbensları, 20°C (1. Tekrar)

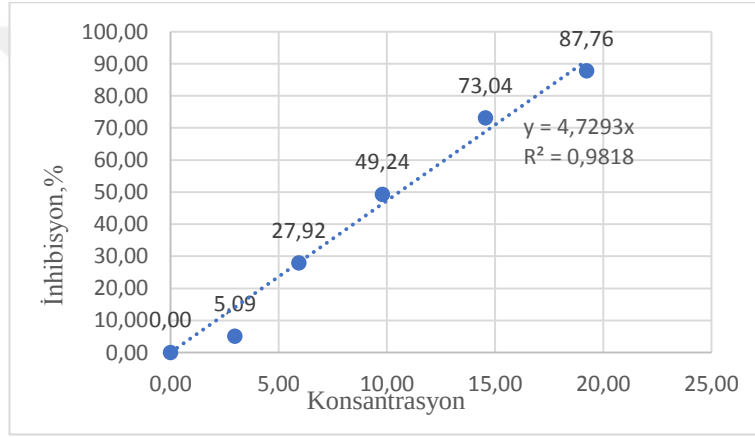
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.709	0.00
2	15	2.5	2.98	0.530	27.10
3	30	2.5	5.93	0.360	50.48
4	50	2.5	9.80	0.195	73.18
5	75	2.5	14.56	0.056	92.30
6	100	2.5	19.23	0.019	97.39
				slope	6.9317
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.21



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (1. Tekrar)

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (2. Tekrar)

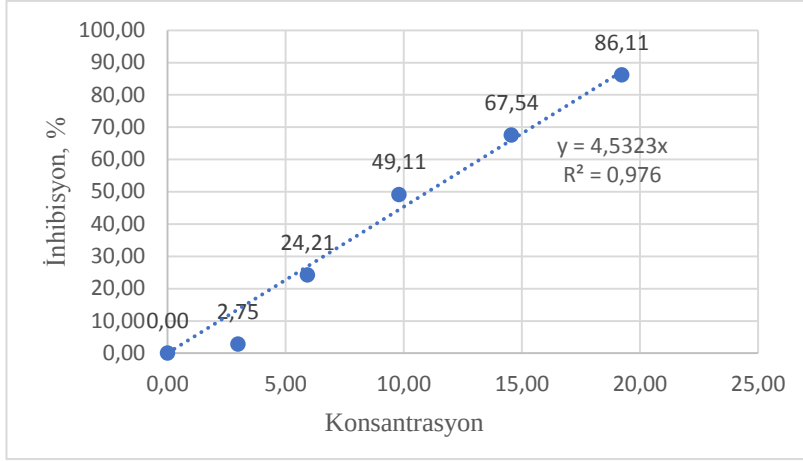
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.878	0.00
2	15	2.5	2.98	0.690	5.09
3	30	2.5	5.93	0.524	27.92
4	50	2.5	9.80	0.369	49.24
5	75	2.5	14.56	0.196	73.04
6	100	2.5	19.23	0.089	87.76
				slope	4.7293
				IC ₅₀ [µg/ml]	10.57



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (2. Tekrar)

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (3. Tekrar)

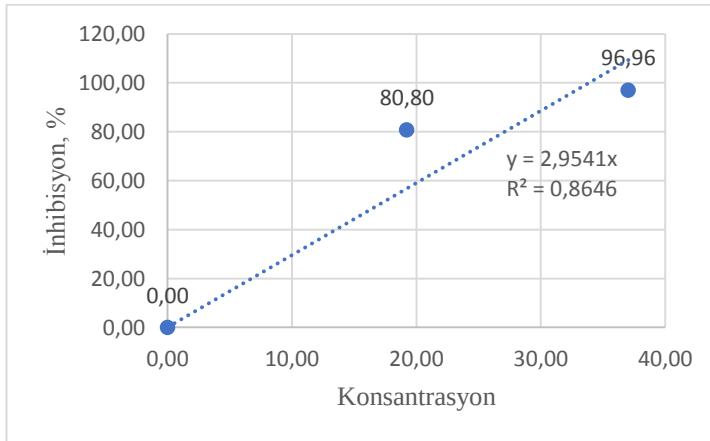
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.878	0.00
2	15	2.5	2.98	0.707	2.75
3	30	2.5	5.93	0.551	24.21
4	50	2.5	9.80	0.370	49.11
5	75	2.5	14.56	0.236	67.54
6	100	2.5	19.23	0.101	86.11
				slope	4.5323
				IC ₅₀ [µg/ml]	11.03



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi 20°C (3. Tekrar)

%30 EtOH ekstraktlarının absorpsanları, 40°C

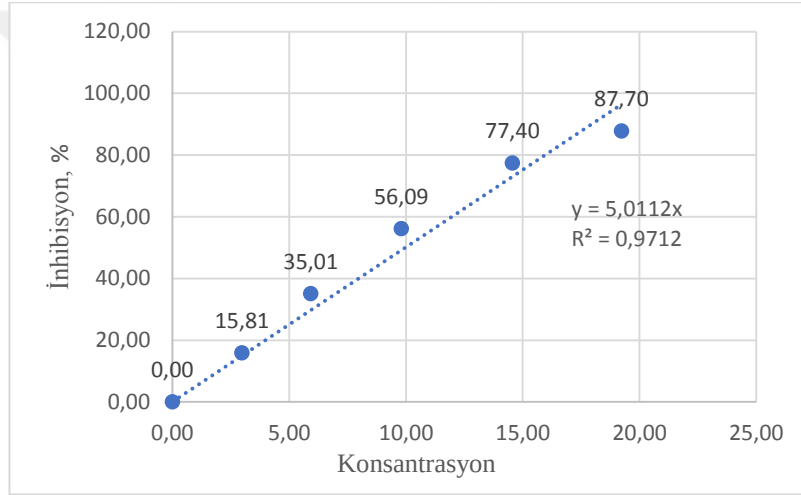
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.854	0.00
2	15	2.5	2.98	0.164	80.80
3	30	2.5	5.93	0.026	96.96
4	50	2.5	9.80	0.024	97.19
5	75	2.5	14.56	0.021	97.54
6	100	2.5	19.23	0.014	98.36
				slope	2.9541
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.93



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 40°C

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (1. Tekrar)

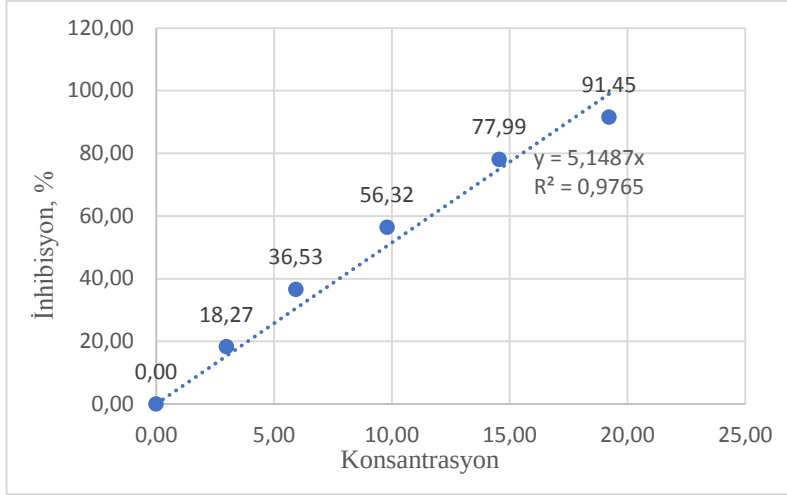
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.834	0.00
2	15	2.5	2.98	0.719	15.81
3	30	2.5	5.93	0.555	35.01
4	50	2.5	9.80	0.375	56.09
5	75	2.5	14.56	0.193	77.40
6	100	2.5	19.23	0.105	87.70
				slope	5.0112
				IC ₅₀ [µg/ml]	9.98



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 40°C (1. Tekrar)

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 40°C (2. Tekrar)

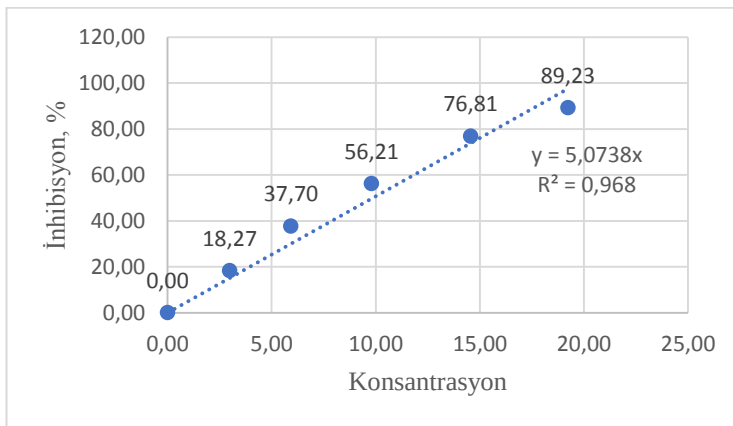
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.834	0.00
2	15	2.5	2.98	0.698	18.27
3	30	2.5	5.93	0.542	36.53
4	50	2.5	9.80	0.373	56.32
5	75	2.5	14.56	0.188	77.99
6	100	2.5	19.23	0.073	91.45
				slope	5.1487
				IC ₅₀ [µg/ml]	9.71



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 40°C (2. Tekrar)

%30 EtOH ekstraktlarının absorbensları, 40°C (3. Tekrar)

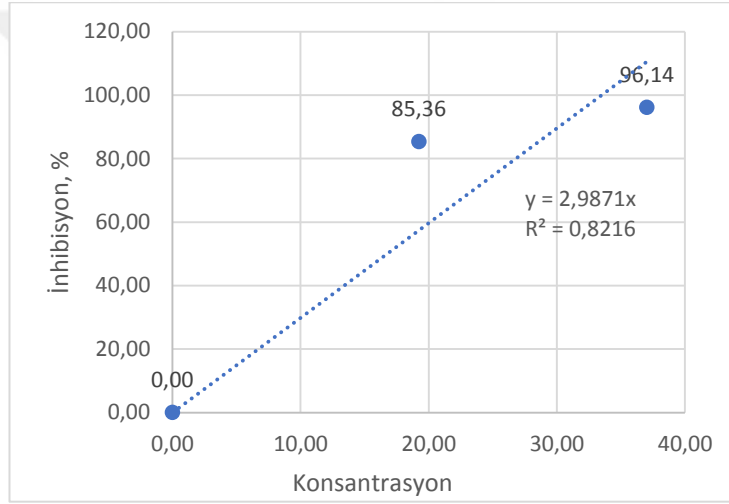
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.877	0.00
2	15	2.5	2.98	0.698	18.27
3	30	2.5	5.93	0.532	37.70
4	50	2.5	9.80	0.374	56.21
5	75	2.5	14.56	0.198	76.81
6	100	2.5	19.23	0.092	89.23
				slope	5.0738
				IC ₅₀ [µg/ml]	9.85



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 40°C (3. Tekrar)

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C

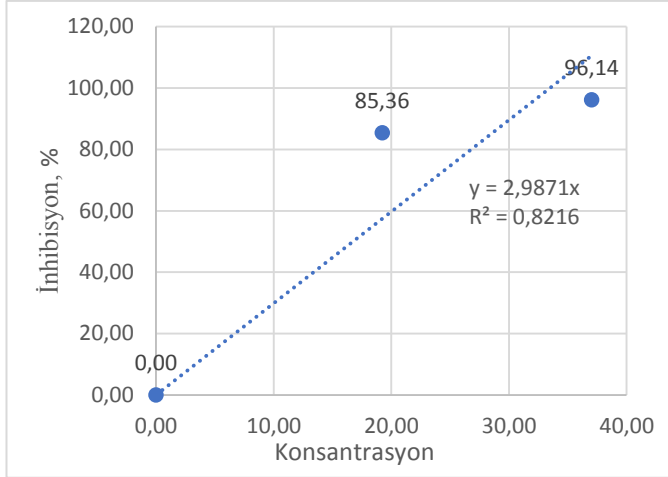
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.854	0.00
2	15	2.5	2.98	0.125	85.36
3	30	2.5	5.93	0.033	96.14
4	50	2.5	9.80	0.023	97.31
5	75	2.5	14.56	0.016	98.13
6	100	2.5	19.23	0.013	98.48
				slope	2.9871
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.74



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 60°C

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (1. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.877	0.00
2	15	2.5	2.98	0.705	17.45
3	30	2.5	5.93	0.555	35.01
4	50	2.5	9.80	0.332	61.12
5	75	2.5	14.56	0.216	74.71
6	100	2.5	19.23	0.097	88.64
				slope	5.057
				IC ₅₀ [µg/ml]	9.89



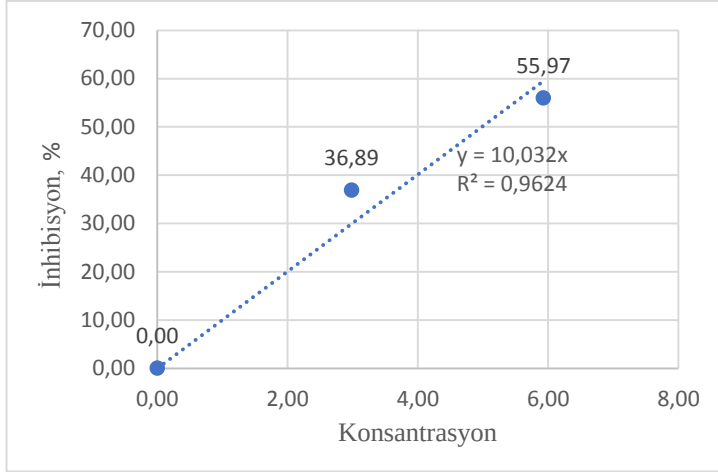
%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 60°C (1. Tekrar)

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (2. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.776	0.00
2	15	2.5	2.98	0.523	38.76
3	30	2.5	5.93	0.450	47.31
4	50	2.5	9.80	0.220	74.24
5	75	2.5	14.56	0.087	89.81
6	100	2.5	19.23	0.029	96.60
				slope	6.9038
				IC ₅₀ [µg/ml]	7.24

%30 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 60°C (3. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.776	0.00
2	15	2.5	2.98	0.539	36.89
3	30	2.5	5.93	0.376	55.97
4	50	2.5	9.80	0.192	77.52
5	75	2.5	14.56	0.069	91.92
6	100	2.5	19.23	0.019	97.78
				slope	10.032
				IC ₅₀ [µg/ml]	4.98

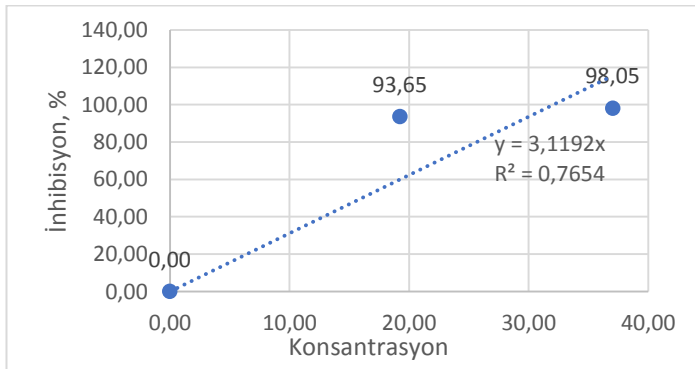


%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 60°C (3. Tekrar)

Karıştırmalı tank ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen Aseton ekstraktlarının DPPH ile antioksidan aktivitelerinin analizi

Aseton ekstraktlarının absorbensları, 20°C

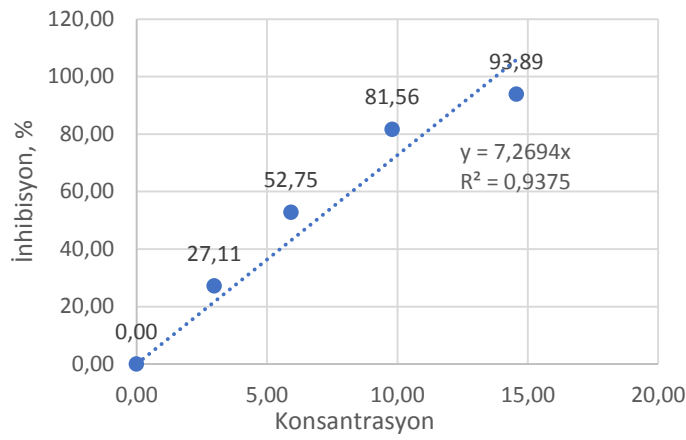
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.819	0.00
2	15	2.5	2.98	0.052	93.65
3	30	2.5	5.93	0.016	98.05
4	50	2.5	9.80	0.025	96.95
5	75	2.5	14.56	0.013	98.41
6	100	2.5	19.23	0.014	98.29
				slope	3.1192
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.03



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C

Aseton ekstraktlarının absorbansları, 20°C (1. Tekrar)

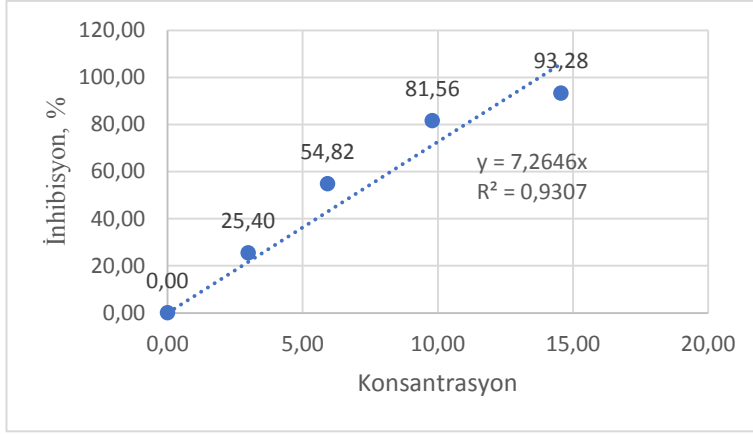
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.851	0.00
2	15	2.5	2.98	0.597	27.11
3	30	2.5	5.93	0.387	52.75
4	50	2.5	9.80	0.151	81.56
5	75	2.5	14.56	0.050	93.89
6	100	2.5	19.23	0.040	95.12
				slope	7.2694
				IC ₅₀ [µg/ml]	6.88



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (1. Tekrar)

Aseton ekstraktlarının absorbansları, 20°C (2. Tekrar)

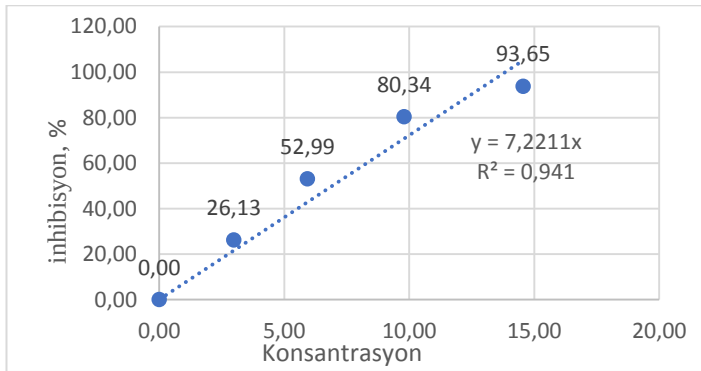
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.851	0.00
2	15	2.5	2.98	0.597	27.11
3	30	2.5	5.93	0.387	52.75
4	50	2.5	9.80	0.151	81.56
5	75	2.5	14.56	0.050	93.89
6	100	2.5	19.23	0.040	95.12
				slope	7.2694
				IC ₅₀ [µg/ml]	6.88



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (2. Tekrar)

Aseton ekstraktlarının absorbansları, 20°C (3. Tekrar)

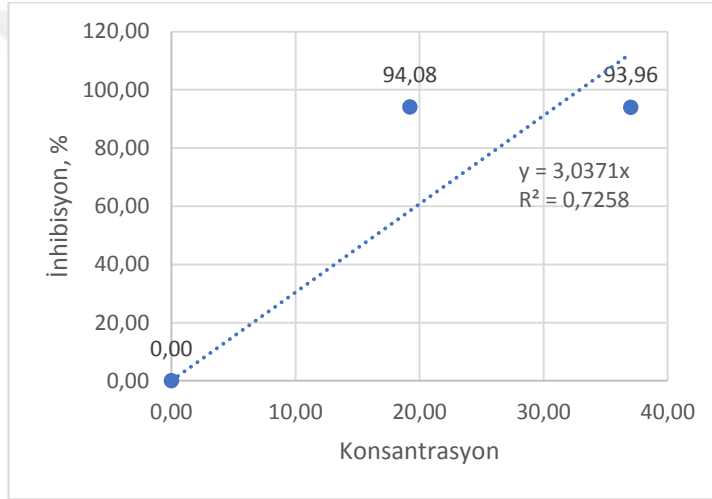
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.871	0.00
2	15	2.5	2.98	0.605	26.13
3	30	2.5	5.93	0.385	52.99
4	50	2.5	9.80	0.161	80.34
5	75	2.5	14.56	0.052	93.65
6	100	2.5	19.23	0.038	95.36
				slope	7.2211
				IC ₅₀ [µg/ml]	6.92



%30 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (3. Tekrar)

Aseton ekstraktlarının absorbansları, 40°C

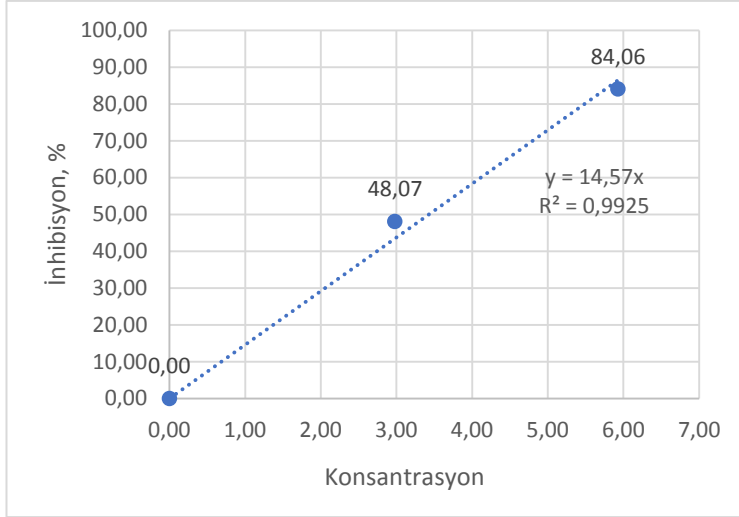
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.828	0.00
2	15	2.5	2.98	0.049	94.08
3	30	2.5	5.93	0.050	93.96
4	50	2.5	9.80	0.046	94.44
5	75	2.5	14.56	0.045	94.57
6	100	2.5	19.23	0.043	94.81
				slope	3.0371
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.46



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi, 40°C

Aseton ekstraktlarının absorbansları, 40°C (1. Tekrar)

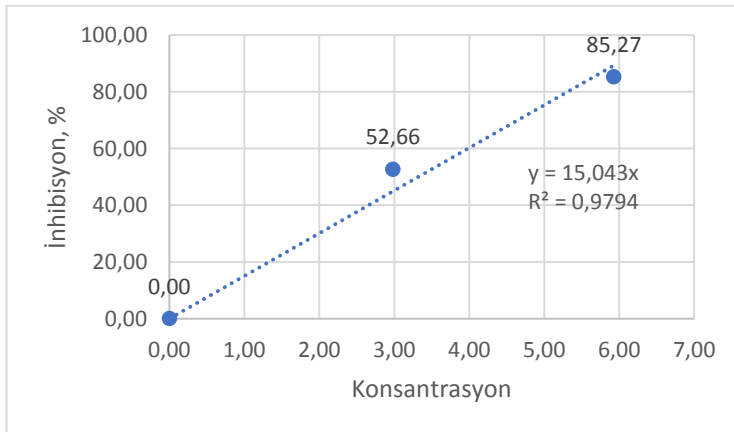
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.815	0.00
2	15	2.5	2.98	0.430	48.07
3	30	2.5	5.93	0.132	84.06
4	50	2.5	9.80	0.053	93.60
5	75	2.5	14.56	0.050	93.96
6	100	2.5	19.23	0.049	94.08
				slope	14.57
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.43



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi, 40°C (1. Tekrar)

Aseton ekstraktlarının absorbansları, 40°C (2. Tekrar)

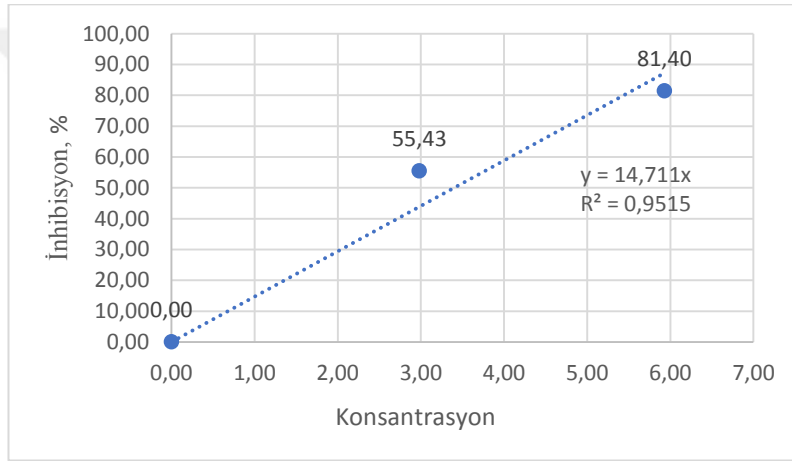
No	Örnek (µl)	DPPH Çözültisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.815	0.00
2	15	2.5	2.98	0.392	52.66
3	30	2.5	5.93	0.122	85.27
4	50	2.5	9.80	0.054	93.48
5	75	2.5	14.56	0.050	93.96
6	100	2.5	19.23	0.050	93.96
				slope	15.043
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.32



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi, 40°C (2. Tekrar)

Aseton ekstraktlarının absorbansları, 40°C (3. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.815	0.00
2	15	2.5	2.98	0.369	55.43
3	30	2.5	5.93	0.154	81.40
4	50	2.5	9.80	0.059	92.87
5	75	2.5	14.56	0.065	92.15
6	100	2.5	19.23	0.052	93.72
				slope	14.711
				IC ₅₀ [µg/ml]	3.40

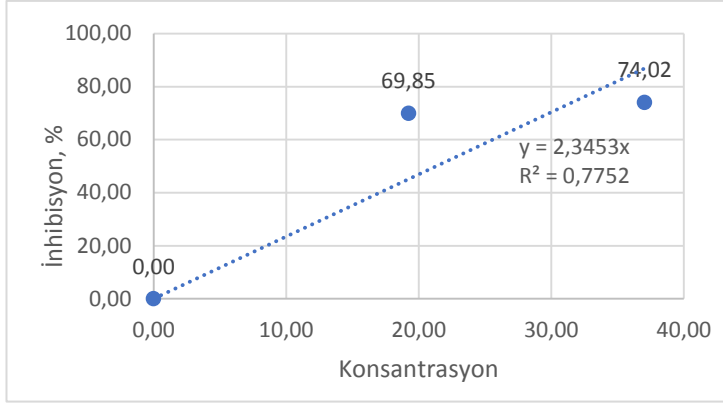


Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi, 40°C (3. Tekrar)

Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yöntemi için Aseton ekstraktlarının DPPH ile antioksidan aktivitesi analizi

Aseton ekstraktlarının absorbansları, 20°C

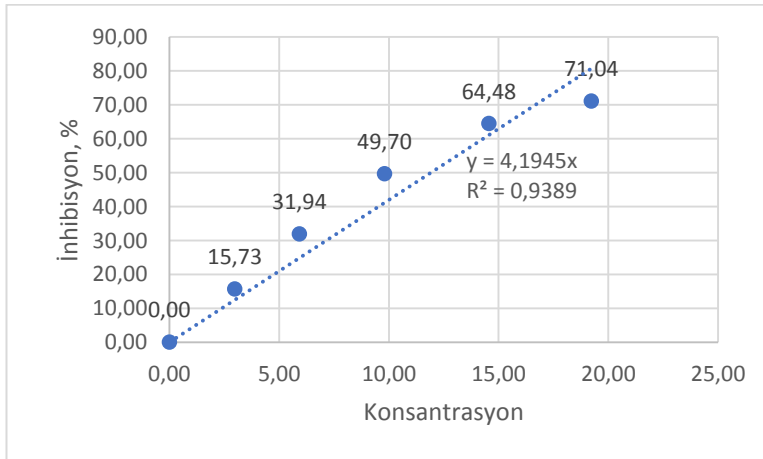
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.839	0.00
2	15	2.5	2.98	0.253	69.85
3	30	2.5	5.93	0.218	74.02
4	50	2.5	9.80	0.213	74.61
5	75	2.5	14.56	0.202	75.92
6	100	2.5	19.23	0.199	76.28
				slope	2.3453
				IC ₅₀ [µg/ml]	21.32



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C

Aseton ekstraktlarının absorbensları, 20°C (1. Tekrar)

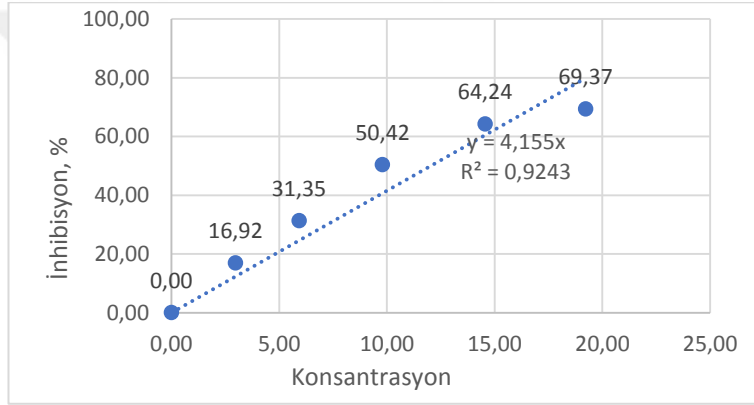
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.824	0.00
2	15	2.5	2.98	0.707	15.73
3	30	2.5	5.93	0.571	31.94
4	50	2.5	9.80	0.422	49.70
5	75	2.5	14.56	0.298	64.48
6	100	2.5	19.23	0.243	71.04
				slope	4.1945
				IC ₅₀ [µg/ml]	11.92



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (1. Tekrar)

Aseton ekstraktlarının absorbensları, 20°C (2. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.824	0.00
2	15	2.5	2.98	0.697	16.92
3	30	2.5	5.93	0.576	31.35
4	50	2.5	9.80	0.416	50.42
5	75	2.5	14.56	0.300	64.24
6	100	2.5	19.23	0.257	69.37
				slope	4.155
				IC ₅₀ [µg/ml]	12.03



Aseton örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (2. Tekrar)

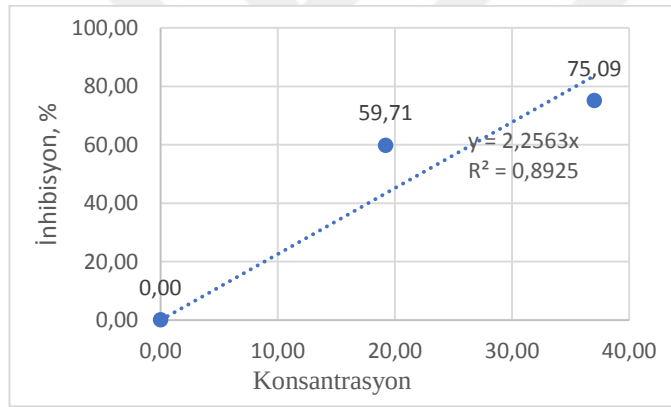
Aseton ekstraktlarının absorbensları, 20°C (3. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.824	0.00
2	15	2.5	2.98	0.682	18.71
3	30	2.5	5.93	0.550	34.45
4	50	2.5	9.80	0.412	50.89
5	75	2.5	14.56	0.300	64.24
6	100	2.5	19.23	0.232	72.35
				slope	4.2737
				IC ₅₀ [µg/ml]	11.70

Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yöntemi için %70 EtOH ekstraktlarının DPPH ile antioksidan aktivitesi analizi

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C

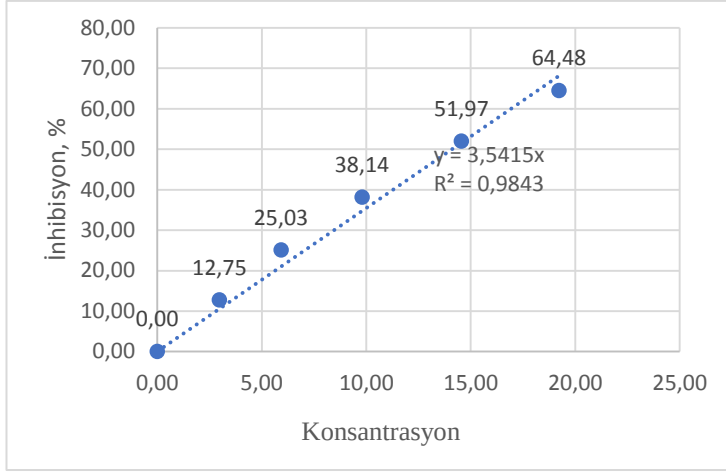
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.839	0.00
2	15	2.5	2.98	0.338	59.71
3	30	2.5	5.93	0.209	75.09
4	50	2.5	9.80	0.205	75.57
5	75	2.5	14.56	0.206	75.45
6	100	2.5	19.23	0.199	76.28
				slope	2.2563
				IC ₅₀ [µg/ml]	22.16



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (1. Tekrar)

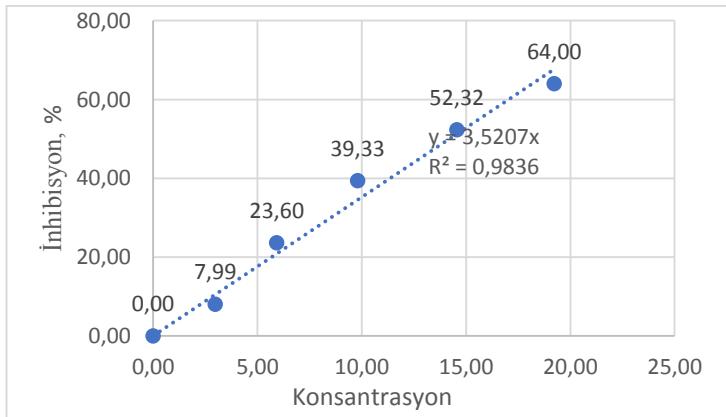
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.837	0.00
2	15	2.5	2.98	0.732	12.75
3	30	2.5	5.93	0.629	25.03
4	50	2.5	9.80	0.519	38.14
5	75	2.5	14.56	0.403	51.97
6	100	2.5	19.23	0.298	64.48
				slope	3.5415
				IC ₅₀ [µg/ml]	14.12



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (1. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbensları, 20°C (2. Tekrar)

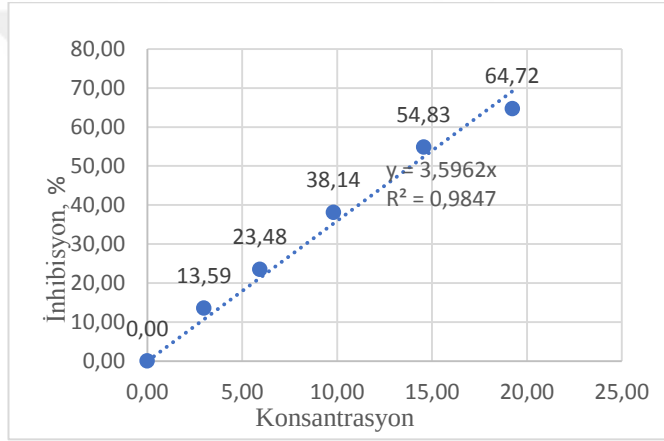
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.837	0.00
2	15	2.5	2.98	0.772	7.99
3	30	2.5	5.93	0.641	23.60
4	50	2.5	9.80	0.509	39.33
5	75	2.5	14.56	0.400	52.32
6	100	2.5	19.23	0.302	64.00
				slope	3.5207
				IC ₅₀ [µg/ml]	14.20



%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (2. Tekrar)

%70 EtOH ekstraktlarının absorbansları, 20°C (3. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.837	0.00
2	15	2.5	2.98	0.725	13.59
3	30	2.5	5.93	0.642	23.48
4	50	2.5	9.80	0.519	38.14
5	75	2.5	14.56	0.379	54.83
6	100	2.5	19.23	0.296	64.72
				slope	3.5962
				IC ₅₀ [µg/ml]	13.90

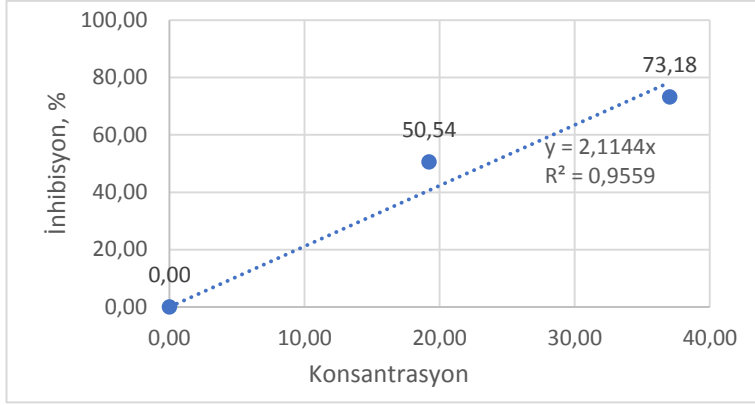


%70 EtOH örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (3. Tekrar)

Ses ötesi dalga destekli çözücü ekstraksiyon yöntemi için Saf su ekstraktlarının DPPH ile antioksidan aktivitesi analizi

Saf su ekstraktlarının absorbansları, 20°C

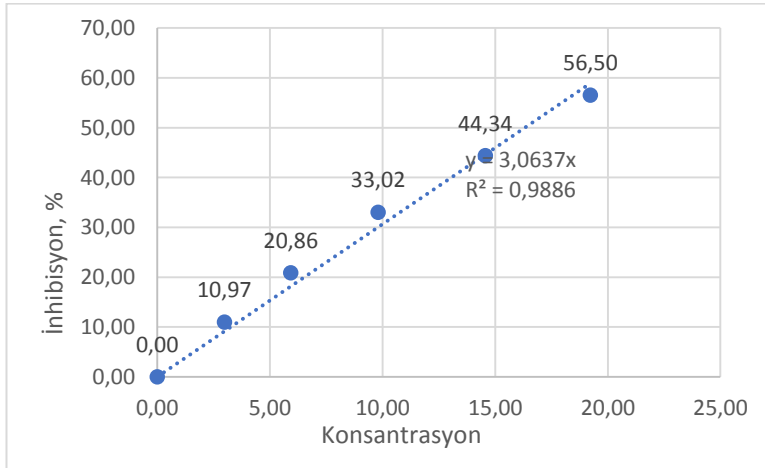
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.839	0.00
2	15	2.5	2.98	0.415	50.54
3	30	2.5	5.93	0.225	73.18
4	50	2.5	9.80	0.208	75.21
5	75	2.5	14.56	0.203	75.80
6	100	2.5	19.23	0.237	71.75
				slope	2.1144
				IC ₅₀ [µg/ml]	23.65



Saf su örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C

Saf su ekstraktlarının absorbansları, 20°C (1. Tekrar)

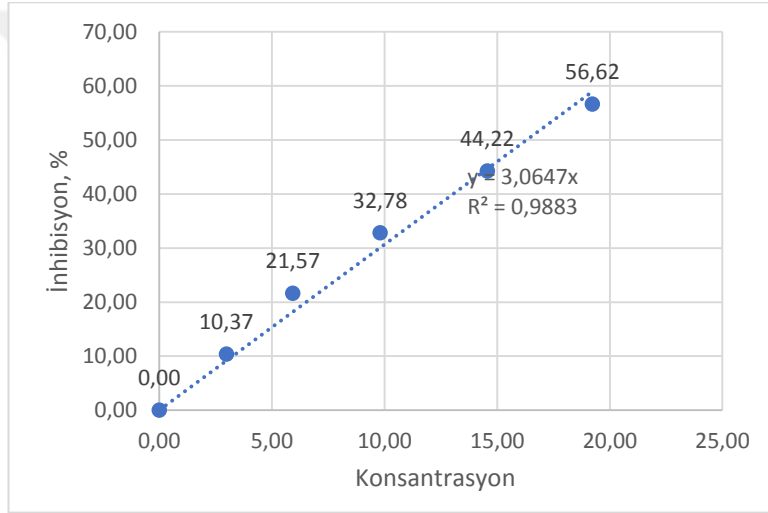
No	Örnek (µl)	DPPH Çözültisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.882	0.00
2	15	2.5	2.98	0.747	10.97
3	30	2.5	5.93	0.664	20.86
4	50	2.5	9.80	0.562	33.02
5	75	2.5	14.56	0.467	44.34
6	100	2.5	19.23	0.365	56.50
				slope	3.0637
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.32



Saf su örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (1. Tekrar)

Saf su ekstraktlarının absorbansları, 20°C (2. Tekrar)

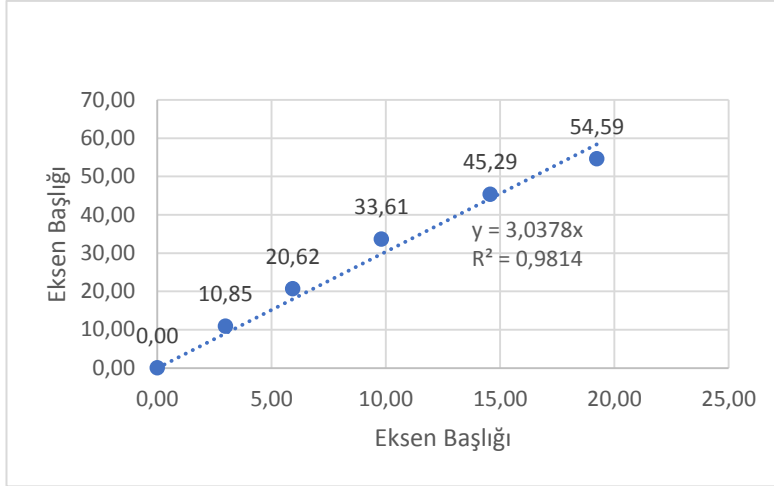
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.882	0.00
2	15	2.5	2.98	0.752	10.37
3	30	2.5	5.93	0.658	21.57
4	50	2.5	9.80	0.564	32.78
5	75	2.5	14.56	0.468	44.22
6	100	2.5	19.23	0.364	56.62
				slope	3.0647
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.31



Saf su örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (2. Tekrar)

Saf su ekstraktlarının absorbansları, 20°C (3. Tekrar)

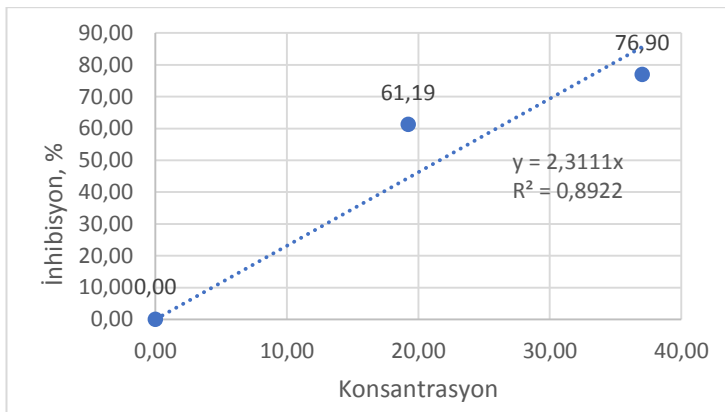
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.882	0.00
2	15	2.5	2.98	0.748	10.85
3	30	2.5	5.93	0.666	20.62
4	50	2.5	9.80	0.557	33.61
5	75	2.5	14.56	0.459	45.29
6	100	2.5	19.23	0.381	54.59
				slope	3.0378
				IC ₅₀ [µg/ml]	16.46



Saf su örneklerinin inhibisyon eğimi, 20°C (3. Tekrar)
BHA'nın DPPH ile antioksidan aktivite analizi

BHA'nın absorbans değerleri

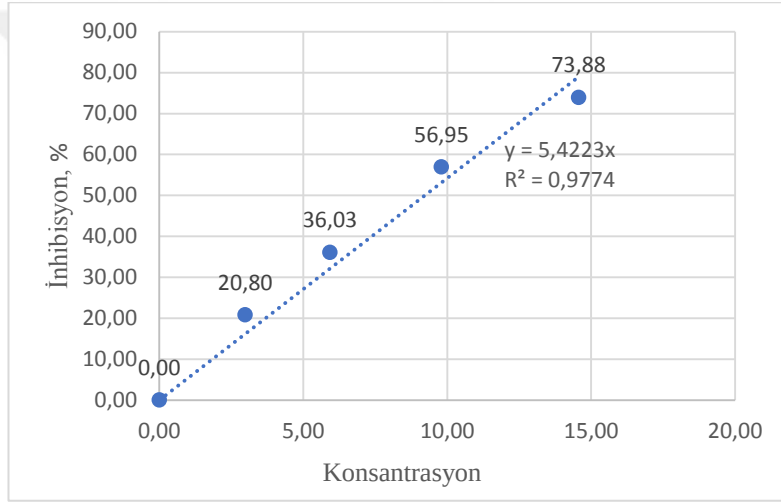
No	Örnek (μ l)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (μ g/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.827	0.00
2	15	2.5	2.98	0.321	61.19
3	30	2.5	5.93	0.191	76.90
4	50	2.5	9.80	0.184	77.75
5	75	2.5	14.56	0.168	79.69
6	100	2.5	19.23	0.170	79.44
				slope	2.3111
				IC ₅₀ [μ g/ml]	21.63



BHA örneklerinin inhibisyon eğimi

BHA'nın absorbands değerleri (1. Tekrar)

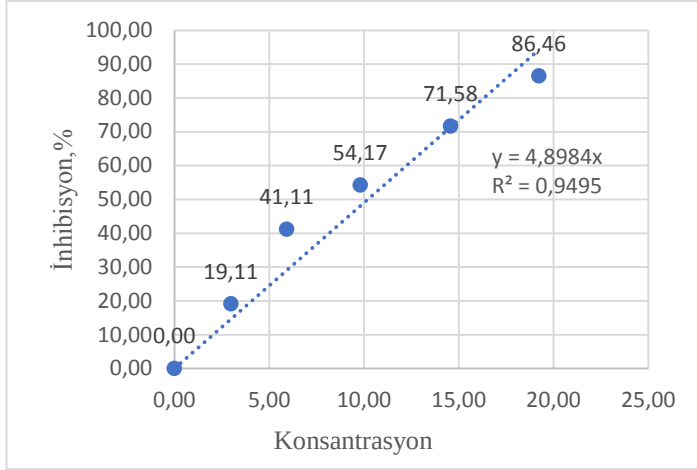
No	Örnek (μ l)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (μ g/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.743	0.00
2	15	2.5	2.98	0.655	20.80
3	30	2.5	5.93	0.529	36.03
4	50	2.5	9.80	0.356	56.95
5	75	2.5	14.56	0.216	73.88
6	100	2.5	19.23	0.155	81.26
				slope	5.4223
				IC ₅₀ [μ g/ml]	9.22



BHA örneklerinin inhibisyon eğimi (1. Tekrar)

BHA'nın absorbands değerleri (2. Tekrar)

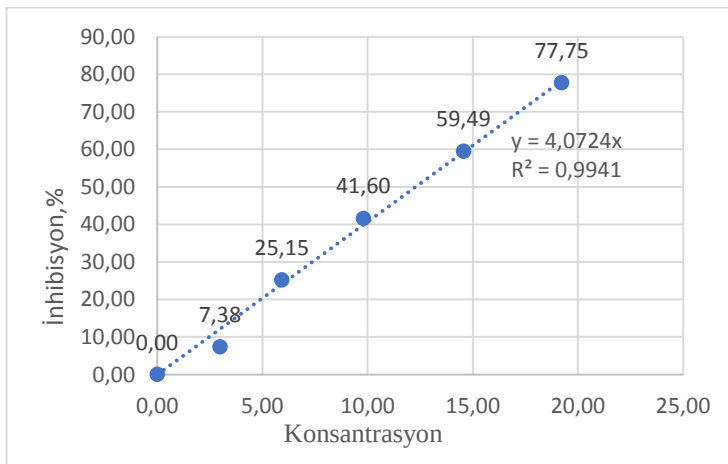
No	Örnek (μ l)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (μ g/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.743	0.00
2	15	2.5	2.98	0.669	19.11
3	30	2.5	5.93	0.487	41.11
4	50	2.5	9.80	0.379	54.17
5	75	2.5	14.56	0.235	71.58
6	100	2.5	19.23	0.112	86.46
				slope	4.8984
				IC ₅₀ [μ g/ml]	10.21



BHA örneklerinin inhibisyon eğimi (2. Tekrar)

BHA'nın absorbans değerleri (3. Tekrar)

No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.900	0.00
2	15	2.5	2.98	0.766	7.38
3	30	2.5	5.93	0.619	25.15
4	50	2.5	9.80	0.483	41.60
5	75	2.5	14.56	0.335	59.49
6	100	2.5	19.23	0.184	77.75
				slope	4.0724
				IC ₅₀ [µg/ml]	12.28

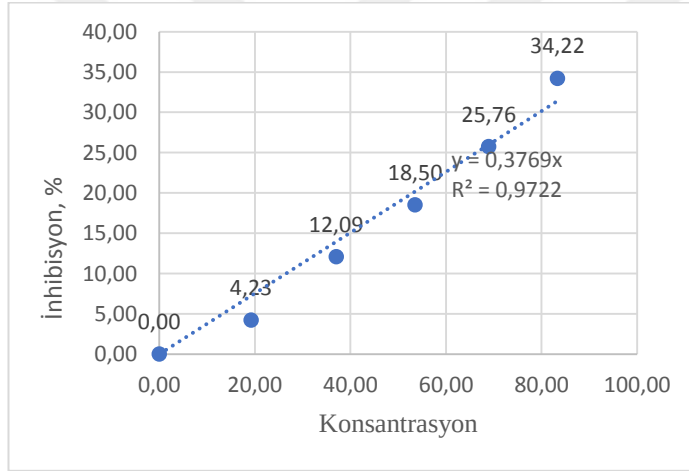


BHA örneklerinin inhibisyon eğimi (3. Tekrar)

BHT'nın DPPH ile antioksidan aktivite analizi

BHT'nın absorbans değerleri

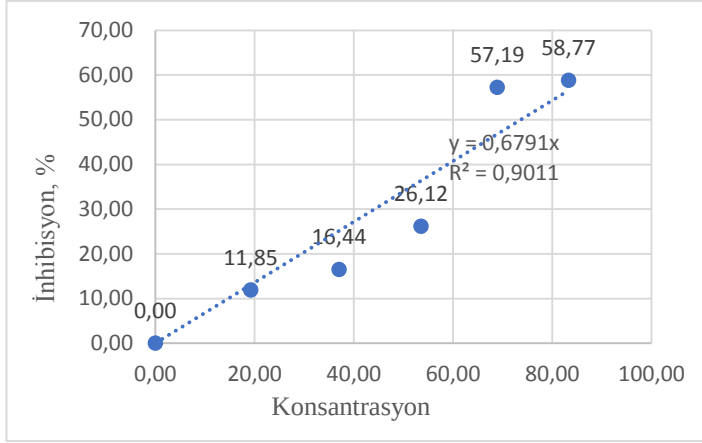
No	Örnek (μ l)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (μ g/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.827	0.00
2	15	2.5	2.98	0.792	4.23
3	30	2.5	5.93	0.727	12.09
4	50	2.5	9.80	0.674	18.50
5	75	2.5	14.56	0.614	25.76
6	100	2.5	19.23	0.544	34.22
				slope	0.3769
				IC ₅₀ [μ g/ml]	132.66



BHT örneklerinin inhibisyon eğimi

BHT'nın absorbans değerleri (1. Tekrar)

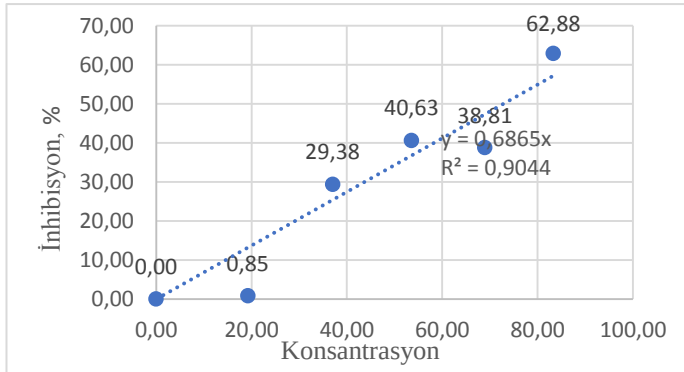
No	Örnek (μ l)	DPPH Çözeltilisi (ml)	Konsantrasyon (μ g/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.900	0.00
2	15	2.5	2.98	0.729	11.85
3	30	2.5	5.93	0.691	16.44
4	50	2.5	9.80	0.611	26.12
5	75	2.5	14.56	0.354	57.19
6	100	2.5	19.23	0.341	58.77
				slope	0.6791
				IC ₅₀ [μ g/ml]	73.63



BHT örneklerinin inhibisyon eğimi (1. Tekrar)

BHT'nın aborbans değerleri (2. Tekrar)

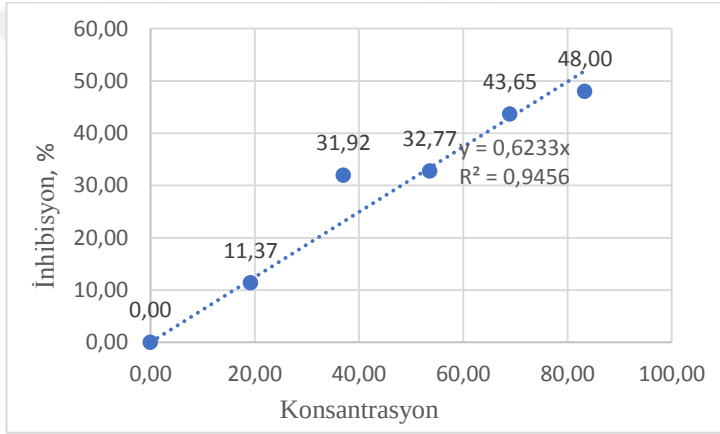
No	Örnek (µl)	DPPH Çözeltisi (ml)	Konsantrasyon (µg/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.885	0.00
2	15	2.5	2.98	0.820	0.85
3	30	2.5	5.93	0.584	29.38
4	50	2.5	9.80	0.491	40.63
5	75	2.5	14.56	0.506	38.81
6	100	2.5	19.23	0.307	62.88
slope					0.6865
IC ₅₀ [µg/ml]					72.83



BHT örneklerinin inhibisyon eğimi (2. Tekrar)

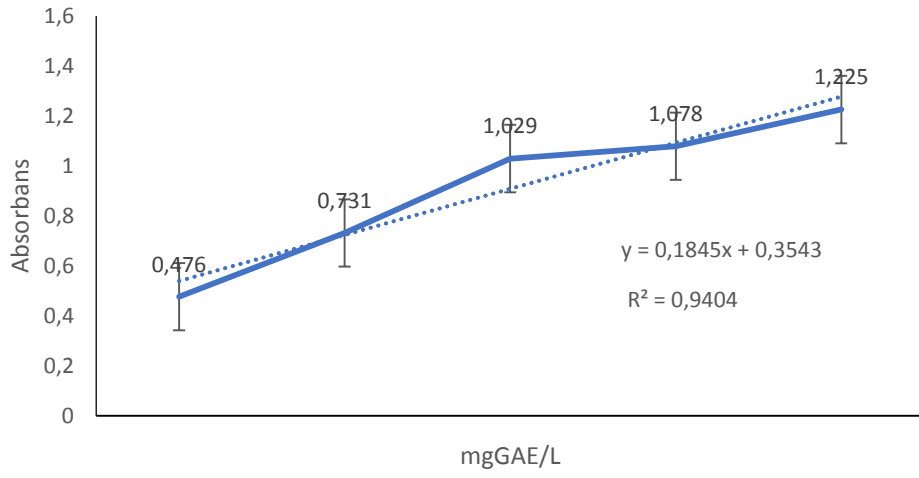
BHT'nın absorbans değerleri (3. Tekrar)

No	Örnek (μ l)	DPPH Çözeltili (ml)	Konsantrasyon (μ g/ml)	Absorbans	İnhibisyon (%)
1	0	2.5	0.00	0.885	0.00
2	15	2.5	2.98	0.733	11.37
3	30	2.5	5.93	0.563	31.92
4	50	2.5	9.80	0.556	32.77
5	75	2.5	14.56	0.466	43.65
6	100	2.5	19.23	0.430	48.00
				slope	0.6233
				IC ₅₀ [μ g/ml]	80.22



BHT örneklerinin inhibisyon eğimi (3. Tekrar)

GAE Kalibrasyon Eğrisi



Gae kalibrasyon eğrisi

Birim çevirme

Örnek hesaplama:

$$1109 \frac{mg \text{ GAE}}{L} \times \frac{1L}{1000mL} \times 5ml \times \frac{1}{1g \text{ kuru kabuk}} = 11.09 \frac{mg \text{ GAE}}{g \text{ Kuru kabuk}}$$

Mikrograma geçiş için örnek hesaplama:

$$11.09 \frac{mg \text{ GAE}}{g \text{ Kuru kabuk}} \times \frac{1000 \text{ mikrogram}}{1 mg} = 11090 \frac{\mu g}{g \text{ kuru kabuk}}$$

Design Summary

File Version	10.0.3.0				
Study Type	Factorial		Subtype	Randomized	
Design Type	D-optimal	Coordinate Exchange	Runs	14	
Design Model	2FI		Blocks	No Blocks	Build Time (ms) 10.00
Center Points	0				

Factor Name	Units	Type	Subtype	Minimum	Maximum	
A UAE Sicaklik	oC	Categoric	Nominal	20	60	Levels: 3
B UAE Sre dk		Categoric	Nominal	10	60	Levels: 3

Response	Name	Units	Obs	Analysis	Minimum	Maximum	Mean	Std. Dev.	Ratio	Trans	Mo
R1	TFM	mg/g GAE	14	Factorial	13.69	19	17.38928571	1.736014287	1.387874361	None	2FI
R2	DPPH	ug/mL GAE	14	Factorial	7.36	8.01	7.578571429	0.1686077443	1.088315217	None	2FI
R3	Ekstraksiyon verimi	%	14	Factorial	34.39	51.49	42.81714286	5.8852964489	1.497237569	None	2FI

Run	Factor 1 A:UAE Sicaklik oC	Factor 2 B:UAE Süre dk	Response 1 TFM mg/g GAE	Response 2 DPPH ug/mL GAE	Response 3 Ekstraksiyon verimi %
1	60	10	15.38	7.56	45.36
2	60	30	13.69	7.49	46.34
3	40	10	18.97	7.68	34.39
4	60	10	15.38	7.56	45.36
5	20	10	16.55	7.72	46
6	20	30	16.75	7.48	51.49
7	40	60	18.85	7.36	42.75
8	20	30	16.75	7.48	51.49
9	40	30	19	8.01	35.95
10	60	60	18.75	7.63	44.37
11	60	60	18.75	7.63	44.37
12	40	10	18.97	7.68	34.39
13	20	60	16.81	7.46	34.43
14	40	60	18.85	7.36	42.75

Design Expert- DX10 Design Summary**File Version** 10.0.3.0**Study Type** Factorial**Subtype** Randomized**Design Type** D-optimal Coordinate Exchange**Runs** 14**Design Model** 2FI**Blocks** No Blocks**Build Time (ms)** 7.00**Center Points** 0

Factor Name	Units	Type	Subtype	Minimum	Maximum	
A	UAE Sicaklik	oC	Categoric	Nominal	20	60
B	UAE Sre	dk	Categoric	Nominal	10	60

Levels: 3**Levels: 3**

Response	Name	Units	Obs	Analysis	Minimum	Maximum	Mean	Std. Dev.	Ratio	Trans	Model
R1	TFM	mg/g GAE	14	Factorial	7.65	25	17.78928571	4.70360	3.26797	None	2FI
R2	DPPH	ug/mL GAE	14	Factorial	7.11	7.81	7.467142857	0.252812	1.09845	None	2FI
R3	Ekstraksiyon verimi	%	14	Factorial	35.45	54.16	44.59714286	5.98121	1.52779	None	2FI

	Factor 1	Factor 2	Response 1	Response 2	Response 3
Run A:UAE Sicaklik	B:UAE Süre	TFM	DPPH	Ekstraksiyon verimi	
	oC	dk	mg/g GAE	ug/mL GAE	%
1	20	30	17	7.22	42.12
2	60	30	14.1	7.59	48.21
3	20	10	7.65	7.81	41.14
4	40	30	19.05	7.11	47.56
5	60	60	13.65	7.56	35.45
6	20	60	25	7.54	40.94
7	40	10	18.15	7.74	54.16
8	40	30	19.05	7.11	47.56
9	20	60	25	7.54	40.94
10	40	10	18.15	7.74	54.16
11	60	10	23.05	7.14	44.2
12	40	60	18.55	7.66	50.35
13	20	30	17	7.22	42.12
14	60	60	13.65	7.56	35.45