

**T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KRİTİK ALTI SU EKSTRAKSİYONUYLA ELMA
KABUKLARINDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN
ÖZÜTLENMESİ VE ÖZÜTÜN BİYOAKTİF
ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE FARKLI
EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ ETKİSİ**

Tuba DUYAR

Danışman: Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

Burdur, 2025

ETİK KURALLARA UYGUNLUK BEYANI

Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri uyarınca **Yüksek Lisans Tezi** olarak sunduğum "**Kritik Altı Su Ekstraksiyonuyla Elma Kabuklarından Fenolik Bileşiklerin Özütlenmesi ve Özütün Biyoaktif Özellikleri Üzerine Farklı Ekstraksiyon Koşullarının Etkisi**" başlıklı bu tezin;

- Kendi çalışmam olduğunu,
- Sunduğum tüm sonuç, doküman, bilgi ve belgeleri bizzat ve bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimi,
- Bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara atıf yaptığımı ve bunları kaynaklar listesinde usulüne uygun olarak verdiğimi,
- Kullandığım verilerde değişiklik yapmadığımı,
- Tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya diğer bir üniversitede başka bir tez çalışması içinde sunmadığımı,
- Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda bilimsel etik kurallarına uygun olarak davrandığımı,

bildirir, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul edeceğimi beyan ederim.

29/01/2025

(İmza)

Tuba DUYAR

ÖNSÖZ

Akademik çalışmalarında her konuda benden desteğini esirgemeyen, anlayış gösteren, tez çalışmam süresince yapmış olduğum araştırmalarda beni yönlendiren değerli Danışman Hocam **Prof. Dr. Yusuf YILMAZ**'a teşekkürlerimi sunarım. Araştırmalarımın fikirleri ve çabalarıyla bana her zaman sonsuz destek veren Dr. Öğretim Üyesi Hande Özge GÜLER DAL'a ayrıca çok teşekkür ederim. Tez çalışmamda kritik altı su ekstraksiyon deneylerinin gerçekleştirilmesi sırasında yardımcı olan Sayın Mahmut DOĞANTÜRK'e de teşekkür ederim.

Eğitim hayatımın her aşamasında beni destekleyen ve motive eden aileme sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmamı finansal açıdan 0942-YL-23 No'lu Proje ile destekleyen Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Ocak, 2025

Tuba DUYAR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Ekstraksiyon Yöntemleri.....	3
2.2. Kritik Altı Su Ekstraksiyonu	3
2.3. Ultrasonikasyon ve Ultrasonikasyon Destekli Ekstraksiyon Uygulamaları.....	6
2.3.1. Ultrasonikasyon Teknolojisinin Tanımı ve Mekanizması.....	6
2.3.2. Ultrasonikasyon Destekli Biyoaktif Bileşen Ekstraksiyonu.....	7
2.4. Flavonoidler: Yapıları, Kaynakları ve Sağlık Üzerindeki Etkileri.....	9
2.5. Elma.....	12
2.5.1. Elmalarda Flavonoidler ve Önemi.....	14
2.5.2. Elma Kabuğu Fenoliklerinin İnsan Sağlığı Açısından Önemi	16
2.5.3. Elma ve Elma Kabuğu Fenolik Bileşenleriyle İlgili Çalışmalar	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM	21
3.1. Materyal.....	21
3.2. Yöntemler.....	21
3.2.1. Elma Kabuğu Tozu Üretimi.....	21
3.2.2. Laboratuvar Ölçekli Sistemle Kritik Altı Su Ekstraksiyonu	23
3.2.3. Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu Yöntemi	24
3.2.4. Ultrases Destekli Ekstraksiyon Yöntemi	26
3.2.5. Geleneksel Ekstraksiyon Yöntemi.....	27
3.2.6. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi	27
3.2.7. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi.....	28
3.2.8. Antioksidan Aktivite Tayini	29
3.2.9. Renk Analizleri	30
3.2.10. Suda Çözünen Kuru Madde ve pH Tayini.....	31
3.2.11. İstatistiksel Analizler	32
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	33
4.1. Laboratuvar Ölçekli Sistemle Kritik Altı Su Ekstraksiyonu Ön Denemeleri	33
4.2. Laboratuvar Ölçekli Sistemle Kritik Altı Su Ekstraksiyonu	35
4.3. Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu Bulguları.....	43
4.3.1. Optimizasyon Çalışması Bulguları	43
4.3.2. Elma Kabuğu Ekstraktlarının Renk Özelliklerine Ait Bulgular	52
4.3.3. Elma Kabuğu Ekstraktlarının °Brix ve pH Değerlerine Ait Bulgular	55
4.4. Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması	56
5. SONUÇLAR	65
KAYNAKLAR	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Flavonoidlerin temel iskelet yapısı ve sınıfları (Farhan vd., 2016).....	9
Şekil 2.2. Elmada yer alan başlıca fenolik bileşikler (Hyson, 2011).....	14
Şekil 3.1. Red delicious cinsi elmaların kabuklarının elma soyucuya yerleştirilmesi (A) ve kabuk soyma işlemine (B) ait görsel	22
Şekil 3.2. Elma kabuklarının etüvde kurutulma işlemi (A) ile kurutulmuş elma kabuklarının görüntüsü (B) ile öğütülen kabukların elekten geçirilmesine (C) ait görsel	22
Şekil 3.3. Standardize edilmiş elma kabuğu tozunun üretimine ait işlem basamakları..	22
Şekil 3.4. Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyonu sistemi (A: Fırın, Ekstraksiyon hücresi, B: Yüksek basınç pompası, C:Ekstrakt)	23
Şekil 3.5. Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyonu sisteminin detaylı görüntüsü	24
Şekil 3.7. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemi ile elde edilen elma kabuğu tozu ekstraktlarına ait görsel	26
Şekil 3.8. Geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen elma kabuğu ekstraktlarına ait görsel	27
Şekil 3.9. Elma kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi sırasında karışımda oluşan renge ait görsel.....	28
Şekil 3.10. Elma kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi sırasında karışımda oluşan renge ait görsel.....	29
Şekil 3.7. Elma kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi sırasında karışımda oluşan renge ait görsel	30
Şekil 3.8. Çalışmada kullanılan kolorimetre (sol) ve dijital refraktometreye (sağ) ait görsel	30
Şekil 4.1. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin istenilirlik üzerindeki etkilerini gösteren yanıt-yüzey ve kontur eğrileri.....	49
Şekil 4.2. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların toplam flavonoid içeriği üzerindeki etkilerini gösteren yanıt-yüzey ve kontur eğrileri.....	50

- Şekil 4.3.** Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların toplam fenolik madde içeriği üzerindeki etkilerini gösteren yanıt-yüzey ve kontur eğrileri51
- Şekil 4.4.** Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların antioksidan aktivite değerleri üzerindeki etkilerini gösteren yanıt-yüzey ve kontur eğrileri52



ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Elmada yer alan bileşenler (100 gram) (USDA, 2022)	13
Çizelge 2.2. Elma meyvesinin farklı kısımlarında bulunan fenolik bileşikler (mg/kg kuru ağırlık)	16
Çizelge 3.1. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemi ile elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait optimizasyon çalışmasında kullanılan merkezi karma tasarıma ait deneme deseni.....	25
Çizelge 4.1. İki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen kritik altı su ekstraksiyonuyla ardışık olarak toplanan fraksiyonlardaki (10'ar mL) (T1-T10) elma kabuğu tozu ekstraktlarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite içerikleri (ortalama±standart sapma)	34
Çizelge 4.2. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile ekstraksiyonunda toplanan her bir fraksiyonun (T1'den T8'e kadar, 25'şer mL) toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivite, suda çözünür kuru madde (°Brix) ve pH değerlerinin ekstraksiyon sıcaklığıyla değişimi (n=2)	35
Çizelge 4.3. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile ekstraksiyonunda toplanan ekstraktın toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivite, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi (n=16).....	36
Çizelge 4.4. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile iki farklı sıcaklıkta ekstraksiyonuyla toplanan ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivite, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerine her bir fraksiyonun (T1'den T8'e kadar, 25'şer mL) etkisi (n=4)	38
Çizelge 4.5. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile ekstraksiyonunda toplanan her bir fraksiyonun (T1'den T8'e kadar, 25'şer mL) CIELAB renk değerlerinin (L*, a*, b*, hue açısı ve kroma) ekstraksiyon sıcaklığıyla değişimi (n=2)	39
Çizelge 4.6. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile ekstraksiyonunda toplanan ekstraktın	

CIELAB renk değerleri (L^* , a^* , b^* , hue açısı ve kroma) üzerine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi ($n=16$).....	41
Çizelge 4.7. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile iki farklı sıcaklıkta ekstraksiyonuyla toplanan ekstraktların CIELAB renk değerleri (L^* , a^* , b^* , hue açısı ve kroma) üzerine her bir fraksiyonun (T1'den T8'e kadar, 25'şer mL) etkisi ($n=4$)...	42
Çizelge 4.8. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemi ile elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait optimizasyon çalışmasında kullanılan merkezi karma tasarıma ait faktörler (sıcaklık, etanol konsantrasyonu ve süre) ve yanıt değişkenleri	44
Çizelge 4.9. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri için kuadratik modele ait varyans analiz bulguları ile tasarım ölçütleri.....	45
Çizelge 4.10. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri için kuadratik modele ait varyans analiz bulguları ile tasarım ölçütleri.....	47
Çizelge 4.11. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri için kuadratik modele ait varyans analiz bulguları ile tasarım ölçütleri.....	48
Çizelge 4.12. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının CIELAB renk değerleri ile görselleri	53
Çizelge 4.13. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ile merkezi karma tasarımda belirtilen koşullarda elde edilen elma kabuğu ekstraktlarının °Brix ve pH özelliklerine ait bulgular (ortalama \pm standart sapma).....	55
Çizelge 4.14. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların CIELAB renk değerlerinin karşılaştırılması ve görselleri.....	57
Çizelge 4.15. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivitesi ve toplam flavonoid içeriği değerlerinin karşılaştırılması	58

Çizelge 4.16. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimi (%), kuru madde içeriği (°Brix) ve pH değerleri.....	59
Çizelge 4.17. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların CIELAB renk değerleri	60



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AA	: Antioksidan Aktivite
ABTS	: 2,2'-Azino-bis-diamonyum tuzu
ASE	: Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu (Accelerated Solvent Extraction)
CCD	: Merkezi Karma Tasarım
CIE	: Uluslararası Aydınlatma Komisyonu
ETOH	: Etanol
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FBE	: Fen Bilimleri Enstitüsü
FC	: Folin-Ciocalteu
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
HPLC	: Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
KASE	: Kritik Altı Su Ekstraksiyonu
KE	: Kateşin Eşdeğeri
KM	: Kuru Madde
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (Low Density Lipoprotein)
MAKÜ	: Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
RSM	: Yanıt Yüzey Metodolojisi (Response Surface Methodology)
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskopisi (Scanning Electron Microscopy)
SFE	: Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
SPE	: Katı Faz Ekstraksiyonu (Solid Phase Extraction)
SWE	: Kritik Altı Su Ekstraksiyonu (Subcritical Water Extraction)
TE	: Trolox® Eşdeğeri
TFİ	: Toplam Flavonid İçeriği
TFMİ	: Toplam Fenolik Madde İçeriği
TÜİK	: Türkiye İstatistik Kurumu
UDE	: Ultrasonikasyon Destekli Ekstraksiyon
%	: Yüzde
°Brix	: Suda Çözünür Kuru Madde
°C	: Santigrat Derece

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Kritik Altı Su Ekstraksiyonuyla Elma Kabuklarından Fenolik Bileşiklerin Özütlenmesi ve Özütün Biyoaktif Özellikleri Üzerine Farklı Ekstraksiyon Koşullarının Etkisi

Tuba DUYAR

**Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**

Danışman: Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

Ocak, 2025

Bu çalışmanın amacı, kritik altı su ekstraksiyonu (KASE) yöntemiyle Red Delicious cinsi elmaların kabuklarından fenolik bileşiklerin özütlenmesi ve ekstraksiyon sıcaklığı, etanol oranı ve süre gibi koşulların, özütlerin toplam fenolik madde (TFMİ), flavonoid içeriği (TFİ) ve antioksidan aktiviteleri (AA) üzerine etkisinin belirlenmesidir. Araştırmada hem laboratuvar ölçekli KASE sistemi hem de hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (ASE) yöntemi kullanılmıştır. ASE yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimize edildiği çalışmada, her üç yanıt faktörünün maksimize edildiği optimum koşul yaklaşık 108,5°C, %2,03 çözücü etanol oranı ve 26 dakikalık süre olmuştur. Bu koşullarda elde edilen ekstraktların TFİ, TFMİ ve AA değerleri sırasıyla 45,01 mg KE/L, 77,67 mg GAE/L ve 52,49 µmol TE/L olarak belirlenmiştir. Optimum koşullardaki ekstraktın biyoaktif özellikleri geleneksel ve ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemleriyle elde edilenlerle kıyaslanmıştır. ASE ve geleneksel yöntemle elde edilen ekstraktların TFMİ değerleri sırasıyla 13,82 ve 14,22 mg GAE/g olurken ($p>0,05$), UDE yöntemi en düşük TFMİ değerini (1,80 mg GAE/g) vermiştir ($p<0,05$). ASE (8,95 µmol TE/g) ve UDE (8,72 µmol TE/g) yöntemleriyle elde edilen ekstraktların AA değerleri benzer bulunurken ($p>0,05$), geleneksel ekstraksiyonda daha düşük AA değeri (4,64 µmol TE/g) belirlenmiştir. Ekstraktların TFİ açısından ise UDE 10,68 mg KE/g ile en yüksek değeri verirken ($p<0,05$), ASE (6,58 mg KE/g) ve geleneksel ekstraksiyon (5,64 mg KE/g) yöntemleri daha düşük değerler göstermiştir. Çalışma bulguları, KASE yönteminin, fenolik bileşiklerin verimli bir şekilde özütlenmesinde etkili bir yöntem olarak öne çıktığını ve optimize edilen koşullarda elde edilen ekstraktların biyolojik aktivitelerinin diğer ekstraksiyon yöntemleriyle kıyaslandığında üstün veya benzer performans sergilediğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: elma kabuğu, kritik altı su ekstraksiyonu, hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu, geleneksel ekstraksiyon, biyoaktif bileşenler

Hazırlanan bu Yüksek Lisans tezi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0942-YL-23 proje numarası ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

Extraction of Phenolic Compounds from Apple Peels by Subcritical Water Extraction and Effect of Different Extraction Conditions on the Bioactive Properties of Extracts

Tuba DUYAR

Supervisor: Prof. Dr. Yusuf YILMAZ

January, 2025

The aim of this study is to extract phenolic compounds from the peels of Red Delicious apples using the subcritical water extraction (SWE) method and to determine the effects of conditions such as extraction temperature, ethanol ratio, and duration on the total phenolic content (TPC), flavonoid content (TFC), and antioxidant activities (AA) of the extracts. Both a laboratory-scale SWE system and the accelerated solvent extraction (ASE) method were utilized in the research. In the study, where the ASE method was optimized using a central composite design, the optimal conditions, under which all three response factors were maximized, were determined to be approximately 108.5°C, 2.03% solvent ethanol ratio, and a duration of 26 minutes. Under these conditions, the TFC, TPC, and AA values of the extracts were determined as 45.01 mg CE/L, 77.67 mg GAE/L, and 52.49 µmol TE/L, respectively. The bioactive properties of the extract obtained under optimal conditions were compared with those obtained using conventional and ultrasound-assisted extraction (UAE) methods. The TPC values of the extracts obtained by ASE and the conventional method were 13.82 and 14.22 mg GAE/g, respectively ($p>0.05$), while the UAE method yielded the lowest TPC value (1.80 mg GAE/g) ($p<0.05$). The AA values of the extracts obtained by ASE (8.95 µmol TE/g) and UAE (8.72 µmol TE/g) methods were found to be similar ($p>0.05$), whereas the conventional extraction method resulted in a lower AA value (4.64 µmol TE/g). In terms of TFC, UAE provided the highest value of 10.68 mg CE/g ($p<0.05$), while ASE (6.58 mg CE/g) and conventional extraction (5.64 mg CE/g) methods showed lower values. The findings of the study highlight that the SWE method is an effective approach for efficiently extracting phenolic compounds and that the extracts obtained under optimized conditions exhibit superior or comparable biological activities when compared to other extraction methods.

Keywords: apple peel, subcritical water extraction, accelerated solvent extraction, conventional extraction, bioactive compounds

The present M.Sc. Thesis was supported by the Commission of Scientific Research Projects in Burdur Mehmet Akif Ersoy University under the Project number of 0942-YL-23.

1. GİRİŞ

Bitkilerden, meyve ve sebzelerden çeşitli biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda genellikle organik çözücüler kullanılarak katı-sıvı ekstraksiyonu ve buhar distilasyonu gibi geleneksel işlemlerle gerçekleştirilmektedir (Zakaria ve Kamal, 2016). Kullanılan geleneksel ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan çözücülerin toksik olması, kalıntı bırakmalarının yanı sıra bu sürecin uzun olması, kullanılan çözücülerin pahalı olması, büyük hacimlerde ve yüksek saflıkta tüketilmesi, düşük seçicilikte olması başlıca dezavantajlarıdır. Yüksek sıcaklıkta bazı bileşenlerin zarar görme riski taşımamasından dolayı son yıllarda yenilikçi ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir. Bu kapsamda yüksek basınç altında sıcak suyun kullanıldığı kritik altı su ekstraksiyonu (KASE) gibi çevre dostu teknolojilerin kullanımı oldukça popülerlik kazanmış olup yüksek kalite ve aktivitede ekstrakt eldesi amaçlanmaktadır (Zakaria ve Kamal, 2016).

Elma kabukları, elma püresi ve konserve elma üretimi sonrasında elde kalan atık bir yan üründür. Elma kabukları tipik olarak hayvan yemi gibi düşük değerli amaçlar için kullanılır. Çekirdeklerle birlikte, genellikle meyve suyu veya sirke yapmak için preslenirler, hayvan yemi için bir kek haline getirilirler veya gübre olarak kullanılırlar. Ayrıca, bazen pektin üretimi için bir kaynak olarak kullanılabılır. Elma kabukları antosiyaninler, kuersetin ve pro-antosiyanidinler gibi biyoaktif bileşenler içerir ve bu bileşenler sayesinde sağlık açısından önemli faydalar sunmaktadır. Bu bileşikler, kan basıncı seviyesini düşürme etkisine sahiptir (Alonso Salces vd., 2001). Ayrıca, düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolün oksidasyonunu önleyerek, yağ metabolizmasını iyileştirilme potansiyeline sahiptir (Kaur, 2013). Elma kabuğunun epikateşin, β -karoten, proantosiyanidin-B1 ve kateşin gibi fitokimyasalların varlığı (Van der Sluis vd., 2001) nedeniyle kolesterolü düşürme yeteneğine sahip olduğu da bildirilmektedir. Elma kabuğu ekstraktlarını kullanan tıbbi (farmasötik ve nutrasötik) çalışmalar, kolesterol seviyesini düşüren ve LDL oksidasyonunu önleyen kardiyovasküler hastalıkların tedavisi için bu ekstraktların kullanılabileceğini bildirmiştir (Rupasinghe vd., 2013).

Fenolik bileşikler, hem bitkilerde hem de insan sağlığında önemli roller oynayan biyoaktif bileşiklerdir. Biyoaktif bileşiklerin bir sınıfı olarak fenolik bileşikler yüksek antioksidan kapasitesine sahiptir (Wolfe ve Liu, 2003). Bitkilerde fenolikler, patojenlere ve olumsuz çevre koşullarına karşı dirençleri ile ilişkilidir (Treutter, 2005). İnsanlar için diyet yoluyla fenolik bileşiklerin alınması kardiyovasküler hastalık ve kanser riskini

azaltabilmektedir (Knekt vd., 1996; Le Marchand vd., 2000; Wolfe ve Liu, 2003). Bu bağlamda, kabuklarıyla birlikte elmalar iyi birer fenolik bileşik kaynakları sayılabilir.

Bu yüksek lisans tez çalışmasının temel amacı, kırmızı tür olan *Red Delicious* cinsi elmaların kabuklarından fenolik bileşiklerin çevre dostu KASE yöntemiyle özütlenmesi ve elde edilen özütlerin toplam fenolik madde içeriği (TFMİ), toplam flavonoid içeriği (TFİ) ve antioksidan aktiviteleri (AA) gibi biyoaktif içerikleri üzerine ekstraksiyon sıcaklığı, çözücüdeki etanol oranı ve ekstraksiyon süresi gibi bazı koşulların etkisinin belirlenmesidir. Bu kapsamda, elma kabukları düşük sıcaklıkta kurutulmuş toz haline getirilmiş ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Araştırmada, merkezi karma tasarım (CCD) kullanılarak ekstraktlardaki TFMİ, TFİ ve AA değerleri maksimize edilecek şekilde optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimum koşullar belirlendikten sonra, elde edilen ekstraktın biyoaktif içeriği ve bazı kalite özellikleri, ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon (UDE) ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen ekstraktlarla karşılaştırılmıştır. Araştırma sonuçları, çevre dostu yeşil ekstraksiyon yöntemlerinin kullanılmasıyla hammadde kaynaklarının sürdürülebilir değerlendirilmesini sağlayabilecek ve geleneksel yöntemlerin çevre üzerindeki olumsuz etkilerini azaltarak döngüsel ekonomiye olan ilgiyi artırabilecektir. Bununla birlikte, meyve kabukları gibi atıkların, gıda takviyesi ve farmakolojik ilaçların geliştirilmesinde veya yeniden formüle edilmesinde girdi olarak kullanılabilmesi yönünde önemli bir birikim sağlanabilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ekstraksiyon Yöntemleri

Ekstraksiyon, bir maddenin bir çözücü yardımıyla ayrılmasını sağlayan bir işlemdir ve ekstraksiyon sürecinde çeşitli faktörler rol oynar. Kullanılan çözücünün polaritesi ve kaynama noktası gibi özellikler, ekstraksiyon verimini doğrudan etkilerken (Saldamlı, 2021), sıcaklık da çok önemli bir parametredir; yüksek sıcaklıklar difüzyon hızını artırarak ekstraksiyon verimini yükseltirken, aşırı sıcaklıklar bazı bileşenlerin yapısında bozulmalara neden olabilir veya istenmeyen bileşiklerin çözünmesine yol açabilir (Cemeroğlu, 2017). Ekstraksiyon süresi ise hedeflenen bileşiğin çözücü tarafından ne kadar iyi özütlendiğini belirler ve genellikle daha uzun ekstraksiyon süreleri, daha fazla bileşen eldesine olanak sağlar. Ayrıca, parçacık boyutu da ekstrakte edilecek maddenin yüzey alanını etkileyerek çözünme hızını değiştiren bir diğer önemli faktördür (Saldamlı, 2021; Zuorro vd., 2016). Günümüzde rutin analiz laboratuvarlarında hala yaygın olarak kullanılan Soxhlet ekstraksiyonu, 1879 yılında Franz von Soxhlet tarafından geliştirilmiştir. Günümüzde, iki veya daha fazla bileşen içeren katı veya sıvı karışımlardan bir maddenin veya istenmeyen safsızlıkların bir çözücü yardımıyla ayrıldığı ekstraksiyon işlemindeki teknikler de teknoloji ve otomasyon tekniklerindeki ilerlemeyle birlikte önemli ölçüde gelişmiştir. Bunun temel nedeni, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin bazı dezavantajlara sahip olmasıdır. Bu dezavantajlar arasında uzun işlem süreleri, yüksek miktarda çözücü kullanımı, çözümlerin düşük seçiciliği, yüksek maliyetler ve çevresel sorunlara yol açma potansiyeli yer almaktadır (de Castro, 2010). Bu nedenle, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin yerini süperkritik sıvı ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu (veya hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu), mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrasonikasyon destekli sıvı ekstraksiyonu gibi modern teknikler almıştır (Çapar, 2023). Bu yeni tekniklerin bazı ortak özellikleri, ekstraksiyon hızını önemli ölçüde artıran yüksek sıcaklık ve yüksek basınç prensiplerine dayanmaktadır.

2.2. Kritik Altı Su Ekstraksiyonu

Çözücü yardımıyla bir maddenin bir ortamdan başka bir ortama taşınması işlemine “ekstraksiyon” denir. Gıda endüstrisinde, farklı amaçlara yönelik olarak çeşitli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır. Temel ekstraksiyon yöntemleri şu şekilde sınıflandırılmaktadır (Kutlular, 2007): 1. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE), 2. Süper Kritik

Akışkan Ekstraksiyonu, 3. Subkritik (Kritik Altı) Su Ekstraksiyonu ve 4. Çözücü Ekstraksiyonu.

Gıda yapısı karmaşık ve homojen olmayan bir matris olduğundan, fiziksel formu doğal kökenli ya da işlenmiş olması fark etmeksizin katıdan sıvıya kadar değişiklik gösterebilir. İleri tekniklerin geliştirilmesine rağmen, çok sayıda kimyasal bileşenden oluşan karmaşık gıda matrislerinden istenen bileşenlerin izolasyonu halen araştırma konusu olmaya devam etmektedir. Ayrıca, büyük miktarlarda organik çözücülerin bertaraf edilmesiyle ilgili çevresel sorunlar ve geleneksel yöntemlerin otomasyona adaptasyondaki zorluklar, yeni ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesini gerekli kılmıştır (Thurman ve Mills, 1998). 1970'lerde sıvı-sıvı ekstraksiyonuna alternatif bir yöntem olarak geliştirilen SPE yöntemi, numune hazırlama sürecinde yaygın olarak kullanılır ve hedef bileşenleri örnek matrisinden ayırarak analiz için uygun hale getirir (Thurman ve Mills, 1998). Bu teknikte, uygun bir sorbent ile donatılmış tek kullanımlık kartuşlar veya kolonlar kullanılır. Sıvı numune ile katı faz arasındaki etkileşim, bir denge oluşana kadar devam eder. SPE'nin başlıca avantajları arasında yüksek geri kazanım oranı, analiz süresinin kısalması, işlem adımlarının basitleştirilmesi, otomasyona uygunluk, kromatografik analizlerle uyumluluk ve organik çözücü kullanımının azalması yer alır. Özellikle pestisit ve toksikolojik analizlerde yaygın olarak kullanılan bu yöntemde (Thurman ve Mills, 1998), işlemin verimini etkileyen temel parametreler arasında çözücü türü ve konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi ile karıştırma hızı sayılabilir (Goli vd., 2005; Ballard vd., 2009; Belguith-Hadriche vd., 2013; Zuorro vd., 2016).

Kritik altı su ekstraksiyonu, 100°C ile 374°C arasındaki sıcaklıklarda ve sıvı halini koruyacak kadar yüksek basınç altında, suyun çözücü olarak kullanıldığı bir ekstraksiyon yöntemidir (Özel ve Göğüş, 2003). Bu yöntem, literatürde farklı isimlerle de anılmaktadır: sıcak su ekstraksiyonu, yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu, sıcak sıvı su ekstraksiyonu, aşırı ısıtılmış su ekstraksiyonu, basınçlı sıcak su ekstraksiyonu ve basınçlı düşük polarite su ekstraksiyonu (Petigny vd., 2015). KASE yöntemi, çevre dostu ve güvenli bir yöntem olarak öne çıkmakta olup çözgenin yanıcı ve toksik olmaması, düşük maliyetli olması ve yeşil bir çözgen olan suyun kullanılması, bu yöntemin avantajları arasında yer almaktadır (Özel vd., 2003; Asl ve Khajenoori, 2013). KASE ile fenolik bileşikler, aroma ve koku bileşikleri, flavonoidler, karotenoidler, vitaminler, uçucu yağlar, antioksidanlar ve antimikrobiyal maddeler gibi biyoaktif bileşikler başarıyla ekstrakte edilebilmektedir (Özel ve Göğüş, 2003).

Biyoaktif bileşiklerin geri kazanılmasına yönelik ekstraksiyon işlemleri, yüksek saflıkta ürünler elde etmek ve bu ürünleri geniş bir uygulama yelpazesinde kullanılabilir hale getirmek için geliştirilmiştir. Bu teknolojiler, özellikle farmasötik ve gıda endüstrilerinde yenilikçi bir yaklaşım sunmaktadır. Ancak, ekstraksiyon işlemi sırasında basınç, sıcaklık, süre ve çözücü seçimi gibi parametrelerin dikkatli bir şekilde yönetilmesi gerekmektedir. Bu parametreler, ekstrakte edilen bileşiklerin bileşimini ve özelliklerini doğrudan etkileyebilmektedir (Azmir vd., 2013). KASE sistemi, üç ana bileşenden oluşmaktadır: (1) Çözücü rezervuarı ve yüksek basınçlı pompa: Sisteme suyun girişini sağlar, (2) Ekstraksiyon hücresi veya kolonu: Ekstraksiyon işleminin gerçekleştiği, fırın içinde yer alan bir yapı, (3) Basınç kontrol vanası: Sistem içindeki basıncı korur.

Ekstraksiyon işlemi sırasında, suyun sıvı fazda kalmasını sağlamak için yüksek basınç uygulanır. Statik ekstraksiyon, sistemin vanalarının tamamen kapalı olduğu durumda gerçekleşir. Ekstraksiyon süreci, üç ardışık adımdan oluşur (Turner vd., 2012): (1) Çözünen maddelerin yüzeye difüzyonu, (2) Çözünen bileşiklerin çözücüye (yani su) aktarılması ve (3) Çözünen bileşiklerin ekstraksiyon kolonundan elüsyonu.

KASE işlemi sırasında suyun fiziksel ve kimyasal özellikleri önemli ölçüde değişmektedir. Örneğin, oda sıcaklığında (25°C) suyun dielektrik sabiti (göreceli elektriksel geçirgenlik) yaklaşık 80 iken, 200°C'de bu değer 33'e düşmektedir. Bu değişim suyun etanol veya metanol gibi organik çözücülere benzer bir davranış sergilemesini sağlar (Herrero vd., 2006). Bu nedenle KASE, polar olmayan bileşiklerin ekstraksiyonu için de kullanılabilir ve organik çözücülerin yerine suyun kullanılmasını mümkün kılar. Ancak, her bileşik türü için dielektrik sabitindeki değişim dikkate alınmalıdır. Ekstraksiyon sırasında sıcaklık artışıyla birlikte suyun viskozitesi ve yüzey gerilimi azalırken, difüzyon yeteneği artar. Bu durum, çözücünün matris içine daha derinlemesine nüfuz etmesine olanak tanır ve ekstraksiyon işleminin verimliliği ile hızını artırır. Ayrıca, yüksek sıcaklık koşulları, hedef bileşiklerin matrislerden hızlı termal desorpsiyonunu sağlar ve kütle aktarım hızını iyileştirir (Ong vd., 2006).

Sonuç olarak KASE, çevre dostu bir yöntem olarak organik çözücülere alternatif sunar. Yüksek sıcaklık ve basınç koşulları sayesinde, düşük viskozite, düşük yüzey gerilimi ve yüksek difüzyon gibi fiziksel avantajlar elde edilir (Özel ve Göğüş, 2003). Bu yöntem, hem polar hem de polar olmayan bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun olup (Özel vd., 2003), gıda ve farmasötik endüstrilerinde geniş bir uygulama imkanı sunar.

2.3. Ultrasonikasyon ve Ultrasonikasyon Destekli Ekstraksiyon Uygulamaları

2.3.1. Ultrasonikasyon Teknolojisinin Tanımı ve Mekanizması

Ultras, elektrik enerjisinin ultrasonik transdüserler aracılığıyla titreşimsel ses enerjisine dönüştürülmesiyle oluşan, 20 Hz ile 20 kHz aralığındaki ses dalgalarını ifade eder (Ojha vd., 2018). İnsan kulağının duyabileceği maksimum frekansın (16-18 kHz) üzerinde bir frekansta çalışan ultras, katı veya akışkan bir ortamda mekanik titreşim enerjisi oluşturur. Ultrasonik frekanslar gazlar için 5 MHz'e, sıvılar ve katılar için ise 500 MHz'e kadar çıkabilmektedir (Mason vd., 2002). Düşük güçlü ultras (10 W'a kadar, 2-10 MHz frekans aralığında), tahribatsız bir yöntem olarak tıp, kimyasal analiz ve gıda endüstrisinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bu yöntem, gıdaların fizikokimyasal özelliklerinin tanımlanması, yüzey temizliği, enzim inaktivasyonu, kristalizasyon, emülsifikasyon, filtrasyon, dondurma ve olgunlaştırma gibi birçok uygulamada başarıyla kullanılmaktadır (Thakurand vd., 1997).

Ultrasonik ses dalgaları, bir ortamdan diğerine geçerken kütle transferine etki ederek hem iç hem de dış direnci azaltır (Liang, 1993). Sıvı uygulamalarında ultras, "kavitasyon" adı verilen bir etki yaratır. Bu süreçte sıvı içinde kabarcıklar oluşur, büyür ve çöker. Kabarcıkların çökmesi sırasında oluşan mikrojetler, katı yüzeylere çarparak mekanik karıştırma etkisi yaratır ve kütle transferini kolaylaştırır (Mason, 1998). Katı ortamlarda ultrasunun yarattığı basınç değişimleri, "sünger etkisi" olarak adlandırılan bir mekanizmaya neden olur ve bu etki, katıdan sıvının dışarı çıkmasını ve dış ortamdan sıvının katının içine girmesini sağlar (Floros vd., 1994).

Ultrasonikasyon teknolojisi, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda verimliliği artıran yenilikçi bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Bu yöntem, hem işlem süresini kısaltması hem de çevre dostu bir yaklaşım sunmasıyla gıda, ilaç ve kozmetik gibi birçok endüstride dikkat çekmektedir. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, genellikle katı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle gerçekleştirilir. Bu yöntemde çözücü olarak aseton, metanol, etanol veya su kullanılır (Bars-Cortina vd., 2017; Çam ve Aaby, 2010; Casazza vd., 2015). Ultras teknolojisi, ekstraksiyon sürecini hızlandırmak ve verimliliği artırmak için bu yöntemle birleştirilebilir. Ultrasonikasyonun ekstraksiyon üzerindeki etkisi, kavitasyon ve sünger etkisi mekanizmalarıyla açıklanabilir: Kavitasyon sırasında oluşan kabarcıkların çökmesi, hücre duvarlarını parçalayarak fenolik bileşiklerin serbest kalmasını sağlarken sünger etkisi ise katı yüzeylerden fenoliklerin çözücüye geçişini kolaylaştırır (Floros vd., 1994).

Ekstraksiyon işlemlerinde, fenolik bileşiklerin verimli bir şekilde elde edilmesi sürecinde çözücü seçimi, ekstraksiyon verimi ve bileşiklerin kalitesi üzerinde kritik bir rol oynayarak, hem hedef bileşiklerin çözünürlüğünü hem de ekstraksiyonun etkinliğini doğrudan etkilemektedir. Fenolik ekstraksiyonunda kullanılan çözücünün türü, ekstraksiyon verimini önemli ölçüde etkiler. Önceki çalışmalar, metanolün genellikle daha yüksek fenolik verimi sağladığını bildirmiştir. Ancak, metanolün toksik olması nedeniyle aseton, etanol ve su gibi daha güvenli ve çevre dostu çözücüler tercih edilmektedir (Casazza vd., 2020; Quang vd., 2014). Liaudanskas vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, Ligol çeşidi elmanın tamamında gerçekleştirilen fenolik ekstraksiyonunda, etanolün metanol ve aseton gibi çözücülere kıyasla daha fazla flavonoid elde edilmesini sağladığı bildirilmiştir. Bu durum, etanolün hem güvenli hem de etkili bir çözücü olduğunu desteklemektedir.

Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon, geleneksel yöntemlere kıyasla daha hızlı, verimli ve çevre dostu bir alternatif sunmaktadır. Düşük enerji tüketimi, kısa işlem süresi, yüksek verim ve minimum çözücü kullanımı gibi avantajları sayesinde gıda, ilaç ve kozmetik gibi birçok endüstride tercih edilen bir yöntem haline gelmiştir. Ultrasonikasyon destekli ekstraksiyon (UDE), geleneksel yöntemlere kıyasla birçok avantaja sahiptir: (1) Daha hızlı ekstraksiyon: Ultrases, hücre duvarlarını parçalayarak fenolik bileşiklerin çözücüye geçişini hızlandırır; (2) Yüksek verim: Ultrases, kavitasyon etkisiyle fenolik bileşiklerin daha yüksek verimle ekstrakte edilmesini sağlar; (3) Daha az çözücü kullanımı: Ultrases, çözücü kullanımını azaltarak çevre dostu bir yöntem sunar ve (4) Düşük sıcaklıkta işlem: Ultrases, düşük sıcaklıklarda çalışarak fenolik bileşiklerin termal bozunmasını önler.

Ultrasonikasyon teknolojisi, bitkisel materyallerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda etkili bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Kavitasyon ve sünger etkisi mekanizmaları sayesinde fenoliklerin çözücüye geçişi hızlanmakta ve ekstraksiyon verimi artmaktadır. Çözücü seçimi, ekstraksiyon verimini etkileyen önemli bir faktördür ve etanol, güvenli ve etkili bir çözücü olarak öne çıkmaktadır. UDE, fenolik bileşiklerin gıda, kozmetik ve farmasötik uygulamalarda kullanımını artırmak için umut vadeden bir yöntemdir.

2.3.2. Ultrasonikasyon Destekli Biyoaktif Bileşen Ekstraksiyonu

UDE, biyoaktif bileşiklerin verimli bir şekilde çıkarılmasında yenilikçi ve etkili bir yöntemdir. Ultrases uygulaması, hücrelerde fiziksel değişimlere neden olarak hücre

duvarlarının hasar görmesini ve doku içindeki ekstrakte edilebilir bileşenlerin çözücü fazına geçişini kolaylaştırır (Vinatoru, 2001). Ultrasonik ses dalgalarının oluşturduğu kavitasyon etkisi, hücre dokusunun bozulmasına yol açar ve bu durum, hedef bileşiklerin çözücüye daha hızlı ve etkin bir şekilde geçmesini sağlar. Kavitasyon sırasında sıvı içinde kabarcıklar oluşur, büyür ve çökme aşamasında yüksek kesme kuvvetleri ve türbülans meydana gelir. Bu süreç, hücre yapısını bozarak kütle transferini artırır ve ekstraksiyon oranını iyileştirir (Esclapez vd., 2011). Özellikle antosiyaninler gibi vakuolde biriken bileşiklerin ekstraksiyonunda, ultrasonun neden olduğu hücre bozulması ve kütle transferindeki artış önemli bir avantaj sağlar (Pourcel vd., 2010).

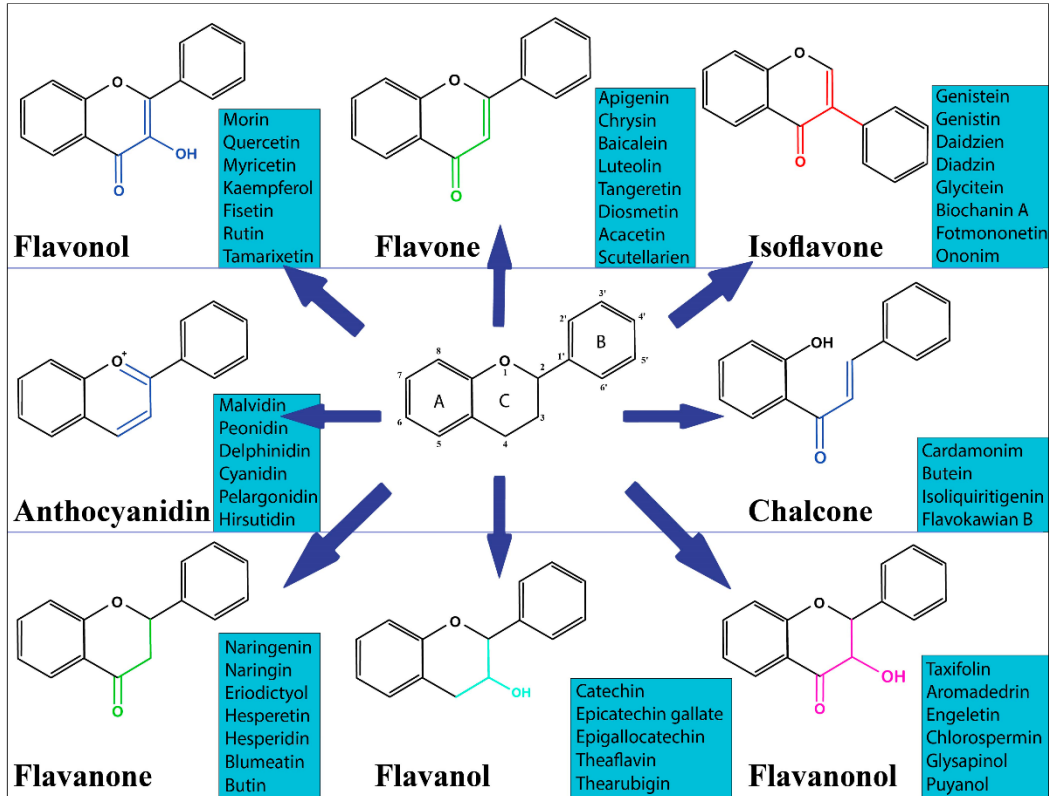
Ultrasonik ekstraktörler, yüksek frekanslı ses dalgaları kullanarak ekstraksiyon verimini artıran yenilikçi cihazlardır. Bu sistemlerde güç yoğunluğu, frekans, sıcaklık, süre ve çözücü miktarı gibi parametreler, ekstraksiyon sürecinin etkinliği üzerinde doğrudan etkili olup hedef bileşiklerin verimli bir şekilde özütlenmesini sağlamaktadır (Yılmaz, 2015). Doğru parametre optimizasyonu, hem işlem süresini kısaltmakta hem de enerji tasarrufu sağlamaktadır. Ultrasonik ekstraksiyon sistemlerinde, ses dalgalarının ekstraktör içindeki dağılımı kritik bir faktördür. Ultrasonik probun dalga yayan yüzeyine yakın bölgelerde ultrasonik güç maksimum seviyededir, ancak probdan uzaklaştıkça yoğunluk azalır. Ayrıca, katı partiküllerin artışı ultrason yoğunluğunu azaltabilir. Bu nedenle, dalgaların sabit kalmasını önlemek ve homojen bir dağılım sağlamak için karıştırma veya çalkalama işlemleri uygulanır (Vinatoru, 1999).

Ultrases, kavitasyon etkisiyle kütle transferini iyileştirip, enerji gereksinimini azaltabilir. Kavitasyonun etkisi, yalnızca fiziksel süreçleri değil, aynı zamanda kimyasal süreçleri de etkileyebilir. Kavitasyon sırasında oluşan serbest radikaller, reaksiyon hızını artırabilir veya yeni reaksiyon mekanizmalarını başlatabilir: Örneğin, su çözücü olarak kullanıldığında hidroksil radikalleri oluşur ve bu radikaller, proteinler gibi molekülleri değiştirebilecek kadar reaktiftir (Arzeni vd., 2012).

UDE, bitkisel kaynaklardan biyoaktif bileşiklerin çıkarılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Gıda, ilaç, kozmetik ve çevre mühendisliği gibi birçok alanda biyoaktif bileşikler, esansiyel yağlar ve doğal pigmentler verimli bir şekilde ayrıştırılabilir. Bu yöntem, antosiyaninler, fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif maddelerin ekstraksiyonunda etkili bir araçtır. Ayrıca, organik çözücülerin kullanımını azaltarak çevre dostu bir yaklaşım sunar ve biyoaktif bileşiklerin saflığını artırır. Faydalı birçok özelliğinden dolayı UDE gıda, kozmetik ve farmasötik endüstrilerde biyoaktif bileşiklerin eldesi için ideal bir yöntemdir.

2.4. Flavonoidler: Yapıları, Kaynakları ve Sağlık Üzerindeki Etkileri

Flavonoidler, değişken fenolik yapıya sahip doğal maddeler grubudur ve meyve, sebze, tahıl, kabuklu ürünler, kök bitkiler, gövdeli ürünler, çiçekler, çay ve şarap gibi birçok bitkisel kaynaktan bulunur. Bu doğal bileşikler, sağlık üzerindeki yararlı etkileriyle tanınır ve antioksidan, anti-inflamatuar, anti-mutajenik ve antikarsinojenik özellikleri nedeniyle nutrasötik, farmasötik, tıbbi ve kozmetik uygulamalarda vazgeçilmez bir bileşen olarak kabul edilmektedir (Panche vd., 2016). Yapıları itibarıyla flavonoidler, en az bir hidroksil grubu taşıyan aromatik halkaya sahip bitki metabolitleridir. Bitkilerde doğal olarak oluşan 8.000'den fazla fenolik bileşik tanımlanmış olup bunların yarısı flavonoidlerdir ve flavonoidler, aglikon, glikozitler ve metillenmiş türevler olarak bulunur (Kumar, 2013). Flavonoidler, B halkasının C halkasına bağlanma pozisyonuna ve C halkasının doymamışlık ve oksidasyon derecesine göre farklı gruplara ayrılır: Flavonoller, flavonlar, izoflavonlar, antosiyaninler, kalkonlar, flavanonlar, flavanoller ve flavanonoller gibi (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Flavonoidlerin temel iskelet yapısı ve sınıfları (Farhan vd., 2016)

Flavonlar, flavonoidler sınıfına ait doğal bileşikler olup bitkilerde yaygın olarak bulunan polifenolik yapılar arasında yer alır. Genellikle bitkilerin yapraklarında,

çiçeklerinde ve meyvelerinde glikozitler olarak bulunurlar ve bitkilerdeki metabolik süreçlerde önemli roller üstlenirler (Gonzales vd., 2015). Flavonlar, bitkilere renk, koku ve tat kazandırmanın yanı sıra, çevresel stres faktörlerine karşı koruma sağlama ve patojenlere karşı direnç geliştirme gibi işlevlere sahiptir (Gonzales vd., 2015). Kimyasal olarak, flavonlar 2-fenilkromen-4-on iskeletine sahiptir ve bu yapı, onların biyolojik aktivitelerini belirleyen temel unsurdur. Kereviz, maydanoz, kırmızı biber, papatya, nane ve ginkgo biloba flavonların başlıca kaynaklarıdır. Luteolin, apigenin ve tangeritin flavonların önemli temsilcileridir.

Flavonoller, keton grubu içeren flavonoidlerdir ve proantosiyanidinlerin yapı taşlarıdır. Flavonollerin temel kimyasal yapısı, flavonlardan farklı olarak üçüncü karbon atomunda glikozillenmiş bir hidroksil (-OH) grubu içermesiyle ayırt edilir ve bu yapısal farklılık, flavonollerin biyolojik aktivitelerini ve kimyasal özelliklerini belirleyen önemli bir unsurdur (Iwashina, 2013). Flavonoller, bitkilerde genellikle yaprak, çiçek, meyve ve kabuk gibi kısımlarda bulunur ve bitkilerin çevresel stres faktörlerine karşı korunmasında, UV ışınlarını absorbe etmesinde ve patojenlere karşı direnç geliştirmesinde önemli rol oynar (Iwashina, 2013). Kuersetin, kaempferol, mirisetin ve fisetin en çok incelenen flavonollerdir. Domates, elma, üzüm ve diğer meyveler flavonollerin zengin kaynaklarıdır.

Flavanonlar, flavonoidlerin temel yapısına sahip olmakla birlikte, flavonlardan farklı olarak ikinci karbon atomundaki çift bağın olmamasıyla (doymuş bir C-halkası) ayırt edilirler. Bu yapısal özellik, flavanonların biyolojik aktivitelerini ve kimyasal davranışlarını etkiler. Flavanonlar genellikle turunçgillerde (portakal, limon, greyfurt gibi) yüksek miktarda bulunur ve bu bitkilere özgü tat (acı) ve aromanın oluşmasında önemli rol oynar. Flavanonlar, serbest radikal temizleyici özellikleri nedeniyle sağlık açısından önemli olup, antioksidan, anti-inflamatuar, kan lipid düşürücü ve kolesterol düşürücü etkiler göstermektedir (Panche vd., 2016). Flavanonların en bilinen örnekleri arasında hesperidin, naringin, eriositrin, narirutin ve didimin yer alır.

Flavanoller, üçüncü karbon atomunda bir hidroksil (-OH) grubu içermeleri ve C halkasında çift bağ bulunmamasıyla diğer flavonoidlerden ayrılır. Bu yapısal özellik, flavanollerin biyolojik aktivitelerini ve kimyasal davranışlarını belirler. Flavanoller, flavanonların 3-hidroksi türevleridir ve flavan-3-oller olarak da adlandırılır. Flavanoller, genellikle bitkilerin yaprak, meyve, tohum ve kabuk gibi kısımlarında bulunur ve bitkilerin çevresel stres faktörlerine karşı korunmasında önemli rol oynar (Panche vd., 2016). Muz, elma, yaban mersini, şeftali ve armut gibi meyvelerde bol miktarda bulunur.

Flavanollerin en bilinen örnekleri arasında kateşin ve epikateşin gibi bileşikler yer almakta olup, bu bileşikler özellikle çay (özellikle yeşil çay), kakao, üzüm, elma, orman meyveleri ve şarap gibi gıdalarda yüksek miktarda bulunmaktadır.

Antosiyaninler bitkilerde, çiçeklerde ve meyvelerde parlak kırmızı, mavi ve mor renklerin oluşumundan sorumlu doğal pigmentlerdir. Antosiyaninler, flavonoidler sınıfına ait olup, kimyasal olarak antosiyanidin adı verilen aglikon yapılarının şeker molekülleriyle glikozidik bağlar oluşturmasıyla meydana gelir ve bitkilerin çevresel stres faktörlerine karşı korunmasında, tozlaşma ile tohum yayılımında önemli bir rol oynar (Mattioli vd., 2020). En yaygın antosiyaninler arasında siyanidin, pelargonidin, delfinidin, peonidin, malvidin ve petunidin yer alır. Kızılcık, siyah frenk üzümü ve kırmızı üzüm gibi meyvelerin dış hücre katmanlarında bulunur. Antosiyaninler, gıda endüstrisinde renk verici olarak yaygın şekilde kullanılır.

Flavonoidlerin temel yapısına sahip olan kalkonlar, diğer flavonoidlerden farklı olarak C halkasının (piron halkası) kapalı bir halka yapısına sahip olmamasıyla ayırt edilebilir. Bu açık zincirli yapı, kalkonların kimyasal özelliklerini ve biyolojik aktivitelerini belirleyen temel unsurdur. Kalkonlar, genellikle bitkilerin kök, yaprak, çiçek ve meyve gibi kısımlarında bulunur ve bitkilerde ara metabolitler olarak görev yapar. Flavonoid biyosentezinde önemli bir basamağı oluşturan kalkonlar, bitkilerin savunma mekanizmalarında, renk oluşumunda ve çevresel stres faktörlerine karşı korunmasında önemli rol oynar (Panche vd., 2016). En yaygın kalkonlar arasında arbutin, fitoaleksin, izokalkon ve butin gibi bileşikler yer alır.

İzoflavonoidler, bitkilerde doğal olarak bulunan polifenolik bileşiklerdir. İzoflavonoidler, flavonoidlerden farklı olarak kimyasal yapılarında 3-fenilkromen iskeletinin üçüncü pozisyonunda yer alan fenil grubunun ikinci pozisyona kaymasıyla oluşur. Bu yapısal farklılık, izoflavonoidlerin biyolojik aktivitelerini ve kimyasal özelliklerini belirler. İzoflavonoidler, özellikle baklagiller (Fabaceae) familyasına ait soya fasulyesi ve diğer baklagillerde yaygın olarak bulunur ve bitkilerin savunma mekanizmalarında, simbiyotik ilişkilerinde ve çevresel stres faktörlerine karşı korunmasında önemli rol oynar (Aoki vd., 2000). En yaygın izoflavonoidler arasında genistein, daidzein, biochanin A, formononetin ve glycitein gibi bileşikler yer alır. Genistein ve daidzein gibi izoflavonlar, östrojenik aktiviteleri nedeniyle fitoöstrojenler olarak kabul edilir ve hormonla ilişkili hastalıkların tedavisinde potansiyel göstermektedir (Szkudelska vd., 2007).

2.5. Elma

Elma (*Malus x domestica* Borkh.), binlerce yıldır yetiştirilen ve ılıman bölgelerde yaygın olarak üretilen bir meyve türüdür. Rosaceae familyasına, Pomoideae alt familyasına ve *Malus* cinsine aittir (Potter vd., 2007). İnsanlık tarihinin ilk meyveleri arasında yer alan elma, yoğun bir şekilde yetiştirilmekte ve dünya çapında en çok bilinen dördüncü meyve olarak kabul edilmektedir. Büyüleyici rengi ve harika tadı nedeniyle “lezzetli meyvelerin kralı” olarak adlandırılmakta ve dünya meyve tüketiminde önemli bir yere sahiptir (Forsline, 2010; Musacchi ve Serra, 2018).

Kültürel elma (*Malus communis* Lam.), Türkiye'nin hemen her bölgesinde yetiştirilmektedir. Ancak en uygun yetiştirme alanları, Kuzey Anadolu toprakları ile paralellik gösteren doğal genişliklerdir. Kuzey Anadolu, Karadeniz kıyı bölgesi, Orta Anadolu yayı ve Güney Göller Bölgesi arasındaki geçiş bölgeleri, son yıllarda önemli elma yetiştirme alanları haline gelmiştir. Türkiye'de elma üretimi özellikle Isparta, Karaman ve Denizli gibi illerde yoğunlaşmıştır (Anonim, 2016).

Yakın tarihli bir FAO (2024) raporuna göre, 2020 yılındaki 4,68 milyon hektar olan küresel elma ekim alanı 2024 yılında 4, 618 milyon hektara düşmüş ancak 91,6 milyon ton olan küresel üretim 2024 yılında 97,3 milyon tona yükselmiştir. Türkiye, 2023 yılındaki 4,8 milyon ton elma üretimiyle dünya sıralamasında üçüncü sırada yer almaktadır (FAO, 2024). İlk iki sırayı 17,2 milyon ton/yıl ile Çin ve 4,7 milyon ton/yıl ile ABD almaktadır (Anonim, 2016). Türkiye'de elma üretimi, Ege Bölgesi'nde 500 metre yüksekliğe kadar, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu'nun sıcak ve kurak bölgelerinde ise 80 metre üzerinde yapılmaktadır. Yüksek ışık şiddeti, elmalarda renk oluşumunu olumlu yönde etkilerken, elma ağaçları soğuk ve sert kış koşullarına dayanıklıdır (Anonim, 2016).

TÜİK verilerine göre Türkiye'nin 2021 yılında elma üretimi 4,5 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. Dikim alanında ilk sırada Niğde yer alırken, üretimde Isparta öne çıkmaktadır. Türkiye, elma ticaretinde ihracat fazlası veren bir ülkedir ve 2020-2021 sezonunda dünya sıralamasında elma üretiminde üçüncü, ihracatta ise onuncu sırada yer almıştır (Anonim, 2021).

Dünya genelinde 6.500 elma çeşidi bulunurken, Türkiye'de 460 kayıtlı elma çeşidi bulunmaktadır. Bu çeşitler arasında ticari öneme sahip olanlar şunlardır: Golden Delicious, Red Delicious, Fuji, Gala, Granny Smith, Pink Lady, Scarlet Spur, Starkspur,

Starkrimson Delicious, Golden Reinders ve Modi (Anonim, 2019). Günümüz modern elma yetiştiriciliğinde, kaliteyi artırmak amacıyla melezleme teknikleri kullanılmaktadır.

Elma, görünüşü, sertliği, tadı ve sağlık yararları ile tüketiciler için çekici bir meyvedir. Taze elmanın %85'i sudan oluşmaktadır ve besin içeriği açısından önemli bir yere sahiptir (Çizelge 2.1). Elmanın kuru madde içeriğinde malik asit, karbonhidratlar, proteinler, vitaminler, pektinler ve mineral maddeler bulunmaktadır. Elmanın içerdiği vitaminler ve mineraller nedeniyle, günde bir elma tüketmenin bazı kanser türleri için riski önemli ölçüde azalttığı bilimsel çalışmalarda rapor edilmiştir (Anonim, 2002).

Çizelge 2.1. Elmada yer alan bileşenler (100 gram) (USDA, 2022)

Bileşen (birim)	Değer
Su (g)	85,10
Enerji (kJ)	247,00
Azot (g)	0,04
Protein (g)	0,27
Toplam yağ (g)	0,14
Kolesterol	0
Karbonhidrat (g)	14,10
Mineraller (mg)	
Kalsiyum	5,00
Magnezyum	5,10
Fosfor	10,00
Potasyum	116,00
Vitaminler (mg)	
Tiamin	0,017
Riboflavin	0,075

Elma, flavonoidler açısından zengin bir meyvedir ve Avrupa diyetinde flavonoid alımının ana kaynaklarından biridir (Hertog vd., 1993). Flavonoidler, fenolik ikincil bitki metabolitleri olup hem meyve rengine hem de insan sağlığına olumlu katkıda bulunurken, anti-mutajenik, anti-karsinojenik, anti-oksidatif ve anti-mikrobiyal özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Koes vd., 1994; Formica ve Regelson, 1995; Shirley, 1996; Robards ve Antolovich, 1997). Elmada bulunan başlıca flavonoid sınıfları şunlardır: kuersetin 3-glikozitler, flavan-3-oller (kateşin, epikateşin, prosiyanidinler), dihidrokalkonlar (florizin), antosiyaninler (siyanidin 3-O-glukozit) ve hidroksisinnamik asitler (klorojenik asit).

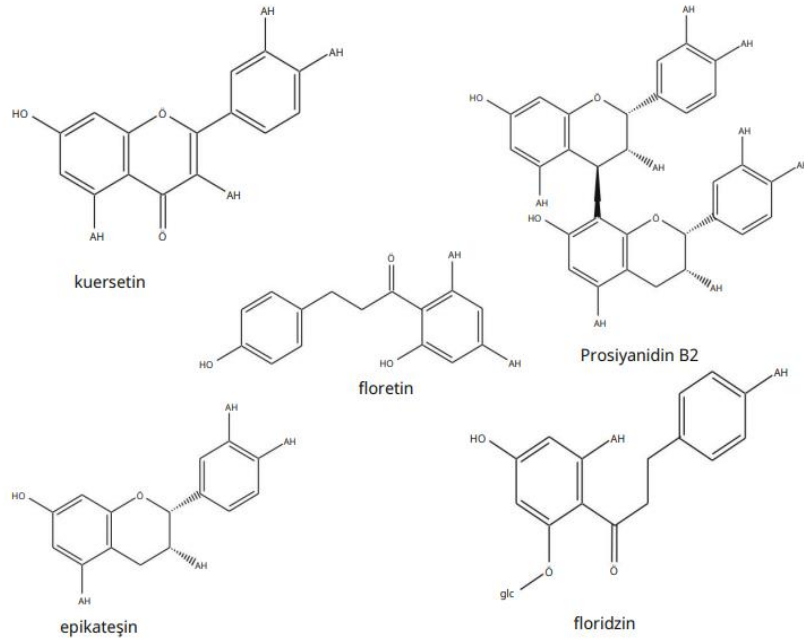
Kırmızı elma çeşitlerinin rengi, flavonoid siyanidin-3-galaktozitten kaynaklanmaktadır (Sun ve Francis, 1967; Lancaster vd., 1994). İşlenmiş elmalarda meydana gelen esmerleşme reaksiyonlarının kaynağı ise klorojenik asidin oksidasyonudur (Nicolas vd., 1994). Elmadaki flavonoidlerin biyosentezi, şikimik asit ve asetat-malonat yollarından gelen öncülerle birkaç enzimatik adım yoluyla gerçekleşir

(Stafford, 1990; Lancaster, 1992). Flavonoidler genellikle bitki dokularında glikozitler olarak bulunur ve elmada baskın şeker galaktozdur. Diğer şekerler arasında glikoz, ramnoz, ksiloz, arabinoz ve disakkarit rutinoz yer alır. Flavan-3-oller ise genellikle serbest halde bulunur ve farklı flavonoid sınıfları ağırlıklı olarak elma kabuğunda yoğunlaşmıştır (McRae vd., 1990; Guyot vd., 1998).

Elma, besin değeri, sağlık yararları ve ekonomik önemi ile dünya çapında en çok tüketilen meyvelerden biridir. Türkiye, elma üretiminde dünya sıralamasında üst sıralarda yer almaktadır ve ihracatta önemli bir paya sahiptir. Flavonoid içeriği ve diğer biyoaktif bileşenleri sayesinde elma, hem sağlık hem de ticari açıdan değerli bir meyve olarak öne çıkmaktadır.

2.5.1. Elmalarda Flavonoidler ve Önemi

Elmalar, insan beslenmesinde önemli bir flavonoid kaynağıdır. Flavonoidler, yüksek redoks potansiyeline sahip olmaları nedeniyle güçlü antioksidan özellikler sergiler ve bu özellikleriyle sağlık açısından büyük önem taşır. Elmada bulunan başlıca flavonoid grupları şunlardır: (1) Kateşinler: Ana temsilcisi (-)-epikateşindir, (2) Flavonoller: Ana temsilcisi kuersetin glikozitlerdir, ve (3) Antosiyaninler: Ana temsilcisi siyanidin galaktozittir (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Elmada yer alan başlıca fenolik bileşikler (Hyson, 2011)

Bu bileşikler, elmada bulunan diğer polifenolik bileşiklerle birlikte (örneğin, oligomerik ve polimerik kateşinler, flordizin, floretin ksiloglukozit (dihidrokalonlar),

klorojenik asit ve *p*-kumaroil-kinik asit gibi fenolik asitler) “polifenoller” grubuna aittir. Flavonoidler, elmaların rengine ve tadına katkıda bulunurken, aynı zamanda potansiyel sağlık yararları sunar. Ayrıca, bu bileşiklerin (biyo)kimyasal ve fiziksel özellikleri, elmaların işlenmesi sırasında önemli bir rol oynar (Van der Sluis vd., 2002).

Kateşinler, renksiz ve oksidasyona duyarlı bileşiklerdir ve genellikle aglikonlar halinde bulunurlar, ancak bazen gallik asit ile esterleşebilirler (Van der Sluis vd., 2002). Bununla birlikte, elmada galloillenmiş kateşinlere rastlanmamıştır (Van der Sluis vd., 2002). Kateşinler, klorojenik asit ile birlikte polifenoloksidaz enzimi için iyi substratlardır. Bu enzim, meyvelerin kesilmesi veya hasar görmesi gibi durumlarda meydana gelen esmerleşme reaksiyonlarında rol oynar. Oksijen varlığında, kateşinler ve klorojenik asit kahverengi kompleksler oluşturarak meyvenin rengini değiştirir (Van der Sluis vd., 2002).

Flavonoller, genellikle bitkilerde glikozitler halinde bulunur ve renksiz veya açık sarı renktedir. Flavonol iskeletindeki C3 atomuna bağlı şekerlerin sterik engellemesi nedeniyle, polifenoloksidaz enzimi için substrat değildir ve bu özellikleri, flavonollerin oksidasyona karşı daha dayanıklı olmasını sağlar (Van der Sluis vd., 2002).

Antosiyaninler, glikosile edilmiş veya açılmış antosiyanidinlerdir ve flavonoller ile flavanollerden daha fazla suda çözünürler. Bu bileşikler, bitkilerde önemli pigmentlerdir ve çiçekler ile meyvelerin mor ve kırmızı renklerine katkıda bulunurlar. Antosiyaninler, epidermal ve subepidermal hücrelerin vakuollerinde birikir. Ancak, kimyasal ve fiziksel işleme sırasında kararsızdırlar ve renkleri pH'a bağlı olarak değişir ki bu nedenle, işleme sırasında antosiyaninlerin stabilitesini korumak zordur (Van der Sluis vd., 2002).

Elmaların elma suyuna işlenmesi sırasında flavonoid konsantrasyonu önemli ölçüde azalır. Ticari olarak temin edilebilen elma suyunda flavonoid konsantrasyonu oldukça düşüktür. Örneğin, elma suyunda sadece 2,5 mg/L kuersetin tespit edilirken, taze elmalarda bu değer 36,0 mg/kg'dır (aglikon olarak) (Van der Sluis vd., 2002). Elmalarda bulunan flavonoidler, yalnızca sağlık yararlarıyla değil, aynı zamanda elmanın rengi, tadı ve işleme özellikleri üzerindeki etkileriyle de büyük önem taşımaktadır. Kateşinler, flavonoller ve antosiyaninler gibi flavonoid grupları, elmanın polifenolik yapısının temel bileşenleridir. Ancak, işleme sırasında flavonoidlerin konsantrasyonunda meydana gelen kayıplar, bu bileşiklerin stabilitesini korumaya yönelik yeni yöntemlerin geliştirilmesini gerektirmektedir.

2.5.2. Elma Kabuğu Fenoliklerinin İnsan Sağlığı Açısından Önemi

Elma kabuğunda bulunan polifenoller, serbest radikal temizleme faaliyetleri sayesinde güçlü antioksidan özellikler sergiler. Bu özellikleri nedeniyle elma kabuğu, insan sağlığı için birçok fayda sağlamaktadır (Kschonsek vd., 2018). Polifenoller, hücre hasarını önleyerek kronik hastalıkların riskini azaltabilir ve bağışıklık sistemini destekleyebilir (Ovando vd., 2009).

Elmadaki polifenolik bileşiklerin konsantrasyonu ve antioksidan kapasiteleri sabit değildir. Çeşitli çevresel ve tarımsal faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bu faktörler arasında çevre koşulları, toprak içeriği, hasat süresi ve zamanı ile depolama koşulları (örneğin, sıcaklık ve nem) yer alır ki bu değişkenler, elmadaki polifenollerin miktarını ve etkinliğini doğrudan etkileyebilir (Tsao vd., 2003).

Elma kabuğu ve elma eti arasında fitokimyasalların varlığı ve dağılımı farklılık göstermektedir (Çizelge 2.2). Elma etinde bulunan başlıca fitokimyasallar kateşinler, floretin glikozitler, kafeik asit, prosiyanidinler, klorojenik asit ve kloridzindir (Parpinello vd., 2000). Buna karşılık, elma kabuğunda bu bileşiklere ek kuersetin glikozitler ile siyanidin glikozitleri bulunmaktadır (Van der Sluis vd., 2001). Bu durum, elma kabuğunun fitokimyasal çeşitlilik açısından daha zengin olduğunu göstermektedir.

Çizelge 2.2. Elma meyvesinin farklı kısımlarında bulunan fenolik bileşikler (mg/kg kuru ağırlık)

Fenolik Bileşik	Meyve Parçası		
	Olgunlaşmamış meyve ¹	Elma kabuğu ²	Elma posası ²
Epikateşin	3281.0	1080.0	220.0
Prosiyanidin	23550	1190.0	540.0
Klorojenik Asit	2063.0	410.0	59.0
Floridzin	838.0	429.0	-
Kafeik asit	725.0	ND	ND
Kuersetin	21.3	ND	ND

¹Yue vd., 2012, ²Alonso Salces vd., 2001

Elmalar, sağlığa olan faydalarıyla önemli bir flavonoid kaynağıdır. Kuzey Amerika'da yapılan araştırmalara göre, günlük diyetle alınması gereken flavonoidlerin ve fenolik asitlerin yaklaşık %22'si elma tüketiminden elde edilmektedir (He vd., 2008). Elma kabukları ise konserve elma endüstrisi ve elma sosu üretimi gibi işleme süreçlerinde genellikle atık ürün olarak değerlendirilir. Ancak, elma kabukları, içerdiği polifenoller ve flavonoidler nedeniyle sağlık açısından oldukça büyük bir potansiyele sahiptir (Wolfe vd., 2003). Bu nedenle, elma kabuklarının atık olarak değerlendirilmesi yerine, sağlık yararları göz önünde bulundurularak farklı alanlarda değerlendirilmesi uzun yıllardır

araştırılmaktadır. Elma kabuğu, polifenoller ve flavonoidler açısından zengin bir kaynaktır ve güçlü antioksidan özellikleri sayesinde insan sağlığına önemli katkılar sağlar. Elma kabuğundaki bu biyoaktif bileşiklerin konsantrasyonu, çevresel ve tarımsal faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Elma kabuğunun atık olarak değerlendirilmesi yerine, bu biyoaktif potansiyelin sağlık ve gıda endüstrilerinde daha etkin bir şekilde kullanılması gerekmektedir.

Hipertansiyon, dünya genelinde giderek artan önemli bir sağlık sorunudur. Yüksek kan basıncının kontrol edilmesinde, Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) önemli bir terapötik hedef olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalar, flavonoidler açısından zengin elma kabuğu ekstraktlarının ve bileşenlerinin ACE üzerinde rekabetçi inhibitör etkiler gösterebildiğini ortaya koymuştur (Kaur, 2013). Elma kabuğunda bulunan antosiyaninler, kuersetin ve proantosiyanidinler gibi biyoaktif bileşikler, antihipertansif özelliklere sahip olup kan basıncını düşürmede etkili rol oynamaktadırlar. Ayrıca, bu bileşiklerin LDL kolesterolün oksidasyonunu önleyerek, kan basıncını düşürdüğü ve yağ metabolizmasını iyileştirdiği gösterilmiştir (Kaur, 2013).

İçerdiği epikateşin, β -karoten, proantosiyanidin-B1 ve kateşin gibi fitokimyasallar nedeniyle elma, kolesterolü düşürme yeteneğine sahiptir. Farmasötik ve nutrasötik olarak kullanılan elma kabuğu ekstraktlarının kolesterol seviyelerini düşürdüğü ve LDL oksidasyonunu önlediği bildirilmiştir ve bu etkiler, kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde bu ürünlerin potansiyel olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Rupasinghe vd., 2013). Elma kabukları flavonoid, antosiyanin ve fenolik bileşikler açısından zengindir ve bu bileşikler tümör hücrelerinin yayılmasını engellemede güçlü bir etkiye (antiproliferatif aktivite) sahiptir. Elma, diğer meyvelerle karşılaştırıldığında yüksek antiproliferatif aktivite göstermekte ve hücre çoğalmasını azaltıcı etkiler sergilemektedir (González-Talice vd., 2013).

Elma ve özellikle elma kabuğu flavonoidler, antosiyaninler ve fenolik bileşikler açısından zengin bir kaynaktır. Bu biyoaktif bileşikler, hipertansiyonun kontrolü, kolesterol seviyelerinin düşürülmesi, LDL oksidasyonunun önlenmesi ve tümör hücrelerinin yayılmasının engellenmesi gibi sağlık açısından önemli faydalar sağlamaktadır. Elma kabuğu ekstraktlarının farmasötik ve nutrasötik alanlarda kullanımı, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde umut verici bir potansiyel sunmaktadır.

2.5.3. Elma ve Elma Kabuğu Fenolik Bileşenleriyle İlgili Çalışmalar

Elma, içerdiği fenolik bileşikler sayesinde insan sağlığı üzerine önemli faydalar sunan bir meyve olarak öne çıkmaktadır. Ancak bu bileşiklerin elmadaki miktarı ve biyoyararlanımı, çevresel koşullar, genetik çeşitlilik ve işleme yöntemleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir. McRae vd. (1990), yetiştirme koşullarının elma kabuğundaki polifenollerin çeşitliliği üzerinde sınırlı bir etkisi olduğunu belirtmiş, ancak bu koşulların fenolik bileşiklerin konsantrasyonları üzerindeki etkilerini detaylı olarak belirtmemiştir. Bununla birlikte literatürde, antosiyanin biyosentezinin gelişimsel ve çevresel etkileri hakkında önemli niteliksel bilgiler bulunmaktadır (Saure, 1990; Lancaster, 1992). Ancak, varyasyonun genliği ve kontrol potansiyeli hakkında nicel bilgi sınırlıdır. Güneşe maruz kalan elma kabuklarında, gölgede kalan kısımlara göre daha yüksek seviyelerde siyanidin 3-galaktozid (antosiyanin) ve kuersetin 3-glikozit içerdiği tespit edilmiş ancak floridzin, kateşinler ve klorojenik asit seviyeleri açısından güneş ve gölge bölgeleri arasında önemli bir fark bulunmamıştır (Volz vd., 1994). Kuersetin 3-glikozitler ve siyanidin 3-galaktozid gibi flavonoidlerin kabukta yoğunlaştığı, kateşinlerin ise tohumdan kabuğa doğru arttığı gözlemlenmiştir (Volz vd., 1994). Ağaç gölgeliklerinin iç ve dış bölgelerinde ışık yoğunluğu ve bileşimi farklılık göstermektedir. Ağacın tepesindeki meyveler, daha fazla UV ve kırmızı ışığa maruz kalırken, bu durum antosiyanin ve diğer flavonoidlerin sentezini artırmaktadır (Kubo vd., 1988; Lister vd., 1994). Bu nedenle elma kabuğu, fenolik bileşikler açısından oldukça zengin bir kaynaktır (McRae vd., 1990).

Elma, zengin fenolik bileşik içeriğiyle sağlık üzerinde olumlu etkiler sağlayan bir meyvedir ve bu bileşikler, antioksidan özellikleri sayesinde kronik hastalıkların önlenmesinde ve genel sağlığın desteklenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Elma fenolikleri, serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı hücreleri koruyan ve LDL oksidasyonunu engelleyen etkili antioksidanlardır. Bu bileşikler kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, yaşlanma, bilişsel gerileme, kilo yönetimi, kemik sağlığı, astım ve gastrointestinal sağlık üzerinde olumlu etkiler göstermektedir (Hyson, 2011). Bu etkiler, flavonoidler, izoflavonoidler, karotenoidler, fenolik asitler ve diyet lifi gibi ikincil metabolitlerin varlığına atfedilmektedir. Rana vd. (2016), elma fenoliklerinin HPLC ile analiz edilmesinin, fenoliklerin ayrılması ve tanımlanması için en güvenilir ve hassas yöntem olduğunu belirtmiştir. HPLC analizleri, elma kabuğu ve posasında bulunan fenolik bileşiklerin konsantrasyonlarını belirlemek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Farklı elma çeşitleri, fenolik bileşiklerin türü ve miktarı açısından büyük bir çeşitlilik göstermekte olup, bu farklılıklar elmaların besin değeri ve sağlık üzerine etkilerini doğrudan etkilemektedir. Carbone vd. (2011), farklı elma çeşitlerinin biyoaktif bileşik içeriklerini ve antioksidan aktivitelerini değerlendirdiği bir çalışmada, genotipin fenolik içerik ve antioksidan aktivite üzerinde önemli bir etkisi olduğunu rapor etmiştir. Örneğin, Braeburn klonu Hillwell, düşük fenolik içerik ve antioksidan aktivite göstermiş ve ayrıca soğuk depolama sırasında fenolik içerik önemli ölçüde azalmış, elma eti ve kabuğunda sırasıyla %50 ve %20 oranında düşüş gözlemlenmiştir. Vieira vd. (2011), Brezilya'da yetişen on bir elma çeşidinin fenolik bileşikleri ve antioksidan aktivitelerini incelediği bir araştırmada, elma kabuğunun fenolik içerik ve antioksidan aktivite açısından elma etine göre daha zengin olduğunu belirtmiştir. Catarina çeşidi en yüksek toplam fenolik madde içeriğine (712.6 mg GAE/100 g) sahipken, Golden Delicious en düşük değere (304.6 mg GAE/100 g) sahip olmuştur. Bu bulgular, elma çeşitliliğinin biyoaktif madde bileşimini belirleyen ana faktör olduğunu göstermektedir.

Elmaların işlenmesi ve depolanması, fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ve biyoyararlanımını önemli ölçüde etkileyerek, meyvenin besin değerinde ve sağlık üzerindeki potansiyel faydalarında değişimlere yol açabilmektedir. Ferrentino vd. (2018) dondurularak kurutulmuş, taze ve fırında kurutulmuş elma posasını ve bunların SFE yöntemiyle elde edilen ekstraktlarının toplam fenolik içeriği ile antioksidan aktivitelerini karşılaştırmıştır. Dondurularak kurutma işleminin, konventif fırında kurutma ve taze ürüne kıyasla elmaların toplam fenolik içerik ve antioksidan aktivitesini artırdığını bildirmiştir. Dondurularak kurutma, fenoliklerin termal bozunmasını en aza indirerek daha yüksek geri kazanılabilir fenolik içerik sağlamaktadır. Rana vd. (2015) %70 etanol içeren çözücüyle yapılan ekstraksiyon sonrası (60°C, 30 dakika) dondurularak kurutulmuş posanın toplam fenolik içeriğinin (5,78 mg GAE/g) fırında kurutulmuş ve güneşte kurutulmuş posadan daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Yüksek sıcaklıkta kurutma işlemi fenolik bileşiklerin bozunmasına neden olabileceği için, düşük sıcaklıkta kurutma ve kısa süreli haşlama gibi ön işlemler, fenoliklerin stabilitesini korumak için önerilmektedir (Heras-Ramirez vd., 2012).

Elma fenoliklerinin ekstraksiyonu, bu değerli bileşiklerin gıda, kozmetik ve sağlık sektörlerinde kullanımı için önemli bir adım olup, uygun yöntemlerin seçimi fenoliklerin verimliliği ve biyolojik aktiviteleri üzerinde belirleyici bir rol oynamaktadır. Fenolik bileşiklerin çözücü yardımıyla ekstraksiyonu için farklı polariteye sahip aseton, metanol, etanol ve etil asetat gibi değişik çözücüler kullanılmaktadır. Ekstraksiyon öncesinde elma

örneklerinin kurutulması ve öğütülmesi, biyoaktif bileşiklerin çözücüyle temasını artırarak ekstraksiyon verimini artırmaktadır (Perussello vd., 2017). Elma fenoliklerinin, kronik hastalıkların tedavisinde etkili gıda takviyeleri veya nutrasötikler olarak potansiyel kullanımına yönelik güçlü kanıtlar bulunmaktadır ancak, bu bileşiklerin biyoyararlanımı ve moleküler düzeydeki etkileri üzerine daha fazla araştırma yapılması ihtiyaç vardır (Rana vd., 2016).

Yukarıdaki bilgiler ışığında elma kabuğu ve posası, fenolik bileşikler açısından zengin olup, antioksidan, anti-inflamatuar ve kardiyovasküler hastalıkları önleyici etkiler göstermektedir. Fenolik bileşiklerin konsantrasyonu ve biyoyararlanımı; çevresel faktörler, genetik çeşitlilik ve işleme yöntemlerinden önemli ölçüde etkilenmektedir. Dondurularak kurutma gibi işlemler, fenoliklerin stabilitesini korumak için etkili bir yöntemdir. Elma fenoliklerinin nutrasötik ve farmasötik uygulamalarda kullanımı, insan sağlığını desteklemek için büyük bir potansiyele sahiptir ancak, bu bileşiklerin biyoyararlanımı ve sinerjik etkilerinin araştırılmasına ihtiyaç vardır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

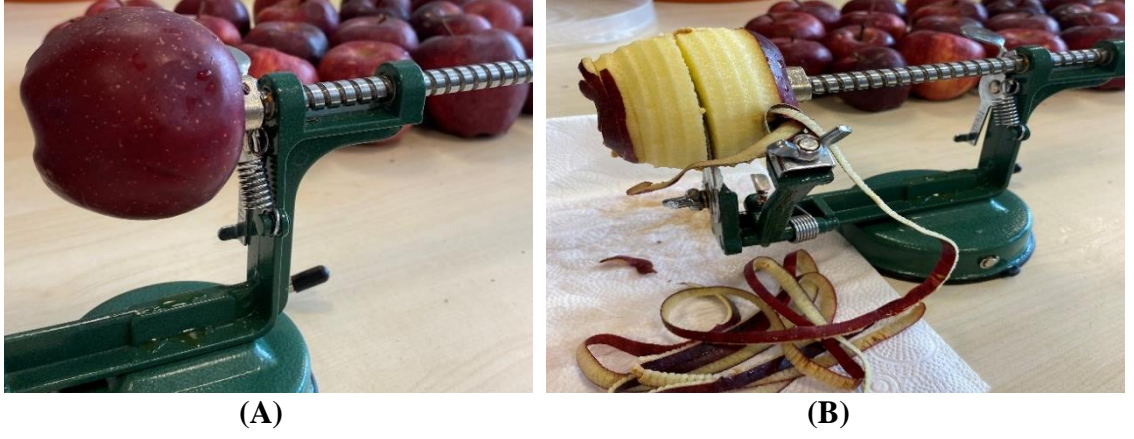
Çalışmada kullanılan *Red Delicious* cinsi koyu kırmızı renkli taze elmalar Burdur halk pazarından yerel bir satıcıdan temin edilmiştir.

Çeşitli analizlerde kullanılan kimyasallardan gallik asit, Trolox® (6-hidroksi-2,5,7,8 tetrametilkroman-2-karboksilik asit) (Fluka; St. Louis, MO, ABD), alüminyum klorür heksahidrat ($AlCl_3$), kateşin, sodyum hidroksit (NaOH), DPPH (2,2-difenil-1-pikrilihidrazil) ve ABTS (2,2'-Azino-bis-diamonyum tuzu) Sigma Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD); etanol, metanol, Folin-Ciocalteu reagent, sodyum karbonat (Na_2CO_3) ve sodyum nitrit ($NaNO_2$) Merck'ten (Darmstadt, Almanya) temin edilmiştir.

3.2. Yöntemler

3.2.1. Elma Kabuğu Tozu Üretimi

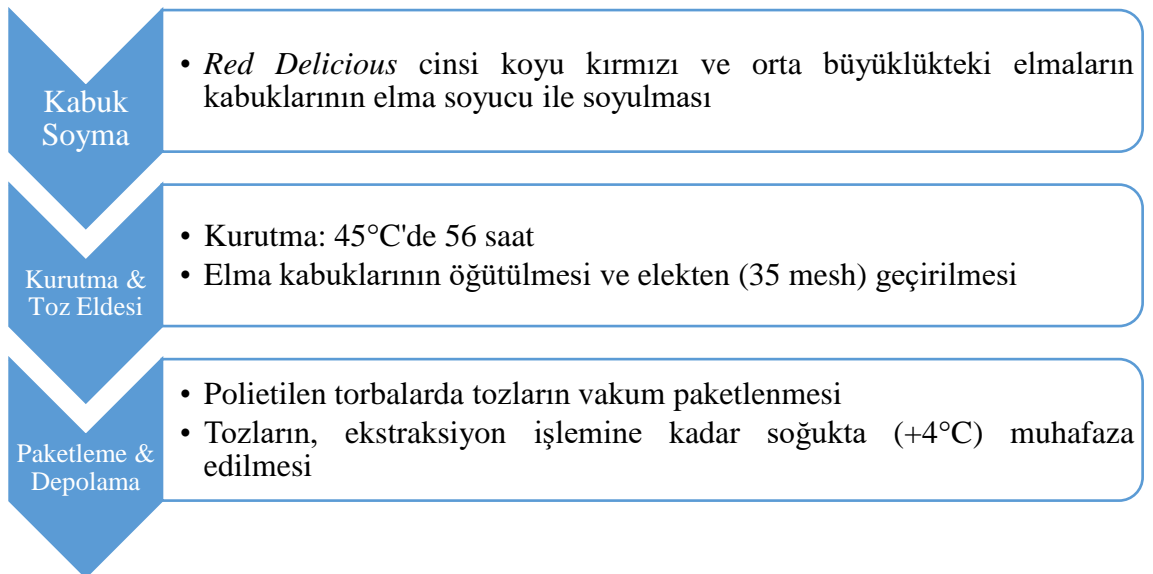
Red Delicious cinsi koyu kırmızı renkli, orta boy elmaların (yaklaşık 17 kg) kabukları, ev tipi bir elma soyucuya (Epinox Elma Sihirbazı, Elma Kabuk Soyma Makinası) yerleştirildikten sonra (Şekil 3.1A), soyucunun paslanmaz çelik bıçağı yardımıyla soyulmuştur (Şekil 3.1B). Elde edilen elma kabukları 45°C'de doğal konveksiyonlu bir etüvde (Wisecube, WON-105 Gangwon-do, Daihan, Kore) ortalama 55 saat boyunca kurutulmuştur (Şekil 3.2A). Kurutulan elma kabukları (Şekil 3.2B) kahve öğütücüsü (SCM-2934 Kahve ve Baharat Öğütücü, Sinbo, İstanbul, Türkiye) yardımıyla öğütülüp 35 mesh'lik elekten geçirilmiştir (Şekil 3.2C). Elde edilen elma kabuğu tozları ortamdaki nem çekmemesi amacıyla vakum makinesi (Vestel Vakum Makinesi, 20244205 Model, Vestel, İstanbul, Türkiye) kullanılarak polietilen torbalar içerisinde paketlenmiştir. Standardize edilmiş elma kabuğu tozlarının hazırlanmasına ait işlem basamakları Şekil 3.3'te özetlenmiştir.



Şekil 3.1. Red Delicious cinsi elmaların kabuklarının elma soyucuya yerleştirilmesi (A) ve kabuk soyma işlemine (B) ait görsel



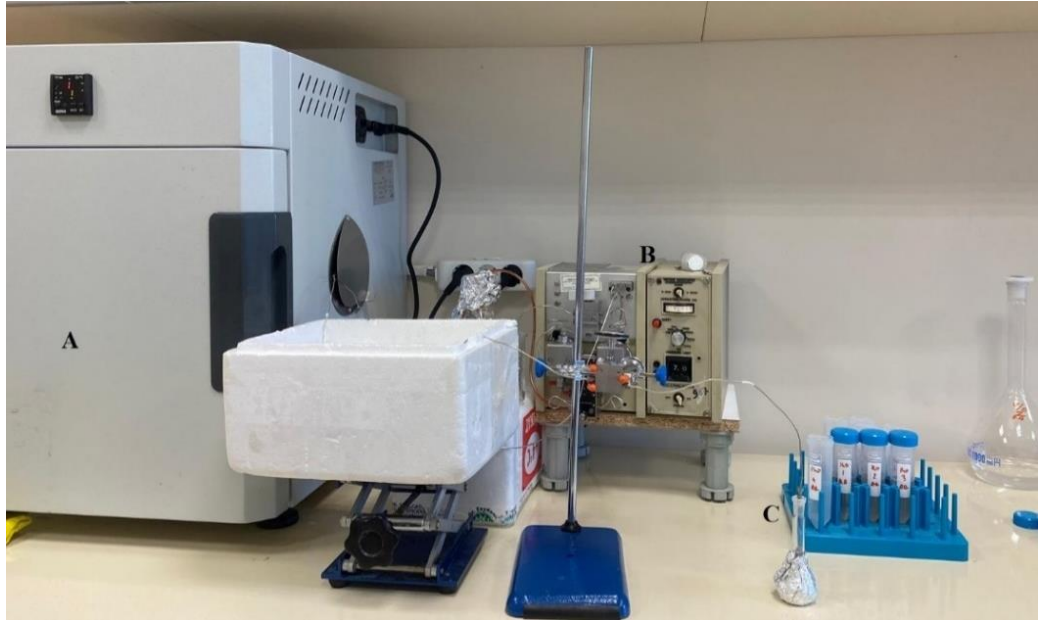
Şekil 3.2. Elma kabuklarının etüvde kurutulma işlemi (A), kurutulmuş elma kabuklarının görüntüsü (B) ve öğütülen kabukların elekten geçirilmesine (C) ait görsel



Şekil 3.3. Standardize edilmiş elma kabuğu tozunun üretimine ait işlem basamakları

3.2.2. Laboratuvar Ölçekli Sistemle Kritik Altı Su Ekstraksiyonu

Standart hale getirilmiş elma kabuğu tozu hassas terazi ile (UW6200H Model, Shimadzu Inc., Kyoto, Japonya) (5,0 g) tartılarak, standard filtre kağıdından yapılmış kılıflara aktarılmıştır. Ardından, denemeler için Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Araştırma Laboratuvarı'nda bulunan laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyonu (KASE) sisteminde Proportional-Integral-Derivative kontrol (PID) üniteli (GEMO TT104-230VAC-R dahili zaman röleli "Auto-tune PID" sıcaklık kontrol ünitesi, Monza, İtalya) ısıtma fırını (MST-30, Mikrotest Laboratuvar Cihazları Makinaları İmalat San. Tic. Ltd. Şti., Ankara, Türkiye), HPLC pompası (Waters M-6000 Chromatography Pump, Waters Inc., Milford, Massachusetts, ABD), açılı-iki yollu yüksek basınç vanası (Restek Corp, Bellefonte, Pennsylvania, ABD) ve paslanmaz çelik ekstraksiyon hücresinden oluşan bir ekstraksiyon ünitesi (Şekil 3.4) kullanılmıştır. Paslanmaz çelik ekstraksiyon hücresi ısıtma fırını içerisine (Şekil 3.5) yerleştirilmiştir. Çözücü olarak distile su kullanılmıştır. Elma kabuğu tozuna sabit yüksek basınç değerinde (1450 ± 100 psi) ve iki farklı sıcaklıkta (120°C ve 140°C) kritik altı su ekstraksiyonu işlemi uygulanmıştır. Ön denemelerde ekstraksiyon işlemi 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiş ve her biri 10 mL olmak üzere (T1-T10) her sıcaklık için 10 adet ekstrakt elde edilmiştir. Ekstraktlar, biyoaktif bileşen içerikleri incelenmek üzere $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.4. Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyonu sistemi (A: Fırın, Ekstraksiyon hücresi, B: Yüksek basınç pompası, C:Ekstrakt)



Şekil 3.5. Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyonu sisteminin detaylı görüntüsü

Ön denemelerde elde edilen 10 adet 10 mL ekstrakt hacminde ayrı ayrı gerçekleştirilen analizler, ekstraksiyon işleminin 100 mL'nin ötesinde de devam ettiğini ve tamamlanmadığını göstermiştir. Bu nedenle, gerçek denemelerde 8 adet 25 mL'lik hacimlerde toplam 200 mL ekstrakt toplanmasına karar verilmiştir. Laboratuvar ölçekli sistemdeki gerçek denemelerde elma kabuğu tozu hassas terazi ile tartılarak (5,0 g), standard filtre kağıdından yapılan keselere mühürlenerek ekstraksiyon hücresine yerleştirilmiştir. Ekstraksiyon sabit basınç altında (1450 ± 100 psi) ve iki farklı sıcaklıkta (120°C ve 140°C) gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak hacmen %2 asetik asit içeren distile su kullanılmıştır. Denemeler, 2 tekerrür ve 2 paralel olacak şekilde gerçekleştirilmiş ve her biri 25 mL olmak üzere (T_1 - T_8) 8 farklı ekstrakt elde edilmiştir. Ekstraktlar, biyoaktif bileşen içerikleri incelenmek üzere $+4^\circ\text{C}$ 'de muhafaza edilmiştir. Asetik asit içeren distile su ile gerçekleştirilen denemeler tamamlanabilmiş ancak gerçek etil alkol içeren çözgen türü ile gerçekleştirilen denemeler çalışma esnasında yüksek basınç pompası arızalanmıştır. Bu sorundan dolayı, çalışmanın etil alkol ile yapıldığı kısım Süleyman Demirel Üniversitesi Doğal Ürünler Uygulama ve Araştırma Merkez Müdürlüğü (SUDUM) bünyesindeki Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyon (Accelerated Solvent Extraction, ASE) ünitesiyle optimizasyon çalışmasına dönüştürülerek gerçekleştirilmiştir. ASE sistemi, kritik altı su ekstraksiyon sisteminin ticari bir şekli olup çalışma prensibi bu tez çalışmasında kurulan laboratuvar ölçekli sistemle benzerdir.

3.2.3. Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu Yöntemi

Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemiyle (ASE) gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde parametrelerin optimizasyonu çalışmasında yanıt yüzey yöntemindeki (RSM) merkezi karma tasarım (CCD) kullanılmıştır. Optimizasyon, Design-Expert® yazılım paketi (Sürüm 12.0.3.0, Stat-Ease, Inc., Minneapolis, Minnesota, ABD) ve bu

yazılımdaki RSM yöntemindeki CCD kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sıcaklık, çözücüdeki etanol oranı ve ekstraksiyon süresi bağımsız değişkenler optimize edilecek faktörler olarak belirlenmiştir. Sıcaklık 100 ve 140°C aralığı, çözücüdeki etanol oranı hacmen %0 ve %10 aralığı ve ekstraksiyon süresi 10 ve 30 dakika aralığı olarak belirlenmiş ve deneme deseninde (Çizelge 3.1) 19 farklı deneme belirlenmiştir.

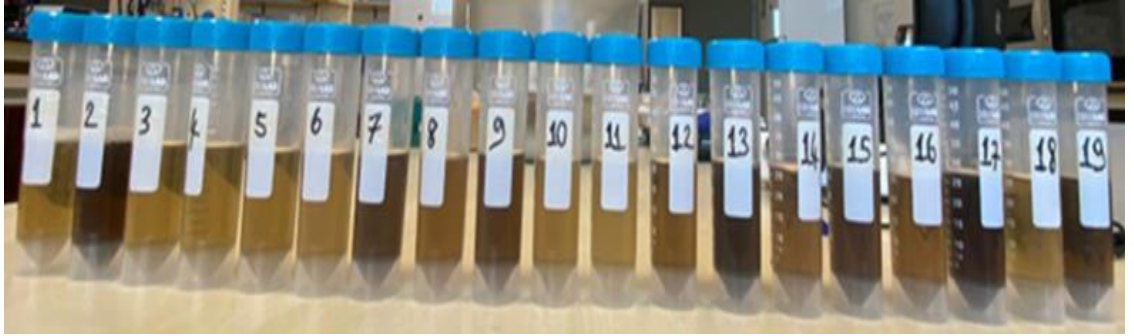
Çizelge 3.1. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemi ile elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait optimizasyon çalışmasında kullanılan merkezi karma tasarıma ait deneme deseni

Standart Sıra	Deneme Sırası	Faktör 1 Sıcaklık (°C)	Faktör 2 Etanol (% v/v)	Faktör 3 Süre (dakika)
15	1	120,0	5,00	20,0
5	2	108,1	2,03	25,9
19	3	120,0	5,00	20,0
18	4	120,0	5,00	20,0
17	5	120,0	5,00	20,0
10	6	140,0	5,00	20,0
6	7	131,9	2,03	25,9
9	8	100,0	5,00	20,0
3	9	108,1	7,97	14,1
16	10	120,0	5,00	20,0
13	11	120,0	5,00	10,0
7	12	108,1	7,97	25,9
1	13	108,1	2,03	14,1
12	14	120,0	10,00	20,0
4	15	131,9	7,97	14,1
14	16	120,0	5,00	30,0
8	17	131,9	7,97	25,9
11	18	120,0	0,00	20,0
2	19	131,9	2,03	14,1

Deneme deseninde belirtilen deneylerde, elma kabuğu tozu (1,5 g) tartılarak, Dionex ASE 350 marka ASE ünitesi (Dionium Seri No:19060564, Thermo Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, ABD) kullanılarak (Şekil 3.6) her biri 25 mL hacminde 19 adet ekstrakt elde edilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemine (Dionex ASE 350 marka) ait görsel (A: Azot gazı, B: Solvent, C: Ekstraksiyon hücreleri, D: Ekstrakt toplama kapları, E: Kontrol paneli)



Şekil 3.7. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemi ile elde edilen elma kabuğu tozu ekstraktlarına ait görsel

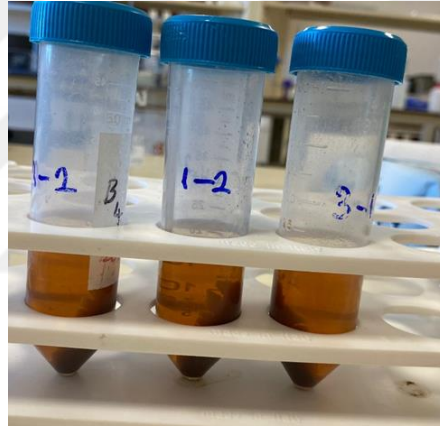
3.2.4. Ultrases Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Yanıt yüzeyi yöntemi kullanılarak Ruby S elma kabuklarından flavonoid ve antioksidan bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyon işleminin optimize edildiği bir çalışmada, Park vd. (2022) tarafından optimum olarak önerilen koşullarda elma kabuğu tozundaki fenolik bileşikler, 1:20 (w/v) katı:çözücü oranında ve hacmen %50 etanol içeren distile suyla ekstrakte edilmiştir. Karışım ultrasonik su banyosunda (Wise Clean Wisc WUC-D06H, Daihan, Güney Kore) 25 dakika boyunca ultrases işlemine maruz kalmış ve bu esnada sıcaklık 24°C'den 42°C'ye çıkmıştır. Karışım daha sonra 30 dakika boyunca orbital çalkalayıcıda (Widhshake, Daihan Scientific Co. Ltd., Seul, Güney Kore)

oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Ardından, santrifüj tüplerine alınan karışımdan 9000 rpm'de 15 dakikalık santrifüj işlemi (NF 800R, Nüve, Türkiye) sonunda, üstte kalan berrak sıvı kısım (süpernatant) alınarak, biyoaktif bileşen içeriği belirlenmek üzere +4°C'de soğukta muhafaza edilmiştir.

3.2.5. Geleneksel Ekstraksiyon Yöntemi

Elma kabuğu tozu fenolik bileşenleri, 1:20 (w/v) katı:çözücü oranında ve hacmen %50 etanol içeren distile suyla ekstrakte edilmiştir. Karışım, 30 dakika boyunca çalkalayıcıda karıştırmış ve ardından 24 saat boyunca +4°C'de bekletilmiştir. Daha sonra karışım santrifüj tüplerine alınarak 9000 rpm'de 15 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. İşlem sonunda, üstte kalan berrak sıvı kısım biyoaktif bileşen içeriği belirlenmek üzere +4°C'de soğukta muhafaza edilmiştir. Şekil 3.8'de geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen elma kabuğu ekstraktlarına ait görsel sunulmuştur.



Şekil 3.8. Geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen elma kabuğu ekstraktlarına ait görsel

3.2.6. Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Belirlenmesi

Elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerinin belirlenmesinde Micro-adapted Folin-Ciocalteu (FC) Yöntemi kullanılmıştır (Cemeroğlu, 2013). FC reaktifi hacmen 1:10 oranında distile su kullanılarak seyreltilmiş, kalibrasyon eğrisi 25,0, 50,0, 62,5, 100,0 mg/L konsantrasyonlarında gallik asit çözeltisiyle hazırlanmıştır. Sodyum karbonat çözeltisi (%20) hazırlamak için 7,5 g sodyum karbonat tartılmış ve 100 mL'lik ölçü balonuna aktarılarak hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. Elma kabuğu tozu ile hazırlanan ekstraktların absorbans değerinin kalibrasyon eğrisi aralığında çıkması için optimizasyon çalışma örnekleri seyreltilmemiş olup ultrases destekli örnekler 2 kat, geleneksel yöntem ile elde edilen

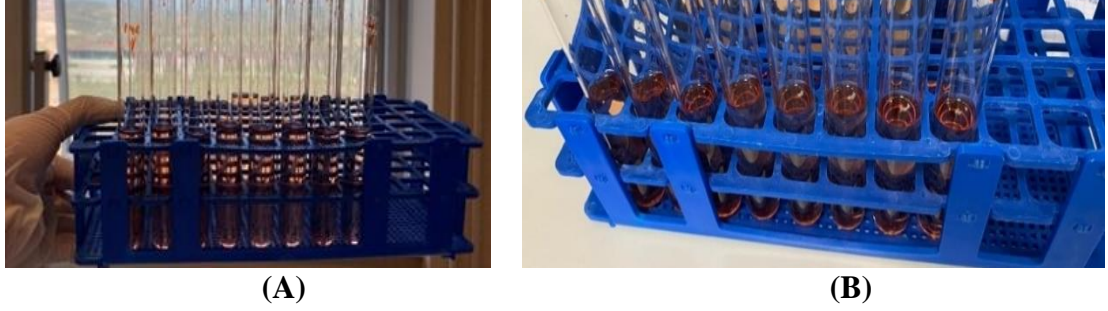
örnekler 10 kat seyreltilmiştir. Ekstraktların toplam fenolik madde içeriğini belirlemek için 0,5 mL ekstrakt alınmış ve üzerine 2,5 mL seyreltilmiş FC reaktifi ilave edilerek 3-5 dakika bekletilmiştir. Ardından hazırlanan %7,5'lük sodyum karbonat çözeltisinden 2 mL eklenmiş ve vorteks cihazı (ViseMix, WM-10, Daihan Scientific Co. Ltd., Gang-Won-Do, Güney Kore) ile karıştırılmıştır. Örnekler oda sıcaklığında ve karanlıkta 2 saat bekletildikten sonra karışımın absorbans değerleri 760 nm dalga boyunda okunmuş ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/L olarak ifade edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Elma kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi sırasında karışımda oluşan renge ait görsel

3.2.7. Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi

Elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktların toplam flavonoid içeriği Zhishen vd.'nin (1999) önerdiği yönteme göre belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrisi oluşturulmasında kateşin çözeltisi 20, 40, 60, 80 ve 100 mg/L konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Elma ekstraktından 1,5 mL alınmış ve 2,5 mL distile su ile karıştırılmıştır. Hemen ardından 0,3 mL %5'lik NaNO_2 ilave edilmiştir. Beşinci dakikada karışıma 0,3 mL %10'luk AlCl_3 eklenmiş ve altıncı dakikada 2,0 mL 1 M NaOH ilave edilmiştir. Daha sonra karışıma 2,4 mL distile su ilave edilerek vorteks cihazı (ViseMix, WM-10, Daihan Scientific Co. Ltd., Gang-Won Do, Güney Kore) ile karıştırılmıştır. Karışımda oluşan pembe rengin absorbansı 510 nm dalga boyunda belirlenerek, sonuçlar mg kateşin eşdeğeri (KE)/L olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.10. Elma kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoid içeriğinin belirlenmesi sırasında karışımda oluşan renge ait görsel

3.2.8. Antioksidan Aktivite Tayini

Elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerini belirlemek için ABTS yöntemi diğer adıyla TEAK (Trolox® Eşdeğeri Antioksidan Kapasite) yöntemi (Cemeroğlu, 2013) kullanılmıştır. Yöntemin amacı, fenolik bileşen içerikli bir örneğe ilave edilen ABTS'nin oksitlenmesi ile oluşan ABTS^{•+} radikal kationun bozulmasını gözlemlemektir. Fenolik bileşiklerin yokluğunda ABTS^{•+} oldukça kararlı bir yapıdadır. ABTS stok çözeltisi hazırlamak için, 40,6 mg ABTS amonyum tuzu tartılmış ve 10 mL'lik ölçü balonuna aktararak hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. Daha sonra 7,0 mg potasyum persülfat (K₂S₂O₈) tartılmış ve 10 mL'lik ölçü balonuna aktararak hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler 1:1 oranında karıştırılmış ve ardından çözelti karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 12-16 saat bekletilmiştir. ABTS çalışma çözeltisi hazırlamak için bu stok çözelti, sıvı kromatografisi saflığındaki metanol ile 734 nm'de okunan son absorbans değeri 1,10±0,2 olacak şekilde seyreltilmiştir. Kalibrasyon eğrisi 5,0, 10,0, 20,0 ve 25,0 µM konsantrasyonlarındaki Trolox® çözeltisi kullanılarak oluşturulmuştur. Her ekstrakt veya kalibrasyon çözeltisinden 150 µL çekilerek 2850 µL ABTS çalışma çözeltisine ilave edilerek karışım vorteks cihazıyla (ViseMix, WM-10, Daihan Scientific Co. Ltd., Gang-Won-Do, Güney Kore) karıştırılmıştır. Ardından elde edilen karışımlar 30 dakika karanlıkta bekletilmiş ve bu süre sonunda çözeltilerin absorbans değerleri 734 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Optizen Pop, Mecasys Co., Ltd., Daejeon, Güney Kore) belirlenmiştir. Örneklerin absorbans değerleri standart kalibrasyon eğrisi aralığında çıkmadığı için optimizasyon örnekleri 2 kat, ultrases yöntemi ile elde edilen ekstrakt örnekleri 20 kat, geleneksel yöntemle elde edilen ekstraktlar ise 10 kat seyreltilmiştir. Sonuçlar µmol Trolox® Eşdeğeri (TE)/L olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.7. Elma kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi sırasında karışımında oluşan renge ait görsel

3.2.9. Renk Analizleri

Elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktların renk ölçümleri Konica Minolta marka (Chromameter CR-400, Konica Minolta Holdings Inc., Marunouchimarka, Tokyo, Japonya) kolorimetre ile CIE (Commission International de L'Eclairage) L*, a*, b* sistemi kullanılarak belirlenmiştir (Şekil 3.8). Renk ölçümleri, D65 aydınlatıcı, 10° gözlemci açısı ve 8 mm diyafram ile birlikte gelen speküler yansıma kullanılarak alınmıştır. Her ekstrakt örneği (5 mL) üretici tarafından sağlanan optik cam hücreye (34 mm çap) konulmuş, oda sıcaklığında gerçekleştirilen ölçümler 3 saniye aralıklarla 2 kez tekrar edilecek şekilde yapılmıştır. Elde edilen ortalamalar renk değerleri olarak kaydedilmiştir. Aydınlık (L*) değerleri için 0 değeri siyahı, 100 değeri beyazı temsil etmektedir. a* ve b* değerlerinin pozitif değerleri sırasıyla kırmızı ve sarıyı, negatif değerleri ise yeşil ve maviyi ifade etmektedir (Gürsoy vd., 2016).



Şekil 3.8. Çalışmada kullanılan kolorimetre (sol) ve dijital refraktometreye (sağ) ait görsel

Elde edilen L^* , a^* ve b^* parametreleri kullanılarak örneklerin renk farkı (ΔE^*) değerleri, Cecchini vd. (2011) tarafından belirtilen Denklem 3.1 kullanılarak belirlenmiştir. Ekstraktların kroma (C^*) ve hue açısı (rad) değerleri sırasıyla Denklem 3.2 ve 3.3 kullanılarak hesaplanmıştır (Daraghmah ve Qubbaj, 2021; Yılmaz, 2022). Hesaplama hue açısı değerlerinin ($^\circ$) doğru belirlenebilmesi için parametrelerin [a^* , b^*] koordinat düzlemi üzerinde hangi bölgede bulunduğuna göre formülde düzeltme yapılması önem arz etmektedir. Aşağıda verilen denklem 3.3, sadece a^* ve b^* değerlerinin pozitif olduğu I. bölge düzlemi için geçerlidir. II. ve III. bölgede bulunan [a^* , b^*] ve [$-a^*$, $-b^*$] değerleri için formülün 180, IV. bölge düzleminde bulunan [a^* , $-b^*$] değerleri için formülün 360 ile toplanması gerekmektedir. 0° veya 360° olarak ifade edilen renk açısı değeri kırmızı tonu; 90° , 180° ve 270° renk açıları da sırasıyla sarı, yeşil ve mavi tonlarını temsil etmektedir (McLellan vd., 1995). Renk doygunluğu (C^*) ise, [a^* , b^*] koordinat düzlemi üzerinde belirlenen rengin o açıdaki doygunluğunu ifade etmektedir. Renk doygunluğu değeri rengin parlaklığı ile ilgilidir. C^* değeri ne kadar yüksek olursa rengin o kadar parlak olduğu anlaşılmaktadır.

$$\Delta E^* = \sqrt{(L_0^* - L^*)^2 + (a_0^* - a^*)^2 + (b_0^* - b^*)^2} \quad (3.1)$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (3.2)$$

$$\text{Hue Açısı (rad)} = \tan^{-1} \left(\frac{b^*}{a^*} \right) \quad (3.3)$$

3.2.10. Suda Çözünen Kuru Madde ve pH Tayini

Elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktların suda çözünen kuru madde içerikleri ($^\circ$ Brix) Atago marka dijital refraktometre (Atago Co. Ltd., Tokyo, Japonya) kullanılarak Cemeroğlu'nun (2013) belirttiği yönteme göre oda sıcaklığında sukroz cinsinden belirlenmiştir (Şekil 3.8). Öncelikle refraktometre distile suyla sıfırlanmış ve ölçüm yapılan ekstraktlar berrak ve homojen bir yapıda olduğu için direkt okuma işlemi gerçekleştirilmiştir.

Ön denemelerde kullanılan pH metre (Jenco 6173, San Diego, CA, ABD) kullanılarak 25°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir (Cemeroğlu, 2013). Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon (ASE) ve ultrases destekli ekstraksiyonu (UDE), geleneksel yöntem

ekstraksiyonunda önceden pH 4,0 ve 7,0 değerlerindeki tampon çözeltilerle kalibre edilmiş daldırmalı tip pH-metre (Testo 205, Testo, Lenzkirch, Almanya) eş zamanlı kullanılarak saptanmıştır.

3.2.11. İstatistiksel Analizler

Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyon denemeleri, herbiri 2 tekerrür ve 2 paralel olacak şekilde, ultrases destekli ekstraksiyon ile geleneksel ekstraksiyon yöntemine ait denemeler ise 3 tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon çalışmalarında Design-Expert yazılım paketi (Sürüm 12.0.3.0, Stat-Ease, Inc., Minneapolis, Minnesota, ABD) ve bu yazılımdaki RSM yöntemindeki Merkezi Karma Tasarım (CCD) kullanılmıştır. Deneysel veriler SAS System for Windows 9.0 (SAS Institute Inc., Cary, Kuzey Karolina, ABD) paket programı kullanılarak varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Ortalamalar arasındaki farklılıkların karşılaştırılmasında Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi $\alpha=0,05$ seviyesinde kullanılmıştır. Bulguların yorumlanması ve değerlendirilmesi aşamasında bir yapay zeka modeli olan ChatGPT-4o'dan (OpenAI, L.L.C., San Francisco, Kaliforniya, ABD) yararlanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Laboratuvar Ölçekli Sistemle Kritik Altı Su Ekstraksiyonu Ön Denemeleri

Kritik altı su ekstraksiyonu yöntemiyle $9,65\pm 0,69$ MPa basınçta 120°C ve 140°C sıcaklıklarda gerçekleştirilen ön denemelerde elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktların 120°C 'deki TFMİ değerleri 42,94 ile 86,95 mg GAE/L arasında değişmiştir (Çizelge 4.1). Bu sıcaklıkta, ilk toplama fraksiyonlarında (T1-T3) nispeten düşük TFMİ değerleri belirlenmişken, ilerleyen fraksiyonlarda (T4-T10) bu değerlerin kademeli olarak arttığı görülmüştür. En yüksek TFMİ değeri T9 örneğinde belirlenmiştir. Bu durum, ekstraksiyon süresinin ilerlemesiyle fenolik bileşiklerin daha fazla çözünmesiyle ilişkilendirilebilir. Ekstraksiyon sıcaklığı 140°C olduğunda ise ekstraktların TFMİ değerleri, 120°C sıcaklığa kıyasla belirgin şekilde daha yüksek bulunmuştur. Değerler 114,75 ile 330,08 mg GAE/L arasında değişmiştir. İlk fraksiyon (T1) en yüksek TFMİ değerine (330,08 mg GAE/L) sahipken, sonraki fraksiyonlarda bu değerlerin azaldığı gözlemlenmiştir. Bu durum, yüksek sıcaklıkta fenolik bileşiklerin hızlı bir şekilde ekstrakte edilebilmesiyle açıklanabilir. Bu yüksek lisans tez çalışmasına benzer olarak, Wolfe vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada elma kabuğu ekstraktının TFMİ ile AA değerleri sırasıyla 80,59-110,17 mg GAE/g ve 15,91-610,49 $\mu\text{g TE/g}$ aralığında saptanmıştır. TFMİ ve AA değerlerinin, ekstraksiyon sıcaklığı ve toplam fraksiyonlarına bağlı olarak değiştiğini; yüksek sıcaklıkta fenolik bileşiklerin ve AA'nin başlangıçta daha yüksek olduğunu, ancak ilerleyen fraksiyonlarda azalma eğiliminde olduğunu göstermiştir.

Ekstraksiyon sıcaklığı 120°C olduğunda, elde edilen elma kabuğu ekstraktlarının AA değerleri 61,20 ile 94,99 $\mu\text{mol TE/L}$ arasında değişmiştir. İlk fraksiyonlarda (T1-T3) AA değerleri nispeten düşükken, T4 fraksiyonunda belirgin bir artış (90,39 $\mu\text{mol TE/L}$) gözlemlenmiştir. T10 fraksiyonunda ise en yüksek AA değeri ölçülmüştür (94,99 $\mu\text{mol TE/L}$). Bu durum, fenolik bileşiklerin AA'ye katkıda bulunduğunu ve ekstraksiyon süresinin ilerlemesiyle bu bileşiklerin çözünürlüğünün arttığını göstermektedir. 140°C 'de gerçekleştirilen ekstraksiyonda AA değerleri, 120°C 'ye kıyasla daha geniş bir aralıkta değişim göstermiştir (62,46 ile 227,38 $\mu\text{mol TE/L}$ arasında). İlk fraksiyon (T1) en yüksek AA değerine (227,38 $\mu\text{mol TE/L}$) sahipken, sonraki fraksiyonlarda bu değerler azalmıştır. Bu durum, yüksek sıcaklıkta fenolik bileşiklerin hızlı bir şekilde çözünmesiyle birlikte

AA'nin başlangıçta yüksek olduğunu, ancak ilerleyen fraksiyonlarda azaldığını göstermektedir.

Wolfe vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada elma kabuğu ekstraktında TFMİ ve AA değer aralıklarını sırasıyla 80,59-110,17 mg GAE/g ve 15,91-610,49 µg TE/g olarak saptanmıştır. Bu kapsamda ön denemeler, kritik altı su ekstraksiyonu ile elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktların TFMİ ve AA değerlerinin, ekstraksiyon sıcaklığı ve toplama fraksiyonlarına bağlı olarak değiştiğini; yüksek sıcaklıkta fenolik bileşiklerin ve AA'nin başlangıçta daha yüksek olduğunu, ancak ilerleyen fraksiyonlarda azalma eğiliminde olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.1. İki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen kritik altı su ekstraksiyonuyla ardışık olarak toplanan fraksiyonlardaki (10'ar mL) (T1-T10) elma kabuğu tozu ekstraktlarının toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite içerikleri (ortalama±standart sapma)

Sıcaklık	Fraksiyon Kodu	TFMİ*	AA
120°C	T1	55,99±10,34	61,20±15,53
	T2	43,16±3,34	62,04±8,41
	T3	42,94±4,93	73,03±11,85
	T4	54,31±2,54	90,39±17,54
	T5	65,34±10,18	71,85±7,35
	T6	70,51±6,68	63,38±20,51
	T7	79,51±6,68	65,65±25,13
	T8	85,93±9,39	70,68±11,85
	T9	86,95±20,05	68,00±5,69
	T10	76,48±41,86	94,99±13,51
140°C	T1	330,08±65,26	227,38±63,31
	T2	120,83±67,01	84,18±48,49
	T3	114,75±60,64	80,07±35,09
	T4	149,19±36,45	76,38±22,76
	T5	147,39±20,53	73,28±23,35
	T6	144,69±14,80	85,43±12,09
	T7	140,64±22,12	73,61±22,17
	T8	122,40±22,12	62,46±20,39
	T9	167,88±27,22	67,91±24,77
	T10	123,08±29,44	67,32±3058

*TFMİ: Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/L), AA: Antioksidan aktivite (µmol TE/L)

İki farklı sıcaklıkta elde edilen elma kabuğu ekstraktlarına ait pH değerleri 6,30 ile 6,90 arasında değişmiş, ekstraksiyon sıcaklık ve süresine göre değişim önemli olmamıştır.

4.2. Laboratuvar Ölçekli Sistemle Kritik Altı Su Ekstraksiyonu

Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle hacmen %2 asetik asit içeren distile su kullanılarak elma kabuğu tozlarından ekstraksiyon işleminde elde edilen her biri 25 mL olan T1'den T8'e kadarki ekstraktların TFMİ, AA, suda çözünür kuru madde (°Brix) ve pH değerlerinin ekstraksiyon sıcaklığına (120°C ve 140°C) bağlı olarak değişimi Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile ekstraksiyonunda toplanan her bir fraksiyonun (T1'den T8'e kadar, 25'şer mL) toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivite, suda çözünür kuru madde (°Brix) ve pH değerlerinin ekstraksiyon sıcaklığıyla değişimi (n=2)

Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)	Fraksiyon Kodu	TFMİ*	AA	°Brix	pH
120	T1	84,57±71,32 ^{A**}	100,08±26,02 ^A	1,77±0,20 ^{BC}	3,09±0,08 ^A
	T2	110,91±69,62 ^A	79,32±28,46 ^A	1,95±0,17 ^A	3,04±0,09 ^A
	T3	87,11±32,96 ^A	71,48±22,23 ^A	1,87±0,09 ^{AB}	3,02±0,09 ^A
	T4	67,50±23,52 ^A	70,71±22,33 ^A	1,72±0,05 ^{BCD}	2,99±0,08 ^A
	T5	97,14±41,15 ^A	70,53±20,45 ^A	1,72±0,05 ^{BCD}	2,98±0,08 ^A
	T6	107,49±41,88 ^A	67,09±15,74 ^A	1,67±0,05 ^{CD}	2,96±0,08 ^A
	T7	114,21±43,29 ^A	70,04±18,44 ^A	1,55±0,05 ^D	2,95±0,08 ^A
	T8	87,93±20,53 ^A	70,08±17,47 ^A	1,62±0,05 ^{CD}	2,96±0,08 ^A
140	T1	138,52±89,25 ^A	91,92±37,74 ^A	2,07±0,72 ^A	3,23±0,14 ^A
	T2	100,89±55,54 ^A	77,84±13,34 ^A	1,85±0,19 ^A	3,13±0,09 ^{AB}
	T3	101,77±59,91 ^A	80,23±13,82 ^A	1,90±0,23 ^A	3,09±0,08 ^B
	T4	121,20±56,75 ^A	81,78±7,57 ^A	2,02±0,20 ^A	3,08±0,07 ^B
	T5	102,28±49,48 ^A	78,19±10,49 ^A	1,95±0,17 ^A	3,08±0,06 ^B
	T6	97,96±38,87 ^A	81,01±9,12 ^A	1,95±0,28 ^A	3,07±0,06 ^B
	T7	127,61±58,99 ^A	73,94±13,16 ^A	1,90±0,23 ^A	3,05±0,06 ^B
	T8	97,27±28,71 ^A	73,76±13,39 ^A	1,80±0,23 ^A	3,03±0,05 ^B

*TFMİ: Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/L), AA: Antioksidan aktivite (µmol TE/L), **Aynı sütun içerisindeki farklı harfler ortalamaların istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir (p<0,05).

Ekstraksiyon sıcaklığı 120°C olduğunda, ekstraktların TFMİ değerleri 67,50 (T4) ile 114,21 mg GAE/L (T7) arasında değişmiştir. Ekstraktların TFMİ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05). Ekstraktların AA değerleri ise 67,09 (T6) ile 100,08 µmol TE/L (T1) arasında değişmiştir. TFMİ değerlerine benzer şekilde, ekstraktların AA değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05). Ekstraktların suda çözünür kuru madde değerleri 1,55 (T7) ile 1,95°Brix (T2) arasında değişmiştir. Ekstraktların °Brix değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur (p<0,05). Ekstraktların pH değerleri ise 2,95 (T7) ile

3,09 (T1) arasında değişmiş, ancak ekstraktlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).

Ekstraksiyon sıcaklığı 140°C olduğunda ise ekstraktların TFMİ değerleri 97,27 (T8) ile 138,52 mg GAE/L (T1) arasında değişmiş ancak örnekler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu sıcaklıkta elde edilen ekstraktların AA değerleri 73,76 (T8) ile 91,92 $\mu\text{mol TE/L}$ (T1) arasında değişmiştir. Ekstraktların AA değerli arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ekstraktların Suda Çözünür Kuru Madde değerleri 1,80 (T8) ile 2,07°Brix (T1) arasında değişmiş ve değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar belirlenmiştir ($p<0,05$). Ekstraktların pH değerleri ise 3,03 (T8) ile 3,23 (T1) arasında değişmiş ve değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0,05$).

Bulgular, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstrakt fraksiyonunun, ekstraktın TFMİ, AA, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Sıcaklık 120°C olduğunda daha düşük °Brix ve pH değerleri gözlenmiş ve ekstraktların TFMİ ve AA değerleri arasında belirgin bir fark bulunmazken, 140°C’de daha yüksek °Brix ve pH değerleri belirlenmiş ancak TFMİ ve AA değerleri genel olarak daha yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu bulgular, ekstraksiyon sıcaklığının ve ekstrakt fraksiyonunun ekstraktların kimyasal ve fiziksel özelliklerini optimize etmek için önemli bir parametre olduğunu göstermektedir. Daha yüksek °Brix ve pH değerleri hedeflendiğinde, 140°C sıcaklık tercih edilebilir.

Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle hacmen %2 asetik asit içeren distile su kullanılarak elma kabuğu tozlarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu işleminde, elde edilen ekstraktların TFMİ, AA, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi Çizelge 4.3’te sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik

bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile ekstraksiyonunda toplanan ekstraktın toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivite, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi (n=16)

Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)	TFMİ*	AA	°Brix	pH
120	94,61±43,61 ^{A**}	74,91±21,71 ^A	1,73±0,15 ^B	3,00±0,08 ^B
140	110,00±52,49 ^A	79,83±16,17 ^A	1,93±0,30 ^A	3,09±0,09 ^A

*TFMİ: Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/L), AA: Antioksidan aktivite ($\mu\text{mol TE/L}$), **Aynı sütun içerisindeki farklı harfler ortalamaların istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir ($p<0,05$).

Ekstraksiyon sıcaklığı 120°C olduğunda, ekstraktların ortalama TFMİ değeri 94,61 mg GAE/L iken, 140°C'de 110,00 mg GAE/L olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı 140°C olduğunda, ekstraktlar 120°C'ye kıyasla daha yüksek bir TFMİ değerine sahip olmuş ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Ekstraktların AA değerleri söz konusu olduğunda ise, 120°C'de ekstrakte edilen örneklerde AA değeri 74,91 $\mu\text{mol TE/L}$ iken 140°C'de ise 79,83 $\mu\text{mol TE/L}$ olarak belirlenmiş ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır ($p>0,05$). Ekstraksiyon sıcaklığı 120°C olduğunda, ekstraktların suda çözünür kuru madde değeri 1,73°Brix iken 140°C'de 1,93°Brix değerine yükselmiştir ($p<0,05$). Benzer bir artış ekstraktların pH değerlerinde de gözlenmiş, 120°C'de ekstrakte edilen örneklerde pH değeri 3,00 iken 140°C'de 3,09 pH değerine yükselmiştir ($p<0,05$).

Bulgular ekstraksiyon sıcaklığının, elma kabuğu ekstraktlarının TFMİ, AA, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı 140°C olduğunda, örneklerin TFMİ ve AA değerleri 120°C'ye kıyasla daha yüksek olurken, aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yüksek sıcaklıkta (140°C) ekstrakte edilen örneklerin 120°C'ye kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek °Brix değerine sahip olması, yüksek sıcaklıkta daha fazla suda çözünür kuru madde ayrıştırılabildiğini göstermektedir. Yüksek sıcaklıkta ekstrakte edilen örneklerin pH değeri düşük sıcaklıktaki örneklerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Bu bulgular, ekstraksiyon sıcaklığının ekstraktların kimyasal ve fiziksel özelliklerini optimize etmek için önemli bir parametre olduğuna işaret etmektedir. Ekstraktlarda daha yüksek TFMİ, AA ve suda çözünür kuru madde hedeflendiğinde, 140°C sıcaklık tercih edilebilir.

Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle hacmen %2 asetik asit içeren distile su kullanılarak elma kabuğu tozlarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu işleminde, elde edilen ekstraktların TFMİ, AA, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerine ekstrakt fraksiyonunun (T1-T8, 25'er mL) etkisi Çizelge 4.4'te sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile iki farklı sıcaklıkta ekstraksiyonuyla toplanan ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivite, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerine her bir fraksiyonun (T1'den T8'e kadar, 25'şer mL) etkisi (n=4)

Fraksiyon Kodu	TFMİ*	AA	°Brix	pH
T1	111,55±80,16 ^{A**}	96,00±30,32 ^A	1,92±0,51 ^A	3,16±0,13 ^A
T2	105,90±58,55 ^A	78,58±20,59 ^A	1,90±0,17 ^A	3,08±0,10 ^{AB}
T3	94,44±45,45 ^A	75,86±17,76 ^A	1,88±0,16 ^A	3,05±0,09 ^B
T4	94,35±49,41 ^A	76,24±16,53 ^A	1,87±0,21 ^A	3,04±0,08 ^B
T5	99,71±42,22 ^A	74,36±15,59 ^A	1,83±0,16 ^A	3,03±0,08 ^B
T6	102,72±37,75 ^A	74,05±14,04 ^A	1,81±0,24 ^A	3,01±0,09 ^B
T7	120,91±48,43 ^A	71,99±14,97 ^A	1,72±0,24 ^A	3,00±0,08 ^B
T8	92,60±23,53 ^A	71,92±14,54 ^A	1,71±0,18 ^A	2,99±0,07 ^B

*TFMİ: Toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/L), AA: Antioksidan aktivite (µmol TE/L), **Aynı sütun içerisindeki farklı harfler ortalamaların istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir (p<0,05).

Elma kabuğu tozundaki biyoaktif bileşenlerin kritik altı su ekstraksiyonu işleminde fraksiyonlara ait TFMİ değerleri 92,60 (T8) ile 120,91 mg GAE/L (T7) arasında değişmiştir. Fraksiyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05). Fraksiyonların AA değerleri ise 71,92 (T8) ile 96,00 µmol TE/L (T1) arasında değişmiş ve fraksiyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (p>0,05). Fraksiyonların suda çözünür kuru madde değerleri 1,71 (T8) ile 1,92°Brix (T1) arasında değişmiş ve fraksiyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p>0,05). Fraksiyonların pH değerleri 2,99 (T8) ile 3,16 (T1) arasında değişmiştir. T1 fraksiyonunun pH değeri, T2 fraksiyonu hariç diğer örneklerin pH değerinden daha yüksek bulunmuştur (p<0,05).

Bulgular iki farklı sıcaklıkta gerçekleştirilen laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyon işleminde, fraksiyon sırasının (dolayısıyla hacminin) ekstraktların TFMİ, AA, suda çözünür kuru madde ve pH değerleri üzerinde belirli bir etki gösterebileceğinin ancak istatistiksel açıdan tek önemli etkinin ekstraktların pH değeri üzerine olduğu belirlenmiştir.

Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle hacmen %2 asetik asit içeren distile su kullanılarak elma kabuğu tozlarından ekstraksiyon işleminde elde edilen her biri 25 mL olan T1'den T8'e kadarki ekstraktların CIELAB renk değerleri (L*, a* ve

b*), hue açısı (°), ve kroma değerlerinin ekstraksiyon sıcaklığına (120°C ve 140°C) bağlı olarak değişimi Çizelge 4.5'te sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile ekstraksiyonunda toplanan her bir fraksiyonun (T1'den T8'e kadar, 25'şer mL) CIELAB renk değerlerinin (L*, a*, b*, hue açısı ve kroma) ekstraksiyon sıcaklığıyla değişimi (n=2)

Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)	Fraksiyon Kodu	CIE L*	CIE a*	CIE b*	Hue açısı (°)	Kroma
120	T1	26,30±0,39 ^{AB#}	-0,08±0,30 ^A	0,82±0,17 ^B	188,06±82,00 ^A	0,87±0,14 ^C
	T2	26,06±0,43 ^B	-0,18±0,17 ^{AB}	0,97±0,17 ^{AB}	102,07±12,12 ^B	1,01±0,13 ^{BC}
	T3	27,00±1,25 ^A	-0,25±0,06 ^{AB}	1,11±0,04 ^A	103,12±3,57 ^B	1,14±0,03 ^{AB}
	T4	26,25±0,45 ^{AB}	-0,33±0,05 ^B	1,03±0,08 ^A	107,63±1,74 ^B	1,08±0,09 ^{AB}
	T5	26,26±0,29 ^{AB}	-0,31±0,08 ^{AB}	1,02±0,03 ^A	106,76±4,33 ^B	1,07±0,03 ^{AB}
	T6	26,03±0,17 ^B	-0,32±0,07 ^B	1,12±0,19 ^A	106,54±5,01 ^B	1,17±0,18 ^{AB}
	T7	26,04±0,13 ^B	-0,36±0,10 ^B	1,03±0,04 ^A	109,62±5,97 ^B	1,10±0,01 ^{AB}
	T8	26,19±0,36 ^{AB}	-0,39±0,07 ^B	1,13±0,13 ^A	109,37±5,37 ^B	1,19±0,11 ^A
140	T1	25,81±0,44 ^A	-0,12±0,44 ^A	1,02±0,15 ^B	142,99±68,37 ^A	1,10±0,18 ^B
	T2	25,76±0,18 ^{AB}	-0,29±0,11 ^{AB}	1,22±0,05 ^{AB}	103,20±4,90 ^A	1,26±0,06 ^{AB}
	T3	25,63±0,13 ^{AB}	-0,40±0,03 ^B	1,38±0,05 ^A	106,29±1,80 ^A	1,44±0,04 ^A
	T4	25,43±0,10 ^{BC}	-0,38±0,06 ^{AB}	1,36±0,14 ^A	105,97±3,03 ^A	1,42±0,13 ^A
	T5	25,21±0,19 ^{CD}	-0,31±0,02 ^{AB}	1,27±0,19 ^A	103,94±1,57 ^A	1,31±0,19 ^{AB}
	T6	25,15±0,19 ^{CD}	-0,36±0,03 ^{AB}	1,28±0,11 ^A	105,83±2,58 ^A	1,33±0,11 ^A
	T7	24,99±0,25 ^D	-0,30±0,02 ^{AB}	1,18±0,18 ^{AB}	104,64±3,91 ^A	1,22±0,17 ^{AB}
	T8	25,05±0,21 ^D	-0,30±0,05 ^{AB}	1,23±0,09 ^{AB}	103,91±2,09 ^A	1,26±0,09 ^{AB}

#Aynı sütun içerisindeki farklı harfler ortalamaların istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir (p<0,05).

Ekstraksiyon sıcaklığı 120°C olduğunda, en yüksek L* değeri T3 fraksiyonunda (27,00) gözlemlenirken, en düşük değer T6 ve T7 fraksiyonlarında (yaklaşık 26,00) bulunmuştur. L* değerleri arasında istatistiksel farklılıklar vardır (p<0,05). Negatif ve düşük değerlere sahip olan a* (kırmızılık-yeşillik) parametresi açısından ise T1 fraksiyonu (-0,08) en yüksek değere sahipken, T8 fraksiyonu (-0,39) en düşük değeri göstermiş ve T2 fraksiyonu hariç, T1 fraksiyonu ile diğer örnekler arasında istatistiksel farklılıklar gözlemlenmiştir (p<0,05). Pozitif ve düşük b* (sarılık-mavilik) renk parametresi açısından, en yüksek değer T8 ve T6 (yaklaşık 1,13) fraksiyonlarında bulunurken, en düşük değer T1 fraksiyonu (0,82) gözlemlenmiştir. T2 fraksiyonu hariç, T1 ile diğer fraksiyonlar arasındaki istatistiksel farklılıklar anlamlı bulunmuştur (p<0,05). T1 fraksiyonunda (188,06°) en yüksek hue açısına sahipken, diğer fraksiyonlarda bu değer daha düşük olmuştur (p<0,05). En yüksek kroma değeri T8 fraksiyonunda (1,19) bulunurken, en düşük değer T1 fraksiyonunda (0,87) gözlemlenmiştir. T2 fraksiyonu hariç, T1 fraksiyonunun kroma değeri ile diğer fraksiyonlardan istatistiksel açıdan daha düşük bulunmuştur (p<0,05).

Ekstraksiyon sıcaklığı 140°C olduğunda, en yüksek L* değeri T1 fraksiyonunda (25,81) belirlenirken, en düşük değer T7 ve T8 (yaklaşık 25,00) fraksiyonlarında bulunmuştur. İlk üç fraksiyonun L* değerleri benzer bulunurken, bu fraksiyonların değerlerinin T5 ve sonraki fraksiyonların değerlerinden istatistiksel olarak daha yüksek olduğu belirlenmiştir ($p<0,05$). Fraksiyonların a* renk değerleri negatif ve küçük bulunmuştur. T1 fraksiyonu (-0,12) en yüksek a* değerine sahipken, T3 fraksiyonu (-0,40) en düşük değeri göstermiştir. Ancak, bu sıcaklıkta elde edilen fraksiyonların a* değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Fraksiyonların b* değeri sarı rengi ifade edecek şekilde pozitif ve küçük değerlerde olmuştur. En yüksek b* değeri T3 ve T4 (yaklaşık 1,37) fraksiyonlarında bulunurken, en düşük değer T1 fraksiyonunda (1,02) gözlenmiştir. T1 fraksiyonunun b* değeri diğer fraksiyonların b* değerlerinden istatistiksel açıdan önemli düzeyde daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$). T1 fraksiyonu (142,99°) en yüksek hue açısına sahipken, diğer fraksiyonlarda bu değer daha düşük belirlenmiştir. Ancak hue açısı değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Renk ölçümünde hue açısı (ton açısı), genellikle 0° ile 360° arasında bir renk çemberi üzerinde ifade edilir ve her açı belirli bir renge karşılık gelir. Hue açısının 100° ile 145° arasındaki değerleri, renk çemberinde yeşil ile mavi arasında kalan tonlara denk gelir. Daha spesifik olarak, 100° - 120° arası yeşil tonlara (daha sarımsı yeşil) ve 120° saf yeşile karşılık gelirken, 120° - 145° arası yeşil ile mavi arasında kalan tonlara (turkuaz, camgöbeği veya mavi-yeşil tonları) karşılık gelir. Bu aralık, genellikle sarımsı yeşilden başlayarak turkuaz ve açık mavi-yeşil tonlarına kadar uzanır. Özellikle 140°-145° civarı, maviye daha yakın bir yeşil tonunu ifade eder. Fraksiyonlar arasında en yüksek kroma değeri T3 ve T4 (yaklaşık 1,43) örneklerinde bulunurken, en düşük değer T1 örneğinde (1,10) belirlenmiştir. T1 fraksiyonunun kroma değeri, T3, T4 ve T6 fraksiyonlarının kroma değerinden istatistiksel açıdan daha düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Araştırma bulguları ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstrakt fraksiyonunun, elma kabuğu ekstraktlarının renk özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Düşük ekstraksiyon sıcaklığında (120°C), daha yüksek L* (açıklık) ve hue açısı değerleri gözlenirken yüksek sıcaklıkta (140°C) daha yüksek b* (sarılık) ve kroma değerleri belirlenmiştir. Bu bulgular, elma kabuğu ekstraktların renk özelliklerini optimize etmek için ekstraksiyon sıcaklığı ve fraksiyonunun önemli parametreler olduğunu ve daha parlak ve doymuş renkler hedeflendiğinde, 140°C ekstraksiyon sıcaklığının tercih edilebileceğini göstermektedir.

Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle hacmen %2 asetik asit içeren distile su kullanılarak elma kabuğu tozlarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu işleminde, elde edilen her biri 25 mL olan T1'den T8'e kadarki ekstraktların CIELAB renk değerleri (L*, a* ve b*), hue açısı (°) ve kroma değerlerinin ekstraksiyon sıcaklığına (120°C ve 140°C) bağlı olarak değişimi Çizelge 4.6'da sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile ekstraksiyonunda toplanan ekstraktın CIELAB renk değerleri (L*, a*, b*, hue açısı ve kroma) üzerine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi (n=16)

Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)	CIE L*	CIE a*	CIE b*	Hue açısı (°)	Kroma
120	26,27±0,56 ^{A#}	-0,28±0,15 ^A	1,03±0,14 ^B	116,64±37,88 ^A	1,08±0,13 ^B
140	25,38±0,37 ^B	-0,31±0,16 ^A	1,24±0,16 ^A	109,60±24,98 ^A	1,29±0,15 ^A

#Aynı sütun içerisindeki farklı harfler ortalamaların istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir (p<0,05).

Düşük sıcaklıkta (120°C) ekstrakte edilen örneklerin L* değeri (26,27), yüksek sıcaklıkta (140°C) ekstrakte edilen örneklerin L* değerinden (25,38) istatistiksel olarak daha yüksek belirlenmiştir (p<0,05). Her iki sıcaklıkta elde edilen ekstraktların a* değerleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (p>0,05). 120°C'de ekstrakte edilen örnekler (1,03), 140°C'de ekstrakte edilen örneklere (1,24) kıyasla istatistiksel olarak daha düşük bir b* değerine sahip olmuştur (p<0,05). Hue açısı (°) değerleri açısından, örnekler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05). 140°C'de ekstrakte edilen örnekler (1,29), 120°C'de ekstrakte edilen örneklere (1,08) kıyasla daha yüksek bir kroma değerine sahip olmuştur (p<0,05). Bulgular, ekstraksiyon sıcaklığının, tek başına değerlendirildiğinde elma kabuğu ekstraktlarının renk özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Daha düşük sıcaklık (120°C), daha yüksek bir açıklık (L*) ve hue açısı değerleri sağlarken, daha yüksek sıcaklık (140°C), sarılık (b*) ve kroma değerlerini artırmıştır.

Laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle hacmen %2 asetik asit içeren distile su kullanılarak elma kabuğu tozlarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu işleminde, elde edilen ekstraktların CIELAB renk değerleri (L*, a*, b*, hue açısı ve kroma) üzerine her bir ekstrakt fraksiyonunun (T1'den T8'e kadar, 25'er mL) etkisi Çizelge 4.7'de sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Elma kabuklarından kritik altı su ekstraksiyon sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren saf su ile iki farklı sıcaklıkta ekstraksiyonuyla toplanan ekstraktların CIELAB renk değerleri (L*, a*, b*, hue açısı ve kroma) üzerine her bir fraksiyonun (T1'den T8'e kadar, 25'şer mL) etkisi (n=4)

Fraksiyon Kodu	CIE L*	CIE a*	CIE b*	Hue Açısı (°)	Kroma
T1	26,06±0,46 ^{AB#}	-0,10±0,35 ^A	0,92±0,18 ^B	165,52±73,83 ^A	0,98±0,19 ^C
T2	25,91±0,34 ^{ABC}	-0,23±0,14 ^{AB}	1,01±0,17 ^A	102,64±8,58 ^B	1,13±0,16 ^B
T3	26,32±1,05 ^A	-0,33±0,09 ^B	1,24±0,15 ^A	104,70±3,12 ^B	1,29±0,16 ^A
T4	25,84±0,52 ^{BC}	-0,35±0,06 ^B	1,20±0,20 ^A	106,80±2,45 ^B	1,25±0,20 ^{AB}
T5	25,73±0,60 ^{BC}	-0,31±0,05 ^B	1,15±0,18 ^A	105,35±3,37 ^B	1,19±0,18 ^{AB}
T6	25,59±0,49 ^{BC}	-0,34±0,05 ^B	1,20±0,17 ^A	106,19±3,71 ^B	1,25±0,16 ^{AB}
T7	25,52±0,59 ^C	-0,33±0,07 ^B	1,10±0,15 ^A	107,13±5,38 ^B	1,16±0,13 ^{AB}
T8	25,62±0,67 ^{BC}	-0,34±0,07 ^B	1,18±0,12 ^A	106,64±4,77 ^B	1,23±0,10 ^{AB}

#Aynı sütun içerisindeki farklı harfler ortalamaların istatistiksel olarak farklı olduğunu göstermektedir (p<0,05).

Elma kabuğu tozundaki biyoaktif bileşenlerin kritik altı su ekstraksiyonu işleminde fraksiyonlara ait L* değerleri 26,32 (T3) ve 25,52 (T7) arasında değişim göstermiştir. T3 fraksiyonunun L* değeri (26,32), sonraki fraksiyonlarının L* değerinden istatistiksel açıdan önemli düzeyde daha yüksek belirlenmiştir (p<0,05). T1 fraksiyonu (-0,10) en yüksek a* değerine sahipken, T2 fraksiyonu hariç diğer fraksiyonlarda bu değer daha düşük bulunmuştur (p<0,05). T3 fraksiyonu (1,24) en yüksek sarılık (b*) değerine sahip olmuştur. Diğer tüm fraksiyonlarla kıyaslandığında T1 fraksiyonunda (0,92) en düşük b* değeri belirlenmiştir (p<0,05). T1 fraksiyonunda (165,52°) en yüksek hue açısı belirlenmiş ve diğer fraksiyonlarda istatistiksel olarak bu değerden daha düşük değerler bulunmuştur (p<0,05). Renk çemberinde 100° ile 166° arasındaki hue açısı, yeşilden başlayarak turkuaz, camgöbeği ve açık maviye kadar olan tonları kapsar. Daha detaylı olarak, 100° - 120° arası sarımsı yeşil ve saf yeşil tonlara, 120° saf yeşile ve 120° - 140° arası yeşil ile mavi arasında kalan tonlara (turkuaz, camgöbeği, mavi-yeşil tonları) denk gelirken 140° - 166° arası maviye daha yakın tonlara (açık mavi, mavi-yeşil ve mavi tonları) karşılık gelir. 166° civarı ise mavi tonlarına daha yakın bir renge karşılık gelir (Üren, 1999). T3 fraksiyonu (1,29) en yüksek kroma değerine sahipken, T1 fraksiyonu (0,98) en düşük değeri göstermiştir. T1 fraksiyonu istatistiksel açıdan önemli düzeyde en düşük kroma değerini gösterirken, ikinci en düşük değere T2 fraksiyonu (1,13) sahip olmuştur (p<0,05). Bulgular, laboratuvar ölçekli kritik altı su ekstraksiyonu ile elde edilen elma kabuğu ekstraktlarının renk özelliklerinin, ekstrakt fraksiyonuna bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir. İlk fraksiyon, en yüksek hue açısı ve en düşük kroma değeri ile diğer fraksiyonlardan genel olarak farklılık göstermiştir.

Chen vd., (2014) elma posasından yüksek polifenol içeriğine sahip elma posası özütünü ultrasonik yöntem kullanılarak elde ettiği çalışmada, ısıl işlemin elma polifenollerini üzerindeki etkisini araştırmak üzere altı farklı sıcaklık (70, 75, 80, 85, 90 ve 95°C) ve üç farklı sürenin (10, 20 ve 30 dakika) seçildiği bildirilmiştir. Isıl işleme tabi tutulduktan sonra, elma polifenol örneklerinin konsantrasyonları oda sıcaklığında kontrol ile yaklaşık olarak eşit çıktığı ve elma polifenollerinin optimum pH değeri 5,0 olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Örnekler pH 3,0-5,0 aralığında ve 90°C sıcaklıkta işlendiğinde, örneklerin polifenol konsantrasyonları benzer çıktığı bildirilmiştir. Isıl işlem, şeker konsantrasyonu ve polifenol içeriğini, C vitamini içeriğinden daha önemli ölçüde etkilediği; bu üç faktör C vitamini üzerinde etkili olduğunda, orijinal C vitamini içeriği 10 mg/100 mL olan örnekler hariç, C vitamini içeriği örnekleri önemli ölçüde etkilendiği, elma polifenollerini iyi ısı ve pH stabilitesine sahip olduğu ve C vitamininin oksidasyonunu önleyebildiğinden, elma posasından ekstrakte edilen elma polifenollerini çeşitli gıda ürünlerinde fonksiyonel gıda katkı maddesi, koruyucu vb. olarak kullanılabilceği bildirilmiştir.

Khandare vd. (2011) tarafından yapılan çalışmada ise pektinazların varlığında siyah havuçların pres öncesi maserasyon işleminin farklı fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve meyve sularının renk farklılıkları üzerindeki etkisini araştırılmıştır. Bulgular, a* renk değerleri ile ekstrakttaki TFMİ (r değeri 0,96) ve TFİ (r değeri 0,97) arasında yüksek pozitif bir korelasyon elde edilmiştir. TFİ, antosiyaninlerin (antioksidan aktiviteleriyle tanınan ve çoğu meyve ve sebzenin kırmızı-mor renginden sorumlu olan oldukça renkli maddeler) ait olduğu bir grup fenolik bileşiği içerdiğinden CIELAB uzayındaki a* değerleri, numunede yeşilimsi ila kırmızımsı bir gölgenin göstergesidir. Pozitif korelasyon, TFMİ ve TFİ içeriği ne kadar yüksekse a* renk değerlerinin de o kadar yüksek olduğunu, yani ekstraktın o kadar kırmızı olduğunu gösterir. Meyve suyundaki monomerik antosiyanin konsantrasyonu renk tonu açısıyla daha iyi korelasyon gösterdiği (r değeri 0,94), bu da doğal pigmentin içeceğin kırmızılık yoğunluğuyla ilişkili olduğunu yapılan çalışma ile bildirilmiştir.

4.3. Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu Bulguları

4.3.1. Optimizasyon Çalışması Bulguları

Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon (ASE) sistemiyle farklı sıcaklık (100 ve 140°C aralığında), sulu etanol konsantrasyonu (hacmen %0 ve %5 aralığında etil alkol) ve ekstraksiyon süresinde (10 ve 30 dakika aralığında) merkezi karma tasarıma ait deneme

koşullarında elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait TFİ, AA ve TFMİ değerleri Çizelge 4.8’de sunulmuştur.

Çizelge 4.8. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemi ile elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait optimizasyon çalışmasında kullanılan merkezi karma tasarıma ait faktörler (sıcaklık, etanol konsantrasyonu ve süre) ve yanıt değişkenleri

St. Sıra	Deneme Sırası	Faktör 1 Sıcaklık (°C)	Faktör 2 Etanol (% v/v)	Faktör 3 Süre (dakika)	Yanıt 1 TFİ*	Yanıt 2 AA	Yanıt 3 TFMİ
15	1	120,0	5,00	20,0	19,84	33,21	58,33
5	2	108,1	2,03	25,9	45,01	52,44	77,65
19	3	120,0	5,00	20,0	17,70	33,63	54,26
18	4	120,0	5,00	20,0	19,30	33,94	56,13
17	5	120,0	5,00	20,0	18,09	33,71	59,80
10	6	140,0	5,00	20,0	17,97	33,21	59,91
6	7	131,9	2,03	25,9	35,37	38,07	67,82
9	8	100,0	5,00	20,0	22,92	42,92	63,02
3	9	108,1	7,97	14,1	26,78	42,29	61,08
16	10	120,0	5,00	20,0	20,02 ¹	33,49	55,96
13	11	120,0	5,00	10,0	17,43	31,38	55,70
7	12	108,1	7,97	25,9	20,38	36,60 ¹	66,80
1	13	108,1	2,03	14,1	24,66	44,29	69,57
12	14	120,0	10,00	20,0	28,80	39,39	73,24
4	15	131,9	7,97	14,1	30,70	44,40	69,79
14	16	120,0	5,00	30,0	21,58	36,92	71,94
8	17	131,9	7,97	25,9	36,12 ¹	40,35	53,15 ¹
11	18	120,0	0,00	20,0	21,15 ¹	38,19	50,15 ¹
2	19	131,9	2,03	14,1	30,02	35,14 ¹	59,25

*TFİ: Toplam flavonid içeriği (mg kateşin eşdeğeri/L), AA: Antioksidan aktivite ($\mu\text{mol Trolox}^{\circledR}$ eşdeğeri/L) ve TFMİ: Toplam fenolik madde içeriği (mg gallik asit eşdeğeri/L) ¹Bu veriler aykırı değerler olarak belirlenmiş ve optimizasyon sürecinde hariç tutulmuştur.

Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon sistemi ile elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlarda TFİ değerleri, 17,43 ile 45,01 mg KE/L arasında değişmiştir. En yüksek TFİ değeri, 108,1°C sıcaklık, %2,03 etanol konsantrasyonu ve 25,9 dakika süre ile gerçekleştirilen 2. denemede elde edilmiştir. Buna karşılık, en düşük TFİ değeri, 120°C sıcaklık, %5 etanol konsantrasyonu ve 10 dakika süre ile gerçekleştirilen 11. denemede gözlenmiştir. Genel olarak, düşük etanol konsantrasyonu ve orta süre kombinasyonlarının TFİ üzerinde olumlu bir etkisi olduğu görülmektedir. Ekstraktların AA değerleri, 31,38 ile 52,44 $\mu\text{mol TE/L}$ arasında değişim göstermiştir. En yüksek AA değeri, 108,1°C sıcaklık, %2,03 etanol konsantrasyonu ve 25,9 dakika süre ile gerçekleştirilen 2. denemede elde edilmiştir. En düşük AA değeri ise, 120°C sıcaklık, %5 etanol konsantrasyonu ve 10 dakika süre ile gerçekleştirilen 11. denemede gözlenmiştir. Bu bulgular, düşük etanol konsantrasyonu ve orta süre kombinasyonlarının AA üzerinde olumlu bir etkisi olduğuna işaret etmektedir. Son olarak, ekstraktların TFMİ değerleri

50,15 ile 77,65 mg GAE/L arasında değişirken, en yüksek TFMİ değeri, 108,1°C sıcaklık, %2,03 etanol konsantrasyonu ve 25,9 dakika süre ile gerçekleştirilen 2. denemede elde edilmiştir. Buna karşılık, en düşük TFMİ değeri, 120°C sıcaklık, %0 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika süre ile gerçekleştirilen 18. denemede gözlenmiştir. Genel olarak, düşük etanol konsantrasyonu ve orta süre kombinasyonlarının TFMİ üzerinde olumlu bir etkisi olduğu anlaşılmaktadır. Bu bulgular, bağımsız değişken olarak seçilen sıcaklık, etanol konsantrasyonu ve süre faktörlerinin, her üç yanıt değişkeni üzere etkili olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle düşük etanol konsantrasyonu ve orta süre kombinasyonları, ASE sistemiyle elde edilen ekstraktların TFİ, AA ve TFMİ değerlerini arttırmıştır.

Çizelge 4.8’de sunulan koşullarda gerçekleştirilen denemelerden elde edilen analiz bulguları, her bir “yanıt” için ayrı ayrı optimizasyon programıyla değerlendirilmiştir. Çizelge 4.9’da hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yöntemiyle elma kabuğu ekstraktlarının TFİ için oluşturulan kuadratik modelin varyans analizi bulguları ve tasarım ölçütleri sunulmuştur. Kuadratik modelin R² (0,985) değeri, ekstraktların toplam flavonoid içeriğini %98,5 oranında açıklama oranı gibi oldukça yüksek bir değerdedir. Bu, modelin deneysel verilerle iyi bir uyum sağladığını göstermektedir. Düzeltilmiş R² (0,963) değeri ise, kuadratik modelin açıklayıcılığının, faktör sayısı dikkate alındığında da yüksek olduğuna işaret etmektedir. Tahmini R² (0,796) değeri, modelin tahmin gücünün, açıklayıcılığa göre biraz daha düşük kaldığını gösterir. Ancak bu değer, modelin tahmin yapma yeteneğinin kabul edilebilir düzeyde olduğuna işaret etmektedir. Model uyumsuzluğunun istatistiksel olarak anlamlı olmaması (p>0,05), modelin deneysel verilerle uyumlu olduğunu ifade eder.

Çizelge 4.9. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının toplam flavonoid içerikleri için kuadratik modele ait varyans analiz bulguları ile tasarım ölçütleri

Kuadratik Model		P Değerleri	
R ²	0,985	A (Sıcaklık, °C)	0,0182
Düzeltilmiş R ²	0,963	B (Etanol, hacmen %)	<0,0001
Tahmini R ²	0,796	C (Süre, min)	0,422
		Model uyumsuzluğu	0,1761
Kuadratik Denklem Katsayıları (Kodlanmış Faktörler)		Kuadratik Denklem Katsayıları (Gerçek Faktörler)	
TFİ*=-18,69-1,42A-6,14B+0,38C-0,32AB-3,71AC-6,65BC+0,78A ² +7,56B ² +0,45C ²		TFİ=-20,51-0,36×Sıcaklık-2,02×ETOH+7,73×Süre-9,00×10 ⁻³ ×Sıcaklık×ETOH-0,05×Sıcaklık×Süre-0,38×ETOH×Süre+5,54×10 ⁻³ ×Sıcaklık ² +0,85×ETOH ² +0,01×Süre	

*TFİ: Toplam flavonoid içeriği (mg kateşin eşdeğeri/L)

Faktörlerin etkisi değerlendirilecek olursa, çözücüdeki etanol oranı, ekstraktların TFİ değerleri üzerinde en güçlü ve anlamlı etkiye sahip bulunmuştur ($p < 0,0001$). Ekstraksiyon sıcaklığının etkisi de anlamlı bulunmuş ($p = 0,0182$) ancak, etkisi çözücüdeki etanol oranından daha düşük olmuştur. Buna karşın, ekstraksiyon süresinin etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p = 0,422$). Model, ekstraktların TFİ değerlerini sıcaklık, etanol hacmi ve süre gibi faktörlerin doğrusal, etkileşim ve karesel etkilerini içermek suretiyle açıklamaktadır. Ekstraksiyon sıcaklığı ile çözücüdeki etanol oranı arasındaki etkileşim, ekstraktların TFİ değerleri üzerinde negatif bir etkiye sahip iken, sıcaklığın süre ile etkileşimi de değerleri negatif olarak etkilemiştir. Buna ek olarak en güçlü negatif etki çözücüdeki etanol oranı ile süre arasındaki etkileşim için belirlenmiştir. Bu, deneme deseninde bağımsız değişken olarak seçilen faktörler için belirlenen aralıklar göz önüne alındığında ekstraksiyon süresindeki değişimin, ekstraktların TFİ değerleri üzerinde önemli bir etkisi olmadığını göstermektedir. Optimizasyon çalışmasında kullanılan kuadratik modelde ekstraktların maksimum TFİ değerlerini 25 farklı faktör kombinasyonu vermiştir. Ekstraksiyon için optimum koşul $108,64^{\circ}\text{C}$ ekstraksiyon sıcaklığı, %2,03 çözücüdeki etanol oranı ve 25,92 dakika ekstraksiyon süresi olmuştur.

Çizelge 4.10'da hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yöntemiyle elma kabuğu ekstraktlarının AA değerleri için oluşturulan kuadratik modelin varyans analizi bulguları ve tasarım ölçütleri sunulmuştur. R^2 (0,9968) değeri, kuadratik modelin ekstraktların AA değerlerini açıklama oranının oldukça yüksek olduğunu ve modelin deneysel verilerle mükemmel bir uyum sağladığını göstermektedir. Düzeltilmiş R^2 (0,9926) değeri, modelin açıklayıcılığının, faktör sayısı dikkate alındığında da çok yüksek olduğuna işaret etmektedir. Tahmini R^2 (0,9563) değeri ise, modelin tahmin gücünün de oldukça yüksek olduğunu ve modelin tahmin yapma yeteneğinin güvenilir olduğunu göstermektedir. Model uyumsuzluğu değerinin ($p = 0,0578$) istatistiksel olarak anlamlı olmaması, modelin deneysel verilerle uyumlu olduğunu ifade eder.

Çizelge 4.10. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri için kuadratik modele ait varyans analiz bulguları ile tasarım ölçütleri

Kuadratik Model		P Değerleri	
R ²	0,9968	A (Sıcaklık, °C)	<0,0001
Düzeltilmiş R ²	0,9926	B (Etanol, hacmen %)	0,1099
Tahmini R ²	0,9563	C (Süre, min)	<0,0001
		Model uyumsuzluğu	0,0578
Kuadratik Denklem Katsayıları (Kodlanmış Faktörler)		Kuadratik Denklem Katsayıları (Gerçek Faktörler)	
AA [#] =33,59×-3,07A + 0,27B + 1,36C + 8,16AB + 4,04AC - 7,09BC + 1,58A ² + 1,84B ² + 0,20C ²		AA=463,53-5,24×Sıcaklık-21,67×ETOH - 4,85×Süre+0,23×Sıcaklık×ETOH + 0,06×Sıcaklık×Süre-0,40×ETOH×Süre + 0,01×Sıcaklık ² + 0,21×ETOH ² + 5,54×10 ⁻³ Süre ²	

#AA: Antioksidan aktivite (µmol Trolox® eşdeğeri/L)

Ekstraktların AA değerleri üzerine ekstraksiyon sıcaklığı en güçlü ve anlamlı etkiye sahiptir (p<0,0001). Ekstraksiyon süresinin etkisi de oldukça anlamlı bulunmuş (p<0,0001). Çözücüdeki etanol oranının etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış (p=0,1099) ve bu da, etanol oranının ekstraktların AA değerleri üzerinde doğrudan bir etkisinin olmadığını veya çok sınırlı bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kuadratik model, ekstraktların AA değerlerini sıcaklık, çözücüdeki etanol oranı ve süre gibi faktörlerin doğrusal, etkileşim ve karesel etkileriyle açıklamaktadır. Ekstraksiyon sıcaklığının süre ve çözücüdeki etanol oranı arasındaki etkileşimler, ekstraktların AA değerleri üzerinde pozitif bir etkiye sahip olmuştur. Buna karşın, çözücüdeki etanol oranı ile ekstraksiyon süresi arasındaki etkileşim, AA değerleri üzerinde negatif bir etkiye sahip bulunmuştur. Kuadratik modelde, sıcaklık ile süre faktörlerinin karesel etkisi pozitif ve düşük bir etkiye sahip bulunurken, çözücüdeki etanol oranının karesel etkisi pozitif ve orta düzeyde belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmasında kullanılan kuadratik modelde ekstraktların maksimum AA değerini (52,49 µmol TE/L) 22 farklı faktör kombinasyonu vermiştir. Ekstraksiyon için optimum koşul 108,17°C ekstraksiyon sıcaklığı, %2,03 çözücüdeki etanol oranı ve 25,93 dakika ekstraksiyon süresi olmuştur.

Çizelge 4.11'de hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yöntemiyle elma kabuğu ekstraktlarının TFMİ değerleri için oluşturulan kuadratik modelin varyans analizi bulguları ve tasarım ölçütleri sunulmuştur. R² (0,9610) değeri, kuadratik modelin ekstraktların TFMİ değerlerini açıklama oranının oldukça yüksek olduğunu ve modelin deneysel verilerle mükemmel bir uyum sağladığını göstermektedir. Düzeltilmiş R² (0,9108) değeri, modelin açıklayıcılığının, faktör sayısı dikkate alındığında da yüksek

kalmaktadır. Tahmini R² (0,6734) değeri ise, modelin tahmin gücünün, açıklayıcılığına göre daha düşük olduğunu ve modelin tahmin yapma yeteneğinin sınırlı olduğunu göstermektedir. Model uyumsuzluğu (p=0,5191) istatistiksel olarak anlamlı değildir (p>0,05) ve bu, modelin deneysel verilerle uyumlu olduğunu ifade eder.

Çizelge 4.11. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri için kuadratik modele ait varyans analiz bulguları ile tasarım ölçütleri

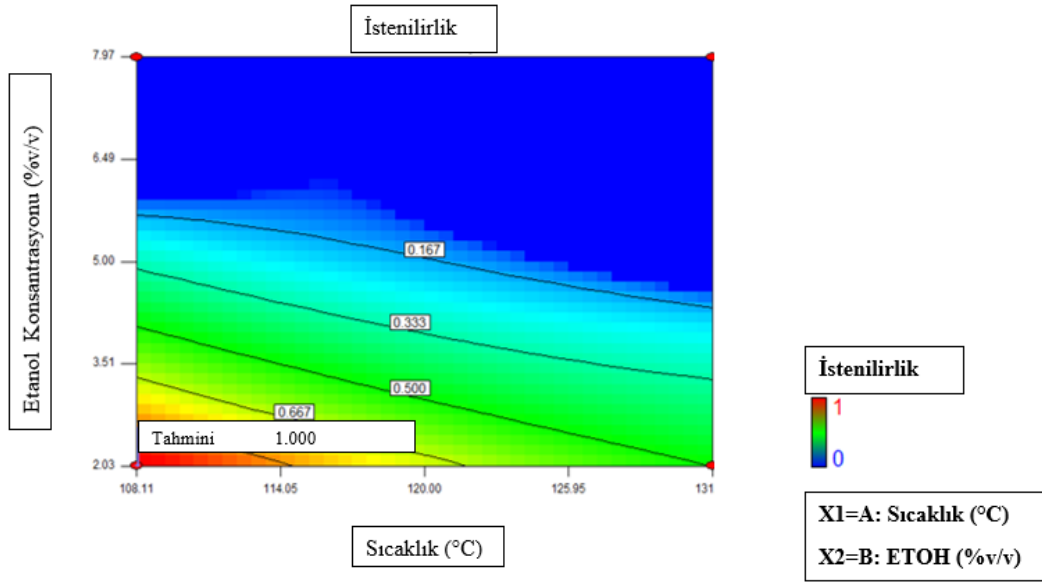
Kuadratik Model		P Değerleri	
R ²	0,9610	A (Sıcaklık, °C)	0,3246
Düzeltilmiş R ²	0,9108	B (Etanol, hacmen %)	0,5181
Tahmini R ²	0,6734	C (Süre, min)	0,0004
		Model uyumsuzluğu	0,5191
Kuadratik Denklem Katsayıları (Kodlanmış Faktörler)		Kuadratik Denklem Katsayıları (Gerçek Faktörler)	
TFMİ ^a =56,86-0,67A-0,53B+3,97C+4,54AB-0,09AC-0,80BC+1,83A ² +6,52B ² +2,67C ²		TFMİ=355,88-3,78×Sıcaklık-22,06×ETOH-1,97×Süre+0,13×Sıcaklık*ETOH-1,2910 ⁻³ ×Sıcaklık×Süre-0,05×ETOH×Süre + 0,01*Sıcaklık ² +0,74×ETOH ² +0,08×Süre ²	

^aTFMİ: Toplam fenolik madde içeriği (mg gallik asit eşdeğeri/L)

Ekstraktların TFMİ değerleri üzerine ekstraksiyon sıcaklığının etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,3246). Buna karşın ekstraksiyon süresinin etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (p=0,0004). Çözücüdeki etanol oranının etkisi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,5181). Kuadratik model, ekstraktların TFMİ değerlerini sıcaklık, çözücüdeki etanol oranı ve süre gibi faktörlerin doğrusal, etkileşim ve karesel etkileriyle açıklamaktadır. Ekstraksiyon sıcaklığı ile çözücüdeki etanol oranı arasındaki etkileşim, ekstraktların TFMİ değerleri üzerinde pozitif bir etkiye sahip iken sıcaklığın süre ile etkileşimi, çok düşük ve negatif bir etkiye sahip bulunmuştur. Çözücüdeki etanol oranı ile ekstraksiyon süresi arasındaki etkileşim, ekstraktların TFMİ değerleri üzerinde negatif bir etkiye sahip olmuştur. Kuadratik modelde, tüm faktörlerin karesel etkisi pozitif bulunmuş, sıcaklık ve süre faktörlerinin karesel etkisi düşük-orta düzeyde iken çözücüdeki etanol oranının karesel etkisi güçlü olarak belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmasında kullanılan kuadratik modelde ekstraktların maksimum TFMİ değerini (77,67 mg GAE/L) 22 farklı faktör kombinasyonu vermiştir. Ekstraksiyon için optimum koşul 108,60°C ekstraksiyon sıcaklığı, %2,03 çözücüdeki etanol oranı ve 25,68 dakika ekstraksiyon süresi olmuştur.

Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle merkezi karma tasarım kullanılarak elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü

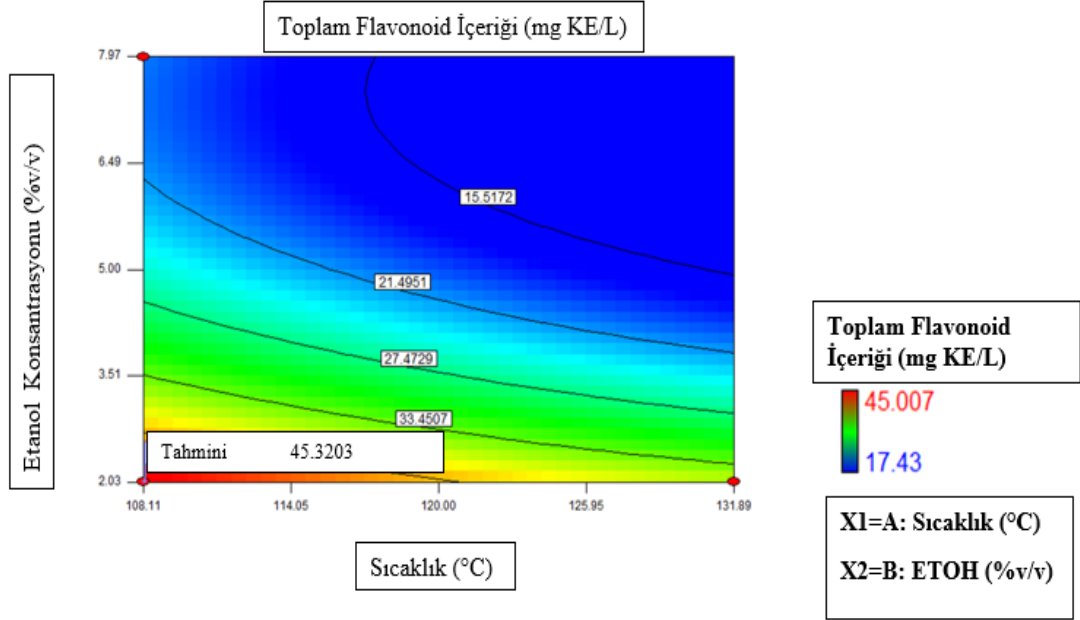
etanol oranı değişkenlerinin istenilirlik üzerindeki etkileri, yanıt-yüzey ve kontur eğrileri halinde Şekil 4.1’de gösterilmiştir. En yüksek istenilirlik değeri (1.000), yaklaşık 120°C ekstraksiyon sıcaklığında ve %5,00 etanol konsantrasyonu civarında elde edilmiştir. Bu bölge, optimum koşullara işaret etmektedir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve çözücü etanol oranının hem çok düşük hem de çok yüksek olduğu bölgelerde istenilirlik değeri azalmıştır (mavi alanlar). Özellikle, çözücü etanol oranının artmasıyla istenilirlik değerinde düşme dikkat çekmektedir. Bu bulgular, ekstraksiyon sürecinin verimliliğini artırmak için önemlidir.



Şekil 4.1. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin istenilirlik üzerindeki etkilerini gösteren yanıt-yüzey ve kontur eğrileri

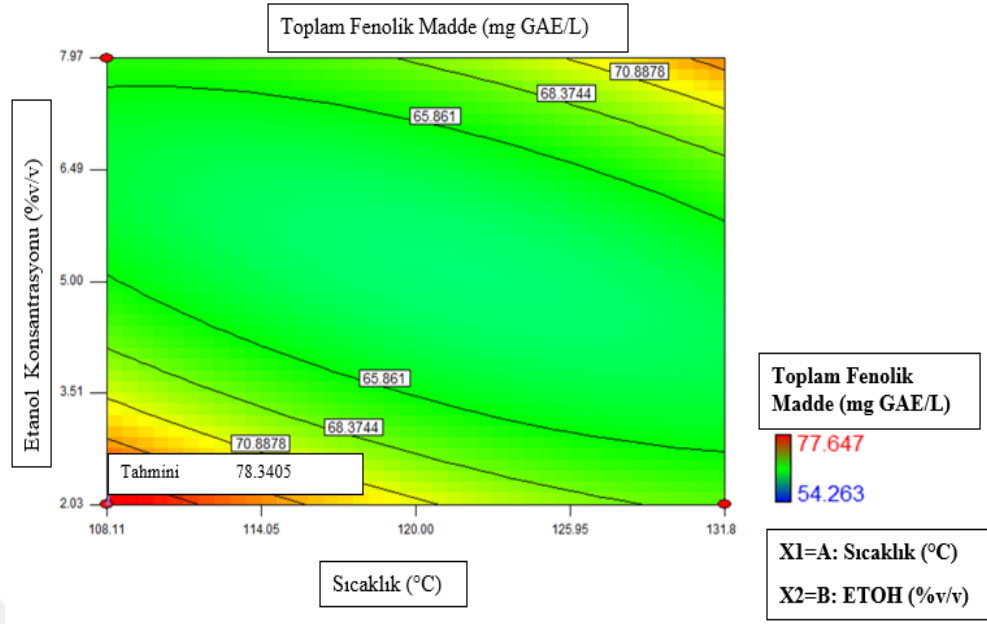
Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle merkezi karma tasarım kullanılarak elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların TFİ (mg KE/L) değerleri üzerindeki etkileri, yanıt-yüzey ve kontur eğrileri halinde Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Şekil üzerinde “Tahmini” olarak işaretlenmiş bölgede, yaklaşık 120°C ekstraksiyon sıcaklığı ve %2,03 çözücü etanol oranı civarında ekstraktlarda en yüksek TFİ değerine (45,32 mg KE/L) ulaşılmıştır. Sıcaklık ve etanol oranının arttığı bölgelerde ekstraktların flavonoid içeriği azalmıştır (mavi alanlar). Orta ekstraksiyon sıcaklığı ve düşük çözücü etanol oranı kombinasyonları (optimum bölge), ekstraktların TFİ değerlerini artırıcı bir etki

göstermektedir. Bu bulgular, ekstraktların TFMİ değerini maksimize etmek için sıcaklık ve etanol oranının nasıl optimize edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.



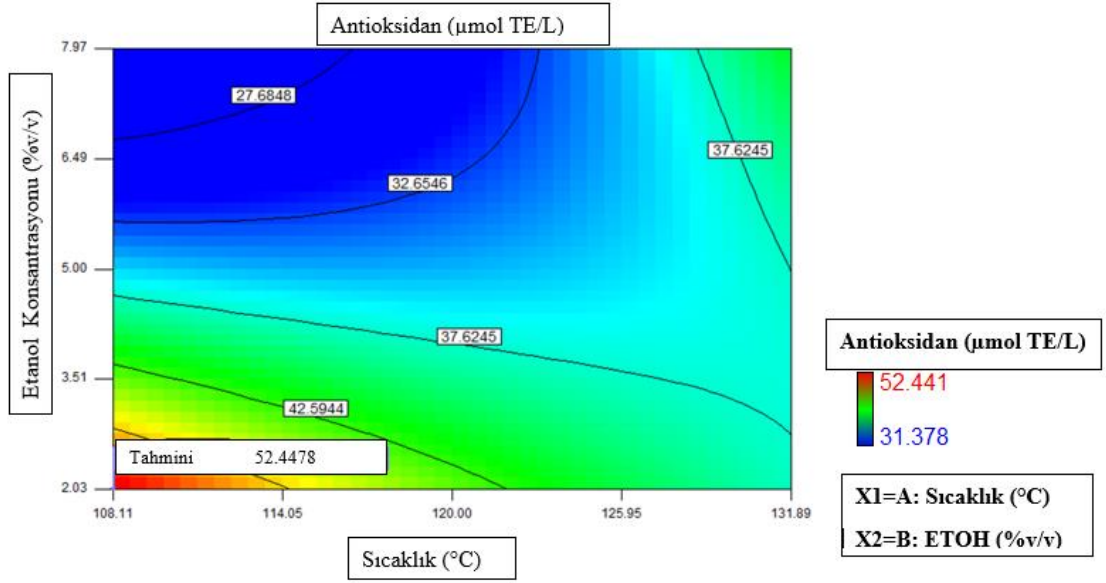
Şekil 4.2. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların toplam flavonoid içeriği üzerindeki etkilerini gösteren yanıt-yüzey ve kontur eğrileri

Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle merkezi karma tasarım kullanılarak elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların TFMİ değerleri (mg GAE/L) üzerindeki etkileri, yanıt-yüzey ve kontur eğrileri halinde Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Şekil üzerinde "Tahmini" olarak işaretlenmiş bölgede, yaklaşık 120°C ekstraksiyon sıcaklığı ve %2,03 çözücü etanol oranı civarında ekstraktlarda en yüksek TFMİ değerine (78,34 GAE/L) ulaşılmıştır. Sıcaklık ve etanol oranının arttığı bölgelerde ekstraktlarda TFMİ değerleri azalmıştır (mavi ve yeşil alanlar). Optimum bölge olarak orta sıcaklık ve düşük etanol oranı kombinasyonları, ekstraktların TFMİ değerlerini artırıcı bir etki göstermiştir. Bu bulgu, ekstraktların TFMİ değerini maksimize etmek için sıcaklık ve etanol oranının nasıl optimize edilmesi gerektiğini gösterir.



Şekil 4.3. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların toplam fenolik madde içeriği üzerindeki etkilerini gösteren yanıt-yüzey ve kontur eğrileri

Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle merkezi karma tasarım kullanılarak elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların antioksidan aktivite değerleri ($\mu\text{mol TE/L}$) üzerindeki etkileri, yanıt-yüzey ve kontur eğrileri halinde Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Şekil üzerinde “Tahmini” olarak işaretlenmiş bölgede, yaklaşık 120°C ekstraksiyon sıcaklığı ve %2,03 çözücü etanol oranı civarında en yüksek AA değerine ($52,45 \mu\text{mol TE/L}$) ulaşılmıştır. Sıcaklık ve etanol oranını arttığı bölgelerde ekstraktların AA azalmıştır (mavi alanlar). Optimum bölge olarak orta sıcaklık ve düşük etanol oranı kombinasyonları, ekstraktların AA değerini artırıcı bir etki göstermiştir. Bu bulgu, ekstraktların AA değerini maksimize etmek için sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin nasıl optimize edilmesi gerektiğine yardımcı olacak niteliktedir.








Şekil 4.4. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara ait farklı sıcaklık ve çözücü etanol oranı değişkenlerinin ekstraktların antioksidan aktivite değerleri üzerindeki etkilerini gösteren yanıt-yüzey ve kontur eğrileri




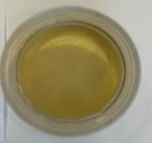








4.3.2. Elma Kabuğu Ekstraktlarının Renk Özelliklerine Ait Bulgular



Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu kullanılarak merkezi karma tasarım deseniyle gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının CIELAB renk değerleri ve görselleri Çizelge 4.12’de sunulmaktadır. Ekstraktların L* (açıklık) değerleri 23,09 ile 25,18 arasında değişmektedir. L* değerlerin artması rengin daha açık hale gelmesi anlamına gelir. En açık renk on birinci denemede (25,18) elde edilirken, 17. denemede (23,09), en koyu renkli ekstrakt olmuştur. Ekstraktların a* (kırmızılık-yeşillik eksen) renk değerleri genellikle negatif olup (-0,43 ile 0,10 arasında), ekstraktların yeşil ton ağırlıklı olduğunu göstermektedir. Ancak bazı denemelerde (örneğin, 15. ve 17. denemeler) pozitif a* değerleri kırmızımsı tonları işaret etmektedir. Ekstraktların b* (Sarı-Mavi Eksen) değerleri ise 1,65 ile 2,63 arasında değişmekte olup, ekstraktların sarı ton ağırlıklı olduğunu göstermektedir. Hue açısı (°) değerleri genellikle 92° ile 101° arasında değişmekte, bu da yeşile yakın sarı tonları ifade etmektedir. Ancak 15. ve 17. denemelerde Hue açısı 266° civarında olup, bu durum mavi tonlara kaymayı göstermektedir. Ekstraktların kroma (renk yoğunluğu) değerleri 1,65 ile 2,66 arasında değişmektedir. Daha yüksek kroma değerleri, daha yoğun renkleri ifade

etmektedir. Kroma skalası, genel olarak şu şekilde tanımlanabilir: 0 (Sıfır kroma): Renk tamamen gri veya nötrdür, hiçbir doygunluk yoktur (renksizdir); Düşük kroma değerleri (1-3): Renkler çok az doygundur, soluk, pastel veya nötr tonlar bu aralıkta yer alır; Orta kroma değerleri (4-6): Renkler daha belirgin hale gelir, ancak hâlâ aşırı canlı değildir, bu aralıkta renkler daha dengeli ve doğal görünür; Yüksek kroma değerleri (7 ve üzeri): Renkler çok canlı, parlak ve doygundur, saf renkler (örneğin, kırmızı, mavi, sarı gibi) bu aralıkta yer alır. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminde en yüksek kroma değeri birinci denemede (2,66) elde edilmiş olup, en yoğun renkli ekstraktı ifade etmektedir. Özetle, ekstraktların kroma değerinin 1 ile 3 arasında olması, rengin düşük doygunlukta olduğunu ve çok parlak veya canlı bir renk olmadığını ifade eder. Bu bulgular, hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilen ekstraktların renk özelliklerinin, deneme koşullarına bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Renk parametreleri, ekstraktların görsel kalitesini değerlendirmek ve optimize etmek için önemli bir kriter sunmaktadır.

Çizelge 4.12. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yönteminin merkezi karma tasarım deseniyle optimizasyon çalışmasında elma kabuğu ekstraktlarının CIELAB renk değerleri ile görselleri

Standart Sıra No	Deneme No	L*	a*	b*	Hue açısı (°)	Chroma	Görsel
15	1	24,27	-0,36	2,63	97,79	2,66	
5	2	23,43	-0,07	1,99	92,01	1,99	
19	3	24,54	-0,43	2,26	100,77	2,30	
18	4	24,91	-0,32	2,13	98,54	2,15	
17	5	24,86	-0,38	2,22	99,71	2,25	

10	6	24,83	-0,28	2,24	97,13	2,26	
6	7	23,34	-0,16	2,17	94,22	2,18	
9	8	24,62	-0,2	2,56	94,47	2,57	
3	9	23,85	-0,09	2,1	92,45	2,10	
16	10	25,09	-0,35	2,08	99,55	2,11	
13	11	25,18	-0,4	1,96	101,53	2,00	
7	12	24,43	-0,24	2,24	96,12	2,25	
1	13	23,35	-0,1	1,68	93,41	1,68	
12	14	24,53	-0,11	2,28	92,76	2,28	
4	15	23,72	0,1	1,78	266,78	1,78	
14	16	24,71	-0,11	2,51	92,51	2,51	
8	17	23,09	0,09	1,65	266,88	1,65	

11	18	23,39	-0,39	1,99	101,09	2,03	
2	19	24,02	-0,08	1,99	92,30	1,99	

4.3.3. Elma Kabuğu Ekstraktlarının °Brix ve pH Değerlerine Ait Bulgular

Çizelge 4.13'te hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yöntemiyle merkezi karma tasarımıdaki koşullarda elde edilen elma kabuğu ekstraktlarının °Brix ve pH değerleri sunulmuştur. Ekstraktların °Brix değerleri, ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak 1,00 ile 2,50 arasında değişiklik göstermiştir. Ekstraktlara ait en yüksek °Brix değeri (%2,50), 100,0°C sıcaklıkta, %5,00 çözücü etanol oranı ve 20,0 dakikalık ekstraksiyon süresiyle elde edilmiştir. Buna karşılık, en düşük °Brix değeri (1,00), 131,9°C sıcaklık, %2,03 etanol oranı ve 14,1 dakikalık ekstraksiyon süresiyle elde edilmiştir. Ekstraktların pH değerleri ise 5,20 ile 7,07 arasında değişmiştir. En yüksek pH değeri (7,07), 120,0°C sıcaklıkta %5,00 çözücü etanol oranı ve 20,0 dakikalık ekstraksiyon süresiyle elde edilirken, en düşük pH değeri (5,20), 131,9°C sıcaklıkta %2,03 çözücü etanol oranı ve 25,9 dakikalık ekstraksiyon süresiyle elde edilmiştir. Bu bulgular, ekstraksiyon sıcaklığı, çözücü etanol oranı ve ekstraksiyon süresi gibi faktörlerin ekstraktların °Brix ve pH değerleri üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonunda ekstraktlarının °Brix değerleri açısından en yüksek sonuç, düşük sıcaklık (100,0°C) ve orta düzeyde çözücü etanol oranı (%5,0) ile elde edilmiştir. Bu bulgular, hızlandırılmış solvent ekstraksiyon koşullarının ekstraktların fizikokimyasal özelliklerini optimize etmek için dikkatle ayarlanması gerektiğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.13. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ile merkezi karma tasarımda belirtilen koşullarda elde edilen elma kabuğu ekstraktlarının °Brix ve pH özelliklerine ait bulgular (ortalama ± standart sapma)

STD	Örnek No	Faktör 1 Sıcaklık (°C)	Faktör 2 Etanol (% v/v)	Faktör 3 Süre (dakika)	°Brix (% kuru madde)	pH
15	1	120,0	5,00	20,0	1,90±0,00	7,07±0,14
5	2	108,1	2,03	25,9	1,60±0,00	6,39±0,00
19	3	120,0	5,00	20,0	1,80±0,00	6,58±0,00
18	4	120,0	5,00	20,0	1,80±0,00	6,48±0,21
17	5	120,0	5,00	20,0	1,90±0,00	6,52±0,00

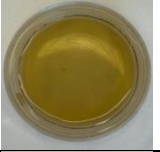


10	6	140,0	5,00	20,0	1,60±0,00	6,34±0,00
6	7	131,9	2,03	25,9	1,20±0,00	5,20±0,02
9	8	100,0	5,00	20,0	2,50±0,00	6,94±0,03
3	9	108,1	7,97	14,1	1,10±0,00	6,22±0,01
16	10	120,0	5,00	20,0	1,90±0,00	6,44±0,01
13	11	120,0	5,00	10,0	1,60±0,00	6,36±0,02
7	12	108,1	7,97	25,9	2,40±0,00	6,50±0,00
1	13	108,1	2,03	14,1	1,20±0,00	5,94±0,00
12	14	120,0	10,00	20,0	2,40±0,00	6,61±0,00
4	15	131,9	7,97	14,1	1,20±0,00	6,62±0,01
14	16	120,0	5,00	30,0	2,20±0,00	6,53±0,02
8	17	131,9	7,97	25,9	1,60±0,00	5,70±0,00
11	18	120,0	0,00	20,0	1,40±0,00	6,15±0,00
2	19	131,9	2,03	14,1	1,00±0,00	5,63±0,01

4.4. Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırılması

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen elma kabuğu ekstraktlarının CIELAB renk değerleri ve görselleri Çizelge 4.14'te karşılaştırmaktadır. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonunda, en düşük L* (23,43) değeri ile diğer yöntemlere kıyasla daha koyu renkte ekstrakt elde edilmiştir. Bu yöntemde ekstraktın a* değeri neredeyse sıfıra yakın olup, kırmızı-yeşil ekseninde nötr bir renk göstermektedir. Ayrıca, b* değeri (1,99) ve düşük chroma (1,99) değerleriyle ekstrakt daha az doymuş ve soluk bir renk profiline sahip olmuştur. Ultrases destekli ekstraksiyonda, ekstraktın L* değeri (23,84) hızlandırılmış solvent ekstraksiyonuna benzer bir koyuluk göstermiş, ancak a* ve b* değerleri, ekstraktın daha belirgin bir renk doymuşluğuna, hue açısı (248,58°) ve chroma (3,43) değerleri ise ekstraktın daha canlı ve doymuş bir renk profiline sahip olduğunu göstermektedir. Geleneksel ekstraksiyonda elde edilen ekstrakt ise en yüksek L* değeriyle (25,28) en açık renk olacak şekilde üretilmiştir. Ayrıca, a* ve b* renk değerleri ile ultrases destekli yöntemle benzer bir renk doymuşluğu sağlamış, ancak hue açısı (262,65°) ve chroma (3,49) değerleriyle daha nötr ve dengeli bir renk profili sunmuştur. Genel olarak, ultrases destekli ve geleneksel yöntemler daha doymuş ve canlı renkler üretirken, hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu daha koyu ve soluk bir renk profili ortaya koymuştur. Çizelgeki görseller, elde edilen ekstraktlar arasında görsel olarak da belirgin farklılıkları ortaya koymaktadır. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonuyla elde edilen ekstrakt, diğer yöntemlere kıyasla daha koyu ve mat bir görünüme sahiptir. Ultrases destekli ekstraksiyonla elde edilen ekstrakt, daha açık ve homojen bir renge sahipken, geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstrakt, en açık ve parlak görünüme sahiptir. Bu durum, CIELAB renk değerleriyle uyumlu olarak, geleneksel

yöntemin daha yüksek L* ve chroma değerleriyle daha canlı ve açık bir renk profiline sahip ekstraktlar üretebileceğini göstermektedir. Bulgular, ekstraksiyon yöntemlerinin ekstraktların renk özellikleri üzerinde önemli bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.14. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların CIELAB renk değerlerinin karşılaştırılması ve görselleri

Ekstraksiyon Yöntemi	L*	a*	b*	Hue açısı (°)	Chroma	Görsel
Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu ^a	23,43	-0,07	1,99	92,01	1,99	
Ultrases Destekli Ekstraksiyon ^b	23,84	1,25	3,19	248,58	3,43	
Geleneksel Ekstraksiyon ^c	25,28	0,45	3,46	262,65	3,49	

^aHızlandırılmış solvent ekstraksiyonu sistemindeki optimum koşula ait deneme; ^bUltrases destekli ekstraksiyona ait deneme (Park vd. (2022) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır.) ve ^cGeleneksel ekstraksiyon yöntemine ait deneme (Lee vd. (2018) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır.)

Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların TFMİ (mg GAE/g elma kabuğu), AA (µmol TE/g elma kabuğu) ve TFİ (mg KE/g elma kabuğu) değerleri Çizelge 4.15'te karşılaştırılmıştır. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyon yöntemi, 13,82 mg GAE/g değeri ile yüksek bir TFMİ sunarken, bu değer geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen 14,22 100/g ile istatistiksel olarak benzer bulunmuştur (p>0,05). Ultrases destekli ekstraksiyon ise 1,80 mg GAE/g ile en düşük TFMİ değerine sahiptir. AA açısından, hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (8,95 µmol TE/g) ve ultrases destekli ekstraksiyon (8,72 µmol TE/g) yöntemleri arasında istatistiksel bir fark bulunmazken (p>0,05), geleneksel ekstraksiyon yöntemi (4,64 µmol TE/g) bu parametrede daha düşük bir performans göstermiştir. TFİ açısından ise ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi 10,68 mg KE/g ile en yüksek değeri sunarken, hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (6,58 mg KE/g) ve geleneksel ekstraksiyon (5,64 mg KE/g) yöntemleri daha düşük değerler göstermiştir. Bu bulgular, ekstraksiyon yöntemlerinin ekstraksiyonların TFMİ, TFİ ve AA değerleri üzerinde önemli bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Farklı ekstraksiyon yöntemleri, elma kabuğundan elde edilen ekstraktların TFMİ, TFİ ve AA değerleri üzerinde belirgin farklılıklar yaratmıştır. Hızlandırılmış

solvent ekstraksiyonu, ekstraktların TFMİ ve AA değerleri açısından etkili bir yöntem olarak öne çıkarken, ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi TFİ değeri bakımından en yüksek verimi sağlamıştır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ise ekstraktların TFMİ değeri açısından yüksek bir performans göstermesine rağmen, AA ve TFİ değerleri bakımından diğer yöntemlere kıyasla daha düşük sonuçlar vermiştir. Bu bulgular, ekstraksiyon yönteminin seçiminin, hedeflenen bileşenlerin verimliliği ve biyolojik aktivitesi açısından kritik bir öneme sahip olduğunu göstermektedir. Bu bağlamda farklı ekstraksiyon koşullarında elde edilen elma kabuğu ekstraktlarının gıda takviyesi ve farmakolojik ilaçların geliştirilmesinde veya yeniden formüle edilmesinde girdi olarak kullanımının araştırılması literatüre katkı sağlayabilecek niteliktedir.

Çizelge 4.15. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, antioksidan aktivitesi ve toplam flavonoid içeriği değerlerinin karşılaştırılması

Ekstraksiyon Yöntemi	TFMİ*	AA	TFİ
Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu	13,82±0,78 ^{A**}	8,95±0,15 ^A	6,58±0,15 ^B
Ultrases Destekli Ekstraksiyon ^a	1,80±0,04 ^B	8,72±0,34 ^A	10,68±0,53 ^A
Geleneksel Ekstraksiyon ^b	14,22±0,72 ^A	4,64±0,16 ^B	5,64±0,30 ^C

*TFİ: Toplam flavonoid içeriği (mg kateşin eşdeğeri/g elma kabuğu), AA: Antioksidan aktivite (μ mol Trolox® eşdeğeri/ g elma kabuğu) ve TFMİ: Toplam fenolik madde içeriği (mg gallik asit eşdeğeri/g elma kabuğu), **Aynı sütun içindeki farklı üstel harfler ilgili parametre için örnekler arasında istatistiksel farklılığı belirtmektedir (p<0,05). ^aPark vd. (2022) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır. ^bLee vd. (2018) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır.

Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin ekstraksiyon verimi, ekstraktların kuru madde içeriği ($^{\circ}$ Brix) ve pH değeri üzerindeki etkileri Çizelge 4.16'da karşılaştırılmıştır. Ekstraksiyon verimi açısından, ultrases destekli ekstraksiyon (%3,62) ve geleneksel ekstraksiyon (%3,59) arasında istatistiksel açıdan bir fark bulunmazken (p>0,05), bu yöntemler hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yöntemine (%0,91) kıyasla anlamlı derecede daha yüksek verim sağlamıştır (p<0,05). Ekstraktların kuru madde içeriği bakımından, ultrases destekli ekstraksiyon (19,91 $^{\circ}$ Brix) en yüksek değeri sunarken, geleneksel ekstraksiyon (19,66 $^{\circ}$ Brix) benzer bir performans göstermiştir (p>0,05). Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilen ekstrakt ise 1,55 $^{\circ}$ Brix ile en düşük kuru madde içeriğine sahip olmuştur. Ekstraktların pH değerleri açısından, hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (6,40) en yüksek pH değerini sunarken, ultrases destekli ekstraksiyon (5,47) ve geleneksel ekstraksiyon (5,44) yöntemleri arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark bulunmamıştır (p>0,05). Bu bulgular, farklı

ekstraksiyon yöntemlerinin, ekstraksiyon verimi, ekstraktların kuru madde içeriği ve pH değerleri üzerinde belirgin etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Ultrases destekli ve geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde, ekstraksiyon verimi ve ekstraktın kuru madde içeriği açısından diğer yönteme kıyasla daha yüksek sonuçlar elde etmiştir. Bulgular, ekstraksiyon yönteminin seçiminin, elde edilen ekstraktın fizikokimyasal özelliklerini önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.16. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimi (%), kuru madde içeriği (°Brix) ve pH değeri üzerine etkisi

Ekstraksiyon Yöntemi	Verim (%)	°Brix	pH
Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu	0,91±0,00 ^{B*}	1,55±0,07 ^B	6,40±0,01 ^A
Ultrases Destekli Ekstraksiyon ^a	3,62±0,03 ^A	19,91±0,01 ^A	5,47±0,05 ^B
Geleneksel Ekstraksiyon ^b	3,59±0,05 ^A	19,66±0,23 ^A	5,44±0,05 ^B

*Aynı sütun içindeki farklı üstel harfler ilgili parametre için örnekler arasında istatistiksel farklılığı belirtmektedir (p<0,05). ^aPark vd. (2022) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır. ^bLee vd., (2018) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır.

Ekstraktların CIELAB renk değerleri (L*, a*, b*) üzerine farklı ekstraksiyon yöntemlerinin etkileri Çizelge 4.17’de karşılaştırılmıştır. Ekstraktların L* değeri açısından, geleneksel ekstraksiyon (25,27) en yüksek değeri sunarken, ultrases destekli (23,84) ve hızlandırılmış solvent ekstraksiyon (23,14) yöntemleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır (p>0,05). Ekstraktların a* değeri bakımından, ultrases destekli ekstraksiyon (1,25) en yüksek kırmızılık değerine sahipken, geleneksel (0,44) ve hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu yöntemleri (0,07) daha düşük değerler göstermiştir. Ekstraktların b* değeri açısından ise geleneksel ekstraksiyon (3,45) en yüksek değeri sunarken, ultrases destekli (3,19) ve hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (2,05) yöntemleri daha düşük değerler göstermiştir. Bu bulgular, ekstraksiyon yöntemlerinin ekstraktların renk özellikleri üzerinde önemli farklılıklar yarattığını ortaya koymaktadır. Geleneksel ekstraksiyon, ekstraktların açıklık ve sarılık değerleri açısından en yüksek sonuçları verirken, ultrases destekli ekstraksiyon kırmızılık değeri bakımından en yüksek performansı sergilemiştir. Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ise tüm renk parametrelerinde diğer yöntemlere kıyasla daha düşük değerler göstermiştir. Bulgular, ekstraksiyon yönteminin ekstraktların görsel özelliklerini etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.17. Farklı ekstraksiyon yöntemleriyle optimum koşullarda elde edilen ekstraktların CIELAB renk değerleri üzerine etkisi

Ekstraksiyon Yöntemi	L*	a*	b*
Hızlandırılmış Solvent Ekstraksiyonu	23,14±0,41 ^{B#}	0,07±0,20 ^C	2,05±0,08 ^C
Ultrases Destekli Ekstraksiyon ^a	23,84 ±0,80 ^B	1,25±0,02 ^A	3,19 ±0,14 ^B
Geleneksel Ekstraksiyon ^b	25,27±0,19 ^A	0,44±0,05 ^B	3,45±0,08 ^A

#Aynı sütun içindeki farklı üstel harfler ilgili parametre için örnekler arasında istatistiksel farklılığı belirtmektedir (p<0,05). ^aPark vd. (2022) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır. ^bLee vd., (2018) kaynağındaki yöntem kullanılmıştır.

Fenolik bileşikler, flavonoidleri de içeren geniş bir polifenol sınıfıdır. Fenolik bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grubu taşıyan aromatik bir halka içerir ve basit fenolik moleküllerden yüksek polimerize bileşiklere kadar değişir ve genellikle mono- ve polisakkaritlerle konjugatlar veya esterler gibi işlevsel türevler olarak bulunur (Afanasev vd., 1989). Hidroksibenzoik asitler (örneğin gallik asit) ve hidroksisinnamik asitler (örneğin kafeik asit) flavonoid olmayan fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşikler, bitkilerde pentoz fosfat, şikimat ve fenilpropanoid yollarının türevleri olan ikincil metabolitlerdir ve bu yollar, fenolik bileşiklerin temel yapı taşlarını üretir ve bu bileşikler daha sonra çeşitli fenolik türevlerin sentezinde kullanılır (Gan vd., 2019). Fenolik bileşikler, bitkilerin büyüme düzenleyicileri olarak görev yapabilir ve patojenlere karşı savunmada önemli bir rol oynar. Antimikrobiyal ve antifungal özellikleri sayesinde bitkilerin enfeksiyonlara karşı korunmasına yardımcı olurlar. Ayrıca, fenolik bileşikler, meyve ve sebzelerin renk, tat, aroma ve büzücü özelliklerine (örneğin tanenler nedeniyle) katkıda bulunur. Örneğin, antosiyaninler meyve ve sebzelerde kırmızı, mavi ve mor renkleri oluştururken, tanenler buruk bir tat sağlar (Alasalvar vd., 2001).

Antioksidanlar, serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize eden biyolojik moleküllerdir. Serbest radikaller, metabolizma sırasında oluşan ve hücrelere zarar verebilen toksik reaktif moleküllerdir. Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücre hasarını önler, yaşlanma sürecini geciktirir, bağışıklık sistemini güçlendirir ve ayrıca bazı kronik hastalıkların riskini azaltmada önemli bir rol oynar (Shinde vd., 2012). Gıdalarda bulunan antioksidanlar, karmaşık bir matriks içinde yer almakta olup, bu matriksin antioksidan aktivite üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemekle birlikte, antioksidanlar arasında antagonist veya sinerjik etkiler olabileceği düşünülmektedir (Vrhovsek vd., 2004).

Wang vd. (2018) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, elma et ve kabuk kısımlarına uygulanan ultrasonikasyon enerjisinin (0–26,8 kJ/kg) artması, ekstraktların °Brix değerinde 1,25 kat düzeyinde istatistiksel açıdan önemsiz bir artışa neden olurken kateşin içeriğinde ise daha belirgin bir artış (1,58 kat) sağlamıştır. En önemli artış (2,70 kat) kırmızı elmanın kabuk dokusunda gözlemlenirken, ultrasonikasyonla muamelenin son °Brix değeri üzerinde hiçbir etkisi olmadığı bildirilmiştir. Ultrasonikasyon gücünün °Brix üzerindeki etkilerinin önemsiz olduğu bildirilmiş olup bu sonuçlar çalışmamızda saptanan bulgular ile uyumludur.

İspanyol elma çeşidi olan *Verde doncella*'nın kabuğu, posası ve suyunun polifenolik profili ve antioksidan aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada çalışmada (Krawitzky vd., 2014), dünya çapında yetiştirilen *Red Delicious* elma çeşidinin fenolik profiliyle karşılaştırmışlardır. *Red Delicious* cinsi elma kabuğunda iki kat daha yüksek bir TFMİ değeri (12,7 mg GAE/g km) bildirilmiştir. Elma kabuğu antioksidan aktivitesinde önemli farklılıklar bulunduğu, *Red Delicious* kabuk özütü, *Verde doncella* (52 µmol TE) ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha fazla AA değerine (143 µmol TE) sahip olmuş ve bu bulgu her iki çeşitte bulunan TFMİ değerleriyle tutarlı rapor edilmiştir. Aksine, her iki elma çeşidine ait elma suyundaki AA değeri (6,6 µmol TE) istatistiki açıdan benzer bulunmuştur.

UDE yöntemiyle yapılan bir çalışmada, Park vd. (2022) Ruby S elma kabuklarından maksimum ekstraksiyon veriminin 30°C'de 15 dakikalık ekstraksiyon süresi ve %50 etanol konsantrasyonuyla elde edildiğini rapor etmiştir. Buna karşılık, minimum ekstraksiyon verimi, 20°C'de 30 dakikalık ekstraksiyon süresi ve %90 etanol konsantrasyonunda gözlenmiştir. UDE yöntemiyle %0-100 etanol kullanılarak elde edilen bitki ekstraktlarının ekstraksiyon veriminin %3,82 ile %27,62 arasında değiştiği, ancak %100 etanol kullanıldığında ekstraksiyon veriminin %3,82'ye düştüğü tespit edilmiştir. Çalışmada, ekstraksiyon sıcaklığının artması ve ekstraksiyon süresinin kılmasının ekstraksiyon verimini artırdığı, ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca, etanol konsantrasyonu düşürüldüğünde ekstraksiyon veriminin önemli ölçüde arttığı (p<0,001) belirlenmiştir. Bu nedenle, yanıt yüzey modeli analizinde, ekstraksiyon verimi üzerinde doğrusal etkiye sahip tek faktörün etanol konsantrasyonu olduğu ve bu faktörün aynı zamanda en önemli değişken olacağı öngörülmüştür. Bu tez çalışmasında da, ASE sistemiyle gerçekleştirilen optimizasyon çalışmasında ekstraktların TFMİ, TFI ve AA değerleri çözücüdeki en yüksek etanol oranında değil, hacmen %2,03 etanol içeren çözelti ile elde edilmiştir.

Çözücü olarak su kullanılarak elma posasından fenolik bileşiklerin UDE yöntemine ait optimizasyonun gerçekleştirildiği bir çalışmada Egües vd. (2021), 90°C’de %50 ultrason genliğinde 20 dakikalık ekstraksiyon süresi koşullarında elde edilen ekstraktlarda maksimum fenolik bileşik içeriği saptanmıştır. Ancak, bu koşullarda ekstrakte edilen numunelerde DPPH yöntemiyle ölçülen antioksidan kapasitenin azaldığı rapor edilmiştir. Ekstraktların TFMİ 2,88 ila 3,61 mg GAE/g arasında değişmiş, TFİ değerleri ise 1,60 ila 2,37 mg KE/g arasında belirlenmiştir. Elma posasına ait antioksidan kapasite değerleri de 0,92 ila 1,39 mg TE/g arasında değişmiştir. Yüksek ekstraksiyon sıcaklıklarında polifenolik ve flavonoid içeriğinin daha yüksek olduğu gözlemlenirken, buna karşılık DPPH yöntemiyle ölçülen antioksidan kapasitenin azaldığı belirtilmiştir. En yüksek antioksidan kapasitenin ise düşük sıcaklık ve kısa ekstraksiyon sürelerinde elde edildiği rapor edilmiştir. Bu çalışmada da hem laboratuvar ölçekli KASE sistemde hem de ASE sistemiyle elde edilen ekstraktların biyoaktif bileşenleri üzerine ekstraksiyon sıcaklığının oldukça etkili olduğu belirlenmiştir.

Elma posası atığının 100-200°C sıcaklık aralığında, 100 bar basınç altında KASE yöntemiyle ekstraksiyon işlemine maruz bırakıldığı bir çalışmada ise İbrahim vd. (2018), optimum koşullarda KASE ile elde edilen ekstraktın TFMİ ve AA (Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi, ORAC) değerlerini sırasıyla 49,86 mg GAE/g kuru ağırlık ve 99,29 µmol TE/g kuru ağırlık olarak rapor etmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı 100°C ile 150°C arasında iken ekstraktlarda klorojenik asit, prosiyanidin B2, floridzin ve kuersetin glikozitlerinin tespit edildiği, ancak bu bileşiklerin 200°C’de belirlenemediği bildirilmiştir. Bu nedenle, 150°C’nin altındaki sıcaklıklarda geri kazanılan fenolik asitler ve flavonoidlerin, daha yüksek sıcaklıklarda toplam AA değerine çok az katkıda bulunduğu rapor edilmiştir. Yazarlar, polifenolik bileşiklerin KASE yöntemiyle ekstraksiyonunun, sulu aseton ekstraksiyonuna alternatif olabileceği sonucuna varmışlardır. Bu tez çalışmasında elma kabuklarından fenolik bileşiklerin ASE yöntemiyle ekstraksiyon işlemi farklı sıcaklık (100 ve 140°C aralığında), sulu etanol (hacmen %0 ve %5 aralığında etil alkol) ve ekstraksiyon süresinde (10 ve 30 dakika aralığında) optimize edilmiştir. Sıcaklık aralığı olarak İbrahim vd. (2018)’in belirttiği 150°C sıcaklığın altında seçilmiş ve ekstraktların biyoaktif içeriklerinin maksimize edildiği çalışmada optimum ekstraksiyon sıcaklığı yaklaşık 108,5°C olarak belirlenmiştir.

Wahyudiono vd. (2022) tarafından yapılan bir çalışmada, elma kabuğundan biyoaktif maddelerin KASE ile 100-175°C sıcaklık aralığında ve 5-60 dakikalık ekstraksiyon sürelerinde parti tipi bir reaktörde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen

ekstraktların FT-IR spektrumları, elma kabuğu bileşenleri arasındaki moleküller arası bağların, özellikle fenilpropan birimleri arasındaki kararsız eter bağlarının kırıldığını ve bu sayede bireysel bileşiklerin ekstrakte edildiğini ortaya koymuştur. Sıvı ürünlerin 280 nm'deki UV-Vis spektrumları, ekstraktların yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip olduğunu göstermiştir. Çalışmada, prosiyanidin B2, epikateşin, kateşin ve 5CQA'nın maksimum verimleri sırasıyla 2,28 mg/g (150°C, 15 dakika), 0,90 mg/g (175°C, 5 dakika), 0,49 mg/g (150°C, 60 dakika) ve 0,25 mg/g kurutulmuş elma kabuğu (175°C, 15 dakika) olarak tespit edilmiştir. Bulgular, KASE sisteminin basit ve çevre dostu bir yöntem olduğunu ve bitki biyokütlesi türlerinden biyoaktif bileşenlerin elde edilmesinde etkili bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

Cheigh vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmada, kurutulmuş elma kabuğu örneklerinden polifenol (36,4 mg QE/g kurutulmuş malzeme) ve flavonoidlerin (9,9 mg QE/g kurutulmuş malzeme) maksimum veriminin, 190°C, 20 dakika ve 1300 psi ekstraksiyon koşulları altında elde edildiği bildirilmiştir. Aynı koşullar altında, en yüksek antioksidan aktivite (%76,1) subkritik ekstraktta tespit edilmiştir. Çalışmada, flavonoid ekstraksiyon verimliliği ve AA, sıcak su (90°C), metanol ve etanol kullanılarak gerçekleştirilen geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırılmış ve KASE yönteminin endüstriyel uygulanabilirliği incelenmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre, elma kabuğu ekstraktının maksimum flavonoid içeriği (7,65 mg kuersetin (QE)/g kurutulmuş malzeme) ve AA içeriği (%27,5) etanol ekstraktında belirlenmiştir. Ancak, subkritik ekstraktta flavonoid içeriği, sıcak su, metanol ve etanol ekstraktlarına göre sırasıyla 4,7 kat, 2,2 kat ve 1,3 kat daha yüksek olmuştur. Ayrıca, subkritik ekstraktın AA değerinin, etanol ekstraksiyonu da dahil olmak üzere mevcut geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden sırasıyla 1,3 kat ve 2,8 kat daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bu sonuçlara göre, KASE yöntemi elma kabuğundan antioksidan polifenollerle flavonoidlerin ekstraksiyonunda çok etkili olup aynı zamanda endüstriyel olarak da büyük bir uygulanabilirliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bu tez çalışmasında da ASE yöntemi, ekstraktların TFMİ ve AA değerleri açısından etkili bir yöntem olarak öne çıkarken, UDE yöntemi ekstraktların TFİ değeri bakımından en yüksek verimi sağlamıştır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ise TFMİ açısından yüksek bir performans göstermesine rağmen, AA ve TFİ bakımından diğer yöntemlere kıyasla daha düşük sonuçlar elde etmiştir.

Yeni ve umut vadeden bir elma türü olan Maypole elmasının küçük, koyu kırmızı ete ve kabuğa sahip olması nedeniyle Tsai vd. (2022) tarafından yapılan çalışmada,

elmaların dış et, iç et ve kabuk kısımları ayrılmış ve çeşitli fitokimyasalların (prosiyanidin B2, 5-kafeoilkinik asit ve epikateşin) ekstraksiyonu için 100–175°C sıcaklık aralığında, 10–30 dakika boyunca KASE sistemi kullanılmıştır. Maypole elmasının kabuklarının yüksek TFMİ değerine sahip olduğu bildirilmiştir. Farklı KASE işlemi koşulları altında, en yüksek ekstraksiyon oranları kabuktan prosiyanidin B2 (4,17 mg/mL), iç etten 5-kafeoilkinik asit (2,30 mg/mL) ve epikateşin (1,04 mg/mL) olarak bulunmuştur. KASE yönteminin, yüksek molekül ağırlıklı polifenollerin ayrışmasını ve ekstrakte edilebilir hale gelen diğer bileşiklerin (örneğin fenolik bileşikler) oluşumunu sağladığı belirtilmiştir.



5. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında geleneksel ekstraksiyon yöntemine alternatif olarak çevre dostu, çözücü olarak öncelikle suyun kullanıldığı KASE yöntemiyle atık ürünlerin sürdürülebilirliğinin sağlanması amacıyla kullanılmıştır. Kurutulmuş *Red Delicious* cinsi kırmızı elmaların kurutulmuş kabuklarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda %2'lik asetik asidin çözücü olarak kullanıldığı ve sabit yüksek basınç değerinde (1450 ± 100 psi) iki farklı yüksek sıcaklıkta (120 ve 140°C) laboratuvar ölçekli sistemle KASE işlemi uygulanmıştır. Sonraki aşama olan optimizasyon çalışmasında ise, aynı prensiple çalışan ticari ASE sistemi kullanılarak $100-140^\circ\text{C}$ sıcaklık aralığında, %0-10 (v/v) etanol oranı aralığında ve 10-30 dakika süre aralığında gerçekleştirilen toplamda 19 adet ekstrakt elde edilerek ekstraktların biyoaktif içeriği (TFMİ, TFİ ve AA değerleri) maksimize edilmiştir. Çalışmanın son aşamasında ise optimum koşullarda ASE sistemiyle elde edilen ekstraktların farklı özellikleri (biyoaktif içeriği, renk, Brix değeri, ekstraksiyon verimi ve pH gibi) geleneksel ekstraksiyon ve UDE yöntemleriyle elde edilen ekstraktların özellikleri ile kıyaslanmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında yapılan ön denemelerde KASE sistemiyle elma kabuğundan elde edilen ekstraktların TFMİ değerleri 120°C 'de $42,94-86,95$ mg GAE/L aralığında belirlenirken bu aralık 140°C 'de $114,75-330,08$ mg GAE/L olmuştur. Ekstraktların AA değeri ise 120°C 'de $61,20-94,99$ $\mu\text{mol TE/L}$ aralığında bulunurken 140°C 'de bu aralık $62,46-227,38$ $\mu\text{mol TE/L}$ olmuştur. Ön deneme sonuçları, ekstraktların TFMİ ve AA değerlerinin ekstraksiyon sıcaklığındaki artışla birlikte arttığını göstermiştir.

Çalışmada elma kabuklarından laboratuvar ölçekli KASE sistemiyle fenolik bileşiklerin %2 asetik asit (hacmen) içeren distile su ile ekstraksiyonunda elde edilen ekstraktların bazı özelliklerindeki değişimler incelendiğinde, 140°C 'de ekstrakte edilen örneklerin 120°C 'de ekstrakte edilen örneklere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bir pH değerine sahip olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Ekstraksiyon sıcaklığı, elma kabuğu ekstraktlarının TFMİ, AA, suda çözünen kuru madde ve pH değerlerini etkilemiştir. 140°C 'de ekstrakte edilen örnekler, 120°C 'ye kıyasla daha yüksek TFMİ ve AA değerlerine sahip olmuş ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır. Ekstrakt fraksiyonu da, ekstraktların TFMİ, AA, suda çözünen kuru madde ve pH değerleri üzerinde belirli bir etki göstermiştir. TFMİ ve AA açısından T1 ve T7 fraksiyonları en yüksek değerler olmuş ancak, fraksiyonlar arasındaki fark istatistiksel

olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). Fraksiyonların °Brix değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0,05$), T1 fraksiyonu en yüksek pH değerine sahip olmuştur ($p<0,05$). Bulgular, ekstrakt fraksiyonunun, TFMİ, AA ve pH gibi parametreler üzerinde etkili olduğunu göstermektedir. Ekstraksiyon sıcaklığının bireysel etkisi söz konusu olduğunda ise 140°C’de ekstrakte edilen örnekler (1,29), 120°C’de ekstrakte edilen örneklere (1,08) kıyasla daha yüksek bir kroma değerine sahip olmuştur ($p<0,05$). Ekstraksiyon sıcaklığı, elma kabuğu ekstraktlarının renk özelliklerini etkilemiştir. Daha düşük sıcaklık (120°C), daha yüksek bir açıklık (L^*) ve hue açısı değerleri sağlarken, daha yüksek sıcaklık (140°C), sarılık (b^*) ve kroma değerlerini artırmıştır.

Çalışmamızın bir diğer aşamasında, ASE yöntemiyle elma kabuğu tozundan elde edilen ekstraktlara yönelik optimizasyon çalışmasında kullanılan merkezi karma tasarıma ait faktörler (sıcaklık, etanol oranı ve süre) ve yanıt değişkenleri incelenmiştir. Optimizasyon sonucunda en uygun modelin kuadratik model olduğu belirlenmiştir. Ekstraktlarda daha yüksek AA değeri elde edebilmek için sıcaklık ve süre faktörlerinin optimize edilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Etanol oranı ise bu süreçte daha az etkili bir faktör olarak değerlendirilmiştir. Öte yandan, ekstraktların TFMİ değerleri açısından süre faktörünün optimize edilmesi gerektiği, sıcaklık ve etanol oranının ise daha az etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Farklı ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırıldığında, ASE yöntemi 13,82 mg GAE/L TFMİ değeri ile yüksek bir performans sergilemiştir. Ancak bu değer, geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen 14,22 mg GAE/L ile istatistiksel olarak benzer bulunmuştur ($p>0,05$). UDE yöntemi ise 1,80 mg GAE/L ile en düşük TFMİ değerine sahip olmuştur. Ekstraktların AA değerleri açısından, ASE (8,95 µmol TE/L) ve UDE (8,72 µmol TE/L) yöntemleri arasında istatistiksel bir fark bulunmazken ($p>0,05$), geleneksel ekstraksiyon yöntemi (4,64 µmol TE/L) bu parametrede daha düşük bir performans göstermiştir. Ekstraktların TFİ değerleri açısından ise UDE yöntemi 10,68 mg KE/g ile en yüksek değeri sunarken, ASE (6,58 mg KE/L) ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi (5,64 mg KE/L) daha düşük değerler göstermiştir. Bu sonuçlar, ekstraksiyon yöntemlerinin TFMİ, TFİ ve AA üzerinde önemli bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Genel olarak, farklı ekstraksiyon yöntemleri elma kabuğundan elde edilen ekstraktların TFMİ, AA ve TFİ değerlerinde belirgin farklılıklar yaratmıştır. ASE yöntemi, TFMİ ve AA açısından etkili bir yöntem olarak öne çıkarken, UDE yöntemi TFİ bakımından en yüksek verimi sağlamıştır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ise TFMİ açısından yüksek bir performans göstermesine rağmen, AA ve TFİ bakımından diğer yöntemlere kıyasla

daha düşük sonuçlar vermiştir. Bu bulgular, ekstraksiyon yönteminin seçiminin hedeflenen biyolojik bileşenlerin verimliliği ve biyolojik aktivitesi üzerinde önemli bir etkisi olduğunu göstermektedir.

Ekstraksiyon verimi açısından incelendiğinde, UDE yöntemi (%3,62) ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi (%3,59) arasında istatistiksel bir fark bulunmamış ($p>0,05$), ancak bu yöntemlerin ASE yöntemine (%0,91) kıyasla anlamlı derecede daha yüksek verim sağladığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Kuru madde içeriği bakımından, UDE yöntemi (19,91°Brix) en yüksek değeri sunarken, geleneksel ekstraksiyon yöntemi (19,66°Brix) benzer bir etki göstermiştir ($p>0,05$). ASE yöntemi ise 1,55°Brix ile en düşük kuru madde içeriğine sahip bulunmuştur. pH değerleri açısından değerlendirildiğinde, ASE yöntemi (6,40) en yüksek pH değerini sunarken, UDE (5,47) ve geleneksel ekstraksiyon (5,44) yöntemleri arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Bu sonuçlar, ekstraksiyon yöntemlerinin ekstraksiyon verimi, kuru madde içeriği ve pH değerleri üzerinde önemli farklılıklar yarattığını göstermektedir. Genel olarak, farklı ekstraksiyon yöntemleri ekstraksiyon verimi, kuru madde içeriği ve pH değerleri üzerinde belirgin etkiler göstermiştir. UDE ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri, ekstraksiyon verimi ve kuru madde içeriği açısından ASE yöntemine kıyasla daha yüksek sonuçlar elde etmiştir. Bununla birlikte, ASE yöntemi pH değeri bakımından diğer yöntemlerden daha yüksek bir değer sunmuştur. Bu bulgular, ekstraksiyon yönteminin seçiminin elde edilen ekstraktın fizikokimyasal özelliklerini önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymaktadır. Gıda endüstrisinde gıda kaybı ile israfın azaltılması, önlenmesi ve sürdürülebilirliğin sağlanması amacıyla atık gıda ürünlerinin değerlendirilmesi ve bu kapsamda KASE ile elde edilen ekstraktlar ile farklı ekstraksiyon yöntemleri üzerine yapılan çalışmaların artırılması büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada elde edilen ekstraktlar gıda takviyesi ve farmakolojik ilaçların geliştirilmesinde ya da yeniden formüle edilmesinde girdi olarak kullanım potansiyeline sahiptir. Bu tür çalışmalar, gıda endüstrisi açısından yüksek kaliteli ekstraktların elde edilmesine katkı sağlayacak nitelikte olup bu alandaki araştırmaların sayısının artırılması gerektiğini ortaya koymaktadır.

KAYNAKLAR

- Afanasev, I.B., Dorozhko, A.I., Brodskii, A.V., Kostyuk, V.A. ve Potapovitch, A.I. (1989). Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation. *Biochemical Pharmacology*, 38, 1763–1769.
- Alasalvar, C., Grigor, J.M., Zhang, D., Quantick, P.C. ve Shahidi, F. (2001) Farklı renkli havuç çeşitlerinin uçucu maddeleri, fenolikleri, şekerleri, antioksidan vitaminleri ve duyu kalitesinin karşılaştırılması. *Tarım ve Gıda Kimyası Dergisi*, 49:1410-1416
- Alonso-Salces, R.M., Korta, E., Barranco, A., L.A. Berrueta, B. Gallo ve F. Vicente, (2001). Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple, *Journal of Chromatography A*, 933, 1–2.
- Anonim. (2002). http://www.mayelfidan.com/kat/15/elma_hakk%C4%B1nda_makale.html. (Erişim Tarihi:25.05.2023)
- Anonim. (2016). <http://www.ısparta.tarimorman.gov.tr/belgeler/faydalıbilgiler/elmayetiştiriciliği> (Erişim tarihi: 04.06.2023)
- Anonim. (2019). ZMO Elma Raporu, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ankara
- Anonim, (2021). Tarım Ürünleri Piyasaları, Elma, Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü (TEPGE). <https://arastirma.tarim.gov.tr/tepge> (Erişim tarihi: 25.05.2023)
- Aoki, T, Akashi, T. ve Ayabe, S. (2000) Flavonoids of leguminous plants: structure, biological activity, and biosynthesis. *Journal of Plant Research*, 113, 475–488.
- Arzeni, C., Martínez, K., Zema, P., Arias, A., Pérez, O.E. ve Pilosof, A.M.R. (2012). Comparative study of high intensity ultrasound effects on food proteins functionality. *Journal of Food Engineering*, 108(3), 463-472.
- Asl, A.H. ve Khajenoori, M. (2013). Subcritical water extraction. *Mass Transfer-Advances In Sustainable Energy And Environment Oriented Numerical Modeling*, 459-487.
- Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M., Ghafoor, K. ve Omar, A.K.M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426-436.
- Ballard, T.S., Mallikarjunan, P., Zhou, K. ve O'Keefe, S.F., (2009). Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from peanut skins using response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(8), 3064-3072,

- Bars-Cortina, D., Macià, A., Iglesias, I., Romero, M.P. ve Motilva, M.J. (2017). Phytochemical profiles of new red-fleshed apple varieties compared with traditional and new white-fleshed varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(8), 1684–1696.
- Belguith-Hadriche, O., Bouaziz, M., Jamoussi, K., Simmonds, M.S., El Feki, A. ve Makni-Ayedi, F., (2013). Comparative study on hypocholesterolemic and antioxidant activities of various extracts of fenugreek seeds. *Food Chemistry*, 138(2-3), 1448-1453.
- Carbone, K., Giannini, B., Picchi, V., Scalzo, R. L. ve Cecchini, F. (2011). Phenolic composition and free radical scavenging activity of different apple varieties in relation to the cultivar, tissue type and storage. *Food Chemistry*, 127(2), 493-500.
- Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mura, M., Chasseur, M., Freguglia, M., Valentini, S., Palombo, D. ve Perego, P. (2015). Polyphenols from grape and apple skin: A study on non-conventional extractions and biological activity on endothelial cell cultures. *Chemical Engineering Transactions*, 44, 205–210.
- Casazza, A. A., Pettinato, M. ve Perego, P. (2020). Polyphenols from apple skins: A study on microwave-assisted extraction optimization and exhausted solid characterization. *Separation and Purification Technology*, 240, 116640.
- Castañeda-Ovando, A., de Lourdes Pacheco-Hernández, M., Páez-Hernández, M.E., Rodríguez, J.A. ve Galán-Vidal, C.A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859-871.
- Cemeroğlu, B. (2013). Gıda Analizleri (3. Baskı). Bizim Grup Basımevi, Ankara, Türkiye. Cemeroğlu, B.S. (2017). Gıda Mühendisliğinde Temel İşlemler. Ankara: AC Yayınevi.
- Cheigh, C.I., Yoo, S.Y. ve Chung, M.S. (2011). Efficient flavonoid extraction from apple peel by subcritical water and estimation of antioxidant activity. *The Korean Journal of Food and Nutrition*, 24(3), 458-463.
- Chen, J., Sun, H., Wang, Y., Wang, S., Tao, X., ve Sun, A. (2014). Sıcaklık ve pH Fonksiyonu Olarak Elma Polifenollerinin Stabilitesi. *Uluslararası Gıda Özellikleri Dergisi* , 17 (8), 1742–1749. <https://doi.org/10.1080/10942912.2012.678531>
- Çam, M. ve Abay, K. (2010). Optimization of extraction of apple pomace phenolics with water by response surface methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(16), 9103–9111.
- Çapar, T.D. (2023). Murt meyvesinin biyoaktif özelliklerinin ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile optimizasyonu. *Çukurova Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 38(1), 1-13.
- Daraghmah, F.S. ve Qubbaj, T. (2021). Impact of gum arabic and cactus mucilage as potential coating substances combined with calcium chloride treatment on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit quality attributes under ambient storage conditions. *Canadian Journal of Plant Science*, 102(2), 375-384.

- de Castro, M.D.L. ve Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383.
- Egüés, I., Hernandez-Ramos, F., Rivilla, I. ve Labidi, J. (2021). Optimization of ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from apple pomace. *Molecules*, 26(13), 3783.
- Esclapez, M. D., García-Pérez, J. V., Mulet, A. ve Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-assisted extraction of natural products. *Food Engineering Reviews*, 3, 108-120.
- FAO (2024). <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Erişim tarihi: 25.05.2023).
- Farhan, M., Rizvi, A., Aatif, M. ve Ahmad, A. (2023). Current understanding of flavonoids in cancer therapy and prevention. *Metabolites*, 13(4), 481.
- Ferrentino, G., Morozova, K., Mosibo, O.K., Ramezani, M. ve Scampicchio, M. (2018). Biorecovery of antioxidants from apple pomace by supercritical fluid extraction. *Journal of Cleaner Production*, 186, 253-261.
- Floros, J.D. ve Liang, H. (1994). Acoustically assisted diffusion through membranes and biomaterials. *Food Technology*, 48: 79-84.
- Formica, J.V. ve Regelson, W. (1995). Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food and Chemical Toxicology*, 33(12), 1061-1080.
- Gan, R.Y., Chan, C.L., Yang, Q.Q., Li, H.B., Zhang, D., Ge, Y.Y., Gunaratne, A., Ge, J. ve Corke, H. (2019). Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains. In *Sprouted Grains* (pp. 191-246). AACC International Press.
- Geow, C.H., Tan, M.C., Yeap, S.P. ve Chin, N.L. (2018). A Box–Behnken design for optimization of ultrasound-assisted solvent extraction of hazelnut oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(9), e13743.
- Giusti, M.M. ve Wrolstad, R.E. (2003). Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*, 14(3), 217-225.
- Goli, A.H., Barzegar, M. ve Sahari, M.A., (2005). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92(3), 521-525.
- Gonzales, G.B., Smagghe, G., Grootaert, C., Zotti, M., Raes, K. ve Camp, J.V. (2015). Flavonoid interactions during digestion, absorption, distribution and metabolism: A sequential structure–activity/property relationship-based approach in the study of bioavailability and bioactivity. *Drug Metabolism Reviews*, 47(2), 175-190.
- González-Talice, J., Yuri, J. A. ve del Pozo A. (2013). Relations among pigments, color and phenolic concentrations in the peel of two Gala apple strains according to canopy position and light environment. *Scientia Horticulturae*, 151, 83-89.
- Guyot, S., Marnet, N., Laraba, D., Sanoner, P. ve Drilleau, J.F. (1998). Reversed-phase HPLC following thiolysis for quantitative estimation and characterization of the

- four main classes of phenolic compounds in different tissue zones of a French cider apple variety (*Malus domestica* Var. Kermerrien). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 1698-1705.
- Gürsoy, O., Yılmaz, Y., Gökçe, O. ve Ertan, K., (2016). Effect of ultrasound power on physicochemical and rheological properties of yoghurt drink produced with thermosonicated milk. *emirates journal of food and agriculture*, vol.28, no.4, 235-241.
- He, X. ve Liu, R.H. (2008) Phytochemicals of apple peels: Isolation, structure elucidation, and their antiproliferative and antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(21): 9905-9910.
- Heras-Ramírez, M.E., Quintero-Ramos, A., Camacho-Dávila, A.A., Barnard, J., Talamás-Abbud, R., Torres-Muñoz, J.V. ve SalasMuñoz, E. (2012). Effect of blanching and drying temperature on polyphenolic compound stability and antioxidant capacity of apple pomace. *Food and Bioprocess Technology*, 5(6), 2201– 2210.
- Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Katan, M.B. ve Kromhout, D., (1993). Intake of potentially anticarcinogenic flavonoids and their determinants in adults in the Netherlands. *Nutrition and Cancer*, 20, 21-29.
- Hollman, P.C.H., (1997). Determinants of the absorption of the dietary flavonoids quercetin in man. PhD. thesis. Wageningen Agriculture University, Wageningen, The Netherlands.
- Hyson, D.A. (2011) A comprehensive review of apples and apple components and their relationship to human health. *Advances in Nutrition*, 2:408–420
- Ibrahim S., Santos ve R. Bowra, S. (2018). Optimization of subcritical water mediated extraction of apple pomace polyphenolics and their antioxidant activity. *Journal of Chromatography Separation Techniques* 09(05).
- Iwashina, T. (2013). Flavonoid properties of five families newly incorporated into the order Caryophyllales. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science*, 39(1), 25-51.
- Kaur, S. (2013). Antihypertensive properties of an apple peel-can apple a day keep a doctor away? *Bulletin of Pharmaceutical and Medical Sciences (BOPAMS)*, 1(1).
- Khandare, V., Walia, S., Singh, M. ve Kaur, C. (2011). Black carrot (*Daucus carota* ssp. sativus) juice: processing effects on antioxidant composition and color. *Food and Bioproducts Processing*, 89(4), 482-486.
- Knekt, P., Jarvinen, R., Reunanen, A. ve Maatela, J. (1996). Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study. *BMJ*, 312(7029), 478-481.
- Koes, R.E., Quattrocchio, F. ve Mol, J.N.M. (1994). The Flavonoids biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays* 16, 123-132.

- Krawitzky, M., Arias, E., Peiro, J.M., Negueruela, A.I., Val, J. ve Oria, R. (2014). Determination of color, antioxidant activity, and phenolic profile of different fruit tissue of Spanish “Verde doncella” apple cultivar. *International Journal of Food Properties*, 17(10), 2298–2311.
- Kschonsek, J., Wolfram, T., Stöckl, A. ve Böhm, V. (2018). Polyphenolic compounds analysis of old and new apple cultivars and contribution of polyphenolic profile to the in vitro antioxidant capacity. *Antioxidants*, 7(1), 20.
- Kubo, Y., Taira, S., Ishio, S., Sugiura, A. ve Tomana, T. (1988). Color development of 4 apple cultivars grown in the southwest of Japan, with special reference to fruit bagging. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 57(2), 191-199.
- Kumar, S. ve Pandey, A.K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *The Scientific World Journal*, 2013(1), 162750.
- Kutlular, Ö., (2007). Bazı Adaçayı ve Kekik Türlerinin Uçucu Yağlarının Süper Isıtılmış Su ile Ekstraksiyonları ve GC-MS ile Karakterizasyonları, Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, Türkiye
- Lancaster, J.E. ve Dougall, D.K. (1992). Regulation of skin color in apples. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 10(6), 487-502.
- Lancaster, J.E., Grant, J.E., Lister, C.E. ve Taylor, M. (1994). Skin color in apples- influence of copigmentation and plastid pigments on shade and darkness of red color in five genotypes. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 119, 63-69.
- Le Marchand, L., Murphy, S.P., Hankin, J.H., Wilkens, L.R. ve Kolonel, L.N. (2000). Intake of flavonoids and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 92(2), 154-160.
- Lee, E.H., Kim, Y.J., Kwon, S.I., Kim, J.H., Kang, I.K., Jung, H.Y., Park, K-I ve Cho, Y-J. (2018). Anti-oxidative, health functional, and beauty food activities of extract from newly bred Ruby S apple (*Malus pumila* Mill.) peel. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 47:1093–1102.
- Liang, H. (1993). *Modeling of Ultrasound Assisted and Osmotically Induced Diffusion in Plant Tissue*. PhD Dissertation, Purdue University, Indiana, USA.
- Liaudanskas, M., Viškelis, P., Kviklys, D., Raudonis, R. ve Janulis, V. (2015). A comparative study of phenolic content in apple fruits. *International Journal of Food Properties*, 18(5), 945–953.
- Lister, C.E., Lancaster, J.E. ve Sutton, K.H., (1994). Developmental changes in the concentration and composition of flavonoids in skin of a red and a green apple cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 64, 155-161.
- López-Lázaro, M. (2009). Distribution and biological activities of the flavonoid luteolin. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*, 9(1), 31-59.

- Mason, T.J. (1998). Power ultrasound in food processing. The way forward. In: *Ultrasound in Food Processing*, MJW Povey and TJ Mason (eds), pp.105-126, Chapman & Hall, London.
- Mason, T.J. ve Lorimer, J.P. (2002). *Applied sonochemistry: the uses of power ultrasound in chemistry and processing*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag.
- Mattioli, R., Francioso, A. ve Mosca L., Silva P. (2020). Anthocyanins: A comprehensive review of their chemical properties and health effects on cardiovascular and neurodegenerative diseases. *Molecules*, 25(17), 3809.
- McLellan, M.R., Lind, L.R. ve Kime, R.W. (1995). Hue angle determinations and statistical analysis for multi-quadrant Hunter L, a, b data. *Journal of Food Quality*, 18(3), 235-240.
- McRae, K.B., Lidster, P.D., De Marco, A.C. ve Dick, A.J. (1990). Comparison of the polyphenol profiles of the apple fruit cultivars by correspondence analysis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 50, 329-342.
- Nakamura, M., Ra, J.H. ve Kim, J.S. (2019). Evaluation of biological activity for Dangyuja (*Citrus grandis*) leaves and investigation of optimal concentrations extracted by alternative ethanol concentrations. *Journal of Plant Biotechnology*, 46(1), 45-55.
- Nicolas, J.J., Richard-Forget, F.C., Goupy, P.M., Amiot, M.J. ve Aubert, S.Y., (1994). Enzymatic browning reaction in apple and apple products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34, 109-157.
- Ojha, K.S., Burgess, C.M., Duffy, G., Kerry, J.P. ve Tiwari, B.K. (2018). Integrated phenotypic-genotypic approach to understand the influence of ultrasound on metabolic response of *Lactobacillus sakei*. *Plos One*, 13(1), e0191053.
- Ong, E.S., Cheong, J.S.H. ve Goh, D. (2006). Pressurized hot water extraction of bioactive or marker compounds in botanicals and medicinal plant materials. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2), 92-102.
- Özel, M.Z., Göğüş, F. ve Lewis, A.C. (2003). Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chemistry*, 82, 381-386
- Panche, A.N., Diwan, A.D. ve Chandra, S.R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.
- Park, N., Cho, S.D., Chang, M.S. ve Kim, G.H. (2022). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of flavonoids and the antioxidant activity of Ruby S apple peel using the response surface method. *Food Science and Biotechnology*, 31(13), 1667-1678.
- Parpinello, G.P., Versari, A. ve Galassi S. (2000). Phloretin glycosides: bioactive compounds in apple fruit, purees, and juices. *Journal of Medicinal Food*, 3(3), 149-151.

- Perussello, C.A., Zhang, Z., Marzocchella, A. ve Tiwari, B.K. (2017). Valorization of apple pomace by extraction of valuable compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(5), 776–796.
- Petigny, L., Özel, M.Z., Perino, S., Wajsman, J. ve Chemat, F., (2015). Water as a green solvent for extraction of natural products. Chemat, F., Strube, J. (Eds.). In *Green Extraction of Natural Products: Theory and Practice* (pp. 237-264). Wiley, Weinheim.
- Potter, D., Eriksson, T., Evans, R.C., Oh S., Smedmark J.E., Morgan D.R., Kerr M., Robertson K.R., Arsenault M. ve Dickinson T.A. Campbell C.S. (2007). Phylogeny and classification of Rosaceae. *Plant Systematics and Evolution*, 266, 5-43.
- Pourcel, L., Irani, N. G., Lu, Y., Riedl, K., Schwartz, S. ve Grotewold, E. (2010). The formation of anthocyanic vacuolar inclusions in *Arabidopsis thaliana* and implications for the sequestration of anthocyanin pigments. *Molecular Plant*, 3(1), 78-90.
- Proctor, J.T.A., Kyle, W.J. ve Davies, J.A. (1975). The penetration of global solar radiation into apple trees. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 100, 40-44.
- Quang, P.S., Le, T.T.T. ve Le, V.V.M. (2014). Optimization of ultrasonic treatment of apple (*Malus domestica*) mash in the extraction of juice with high antioxidant content. *Optimization*, 4(12): 18–21.
- Rana, S., Bhushan, S. (2016). Apple phenolics as nutraceuticals: assessment, analysis and application. *Journal of Food Science and Technology*, 53, 1727-1738.
- Rana, S., Gupta, S., Rana, A. ve Bhushan, S. (2015). Functional properties, phenolic constituents and antioxidant potential of industrial apple pomace for utilization as active food ingredient. *Food Science and Human Wellness*, 4(4), 180–187.
- Rana, S., Rana, A., Gulati, A. ve Bhushan, S. (2014). RP-HPLC-DAD determination of phenolics in industrial apple pomace. *Food Analytical Methods*, 7, 1424-1432.
- Robards, K. ve Antolovich, M., (1997). Analytical chemistry of fruit bio flavonoids. *Analyst*, 122, 11R-34R.
- Rodrigues, S., Fernandes, F.A., de Brito, E.S., Sousa, A.D. ve Narain, N. (2015). Ultrasound extraction of phenolics and anthocyanins from jabuticaba peel. *Industrial Crops and Products*, 69, 400-407.
- Rodrigues, S., Pinto, G. A. ve Fernandes, F. A. (2008). Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(1), 95-100.
- Rupasinghe, S.K.P.H., Wang, H.P.V. ve Thilakarathna, Y. (2013) Apple skin extracts for treating cardiovascular disease. U.S. Pat 13(699): 162.
- Saldamlı, İ. (2021). *Gıda Kimyası*. Ankara: Hacettepe Üniversitesi Yayınları. Ankara, Türkiye.

- Saure, M.C. (1990). External control of anthocyanin formation in apple. *Scientia Horticulturae*, 42, 181-218.
- Shinde, A., Ganu, J. ve Naik, P. (2012). Effect of free radicals & antioxidants on oxidative stress: a review. *Journal of Dental and Allied Sciences*, 1(2), 63-66.
- Shirley, B.W., (1996). Flavonoids biosynthesis: new functions for an old pathway. *Trends in Plant Science*, 1, 377-382.
- Stafford, H.A. (Ed.), 1990. Flavonoids Metabolism. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 101-132.
- Sun, B.H., Francis, F.J., (1967). Apple anthocyanins: identification of cyanidin 7-arabinoside. *Journal of Food Science*, 32, 647-648.
- Szkudelska, K., Nogowski, L. (2007). Genistein A dietary compound inducing hormonal and metabolic changes. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 105(1-5), 37-45.
- Thakurand, B.R., Nelson, P.E. (1997). Inactivation of lipoxygenase in whole soy flour suspension by ultrasonic cavitation. *Nahrung*, 41(5), 299-301.
- Thurman, E. M., Mills, M. S. (1998). Solid-phase extraction principles and practice. New York: John Wiley.
- Treutter, D. (2005). Significance of flavonoids in plant resistance and enhancement of their biosynthesis. *Plant Biology*, 7(06), 581-591.
- Tsai, M., Zhu, L., Maeda, S., Wang, T., Diono, W., Goto, M. ve Kanda, H. (2022). Extraction of phytochemicals from maypole apple by subcritical water. *Foods*, 11(21), 3453.
- Tsao R., Yang R., Young J.C. ve Zhu H. (2003). Polyphenolic profiles in eight apple cultivars using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(21), 6347-6353.
- Turner, C. ve Ibanez, E. (2012) Pressurized hot water extraction. In: Lebovka N, Vorobiev E, Chemat F (eds) Enhancing extraction processes in the food industry. CRC Press, Boca Raton, pp 223–254.
- USDA. (2022). Apples, Raw, With Skin (Includes Foods For USDA's Food Distribution Program). <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/171688/nutrients> (Erişim Tarihi: 25.05.2022)
- Üren, A. (1999). Üç Boyutlu Renk Ölçme Yöntemleri. *Gıda Dergisi*, 24(3).
- Van der Meer, I.M., Stuitje, A.R. ve Mol, J.N.M., (1993). Regulation of general phenylpropanoid and Flavonoids gene expression. In: Verma, D.P.S., (Ed.), Control of Gene Expression. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 125-155.
- Van der Sluis, A.A., Dekker, M., de Jager, A. ve Jongen W.M. (2001). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple: effect of cultivar, harvest year,

- and storage conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(8), 3606-3613.
- Van Der Sluis, A.A., Dekker, M., Skrede, G., Wim M.F. ve Jongen, W.M.F. (2002). Activity and concentration of polyphenolic antioxidants in apple juice. 1. Effect of existing production methods. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 7211-7219.
- Vieira, F.G.K., Borges, G.D.S.C., Copetti, C., Di Pietro, P.F., Nunes, E. da C. ve Fett, R. (2011). Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. *Scientia Horticulturae*, 128(3), 261–266.
- Vinatoru, M. (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3), 303-313.
- Vinatoru, M., Toma, M. ve Mason, T.J. (1999). Ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from plants and their constituents. *Advances in Sonochemistry*, 5, 209-248.
- Volz, R.K., Ferguson, I.B., Hewett, E.W. ve Woolley, D.J. (1994). Wood age and leaf area influence fruit size and mineral composition of apple fruit. *Journal of Horticultural Science*, 69, 385-395.
- Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D. ve Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6532-6538.
- Wahyudiono, W., Maeda, S., Machmudah, S., Sato, K., Kanda, H. ve Goto, M. (2022). Extraction of procyanidin B2 from apple peel using subcritical water. *ASEAN Engineering Journal*, 12(2), 135-141.
- Wang, L., Boussetta, N., Lebovka, N. ve Vorobiev, E. (2018). Selectivity of ultrasound-assisted aqueous extraction of valuable compounds from flesh and peel of apple tissues. *LWT*, 93, 511–516.
- Wolfe, K.L. ve Liu, R.H. (2003). Apple peels as a value-added food ingredient. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(6), 1676-1683.
- Wolfe, K.L., Wu X. ve Liu R.H. (2003). Antioxidant activity of apple peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 609-614.
- Yılmaz, T. (2015) Bitkisel ürünlerden polisakkarit ekstraksiyonunda ultrason kullanımının optimizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Manisa, Türkiye.
- Zakaria, S.M. ve Kamal, S.M.M. (2016). Subcritical water extraction of bioactive compounds from plants and algae: Applications in pharmaceutical and food ingredients. *Food Engineering Reviews*, 8(1), 23–34.
- Zuorro, A., Maffei, G. ve Lavecchia, R. (2016). Reuse potential of artichoke (*Cynara scolymus* L.) waste for the recovery of phenolic compounds and bioenergy. *Journal of Cleaner Production*, 111(Part A), 279-284.