

**MELOCAN (*Smilax excelsa* L.) BİTKİSİNİN FARKLI
KISIMLARININ ULTRASON VE MİKRODALGA
DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE ELDE EDİLEN
BİLEŞENLERİNİN TANIMLANMASI**

**DETERMINATION OF COMPONENTS OF
EXTRACTED FROM DIFFERENT PARTS OF
MELOCAN (*Smilax excelsa* L.) PLANT BY MICROWAVE
AND ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION**

ÖZLEM ŞAHİN

PROF. DR. HALİL VURAL

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ
olarak hazırlanmıştır.

2019

ÖZLEM ŞAHİN'in hazırladığı “*Melocan (Smilax excelsa L.)* Bitkisinin Farklı Kısımlarının Ultrason ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon İle Elde Edilen Bileşenlerinin Tanımlanması” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Aydın ÖZTAN
Başkan



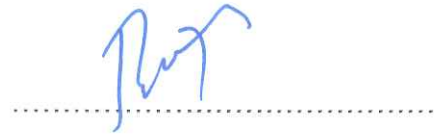
Prof. Dr. Halil VURAL
Danışman



Doç. Dr. Ali TOPCU
Üye



Dr. Öğr. Üyesi Emin Burçin ÖZVURAL
Üye



Dr. Öğr. Üyesi Elif YOLAÇANER
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak/...../..... tarihinde onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü



Değerli Ailem ve Sevgili Eşim'e,

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

25./01./2019

ÖZLEM ŞAHİN

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

Yükseköğretim Kurulu tarafından yayınlanan “*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*” kapsamında tezim aşağıda belirtilen koşullar haricince YÖK Ulusal Tez Merkezi / H. Ü. Kütüphaneleri Açık Erişim Sisteminde erişime açılır.

- ☐ Enstitü / Fakülte yönetim kurulu kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren 2 yıl ertelenmiştir.
- ☐ Enstitü / Fakülte yönetim kurulu gerekçeli kararı ile tezimin erişime açılması mezuniyet tarihimden itibaren ay ertelenmiştir.
- ☐ Tezim ile ilgili gizlilik kararı verilmiştir.

25.01/2019

ÖZLEM ŞAHİN

ÖZET

MELOCAN (*Smilax excelsa* L.) BİTKİSİNİN FARKLI KISIMLARININ ULTRASON VE MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE ELDE EDİLEN BİLEŞENLERİNİN TANIMLANMASI

Özlem ŞAHİN

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Halil VURAL

Ocak 2019, 125 sayfa

Melocan (*Smilax excelsa* L.), Karadeniz Bölgesi'nde yetişen, yaprak, meyve ve filizleri günlük diyetle tüketilen ve halk ilacı olarak kullanılan bir bitkidir. Bu çalışmada, melocanın yaprak, meyve ve filizleri, üç farklı ekstraksiyon yöntemi (geleneksel ekstraksiyon (GE), ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE)) ile elde edilen ekstraktlarında, toplam fenolik madde (TFM), toplam antioksidan kapasite miktarları (TAK) ve fenolik bileşenleri incelenmiştir. Melocanın toplam fenolik madde miktarı, yaprak, meyve ve filizde sırasıyla; GE ile 55.98 ± 1.98 , 55.25 ± 2.81 ve 37.13 ± 2.99 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru ağırlık; UDE ile 57.30 ± 2.42 , 57.12 ± 2.89 ve 38.12 ± 4.24 mg GAE/g kuru ağırlık, MDE ile 67.27 ± 2.05 , 66.23 ± 6.59 ve 50.35 ± 4.07 mgGAE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Toplam antioksidan kapasitesi, yaprak, meyve ve filizde sırasıyla; GE ile 69.12 ± 1.77 , 67.62 ± 9.83 ve 39.18 ± 1.07 mg troloks/g kuru ağırlık; UDE ile 67.01 ± 1.70 , 80.69 ± 3.97 ve 40.10 ± 4.97 mg troloks/g kuru ağırlık, MDE ile 83.82 ± 5.72 , 76.02 ± 6.96 ve 53.90 ± 3.13 mg troloks/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Klorojenik asit miktarı, yaprak, meyve ve filizde sırasıyla; GE ile 18.71 ± 0.86 , 5.70 ± 0.35 ve 2.72 ± 0.06 mg/g kuru ağırlık; UDE ile

18.61±0.55, 5.90±0.23 ve 18.09±0.29 mg/g kuru ağırlık, MDE ile 5.41±0.04, 3.96±0.34 ve 3.26±0.14 mg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde *S. excelsa*'da en düşük fenolik içerik filiz örneğinde belirlenmiştir. Ekstraksiyon yöntemleri açısından yöntemler arasında farklılıklar bulunmaktadır. Ultrason destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyonun avantajlı olduğu durumlar tespit edilmiştir, bu nedenle bu konuda daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: antioksidan, fenolik, melocan, mikrodalga, *Smilax excelsa*. ultrason



ABSTRACT

DETERMINATION OF COMPONENTS OF EXTRACTED FROM DIFFERENT PARTS OF MELOCAN (*Smilax excelsa* L.) PLANT BY MICROWAVE AND ULTRASONIC ASSISTED EXTRACTION

ÖZLEM ŞAHİN

Master of Science, Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Halil VURAL

Ocak 2019, 125 pages

Melocan (*Smilax excelsa* L.) is a plant that grown in the Black Sea Region, whose leaves, fruits and sprouts are consumed in the daily diet and which is used as a folk medicine. In this study, leaves, fruits and sprouts of melocan were extracted with three different extraction methods (traditional extraction (GE), ultrasonic-assisted extraction (UDE) and microwave-assisted extraction (MDE)) and total phenolic contents (TFM), total antioxidant capacity (TAC) and phenolic components of the extracts were measured. Total phenolic contents of leaves, fruits and sprouts were found to be 55.98 ± 1.98 , 55.25 ± 2.81 and 37.13 ± 2.99 mg gallic acid equivalent (GAE)/g dry weight with GE, 57.30 ± 2.42 , 57.12 ± 2.89 and 38.12 ± 4.24 mg GAE/g dry weight with UDE, 67.27 ± 2.05 , 66.23 ± 6.59 and 50.35 ± 4.07 mg GAE/g dry weight with MDE, respectively. Total antioxidant capacities of leaves, fruits and sprouts were found to be 69.12 ± 1.77 , 67.62 ± 9.83 and 39.18 ± 1.07 mg trolox/g dry weight with GE; 67.01 ± 1.70 , 80.69 ± 3.97 and 40.10 ± 4.97 mg trolox/g dry weight with UDE, 83.82 ± 5.72 , 76.02 ± 6.96 and 53.90 ± 3.13 mg trolox/g dry weight with MDE, respectively. Chlorogenic acid content of leaves, fruits and sprouts were found to be 18.71 ± 0.86 , 5.70 ± 0.35 ve 2.72 ± 0.06 mg/g dry weight with GE; 18.61 ± 0.55 , 5.90 ± 0.23 ve 18.09 ± 0.29 mg/g dry weight with UDE, 5.41 ± 0.04 , 3.96 ± 0.34 ve 3.26 ± 0.14 mg/g dry weight with MDE, respectively.

When the obtained results were evaluated, the lowest phenolic content in *S. excelsa* L. was determined in the sprouts. There were differences between extraction methods. It was found that ultrasound-assisted extraction and microwave-assisted extraction were advantageous, so more detailed studies are needed.

Keywords: antioxidants, phenolic, melocan, microwave, *Smilax excelsa*, ultrasound



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarına yön veren değerli tez danışmanım Prof. Dr. Halil VURAL'a,

Laboratuvar çalışmalarım boyunca ilgisini ve desteğini esirgemeyen değerli hocamız Doç. Dr. Ali TOPCU'ya, laboratuvarını kullanmama müsaade ettiği için ve her türlü hoşgörüsü için değerli hocamız Dr. Öğr. Üyesi Elif YOLAÇANER'e,

Desteğiyle yanımda olan değerli arkadaşım Arş. Gör. Büşra AKDENİZ'e, deneylerim ve tezim hakkındaki sorulara sıklıkla yanıt veren değerli Arş. Gör. Seda ELİKOĞLU'na, tezime katkılarından dolayı değerli arkadaşlarım Arş. Gör. Işıl GÜRSUL AKDAĞ, Arş. Gör. Tümay TEMİZ, Arş. Gör. Dilay Kütük AYHAN ve Arş. Gör. Burcu GÜVEN'e ve değerli çalışma arkadaşlarıma, bu süreçte yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen değerli arkadaşlarım, Arş. Gör. Merve ARIBAŞ, Ünzile YİĞİT, Emrah KOÇ ve can dostum Merve KOÇ'a, dokunduğu herşeyi zerafetiyle güzelleştiren arkadaşım, dostum Arş. Gör. Tülin EKER'e,

Yüksek lisans tez çalışmam için yaptığım araştırmalarda gerekli maddi desteği sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (BAP-17030),

Melocan örneklerinin toplanması için arazi çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen canım dedem Ahmet AĞAÇ'a, teyzem Fatma ÇİÇEK'e, değerli büyüklerim Sebahattin KÖKÇE, Hüseyin ÇİÇEK ve Avni DEMİRCİ'ye,

Hayata adım attığım ilk günden beri beni destekleyen, cesaretlendiren ve koşulsuz sevgi gösteren annem Nuran ÇİÇEK ve babam Cafer ÇİÇEK'e, kardeşlerime, içinde olmaktan büyük keyif aldığım AİLEM'e,

Ve yüksek lisans serüvenimin her anında yanımda olan, elimden tutup kaldıran, birçok fedakârlıkta bulunan, cesaret ve güç veren sevgili eşim Tolgahan ŞAHİN'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Özlem ŞAHİN
Ocak 2019, Ankara

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ÇİZELGELER.....	ix
ŞEKİLLER	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1 GİRİŞ	1
2 LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 Melocan (<i>Smilax excelsa</i> L.).....	3
2.2 Fenolik Bileşikler.....	8
2.2.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	10
2.2.2 Fenolik asitler	11
2.2.3 Flavonoidler	12
2.2.4 Fenolik Bileşik İçeriği Yüksek Gıdalar ve Biyoyararlılığı	13
2.2.5 Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi.....	13
2.2.6 Antioksidan Kapasitesi ve Ölçümünde Kullanılan Yöntemler	14
2.3 Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu.....	17
2.3.1 Geleneksel Katı-Sıvı Ekstraksiyonu (KSE)	19
2.3.2 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE)	21
2.3.3 Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE).....	27
3 MATERYAL ve YÖNTEM	36
3.1 Materyal.....	36
3.2 Kullanılan Ekipman ve Kimyasallar.....	36
3.3 Materyallerin Kuru Madde ve Kül Analizi.....	37

3.4 Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu	37
3.4.1 Fenolik Bileşiklerin Geleneksel Ekstraksiyonu	37
3.4.2 Fenolik Bileşiklerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu.....	38
3.4.3 Fenolik bileşiklerin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonu	38
3.5 Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Belirlenmesi	39
3.6 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi.....	40
3.7 Toplam Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi.....	41
3.8 İstatiksel Analiz.....	42
4 SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	43
4.1 Kuru Madde ve Kül Analizleri.....	43
4.2 Toplam Fenolik Madde (TFM) Analizleri	43
4.2.1 Geleneksel Ekstraksiyon (GE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde Miktarları (TFM)	44
4.2.2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde Miktarları (TFM).....	46
4.2.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde Miktarları (TFM).....	48
4.2.4 Yaprak, Meyve ve Filizin Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) ile Elde Edilen Toplam Fenolik Madde Miktarlarının (TFM) Karşılaştırılması.....	51
4.3 Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizleri	53
4.3.1 Geleneksel Ekstraksiyon (GE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi	53
4.3.2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi.....	55
4.3.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi.....	57

4.3.4 Yaprak, Meyve ve Filizin Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) ile Elde Edilen Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Değerlerinin Karşılaştırılması.....	59
4.4 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşenlerin Belirlenmesi	61
4.4.1 Geleneksel Ekstraksiyon (GE) İle Elde Edilen Ekstraktların Klorojenik Asit Miktarları.....	62
4.4.2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Klorojenik Asit Miktarları.....	63
4.4.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (UDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Klorojenik Asit Miktarları.....	65
4.4.4 Yaprak, Meyve ve Filizin Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) Yöntemleriyle Elde Edilen Klorojenik Asit Miktarlarının Karşılaştırılması	66
5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	68
KAYNAKLAR.....	70
EK A.....	77
EK-B.....	80
TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU	126
ÖZGEÇMİŞ	127

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1	<i>S. excelsa</i> 'nın taksonomik sınıflandırılması	3
Çizelge 2.2.	Çeşitli <i>Smilax</i> türlerinin içerdiği fenolik bileşikler ve geleneksel tıpta kullanıldığı alanlar.....	5
Çizelge 2.3	Katı örneklerin çeşitli ekstraksiyon tekniklerinin karşılaştırılması [48] ...	21
Çizelge 2.4	Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonda Kullanılan Çözücülerin Fiziksel Özellikleri [48,63]	26
Çizelge 4.1	<i>S. excelsa</i> bitki kısımlarının kuru madde ve kül içeriği	43
Çizelge 4.2	Geleneksel ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları	44
Çizelge 4.3	Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları	47
Çizelge 4.4	Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları	49
Çizelge 4.5	Ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları.....	52
Çizelge 4.6	Geleneksel ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi.....	53
Çizelge 4.7	Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının antioksidan kapasitesi.....	55
Çizelge 4.8	Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi	57
Çizelge 4.9	Yaprak, meyve ve filizin ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesi.....	60
Çizelge 4.10	Geleneksel ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının klorojenik asit miktarları.....	63
Çizelge 4.11	Ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının klorojenik asit miktarları	64
Çizelge 4.12	Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının klorojenik asit miktarları	65

Çizelge 4.13 Yaprak, meyve ve filizin ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan ekstraktlarının klorojenik asit miktarları.....	67
--	----



ŞEKİLLER

Şekil 2.1	<i>S. excelsa</i> ; meyve (a), yaprak (b), filiz (c) [3-4]	4
Şekil 2.2	Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması [31].....	10
Şekil 2.3	Flavonoid bileşiklerinin yapısal formülleri	11
Şekil 2.4	Klorojenik asitin yapısı	12
Şekil 2.5	Flavonoidlerin genel iskelet yapısı [25]	13
Şekil 2.6	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)'in moleküler yapısı [45]	16
Şekil 2.7	DPPH radikalinin antioksidan (A-H) ile reaksiyonu.....	16
Şekil 2.8	Mikrodalga destekli ekstraksiyon düzeneği	22
Şekil 2.9	Su moleküllerinin elektrik alanla etkileşimi [53].....	22
Şekil 2.10	Kavitasyon kabarcıklarının oluşumu.....	29
Şekil 2.11	Ultrasonik banyo[79].....	31
Şekil 2.12	İşlem Yapılmamış (b), Geleneksel Ekstraksiyon (a) ve Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (c) Uygulanmış Materyalin Mikroskopik Görüntüsü [72] ..	35
Şekil 4.1	Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarı.....	45
Şekil 4.2	Ultrason destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarı	48
Şekil 4.3	Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarı	50
Şekil 4.4	Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi	54
Şekil 4.5	Ultrason destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi.....	56
Şekil 4.6	Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi	58
Şekil 4.7	Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilmiş melocan yaprağına ait bir kromatogram.....	61
Şekil 4.8	Çalışmada kullanılan standart maddelerin kromatogramları (1:gallik asit, 2:epikateşin, 3:klorojenik asit, 4:kaempferol-7-O-β-D-glukopiranozit, 5: resveratrol, 6:kuersetin, 7:kaempferol, 8:isorhamnetin)	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

μmol	Mikromol
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
mL	Mililitre
s	Saniye
sa	Saat
ϵ'	Dielektrik sabiti
ϵ''	Dielektrik kayıp faktörü
μ	Dielektrik moment
E	Elektrik alanı
kcal	Kilokalori
P_h	Hidrostatik basınç
P_a	Akustik basınç

Kısaltmalar

DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GE	Geleneksel ekstraksiyon
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
KM	Kuru madde
KSE	Katı-sıvı ekstraksiyonu
MDE	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
part	Bitki kısmı
<i>S. excelsa</i>	<i>Smilax excelsa</i>
TAK	Toplam antioksidan kapasite
TFM	Toplam fenolik madde
UDE	Ultrason destekli ekstraksiyon

1 GİRİŞ

İnsan vücudundaki biyokimyasal ve fizyolojik süreçte, serbest radikal olarak adlandırılan birçok reaktif oksijen türü üretilmektedir. Serbest radikallerin aşırı üretimi ise biyolojik sistemlerde oksidatif hasara neden olur ve sonuçta, kanser, diyabet, yaşlanma gibi rahatsızlıklar meydana gelmektedir. Artan sanayileşme ile birlikte, sentetik antioksidanlar gibi doğal olmayan kimyasal maddelerin tüketiminin artması nedeniyle de bu hastalıkların görülme oranı artmıştır. Serbest radikallerin ve gıdalarla tüketilen kimyasal maddelerin olumsuz etkilerini gidermek amacıyla günümüzde doğal gıdalara olan talep artmıştır. Doğal gıda maddesi olarak tüketilen veya tıbbi bitki olarak yetiştirilen bitkiler artan bu talebi karşılayacak biyoaktif özelliklere sahiptir. Bitkilerin kök, yaprak, filiz ve meyve gibi farklı dokularının içerdiği biyoaktif bileşiklerin başında fenolik bileşikler gelmektedir. Binlerce tür ve çeşidi içeren zengin bitki dünyasında fenolik bileşiklerle ilgili birçok çalışma yapılmaktadır. Bazı bitkilerin fenolik içeriği çok iyi tespit edilmişken, araştırmaya ihtiyaç duyulan birçok bitki türü vardır.

Melocan (*Smilax excelsa* L.), halk arasında uzun yıllar halk ilacı olarak kullanılan, antioksidan, antimikrobiyal, antimutajenik ve antiviral özellikleri olan tıbbi bir bitkidir. Ülkemizde, özellikle Karadeniz Bölgesi'nde yetişir, filiz ve yaprakları gıda olarak tüketilmektedir. Kökleri ise saponozit türleri içerdiğinden eczacılıkta kullanılmaktadır. Antosiyanin türevi olduğu bilinen saponozit-3-glikozit içerdiği bilinmektedir. Melocan hakkında literatürde çok az çalışma vardır. Yapılan çalışmalar genellikle saponozit türleri ve antimikrobiyal özelliklerini kapsamaktadır. Fenolik özelliği ve antioksidan kapasitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda melocanın fenolik içeriği ve antioksidan özelliğinin oldukça yüksek olduğu rapor edilmiştir. Ancak fenolik profili henüz aydınlatılmamıştır.

Melocanın fenolik içeriğinin belirlenmesi amacıyla, etanol, metanol, hekzan, etil asetat gibi farklı çözücülerin kullanıldığı geleneksel ekstraksiyon yöntemleri uygulanmıştır. Ancak, geleneksel ekstraksiyon yönteminde yüksek miktarda kimyasal çözücü kullanımı, ekstraksiyon süresinin oldukça uzun olması, ekstraksiyon veriminin düşük olması ve kullanılan çözücülerin çevreye zararlı etkilerinden dolayı alternatif ekstraksiyon yöntemleri üzerine çalışmalar yoğunlaşmıştır. Bu nedenle, alternatif ekstraksiyon yöntemleri olarak, ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga destekli

ekstraksiyon (MDE) yöntemleri gibi; yeni, gelişmiş, zaman ve maliyet açısından ekonomik ve çevreye zarar vermeyen, “yeşil” teknolojilere bir talep oluşmuştur.

UDE ve MDE ekstraksiyonları çok az çözücü ile yüksek miktarlarda ekstraksiyon verimini gerçekleştirebilirler. Günler süren geleneksel ekstraksiyonlar yerine dakikalar içerisinde maksimum ekstraksiyon verimini sağlayabilirler. Ayrıca bu yöntemler, ılımlı sıcaklık uygulamaları nedeniyle, fenolik bileşikler gibi sıcaklığa duyarlı bileşiklerin ekstraksiyonu için çok uygundur. Ekstraksiyon süresinin oldukça kısa olması nedeniyle enerji maliyetlerini düşürürler. Enerji maliyetinin düşüklüğü, kurulumunun kolaylığı, ekstra sarf malzemelerine ihtiyaç olamaması gibi nedenlerle süperkritik akışkan ekstraksiyonu gibi gelişmiş diğer yöntemlere de üstünlük sağlama potansiyeline sahiptirler. Kurulum maliyetleri düşüktür. UDE ve MDE yöntemleri, sayılan avantajları nedeniyle günümüzde araştırmacılar için bir odak noktası haline gelmiştir. Bu nedenlerle, bu çalışmada melocanın fenolik bileşimi ve antioksidan özelliklerinin UDE ve MDE yöntemleriyle çalışılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada, melocan bitkisinin farklı kısımlarının (yaprak, meyve ve filiz), gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri (UDE ve MDE) ile ekstraksiyonu ve elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde (TFM), toplam antioksidan kapasite (TAK) ve fenolik profilinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, üç farklı ekstraksiyon yöntemi (geleneksel ekstraksiyon (GE), ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE)) ve melocan bitkisinin üç farklı kısmından (yaprak, meyve ve filiz) elde edilecek ekstraktlarda, toplam fenolik madde (TFM), toplam antioksidan kapasite miktarları ve fenolik düzeyleri incelenmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve 72 saat ekstraksiyon süresi, ultrason destekli ekstraksiyonda üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (10 dk, 20 dk, 30 dk) ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (10 dk, 15dk, 20 dk) çalışılmıştır.

2 LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Melocan (*Smilax excelsa* L.)

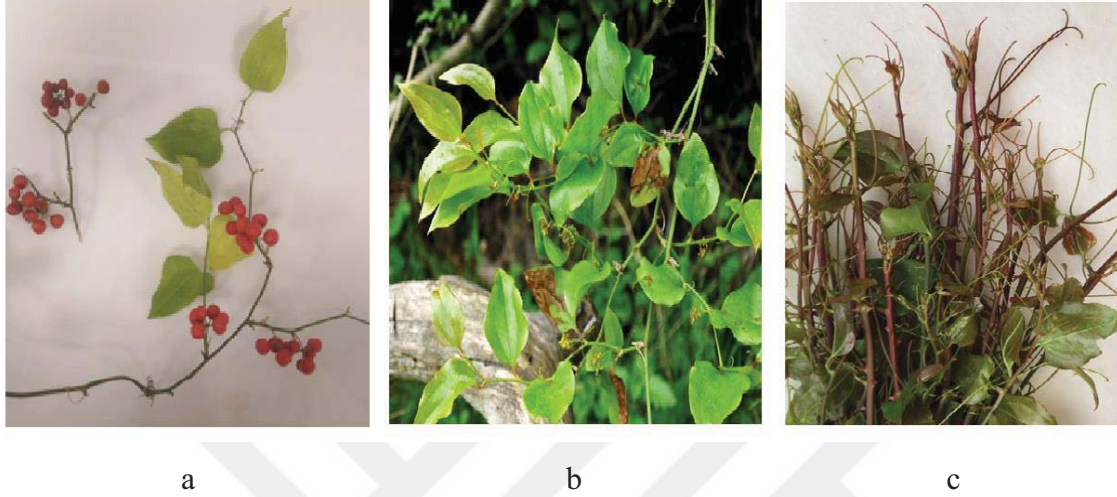
Smilax cinsi, *Smilacaceae* familyasından olup, yaklaşık 350 alt türe sahiptir. Bu alt türlerden 76 tür Çin, 24 tür Hindistan ve 29 tür ise Amerika kökenlidir. Ilıman, tropik ve yarı tropik bölgelerde yetişir. *Smilax* cinsine ait türler genel olarak “sarsaparilla” olarak bilinir. Tırmanıcı, 20 metreye kadar boylanabilen, dikenli gövdeli ve çok yıllık bitkilerdir [1-2].

Çizelge 2.1 *S. excelsa*'nın taksonomik sınıflandırılması

Alem	Plantaea
Bölüm	Angiosperms (Kapalı tohumlu)
Sınıf	Eudicots (İki çenekliler)
Takım	Liliales
Familya	<i>Smilacaceae</i>
Cins	<i>Smilax</i>
Tür	<i>Smilax excelsa</i>

Smilax cinsine ait türlerin kökleri, sapları ve yaprakları geleneksel tıpta birçok alanda kullanılmaktadır. *Smilax* cinsinin antioksidan, antibakteriyel ve antifungal etkileri gelişmiştir ve bu alanda birçok araştırma yapılmıştır. Bu bitkinin kökleri Asya ve Amerika’da uzun yıllar tonik, idrar söktürücü ve ter attırıcı olarak kullanılmıştır. *Smilax* cinsinin farmakolojik özellikleri vardır. Farklı kanser türleri, diyabet, deri kanserleri, ülser ve bazı göz hastalıklarında kullanılır [3]. *Smilax* cinsi yapısında saponozit içerir; deri hastalıkları ve cüzzamın tedavisinde kullanılır [2,4]. *Smilax* cinsinden bitkiler frengi, akut basilli dizanteri, akut ve kronik böbrek rahatsızlıkları (nefrit), ekzema, dermatit gibi cilt problemleri, idrar torbası iltihabı (sistit) ve cıva ve gümüş zehirlenmelerini tedavi etmek için kullanılır. Bu cinsin çeşitli türleri antimutajenik, antioksidan, anti inflamatuvar ve anti-nosiseptif aktiviteleri göstermiştir [5-6]. Literatür çalışmaları birkaç *Smilax* türünün fenilpropanoid glikozid, antosiyaninler, flavanoid glukozidler ve steroidal saponinler içerdiğini göstermiştir [7]. *Smilax* cinsine ait türler; uçucu yağlar, reçine, nişasta, renk maddesi ve kalsiyum okzalit vb. bileşenleri içerir. Bunun yanı sıra *Smilax* kökü, kendine özgü birkaç glikozit içerir. *Smilax* cinsi zengin flavonoid içeriğine sahiptir

[1]. Farmakolojik alışmalar bazı *Smilax* cinsinin serbest radikal süpürücü özelliğini ve antioksidan enzim aktivitelerini güçlendirdiğini ortaya koymuştur [8-9]. *Smilax* cinsine ait türlerin fenolik içeriği yüksektir. *Smilax* cinsine ait birçok türün içerdiği fenolik bileşikler izelge 2.2’de verilmiştir [1].



şekil 2.1 *S. excelsa*; meyve (a), yaprak (b), filiz (c) [3-4]

Smilax cinsinin Türkiye’de yetişen iki türü vardır. Bu türler *S. excelsa* ve *S. aspera*’dır. Bunlardan *S. excelsa*’nın yaprakları kalp şeklinde (kordat), meyveleri kremsidir ve daha çok Kuzey Anadolu’da yetişir. Diğer tür olan *S. aspera*’nın ise yaprakları ok başı (sagittat) görünümündedir ve armut şeklinde kahverengi meyvelere sahiptir. *Smilax excelsa* lkemizde özellikle Karadeniz Bölgesi’nde yaygın olarak yetişir. *S. excelsa* Türkiye’de ‘‘melocan, dikenucu, kıran, melevcan, merlen, saparna’’ gibi farklı isimlerle anılmaktadır. Halk arasında filiz, yaprak ve kökleri günlük diyetle tüketildiği gibi aynı zamanda uzun yıllardır bazı hastalıkların tedavisinde halk ilacı olarak da kullanılır [10].

Türkiye’de özellikle Karadeniz Bölgesi’nde doğal olarak yetişen melocan, çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Melocan bitkisinin kökleri kurutulup öğütülerek çay halinde tüketilir. Melocan kökünden yapılan çay terletir, kanı temizler, cilt hastalıklarına faydalıdır ve frengide kullanılır. Her iki türün filizleri taze halde sebze olarak veya haşlandıktan sonra yumurta kırılarak yenir. Taze filizler kavrularak tüketilebildiği gibi, dondurularak veya turşusu yapılarak da tüketilebilir. Yaprakları sarma şeklinde tüketilir.

Meyveleri ise taze iken yenir [11-12]. *S. excelsa* Türkiye’de geleneksel tıpta, meme kanseri, mide ağrısı ve hazımsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır [1].

S. excelsa tohumlarındaki zar “gıcır” ismiyle esneklik vermesi amacıyla sakızlara katılır. Ayrıca kırmızı renkli meyveleri *Ruscus aculeatus* bitkisinin dallarına takılarak “kokina” adı verilen süs çiçeği olarak satılır [2].

Çizelge 2.2. Çeşitli *Smilax* türlerinin içerdiği fenolik bileşikler ve geleneksel tıpta kullanıldığı alanlar

<i>Smilax</i> Türleri	Fenolik Bileşikler	Kullanım Alanları	Kaynak
<i>S. aspera</i>	pelargonidin 3-O-rutioside cyanidin 3-O-rutinoside pelargonidin 3-O-glucoside cyanidin 3-O-glucoside	Romatizma, diyabet ve menapozun rahatsız edici etkisinin azaltılması	[13]
<i>S. bockii</i>	kaempferol kaempferol-7-O-β-D-glucopiranozit kuersetin isorhamnetin (+)-dihydrokaempferol engeletin isoengeletin kaffeik asit n-butil ester	İltihap giderici olarak ve romatizma hastalıklarının tedavisinde	[1]
<i>S. china</i>	(+)-kateşin (-)-epikateşin kaempferol-7-O-β-D-glucoside	Oldukça yüksek antioksidan özelliği keşfedilmiştir. Antikanserojen etkileri hakkında birçok çalışma yapılmıştır.	[8]
<i>S. excelsa</i>	<i>trans</i> -resveratrol 5-O-caffeoylshikimic acid 6-O-caffeoyl-β-D-fructofuranosyl-(2→1)-α-D-glucopyranoside kaempferol vb.	İltihap giderici, antioksidan, antimutajenik, antikanserojen,	[14]
<i>S. riparia</i>	quercitrin smilaside M smilaside N	Diüretik, iltihaplı hastalıklar ve kanserin tedavisinde kullanılır.	[15]
<i>S. sebena</i>	chlorogenic acid cinchonain	Frengi, eklem iltihabı ve gut hastalıklarının tedavisinde kullanılır.	[1]

S. excelsa'nın bileşiminde geleneksel ekstraksiyon ile hazırlanmış ekstraktlardan elde edilen; trans-resveratrol, resveratrol, epikateşin, kaempferol, kuersetin, rutin, klorojenik asit, izoramnetin, oksiresveratrol, (+)-dihidrokaempferol, kaempferol-7-o- β -D-glukopiranoside fenolik bileşikleri bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda, izole edilen *kaempferol-7-O- β -D-glukozid* bileşiği belirgin antikanserojen özellik göstermiştir [14,16].

Özsoy ve arkadaşları [10], İstanbul çevresinden topladığı *Smilax excelsa* L. yapraklarını oda koşullarında kurutup, geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte etmiş, su, infüzyon, etanol ve etil-asetat ile dört farklı ekstraksiyon yapmıştır. Örneklerin toplam fenolik içeriği gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak 8.8-35.7 mg GAE/g kuru madde, toplam flavanoid içeriğini kateşin cinsinden 0.6-22.9 mg/g kuru madde ve DPPH radikal süpürücü aktivitesini %56.2-%88.0 olarak belirlemiştir.

Özen [17], Karadeniz Bölgesi'nde yetişen yabani yenilebilir bitkilerin antioksidan aktivitesini belirlemiştir. Toz haline getirilen kuru örnekler (20 g) Soxhlet cihazı kullanılarak etanol-su karışımı (80 etanol:20 su) ile renksiz hale gelene kadar ekstrakte edilmiştir. Filtrelenen ekstraktlar liyofilize edilerek -20°C'de dondurularak depolanmıştır. *Smilax excelsa* için; ekstraksiyon verimi 20 g ekstrakt/g kuru bitki, toplam fenolik içeriği 49.9 mg pirokateşol/g kuru ağırlık, flavonoid içeriği 12.6 mg kuersetin/g kuru ağırlık, antosiyanin miktarı 2.5 mg siyanidin-3-glukozit/g kuru ağırlık olarak belirlenmiştir.

Dehghan ve arkadaşları [18], İran'da yetişen bazı bitki türlerinin fenolik madde içeriğini, antioksidan ve antidiyabetik özelliğini belirlemişlerdir. Bu amaçla *Smilax excelsa*'nın da aralarında bulunduğu bitkilerin yaprak ve köklerini oda sıcaklığında kurutarak toz haline getirmişler ve farklı çözücüler kullanarak (metilen, etil-asetat, hekzan) geleneksel çözücü ekstraksiyonu ile antioksidan ve antidiyabetik özellikler üzerine çalışmışlardır. Bitkilerin DPPH radikal süpürücü aktivitesi için Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. *Smilax excelsa* kökünün DPPH radikal süpürücü aktivitesi; çözücü olarak metanol kullanıldığında %41.7 ve etil asetat kullanıldığında %68.3, *Smilax excelsa* yapraklarının DPPH radikal süpürücü aktivitesi ise çözücü olarak hekzan kullanıldığında %22.1 ve metanol kullanıldığında %47.1 olarak bulunmuştur. *S. excelsa* yapraklarının toplam fenolik madde içeriği metanol ekstraksiyonuyla 239 mg GAE/g kuru ağırlık

olarak ve *S. excelsa* kökünün toplam fenolik madde içeriği metanol ekstraksiyonu ile 226.7 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur.

Yeşilada ve arkadaşlarının [19], Karadeniz Bölgesi'nde yaygın olarak yetişen ve halk ilacı olarak kullanılan bitki türleri ile yaptığı araştırmada; melocan kökleri, ısırgan ve böğürtlenle hazırlanmış çayın, halk arasında meme kanseri, mide ağrısı ve şişkinliğin tedavisinde kullanıldığı tespit edilmiştir.

Ivanova ve arkadaşları [7], Varna (Bulgaristan) çevresinden topladıkları *S. excelsa* köklerini oda koşullarında kurutup öğüterek metanol ile üç kez ekstrakte etmişlerdir. Konsantre ekstrakt NMR yöntemi ile incelemiş; trans-resveratrol, naringenin, 5-O-kafeoilshikimik asit, 1-O-trans-feruloylglycerol, 1-O-trans-p-coumaroylglycerol ve 1,2-O-di-trans-feruloylglycerol bileşiklerini tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, *S. excelsa* köklerinden elde edilen ekstraktın sitotoksik etkileri üzerine veriler de verilmiştir.

Khaligh ve arkadaşları [14], oda koşullarında kurutulmuş *S. excelsa* kök ve yapraklarını etil asetat ile oda sıcaklığında 24 saat ekstrakte etmişlerdir. Farklı spektroskopik teknikler (1D ve 2D-NMR, HRMS, ECD spektroskopisi) kullanarak ekstraktlarda 5 farklı bileşen (solanesol, violasterol A, trans-resveratrol, 5-O-caffeoylshikimic acid ve 6-O-caffeoyl-β-d-fructofuranosyl-(2-1)-α-d-glucopyranoside) belirlemişlerdir.

Miser-Salihoğlu ve arkadaşları [20], Türkiye'de halk ilacı olarak kullanılan bazı bitkilerin toplam fenolik madde ve antioksidan özelliklerini belirledikleri çalışmalarında, *S. excelsa* köklerini ve filizlerini; etanol, metanol ve etil asetatın distile su ile hazırlanan %50'lik karışımları ile ekstrakte edilmiştir. Folin-Ciocalteu yöntemine göre *S. excelsa*'nın toplam fenolik madde miktarı galik asit cinsinden 645.38 µg/mL olarak bulunmuştur ve antioksidan özelliğinin oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir.

Efe [21], *S. excelsa* meyvelerinin antioksidan, antimikrobiyal ve antimutajenik etkinliğini araştırmıştır. *S. excelsa* meyve ekstraktının flavonoid içeriği 0.7985 mg kuersetin /100 mL olarak, toplam fenolik madde miktarı 11.9847 mg GAE/100 mL ve DPPH radikal süpürücü aktivitesi ise %55 olarak tespit edilmiştir. *S. excelsa* meyve dokularının potansiyel doğal bir antimikrobiyal ve antimutajenik kaynak olduğunu belirtmiştir.

S. excelsa meyvesinin içerdği flavonoidal bileşikler belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, *S. excelsa* meyveleri oda koşullarında kurutulmuş ve etanol ile ekstraksiyon yapılmıştır. Hazırlanan poliamid kolanda 115 adet fraksiyon elde edilmiş ve bunlardan 2 tanesi tanımlanmıştır. Tanımlanan flavonoidal bileşikler, “kuersetin-3,3’-dimetil eter” ve “kuersetin-3-o-glikozid” olarak belirtilmiştir [22].

Ao ve arkadaşları [23], *Smilax sebena*’nın kök ve rizomlarının antioksidan fenolik bileşiklerini; hekzan, etil asetat ve n-bütanolün sulu fraksiyonlarını kullanarak maserasyonla ekstrakte etmişlerdir. Farklı özellikte çözücü kullanılmasıyla *S. sebena*’nın farklı polaritedeki antioksidan bileşiklerinin toplanması ve ayrımı amaçlanmıştır. Öğütülmüş taze rizom ve kökler oda sıcaklığında metanolle üç kez ekstrakte edilmiştir. Toplam fenolik madde analizi ve fenolik bileşiklerin tanımlanması yapılmıştır. Tanımlanan bileşikler, klorojenik asit, 4-formilfenol, epikateşin, cinchonain IIa, cinchonain Ia ve cinchonain Ib’dir. Çalışmanın sonucunda, *S. sebena*’nın güçlü antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiş ve toplam fenolik madde miktarı 128 mg kateşin/g ekstrakte olarak bulunmuştur.

Smilax china rizomlarında belirlenen biyoaktif bileşikler; stilbenler (resveratrol, oksiresveratrol, piseid, ve skirpusin A); flavonoidler (astilbin, engeletin, isoengeletin, dihidrokaempferol-5-O-b-D-glikozit, dihidrokuersetin-3-O-glikozit, rutin, 3,5,7,3’,5’-pentahidroksi-flavanonol and kuersetin-3’-O-glikozit); fenolik asitler (vanilik asit, klorojenik asit, kafeik asit, gallik asit, gentisik asit ve kumarik asit) ve steroidal saponinlerdir [9].

2.2 Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, yapılarındaki bir yada birden fazla aromatik halkaya doğrudan bağlanmış en az bir hidroksil grubu içeren bileşiklerdir. Fenol bileşiği, benzen halkasına bir hidroksil grubunun bağlandığı fenolik bileşiklerin temel yapısını oluşturur. Aromatik halka nedeniyle, fenolik hidroksilin hidrojeni kararsızdır, bu da fenolleri zayıf asitler yapar. Polifenol kavramı ise bir veya daha fazla benzen halkasına birden fazla hidroksil grubunun bağlandığı yapılardır [24].

Fenolik bileşikler bitkilerin gelişimleri süresince ikincil olarak sentez edilen metabolitlerdir. Bitkilerin fenolik bileşikler kendilerini bazı zararlılara karşı korumak

için sentezledikleri düşünülmektedir. Bu nedenle bitkisel tüm gıdalarda farklı özellik ve miktarda çok sayıda fenolik bileşik bulunmaktadır [25]. Fenolik bileşiklerin gıdalarda bulunan miktarları; gıdanın çeşit ve cinsine bağlı olmakla beraber; coğrafi bölge, toprak yapısı ve iklim koşulları gibi etmenlerle değişebilmektedir.

Fenolik asitler ve flavonoidlerin bitkilerin savunma mekanizmasında önemli rolleri vardır [26]. Bitkilerin zedelenmesi, enfeksiyon veya aşırı UV radyasyona maruz kalma durumlarında fenolik bileşiklerin sentezlenmesi artar. Bu nedenle çevresel koşullar fenolik bileşiklerin içerik ve miktarını oldukça etkiler [27].

Fenolik bileşiklerin insan sağlığı açısından önemli işlevleri vardır. Antimikrobiyal ve antioksidan etki gösterirler. Antioksidan özellikleri, fenol halkasındaki OH grubu arttıkça artar ve meta, orto ve para sırası ile de yükselmektedir. Gallik asit fenolik bileşikler içindeki en fazla antioksidan etkiyi gösteren bileşiktir. Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize edebilir ve böylece oksidatif strese dayalı hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynar. Fenolik bileşikler o-difenol oksidaz ve β -galaktosidaz gibi bazı enzimlerin inhibisyonuna neden olur [25].

Son yıllarda yapılan çalışmalarda özellikle reaktif oksijen ve nitrojen kaynaklı oksidatif stresin, kanser, diabet, katarakt ve yaşlanma gibi çeşitli hastalıklarda rol aldığı kanıtlanmıştır. Canlı sistemlerde üretilen serbest radikallerin oksidatif stres etkisi, antioksidan özelliklerdeki bileşenler vasıtasıyla azaltılır. Bunun gerçekleşmediği durumlarda oluşan oksidatif stres birçok hastalığın temelinde yer alır [28]. Diğer bir ifadeyle; antioksidanlar hücrede çeşitli nedenlerle oluşan ve hücreye zararlı etkisi bulunan serbest radikaller ile reaksiyona girerler. Serbest radikallerin başlattığı zincir reaksiyonu durdurabilir ve yavaşlatabilirler. Böylece insan vücudundaki faydalı birçok bileşenin zarar görmesi engellenir. Serbest radikallerin oluşturduğu hasarlar son yıllarda giderek artmıştır. Günümüzde BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlar mevcut olmasına rağmen, bunların yan etkileri nedeniyle bitkisel kaynaklı antioksidanlara olan ilgi artmıştır [29].

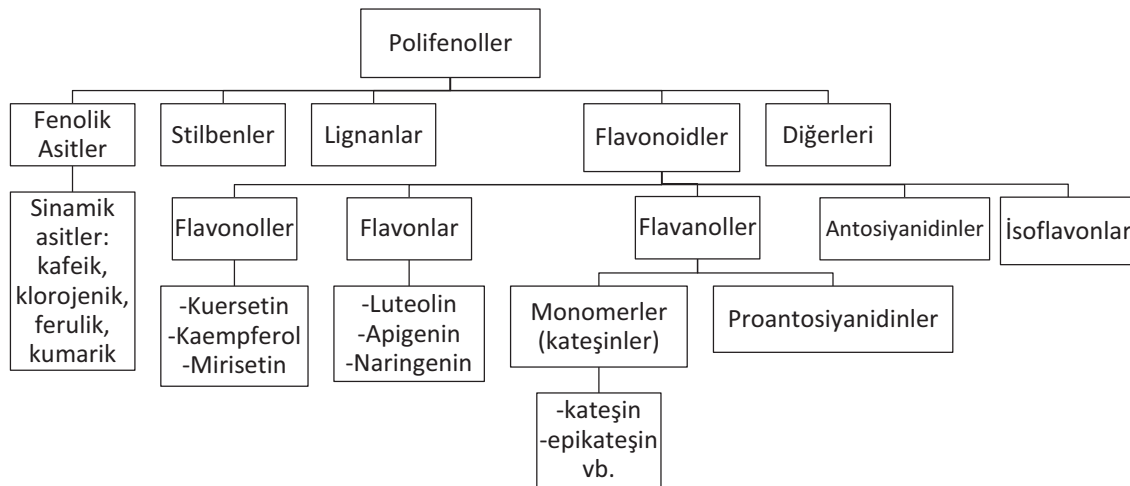
Bitkisel kaynaklı gıdaların ve içeceklerin tamamına yakınında fenolik bileşikler tespit edilmiştir. Bitkilerdeki fenolik bileşik miktarı aynı türün farklı varyeteleri arasında değişebildiği gibi, bitkilerin bazı bölümlerinde de yoğun olarak bulunabilir. Örneğin ışığa

bağımlı olduğu bilinen flavonlar ve flavonol glikozitler bitki yaprakları ve bitkinin dış kısımlarında daha yoğun olarak bulunur. Bitkisel gıdalarda genetik faktörler, çevresel şartlar, depolama koşulları, uygulanan proses ve olgunlaşma derecesi bitkinin fenolik bileşik miktarı üzerinde etkilidir [27].

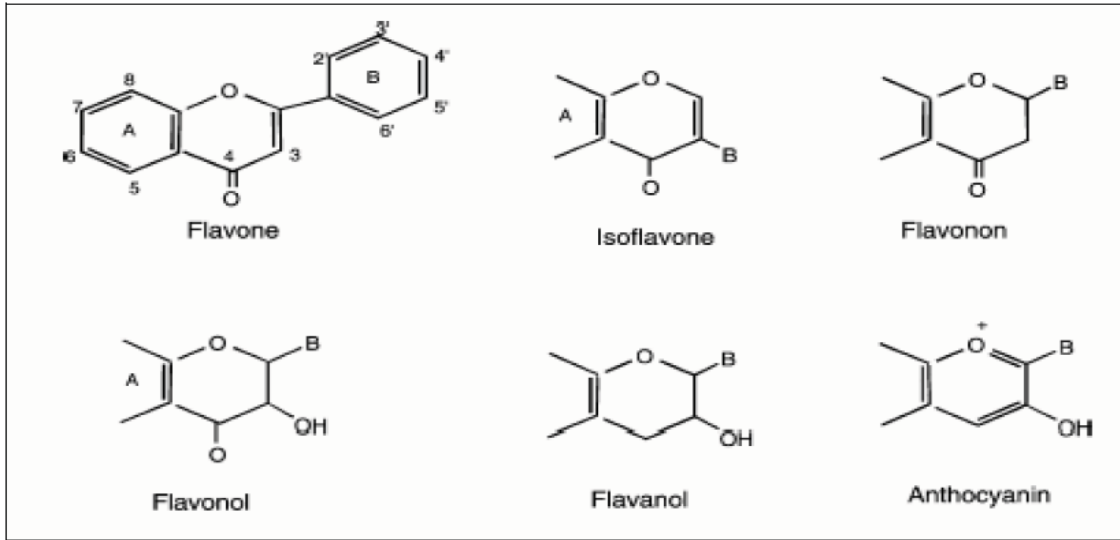
Bitkisel gıdalarda aroma ve tat oluşumunda fenolik bileşiklerin miktar ve çeşidi önemli rol oynar. Acı ve keskin tat gıdanın fenolik içeriği ile alakalıdır. Fenolik bileşiklerin oksidasyonu sebze ve meyvelerde istenmeyen renk aroma oluşumuna neden olurken, siyah çay üretimi gibi proseslerde ise arzu edilen aromanın oluşmasını sağlar [27].

2.2.1 Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

Fenolik bileşikler; en az bir hidroksil grubu içeren bir ya da birden fazla aromatik halkaya sahip moleküllerdir. Bu aromatik halkaya fenol adı verilir [30]. Fenolik bileşikler yapısındaki fenol halkası sayısına göre; fenolik asitler, flavonoidler, stilbenler, lignanlar olarak gruplandırılırlar [31] (Şekil 2.3). Fenolik asitler; hidroksibenzoik asit ve hidroksisünamik asit olmak üzere iki alt gruptan oluşur. Flavonoidler ise merkez C halkasındaki yerleşimlerine göre yapısal olarak altı gruba ayrılırlar. Bunlar; antosiyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, flavanoller ve izoflavonoidlerdir [25]. Flavonoidlerin alt gruplarının yapısal formülleri Şekil 2.3’de verilmiştir [32-33]. Bu yapısal farklılıklar, temelde aromatik halka sayısı, hidroksil grubunun sayısı ve konumuna göre değişir.



Şekil 2.2 Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması [31]



Şekil 2.3 Flavonoid bileşiklerinin yapısal formülleri

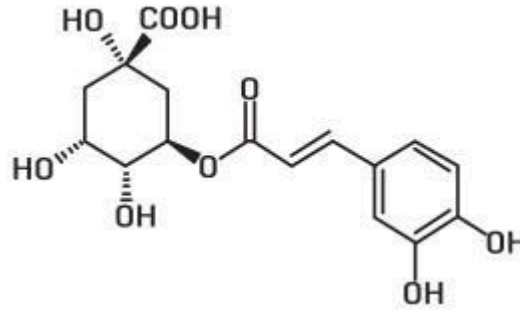
2.2.2 Fenolik asitler

Fenolik asitler genel olarak serbest halde bulunmazlar. Fenolik asitlerin büyük kısmı organik asitler ve şekerlerle esterleşmiş halde bulunur. Fenolik asitler ve fenolik asit esterleri arasında fiziksel, kimyasal ve beslenme fizyolojisi açısından büyük farklılıklar vardır. Serbest fenolik asitler insan vücudunda ince ve kalın barsaklarda absorbe edilirken, esterleşmiş fenolik asitler, insan ince barsağı esteraz enzimi içermediğinden burada absorbe edilemezler. Ancak kalın barsaklarda esteraz enzimi içeren mikroorganizma faaliyetiyle serbest fenolik aside dönüştürülürler [25].

Meyve ve sebzelerin fenolik asit içerikleri olgunluk durumları ve depolanma sürelerine bağlı olarak değişir. Bitkilerin dış yüzeyinde fenolik asit içeriği genellikle daha fazladır. Örneğin hububatta yaygın olarak bulunan ferulik asitin büyük kısmı kepekte yer alırken, patatesteki kafeik asitin %50'lik kısmının kabuk ve çevresinde olduğu belirlenmiştir [34].

Fenolik asitlerden hidroksisinamik asit C6-C3 fenilpropan, hidroksibenzoik asitler C6-C1 fenil metan yapısındadır. Hidroksisinamik asitler fenilpropan haksasına bağlanan hidroksil grubunun konumu ve sayısına göre farklı özellik gösterir. Bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunurlar. Ferulik asit, kafeik asit, o-kumarik asit ve p-kumarik asit önemli hidroksisinamik asit türevleridir. Bunlar içinde en bilineni Şekil 2.4'de gösterilen klorojenik asittir [27]. Canlı organizmalarda yapılan çalışmalar klorojenik asitin

karaciğer, kalın barsak ve dil karsinojenlerini inhibe ettiğini ve oksidatif stres üzerinde koruyucu etkisi olduğunu göstermiştir.



Şekil 2.4 Klorojenik asitin yapısı

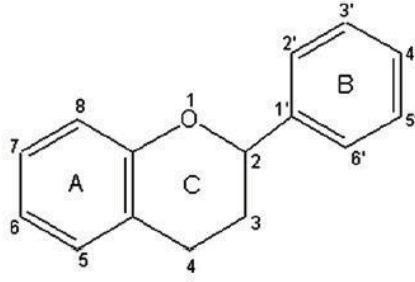
Klorojenik asit, fenilalaninden sinamik asit aracılığıyla fenilpropanoid yolla sentezlenen suda çözünebilir ikincil bir metabolittir. Kafeik ve L-kinik asitlerin esteridir. Klorojenik asitin antioksidan özelliği oldukça yüksektir. Antimikrobiyal [35], antiviral [36], sitotoksik ve antimutajenik [37] etkisi vardır. Klorojenik asit yaban mersini suyu, elma suyu ve erik suyu gibi bazı bitkisel gıdalarda yüksek oranlarda bulunur [38].

Hidroksibenzoik asitler, gıdaların yapısında genellikle iz miktarda bulunurlar ya da hiç bulunmayabilirler. Bunlar arasında salisilik asit, p-hidroksibenzoik asit, gallik asit ve vanilik asitler örnek sayılabilir. Hidroksibenzoik asitler gıdalarda genellikle şekerler, organik asitler ve lignin gibi maddelerle esterleşmiş halde bulunurlar [25].

2.2.3 Flavonoidler

Flavonoidler bitki âleminde yaygın olarak bulunurlar. C₆-C₃-C₆ difenil propan yapısındadır ve 2 adet benzen halkası ile üçlü karbon köprüsü ile birbirine bağlanmış durumdadır. Fenil grupları (A ve B) arasındaki üçlü karbon köprüsü (C) oksijenle halka oluşturmaktadır (Şekil 2.5). Flavonoidler arasındaki farklılıklar, bağlı hidroksil grup sayısı, doymamışlık derecesi ve üçlü karbon köprüsünün oksidasyon düzeyinden kaynaklanır. Kuersetin, kaempferol ve mirisetin flavonoidleri bitkiler âleminde yaygın olarak bulunan flavonoidlerdir. Flavonoidler ise genellikle O-glikozit formunda bulunur. O-glikozitler asit hidrozili ile parçalanabilirler [27].

Flavonoidler, antosiyanidinler, flavonoller, flavonlar, flavanonlar, flavanoller ve izoflavonoidler olmak üzere yapısal olarak altı farklı grupta incelenirler [25].



Şekil 2.5 Flavonoidlerin genel iskelet yapısı [25]

2.2.4 Fenolik Bileşik İçeriği Yüksek Gıdalar ve Biyoyararlılığı

Fenolik bileşikler bitki yapısında yaygın olarak bulunurlar ve besinsel fonksiyonu olmamasına rağmen sağlık üzerine olumlu etkileri vardır. Son yıllarda ortaya çıkan çeşitli hastalıklar, özellikle kanser oluşumu ve hızla yayılması bitkisel gıdalarda bulunan fenolik bileşikler üzerine ilgiyi arttırmıştır. Yapılan çalışmalar flavonoidlerin antitümör ve antikarsinojen olduğunu göstermiştir [39].

Fenolik bileşiklerin emilim ve gastrointestinal sistemdeki davranışları hakkında çok az bilgi mevcuttur. Polifenoller ekstrakte edilebilenler ve ekstrakte edilemeyenler olarak iki gruba ayrılabilir. Ekstrakte edilebilen polifenoller; su, metanol ve sulu aseton gibi çözücülerde çözülebilen, düşük ve orta dereceli molekül ağırlığına sahip bileşiklerdir. Ekstrakte edilmeyen polifenoller ise yüksek molekül ağırlığına sahip bileşikler, proteinler veya diyet liflere bağlanan, su ve metanol gibi çözücülerde çözünmeyen bileşiklerdir. Çözünür formda olmayan fenolik bileşik miktarı analiz edilememektedir. Bunların miktarının flavonoidlerden daha fazla olduğu düşünülmektedir [40]. Ekstrakte edilebilir polifenollerin tamamına yakını ince barsakta emilirken, ekstrakte edilmeyen polifenoller ise bozulmadan ve emilime uğramadan atılır [27].

2.2.5 Fenolik Bileşiklerin Antioksidan Aktivitesi

Fenolik bileşiklerin antioksidan ve antitümör etkileri vardır. Serbest radikalleri yok ederek bunların kalp rahatsızlığı ve kanser gibi hastalıkları tetikleyici etkilerini yok eder. Yapılan çalışmalarda fenolik antioksidanların tüketimi ile bazı kanser türlerinin azalması arasında bir korelasyon gözlenmiştir [40].

Tekli fenoller tek başına antioksidan etki göstermezken, orto ve para difenolik bileşikler antioksidan etki gösterir. Fenolik bileşikler içerisinde flavonoidlerin antioksidan

kapasitesi en yüksektir. Flavonoid yapısına bağlanan hidroksil grubu sayısının artması antioksidan kapasiteyi artırırken, yapıya bağlanan şekerler tam tersi etki yapar [27].

Diyette en yaygın olarak bulunan polifenoller flavonoidlerdir. Farmakolojik özellikleri arasında antialerjik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antikanserojen ve antidiyare özellikleri vardır. Rutin, kuersetin, kafeik asit, resveratrol ve kaempferol gibi bazı fenolik bileşiklerin sağlığı geliştirici etkileri vardır. Örneğin, benzer kimyasal yapıdaki rutin ve kuersetin birçok ülkede kan damarı koruması için ilaç olarak kullanılırken, resveratrol ve ilgili bileşiklerin antikarsinojen, antiinflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal ve yaşlanma karşıtı özellikleri vardır [41].

2.2.6 Antioksidan Kapasitesi ve Ölçümünde Kullanılan Yöntemler

Oksijen aerobik solunumun temel gereğidir ancak oksidasyon sırasında hücreye büyük zarar verebilir. Vücuda alınan oksijen, oksidatif fosforilasyon ile bir yandan enerji üretirken diğer yandan serbest radikal kaynağı olan ve toksik etki gösterebilen reaktif oksijen türlerini (ROS) oluşturabilmektedir. Serbest radikaller, dış yörüngelerinde ortaklanmamış (eşlenmemiş) elektron taşıyan organik ve inorganik moleküllerle reaksiyona giren, kısa ömürlü ve yüksek reaktif bileşiklerdir. Çevre kirliliği, kimyasal maddeler, UV ve X ışınları, ilaçlar, virüsler stres ve sigara dumanı gibi etkenler serbest radikal oluşumunu artırabilir. Canlı organizmalarda serbest radikallerin sebep olacağı olumsuz etkileri ortadan kaldırmak ya da yavaşlatma için antioksidan savunma sistemleri mevcuttur. Ancak bazı durumlarda bu antioksidan sistemler serbest radikallerin olumsuz etkisini tamamen ortadan kaldıramaz. Bu durumda oksijen kaynaklı reaktif radikallerin ve ara ürünlerin hücrede aşırı miktarda oluşmaları nedeniyle oksidatif stres oluşur [29].

Antioksidanlar, kolayca okside olabilen maddelerin oksidasyonunu engelleyen veya büyük ölçüde geciktiren maddelerdir. Hidroperoksit (H_2O_2), peroksil radikal ($ROO^\cdot$) ve süperoksit anyon (O_2^-) gibi reaktif oksijen türleri, aerobik organizmalarda elektron taşıma zinciri ve aktif fagositoz gibi metabolik yollarla devamlı olarak oluşur. Reaktif oksijen türleri DNA, protein ve lipid gibi makromolekülleri etkileyerek oksidatif hasara neden olurlar. Ancak reaktif oksijen türleri doğal olarak; katalaz ve süperoksit dismutaz gibi spesifik enzim sistemleri ile suda ve yağda çözünebilen ürik asit ve tokoferol gibi protein yapısında olmayan bileşikler tarafından engellenmektedir. Eğer reaktif oksijen oluşumu biyolojik sistemlerin antioksidan kapasitesini aşarsa oksidatif stres oluşur [42]. Özellikle

reaktif oksijen ve nitrojen kaynaklı oksidatif stresin, kanser, diyabet, katarakt ve yaşlanma gibi çeşitli hastalıklarda rol aldığı kanıtlanmıştır. Canlı sistemlerde üretilen serbest radikallerin oksidatif stres etkisi antioksidan bileşikler vasıtasıyla azaltılır. Bunun gerçekleşmediği durumlarda oluşan stres birçok hastalığın temelinde yer alır [28]. Oluşan serbest radikal ve oksidatif stresin kanser, damar tıkanıklığı, şeker hastalığı ve sıtma gibi birçok hastalıkla ilişkisi olduğu tespit edilmiştir [29,43].

Bir diğer ifadeyle; antioksidanlar hücrede çeşitli nedenlerle oluşan ve hücreye zararlı etkisi bulunan serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri ile reaksiyona girerler. Serbest radikallerin başlattığı zincir reaksiyonu durdurabilir ve yavaşlatabilirler. Böylece insan vücudundaki faydalı birçok bileşenin zarar görmesi engellenir. Gıdalarla antioksidanların vücuda alınması kanser, kardiovasküler hastalıklar gibi çeşitli hastalıkların önlenmesinde ve yaşlanma sürecinin geciktirilmesinde önemli rol oynar [42].

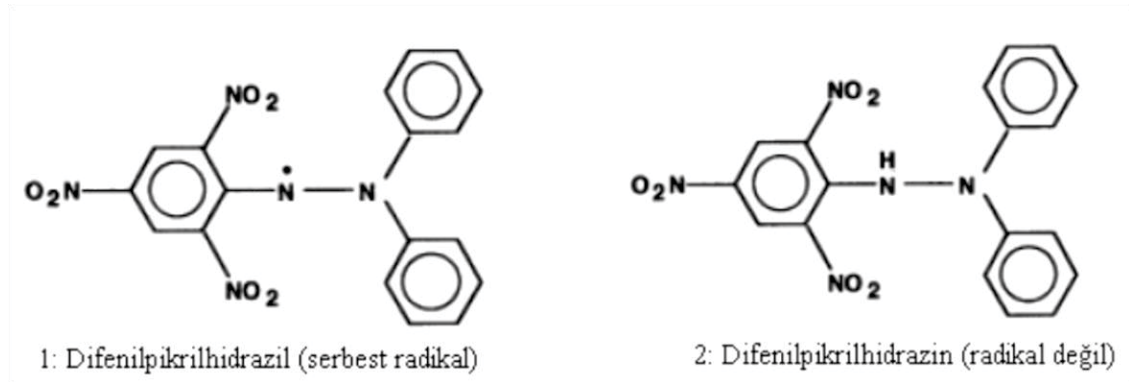
Antioksidanlar temelde doğal ve sentetik antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılır. Sentetik antioksidanlar yapısında çeşitli derecelerde alkil bulunduran fenolik yapıda bileşiklerdir. Doğal antioksidanlar ise fenolik bileşikler (tokoferoller, flavonoidler ve fenolik asitler), nitrojen bileşikler (alkoloidler, klorofil türevleri, aminoasitler ve aminler), karotenoidler ve askorbik asittir. Bütillenmiş Hidroksi Anisol (BHA) ve Bütillenmiş Hidroksi Toluen (BHT) gibi sentetik antioksidanlar bu yüzyılın başlangıcından beri antioksidan olarak kullanılmaktadır. Ancak günümüzde sentetik antioksidanların karsinojen etkileri nedeniyle kullanımı kısıtlanmaktadır [17]. Bu nedenle bitkisel kaynaklı doğal antioksidanlara olan ilgi artmıştır [29]. Son araştırmalar, fenolik bileşikler ve flavonoidlerce zengin diyetle beslenmenin uzun yaşam süresi ile ilişkili olduğunu göstermiştir [44].

Antioksidan kapasitesinin ölçülmesi için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemler temelde hidrojen atomu transfer reaksiyonlarına dayanan yöntemler ve elektron transferine dayanan yöntemler olarak ikiye ayrılabilir. Hidrojen atomu transferine dayalı yöntemler azo-bileşiklerin bozulması sonucu oluşan peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın rekabetine dayanan yöntemlerdir. Bunlar; oksijen radikal absorban kapasite (ORAC), toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametre (TRAP) ve krosin beyazlatma yöntemidir. Elektron transferine dayanan yöntemler ise renk değişimi farkından yararlanarak antioksidanın oksidantı indirgeme yeteneğini ölçer. Bu yöntemler; Folin

Ciocalteu ayracı ile toplam fenolik yöntemi (FCR), Troloks eşiti antioksidan kapasite (TEAC), demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP), bakır (II) oksidanyla toplam antioksidan potansiyel yöntemi (CUPRAC) ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemidir [42].

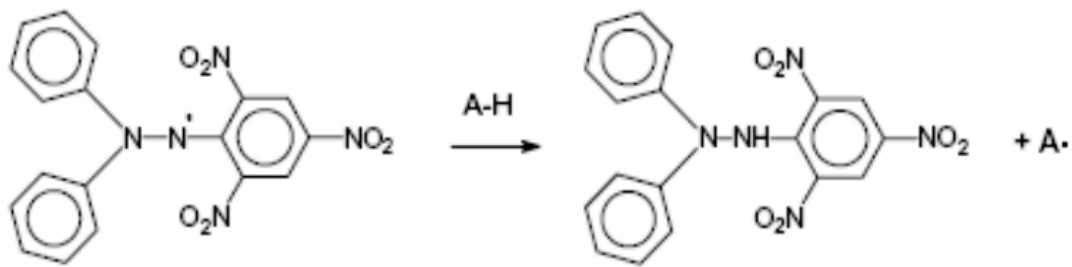
2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi

DPPH radikali ticari olarak elde edilebilen stabil yapıda organik bir nitrojen radikalidir. DPPH radikalinin yapısı ve radikal olmayan formu difenilpikril hidrazin Şekil 2.6'de gösterilmiştir. DPPH 515 nm'de maksimum absorbans verir.



Şekil 2.6 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)'in moleküler yapısı [45]

DPPH radikalinde bir serbest elektronun yer değiştirmesi ile menekşe rengi oluşur. DPPH içeren solüsyon hidrojen atomu verebilen antioksidan bir madde ile karıştırıldığında DPPH indirgenir ve koyu menekşe renk kaybolur. Antioksidan (A-H) tarafından DPPH serbest radikaline proton transferi 517 nm'de absorbansın azalmasına neden olur (Şekil 2.7). DPPH-H indirgenmiş formudur. A[•] ise ilk adımda oluşturulan serbest radikaldir. Bu süreç görünür alanda absorbans sabitlenene kadar takip edilir. Bu renk farkından yararlanarak spektrofotometrik olarak ölçüm yapılır.



Şekil 2.7 DPPH radikalinin antioksidan (A-H) ile reaksiyonu

DPPH yöntemi bitki ve gıda ekstraktlarının serbest radikal söndürücü aktivitesinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Teknik olarak hızlı ve basittir ancak bazı dezavantajlara sahiptir. DPPH uzun ömürlü bir nitrojen radikalidir ve lipit peroksidasyonunda rol alan oldukça reaktif ve kısa ömürlü peroksil radikallerinden farklıdır. Birçok antioksidan peroksil radikalleri ile hızla reaksiyona girerken DPPH ile reaksiyona yavaş girebilir veya hiç reaksiyona girmeyebilir [45].

2.3 Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin bitki matrislerinden ekstraksiyonu başlıca şu adımları içermektedir.

1. Örneklerin hazırlanması: Bitkinin tabiatına göre, kurutma, öğütme, hidroliz, eleme ve filtrasyon gibi aşamaları içerir.
2. Ekstraksiyon: Katı-sıvı ekstraksiyon veya sıvı-sıvı ekstraksiyon gibi geleneksel yöntemlerle veya gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerinin kullanılması ile analitin sıvı faza geçirilmesi aşamalarını içerir.
3. Temizleme ve izolasyon: katı faz ekstraksiyonu veya sıvı-sıvı faz ekstraksiyonu gibi yöntemler uygulanarak analitin saflaştırılması yoluna gidilebilir.
4. Spektrofotometrik yöntemler: Toplam fenolik içeriği (Folin-Ciocalteu yöntemi), toplam proantosiyanidinler (bütanol-HCL, vanilin, DMAC yöntemi vb.), toplam hidrolize edilebilir taninler, toplam antioksidan kapasitesi (DPPH, ORAC, ABTS vb.) spektrofotometrik tekniklerle belirlenir.
5. Gelişmiş analitik teknikler: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, gas kromatografisi ve kütle spektrofotometresi gibi gelişmiş analitik tekniklerle fenolik bileşiklerin kalitatif ve kantitatif analizi yapılır.

Bilimsel çalışmalarda kalitatif ve kantitatif verilerin elde edilebilmesi için en önemli adımlardan ilki örneklerin ekstraksiyon yönteminin belirlenmesidir. Ekstraksiyon bilimsel çalışmanın ilk adımıdır ve nihai sonuç üzerinde önemli rol oynar. Doğru ekstraksiyon yönteminin uygulanması ile daha doğru sonuçlar elde edilmesi muhtemeldir. Gıdalardan istenilen bileşenlerin ekstraksiyonu için zaman içinde çok

çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Ancak fenolik bileşenlerin ekstraksiyonu için standart olarak tek bir yöntem kabul edilememektedir [46]. Doğal matrislerin karmaşıklığı, fenolik bileşiklerin polaritesi, kimyasal yapısı ve numunedeki nispi miktarlarındaki muazzam farklılıklar ve karmaşıklıklar göz önüne alındığında, standart bir ekstraksiyon protokolünün uygulanamayacağı açıktır [31].

Fenolik bileşikler, bitkilerin yaprak, gövde, çiçek, kök ve meyve gibi kısımlardan elde edilebilir. Ancak elde edilecek fenolik bileşiğin karakterine göre ekstraksiyon yöntemi seçilmelidir. Bitki parçasının doğası, kullanılan çözücü çeşidi, miktarı, sıcaklık, basınç ve zaman girdileri ekstraksiyon işlemini etkileyen en yaygın parametrelerdir. Bunun yanı sıra uygulanacak ekstraksiyon yöntemi de bitki doğası, diğer parametreler, pratik ve çabuk olması, kullanılan kimyasal özellikleri gibi parametreler de göz önüne alınarak belirlenmelidir.

Fenolik bileşikler çevre şartlarına oldukça duyarlıdır. Bu nedenle fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda, degradasyonu engellemek için deney, parametrelerini hassas bir şekilde kontrol etmek ve uygulamak gerekir [52].

Geleneksel ekstraksiyon teknikleri, Soxhlet ekstraksiyonu, maserasyon ve hidrodistilasyon olarak 3 ana başlık altında incelenebilir.

Soxhlet ekstraksiyonu temelde lipit ekstraksiyonu için tasarlanmış olsada günümüzde, çeşitli kaynaklardan değerli biyoaktif bileşiklerin çıkarılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca yeni ekstraksiyon tekniklerinin karşılaştırılmasında da kullanılır. Oldukça yüksek miktarda saf çözücü gerektirir. Yüksek sıcaklıklarda çalışıldığından fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimini azaltabilir. Ekstraktan çözücünün uzaklaştırılması için vakumlu evaporasyon gibi ek işlemler gereklidir ve çözücünün bir kısmı yine de ekstrakt içerisinde kalır.

Maserasyon uçucu yağ ve biyoaktif bileşiklerin çıkarılmasında popüler ve ucuz bir yoldur. Maserasyonda bitki küçük parçacıklar halinde öğütülerek yüzey alanı artırılır. Ardından kapalı bir kap içerisine alınır ve uygun bir çözücü eklenerek bir süre bekletilir. Sıvı süzülür, katı atık preslenerek içerisindeki çözünmüş maddeler de çıkarılır. Ancak ekstraksiyon genellikle uzun sürelerde gerçekleşir.

Hidrodistilasyon ise biyoaktif bileşikler ve uçucu yağların elde edilmesinde kullanılır. Üç tip hidrodistilasyon vardır: Su damıtma, su ve buhar damıtma, doğrudan buhar damıtma. Hidrodistilasyon yönteminde su ve buhar kullanılır, organik çözücüler kullanılmaz. Bu yöntem ile ekstrakte edilebilecek biyoaktif bileşen sayısı sınırlıdır.

Soxhlet ekstraksiyon yönteminde çok fazla çözücü kullanılması, yüksek sıcaklık uygulamaları, maserasyonun spesifik biyoaktif bileşikler için kullanılamaması ve hidrodistilasyonda yüksek ekstraksiyon sıcaklığı nedeniyle uçucu bileşiklerin kaybolması gibi istenmeyen ve doğaya zararlı olabilecek olumsuz özellikleri vardır.

Geleneksel ekstraksiyonda daha uzun ekstraksiyon süresi, maliyetli ve yüksek saflıkta çözücü gereksinimi, çözücünün büyük oranda buharlaşması, düşük ekstraksiyon seçiciliği ve termo kararsız bileşiklerin ayrışması gibi başlıca zorluklar geleneksel olmayan ekstraksiyon tekniklerinin gelişmesinde rol almıştır. Geleneksel olmayan ekstraksiyon tekniklerinin bazı ortak özellikleri şunlardır: Güvenli ve daha az miktarda kimyasal madde içerir. Enerji verimliliği yüksektir. Sistem tasarımının yapılmasıyla çözücüler tekrar kullanılabilir. Spesifik maddelerin ekstraksiyonu için kullanılabilirler. Zararlı kimyasal kullanımı ve miktarının azaltılması gibi özellikleri nedeniyle çevre dostu tekniklerdir. Ultrason Destekli Ekstraksiyon, Darbeli-Elektrik Alan Çıkarma, Enzim Destekli Ekstraksiyon, Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon, Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu ve Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu günümüzde kullanılan geleneksel olmayan ekstraksiyon teknikleridir [47].

2.3.1 Geleneksel Katı-Sıvı Ekstraksiyonu (KSE)

KSE bileşikleri katı bir örnekten çıkarılması için sıvı bir çözücü kullanma prosesidir. Ekstre edilecek bileşikler spesifik matriks bileşikleri olabilir. KSE sırasında çözelti içine alınan bileşikler katı matriks üzerinde adsorbe edilebilir veya katı örnekte bir karışım halinde çeşitli formlarda bulunabilir. Bu nedenle KSE'ye ek olarak ekstraksiyona yardımcı başka işlemler gerekebilir. Parçacık boyutunun küçültülmesi, sonikasyon ve bazı özel ekstraksiyon prosedürleri (sonikasyon, mikrodalga uygulaması, solventin sıcaklık ve basıncının değiştirilmesi vb.) bu amaçla uygulanabilir [48].

Çözücü seçimi; KSE'de kullanılan çözücünün seçimi fenolik bileşiğin karakteristiğine ve kullanılacak kromatografik yöntem için çözücü eşleşmesine bağlıdır. Hidrofilik karakterli

fenolik bileşikler için genellikle su veya sulu tamponlar kullanılabilir. Suda sınırlı çözünürlüğe sahip analitler için, bazik bileşiklerin ekstraksiyon verimini arttırmak için $pH < 7$ olan sulu tamponlar kullanılır. Bu şekilde analit molekülleri ayrışır ve sulu çözücü içindeki çözünürlüğü artar [48].

Organik çözücüler, metanol, asetonitril, etanol ve izopropanol KSE’de yaygın olarak kullanılır [48]. Çözücü miktarı dikkate alınması gereken bir faktördür ve numune miktarından fazla olmalıdır. Yetersiz çözücü hacmi tamamlanmamış ekstraksiyona neden olur.

Ekstraksiyon işlemi, numune ve çözücünün kapalı bir şişeye yerleştirmesiyle yapılabilir. Elle çalkalama yapılabilir veya mekanik çalkalayıcılar kullanılabilir [48]. KSE farklı sıcaklıklarda ve ekstraksiyon sürelerinde karıştırılarak, ısıtılarak ve geri akışla gerçekleştirilebilir. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda en yaygın ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı, oda sıcaklığında 15 dakika-72 saat ve çözücü olarak su, etanol/su ve metanol/su karışımlarıdır [31].

Gonzales ve arkadaşları [49], karnabahar atıklarının toplam fenolik içeriğini belirlemek amacıyla homojenizatör kullanarak oda sıcaklığında 45 s metanol ekstraksiyonu ve 60°C’ de 30 dakika ultrasonik destekli ekstraksiyon (37kHz) yapmışlardır.

Sun ve arkadaşları [50], bazı ticari örneklerin fenolik asit içeriğini belirlemek amacıyla etil asetat kullanarak geleneksel ekstraksiyon uygulamışlardır. Gelişmiş analitik tekniklerle 11 monomerik lignin fenolik bileşiği tespit etmişlerdir.

Sharma ve arkadaşları [51], *Cyamopsis tetragonoloba* L.’nin toplam fenolik içeriğini belirlemek amacıyla gelenekse ekstraksiyon yapmışlardır. Örnekler %70 metanol çözücüsü kullanılarak oda sıcaklığında 72 saat ekstrakte edilmiştir.

Parikh ve Patel [52], *Manilkara hexandra*’nın flavonoid ve fenolik asit analizi yapmışlar ve toplam fenolik içeriğini belirlemişlerdir. Yıkanan, kurutulan ve öğütülen örnekler %80 metanol kullanılarak (pH 2.0) oda sıcaklığında bekletilmiştir. Analitlerin santrifüj ve filtrasyonun ardından HPLC-DAD analizleri yapılarak 11 adet fenolik asit ve flavonoid belirlenmiştir.

Çizelge 2.3 Katı örneklerin çeşitli ekstraksiyon tekniklerinin karşılaştırılması [48]

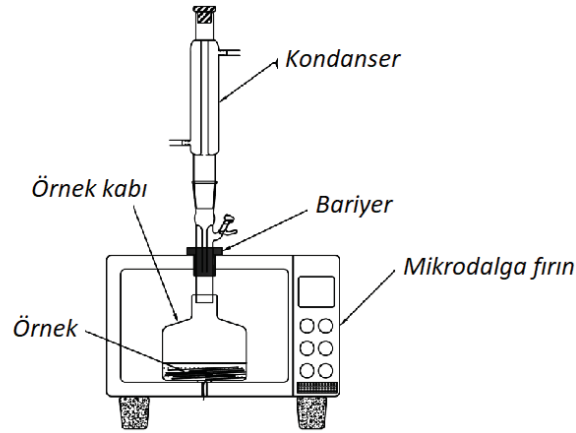
Ekstraksiyon tekniği	Solventin tipik hacmi (mL)	Tipik çıkarma süresi
Soxhelet	300	4–48 s
Sonikasyon	100-200	30–60 dk
Süperkritik sıvı	8-50	30–120 dk
Hızlandırılmış çözücü	15-40	12-18 dk
Mikrodalga	25-50	30–60 dk

Melocan bitkisinden fenolik bileşiklerin eldesi için geleneksel ekstraksiyon teknikleri sıklıkla kullanılmıştır. Çözücü ilavesi ve ardından belirli bir süre bekletilmesi işlemine ek olarak sıcak su banyosu veya çalkalamalı inkübatörler gibi teknikler de kullanılmıştır. Örneğin; Dehghan ve arkadaşları [18], melocan yapraklarının fenolik içeriğini belirlemek amacıyla, 100 g kurutulmuş bitki kısmını 400 mL n-hekzan ile ekstrakte edebilmek için 48 saat süreyle maserasyon uygulamıştır. Başka bir çalışmada, kurutulan melocan meyveleri öğütüldükten sonra metanol kullanılarak çalkalamalı inkübatörde oda sıcaklığında 24 saat ekstrakte edilmiştir [21]. Khaligh ve arkadaşları [14], kurutulmuş melocan kök ve yapraklarını (3.5 kg) oda sıcaklığında 10 L etil asetat ile 24 saatlik 5 uygulama ile ekstrakte etmiştir. Miser-Salihoğlu ve arkadaşları [20] melocandaki biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için dört farklı çözücü (etanol, metanol, etil asetat ve su) ve çalkalayıcı kullanarak 105 dakika ekstraksiyon uygulamıştır.

2.3.2 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE)

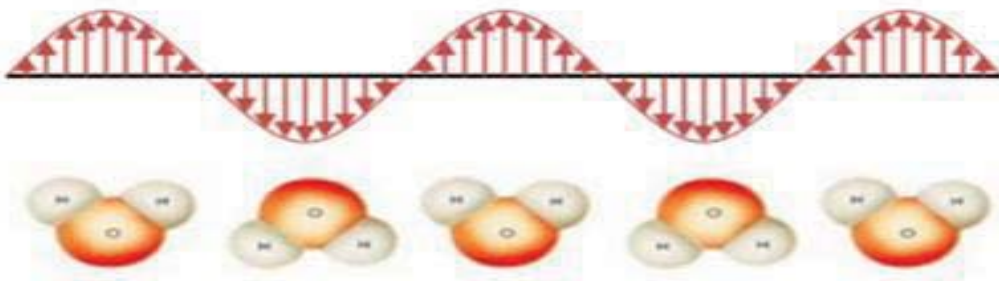
Mikrodalgalar, elektromanyetik spektrumda radyo dalgaları ile yüksek frekanslı kızılötesi dalgalar arasında yer alan elektromanyetik dalgalardır. Dalga boyları 1mm - 1m arasında değişir. Mikrodalgalar, 300 MHz-300 GHz arasında çok geniş bir frekans aralığında bulunmalarına rağmen, endüstriyel, bilimsel ve tıbbi uygulamalarda kullanımı sınırlıdır. Genel olarak 915 MHz ve 2.45 GHz yaygın olarak kullanılan mikrodalga frekanslarıdır [53]. Bu frekanslar tipik bir mikrodalga jeneratörü olan magnetron ile elde edilmektedir. Endüstriyel uygulamalarda mikrodalga jeneratörleri onlarca kilowatt (kW) güç değerine ulaşabilirken, laboratuvar ölçekli cihazlar genellikle 1kW'nin altındaki değerleri kullanır [54]. Şekil 2.8'de laboratuvar ölçekli geri soğutucu düzeneğe sahip bir mikrodalga ekstraktörü gösterilmiştir.

Mikrodalgalar gıda endüstrisinde gıdaların pişirilmesi, donmuş gıdaların çözündürülmesi, temperleme, kurutma, pastörizasyon, ısıtma ve ekstraksiyon gibi işlemlerde kullanılmaktadır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ise, hedeflenen bileşiklerin bir çözücü yardımıyla mikrodalga işlemine tabi tutulup çıkarılması esasına dayanır [53].



Şekil 2.8 Mikrodalga destekli ekstraksiyon düzeneği

Mikrodalgalar, magnetron adı verilen özel elektron tüplerinde elektrik enerjisinin belli dalga boyundaki elektromanyetik radyasyona dönüştürülmesiyle elde edilir. Mikrodalga sistemleri temelde üç parçadan oluşur. Bunlar; mikrodalga kaynağı (magnetron), dalga yönlendiricisi ve aplikatördür. Magnetron, merkezinde elektron emici bir katot bulunduran vakum tüpüdür ve kaviteler oluşturan bir anot yapısı ile çevrelenmiştir. Mikrodalga işleminde polar özellikteki su moleküllerinin hareketi ile ısı oluşur ve oluşan ısı sayesinde ekstraksiyon verimi artar [53].



Şekil 2.9 Su moleküllerinin elektrik alanla etkileşimi [53]

Mikrodalgaların çalışma prensibi, başlıca iyon iletimi ve dipol rotasyonu (dönme) vasıtasıyla moleküllere mikrodalganın etkimesidir. İyonik iletim, uygulanan manyetik

alanla birlikte iyonların elektroforetik göçüdür. Çözücü bu iyon akışına direnç gösterir ve sürtünme yoluyla çözücü ısınır. Dipol rotasyon ise, uygulanan manyetik alan nedeniyle dipollerin yeniden düzenlenmesidir [55].

Gıda matriksinde dağınık halde bulunan polar yapıdaki su molekülleri uygulanan elektrik alanın yönüne göre hizalanır ve elektrik alanın salınımına göre dönme hareketi yapar (Şekil 2.9). Su moleküllerinin hareketiyle birlikte moleküller arasındaki sürtünmeyle birlikte ısı oluşur ve bu ısı sayesinde çözünme oranı ve dolayısıyla ekstraksiyonun etkinliği artar [56].

Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonun Avantajları

Mikrodalga destekli ekstraksiyonun başlıca avantajlarından biri, ekstraksiyon süresinin azaltılmasıdır. Bu durum geleneksel ısıtma ile mikrodalga ısıtma arasındaki temel farklılıktan kaynaklanır. Geleneksel ısıtma da ısı çözeltiye aktarılmadan önce kabının ısıtılması için bir süreye ihtiyaç vardır, mikrodalgalar ise doğrudan çözeltiyi ısıtır. Bu durumda sıcaklık gradyanı minimumda kalırken, ısıtma hızı artar. Isının homojen dağılmasını sağlar ve böylece yüzeyde aşırı ısınmaların yaratacağı olumsuz etkinin de önüne geçilmiş olur. Ayrıca uygulanan elektirik alanının çoğu da ısıya dönüşür ve kayıp düşüktür. Mikrodalga ısıtma geleneksel ısıtma yöntemlerine kıyasla %50'ye kadar daha verimli bulunmuştur. Bu nedenlerle ekstraksiyon daha hızlıdır. Hem ekstraksiyon verimi hem de enerji verimi daha yüksektir [53,56]. Ilımlı sıcaklık değerlerinde çalışılması ve işlem süresinin kısa olması nedeniyle ekstraksiyon sırasında fenolik maddelerin degradasyonu düşük düzeydedir [57].

MDE'de geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla az miktarda çözücü ile ekstraksiyon gerçekleştirilir, yeşil bir teknolojidir ve dakikalarla ifade edilen kısa sürelerde ekstraksiyon yapmak mümkündür.

Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Mekanizması

Dielektrik ısıtma, mikrodalgalar veya yüksek frekanslı radyo dalgaları kullanılarak yapılan ısıtmadır. Bir materyal dielektrik özelliklerine bağlı olarak mikrodalgaları yansıtabilir, absorbe edebilir veya absorbe etmeden geçirebilir. Materyalin dielektrik

özellikleri ise permitivitesi ile alakalıdır. Permitivite, bir materyalin elektromanyetik dalgalara cevabını gösteren bir terimdir ve ϵ ile gösterilir (Eşitlik 1) [58].

$$\epsilon = \epsilon' - j \epsilon'' \quad (\text{Eşitlik 1})$$

Dielektrik sabiti (ϵ') materyalin oluşan enerjinin ne kadarını depolayabileceğini, dielektrik kayıp faktörü (ϵ'') materyalin oluşan enerjinin ne kadarını absorbe edip ısıya dönüştürebileceğini ve j ise karmaşıklığı ($\sqrt{-1}$) ifade etmektedir [53]. Dielektrik kayıp faktörü ise, mikrodalga enerjisinin bir materyali aşarken uğradığı enerji kaybıdır. Dielektrik kayıp faktörü yüksek gıdalar mikrodalga etkisiyle daha çabuk ısınırlar. Dielektrik kayıp faktörü, materyalin sıcaklığına, kimyasal bileşimine, fiziksel durumuna ve elektromanyetik dalganın frekasına bağlı olarak değişir. Bununla birlikte ısı, sadece malzemenin dielektrik kayıpları varsa yani enerjinin bir kısmını emerse oluşur. Bu nedenle emilen enerji, dağıtma faktörü (δ) olarak elde edilir (Eşitlik 2) [59].

$$\tan \delta = \epsilon'' / \epsilon' \quad (\text{Eşitlik 2})$$

MDE teknolojisi, kullanılan çözücünün mikrodalga enerjisini absorblaması ve ısınması temeline dayanır. Etanol, metanol ve su gibi polar çözücüler kaynama noktasına kadar ısınır ve sonra örnek matrisi içerisinde yayılarak analiti çözerler [60]. Elektrik enerjisinin termal enerjiye dönüşüm oranı ise şu şekilde hesaplanır (Eşitlik 3);

$$P = K \cdot f \epsilon' E^2 \tan \delta \quad (\text{Eşitlik 3})$$

Burada P , birim hacim başına uygulanan mikrodalga gücü, K sabit, f frekans, ϵ' dielektrik sabiti, E elektirik alan gücünü ifade eder [61].

Mikrodalga Destekli Ekstraksiyona Etki Eden Faktörler

Frekans; mikrodalga frekansı ekstraksiyon süresini etkiler. Mikrodalga frekansı arttıkça, gıdaya ulaşan elektromanyetik penetrasyon azalır. Bu nedenle frekans çalışılan gıdaya özgü seçilmelidir [56].

Mikrodalga gücü; MDE ekstraksiyonuna etki eden bir diğer parametredir. Mikrodalga gücü arttıkça ekstraksiyon hızı da genellikle artar ve analitin ekstraksiyon süresi azalır ancak daha yüksek mikrodalga gücü artan maliyet anlamına gelir [53,62]. Bunun yanında mikrodalga gücündeki artış ekstraksiyonun her zaman yüksek verimde olacağı anlamına gelmez. Artan güç ile birlikte sıcaklık da yükselir ve termolabil bileşikler degrade olabilir. Bu nedenle optimum güç değerinin belirlenmesi önemlidir [53].

Ekstraksiyon sıcaklığı; mikrodalga gücünün artması ile artar ve ekstraksiyon verimini artırır. Yüksek sıcaklıklarda vizkozite ve yüzey gerilimi düşeceğinden çözücünün çözme etkinliği artar.

Ekstraksiyon süresi: ekstraksiyon verimi sürenin artışı bir noktaya kadar artar ancak bu noktadan sonra süre artışıyla birlikte sıcaklık da artar. Dolayısıyla sıcaklığın fenolik bileşiklerin etkileneceği değerlere çıkarsa verim azalır. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda MDE süresi yaklaşık 2 dakikadır. Gelişmiş ekstraksiyon teknikleriyle kıyaslandığında çok hızlı bir ekstraksiyon yöntemi olarak düşünülebilir.

Çözücü cinsi; mikrodalga enerjisinin etkisi güçlü bir şekilde çözücünün ve katı matrisin doğasına bağlıdır. Genellikle yüksek dielektrik sabitine sahip çözücüler seçilir ve bu çözücüler mikrodalga enerjisini güçlü bir şekilde emer. Ekstraksiyon seçiciliği ve ortamın mikrodalga ile etkileşime girme yeteneği, çözücü karışımları kullanılarak değiştirilebilir. MDE’de kullanılan bazı çözücülerin fiziksel sabitleri Çizelge 2.4 ‘de verilmiştir.

Gıdanın kütlesi; aynı hacimde olup kütlesi daha yüksek olan gıdalar genellikle düşük olanlara kıyasla daha fazla mikrodalga gücü absorblar. Eğer toplam kütle düşük ise kesikli bir sistem daha uygun olabilir [53].

Bitki materyalinin içinde bulunan su miktarı; mikrodalgayı absorbe etmesi ve dielektrik özelliklerini etkilemesinden dolayı ekstraksiyona etki eder. Dolayısıyla bitkinin kurutulmuş veya taze olması ekstraksiyon verimini etkiler [53].

Spigno ve Faveri [64], siyah çaydaki fenolik maddeleri MDE ve geleneksel demleme yöntemi ile ekstrakte etmiştir. Mikrodalga ile 210 saniyelik geleneksel demlemeye kıyasla %43 daha fazla fenolik madde elde etmiştir.

Yang ve Zhai [65], mor mısırdaki 19 dakikalık mikrodalga destekli ekstraksiyonu (555 W, 1.5 M HCL:%95 etanol,15:85, v/v)ile elde edilen antosiyanin içeriğinin, 60 dakikalık geleneksel ekstraksiyondan %14.4 daha fazla olduğunu belirlemiştir.

Çizelge 2.4 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonda Kullanılan Çözücülerin Fiziksel Özellikleri [48,63]

Çözücü	Dielektrik sabiti, ϵ' (20°C)	Dielektrik kayıp faktörü, (ϵ'')	Dielektrik moment, μ (D) (25°C)	Yayınım faktörü ($\tan \delta \times 10^{-4}$)	Kaynama noktası (°C)
Hekzan	1.89	0.00019	<0.1	na	69
Etil asetat	6.02	3.2	1.78	5.32	77
Aseton	20.7	11.5	2.69	5.55	56
Etanol	24.3	6.1	1.69	2.50	78
Metanol	32.6	15.3	2.87	6.40	65
Asetonitril	37.5	2.3	3.92	na	82
Su	78.5	12.0	1.87	1.57	100

na; mevcut değil

Bir mikrodalga fotondaki enerji (0.037 kcal/mol), bir moleküler bağın kırılması için gerekli olan tipik enerjiye göre (80-120 kcal/mol) çok düşüktür. Bu nedenle, moleküllerin mikrodalga uyarımı, bir organik molekülün yapısını etkilemez ve etkileşim tamamen kinetiktir [56].

İnce ve arkadaşları [66-67], kurutulmuş ısırgan otunun fenolik içeriğini farklı ekstraksiyon yöntemleri ile belirlemiştir. Bu amaçla, geleneksel ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemlerini karşılaştırarak, optimum ekstraksiyon koşullarını belirlemiştir. Ekstraksiyon süresi (5-30 dk), çözücü oranı (1:10, 1:20, 1:30) seçilmiş, sıcaklık ve güç sabit tutulmuştur. Çalışmada kısa ekstraksiyon süreleri ile optimum sonuç alınabileceği gösterilmiştir.

Alara ve arkadaşları [68], mikrodalga destekli ekstraksiyon ve Soxhlet ekstraksiyonu uygulayarak *V. amygdalina* yaprağının toplam fenolik içeriğini belirlemiştir. Soxhlet ekstraksiyonu ile 480 dakikada yapılan ekstraksiyonun verimi ve toplam fenolik içeriği, 10 dakikalık MDE'den daha düşük bulunmuştur.

Krishnan ve arkadaşları [69], *T. bellerica* meyvelerinin flavonoid içeriğini MDE ve geleneksel ekstraksiyon ile belirlemişlerdir. Mikrodalga ısımasının fenolik bileşiklerin stabilitesi üzerindeki etkisinin ihmal edilebilir olduğunu ve geleneksel ekstraksiyon ile elde edilenlerle aynı olduğunu göstermişlerdir.

2.3.3 Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE)

Ultrasonik ses (ultrason), insan işitme üst sınırı olan 20 kHz'in üzerindeki ses dalgalarıdır. Ultrasonik frekansın üst limiti için keskin bir ayırım olmamakla birlikte, genellikle gazlar için 5 MHz, katı ve sıvılar için 500 MHz değerine ulaşabilir [70].

Ultrason gıdalarda; filtrasyon, köpük giderme, gaz giderme, depolimerizasyon, pişirme, ekstrüzyon, kesme, donma ve kristalleşme, buz çözme, kurutma, etin tenderizasyonu, marinasyon, sterilizasyon ve pastörizasyon uygulamaları gibi birçok prosesinde başarı ile kullanılmaktadır. Filtrede tıkanıklık oluşturan unsurları kavitasyon ve mikrojet etkileri ile parçalayarak etkin bir süzme işlemi sağlar. Nişastanın depolimerizasyonunda ultrason aktif olarak kullanılmaktadır. Geleneksel pişirme yöntemlerinde dış kısım fazla pişerken iç kısım pişmemiş olabilir. Ultrasonun gelişmiş ısı transfer özelliği sayesinde kızgın yağa ısı uygulandığında hem düzgün bir kızartma yapılmakta hem de enerji tüketimi bir hayli azalmaktadır. Ultrason aynı zamanda fırıncılık ürünleri ve peynir gibi hassas ürünlerin düzgün dilimlenmesinde de kullanılır. Bu sayede ürün israfı ve bakım maliyetlerini de en aza indirir. Ultrasonun ısı transferine olumlu katkısı sayesinde yiyeceklerin daha kısa sürede kurutulması sağlanır. Bunlar ve benzeri birçok uygulamada ultrason başarı ile kullanılmakta ve kullanımı hakkında araştırmalar devam etmektedir [71]. Bunun yanında ultrasonun ekstraksiyon üzerine etkileri hakkında birçok çalışma yapılmıştır ve bu çalışmalar gelecek vadetmektedir.

Ultrason, titreşim, basınç, şok dalgaları, kayma kuvvetleri, mikrojetler, sıkıştırma, akustik akış ve kavitasyon gibi fiziksel ve kimyasal olaylardan sorumludur. Ultrasonun ekstraksiyon işlemindeki ana etkisi ise akustik kavitasyondur. Ultrason bir ortam içine yayıldığında moleküller arasında bir dizi sıkıştırma ve boşluk oluşumuna neden olur. Yinelenen bir şekilde mikro kabarcıkların oluşması ve çökmesi "akustik kavitasyon" olarak bilinir. Kavitasyon oluşması ve etkileri ultrasonun frekans ve şiddetine, ortam özelliklerine (vizkozite, yüzey gerilimi vb.) ve ortam koşullarına (sıcaklık, basınç vb.) bağlıdır [72].

Ultrason etkisi, basınç dalgalarının elastik özelliklere sahip fiziksel bir ortamdan yayılması sonucu oluşur. Mekanik titreşimler mekanik basınç dalgalarına dönüşerek enerjiyi ortama ve ortam da dalgayla temas eden maddeye aktarır. Ultrasonik dalgalar, moleküllerin sıkışması veya birbirinden uzaklaşmasına bağlı olarak basınç değişimine neden olurlar [73].

Herhangi bir andaki akustik basınç (P_a), sıcaklık (t) ve frekansa (f) bağlıdır (Eşitlik 4).

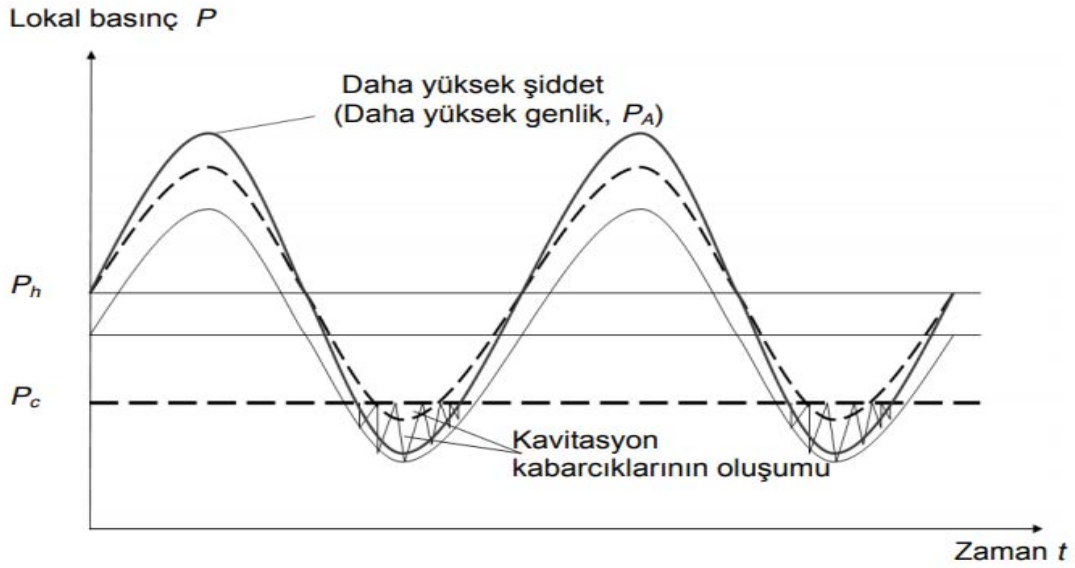
$$P_a = P_A \sin 2\pi ft \quad (\text{Eşitlik 4})$$

Burada P_A ise basınç genliğini ifade eder. Üretilen ses dalgalarının enerjisini ifade etmek için ses şiddeti (W/cm^2) terimi kullanılır. Şiddet, dalga tarafından birim alanda birim zamanda taşınan enerjidir.

Ses dalgasını ortama yaymak için ultrasonik ses üreten cihazlar kullanılır. Bu cihazlar alternatif akımı bir dönüştürücü vasıtasıyla mekanik titreşimlere dönüştürürler. Sıvı ortamlarda ortamın basıncı (hidrostatik basınç, P_h) ultrasonik frekansla uygulanan akustik basınç ile birlikte artar. Herhangi bir anda oluşan yeni basınç Eşitlik 5’de verilmiştir.

$$P = P_h + P_a \quad (\text{Eşitlik 5})$$

Sıkışma evresinde basınç pozitifdir ve moleküller arası ortalama uzaklık azalır. Seyrelme evresinde ise moleküller arası uzaklık artarken, basınç negatif değerlere ulaşır. Basınç kritik değerin (P_c) altına düştüğünde moleküller arası ortalama uzaklık molekülleri bir arada tutmak için gerekli kritik değerin üzerine çıkar ve sıvı kırılarak kavitasyon (boşluk) oluşur (Şekil 2.10) [73].



Şekil 2.10 Kavitasyon kabarcıklarının oluşumu

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon veriminin ultrasonla artırılması, ultrasonik dalganın geçişi sırasında çözücüde üretilen kavitasyonla açıklanır. Ultrases uygulanması sırasında kavitasyon kabarcıkları üretilir ve sıkıştırılır. Sıkıştırmanın neden olduğu basınç ve sıcaklıktaki artış nedeniyle kabarcık çöker. Kabarcığın çöküşü ile oluşan bir “şok dalgası” karışımın içerisinde geçer ve katı yüzeyine çarpar [74]. Ultrasona maruz kalan bitkisel dokularda fiziksel değişimler meydana gelir. Katı yüzeyine çarpan mikrojetler nedeniyle hücre duvarı hasar görür, hücre zarı inceler, hücrenin bozulur ve hücre içine daha fazla çözücü nüfuz eder. Böylece doku içerisindeki biyoaktif bileşiklerin çözücü fazına kütle aktarımı gerçekleşir [73]. Bazı durumlarda kavitasyon çökmez ve uygulanan ultrasonla aynı frekansta titreşir. Bu titreşim aynı zamanda çözücünün karışmasını sağlar ve mekanik karıştırma etkisi nedeniyle kütle aktarımı kolaylaşır. Katılarda bu basınç değişimleri süngerin sıkılıp bırakılması gibi bir etki yapar. Bu “sünger etkisi” katı fazdaki biyoaktif bileşiklerin dışarı çıkmasını ve dış ortamdaki çözücünün katının içine girmesini sağlar [75].

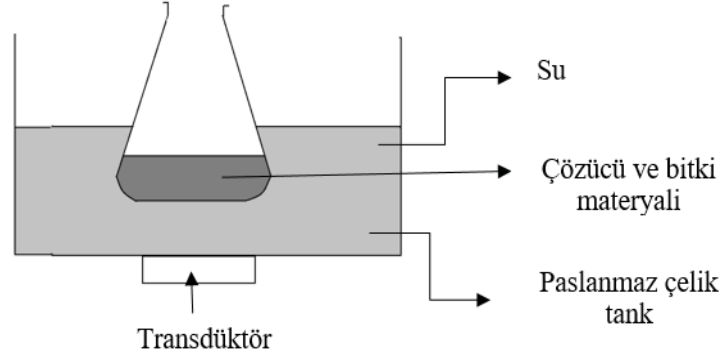
Ultrasonik ekstraktörün dizaynı önemli bir parametredir. Ultrasonik kaynağın yakınlarında maksimum ultrasonik güç bulunurken, uzaklık arttıkça ultrasonik etki azalmaktadır. Dalgaların sabit kalmasını önlemek için karıştırma ve çalkalama yapılır [73].

Wang ve arkadaşları [76], buğday kepeğinden fenolik bileşiklerin ultrasonik destekli ekstraksiyonu ile ilgili çalışmalarında, ekstraksiyon için en uygun koşulların %64 etanol konsantrasyonu ile 60 °C’de 25 dakika süreyle uygulanan ultrasonik ekstraksiyon olduğunu vurgulamıştır.

Rodrigues ve arkadaşları [77], Hindistan cevizi kabuğu tozunda bulunan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda 150 W ve 25 kHz’lik ultrasonik banyo kullanmışlardır. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu maksimuma çıkaran optimum koşulların, %50 etanol:su (v:v) çözeltisi (ph 6.5), çözücü-katı oranı 50:50, 30 °C sıcaklık ve 15 dakika ultrasonik ekstraksiyon olduğunu belirlemiştir.

Yüksek güçlü ultrason, iki tip cihaz, ultrasonik banyo veya prob tipi ultrason ekipmanı kullanılarak uygulanabilir. Her iki sistem de ultrason gücünün kaynağı olarak bir dönüştürücüye dayanmaktadır. Piezoelektrik dönüştürücü, ultrasonik reaktörlerin çoğunda kullanılan en yaygın tiptir. Ultrasonik banyo, en yaygın olarak bilinen ultrasonik cihaz türüdür, genellikle bir veya daha fazla ultrasonik transdüserle sahip bir paslanmaz çelik tanktan oluşur. Ultrasonik banyolar genellikle yaklaşık 40 kHz frekansta çalışır ve sıcaklık kontrolü ile donatılmış olabilir. Ultrasonik banyolar ucuzdur, kolayca temin edilebilir ve çok sayıda örnek aynı anda ekstrakte edilebilir. Bununla birlikte, prob sistemleri ile karşılaştırıldığında, düşük tekrarlanabilirlik ve düşük güç önemli dezavantajlarıdır [78].

Transdüktör elektrik enerjisini ultrasonik ses dalgasına çevirir. Kap içerisinde öğütülmüş bitki parçaları ve uygun çözücü bulunmaktadır. Ultrasonik dalgaların oluşturduğu kavitasyon baloncukları, şok dalgaları ve mikrojetler nedeniyle bitki dokusunda fiziksel hasar meydana gelir. Çözücü bitki matrisinin iç kısımlarına daha kolay nüfus eder ve ekstrakte edilecek bileşiklerin dış ortama çıkmasını sağlar (Şekil 2.11).



Şekil 2.11 Ultrasonik banyo[79]

Ultrason Destekli Ekstraksiyonun Çevresel Etkisi

UDE, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin aksine daha düşük miktarlarda çözücü kullanılan çevreci ve yeşil bir teknolojidir. Ultrason kullanılarak ekstraksiyonlar yüksek tekrarlanabilirlik ile dakikalar içinde tamamlanabilir. Örneğin, portakal kabuğunun fenolik içeriği Soxhelet yöntemi ile 6 saatte gerçekleştirilirken, UDE ile 15 dakika da ekstraksiyon tamamlanmıştır [80]. Soxhelet ekstraksiyonu gibi geleneksel bir ekstraksiyon metodu için normalde ihtiyaç duyulan enerjinin ve atık suyun sadece bir kısmı ile ultrasonik ekstraksiyon gerçekleştirilir. Soxhlet yönteminde ısıtma için gerekli enerji 8 kWh iken; UDE’de ultrason için gerekli elektrik enerjisi sadece 0.25 kWh ‘dir [78]. Atık su oranı azdır. Ayrıca saf çözücü gerektiren geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin aksine, ultrasonik ekstraksiyonda genellikle alkol:su karışımları kullanılır.

Ultrasonik Destekli Ekstraksiyonu Etkileyen Faktörler

Temiz ve yeşil bir UDE sistemi tasarlarken dikkat edilmesi gereken birkaç faktör vardır. Reaktörün seçimi (ultrasonik banyo/prob), çalışma frekansı, uygulanan ultrasonik güç veya yoğunluk, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığı ve çözücü tipi ve oranı gibi özellikler önemli UDE parametreleridir [72].

Ultrasonik frekans; frekans ne kadar düşükse kavitasyon kabarcığının o kadar büyük olduğu bilinmektedir. Bu nedenle yüksek güçlü ultrasonun düşük frekansları (~20 kHz) daha şiddetli kavitasyon oluşturur [81]. Çünkü akustik kavitasyon oluşabilmesi için döngü sırasında bir gecikme süresine ihtiyaç vardır. Frekans yüksek olursa seyrelme fazı çok kısa sürede gerçekleşir. Seyrelme fazının uzunluğu ultrasonik frekans ile ters

orantılıdır; bu nedenle yüksek frekanslarda kavitasyon oluşturmak için daha büyük genlik ve şiddet gerekir [71]. Frekans kavitasyon oluşumunun yanı sıra kütle aktarımına da neden olur. UDE’de en sık kullanılan frekanslar 20 kHz ile 100 kHz arasındadır. Daha yüksek frekans kullanımı ultrasonun neden olduğunu fiziksel etkinin azalmasına neden olur. Bazı çalışmalarda ise, frekanstaki değişiklikler ile seçici ekstraksiyon yapılabileceğini göstermiştir. Örneğin, Chukwumah ve arkadaşları [82], fıstıklardan 25 kHz’de elde edilen fenolik bileşiklerin 80 kHz’de elde edilenlere göre seçici (farklı tür ve miktarda) ekstrakte edildiğini bildirmiştir.

Ultrasonik güç; ekstraksiyon verimi üzerinde etkilidir. Daha kısa süre de ekstraksiyon verimini artırır ve bazı durumlarda son ürünlerin oranında da değişikliğe neden olabilir[81]. Ultrasonik gücün ölçümünde; optik mikroskoplar, alüminyum folyo yöntemi ve kalorimetrik yöntem [83] vb. yöntemler kullanılır. Bu yöntemler ultrason uygulandığında matrisdeki fiziksel ve kimyasal özellikleri ölçerek transfer edilen enerjiyi tahmin eder. Örneğin kalorimetrik yöntemde, cihazdan gelen gücün ortamda yayılan ısıya dönüştüğü düşünülür ve etkili ultrason gücü Eşitlik 6’ya göre hesaplanır.

$$P = m \cdot C_p \cdot \frac{dT}{dt} \quad (\text{Eşitlik 6})$$

Burada, C_p sabit basınçta çözücünün ısı kapasitesidir ($J/g^{\circ}C$), m çözücünün kütlesi (g), dT/dt birim zamana karşı sıcaklıktaki değişimi ifade eder. Gıda endüstrisinde genellikle minimum gücün kullanılması şeklinde çalışmalar optimize edilmek istenir.

Ultrasonik yoğunluk (şiddet), birim yüzeyden iletilen enerji olarak ifade edilir. Birimi W/cm^2 ’dir. Ultrasonik yoğunluk (UI) Eşitlik 7’den hesapılır.

$$UI = \frac{P}{S} \quad (\text{Eşitlik 7})$$

UI ultrasonik yoğunluk, W/cm^2 ; P , Eşitlik 6’da hesaplanan ultrasonik güç (W) ve S transdüktörün etki alanı (cm^2)’dır [71].

Sıcaklık; gıdaların fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerine etkilidir. Fenolik bileşikler sıcaklığa duyarlı bileşiklerdir, yüksek sıcaklıklarda yapıları kolayca bozulur. Ekstraksiyon işleminde bu nedenle yüksek sıcaklık uygulamalarından kaçınmak gerekir.

Nitekim narenciye kabuklarının fenolik içeriğinin UDE ile belirlendiği bir çalışmada (su banyosu; 60 kHz, 1500 mL, 3.2 W, çözücü; %80 metanol, 15-40 °C, 10-60 dk), fenolik bileşiklerin ekstraksiyon veriminin hem zaman hem sıcaklık arttıkça arttığını; ancak bir dereceden sonra sıcaklıktaki artışın verimde azalma oluşturduğu gözlenmiştir [84]. Bunun yanında sıcaklıktaki artış kütle transferini de artırır. Çözücü difüzivitesindeki artışla birlikte ekstraksiyon verimini de artırır.

Reaktör tasarımı; UDE'yi etkileyen parametrelerdendir. Reaktör, ultrasonik banyo veya prob şeklinde olabilir. Banyonun hacmi, geometrisi ve fiziksel özelliklerine dikkat edilmelidir. Ayrıca transdüktörün kap içerisindeki konumu ve etki alanı da önemlidir [78].

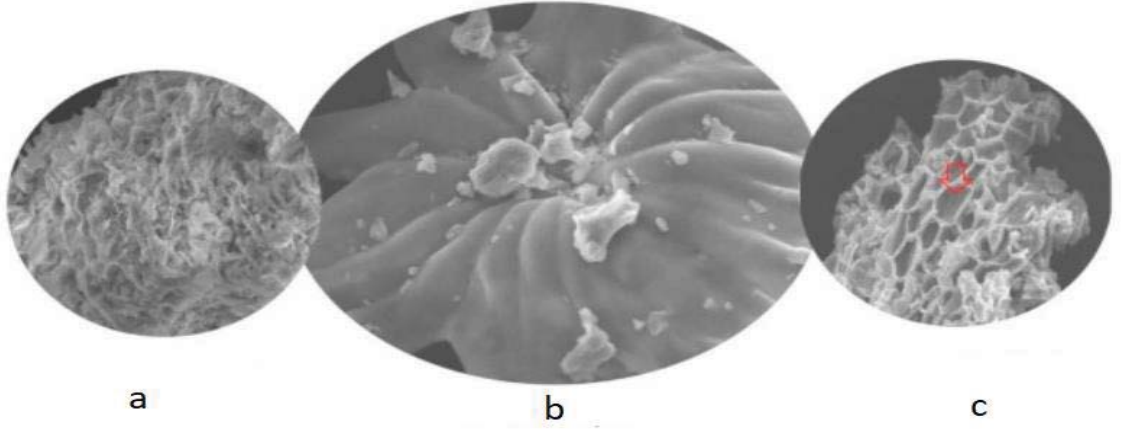
Yüksek güçlü ultrasonik problar genellikle ekstraksiyon verimlilikleri için tercih edilir ve kısa ekstraksiyon süresinde verimi arttırabilir. Ekstraksiyon için yüksek yoğunluklu bir prob seçerken, hedef bileşiğin sıcaklık duyarlılığı ve çözücülerin yanıcılığı göz önünde bulundurulmalıdır. Ortamın sıcaklığını 50-85 °C'ye çıkarabilen yüksek yoğunluklu ultrasonik problar, sıcaklık duyarlılığına bağlı olarak hedef bileşiğin bozulmasına yol açabilir [72]. UDE için prob tipi bir sistem ultrasonik banyo sisteminden daha iyi ekstraksiyon verimine izin verir. Ultrasonik prob ile doğrudan numuneye ultrasonik enerji uygulanır ve enerji kayıpları minimumdur. Bajerová ve arkadaşları [85] yaptıkları bir çalışmada, ultrasonik banyo ve ultrasonik prob ile çeşitli bitkilerden antioksidanların ultrasonik ekstraksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre, ultrasonik banyo sistemine kıyasla, prob sistemi kullanılarak antioksidan kapasitenin ve antioksidan ekstraksiyon seviyelerinin anlamlı düzeyde yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Ancak, Adam ve arkadaşları [86], ultrasonik banyo kullanılarak antioksidan bileşikler için daha yüksek değerler gözlemlendiğini ve benzer ekstraksiyon koşulları altında çeşitli bitki örneklerinden ekstrakte edilen antioksidanların antioksidan kapasitesinde önemli bir farklılık bulunmadığını belirtmişlerdir. Her iki çalışmada da benzer ultrasonik frekanslar ve güç seviyeleri kullanılmıştır. Bariz farklılıkların kaynağının, materyal matrislerindeki farklılıklar ile diğer iç ve dış faktörlere bağlı olduğunu rapor etmişlerdir. Dolayısıyla, prob tabanlı sistemlerin ultrasonik banyolardan daha üstün olduğunu genelleştirmek uygun olmayacaktır. Ancak, proses verimliliği ve enerji kayıpları açısından, ekstraksiyon amacıyla ultrasonik prob tabanlı sistem tercih edilebilir [72].

Çözücü seçiminde dikkatli olunmalıdır çünkü geleneksel ekstraksiyon için uygun olan bir çözücü UDE için uygun olmayabilir. Çözücünün yüzey gerilimi ve buhar basıncı gibi faktörler kavitasyonu etkiler. Yüksek buhar basınçlarında uçucu hale getirilmiş çözücü kavitasyona nüfus ederek çöküşünü yumuşatacaktır [81].

Ekstraksiyon süresi; herhangi bir ekstraksiyon için optimum bir ekstraksiyon süresi vardır. Çok uzun sürelerde ekstraksiyon yapılırsa, ekstrakte edilebilir fenolik bileşikler bozulabilir veya verim, enerji ve işlem maliyetlerini telafi etmez. UDE'deki asıl amaçlardan biri yüksek ekstraksiyon verimi elde etmektir. Bu nedenle optimum ekstraksiyon süresinin belirlenmesi önemlidir [81]. Buğday kepeğinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunun yapıldığı bir çalışmada, 5 g buğday kepeğine 10 ile 50 dakika arasında sonikasyon uygulanmıştır. Toplam fenolik içerik 30. dakikaya kadar belirgin şekilde artarken, bu süreden sonra 50 dakikaya kadar sabit kalmıştır [76].

Örnek matrisi; parçacık boyutu, çözücü-matris etkileşimleri de UDE'yi etkileyen parametrelerdendir [72].

Geleneksel ekstraksiyon, hücre yapısına bir hasar vermez, fakat hücre içeriğinin çözücü içerisine aktarılması nedeniyle hücre içi boşalır. Hücre duvarlarının kademeli olarak bozunması ise ultrason ile elde edilir: 30 dakikada hücre duvarları çeşitli derecelerde etkilenir ve 60 dakikalık işlemle hücre yapıları tamamen kırılır ve tanımlanmamış şekillere dönüştürülür (Şekil 2.12). Bu şekilde oluşan hücre bozunması nedeniyle çözücünün matrisin iç kısımlarına eriştiği varsayılmaktadır [78]. Bu nedenle ultrasonik ekstraksiyonla çözücü ve analit arasında interaksiyon geleneksel yöntemlere göre daha fazla olur ve ekstraksiyon verimin UDE'de artması beklenir.



Şekil 2.12 İşlem Yapılmamış (b), Geleneksel Ekstraksiyon (a) ve Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (c) Uygulanmış Materyalin Mikroskopik Görüntüsü [72]

Özetle, yapılan literatür çalışmasında melocanın fenolik içeriğinin ve antioksidan özelliğinin yüksek olduğunu bildiren geleneksel yöntemle yapılmış birkaç çalışma yapılmıştır, ancak gelişmiş ekstraksiyon teknikleriyle yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmanın amacı melocanın yaprak, meyve ve filizlerinin içerdiği toplam fenolik madde miktarının, toplam antioksidan kapasitesinin gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri ile belirlenmesi ve uygun etanol konsantrasyonu ve sürenin belirlenmesidir.

3 MATERYAL ve YÖNTEM

Melocan (*Smilax excelsa* L.) bitkisinin üç farklı kısmının (yaprak, meyve ve filiz) içerdiği fenolik bileşikler, üç farklı ekstraksiyon yöntemi (geleneksel, mikrodalga destekli ve ultrason destekli ekstraksiyon) kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde (TFM) miktarları, toplam antioksidan kapasite miktarları (TAK) ve fenolik düzeyleri incelenmiştir. Bu amaçla, geleneksel ekstraksiyon yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve 72 saat ekstraksiyon süresinde, ultrasonik ekstraksiyon yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (10 dk, 20 dk, 30 dk) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (10 dk, 15dk, 20 dk) çalışılmıştır. Ekstraksiyonlar iki tekrarlı olarak yapılmıştır ve her tekrar için üç paralel şekilde çalışılmıştır. Sonuçlar elde edilen altı sonucun ortalaması şeklinde verilmiştir.

3.1 Materyal

Bu çalışma kapsamında kullanılan melocan (*Smilax excelsa* L.) örnekleri Tokat ili Niksar ilçesi ve Ordu ili Ünye ilçesinden toplanmıştır. Melocan filizleri ve yaprakları 2018 yılı Mayıs ve Haziran ayında, olgunlaşmış meyveleri ise aynı yıl Ekim ayında toplanmıştır. Dikenli gövdeden ayrılarak temizlenen filiz, yaprak ve meyveler oda koşullarında (26°C) ve gölgede kurutulmuştur. Kurutulan örnekler plastik torbalara konularak ekstraksiyon süresine kadar buzdolabında +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Buzdolabındaki bütün haldeki örnekler, ekstraksiyon işleminden kısa bir süre önce mutfak tipi bir öğütücü (Arzum) kullanılarak öğütülmüştür. Örneklerin öğütülmesinde fazla ısınmanın önüne geçmek amacıyla öğütücü 10 saniye aralıklarla çalıştırılmıştır. Daha sonra öğütülen bitki kısımları 2 mm’lik elekten geçirilmiş ve analizlerde elek altı materyal kullanılmıştır Elde edilen toz plastik torbalara konularak ekstraksiyon işlemine kadar +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.2 Kullanılan Ekipman ve Kimyasallar

Kullanılan ekipmanlar; ultrasonik banyo (Advantage Lab AL04-12-230, 800W, 38 kHz, 12.75 L, Belçika), mikrodalga fırını (Vestel MD 20 MB, 230V-240V, 50 Hz, Türkiye),

spektrofotometre (G10S UV-VIS, Thermo Fisher Scientific, ABD); Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (Agilent 1100 Series); dedektör (VWD-Agilent 1100 series), kolon; LC2, C18 (250 x 4.6 mm x5 µm) (Teknokroma, Barcelona, Spain)'dır.

Kimyasallar; etanol, metanol, DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikali, troloks ((±)-6-hidroksi-2,5,7,8,-tetrametilkroman-2-karboksilik asit), sodyum karbonat (Na₂CO₃), Folin-Ciocalteu ayracı, formik asit Sigma firmasından temin edilmiştir.

Fenolik bileşik standartları Sigma firmasından temin edilmiştir. Kullanılan standart maddeler; gallik asit, klorojenik asit, kuersetin, resveratrol, kaempferol, epikateşin, kaempferol-7-o-β-D-glukopiranozit ve izoramnetin'dir.

3.3 Materyallerin Kuru Madde ve Kül Analizi

Kurutulmuş yaprak, meyve ve filizlerde kuru madde analizi ve kül analizleri gravimetrik yöntemle yapılmıştır [87].

3.4 Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

3.4.1 Fenolik Bileşiklerin Geleneksel Ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin geleneksel ekstraksiyonu maserasyon yöntemi ile yapılmıştır. Oda sıcaklığında kurutulmuş ve toz haline getirilmiş yaprak, filiz ve meyve örneklerinden 5 g tartılarak 100 mL hacimli volumetrik cam balona aktarılmıştır. Çözücü olarak üç farklı konsantrasyonda etanol çözeltisi (%40, %50, %60 etanol, v/v, suda) hazırlanmıştır. Üzerine etanol çözeltisinden eklenerek hacim çizgisine tamamlanmıştır. Balonun kapağı kapatılmıştır ve çözücünün materyalle teması için balon alt-üst edilerek birkaç kez karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında (26 °C) ve karanlıkta 72 saat süreyle bekletilmiştir. Örnekler, 72 saatin sonunda kaba filtre kâğıdı kullanılarak alüminyum folyo ile kaplanmış erlene süzölmüştür. Süzöntü vakit kaybedilmeden sızdırmaz kapaklı, hava geçirmez plastik numune kaplarına alınmıştır. Kaplar ileri analizler yapılncaya kadar -18°C'de dondurularak saklanmıştır. Ekstraktların toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi en fazla iki gün içerisinde yapılmıştır. Ekstraksiyonlar iki tekrar ve üç paralel halinde yapılmıştır.

3.4.2 Fenolik Bileşiklerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu, Wang ve arkadaşları [76] tarafından uygulanan yönteme göre yapılmıştır. Ekstraksiyon amacıyla ultrasonik su banyosu (Advantage Lab AL04-12-230, 800W, 38 kHz, 12.75 L, Belçika) kullanılmıştır. Bağımsız değişkenler literatürdeki çalışmalar [88] ve  n denemeler baz alınarak belirlenmiştir. Ekstraksiyonlarda ultrasonik banyo gücü (800W), ultrasonik frekans (38 kHz), örnek:    c  oranı (1:20) sabit tutulmuştur. Üç farklı bitki kısmı (yaprak, filiz, meyve),     c  olarak üç farklı konsantrasyonda hazırlanan etanol    eltisi (%40, %50, %60 etanol, v/v, suda) ve üç farklı ekstraksiyon süresi (10 dk, 20 dk, 30 dk) bağımsız değişken olarak belirlenmiştir. Tam faktöriyel deney tasarımı uygulanmış ve UDE iki tekrarlı olarak yapılmıştır.

Deneyden hemen önce     t lerek toz haline getirilmiş bitki kısımlarından (yaprak, meyve, filiz) 5 g hassas terazi kullanılarak tartılmıştır. Tartım 100 mL hacimli bir balon joje içerisine alınmıştır.  zerine son hacim 100 mL olacak şekilde balon jojenin çizgisine kadar etanol    eltisi ilave edilmiştir. Kapağı kapatılıp karıştırılan balon joje ultrasonik banyo içerisine yerleştirilmiştir. Ultrasonik banyonun sıcaklığı, üzerindeki ayarlama düğmesi kullanılarak 30  C'ye ayarlanmıştır ve belirlenen sürelerde ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon süresinin başladığı andan itibaren banyo içerisine yerleştirilen termometre ile her 5 dakikada bir sıcaklık kontrolü yapılmıştır ve balon joje 2 kez alt-üst edilerek hızlıca karıştırılmıştır. Sıcaklık değişimi 30-39  C arasında olmuştur. Süre bitiminde balon joje su dolu bir kap içerisine konularak oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Alüminyum folyo kaplı erlen içerisine kaba filtre kâğıdı kullanılarak s z lm şt r. S z nt  sızdırmaz kapaklı plastik numune kaplarına alınarak, -18  C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. Ekstraktların toplam fenolik içeriği ve antioksidan aktivitesi en fazla iki gün içerisinde yapılmıştır. Ekstraksiyon her bir deney için iki kez tekrarlanmıştır.

3.4.3 Fenolik bileşiklerin Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonu

Mikrodalga destekli ekstraksiyon d zenenęi, 20 L hacimli mikrodalga fırından oluşan bir ısıtma  nitesi, materyal ve     c n n konduğu bir balon ve buharlaşan etanolün yoğunlaşarak sisteme geri dönüşünü sağlayan yoğuşturucu kısımdan oluşmaktadır. Bu çalışmada kullanılan mikrodalga fırının giriş gücü 1200 Watt,  ıkış gücü 700 Watt ve frekansı 50 Hz'dir. Cihaz  zerindeki manuel panel vasıtasıyla altı seviye olarak

mikroalgı gücü ve süre ayarlanabilmektedir. Deneylerde düşük seviyedeki mikroalgı gücü ve katı:çözücü oranı (1:20) tüm ekstraksiyonlarda sabit tutulmuştur. Bağımsız değişkenler literatürdeki çalışmalar [89] ve ön denemeler baz alınarak belirlenmiştir. Üç farklı bitki kısmı (yaprak, filiz, meyve), çözücü olarak üç farklı konsantrasyonda hazırlanan etanol çözeltisi (%40, %50, %60 etanol, v/v, suda) ve üç farklı ekstraksiyon süresi (10 dk, 15 dk, 20 dk) bağımsız değişken olarak belirlenmiştir.

Deneyden hemen önce öğütülerek toz haline getirilmiş yaprak, filiz ve meyve örneklerinden 5.000 g tartılmıştır. Tartım mikroalgı fırınına uyumlu 250 mL'lik balon içerisine alınmış ve üzerine 100 mL etanol çözeltisi (%40, %50, %60 etanol, v/v, suda) ilave edilmiştir. Balon çalkalanarak çözücü ile materyalin karışması sağlamış ve balon mikroalgı içerisine yerleştirilmiştir. Her bir çözücü için belirlenen sürelerde (10 dk, 15 dk, 20 dk) mikroalgı işlemi uygulanmıştır. Mikroalgı uygulaması sırasında düzenli olarak sıcaklık ölçümü yapıldı ve sıcaklık en fazla 68 °C'ye kadar yükselmiştir. Süre bitiminde oda sıcaklığına getirilerek kaba filtre kağıdından süzölmüştür. Süzöntü sızdırmaz kapaklı plastik numune kaplarına alınarak, -18 °C'de derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. MDE iki tekrarlı ve üç paralel halinde yapılmıştır.

3.5 Fenolik Bileşiklerin HPLC ile Belirlenmesi

Melocan ekstraktlarının RP-HPLC analizlerinde Agilent 1100 Series HPLC ve VWD dedektör (Agilent 1100 series) kullanılmıştır [90]. Fenolik bileşikler Brisa LC2, C18 (250 x 4.6 mm x5 µm) (Teknokroma, Barcelona, Spain) kolonu kullanılarak ayrılmıştır. İkili mabil faz sistemi kullanılmıştır. A fazı; asetonitril ve B fazı; su ve %0.1 formik asit (v/v) içermektedir. İkili gradient faz; başlangıçta %90 B, 25. dakikada lineer akışla % 40 B, 26. dakikada %20 B, 30. dakika %20 B, 35. dakika %90 B ve beş dakika daha %90 B başlangıç koşulunda tutularak toplamda 40 dakika olacak şekilde ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı 30 °C, akış hızı 0.5 mL/dak ve enjeksiyon hacmi 10 µL'dir. Kromatogramlar 291 nm dalga boyunda kaydedilmiştir.

Örneklerin hazırlanması: Dondurulmuş (-18 °C) ekstraktlar oda sıcaklığına getirildikten sonra 9000 rpm ve 25 °C'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Berrak kısımdan amber viallere alınarak uygun dilüsyonları hazırlanmıştır. Dilüsyonların hazırlanmasında HPLC kalitede etanol ve deiyonize suyla hazırlanan çözelti (%40, %50, %60 etanol, v/v)

kullanılmıştır. Vialler 5 saniye vortekslelendikten sonra HPLC'ye enjekte edilmiştir. Kromatografik ayırım sonucunda ekstraktların fenolik bileşimi saptanmıştır.

Ekstraktın içerdiği fenolik bileşiklerin varlığı ve miktarının belirlenmesi amacıyla; Sigma firmasından temin edilen HPLC saflıktaki standart maddelerin çözünürlüklerine uygun olarak 500-1000 ppm'lik stok çözeltileri hazırlanmıştır. Stok çözeltilerden uygun dilüsyonlar (10-25-50-75-100 ppm) hazırlanarak HPLC'de kromatografik ayırım gerçekleştirilmiştir. Pik alanları ve standartların dilüe konsantrasyonları kullanılarak kalibrasyon grafiği hazırlanmıştır. Bu kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak ekstraktta tespit edilen fenolik bileşiklerin kantitatif analizi yapılmıştır. Hazırlanan kalibrasyon grafikleri EKA-ŞekilA.3'de verilmiştir.

3.6 Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi

Ekstraktların toplam fenolik madde içeriği Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiştir [91-92]. Bu amaçla dondurulmuş ekstraktlar oda sıcaklığına getirilmiş ve santrifüjlenmiştir (9000 rpm, 25 °C, 10 dk). Süpernatant saf su ile 50 kat seyreltilmiştir ve 0.5 mL süpernatant tüplere alınmıştır. Üzerine 2.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (0.2 N, suda) eklenmiş ve 5 saniye vortekslenmiştir. Beş dakika karanlıkta tutulduktan sonra 2 mL sodyum karbonat çözeltisi (Na_2CO_3 , 75 g/L, suda) eklenmiştir. 5 saniye vorteksle karıştırıldıktan sonra, 25 °C'de bir saat süreyle karanlıkta bekletilmiştir. Absorbans 760 nm'de UV/Vis spektrofotometre ile ölçülmüştür. Kör numune 2.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi (0.2 N) ve 2 mL sodyum karbonat çözeltisi (75 mg/L) kullanılarak aynı şartlarda hazırlanmıştır. Ekstraktların toplam fenolik madde içeriği gallik asit standardı ile hazırlanan kalibrasyon kurvesi vasıtasıyla kuru maddede gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g kuru ağırlık) olarak hesaplanmıştır.

Gallik asit kalibrasyon grafiği için; 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100 ppm konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltileri ekstraktlara uygulanan şekilde Folin-Ciocalteu yöntemi ile analiz edilmiş ve çözeltilerin absorbansları 760 nm'de spektrofotometrik (UV-Vis) olarak ölçülmüştür. Grafiğin denklemi $y=0.0096x-0.052$ ve $R^2 = 0.9957$ 'dir (EK A-ŞekilA.1). Ekstraktların toplam fenolik madde içeriği elde edilen kalibrasyon kurvesi vasıtasıyla gallik asit eşdeğeri cinsinden, mg GAE/g olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar iki tekrar ve üç paralel olmak üzere altı sonucun ortalaması olarak verilmiştir.

Gıdaların fenolik içeriğinin belirlenmesi için kullanılan yöntemler arasında Folin-Ciocalteu yöntemi en basit olandır. Sebze, meyve, tahıllar, çikolata gibi gıdaların büyük çoğunluğunun fenolik antioksidan kapasitesi sadece tek bir FC ayracı eklenmesiyle tespit edilebilir. Antioksidan özellikteki bileşenlerden, flavonol, flavon, flavanon, flavanol, proantosiyanidin bileşikleri, izoflavon, antosiyanın ve fenolik asit gibi bileşikler Folin metodu ile belirlenebilir [93].

Yöntemin ilkesi, fenolik bileşiklerin bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgeyip kendilerinin oksitlenmiş bir forma dönüştüğü bir redoks reaksiyonuna dayanmaktadır. Folin-Ciocalteu ayracı burada oksitleyici ajan olarak rol alır. Reaksiyon sonucunda indirgenmiş ayracın oluşturduğu mavi renk spektrofotometrik olarak ölçülür. Örnekteki fenolik bileşiklerin toplam miktarı gallik asit standart kurvesinden yararlanılarak belirlenir.

3.7 Toplam Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi

Melocanın yaprak, meyve ve filizlerinin toplam antioksidan aktivitesi DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) yöntemi ile belirlenmiştir. Metod, DPPH radikalinin eşlenmemiş elektronu nedeniyle oluşan koyu menekşe rengin 517 nm’de spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır. Eğer ortamda antioksidan varsa, bu eşlenmemiş elektronla reaksiyona girer ve koyu menekşe rengin kaybolması ile renk soluk sarıya indirgenir. Bu nedenle antioksidan kapasite 517 nm’de absorbandsdaki düşüşün ölçülmesi ile kolayca belirlenir.

Shipeng ve arkadaşlarının [94] uyguladığı yöntemle melocan örneklerinin toplam antioksidan kapasitesi belirlenmiştir. 25 ppm DPPH çözeltisi, 0.0025 mg DPPH radikalinin tartılması ve üzerine 100 mL %100 metanol ilave edilmesiyle hazırlanmıştır. Manyetik karıştırıcıda içerisinde tortu kalmayana kadar karıştırılmıştır. DPPH çözeltisi sıcaklık ve ışığa karşı hassas olduğu için, ışık almayacak şekilde alüminyum folyo ile sarılmıştır ve hazırlandıktan hemen sonra buzdolabında +4 °C’de muhafaza edilmiştir. DPPH çözeltisi deneylerden hemen önce taze olarak hazırlanmıştır.

Tüm ölçümlerde kör olarak saf metanol kullanılmıştır. DPPH çözeltisinin hazırlandığı andaki konsantrasyonunu kontrol etmek amacıyla 0.1 mL metanol ve 3.9 mL 25 ppm DPPH çözeltisi (2.5 mg DPPH/100 mL metanol) karıştırılmıştır. 5 sn vortekslendikten

sonra absorbans UV/VIS spektrofotometre kullanılarak 517 nm’de ölçülmüştür. Daha sonra dondurulmuş ekstraktlar oda sıcaklığına getirilmiş ve santrifüjlenmiştir (9000 rpm, 25 °C, 10 dk). Süpernatant saf su ile 30 kat seyreltilmiştir ve seyreltiden 0,1 mL cam tüplere alınmıştır. Üzerine 3.9 mL 25 ppm DPPH çözeltisi (2.5 mg DPPH/100 mL metanol) eklenmiş ve 5 saniye vortekslenmiştir. 25 °C oda sıcaklığında 1 saat süreyle karanlıkta bekletildikten sonra 517 nm’deki absorbans spektrofotometrik olarak ölçülmüştür.

Absorbanslar arası fark (inhibisyon), troloks kalibrasyon kurvesinde yerine koyularak, x; yani ekstraktın toplam antioksidan kapasitesi, “ppm troloks” belirlenmiştir. Alınan örnek miktarı, seyreltme katsayısı, tamamlanan hacim değerleri kullanılarak sonuç kuru madde üzerinden “mg troloks/g kuru ağırlık” olarak hesaplanmıştır.

Kalibrasyon kurvesi farklı konsantrasyonlarda hazırlanan troloks (10, 25, 50, 75, 100, 125 ppm) çözeltisiyle elde edilmiştir [95]. Troloks çözeltisinin antioksidan aktivitesi DPPH yöntemine göre belirlenmiştir. Troloks kalibrasyon grafiği, troloks konsantrasyonuna (x) karşılık inhibisyon değeri kullanılarak çizilmiştir. Grafiğin denklemi $y=0.0023x-0.0101$ ve $R^2= 0.9912$ ’dir (EKA-Şekil A.2).

3.8 İstatiksel Analiz

İstatistiksel farklılıkların değerlendirilmesinde Minitab® 16.2.0 [96] istatistik programı kullanılmıştır. Verilerin analizi Tek Yönlü Varyans Analizi ve İki Yönlü Varyans Analizi (General Linear Model) kullanılarak yapılmıştır. Verilerin normal dağılıma uymaktadır ve varyans homojenliği kontrol edilmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı bulunan farklılıklar ($p<0.05$) Post Hoc testlerinden Tukey testi ile değerlendirilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SD) değerleri olarak verilmiştir.

4 SONUÇLAR VE TARTIŞMA

4.1 Kuru Madde ve Kül Analizleri

Ekstraksiyon için kurutularak toz haline getirilmiş melocan yaprak, meyve ve filiz kullanılmıştır. Bitki kısımlarının kuru madde ve kül analizi sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir. Kuru madde ve kül içerikleri sırasıyla; yaprakta ortalama %93.1 ve %6.68; meyvede %94.5 ve %4.36; filizde %93.8 ve %7.85 olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1 *S. excelsa* bitki kısımlarının kuru madde ve kül içeriği

Bitki kısımları	Bitki durumu	Kuru Madde (%)	Kül (%)
Yaprak	kuru	93.1±0.19	6.68±0.04
	taze	34.1±0.88	
Meyve	kuru	94.5±0.07	4.36±0.03
	taze	38.9±1.28	
Filiz	kuru	93.8±0.01	7.85±0.04

4.2 Toplam Fenolik Madde (TFM) Analizleri

Bitki kısımlarının (yaprak, meyve ve filiz) toplam fenolik madde analizi Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Yaprak, meyve ve filiz, üç farklı ekstraksiyon yöntemi (geleneksel ekstraksiyon (GE), ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE)) ile ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla, GE yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve 72 saat ekstraksiyon süresinde, UDE yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (10 dk, 20 dk, 30 dk) ve MDE yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (10 dk, 15dk, 20 dk) çalışılmıştır. Ekstraksiyonlar farklı zamanlarda iki kez tekrar edilmiştir ve her ekstrakte için toplam fenolik madde analizleri (TFM) ve toplam antioksidan kapasite (TAK) analizleri üç paralel şekilde yapılmıştır. Bitki kısımları için her bir ekstraksiyon yönteminde elde edilen veriler çizelgeler halinde sunulmuştur. Çizelgeler elde edilen altı sonucun ortalaması ve standart sapması şeklinde verilmiştir.

4.2.1 Geleneksel Ekstraksiyon (GE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde Miktarları (TFM)

Yaprak, meyve ve filizde geleneksel ekstraksiyonla elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarları gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir. ANOVA sonuçlarına göre, yaprak ve meyvede toplam fenolik içerik etanol konsantrasyonuna göre değişmezken ($p>0.05$), filizde toplam fenolik içerik etanol konsantrasyonuna göre farklılık göstermiştir ($p<0.05$) (EKB-1,2,3).

Çizelge 4.2 Geleneksel ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları

Etanol Kons. (%)	Süre (saat)	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/ g kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	72	53.70±7.94 ^{aA}	52.24±5.20 ^{aA}	40.31±0.87 ^{aB}
50	72	57.23±2.22 ^{aA}	55.69±4.31 ^{aA}	36.72±1.92 ^{bB}
60	72	57.02±3.20 ^{aA}	57.81±3.54 ^{Aa}	34.37±0.83 ^{cB}

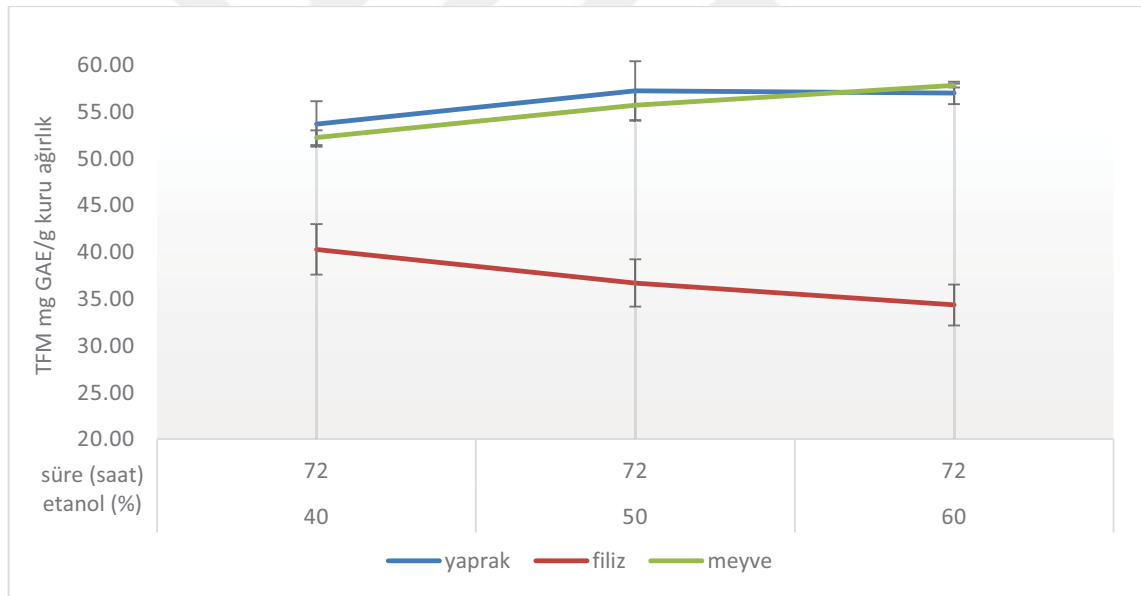
Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 6) olarak verilmiştir.

Aynı sütunda farklı harfle (a—c) ve aynı satırda farklı harfle (A-B) ifade edilen ortalamalar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Çizelge 4.2’ye göre aynı etanol konsantrasyonunda yaprak ve meyvenin toplam fenolik içeriği arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$), ancak filizin toplam fenolik içeriği meyve ve yapraktan farklıdır ($p<0.05$). Geleneksel yöntem ile filizde etanol konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$). Filizde %40 etanol konsantrasyonda toplam fenolik madde en yüksek iken (40.31±0.87 mg GAE/g kuru ağırlık), %60 etanol konsantrasyonda en düşüktür (34.37±0.83 mg GAE/g kuru ağırlık). Geleneksel ekstraksiyon yönteminde %40 etanol konsantrasyonu ile %50 ve %60 etanol konsantrasyonu ve %50 etanol konsantrasyonu ile %60 etanol konsantrasyon arasında TFM bakımından istatistiksel anlamlı fark bulunmaktadır ($p<0.05$). Filizde toplam fenolik madde etanol konsantrasyonunun artmasıyla azalmıştır ($p<0.05$). Filizde en yüksek toplam fenolik içerik %40 etanol konsantrasyonunda (40.31±0.87 mg GAE/g kuru ağırlık) bulunmuştur. Özen [17], filizin toplam fenolik madde değerini geleneksel yöntemle 49.9 mg pirokateşol/g kuru ağırlık olarak ve flavonoid içeriğini 12.6 mg kuersetin/g kuru ağırlık olarak saptamıştır.

%40 etanol konsantrasyonunda, yaprak (53.70 ± 7.94 mg GAE/g kuru ağırlık) ve meyvenin (52.24 ± 5.20 mg GAE/g kuru ağırlık) ortalamaları filizden (40.31 ± 0.87 mg GAE/g kuru ağırlık) yüksektir. Benzer şekilde %50 etanol konsantrasyonunda yaprak (57.23 ± 2.22 mg GAE/g kuru ağırlık) ve meyvenin (55.69 ± 4.31 mg GAE/g kuru ağırlık) ortalamaları filizden (36.72 ± 1.92 mg GAE/g kuru ağırlık) yüksektir ve %60 etanol konsantrasyonu için de yaprak ve meyvenin toplam fenolik içeriği filizden yüksektir.

Çalışma sonucu elde ettiğimiz veriler, geleneksel yöntemde tüm bitki kısımları için en uygun çözücü miktarının %40 etanol konsantrasyonu olduğunu göstermektedir. Spigno ve Faveri, üzüm çekirdeğinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu konulu araştırmalarında ekstrakte edilen fenolik madde veriminin, etanoldeki su yüzdesi %10 dan %30'a yükseldiğinde arttığını, %30 ile %60 arasında sabit kaldığını ve su yüzdesi %50 nin üzerine çıktığında azaldığını bildirmişlerdir [97].



Şekil 4.1 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarı

Geleneksel yöntemle bitki kısımları ve etanol konsantrasyonları arasındaki fark iki yönlü ANOVA ile istatistiksel olarak test edilmiştir (EKB-4). Etanol konsantrasyonları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmazken ($p > 0.05$), bitki kısımları arasındaki fark önemlidir ($p < 0.05$). Ayrıca bitki kısımları ve etanol konsantrasyonlarının etkileşimi istatistiksel olarak önemlidir. Filiz ile yaprak ve meyve arasında toplam fenolik madde miktarları farklıdır ($p < 0.05$)’de bitki kısımlarındaki toplam fenolik maddenin değişimi

görülmektedir. Melocan örneklerinde en düşük toplam fenolik madde içeriğinin melocan filizinde çıktığı belirlenmiştir.

Geleneksel yöntemle yapılan başka bir çalışmada, *Smilax excelsa* L. yapraklarının toplam fenolik içeriğinin, çözücü olarak hekzan, etil asetat ve metanol için sırasıyla; 19.3 ± 2.7 , 97.9 ± 3.5 , 239.0 ± 5.4 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunduğu rapor edilmiştir [18]. Çizelge 4.2’de geleneksel yöntemle yaprakta bulunan TFM sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Dehghan ve arkadaşları [18], geleneksel yöntem ve üç farklı çözücü kullanarak melocan yapraklarının toplam fenolik madde miktarını, hekzan, etil asetat ve metanolde sırasıyla, 19.3 mg GAE/g kuru ağırlık, 97.9 mg GAE/g kuru ağırlık ve 239.0 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulmuşlardır.

Efe [21], *S. excelsa* meyvesinde çalkalamalı inkübatörde 24 saat ekstraksiyon yapıldığında ekstraktların toplam fenolik madde miktarının 3.55-6.00 mg GAE/g kuru ağırlık olarak saptamıştır. Elde ettiğimiz sonuçlar bu değerlerden daha yüksektir.

4.2.2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde Miktarları (TFM)

Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.3 ve Şekil 4.2’de verilmiştir. Etanol konsantrasyonu ve süre bağımsız değişkenlerinin etkilerinin birlikte değerlendirildiği iki yönlü ANOVA varyans analizi sonuçlarına göre, yaprakta etanol konsantrasyonu ve ekstraksiyon süresi bağımsız değişkeninin toplam fenolik madde miktarına etkisi anlamlı bulunmuştur ($p < 0.05$) ancak süre*etanol etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$). Meyvede, etanol konsantrasyonu, süre ve etanol*süre etkileşimi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$). Filizde, etanol konsantrasyonu ve süre bağımsız değişkenlerinin toplam fenolik madde üzerine etkisi $p < 0.01$ düzeyinde ve etanol-süre etkileşimi arasında $p < 0.05$ düzeyinde fark vardır (EKB-5,6,7).

Ultrasonik yöntemle yaprakta ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarı en düşük 53.57 ± 3.90 mg GAE /g kuru ağırlık ve en yüksek 61.68 ± 2.23 mg GAE /g kuru ağırlık olarak belirlenmiştir. Çalışılan üç farklı etanol konsantrasyonu ve ekstraksiyon süreleri

incelendiğinde yaprakta ultrasonik destekli ekstraksiyon açısından en iyi toplam fenolik madde konsantrasyonu çözücü olarak %40 etanol ve 30 dakika ekstraksiyon süresinin uygulandığı denemede elde edilmiştir. Sürenin artışıyla birlikte ekstrakte edilen fenolik madde miktarı artmıştır ($p<0.05$).

Çizelge 4.3 Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları

Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/ g kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	10	56.13±1.28 ^{bc}	54.58±1.63 ^{cd}	39.59±1.02 ^{bc}
	20	57.84±3.79 ^{abc}	59.48±1.17 ^{ab}	40.29±0.58 ^{bc}
	30	61.68±2.23 ^a	60.34±0.96 ^a	41.21±0.74 ^{ab}
50	10	55.77±3.45 ^{bc}	51.78±5.04 ^d	37.83±1.64 ^{bc}
	20	57.07±1.69 ^{abc}	56.78±3.68 ^{abc}	40.16±4.84 ^{bc}
	30	60.26±0.42 ^{ab}	58.22±2.14 ^{abc}	44.14±1.57 ^a
60	10	53.57±3.90 ^c	55.48±0.78 ^{bcd}	31.00±1.35 ^d
	20	56.30±1.19 ^{bc}	58.44±1.86 ^{abc}	32.33±1.46 ^d
	30	57.10±2.94 ^{abc}	60.36±1.23 ^a	36.54±1.22 ^c

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 6) olarak verilmiştir.

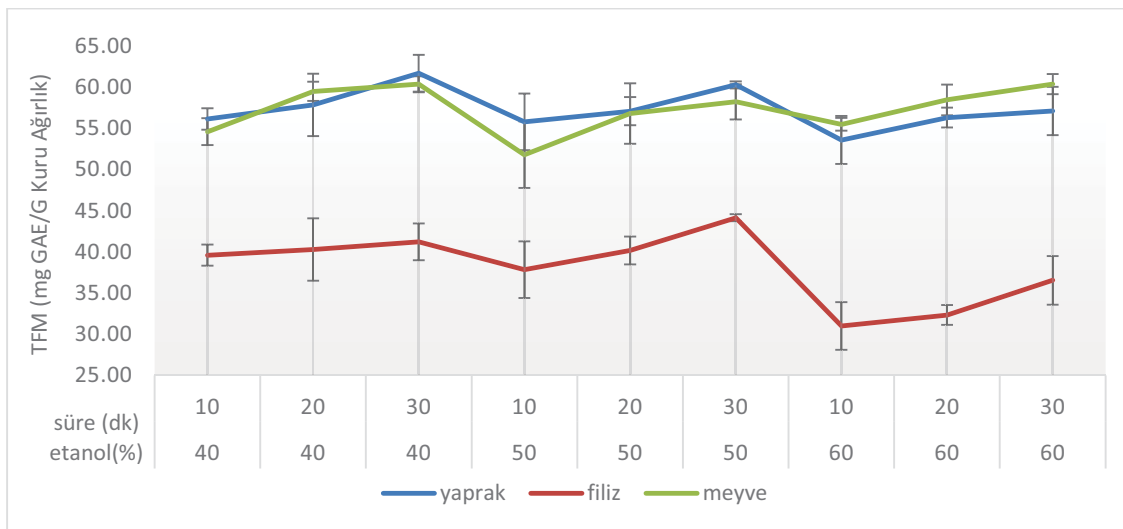
Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak önemli fark bulunmuştur ($p<0.05$).

Ultrasonik yöntemle ekstrakte edilen meyvede toplam fenolik madde miktarına etanol konsantrasyonu ve sürenin etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) ancak etanol*süre etkileşimi önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Meyvede, %60 etanolde 30 dakika veya % 40 etanolde 30 dakika sürede en yüksek toplam fenolik madde miktarı 60.36±1.23 mg GAE/g kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir. En düşük değer ise (51.78±5.04 mg GAE/ g kuru ağırlık) %50 etanol de 10 dakika ekstraksiyonla elde edilmiştir.

Filizde, ultrasonik yöntemle elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde miktarlarına etanol ve süre bağımsız değişkenlerinin etkisi istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$). Etanol*süre interaksiyonu içeren modelde etkileşim etkisi önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Filizde ultrasonik yöntemle ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarı 31.00±1.35

mg GAE/g kuru madde ile 44.14 ± 1.57 mg GAE/g kuru madde arasında değişmektedir. Melocan filizlerinde ultrason destekli ekstraksiyon işlemiyle toplam fenolik madde miktarı koşullardan bağımsız olarak yaprak ve meyveden daha düşük bulunmuştur.

Medikal bir bitkide (*Orthosiphon stamineus*) yapılan çalışmada, %0-100 etanol konsantrasyonu, 60-300 dakika ekstraksiyon süresi ve 25-65°C ekstraksiyon sıcaklığında çalışılmış, en iyi sonucun %40 etanol, 65°C sıcaklık ve 120 dakika ekstraksiyon süresi olarak saptandığı belirtilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı, 200.3 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur [98].



Şekil 4.2 Ultrason destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarı

Wang ve arkadaşlarının [76] ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemiyle buğday kepeğindeki fenolik bileşiklerinceledikleri çalışmada, etanol, metanol ve asetonun çözücü olarak kullanıldığında en iyi sonucu etanolü örneklerin verdiğini bildirmişlerdir. Fenolik bileşenlerin ultrasonik destekli ekstraksiyonu için en uygun koşulların %64 etanol konsantrasyonu ile 60 °C’de 25 dakika ekstraksiyon süresi olduğunu ve etanol içerisine belli miktarda su katıldığında ekstrakt veriminin arttığını saptamışlardır.

4.2.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde Miktarları (TFM)

Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.4 ve Şekil 4.3’de gösterilmiştir. Mikrodalga destekli

ekstraksiyon yöntemiyle bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarlarına etanol konsantrasyonu ve sürenin etkisi iki yönlü ANOVA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (EKB-9,10,11).

Çizelge 4.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları

Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/ g örnek kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	10	68.06±2.43 ^{abc}	73.97±0.78 ^b	52.41±5.71 ^{ab}
	15	70.55±3.19 ^a	76.67±1.59 ^a	51.28±2.54 ^{ab}
	20	69.85±1.20 ^{ab}	61.28±0.21 ^{ef}	54.85±4.19 ^a
50	10	68.14±1.61 ^{abc}	66.50±0.99 ^d	51.89±4.58 ^{ab}
	15	67.12±2.10 ^{abc}	57.31±0.92 ^g	52.25±4.02 ^{ab}
	20	66.30±1.67 ^{abc}	62.38±0.59 ^e	54.16±6.37 ^a
60	10	65.15±3.15 ^{bc}	68.92±0.90 ^c	47.25±6.07 ^{ab}
	15	65.41±1.87 ^{bc}	69.29±0.27 ^c	42.35±8.33 ^b
	20	64.84±4.34 ^c	59.71±1.04 ^f	46.73±5.14 ^{ab}

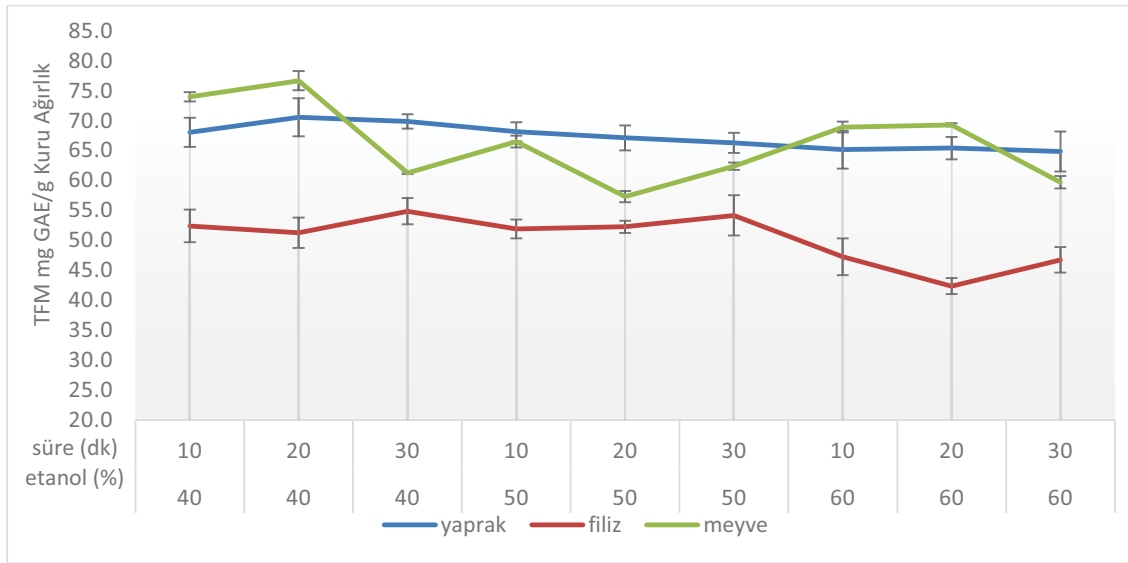
Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 6) olarak verilmiştir.

Aynı sütunda farklı harfle ifade edilen değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p<0.05).

Yaprakta etanol konsantrasyonunun etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ancak ekstraksiyon süresi etanol*süre etkileşimi toplam fenolik içeriğini etkilememiştir (p>0.05). Etanol konsantrasyonundaki anlamlı fark %40 ve %60 etanol konsantrasyonları arasındadır ve %40 etanol konsantrasyonunda en yüksek toplam fenolik madde miktarı miktarı 70.55±3.19 mg GAE/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Çalışmamızda, daha düşük etanol konsantrasyonunda daha yüksek fenolik madde belirlenmesi literatürdeki çalışmalarla uyumludur [98] (EKB-9).

Meyvede; süre, etanol konsantrasyonu ve etanol-süre etkileşiminin toplam fenolik maddeye etkisi p<0.01 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlıdır. En yüksek toplam fenolik madde %40 etanol konsantrasyon ve 15 dakika sürede 72.68±1.50 mg GAE/g kuru ağırlık olarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulaması sırasında 2-3 dakika içerisinde, çözücü kaynamakta, sıcaklık 5 dakika içerisinde $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'ye çıkmakta ve ekstraksiyon sonuna kadar bu sıcaklıkta seyretmektedir. Daha uzun ekstraksiyon sürelerinde fenolik bileşikler, daha uzun süreler bu sıcaklığa maruz kalmaktadırlar. Literatürdeki birçok çalışmada, 60°C 'nin üzerindeki sıcaklıklarda fenolik bileşiklerin yapısının bozulduğu ve miktarının azaldığı belirtilmiştir [76,97]. Çalışmamızda meyve örneklerinde mikrodalga ekstraksiyonunda süre arttıkça toplam fenolik miktarının azalması bunu doğrulamaktadır ($p<0.01$).



Şekil 4.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarı

Meyvede en yüksek toplam fenolik madde (76.67 ± 1.59 mg GAE/g kuru ağırlık) %40 etanol konsantrasyonu ve 15 dakikada bulunmuşken, en düşük toplam fenolik madde (57.31 ± 0.92 mg GAE/g kuru ağırlık) %50 etanol konsantrasyonu ve 15 dakikada bulunmuştur.

Filizde, etanol konsantrasyonunun toplam fenolik madde miktarına etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.01$). Süre ve etanol-süre etkileşimi filizde toplam fenolik madde miktarını etkilememiştir ($p>0.05$). Filizde %40 etanol konsantrasyonunda en yüksek toplam fenolik madde miktarı 54.85 ± 4.19 mg GAE/g kuru ağırlık bulunmuştur. Etanol konsantrasyonu %60'a çıktığında toplam fenolik madde miktarı düşmüştür (42.35 ± 8.33 mg GAE/g kuru ağırlık) ($p<0.05$).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon için üç farklı bitki kısmı değerlendirildiğinde, en uygun çözücü konsantrasyonunu %40 etanol olduğu belirlenmiştir. Toplam fenolik maddenin ekstraksiyonunda süre açısından üç bitki kısmında da anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$) (EKB-12). Zaman ve enerji tasarrufu açısından en düşük ekstraksiyon süresi seçilmelidir. Bu nedenle MDE’de 10 dakika süre yeterli olmaktadır. 10 dakikanın altında ekstraksiyon süreleriyle ilgili çalışma yapılabilir.

4.2.4 Yaprak, Meyve ve Filizin Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) ile Elde Edilen Toplam Fenolik Madde Miktarlarının (TFM) Karşılaştırılması

Yaprak, meyve ve filizin ultrasonik destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen toplam fenolik madde miktarları Çizelge 4.5’de gösterilmiştir.

Tüm veriler birlikte değerlendirildiğinde, iki yönlü ANOVA sonuçlarına göre; yöntem, bitki kısmı, etanol konsantrasyonu, yöntem*bitki kısımları, yöntem*süre, bitki kısmı*etanol, bitki kısımları*süre ve yöntem*bitki kısımları*etanol interaksiyonları istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır ($p<0.05$) ancak süre, yöntem*etanol ve yöntem*bitki kısmı*etanol*süre interaksiyonu arasındaki farkın istatistiksel olarak önemi yoktur ($p>0.05$). Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara göre yöntemler arasında fark vardır ve istatistiksel olarak önemlidir. Yöntem olarak toplam fenolik madde açısından en yüksek sonuçlar mikrodalga destekli ekstraksiyonda (61.24 mg GAE/g kuru ağırlık) elde edilmiştir. Bitki kısımları arasında en düşük fenolik madde içeriği filizde belirlenmiştir ($p<0.05$) (EKB-13).

Filizin toplam fenolik madde içeriği mikrodalga destekli ekstraksiyonda ultradalga destekli ekstraksiyona göre daha yüksektir. Filizde toplam fenolik içerik UDE ve MDE’de %40 ve %60 etanolde 20 dakikada daha yüksek sonuç elde edilirken, %60 etanolde MDE’de 10 dakika, UDE de ise 20 dakika da daha yüksek sonuç elde edilmiştir.

Meyvede, toplam fenolik içerik açısından en yüksek sonuçlar MDE ile elde edilmiştir. Meyvede mikrodalga destekli ekstraksiyonda, %40, %50 ve %60 etanol için, süre arttıkça ekstrakte edilen toplam fenolik miktarı artmıştır. Meyvede UDE’de ise süre 10 dakikadan 20 dakikaya çıktığında toplam fenolik madde miktarı artmıştır.

UDE ile ekstrakte edilen yaprakta toplam fenolik içerik MDE ile ekstrakte edilene göre daha düşük çıkmıştır. Yaprakta MDE ile ekstraksiyonda süre arttıkça ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarı azalmıştır.

MDE yöntemiyle her üç bitki kısmı için UDE yöntemine göre daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir ve MDE ile 10 dakika ekstraksiyon süresinin, 20 dakika süreye göre daha yüksek sonuçlar vermesi nedeniyle, yeterli olduğu söylenebilir. Ancak daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Çizelge 4.5 Ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri uygulanan bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarları

Bitki Kısımları	Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Toplam Fenolik madde (mg GAE/g kuru ağırlık)	
			MDE	UDE
Filiz	40	10	52.41±5.71	39.59±1.02
		20	54.85±4.19	40.29±0.58
	50	10	51.89±4.58	37.83±1.64
		20	54.16±6.37	40.16±4.84
	60	10	47.25±6.07	31.00±1.35
		20	46.73±5.14	32.33±1.46
Meyve	40	10	73.97±0.78	54.58±1.63
		20	61.28±0.21	59.48±1.17
	50	10	66.50±0.99	51.78±5.04
		20	62.38±0.59	56.78±3.68
	60	10	68.92±0.90	55.48±0.78
		20	59.71±1.04	58.44±1.86
Yaprak	40	10	68.06±2.43	56.13±1.28
		20	69.85±1.20	57.84±3.79
	50	10	68.14±1.61	55.77±3.45
		20	66.30±1.67	57.07±1.69
	60	10	65.15±3.15	53.57±3.90
		20	64.84±4.34	56.30±1.19

4.3 Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizleri

4.3.1 Geleneksel Ekstraksiyon (GE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi

Yaprak, meyve ve filizde geleneksel ekstraksiyonla elde edilen ekstraktların toplam antioksidan kapasitesi Çizelge 4.6 ve Şekil 4.4’de gösterilmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemiyle bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesine etanol konsantrasyonunun etkisi tek yönlü ANOVA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir. Bitki kısımları ve etanol konsantrasyonları arasındaki farklılık iki yönlü ANOVA ile değerlendirilmiştir ve Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanılmıştır (EKB-14,15,16).

Çizelge 4.6 Geleneksel ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi

Etanol Konsan. (%)	Süre (saat)	Toplam Antioksidan Kapasitesi (mg troloks / g kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	72	68.35±2.83 ^{aCD}	72.21±0.72 ^{bAB}	39.80±1.42 ^{aF}
50	72	71.15±2.45 ^{aBC}	74.32±1.12 ^{aA}	39.79±1.07 ^{aF}
60	72	67.8±0.96 ^{aD}	56.34±1.12 ^{cE}	37.94±1.52 ^{aF}

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 6) olarak verilmiştir.

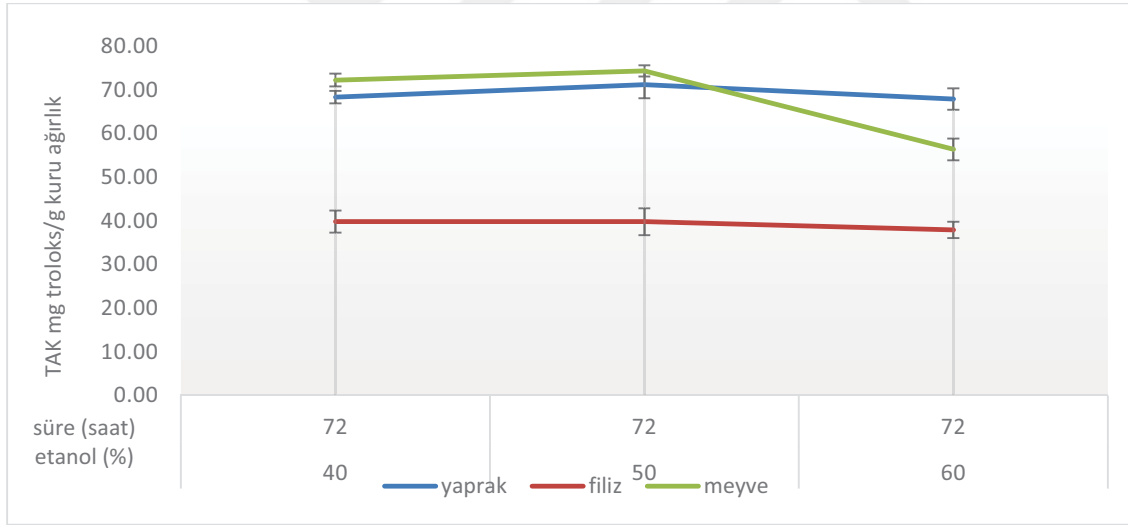
Aynı sütunda farklı harfle (a-c) ve aynı satırda farklı harfle (A-F) ifade edilen ortalamalar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p<0.05).

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi uygulanan yaprak ve filizin toplam antioksidan kapasitesine etanol konsantrasyonunun etkisi önemli bulunmamıştır (p>0.05). Meyvede ise etanol konsantrasyonları arasındaki fark önemlidir. %50 etanol konsantrasyonunda en yüksek toplam antioksidan kapasitesi 74.32±1.12 mg troloks/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. En düşük toplam antioksidan kapasitesi ise %60 etanol konsantrasyonu uygulandığında 56.34±1.12 mg troloks/ g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Yaprak ve filizin geleneksel ekstraksiyonu için %40 etanol konsantrasyonu ve meyve için %50 etanol konsantrasyonu seçilmelidir.

İki yönlü ANOVA sonuçlarına göre bitki kısımları arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (p<0.05) (EKB-17). Meyve, üç farklı etanol konsantrasyonunda da en yüksek antioksidan kapasiteye sahiptir ve bunu sırasıyla yaprak ve filiz takip etmektedir. Geleneksel ekstraksiyon yönteminde filizin toplam antioksidan kapasitesi meyve ve yaprağa göre düşük çıkmıştır.

Özsoy ve arkadaşları [10], geleneksel ekstraksiyon uygulanmış melocan yapraklarının DPPH antioksidan kapasitesini, etanolik ekstraktların EC₅₀ değeri olarak 1.49±0.06 mg/ml bulmuştur (EC₅₀ DPPH radikalının %50'sinin inhibe edildiği etkin konsantrasyon değeridir).

Özen [17], *Smilax excelsa* L. filizinin farklı yöntemlerle antioksidan aktivitesini belirlemiştir. Ekstraksiyonları Soxhlet yöntemiyle etanol-su karışımı (80 etanol:20 su) kullanarak yapmıştır. Filizin, DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesini % 62 (aynı yöntemle troloksun inhibisyonu %85'tir), diğer bir antioksidan kapasite ölçme yöntemi olan Fe⁺² iyonu indirgeme gücü yöntemiyle filizlerin toplam antioksidan kapasitesini 100 µg/ml örnekte 0.225 (aynı yöntemde troloks için indirgeme gücü 0.237 bulunmuştur) ve filizin metal şelatlama aktivitesininin sentetik bir antioksidan madde olan bütillenmiş hidroksi tolüen (BHT)'den daha yüksek olduğunu (Özen tarafından, inhibisyon değerleri filizde %52 ve BHT'de %50 bulunmuştur) bildirmiştir.



Şekil 4.4 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi

Dehghan ve arkadaşları [18], melocan yapraklarının DPPH radikal süpürücü antioksidan aktivitesini EC₅₀ (DPPH radikalının %50'sinin inhibisyonuna neden olan etkin konsantrasyon) değeri olarak belirlemiştir (maserasyon, 48 saatx2) ve melocan yaprağının DPPH radikal süpürücü aktivitesinin; metanolde %47.1, etil asetatda %22.4, ve hekzanda %22.1 olduğunu ifade etmişlerdir.

4.3.2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi

Melocanın farklı bitki kısımlarından ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmiş ekstraktların toplam antioksidan kapasitesi Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7’da verilmiştir. UDE yöntemiyle bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesine etanol konsantrasyonunun ve sürenin etkisi iki yönlü ANOVA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (EKB-18,19,20).

Çizelge 4.7 Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının antioksidan kapasitesi

Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Toplam Antioksidan Kapasite (mg troloks/ g kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	10	67.23±1.33 ^{abc}	74.32±2.71 ^e	33.03±1.52 ^f
	20	67.50±1.74 ^{abc}	85.18±1.89 ^a	38.68±2.57 ^{cd}
	30	69.65±1.67 ^a	83.25±1.85 ^{abc}	42.67±1.37 ^b
50	10	65.08±2.67 ^{bc}	75.80±2.77 ^e	41.00±1.59 ^{bcd}
	20	67.97±1.67 ^{ab}	82.56±1.20 ^{abc}	44.43±2.36 ^{ab}
	30	67.36±1.69 ^{abc}	81.32±1.30 ^{bc}	48.00±1.66 ^a
60	10	63.77±2.24 ^c	77.41±1.57 ^{de}	33.44±2.30 ^{ef}
	20	67.74±2.30 ^{ab}	81.18±2.82 ^{cd}	37.34±1.86 ^{de}
	30	66.81±2.37 ^{abc}	85.15±1.28 ^{ab}	42.35±2.88 ^{bc}

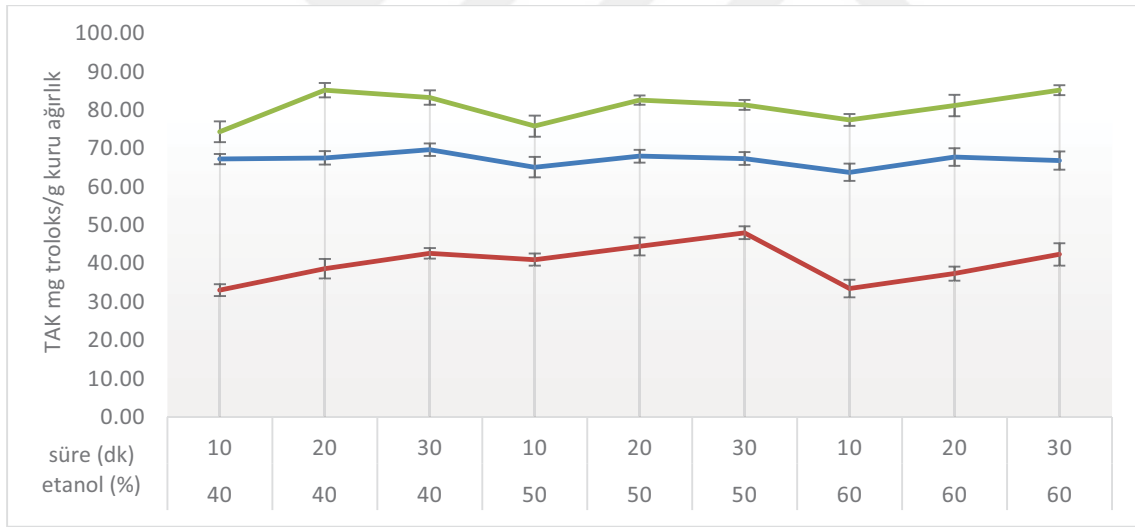
Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 6) olarak ifade edilmiştir.

Aynı sütunda farklı küçük harfle ifade edilen ortalamalar istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

UDE yöntemiyle, yaprak ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesine etanol konsantrasyonu ve süre bağımsız değişkenlerinin etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05). Ancak %95 güven aralığında etanol-süre etkileşimi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (p>0.05). %40 etanol konsantrasyonu ile ekstrakte edilen yaprakların toplam antioksidan kapasitesi %60 etanol konsantrasyonundan elde edilenden daha yüksek bulunmuştur (p<0.05). Etanol konsantrasyonunun artması yaprakta antioksidan kapasitesinin düşmesine neden olmuştur. 20 ve 30 dakika ekstraksiyon süreleri ile 10 dakika ekstraksiyon süresi arasındaki fark anlamlıdır (p<0.05) ve 30 dakika sürede daha yüksek toplam antioksidan kapasite gözlenmiştir.

Filizlere uygulanan UDE yöntemiyle filizlerin toplam antioksidan kapasitesine, etanol konsantrasyonu ve sürenin etkisi anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$), Ayrıca etanol-süre etkileşimi, istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Etanol konsantrasyonları arasındaki farklılık %50 etanol ile %40 ve %60 etanol konsantrasyonları arasındadır. Süreler arasındaki anlamlı fark ekstraksiyon süresinin artması ile lineer olarak artmıştır. Filizin UDE ekstraksiyonunda en yüksek toplam antioksidan kapasite değeri; %50 etanol konsantrasyonu ve 30 dakika sürede (48.00 ± 1.66 mg troluks/g kuru ağırlık) belirlenmiştir. En düşük antioksidan kapasite (33.03 ± 1.52 mg troluks/ g kuru ağırlık) ise; % 40 etanol konsantrasyonu ve 10 dakika sürede elde edilmiştir.

Zhang ve arkadaşları [99], *Prunella vulgaris* L.'den ekstrakte edilen flavonoidlerin antioksidan aktivitesinin, ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile optimum 30.5 dakika, 79 °C, %41 etanol konsantrasyonu ve 1:30 (g/ml) katı/sıvı oranı ile elde edildiğini rapor etmişlerdir.



Şekil 4.5 Ultrason destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi

Meyvede, ultrasonik destekli ekstraksiyon yönteminde uygulanan etanol konsantrasyonu, toplam antioksidan kapasite üzerinde anlamlı değişiklik meydana getirmezken ($p>0.05$), süre ve etanol*süre etkileşiminde bu değişiklik anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Süreler arasındaki anlamlı değişim 10 dakika süre ile 30 ve 20 dakika süreler arasındadır. 30 ve 20 dakika ekstraksiyon sürelerinin arasında anlamlı fark yoktur ($p>0.05$). Bu nedenle

daha düşük süre (20 dakika) ve daha düşük etanol konsantrasyonu (%40) seçilmesi; meyvenin ultrasonik ekstraksiyonu için daha uygun gözükmektedir.

4.3.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Analizi

Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasiteleri Çizelge 4.8 ve Şekil 4.6’da verilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulanan bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesine etanol konsantrasyonu ve sürenin etkisi iki yönlü ANOVA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (EKB-22,23,24).

Çizelge 4.8 Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi

Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Toplam Antioksidan Kapasitesi (mg troluks/ g kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	10	72.39±1.43 ^e	71.28±1.46 ^d	52.33±2.53 ^b
	15	85.72±3.05 ^{bc}	75.12±1.27 ^{bcd}	54.26±3.08 ^b
	20	79.76±2.43 ^d	63.51±2.50 ^e	55.17±1.87 ^b
50	10	88.06±3.12 ^{ab}	74.92±1.00 ^{bcd}	52.81±2.84 ^b
	15	87.18±2.18 ^{ab}	77.74±2.77 ^b	53.48±1.78 ^b
	20	88.79±1.70 ^{ab}	76.81±3.15 ^{bc}	61.58±0.92 ^a
60	10	90.30±1.92 ^a	85.41±2.35 ^a	52.04±2.64 ^b
	15	80.69±2.23 ^d	86.33±2.36 ^a	51.08±2.51 ^b
	20	81.61±2.88 ^{cd}	73.03±1.87 ^{cd}	52.33±2.88 ^b

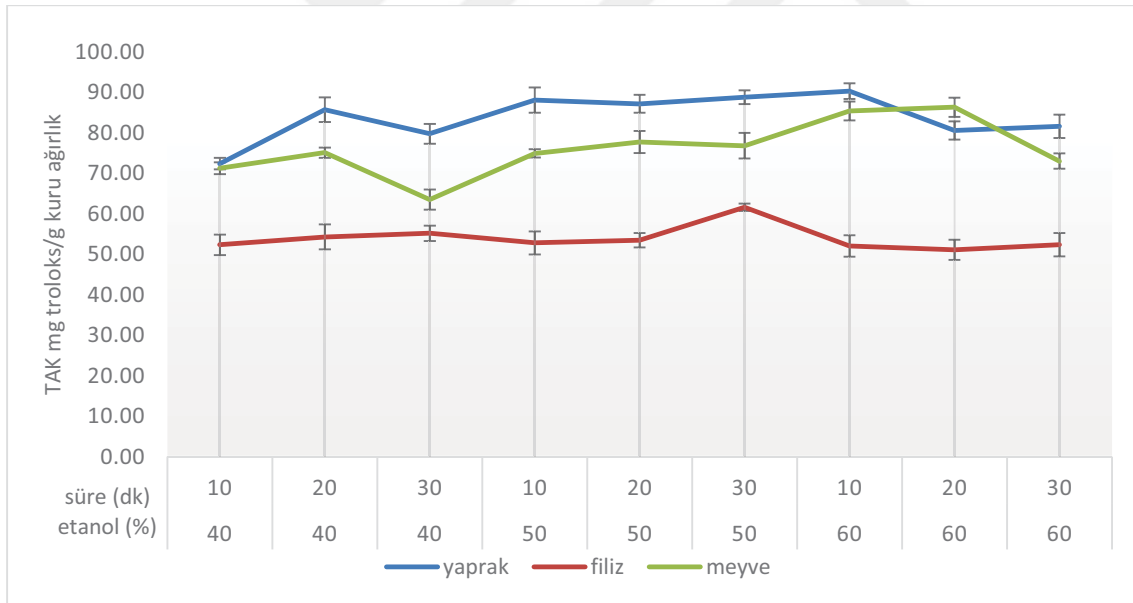
Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 6) olarak ifade edilmiştir.

Aynı sütunda farklı küçük harfle ifade edilen ortalamalar istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

MDE yöntemiyle, yaprak ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesine etanol konsantrasyonu ve etanol*süre etkileşiminin etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05). Ancak %95 güven aralığında süre bağımsız değişkeninin, yaprakların toplam antioksidan kapasitesine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır (p>0.05). Yapraklarda etanol konsantrasyonları arasında en büyük ortalama %50 ve en küçük ortalama %40 etanol konsantrasyonunda gözlenmiştir. Etanol*süre etkileşimi açısından incelendiğinde en yüksek ortalama (90.30±1.92 mg troluks/g kuru ağırlık), %60 etanolde 10 dakika sürede elde edilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde 10 dakika gibi kısa sürede

en yüksek antioksidan kapasitesine ulaşılabilmiştir. Mikrodalga yöntemi çok kısa sürelerde ekstraksiyon yapılmasını sağlayan gelişmiş bir tekniktir. Geleneksel yöntemde bazen günler alabilen ekstraksiyon süreleri yerine çok kısa sürelerde anlamlı sonuçlar almak mümkün olmaktadır.

Filizin toplam antioksidan kapasitesine mikrodalga yöntemindeki etanol ve sürenin etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Ayrıca etanol*süre etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Etanol konsantrasyonları arasındaki fark meyve ile benzerlik göstermiştir ve %50, %40, %60 sırasıyla azalmaktadır. 20 dakika mikrodalga uygulaması 10 ve 15 dakika mikrodalga uygulamasından anlamlı olarak farklıdır ($p<0.05$) ve daha yüksek ortalamalar elde edilmiştir. %50 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika sürede en yüksek antioksidan kapasitesi gözlenmiştir (61.58 ± 0.92 mg troluks/g kuru ağırlık). Filize uygulanan diğer etanol konsantrasyonları ve süreler arasında ölçülen toplam antioksidan kapasiteleri arasında fark yoktur.



Şekil 4.6 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi

Meyvede etanol konsantrasyonu, süre ve etanol-süre etkileşimi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Etanol konsantrasyonu ve toplam antioksidan kapasitesi değerleri arasında doğrusal bir ilişki gözlenmiştir. Etanol konsantrasyonu arttıkça meyve ekstraktlarının toplam antioksidan miktarı artmıştır. Süreler arasındaki fark istatistiksel

olarak anlamlıdır ($p<0.05$). Bu veriler ışığında meyvede en yüksek toplam antioksidan kapasitesi %60 etanol ve 10 ile 15 dakika sürede elde edilmiştir. 10 dakika süre ve %60 etanol konsantrasyonu optimum sonuç için seçilebilir. Farklı bitki kısımları arasındaki etkileşim EKB-25’de verilmiştir.

4.3.4 Yaprak, Meyve ve Filizin Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) ile Elde Edilen Toplam Antioksidan Kapasite (TAK) Değerlerinin Karşılaştırılması

UDE ve MDE ekstraksiyon yöntemleri arasındaki fark, 3 farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50 ve %60) ve 2 farklı sürede (10 dk ve 20 dakika) ve 3 farklı bitki kısmı (yaprak, meyve ve filiz) açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam antioksidan kapasiteleri Çizelge 4.9’da verilmiştir. İki yönlü ANOVA sonuçlarına göre yöntem, bitki kısmı, etanol konsantrasyonu, süre, yöntem*bitki kısmı*etanol*süre interaksiyonu ve diğer tüm interaksiyonlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$). Buna göre UDE ve MDE yöntemleri arasında fark vardır ve bu fark istatistiksel olarak önemlidir. Mikrodalga yönteminin ortalaması 70.67 mg troloks/g kuru ağırlık ve UDE ortalaması 61.31 mg troloks/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur (EKB-26).

Yaprak ve filizde mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde genellikle daha yüksek etanol konsantrasyonlarında (%60 ve %50) daha yüksek toplam antioksidan kapasite değerleri elde edilirken, ultrasonik ekstraksiyonda %40 ve %50 etanol konsantrasyonlarında daha yüksek sonuçlar saptanmıştır. Meyve örneklerinde ise aynı etanol konsantrasyonları ve süreler karşılaştırıldığında UDE’de daha yüksek sonuç elde edilmiştir.

Bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasiteleri için UDE-MDE karşılaştırmasında, UDE yönteminde %60 etanol konsantrasyonunun en düşük toplam antioksidan kapasite değerlerini verirken, MDE’de en yüksek ortalamaları vermiştir. Ultrason destekli ekstraksiyonla yapılan çalışmalarda, %50 etanol konsantrasyonunda daha yüksek sonuçlar alınmıştır.

MDE ile ekstrakte edilen filizde, en yüksek sonuç %50 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika sürede, UDE’de ise yine %50 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika ekstraksiyon süresinde elde edilmiştir.

Yaprakta en yüksek antioksidan kapasite MDE ile %60 etanol konsantrasyonu 10 dakika süre de elde edilirken, UDE’de %50 konsantrasyon da 20 dakikada elde edilmiştir. Yaprak ve filizde MDE ile elde edilen toplam antioksidan kapasite değerleri UDE’den yüksek çıkmıştır. Ancak meyvede her iki yöntemin de yüksek olduğu koşullar olmuştur. Filizin ortalama antioksidan kapasite değerleri her iki yöntemde de yaprak ve meyvenin gerisinde kalmıştır.

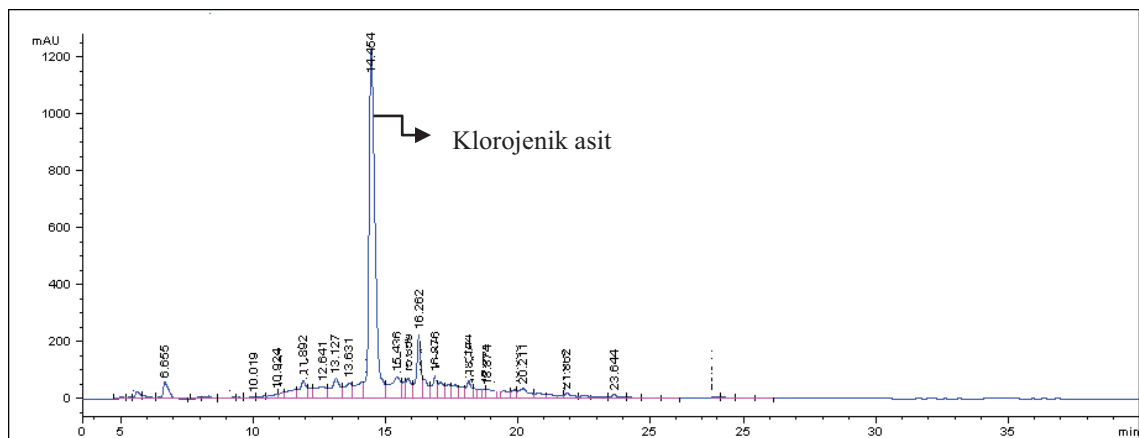
Çizelge 4.9 Yaprak, meyve ve filizin ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesi

Bitki Kısımları	Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Toplam Antioksidan Kapasite (mg troloks/g kuru ağırlık)	
			MDE	UDE
Filiz	40	10	52.32±2.53	33.03±1.52
		20	55.17±1.19	38.64±2.57
	50	10	52.81±2.85	41.00±1.59
		20	61.58±0.92	44.43±2.36
	60	10	52.04±2.65	33.45±2.30
		20	52.33±2.88	37.34±1.86
Meyve	40	10	71.28±1.46	74.33±2.71
		20	63.52±2.50	85.18±1.89
	50	10	74.92±1.00	75.80±2.77
		20	76.81±3.15	82.56±1.20
	60	10	85.41±2.35	77.41±1.57
		20	73.03±1.87	81.18±2.82
Yaprak	40	10	72.39±1.43	67.23±1.33
		20	79.76±2.43	67.50±1.74
	50	10	88.06±3.12	65.08±2.68
		20	88.79±1.70	67.97±1.67
	60	10	90.30±1.92	63.77±2.24
		20	81.61±2.88	67.74±2.30

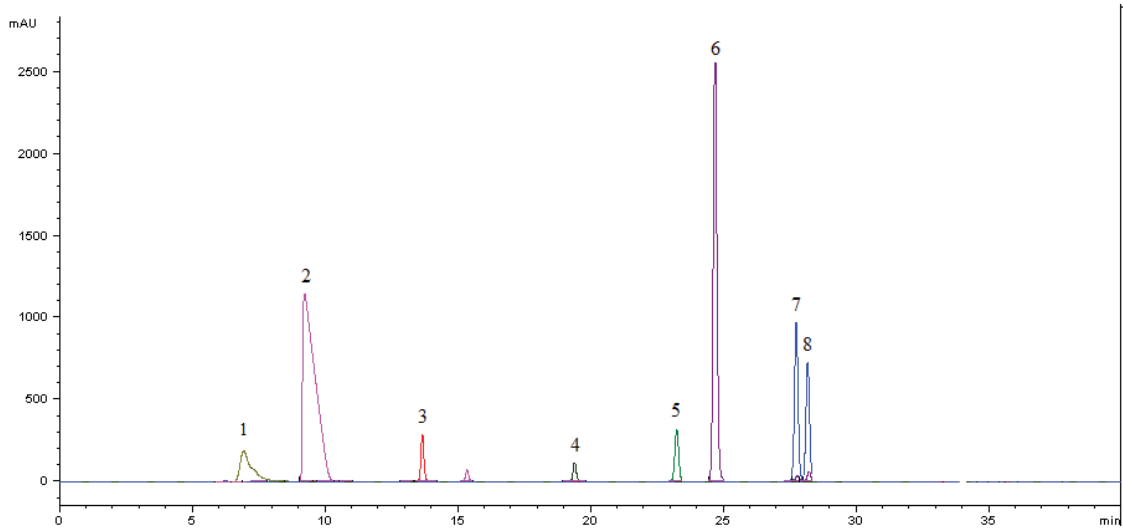
4.4 Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi ile Fenolik Bileşenlerin Belirlenmesi

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) analitik ayırma teknikleri arasında yaygın olarak kullanılan duyarlı bir yöntemdir. Mobil fazın yüksek basınçla ilerlenmesi sağlandığından yüksek resolüsyon (ayrım) gerçekleşir. Fenolik bileşikler gibi polar bileşiklerin kolonda ayrımı için genellikle ters-faz (RP) kromatografisi seçilir. RP’de sabit faz apolar mobil faz polardır. Bu nedenle analitteki en polar bileşikler kolondan ilk çıkar.

Melocanın farklı bitki kısımlarının fenolik profilini belirlemek amacıyla literatürde yer alan ve *Smilacaceae* familyasına mensup farklı ülkelerde yetişen bitkisel kaynaklardan saptanmış sekiz farklı fenolik standart madde kullanılmıştır. Bu fenolik standartlardan klorojenik asit, kuersetin, resveratrol, gallik asit, epikateşin, kaempferol, kaempferol-7-o-β-D-glukopiranozit ve isoramnetin saptanmaya çalışılmıştır. Ancak, bu sekiz standarttan sadece bir tanesi olan klorojenik asit Türkiye’de yetişen *Smilax excelsa* L. bileşiminde baskın fenolik madde olarak her üç bitki kısmında (yaprak, meyve ve filiz) tespit edilmiştir. Şekil 4.7’de melocan yaprağına ait, çalışmamızda elde edilen örnek bir kromatogram verilmiştir. Bu kromatogramdan görüldüğü gibi melocanda birçok pik elde edilmiştir. Ancak yeterli standart madde bulunamadığından hepsinin sadece HPLC yöntemiyle tanımlanması mümkün olmamıştır. HPLC ile tespit edilen standart pikleri Şekil 4.8’de verilmiştir. Kütle spektrofotometresi (MS) ve nükleer manyetik rezonans (NMR) gibi ileri teknikler uygulanarak melocanın içerdiği fenolik bileşikler belirlenebilir.



Şekil 4.7 Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilmiş melocan yaprağına ait bir kromatogram



Şekil 4.8 Çalışmada kullanılan standart maddelerin kromatogramları (1:gallik asit, 2:epikateşin, 3:klorojenik asit, 4:kaempferol-7-O- β -D-glukopiranozit, 5: resveratrol, 6:kuersetin, 7:kaempferol, 8:isorhamnetin)

4.4.1 Geleneksel Ekstraksiyon (GE) İle Elde Edilen Ekstraktların Klorojenik Asit Miktarları

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile melocanın farklı kısımlarının klorojenik asit miktarları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Geleneksel yöntemde yaprak, meyve ve filiz ekstraktlarının klorojenik asit miktarındaki değişime etanol konsantrasyonunun etkisi ANOVA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (EKB-27,28,29).

Geleneksel yöntemde yaprakların klorojenik asit miktarına etanol konsantrasyonu etkili bulunmamıştır ($p>0.05$). Uygulanan üç etanol konsantrasyonunda elde edilen değerler arasında fark yoktur ($p>0.05$).

Geleneksel yöntemde filizlerin klorojenik asit miktarlarına etanol konsantrasyonunun etkisi vardır ($p<0.05$). Bu fark %40 ile %50 ve %40 ile %60 etanol konsantrasyonları arasındadır. Filizin klorojenik asit içeriği geleneksel yöntemde en yüksek %60 etanolde 3.05 mg/g kuru ağırlık bulunmuştur. Geleneksel yöntemde meyvenin klorojenik asit miktarına etanol konsantrasyonu etkili olmamıştır ($p>0.05$).

Geleneksel yöntemde üç bitki kısmı kıyaslandığında, bitki kısımları arasında fark gözlenmiştir ($p<0.05$) (EKB-30). Bu farklılık etanol konsantrasyonu dikkate alınmadığında yaprak>meyve>filiz şeklindedir. Geleneksel yöntemde yaprakların

ortalama klorojenik asit içeriği 18.71 mg/g kuru ağırlık, meyvenin klorojenik asit içeriği 5.70 mg/g kuru ağırlık ve filizin klorojenik asit içeriği 2.72 mg/g kuru ağırlık olarak bulunmuştur. Etanol konsantrasyonları arasındaki fark etkili olmamıştır.

Çizelge 4.10 Geleneksel ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının klorojenik asit miktarları

Etanol Konsan. (%)	Süre (saat)	Klorojenik Asit (mg / g kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	72	18.92±0.87 ^{aA}	5.93±0.86 ^{aB}	2.19±0.21 ^{bB}
50	72	19.59±1.04 ^{aA}	5.29±0.25 ^{aB}	2.94±0.11 ^{aB}
60	72	17.62±2.43 ^{aA}	5.88±0.87 ^{aB}	3.05±0.10 ^{aB}

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 2) olarak ifade edilmiştir. Aynı sütunda farklı harfle (a-b), aynı satırda farklı harfle (A-B) ifade edilen ortalamalar istatistiksel olarak anlamlı fark vardır (p<0.05).

4.4.2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Klorojenik Asit Miktarları

Ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile melocanın farklı kısımlarının klorojenik asit miktarları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Ultrasonik yöntemde yaprak, meyve ve filiz ekstraktlarının klorojenik asit miktarındaki değişime etanol konsantrasyonu ve sürenin etkisi iki yönlü ANOVA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (EKB-31,32,33).

Gıda kaynaklarından izole edilen fenolik bileşikler çok hassas yapıdadır. Depolama sıcaklığı, oksijen, ışık, kullanılan çözücü, kesme ve öğütme gibi faktörlerden etkilenirler [100]. Bu sebeple uygulama koşullarındaki değişiklikler klorojenik asitin miktarında değişime neden olmuştur.

Yaprakların klorojenik asit miktarına etanol konsantrasyonunun etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). Ancak süre bağımsız değişkeni ve etanol-süre etkileşimi arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır (p>0.05). Etanol konsantrasyonları arasındaki fark %40 etanol ile %60 etanol ve %50 etanol ile %60 etanol arasındadır. Klorojenik asit miktarı %40 etanol konsantrasyonunda ortalama 19.38 mg/kg kuru ağırlık bulunmuştur. %60 etanol konsantrasyonunda ise ortalama 17.46 mg/kg kuru ağırlık bulunmuştur.

UDE ile ekstrakte edilen filizin klorojenik asit miktarı arasında, etanol konsantrasyonu, süre ve etanol-süre etkileşimi iki yönlü ANOVA sonuçlarına göre istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (EKB-32). Filizinden ekstrakte edilen en yüksek klorojenik asit miktarı %40 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika sürede (20.30 mg/g kuru ağırlık) tespit edilmiştir. En düşük klorojenik asit miktarı %60 etanol konsantrasyonunda 30 dakika sürede elde edilmiştir (14.94 mg/g kuru ağırlık). Süreler arasındaki farklılık 20 dakika ile 30 dakika arasındadır.

UDE uygulanan meyve ekstraktlarının klorojenik asit miktarına etanol konsantrasyonu, süre ve etanol-süre etkileşimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$) (EKB-33).

Ultrasonik yöntem uygulanmış melocanın farklı kısımları arasındaki klorojenik asit miktarları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). İki yönlü ANOVA ile yapılan test istatistiğine göre bitki kısımları, etanol konsantrasyonu ve süre arasındaki farklar ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı açısından önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak, bitki kısımları-etanol, bitki kısımları-süre ve bitki kısımları-etanol konsantrasyonu-süre etkileşimleri klorojenik asit miktarında istatistiksel olarak önemli bir fark oluşturmamıştır ($p>0.05$) (EKB-34).

Çizelge 4.11 Ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının klorojenik asit miktarları

Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Klorojenik Asit (mg / g kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	10	18.56±0.31 ^a	5.71±0.59 ^a	17.95±0.94 ^{bc}
	20	20.09±0.55 ^a	6.44±0.06 ^a	20.30±0.16 ^a
	30	19.49±0.24 ^a	5.45±0.31 ^a	18.66±0.44 ^{abc}
50	10	18.61±0.53 ^a	5.81±0.54 ^a	18.86±0.79 ^{abc}
	20	19.22±0.02 ^a	6.26±0.67 ^a	18.72±0.76 ^{abc}
	30	19.18±1.53 ^a	6.54±0.40 ^a	19.47±0.44 ^{ab}
60	10	17.00±1.38 ^a	5.58±0.75 ^a	17.01±0.21 ^{cd}
	20	17.89±1.26 ^a	5.58±0.70 ^a	16.88±0.41 ^{cd}
	30	17.49±0.45 ^a	5.72±0.71 ^a	14.94±0.14 ^d

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 2) olarak ifade edilmiştir.

Aynı sütunda farklı küçük harfle ifade edilen ortalamalar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

4.4.3 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (UDE) İle Elde Edilen Ekstraktların Klorojenik Asit Miktarları

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile melocanın farklı kısımlarının klorojenik asit miktarları Çizelge 4.11’de verilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde yaprak, meyve ve filiz ekstraktlarının klorojenik asit miktarındaki değişime etanol konsantrasyonu ve sürenin etkisi iki yönlü ANOVA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (EKB-35,36,37).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulanan yaprakların klorojenik asit içeriğine, etanol konsantrasyonu, süre ve etanol-süre etkileşimi, istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.05$). Etanol konsantrasyonları arasında lineer fakat ters bir ilişki vardır. Ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı etanol konsantrasyonu arttıkça azalmıştır. Süreler arasındaki fark lineer değildir. 15 dakikada en yüksek klorojenik asit ekstrakte edilirken, 10 ve 20 dakika da ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı azalmıştır. Yaprakta en yüksek klorojenik asit miktarı, %60 etanolde ve 10 dakika sürede ekstrakte edilmiştir (90 mg/g kuru ağırlık). En düşük değer %40 etanol konsantrasyonu ve 10 dakika sürede, 72.39 mg/g kuru ağırlık olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.12 Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan bitki kısımlarının klorojenik asit miktarları

Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Klorojenik Asit (mg / g kuru ağırlık)		
		Yaprak	Meyve	Filiz
40	10	5.05±0.02 ^{de}	4.07±0.05 ^a	3.07±0.42 ^a
	15	8.45±0.06 ^a	4.27±0.03 ^a	3.03±0.15 ^a
	20	4.14±0.08 ^g	4.27±0.04 ^a	3.13±0.15 ^a
50	10	5.49±0.05 ^c	4.48±0.30 ^a	3.33±0.21 ^a
	15	5.91±0.12 ^b	4.38±0.32 ^a	3.42±0.54 ^a
	20	4.71±0.08 ^{ef}	4.24±0.19 ^a	3.58±0.35 ^a
60	10	5.10±0.17 ^d	3.48±0.81 ^a	3.21±0.32 ^a
	15	5.33±0.10 ^{cd}	3.50±0.90 ^a	3.14±0.30 ^a
	20	4.49±0.10 ^{fg}	2.94±0.00 ^a	3.47±0.13 ^a

Sonuçlar ortalama ± standart sapma (n = 2) olarak ifade edilmiştir.

Aynı sütunda farklı küçük harfle ifade edilen ortalamalar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulanan filizlerin klorojenik asit içeriğine, etanol konsantrasyonu, süre ve etanol-sürenin etkisi istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi yoktur ($p>0.05$).

Meyvelerin ultrasonik destekli ekstraksiyonla elde edilmiş klorojenik asit miktarlarına etanol konsantrasyonunun etkisi istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$), ancak süre ve etanol-süre etkileşimi anlamlı bir fark göstermemiştir. Etanol konsantrasyonları arasındaki fark, %60 ile %40 ve %60 ile %50 etanol konsantrasyonları arasındadır.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmiş klorojenik asit miktarı, bitki kısımları arasında karşılaştırıldığında, bitki kısımları arasında anlamlı bir fark olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Yaprak, meyve ve filiz ortalamaları sırasıyla, 5.41, 3.96 ve 3.24 mg klorojenik asit/g kuru ağırlık olarak tespit edilmiştir. Bitki kısımları, etanol konsantrasyonu, süre, bitki kısmı-etanol, bitki kısmı-süre, etanol-süre ve bitki kısmı-etanol-süre etkileşimleri istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$) (EKB-38).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen en yüksek klorojenik asit içerikleri, yaprak, meyve ve filizde sırasıyla, 8.45 (%40 etanol, 15 dk), 4.48 (%50 etanol, 10) ve 3.58 (%50 etanol, 20 dk) mg/g kuru ağırlık olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.12).

4.4.4 Yaprak, Meyve ve Filizin Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UDE) ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) Yöntemleriyle Elde Edilen Klorojenik Asit Miktarlarının Karşılaştırılması

UDE ve MDE ekstraksiyon yöntemleri arasındaki fark, 3 farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50 ve %60) ve 2 farklı sürede (10 dakika ve 20 dakika) ve 3 farklı bitki kısmı (yaprak, meyve ve filiz) açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen ekstraktların HPLC ile belirlenen klorojenik asit miktarı Çizelge 4.13'te verilmiştir. İki yönlü ANOVA sonuçlarına göre yöntem, bitki kısmı, etanol konsantrasyonu, yöntem*bitki kısımları, yöntem*etanol, yöntem*bitki kısmı, yöntem*süre, bitki kısımları*süre ve yöntem*bitki kısımları*etanol interaksiyonları istatistiksel olarak anlamlı çıkmıştır ($p<0.05$) ancak sürenin ve yöntem*bitki kısmı*etanol*süre interaksiyonu arasındaki farkın istatistiksel olarak önemi yoktur ($p>0.05$) Buna göre ekstrakte edilen klorojenik miktarları açısından UDE ve MDE yöntemleri arasında fark vardır ve istatistiksel olarak önemlidir ($p<0.05$) (EKB-39).

Yaprak, meyve ve filizin farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen klorojenik asit miktarları Çizelge 4.13’de gösterilmiştir. Bitki kısımlarında aynı etanol konsantrasyonu ve sürede UDE ve MDE arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p<0.05$) (EKB-39).

UDE ortalamaları yaprak ve filizde daha yüksek çıkmıştır. Mikrodalga işleminde klorojenik asit miktarı yaprakta ultrasonik yöntemle göre daha düşük çıkmıştır. Mikrodalga işleminde klorojenik asit degrade olmuştur veya ekstraksiyon işleminin UDE’de daha başarılı gerçekleştiğini söyleyebiliriz.

Çizelge 4.13 Yaprak, meyve ve filizin ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanan ekstraktlarının klorojenik asit miktarları

Bitki Kısımları	Etanol Kons. (%)	Süre (dk)	Klorojenik Asit (mg / g kuru ağırlık)	
			MDE	UDE
Filiz	40	10	3.07±0.42	17.96±0.94
		20	3.13±0.16	20.30±0.16
	50	10	3.33±0.21	18.86±0.79
		20	3.58±0.35	18.72±0.76
	60	10	3.21±0.33	17.01±0.21
		20	3.47±0.13	16.89±0.42
Meyve	40	10	4.08±0.05	5.71±0.59
		20	4.27±0.04	6.44±0.06
	50	10	4.48±0.30	5.81±0.54
		20	4.24±0.19	6.26±0.68
	60	10	3.49±0.81	5.58±0.74
		20	2.94±0.00	5.59±0.70
Yaprak	40	10	5.05±0.01	18.56±0.31
		20	4.14±0.08	20.09±0.54
	50	10	5.49±0.06	18.62±0.53
		20	4.71±0.08	19.22±0.01
	60	10	5.10±0.17	17.00±1.38
		20	4.49±0.10	17.89±1.26

5 SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, üç farklı ekstraksiyon yöntemi (geleneksel ekstraksiyon (GE), ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon(MDE)) ve melocan bitkisinin üç farklı kısmından (yaprak, meyve ve filiz) elde edilen ekstraktlarda toplam fenolik madde (TFM) miktarları, toplam antioksidan kapasite miktarları (TAK) ve fenolik düzeyleri incelenmiştir. Bu amaçla, GE yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve 72 saat ekstraksiyon süresinde, UDE yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (10 dk, 20 dk, 30 dk) ve MDE yönteminde üç farklı etanol konsantrasyonu (%40, %50, %60) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (10 dk, 15dk, 20 dk) çalışılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde;

Yaprakta; en yüksek TFM miktarı, MDE yöntemi, %40 etanol ve 5 dakika sürede (70.55 mg GAE/g kuru ağırlık); en yüksek TAK miktarı, MDE yöntemi, %60 etanol ve 20 dakika sürede (90.30 mg troloks/g kuru ağırlık) ve en yüksek klorojenik asit içeriği, UDE yöntemi, %40 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika sürede (20.09 mg/g kuru ağırlık) olarak bulunmuştur.

Meyvede; en yüksek TFM miktarı, MDE yöntemi, %40 etanol ve 15 dakika sürede (76.67 mg GAE/g kuru ağırlık); en yüksek TAK miktarı, MDE yöntemi, %60 etanol ve 10 dakika sürede (85.41 mg troloks/g kuru ağırlık) ve en yüksek klorojenik asit içeriği, UDE yöntemi, %50 etanol konsantrasyonu ve 30 dakika sürede (6.54 mg/g kuru ağırlık) olarak bulunmuştur.

Filizde; en yüksek TFM miktarı, MDE yöntemi, %40 etanol ve 20 dakika sürede (54.85 mg GAE/g kuru ağırlık); en yüksek TAK miktarı, MDE yöntemi, %50 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika sürede (61.58 mg troloks/g kuru ağırlık) ve en yüksek klorojenik asit içeriği, UDE yöntemi, %40 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika sürede (20.30 mg/g kuru ağırlık) olarak bulunmuştur.

TFM miktarının belirlenmesinde üç bitki kısmı için, en iyi şartlar; MDE yöntemi, %40 etanol konsantrasyonu ve 15 dakika süre olarak bulunmuştur. TAK'ın belirlenmesinde üç

bitki kısmı için, en iyi şartlar; MDE yöntemi, %50 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika süredir. Klorojenik asit miktarının belirlenmesinde üç bitki kısmı için, en iyi şartlar; UDE yöntemi, %40 etanol konsantrasyonu ve 20 dakika süre olarak belirlenmiştir.

Toplam fenolik madde değerleri açısından en iyi yöntem mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi olarak belirlenmiştir. En yüksek TFM değerleri; geleneksel yöntemde %60 etanolde ekstrakte edilen meyvede (57.81 mg GAE/g kuru ağırlık), UDE'de %40 etanol ve 30 dakikada ekstrakte edilen yaprakta (61.68 mg GAE/g kuru ağırlık) ve MDE'de %40 etanolde 15 dakikada ekstrakte edilen meyve örneğinde (76.67 mg GAE/g kuru ağırlık) olarak belirlenmiştir.

Toplam antioksidan kapasite açısından en iyi yöntem mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi olmuştur. En yüksek TAK değerleri; geleneksel yöntemde %40 etanolde ekstrakte edilen meyvede (74.32 mg GAE/g kuru ağırlık), UDE'de %40 etanol ve 20 dakikada ekstrakte edilen meyvede (85.18 mg GAE/g kuru ağırlık) ve MDE'de %40 etanolde 15 dakikada ekstrakte edilen yaprak örneğinde (90.30 mg GAE/g kuru ağırlık) olarak belirlenmiştir.

Klorojenik asit miktarları açısından en iyi yöntem ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi olmuştur. En yüksek klorojenik asit miktarları; geleneksel yöntemde %50 etanolde ekstrakte edilen yaprakta (19.59 mg/g kuru ağırlık), UDE'de %40 etanol ve 20 dakikada ekstrakte edilen meyvede (85.18 mg/g kuru ağırlık) ve MDE'de %40 etanolde 10 dakikada ekstrakte edilen yaprak örneğinde (8.45 mg/g kuru ağırlık) olarak belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar toplu olarak değerlendirildiğinde *S. excelsa*'nın en düşük fenolik içeriğe melocan filizlerinde belirlenmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda geleneksel yönteme göre daha kısa ekstraksiyon sürelerinde daha iyi ekstraksiyon verimi elde edilmiştir. Ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri arasında toplam fenolik madde, toplam antioksidan kapasite ve klorojenik asit içeriği açısından farklılıklar bulunmaktadır. Bu nedenle bu konuda daha detaylı optimizasyon çalışmalarına ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] S. Raúl, H.C. Beatriz, L.G. Joseoziel, S.S.N. Francenia, Phenolic Compounds in Genus *Smilax* (Sarsaparilla), In: M. Soto-Hernandez, M. Palma-Tenango, M.D.R. Garcia-Mateos (Eds.) Phenolic Compounds - Natural Sources, Importance and Applications, Intech, Rijeka, **2017**, Pp. Ch. 09.
- [2] N. Tanker, M. Koyuncu, M. Coşkun, Farmasötik Botanik, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, **1998**.
- [3] M. Zubair, K. Rizwan, U. Rashid, R. Saeed, A.A. Saeed, N. Rasool, M. Riaz, Gc/Ms Profiling, in Vitro Antioxidant, Antimicrobial and Haemolytic Activities Of *Smilax macrophylla* Leaves, Arabian Journal Of Chemistry, 10 (**2017**) S1460-S1468.
- [4] B. Shao, H. Guo, Y. Cui, M. Ye, J. Han, D. Guo, Steroidal Saponins From *Smilax china* and Their Anti-Inflammatory Activities, Phytochemistry, 68 (**2007**) 623-630.
- [5] X.S. Shu, Z.H. Gao, X.L. Yang, Anti-Inflammatory and Anti-Nociceptive Activities of *Smilax China* L. Aqueous Extract, Journal of Ethnopharmacology, 103 (**2006**) 327-332.
- [6] I. Khan, M. Nisar, F. Ebad, S. Nadeem, M. Saeed, H. Khan, F. Khuda, N. Karim, Z. Ahmad, Anti-Inflammatory Activities of Sieboldogenin From *Smilax China* Linn.: Experimental and Computational Studies, Journal of Ethnopharmacology, 121 (**2009**) 175-177.
- [7] A. Ivanova, B. Mikhova, I. Kostova, L. Evstatieva, Bioactive Chemical Constituents From *Smilax excelsa*, Chemistry of Natural Compounds, 46 (**2010**) 295-297.
- [8] S.E. Lee, E.M. Ju, J.H. Kim, Free Radical Scavenging and Antioxidant Enzyme Fortifying Activities of Extracts From *Smilax china* Root, Experimental & Molecular Medicine, 33 (**2001**) 263.
- [9] Q.F. Zhang, Y.X. Guo, X. Shangguan, G. Zheng, W.J. Wang, Identification and Quantification of Polyphenols in Rhizoma *Smilacis chinae* By Hplc/Dad/Esi-MS/MS, Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, 36 (**2013**) 2251-2260.
- [10] N. Ozsoy, A. Can, R. Yanardag, N. Akev, Antioxidant Activity of *Smilax excelsa* L. Leaf Extracts, Food Chemistry, 110 (**2008**) 571-583.
- [11] İ. Koca, İ. Hasbay, Ş. Bostancı. Samsun ve Çevresinde Sebze Olarak Kullanılan Bazı Yabancı Bitkiler ve Tüketim Şekilleri. Samsun Sempozyumu. https://www.researchgate.net/publication/276187901_samsun_ve_cevresinde_sebze_olarak_kullanilan_bazi_yabani_bitkiler_ve_tuketim_sekilleri (**2011**).
- [12] Anonim, <http://www.bizimbahce.net/forum/anadolu-saparnasi-smilax-excelsa-linnaeus-t14455.0.html> (Erişim tarihi: **22 Şubat 2018**).
- [13] L. Longo, G. Vasapollo, Extraction and Identification of Anthocyanins From *Smilax aspera* L. Berries, Food Chemistry, 94 (**2006**) 226-231.

- [14] P. Khaligh, P. Salehi, M. M. Farimani, S. Ali-Asgari, M. A. Esmaeili, S. Nejad Ebrahimi, Bioactive Compounds From *Smilax excelsa* L, Journal of the Iranian Chemical Society, 13 (2016) 1055-1059.
- [15] T.T. Sun, D.W. Zhang, Y. Han, F.Y. Dong, W. Wang, Smilasides M and N, Two New Phenylpropanoid Glycosides From *Smilax Riparia*, Journal of Asian Natural Products Research, 14 (2012) 165-170.
- [16] A. Ivanova, J. Serly, D. Dinchev, I. Ocsovszki, I. Kostova, J. Molnar, Screening of Some Saponins and Phenolic Components of *Tribulus Terrestris* and *Smilax excelsa* As Mdr Modulators, inVivo, 23 (2009) 545-550.
- [17] T. Ozen, Antioxidant Activity of Wild Edible Plants in the Black Sea Region of Turkey, Grasas Y Aceites, 61 (2010) 86-94.
- [18] H. Dehghan, Y. Sarrafi, P. Salehi, Antioxidant and Antidiabetic Activities of 11 Herbal Plants From Hyrcania Region, Iran, Journal of Food and Drug Analysis, 24 (2016) 179-188.
- [19] E. Yeşilada, E. Sezik, G. Honda, Y. Takaishi, Y. Takeda, T. Tanaka, Traditional Medicine in Turkey IX, Journal of Ethnopharmacology, 64 (1999) 195-210.
- [20] E. Miser-Salihoglu, G. Akaydin, E. Caliskan-Can, S. Yardim-Akaydin, R. Tatiparthi, D. Duraiswamy, C.K. Bannoth, E.D. Özdamar, B.C. Eke, A. Gökbulut, Evaluation of Antioxidant Activity of Various Herbal Folk Evaluation Medicine, Fabad J. Pharm. Sci, 35 (2010) 59-67.
- [21] E. Efe, *Smilax excelsa* L. Meyve Ekstrelerinin Antimutajenik, Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktivitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Giresun Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Giresun, 2017.
- [22] G. Bağ, *Smilax excelsa* L. Bitkisinin İçerdiği Flavonoidal Bileşikler, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 1994.
- [23] C. Ao, T. Higa, T.D. Khanh, A. Upadhyay, S. Tawata, Antioxidant Phenolic Compounds From *Smilax Sebeana* Miq, Lwt-Food Science and Technology, 44 (2011) 1681-1686.
- [24] V. Wilfred, R. Nicholson, Phenolic Compound Biochemistry, Springer 2006.
- [25] J. Acar, V. Gökmen, Fenolik Bileşikler Ve Doğal Renk Maddeleri, Gıda Kimyasi, (1998) 435-452.
- [26] R. A. Dixon, N. L. Paiva, Stress-Induced Phenylpropanoid Metabolism, the Plant Cell, 7 (1995) 1085.
- [27] M. Çam, Kayseri Bölgesi'nde Tüketilen Gilaburu (*Viburnum opulus*) Meyve Suyunun Organik Asit Ve Fenolik Bileşiklerinin Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 2005.
- [28] E. Büyüktuncel, Toplam Fenolik İçerik ve Antioksidan Kapasite Tayininde Kullanılan Başlıca Spektrofotometrik Yöntemler, Marmara Pharmaceutical Journal 17 (2013) 93-103.
- [29] Z. İskefiyeli, Damlatma ile Yeni DPPH ve Frap Antioksidan Tayin Yöntemlerinin Geliştirilmesi ve Uygulanması, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Trabzon, 2014.

- [30] Ö.A. Cavuldak, N. Vural, R.E. Anlı, Bitki Kaynaklı Fenolik Bileşiklerin Ultrasonik Dalga Destekli Ekstraksiyonu, Gıda/The Journal of Food, 41 (2016).
- [31] C.M. Galanakis, Polyphenols: Properties, Recovery, and Applications, Woodhead Publishing 2018.
- [32] B. H. Havsteen, The Biochemistry and Medical Significance of The Flavonoids, Pharmacology & Therapeutics, 96 (2002) 67-202.
- [33] E. Ozcan, Ultrasound Assisted Extraction of Phenolics From Grape Pomace, Middle East Technical University, The Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ph. D., Chemical Engineering, Ankara, (2006).
- [34] K.H. Kim, R. Tsao, R. Yang, S. W. Cui, Phenolic Acid Profiles and Antioxidant Activities of Wheat Bran Extracts and The Effect of Hydrolysis Conditions, Food Chemistry, 95 (2006) 466-473.
- [35] R. Puupponen-Pimiä, L. Nohynek, C. Meier, Antimicrobial Properties of Phenolic Compounds From Berries, Journal of Applied Microbiology, 90 (2001) 494-507.
- [36] G.F. Wang, L.P. Shi, Y.D. Ren, Q.F. Liu, H.F. Liu, R.J. Zhang, Z. Li, F.H. Zhu, P.L. He, W. Tang, P.Z. Tao, C. Li, W.M. Zhao, J.P. Zuo, Anti-Hepatitis B Virus Activity of Chlorogenic Acid, Quinic Acid and Caffeic Acid inVivo and inVitro, Antiviral Research, 83 (2009) 186-190.
- [37] J. Fan, J.D. Gregory, Natural Phenolic Compounds As Cardiovascular Therapeutics: Potential Role of Their Antiinflammatory Effects, Current Vascular Pharmacology, 1 (2003) 135-156.
- [38] V. Kraujalyte, P.R. Venskutonis, A. Pukalskas, L. Cesoniene, R. Daubaras, Antioxidant Properties and Polyphenolic Compositions of Fruits From Different European Cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) Genotypes, Food Chemistry, 141 (2013) 3695-3702.
- [39] N.M. Nizamlioglu, N. Sebahattin, Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik Bileşikler; Yapıları ve Önemleri, Electronic Journal of Food Technologies, 5 (2010) 20-35.
- [40] L. Bravo, Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance, Nutrition Reviews, 56 (1998) 317-333.
- [41] A.M. Ares, S. Valverde, J.L. Bernal, M.J. Nozal, J. Bernal, Extraction and Determination of Bioactive Compounds From Bee Pollen, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, (2017).
- [42] S. Albayrak, O. Sağdıç, A. Aksoy, Bitkisel Ürünlerin ve Gıdaların Antioksidan Kapasitelerinin Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26 (2010) 401-409.
- [43] R. Tsao, Z. Deng, Separation Procedures For Naturally Occurring Antioxidant Phytochemicals, Journal of Chromatography B, 812 (2004) 85-99.
- [44] F.B. Hu, Dietary Pattern Analysis: A New Direction inNutritional Epidemiology, Current Opinion inLipidology, 13 (2002) 3-9.
- [45] P. Molyneux, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (Dpph) For Estimating Antioxidant Activity, Songklanakarin J. Sci. Technol, 26 (2004) 211-219.

- [46] J. Azmir, I. Zaidul, M. Rahman, K. Sharif, A. Mohamed, F. Sahena, M. Jahurul, K. Ghafoor, N. Norulaini, A. Omar, Techniques For Extraction of Bioactive Compounds From Plant Materials: A Review, *Journal of Food Engineering*, 117 (2013) 426-436.
- [47] M. Herrero, A. Cifuentes, E. Ibanez, Sub- and Supercritical Fluid Extraction of Functional Ingredients From Different Natural Sources: Plants, Food-By-Products, Algae and Microalgae - A Review, *Food Chemistry*, 98 (2006) 136-148.
- [48] S. Moldoveanu, V. David, Chapter 6 - Solvent Extraction, In: S. Moldoveanu, V. David (Eds.) *Modern Sample Preparation For Chromatography*, Elsevier, Amsterdam, 2015, Pp. 131-189.
- [49] G.B. Gonzales, G. Smagghe, K. Raes, J. Van Camp, Combined Alkaline Hydrolysis and Ultrasound-Assisted Extraction For The Release of Nonextractable Phenolics From Cauliflower (*Brassica Oleracea* Var. *Botrytis*) Waste, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62 (2014) 3371-3376.
- [50] M.Sun, G. Lidén, M. Sandahl, C. Turner, Ultra-High Performance Supercritical Fluid Chromatography of Lignin-Derived Phenols From Alkaline Cupric Oxide Oxidation, *Journal of Separation Science*, 39 (2016) 3123-3129.
- [51] F. Acartürk, İ. Ağabeyoğlu, N. Çelebi, T. Değim, Z. Değim, T. Doğanay, S. Takka, F. Tırnaksız, *Modern Farmasötik Teknoloji, Türk Eczacıları Birliği Eczacılık Akademisi Yayını, Ankara, (2007) 105-111.*
- [52] B. Parikh, V. Patel, Quantification of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of An Underutilized Indian Fruit: Rayan [*Manilkara Hexandra* (Roxb.) Dubard], *Food Science and Human Wellness*, 6 (2017) 10-19.
- [53] F.M. Yılmaz, P. Özer, A. Görgüç, Mikrodalga Teknolojisinin Bitkisel Dokulardan Makro ve Mikro Bileşenlerin Özütlemeinde Kullanımı, *Gıda/The Journal of Food*, 43 (2018) 765-775.
- [54] G. Cravotto, Microwave-Assisted Extraction For Bioactive Compounds, In: G.V. Barbosa-Cánovas (Ed.) *Food Engineering Series*, Springer 2013.
- [55] V. Meda, V. Orsat, V. Raghavan, Microwave Heating and The Dielectric Properties of Foods, *The Microwave Processing of Foods (Second Edition)*, Elsevier 2017, pp. 23-43.
- [56] A.K. Chaturvedi, Extraction of Nutraceuticals From Plants By Microwave Assisted Extraction, *Systematic Reviews in Pharmacy*, 9 (2018).
- [57] M. Ranic, M. Nikolic, M. Pavlovic, A. Buntic, S. Siler-Marinkovic, S. Dimitrijevic-Brankovic, Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Natural Antioxidants From Spent Espresso Coffee Grounds By Response Surface Methodology, *Journal of Cleaner Production*, 80 (2014) 69-79.
- [58] J. Roelvink, S. Trabelsi, S. O. Nelson, A Planar Transmission-Line Sensor For Measuring The Microwave Permittivity of Liquid and Semisolid Biological Materials, *Ieee Transactions On Instrumentation and Measurement*, 62 (2013) 2974-2982.
- [59] L.R. Adetunji, A. Adekunle, V. Orsat, V. Raghavan, Advances in The Pectin Production Process Using Novel Extraction Techniques: A Review, *Food Hydrocolloids*, 62 (2017) 239-250.

- [60] F.G.C. Ekezie, D.W. Sun, J.H. Cheng, Acceleration of Microwave-Assisted Extraction Processes of Food Components By Integrating Technologies and Applying Emerging Solvents: A Review of Latest Developments, *Trends in Food Science & Technology*, 67 (2017) 160-172.
- [61] C.H. Chan, R. Yusoff, G.C. Ngoh, F.W.L. Kung, Microwave-Assisted Extractions of Active Ingredients From Plants, *Journal of Chromatography A*, 1218 (2011) 6213-6225.
- [62] K. Thirugnanasambandham, V. Sivakumar, J.P. Maran, Microwave-Assisted Extraction of Polysaccharides From Mulberry Leaves, *International Journal of Biological Macromolecules*, 72 (2015) 1-5.
- [63] L. Sanchez-Prado, J.P. Lamas, M. Lores, C. Garcia-Jares, M. Llompарт, Simultaneous In-Cell Derivatization Pressurized Liquid Extraction For The Determination of Multiclass Preservatives in Leave-On Cosmetics, *Analytical Chemistry*, 82 (2010) 9384-9392.
- [64] G. Spigno, D. De Faveri, Microwave-Assisted Extraction of Tea Phenols: A Phenomenological Study, *Journal of Food Engineering*, 93 (2009) 210-217.
- [65] Z. Yang, W. Zhai, Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Anthocyanins From Purple Corn (*Zea Mays* L.) Cob and Identification With Hplc–Ms, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11 (2010) 470-476.
- [66] A.E. İnce, S. Şahin, G. Sumnu, Comparison of Microwave and Ultrasound-Assisted Extraction Techniques For Leaching of Phenolic Compounds From Nettle, *Journal of Food Science and Technology*, 51 (2014) 2776-2782.
- [67] V.M. Simić, K.M. Rajković, S.S. Stojičević, D.T. Veličković, N.Č. Nikolić, M.L. Lazić, I.T. Karabegović, Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Total Polyphenolic Compounds From Chokeberries By Response Surface Methodology and Artificial Neural Network, *Separation and Purification Technology*, 160 (2016) 89-97.
- [68] O.R. Alara, N.H. Abdurahman, S.K. Abdul Mudalip, O.A. Olalere, Microwave-Assisted Extraction of *Vernonia Amygdalina* Leaf For Optimal Recovery of Total Phenolic Content, *Journal of Applied Research On Medicinal and Aromatic Plants*, 10 (2018) 16-24.
- [69] C. Crews, The Determination of N-Nitrosamines in Food, *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 2 (2010) 2-12.
- [70] T.J. Mason, J.P. Lorimer, *Applied Sonochemistry: Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing*, Betz-Druck, Darmstadt, (2002) 3-4.
- [71] F. Chemat, H. Zill E, M.K. Khan, Applications of Ultrasound in Food Technology: Processing, Preservation and Extraction, *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (2011) 813-835.
- [72] B.K. Tiwari, Ultrasound: A Clean, Green Extraction Technology, *Trends in Analytical Chemistry*, 71 (2015) 100-109.
- [73] Ş. Tavman, S. Kumcuoğlu, Z. Akkaya, Bitkisel Ürünlerin Atıklarından Antioksidan Maddelerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu, *Gıda Dergisi*, 34 (2009).

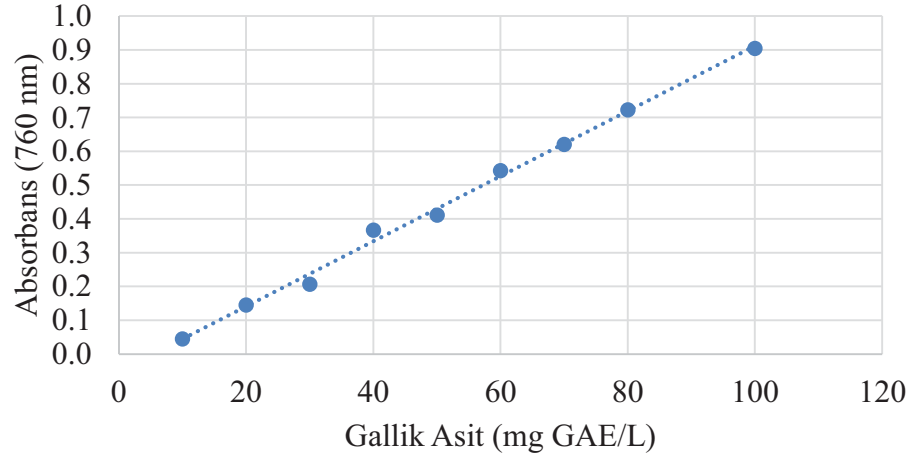
- [74] M.A. Rostagno, M. Palma, C.G. Barroso, Ultrasound-Assisted Extraction of Soy Isoflavones, *Journal of Chromatography A*, 1012 (2003) 119-128.
- [75] J.D. Floros, H. Liang, Acoustically Assisted Diffusion Through Membranes and Biomaterials, *Food Technology*, 48 (1994) 79-84.
- [76] J. Wang, B. Sun, Y. Cao, Y. Tian, X. Li, Optimisation of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds From Wheat Bran, *Food Chemistry*, 106 (2008) 804-810.
- [77] S. Rodrigues, G.A. Pinto, F.A. Fernandes, Optimization of Ultrasound Extraction of Phenolic Compounds From Coconut (*Cocos Nucifera*) Shell Powder By Response Surface Methodology, *Ultrasonics Sonochemistry*, 15 (2008) 95-100.
- [78] F. Chemat, N. Rombaut, A.G. Sicaire, A. Meullemiestre, A.S. Fabiano-Tixier, M. Abert-Vian, Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, Techniques, Combinations, Protocols and Applications. A Review, *Ultrasonics Sonochemistry*, 34 (2017) 540-560.
- [79] M. Vinatoru, An Overview of The Ultrasonically Assisted Extraction of Bioactive Principles From Herbs, *Ultrasonics Sonochemistry*, 8 (2001) 303-313.
- [80] F.M. Barrales, P. Silveira, P.D.P. M. Barbosa, A.R. Ruviaro, B.N. Paulino, G.M. Pastore, G.A. Macedo, J. Martinez, Recovery of Phenolic Compounds From Citrus By-Products Using Pressurized Liquids — An Application To Orange Peel, *Food and Bioproducts Processing*, 112 (2018) 9-21.
- [81] M. Esclapez, J.V. García-Pérez, A. Mulet, J. Cárcel, Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products, *Food Engineering Reviews*, 3 (2011) 108.
- [82] Y.C. Chukwumah, L.T. Walker, M. Verghese, S. Ogutu, Effect of Frequency and Duration of Ultrasonication On The Extraction Efficiency of Selected Isoflavones and Trans-Resveratrol From Peanuts (*Arachis Hypogaea*), *Ultrasonics Sonochemistry*, 16 (2009) 293-299.
- [83] M.A. Margulis, I.M. Margulis, Calorimetric Method For Measurement Of Acoustic Power Absorbed in A Volume of A Liquid, *Ultrasonics Sonochemistry*, 10 (2003) 343-345.
- [84] Y.Q. Ma, J.C. Chen, D.H. Liu, X.Q. Ye, Simultaneous Extraction of Phenolic Compounds of Citrus Peel Extracts: Effect of Ultrasound, *Ultrasonics Sonochemistry*, 16 (2009) 57-62.
- [85] P. Bajerová, M. Adam, T. Bajer, K. Ventura, Comparison of Various Techniques For The Extraction and Determination of Antioxidants in Plants, *Journal of Separation Science*, 37 (2014) 835-844.
- [86] F. Adam, M. Abert-Vian, G. Peltier, F. Chemat, “Solvent-Free” Ultrasound-Assisted Extraction of Lipids From Fresh Microalgae Cells: A Green, Clean and Scalable Process, *Bioresource Technology*, 114 (2012) 457-465.
- [87] A. Intl, official Methods of Analysis of Aoac International, Arlington, Va.: Aoac Intl. Pv (Loose-Leaf), (1995).
- [88] K. Ghafoor, Y.H. Choi, J.Y. Jeon, I.H. Jo, Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Antioxidants, and Anthocyanins From Grape (*Vitis Vinifera*) Seeds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (2009) 4988-4994.

- [89] W. Setyaningsih, I.E. Saputro, M. Palma, C.G. Barroso, Optimisation and Validation of The Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds From Rice Grains, *Food Chemistry*, 169 (2015) 141-149.
- [90] A. Periche, M.L. Castelló, A. Heredia, I. Escriche, Effect of Different Drying Methods On The Phenolic, Flavonoid and Volatile Compounds of Stevia Rebaudiana Leaves, *Flavour and Fragrance Journal*, 31 (2016) 173-177.
- [91] F. Shahidi, M. Nacz, Phenolics in Food and Nutraceuticals, Crc Press 2003.
- [92] V.L. Singleton, J.A. Rossi, Colorimetry of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 (1965) 144-158.
- [93] G.A. Agbor, J.A. Vinson, P.E. Donnelly, Folin-Ciocalteu Reagent For Polyphenolic Assay, *International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics (Ijfs)*, 3 (2014) 147-156.
- [94] Y. Shipeng, H.C. Woo, J.H. Choi, Y.B. Park, B.S. Chun, Measurement of Antioxidant Activities and Phenolic and Flavonoid Contents of The Brown Seaweed Sargassum Horneri: Comparison of Supercritical Co2 and Various Solvent Extractions, *Fish Aquat Sci*, 18 (2015) 123-130.
- [95] Y.C. Chen, Y. Sugiyama, N. Abe, R. Kuruto-Niwa, R. Nozawa, A. Hirota, Dpph Radical-Scavenging Compounds From Dou-Chi, A Soybean Fermented Food, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69 (2005) 999-1006.
- [96] M. Inc, Minitab® 16.2.0 Statistical Software, 2010.
- [97] G. Spigno, L. Tramelli, D.M. De Faveri, Effects of Extraction Time, Temperature and Solvent on Concentration and Antioxidant Activity of Grape Marc Phenolics, *Journal of Food Engineering*, 81 (2007) 200-208.
- [98] K.Chew, M. Khoo, S. Ng, Y. Thoo, W.W. Aida, C. Ho, Effect of Ethanol Concentration, Extraction Time and Extraction Temperature On The Recovery of Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Orthosiphon Stamineus Extracts, *International Food Research Journal*, 18 (2011) 1427.
- [99] G. Zhang, L. He, M. Hu, Optimized Ultrasonic-Assisted Extraction of Flavonoids From *Prunella Vulgaris* L. and Evaluation of Antioxidant Activities in Vitro, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12 (2011) 18-25.
- [100] Ü. Yiğit, Kırmızı Lahana Antosiyaninlerinin Mikrodalga ve Konvansiyonel Yöntemler ile Özütleme, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 2018.

EKA

KALİBRASYON EĞRİLERİ

Gallik Asit Kalibrasyon Grafiği



Şekil A.1 Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesinde Folin-Ciocalteu yöntemi için kullanılan gallik asit kalibrasyon kurvesi

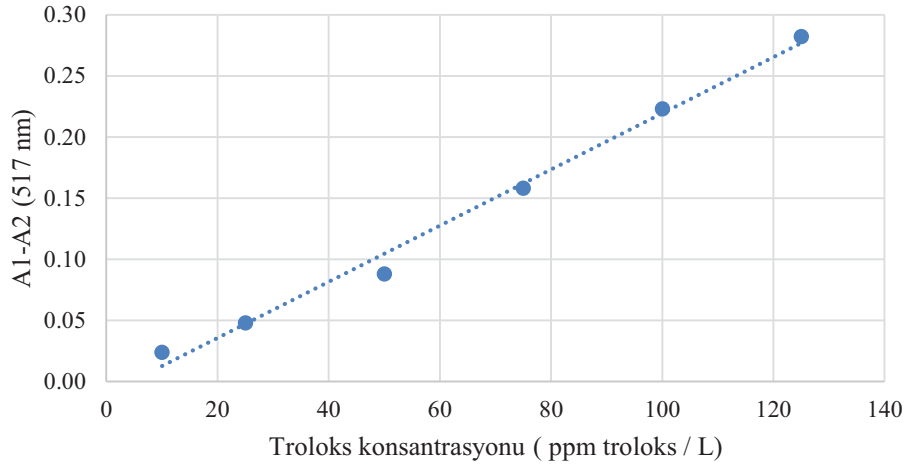
Gallik asit kalibrasyon kurvesinin denklemi; $y = 0.0096 x - 0.052$ ve $R^2 = 0.9957$ 'dir.

$$TFM = \frac{A + 0.052}{0.0096}$$

TFM : Toplam Fenolik Madde, mg GAE/L

A : 760 nm'de okunan absorbans değeri

Troloks Kalibrasyon Grafiği



Şekil A.2 DPPH yöntemi ile toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılan troloks kalibrasyon grafiği

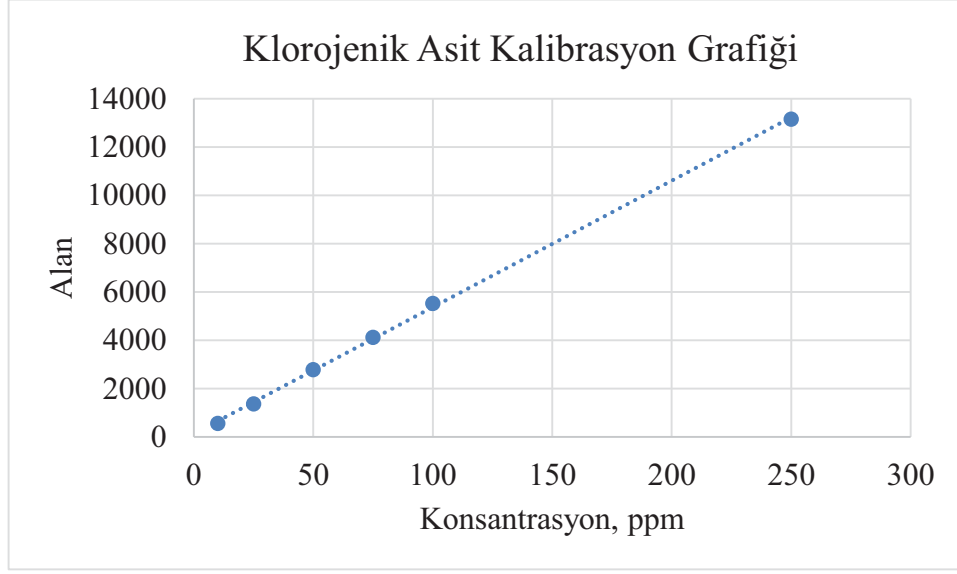
Troloks kalibrasyon kurvesinin denklemi; $y = 0.0023 x - 0.0101$ ve $R^2 = 0.9912$ 'dir.

$$TAK = \frac{(A1 - A2) + 0.0101}{0.0023}$$

TAK : Toplam Antioksidan Kapasitesi, mg troloks / L

A1 : 517 nm'de okunan kontrolün absorbans değeri

A2 : 517 nm'de okunan örneğin absorbans değeri



Şekil A.3 HPLC analizlerinde klorojenik asit konsantrasyonuna karşılık elde edilen pik alanları ile çizilen klorojenik asit kalibrasyon grafiği

Klorojenik asit kalibrasyon kurvesinin denklemi; $y = 52.371x + 130.79$ ve $R^2 = 0.9995$ 'dir.

EK-B

İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

EKB-1 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen yaprakta toplam fenolik madde miktarının tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	46.9	23.5	0.90	0.427
Error	15	390.6	26.0		
Total	17	437.5			

S = 5.103 R-Sq = 10.72% R-Sq(adj) = 0.00%

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
50	6	57.225	A
60	6	57.018	A
40	6	53.702	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals

All Pairwise Comparisons among Levels of etoh
Individual confidence level = 97.97%

EKB-2 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen filizde toplam fenolik madde miktarının tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	107.47	53.74	31.24	0.000
Error	15	25.80	1.72		
Total	17	133.27			

S = 1.311 R-Sq = 80.64% R-Sq(adj) = 78.06%

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
40	6	40.310	A
50	6	36.717	B
60	6	34.368	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals

All Pairwise Comparisons among Levels of etoh
Individual confidence level = 97.97%

EKB-3 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen meyvede toplam fenolik madde miktarının tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	94.8	47.4	2.44	0.121
Error	15	290.9	19.4		
Total	17	385.7			

S = 4.404 R-Sq = 24.58% R-Sq(adj) = 14.52%

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
60	6	57.814	A
50	6	55.694	A
40	6	52.245	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of etoh

Individual confidence level = 97.97%

EKB-4 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	1, 2, 3
etoh	fixed	3	40, 50, 60

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	4105.12	4105.12	2052.56	130.59	0.000
etoh	2	13.51	13.51	6.76	0.43	0.653
part*etoh	4	235.66	235.66	58.92	3.75	0.010
Error	45	707.30	707.30	15.72		
Total	53	5061.60				

S = 3.96457 R-Sq = 86.03% R-Sq(adj) = 83.54%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	45.8718	53.7023	1.6185	-7.8305	-2.16 R
10	61.3091	53.7023	1.6185	7.6068	2.10 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
1	18	55.98	A
3	18	55.25	A
2	18	37.13	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-4 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	18	49.88	A
60	18	49.73	A
40	18	48.75	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
3	60	6	57.81	A
1	50	6	57.23	A
1	60	6	57.02	A
3	50	6	55.69	A
1	40	6	53.70	A
3	40	6	52.24	A
2	40	6	40.31	B
2	50	6	36.72	B
2	60	6	34.37	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-5 Ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen yaprakta toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
süre	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	79.751	79.751	39.875	5.86	0.005
süre	2	185.700	185.700	92.850	13.65	0.000
etoh*süre	4	16.530	16.530	4.132	0.61	0.659
Error	45	305.989	305.989	6.800		
Total	53	587.969				

S = 2.60763 R-Sq = 47.96% R-Sq(adj) = 38.71%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
12	60.8665	55.7724	1.0646	5.0941	2.14 R
21	58.6264	53.5705	1.0646	5.0559	2.12 R
37	50.9024	55.7724	1.0646	-4.8700	-2.05 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	58.55	A
50	18	57.70	A B
60	18	55.65	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-5 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

süre	N	Mean	Grouping
30	18	59.68	A
20	18	57.07	B
10	18	55.16	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	süre	N	Mean	Grouping
40	30	6	61.68	A
50	30	6	60.26	A B
40	20	6	57.84	A B C
60	30	6	57.10	A B C
50	20	6	57.07	A B C
60	20	6	56.30	B C
40	10	6	56.13	B C
50	10	6	55.77	B C
60	10	6	53.57	C

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-6 Ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen filizde toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
süre	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	631.40	631.40	315.70	79.11	0.000
süre	2	189.10	189.10	94.55	23.69	0.000
etoh*süre	4	41.33	41.33	10.33	2.59	0.049
Error	45	179.59	179.59	3.99		
Total	53	1041.42				

S = 1.99770 R-Sq = 82.76% R-Sq(adj) = 79.69%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
15	44.6384	40.1608	0.8156	4.4776	2.46 R
42	31.8706	40.1608	0.8156	-8.2902	-4.55 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	18	40.71	A
40	18	40.36	A
60	18	33.29	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-6 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

süre	N	Mean	Grouping
30	18	40.63	A
20	18	37.59	B
10	18	36.14	B

Means that do not share a letter are significantly different.
Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	süre	N	Mean	Grouping
50	30	6	44.14	A
40	30	6	41.21	A B
40	20	6	40.29	B C
50	20	6	40.16	B C
40	10	6	39.59	B C
50	10	6	37.83	B C
60	30	6	36.54	C
60	20	6	32.33	D
60	10	6	31.00	D

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-7 Ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen meyvede toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
süre	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	76.049	76.049	38.025	6.33	0.004
süre	2	316.796	316.796	158.398	26.35	0.000
etoh*süre	4	8.849	8.849	2.212	0.37	0.830
Error	45	270.510	270.510	6.011		
Total	53	672.205				

S = 2.45180 R-Sq = 59.76% R-Sq(adj) = 52.60%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
11	46.6223	51.7848	1.0009	-5.1625	-2.31 R
12	47.2836	51.7848	1.0009	-4.5011	-2.01 R
38	57.2044	51.7848	1.0009	5.4196	2.42 R
42	61.2863	56.7842	1.0009	4.5020	2.01 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	58.13	A
60	18	58.09	A
50	18	55.60	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

süre	N	Mean	Grouping
30	18	59.64	A
20	18	58.23	A
10	18	53.95	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

EKB-7 (devam)

etoh	süre	N	Mean	Grouping
60	30	6	60.36	A
40	30	6	60.34	A
40	20	6	59.48	A B
60	20	6	58.44	A B C
50	30	6	58.22	A B C
50	20	6	56.78	A B C
60	10	6	55.48	B C D
40	10	6	54.58	C D
50	10	6	51.78	D

EKB-8 Ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarında toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	filiz, meyve, yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
süre	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	13225.30	13225.30	6612.65	1180.70	0.000
etoh	2	316.05	316.05	158.02	28.22	0.000
süre	2	649.70	649.70	324.85	58.00	0.000
part*etoh	4	471.16	471.16	117.79	21.03	0.000
part*süre	4	41.90	41.90	10.47	1.87	0.119
etoh*süre	4	10.64	10.64	2.66	0.47	0.754
part*etoh*süre	8	56.08	56.08	7.01	1.25	0.274
Error	135	756.09	756.09	5.60		
Total	161	15526.89				

S = 2.36657 R-Sq = 95.13% R-Sq(adj) = 94.19%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
12	60.8665	55.7724	0.9661	5.0941	2.36 R
20	57.9551	53.5705	0.9661	4.3846	2.03 R
21	58.6264	53.5705	0.9661	5.0559	2.34 R
33	62.5347	57.8401	0.9661	4.6947	2.17 R
37	50.9024	55.7724	0.9661	-4.8700	-2.25 R
69	44.6384	40.1608	0.9661	4.4776	2.07 R
96	31.8706	40.1608	0.9661	-8.2902	-3.84 R
119	46.6223	51.7848	0.9661	-5.1625	-2.39 R
120	47.2836	51.7848	0.9661	-4.5011	-2.08 R
146	57.2044	51.7848	0.9661	5.4196	2.51 R
150	61.2863	56.7842	0.9661	4.5020	2.08 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
yaprak	54	57.30	A
meyve	54	57.27	A
filiz	54	38.12	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-8 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	54	52.35	A
50	54	51.34	A
60	54	49.01	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

süre	N	Mean	Grouping
30	54	53.32	A
20	54	50.97	B
10	54	48.41	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
yaprak	40	18	58.55	A
meyve	40	18	58.13	A B
meyve	60	18	58.09	A B
yaprak	50	18	57.70	A B C
yaprak	60	18	55.65	B C
meyve	50	18	55.60	C
filiz	50	18	40.71	D
filiz	40	18	40.36	D
filiz	60	18	33.29	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	süre	N	Mean	Grouping
yaprak	30	18	59.68	A
meyve	30	18	59.64	A
meyve	20	18	58.23	A B
yaprak	20	18	57.07	B C
yaprak	10	18	55.16	C D
meyve	10	18	53.95	D
filiz	30	18	40.63	E
filiz	20	18	37.59	F
filiz	10	18	36.14	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	süre	N	Mean	Grouping
40	30	18	54.41	A
50	30	18	54.21	A
40	20	18	52.54	A B
50	20	18	51.34	B C
60	30	18	51.33	B C
40	10	18	50.10	B C D
60	20	18	49.02	C D E
50	10	18	48.46	D E
60	10	18	46.68	E

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-8 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	süre	N	Mean	Grouping
yaprak	40	30	6	61.68	A
meyve	60	30	6	60.36	A B
meyve	40	30	6	60.34	A B
yaprak	50	30	6	60.26	A B
meyve	40	20	6	59.48	A B C
meyve	60	20	6	58.44	A B C D
meyve	50	30	6	58.22	A B C D
yaprak	40	20	6	57.84	A B C D
yaprak	60	30	6	57.10	A B C D
yaprak	50	20	6	57.07	A B C D
meyve	50	20	6	56.78	A B C D E
yaprak	60	20	6	56.30	B C D E
yaprak	40	10	6	56.13	B C D E
yaprak	50	10	6	55.77	B C D E
meyve	60	10	6	55.48	B C D E
meyve	40	10	6	54.58	C D E
yaprak	60	10	6	53.57	D E
meyve	50	10	6	51.78	E
filiz	50	30	6	44.14	F
filiz	40	30	6	41.21	F G
filiz	40	20	6	40.29	F G
filiz	50	20	6	40.16	F G
filiz	40	10	6	39.59	F G
filiz	50	10	6	37.83	G
filiz	60	30	6	36.54	G H
filiz	60	20	6	32.33	H I
filiz	60	10	6	31.00	I

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-9 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen yaprakta toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	171.026	171.026	85.513	12.90	0.000
sure	2	4.997	4.997	2.498	0.38	0.688
etoh*sure	4	25.988	25.988	6.497	0.98	0.428
Error	45	298.269	298.269	6.628		
Total	53	500.279				

S = 2.57453 R-Sq = 40.38% R-Sq(adj) = 29.78%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
25	56.7297	64.8415	1.0510	-8.1118	-3.45 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

EKB-9 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	69.49	A
50	18	67.19	B
60	18	65.13	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
15	18	67.69	A
10	18	67.12	A
20	18	67.00	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	15	6	70.55	A
40	20	6	69.85	A B
50	10	6	68.14	A B C
40	10	6	68.06	A B C
50	15	6	67.12	A B C
50	20	6	66.30	A B C
60	15	6	65.41	B C
60	10	6	65.15	B C
60	20	6	64.84	C

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-10 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen filizde toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	650.80	650.80	325.40	10.96	0.000
sure	2	98.12	98.12	49.06	1.65	0.203
etoh*sure	4	46.97	46.97	11.74	0.40	0.811
Error	45	1335.61	1335.61	29.68		
Total	53	2131.50				

S = 5.44796 R-Sq = 37.34% R-Sq(adj) = 26.20%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	52.85	A
50	18	52.77	A
60	18	45.44	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-10 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	18	51.92	A
10	18	50.52	A
15	18	48.63	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	20	6	54.85	A
50	20	6	54.16	A
40	10	6	52.41	A B
50	15	6	52.25	A B
50	10	6	51.89	A B
40	15	6	51.28	A B
60	10	6	47.25	A B
60	20	6	46.73	A B
60	15	6	42.35	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-11 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen meyvede toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	664.22	664.22	332.11	407.97	0.000
sure	2	739.71	739.71	369.86	454.34	0.000
etoh*sure	4	677.89	677.89	169.47	208.18	0.000
Error	45	36.63	36.63	0.81		
Total	53	2118.46				

S = 0.902251 R-Sq = 98.27% R-Sq(adj) = 97.96%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	78.3792	76.6736	0.3683	1.7056	2.07 R
6	74.8905	76.6736	0.3683	-1.7831	-2.16 R
32	78.4955	76.6736	0.3683	1.8219	2.21 R
33	74.8905	76.6736	0.3683	-1.7831	-2.16 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	70.64	A
60	18	65.97	B
50	18	62.06	C

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-11 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
10	18	69.80	A
15	18	67.76	B
20	18	61.13	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	15	6	76.67	A
40	10	6	73.97	B
60	15	6	69.29	C
60	10	6	68.92	C
50	10	6	66.50	D
50	20	6	62.38	E
40	20	6	61.28	E F
60	20	6	59.71	F
50	15	6	57.31	G

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-12 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarında toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	filiz, meyve, yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	9611.38	9615.38	4807.69	364.92	0.000
etoh	2	766.79	786.49	393.24	29.85	0.000
sure	2	132.81	142.18	71.09	5.40	0.006
part*etoh	4	674.40	666.53	166.63	12.65	0.000
part*sure	4	717.19	710.87	177.72	13.49	0.000
etoh*sure	4	218.68	216.73	54.18	4.11	0.004
part*etoh*sure	8	569.67	569.67	71.21	5.40	0.000
Error	136	1791.76	1791.76	13.17		
Total	162	14482.67				

S = 3.62970 R-Sq = 87.63% R-Sq(adj) = 85.26%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
1	56.1661	66.3604	1.3719	-10.1943	-3.03 R
26	56.7297	64.8415	1.4818	-8.1118	-2.45 R
72	61.5509	54.1607	1.4818	7.3902	2.23 R
77	49.6614	42.3466	1.4818	7.3148	2.21 R
78	50.0079	42.3466	1.4818	7.6613	2.31 R
79	50.0079	42.3466	1.4818	7.6613	2.31 R
98	44.8072	54.1607	1.4818	-9.3535	-2.82 R
101	40.5368	47.2523	1.4818	-6.7155	-2.03 R
104	32.9145	42.3466	1.4818	-9.4321	-2.85 R
106	35.4552	42.3466	1.4818	-6.8914	-2.08 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

EKB-12 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
yaprak	55	67.08	A
meyve	54	66.23	A
filiz	54	50.35	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	55	64.14	A
50	54	60.67	B
60	54	58.85	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
10	55	62.29	A
15	54	61.36	A B
20	54	60.01	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
meyve	40	18	70.64	A
yaprak	40	19	68.92	A B
yaprak	50	18	67.19	A B C
meyve	60	18	65.97	B C
yaprak	60	18	65.13	C D
meyve	50	18	62.06	D
filiz	40	18	52.85	E
filiz	50	18	52.77	E
filiz	60	18	45.44	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	sure	N	Mean	Grouping
meyve	10	18	69.80	A
meyve	15	18	67.76	A
yaprak	15	18	67.69	A
yaprak	20	18	67.00	A
yaprak	10	19	66.55	A
meyve	20	18	61.13	B
filiz	20	18	51.92	C
filiz	10	18	50.52	C
filiz	15	18	48.63	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	15	18	66.17	A

EKB-12 (devam)

40	10	19	64.25	A B
50	10	18	62.17	B C
40	20	18	62.00	B C
50	20	18	60.95	B C
60	10	18	60.44	C D
60	15	18	59.01	C D
50	15	18	58.90	C D
60	20	18	57.10	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	sure	N	Mean	Grouping
meyve	40	15	6	76.67	A
meyve	40	10	6	73.97	A B
yaprak	40	15	6	70.55	A B C
yaprak	40	20	6	69.85	A B C D
meyve	60	15	6	69.29	A B C D
meyve	60	10	6	68.92	A B C D E
yaprak	50	10	6	68.14	B C D E
yaprak	50	15	6	67.12	B C D E F
meyve	50	10	6	66.50	B C D E F
yaprak	40	10	7	66.36	B C D E F
yaprak	50	20	6	66.30	B C D E F
yaprak	60	15	6	65.41	C D E F
yaprak	60	10	6	65.15	C D E F G
yaprak	60	20	6	64.84	C D E F G
meyve	50	20	6	62.38	D E F G H
meyve	40	20	6	61.28	E F G H I
meyve	60	20	6	59.71	F G H I J
meyve	50	15	6	57.31	G H I J K
filiz	40	20	6	54.85	H I J K L
filiz	50	20	6	54.16	I J K L M
filiz	40	10	6	52.41	J K L M
filiz	50	15	6	52.25	J K L M
filiz	50	10	6	51.89	J K L M
filiz	40	15	6	51.28	K L M
filiz	60	10	6	47.25	L M N
filiz	60	20	6	46.73	M N
filiz	60	15	6	42.35	N

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-13 Ultrason ve Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarında toplam fenolik madde miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
yontem	fixed	2	mikrodalga, ude
part	fixed	3	filiz, meyve, yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	2	10, 20

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
yontem	1	7209.99	7209.99	7209.99	749.22	0.000
part	2	14123.25	14123.25	7061.63	733.80	0.000
etoh	2	598.13	598.13	299.06	31.08	0.000
sure	1	0.11	0.11	0.11	0.01	0.916
yontem*part	2	233.16	233.16	116.58	12.11	0.000

EKB-13 (devam)

yontem*etoh	2	12.69	12.69	6.34	0.66	0.519
yontem*sure	1	339.54	339.54	339.54	35.28	0.000
part*etoh	4	425.05	425.05	106.26	11.04	0.000
part*sure	2	137.51	137.51	68.75	7.14	0.001
etoh*sure	2	17.36	17.36	8.68	0.90	0.408
yontem*part*etoh	4	44.40	44.40	11.10	1.15	0.333
yontem*part*sure	2	434.44	434.44	217.22	22.57	0.000
yontem*etoh*sure	2	6.02	6.02	3.01	0.31	0.732
part*etoh*sure	4	70.97	70.97	17.74	1.84	0.122
yontem*part*etoh*sure	4	69.08	69.08	17.27	1.79	0.132
Error	180	1732.20	1732.20	9.62		
Total	215	25453.90				

S = 3.10215 R-Sq = 93.19% R-Sq(adj) = 91.87%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	N	Mean	Grouping
mikrodalga	108	61.24	A
ude	108	49.69	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
yaprak	72	61.59	A
meyve	72	60.78	A
filiz	72	44.04	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	72	57.36	A
50	72	55.73	B
60	72	53.31	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	108	55.49	A
10	108	55.45	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	N	Mean	Grouping
mikrodalga	yaprak	36	67.06	A
mikrodalga	meyve	36	65.46	A
ude	yaprak	36	56.11	B
ude	meyve	36	56.09	B
mikrodalga	filiz	36	51.22	C
ude	filiz	36	36.87	D

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-13 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	etoh	N	Mean	Grouping
mikrodalga	40	36	63.41	A
mikrodalga	50	36	61.56	A
mikrodalga	60	36	58.77	B
ude	40	36	51.32	C
ude	50	36	49.90	C D
ude	60	36	47.85	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	sure	N	Mean	Grouping
mikrodalga	10	54	62.48	A
mikrodalga	20	54	60.01	B
ude	20	54	50.97	C
ude	10	54	48.41	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
yaprak	40	24	62.97	A
meyve	40	24	62.33	A B
yaprak	50	24	61.82	A B C
meyve	60	24	60.64	A B C
yaprak	60	24	59.96	B C
meyve	50	24	59.36	C
filiz	40	24	46.78	D
filiz	50	24	46.01	D
filiz	60	24	39.33	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	sure	N	Mean	Grouping
yaprak	20	36	62.03	A
meyve	10	36	61.87	A
yaprak	10	36	61.14	A B
meyve	20	36	59.68	B
filiz	20	36	44.75	C
filiz	10	36	43.33	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	10	36	57.46	A
40	20	36	57.27	A B
50	20	36	56.14	A B
50	10	36	55.32	B C
60	10	36	53.56	C D
60	20	36	53.06	D

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-13 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	etoh	N	Mean	Grouping
mikrodalga	yaprak	40	12	68.96	A
mikrodalga	meyve	40	12	67.63	A B
mikrodalga	yaprak	50	12	67.22	A B
mikrodalga	yaprak	60	12	65.00	A B
mikrodalga	meyve	50	12	64.44	B
mikrodalga	meyve	60	12	64.32	B
ude	meyve	40	12	57.03	C
ude	yaprak	40	12	56.98	C
ude	meyve	60	12	56.96	C
ude	yaprak	50	12	56.42	C
ude	yaprak	60	12	54.93	C
ude	meyve	50	12	54.28	C
mikrodalga	filiz	40	12	53.63	C
mikrodalga	filiz	50	12	53.03	C
mikrodalga	filiz	60	12	46.99	D
ude	filiz	40	12	39.94	E
ude	filiz	50	12	39.00	E
ude	filiz	60	12	31.67	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	sure	N	Mean	Grouping
mikrodalga	meyve	10	18	69.80	A
mikrodalga	yaprak	10	18	67.12	A
mikrodalga	yaprak	20	18	67.00	A
mikrodalga	meyve	20	18	61.13	B
ude	meyve	20	18	58.23	B C
ude	yaprak	20	18	57.07	C D
ude	yaprak	10	18	55.16	C D E
ude	meyve	10	18	53.95	D E
mikrodalga	filiz	20	18	51.92	E F
mikrodalga	filiz	10	18	50.52	F
ude	filiz	20	18	37.59	G
ude	filiz	10	18	36.14	G

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	etoh	sure	N	Mean	Grouping
mikrodalga	40	10	18	64.81	A
mikrodalga	50	10	18	62.17	A B
mikrodalga	40	20	18	62.00	A B
mikrodalga	50	20	18	60.95	B
mikrodalga	60	10	18	60.44	B C
mikrodalga	60	20	18	57.10	C
ude	40	20	18	52.54	D
ude	50	20	18	51.34	D E
ude	40	10	18	50.10	D E F
ude	60	20	18	49.02	E F
ude	50	10	18	48.46	E F
ude	60	10	18	46.68	F

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-14 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen yaprakta toplam antioksidan kapasitesi için tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	37.53	18.77	3.77	0.047
Error	15	74.75	4.98		
Total	17	112.28			

S = 2.232 R-Sq = 33.43% R-Sq(adj) = 24.55%

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
50	6	71.147	A
40	6	68.347	A
60	6	67.876	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of etoh

Individual confidence level = 97.97%

EKB-15 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen filizde toplam antioksidan kapasitesi için tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	13.75	6.87	3.78	0.047
Error	15	27.30	1.82		
Total	17	41.04			

S = 1.349 R-Sq = 33.49% R-Sq(adj) = 24.62%

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
40	6	39.796	A
50	6	39.793	A
60	6	37.941	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of etoh

Individual confidence level = 97.97%

EKB-16 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen meyvede toplam antioksidan kapasitesi için tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	1159.10	579.55	574.70	0.000
Error	15	15.13	1.01		
Total	17	1174.22			

S = 1.004 R-Sq = 98.71% R-Sq(adj) = 98.54%

EKB-16 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
50	6	74.320	A
40	6	72.210	B
60	6	56.341	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of etoh

Individual confidence level = 97.97%

EKB-17 Geleneksel yöntemle ekstrakte edilen bitki kısımlarının toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	filiz, meyve, yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	10249.7	10249.7	5124.9	1968.24	0.000
etoh	2	592.6	592.6	296.3	113.80	0.000
part*etoh	4	617.8	617.8	154.4	59.31	0.000
Error	45	117.2	117.2	2.6		
Total	53	11577.3				

S = 1.61362 R-Sq = 98.99% R-Sq(adj) = 98.81%

Unusual Observations for TAK

Obs	TAK	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
2	72.3177	68.3469	0.6588	3.9708	2.70 R
11	71.4742	68.3469	0.6588	3.1273	2.12 R
15	74.5532	71.1473	0.6588	3.4059	2.31 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
yaprak	18	69.12	A
meyve	18	67.62	B
filiz	18	39.18	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	18	61.75	A
40	18	60.12	B
60	18	54.05	C

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-17 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
meyve	50	6	74.32	A
meyve	40	6	72.21	A B
yaprak	50	6	71.15	B C
yaprak	40	6	68.35	C D
yaprak	60	6	67.88	D
meyve	60	6	56.34	E
filiz	40	6	39.80	F
filiz	50	6	39.79	F
filiz	60	6	37.94	F

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-18 Ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen yaprakta toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	37.980	37.980	18.990	4.71	0.014
sure	2	74.321	74.321	37.160	9.21	0.000
etoh*sure	4	26.565	26.565	6.641	1.65	0.179
Error	45	181.623	181.623	4.036		
Total	53	320.488				

S = 2.00899 R-Sq = 43.33% R-Sq(adj) = 33.25%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	68.13	A
50	18	66.80	A B
60	18	66.11	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
30	18	67.94	A
20	18	67.74	A
10	18	65.36	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	30	6	69.65	A
50	20	6	67.97	A B
60	20	6	67.74	A B
40	20	6	67.50	A B C
50	30	6	67.36	A B C
40	10	6	67.23	A B C
60	30	6	66.81	A B C
50	10	6	65.08	B C
60	10	6	63.77	C

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-19 Ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen filizde toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	518.89	518.89	259.45	60.40	0.000
sure	2	652.41	652.41	326.20	75.94	0.000
etoh*sure	4	14.82	14.82	3.71	0.86	0.494
Error	45	193.29	193.29	4.30		
Total	53	1379.42				

S = 2.07253 R-Sq = 85.99% R-Sq(adj) = 83.50%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	18	44.48	A
40	18	38.11	B
60	18	37.71	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
30	18	44.34	A
20	18	40.14	B
10	18	35.82	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
50	30	6	48.00	A
50	20	6	44.43	A B
40	30	6	42.67	B
60	30	6	42.35	B C
50	10	6	41.00	B C D
40	20	6	38.63	C D
60	20	6	37.34	D E
60	10	6	33.44	E F
40	10	6	33.03	F

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-20 Ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen meyvede toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 20, 30

EKB-20 (devam)

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	17.861	17.861	8.931	2.16	0.127
sure	2	633.736	633.736	316.868	76.73	0.000
etoh*sure	4	103.961	103.961	25.990	6.29	0.000
Error	45	185.846	185.846	4.130		
Total	53	941.404				

S = 2.03222 R-Sq = 80.26% R-Sq(adj) = 76.75%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
60	18	81.25	A
40	18	80.92	A
50	18	79.89	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
30	18	83.24	A
20	18	82.97	A
10	18	75.84	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	20	6	85.18	A
60	30	6	85.15	A B
40	30	6	83.25	A B C
50	20	6	82.56	A B C
50	30	6	81.32	B C
60	20	6	81.18	C D
60	10	6	77.41	D E
50	10	6	75.80	E
40	10	6	74.32	E

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-21 Ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarında toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	filiz, meyve, yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	46053.7	46053.7	23026.9	5543.58	0.000
etoh	2	115.8	115.8	57.9	13.94	0.000
sure	2	1109.8	1109.8	554.9	133.59	0.000
part*etoh	4	458.9	458.9	114.7	27.62	0.000
part*sure	4	250.7	250.7	62.7	15.09	0.000
etoh*sure	4	36.8	36.8	9.2	2.21	0.071
part*etoh*sure	8	108.6	108.6	13.6	3.27	0.002
Error	135	560.8	560.8	4.2		
Total	161	48695.0				

S = 2.03808 R-Sq = 98.85% R-Sq(adj) = 98.63%

EKB-21 (devam)

Unusual Observations for TAK

Obs	TAK	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
10	69.5185	65.0781	0.8320	4.4404	2.39 R
51	71.4785	67.7425	0.8320	3.7360	2.01 R
79	47.0288	42.3469	0.8320	4.6820	2.52 R
85	43.6862	38.6348	0.8320	5.0514	2.72 R
131	85.8765	81.1822	0.8320	4.6943	2.52 R
138	79.2451	74.3243	0.8320	4.9209	2.64 R
145	80.9045	75.7972	0.8320	5.1073	2.75 R
159	77.3161	81.1822	0.8320	-3.8661	-2.08 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
meyve	54	80.69	A
yaprak	54	67.01	B
filiz	54	40.10	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	54	63.72	A
40	54	62.39	B
60	54	61.69	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
30	54	65.17	A
20	54	63.62	B
10	54	59.01	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
meyve	60	18	81.25	A
meyve	40	18	80.92	A
meyve	50	18	79.89	A
yaprak	40	18	68.13	B
yaprak	50	18	66.80	B
yaprak	60	18	66.11	B
filiz	50	18	44.48	C
filiz	40	18	38.11	D
filiz	60	18	37.71	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	sure	N	Mean	Grouping
meyve	30	18	83.24	A
meyve	20	18	82.97	A
meyve	10	18	75.84	B
yaprak	30	18	67.94	C
yaprak	20	18	67.74	C
yaprak	10	18	65.36	D
filiz	30	18	44.34	E
filiz	20	18	40.14	F
filiz	10	18	35.82	G

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-21 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
50	30	18	65.56	A
40	30	18	65.19	A
50	20	18	64.99	A
60	30	18	64.77	A
40	20	18	63.77	A B
60	20	18	62.09	B C
50	10	18	60.63	C
60	10	18	58.21	D
40	10	18	58.19	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	sure	N	Mean	Grouping
meyve	40	20	6	85.18	A
meyve	60	30	6	85.15	A
meyve	40	30	6	83.25	A
meyve	50	20	6	82.56	A
meyve	50	30	6	81.32	A B
meyve	60	20	6	81.18	A B
meyve	60	10	6	77.41	B C
meyve	50	10	6	75.80	C
meyve	40	10	6	74.32	C
yaprak	40	30	6	69.65	D
yaprak	50	20	6	67.97	D E
yaprak	60	20	6	67.74	D E
yaprak	40	20	6	67.50	D E
yaprak	50	30	6	67.36	D E
yaprak	40	10	6	67.23	D E
yaprak	60	30	6	66.81	D E
yaprak	50	10	6	65.08	E
yaprak	60	10	6	63.77	E
filiz	50	30	6	48.00	F
filiz	50	20	6	44.43	F G
filiz	40	30	6	42.67	G H
filiz	60	30	6	42.35	G H
filiz	50	10	6	41.00	G H I
filiz	40	20	6	38.63	H I
filiz	60	20	6	37.34	I J
filiz	60	10	6	33.44	J
filiz	40	10	6	33.03	J

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-22 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen yaprakta toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	687.67	687.67	343.84	59.94	0.000
sure	2	12.58	12.58	6.29	1.10	0.343
etoh*sure	4	871.98	871.98	218.00	38.00	0.000
Error	45	258.12	258.12	5.74		
Total	53	1830.35				

S = 2.39500 R-Sq = 85.90% R-Sq(adj) = 83.39%

EKB-22 (devam)

Unusual Observations for TAK

Obs	TAK	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
11	93.1846	88.0581	0.9778	5.1265	2.34 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	18	88.01	A
60	18	84.17	B
40	18	79.29	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
15	18	84.49	A
10	18	83.58	A
20	18	83.39	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
60	10	6	90.30	A
50	20	6	88.79	A B
50	10	6	88.06	A B
50	15	6	87.18	A B
40	15	6	85.72	B C
60	20	6	81.61	C D
60	15	6	80.59	D
40	20	6	79.76	D
40	10	6	72.39	E

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-23 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen filizde toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	154.521	154.521	77.260	13.08	0.000
sure	2	166.449	166.449	83.224	14.09	0.000
etoh*sure	4	149.942	149.942	37.485	6.35	0.000
Error	45	265.732	265.732	5.905		
Total	53	736.644				

S = 2.43005 R-Sq = 63.93% R-Sq(adj) = 57.51%

Unusual Observations for TAK

Obs	TAK	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
6	49.1973	54.2570	0.9921	-5.0598	-2.28 R
37	57.2933	52.8094	0.9921	4.4838	2.02 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

EKB-23 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	18	55.96	A
40	18	53.92	B
60	18	51.81	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	18	56.36	A
15	18	52.94	B
10	18	52.39	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
50	20	6	61.58	A
40	20	6	55.17	B
40	15	6	54.26	B
50	15	6	53.48	B
50	10	6	52.81	B
40	10	6	52.33	B
60	20	6	52.33	B
60	10	6	52.04	B
60	15	6	51.08	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-24 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen meyvede toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	1220.94	1220.94	610.47	127.50	0.000
sure	2	705.18	705.18	352.59	73.64	0.000
etoh*sure	4	400.63	400.63	100.16	20.92	0.000
Error	45	215.47	215.47	4.79		
Total	53	2542.22				

S = 2.18818 R-Sq = 91.52% R-Sq(adj) = 90.02%

Unusual Observations for TAK

Obs	TAK	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
13	82.7366	77.7373	0.8933	4.9993	2.50 R
22	90.5997	86.3284	0.8933	4.2713	2.14 R
43	80.9828	76.8090	0.8933	4.1739	2.09 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

EKB-24 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
60	18	81.59	A
50	18	76.49	B
40	18	69.97	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
15	18	79.73	A
10	18	77.20	B
20	18	71.12	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
60	15	6	86.33	A
60	10	6	85.41	A
50	15	6	77.74	B
50	20	6	76.81	B C
40	15	6	75.12	B C D
50	10	6	74.92	B C D
60	20	6	73.03	C D
40	10	6	71.28	D
40	20	6	63.51	E

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-25 Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarında toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	filiz, meyve, yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	26020.3	26020.3	13010.1	2375.65	0.000
etoh	2	1028.2	1028.2	514.1	93.87	0.000
sure	2	121.8	121.8	60.9	11.12	0.000
part*etoh	4	1035.0	1035.0	258.7	47.25	0.000
part*sure	4	762.4	762.4	190.6	34.80	0.000
etoh*sure	4	884.7	884.7	221.2	40.39	0.000
part*etoh*sure	8	537.8	537.8	67.2	12.28	0.000
Error	135	739.3	739.3	5.5		
Total	161	31129.5				

S = 2.34018 R-Sq = 97.63% R-Sq(adj) = 97.17%

Unusual Observations for TAK

Obs	TAK	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
11	93.1846	88.0581	0.9554	5.1265	2.40 R
60	49.1973	54.2570	0.9554	-5.0598	-2.37 R
84	56.7114	52.3273	0.9554	4.3841	2.05 R
91	57.2933	52.8094	0.9554	4.4838	2.10 R
121	82.7366	77.7373	0.9554	4.9993	2.34 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

EKB-25 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
yaprak	54	83.82	A
meyve	54	76.02	B
filiz	54	53.90	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	54	73.49	A
60	54	72.52	A
40	54	67.73	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
15	54	72.39	A
10	54	71.06	B
20	54	70.29	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
yaprak	50	18	88.01	A
yaprak	60	18	84.17	B
meyve	60	18	81.59	C
yaprak	40	18	79.29	C
meyve	50	18	76.49	D
meyve	40	18	69.97	E
filiz	50	18	55.96	F
filiz	40	18	53.92	F G
filiz	60	18	51.81	G

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	sure	N	Mean	Grouping
yaprak	15	18	84.49	A
yaprak	10	18	83.58	A
yaprak	20	18	83.39	A
meyve	15	18	79.73	B
meyve	10	18	77.20	C
meyve	20	18	71.12	D
filiz	20	18	56.36	E
filiz	15	18	52.94	F
filiz	10	18	52.39	F

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-25 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
60	10	18	75.92	A
50	20	18	75.73	A
50	15	18	72.80	B
60	15	18	72.66	B
50	10	18	71.93	B
40	15	18	71.70	B
60	20	18	68.99	C
40	20	18	66.15	D
40	10	18	65.33	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	sure	N	Mean	Grouping
yaprak	60	10	6	90.30	A
yaprak	50	20	6	88.79	A
yaprak	50	10	6	88.06	A
yaprak	50	15	6	87.18	A
meyve	60	15	6	86.33	A B
yaprak	40	15	6	85.72	A B
meyve	60	10	6	85.41	A B C
yaprak	60	20	6	81.61	B C D
yaprak	60	15	6	80.59	C D
yaprak	40	20	6	79.76	D E
meyve	50	15	6	77.74	D E F
meyve	50	20	6	76.81	D E F G
meyve	40	15	6	75.12	E F G H
meyve	50	10	6	74.92	E F G H
meyve	60	20	6	73.03	F G H
yaprak	40	10	6	72.39	G H
meyve	40	10	6	71.28	H
meyve	40	20	6	63.51	I
filiz	50	20	6	61.58	I
filiz	40	20	6	55.17	J
filiz	40	15	6	54.26	J
filiz	50	15	6	53.48	J
filiz	50	10	6	52.81	J
filiz	40	10	6	52.33	J
filiz	60	20	6	52.33	J
filiz	60	10	6	52.04	J
filiz	60	15	6	51.08	J

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-26 Ultrason ve Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen bitki kısımlarında toplam antioksidan kapasitesi için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
yontem	fixed	2	mikrodalga, ude
part	fixed	3	filiz, meyve, yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	2	10, 20

EKB-26 (devam)

Analysis of Variance for TAK, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
yontem	1	4731.6	4731.6	4731.6	966.91	0.000
part	2	42516.6	42516.6	21258.3	4344.14	0.000
etoh	2	894.4	894.4	447.2	91.39	0.000
sure	1	198.8	198.8	198.8	40.63	0.000
yontem*part	2	5766.3	5766.3	2883.2	589.17	0.000
yontem*etoh	2	587.2	587.2	293.6	59.99	0.000
yontem*sure	1	390.5	390.5	390.5	79.79	0.000
part*etoh	4	461.2	461.2	115.3	23.56	0.000
part*sure	2	136.0	136.0	68.0	13.90	0.000
etoh*sure	2	326.7	326.7	163.3	33.38	0.000
yontem*part*etoh	4	553.5	553.5	138.4	28.28	0.000
yontem*part*sure	2	425.8	425.8	212.9	43.50	0.000
yontem*etoh*sure	2	238.5	238.5	119.3	24.37	0.000
part*etoh*sure	4	73.7	73.7	18.4	3.77	0.006
yontem*part*etoh*sure	4	288.8	288.8	72.2	14.75	0.000
Error	180	880.8	880.8	4.9		
Total	215	58470.5				

S = 2.21214 R-Sq = 98.49% R-Sq(adj) = 98.20%

Expected Mean Squares, using Adjusted SS

Variance Components, using Adjusted SS

Source	Estimated Value
Error	4.894

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

	N	Mean	Grouping
yontem			
mikrodalga	108	70.67	A
ude	108	61.31	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

	N	Mean	Grouping
part			
meyve	72	76.78	A
yaprak	72	75.02	B
filiz	72	46.18	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

	N	Mean	Grouping
etoh			
50	72	68.32	A
60	72	66.30	B
40	72	63.36	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

	N	Mean	Grouping
sure			
20	108	66.95	A
10	108	65.03	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-26 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	N	Mean	Grouping
mikrodalga	yaprak	36	83.48	A
ude	meyve	36	79.41	B
mikrodalga	meyve	36	74.16	C
ude	yaprak	36	66.55	D
mikrodalga	filiz	36	54.38	E
ude	filiz	36	37.98	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	etoh	N	Mean	Grouping
mikrodalga	50	36	73.83	A
mikrodalga	60	36	72.45	A
mikrodalga	40	36	65.74	B
ude	50	36	62.81	C
ude	40	36	60.98	D
ude	60	36	60.15	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	sure	N	Mean	Grouping
mikrodalga	10	54	71.06	A
mikrodalga	20	54	70.29	A
ude	20	54	63.62	B
ude	10	54	59.01	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
meyve	60	24	79.26	A
meyve	50	24	77.52	A B
yaprak	50	24	77.47	A B
yaprak	60	24	75.86	B
meyve	40	24	73.57	C
yaprak	40	24	71.72	C
filiz	50	24	49.96	D
filiz	40	24	44.79	E
filiz	60	24	43.79	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	sure	N	Mean	Grouping
meyve	20	36	77.05	A
meyve	10	36	76.52	A
yaprak	20	36	75.56	A B
yaprak	10	36	74.47	B
filiz	20	36	48.25	C
filiz	10	36	44.11	D

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-26 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
50	20	36	70.36	A
60	10	36	67.06	B
50	10	36	66.28	B C
60	20	36	65.54	C
40	20	36	64.96	C
40	10	36	61.76	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	etoh	N	Mean	Grouping
mikrodalga	yaprak	50	12	88.42	A
mikrodalga	yaprak	60	12	85.96	A
ude	meyve	40	12	79.75	B
ude	meyve	60	12	79.30	B
mikrodalga	meyve	60	12	79.22	B C
ude	meyve	50	12	79.18	B C
mikrodalga	yaprak	40	12	76.07	C D
mikrodalga	meyve	50	12	75.86	D
mikrodalga	meyve	40	12	67.40	E
ude	yaprak	40	12	67.36	E
ude	yaprak	50	12	66.52	E
ude	yaprak	60	12	65.76	E
mikrodalga	filiz	50	12	57.20	F
mikrodalga	filiz	40	12	53.75	G
mikrodalga	filiz	60	12	52.18	G
ude	filiz	50	12	42.72	H
ude	filiz	40	12	35.83	I
ude	filiz	60	12	35.39	I

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	sure	N	Mean	Grouping
mikrodalga	yaprak	10	18	83.58	A
mikrodalga	yaprak	20	18	83.39	A
ude	meyve	20	18	82.97	A
mikrodalga	meyve	10	18	77.20	B
ude	meyve	10	18	75.84	B
mikrodalga	meyve	20	18	71.12	C
ude	yaprak	20	18	67.74	D
ude	yaprak	10	18	65.36	D
mikrodalga	filiz	20	18	56.36	E
mikrodalga	filiz	10	18	52.39	F
ude	filiz	20	18	40.14	G
ude	filiz	10	18	35.82	H

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	etoh	sure	N	Mean	Grouping
mikrodalga	60	10	18	75.92	A
mikrodalga	50	20	18	75.73	A
mikrodalga	50	10	18	71.93	B
mikrodalga	60	20	18	68.99	C
mikrodalga	40	20	18	66.15	D
mikrodalga	40	10	18	65.33	D
ude	50	20	18	64.99	D
ude	40	20	18	63.77	D E
ude	60	20	18	62.09	E F
ude	50	10	18	60.63	F G
ude	60	10	18	58.21	G
ude	40	10	18	58.19	G

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-27 Yaprakta geleneksel yöntemle ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	4.00	2.00	0.77	0.536
Error	3	7.77	2.59		
Total	5	11.76			

S = 1.609 R-Sq = 33.98% R-Sq(adj) = 0.00%

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
50	2	19.589	A
40	2	18.920	A
60	2	17.623	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of etoh

Individual confidence level = 97.50%

EKB-28 Filizde geleneksel yöntemle ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	0.8792	0.4396	19.46	0.019
Error	3	0.0678	0.0226		
Total	5	0.9470			

S = 0.1503 R-Sq = 92.84% R-Sq(adj) = 88.07%

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
60	2	3.0481	A
50	2	2.9379	A
40	2	2.1866	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of etoh

Individual confidence level = 97.50%

EKB-29 Meyvede geleneksel yöntemle ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için tek yönlü ANOVA istatistikleri

Source	DF	SS	MS	F	P
etoh	2	0.507	0.254	0.49	0.655
Error	3	1.558	0.519		
Total	5	2.065			

S = 0.7205 R-Sq = 24.57% R-Sq(adj) = 0.00%

EKB-29 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method

etoh	N	Mean	Grouping
40	2	5.9289	A
60	2	5.8791	A
50	2	5.2887	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of etoh

Individual confidence level = 97.50%

EKB-30 Bitki kısımlarında geleneksel yöntemle ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	Filiz, Meyve, Yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60

Analysis of Variance for Chloro, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	867.42	867.42	433.71	415.61	0.000
etoh	2	0.54	0.54	0.27	0.26	0.776
part*etoh	4	4.84	4.84	1.21	1.16	0.390
Error	9	9.39	9.39	1.04		
Total	17	882.20				

S = 1.02154 R-Sq = 98.94% R-Sq(adj) = 97.99%

Unusual Observations for Chloro

Obs	Chloro	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
3	15.9017	17.6227	0.7223	-1.7210	-2.38 R
6	19.3436	17.6227	0.7223	1.7210	2.38 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
Yaprak	6	18.710	A
Meyve	6	5.699	B
Filiz	6	2.724	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	6	9.272	A
40	6	9.012	A
60	6	8.850	A

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-30 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
Yaprak	50	2	19.589	A
Yaprak	40	2	18.920	A
Yaprak	60	2	17.623	A
Meyve	40	2	5.929	B
Meyve	60	2	5.879	B
Meyve	50	2	5.289	B
Filiz	60	2	3.048	B
Filiz	50	2	2.938	B
Filiz	40	2	2.187	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-31 Yaprakta ultrasonik destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for Chloro, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	12.4111	12.4111	6.2055	8.26	0.009
sure	2	3.1494	3.1494	1.5747	2.10	0.179
etoh*sure	4	0.4749	0.4749	0.1187	0.16	0.954
Error	9	6.7590	6.7590	0.7510		
Total	17	22.7944				

S = 0.866604 R-Sq = 70.35% R-Sq(adj) = 43.99%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	6	19.38	A
50	6	19.00	A
60	6	17.46	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	6	19.07	A
30	6	18.72	A
10	6	18.06	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	20	2	20.09	A
40	30	2	19.49	A
50	20	2	19.22	A
50	30	2	19.18	A
50	10	2	18.61	A
40	10	2	18.56	A
60	20	2	17.89	A
60	30	2	17.49	A
60	10	2	17.00	A

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-32 Filizde ultrasonik destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for Chloro, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	29.4557	29.4557	14.7279	48.33	0.000
sure	2	2.8779	2.8779	1.4389	4.72	0.040
etoh*sure	4	8.9297	8.9297	2.2324	7.33	0.007
Error	9	2.7427	2.7427	0.3047		
Total	17	44.0061				

S = 0.552036 R-Sq = 93.77% R-Sq(adj) = 88.23%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	6	19.02	A
40	6	18.97	A
60	6	16.28	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	6	18.64	A
10	6	17.94	A B
30	6	17.69	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	20	2	20.30	A
50	30	2	19.47	A B
50	10	2	18.86	A B C
50	20	2	18.72	A B C
40	30	2	18.66	A B C
40	10	2	17.95	B C
60	10	2	17.01	C D
60	20	2	16.88	C D
60	30	2	14.94	D

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-33 Meyvede ultrasonik destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 20, 30

EKB-33 (devam)

Analysis of Variance for Chloro, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	1.0050	1.0050	0.5025	1.56	0.263
sure	2	0.4673	0.4673	0.2337	0.72	0.511
etoh*sure	4	1.1576	1.1576	0.2894	0.90	0.505
Error	9	2.9066	2.9066	0.3230		
Total	17	5.5365				

S = 0.568289 R-Sq = 47.50% R-Sq(adj) = 0.84%

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	6	6.204	A
40	6	5.865	A
60	6	5.628	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	6	6.093	A
30	6	5.905	A
10	6	5.699	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
50	30	2	6.544	A
40	20	2	6.436	A
50	20	2	6.259	A
50	10	2	5.808	A
60	30	2	5.723	A
40	10	2	5.711	A
60	20	2	5.584	A
60	10	2	5.577	A
40	30	2	5.449	A

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-34 Bitki kısımlarında ultrasonik destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	Filiz, Meyve, Yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 20, 30

Analysis of Variance for Chloro, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	1863.283	1863.283	931.642	2027.22	0.000
etoh	2	31.381	31.381	15.690	34.14	0.000
sure	2	4.649	4.649	2.324	5.06	0.014
part*etoh	4	11.491	11.491	2.873	6.25	0.001
part*sure	4	1.846	1.846	0.461	1.00	0.423
etoh*sure	4	5.670	5.670	1.418	3.08	0.033
part*etoh*sure	8	4.892	4.892	0.611	1.33	0.271
Error	27	12.408	12.408	0.460		
Total	53	1935.620				

S = 0.677913 R-Sq = 99.36% R-Sq(adj) = 98.74%

EKB-34 (devam)

Unusual Observations for Chloro

Obs	Chloro	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
6	18.0958	19.1804	0.4794	-1.0846	-2.26 R
7	16.0238	16.9969	0.4794	-0.9730	-2.03 R
15	20.2651	19.1804	0.4794	1.0846	2.26 R
16	17.9699	16.9969	0.4794	0.9730	2.03 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
Yaprak	18	18.615	A
Filiz	18	18.089	A
Meyve	18	5.899	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	18	14.741	A
40	18	14.739	A
60	18	13.123	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	18	14.598	A
30	18	14.106	A B
10	18	13.899	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
Yaprak	40	6	19.379	A
Filiz	50	6	19.015	A
Yaprak	50	6	19.004	A
Filiz	40	6	18.971	A
Yaprak	60	6	17.460	B
Filiz	60	6	16.280	B
Meyve	50	6	6.204	C
Meyve	40	6	5.865	C
Meyve	60	6	5.628	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	sure	N	Mean	Grouping
Yaprak	20	6	19.066	A
Yaprak	30	6	18.720	A B
Filiz	20	6	18.636	A B
Yaprak	10	6	18.058	A B
Filiz	10	6	17.940	A B
Filiz	30	6	17.691	B
Meyve	20	6	6.093	C
Meyve	30	6	5.905	C
Meyve	10	6	5.699	C

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-34 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	20	6	15.608	A
50	30	6	15.065	A B
50	20	6	14.733	A B C
40	30	6	14.532	A B C
50	10	6	14.426	A B C D
40	10	6	14.076	B C D
60	20	6	13.454	C D E
60	10	6	13.195	D E
60	30	6	12.720	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	sure	N	Mean	Grouping
Filiz	40	20	2	20.301	A
Yaprak	40	20	2	20.087	A B
Yaprak	40	30	2	19.488	A B C
Filiz	50	30	2	19.470	A B C
Yaprak	50	20	2	19.218	A B C
Yaprak	50	30	2	19.180	A B C
Filiz	50	10	2	18.856	A B C
Filiz	50	20	2	18.721	A B C
Filiz	40	30	2	18.659	A B C
Yaprak	50	10	2	18.614	A B C
Yaprak	40	10	2	18.562	A B C
Filiz	40	10	2	17.953	A B C
Yaprak	60	20	2	17.891	A B C
Yaprak	60	30	2	17.493	B C D
Filiz	60	10	2	17.010	C D
Yaprak	60	10	2	16.997	C D
Filiz	60	20	2	16.885	C D
Filiz	60	30	2	14.944	D
Meyve	50	30	2	6.544	E
Meyve	40	20	2	6.436	E
Meyve	50	20	2	6.259	E
Meyve	50	10	2	5.808	E
Meyve	60	30	2	5.723	E
Meyve	40	10	2	5.711	E
Meyve	60	20	2	5.584	E
Meyve	60	10	2	5.577	E
Meyve	40	30	2	5.449	E

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-35 Yaprakta mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	171.026	171.026	85.513	12.90	0.000
sure	2	4.997	4.997	2.498	0.38	0.688
etoh*sure	4	25.988	25.988	6.497	0.98	0.428
Error	45	298.269	298.269	6.628		
Total	53	500.279				
S = 2.57453 R-Sq = 40.38% R-Sq(adj) = 29.78%						

EKB-35 (devam)

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
25	56.7297	64.8415	1.0510	-8.1118	-3.45 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	69.49	A
50	18	67.19	B
60	18	65.13	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
15	18	67.69	A
10	18	67.12	A
20	18	67.00	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	15	6	70.55	A
40	20	6	69.85	A B
50	10	6	68.14	A B C
40	10	6	68.06	A B C
50	15	6	67.12	A B C
50	20	6	66.30	A B C
60	15	6	65.41	B C
60	10	6	65.15	B C
60	20	6	64.84	C

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-36 Filizde mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	650.80	650.80	325.40	10.96	0.000
sure	2	98.12	98.12	49.06	1.65	0.203
etoh*sure	4	46.97	46.97	11.74	0.40	0.811
Error	45	1335.61	1335.61	29.68		
Total	53	2131.50				

S = 5.44796 R-Sq = 37.34% R-Sq(adj) = 26.20%

EKB-36 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	52.85	A
50	18	52.77	A
60	18	45.44	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	18	51.92	A
10	18	50.52	A
15	18	48.63	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	20	6	54.85	A
50	20	6	54.16	A
40	10	6	52.41	A B
50	15	6	52.25	A B
50	10	6	51.89	A B
40	15	6	51.28	A B
60	10	6	47.25	A B
60	20	6	46.73	A B
60	15	6	42.35	B

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-37 Meyvede mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for TFM, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
etoh	2	664.22	664.22	332.11	407.97	0.000
sure	2	739.71	739.71	369.86	454.34	0.000
etoh*sure	4	677.89	677.89	169.47	208.18	0.000
Error	45	36.63	36.63	0.81		
Total	53	2118.46				

S = 0.902251 R-Sq = 98.27% R-Sq(adj) = 97.96%

Unusual Observations for TFM

Obs	TFM	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
5	78.3792	76.6736	0.3683	1.7056	2.07 R
6	74.8905	76.6736	0.3683	-1.7831	-2.16 R
32	78.4955	76.6736	0.3683	1.8219	2.21 R
33	74.8905	76.6736	0.3683	-1.7831	-2.16 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

EKB-37 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
40	18	70.64	A
60	18	65.97	B
50	18	62.06	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
10	18	69.80	A
15	18	67.76	B
20	18	61.13	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	15	6	76.67	A
40	10	6	73.97	B
60	15	6	69.29	C
60	10	6	68.92	C
50	10	6	66.50	D
50	20	6	62.38	E
40	20	6	61.28	E F
60	20	6	59.71	F
50	15	6	57.31	G

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-38 Bitki kısımlarında mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarı için iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
part	fixed	3	Filiz, Meyve, Yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	3	10, 15, 20

Analysis of Variance for Chloro, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
part	2	43.0587	43.0587	21.5293	217.27	0.000
etoh	2	3.4622	3.4622	1.7311	17.47	0.000
sure	2	4.7763	4.7763	2.3881	24.10	0.000
part*etoh	4	3.2844	3.2844	0.8211	8.29	0.000
part*sure	4	9.3770	9.3770	2.3443	23.66	0.000
etoh*sure	4	3.0062	3.0062	0.7516	7.58	0.000
part*etoh*sure	8	6.4619	6.4619	0.8077	8.15	0.000
Error	27	2.6755	2.6755	0.0991		
Total	53	76.1023				

S = 0.314789 R-Sq = 96.48% R-Sq(adj) = 93.10%

Unusual Observations for Chloro

Obs	Chloro	Fit	SE Fit	Residual	St Resid
43	2.90775	3.48361	0.22259	-0.57587	-2.59 R
44	2.86468	3.49932	0.22259	-0.63464	-2.85 R
52	4.05948	3.48361	0.22259	0.57587	2.59 R
53	4.13396	3.49932	0.22259	0.63464	2.85 R

R denotes an observation with a large standardized residual.

EKB-38 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
Yaprak	18	5.407	A
Meyve	18	3.958	B
Filiz	18	3.264	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	18	4.392	A
40	18	4.385	A
60	18	3.852	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
15	18	4.603	A
10	18	4.142	B
20	18	3.884	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
Yaprak	40	6	5.878	A
Yaprak	50	6	5.370	A B
Yaprak	60	6	4.974	B C
Meyve	50	6	4.363	C D
Meyve	40	6	4.202	D
Filiz	50	6	3.443	E
Meyve	60	6	3.308	E
Filiz	60	6	3.273	E
Filiz	40	6	3.076	E

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	sure	N	Mean	Grouping
Yaprak	15	6	6.564	A
Yaprak	10	6	5.214	B
Yaprak	20	6	4.444	C
Meyve	15	6	4.047	C D
Meyve	10	6	4.012	C D
Meyve	20	6	3.815	D E
Filiz	20	6	3.393	E F
Filiz	10	6	3.201	F
Filiz	15	6	3.198	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	15	6	5.249	A
50	15	6	4.570	B
50	10	6	4.432	B C
50	20	6	4.174	B C D
40	10	6	4.063	B C D
60	15	6	3.989	B C D
60	10	6	3.933	C D
40	20	6	3.845	C D
60	20	6	3.633	D

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-38 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	sure	N	Mean	Grouping
Yaprak	40	15	2	8.449	A
Yaprak	50	15	2	5.913	B
Yaprak	50	10	2	5.490	B C
Yaprak	60	15	2	5.330	B C D
Yaprak	60	10	2	5.102	B C D
Yaprak	40	10	2	5.050	B C D
Yaprak	50	20	2	4.707	B C D E
Yaprak	60	20	2	4.490	C D E F
Meyve	50	10	2	4.478	C D E F
Meyve	50	15	2	4.376	C D E F G
Meyve	40	20	2	4.266	C D E F G H
Meyve	40	15	2	4.266	C D E F G H
Meyve	50	20	2	4.236	C D E F G H
Yaprak	40	20	2	4.136	D E F G H I
Meyve	40	10	2	4.073	D E F G H I
Filiz	50	20	2	3.581	E F G H I
Meyve	60	15	2	3.499	E F G H I
Meyve	60	10	2	3.484	E F G H I
Filiz	60	20	2	3.466	E F G H I
Filiz	50	15	2	3.422	E F G H I
Filiz	50	10	2	3.326	F G H I
Filiz	60	10	2	3.213	F G H I
Filiz	60	15	2	3.139	G H I
Filiz	40	20	2	3.131	G H I
Filiz	40	10	2	3.064	H I
Filiz	40	15	2	3.033	H I
Meyve	60	20	2	2.942	I

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-39 Bitki kısımlarından ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen klorojenik asit miktarının iki yönlü ANOVA istatistikleri

Factor	Type	Levels	Values
yontem	fixed	2	mikrodalga, ude
part	fixed	3	Filiz, Meyve, Yaprak
etoh	fixed	3	40, 50, 60
sure	fixed	2	10, 20

Analysis of Variance for Chloro, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
yontem	1	1885.669	1885.669	1885.669	6810.66	0.000
part	2	652.777	652.777	326.388	1178.85	0.000
etoh	2	12.021	12.021	6.011	21.71	0.000
sure	1	0.875	0.875	0.875	3.16	0.084
yontem*part	2	617.674	617.674	308.837	1115.46	0.000
yontem*etoh	2	5.459	5.459	2.729	9.86	0.000
yontem*sure	1	4.131	4.131	4.131	14.92	0.000
part*etoh	4	0.128	0.128	0.032	0.12	0.976
part*sure	2	0.450	0.450	0.225	0.81	0.452
etoh*sure	2	1.724	1.724	0.862	3.11	0.057
yontem*part*etoh	4	5.621	5.621	1.405	5.08	0.002
yontem*part*sure	2	1.518	1.518	0.759	2.74	0.078
yontem*etoh*sure	2	1.414	1.414	0.707	2.55	0.092
part*etoh*sure	4	0.711	0.711	0.178	0.64	0.636
yontem*part*etoh*sure	4	1.292	1.292	0.323	1.17	0.342
Error	36	9.967	9.967	0.277		
Total	71	3201.431				

S = 0.526185 R-Sq = 99.69% R-Sq(adj) = 99.39%

EKB-39 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	N	Mean	Grouping
ude	36	14.248	A
mikrodalga	36	4.013	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	N	Mean	Grouping
Yaprak	24	11.695	A
Filiz	24	10.792	B
Meyve	24	4.905	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	N	Mean	Grouping
50	24	9.441	A
40	24	9.398	A
60	24	8.553	B

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

sure	N	Mean	Grouping
20	36	9.241	A
10	36	9.021	A

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	N	Mean	Grouping
ude	Yaprak	12	18.562	A
ude	Filiz	12	18.288	A
ude	Meyve	12	5.896	B
mikrodalga	Yaprak	12	4.829	C
mikrodalga	Meyve	12	3.913	D
mikrodalga	Filiz	12	3.297	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	etoh	N	Mean	Grouping
ude	40	12	14.842	A
ude	50	12	14.579	A
ude	60	12	13.324	B
mikrodalga	50	12	4.303	C
mikrodalga	40	12	3.954	C
mikrodalga	60	12	3.783	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	sure	N	Mean	Grouping
ude	20	18	14.598	A
ude	10	18	13.899	B
mikrodalga	10	18	4.142	C
mikrodalga	20	18	3.884	C

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-39 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	etoh	N	Mean	Grouping
Yaprak	50	8	12.007	A
Yaprak	40	8	11.959	A B
Filiz	50	8	11.121	B
Yaprak	60	8	11.120	B
Filiz	40	8	11.113	B
Filiz	60	8	10.144	C
Meyve	50	8	5.195	D
Meyve	40	8	5.122	D
Meyve	60	8	4.397	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

part	sure	N	Mean	Grouping
Yaprak	20	12	11.755	A
Yaprak	10	12	11.636	A B
Filiz	20	12	11.014	B C
Filiz	10	12	10.570	C
Meyve	20	12	4.954	D
Meyve	10	12	4.855	D

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

etoh	sure	N	Mean	Grouping
40	20	12	9.726	A
50	20	12	9.453	A B
50	10	12	9.429	A B
40	10	12	9.069	B C
60	10	12	8.564	C
60	20	12	8.543	C

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	etoh	N	Mean	Grouping
ude	Yaprak	40	4	19.325	A
ude	Filiz	40	4	19.127	A
ude	Yaprak	50	4	18.916	A
ude	Filiz	50	4	18.788	A B
ude	Yaprak	60	4	17.444	B C
ude	Filiz	60	4	16.947	C
ude	Meyve	40	4	6.074	D
ude	Meyve	50	4	6.033	D
ude	Meyve	60	4	5.581	D E
mikrodalga	Yaprak	50	4	5.098	D E F
mikrodalga	Yaprak	60	4	4.796	D E F G
mikrodalga	Yaprak	40	4	4.593	E F G H
mikrodalga	Meyve	50	4	4.357	E F G H I
mikrodalga	Meyve	40	4	4.170	F G H I
mikrodalga	Filiz	50	4	3.454	G H I
mikrodalga	Filiz	60	4	3.340	H I
mikrodalga	Meyve	60	4	3.213	H I
mikrodalga	Filiz	40	4	3.098	I

Means that do not share a letter are significantly different.

EKB-39 (devam)

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	part	sure	N	Mean	Grouping
ude	Yaprak	20	6	19.066	A
ude	Filiz	20	6	18.636	A B
ude	Yaprak	10	6	18.058	A B
ude	Filiz	10	6	17.940	B
ude	Meyve	20	6	6.093	C
ude	Meyve	10	6	5.699	C
mikrodalga	Yaprak	10	6	5.214	C D
mikrodalga	Yaprak	20	6	4.444	D E
mikrodalga	Meyve	10	6	4.012	E F
mikrodalga	Meyve	20	6	3.815	E F
mikrodalga	Filiz	20	6	3.393	E F
mikrodalga	Filiz	10	6	3.201	F

Means that do not share a letter are significantly different.

Grouping Information Using Tukey Method and 95.0% Confidence

yontem	etoh	sure	N	Mean	Grouping
ude	40	20	6	15.608	A
ude	50	20	6	14.733	A B
ude	50	10	6	14.426	B C
ude	40	10	6	14.076	B C D
ude	60	20	6	13.454	C D
ude	60	10	6	13.195	D
mikrodalga	50	10	6	4.432	E
mikrodalga	50	20	6	4.174	E
mikrodalga	40	10	6	4.063	E
mikrodalga	60	10	6	3.933	E
mikrodalga	40	20	6	3.845	E
mikrodalga	60	20	6	3.633	E

Means that do not share a letter are significantly different.



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/~~DOKTORA~~ TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 23/01 /2019

Tez Başlığı / Konusu: “Melocan (*Smilax excelsa* L.) Bitkisinin Farklı Kısımlarının Ultrason ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon İle Elde Edilen Bileşenlerinin Tanımlanması”

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 77 sayfalık kısmına ilişkin, 23/01/2019 tarihinde ~~şahsım~~/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 8 ‘dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kaynakça hariç
- 2- Alıntılar hariç/~~dahil~~
- 3- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

23.01.2019

Tarih ve İmza

Adı Soyadı:	Özlem ŞAHİN
Öğrenci No:	N15228816
Anabilim Dalı:	Gıda Mühendisliği
Programı:	Yüksek Lisans
Statüsü:	☒ Y.Lisans ☐ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Halil VURAL

(Unvan, Ad Soyad, İmza)

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri:

Adı Soyadı : Özlem ŞAHİN
Doğum Yeri : Akkuş/ORDU
Doğum Yılı : 1987
Medeni Hali : Evli
E-posta : ozlemciceksahin@gmail.com

Eğitim:

Lisans :Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği
Bölümü / 2007-2012
Yüksek Lisans :Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda
Mühendisliği Anabilim Dalı / 2016- devam ediyor

Akademik Ünvanlar

Araştırma Görevlisi : Gıda Mühendisliği / Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi /
ERZİNCAN / 2015-2016
Araştırma Görevlisi : Gıda Mühendisliği / Hacettepe Üniversitesi / ANKARA / 2016-
devam ediyor

Yabancı Dil : İngilizce

İş Tecrübesi : 2013-2014 Macit Mandıra Gıda Ürünleri Tic. Ltd. Şti. Ankara

Projeler :Melocan (*Smilax excelsa* L.) Bitkisinin Farklı Kısımlarının
Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu ile Elde Edilen Fenolik
Bileşnlerinin Saptanması / Hacettepe Üniversitesi BAP Hızlı
Destek Projesi/ FHD-2018-17030/ Araştırmacı, (devam ediyor)

Bilimsel ve Mesleki Kuruluşlara Üyelikler

TMMOB Gıda Mühendisleri Odası