



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



YÜKSEK LİSANS TEZİ

THYMBRA SPICATA L. BİTKİSİNDEN ANTIOKSİDAN BİLEŞENLERİN DERİN
ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE ÖZÜTLENMESİ

Şevval ALTUN

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Tezli Yüksek Lisans Programı

Temmuz, 2025

TEZ KABUL VE ONAYI

Şevval ALTUN tarafından, Prof. Dr. Şah İsmail Kırbaşlar danışmanlığında hazırlanan “*THYMBRA SPICATA* L. BİTKİSİNDEN ANTIOKSİDAN BİLEŞENLERİN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE ÖZÜTLENMESİ” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından 02/07/2025 tarihinde yapılan sınav sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Tez Jürisi	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı		<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Doç. Dr. Aslı GÖK İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı		<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret
ÜYE	Doç. Dr. Melisa LALİKOĞLU İstanbul Üniversitesi Kimya Anabilim Dalı		<input checked="" type="checkbox"/> Kabul <input type="checkbox"/> Ret



Bana destek olan hocalarıma, aileme ve tüm sevdiğlerime ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

***THYMBRA SPICATA* L. BİTKİSİNDEN ANTIOKSİDAN BİLEŞENLERİN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE ÖZÜTLENMESİ**

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: FYL-2024-37948

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimiyle her zaman yanımda olan, değerli katkıları ve akademik rehberliğiyle bana yol gösteren danışmanım Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR ve eğitim sürecim boyunca laboratuvar çalışmalarımda bilgi ve desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Özge DEMİR'e içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tüm hayat serüvenimde bana maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her daim yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkür ederim.

Bu süreçte katkı sağlayan tüm akademisyenlere ve İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'na da sağladıkları imkanlar ve destek için teşekkür ederim

Temmuz 2025

Şevval ALTUN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xiii
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	3
2.1. YEŞİL ÇÖZÜCÜLER	3
2.2. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER.....	5
2.3. ZAHTER.....	8
2.3.1. Zahter Hakkında Genel Bilgiler	8
2.3.2. Bitkinin Botanik Özellikleri	10
2.3.3. Bitkinin Biyoaktif Bileşenleri	11
2.3.4. Günümüzde Kekik.....	13
2.3.5. Antioksidan Etki.....	14
2.3.6. Kolesterol Düşürücü ve Karaciğer Koruyucu Etki	14

2.3.7. Antimikrobiyal Etki	15
2.3.8. Kekiğin Toprak Üstü Kısmının Yan Etkileri ile İlgili Bilgiler	15
2.3.9. Bitkisel Materyalden Uçucu Yağ Elde Edilmesinde Kullanılan Yöntemler.....	15
2.4. EKSTRAKSİYON.....	17
2.4.1. Geleneksel Yöntemler	17
2.4.2. Gelişmiş Ekstraksiyon Yöntemleri.....	19
2.5. TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE	28
2.5.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikal Giderme Yöntemi	30
2.5.2. ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) Yöntemi	32
2.5.3. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	33
2.5.4. Toplam Flavonoid Madde Tayini.....	34
2.6. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİ (HPLC).....	35
2.7. FTIR.....	36
3. YÖNTEM	37
3.1. BİTKİ MATERYALİ	37
3.2. KİMYASALLAR VE REAKTİFLER.....	37
3.3. DENEY DÜZENEĞİNDE KULLANILAN EKİPMANLAR VE CİHAZLAR.....	38
3.4. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ HAZIRLAMA	38
3.5. ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON	39
3.6. ANALİZDE KULLANILAN CİHAZLAR VE YÖNTEMLER	39
3.6.1. UV-Vis Spektrofotometre	39
3.6.2. UV-Vis Spektrofotometre ile Yapılan Analizler.....	40
4. BULGULAR	44
4.1. DES SEÇİMİ	44
4.2. DES'LERİN ÖZELLİKLERİ	46
4.3. TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTESİ OPTİMİZASYONU.....	47
4.4. OPTİMUM KOŞULLARDA CUPRAC, ABTS, DPPH, TPC VE TFC SONUÇLARI51	

5. TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR.....	57
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	64
ETİK KURUL İZİN YAZISI	65
KURUM İZİN YAZILARI.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	67



ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 2.1: Yeşil çözücülerin sınıflandırılması.	4
Şekil 2.2: Derin ötektik çözücü faz diyagramı.	6
Şekil 2.3: <i>Lamiaceae</i> familyasının dünyadaki yayılış haritası.	11
Şekil 2.4: <i>Thymbra spicata</i> L. bitkisi.	11
Şekil 2.5: Türkiye’de yetişen <i>Thymbra</i> L. türlerinin yayılış alanı (TÜBİVES).	12
Şekil 2.6: <i>Thymbra spicata</i> L. türünün Türkiye dağılımı (TÜBİVES).	12
Şekil 2.7: Soğuk pres makinası.	16
Şekil 2.8: Soğuk pres teknolojisi ile yağ ve pres keki eldesi (Uslu, 2023).	17
Şekil 2.9: Perkolasyon cihazı.	18
Şekil 2.10: Anfloraj yöntemine örnek.	18
Şekil 2.11: Yüksek kapasiteli dekoksasyon tankı.	19
Şekil 2.12: Basınçlı solvent ekstraksiyonu cihazı.	21
Şekil 2.13: Mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı.	23
Şekil 2.14: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu akış şeması.	24
Şekil 2.15: DPPH radikali ve bir antioksidan ile reaksiyonu.	30
Şekil 2.16: 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS•+) radikalinin formülü.	32
Şekil 3.1: Spektrofotometre.	40
Şekil 3.2: Toplam fenolik madde tayini akış şeması.	42
Şekil 3.3: Toplam flavonoid madde tayini akış şeması.	43
Şekil 4.1: Çözücülerin CUPRAC yöntemi Troloks kalibrasyonları.	46
Şekil 4.2: Design-expert TAC grafikleri a) süre-güç-TAC grafiği, b) sıvı/katı-güç-TAC grafiği, c) darbe oranı-güç-TAC grafiği, d) sıvı/katı-süre-TAC grafiği e) darbe oranı-süre-TAC grafiği, f) sıvı/katı-darbe oranı-TAC grafiği.	50

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1: Yeşil teknolojinin dayandığı 12 temel ilke.	3
Tablo 2.2: Derin ötektik çözücü türleri ve örnekleri.	8
Tablo 2.3: Bitkinin genel özellikleri.	10
Tablo 2.4: Lamiacea familyasının sınıflandırılması.	10
Tablo 2.5: Türkiye’de yetişen <i>Thymbra L.</i> türlerinin listesi.	12
Tablo 2.6: Basınçlı solvent ekstraksiyonun avantajları ve dezavantajları.	20
Tablo 2.7: Mikrodalga destekli ekstraksiyon avantajları ve dezavantajları.	21
Tablo 2.8: Süperkritik akışkanlara örnekler ve özellikleri.	23
Tablo 2.9: Süperkritik akışkan ekstraksiyonun kullanım alanları.	25
Tablo 2.10: Ultrasonik destekli ekstraksiyon cihazları.	26
Tablo 2.11: Ultrasonik destekli ekstraksiyonun avantaj ve dezavantajları.	27
Tablo 2.12: CUPRAC için hazırlanan Trolox çözeltileri.	29
Tablo 2.13: DPPH analizi için hazırlanan çözeltiler.	31
Tablo 2.14: ABTS analizi için hazırlanan çözeltiler.	32
Tablo 3.1: Hazırlanan DES’ler.	38
Tablo 4.1: DES’lere ait TAC değerleri.	46
Tablo 4.2: DES’lerin özellikleri.	46
Tablo 4.3: Box-Behnken dizayn matrisi ve TAC değerleri.	47
Tablo 4.4: Kuadritik model denkleminin ANOVA test sonuçları.	48
Tablo 4.5: ANOVA modeli uyum istatistikleri.	49
Tablo 4.6: Optimum koşullarda CUPRAC deneme sonuçları.	52
Tablo 4.7: Optimum koşullarda ABTS deneme sonuçları.	52
Tablo 4.8: Optimum koşullarda DPPH deneme sonuçları.	52
Tablo 4.9: Optimum koşullarda toplam fenolik içerik (TPC) deneme sonuçları.	52

Tablo 4.10: Optimum koşullarda toplam flavonoid içerik (TFC) deneme sonuçları.52



SİMGE VE KISALTIMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
A	: Adsorbans Değeri
cm	: Santimetre
Cu(I)-Nc	: Bakır(I) Neokuproin
Cu(II)-Nc	: Bakır(II) Neokuproin
df	: Serbestlik Derecesi
dk	: Dakika
ε	: Modelin Hata Terimi
g	: Gram
Hz	: Hertz
k	: Bağımsız Değişken Katsayısı
K	: Kelvin
L	: Litre
mL	: Mililitre
mmol	: Milimol
N	: Deney sayısı
nm	: Nanometre
R²	: Korelasyon katsayısı
R²_a	: Ayarlanmış korelasyon katsayısı
R²_t	: Tahmin edilen korelasyon sayısı
sn	: Saniye
TR	: Trolox
W	: Watt

Kısaltmalar	Açıklama
ABTS/TEAK	: Troloks Karşılaştırmalı Antioksidan Kapasitesi
ANOVA	: Varyans Analizi
BBD	: Box-Behnken Tasarımı
CAT	: Katalaz
CUPRAC	: Bakır (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
DES	: Derin Ötektik Çözücü
DNA	: Deoksiriboz Nükleik Asit
DPPH	: (2,2-difenil-1-pikrilhidrozil) Radikal Giderme Yöntemi
ABTS Yöntemi	: (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit) Radikal Giderme
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
HBA	: Hidrojen Bağı Alıcısı
HBD	: Hidrojen Bağı Donörü
MAE	: Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon
NADES	: Doğal Derin Ötektik Çözücüler
TAC	: Total Antioksidan Kapasite
UAE	: Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon
UV-VIS	: Ultraviyole - Görünür Bölge Spektroskopisi
TPC	: Toplam Fenolik İçerik
TFC	: Toplam Flavonoid İçerik

ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[*THYMBRA SPICATA* L. BİTKİSİNDEN ANTIOKSİDAN BİLEŞENLERİN DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE ÖZÜTLENMESİ]

[Şevval ALTUN]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Tezli Yüksek Lisans Programı

[Danışman: Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR]

[Bu tez kapsamında, zahter (*Thymbra spicata* L.) bitkisinin yaprakları kullanılarak fenolik bileşikler elde etmek amacıyla ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE) işlemi uygulanmıştır. UAE yöntemi optimize edilerek derin ötektik çözücüler (DES) ile geleneksel çözücüler kullanılarak antioksidan kapasiteleri analiz edilmiştir. Analiz yöntemi olarak CUPRAC, toplam antioksidan kapasite (TAC), DPPH, ABTS, toplam fenolik içerik (TPC) ve toplam flavonoid içerik (TFC) yöntemleri kullanılmıştır. Deneysel tasarımlar için Box-Behnken modeli üzerinden çalışılıp ANOVA analizleri ve 3D yüzey grafik yorumları ile analiz sonuçları desteklenmiştir. Antioksidan kapasite analiz sonuçlarında etanol ile daha yüksek sonuç elde edilmiştir. CUPRAC yönteminde DES ile 5,275 mmol TR/g, etanol ile 6,084 mmol TR/g sonuçları elde edilmiştir. Diğer analiz sonuçları incelendiğinde DES ile yapılan analizlerin sonuçları daha yüksek gelmiştir. ABTS için DES ile yapılan analiz sonucu 0,280 mmol TR/g, etanol ile yapılan analiz sonucu 0,225 mmol TR/g olarak bulunmuştur. DPPH analizinde ise sonuçlar DES için 0,303 mmol TR/g, etanol için 0,167 mmol TR/g olarak hesaplanmıştır. TPC analizlerinde elde edilen sonuçlar DES için 10,062 mmol gallik asit/g-kuru örnek, etanol içinse 0,731 mmol gallik asit/g-kuru örnek şeklinde bulunmuştur. Son olarak TFC analiz sonuçlarında

DES ile yapılan ekstraksiyona ait analiz sonucu 0,412 mmol kuersetin/g-kuru örnek ve etanol ile yapılan ekstraksiyona ait analiz sonucu 0,348 mmol kuersetin/g-kuru örnek olarak bulunmuştur. Sonuçlara bakıldığında, DES kullanılarak yapılan UAE işleminde ABTS, DPPH, TPC ve TFC analiz sonuçları daha yüksek bulunmuştur. Tüm bulgular değerlendirildiğinde doğa dostu, çevreye zarar vermeyen, maliyeti düşük ve uçucu olmayan yeşil çözücü olan DES'in geleneksel çözücülere alternatif olarak kullanımının uygun olduğu ve daha iyi sonuçlar verdiği ortaya koyulmuştur. |

Temmuz 2025 , |85| sayfa.

Anahtar kelimeler: | Zahter (*Thymbra spicata* L.), Antioksidan, Derin Ötektik Çözücü (DES) ve Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon (UAE). |

ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

**[EXTRACTION OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS FROM *THYMBRA SPICATA* L.
PLANT USING DEEP EUTECTIC SOLVENTS]**

[Şevval ALTUN]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Unit Operatitons and Thermodynamics, Master's Program with Thesis

[Supervisor : Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR]

[Within the scope of this thesis, ultrasonic assisted extraction (UAE) process was applied to obtain phenolic compounds using the leaves of zahter (*Thymbra spicata* L.). Antioxidant capacities were analyzed using conventional solvents and deep eutectic solvents (DES) by optimizing the UAE method. Analysis was performed using CUPRAC, total antioxidant capacity (TAC), DPPH, ABTS, total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) methods. Experimental designs were performed using the Box-Behnken model and analysis results were supported by ANOVA analyses and 3D surface graphic interpretations. Higher results were obtained with ethanol in antioxidant capacity analysis results. In the CUPRAC method, 5.275 mmol TR/g were obtained with DES and 6.084 mmol TR/g with ethanol. When other analysis results were examined, the results of the analyses performed with DES were higher. For ABTS, the analysis result with DES was found as 0.280 mmol TR/g, and the analysis result with ethanol was found as 0.225 mmol TR/g. In DPPH analysis, the results were

calculated as 0.302 mmol TR/g for DES and 0.167 mmol TR/g for ethanol. The results obtained in TPC analysis were found as 10.062 mmol gallic acid/g-dry sample for DES and 0.731026861 mmol gallic acid/g-dry sample for ethanol. Finally, in the TFC analysis results, the analysis result of the extraction with DES was found to be 0.412 mmol quercetin/g-dry sample and the analysis result of the extraction with ethanol was found to be 0.348 mmol quercetin/g-dry sample. When the results are examined, ABTS, DPPH, TPC and TFC analysis results were found to be higher in the UAE process performed using DES. When all the findings were evaluated, it was revealed that DES, which is an environmentally friendly, low-cost and non-volatile green solvent, is suitable for use as an alternative to traditional solvents and gives better results. |

July 2025, |85| pages.

Keywords: |Zahter (*Thymbra spicata* L.), Antioxidant, Deep Eutectic Solvent (DES) and Ultrasonically Assisted Extraction (UAE)|

1. GİRİŞ

Son dönemde insanların çevreye çok zarar vermelerinden dolayı doğa dostu alternatif çözücü arayışına başlanmıştır. Bu doğa dostu çözücüler ‘Yeşil Çözücüler’ olarak bilinmektedir. Yeşil çözücülerini önemli kılan özellikleri geri dönüştürülebilir olması, maliyetinin düşük olması, toksik olmaması ve uçucu olmayan çözücü olmalarıdır. Yeşil çözücülerin dayandığı 12 temel ilke vardır. Bunlar; atık önleme, güvenlik, tehlike önleme, yenilenebilir hammadde, katalizör kullanımı, türevlerin azaltılması, atom ekonomisi, güvenli çözücü kullanımı, enerji verimliliği, bozunma tasarımı, gerçek zamanlı kontrol ve minimum kaza olasılığıdır. (Kutlu ve diğ., 2021)

Yeşil çözücüler; süperkritik akışkanlar, biyolojik kökenli çözücüler, modern çözücüler ve çok bileşenli çözücüler olmak üzere dört ana gruba ayrılır. Süperkritik akışkanlar; maddeye kritik sıcaklığın ve kritik basıncın uygulandığı bir haldir. Bu akışkanlar ekstraksiyonun organik çözücülere göre daha hızlı olmasını sağlar. (Çolak ve Tülek, 2003) Süperkritik akışkanlar içerisinde bulunan su, kullanımı yaygın olan bir çözücüdür. Bu durumun nedeni, söz konusu maddenin saflaştırılmasının kolay olması, geri dönüşüm imkânı sunması, toksik olmaması ve yanıcılık özelliği taşınamamasıdır. Ancak buna rağmen, birçok gaz ve polimer katı madde için zayıf bir çözücü olarak görev yapabilir. (Kutlu ve diğ., 2021) Biyo bazlı çözücüler biyokütle kaynaklarından yeniden üretilen çözücüler anlamına gelmektedir. Bu çözücüler geleneksel çözücülere göre çevreye daha az zarar verir ve azaltılmış toksisiteye sahiptir. (Usman ve diğ., 2023)

Modern çözücüler içerisinde giren derin ötektik çözücüler (DES), son zamanlarda ortaya çıkan hidrojen bağı donörleri (HBD) ve hidrojen bağı alıcılarından (HBA) oluşmaktadır. Derin ötektik çözücülerini önemli kılan olumlu özellikleri; ihmal edilebilir buhar basıncı, düşük toksisite, yenilenebilir malzemelerden oluşması ve biyoyumluluk şeklinde sıralayabiliriz. Bu özellikleri sebebiyle doğal ürün deneylerinde ekstraksiyon çözücüsü olarak umut vadeden aday olarak görülüyor. Birçok derin ötektik çözücünün yapısında düşük maliyeti, düşük toksisitesi ve biyoyumluluğu sayesinde hidrojen bağı alıcısı olarak kolin klorür kullanılmaktadır. (Ozturk ve diğ., 2018) Doğal Derin Ötektik Çözücüler (NADES), kendini oluşturan bileşenlerden daha düşük bir erime noktasına sahip çözücülerdir. (Rashid ve diğ., 2022) DES'ler ucuz, toksik olmayan, tamamen biyolojik olarak parçalanabilir ve biyoyumlu malzemelerden üretilir.

Dahası, hazırlanmaları çok basittir ve tek bir adımda homojen sıvılar elde etmek için sadece ısıtma ve mekanik karıştırma gerektirir. DES'ler, başlangıç malzemelerinden çok daha düşük erime noktalarına sahip aminler, amidler, alkoller veya karboksilik asitler gibi hidrojen bağı donörleri (HBD'ler) içeren katı halojenür tuzlarının (örneğin kolin klorür) ötektik karışımlarıdır. (Xia ve diğ., 2015)

Türkiye'de *Thymbra* cinsi kekik bitkisi iki türle temsil edilmekte olup, bu cinsin en yaygın örneği Doğu Akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişen ve kurutulmuş hali genellikle çay veya baharat olarak değerlendirilen *Thymbra spicata* L. türüdür. *Thymbra* cinsinin ticaret için önemli ve verimli olduğu bilinmektedir. İçerdiği uçucu yağlar nedeniyle zahter ve kekik türevleri gıda aroması, likör üretimi, parfümeri ve antimikrobiyal etki gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bununla birlikte antiseptik, tonik, mide yatıştırıcı ve idrar sökücü olarak kullanılmaktadır. (Baydar ve diğ., 2004)

Ultrasonik destekli ekstraksiyonun (UAE) temel prensibinde ultra ses yoluyla kavitasyon oluşturarak kütle transferini arttırmak bulunmaktadır. Ultrason sıvılarda homojenizasyon emülsiyon işlemlerinde kullanılır, katılarda ise ekstraksiyon için kullanılır. Ultrasonik destekli ekstraksiyonu gerçekleştirmenin iki yöntemi bulunmaktadır. Bunlardan biri ultrasonik banyo diğeri ise ultrasonik prob (uç) bulunan sistemdir. Ultrasonik banyo farklı boyutlarda paslanmaz çelik tanktan oluşur. Ekstraksiyon haricinde farklı işlemlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Ultrasonik destekli ekstraksiyon sisteminin problu olanında ise cam bir beher ve ultrason dalgasını gönderen prob ucu bulunmaktadır. (Hajiyev, 2023)

Bu tez çalışmasında, derin ötektik çözücüler ile zahter bitkisinden elde edilen ekstraktların, UAE yöntemi kullanılarak antioksidan bileşenler açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Ekstraktların toplam antioksidan kapasite (TAC) değerleri analiz edilmiştir, bu analiz için CUPRAC, ABTS ve DPPH yöntemleri kullanılmıştır. Ayrıca, toplam fenolik ve flavonoid içerik için analizler gerçekleştirilip tüm sonuçlar değerlendirilmiştir.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

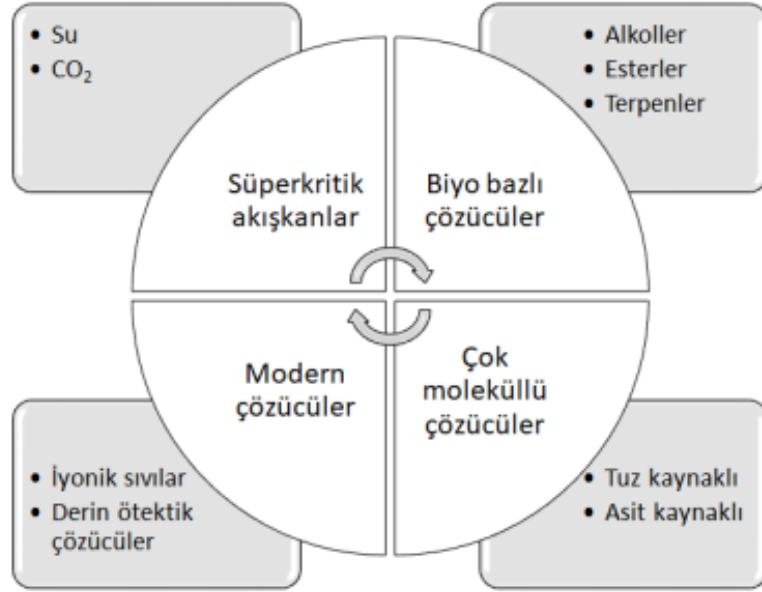
2.1. YEŞİL ÇÖZÜCÜLER

Son yıllarda insanların çevreye verdiği zararın sonuçları daha net görünmeye başlamıştır. Bu sebeple bilim insanları çevreye zarar vermeyen alternatif çözümleri araştırmaya başlamıştır. Doğa dostu çözümlere ‘Yeşil Çözümler’ adı verilmektedir. Bu çözümlerin en önemli özelliği toksik olmamasıdır. Yeşil Çözümler, geri dönüştürülebilir, maliyeti düşük, enerji gerektirmeyen ve uçucu olmayan çözümlerdir. (Saraçlar Eker, 2024) Yeşil Teknoloji ise Anastas ve Werner tarafından yayınlanan 12 temel ilkeye dayanmaktadır. (Kutlu ve diğ., 2021) (Tablo 2.1)

Tablo 2.1: Yeşil teknolojinin dayandığı 12 temel ilke. (Kutlu ve diğ., 2021)

Atığın Önlenmesi	Atık üretimi, üretim sürecinin başında planlama yapılarak engellenmelidir.
Güvenli Üretim	Kullanılan yöntemler toksik madde oluşumuna yol açmayacak şekilde olmalıdır.
Riskin Azaltılması	İnsan sağlığına ve çevreye zararsız ürünlerin tasarımı ve üretimi sağlanmalıdır.
Yenilenebilir Kaynaklar	Üretimde tercih edilen hammaddeler doğada yenilenebilir nitelikte olmalıdır.
Katalizör Tercihi	Üretimde verimi artırmak ve israfı önlemek için uygun katalizörler kullanılmalıdır.
Ara Ürünlerin Azaltılması	Gereksiz kimyasal adımlar atık miktarını artıracığından, bu işlemlerden kaçınılmalıdır.
Atom Verimliliği	Kullanılan her atomun üründe yer alması hedeflenmeli, israf en aza indirgenmelidir.
Çözümlerin Güvenliği	Reaksiyonlarda kullanılan çözümler, mümkün olan en az miktarda ve en az zararlı olanlardan seçilmelidir.
Enerji Tasarrufu	Üretim süreçleri mümkün olduğunca oda sıcaklığında ve normal basınç koşullarında yürütülmelidir.
Bozunabilirlik	Ürünlerin çevrede birikmesini önlemek adına, kullanım sonrası zararsız bileşiklere dönüşecek biçimde tasarlanması gerekir.
Anlık Süreç İzleme	İstenmeyen yan ürünlerin önüne geçebilmek için reaksiyonlar gerçek zamanlı olarak izlenmelidir.
Kaza Riskinin Azaltılması	Üretimde kullanılan kimyasal maddeler, tehlike oluşturma ihtimali en düşük olanlardan seçilmelidir.

Doğayı koruyabilmek adına zararlı çözümlere alternatif olarak yeşil çözümler kullanımı desteklenmektedir. Sık kullanılan yeşil çözümlerin sınıflandırılması Şekil 2.1 de gösterilmiştir.



Şekil 2.1: Yeşil çözücülerin sınıflandırılması. (Kutlu ve diğ., 2021)

Süperkritik akışkanlar; maddeye kritik sıcaklığın ve kritik basıncın uygulandığı bir haldir. Bu akışkanlar ekstraksiyonun organik çözücülere göre daha hızlı olmasını sağlar. (Çolak ve Tülek, 2003) Süperkritik akışkanlar içerisinde bulunan su, kullanımı yaygın olan bir çözücüdür. Bunun sebebi ise saflaştırılmasının kolay olması, geri dönüştürülebilir olması, toksik ve yanıcı olmamasıdır. Ancak bununla beraber birçok gaz ve polimer katılar için zayıf çözücü özellikte olabilmektedir. (Kutlu ve diğ., 2021) Biyo bazlı çözücüler biyokütle kaynaklarından yeniden üretilen çözücüler anlamına gelmektedir. Bu çözücüler geleneksel çözücülere göre çevreye daha az zarar verir ve azaltılmış toksisiteye sahiptir. (Usman ve diğ., 2023) İyonik sıvılar tamamen iyonlardan meydana gelen bileşiklerdir. Günümüzde "iyonik sıvı" terimi, erime noktası 100 °C'nin altında olan tuzlar için kullanılmaktadır. Bu sıvılar, genellikle büyük hacimli organik katyonlar ile organik ya da inorganik anyonların zayıf elektrostatik etkileşimleriyle bir araya gelmesiyle oluşur. İyonik sıvıların yapısında bulunan organik katyonlar çoğunlukla 1-alkil-3-alkilimidazoliyum veya 1-alkilpiridinyum türevleridir. Bu katyonlara eşlik eden anyonlar ise hekzaflorofosfat, tetrafloroborat, kloroalüminat, klorür ve bromür gibi inorganik; ya da bis(triflorometilsülfonil)imid, asetat ve trifloroasetat gibi organik yapıda olabilir. (Berthod ve diğ., 2008). İyonik sıvılar, geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir. Bunlar arasında reaksiyon ortamlarında çözücü ve yardımcı katalizör olarak kullanımı, batarya ve yakıt hücrelerinde elektrolit görevi görmesi, enzim immobilizasyonu için destek materyali olarak kullanılması, kaydırıcı ve kalıp oluşturucu madde işlevi gibi örnekler

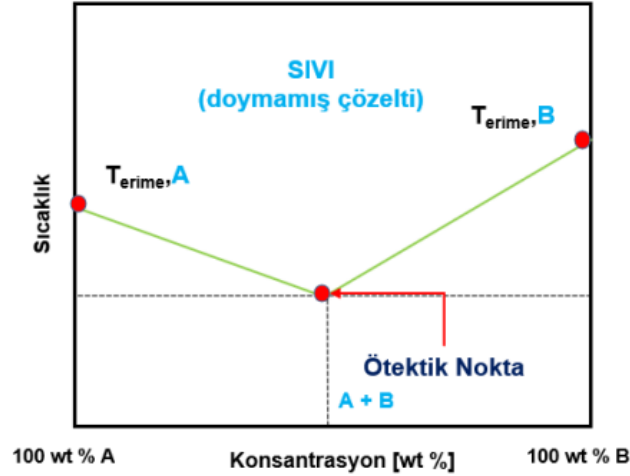
sayılabilir. Bu denli yaygın kullanılmalarının temel nedeni, kendilerine özgü fiziksel özellikleridir.

İyonik çözücüler, zıt yüklü iyonlar arasında oluşan zayıf elektrostatik etkileşimlerle meydana gelir ve yüksek derecede polar çözücülerdir. Bu özellikleri sayesinde hem organik hem de inorganik maddelerin büyük çoğunluğunu çözebilirler. Çoğu klasik organik çözücüyle karışmadıkları için iki fazlı çözücü sistemleri oluşturabilirler; böylece susuz, polar çözücü ortamları elde etmek mümkün olur. Su ile karışmayan hidrofobik iyonik sıvılar, polar fazda kullanılabilir ve suya karşı dirençlidir. Düşük buharlaşma eğilimleri sayesinde, yüksek sıcaklıklarda kullanıldıklarında çevreye zararlı gazlar yaymazlar. Ayrıca 300 °C'ye kadar olan sıcaklıklarda kimyasal yapıları bozulmadan kalabildikleri için, yüksek sıcaklık gerektiren reaksiyonlar için de uygundur. Reaksiyon sonunda ortamdaki kolayca ayrıştırılabilirler ve yeniden kullanılabilir olmaları onları sürdürülebilir çözücüler arasında öne çıkarır. (Kolancılar, 2016) Derin Ötektik Çözücüler (DES), son zamanlarda ortaya çıkan hidrojen bağı donörleri (HBD) ve hidrojen bağı alıcılarından (HBA) oluşmaktadır. Derin ötektik çözücüler önemli kılınan olumlu özellikleri; ihmal edilebilir buhar basıncı, düşük toksisite, yenilenebilir malzemelerden oluşması ve biyoyumluluk şeklinde sıralayabiliriz. Bu özellikleri sebebiyle doğal ürün deneylerinde ekstraksiyon çözücüsü olarak umut vadeden aday olarak görülüyor. Birçok derin ötektik çözücünün yapısında düşük maliyeti, düşük toksisitesi ve biyoyumluluğu sayesinde hidrojen bağı alıcısı olarak kolin klorür ([Ch]Cl) kullanılmaktadır. (Oztürk ve diğ., 2018) Doğal Derin Ötektik Çözücüler (NADES), yapılarında bulunan bileşenlerin her birinden daha düşük erime sıcaklığına sahip olan çözücü sistemleridir. (Rashid ve diğ., 2022)

2.2. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER

Derin Ötektik Çözücüler (DES), ilk kez 2003 yılında Abbott ve ekibi tarafından tanımlanmış olup, iki ya da üç bileşenin bir araya gelmesiyle oluşan çözücü sistemleridir. DES'lerin bazı avantajları; düşük fiyata sahip olması, hazırlanışının kolay olması, güçlü biyoyumluluk ve işlem sonrası saflaştırma aşamasını gerektirmemesi. Bu özelliklerinden dolayı geleneksel organik çözücülerin yanı sıra bazı iyonik çözücülerinde (IL) yerini alabilecek potansiyele sahiptirler. Son yıllarda farklı HBA (Hydrogen Bond Acceptor) ve HBD (Hydrogen Bond Donor) içeren DES'ler elde edilmeye çalışılsa da en popüler olanları HBA olarak kolin klorür (ChCl) kullanılanlardır. Bu nedenle ChCl ile DES oluşturmak için karbonhidratlar,

yenilenebilir polioller, amitler, alkoller, aminler ve karboksilik asitler gibi HBD türleri kullanılmıştır. (Wang ve diğ., 2019)



Şekil 2.2: Derin ötektik çözücü faz diyagramı. (Erden, 2024)

DES'ler ucuz, toksik olmayan, tamamen biyolojik olarak parçalanabilir ve biyoyumlu malzemelerden üretilebilir. Dahası, hazırlanmaları çok basittir ve tek bir adımda homojen sıvılar elde etmek için sadece ısıtma ve mekanik karıştırma gerektirir. DES'ler, başlangıç malzemelerinden çok daha düşük erime noktalarına sahip aminler, amidler, alkoller veya karboksilik asitler gibi hidrojen bağı donörleri (HBD'ler) içeren katı halojenür tuzlarının (örneğin kolin klorür) ötektik karışımlarıdır. (Xia ve diğ., 2015)

Kolin klorür bazlı DES'ler ekstraksiyon için önemli çözücülerdir. Çünkü bu çözücüler hedef bileşiklerle güçlü hidrojen bağı oluştururlar. Hidrojen bağları, ekstraksiyon verimini artırarak ve elde edilen ekstraktları stabilize ederek hedef moleküllerin bozunmasını önler. Kolin türevleri, betain, organik asitler, amino asitler veya şekerler gibi canlı hücre metabolitlerinden türetilen bileşenler içeren DES'lere doğal derin ötektik çözücüler (NADES) adı verilir. NADES'lerin faydalı özellikleri (örneğin dayanıklılık, biyolojik olarak parçalanabilirlik, düşük toksisite profili ve yüksek çözünürlük) doğal kaynakların çıkarılmasında yeşil çözücüler olarak potansiyellerini göstermektedir. (Alam ve diğ., 2021)

Viskozite, DES'lerin uygulanmasının önündeki en büyük engeldir. Şeker bazlı DES'lerin viskozitesi, polihidrik alkoller tarafından viskozitesinden daha büyüktür. Üç hedef aktif bileşiğin polaritesi zayıf olduğundan, polihidrik alkoller ve şeker tarafından oluşturulan

DES'lerle bunların ekstraksiyon verimleri, organik asit bazlı olanlardan daha yüksektir. (Cui ve diğ., 2015)

Şeker bazlı DES'ler; alkol, amid, karboksilik asit bazlı olanlar ile karşılaştırıldığında genellikle yüksek viskoziteye sahiptir, bu sebeple ekstraksiyonu güçleştireceğinden nadiren bu amaçla kullanılırlar.

DES'lerin polarite özelliği ise ekstraksiyon verimini etkileyen bir parametredir. Çünkü polarite DES'lerin hedef çözünenleri çözme kapasitesiyle alakalıdır. Bu sayede polarite çözünenin DES'deki çözünürlüğünü arttırabilir ve çözünenlerin DES fazına ekstraksiyonunu kolaylaştırır. Orta seviyede bir polarite özelliği olan DES, zayıf ve orta polariteli flavonoidleri çözmek için idealdir.

DES'lerin polarite, viskozite, pH ve çözünürlük kapasitesi gibi fiziko-kimyasal özellikleri bitki içeriğinde bulunan flavonoidlerin çıkarılmasında önemli rol oynamaktadır. (Xu ve diğ., 2019) Fenolik bileşikler, aromatik halkalara bağlı hidroksil gruplarından oluşan bir grup biyoaktif bileşiktir. Bu bileşikler, bir ya da birden fazla hidroksil grubu içeren iki fenolik halkanın, üç karbon atomu içeren bir zincir aracılığıyla birbirine bağlanmasıyla oluşur. Yapısal özellikleri ve oksidasyon yeteneklerine göre flavanonlar, flavanoller, flavonoller, izoflavonlar ve antosiyaninler gibi çeşitli alt sınıflarda yer alabilirler. Fenolik asitler ve flavonoidler en yaygın fenolik bileşiklerdir. Aynı zamanda doğal kaynaklarda tüm fenolik bileşiklerin %60'ını oluştururlar. (Alam ve diğ., 2021) Flavonoidler fenol hidroksil gruplarının varlığı nedeniyle zayıf asidite özelliği gösterir ve alkali çözücüde çözünmesi daha kolaydır. Bu sebeple asit bazlı DES'lerin ekstraksiyon performansı amin bazlı DES'lere oranla daha düşüktür. (Xu ve diğ., 2019) Flavonoidler, aromatikler, saponinler ve kalkonlar, doğal bitkilerden kolin klorür bazlı DES'ler kullanılarak başarıyla ayrılır ve ekstrakte edilir ve bu yöntemin geleneksel yöntemlerden daha etkili olduğu kanıtlanmıştır. (Xia ve diğ., 2015)

DES'lerin farklı hazırlanma şekilleri mevcuttur:

-Homojen bir sıvı oluşturana kadar HBA ve HBD'nin sulu çözeltilerinin uygun oranda ısıtılarak karıştırılması.

-Belirli oranda HBA ve HBD'nin karıştırılması oluşturulan sulu çözeltinin dondurarak kurutma (liyofilizasyon) işlemiyle viskoz, renksiz bir sıvı oluşturulması.

-HBA ve HBD'nin beraber öğütülerek homojen renksiz bir sıvı elde edilmesi. (Erden, 2024)

DES'ler gruplara ayrılırken HBA ve HBD'nin türleri baz alınmıştır. Bu şekilde beş kategoriye ayrılmıştır: (Erden, 2024) (Gitti 2019)

-Tip 1: Kuarternler amonyum tuzu (HBA) + metal klorür (HBD)

-Tip 2: Kuarternler amonyum tuzu (HBA) + metal klorür hidrat (HBD)

-Tip 3: Kuarternler amonyum tuzu (HBA) + HBD

-Tip 4: Metal klorür hidrat (HBA) + HBD

-Tip 5: Noniyonik HBA + non iyonik HBD

Beş tipe ayrılmış DES'lere ait örnekler Tablo 2.2'de sunulmuştur.

Tablo 2.2: Derin ötektik çözücü türleri ve örnekleri.

	HBA	HBD
Tip 1	Kolin Klorür (ChCl)	Kadmiyum Klorür (CdCl ₂), Demir Klorür (FeCl ₂)
Tip 2	Kolin Klorür (ChCl)	Krom Klorür (CrCl ₃ .6H ₂ O)
Tip 3	Kolin Klorür (ChCl)	Etilen Glikol ((CH ₂ OH) ₂), Üre (CH ₄ N ₂ O)
Tip 4	Çinko Klorür (ZnCl ₂)	Üre (CH ₄ N ₂ O), Asetamid (CH ₃ CONH ₂)
Tip 5	Mentol (C ₁₀ H ₂₀ O)	Timol (C ₁₀ H ₁₄ O)

2.3. ZAHTER

2.3.1. Zahter Hakkında Genel Bilgiler

Tüm canlılar doğada bir denge içinde yaşamaktadırlar. Geçmişte insanlar doğadaki bitkileri değerlendirerek hastalıkların tedavisinde kullanımını deneme-yanılma yoluyla araştırmışlardır. Günümüzde insanlar doğal kaynaklara çok daha fazla değer verdiğinden ötürü, gelişmiş teknoloji ile bitkileri daha da araştırarak hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadırlar. İnsanlar bu araştırmaları gerçekleştirirken her bitkinin kök, gövde, sap ve çiçek kısımlarını ayrı ayrı inceleyerek değerlendirme yapmaktadırlar. Bu sayede kullanılan bitkinin özellikle hangi kısmının insan sağlığına faydası olduğunu tespit etmektedirler. (Eroğlu, 2022)

Bitkilerin hastalıkların tedavisinde kullanımını inceleyen bilim dalına fitoterapi denmektedir. Bu sözcük Yunanca kökenli olup phyton=bitki ve therapeia=tedavi etmek kelimelerinden meydana gelmiştir. (Tekin ve diğ., 2022)

Lamiaceae (ballıbabagiller) familyasına ait, Türkiye’de yaygın olarak "kekik" adıyla bilinen birçok aromatik bitki türü mevcuttur. Bu bitkilere, bileşimlerinde timol ve karvakrol gibi uçucu yağ bileşenlerini barındırmaları nedeniyle "kekik" denilmektedir. Bu grup içerisinde öne çıkan başlıca cinsler arasında *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* ve *Coridothymus* yer almaktadır. (Baser ve diğ., 1994)

Timol ve karvakrol gibi uçucu yağ oranlarının farklı olması sebebiyle bitki türleri farklı adlandırılmaktadır. (Özgüven ve Tansi, 1998)

Zahter bitkisinin toprak üstü kısımları birçok hastalıkta kullanılmaktadır. Başlıca hastalıklar olarak bağırsak rahatsızlıkları, astım, soğuk algınlığı, romatizmal ve koroner hastalıkların sıralayabiliriz. Bununla beraber farklı cinslerinden olan *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra*, *Thymus* ve *Corydothymus*’dan elde edilen uçucu yağın ana bileşeni olan ‘karvakrol’un antifungal, antihelmintik, insektisidal, analjezik, antibakteriyel ve antioksidan özelliklerine sahip olduğu bilinmektedir. (Eroğlu, 2022)

Türkiye’de *Thymbra* cinsi kekik, iki farklı tür ile temsil edilmektedir. Bu türlerden en yaygın olanı, Doğu Akdeniz bölgesinde doğal olarak yetişen ve kurutulmuş hali hem baharat hem de bitki çayı olarak değerlendirilen *Thymbra spicata* L. türüdür. *Thymbra* cinsi, ticari açıdan değerli ve yüksek verimli bir bitki grubu olarak kabul edilmektedir. Uçucu yağ içeriği sayesinde zahter ve kekik türleri; gıda aromalandırması, likör üretimi, parfümeri ve antimikrobiyal uygulamalar gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Ayrıca geleneksel kullanımlarda antiseptik, tonik etkili, sindirim sistemi rahatlatıcı ve idrar söktürücü özellikleriyle de bilinmektedir. (Baydar ve diğ., 2004)

Zahter, Akdeniz bölgesinde geleneksel tıpta ağız yaraları, mide rahatsızlıkları ve baş ağrılarının tedavisinde kullanılmaktadır. (Joma, 2018)

Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde “Zahter” ve “Karabaş kekik” olarak bilinen bitki, Türkiye’de Trakya, Ege ve Akdeniz kıyı bölgelerinde yetiştirilmektedir. (Askun ve diğ., 2009)

Bitki ile ilgili genel bilgiler aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 2.3: Bitkinin genel özellikleri.

Bitki	<i>Thymbra spicata</i> L.
Familyası	<i>Lamiaceae (Labiatae)</i>
İngilizce Adı	Zaatar
Türkçe Adı	Karabaş kekik, Kara kekik, Sater, Zater, Zahter
Kullanılan Kısımları	Toprak üstü kısmı

2.3.2. Bitkinin Botanik Özellikleri

Yaz aylarında açan kırmızı renkli çiçeklere sahip, kekik görünüşünde odunsu bir bitkidir. Gövdesi dik, dört köşeli ve iki yüzü tüylü yapıdadır. Yaprakları ortalama 10-15 mm uzunluğunda ve 2,3 mm enine sahiptir. Bununla beraber yaprakları dar uzun, sert ve üzerinde noktalara sahip tüysüz yapıdadır. Çiçekleri sık ve silindir şeklindedir. Meyveleri ise oval ve üzeri pürtüksüzdür. (Joma, 2018)

Lamiaceae familyası diğer adıyla Ballıbabagiller olarak geçmektedir. Bu familyaya ait yaklaşık 3200 tür ve 200 cins olduğu bilinmektedir. Türkiye’de *Lamiaceae* familyasına mensup yaklaşık 400 tür ve 38 cins doğal olarak yetişmektedir. Bu bitkiler, çeşitli çevre koşullarına uyum sağlama yeteneğiyle dikkat çekmektedir. Özellikle tropikal bölgelerde ve ılıman alanlarda daha iyi verim verip, gelişme gösterirler. Ülkemizde en çok Akdeniz ve Ege bölgesinde bu familyaya ait endemik türler bulunmaktadır. (Joma, 2018)

Tablo 2.4: *Lamiacea* familyasının sınıflandırılması. (Joma, 2018)

Bölüm	<i>Plantae</i>
Alt bölüm	<i>Trachebionta</i>
Üst bölüm	<i>Spermatophyta</i>
Bölüm	<i>Magnoliophyta</i>
Sınıf	<i>Magnoliopsida</i>
Alt sınıf	<i>Asteridae</i>
Sıra	<i>Lamiales</i>
Aile	<i>Lamiaceae</i>



Şekil 2.3: *Lamiaceae* familyasının dünyadaki yayılış haritası. (Joma, 2018)

2.3.3. Bitkinin Biyoaktif Bileşenleri

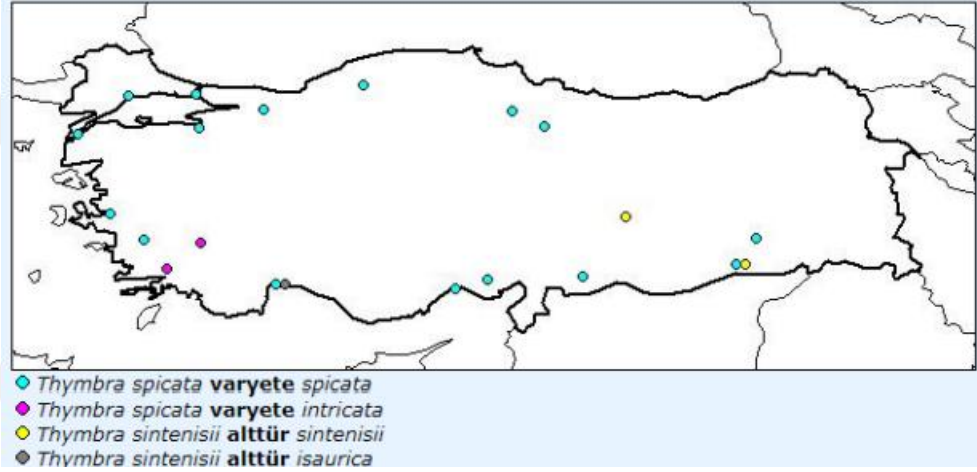
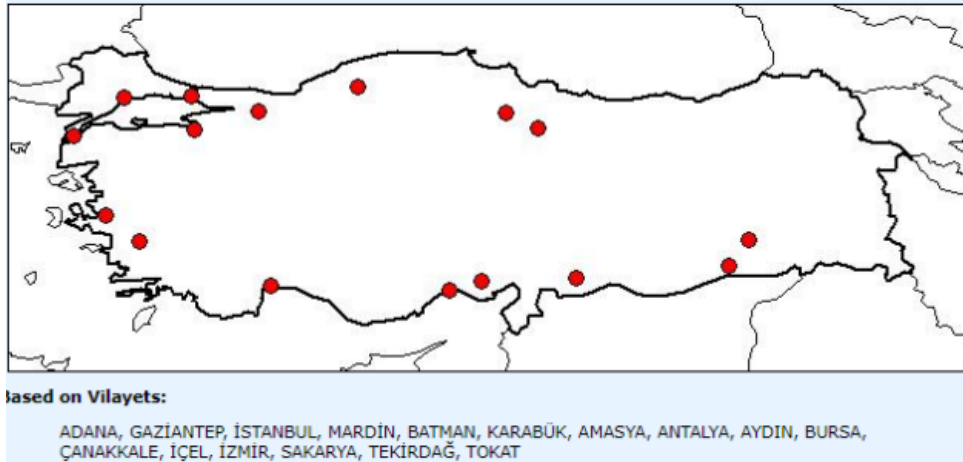
T. spicata L. bitkisi, karvakrolun yanı sıra γ -terpinen ve p-simen gibi uçucu bileşenler içermektedir. Ayrıca, az miktarda mirsen, α -terpinen, bornilasetat, borneol ve timol bileşikleri de yapısında bulunmaktadır. Bu aromatik bitkiden elde edilen uçucu yağ miktarı, üretim yöntemlerine ve ekim yapılan bölgenin coğrafi konumuna bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Ayrıca, hasat zamanı ile işleme sırasında kullanılan ekipmanların da uçucu yağ verimini etkileyen önemli unsurlar olduğu belirtilmiştir.



Şekil 2.4: *Thymbra spicata* L. bitkisi.

Tablo 2.5: Türkiye’de yetişen *Thymbra* L. türlerinin listesi.

1) <i>Thymbra capitata</i>
2) <i>Thymbra sintenisii</i> i.T. <i>Sintenisii</i> sunsp. <i>isaurica</i> ii.T. <i>Sintenisii</i> subsp. <i>sintenisii</i>
3) <i>Thymbra spicata</i> i.T. <i>Spicata</i> subsp. <i>intricata</i> ii.T. <i>Spicata</i> subsp. <i>spicata</i>

**Şekil 2.5:** Türkiye’de yetişen *Thymbra* L. türlerinin yayılış alanı (TÜBİVES).**Şekil 2.6:** *Thymbra spicata* L. türünün Türkiye dağılımı (TÜBİVES).

2.3.4. Günümüzde Kekik

Bakanlıkların yayımlamış olduğu “*Thymbra spicata* L.’nin Toprak Üstü Kısmının Gıdalarda Kullanımının Güvenilirliğinin Değerlendirilmesi Hakkında Bilimsel Görüş” başlıklı bilimsel görüş raporu incelediğinde aşağıdaki bilgiler elde edilmiştir

- Hem gıda hem de halk ilacı olarak kullanılmaktadır.
- Gıda olarak kullanılan kısmı ilkbahar döneminde toplanan kurutulmuş yaprakları ve çiçekleridir.
- Kurutulmuş kısımlarından su buharı distilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde edilir buna ‘kekik yağı’ denir, kalan kısmı ise ‘kekik suyu’ olarak tüketilmektedir.
- Geç hasatlardan kurutulmuş toprak üstü kısmında renkli çiçekler ve biraz tohum bulunabilmektedir.
- Kekiğin toprak üstü bölümü, karakteristik keskin kokuya sahip uçucu yağlar barındırır.
- Uçucu yağın yapısında en çok karvakrol, γ -terpinen ve p-simen bulunduğu, bunların yanında düşük oranda mirsen, α -terpinen, β -karyofillen, α -pinen, timol gibi bazı bileşikler bulunmaktadır.
- Kekiğe yapılan çeşitli HPLC analizleri sonucunda çeşitli flavonoidler (rutin, mirsetin, morin, kamferol, kateşin, resveratrol) bulundurduğu ortaya çıkmıştır.
- Ülkemizin özellikle Kilis, Hatay ve Gaziantep yöresinde kekik yetiştirilmektedir.
- Kekik bitkisi baharat, bitkisel çay ve salata malzemesi olarak kullanılmaktadır.
- Limon suyu ile hazırlanan salamura içinde ve zeytinyağına batırılarak saklanır, böylece kış aylarında da tüketilebilir.
- Leblebi, menengiç, buğday, karpuz ve kavun çekirdeği, yerfıstığı gibi kuruyemişler ile kimyon, kişniş, rezene, anason, susam, sumak ve koruk kurusu gibi baharatların karışımından oluşan ürün, ‘kahvaltılık zahter’ adıyla bilinir.
- Zahter, et ürünleri, alkollü içecekler, konserve, salça, soslar ve sucuk gibi birçok gıda üretiminde de tercih edilmektedir.

-Günümüzdeki soğuk algınlığı, astım, bronşit, öksürük, kolik ve ishal hastalıklarında tedavi amaçlı bitki çayı olarak kullanılmaktadır.

-Zahter bitki çayı Kilis ve Gaziantep yöresinden yaşayanlar tarafından kolesterol düşürücü ve hazmı kolaylaştırıcı olarak kullanılmaktadır.

-Bitkinin, Kahramanmaraş ve Adıyın civarında mide ağrılarında tedavi amaçlı; Afyon ve Şuhut civarında ise ağız Herpes enfeksiyonlarında gargara şeklinde kullanıldığı belirtilmektedir.

-Zahter bitkisinin toprak üstü kısmı ile ilgili birçok bilimsel çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların ortak sonucu bitki uçucu yağının ve farklı ekstralarının antioksidan, kolesterol düşürücü, antimikrobiyal ve karaciğer koruyucu gibi etkileri olduğuna ulaşılmıştır.

2.3.5. Antioksidan Etki

Antioksidanlar, az miktarda bulunmalarına rağmen, kolayca okside olabilen maddelerin oksidasyon sürecini büyük ölçüde yavaşlatan veya engelleyen bileşiklerdir. Toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde kullanılan yöntemleri, hidrojen atomu transfer reaksiyonlarını temel alan yöntemler ve elektron transferini temel alan yöntemler olmak üzere iki gruba ayrılabilir. Hidrojen atomu transfer reaksiyon yöntemlerinin birçoğu azo- bileşiklerin bozulması ile oluşan peroksil radikalleri için antioksidan ve substratın rekabetine dayanan yarışmacı reaksiyonları kullanır. Elektron transferine dayanan yöntemde ise antioksidanın oksidantı indirgeme yeteneğini renk değişimi ile belirlemektedir. Bitki ekstresinin antioksidan etkisinin incelendiği çalışmada, ekstrenin lipidlerin oksidasyonunu azalttığı ve doymamış yağ asitlerini radikal kaynaklı oksidasyondan koruduğu belirlenmiştir. Çoğunlukla bitki ekstraktlarının çok kompleks kimyasal yapıya sahip olmalarından ötürü antioksidan aktiviteleri belirlenirken tek bir metot kullanılmaması tavsiye edilmektedir. (Gül, 2023) (Yılmaz ve Akkaya, 2012)

2.3.6. Kolesterol Düşürücü ve Karaciğer Koruyucu Etki

Çeşitli kekik türleri üzerinde yapılan bir araştırmada, bitkiden elde edilen çayın, sıçanlara 80 mg/kg ve 160 mg/kg dozlarında uygulanmasıyla hiperkolesterole karşı potansiyel faydalar sağladığı ifade edilmiştir. Ayrıca, bitkinin toprak üstü kısmından dietil eter ve etil asetat kullanılarak hazırlanan ekstraktlar ile geriye kalan su bazlı ekstre, yüksek yağlı beslenme uygulanan farelerde test edilmiş ve bu ekstraktların farklı derecelerde anti-hiperkolesterolemik,

antioksidan ve karaciğer koruyucu özellikler gösterdiği saptanmıştır. (Akdogan ve diğ., 2014) (Akkol ve diğ., 2009)

2.3.7. Antimikrobiyal Etki

Etken maddesinin özelliğine bağlı olarak değişen etki derecesine sahip uçucu yağların farklı antimikrobiyal etkileri vardır. Kekik uçucu yağının yapısında timol ve karvakrolun antimikrobiyal etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bununla beraber kekik yağının yapısında bulunan fenolikler mikroorganizmaların hücre zarında bulunan fosfolipit tabakasını uyararak, hücre içi yaşamsak yapıların geçirgenliğini artırır ya da mikroorganizmaların enzim sistemlerini bozarlar. (Ertürk ve diğ., 2010)

2.3.8. Kekiğin Toprak Üstü Kısmının Yan Etkileri ile İlgili Bilgiler

Kekiğin kurutulmuş yapraklarını kullanarak hazırlanan bitki çayı sıçanlara 80 mg/kg ve 160 mg/kg dozlarında verildiğinde, yüksek doz verildiğinde aneminin yanı sıra hepatositlerde granüler bozulmaya sebep olduğu belirlenmiştir. (Akdogan ve diğ., 2014)

2.3.9. Bitkisel Materyalden Uçucu Yağ Elde Edilmesinde Kullanılan Yöntemler

Uçucu yağın miktarı, türü ve bitkinin hangi kısmından elde edildiğine bağlı olarak dört farklı yöntem uygulanmaktadır.

- a) Distilasyon Yöntemi,
- b) Mekanik Yöntem (Presleme),
- c) Ekstraksiyon,
- d) Tüketme Yöntemi.

Yukarıdaki yöntemler presleme dışında kullanılan bütün yöntemlerde ısı uygulanmaktadır. (Önel, 2015)

2.3.9.1. Distilasyon Yöntemi

Distilasyon işlemi su distilasyonu, buhar distilasyonu ve vakum distilasyonu olarak üçe ayrılmaktadır.

Su distilasyonu yöntemi geleneksel bir yöntem olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Küçük miktarda gerçekleşen üretimlerde bir aparatla distilasyon işlemi gerçekleştirilirken, büyük ölçekli üretimlerde imbik olarak adlandırılan kazanlar kullanılır. Yöntemin temel

prensibi; soğutucuya bağlı bir cam balon içinde, su ve bitki materyali 2 ila 8 saat arasında kaynatılır. Bu süreçte, su buharı ile birlikte hareket eden uçucu yağ molekülleri soğutucuda yoğunlaştırılır ve sudan ayrılır. Elde edilen uçucu yağ miktarı genellikle hacimsel olarak belirtilir. Su distilasyonu yöntemi, en yüksek verimi toz haline getirilmiş bitkilerden sağlar. Uçucu yağların içeriği pH değerine bağlı olarak değişiklik gösterebilse de, bu yöntemde pH genellikle kontrol edilmemektedir. Buhar distilasyonu yönteminde basınç yardımıyla taze bitkiye buhar uygulanır, basınçlı buhar yağ damlacıklarını da sürükleyerek toplama kabına girer ve yağ burada yoğunlaştırılarak sudan ayrıştırılmaktadır.

Vakum distilasyonu sırasında, sıcaklık artırmak yerine ortam basıncı azaltılır. Basınç, bileşiğin buhar basıncının altına düştüğünde, kaynama ve distilasyon süreci başlar. (Kılıç, 2008)

2.3.9.2. Mekanik Yöntem (Presleme)

Mekanik yöntemler ekonomik, basit, hızlı ve çevreye zarar vermeyen yöntemlerdir. Bu yöntemde soğutma sistemiyle birleştirilmiş vidalı ya da hidrofolik pres kullanılır. Uçucu yağ elde edilecek bitki yabancı maddelerden arındırıldıktan sonra en fazla 40°C sıcaklıkta preslenir. Sonrasında filtrasyon, sedimentasyon veya santrifüjleme işlemiyle saflaştırılır.



Şekil 2.7: Soğuk pres makinası. (Uslu, 2023)

Uçucu yağ kalitesini etkileyen faktörler arasında presin dönüş hızı, türü, ürünün çıkış şekli ve sıcaklığı yer almaktadır. Verimi artırmak amacıyla mikrodalga uygulaması, ön kavurma veya enzim ekleme gibi ilave işlemler de kullanılabilir. Bu teknikte elde edilen yağlar, esansiyel yağ asitleri, fenolik bileşikler, flavonoidler, fitosteroller, karotenoidler ve tokoferoller gibi zengin biyoaktif içeriklere sahiptir. Yüksek oranda lipofilik fitokimyasal (örneğin antioksidanlar) bulundurmaları nedeniyle, bu yağların hastalıkları önleme ve genel

sağlık üzerinde olumlu etkileri olduğu düşünülmekte ve tüketiciler tarafından ilgi görmektedir. Besin değerinin yüksek olması sebebiyle soğuk sıkım yağlara yönelik talep giderek artmaktadır. Bunun yanı sıra yüksek miktarda tekli ve çoklu doymamış yağ asidine sahip olduklarından oksidasyona karşı duyarlılıkları artmaktadır. Bu nedenle soğuk presle üretilen yağların rafine yağlara oranla raf ömürleri daha kısa olabilmektedir. Bu yöntemle pres yağı ile beraber biyoaktif bileşenlerce zengin bir yan ürün olan ‘pres keki’nin üretimi de gerçekleştirilmektedir. Pres kekinin içeriğinde yüksek oranda karbonhidrat, lif ve protein gibi temel besin öğeleri bulunmaktadır. (Uslu, 2023)



Şekil 2.8: Soğuk pres teknolojisi ile yağ ve pres keki eldesi (Uslu, 2023).

2.4. EKSTRAKSİYON

Ekstraksiyon yöntemleri klasik (geleneksel) ve gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri olarak ikiye ayrılmaktadır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri maserasyon, infüzyon, perkolasyon, anfloraj ve dekoksasyon şeklinde sıralanabilir. (Yaman ve Kuleaşan, 2016)

2.4.1. Geleneksel Yöntemler

Maserasyon işlemi, bir bitkinin seçilmiş kısımlarının ya da özütlerinin belirli bir süre boyunca, birkaç saatten birkaç gün oda sıcaklığında veya daha yüksek sıcaklıklarda, belirli bir çözücüyle temas halinde tutularak ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilmesidir.

Perkolasyon işleminde perkolatör olarak adlandırılan bir materyal kullanılır. Bu materyalin yapısı konik ya da silindirik şekildedir ve her iki ucunda da açılır kapanır bir kapak bulunur. Bu yöntem oldukça pahalı ve değerli ürün veren bir sisteme sahiptir. Perkolasyon işlemine zeytinden zeytinyağı eldesini örnek olarak verilebilir.



Şekil 2.9: Perkolasyon cihazı.

Anfloraj yönteminde bitkinin çiçek kısımları yağ üzerinde bekletilerek, yağda çözünen bileşenlerinin bekletildiği yağa geçme esasına dayanır. Çiçek parçacıklarının yağ sabit bir doygunluğa ulaşana kadar 24 saatte bir değiştirilmesi gerekmektedir.



Şekil 2.10: Anfloraj yöntemine örnek.

Dekoksasyon işlemi en çok bitkisel tıpta kullanılmaktadır. Bitkilerin sert yapılı kısımlarını (örneğin kökleri, kabukları, tohumları ve odunsu sapları) kullanarak etken maddeleri suya geçirmeye dayanan bir sistemdir. Etken maddelerin suya geçmesi için kaynatma işlemi gerçekleştirilir. Demleme işleminden farkı ise daha çok kaynama gerektirmesidir. Bu işlemde sırasıyla aşağıdaki adımlar takip edilir:

- Kullanılacak bitki küçük parçalara ayrılır
- Üzerine soğuk su eklenir
- Bitki materyali tencereye koyulup üzerine soğuk suyu eklenir
- Karışım ocağa alınır ve kapağı kapatılarak orta ateşte kaynamaya bırakılır
- Kaynadıktan sonra kısık ateşte 15-30 dakika kaynatmaya devam edilir (Çok sert bitkilerde sürede değişiklik olabilir)
- İşlem bittikten sonra karışım süzülür ve soğumaya bırakılır.

Bu şekilde elde edilen sıvı aynı gün içinde tüketilmelidir, tadı acı olabilir. Bazı bitkiler ısıya duyarlı olabileceğinden bu yöntem her bitki için uygun olmayabilir.



Şekil 2.11: Yüksek kapasiteli dekoksasyon tankı.

2.4.2. Gelişmiş Ekstraksiyon Yöntemleri

Gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri sayesinde daha az zaman harcayarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilebilmektedir. Aynı zamanda bu yöntem sayesinde daha az çözücü kullanılır ve çevre kirliliği önlenmektedir. Gelişmiş yöntemlerden sık kullanılanları basınçlı solvent

ekstraksiyonu (BSE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) ve ultrason destekli ekstraksiyondur (UAE).

2.4.2.1. Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu (BSE)

Basınçlı solvent ekstraksiyonunun henüz endüstriyel uygulaması bulunmamaktadır. Bu yöntem yüksek sıcaklık ve basınç altında gerçekleştirilir. Sıcaklık değeri genellikle 50-200 °C arasında, basınç ise 10-20 MPa aralığındadır. Bu koşullar sağlandığında çözücünün difüzyon hızı ve çözünürlük kapasitesi yükseltilecek ekstraksiyon süresi azalır ve daha az çözücü ile daha çok verim elde edilir. (Richter ve diğ., 1996) Çözücü olarak genellikle metanol, etanol, su ve hekzan kullanılır. Basınçlı solvent ekstraksiyonunun avantajlarını ve dezavantajlarını sıralayacak olursak aşağıdaki tabloyu elde ederiz.

Tablo 2.6: Basınçlı solvent ekstraksiyonun avantajları ve dezavantajları.

AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
Daha kısa sürede ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmesi	Cihaz maliyeti yüksek
Daha az çözücü kullanılması	Yüksek sıcaklık hassas bileşiklere zarar verebilir
Çevre dostu	Her sistem için uygun çözücü ve koşulların optimize edilmesi gerekir
Yüksek verim ve tekrarlanabilirlik	
Otomatik cihazlarla uygulanabilir	

Uygulama alanları ise aşağıdaki gibidir. (Carabias-Martínez ve diğ., 2005)

Çevre Analizleri: Toprak, su ve hava örneklerinden pestisitler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve klorlu hidrokarbonlar gibi kirleticilerin ekstraksiyonu.

Gıda: Gıda örneklerinden pestisit kalıntıları, toksinler ve diğer kirleticilerin analizi. Polifenol, flavonoid, aroma bileşenlerinin ekstraksiyonu.

Farmasötik ve Kozmetik Ürünler: Bitkisel bileşiklerin ve aktif bileşenlerin izolasyonu. Doğal özütlemlerin (yağlar, pigmentler) çıkarılması.



Şekil 2.12: Basıncı solvent ekstraksiyonu cihazı.

2.4.2.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyonu temel prensibi numuneyle temasta olan çözücüü ısıtmak için mikrodalga enerjisini kullanmaktır. Bu teknolojinin bir üst seviyesinde ise henüz gelişmekte olan mikrodalga destekli hidrodistilasyon (MDH) kombine sistemi bulunmaktadır. Bu sistem özellikle bitkisel hammaddelerden yüksek sıcaklıkla çözücü kullanımının zararlı etkisi olan bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon hücre duvarlarının parçalanmasına ve hedef bileşiklerin çözücüye geçişine olanak tanır. Mikrodalgalar manyetik alana ve birbirine dik elektrige sahiptir, aynı zamanda doğası gereği elektromanyetiktir. Mikrodalga enerjisi, iyonik iletim ve dipol dönmesi mekanizmalarının eş zamanlı etkisiyle moleküller üzerinde doğrudan bir etki oluşturur. Bu sayede, dielektrik sabitlerine bağlı olarak sadece belirli ve hedeflenen materyaller ısıtılabilir. Bu sistemde ısıtma hedeflenen şekilde ısı kaybı olmadan gerçekleşir. (Bhadange ve diğ., 2024) (Kalender, 2023) Mikrodalga destekli ekstraksiyonun avantaj ve dezavantajlarını aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 2.7: Mikrodalga destekli ekstraksiyon avantajları ve dezavantajları.

AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
Hızlı ve Verimli: MAE, geleneksel yöntemlere göre daha kısa sürede yüksek verimle ekstraksiyon sağlar. Örneğin, bazı çalışmalar MAE ile 12 dakikada %92,1 verim elde ederken, Sokslet yöntemiyle bu oran %60 civarındadır. (V. Lopez-Avila, 2000)	Yüzeysel Isınma Sorunu: Mikrodalgalar, örneğin yüzeyine daha yakın bölgelerde daha etkili ısınır; bu da büyük veya yoğun örneklerde homojen olmayan ısınmaya yol açabilir.
Çeşitli Uygulama Alanları: MAE, bitkisel örnekler, gıda ürünleri, çevresel analizler ve farmasötik ürünlerin üretiminde geniş bir uygulama yelpazesine sahiptir. (V. Lopez-Avila, 2000)	Ekipman Maliyeti: MAE cihazları, geleneksel ekstraksiyon sistemlerine göre daha pahalı olabilir ve bakım maliyetleri daha yüksek olabilir.

Tablo 2.8 (devam): Mikrodalga destekli ekstraksiyon avantajları ve dezavantajları.

Enerji Verimliliği: Mikrodalga enerjisi, hedef bileşenleri doğrudan ısıtarak enerji kaybını azaltır. (V. Lopez-Avila, 2000)	Termal Hassasiyet: Yanlış ayarlanmış mikrodalga gücü, örneğin aşırı ısınmasına ve istenmeyen bileşiklerin oluşmasına neden olabilir.
Termal Hassas Bileşiklerin Korunması: MAE, kontrollü ısıtma sayesinde termal olarak hassas bileşiklerin bozulmasını önler. (Bhadange ve diğ., 2024)	Özelleştirilmiş Ekipman Gereksinimi: MAE, özel kapalı sistemler ve uygun çözücü seçimleri gerektirir, bu da uygulama esnekliğini sınırlayabilir.
Düşük Çözücü Tüketimi: MAE, daha az çözücü ile yüksek verim elde edilmesini sağlar, bu da çevresel etkileri azaltır ve maliyetleri düşürür. (V. Lopez-Avila, 2000)	

Mikrodalga Destekli Ekstraksiyonun kullanım alanları; (Chan ve diğ., 2011) (Eskilsson ve Bjorklund, 2000)

Gıda Endüstrisi: Polifenoller, flavonoidler, uçucu yağlar, aroma bileşenleri

Farmasötik: Etken madde izolasyonu, bitkisel ilaç üretimi

Çevre Analizleri: Kirleticilerin (örneğin pestisitler, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar)) ekstraksiyonu

Biyoteknoloji: Mikroorganizmaların metabolitlerinin çıkarılması

Kozmetik: Doğal özütlerin, pigmentlerin ve aktif bileşiklerin ekstraksiyonu

Mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.



Şekil 2.13: Mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı.

2.4.2.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)

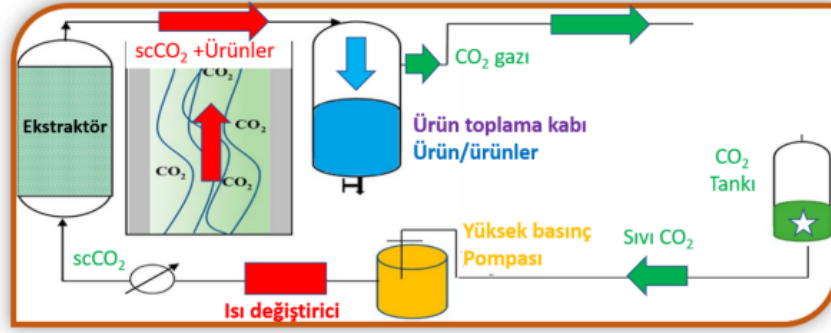
Süperkritik akışkan ekstraksiyonu doğadan aromatiklerin, farmasötiklerin ve biyoaktif bileşenlerin elde edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Sistemin uygulanmasında ısı olmadığından ötürü ısıya duyarlı bileşenlerin zarar görmeden ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesine olanak sağlar. Süperkritik akışkan, bir maddenin kritik sıcaklık ve kritik basınç üzerindeki haline denir. Madde bu haldeyken gaz gibi sıfır yüzey gerilimine, düşük yoğunluk ve viskoziteye sahiptir, aynı zamanda sıvı gibi çözme kapasitesine de sahiptir. Örnek olarak birkaç süperkritik akışkan ve özellikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 2.9: Süperkritik akışkanlara örnekler ve özellikleri.

AKIŞKAN ADI	KRİTİK SICAKLIK (°C)	KRİTİK BASINÇ (BAR)	ÖZELLİKLER
CO ₂	31,1	73,8	Ucuz, toksik değil, inert
Su	374	221	Yüksek polarite, yeşil çözücü
Etanol	243	63	Yardımcı çözücü

Bunların yanında süperkritik akışkanlara örnek olarak; etan (C₂H₆), etilen (C₂H₄), nitrozooksit (N₂O), propan (C₃H₈), propilen (C₃H₆), amonyak (NH₃) ve hekzan (C₆H₁₄) maddeleri sıralanabilir. Bu akışkanlar seçilirken dikkat edilmesi gereken parametreler vardır. Örneğin; ham maddenin akışkan içerisindeki çözünürlüğü, kimyasal stabilitesi, ekonomik olması ve kolay temin edilebilmesi gibi özelliklerin yanı sıra, akışkanın toksik, patlayıcı ya da yanıcı olmaması gibi güvenlik kriterleri de göz önünde bulundurulmalıdır.

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda öncelikle ekstrakte edilecek hammadde ekstraktöre konur, ardından süperkritik CO₂ pompa yardımıyla ekstraktöre gönderilir. CO₂, çözümler bileşikler çözer, çözücü ve çözünen karışımı madde ayrıştırıcıya alınır. Basınç düşürülerek CO₂ gaz haline gelir ve ayrışır. Böylelikle saf ürün elde edilmiş olur. (Selvitopu, 2023)



Şekil 2.14: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu akış şeması.

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu birçok avantajlar ve dezavantajlara sahiptir. Bu yöntemin avantajları; kullanılan akışkanların sıcaklık ve basınç değerlerini değiştirerek çözme kabiliyetinin artırılabilmesi, organik çözücü kullanma ihtiyacını azalttığından çevreye uyumlu bir tekniktir. Süperkritik akışkanlar sıvılardan daha iyi katılara nüfus ettikleri için işlemin süresinin kısılmasını sağlar, ekstraksiyon sonrası basınç düşürülmesi ile çözücü kolaylıkla uzaklaştırılır böylece ürün çözücü atığı içermez ve çözücünün uzaklaştırılması için ekstra maliyet gerekmez, bu yöntem sayesinde düşük sıcaklıklarda ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilebildiği için ısıya duyarlı bileşiklerin ayırmasında kullanılabilir, ekstraksiyon işlemi için gerekli olan örnek miktarı klasik yöntemlere göre çok daha azdır, bu yöntemde kullanılan karbondioksit gibi çözücüler inert olduğundan ekstraksiyon işlemlerinde oksidasyon, hidroliz veya bozunma tepkimeleri gözlenmemektedir şeklinde sıralayabiliriz. Tüm bu avantajların aksine süperkritik akışkan ekstraksiyonun dezavantajları mevcuttur. Örnek olarak; bu yöntemin verimi ve etkinliği kullanılacak çözücü seçimi, uygulama alanına ve ekstrakte edilecek maddeye göre değişiklik göstermesi verilebilir. Aynı zamanda yüksek basınç altında çalışılması gerektiği için tehlikeler mevcuttur ve bu tehlikeler için güvenlik sistemi kurularak uygun izolasyon ekipmanlarının kullanımı zorunlu hale gelmektedir. Son olarak ise yüksek yatırım maliyeti ve enerji gereksinimi dezavantajı olarak söylenebilir. (Ergüt, 2025)

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu için numune morfolojisi, numune hacmi, süperkritik akışkan seçimi, basınç, sıcaklık, akış hızı ve ekstraksiyon süresi parametreleri önemlidir. Bu ekstraksiyon yönteminin uygulama alanı aşağıdaki tabloda gruplandırılmıştır.

Tablo 2.10: Süperkritik akışkan ekstraksiyonun kullanım alanları.

SFE UYGULAMALARI	SCF KROMATOĞRAFİSİ UYGULAMALARI
<ul style="list-style-type: none"> • Kahve ve çaydan kafeinin giderilmesi • Tohumlardan vitamin ve yağ bileşenlerinin çıkarılması • Aroma veren maddeler, hoş kokular ve parfümlerin elde edilmesi • Baharatlardan aktif bileşenlerin çıkarılması • Hayvansal ve bitkisel yağlardan istenmeyen kokuların arındırılması • Meyve suyu ürünlerinin stabilizasyon süreçleri • Yün liflerinden lanolin üretimi • Doğal kaynaklardan pigmentlerin çıkarılması • İşlenmiş gıdalardaki yağ oranının azaltılması • Kolesterolün giderilmesi • Bitkilerden antioksidan bileşiklerin elde edilmesi • Tütün ürünlerinden nikotinin çıkarılması • İlaç bitkilerinden aktif farmasötik bileşenlerin ekstraksiyonu • Şerbetçi otunda acılık veren maddelerin uzaklaştırılması 	<ul style="list-style-type: none"> ○ Doğal kaynaklardan elde edilen bileşikler ○ İlaçlar ○ Gıdalar ○ Pestisitler ○ Yüzey aktif maddeler ○ Polimerler ○ Polimer katkı maddeleri ○ Fosil yakıtlar ○ Patlayıcılar ○ Roket yakıtları
	NANO/MİKRO TANECİK TASARIMI
	<ul style="list-style-type: none"> ▪ RESS (Süperkritik Akışkanların Hızlı Genleşmesi) ▪ GAS (Gaz Antisolventleri) ▪ ASES (Aerosol Çözücü Ekstraksiyon Sistemi) ▪ SAS (Süperkritik Antisolventler) ▪ Ters misel uygulamaları
KİMYASAL/BİYOKİMYASAL TEPKİMELELER	ÇEVRESEL UYGULAMALARI
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Homojen ve heterojen katalizörler kullanılarak yapılan reaksiyonlar <ul style="list-style-type: none"> -İzomerizasyon işlemleri -Hidrojen ilavesi (Hidrojenasyon) -Enzim destekli katalitik reaksiyonlar -Fischer-Tropsch sentez yöntemleri -Tropsch sentez ❖ Polimerlerin üretimi ❖ Kiral moleküllerin hazırlanması 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Adsorbanların rejenerasyonu ➤ Atık suların organik kirliliklerinin giderilmesi (Süperkritik H₂O oksidasyonu)

2.4.2.4. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UAE)

Ultrasonik destekli ekstraksiyonun temel prensibinde ultra ses yoluyla kaviteasyon oluşturarak kütle transferini arttırmak bulunmaktadır. Ultrason sıvılarda homojenizasyon emülsiyon işlemlerinde kullanılır, katılarda ise ekstraksiyon için kullanılır. Ultrasonik destekli ekstraksiyonu gerçekleştirmenin iki yöntemi bulunmaktadır. Bunlardan biri ultrasonik banyo diğeri ise ultrasonik prob (uç) bulunan sistemdir. Ultrasonik banyo farklı boyutlarda paslanmaz çelik tanktan oluşur. Ekstraksiyon haricide farklı işlemlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Ultrasonik destekli ekstraksiyon sisteminin probu olanında ise cam bir beher ve ultrason dalgasını gönderen prob ucu bulunmaktadır. Her iki sistemin cihazı Tablo 2.10'da verilmiştir. (Hajiyev, 2023)

Tablo 2.11: Ultrasonik destekli ekstraksiyon cihazları.

	
Prob Uçlu Cihaz	Ultrasonik Banyo

Ultrasonik destekli ekstraksiyonu etkileyen parametreler; ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, ultrasonik güç/genlik ve katı/çözücü konsantrasyonu sıralanabilir. Sıcaklık artışıyla ekstrakte edilecek maddenin çözünürlüğü ve difüzyon katsayısı artar, çözücü viskozitesi azalır böylelikle ekstrakte edilecek maddenin çözücüye geçişi daha kolay olur ve verim artar. Diğeri bir parametre olan çözücü/katı oranı arttıkça ekstraksiyon verimi artmaktadır. Bu parametreyi değerlendirmek için sabit miktarda katı ile farklı çözücü miktarları kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş, böylelikle çözücü miktarı arttıkça ekstraksiyon işlemi daha kısa sürede gerçekleşmektedir. Başka bir parametre olan prob gücü ekstraksiyonu olumlu yönde etkilemektedir. Güç arttıkça prob daha fazla kaviteasyon oluşmasını sağlar, böylelikle bitki hücre duvarının yıkımı kolaylaşır. Bitki hücre duvarının yıkımı kolaylaşınca çözücü ile katının teması daha çabuk olur ve ekstraksiyon verimi artar. (Daştan, 2022)

Ultrasonik destekli ekstraksiyonun birçok avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Bunlardan bazıları aşağıdaki tabloda verilmiştir. (Chemat ve diğ., 2017)

Tablo 2.12: Ultrasonik destekli ekstraksiyonun avantaj ve dezavantajları.

AVANTAJLARI		DEZAVANTAJLARI	
1. Yüksek Verim	Kavitasyon etkisi, hücre yapılarının parçalanmasını sağlayarak bileşiklerin daha etkin ekstraksiyonunu mümkün kılar.	1. Lokal Sıcaklık Artışı ve Bileşik Bozunması Riski	Yoğun ultrason uygulaması, bazı bileşiklerin yapısını bozabilir.
2. Daha Kısa Süre	Geleneksel yöntemlere kıyasla ekstraksiyon süresi önemli ölçüde kısalır.	2. Ölçeklendirme Zorlukları	Endüstriyel ölçekte homojen enerji dağılımı sağlamak zor olabilir.
3. Düşük Enerji ve Sıcaklık Gereksinimi	Isıya duyarlı bileşiklerin bozulmadan ekstrakte edilmesine olanak tanır.	3. Ultrason Ekipman Maliyeti	Başlangıç ekipman yatırımı görece yüksektir.
4. Az Çözücü Kullanımı	Çevre dostu ve ekonomik bir ekstraksiyon sağlar.	4. Metal Yüzey Aşınması	Uzun süreli kullanımda sondaların aşınması gözlemlenebilir.
5. Basit Ekipman ve Kolay Ölçeklenebilirlik	Geleneksel cihazlarla kolayca entegre edilebilir.	5. Proses Optimizasyon Gereksinimi	Her bitki veya madde için frekans, süre, çözücü oranı gibi parametrelerin optimize edilmesi gerekir.
6. Çevreci Yöntem	Organik çözücü ihtiyacının azalması, çevresel etkileri düşürür.		

Ultrasonik destekli ekstraksiyonu birçok uygulama alanları şunlardır:

Gıda Endüstrisi: Bitkilerden aroma bileşenleri, uçucu yağlar, doğal renk maddeleri (antosiyenin, karotenoid), fenolik bileşikler gibi değerli içeriklerin çıkarılmasında ve doğal gıda koruyucuları ve antioksidanların elde edilmesinde kullanılır. (Chemat ve diğ., 2017)

İlaç ve Fitoterapi Sektörü: Tıbbi bitkilerden alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid gibi farmakolojik etkili bileşenlerin hızlı ve verimli ekstraksiyonunda, aynı zamanda bitkisel ilaçların etken maddelerinin elde edilmesinde kullanılır. (Vinatoru, 2001)

Kozmetik Endüstrisi: Bitkilerden elde edilen antioksidanlar, antiinflamatuvar ajanlar, doğal pigmentler gibi aktiflerin ekstraksiyonunda kullanılır ve bitki özlü doğal kozmetik ürünlerin geliştirilmesinde önemli rol oynar. (Hadian ve diğ., 2014)

Çevre ve Atık Yönetimi: Toprak, su ve biyokütle gibi çevresel örneklerden kirleticilerin (ağır metaller, pestisitler vb.) ekstraksiyonunda kullanılır ve biyokütle atıklarından değerli kimyasalların geri kazanımında kullanılmaktadır.

Biyoyakıt ve Biyokimyasallar: Mikroalg ve tarımsal atıklardan lipid ve şeker gibi biyoyakıt öncüsü bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılır. (Hsu ve diğ., 2010)

Analitik Kimya ve Numune Hazırlama: Laboratuvar ortamında biyolojik veya çevresel örneklerden hızlı örnek hazırlama işlemlerinde kullanılır ve spektroskopi, kromatografi gibi analiz öncesi örnek hazırlığında tercih edilir.

2.5. TOPLAM ANTIOKSİDAN KAPASİTE

Toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesinde çeşitli teknikler kullanılmaktadır. Bu yöntemler, hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT) ve tek elektron transferine dayalı reaksiyonlar (SET) olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır. HAT mekanizmasına dayalı yaygın analiz teknikleri arasında oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi (ORAC), toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametresi (TRAP) ve karotenoid (krosin) ağartma testleri bulunur. SET mekanizmasına dayanan başlıca yöntemler ise Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), Trolox eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC), demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal temizleme kapasitesi ve Cu (II) iyonlarının oksidan olarak kullanıldığı toplam antioksidan potansiyel testi (CUPRAC) şeklindedir. CUPRAC (Cupric Reducing Antioxidant Capacity; Cu (II) İyonu İndirgen Antioksidan Kapasite) Kapasitesi

CUPRAC yöntemi Bakır (II) indirgeme kapasitesine dayanmaktadır. Bu yöntemde redüksiyon-oksidasyon reaktifi olan kromojenik özellikli bis(neokuproin)-CuCl₂ bileşiği kullanılmaktadır. Bu bileşik sayesinde hem hidrofilik hem de lipofilik olmak üzere toplam

antioksidan miktarı belirlenebilmektedir. Toplam antioksidan kapasitesi belirlenmek istenen numuneden alınıp hazırlanan reaktif çözeltisine eklenir. Bu ekleme sonucunda oluşan renkli çözelti UV cihazında absorbands değeri okutulur, böylece örneklerdeki antioksidan miktarı belirlenmiş olur.

CUPRAC basamakları;

- 1) Çözelti Hazırlama: Cu, Nc ve Ac çözeltileri hazırlanır. Öncelikle 0,1705 g Cu tartılır üzerine 100 mL su eklenerek balon jodede balık yardımıyla karıştırılır. 0,1562 g Nc tartılır üzerine 100 mL su eklenerek balon jodede balık yardımıyla karıştırılır. 7,708 g Ac tartılır üzerine 100 mL su eklenerek balon jodede balık yardımıyla karıştırılır.
- 2) Trolox Hazırlama: 0,025 g Trolox tartılır 10 mL su içerisinde ultrasonik banyoda çözülür. Çözünen üründen 0,5 mL alınır 9,5 mL çözücü eklenir, böylelikle 5×10^{-4} M Trolox ile çözücü karışımı elde edilir.
- 3) Kalibrasyon: Farklı miktarlarda Trolox (TR) çözeltisi kullanılarak 7 adet numune hazırlanır. Numunenin içerikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 2.13: CUPRAC için hazırlanan Trolox çözeltileri.

1)	1 mL Cu	1 mL Ac	1 mL Nc	1,1 mL Su	-
2)	1 mL Cu	1 mL Ac	1 mL Nc	1,05 mL Su	0,05 mL TR
3)	1 mL Cu	1 mL Ac	1 mL Nc	1,0 mL Su	0,1 mL TR
4)	1 mL Cu	1 mL Ac	1 mL Nc	0,9 mL Su	0,2 mL TR
5)	1 mL Cu	1 mL Ac	1 mL Nc	0,8 mL Su	0,3 mL TR
6)	1 mL Cu	1 mL Ac	1 mL Nc	0,7 mL Su	0,4 mL TR
7)	1 mL Cu	1 mL Ac	1 mL Nc	0,6 mL Su	0,5 mL TR

Cu, Ac, Nc, Su ve TR sırayla konulur, ardından hemen çalkalanır ve 30 dakika beklenir.

- 4) UV Cihazında Absorbans Değeri Okutma: 30 dakika dolunca UV cihazının arkasında bulunan yere 1. Numune (kör-blank) konur, ön tarafa sırasıyla numuneler koyularak okutma yapılır. Elde edilen değerler ile kalibrasyon eğrisi çizilir.

Yukarıdaki basamaklar çözücü seçiminde uygulanmaktadır. Çözücü belirlendikten sonra ekstraktlara CUPRAC uygulanır. Burada konulan örnek miktarına bağlı olarak su miktarı belirlenir, toplam miktar 4,1 mL olmalıdır. (Diri, 2024)

CUPRAC yönteminde kullanılan formül aşağıdaki verilmiştir.

$$TAC \left(mmol \frac{TR}{g} - DS \right) = \frac{A_s}{\epsilon T_\epsilon} \times \frac{V_m}{V_s} \times D_f \times \frac{V_\epsilon}{m} \quad (2.1)$$

A_s : Okunan Absorbans Değeri

ϵ : TR Kalibrasyon Eğrisinin Eğimi

V_s : Örnek Hacmi

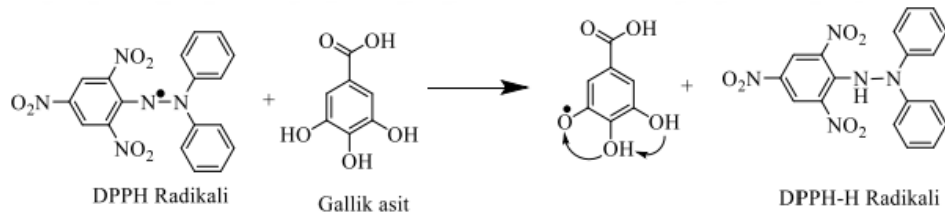
V_m : Toplam Hacim

D_f : Difüzyon Faktörü

m : Kuru Örnek Ağırlığı

2.5.1. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) Radikal Giderme Yöntemi

Antioksidan aktivite belirlenmesinde kullanılan en eski yöntem DPPH yöntemidir. İlk olarak 1950 yıllarında hidrojen vericileri incelemek için kullanılmıştır. Sonrasında gıdaların ve fenoliklerin antioksidan kapasitesini tespit etmede kullanılmaktadır. Bu yöntemde temel olarak 2,2-difenil-1-pikrikhidrazil serbest radikaline karşı antioksidanların radikal giderme özelliğinin ölçümü bulunmaktadır. DPPH yöntemi en çok bitki ekstraktlarının antioksidan kapasitesini ölçmede kullanılmaktadır. (Yıldız, 2022)



Şekil 2.15: DPPH radikali ve bir antioksidan ile reaksiyonu.

DPPH yöntemi basamakları;

- 1) Öncelikle DPPH çözeltisi hazırlanır Bunun için 0,00796 g DPPH tartılır ve üzerine 100 mL metanol eklenip, çözündürülür.

- 2) Trolox çözeltisi hazırlanır. Önce 0,025 g Trolox tartılır, 10 mL çözücüye eklenir. Ardından bu çözeltiden 0,1 mL alınır ve 9,9 mL çözücü eklenir. Böylelikle 10^{-4} M Trolox çözeltisi elde edilmiş olur.
- 3) Kalibrasyon: Farklı miktarlarda Trolox (TR) çözeltisi kullanılarak 6 adet numune hazırlanır. Numunenin içerikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 2.14: DPPH analizi için hazırlanan çözeltiler.

1)	-	2 mL MeOH	2 mL DPPH
2)	0,2 mL TR	1,8 mL MeOH	2 mL DPPH
3)	0,4 mL TR	1,6 mL MeOH	2 mL DPPH
4)	0,6 mL TR	1,4 mL MeOH	2 mL DPPH
5)	0,8 mL TR	1,2 mL MeOH	2 mL DPPH
6)	1,0 mL TR	1,0 mL MeOH	2 mL DPPH

Hazırlanan çözeltiler çalkalanır, 30 dakika karanlıkta bekletilir.

- 4) UV Cihazında Absorbans Değeri Okutma: 30 dakika dolunca UV cihazının arkasında bulunan yere metanol, ön tarafa sırasıyla numuneler koyularak okutma yapılır. Elde edilen değerler ile kalibrasyon eğrisi çizilir.

Yukarıdaki basamaklar kalibrasyon için uygulanmaktadır. Kalibrasyon işleminden sonra ekstraktlara DPPH uygulanır. Burada konulan örnek miktarına bağlı olarak metanol miktarı belirlenir, toplam miktar 4 mL olmalıdır.

DPPH yönteminde kullanılan formül aşağıdaki verilmiştir.

$$RSA \left(\text{mmol TR/g} - DS \right) = \frac{D_A}{\epsilon T_\epsilon} \times \frac{V_s}{V_m} \times D_f \times \frac{V_\epsilon}{m} \quad (2.2)$$

D_A : 1 numaranın absorbansı – ekstrakt absorbansı

$$D_A = D_{DPPH} - (A_\epsilon - A_c) \quad (2.3)$$

ϵ : Kalibrasyon eğrisinin eğimi

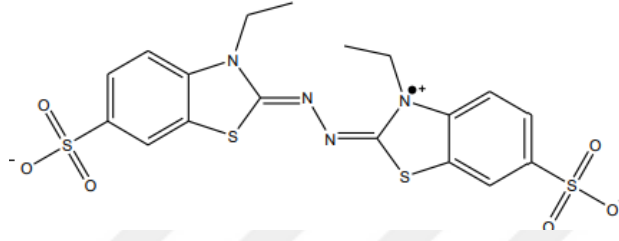
V_m : Metodun toplam hacmi (4 mL)

V_s : DES hacmi

Ve: Ekstrakt hacmi

2.5.2. ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) Yöntemi

ABTS yöntemi ilk olarak 1993 yılında Miller ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir. Bu yöntem, ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) molekülünün potasyum persülfat kullanılarak okside edilmesiyle ABTS•+ radikal kationunun meydana gelmesine dayanır. (Aktaş, 2012)



Şekil 2.16: 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS•+) radikalinin formülü.

ABTS yönteminin basamakları:

- 1) Çözelti hazırlama: 0,096 g ABTS tartılır, 0,0166 g potasyum persülfat tartılır. İkisi beraber 25 mL suya eklenir, çalkalanır. Hazırlanan çözelti alüminyum folyo ile kapatılır, 12-16 saat karanlıkta bekletilir.
- 2) Çözelti 1:10 oranında seyreltmek için 10 mL ABTS alınır 90 mL su eklenir.
- 3) Kalibrasyon: Farklı miktarlarda Trolox (TR) çözeltisi kullanılarak 7 adet numune hazırlanır. Numunenin içerikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 2.15: ABTS analizi için hazırlanan çözeltiler.

1)	1 mL ABTS	4 mL EtOH	-
2)	1 mL ABTS	3,95 mL EtOH	0,05 mL TR
3)	1 mL ABTS	3,90 mL EtOH	0,1 mL TR
4)	1 mL ABTS	3,80 mL EtOH	0,2 mL TR
5)	1 mL ABTS	3,70 mL EtOH	0,3 mL TR
6)	1 mL ABTS	3,60 mL EtOH	0,4 mL TR
7)	1 mL ABTS	3,50 mL EtOH	0,5 mL TR

Hazırlanan çözeltiler çalkalanır 6 dakika karanlıkta bekletilir.

- 4) UV Cihazında Absorbans Değeri Okutma: Altı dakika dolunca UV cihazının arkasında bulunan yere etanol, ön tarafa sırasıyla numuneler koyularak okutma yapılır. Elde edilen değerler ile kalibrasyon eğrisi çizilir.

Yukarıdaki basamaklar kalibrasyon için uygulanmaktadır. Kalibrasyon işleminden sonra ekstraktlara ABTS uygulanır. Burada konulan örnek miktarına bağlı olarak etanol miktarı belirlenir, toplam miktar 5 mL olmalıdır.

ABTS yönteminde kullanılan formül aşağıdaki verilmiştir.

$$RSA \left(mmol TR/g - DS \right) = \frac{D_A}{\epsilon T_\epsilon} \times \frac{V_s}{V_m} \times D_f \times \frac{V_\epsilon}{m} \quad (2.4)$$

D_A : 1 numaranın absorbansı – ekstrakt absorbansı

$$D_A = D_{DPPH} - (A_\epsilon - A_c) \quad (2.5)$$

ϵ : Kalibrasyon eğrisinin eğimi

V_m : Metodun toplam hacmi (5 mL)

V_s : DES hacmi

V_ϵ : Ekstrakt hacmi

2.5.3. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayini işleminde Folin Ciocalteu'nun fenol reaksiyonu baz alınmaktadır. Burada standart fenolik bileşik olarak gallik asit kullanılmaktadır. Öncelikle kalibrasyon için çalışmalar yapılır, ardından ekstraktlara gerekli adımlar uygulanır. Sonrasında UV cihazında okutma yapılır.

Toplam fenolik madde tayini basamakları;

- 1) Öncelikle derin ötektik çözücüyü 20 kat seyreltilir.
- 2) Ana stok gallik asit çözeltisi hazırlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 10 farklı oranda seyreltilerek yeni çözeltiler elde edilir.

- 3) Tüplere toplam hacim 10 mL olacak seyreltilmiş derin ötektik çözücü, su, folin reaktifi ve 1:3 oranında seyreltilmiş sodyum karbonat çözeltisi konulur. Vorteks işlemi işe karışması sağlanır.
- 4) Vorteks işleminden sonra hazırlanan diğer 10 farklı çözelti ile UV cihazında okutma yapılır.

Yukarıdaki basamaklar kalibrasyon için uygulanmaktadır. Kalibrasyon işleminden sonra ekstraktlara bu işlemler uygulanır. Burada seyreltilmiş derin ötektik çözücü yerine derin ötektik çözücü kullanılarak elde edilmiş ekstraktlar konur, toplam hacim 10 mL olacaktır. (Zoral ve Turgay, 2014)

Toplam fenolik içerik formülü;

$$TPC \left(mmol \text{ Gallik asit} / g - \text{kuru örnek} \right) = \frac{A}{E} \times \frac{V_{Toplam}}{V_{Örnek}} \times D_f \times M_w \quad (2.6)$$

A: Okunan absorbans değeri

E: Kalibrasyon eğrisinin eğimi

V_{toplam} : Metodun toplam hacmi (10 mL)

$V_{örnek}$: Ölçüm için alınan örnek miktarı (0,25 mL)

D_f : Seyreltme faktörü

M_w : Gallik asit molekül ağırlığı (170,12 g/mol)

2.5.4. Toplam Flavonoid Madde Tayini

Flavonoidler, fenolik yapıya sahip, antioksidan özellik gösteren ikincil metabolitlerdir. Flavonoidler, flavon, flavonol, flavanon, izoflavon gibi alt gruplara ayrılır. Referans olarak kuersetin veya rutin bileşikleri baz alınır. (Algan, 2024)

Toplam flavonoid madde tayini basamakları;

- 1) Alüminyum klorür heksahidrat ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$) bileşiğinden 10 g tartılır, 100 mL suda çözülür, 5 g sodyum nitrit ($NaNO_2$) tartılır 100 mL suda çözülür, 4 g sodyum hidroksit ($NaOH$) 100 mL suda çözülür.

- 2) Ana stok kuersetin çözeltisi hazırlanır. Hazırlanan bu çözeltiden 10 farklı oranda seyreltilerek yeni çözeltiler elde edilir.
- 3) Tüplere toplam hacim 6 mL olacak seyreltilmiş derin ötektik çözücü, %5'lik NaNO₂, %10'luk AlCl₃.6H₂O, su ve 1 M NaOH eklenir.
- 4) Derin ötektik çözücü ve NaNO₂ eklendikten sonra vorteks yapılır 5 dakika oda sıcaklığında beklenir. Ardından AlCl₃.6H₂O eklenir vorteks yapılır 6 dakika oda sıcaklığında beklenir. Sonrasında su ve NaOH eklenir vorteks yapılır, 20 dakika oda sıcaklığında beklenir, tekrar vorteks yapılır.
- 5) Dördüncü adımdaki işlemler bittikten sonra UV cihazında okutma yapılır.

Yukarıdaki basamaklar kalibrasyon için uygulanmaktadır. Kalibrasyon işleminden sonra ekstraktlara bu işlemler uygulanır. Burada seyreltilmiş derin ötektik çözücü yerine derin ötektik çözücü kullanılarak elde edilmiş ekstraktlar kullanılır, toplam hacim 6 mL olacaktır.

Toplam flavonoid içerik formülü;

$$TFC \left(\frac{\text{mmol Quercetin}}{\text{g} - \text{kuru örnek}} \right) = \frac{A}{E} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{örnek}}} \times D_f \times M_w \quad (2.7)$$

A: Okunan absorbans değeri

E: Kalibrasyon eğrisinin eğimi

V_{toplam}: Metodun toplam hacmi (6 mL)

V_{örnek}: Ölçüm için alınan örnek miktarı (mL)

D_f: Seyreltme faktörü

M_w: Kuersetin molekül ağırlığı (302,23 g/mol)

2.6. YÜKSEK PERFORMANSLI SIVI KROMATOĞRAFİ (HPLC)

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi, bir karışımda bulunan tüm bileşenlerin ayrılması, tanımlanması ve miktarının kantitatif olarak belirlenmesi için kullanılan bir analiz yöntemidir. Bu yöntem sayesinde yüksek hassasiyet ve doğrulukla analiz yapılabilmektedir. Sistemin bileşenleri; çözücü dağıtım sistemi, HPLC sütunu, örnek enjektörü, detektör, veri analiz yayılımı, mobil aşama ve durağan fazdan oluşmaktadır. Çözücü dağıtım sistemi mobil

fazı HPLC kolonuna taşır. HPLC sütunu numune bileşenleriyle etkileşime giren, onları sabit ve hareketli fazlara olan afinitelerine göre ayıran sabit bir faz malzemesi içerir. Örnek enjektörü numuneyi mobil faz akışına geçişini sağlar. Dedektör numunenin bileşenlerini ve miktarlarını ayırt etmeyi sağlar. Veri analiz yazılımı detektör çıkış sinyallerini işlemeyi sağlar. Mobil faz numune bileşenlerini ayırmada çözücü olarak kullanılır. Durağan faz, HPLC kolonuna yetiştirilen maddedir, durağan faza örnek olarak; ters faz, normal faz, iyon değişimi ve boyut dışlama malzemeleri sıralanabilir. (Boligon ve Athayde, 2014)

2.7. FTIR

FTIR tekniği temeli Fourier matematiksel dönüşümünü kullanıp ışığın kızılötesi yoğunluğunu dalga sayısına göre ölçmeye dayanan kimyasal analiz tekniğidir. Elektromanyetik spektrumun kızılötesi bölümü 1400 cm^{-1} ile 10 cm^{-1} arasında bulunur ve yakın kızılötesi (NIR; $1400\text{-}400\text{ cm}^{-1}$), orta kızılötesi (MIR; $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) ve uzak kızılötesi (FIR; $400\text{-}4\text{ cm}^{-1}$) olmak üzere üç bölgeye ayrılır. Kızılötesi ışınım, kimyasal bağların sıkışma, bükülme ve gerilme gibi çeşitli titreşim hareketlerini absorbe ederek emilir. Bu titreşimlerdeki değişimler, spektral piklerin oluşmasına neden olur. (Öztürk, 2024)

3. YÖNTEM

3.1. BİTKİ MATERYALİ

Zahter veya kekik olarak bilinen bitkinin kullanılan birçok farklı ismi vardır. Bunlar; kara kekik, sateri zater, karabaş kekik şeklindedir. Bunlarla beraber İngilizcede Zaatar olarak isimlendirilmektedir. Latince ismi ise *Thymbra spicata* L. şeklindedir. Zahter 45-50 cm kadar uzayabilen, çalı görünümlü çok yıllık otsu bir bitkidir. Türkiye genelinde yapılan araştırmalara göre, kekik üretiminde en fazla paya sahip iller Denizli, Hatay, Aydın, Manisa, Antalya ve Uşak olarak öne çıkmaktadır. Ülkemiz, yıllık yaklaşık 20 bin ton üretim ile dünya kekik talebinin yaklaşık %70'ini karşılamaktadır. 2019 yılı verilerine göre Türkiye, 108 farklı ülkeye serbest bölgeler aracılığıyla önemli miktarlarda kekik ihracatı gerçekleştirmiştir. Bu ihracatta Almanya, Hollanda ve ABD başlıca alıcı ülkeler arasında yer almaktadır. Kekik, dünya çapında aroma ve tat verici olarak yaygın kullanım bulan ve yaklaşık 60 farklı bitki türünü kapsayan bir isimdir. Kekiğin bazı cinsleri doğadan toplama şeklinde elde edilirken bazıları tarımı yapılmak suretiyle elde edilmektedir.

T. spicata bitkisi genellikle ilkbaharın erken dönemlerinde, genç sürgünlerin toplanmasıyla hasada başlanır. Bu süreç, çiçeklenmeden tohum oluşumuna kadar devam eder. Geç yapılan hasat sonrası kurutulmuş toprak üstü kısımlarda ise morumsu tonlarda çiçekler ve bir miktar tohum yer alabilmektedir.

Zahter bitkisi, gıda amacıyla genellikle *T. spicata*'nın kurutulmuş yaprakları ve çiçekleri şeklinde tüketilmektedir. İlkbahar döneminde taze sürgünler toplanarak çeşitli ürünler elde edilir. Su buharı distilasyonu yöntemiyle kurutulmuş bitkinin toprak üstü kısımlarından uçucu yağ olan 'kekik yağı' ile altındaki su kısmı 'kekik suyu' olarak ayrıştırılır. Ayrıca, bu bitkinin kurutulmuş yaprak ve çiçek karışımı (%1-5 oranında) halk arasında doğal tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Çiçekli dallar veya birkaç yaprak, sıcak suya konup sarımtırak bir renk alana kadar demlenerek, süzildikten sonra çay olarak içilmektedir.

3.2. KİMYASALLAR VE REAKTİFLER

Etanol (>%99,5), metanol (>%99,8), potasyum persülfat ($K_2S_2O_8$), sodyum nitrit ($NaNO_2$), alüminyum klorür heksahidrat ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$), Potasyum bromür (KBr) Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil),

ABTS (2,2'-Azinobis-(3-Etilbenzotiazolin-6-Sülfonik Asit)), 6-hidroksi 2,5,7,8-tetrametilkroman-2- karboksilik asit (Troloks, TR), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (Neocuproin), Gallik Asit (3, 4, 5-trihidroksibenzoik asit) ($C_6H_2(OH)_3COOH$), bakır(II) klorür dihidrat ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$), amonyum asetat (CH_3COONH_4), laktik asit ($C_3H_6O_3$), kolin klörür ($(CH_3)_3N(Cl)CH_2CH_2OH$), üre ($CO(NH_2)_2$), glikoz ($C_6H_{12}O_6$), dietilen glikol ($C_4H_{10}O_3$), etilen glikol ($C_2H_6O_2$), sodyum hidroksit (NaOH), kuersetin ($C_{15}H_{10}O_7$), naringin Sigma Aldrich (Steinheim, Almanya) firmasından temin edilmiştir.

3.3. DENEY DÜZENEGİNDE KULLANILAN EKİPMANLAR VE CİHAZLAR

1. Ultrases Destekli Ekstraksiyon Cihazı (Vibra Cell, Model VCX 750, CT, USA, 20 kHz ve 125 Watt)
2. Elektromag Mantolu Ceketli Balon Isıtıcı
3. UV-Vis Spektrofotometresi (UV-Vis Lambda 35)
4. Hassas terazi (Mettler Toledo, MS204S)
5. Enerji Ölçer Priz Wattmetre
6. pH metre (Mettler Toledo, S47 SevenMulti™ dual meter pH)
7. Yoğunluk ölçer (Anton Paar, DMA 4500)
8. Dijital refraktometre ünitesi (Anton Paar, RXA 170)

3.4. DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜ HAZIRLAMA

DES'ler Tablo 3.1'de verilen molar oranlara göre iki veya daha fazla bileşenin ısıtıcılı manyetik karıştırıcı yardımıyla manyet karıştırıcı (balık) kullanılarak cam erlen içerisinde basitçe karıştırılmasıyla elde edildi. Öncelikle bileşenler analitik bir terazide (Mettler Toledo) tartıldı, istenilen molar oranlarda karıştırıldı. Karışım, şeffaf ve homojen bir sıvı olana kadar yaklaşık 60 dakika 60 °C'de ısıtılıp karıştırıldı. Hazırlanan DES'ler oda sıcaklığında saklandı. 10 adet hazırlanan farklı türde DES'lerden kalibrasyonu en iyi çıkan 4 adet DES baz alınarak ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirildi.

Tablo 3.1: Hazırlanan DES'ler.

Bileşen 1	Bileşen 2	Bileşen 3	Bileşen 1: Bileşen 2: Bileşen 3 (Molar Oran)
Kolin Klorür	Üre	Su	1:2:4
Laktik Asit	Glikoz	Su	6:1:6

Tablo 3.2 (devam): Hazırlanan DES'ler.

Kolin Klorür	Dietilen glikol	-	1:2
Kolin Klorür	Etilen glikol	Su	1:2:1

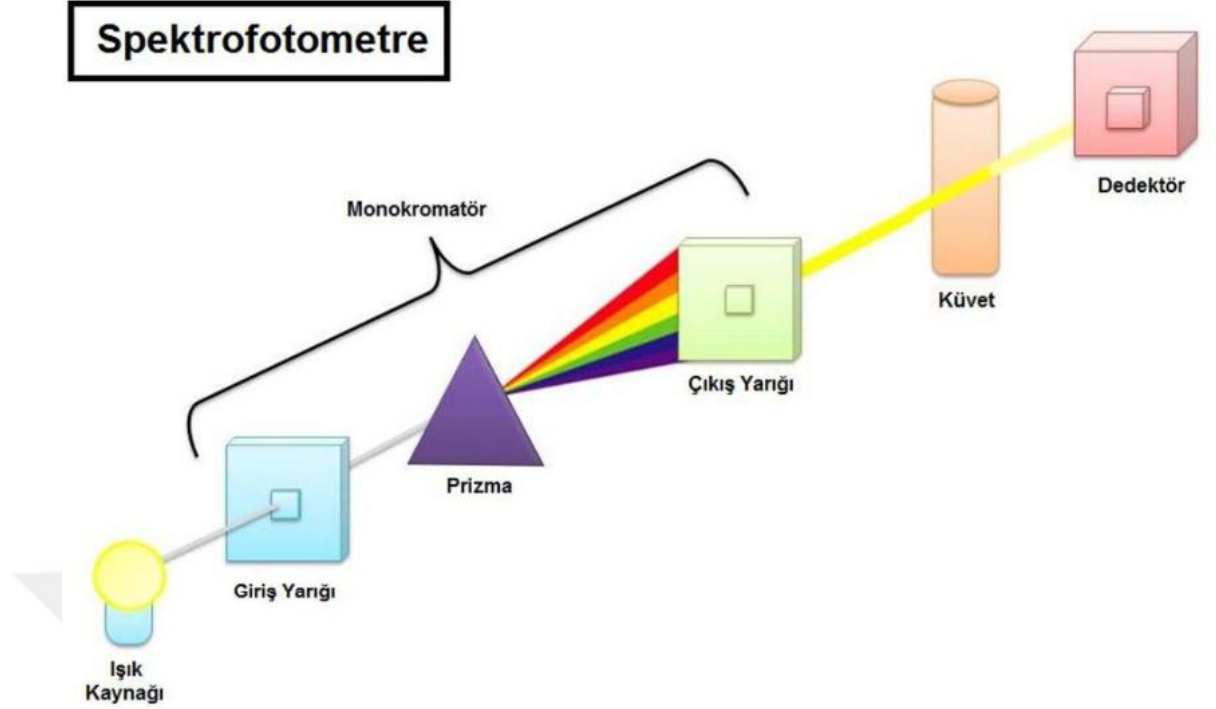
3.5. ULTRASONİK DESTEKLİ EKSTRAKSİYON

Ultrasonik destekli ekstraksiyon yönteminde, Ultrasonik homojenizasyon işlemi için Vibra Cell marka, VCX 750 modeli (CT, ABD) ve 20 kHz frekans ile 125 Watt güç kapasitesine sahip cihaz kullanıldı. Ultrasonik destekli ekstraksiyon sırasında sıcaklığın sabit tutulabilmesi amacıyla 300 mL kapasiteli ceketli ekstraktör tercih edildi. İstenen sıcaklık değerlerine ulaşmak için, ceketli ekstraktör 13 L/dak pompa kapasiteli sirkülasyonlu soğutmalı su banyosuna (JSR Model) bağlandı. Su banyosuna, monoetilen glikol ve su karışımı (2:1 hacim oranında) eklenerek sıcaklık kontrolü sağlandı. Ön çalışmalar neticesinde ultrasonik darbe döngüsü %50 (5 saniye açık, 5 saniye kapalı) olarak ayarlandı ve probun ekstraktörün tam ortasına yerleştirilmesine karar verildi. Böylece, ultrasonik probun dalma derinliği ve darbe süresi sabit tutuldu. Tartımı yapılmış örnekler ekstraktöre konulduktan sonra, hazırlanan 90 mL farklı derin ötektik çözeltiler ekstraktöre eklendi. Ultrases 500 Watt gücünde çalıştırıldı. Zahter yaprakları daha öncesinde belirlenmiş olan 4 adet derin ötektik çözücü ve etanol (%70), farklı sıvı:katı oranı (100-200 mL/g), ekstraksiyon zamanı (15-45 dk), ultrases gücü (300-700 Watt) ve farklı darbe aralığında (%50-%90) ekstraksiyon işlemi uygulandı.

3.6. ANALİZDE KULLANILAN CİHAZLAR VE YÖNTEMLER

3.6.1. UV-Vis Spektrofotometre

Bir çözelti içindeki bileşenlerin miktarını sayısal olarak belirlemeye yarayan cihazlardan biri spektrofotometredir. Bu cihazın çalışma prensibine göre, konsantrasyonu bilinmeyen çözeltilere belirli dalga boyunda ışık tutulur ve çözelti tarafından ne kadar ışığın emildiği ölçülür. Analiz edilen madde miktarı fazla ise, ışığın büyük bir kısmı karışım tarafından emilir. Spektrofotometre yardımıyla, karışımdan geçen ve absorbe edilmeyen ışığın şiddeti ölçülerek, içindeki hedef bileşen niteliksel olarak belirlenir. Spektrofotometre temel olarak iki ana bileşenden oluşur: biri spektrometre, diğeri ise fotometredir.



Şekil 3.1: Spektrofotometre.

Analiz yapılacak numune kuvarz materyalinden oluşan ve küvet olarak adlandırılan, spektrometre ve fotometre arasındaki tüp içerisine yerleştirilir. Gönderilecek ışının dalga boyu içerisine konulan maddeye göre değişkenlik gösterir, çünkü her madde, ışını farklı dalga boylarında absorplayabilme özelliğine sahiptir. Farklı dalga boyu denenerek madde en çok hangi dalga boyunda ışını absorpladıysa o dalga boyu ile devam edilir. Cihazdan gönderilen ışın küvetin içinden geçerek fotometreye ulaşır. Absorplanma miktarı spektrofotometreden gönderilen ışın ile fotometreye ulaşan ışın arasındaki fark değeridir. Absorplanmanın birimi absorbanstır ve Lambert-Beer yasasından hesaplanır.

$$A = \log_{10} \frac{I_0}{I_1} \quad (3.1)$$

Denklemden A absorbanstır; I_0 spektrometreden gönderilen ışının yoğunluğu, I_1 ise küvetten geçtikten sonraki ışının yoğunluğunu tespit eder.

3.6.2. UV-Vis Spektrofotometre ile Yapılan Analizler

Toplam antioksidan kapasite tayini yapılmasında birçok yöntem bulunmaktadır. Hidrojen transferine dayanan reaksiyonlar (HAT) ve tek elektron transferine dayanan reaksiyonlar (SET) olmak üzere iki gruba ayrılır. Hidrojen atomu transferi (HAT) esasına

dayanan yaygın analiz yöntemleri arasında oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi (ORAC), toplam radikal yakalayıcı antioksidan parametre (TRAP) ve karotenoid (krosin) ağartma teknikleri bulunur. Tek elektron transferi (SET) mekanizmasını temel alan önemli testler ise Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), Trolox eşdeğer antioksidan kapasite (TEAC), demir (III) iyonu indirgeme gücü (FRAP), 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal temizleme kapasitesi ve bakır (II) iyonlarının oksidan olarak kullanıldığı toplam antioksidan potansiyel (CUPRAC) yöntemleridir.

3.6.2.1. CUPRAC Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

CUPRAC yöntemi, toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesinde kullanılan bir tekniktir. Bu yöntemde tüplere sırasıyla 1 mL bakır (II) çözeltisi, 1 mL neokuproin çözeltisi ve 1 mL amonyum asetat çözeltisi eklenir. Ardından 0,03 mL örnek ilave edilir ve toplam hacim 4,1 mL olacak şekilde 1,07 mL su eklenir. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra, ağzı kapalı şekilde oda sıcaklığında 30 dakika boyunca bekletilir. Bekleme süresi sonunda hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri, kontrol numunesine kıyasla 450 nm dalga boyunda ölçülür. CUPRAC formülünde ilgili değerler yerine yazılır ve toplam antioksidan kapasite (mg/g-örnek) bulunur.

$$TAC \left(mmol \frac{TR}{g} - DS \right) = \frac{A_s}{\varepsilon T_\varepsilon} \times \frac{V_m}{V_s} \times D_f \times \frac{V_\varepsilon}{m} \quad (3.2)$$

3.6.2.2. DPPH Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

Öncelikle bir miktar DPPH metanolde çözünür. Tüplerin içerisine 2 mL DPPH çözeltisi eklenir üzerine 0,03 mL örnek ilave edilir ve toplam miktar 4 mL olacak şekilde 1,97 mL metanol eklenir. Sonra tüpler çalkalanır ve oda sıcaklığında karanlık bir ortamda ağzı kapalı bir şekilde 30 dakika bekletilir. Süre dolunca hazırlanan numuneler, metanole karşı 515 nm dalga boyunda absorbans değeri okunur. DPPH formülünde ilgili değerler yerine yazılır ve toplam antioksidan kapasite (mg/g-örnek) bulunur.

$$RSA \left(mmol \frac{TR}{g} - DS \right) = \frac{D_A}{\varepsilon T_\varepsilon} \times \frac{V_s}{V_m} \times D_f \times \frac{V_\varepsilon}{m} \quad (3.3)$$

3.6.2.3. ABTS Metodu ile Antioksidan Aktivite Tayini

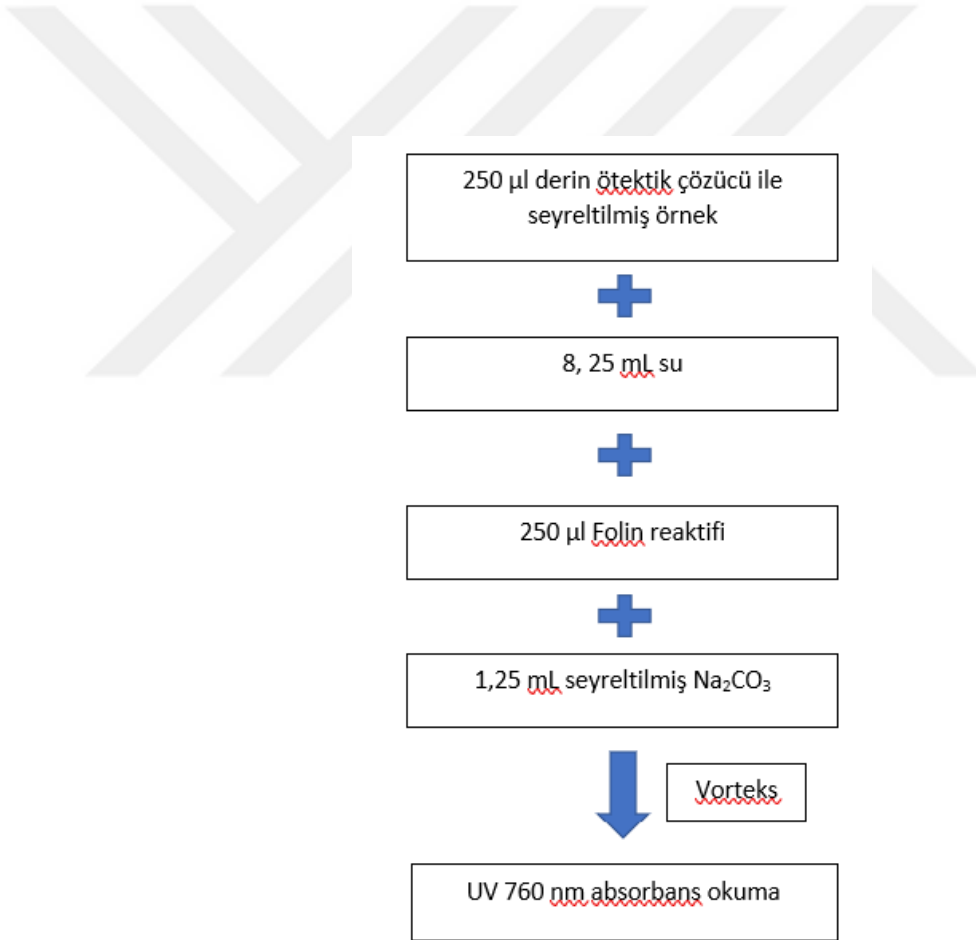
Öncelikle bir miktar ABTS ile potasyum persülfat tartılır ve 25 mL suda çözülür, hazırlanan çözelti alüminyum folyo ile kapatılır 12-16 saat karanlıkta bekletilir. 12-16 saat sonra çözelti seyreltilir. Tüplerin içerisine 1 mL seyreltilmiş ABTS çözeltisi eklenir üzerine 0,03 mL örnek ilave edilir ve toplam miktar 5 mL olacak şekilde 3,97 mL etanol eklenir. Sonra tüpler çalkalanır ve oda sıcaklığında ağzı kapalı bir şekilde 6 dakika bekletilir. Süre dolunca

hazırlanan numuneler, etanole karşı 734 nm dalga boyunda absorbans değeri okunur. ABTS formülünde ilgili değerler yerine yazılır ve toplam antioksidan kapasite (mg/g-örnek) bulunur.

$$RSA \left(mmol TR/g - DS \right) = \frac{D_A}{\epsilon T_\epsilon} \times \frac{V_s}{V_m} \times D_f \times \frac{V_\epsilon}{m} \quad (3.4)$$

3.6.2.4. Toplam Fenolik Madde Tayini

Öncelikle derin ötektik çözücü ile hazırlanan örnekler seyreltilir, ana stok gallik asit çözeltisi hazırlanır, farklı oranlarda seyreltilir. Kalibrasyon için farklı oranlarda hazırlanan gallik asit çözeltisi kullanılır, kör örneği olarak etanol ile seyreltilmiş derin ötektik çözücü kullanılır. Sonrasında ekstraktlara bu yöntemi uygularken etanol ile seyreltilmiş ekstrakt kullanılır. Ekstraktlara bu metodu uygularken sırasıyla aşağıdaki adımlar uygulanır.



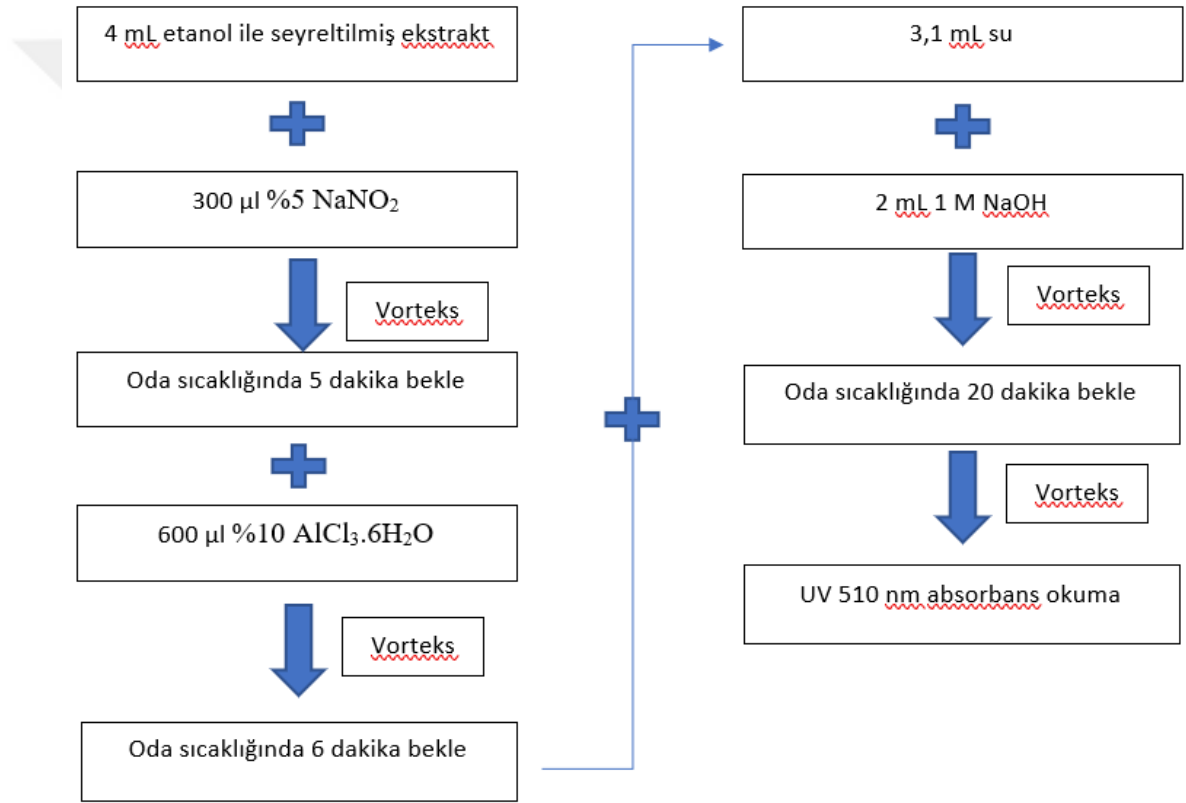
Şekil 3.2: Toplam fenolik madde tayini akış şeması.

İlgili formülde değerler yerine yazılır ve toplam fenolik madde miktarı (mg gallik asit/g-kuru örnek) bulunur.

$$TPC \left(\text{mmol Gallik asit} / \text{g} - \text{kuru örnek} \right) = \frac{A}{E} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{Örnek}}} \times D_f \times M_w \quad (3.5)$$

3.6.2.5. Toplam Flavonoid Madde Tayini

Öncelikle alüminyum klorür heksahidrat, nitrit ve sodyum hidroksit çözeltisi hazırlanır. Ardından ana stok kuersetin çözeltisi hazırlanır, farklı oranlarda seyreltilir. Kalibrasyon için farklı oranlarda hazırlanan kuersetin çözeltileri kullanılır, burada kör örneği için etanol ile seyreltilmiş derin ötektik çözücü kullanılır. Bu yöntemi ekstraktlara uygularken etanol ile seyreltilmiş ekstrakt kullanılır. Ekstraktlara bu metodu uygularken sırasıyla aşağıdaki adımlar uygulanır.



Şekil 3.3: Toplam flavonoid madde tayini akış şeması.

İlgili formülde değerler yerine yazılır ve toplam flavonoid madde miktarı (mg kuersetin/g-kuru örnek) bulunur.

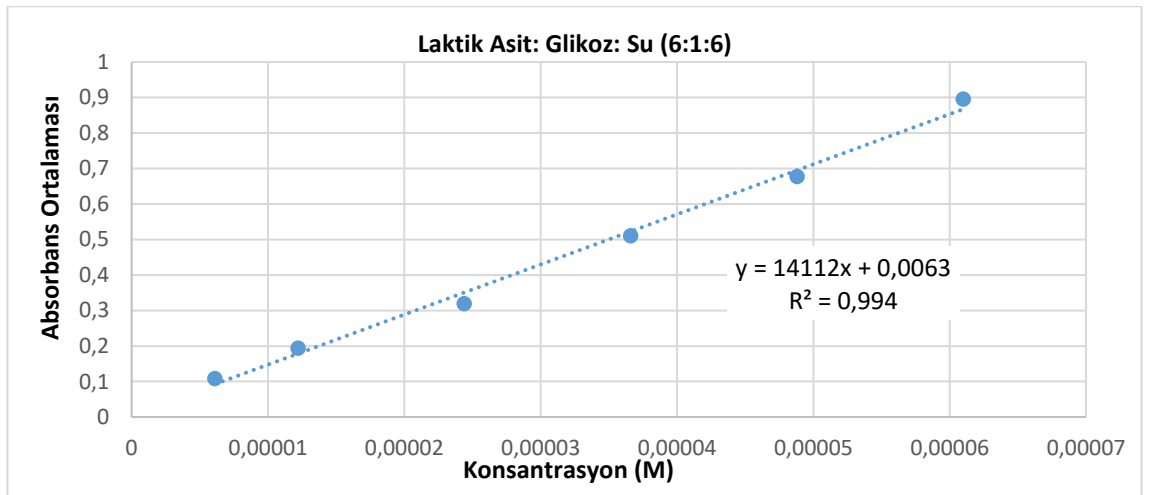
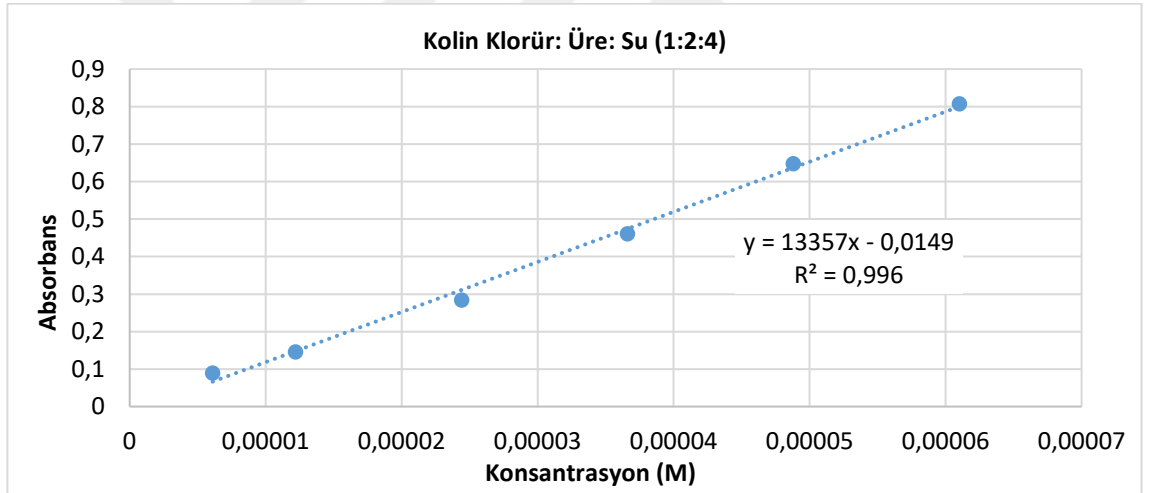
$$TFC \left(\text{mmol Quercetin} / \text{g} - \text{kuru örnek} \right) = \frac{A}{E} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{Örnek}}} \times D_f \times M_w \quad (3.6)$$

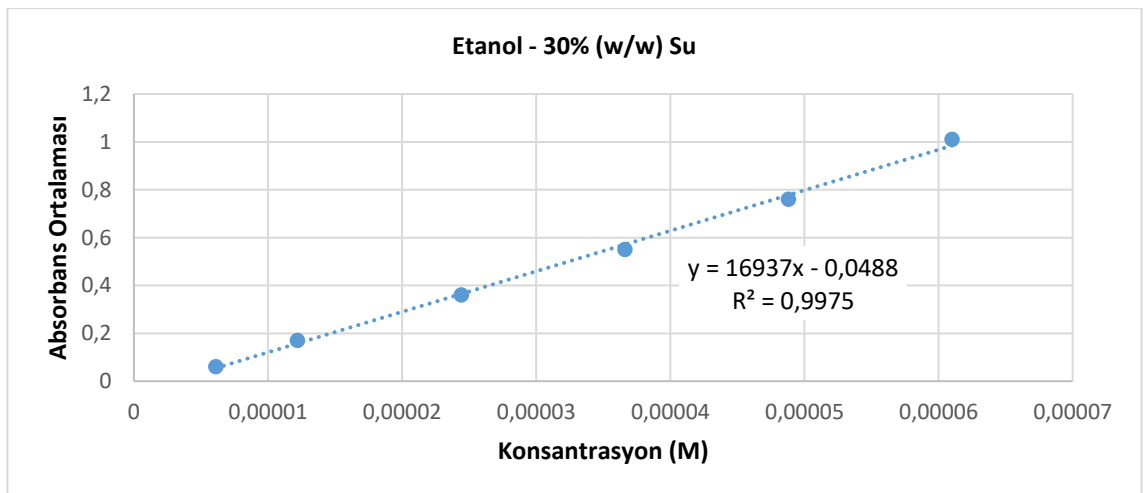
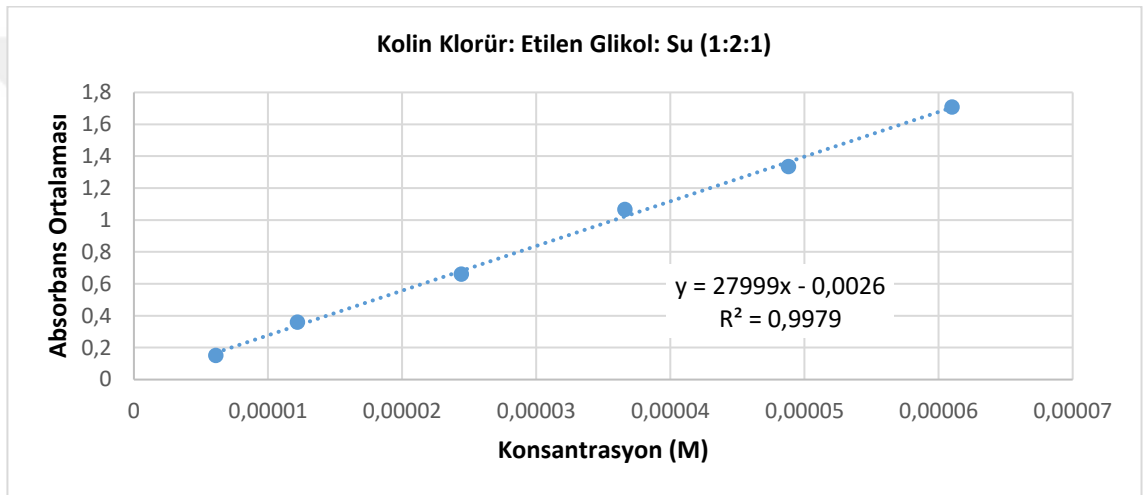
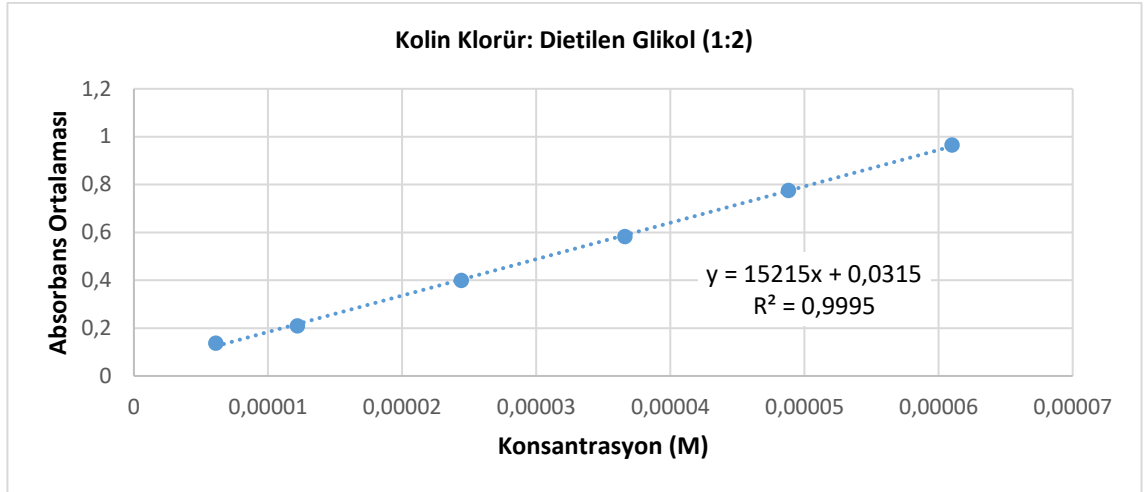
4. BULGULAR

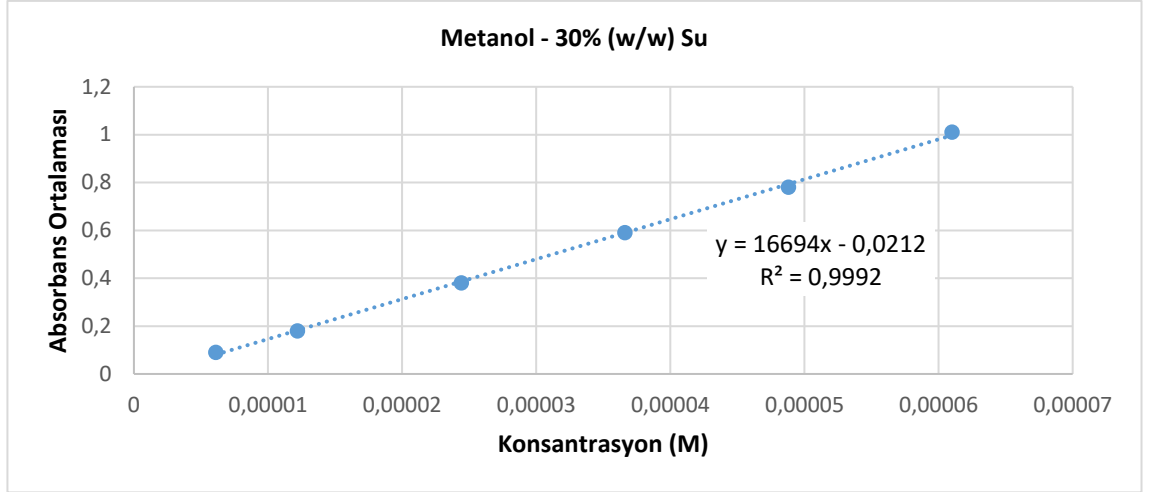
4.1. DES SEÇİMİ

Tez çalışmasının önemli bir parçası yeni nesil yeşil çözücüler kategorisinde bulunan Derin Ötektik Çözücüler (DES), gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde çözücü olarak kullanılmıştır. DES'lerin ekstraksiyon kabiliyetini değerlendirmek için referans çözücüler olarak saf etanol, metanol ve su kullanılmıştır.

Ekstraktların toplam antioksidan kapasitesi, troloksun kalibrasyon eğrisinden elde edilen eğim değerine dayanan bir troloks (TR) eşdeğeri (mmol TR/g-bitki kütlesi) olarak ifade edilmektedir. İlgili ekstraktların toplam antioksidan kapasitelerini hesaplamak için DES için TR kalibrasyon eğrileri oluşturulmuştur. Farklı DES lerde hesaplanan TR kalibrasyon eğrilerine ait grafikler, doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları Şekil 4.1'de verilmiştir.







Şekil 4.1: Çözücülerin CUPRAC yöntemi Troloks kalibrasyonları.

Etanol, metanol ve DES kullanılarak Zahter bitkisine aynı koşullarda ekstraksiyon işlemi uygulandı. Ardından CUPRAC metodu ile analiz yapılarak toplam antioksidan kapasite (TAC) değerleri hesaplandı. En yüksek TAC değerine sahip olan DES ile analizlere devam edildi. Seçilen DES'lere ait TAC değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1: DES'lere ait TAC değerleri.

Derin Ötektik Çözücü	Kolin klorür: Üre: su (1:2:4)	Laktik asit: glikoz: su (6:1:6)	Kolin klorür: dietilen glikol (1:2)	Kolin klorür: etilen glikol: su (1:2:1)
Toplam Antioksidan Kapasite (TAC) (mmol/ g-örnek)	0,357	0,060	0,332	0,215

4.2. DES'LERİN ÖZELLİKLERİ

Dört farklı DES'in fiziksel özelliklerini tespit etmek için ölçümler yapılmıştır. DES'lerin g/cm³ cinsinden yoğunlukları, viskoziteleri, kırılma indeksi ve pH değerleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2: DES'lerin özellikleri.

Derin Ötektik Çözücü	Kolin klorür: Üre: su (1:2:4)	Laktik asit: glikoz: su (6:1:6)	Kolin klorür: dietilen glikol (1:2)	Kolin klorür: etilen glikol: su (1:2:1)
Yoğunluk (g/cm³)	1,08401	1,09407	1,10093	1,10226
Viskozite (Pa.s); cp	12,7	134	76,7	18,6
Kırılma İndeksi (n_D)	1,42437	1,4282	1,43282	1,42544
pH	4,422	4,264	3,257	3,419

4.3. TOPLAM ANTIOKSİDAN KAPASİTESİ OPTİMİZASYONU

Optimizasyon kolin klorür:üre:su çözücüsü ile yapılmıştır. Bu işlem için merkezi kompozit tasarımı (Design Expert) kullanılmıştır. Deney tasarımında dört bağımsız değişken kullanılmıştır. Bunlar güç (Watt), süre (dakika), çözücü:bitki oranı ve darbe aralığıdır. Bağımsız değişkenler için belirlenen değerler birbirinden farklıdır. Güç için 300-500-700 Watt, süre için 15-30-45 dakika, çözücü:bitki oranı için 100-150-200 ve darbe aralığı için %50-70-90 olarak belirlenmiştir. Bu değerler optimizasyon uygulamasına girildiğinde Tablo 4.3'deki deney düzeneğini oluşturulmuştur.

Tablo 4.3: Box-Behnken dizayn matrisi ve TAC değerleri.

Deney No	Güç (Watt)	Süre (dakika)	Çözücü:bitki oranı	Darbe aralığı (%)
1	500	30	100	70
2	500	30	150	90
3	500	30	150	70
4	300	45	100	90
5	500	30	150	70
6	700	15	200	50
7	300	15	100	90
8	700	45	200	50
9	700	30	150	70
10	700	15	100	50
11	700	45	200	90
12	300	45	100	50
13	700	45	100	90
14	300	30	150	70
15	500	30	200	70
16	500	30	150	70
17	300	15	100	50
18	500	30	150	70
19	500	30	150	70
20	500	30	150	50
21	500	15	150	70
22	700	45	100	50
23	700	15	100	90
24	300	45	200	90
25	500	30	150	70
26	500	45	150	70
27	700	15	200	90
28	300	15	200	50
29	300	15	200	90
30	300	45	200	50

TAC değerleri, Design Expert programı ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda ikinci dereceden (kuadratik) bir model elde edilmiştir. TAC ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi modelleyen türetilmiş ikinci dereceden polinom denklemi, denklem 4.1 de verilmektedir.

$$\begin{aligned}
 TAC = & + 1184,83 + 36,49 A + 322,11 B - 283,55 C \\
 & + 193,42 D + 31,05 AB - 0,0012 AC - 19,85 AD \\
 & - 87,71 BC + 95,39 BD - 60,50 CD + 40,81 A^2 \\
 & - 157,03 B^2 + 68,34 C^2 - 335,65 D^2
 \end{aligned} \tag{4.1}$$

Denklem 4.1'de verilen A; gç (Watt), B; süre (dakika), C; sıvı:katı oranı ve D; darbe oranını ifade etmektedir. Bu model denkleme ait ANOVA test sonuçları Tablo 4.4'de verilmiştir.

Tablo 4.4: Kuadratik model denkleminin ANOVA test sonuçları.

Kaynak	Kareler Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değer	
Model	5,41E+09	14	3,87E+08	13.28	< 0.0001	anlamlı
A-Gç	23972.47	1	23972.47	0.8231	0.3786	
B-Süre	1,87E+09	1	1,87E+09	64.13	< 0.0001	
C-Sıvı/Katı	1,45E+09	1	1,45E+09	49.69	< 0.0001	
D-Darbe oranı	6,73E+08	1	6,73E+08	46.014	0.0002	
AB	15425.64	1	15425.64	0.5297	0.4780	
AC	0.0000	1	0.0000	8,58E-07	10.000	
AD	6302.77	1	6302.77	0.2164	0.6485	
BC	1,23E+08	1	1,23E+08	45.017	0.0576	
BD	1,46E+08	1	1,46E+08	5.00	0.0410	
CD	58566.42	1	58566.42	45.659	0.1766	
A ²	4314.32	1	4314.32	0.1481	0.7057	
B ²	63886.44	1	63886.44	43.497	0.1593	
C ²	12099.26	1	12099.26	0.4155	0.5289	
D ²	2,92E+08	1	2,92E+08	45.698	0.0064	
Kalıntı	4,37E+08	15	29123.08			
Uyumsuzluk	4,37E+08	10	43684.63			
Saf Hata	0.0000	5	0.0000			
Toplam Korelasyon	5,85E+09	29				

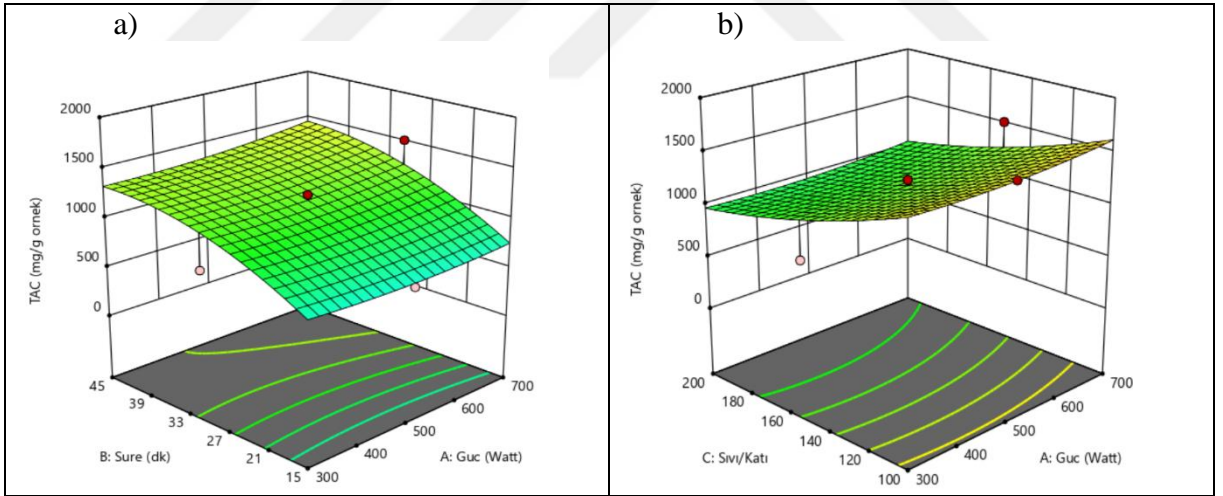
Bu çalışmada varyans analizinin uygulanmasının sebebi, elde edilen matematiksel modelin doğruluğunu, güvenilirliğini ve faktörlerin etkisini değerlendirmektir. Modelin F değerinin 13,28 ve p değerinin 0,05 değerinden küçük olması modelin anlamlı olduğunu belirtmektedir.

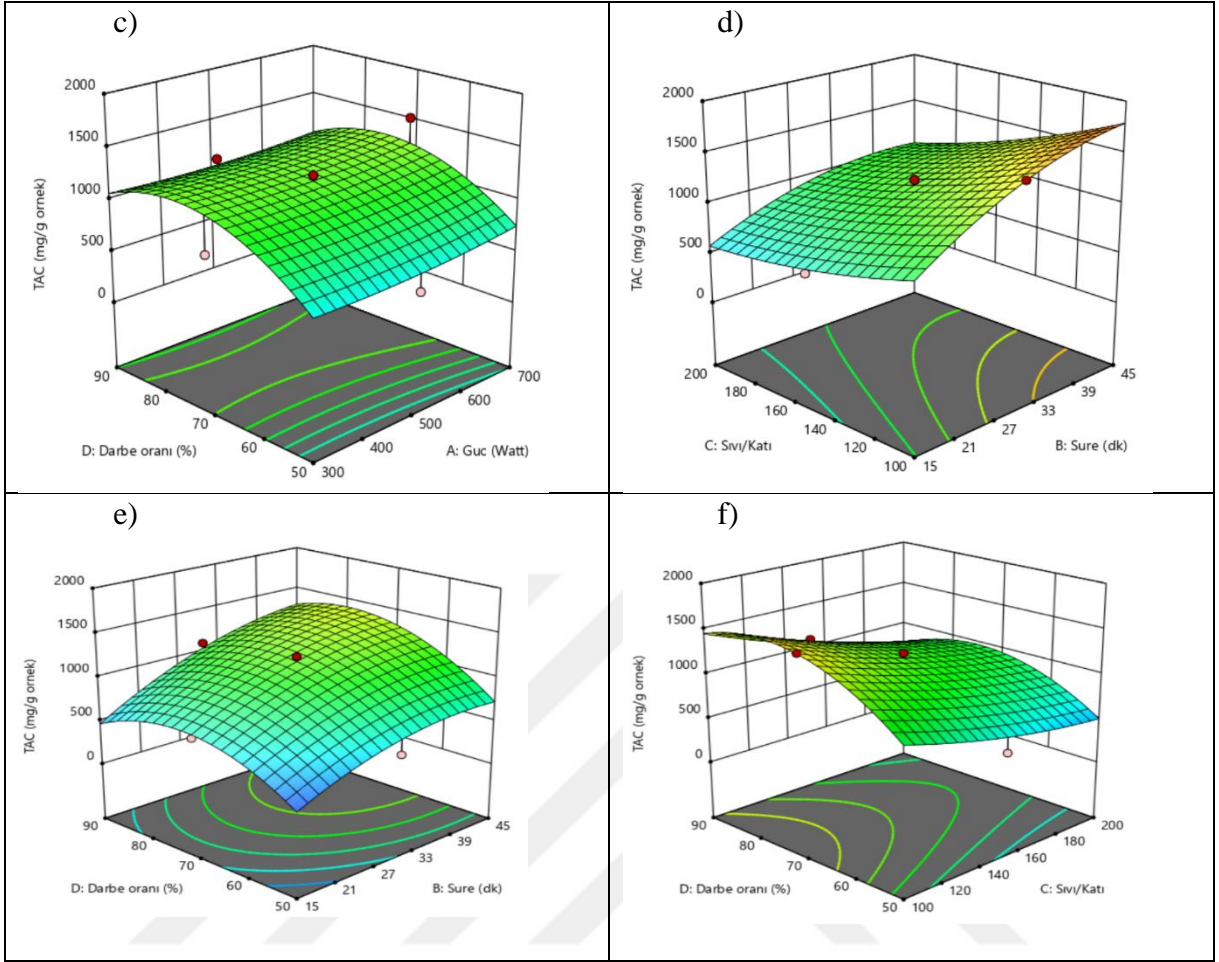
Tablo 4.5: ANOVA modeli uyum istatistikleri.

Standart sapma	170.65
Ortalama	954.71
% C.V.	17.87
R ²	0.9253
Ayarlanmış R ²	0.8556
Tahmin edilebilir R ²	0.5865
Yeterli doğruluk	138.488

Model uyum istatistiklerine bakıldığında varyasyon katsayısı (% C.V. = 17,87) değeri de modelin dikkate değer güvenilirliği olduğunu kanıtlanmıştır. Yeterli doğruluk değeri 4'ün ne kadar üstünseyse, modelin güçlü bir sinyal/gürültü oranına sahip olduğunu gösterir. Bu model için çıkan yeterli doğruluk oranı 138,488 olduğundan modelin güçlü bir sinyal/gürültü oranına sahip olduğu sonucuna varılır.

Yukarıda programın sunduğu analizler yapıldıktan sonra TAC formülü ile hesaplama yapıp sonuçlar sisteme girildi. Elde edilen ikinci dereceden polinom denklemi ile Şekil 4.2'deki grafikler elde edildi.





Şekil 4.2: Design-expert TAC grafikleri a) süre-güç-TAC grafiği, b) sıvı/katı-güç-TAC grafiği, c) darbe oranı-güç-TAC grafiği, d) sıvı/katı-süre-TAC grafiği e) darbe oranı-süre-TAC grafiği, f) sıvı/katı-darbe oranı-TAC grafiği.

Şekil 4.2 (a) grafiğinden yola çıkarak artan süre ile TAC değerinin arttığı gözlemlenir. Şekil 4.2 (b) grafiğini incelendiğinde artan güç ile TAC değerinin arttığı sonucuna varılır. Şekil 4.2 (c) grafiğine bakıldığında TAC değerinin maksimuma ulaştığı an, darbe aralığı ve ultrasonik gücünün orta seviyelerde olduğu sonucuna ulaşılır. Şekil 4.2 (d) grafiğinde ise artan sürenin TAC değerinde yüksek bir artışa sebep olduğu anlaşılmaktadır. Şekil 4.2 (e) grafiğinde süre artışıyla beraber darbe artışı da TAC değerinin artmasını sağlamaktadır. Şekil 4.2 (f) grafiği incelendiğinde darbe oranındaki artışın TAC değerini oldukça yükselttiği gözlemlenmektedir.

Çalışmada toplam antioksidan kapasitesi üzerine etkili olan başlıca değişkenler; ultrasonik süre, ultrasonik güç, sıvı/katı oranı ve darbe oranı olarak belirlenmiştir. Üç boyutlu (3-D) grafiklerde bu parametrelerin kombinasyonlarına göre toplam antioksidan kapasitesindeki değişimler net olarak gözlemlenmiştir.

Şekil 4.2. (a) incelendiğinde; 3D grafiklerde ultrasonik sürenin ve gücün eşzamanlı olarak artırılması, toplam antioksidan kapasitesini anlamlı düzeyde yükseltmiştir. Özellikle bu iki parametrenin yüksek seviyelerine ulaşıldığında toplam antioksidan kapasitesini değerlerinde zirveye çıkıldığı dikkat çekmektedir. Bu, hücresel yapının daha etkin bir şekilde bozulmasına ve daha fazla antioksidan bileşiğin ekstrakte edilmesine bağlanabilir.

Şekil 4.2. (b) incelendiğinde; bir diğer 3D yüzey grafiğinde, sıvı/katı oranı azaldıkça (yani daha yoğun ortamlar tercih edildikçe) ve ultrasonik güç artırıldıkça, toplam antioksidan kapasitesinin yükseldiği görülmektedir. Bu, katı fazın daha fazla olmasıyla ultrasonik dalgaların aktarım etkinliğinin artmasına ve ekstraksiyonun daha verimli hale gelmesine işaret etmektedir.

Şekil 4.2. (c) incelendiğinde; darbe oranı ve güç parametrelerinin orta seviyelerinde toplam antioksidan kapasitesinin maksimuma ulaştığı gözlemlenmiştir. Bu durum, çok yüksek darbe oranı veya güç uygulandığında olası degradasyon ya da antioksidan bileşiklerin zarar görmesi riskini, orta seviyenin ise optimum koşulları sunduğunu göstermektedir.

Şekil 4.2. (d) incelendiğinde; süre uzatıldıkça ve sıvı/katı oranı azaldıkça, toplam antioksidan kapasitesinin arttığı görülmektedir. Uzun süreli işlem sırasında, daha konsantre (katı madde oranı yüksek) ortamlarda ekstraksiyonun daha etkili gerçekleştiği anlaşılmaktadır.

Şekil 4.2. (e) incelendiğinde; darbe oranı ile süre kombinasyonunun orta seviyelerinde, toplam antioksidan kapasitesi en yüksek düzeye çıkmıştır. Çok kısa veya çok uzun süreler ya da aşırı düşük/yüksek darbe oranı optimum verime engel olabilirken, orta düzeyde bu iki etkenin sinerjisiyle en yüksek kapasite elde edilmiştir.

Şekil 4.2. (f) incelendiğinde; darbe oranı arttıkça ve sıvı/katı oranı azaldıkça toplam antioksidan kapasitesinin yükseldiği saptanmıştır. Bu, darbe oranının ekstraksiyon verimliliğini artırmada kritik bir rol oynadığını; sıvı/katı oranının azalmasının ise ultrasonik enerjinin etkisini yoğunlaştırdığını göstermektedir.

4.4. OPTİMUM KOŞULLARDA CUPRAC, ABTS, DPPH, TPC VE TFC SONUÇLARI

Zahter bitkisinin CUPRAC, DPPH ve ABTS serbest radikal temizleme aktiviteleri optimum ekstraksiyon koşullarında hesaplandı ve sonuçlar etanol çözücüsünün antioksidan kapasite değerleri ile karşılaştırıldı. Antioksidan kapasite sonuçları CUPRAC için Tablo 4.6'da,

ABTS sonuçları Tablo 4.7’de, DPPH sonuçları ise Tablo 4.8’de verilmiştir. Tablolardan anlaşıldığı üzere TAC değerleri ABTS ve DPPH değerlerinden daha yüksek gelmiştir. Etanol ile yapılan ekstraksiyonda TAC değeri daha yüksek gelmiştir ancak ABTS ve DPPH değerlerinde daha düşük gelmiştir. Buradan çıkan sonuca göre seçilen DES daha iyi bir serbest radikal temizleyicisidir. Bu durum DES ile bitki arasındaki güçlü hidrojen bağı etkileşimlerinden dolayı olabilir. Toplam fenolik içerik (TPC) değerlerine bakıldığında DES ile yapılan ekstraksiyonun çok daha yüksek TPC içerdiği sonucuna varılmıştır. Toplam flavonoid içerik (TFC) değerlerine bakıldığında DES ile yapılan ekstraksiyonun etanol ile yapılabildiğine göre daha yüksek TFC içerdiği sonucuna varılmıştır.

Tablo 4.6: Optimum koşullarda CUPRAC deneme sonuçları.

Bitki + DES	TAC (mmol TR/g örnek)
Zahter + Kolin klorür: üre: su	5,27451274
Zahter + %70 Etil alkol	6,083851164

Tablo 4.7: Optimum koşullarda ABTS deneme sonuçları.

Bitki + DES	ABTS (mmol TR/g örnek)
Zahter + Kolin klorür: üre: su	0,27957701
Zahter + %70 Etil alkol	0,22540994

Tablo 4.8 Optimum koşullarda DPPH deneme sonuçları.

Bitki + DES	DPPH (mmol TR/g örnek)
Zahter + Kolin klorür: üre: su	0,30248965
Zahter + %70 Etil alkol	0,16731652

Tablo 4.9: Optimum koşullarda toplam fenolik içerik (TPC) deneme sonuçları.

Bitki + DES	TPC (mmol gallik asit/g-kuru örnek)
Zahter + Kolin klorür: üre: su	10,06186234
Zahter + %70 Etil alkol	0,731026861

Tablo 4.10: Optimum koşullarda toplam flavonoid içerik (TFC) deneme sonuçları.

Bitki + DES	TFC (mmol quercetin/g-kuru örnek)
Zahter + Kolin klorür: üre: su	0,412214246
Zahter + %70 Etil alkol	0,34831554

5. TARTIŞMA

Gerçekleştirilen bir çalışmada nar kabuğuna ve çekirdeğine, derin ötektik çözücüler ve geleneksel çözücüler kullanılarak ultrasonik destekli ekstraksiyon uygulanmıştır. Bu çalışma sonucunda nar kabuğunda derin ötektik çözücüler kullanılarak maksimum antioksidan aktivite elde edildiği kanıtlanmıştır. Bununla birlikte nar çekirdeğine derin ötektik çözücüler ile ekstraksiyon uygulandığında en yüksek toplam fenolik madde elde edildiği sonucuna varılmıştır. (Erol, 2023)

Deniz ürünleri içerisinde bulunan bazı eser türlere magnetik derin ötektik çözücüler ile mikroekstraksiyon işlemi uygulanmasında derin ötektik çözücüye magnetik nanoakışkan sıvı özelliği kazandırılarak, fazladan enerji tüketen santrifüj kullanılmasına gerek kalınmadan, ekstraksiyon faz ayırımının kolaylıkla sağlandığı sonucuna varılmıştır. (Saraçlar, Eker, 2024)

Yapılan bir çalışmada gıda, kozmetik ve ilaç örneklerinden eritrosin tayini için çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada derin ötektik çözücüler kullanılarak etkin bir faz ayırımı ve verimli bir ekstraksiyon elde edilmiştir. Bununla birlikte ultrason destekli ekstraksiyon ile ses dalgalarının enerjisinden ve ultrason sıcaklığı sinerjik etkisinden faydalanılarak ekstraksiyon veriminin artması sağlanmıştır. (Fesliyan, 2024)

Borlu atıklardan lityum ekstraksiyonu gerçekleştirilen bir çalışmada derin ötektik çözücüler kullanılmıştır. Bu çalışmadaki amaç petrokimyasal çözücüler yerine doğa dostu olan derin ötektik çözücüler kullanılması araştırılmıştır. Araştırma sonucunda borlu atıktan lityum ekstraksiyonu işleminde derin ötektik çözücüler ile yüksek derişim elde edildiği sonucuna varılmıştır. (Erden, 2024)

Bir çalışmada kara mürvere derin ötektik çözücüler ile ekstraksiyon işlemi uygulanıp, antioksidan aktivitesi, toplam fenolik miktarı ve toplam antosiyonin miktarı analiz edilmiştir. Derin ötektik çözücü ve geleneksel organik çözücü sonuçları karşılaştırıldığında derin ötektik çözücü ile daha yüksek verim elde edildiği sonucuna varılmıştır. Bu sebeple çalışmada kullanılan derin ötektik çözücünün geleneksel çözücü olan metanole alternatif bir yeşil çözücü olabileceği tespit edilmiştir. (Alptekin, 2023)

Zerdeçala doğal derin ötektik çözücüler ve %80 metanol ile ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Çalışma sonucunda elde edilen bir doğal derin ötektik çözücü hariç diğerlerinde %80 metanole göre daha yüksek antioksidan kapasitesi ve kurkumin içeriği tespit edilmiştir. (Doldolova, 2020)

Literatür araştırması sonucunda farklı çözücüler ve yöntemler kullanılsa da genellikle yeşil çözücüler ile yapılan işlemler sonucunda daha yüksek verim elde edildiği tespit edilmiştir. Bununla beraber çalışmaların çoğunda yeşil çözücüler içerisinde bulunan derin ötektik çözücülerin geleneksel çözücülere iyi bir alternatif olabileceği ancak bu konu ile ilgili daha fazla araştırma yapılması gerektiği bildirilmiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez kapsamında, zahter (*Thymbra spicata* L.) bitkinin yaprakları kullanılarak fenolik bileşikleri elde etmek amacıyla ultrasonik destekli ekstraksiyon (UAE) işlemi uygulanmıştır. UAE yöntemi optimize edilerek derin ötektik çözücüler (DES) ile geleneksel çözücüler kullanılarak antioksidan kapasiteleri analiz edilmiştir. Antioksidan kapasite analizlerinde CUPRAC, DPPH, ABTS, toplam fenolik içerik (TPC) ve toplam flavonoid içerik (TFC) yöntemleri kullanılmıştır. Deneysel tasarımlar için Box-Behnken modeli üzerinden çalışılıp ANOVA analizleri ve 3D yüzey grafik yorumları ile analiz sonuçları desteklenmiştir.

Antioksidan kapasite analiz sonuçlarında etanol ile daha yüksek sonuç elde edilmiştir. CUPRAC yönteminde DES ile 5,275 mmol TR/g-kuru kütle, etanol ile 6,084 mmol TR/g-kuru kütle sonuçları elde edilmiştir. Diğer analiz sonuçları incelendiğinde DES ile yapılan analizlerin sonuçları daha yüksek gelmiştir. ABTS için DES ile yapılan analiz sonucu 0,280 mmol TR/g-kuru kütle, etanol ile yapılan analiz sonucu 0,225 mmol TR/g-kuru kütle olarak bulunmuştur. DPPH analizinde ise sonuçlar DES için 0,302 mmol TR/g, etanol için 0,167 mmol TR/g-kuru kütle olarak hesaplanmıştır. TPC analizlerinde elde edilen sonuçlar DES için 10,062 mmol gallik asit/g-kuru kütle, etanol içinse 0,731 mmol gallik asit/g-kuru kütle şeklinde bulunmuştur. Son olarak TFC analiz sonuçlarında DES ile yapılan ekstraksiyona ait analiz sonucu 0,412 mmol kuersetin/g-kuru örnek ve etanol ile yapılan ekstraksiyona ait analiz sonucu 0,348 mmol kuersetin/g-kuru örnek olarak bulunmuştur.

Analiz yöntemlerindeki farklılıklar sebebiyle elde edilen değerler de birbirinden farklı gelmiştir. Bu yöntemlerden CUPRAC, ABTS ve DPPH'nin amacı antioksidan kapasite değerini ölçmektir. Fakat TPC analizinin amacı toplam fenolik içerik hesaplamak, TFC analizinin amacı ise toplam flavonoid içeriği hesaplamaktır. CUPRAC yönteminin prensibi $\text{Cu(II)} \rightarrow \text{Cu(I)}$ indirgenmesine dayanmaktadır, ABTS yönteminde ise prensip ABTS^+ radikalinin indirgenmesidir, DPPH yönteminin prensibi DPPH radikalinin indirgenmesine dayanmaktadır. TPC analizi Folin-Ciocalteu reaktifi ile renk oluşumu prensibine sahiptir, TFC ise AlCl_3 ile kompleksleşme sonucu renk oluşumu prensibine dayanmaktadır. Bu yöntemler uygulanırken farklı renk oluşumu gerçekleşir. CUPRAC yönteminde antioksidanlar varlığında indirgenme reaksiyonları sonucu mavi renkten sarı renk'e, ve ABTS yönteminde yeşil renkten sarı renk'e geçiş gözlemlenir. DPPH yönteminde ise indirgenme reaksiyonları sonucu mor renkten sarıya geçiş olur. TPC analizinde renk mavidir, TFC analizinde ise sarı kompleks renk oluşur. Her bir

analizin farklı avantaj ve dezavantajları mevcuttur. Kullanım alanları açısından incelendiğinde genellikle aynı alanlarla kullanımları mevcuttur.

Sonuçlar genel olarak değerlendirildiğinde CUPRAC hariç diğer yöntem ve analizlerde seçilen DES ile etanol geleneksel çözücüsüne kıyasla daha iyi sonuçlar elde edildiği görülmüştür. Bu sayede doğa dostu, çevreye zarar vermeyen, maliyeti düşük ve uçucu olmayan yeşil çözücü olan DES'in geleneksel çözücülere alternatif olarak kullanımın uygun olduğu ve daha iyi sonuçlar verdiği ortaya koyulmuştur.



KAYNAKLAR

- Akdogan, M., Kisioglu, A. N., Ciris, M., ve Koyu, A., 2014, *Investigating the effectiveness of different tea types from various thyme kinds (Origanum onites, Thymbra spicata and Satureja cuneifolia) on anemia and anticholesterolemic activity. Toxicology and Industrial Health*, 30(10), 938–949, <https://doi.org/10.1177/0748233712466136>
- Akkol, E. K., Avcı, G., Küçük Kurt, I., Keleş, H., Tamer, U., Ince, S., ve Yesilada, E., 2009, Cholesterol-reducer, antioxidant and liver protective effects of *Thymbra spicata* L. var. *spicata*. *Journal of Ethnopharmacology*, 126(2), 314–319. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.08.020>
- Aktaş, A., 2012, *Lc-ei-ms ve on-line hplc-abts yöntemleriyle belirlenen gilaburu, kızılçık, kokulu üzüm ve karayemiş meyvelerinin biyoaktif fenolik bileşimi*, Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Alam, A., Muhammad, G., Khan, M. N., Mofijur, M., Lv, Y., Xiong, W., ve Xu, J., 2021, Choline chloride-based deep eutectic solvents as green extractants for the isolation of phenolic compounds from biomass, *Journal of Cleaner Production*, 309 (2021) 127445, <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2021.127445>
- Algan, D. T., 2024, *Flavonoid türevlerinin pickering emülsiyonu yöntemiyle kaplanarak üretimi ve enzim inhibisyonu üzerine etkisinin değerlendirilmesi*, Doktora, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Alptekin, R. E., 2023, *Kara mürverden (Sambucus nigra L.) derin ötektik çözücüler ile biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyon ve bileşenlerinin karakterizasyonu*, Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Askun, T., Tumen, G., Satil, F., ve Ates, M., 2009, In vitro activity of methanol extracts of plants used as spices against *Mycobacterium tuberculosis* and other bacteria, *Food Chemistry*, 116(1), 289–294. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.048>

- Baser, K. H., Özek, T., Kürkcüoğlu, M., ve Tümen, G., 1994, The essential oil of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* of Turkish Origin, *Journal of Essential Oil Research*, 6(1), 31–36. <https://doi.org/10.1080/10412905.1994.9698321>
- Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., ve Karadoğan, T., 2004, Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey, *Food Control*, 15(3), 169–172, [https://doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00028-8](https://doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00028-8)
- Berthod A., Ruiz-Angel, M. J., Carda-Broch, S., Ionic liquids in separation techniques, *Journal of Chromatography*, 1184: 6-18.
- Bhadange, Y. A., Carpenter, J., ve Saharan, V. K., 2024, A Comprehensive Review on Advanced Extraction Techniques for Retrieving Bioactive Components from Natural Sources, *ACS Omega*, 9, 29, 31274–31297, <https://doi.org/10.1021/acsomega.4c02718>
- Boligon, A. A., ve Athayde, M. L., 2014, Importance of HPLC in Analysis of Plants Extracts, *Austin Chromatography*, 1, 3, 2379-7975.
- Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Revilla-Ruiz, P., ve Hernández-Méndez, J. 2005, Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples, *Journal of Chromatography A*, 1089, 1–2, 1–17, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.06.072>
- Chan, C. H., Yusoff, R., Ngoh, G. C., ve Kung, F. W. L., 2011, Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants, *Journal of Chromatography*, 1218, 37, 6213–6222, <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.07.040>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., ve Abert-Vian, M., 2017, Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review, *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Cui, Q., Peng, X., Yao, X. H., Wei, Z. F., Luo, M., Wang, W., Zhao, C. J., Fu, Y. J., ve Zu, Y. G., 2015, Deep eutectic solvent-based microwave-assisted extraction of genistin, genistein and apigenin from pigeon pea roots, *Separation and Purification Technology*, 150, 63–72, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.06.026>

- Çolak, N., ve Tülek, Y., 2003, Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu, *Gıda*, 28(3), 313-320, <https://dergipark.org.tr/tr/pub/gida/issue/6972/92959>
- Daştan, S., 2022, *Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi ile çemen otu tohumundan bazı biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu, elde edilen bileşenlerin karakterizasyonu ve stabilitelerinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Diri, H., 2024, *Yeni bir seri 1, 2, 4-triazol türevlerinin bakır indirgeme antioksidan kapasiteleri (cuprac) ve antielastaz aktivitelerinin incelenmesi*, Yüksek lisans, Fen bilimleri enstitüsü.
- Doldolova, K., 2020, *Zerdeçaldan antioksidanların doğal derin ötektik çözücüler kullanılarak mikrodalga destekli ekstraksiyonunun optimizasyonu ve modellenmesi*, Yüksek Lisans, Lisanüstü Eğitim Enstitüsü.
- Erden, İ. E., 2024, *Derin ötektik çözücüler kullanılarak lityum içeren borlu atıklardan lityum ekstraksiyonunun incelenmesi*, Yüksek Lisans.
- Ergüt, M., 2025, *Portakal ve limon posasındaki fenolik maddelerin süperkritik akışkan ekstraksiyonu*, Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Eroğlu, S., 2022, *Dünden bugüne zahter*, Yüksek Lisans, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Erol, C., 2023, *Nar proses atıklarının yeniden değerlendirilmesinde kullanılan farklı solventlerin ekstraksiyon etkinliğine etkisinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans, Lisanüstü Eğitim Enstitüsü.
- Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R., ve Aydın, H., 2010, Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri, *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, 32(4), 281–286, <http://cmj.cumhuriyet.edu.tr/tr/pub/cmj/issue/4215/55882>
- Eskilsson, C. P., ve Bjorklund, E., 2000, Analytical-scale microwave-assisted extraction, *Journal of Chromatography A*, 902 (2000) 227-250, www.elsevier.com/locate/chroma
- Fesliyan, S., 2024, *Gıda, kozmetik ve ilaç örneklerinden eritrosinin doğru ve güvenilir tayini için kemometrik modelleme ile doğal derin ötektik çözücülerin kullanımının araştırılması*, Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü.

- Gitti, Ü. B., 2019, *Karakavak yongalarından derin ötektik çözücü kullanılarak kağıt hamuru üretimi*, Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Gül, N., 2023, *Türkiye’de tüketime sunulan kekik yağlarının antioksidan özellikleri*, Yüksek Lisans, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Hadian, J., Esmaeili, H., Nadjafi, F., ve Khadivi-Khub, A., 2014, Essential oil characterization of Satureja rechingeri in Iran, *Industrial Crops and Products*, 61, 403–409, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.034>
- Hajiyev, V., 2023, *Sıcak asit ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile barbunya fasulyesi (phaseolus vulgaris l. var. pinto) kabuklarından pektin ekstraksiyonu ve karakterizasyonu*, Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Hsu, T. C., Guo, G. L., Chen, W. H., ve Hwang, erW. S., 2010, Effect of dilute acid pretreatment of rice straw on structural properties and enzymatic hydrolysis, *Bioresource Technology*, 101(13), 4907–4913, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.10.009>
- Joma, M. H., 2018, *Thymbra spicata L. var. spicata (Zahter) Bitki Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin ve stenotrophomonas maltophilia üzerine etkilerinin araştırılması*, Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kalender, A. S., 2023, *Propolisten biyoaktif bileşiklerin eldesi için mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin optimizasyonu*, Yüksek Lisans, Halk Sağlığı Enstitüsü.
- Kılıç, A., 2008, Uçucu yağ elde etme yöntemleri, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10, 13.
- Kolancılar, H., 2010, Klasik çözücülere bir alternatif; iyonik sıvılar, *Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 11(2), 90–100, <https://dergipark.org.tr/tr/pub/trakyafbd/issue/23009/246070>
- Kutlu, N. K., Yılmaz, M. S., İşçi, A., ve Şakıyan, Ö., 2021, Gıdalardan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda derin ötektik çözücülerin kullanımı, *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(2), 591–597, <https://doi.org/10.28948/NGUMUH.740817>

- Lopez-Avila, V., 2000, *Extraction With Supercritical Fluid Inorganic Extractions Microwave-Assisted Extraction*.
- Ozturk, B., Parkinson, C., ve Gonzalez-Miquel, M., 2018, Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents, *Separation and Purification Technology*, 206, 1–13, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.05.052>
- Önel, S. E., 2015, *Zahter (Thymbra spicata L. var. spicata) uçucu yağının farklı yerleşim sıklığında beslenen japon bildircinlarında performans, antioksidan potansiyel, bağırsak mikrobiyotası ve et kalitesine etkisi*, Doktora, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Özgül, M., ve Tansi, S., 1998, Drug Yield and Essential Oil of Thymus vulgaris L. as in Influenced by Ecological and Ontogenetical Variation, In *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 22(6).
- Öztürk, E., 2024, *Sumak ekşilerine yapılan tağşişin pca analizi ve ftir-atr spektroskopisi verileri kullanılarak kemometrik yaklaşımlarla belirlenmesi*, Yüksek Lisans, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü.
- Rashid, R., Mohd Wani, S., Manzoor, S., Masoodi, F. A., ve Masarat Dar, M., 2022, Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction: Optimisation, comparison and bioactivity, *Food Chemistry*, 398, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133871>
- Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., Avdalovic, N., ve Pohl, C., 1996, Accelerated Solvent Extraction: A Technique for Sample Preparation, *Anal. Chem.*, 68, 1033-1039.
- Saraçlar Eker, E. B., 2024, *Deniz Ürünlerindeki Bazı Eser Türlerin Magnetik Derin Ötektik Çözücüler ile Mikroekstraksiyonu ve Tayini İçin Yeşil Bir Yöntem Geliştirilmesi*, Yüksek Lisans, <https://openaccess.hacettepe.edu.tr/xmlui/handle/11655/36001>
- Selvitopu, M., 2023, *Yaban mersini tohumu yağının süperkritik akışkan ekstraksiyonu*, Yüksek Lisans, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tekin, A., Tatlı Çankaya, İ., ve Zeybek, A. U., 2022, *T.C. Sağlık Bakanlığı | E-Kütüphane-Fitoterapi Uygulama Kitabı*, <https://ekutuphane.saglik.gov.tr/Yayin/657>

- Thymbra spicata* L.'nin Toprak Üstü Kısmının Gıdalarda Kullanımının Güvenilirliğinin Değerlendirilmesi Hakkında Bilimsel Görüş, 2015, Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü, https://www.tarimorman.gov.tr/GKGM/Belgeler/DB_Risk_Degerlendirme/BilimselGorus/Thymbra_spicata.pdf
- Uslu, E. K., 2023, Soğuk Pres Teknolojisi: Soğuk Pres Yağ, Soğuk Pres Keki Eldesi ve Değerlendirilmesi, *Lapseki Meslek Yüksekokulu Uygulamalı Araştırmalar Dergisi*, 4(8), 58-66, <https://orcid.org/0000-0002-8266-7137>
- Usman, M., Cheng, S., Boonyubol, S., ve Cross, J. S., 2023, Evaluating Green Solvents for Bio-Oil Extraction: Advancements, Challenges, and Future Perspectives, *Energies* 16, 5852, <https://doi.org/10.3390/en16155852>
- Vinatoru, M., 2001, An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs, *Ultrasonics Sonochemistry* 8, 303-313, www.elsevier.nl/locate/ultsonch
- Wang, H., Liu, S., Zhao, Y., Wang, J., ve Yu, Z., 2019, Insights into the Hydrogen Bond Interactions in Deep Eutectic Solvents Composed of Choline Chloride and Polyols, *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 7(8), 7760–7767. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b06676>
- Xia, B., Yan, D., Bai, Y., Xie, J., Cao, Y., Liao, D., ve Lin, L., 2015, Determination of phenolic acids in *Prunella vulgaris* L.: A safe and green extraction method using alcohol-based deep eutectic solvents, *Analytical Methods*, 7(21), 9354–9364. <https://doi.org/10.1039/c5ay02035b>
- Xu, M., Ran, L., Chen, N., Fan, X., Ren, D., ve Yi, L., 2019, Polarity-dependent extraction of flavonoids from citrus peel waste using a tailor-made deep eutectic solvent, *Food Chemistry*, 297, 124970, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124970>
- Yaman T., Kuleaşan, Ş., 2016, Uçucu yağ elde etmede gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi Özel Sayı*, 78–83. <https://dergipark.org.tr/tr/pub/makufebed/issue/24657/260808>

Yıldız, İ., 2022, *Dpph, frap ve fcr antioksidan kapasitelerin tayini için potansiyometrik sensörlerin geliştirilmesi ve potansiyometrik çalışma şartlarının incelenmesi*, Doktora, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Yılmaz, O., ve Akkaya, H., 2012, Radical scavenging activity of thymbra spicata and quercus ithaburensis in a fenton reagent environment and their protective effects on unsaturated fatty acids, *Ekoloji*, 85, 34–40. <https://doi.org/10.5053/ekoloji.2012.854>

Zoral, F. B., ve Turgay, Ö., 2014, Çeşitli Gıda Atıklarının Toplam Fenolik Madde İçeriğinin, Antioksidan ve Antimikrobiyel Aktivitelerinin Araştırılması, *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 17(2), 24–33. <https://doi.org/10.18016/KSUJNS.03907>



İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI



ETİK KURUL İZİN YAZISI



KURUM İZİNİ YAZILARI



ÖZGEÇMİŞ

