

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**CEVİZ YEŞİL KABUĞUNDAN ULTRASES YARDIMIYLA
FENOLİK MADDE EKSTRAKSİYONU, KİNETİK
MODELLENMESİ VE OPTİMİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NESRİN SARITAŞ

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2018

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**



**CEVİZ YEŞİL KABUĞUNDAN ULTRASES YARDIMIYLA
FENOLİK MADDE EKSTRAKSİYONU, KİNETİK
MODELLENMESİ VE OPTİMİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

NESRİN SARITAŞ

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2018

KABUL VE ONAY SAYFASI

NESRİN SARITAŞ tarafından hazırlanan “CEVİZ YEŞİL KABUĞUNDAN ULTRASES YARDIMIYLA FENOLİK MADDE EKSTRAKSİYONU, KİNETİK MODELLEMESİ VE OPTİMİZASYONU” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 09.08.2018 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Prof. Dr. Sami Gökhan ÖZKAL

Üye
Prof. Dr. Yusuf YILMAZ
Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi

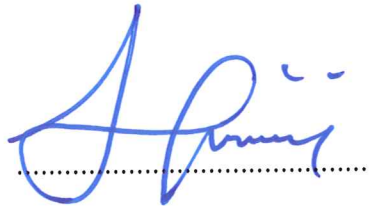
Üye
Dr. Öğr. Üyesi Haluk ERGEZER
Pamukkale Üniversitesi


.....

.....

.....

Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
05/09/2018 tarih ve 35/13..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.


.....

Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi tarafından 2017FEBE055 nolu proje ile
desteklenmiştir.**

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

NESRİN SARITAŞ



ÖZET

**CEVİZ YEŞİL KABUĞUNDAN ULTRASES YARDIMIYLA FENOLİK
MADDE EKSTRAKSİYONU, KİNETİK MODELLENMESİ VE
OPTİMİZASYONU
YÜKSEK LİSANS
NESRİN SARITAŞ
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SAMİ GÖKHAN ÖZKAL)

DENİZLİ, AĞUSTOS - 2018

Bu çalışmada cevizin yeşil kabuğundan ultrasonik banyo (dolaylı yöntem) ve ultrasonik prob (doğrudan yöntem) ile fenolik madde ekstraksiyonu gerçekleştirilerek, ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite kinetiklerine ekstraksiyon koşullarının etkisinin belirlenmesi ve yanıt yüzey metoduyla ekstraksiyon koşullarının optimizasyonunun gerçekleştirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada gölgede kurutulmuş ve parçalayıcıda parçalanarak boyutlandırılmış ceviz yeşil kabukları kullanılmıştır. Ekstraksiyon koşulları ultrasonik prob ekstraksiyonunda, etanol konsantrasyonu (% 0, 30 ve 60), sıcaklık (20, 40 ve 60 °C) ve ultrases genliği (% 30, 60 ve 90) olarak; ultrasonik banyo ekstraksiyonunda; etanol konsantrasyonu (% 0, 30 ve 60), sıcaklık (20, 40 ve 60 °C) ve ultrases gücü (% 30, 60 ve 90) olarak seçilmiştir. Ekstraksiyon kinetikleri Peleg modeli ile başarılı bir şekilde ifade edilmiştir.

Yanıt yüzey yöntemi kullanarak, farklı ekstraksiyon yöntemleri için optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Bağımsız değişkenler ultrasonik prob ekstraksiyonunda, etanol konsantrasyonu (% 0, 15 ve 30), sıcaklık (20, 45 ve 70 °C) ve ultrases genliği (% 10, 50 ve 90) olarak; ultrasonik banyo ekstraksiyonunda, etanol konsantrasyonu (% 0, 30 ve 60), sıcaklık (20, 45 ve 70 °C) ve ultrases gücü (% 20, 60 ve 100) olarak seçilmiştir. Optimum koşullar Ultrasonik banyo için 56,32 °C, % 38,85 etanol konsantrasyonu ve % 76,52 güç seviyesi, ultrasonik prob için 52,43 °C, % 17,81 etanol konsantrasyonu ve % 64,68 genlik seviyesi olarak saptanmıştır. Toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite için optimum değerler sırasıyla: ultrasonik banyo için 33,19 mg GAE/g örnek ve 9,39 mmol TE/g örnek, ve ultrasonik prob için 29,19 mg GAE/g örnek ve 7,36 mmol TE/g örnek olarak bulunmuştur.

ANAHTAR KELİMELELER: Ekstraksiyon, ceviz yeşil kabuğu, antioksidan aktivite, toplam fenolik madde içeriği, yanıt yüzey metodu

ABSTRACT

PHENOLIC SUBSTANCE EXTRACTION, KINETIC MODELING AND OPTIMIZATION WITH ULTRASOUND ASSISTANCE FROM WALNUT GREEN HUSK

**MASTER OF THESIS
NESRİN SARITAŞ**

**PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF FOOD ENGINEERING**

(SUPERVISOR: PROF. DR. SAMİ GÖKHAN ÖZKAL)

DENİZLİ, AUGUST 2018

In this study, the aims are to obtain phenolic extract from walnut green husks with ultrasonic bath (indirect method) and ultrasonic probe (direct method), to determine the effects of extraction conditions on total phenolic content and antioxidant activity kinetics of extracts and to optimize extraction conditions by response surface methodology.

In the study, shadow dried, ground and sized walnut green husks were used. Extraction conditions were ethanol concentration (0, 30 and 60 %), temperature (20, 40 and 60 °C) and ultrasonic amplitude (30, 60 and 90 %) for ultrasonic probe extraction; and ethanol concentration (0, 30 and 60 %), temperature (20, 40 and 60 °C) and ultrasound power (30, 60 and 90 %) for ultrasonic bath extraction. The extraction kinetics were expressed successfully by Peleg model.

Response surface methodology was used for optimization of extraction conditions. Independent variables were ethanol concentration (0, 15 and 30 %), temperature (20, 45 and 70 °C) and ultrasonic amplitude (10, 50 and 90 %) in ultrasonic probe extraction; ethanol concentration (0, 30 and 60 %), temperature (20, 45 and 70 °C) and ultrasound power (20, 60 and 100 %) in ultrasonic bath extraction. Optimum conditions were found as 56.32 °C, 38.85 % ethanol concentration and 76.52 % power level for ultrasonic bath, 52.43 °C, 17.81 % ethanol concentration and 64.68 % amplitude level. Optimum values were found as: 33.19 mg GAE/g sample and 9.39 mmol TE/g sample for ultrasonic bath and 29.19 mg GAE/g sample and 7.36 mmol TE/g sample for ultrasonic probe, respectively.

KEYWORDS: Extraction, walnut green husk, antioxidant activity, total phenolic content, response surface methodology

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
ÖNSÖZ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. EKSTRAKSİYON.....	3
2.1 Soxhlet Ekstraksiyonu	4
2.2 Basınçlı Sıvı Ekstraksiyon (BSE).....	6
2.3 Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SAE)	8
2.4 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MAE)	10
2.5 Ultrases Destekli Ekstraksiyon (UAE)	12
3. CEVİZ YEŞİL KABUĞUNDAN FENOLİK MADDE EKSTRAKSİYONU ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR	16
4. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
4.1 Materyal	18
4.2 Yöntem.....	18
4.2.1 Örneklerin hazırlanması.....	18
4.3 Ekstraksiyon	19
4.3.1 Kinetik modelleme için ekstraksiyon	19
4.3.2 Optimizasyon için ekstraksiyon	19
4.4 Analizler	21
4.4.1 Toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi	21
4.4.2 Antioksidan aktivitenin belirlenmesi.....	22
4.5 Kinetik Modelleme ve İstatistiksel Analizler	22
4.5.1 İstatistiksel analizler	23
5. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	24
5.1 Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Madde Kinetikleri	24
5.1.1 Ultrasonik banyo ekstraksiyonu	24
5.1.1.1 Antioksidan aktivite kinetiği	24
5.1.1.1.1 Sıcaklığın antioksidan aktiviteye etkisi	24
5.1.1.1.2 Etanol konsantrasyonunun antioksidan aktiviteye etkisi	25
5.1.1.1.3 Ultrasonik güç seviyesinin antioksidan aktiviteye etkisi	27
5.1.1.2 Toplam fenolik madde kinetiği	28
5.1.1.2.1 Sıcaklığın toplam fenolik madde içeriğine etkisi	28
5.1.1.2.2 Etanol konsantrasyonunun toplam fenolik madde içeriğine etkisi	29
5.1.1.2.3 Ultrasonik güç seviyesinin toplam fenolik madde içeriğine etkisi	30
5.1.2 Ultrasonik prob ekstraksiyonu	31
5.1.2.1 Antioksidan aktivite kinetiği	32
5.1.2.1.1 Sıcaklığın antioksidan aktiviteye etkisi	32
5.1.2.1.2 Etanol konsantrasyonunun antioksidan aktiviteye etkisi	33
5.1.2.1.3 Ultrasonik genlik seviyesinin antioksidan aktiviteye etkisi ..	34

5.1.2.2	Toplam fenolik madde kinetiği	35
5.1.2.2.1	Sıcaklığın toplam fenolik madde içeriğine etkisi	35
5.1.2.2.2	Etanol konsantrasyonunun toplam fenolik madde içeriğine etkisi	36
5.1.2.2.3	Ultrasonik genlik seviyesinin toplam fenolik madde içeriğine etkisi	37
5.1.3	Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde kinetiklerinin modellenmesi.....	39
5.1.4	Ceviz yeşil kabuğudan antioksidan ve fenolik madde ekstraksiyonun yanıt yzney yöntemiyle optimizasyonu	44
5.1.4.1	Ultrasonik banyo ile yapılan ekstraksiyonun yanıt yzney yöntemiyle optimizasyonu.....	44
5.1.4.2	Ultrasonik prob ile yapılan ekstraksiyonun yanıt yzney yöntemiyle optimizasyonu.....	52
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	61
7.	KAYNAKLAR	64
8.	EKLER	70
	EK A:Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni için Uygunluk Özet Tablosu	70
9.	ÖZGEÇMİŞ.....	72

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. Yeşil kabuklu ceviz meyvesi.....	2
Şekil 2. Soxhlet ekstraktör cihazı.....	5
Şekil 3. Ses frekans aralıkları.....	13
Şekil 4. Ultrasonik kavitasyon	13
Şekil 5. Ultrases destekli ekstraksiyon için kullanılan sistemler	14
Şekil 6. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine sıcaklığın etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması	25
Şekil 7. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine etanol konsantrasyonunun etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması	26
Şekil 8. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine ultrasonik güç seviyesinin etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması	27
Şekil 9. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde değerinin zamana bağlı değişimine sıcaklığın etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması	28
Şekil 10. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde değerinin zamana bağlı değişimine etanol konsantrasyonunun etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması.....	30
Şekil 11. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde değerinin zamana bağlı değişimine ultrasonik güç seviyesinin etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması.....	31
Şekil 12. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine sıcaklığın etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması	32
Şekil 13. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine etanol konsantrasyonunun etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması	33
Şekil 14. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine ultrasonik genlik seviyesinin etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması.....	34
Şekil 15. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde içeriğinin zamana bağlı değişimine sıcaklığın etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması.....	35
Şekil 16. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde içeriğinin zamana bağlı değişimine etanol konsantrasyonunun etkisi: Ultrasonik prob ile	

elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması	36
Şekil 17. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde içeriğinin zamana bağlı değişimine ultrasonik genlik seviyesinin etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması.....	38
Şekil 18. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun etkisi, güç seviyesi: %60.	49
Şekil 19. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; sıcaklık ve ultrasonik gücün etkisi, etanol konsantrasyonu: % 30.	49
Şekil 20. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; etanol konsantrasyonu ve gücün etkisi, sıcaklık: 45 °C.....	50
Şekil 21. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun etkisi, güç seviyesi: % 60.	51
Şekil 22. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; sıcaklık ve ultrasonik gücün etkisi, etanol konsantrasyonu: % 30.	51
Şekil 23. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; etanol konsantrasyonu ve ultrasonik gücün etkisi, sıcaklık: 45 °C.	52
Şekil 24. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun etkisi, genlik seviyesi: % 50.	57
Şekil 25. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; sıcaklık ve ultrasonik genliğin etkisi, etanol konsantrasyonu: % 15.	57
Şekil 26. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; etanol konsantrasyonu ve ultrasonik genliğin etkisi, sıcaklık: 45 °C.....	58
Şekil 27. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun etkisi, genlik seviyesi: % 50.....	59
Şekil 28. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; sıcaklık ve ultrasonik genliğin etkisi, etanol konsantrasyonu: % 15.	59
Şekil 29. Ultrasonikprob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; etanol konsantrasyonu ve ultrasonik genliğin etkisi, sıcaklık: 45°C.....	60

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1. Soxhlet ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları	6
Tablo 2. Basınçlı sıvı ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları	8
Tablo 3. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları	9
Tablo 4. Mikrodalga destekli ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları	12
Tablo 5. Ultrases destekli ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları	15
Tablo 6. Ultrasonik Banyo Ekstraksiyonu İçin Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni	20
Tablo 7. Ultrasonik Prob Ekstraksiyonu İçin Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni	21
Tablo 8. Ceviz yeşil kabukların farklı koşullarda ultrasonik banyo ekstraksiyonu için Peleg modeli sabitleri ve istatistiksel veriler.....	40
Tablo 9. Ceviz yeşil kabukların farklı koşullarda ultrasonik prob ekstraksiyonu için Peleg modeli sabitleri ve istatistiksel veriler.....	42
Tablo 10. Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni ile gerçekleştirilen ultrasonik banyo yöntemi için elde edilen deneysel ve tahminlenen değerleri	46
Tablo 11. Ultrasonik banyo ekstraksiyonu için antioksidan aktivite analiz sonuçlarına ait istatistiksel analiz sonuçları.....	47
Tablo 12. Ultrasonik banyo ekstraksiyonu için toplam fenolik madde analiz sonuçlarına ait istatistiksel analiz sonuçları.....	48
Tablo 13. Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni ile gerçekleştirilen ultrasonik prob yöntemi için elde edilen deneysel ve tahminlenen değerleri	54
Tablo 14. Ultrasonik prob ekstraksiyonu için antioksidan aktivite analiz sonuçlarına ait istatistiksel analiz sonuçları.....	55
Tablo 15. Ultrasonik prob ekstraksiyonu için toplam fenolik madde analiz sonuçlarına ait istatistiksel analiz sonuçları.....	56

ÖNSÖZ

Öncelikle, tez çalışmam süresince, danışmanlığımı üstlenerek, değerli fikirleri ile beni yönlendiren, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, çok değerli hocam Prof. Dr. Sami Gökhan ÖZKAL'a; önümü açan ve teşvik eden Dr. Öğr. Üyesi Haluk ERGEZER'e; laboratuvar çalışmalarında hiçbir yardımdan kaçınmayan Arş. Gör. Özlem ZAMBAK'a ve sevgili arkadaşım Ayşe Gül ÇAMUROĞLU'na; değerli fikirleri ile beni yönlendiren Öğr. Gör. Senem TÜFEKÇİ'ye teşekkürü borç bilirim.

Yüksek lisans eğitimim ve hayatım boyunca destekleri ve sevgileriyle her zaman yanımda olan, varlıkları ile bana güven veren eşim Ahmet Ali SARITAŞ, annem Nurşen SÜRÜCÜOĞLU, babam Yüksel SÜRÜCÜOĞLU, kardeşlerim Büşra SÜRÜCÜOĞLU ve Eminegül SÜRÜCÜOĞLU'na; desteklerini eksik etmeyen annem Hafize SARITAŞ ve babam Mestan SARITAŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Nesrin SARITAŞ
(Gıda Mühendisi)

1. GİRİŞ

Günümüzde, yapay gıda antioksidanlarının doğal olanlarla değiştirilmesine olan giderek ilgi artmaktadır. Gıda sanayii atıklarında bulunan antioksidan bileşikler, serbest radikalleri temizleyerek ve aynı zamanda lipid peroksidasyonunu önleyerek gıdaların stabilitesini arttırmak suretiyle, canlı sistemlerdeki oksidatif hasarı korumak için kullanılabilir.

Doğal ürünlere olan ilginin yoğunlaşması ve doğal olmayan antioksidanların insan sağlığına olan olumsuz etkilerinden dolayı kullanımlarının limitlendirilmesi ile oksidasyon kaynaklı bozulmaları engellemek için bitkisel kaynaklardan üretilen doğal antioksidanların gıda maddelerinde koruyucu olarak kullanılmasına yönelik araştırmaların çoğalmasına neden olmuştur.

Gıda maddelerinin üretimi, depolanması ve tüketimi sırasında oluşan temel değişikliklerden birisi de oksidasyondur. Antioksidanlar lipidlerin oksidasyon kaynaklı bozulmasını önleyici etkiye sahiptir. Doğal antioksidanların en temel bileşikleri fenolik bileşiklerdir ve bunlar otooksidasyonun önlenmesinde etkilidir. Reaktif oksijen türleri vücut içerisinde oluşması veya artması bazı ciddi hastalıkların (kanser, tümör vb.) oluşmasına doğrudan veya dolaylı olarak neden olabilmektedir. Doğal antioksidanların reaktif oksijen çeşitlerinden ve serbest radikallerden hücreleri koruma etkisi vardır.

Ceviz (*Juglans regia* L.) Juglandaceae ailesine aittir. Dünyanın her yerinde ticari olarak yetiştirilen, Güneydoğu Avrupa ile batı ve orta Asya'ya özgü yaprak dökken bir ağaçtır (Chrzanowski ve diğ., 2010). Ceviz (*Juglans regia* L.) çok popüler ve büyük miktarda tüketilen değerli bir mahsuldür. Sadece kuru meyvesi değil, aynı zamanda yeşil ceviz, kabuk, çekirdek, ceviz yeşil kabuğu ve yaprakları hem kozmetik hem de eczacılık alanında kullanılmaktadır. Tüm bu ürünler farklı bileşiklerin önemli bir kaynağı olarak da kullanılabilir (Salejda ve diğ.,2016). Ceviz yeşil kabuğu, ceviz (*Juglans regia* L.) hasatında ortaya çıkan, antioksidan ve antimikrobiyal özellikli doğal bileşenlerin kaynağı olarak değerlendirilebilecek bir tarımsal orman atığıdır (Şekil 1). Cevizin yeşil kabukları, kuru meyvelerin üretiminin

yan ürünü olup birçok çalışma doğal biyoaktif bileşikler açısından zengin oldukları belirtilmiştir (Oliveira ve diğ., 2008).



Şekil 1. Yeşil kabuklu ceviz meyvesi

Sonuç olarak; ceviz yeşil kabuğu (yan ürün olarak) gıda katkı maddesi ve polifenol ekstraksiyonu için hammadde olabilir. Ceviz yeşil kabuk özlerinin özelliklerini ve bunların gıda sanayiinde kullanılma olasılıklarını keşfetmek için araştırmaların yapılması önerilmektedir (Oliveira ve diğ., 2008, Popovici ve diğ., 2012).

Bu çalışmada, cevizin yeşil kabuğundan antioksidan özellikli fenolik ekstrakt eldesinde yenilikçi bir teknoloji olan ultrases destekli ekstraksiyon teknolojisi kullanılması amaçlanmıştır. Ultrasonik banyo (dolaylı yöntem) ve ultrasonik prob (doğrudan yöntem) ile farklı koşullarda ekstraktlar üretilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerleri belirlenerek ultrases destekli ekstraksiyon yöntemlerinden ultrasonik banyo ve prob metodu karşılaştırılmıştır. Her iki metodun optimizasyonu ve ekstraksiyon kinetikleri belirlenmiştir. Böylece tarımsal bir atık olan ceviz yeşil kabuğunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. EKSTRAKSİYON

Ekstraksiyon işlemi katı veya sıvı fazda bulunan hedef bileşiklerin sıvı çözücü fazına alınma işlemi olarak tanımlanabilir. Sıvı-sıvı ve katı-sıvı ekstraksiyonu olarak iki farklı uygulama şekli mevcuttur. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda; bir çözeltilinin içerisinde çözülmüş halde bulunan bir madde çözeltiliye karışmayan başka bir sıvı olan çözücüyle temas ettirilerek ayrıştırılır. Kimya, petrol rafinerileri ve farmasötik endüstrilerinde uygulamaları vardır. Katı-sıvı ekstraksiyonunda öğütülmüş katı örneğin sıvı çözücü ile muamele edilmesi yolu ile katı matriksin sıvı çözücüye geçmesi sağlanır. Katı-sıvı ekstraksiyonunda ise katı matrikste bulunan bir veya birkaç maddenin sıvı çözücüde çözülerek katı içerisinden ayrıştırılması sağlanır (Yağcıoğlu, 2015). Katı-sıvı ekstraksiyonunda temel basamakları şöyledir;

1. Sıvının katı matris içine girişi,
2. Bileşenlerin çözücü içerisinde çözünmesi
3. Çözünen bileşenlerin çözücü ile birlikte katı matristen çözeltiliye taşınması
4. Çözeltilinin katı fazdan ayrılması
5. Çözeltiden ekstrakte edilen maddelerin ayrıştırılması (Yağcıoğlu, 2015).

Ekstraksiyon basamağı, pek çok analitik işlemin vazgeçilmez bir parçasıdır. 1879 yılından beri F. Soxhlet ekstraksiyonunun günümüzde hala laboratuvarların çoğunda kullanılmasına rağmen, son yıllarda gelişmiş ekstraksiyon tekniklerinin yaygınlaştığı görülmektedir. Bu durumun başlıca nedenleri yeni tekniklerin otomasyona elverişliliği, ekstraksiyon süresinin kısalabilmesi, organik çözücü tüketiminin düşürülebilmesi, analitik laboratuvarlarında kirliliğin önlenmesi ve örnek hazırlama maliyetinin düşmesidir (Büyüktuncel, 2012)

Günümüzde yeni teknolojilerin gelişmesiyle birlikte, yeni ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir. Bunlar; mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SAE), basınçlı sıvı ekstraksiyonu (BSE), ultrases destekli ekstraksiyonu (UEA) gibi teknikler almıştır. Bu teknikler arasındaki benzerlik, ekstraksiyon olayının hızını önemli ölçüde arttıran, yüksek sıcaklık ve basınçta çalışma olasılığıdır (Büyüktuncel, 2012).

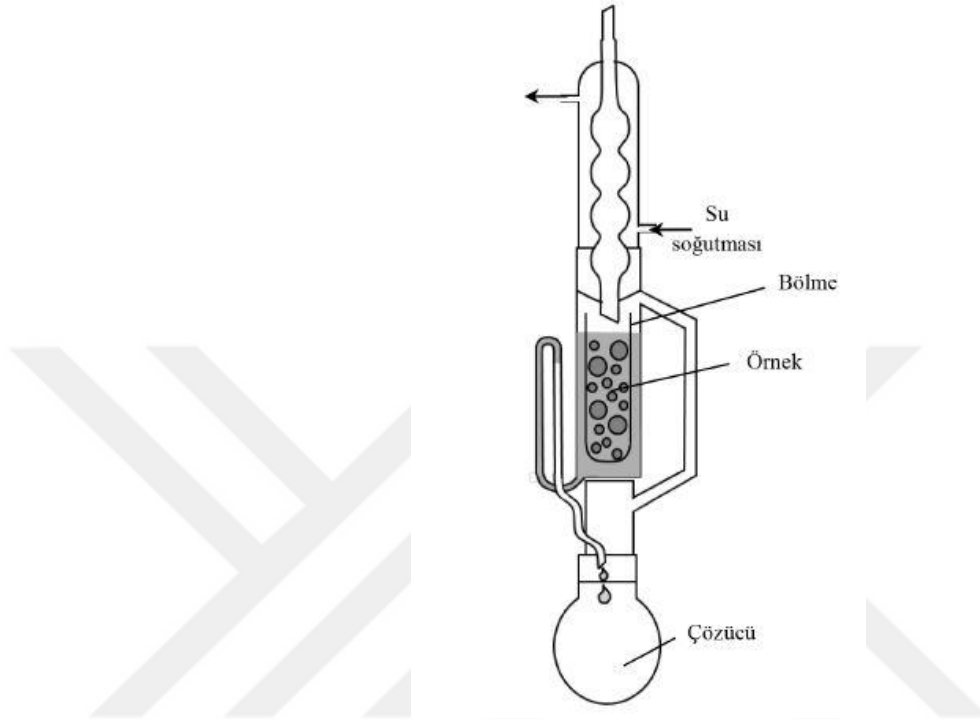
Ekstraksiyon hızını etkileyen faktörler:

- **Sıcaklık:** Yüksek sıcaklık, çözücünün difüzyon hızını artırarak çözücü ve matriks arasındaki etkileşimi artırır. Ancak gıdaların birçoğu yüksek sıcaklıktan olumsuz etkilendiği için dikkat edilmelidir. Düşük sıcaklık kaviteasyonu artırır.
- **Ekstraksiyon süresi:** Uzun ekstraksiyon süresi ekstraksiyon verimini artırır fakat uzun ekstraksiyon süresi ekstrakte edilen bileşikte istenmeyen değişikliklere (oksidasyon vb.) neden olabilir.
- **Çözücü cinsi, hacmi ve akış hızı:** Viskoz çözücü kaviteasyonu azaltır. Ekstraksiyon uzun süre yüksek sıcaklıkta yapılırsa uçucu özellikteki çözücü buharlaşabilir. Çözücü içindeki hedef bileşiğin polaritesi ve çözünürlüğü ekstraksiyon hızına etki eder. Buhar basıncı ve yüzey gerilimi kaviteasyonu etkiler. Çözücünün akış hızının artması ekstraksiyon hızının da artmasını sağlar. Bu amaç için mekanik karıştırıcılar kullanılabileceği gibi pompalarda kullanılabilir. Özellikle gıdanın yapısına zarar gelmesini istemediğimiz zaman pompa kullanımını tercih edilmelidir.
- **Partikül boyutu:** Matrisin ön işleme önemlidir ve ekstraksiyon verimliliğini etkiler. Partikül çapı küçüldükçe yüzey alanını genişlediğinden ekstraksiyon verimi artmaktadır.
- **Döngü sayısı:** Ekstraksiyonun % 100 verimle gerçekleşebilmesi için sonsuz sayıda döngüye gereksinim vardır (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2014; Tiwari, 2015; Chemat, 2017).

2.1 Soxhlet Ekstraksiyonu

1879'da F. Soxhlet, uzun zamandır en çok kullanılan ekstraksiyon tekniğine sahip yeni bir ekstraksiyon sistemi (Soxhlet ekstraktör) geliştirmiştir. Aslında, Soxhlet ekstraksiyonu bir asırdan uzun süredir standart bir teknik olmuştur. Son birkaç on yıl boyunca rapor edilen değişikliklerin çoğu, Soxhlet'in katı örnek hazırlama için daha yeni tekniklere yakınlaştırılması, yardımcı enerjilerin kullanımı ile ekstraksiyon sürelerinin kısaltılması ve ekstraksiyon düzeneğinin otomasyonu amaçlanmıştır (De Castro ve Priego-Capote, 2010).

Soxhlet ekstraksiyonu, katı veya yarı-katı numuneler için elverişlidir. Soxhlet ekstraktörü, en eski ekstraksiyon sistemlerinden biridir ve hala geniş ölçüde kullanılmaktadır (Büyüktuncel, 2012). Özel bir cihazda gerçekleştirilir (Şekil 2).



Şekil 2. Soxhlet ekstraktör cihazı

Soxhlet ekstraktörü, bir solvent şişesi, orta çemberde bir sıvı akış borusu (sifon), soğutulan bir kondansör (yoğuşturucu) ve ısıtma sisteminden oluşmaktadır. Katı örnek, orta çemberin içindeki ekstraksiyon haznesinin içerisine, çözücü ise bunun altındaki solvent şişesinin içine yerleştirilir. Çözücü ısıtılarak kaynatılır ve kaynayan çözücünden gelen buharlar kondansatöre doğru hareket eder. Burada buhar yoğunlaşır, örneğin üzerine damlar. Damlayan çözücü örneği ıslatır ve biriken çözücünün seviyesi sifonun tepesine ulaşınca, çözücü tüm örnek haznesini boşaltarak, çözücü şişesine geri dönmeye başlar. Böylece sıcak çözücü birkaç kere örnek içerisinde sirküle olur. Ekstrakte olan bileşenler çözücü şişesinin içinde kalırken, sadece temiz çözücü buharlaştığından, her dolaşımında taze çözücü kullanılmış olur. Ekstraksiyon süresi genellikle 6 ile 24 saat arasında olup büyük miktarda çözücü (100-500 mL) kullanılmaktadır. Ekstraksiyon çözücüleri genelde saf organik çözücüler veya bunların karışımlarıdır. Soxhlet ekstraksiyonu, organik

bileşiklerin katı örneklerden ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Bileşikler, çözücünün kaynama sıcaklığında bozunmamalıdır (Büyüktuncel, 2012). Soxhlet ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1. Soxhlet ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları (Büyüktuncel, 2012)

SOXHLET EKSTRAKSİYONU	
AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
<ul style="list-style-type: none">• Fazla miktarda örnek kullanılabilmesi• Matriksten bağımsız olması• Filtrasyona ihtiyaç duymaması• Basit metodu oluşu• Ucuz ekipman kullanımı	<ul style="list-style-type: none">• Kullanılan organik çözücünün miktarının fazlalığı (100-500 mL)• İşlem süresinin uzunluğu (6-24 saat)• Ekstraksiyon sonrası buharlaştırma/konsantrasyon işlemine ihtiyaç duyulması

Soxhlet ekstraktörlerinin modern versiyonları geliştirilmiştir. Bunlar; sürekli Soxhlet ekstraksiyonu, basınçlı Soxhlet ekstraksiyonu, otomatikleştirilmiş Soxhlet ekstraksiyonu, ultrases destekli Soxhlet ekstraksiyonu ve mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyonudur (De Castro ve Priego-Capote, 2010).

Santos ve diğ. (2010) Brezilya jabuticaba -tomurcuk meyvesi- (*Myrciaria cauliflora*) kabuğundan ultrases destekli, akışkan yatak ve etanol ile asitlendirilen Soxhlet ekstraksiyonu ile antioksidan aktivite, toplam fenolik madde, toplam monomerik antosiyanin ekstraksiyonu çalışması gerçekleştirmişlerdir. Bu yöntemler verim, bileşim ve ekonomik fizibilite açısından karşılaştırılmıştır. Akışkan yatak ve ultrases destekli ekstraksiyon, Soxhlet ekstraksiyonuna (asitlenmiş ve asitlendirilmemiş) göre düşük sıcaklıklarda çalışma imkânı sunup zaman tasarrufu sağlarken verimi arttırmıştır. Bu sebeple Soxhlet ekstraksiyonu tercih edilmemiştir.

2.2 Basınçlı Sıvı Ekstraksiyon (BSE)

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu, hızlandırılmış çözgen ekstraksiyonu, basınçlı akışkan ekstraksiyonu, basınçlı sıcak çözgen ekstraksiyonu, yüksek basınçlı çözgen ekstraksiyonu, yüksek basınç yüksek sıcaklıkta çözgen ekstraksiyonu ve subkritik çözgen ekstraksiyonu olmak üzere farklı isimlerle de kullanılmaktadır (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2014). Basınçlı sıvı ekstraksiyonu ilk olarak 1995 yılında tanımlanmıştır. Bu teknikte, yüksek basınç (4-20 MPa) ve sıcaklıktaki (50-200°C) organik çözücüler

ya da su çözücü olarak kullanılabilir. Bu metotta ile katı bir numune paslanmaz çelik bir kap içerisinde ekstraksiyon çözücüsü ile doldurulur ve ısıtılır. Örnek bu sistemde 5-10 dakika boyunca statik ekstraksiyona tabi tutulur. Bu işlemin ardından, kalan çözücünün aynı işeye boşaltılması için sıkıştırılmış azot kullanılır. Tüm bu işlem örnek başına 12–25 dakika sürer ve 10 g'lık örnek için yaklaşık 15 mL çözücü kullanır (Tobiszewski ve diğ., 2009).

BSE'de verim ve seçiciliği etkileyen kritik faktörlerden en önemlisi ekstraksiyon sırasında uygulanan sıcaklıktır. Yüksek sıcaklıkların kullanımı, van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı ve dipol çekim gibi analit-örnek matriksi etkileşimlerinin bozulmasına yardımcı olarak ekstraksiyon verimini iyileştirir (Büyüktuncel, 2012).

BSE yöntemi katı ve yarı katı örneklerin ekstraksiyonu için geliştirilmiş bir yöntem olup toprak, tortu veya gıda örnekleri için uygundur (Büyüktuncel, 2012). BSE yöntemi polifenollerin ekstraksiyonu, lipit ekstraksiyonu, esansiyel yağların ekstraksiyonu gibi pek çok alanda kullanılabilir (Çam ve Hışıl, 2006).

Bir BSE sistemi genel olarak bir fırın, ekstraksiyon hücresi, pompa ve basınç altında tutan sistem, birkaç vana ve toplama kaplarından meydana gelir. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu statik, dinamik veya bunların birleşimini uygulayan sistemlerle gerçekleştirilebilir. Dinamik sistemde, çözücü örneğin içinden akar. Statik sistemde ise ekstraksiyon manuel olarak kapalı bir kapta gerçekleştirilir. BSE sisteminde toplanan hacim miktarı hücre büyüklüğüne göre değişkenlik gösterir ve 10-100 mL arasında değişebilir. Bu yüzden son ekstraktı konsantre etmek için buharlaştırma basamağı gerekmektedir. Ekstraksiyon verimi örnek matriksinin yapısına, ekstrakte edilen bileşiğe, bu bileşiğin matriks içindeki konumuna bağlıdır. Gıda ve biyolojik numunelerin analizinde BSE tekniği kontaminatların ekstraksiyonu ve ortamdaki bileşenlerin izolasyonu için kullanılır (Çam ve Hışıl, 2006). Basınçlı sıvı ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları Tablo 2'de verilmiştir.

Arapitsas ve Turner (2008) kırmızı lahanadan antosiyanin ekstraksiyonu için % 5 etanol içeren basınçlı sıcak suyu ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanmışlardır. Ekstraksiyon parametreleri sıcaklık (80-120 °C), örnek miktarı (1–3 g), ekstraksiyon süresi (6-11 min), ekstraksiyon çözücüsünde formik asit konsantrasyonu (% 0-5

hacim) olarak seçilerek optimizasyon yapılmıştır. Antosiyanin ekstraksiyonu için en iyi işlem koşulları 2,5 g örnek miktarı, 99 °C (50 bar'da), 7 dakika ekstraksiyon süresi ve 94/5/1 su/etanol/formik asit (v/v/v) solvent kompozisyonu olarak tespit edilmiştir.

Tablo 2. Basınçlı sıvı ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2014)

BASINÇLI SIVI EKSTRAKSİYONU	
AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
<ul style="list-style-type: none">• Filtrasyona ihtiyaç duyulmaması• Kısa ekstraksiyon süresi (10-40 dakika)• Az çözücü kullanımı (20-50 mL)• Kolay kullanımının olması• Otomasyona uygunluğu• Farklı çözügen kullanımına imkân sağlaması	<ul style="list-style-type: none">• Yüksek maliyet• Matrikse bağımlı olması• Ekstraksiyon sonrası konsantrasyon ve temizleme basamağına ihtiyaç duyulması

2.3 Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SAE)

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu son yıllarda kullanılan en tekniklerden biridir. SAE'de, çözücü olarak süperkritik halde bulunan bir akışkan kullanılır. Süperkritik akışkan, kritik sıcaklığının üzerine ısıtılan ve kritik basıncı üzerine sıkıştırılan bir madde olarak tanımlanabilir (Luque de Castro ve diğ., 1994).

Süperkritik akışkanlar sıkıştırılabilir ve bu yüzden yoğunlukları geniş bir aralıkta değiştirilebilir. Yoğunluk ve diğer özellikleri, sıcaklık ve basıncın ayarlanmasıyla kolaylıkla değiştirilebilir. Bu sayede süperkritik akışkanların daha yüksek yoğunluğa getirilerek, daha iyi çözme kabiliyetine sahip olmaları sağlanabilir. Genellikle maddelerin süperkritik akışkanlardaki çözünürlüğü, sıvılardaki çözünürlüğünden daha yüksektir. Süperkritik akışkanlar farklı matriksler için mükemmel bir ekstraksiyon ortamı oluşturabilirler. Sıcaklık ve basınç değiştirilerek çözme gücüyle oynanmasıyla yüksek seçicilik de sağlanabilir. SAE'de, akışkan sürekli olarak örnek içinden geçmeye zorlandığından tam bir ekstraksiyon sağlanabilir (Zougagh ve diğ., 2004).

Süperkritik akışkan olarak en popüler çözücü düşük kritik parametreleri ($T_c = 32 \text{ }^\circ \text{C}$, $P_c = 72 \text{ atm}$), yüksek saflıkta bulunması, düşük toksisitesi, düşük maliyeti ve büyük moleküller dâhil olmak üzere geniş bir organik yelpazeyi çözme kabiliyeti nedeniyle karbondioksit kullanılır (Tobiszewski ve diğ., 2009).

Karbondioksitin non-polar olmasından dolayı içerisine çeşitli modifikatörler eklenir (Zougagh ve diğ., 2004).

Süperkritik akışkan ekstraksiyon, basınç, sıcaklık ve akış hızı kontrolü sağlayan bir cihaz ile gerçekleştirilir. Ekstraksiyon genelde dinamik sistemle gerçekleştirilir. Ancak statik veya statik/dinamik birleştirilmiş uygulamaları da mevcuttur. Ekstrakt ya uygun bir solvent içinde veya katı-faz tuzağında (trap) toplanır. Genelde, SAE katı örneklerden organik analitlerin ekstraksiyonu için kullanılır (Büyüktünel, 2012).

Düşük kritik sıcaklığı sayesinde, buhar distilasyonuna gönderilemeyen, ısıya duyarlı bileşiklerin ekstraksiyonu için de kullanılabilir. Bu özelliklerden dolayı, sıvı gıda, boya, ilaç ve kozmetik endüstrisinde, yüksek saflık derecesinde nihai ürünler elde etmek için gerekli olan ideal bir çözücüdür (Cadoni ve diğ., 1999). Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Süperkritik akışkan ekstraksiyonun avantajları ve dezavantajları (Büyüktünel, 2012)

SÜPERKRİTİK AKIŞKAN EKSTRAKSİYONU	
AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
<ul style="list-style-type: none">• Ekstraksiyon süresinin kısalığı (20-60 dakika)• Çözücü kullanımının azlığı (10-20 mL)• CO₂ in toksik olmayan, alev almayan, çevre dostu ve ucuz bir çözücü olması• Sıcaklık, basınç ve modifikatörün değiştirilmesiyle seçiciliğin artırılması• Isıya duyarlı analitler için uygun olması• Otomasyona elverişli olması	<ul style="list-style-type: none">• Maliyetinin yüksek olması• Matriksten bağımsızlığı• CO₂ polar olmaması nedeniyle, polar analitlerin ekstraksiyondaki güçlük• Verimini artırmak için, modifikatöre ihtiyaç duyulması• Islak veya sıvı örnekler ve çözeltilerin ekstraksiyonunda güçlük

Cadoni ve diğ. (1999), olgun domates pulpu ve kabuğundan likopen ve β -karoten izolasyonunda kullanılan süperkritik karbondioksit ekstraksiyonunun bazı operasyonel parametrelerinin varlığını belirlemişlerdir. Ekstraksiyonlar, 2500 ile 4000 psi basınçlarda ve 40 ile 80 °C arasındaki sıcaklıklarda gerçekleştirilmiştir. Çıkarılan ürün 4000 psi ve 80 °C'de yaklaşık % 65'lik likopen ve % 35 β -karoten içermiştir. Likopen ve β -karoten, proses parametrelerine bağlı olarak süperkritik akışkanda farklı bir çözünürlük göstermiştir. Uygun çalışma parametreleri ile % 87 likopen ve % 13 β -karoten içeren bir ürün elde etmenin mümkün olduğunu bildirmişlerdir.

2.4 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MAE)

Mikrodalgalar 0,3 - 300 GHz frekans aralığında, 1m - 1 mm arasındaki dalga boylarında iyonize olmayan elektromanyetik dalgalardır. Ticari sistemlerde kullanılan frekans 2450 MHz'dir. Gıda işleme amacıyla yıllardır farklı amaçlar için kullanılan mikrodalga, ekstraksiyon verimini arttırmak için de kullanılabilir (Camel, 2000).

Mikrodalga enerjisini kullanarak ısıtma prensibi, iyonik iletim ve dipol dönüşü ile mikrodalgaların moleküller üzerindeki doğrudan etkisine dayanmaktadır. Birçok uygulamada, bu iki mekanizma eşzamanlı olarak gerçekleşir. Elektromanyetik alan uygulandığında iyonik iletken iyonların elektroforetik göçüdür. Çözeltinin bu iyon akışına direnci, sürtünme ile sonuçlanacak ve böylece çözeltiyi ısıtır. Dipol dönüşü, uygulanan alanla birlikte dipollerin yeniden hizalanması anlamına gelir (Eskilsson ve Björklund, 2000).

MAE'de, polar kimyasalların dielektrik sabiti ile bağlantılı olarak mikrodalga enerjisi absorblama yeteneği prensibi etkindir. Klasik ısıtmanın aksine mikrodalgada ısıtmada örneğin tamamı aynı anda, homojen ve hızlı ısıtılmaktadır. Hücreler, içerisindeki su sayesinde mikrodalga ışınları tarafından ısıtılır ve buharlaşma meydana gelir. Buharlaşmayla hücre duvarına basınç uygulanır. Hücre duvarı bu yüksek basınçta parçalanır ve bileşenlerin çözücüye geçişi sağlanır (Camel, 2000; Lopez-Avila, 1999).

MAE işleminde en önemli parametrelerden biri çözücü çeşididir. Dipol hareketi büyük olan çözücüler daha hızlı ısınır. Bitkisel kaynaklardan fenolik madde ekstraksiyonunda en sık kullanılan çözücüler dipol hareketlerine göre şu şekilde sıralanabilir; asetonitril>metanol>aseton>etil asetat>su>etil alkol>hekzan. Non-polar bir çözücü olan hekzan (dipol hareket<0.1) mikrodalga içinde ısınmaz. Böyle durumlarda non-polar çözücünün polar çözücü ile karıştırılarak kullanılması tavsiye edilir (Lopez-Avila, 1999).

MAE iki farklı şekilde uygulanmaktadır. En çok kullanılan yöntem, sıcaklık ve basıncın kontrol edilebilebildiği kapalı bir kap içerisinde gerçekleştirilen kapalı sistem ekstraksiyonudur. Diğer yöntem ise atmosferik basınç altında açık kap içerisinde gerçekleştirilen ekstraksiyondur (Lopez-Avila, 1999).

Mikrodalga destekli ekstraksiyonun seçiciliği düşüktür. Örneğin içinde bulunan maddelerin tamamı ekstrakte edildiğinden seçici bir ekstraksiyon tekniği değildir ve ekstraksiyondan sonra ayrıştırma basamağı gereklidir (Lopez-Avila, 1999).

MAE uygun olan çözücü seçimiyle, organik bileşikleri parçalamak ve yükseltmek için kullanılır. Ekstraksiyon genellikle 20-50 mL çözücü gerektirir (Büyüktuncel, 2012).

İnce ve diğ. (2013) melisa bitkisinden mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemini kullanarak fenolik madde ekstraksiyonu yaptıkları araştırmada laboratuvar tipi mikrodalga fırın kullanarak ekstraksiyon yapmışlardır. Araştırmada mikrodalga gücü 400 W olarak seçilmiş, 5-10-15-20 dakika süreler ve 1:10, 1:20, 1:30 g/mL olarak farklı çözücü oranları kullanılmıştır. Çözücü olarak suyun kullanıldığı araştırmada en yüksek toplam fenolik miktarı 5 dakika süre ve 1:30 çözücü oranında elde edilmiştir. Çalışmada, MAE; ultrases destekli ekstraksiyon, klasik ekstraksiyon ve maserasyon yöntemleri ile karşılaştırılmış olup toplam fenolik maddenin ve antioksidan aktivitesinin en yüksek MAE ile gerçekleştiği bulunmuş olup ekstraksiyon süresinin % 83 kısaldığı belirtilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyonunun avantajları ve dezavantajları Tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. Mikrodalga destekli ekstraksiyonun avantajları ve dezavantajları (Büyüktünel, 2012; Tobiszewski ve diğ., 2014)

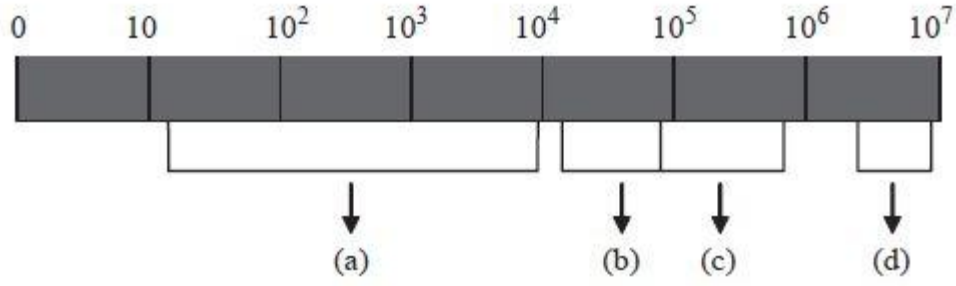
MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYON	
AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
<ul style="list-style-type: none">• Ekstraksiyon süresinin kısalığı (10-30 dakika)• Az çözücü kullanımı (25-50 mL)• Yüksek sıcaklıkta çalışma• Ekstraksiyon parametrelerinin kontrol edilebilmesi (zaman, güç, sıcaklık)• Kurutucu ajanlara ihtiyaç duyulmaması	<ul style="list-style-type: none">• Kullanılan çözücülerin mikrodalga ışımasını absorplaması (polar solventler)• Ortamda bulunan herşeyin ekstrakte edilmesi nedeniyle ayrıştırma işlemine gerek duyulması• Maliyetin yüksekliği

2.5 Ultrases Destekli Ekstraksiyon (UAE)

Ultrases teknolojisi, insan kulağının işitme eşiğinin (>16 kHz) üzerindeki frekanslara sahip mekanik dalgalara dayanır. Bu dalgalar, bir malzemenin yığınınından veya yüzeyinden, dalganın niteliğine ve onu geçirdiği malzemeye özgü bir hızda yol alır (Soria ve Villamiel, 2010).

Ultrases, ses dalgalarının saniyede 20.000 veya daha fazla titreşim gerçekleştirerek enerji oluşturmasıdır. Gıda sanayinde ultrases uygulamaları ise genellikle 20 kHz - 1 MHz arasında kullanılmaktadır (Büyüktünel, 2012).

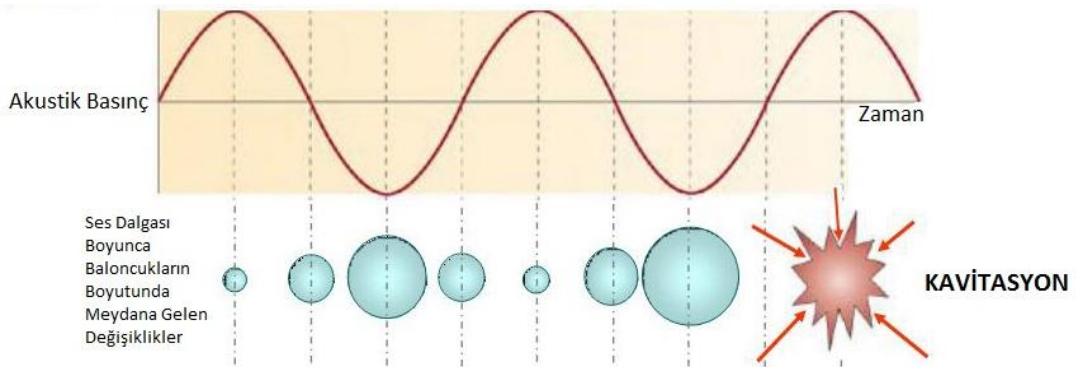
Ultrases farklı frekans aralıklarına bölünebilir (Şekil 3). Yakın zamana kadar, gıda teknolojisinde ultrases uygulamalarının çoğu, özellikle kalite değerlendirmesine atıfta bulunan parçalayıcı özelliği olmayan analiz özelliği ile ilgilidir. Bu tür uygulamalarda düşük frekans (100 kHz-1 MHz) ve düşük güç kullanılmaktadır (tipik olarak <1 W/cm²). Düşük yoğunluklu ultrases sıklıkla sertlik, olgunluk, şeker içeriği, asidite vb. gibi gıdaların fiziko-kimyasal özellikleri hakkında bilgi vermek için analitik bir teknik olarak uygulanır (Demirdöven ve Baysal, 2008).



Şekil 3. Ses frekans aralıkları

(a) Duyma eşiği: 16 Hz-18 kHz; (b) Ultrases yaygın kullanım alanı: 20 kHz ila 100 kHz arasında; (b) ve (c) arası: Sonokimya kullanım alanı: 20 kHz-1 MHz; (d) Tanılayıcı ultrases: 5 MHz - 10 MHz (Demirdöven ve Baysal, 2008).

Sıvı sistemler üzerindeki ultrases etkileri esas olarak kavitasyon olgusu ile ilgilidir (Şekil 4). Ultrases, ortamın molekülleri üzerinde uyarılan bir dizi sıkıştırma ve gevşetme dalgaları vasıtasıyla iletilir. Yeterince yüksek bir güce ulaşıldığında, gevşetme çevrimi sıvı moleküllerin çekme kuvvetlerini aşarak sıvı içerisinde bulunan gaz çekirdeklerinden kavitasyon kabarcıkları oluşabilir. Sıvı boyunca dağılan bu kabarcıklar, kararsız hale gelene ve şiddetle çökene kadar birkaç döngü boyunca kritik bir boyuta kadar büyür (Soria ve Villamiel, 2010).

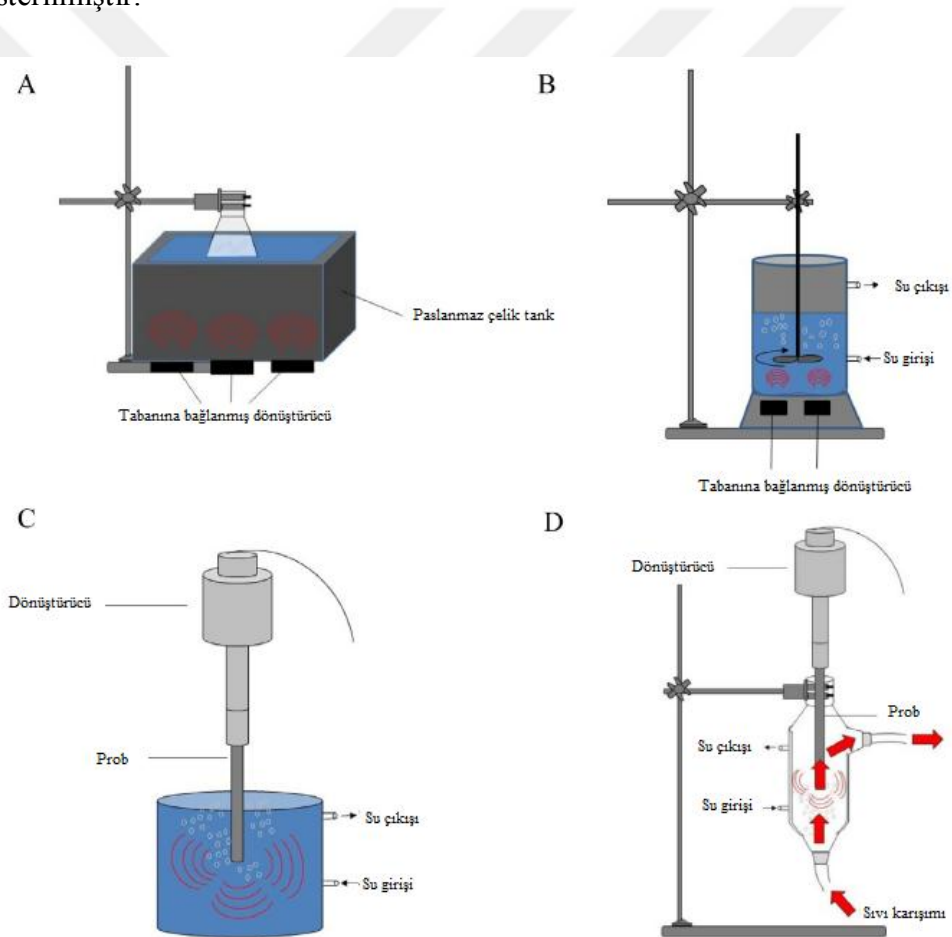


Şekil 4. Ultrasonik kavitasyon (Tüfekçi, 2014)

Yüksek yoğunluklu ultrases, gıda biyoaktif maddelerinin ekstraksiyon işlemini iyileştirmek için endüstriyel olarak uygun olan ucuz, tekrarlanabilir, basit ve etkili alternatif bir yöntem olarak kullanılır. Ultraseste yer alan tüm mekanik etkiler,

girdabı ve iç difüzyonu hızlandırabilir ve bu da, artmış bir kütle transferi oluşturur ve örnek matrisine daha fazla çözücü girmesine izin verir. Yüzey kuru ise, hücre duvarının gözeneklerinin genişlemesine neden olabildiğinden şişme ve hidrasyonu kolaylaştırmak için ultrases kullanılabilir. İçerikleri serbest bırakmayı kolaylaştırmak için ultrases olarak kavitasyon sırasında biyolojik hücre duvarlarının parçalanmasından ilave faydalar oluşur. Ayrıca, genellikle UAE’de kullanılan ılımlı çalışma koşulları, yapısal/moleküler özelliklerde ve işlevsellikte önemli bir değişiklik göstermemektedir. Isıya duyarlı gıda bileşenleri söz konusu olduğunda bu önem arz etmektedir (Soria ve Villamiel, 2010).

Ultrases destekli ekstraksiyon için kullanılan sistemler Şekil 5’te gösterilmiştir.



Şekil 5. Ultrases destekli ekstraksiyon için kullanılan sistemler

A-Ultrases banyo B-Karıştırıcı ultrasonik reaktör C-Ultrases prob D-Ultrases prob ile sürekli sonikasyon (Chemat, 2017)

Ultrases cihazları alternatif akımı bir dönüştürücü yardımıyla mekanik titreşimlere çevirirler. Ultrasonik banyolar, paslanma çelik tanklar olup duvarında bir ya da daha çok dönüştürücü mevcuttur. Ekonomik, kullanımı kolay ve çok amaçlı cihazlardır. Ultrases işlemi uygulanacak maddeler banyo içerisine yerleştirilir. Madde içerisine uygulanan maksimum güç genellikle 1-5 W/cm² kadardır (Chemat, 2017).

Proflu ultrases uygulamaları doğrudan solventin içerisine uygulanmaktadır ve yüksek güç kullanımına imkan verir. Bundan dolayı bu sistemler küçük hacimli sistemlerde kullanılmaktadır. Proflu ultrases cihazlarının üstünlüğü ise lokalize enerjiden dolayı daha verimli kaviteasyon sağlanmasıdır (Chemat, 2017). Ultrases destekli ekstraksiyonun avantajları ve dezavantajları Tablo 5'te verilmiştir.

Tablo 5. Ultrases destekli ekstraksiyonun avantajları ve dezavantajları (Büyüktuncel, 2012)

ULTRASES DESTEKLİ EKSTRAKSİYON	
AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
<ul style="list-style-type: none"> • Fazla miktarda örnek kullanımı • Matriksten bağımsız olması • Ekstraksiyon süresinin kısalığı (2-20 dakika) • Maliyetinin düşüklüğü • Kolay kullanımı • Çevre dostu olması 	<ul style="list-style-type: none"> • Çok miktarda çözücü kullanılması(20-200 mL) • Filtrasyona ihtiyaç duyulması • Örneğin ve içerisine yerleştirildiği çözücünün işlem sırasında ısınması

Pingret ve diğ. (2012) elma posasından antioksidan açısından zengin ekstraktlar üretmek için ultrases destekli ekstraksiyon yöntemini kullanmıştır. Polifenollerin ekstraksiyonu için yanıt yüzey metodolojisi ile elde edilen optimum koşullar 40 °C, 40 dakika ve 0,764 W / cm² olarak belirlenmiştir. UAE ile elde edilen toplam fenolik madde içeriği, geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen toplam fenolik madde içeriğinden % 30 daha yüksek olduğu görülmüştür. Ayrıca, ultrases ile elde edilen ekstraktlar, daha yüksek antioksidan aktivite göstermiş ve başlıca polifenollerin uygulanan koşullar altında bozulmadığını ortaya çıkarmışlardır.

3. CEVİZ YEŞİL KABUĞUNDAN FENOLİK MADDE EKSTARKSİYONU ÜZERİNE YAPILAN ÇALIŞMALAR

Oliveira ve diğ. (2008), beş farklı çeşitte (Franquette, Mayette, Marbot, Mellanaise ve Parisienne) ceviz (*Juglans regia* L.) yeşil kabuğundan ekstraktların toplam fenol içeriği, antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Ekstraktların antioksidan kapasitesi, DPPH radikalleri ve β -karoten linoleat model sistemi ile değerlendirilmiştir. Analiz edilen tüm ekstraktlar için EC_{50} değerleri 1 mg/mL'den daha düşük olan güç ve DPPH analizlerinin azaltılmasında konsantrasyona bağlı bir antioksidatif kapasiteyle doğrulanmıştır. Antimikrobiyal kapasite Gram pozitif, Gram negatif bakterilere ve mantarlara karşı taranmıştır. Tüm ekstraktlar, Gram pozitif bakterilerin büyümesini inhibe etmiştir. Elde edilen sonuçlar, ceviz yeşil kabuklarının, sağlığı koruyucu potansiyelinin olduğunu ve antimikrobiyal aktivitesinin göze çarpan bir bileşik kaynağının elde edilmesinde önemli olabileceğini göstermiştir.

Popovici ve diğ. (2012), süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile ceviz (*Juglans regia* L.) yeşil kabuklarının biyoaktif bileşiklerinin ekstraksiyonunu çalışmışlardır. Çalışmada sıcaklık, zaman ve basınçları içeren bazı ekstraksiyon koşullarının etkisi incelenmiştir. Elde edilen ceviz yeşil kabuğu ekstraktının ekstraksiyon verimleri, antioksidan aktivitesi (DPPH), toplam fenolik madde içeriği karakterize edilmiştir. Çalışmada, fenolik asitler, flavonoidler, karotenoidler ve klorofil de dâhil olmak üzere, ceviz yeşil kabuklarında bulunan ana bileşikleri belirlenmiştir. Bu çalışmada, ceviz yeşil kabuğundan süperkritik karbondioksit ile iyi bir antioksidan aktivite ve verim ile ekstrakt üretilebildiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmada, ceviz yeşil kabuğunun ekonomik bir antioksidan bileşik kaynağı olarak potansiyelinin olduğu da gösterilmiştir.

Ghasemi ve diğ. (2011), İran'ın 11 farklı coğrafi bölgesinden elde edilen ceviz (*Juglans regia* L.) yeşil kabuklarının ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri, fenolik ve flavonoid içerikleri belirlenmiştir. Ekstraktların antioksidan aktivite değerleri BHA, kuersetin ve C vitamini ile karşılaştırılmış ve tüm ekstraktlar standartlardan daha zayıf bulunmuştur. Ekstraktın toplam fenolik içeriği 15,15-108,11 mg GAE/g

ekstrakt ve flavonoid içerikleri 3,59-22,91 mg QE/g ekstrakt (mg kuersetin eşdeğeri/g ekstrakt) olarak bulunmuştur. Analiz edilen tüm ekstraktlar arasında Abali örneği, örneklere göre anlamlı derecede daha yüksek fenolik ve flavonoid içeriğine sahip olarak bulunmuştur (p <0.05).

Fernández-Agulló ve diğ. (2013), ceviz (*Juglans regia* L.) yeşil kabuğunun antioksidan ve antimikrobiyal özelliklerine sahip doğal bileşiklerini elde etmek için çözücünün (su, metanol, etanol ve % 50 metanol ve % 50 etanol çözeltilerinin) ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi ve biyoaktif özelliklerini araştırmıştır. En yüksek ekstraksiyon verimi su (% 44,11) ile elde edilmiştir. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi değerlendirilmiş, Gram pozitif bakterilerin büyümesini inhibe etme yeteneği görülmüştür. Elde edilen sonuçlar, ceviz yeşil kabuğunun ekonomik bir antioksidan ve antimikrobiyal madde kaynağı olarak potansiyeli olduğunu göstermiştir.

4. MATERYAL VE YÖNTEM

4.1 Materyal

Çalışmada kullanılan yeşil ceviz kabukları Denizli-Acıpayam'da bulunan bir üreticinin bahçesindeki Şebin türü ağaçtan temin edilmiştir.

Çalışmada kullanılan ekipmanlar; Vibra AJ 420 CE marka hassas terazi (İstanbul, Türkiye), Nüve NF1200R marka santrifüj (Ankara, Türkiye), PG Instruments T80 UV/VIS spektrofotometre (Lutterworth, İngiltere), Bosch MMR08A1 marka doğrayıcı (Almanya), Yellow line TTS 2 vorteks (Lille, Fransa), Bandelin Sonoplus HD 3400 marka ultrasonik prob (Berlin, Almanya), Bandelin DL510H marka ultrasonik banyo (Berlin, Almanya), WiseBath WB-22 marka su banyosu (İstanbul, Türkiye), Altus AL 370 EY marka buzdolabı (İstanbul, Türkiye), Memmert UNB 400 marka etüvdür (Schwabach, Almanya).

Analizlerde kullanılan kimyasallar; gallik asit (\geq % 98), etanol (\geq % 99,9), Folin-Ciocalteu fenol reaktifi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), sodyum karbonat (Na_2CO_3), 6-hydroxy-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (Troloks); Carl Roth GmbH +Co. KG (Karlsruhe, Almanya), ISOLAB Laborgeräte GmbH (Wertheim, Almanya), Merck KGaA (Darmstadt, Almanya), Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Tüm analizlerde saf su cihazından (TKA-Pasific, Almanya) elde edilen saf su kullanılmıştır.

4.2 Yöntem

4.2.1 Örneklerin hazırlanması

Yeşil ceviz kabukları gölgede 10 gün kurutulup ve mutfak tipi doğrayıcı (Bosch MMR08A1, Almanya) ile parçalanmıştır. Örneklerin başlangıç nem içerikleri 105 °C lik etüvde sabit tartıma gelinceye kadar beklenerek % 13,05 olarak tespit

edilmiştir. Parçalanmış kabuklar 1.00-2.24 mm boyutları arasındaki eleklerden elenerek polietilen torbalarda vakumlanarak buzdolabı koşullarında depolanmıştır.

4.3 Ekstraksiyon

4.3.1 Kinetik modelleme için ekstraksiyon

Kinetik modelleme için ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyonda 1 g ceviz yeşil kabuğu 40 mL etanol ile muamele edilmiştir. Farklı sıcaklık (20, 40 ve 60 °C), güç (% 30, 60 ve 90) ve etanol konsantrasyonlarında (% 0, 30 ve 60) ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra Whatmann no:4 filtre kağıdı ile kaba süzüntü alınmış ve 8000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz alınarak ve buzdolabı koşullarında (+4 °C) analiz yapılincaya kadar bekletilmiştir.

Kinetik modelleme için ultrasonik probda gerçekleştirilen ekstraksiyonda 1 g ceviz yeşil kabuğu 40 mL etanol ile muamele edilmiştir. Farklı sıcaklık (20, 40 ve 60 °C), genlik (% 30, 60 ve 90) ve etanol konsantrasyonlarında (% 0, 30 ve 60) ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra Whatmann no:4 filtre kâğıdı ile kaba süzüntü alınmış ve 8000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Üst faz alınarak ve buzdolabı koşullarında (+4 °C) analiz yapılincaya kadar bekletilmiştir.

Analizler 3 paralel ve 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

4.3.2 Optimizasyon için ekstraksiyon

Optimizasyon işlemi için Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım seçilmiştir. Ultrasonik banyoda bağımsız değişkenler sıcaklık (X_1) (20, 45 ve 70 °C); etanol konsantrasyonu (X_2) (% 0, 30 ve 60); ultrasonik güç (X_3) (% 20, 60 ve 100) olarak seçilmiştir. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyonda 1 g ceviz yeşil kabuğu 40 mL etanol ile 45 dakika muamele edilmiştir. Sıcaklık yükselmesini

önlemek için buz kasetleri kullanılmıştır. Tablo 6’da 17 koşuldan oluşan deney deseni sunulmuştur. Ekstraksiyon işlemi sonrasında ekstraktlar 8000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiş, üst faz alınarak analizler gerçekleştirilene kadar +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Tablo 6. Ultrasonik Banyo Ekstraksiyonu İçin Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni

Deney no	Bağımsız Değişkenler					
	Gerçek değerler			Kodlanmış değerler		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
	Sıcaklık (°C)	Etanol konsantrasyonu (%)	Güç (%)	Sıcaklık (°C)	Etanol konsantrasyonu (%)	Güç (%)
1	45	30	20	0	0	-1
2	70	60	20	1	1	-1
3	45	0	60	0	-1	0
4	20	0	100	-1	-1	1
5	70	0	100	1	-1	1
6	20	30	60	-1	0	0
7	70	30	60	1	0	0
8	20	60	100	-1	1	1
9	20	0	20	-1	-1	-1
10	45	30	60	0	0	0
11	45	30	100	0	0	1
12	45	30	60	0	0	0
13	70	0	20	1	-1	-1
14	45	30	60	0	0	0
15	20	60	20	-1	1	-1
16	70	60	100	1	1	1
17	45	60	60	0	1	0

Ultrasonik probda bağımsız değişkenler sıcaklık (X₁) (20, 45 ve 70 °C); etanol konsantrasyonu (X₂) (% 0, 15 ve 30); ultrasonik genlik (X₃) (% 10, 50 ve 90) olarak seçilmiştir. Ultrasonik probda gerçekleştirilen ekstraksiyonda 1 g ceviz yeşil kabuğu 40 mL etanol ile 6 dakika muamele edilmiştir. Tablo 7’de 17 koşuldan oluşan deney deseni sunulmuştur. Ekstraksiyon işlemi sonrasında ekstraktlar 8000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiş, üst faz alınarak analizler gerçekleştirilene kadar +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Analizler 3 paralel ve 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

Tablo 7. Ultrasonik Prob Ekstraksiyonu İçin Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni

Deney no	Bağımsız Değişkenler					
	Gerçek değerler			Kodlanmış değerler		
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃
Sıcaklık (°C)	Etanol konsantrasyonu (%)	Genlik (%)	Sıcaklık (°C)	Etanol konsantrasyonu (%)	Genlik (%)	
1	70	0	90	1	-1	1
2	70	30	10	1	1	-1
3	20	0	10	-1	-1	-1
4	70	0	10	1	-1	-1
5	70	30	90	1	1	1
6	45	30	50	0	1	0
7	45	15	50	0	0	0
8	45	15	90	0	0	1
9	45	15	50	0	0	0
10	20	15	50	-1	0	0
11	20	30	90	-1	1	1
12	20	30	10	-1	1	-1
13	70	15	50	1	0	0
14	20	0	90	-1	-1	1
15	45	15	10	0	0	-1
16	45	15	50	0	0	0
17	45	0	50	0	-1	0

4.4 Analizler

4.4.1 Toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesi

Toplam fenolik madde içeriği analizi Folin-Ciocalteu yöntemine göre yapılmıştır. Singleton ve diğ. (1999)'ın uyguladığı yöntem ile analiz gerçekleştirilmiştir. Standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Uygun olarak seyreltilmiş (1:10 v/v) 300 µl ekstrakt çözeltisine 1500 µL 1N Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş ve 1200 µL % 7,5 (w/v) Na₂CO₃ çözeltisi eklenmiştir. Tüpler parafilm ile kapatılıp 10 saniye vorteks ile karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında karanlık ortamda 120 dakika bekletildikten sonra UV-VIS spektrometrede 760 nm'de absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği gallik asit cinsinden mg GAE/g örnek olarak verilmiş ve sonuçların ortalaması alınmıştır.

4.4.2 Antioksidan aktivitenin belirlenmesi

DPPH (1,1-difenil-2- pikrilhidrazil) serbest radikalini indirgeme kapasitesi analizi ile örneklerin antioksidan aktivite ölçümleri gerçekleştirilmiştir. DPPH radikal yakalama yöntemi Thaipong ve diğ. (2006)'nin metoduna göre yapılmıştır. Bu yöntemle göre 150 µL seyreltilmiş (1:10 v/v) ekstrakt üzerine 1,1 Abs değerinde DPPH radikalinden 2850 µL eklenmiş, tüpler parafilm ile kapatılıp vorteks ile 10 saniye karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında karanlık ortamda 60 dakika bekletilmiştir. UV-VIS spektrometrede absorbans değerleri 515 nm'de okunmuştur. Antioksidan aktivite Troloks eşdeğeri (mmol TE/g örnek) cinsinden verilmiş ve sonuçların ortalaması alınarak rapor edilmiştir.

4.5 Kinetik Modelleme ve İstatistiksel Analizler

Ekstraksiyon kinetiklerinin modellenmesinde Peleg modeli (Denklem 3.1'de) kullanılmıştır.

$$Y(t) = \frac{t}{\left(\frac{1}{k_1}\right) + \left(\frac{1}{k_2}\right)t} \quad (3.1)$$

Burada, Y(t): t zamanındaki ekstraksiyon verimi, (mg/g kuru örnek), t: ekstraksiyon zamanı (dakika), k_1 : Peleg hız sabiti (min.g kuru örnek/mg), k_2 : Peleg kapasite sabitidir (g kuru örnek/mg) (D'Alessandro ve diğ., 2014).

Peleg modelinin deneysel verilere uyumu tahmini standart hata (RMSE) (Denklem 3.2) ve χ^2 değerleri (Denklem 3.3) hesaplanarak belirlenmiştir.

$$RMSE = \left[\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (MR_{tahmini,i} - MR_{deneysel,i})^2 \right]^{1/2} \quad (3.2)$$

$$\chi^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{deneysel,i} - MR_{tahmini,i})^2}{N - n} \quad (3.3)$$

Burada, N deneysel veri sayısı, n kullanılan modeldeki katsayı sayısı olarak tanımlanmıştır (Sacilik, 2007).

4.5.1 İstatistiksel analizler

Ultrases destekli ekstraksiyon (ultrasonik banyo ve ultrasonik prob) sonuçlarının kinetik modellenmesi Microsoft Excel, yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu Stat-Ease Design Expert 11 sürümü yazılımları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Polinomdaki tüm terimlerin önemi $p < 0,05$ iken istatistiksel olarak farklı kabul edilmiştir. Modelin yeterliliği, belirleme katsayısını (R^2) hesaplanarak kontrol edilmiştir. Yanıtlar ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki yanıt yüzey grafikleri kullanılarak gösterilmiştir.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1 Antioksidan Aktivite ve Toplam Fenolik Madde Kinetikleri

5.1.1 Ultrasonik banyo ekstraksiyonu

Örneklerden ultrasonik banyo ile ultrases destekli ekstraksiyonu gerçekleştirilerek ekstraksiyon koşullarının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite kinetiklerine etkisi belirlenmiştir. Ekstraksiyon koşulları olarak etanol konsantrasyonu (% 0, 30 ve 60), sıcaklık (20, 40 ve 60 °C) ve ultrases gücü (% 30, 60 ve 90) seçilmiştir.

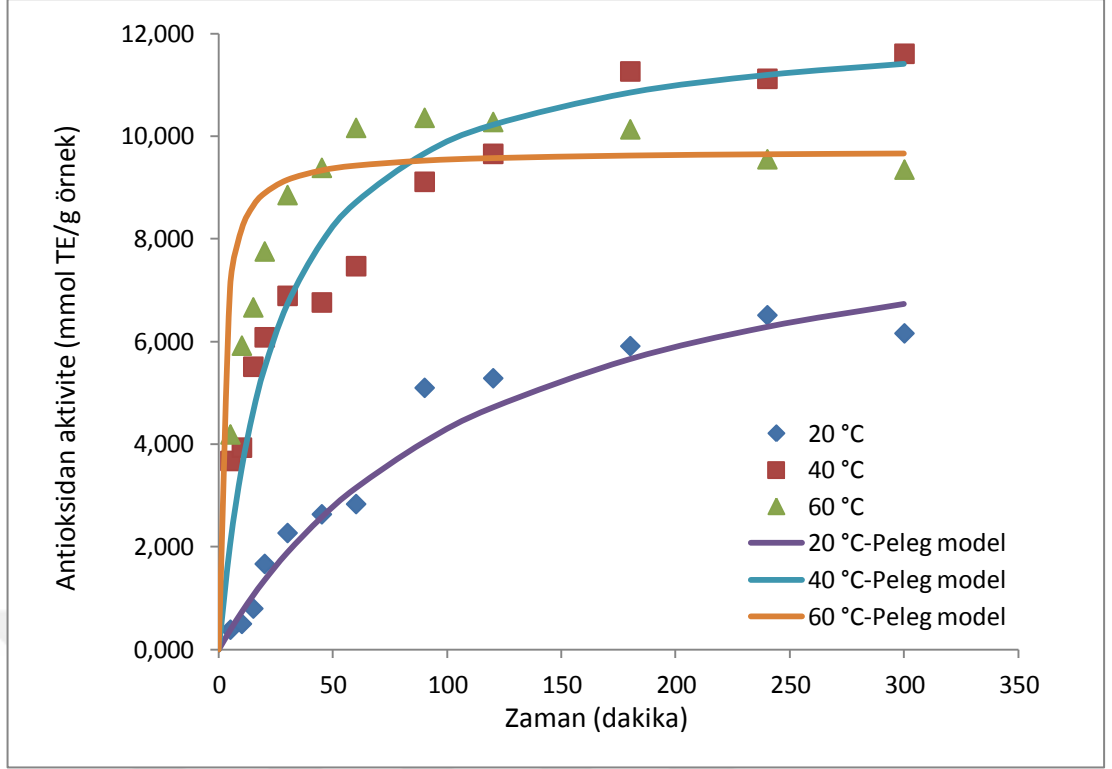
5.1.1.1 Antioksidan aktivite kinetiği

5.1.1.1.1 Sıcaklığın antioksidan aktiviteye etkisi

Ultrasonik banyo ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde sıcaklığın antioksidan aktiviteye etkisi Şekil 6'da verilmiştir.

Bu çalışmada en yüksek antioksidan aktivite değeri 40 °C'de elde edilmiştir. 60 °C'de gerçekleştirilen ekstraksiyonda başlangıçta yüksek antioksidan aktivite değerleri elde edilmiş olsa da ekstraksiyon süresi uzadıkça bu değerde azalma meydana gelmiştir.

Qu ve diğ. (2010) nar posasından antioksidan aktivite ve ekstraksiyon modelleme hakkında yaptıkları çalışmada ekstraksiyon sıcaklık artışının 25 °C'den 90 °C'ye kadar artışının antioksidan aktiviteye negatif etki yaptığını bildirmişlerdir. Miranda ve diğ., (2009) aloe vera jelindeki antioksidan aktivitesinin sıcaklığın artışı ile ters orantılı olduğunu belirtmişlerdir.



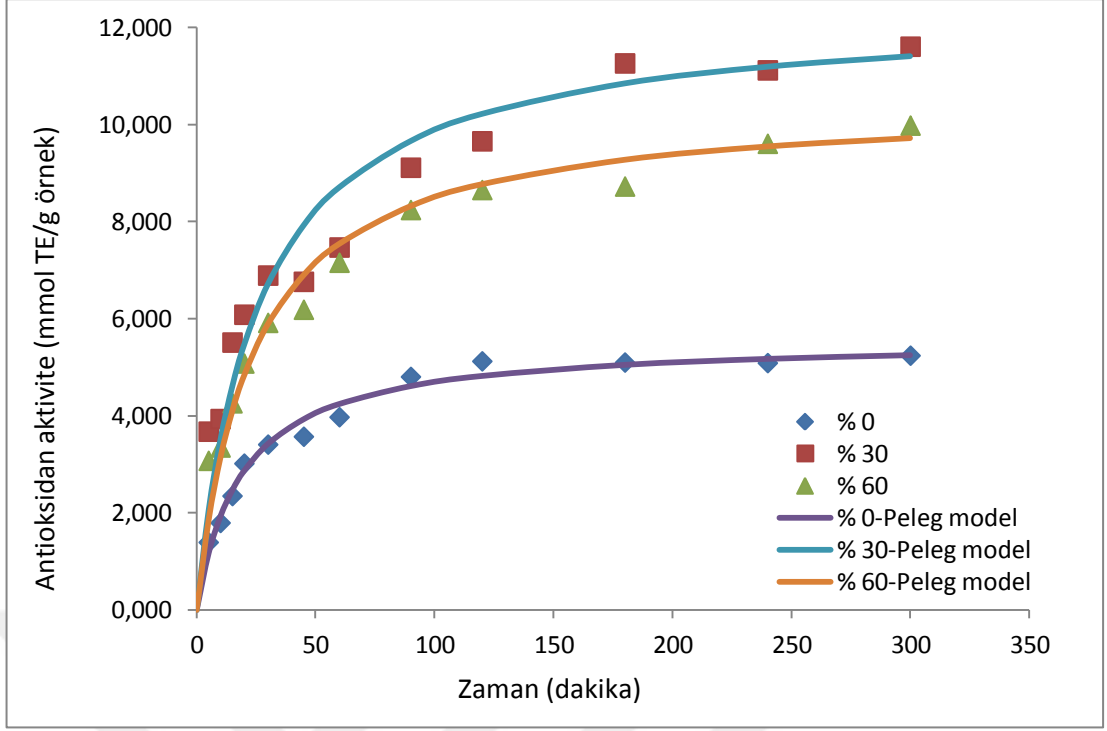
Şekil 6. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine sıcaklığın etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

Mevcut çalışma bulguları ve literatürdeki çalışmalarda yüksek sıcaklık değerlerinde elde edilen ekstraktlardaki antioksidan aktivite değerinin azaldığı görülmüştür (Qu ve diğ., 2010). Bunun sebebi; uzun süreli yüksek sıcaklık ekstraksiyon koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon ile üründe bulunan antioksidanların yüksek sıcaklıkta termal degradasyona uğraması olarak açıklanabilir.

5.1.1.1.2 Etanol konsantrasyonunun antioksidan aktiviteye etkisi

Ultrasonik banyo ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan etanol konsantrasyonunun antioksidan aktiviteye etkisi Şekil 7'de verilmiştir.

En yüksek antioksidan aktivite değeri % 30 etanol:su oranında elde edilmiştir. Artan etanol konsantrasyonu ile antioksidan aktivite değerinin azaldığı görülmüştür, % 60 etanol konsantrasyonunda elde edilen değer % 30 etanol konsantrasyonunda elde edilen değerden daha küçüktür (Şekil 7).



Şekil 7. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine etanol konsantrasyonunun etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

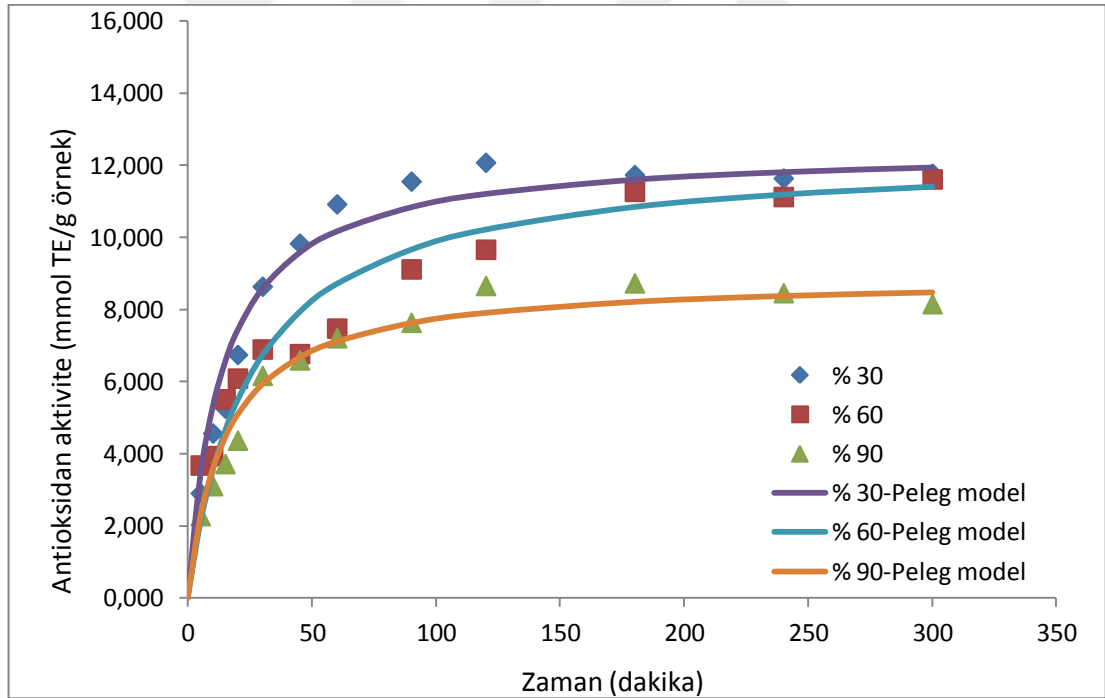
Bucić-Kojić ve diğ. (2009) üzüm çekirdeğinden yapmış oldukları çalışmada 80 °C'de elde edilen polifenollerin ekstraksiyon çözeltisinin farklı etanol:su (v/v) oranlarının (% 50, 70 ve 96) ve farklı sıcaklıkların (25, 40, 50, 60, 70 ve 80 °C) etkisini araştırmış olup, en yüksek antioksidan aktivite değerine 80°C'de ve % 50 etanol çözeltisinde ekstrakte edilen örnekte ulaşılmıştır. Do ve diğ. (2014) *Limnophila aromatica* ile yapmış oldukları çalışmada su ve farklı konsantrasyonlarda metanol, etanol ve aseton çözeltilerini (% 50, 75 ve 100) çözücü ekstraksiyonu için kullanmışlardır. En yüksek ekstraksiyon verimi % 50 aseton çözeltisi kullanılarak elde edilmiştir.

Literatürdeki çalışmalarda % 50 çözücü konsantrasyonunda en yüksek verim elde edilmiş ve % 50 çözücü konsantrasyonu üzerindeki değerlerde elde edilen ekstraktlardaki antioksidan aktivite değeri azalmıştır (Bucić-Kojić ve diğ. 2009; Do ve diğ., 2014). Polar bir çözücü olan etanolün, flavonoidleri ve bunların glikozitlerini ve tanenlerini, ham bitki materyallerinden etkili bir şekilde ekstrakte ettiği ancak bu bileşiklerin çözünürlüğünün, su içinde % 50 konsantrasyonuna kadar artırılabilceği belirtilmiştir (Spigno ve diğ., 2007).

5.1.1.1.3 Ultrasonik güç seviyesinin antioksidan aktiviteye etkisi

Ultrasonik banyo ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan ultrasonik güç seviyesinin antioksidan aktiviteye etkisi Şekil 8’de verilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite değeri % 30, en düşük antioksidan aktivite değeri % 90 güç seviyesinde elde edilmiştir.

Tomšik ve diğ. (2016), yabanî sarımsaktan (*Allium ursinum* L.) elde edilen biyoaktif bileşiklerin ultras destekli ekstraksiyonunun optimizasyonunu çalışmışlar ve ultrasonik gücün artmasıyla hücre duvarlarının hasar gördüğünü ve fazla antioksidan madde salınmasına neden olduğunu, ve ayrıca hassas bileşiklerin bozulmasına yol açtığını bildirmişlerdir. Bu sebeple ultrasonik gücün artmasının *A.ursinum* ekstraktların antioksidan aktivitesini azalttığı sonucuna varmışlardır.



Şekil 8. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine ultrasonik güç seviyesinin etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

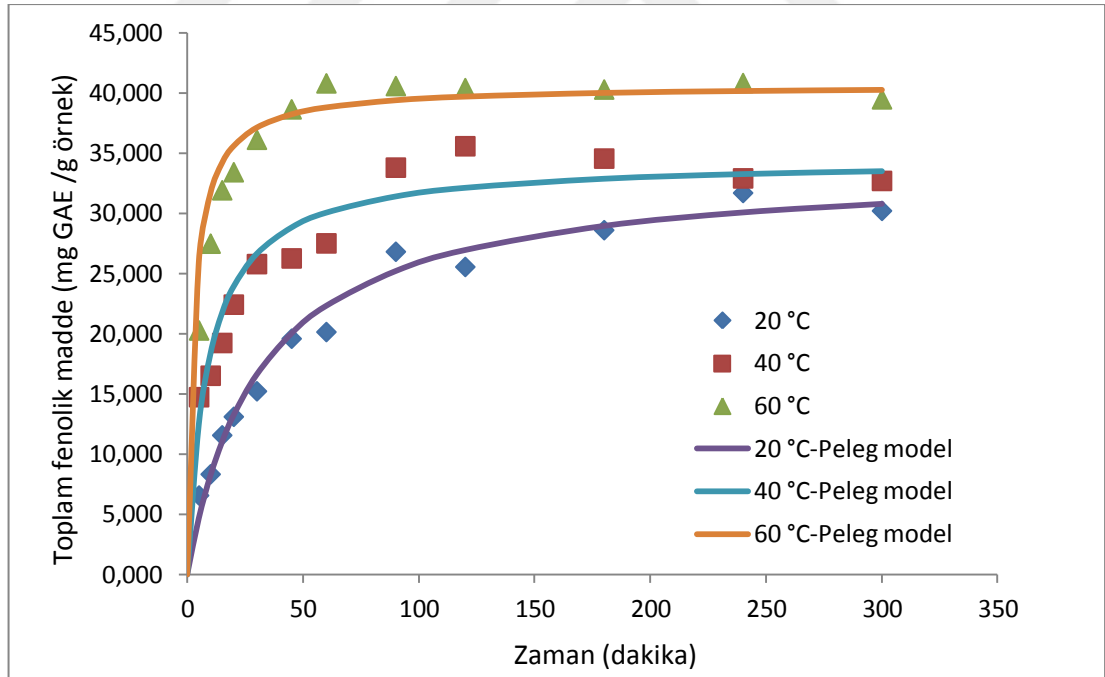
Mevcut çalışma bulguları ve literatürdeki çalışmalarda da görüldüğü üzere ultrasonik gücün artışı antioksidan aktivite için negatif etki göstermektedir. Sıcaklık ve ultrasonik gücün etkileşmesiyle ekstraksiyon sonucu açığa çıkan antioksidan

maddenin bozunduđu ve dolayısıyla miktarında azalma olduđu belirtilmiřtir (Tomřik ve diđ., 2016). Bundan dolayı dűřuk gűç deđerlerinde çalıřmanın daha verimli olduđu dűřűnűlmektedir.

5.1.1.2 Toplam fenolik madde kinetiği

5.1.1.2.1 Sıcaklığın toplam fenolik madde içeriğine etkisi

Ultrasonik banyo ile gerçekleřtirilen ekstraksiyon iřleminde kullanılan sıcaklık deđerinin toplam fenolik maddeye etkisi Őekil 9’da verilmiřtir. Sıcaklık arttıkça toplam fenolik madde içeriđinde artma gűzlemlenmiř olup, en yűksek toplam fenolik madde içeriđi 60 °C elde edilmiřtir.



Şekil 9. Ceviz yeşil kabuğu ۆrneđinin toplam fenolik madde değerinin zamana bağlı değişimine sıcaklığın etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelinden elde edilen değerlerin karşılaştırması

Literatűrde daha yűksek sıcaklıkların, farklı biyokűtleden fenolik bileřiklerin ekstraksiyon oranları űzerinde pozitif bir etkiye sahip olduđu bildirilmektedir. Lazar

ve diğ. (2016) *Picea abies* kabuklarından yaptıkları çalışmada ultrases destekli ekstraksiyon ve konvansiyonel ekstraksiyon ile farklı sıcaklık (45-50-60 °C), farklı zaman (5-75 min) ve çözücü-katı arasındaki farklı temas yüzeyleri kullanılarak toplam fenolik madde ekstraksiyonu kinetiğini araştırmış; sıcaklığın toplam fenolik madde değerleri üzerindeki olumlu etkilerini elde etmişlerdir (60 °C’de 45 °C’ye kıyasla yaklaşık % 14 daha yüksektir). Wang ve diğ. (2008), 25 °C ile 75 °C sıcaklık aralığında ultrases destekli ekstraksiyon kullanarak buğday kepeğinden fenolik ekstrakt elde etmişlerdir. Ekstraktın toplam fenolik madde içeriğinde, 65 °C’de elde edilen maksimum konsantrasyonda önemli bir artış olduğunu saptamışlardır.

Mevcut çalışma bulguları literatürdeki çalışmalarla uyumludur. Ekstraksiyon sıcaklığı, çözünürlüğe ve çözünenin difüzyon katsayısına bağlı olduğu için önemli bir faktör olarak tespit edilmiş ve yüksek sıcaklık, matris dokularının bozulmasını kolaylaştırabilir ve daha fazla bileşik, çözücüye dağılabilir (Fernández-Agulló ve diğ., 2013). Sıcaklığın artışı elde edilen toplam fenolik madde içeriği de artmaktadır (Lazar ve diğ., 2016). Ancak daha yüksek sıcaklıklar fenolik bileşiklerin termal bozunmasına yol açabilir ve çözücünün daha hızlı buharlaşmasına neden olabilir, bu şekilde tüm prosesin verimliliği azalabilir.

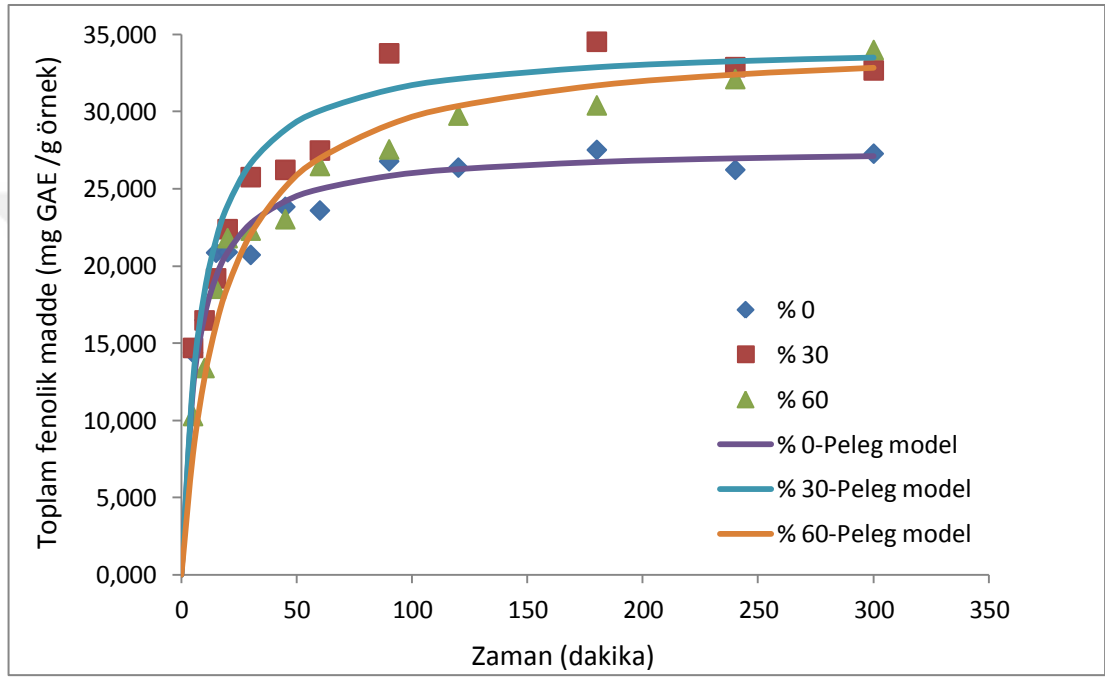
5.1.1.2.2 Etanol konsantrasyonunun toplam fenolik madde içeriğine etkisi

Ultrasonik banyo ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan etanol konsantrasyonunun toplam fenolik maddeye etkisi Şekil 10’da verilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği % 30 etanol konsantrasyonunda elde edilmiştir.

Fernández-Agulló ve diğ. (2013) ceviz yeşil kabuğu ekstraktının antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerinin çözücü üzerine etkisi çalışmışlardır. En yüksek toplam fenolik madde % 50 etanol ile elde edilmiş olup % 50 metanol ile elde edilen değer de bu değere çok yakın olup ve en düşük değer ise su ile elde edildiğini bildirmişlerdir.

Mevcut çalışma bulguları ve literatür çalışmalarda ekstraksiyon için kullanılan çözelti oranı azaltıldığında çözeltilere geçen toplam fenolik madde içeriğinin

arttığı belirlenmiştir. Kütle transfer prensiplerine göre, katı-sıvı oranının artmasıyla konsantrasyon farklılığındaki artıştan dolayı fenolik madde difüzyonu artar (Fernández-Agulló ve diğ., 2013). Bitkisel kaynaklardan fenolik madde ekstraksiyonunda dipol hareketlerine göre su etanolden daha polardır. Bu durumda non-polar çözücünün (etanol) polar çözücü (su) ile karıştırılarak kullanılmalıdır (Lopez-Avila, 1999). Elde edilen verilere göre; %30 etanol konsantrasyonunun daha verimli (daha az çözgen kullanımı, maliyet açısından) olduğu tespit edilmiştir.



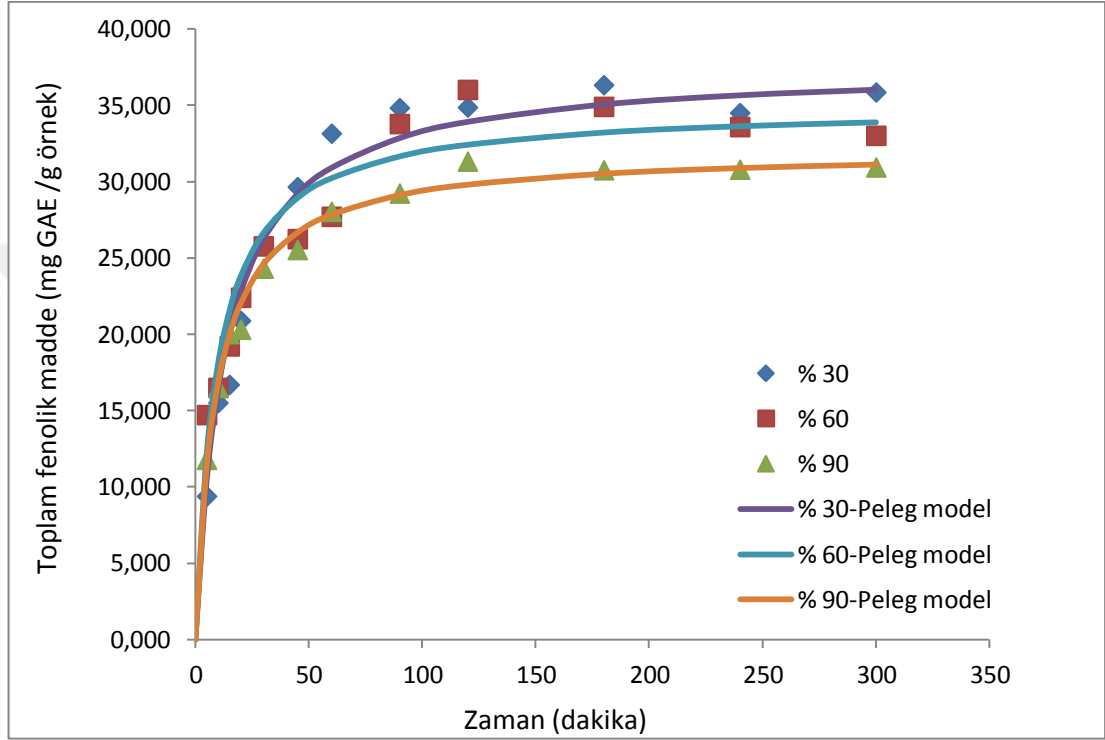
Şekil 10. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde değerinin zamana bağlı değişimine etanol konsantrasyonunun etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

5.1.1.2.3 Ultrasonik güç seviyesinin toplam fenolik madde içeriğine etkisi

Ultrasonik banyo ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan ultrasonik güç seviyesinin toplam fenolik maddeye etkisi Şekil 11'de verilmiştir.

En yüksek ekstraksiyon sonucu % 30 güç oranında elde edilmiştir. Güç seviyesindeki artış toplam fenolik maddede azalmaya neden olmuştur. Ekstraksiyon sürelerindeki artış (180-240-300. dakikalarda, % 30-60-90 güç seviyelerinde) toplam fenolik maddenin düşüşüne neden olmuştur (Şekil 11).

Vuong ve diğ. (2015) *Euphorbia tirucalli*'den eupholun ultrases destekli ekstraksiyonunda gücün 150W'tan 250W'a çıkarılmasıyla % 25'lik bir düşüş görüldüğünü bildirmişlerdir. Wang ve diğ. (2013), *Sparganii rhizoma*'dan fenolik madde ekstraksiyonu için ultrases destekli ekstraksiyon optimizasyonu üzerine yaptıkları çalışmada ise fenolik maddenin ekstraksiyon verimini ultrasonik gücün pozitif yönde etkilediğini bildirmişlerdir.



Şekil 11. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde değerinin zamana bağlı değişimine ultrasonik güç seviyesinin etkisi: Ultrasonik banyo ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

Literatür bilgileri ve bu çalışmanın sonuçları ultrases destekli ekstraksiyon işleminde, yüksek güç seviyelerinin kullanılması fenolik bileşikler için negatif etkiye sahiptir (Vuong ve diğ., 2015). Ayrıca, yüksek güç seviyelerinin kullanılmasının fenolik bileşiklerin bozunmasına neden olduğunu göstermektedir.

5.1.2 Ultrasonik prob ekstraksiyonu

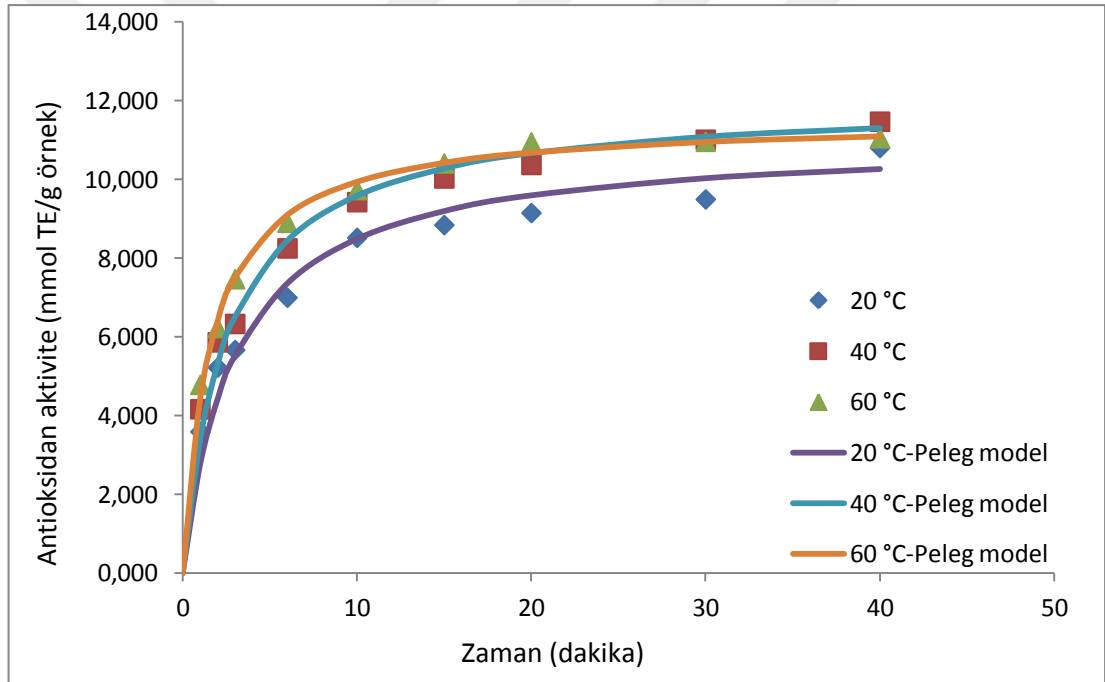
Çalışmanın bu kısmında örneklerden ultrasonik prob ile ultrases destekli ekstraksiyon gerçekleştirilerek ekstraksiyon koşullarının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite kinetiklerine etkisi belirlenmiştir. Ekstraksiyon

koşulları olarak; etanol konsantrasyonu (% 0, 30 ve 60), sıcaklık (20, 40 ve 60 °C) ve ultrases genliği (% 30, 60 ve 90) seçilmiştir.

5.1.2.1 Antioksidan aktivite kinetiği

5.1.2.1.1 Sıcaklığın antioksidan aktiviteye etkisi

Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan sıcaklığın antioksidan maddeye etkisi Şekil 12’de verilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite sonucu 40 °C’de elde edilmiştir.



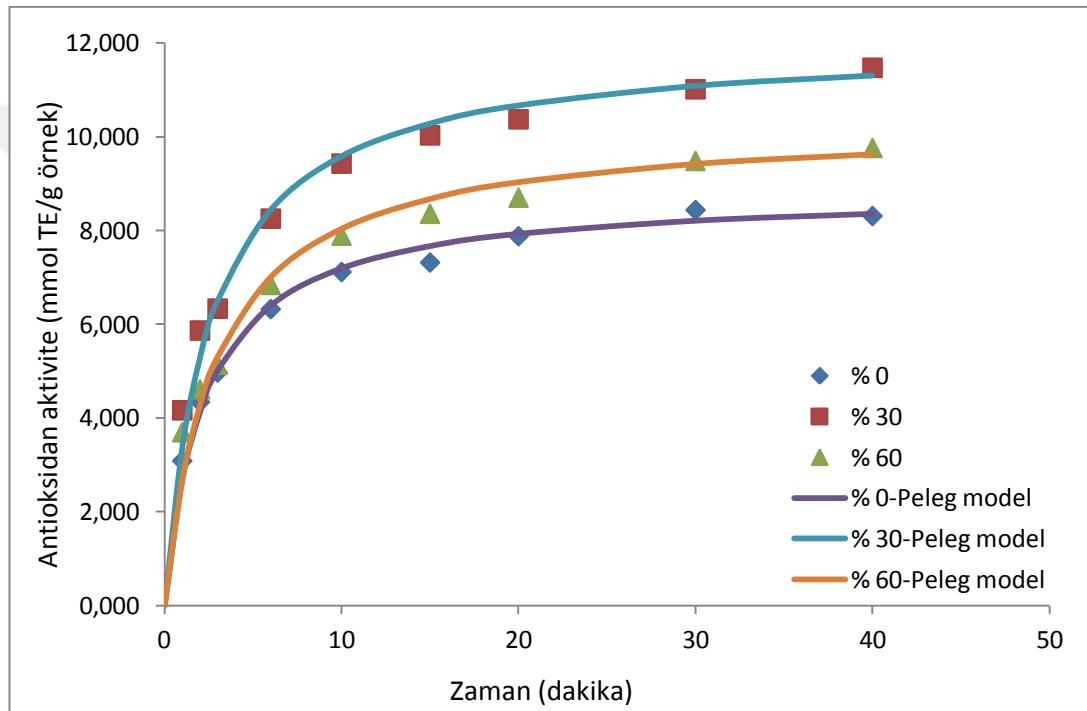
Şekil 12. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine sıcaklığın etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

Morelli ve Prado (2012) kırmızı üzüm reçelinden antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde ekstraksiyonu optimizasyonunda 40, 50, 60 ve 67 °C sıcaklıkları kullanmışlar ve optimum sıcaklığı 50 °C olduğunu bildirmişlerdir. 50 °C'nin üzerinde bileşiklerin degradasyonu ile ekstraksiyon verimi düşmüştür.

Mevcut çalışma sonuçları ve literatür çalışmaları yüksek sıcaklıklarda antioksidan maddelerin bozulmaya başladığını göstermektedir.

5.1.2.1.2 Etanol konsantrasyonunun antioksidan aktiviteye etkisi

Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan etanol konsantrasyonunun antioksidan maddeye etkisi Şekil 13'te verilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite değeri % 30 etanol konsantrasyonunda elde edilmiştir.



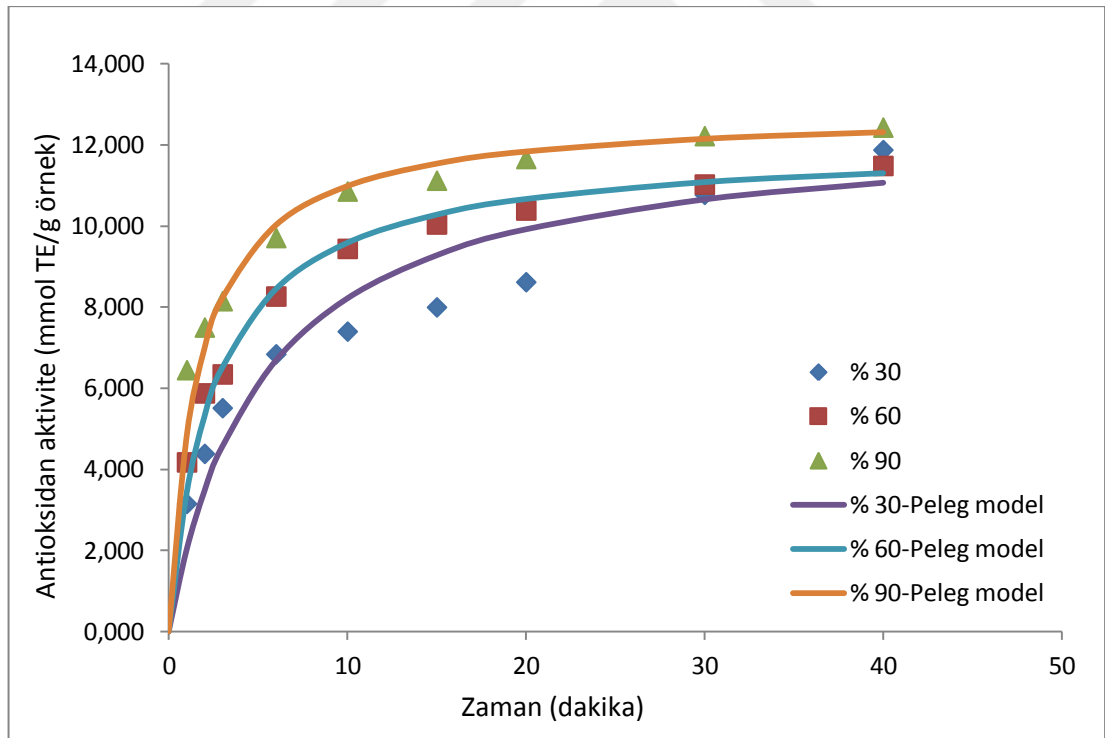
Şekil 13. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine etanol konsantrasyonunun etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

Liu ve diğ. (2014) *Euryale ferox* çekirdek kabuğundan fenolik madde ekstraksiyonu ile sıcaklık, etanol konsantrasyonu ve katı:çözücü oranının optimizasyonu hakkında yaptıkları çalışma sonucunda, etanol konsantrasyonundaki artışla önce artmış (% 30, 40 ve 50) daha sonra ise (% 60 ve 70) azalmıştır ve % 50'de maksimum noktaya ulaşmıştır. Jiang ve diğ. (2014), *Ficus microcarpa*'nın kökünden antioksidan aktivitesi ile polisakkaritlerin ultrases destekli ekstraksiyonun optimizasyonunda etanol konsantrasyonu (% 10-50) etkisi araştırmış, optimum konsantrasyonun % 30 olduğu bildirilmiştir.

Mevcut çalışma bulguları ve literatürdeki çalışmalarda % 50 çözücü konsantrasyonunun üzerindeki değerlerde elde edilen ekstraktlardaki antioksidan aktivite değeri azalmıştır. Üzüm posasından yapılan ekstraksiyonda etanolün suya eklenmesi önce ekstraksiyon oranını arttırmış, fakat su içeriğinin yükselmesi diğer bileşiklerin eşzamanlı olarak ekstraksiyonunu ve daha sonra ekstraktlarda fenol konsantrasyonlarını düşürmüştür. Farklı etanol oranlarıyla ekstrakte edilen fenolik maddeler, aynı antioksidan aktiviteyi ortaya çıkarmış, bu da sadece farklı miktarların değil, farklı bileşiklerin geri kazanıldığını göstermektedir (Spigno ve diğ., 2007).

5.1.2.1.3 Ultrasonik genlik seviyesinin antioksidan aktiviteye etkisi

Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan ultrasonik genlik seviyesinin antioksidan aktiviteye etkisi Şekil 14'te verilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite değeri % 90 genlik seviyesinde bulunmuştur.



Şekil 14. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin antioksidan aktivite değerinin zamana bağlı değişimine ultrasonik genlik seviyesinin etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

Da Porto ve diğ. (2013), sıvı ortamdan geçen ultrasonik dalganın genliği ne kadar büyük olursa, kabarcıklar daha şiddetli bir şekilde hücrelere nüfuzunu

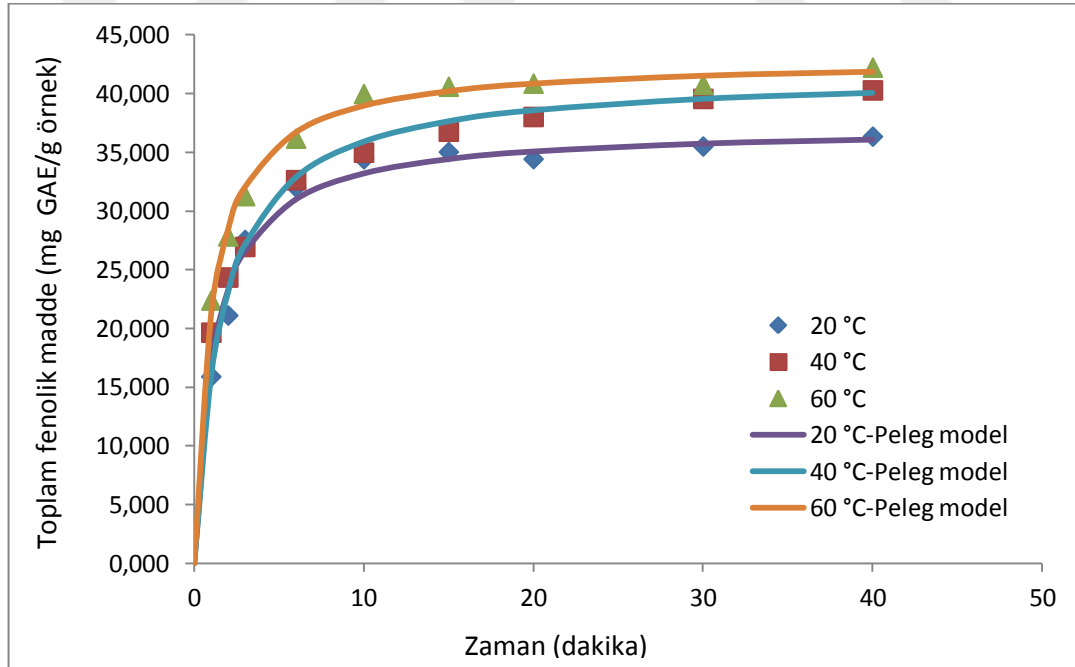
hızlandırdığından dolayı ekstraksiyon verimini arttırdığını bildirmişlerdir. Golmohamadi ve diğ. (2013), kırmızı frambuaz püresinin antioksidan aktivitesi üzerine ultrases frekansı etkisi hakkında yaptıkları çalışmada, ultrases genliğinin artışı ile elde edilen antioksidan aktivite değeri arttığını bildirmişlerdir.

Mevcut çalışma bulguları ve literatür çalışmaları genliğin artışının antioksidan aktivite eldesi üzerine etkisinin pozitif yönde olduğudur.

5.1.2.2 Toplam fenolik madde kinetiği

5.1.2.2.1 Sıcaklığın toplam fenolik madde içeriğine etkisi

Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan sıcaklığın toplam fenolik madde içeriğine etkisi Şekil 15'te verilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği 60 °C de elde edilmiş olup, 40 °C ile 60 °C arasındaki fark süre arttıkça azalmıştır.



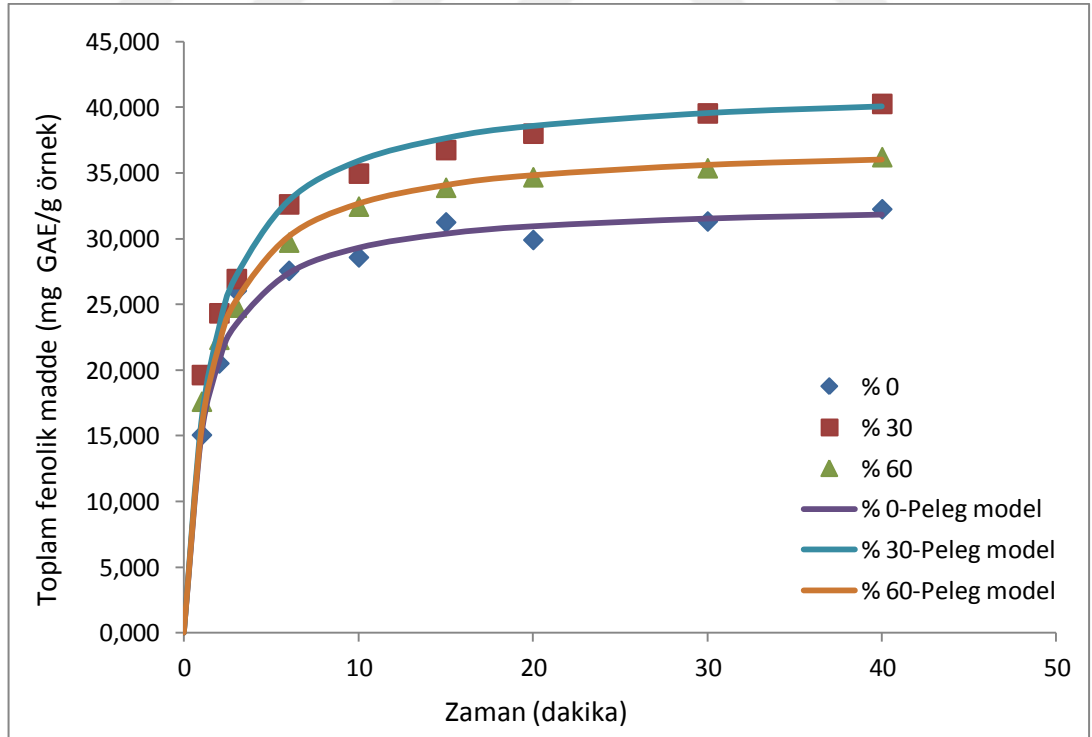
Şekil 15. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde içeriğinin zamana bağlı değişimine sıcaklığın etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

Liu ve diğ., (2014) *Lycium barbarum*'dan ultrases destekli enzimatik ekstraksiyon ile polisakkaritlerinin yanıt yüzey optimizasyonu çalışmasında 40, 50, 60, 70, 80 °C'yi kullanmışlar ve 40 °C den 60 °C'ye kadar ekstraksiyon veriminde artış, 70 ve 80 °C'de azalış olduğunu bildirmişlerdir.

Mevcut çalışma bulguları ve literatürdeki çalışmalarda görüldüğü üzere yüksek sıcaklıklar toplam fenolik madde içeriğinde artışa neden olmaktadır.

5.1.2.2.2 Etanol konsantrasyonunun toplam fenolik madde içeriğine etkisi

Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan etanol konsantrasyonunun toplam fenolik madde içeriğine etkisi Şekil 16'da verilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği % 30 etanol konsantrasyonunda elde edilmiştir.



Şekil 16. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde içeriğinin zamana bağlı değişimine etanol konsantrasyonunun etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

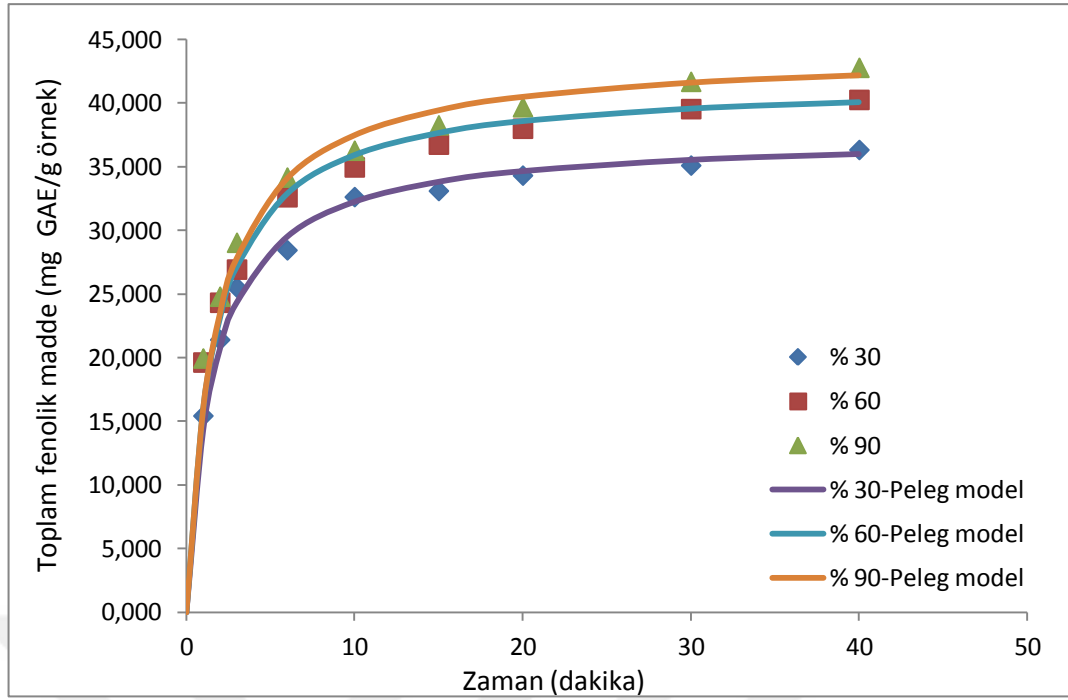
Tao ve diğ. (2014), şarap tortularından fenoliklerin ultrases destekli ekstraksiyonu hakkında yaptıkları çalışmada etanol konsantrasyonunu % 10, 30, 50, 70, 90 oranlarında kullanmış olup % 10'dan % 50'ye kadar fenolik madde miktarında artış, % 50'nin üstündeki etanol konsantrasyonlarında azalma gözlemlediklerini belirtmişlerdir.

Mevcut çalışma bulguları ve literatür çalışmalarında toplam fenolik madde içeriğinin ekstraksiyonunda hücrelerin yapısına zarar verdiği için etanol konsantrasyonun % 50'nin üzerindeki değerlerde etkisinin azaldığı yönündedir.

5.1.2.2.3 Ultrasonik genlik seviyesinin toplam fenolik madde içeriğine etkisi

Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde kullanılan ultrasonik genlik seviyesinin toplam fenolik madde içeriğine etkisi Şekil 17'de verilmiştir.

En yüksek toplam fenolik madde içeriği % 90 genlikte elde edilmiştir. % 60 ile % 90 arasındaki fark, % 30 ile % 60 arasındaki farktan daha azdır.



Şekil 17. Ceviz yeşil kabuğu örneğinin toplam fenolik madde içeriğinin zamana bağlı değişimine ultrasonik genlik seviyesinin etkisi: Ultrasonik prob ile elde edilen deneysel veriler ile Peleg modelden elde edilen değerlerin karşılaştırması

Carrera ve diğ. (2012), yaptıkları çalışmada yaş üzüm tanelerinden ultrases destekli ekstraksiyon ile fenolik madde ekstrakte etmiş, farklı ekstraksiyon parametreleri kullanmışlardır. Çalışmalarda % 100 genlik kullanılarak bulunan geri kazanımın % 20 genliğin kullanılmasından daha yüksek bulunmuştur. Kullanılan genlik arttıkça iyileşmenin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Mevcut çalışma bulguları ve literatür çalışmalarında toplam fenolik maddenin ekstraksiyonunda ultrasonik genliğin seviyesinin artmasıyla moleküllerin kütle transfer oranını daha iyi bir şekilde arttırmasına neden olmuştur. Bu kadar geçirgen olmayan sert hücre duvarlarının varlığı nedeniyle, ultrasonik genlikteki büyük artış verimde ılımlı bir artışa neden olmuştur (Zhang ve diğ., 2008).

Ultrasonik banyo ve ultrasonik prob ekstraksiyonlarının kinetikleri karşılaştırıldığında; ultrasonik banyoda 180. dakikada ekstraksiyonun tamamlandığı düşünülürse antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde için elde edilen en yüksek değerler sırasıyla yaklaşık olarak 12,4 mmol TE/g örnek ve 40,3 mg GAE/g örnek bulunmuştur. Ultrasonik probda 40. dakika ekstraksiyonun tamamlandığı düşünülürse antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde için elde edilen en yüksek

değerler sırasıyla yaklaşık olarak 12,4 mmol TE/g örnek ve 42,2 mg GAE/g örnek bulunmuştur.

5.1.3 Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde kinetiklerinin modellenmesi

Ultrasonik banyo ve ultrasonik prob uygulaması ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriğinin ekstraksiyon süresi ile değişimini içeren deneysel veriler ekstraksiyon kinetiğinin modellenmesinde yaygın olarak kullanılan Peleg modeli ile modellenmiştir.

Peleg hız sabiti k_1 maksimum ekstraksiyon hızı ile ilgilidir (bu hız ekstraksiyon prosesinin en başındaki hızdır, $t=0$). k_2 Peleg kapasite sabiti deneysel koşullar kullanıldığında maksimum ekstraksiyon verimi (dengedeki) ile ilgilidir (Tiwari, 2015).

Farklı koşullarda (sıcaklık, etanol konsantrasyonu ve ultrasonik güç seviyesi) ultrasonik banyoda ceviz yeşil kabuklarına ekstraksiyon işlemi uygulanmasıyla elde edilen toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitesi için elde edilen deneysel ve teorik değerlerin karşılaştırılması Şekil 6-11'de ve matematiksel model sabitleri ile istatistiksel değerler ise Tablo 8'de sunulmuştur.

Sacilik (2007) yaptığı çalışmada R^2 değerini deneysel verilere uyacak modeli seçmek için birincil karşılaştıma kriteri olarak kullanmıştır. Test edilen dört modelden, logaritmik model, sıcak hava ve güneş tüneli kurutma işlemi için 0,99'dan daha büyük bir R^2 değeri ile elde edilen deneysel verilere mükemmel bir uyum sağlamıştır. Ayrıca, bir modelin RMSE ve χ^2 'leri daha düşük bir değere sahipse, diğerinden daha iyi sayılır (Sacilik, 2007). Yüksek R^2 değeri ile düşük RMSE ve χ^2 değerleri Peleg modelin ceviz yeşil kabuklarına ekstraksiyon işlemi uygulanmasıyla elde edilen toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi kinetiğini ile uyumlu olduğunu göstermiştir.

Tablo 8. Ceviz yeşil kabukların farklı koşullarda ultrasonik banyo ekstraksiyonu için Peleg modeli sabitleri ve istatistiksel veriler

	Sıcaklık (°C)	Etanol konst. (%)	Güç (%)	Antioksidan Aktivite					Toplam Fenolik Madde İçeriği				
				k ₁	k ₂	R ²	RMSE	χ ²	k ₁	k ₂	R ²	RMSE	χ ²
Sıcaklığın etkisi	20	30	60	0,08	9,42	0,9054	0,410	0,196	1,08	34,01	0,9943	1,148	1,538
	40	30	60	0,49	12,36	0,9924	0,744	0,646	3,90	34,48	0,9958	1,924	4,319
	60	30	60	5,15	9,72	0,9961	1,213	1,716	14,32	40,65	0,9992	2,199	5,641
Gücün etkisi	40	30	30	0,91	12,48	0,9974	0,676	0,533	2,90	37,59	0,9977	1,485	2,573
	40	30	60	0,49	12,36	0,9924	0,744	0,646	3,89	34,48	0,9958	1,922	4,319
	40	30	90	0,59	8,90	0,9951	0,398	0,185	3,52	32,05	0,9995	0,709	0,586
Etanol kons. etkisi	40	0	60	0,30	5,58	0,9981	0,179	0,037	4,23	27,70	0,9988	1,086	1,375
	40	30	60	0,49	12,36	0,9924	0,744	0,646	3,90	34,48	0,9958	1,924	4,319
	40	60	60	0,45	10,47	0,9957	0,437	0,223	2,02	34,72	0,9967	1,532	2,739

Bu değerlere göre ultrasonik banyo ile gerçekleştirilen ekstraksiyonda antioksidan aktivite için R^2 değeri 0,9054-0,9995 aralığında, RSME değeri 0,398-1,213 aralığında ve χ^2 değeri 0,037-1,716 aralığındadır. Toplam fenolik madde içeriği için R^2 değeri 0,9943-0,9995 aralığında, RSME değeri 0,709-2,199 aralığında ve χ^2 değeri 0,586-5,641 aralığındadır.

Sıcaklık artışı antioksidan aktivite için k_1 değerinde artışa, k_2 değeri için önce artışa sonra da düşüşe neden olmuştur. Toplam fenolik madde içeriği içinse k_1 değerinde etkin bir artış görülürken, k_2 için artış k_1 'e oranla daha azdır. k_1 sabiti ekstraksiyon hızını ifade ettiğinden bu durum, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği ekstraksiyon hızlarının sıcaklıktaki artış ile yükseldiği, k_2 sabiti ile ilişkili olan ekstraksiyon veriminin ise toplam fenolik madde içeriği için sıcaklıkla birlikte artması şeklinde yorumlanmıştır.

Antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde ekstraksiyonu için ultrasonik gteki artış ile k_2 sabiti yani ekstraksiyon verimi düşmüştür.

Etanol konsantrasyonundaki artış ile antioksidan aktivite ekstraksiyonu k_1 ve k_2 model sabitleri önce artmış, daha sonra azalmıştır. Yani ekstraksiyon hızı ve verimi için en yüksek değerlere % 30 etanol konsantrasyonunda ulaşılmıştır. Toplam fenolik madde içeriği içinse; ekstraksiyon verimini ifade eden k_2 değeri artan konsantrasyonlarla giderek artmaktadır.

Farklı koşullarda (sıcaklık, etanol konsantrasyonu ve ultrasonik genlik) ultrasonik probda ceviz yeşil kabuklarına ekstraksiyon işlemi uygulanmasıyla elde edilen toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi için elde edilen deneysel ve teorik değerlerin karşılaştırılması Şekil 12-17'de ve matematiksel model sabitleri ile istatistiksel değerler ise Tablo 9'da verilmiştir.

Tablo 9. Ceviz yeşil kabukların farklı koşullarda ultrasonik prob ekstraksiyonu için Peleg modeli sabitleri ve istatistiksel veriler

	Sıcaklık (°C)	Etanolkonst. (%)	Genlik (%)	Antioksidan Aktivite					Toplam Fenolik Madde İçeriği				
				k ₁	k ₂	R ²	RMSE	χ ²	k ₁	k ₂	R ²	RMSE	χ ²
Sıcaklığın etkisi	20	30	60	3,68	11,03	0,9923	0,515	0,341	31,15	37,17	0,9995	1,060	1,444
	40	30	60	4,76	12,02	0,9980	0,364	0,171	25,97	41,67	0,9996	1,367	2,404
	60	30	60	7,17	11,55	0,9997	0,188	0,045	42,19	42,92	0,9996	0,696	0,623
Genliğin etkisi	40	30	30	2,39	12,52	0,9692	0,929	1,108	23,20	37,45	0,9996	0,764	0,750
	40	30	60	4,73	12,02	0,9980	0,364	0,171	25,97	41,67	0,9996	1,367	2,404
	40	30	90	7,63	12,84	0,9991	0,613	0,483	25,19	44,05	0,9991	1,581	3,213
Etanol kons. etkisi	40	0	60	3,88	8,83	0,9988	0,209	0,056	27,62	32,79	0,9991	1,006	1,301
	40	30	60	4,73	12,02	0,9980	0,364	0,171	25,97	41,66	0,9996	1,367	2,404
	40	60	60	3,65	10,31	0,9980	0,399	0,204	26,25	37,31	0,9998	0,804	0,830

Bu değerlere göre ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyonda antioksidan aktivite için R^2 değeri 0,9923-0,9997 aralığında, RSME değeri 0,188-0,929 aralığında ve χ^2 değeri 0,056-1,108 aralığındadır. Toplam fenolik madde içeriği için R^2 değeri 0,9991-0,9998 aralığında, RSME değeri 0,696-1,581 aralığında ve χ^2 değeri 0,623-3,213 aralığındadır.

Sıcaklık artışı antioksidan aktivite için; k_1 değerinde artışa, k_2 değerinde önce artışa sonra da düşüşe neden olmuştur. Toplam fenolik madde içeriği için; k_1 değerinde etkin bir artış görülürken, k_2 için artış k_1 'e oranla daha azdır. Bu durum sıcaklık artışının ekstraksiyon hızını arttırdığı, ekstraksiyon verimininde ise belirgin bir artışa neden olmadığını göstermiştir.

Antioksidan aktivite için; k_1 sabiti genlik artıkça artmaktadır. Toplam fenolik madde içeriği için; k_2 değeri genlik ile birlikte artarken, antioksidan aktivite için bu değerde önemli bir değişim görülmemiştir. Yani genlikteki artış antioksidan aktivite ekstraksiyonu hızını ve toplam fenolik madde içeriği ekstraksiyon verimini arttırmıştır.

Etanol konsantrasyonu değişimi antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği için; k_1 ve k_2 'de konsantrasyon artışı ile birlikte önce artmış, daha sonra konsantrasyon arttığı azalmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre Peleg modelinin deneysel verileri iyi bir şekilde ifade ettiği belirlenmiştir (yüksek R^2 ve düşük RMSE ve χ^2 değerleri bunu göstermektedir).

Pradal ve diğ. (2016), ekstraksiyon ve enerji tüketimi optimizasyonu hakkında yaptıkları çalışmada deneysel koşulların fonksiyonu olarak ekstraksiyon kinetiğinin modellenmesi için Peleg modelini kullanmıştır. D'Alessandro ve diğ. (2014), *Aronia melanocarpa* atıklarından yapılan çalışmada ekstraksiyon koşullarını ifade etmek için, Peleg denklemine dayanan kinetik bir matematiksel model önermişlerdir. Vetal ve diğ. (2013), *Ocimum sanctum*dan ultrases ile ursolik asit ekstrakte ettikleri çalışmada kinetik modelleme için Peleg modeli kullanmıştır. Bu

çalışmalarda da deneysel sonuçlar ile Peleg modelin iyi bir uyum sağladığı bildirilmiştir.

5.1.4 Ceviz yeşil kabuğundan antioksidan ve fenolik madde ekstraksiyonun yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyonu

Ceviz yeşil kabuğundan antioksidan ve fenolik madde ekstraksiyonun optimizasyonunda, bağımsız değişkenlerin (X_1 :Sıcaklık, X_2 :Etanol konsantrasyonu, X_3 :Ultrasonik Güç) antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriği üzerine etkileri incelenmiştir. Optimizasyonda kullanılan ekstraksiyon koşulları kinetik çalışmalarda elde edilen sonuçlara göre belirlenmiştir. Ultrasonik banyo ekstraksiyonunun optimizasyonu için Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni kullanılmış ve en yüksek R^2 (antioksidan aktivite için 0,9514 ve toplam fenolik madde içeriği için 0,9526) değerini veren Quadratik model ile hesaplamalar gerçekleştirilmiştir.

5.1.4.1 Ultrasonik banyo ile yapılan ekstraksiyonun yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyonu

Ultrasonik banyo yönteminde antioksidan aktivite miktarı (mmol TE/g örnek) ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ve her bir faktörün belirli düzeylerine verilen yanıt hakkında tahminler yapmak için kullanılacak denklem 4.1'de verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Antioksidan aktivite} = & -0,276001 + 0,270316 X_1 + \\ & 0,091728 X_2 - 0,033757 X_3 + 0,000696 X_1X_2 - 0,000391 X_1X_3 + \\ & 0,000280 X_2X_3 - 0,002107 X_1^2 - 0,001863 X_2^2 + 0,000391 X_3^2 \end{aligned} \quad (4.1)$$

Ultrasonik banyo yönteminde toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g örnek) ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ve her bir faktörün belirli düzeylerine verilen yanıt hakkında tahminler yapmak için kullanılacak denklem 4.2'de verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Toplam fenolik madde} = & 6,04594 + 0,588311X_1 + 0,247051X_2 - \\ & 0,003265X_3 + 0,001456X_1X_2 - 0,000673X_1X_3 + 0,000928X_2X_3 - \\ & 0,003580X_1^2 - 0,006114X_2^2 + 0,000376X_3^2 \end{aligned} \quad (4.2)$$

Elde edilen deneysel değerler ile tahminlenen değerler Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10. Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni ile gerçekleştirilen ultrasonik banyo yöntemi için elde edilen deneysel ve tahminlenen değerleri

Deney no	Sıcaklık (°C)	Etanol konsantrasyonu (%)	Güç (%)	Sıcaklık (°C)	Etanol konsantrasyonu (%)	Güç (%)	Antioksidan Aktivite (mmol TE/g örnek)		Toplam Fenolik Madde İçeriği (mg GAE/g örnek)	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	Deneysel	Tahminlenen	Deneysel	Tahminlenen
1	0	0	-1	45	30	20	8,85	8,93	31,67	29,18
2	1	1	-1	70	60	20	9,04	9,31	27,50	28,87
3	0	-1	0	45	0	60	6,12	5,95	26,18	24,61
4	-1	-1	1	20	0	100	4,36	4,04	19,83	18,47
5	1	-1	1	70	0	100	5,72	6,19	27,50	28,41
6	-1	0	0	20	30	60	4,45	5,20	19,79	21,18
7	1	0	0	70	30	60	9,64	9,10	36,08	34,65
8	-1	1	1	20	60	100	5,41	5,35	19,17	18,60
9	-1	-1	-1	20	0	20	3,52	3,62	14,76	16,20
10	0	0	0	45	30	60	8,61	8,47	30,13	30,16
11	0	0	1	45	30	100	9,13	9,25	29,89	32,33
12	0	0	0	45	30	60	9,60	8,47	31,31	30,16
13	1	-1	-1	70	0	20	7,25	7,2	28,25	28,83
14	0	0	0	45	30	60	7,61	8,48	28,95	30,16
15	-1	1	-1	20	60	20	4,03	3,58	12,77	11,87
16	1	1	1	70	60	100	9,66	9,52	34,33	32,90
17	0	1	0	45	60	60	7,25	7,63	23,17	24,70

Varyans analizi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine bağımsız değişkenlerin etkisi Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11. Ultrasonik banyo ekstraksiyonu için antioksidan aktivite analiz sonuçlarına ait istatistiksel analiz sonuçları

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	71,53	9	7,95	15,23	0,0008*
A-sıcaklık	38,14	1	38,14	73,12	< 0,0001*
B-etanol konst.	7,07	1	7,07	13,56	0,0078*
C-güç	0,2503	1	0,2503	0,4798	0,5109
AB	2,18	1	2,18	4,17	0,0804
AC	1,22	1	1,22	2,35	0,1695
BC	0,9052	1	0,9052	1,74	0,2292
A ²	4,64	1	4,64	8,90	0,0204*
B ²	7,54	1	7,54	14,45	0,0067*
C ²	1,05	1	1,05	2,01	0,1993
Artık	3,65	7	0,5217		
Uyum eksikliği	1,67	5	0,3339	0,3370	0,8586
Net hata	1,98	2	0,9910		
Genel toplam	75,18	16			

*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tespit edilen F-değeri 15,23 olup, modelin anlamlı olduğunu ifade etmektedir (p<0,05). Ceviz yeşil kabuğundan antioksidan aktivite ekstraksiyonunda sıcaklık, etanol konsantrasyonunun ve bunların karesinin etkisi önemli bulunmuştur (p<0,05). A, B, A², B² terimlerinin istatistiki açıdan anlamlı olduğu görülmüştür (p<0,05). AC, BC ve C² terimleri ise istatistiki açıdan anlamlı değildir (p>0,05).

Varyans analizi ile belirlenen toplam fenolik madde üzerine bağımsız değişkenlerin etkisi Tablo 12’de verilmiştir.

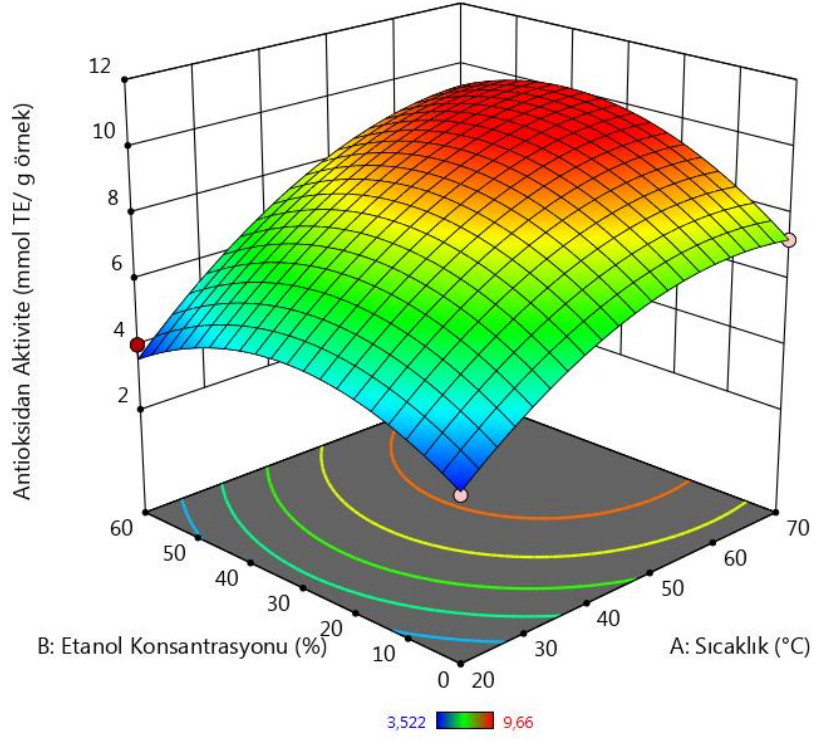
Tablo 12. Ultrasonik banyo ekstraksiyonu için toplam fenolik madde analiz sonuçlarına ait istatistiksel analiz sonuçları

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	680,77	9	75,64	15,62	0,0008*
A-sıcaklık	453,60	1	453,60	93,70	< 0.0001*
B-etanol konst.	0,0181	1	0,0181	0,0037	0,9529
C-güç	24,86	1	24,86	5,14	0,0578
AB	9,53	1	9,53	1,97	0,2033
AC	3,62	1	3,62	0,7482	0,4157
BC	9,93	1	9,93	2,05	0,1952
A ²	13,41	1	13,41	2,77	0,1399
B ²	81,12	1	81,12	16,76	0,0046*
C ²	0,9693	1	0,9693	0,2002	0,6681
Artık	33,89	7	4,84		
Uyum eksikliği	31,12	5	6,22	4,49	0,1922
Net hata	2,77	2	1,39		
Genel toplam	714,66	16			

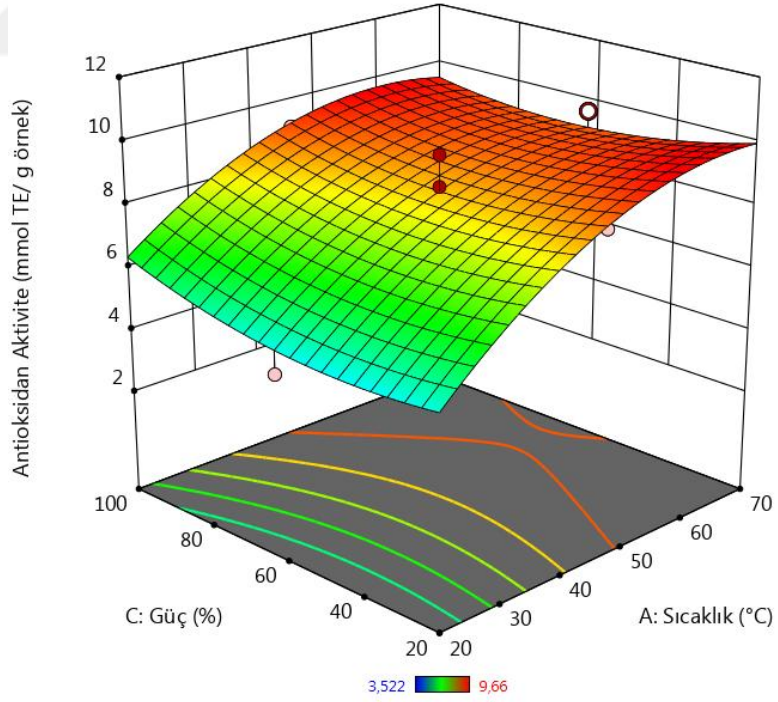
*p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tespit edilen F-değeri 15,62; modelin anlamlı olduğunu ifade etmektedir (p<0,05). Ceviz yeşil kabuğundan toplam fenolik madde ekstraksiyonunda sıcaklık, etanol konsantrasyonunun karesinin etkisi önemli bulunmuştur (p<0,05). A, B² terimlerinin istatistikî açıdan anlamlı olduğu görülmüştür (p<0,05). B, AB, AC, BC, A² ve C² terimleri ise istatistiki açıdan anlamlı değildir (p>0,05).

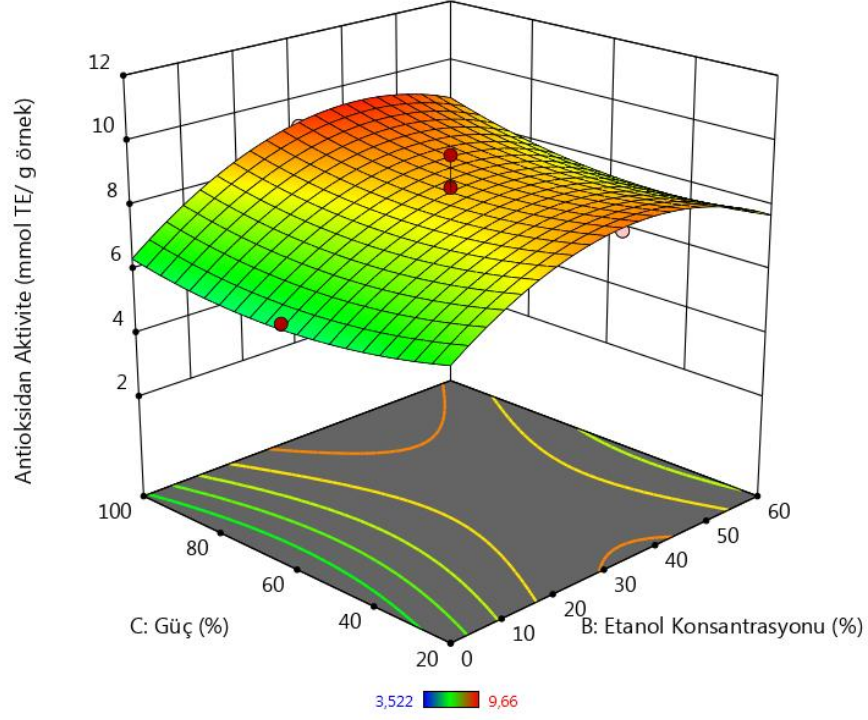
Yanıt yüzey yöntemi grafikleri incelendiğinde, artan etanol konsantrasyonunun ekstrakte edilen antioksidan aktivite miktarında azalmaya neden olduğu görülmektedir (Şekil 18 ve 20). Etanol konsantrasyonu % 30 civarına kadar antioksidan aktivite miktarında artışı sağlamış, ancak bu değerden sonra tekrar düşüş görülmüştür. Antioksidan aktivite sonuçları üzerine gücün etkisi Şekil 19 ve 20'de ve sıcaklığın etkisi ise Şekil 18 ve 19'da görülmektedir. Grafiklerde görüldüğü üzere ultrasonik gücün etkisinin etkin olmadığı saptanmıştır. Sıcaklık arttıkça antioksidan aktivite miktarı artmıştır.



Şekil 18. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun etkisi, güç seviyesi: %60.

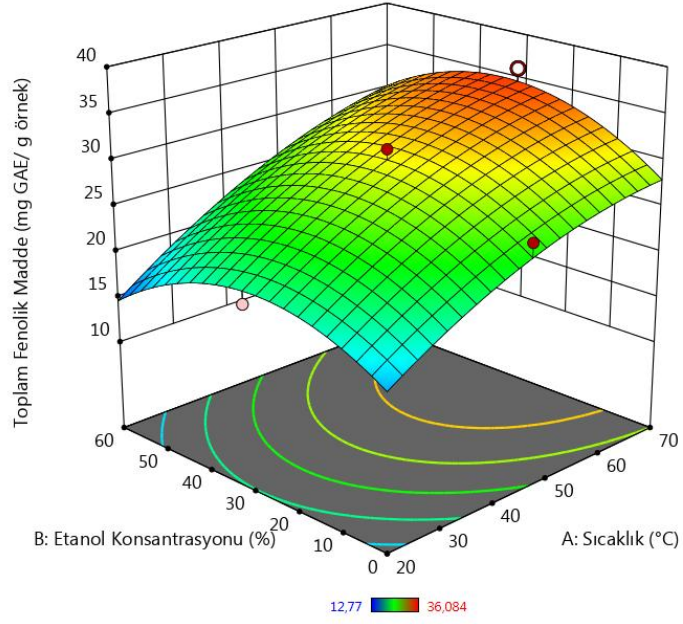


Şekil 19. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; sıcaklık ve ultrasonik gücün etkisi, etanol konsantrasyonu: % 30.

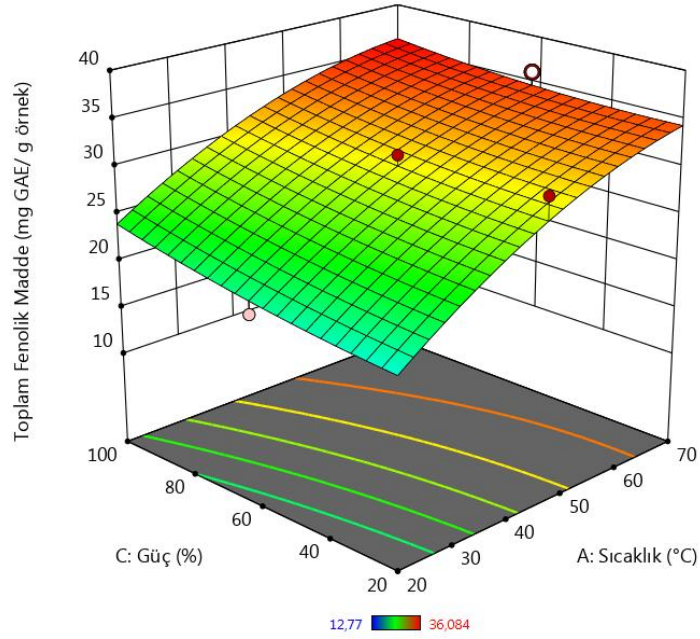


Şekil 20. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; etanol konsantrasyonu ve gücün etkisi, sıcaklık: 45 °C.

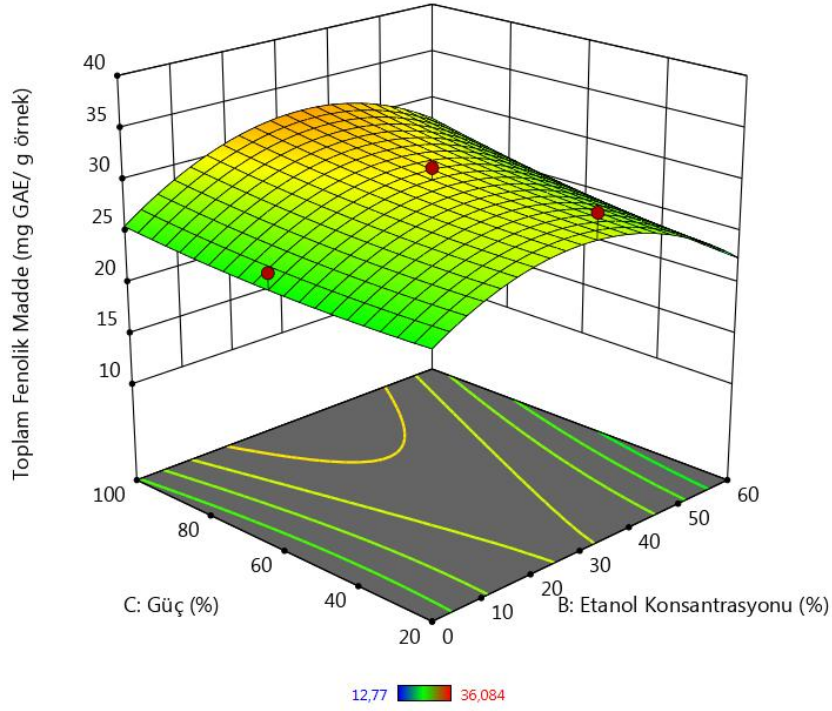
Toplam fenolik madde içeriğine sıcaklığın etkisi sıcaklık arttıkça artmaktadır (Şekil 21 ve 22). Ultrasonik gücün artışı toplam fenolik madde miktarını arttırmıştır (Şekil 22 ve 23). Etanol konsantrasyonunun etkisi diğer parametrelerin aksine % 30 civarında en yüksek seviyeye ulaştıktan sonra etanol konsantrasyonu arttıkça azalmaktadır (Şekil 21 ve 23).



Şekil 21. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun etkisi, güç seviyesi: % 60.



Şekil 22. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; sıcaklık ve ultrasonik gücün etkisi, etanol konsantrasyonu: % 30.



Şekil 23. Ultrasonik banyoda gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; etanol konsantrasyonu ve ultrasonik gücün etkisi, sıcaklık: 45 °C.

Optimum koşullar; maksimum istenilebilirlik fonksiyonu, maksimum antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği baz alınarak belirlenmiştir. Ultrasonik banyo için yanıt yüzey optimizasyonu sonucunda belirlenen optimum koşullar; istenilebilirlik fonksiyonu 0,955, 56,32 °C, % 38,85 etanol konsantrasyonu, % 76,52 güç seviyesi koşullarında 9,39 mmol TE/g örnek antioksidan aktivite ve 33,19 mg GAE/g örnek toplam fenolik madde içeriği olarak belirlenmiştir. Belirlenen optimum koşullarda deneysel olarak ulaşılabilen en yakın değerler; 55 °C, % 39 etanol konsantrasyonu, % 80 güç seviyesi koşullarında yapılan ekstraksiyon sonucunda 7,97 mmol TE/g örnek antioksidan aktivite ve 32,66 mg GAE/g örnek toplam fenolik madde içeriği saptanmıştır.

5.1.4.2 Ultrasonik prob ile yapılan ekstraksiyonun yanıt yüzey yöntemiyle optimizasyonu

Ceviz yeşil kabuğundan antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde ekstraksiyonun optimizasyonunda, bağımsız değişkenlerin (X_1 :Sıcaklık, X_2 :Etanol

konsantrasyonu, X_3 :Ultrasonik Genlik) antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde içeriği üzerine etkileri incelenmiştir. Ultrasonik prob ekstraksiyonunun optimizasyonu için Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni kullanılmış ve en yüksek R^2 (antioksidan aktivite için 0,9496 ve toplam fenolik madde içeriği için 0,9421) değerini veren 2FI model ile hesaplamalar gerçekleştirilmiştir.

Ultrasonik prob yönteminde antioksidan aktivite miktarı (mmol TE/g örnek) ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ve her bir faktörün belirli düzeylerine verilen yanıt hakkında tahminler yapmak için kullanılacak denklem 4.3'te verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Antioksidan aktivite} = & 1,04436 + 0,046264 X_1 + \\ & 0,016227 X_2 + 0,064441 X_3 + 0,001561 X_1X_2 - \\ & 0,000461 X_1X_3 - 0,000404 X_2X_3 \end{aligned} \quad (4.3)$$

Ultrasonik prob yönteminde toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/g örnek) ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi ortaya koyan ve her bir faktörün belirli düzeylerine verilen yanıt hakkında tahminler yapmak için kullanılacak denklem 4.4'te verilmiştir.

$$\begin{aligned} \text{Toplam fenolik madde} = & 10,02533 + 0,191117 X_1 + \\ & 0,030318 X_2 + 0,225405 X_3 + 0,003176 X_1X_2 - \\ & 0,001972 X_1X_3 - 0,001952 X_2X_3 \end{aligned} \quad (4.4)$$

Elde edilen deneysel değerler ile tahminlenen değerler Tablo 13'te verilmiştir.

Tablo 13. Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni ile gerçekleştirilen ultrasonik prob yöntemi için elde edilen deneysel ve tahminlenen değerleri

Deney no	Sıcaklık (°C)	Etanol konsantrasyonu (%)	Genlik (%)	Sıcaklık (°C)	Etanol konsantrasyonu (%)	Genlik (%)	Antioksidan Aktivite (mmol TE/g örnek)		Toplam Fenolik Madde İçeriği (mg GAE/g örnek)	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₁	X ₂	X ₃	Deneysel	Tahminlenen	Deneysel	Tahminlenen
1	1	-1	1	70	0	90	7,10	7,1	31,38	31,26
2	1	1	-1	70	30	10	7,90	8,25	30,99	31,27
3	-1	-1	-1	20	0	10	2,27	2,52	15,33	15,71
4	1	-1	-1	70	0	10	4,65	4,60	23,34	24,28
5	1	1	1	70	30	90	9,85	9,85	33,45	33,57
6	0	1	0	45	30	50	7,93	7,3	28,54	27,73
7	0	0	0	45	15	50	6,57	6,31	27,15	26,59
8	0	0	1	45	15	90	7,35	7,81	28,91	30,89
9	0	0	0	45	15	50	6,62	6,31	27,04	26,59
10	-1	0	0	20	15	50	4,87	5,14	21,39	23,09
11	-1	1	1	20	30	90	6,97	7,27	28,57	28,13
12	-1	1	-1	20	30	10	3,65	3,82	17,32	17,94
13	1	0	0	70	15	50	6,94	7,47	28,86	30,09
14	-1	-1	1	20	0	90	7,03	6,94	30,37	30,58
15	0	0	-1	45	15	10	4,76	4,8	22,77	22,3
16	0	0	0	45	15	50	7,42	6,31	29,57	26,59
17	0	-1	0	45	0	50	5,3	5,31	27,09	25,46

Varyans analizi ile belirlenen antioksidan aktivite üzerine bağımsız değişkenlerin etkisi Tablo 14'te verilmiştir.

Tablo 14. Ultrasonik prob ekstraksiyonu için antioksidan aktivite analiz sonuçlarına ait istatistiksel analiz sonuçları

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	51,06	6	8,51	31,42	< 0.0001*
A-sıcaklık	13,60	1	13,60	50,21	< 0.0001*
B-etanol konst.	9,88	1	9,88	36,46	0,0001*
C-genlik	22,68	1	22,68	83,72	< 0.0001*
AB	2,74	1	2,74	10,12	0,0098*
AC	1,70	1	1,70	6,27	0,0313*
BC	0,4709	1	0,4709	1,74	0,2167
Artık	2,71	10	0,2709		
Uyum eksikliği	2,25	8	0,2816	1,24	0,5216
Net hata	0,4560	2	0,2280		
Genel toplam	53,77	16			

* $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tespit edilen F-değeri 31,42; modelin anlamlı olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,05$). Ceviz yeşil kabuğundan antioksidan aktivite ekstraksiyonunda sıcaklık, etanol konsantrasyonu, genlik, sıcaklık ve etanol konsantrasyonu, sıcaklık ve genliğin etkisi önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). A, B, C, AB, AC terimlerinin istatistiki açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). BC terimi ise istatistiki açıdan anlamlı değildir ($p > 0,05$).

Varyans analizi ile belirlenen toplam fenolik madde üzerine bağımsız değişkenlerin etkisi Tablo 15'te verilmiştir.

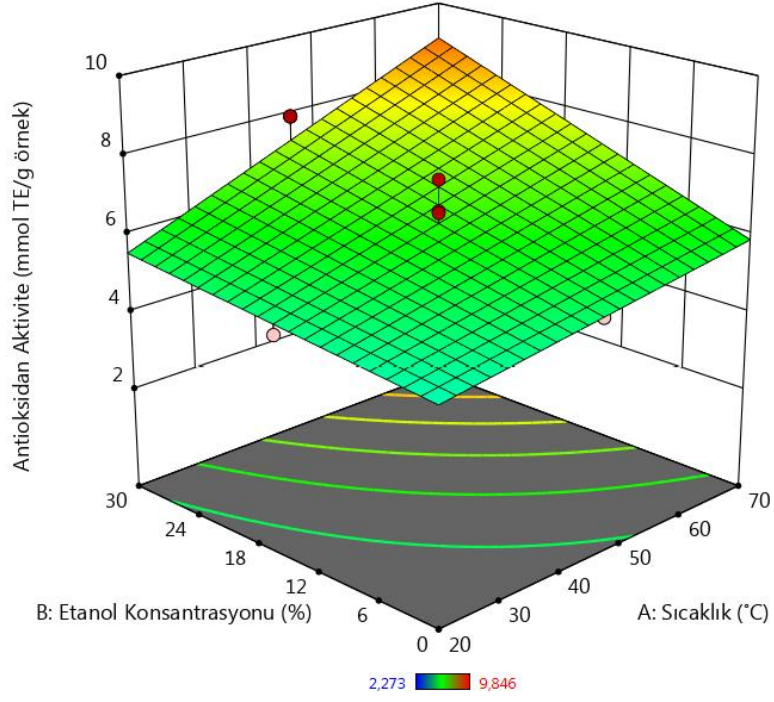
Tablo 15. Ultrasonik prob ekstraksiyonu için toplam fenolik madde analiz sonuçlarına ait istatistiksel analiz sonuçları

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi	Kareler ortalaması	F-değeri	p-değeri
Model	373,53	6	62,25	27,10	< 0.0001*
A-sıcaklık	122,75	1	122,75	53,43	< 0.0001*
B-etanol konst.	12,87	1	12,87	5,60	0,0395*
C-genlik	184,46	1	184,46	80,29	< 0.0001*
AB	11,35	1	11,35	4,94	0,0505
AC	31,12	1	31,12	13,54	0,0042*
BC	10,97	1	10,97	4,78	0,0537
Artık	22,98	10	2,30		
Uyum eksikliği	18,89	8	2,36	1,16	0,5429
Net hata	4,08	2	2,04		
Genel toplam	396,50	16			

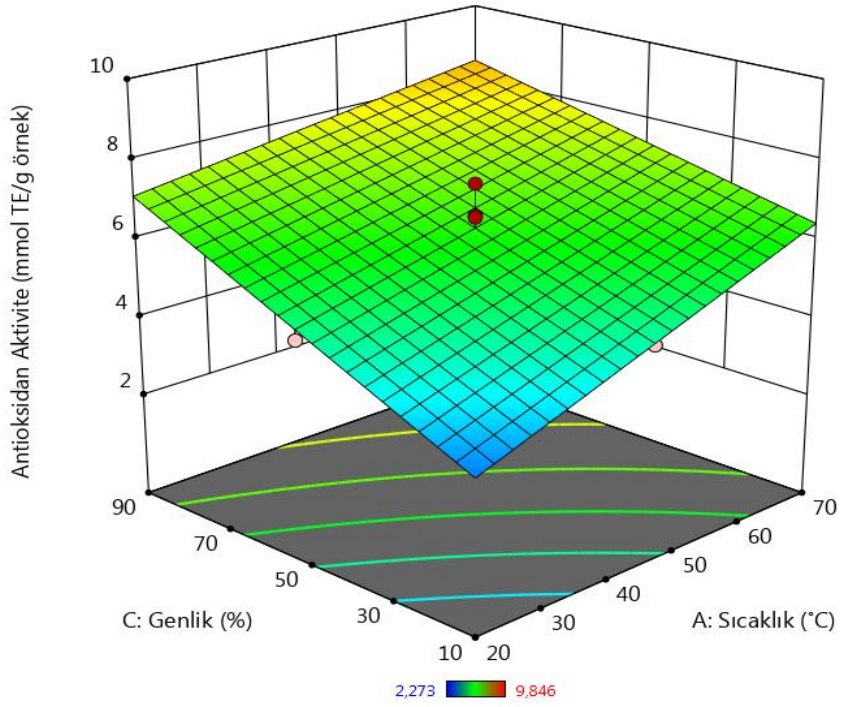
* $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Tespit edilen F-değeri 27,10; modelin anlamlı olduğunu ifade etmektedir ($p < 0,05$). Ceviz yeşil kabuğundan toplam fenolik madde ekstraksiyonunda sıcaklık, etanol konsantrasyonu, genlik, sıcaklık ve genliğin etkisi önemli bulunmuştur ($p < 0,05$). A, B, C, AC terimlerinin istatistiki açıdan anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,05$). AB ve BC terimleri ise istatistiki açıdan anlamlı değildir ($p > 0,05$).

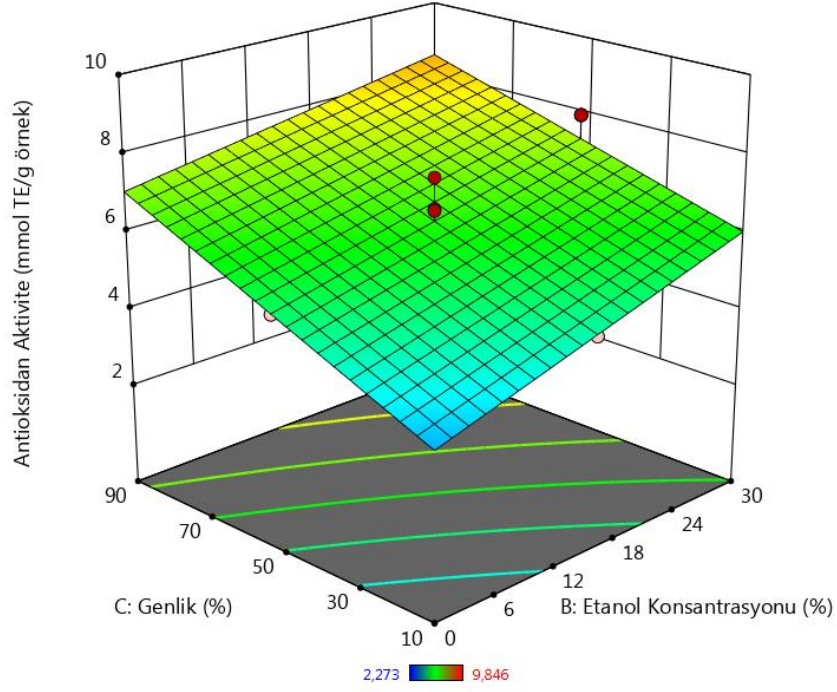
Yanıt yüzey yöntemi grafikleri incelendiğinde, etanol konsantrasyonunun ekstrakte edilen antioksidan aktivite miktarında artışa neden olduğu görülmektedir (Şekil 24 ve 26). Antioksidan aktivite sonuçları üzerine genliğin etkisi Şekil 25 ve 26'da ve sıcaklığın etkisi ise Şekil 24 ve 25'te görülmektedir. Grafiklerden de anlaşıldığı gibi sıcaklık ve ultrasonik genliğin etkisinin pozitif yönde olduğu saptanmıştır.



Şekil 24. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun etkisi, genlik seviyesi: % 50.

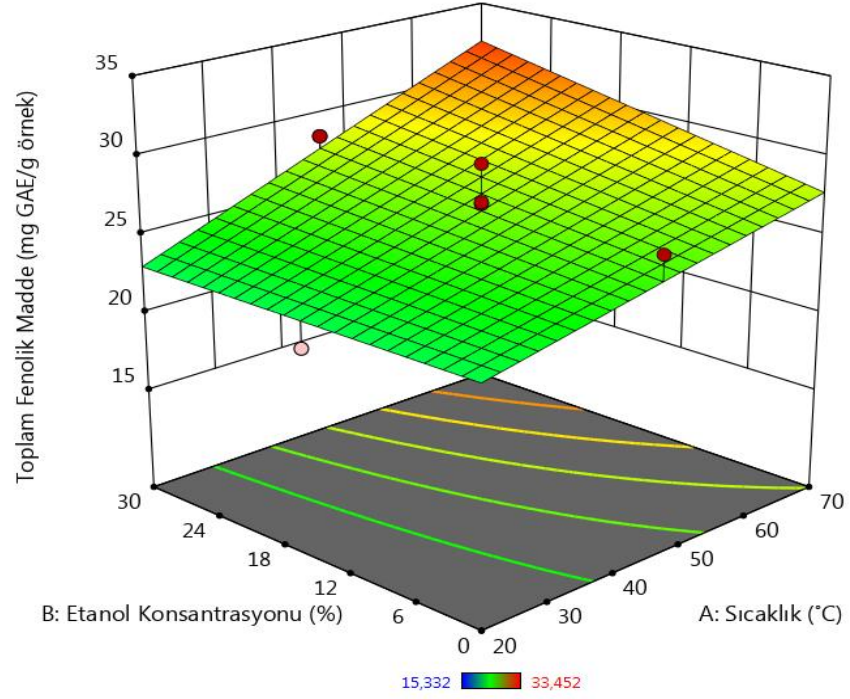


Şekil 25. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; sıcaklık ve ultrasonik genliğin etkisi, etanol konsantrasyonu: % 15.

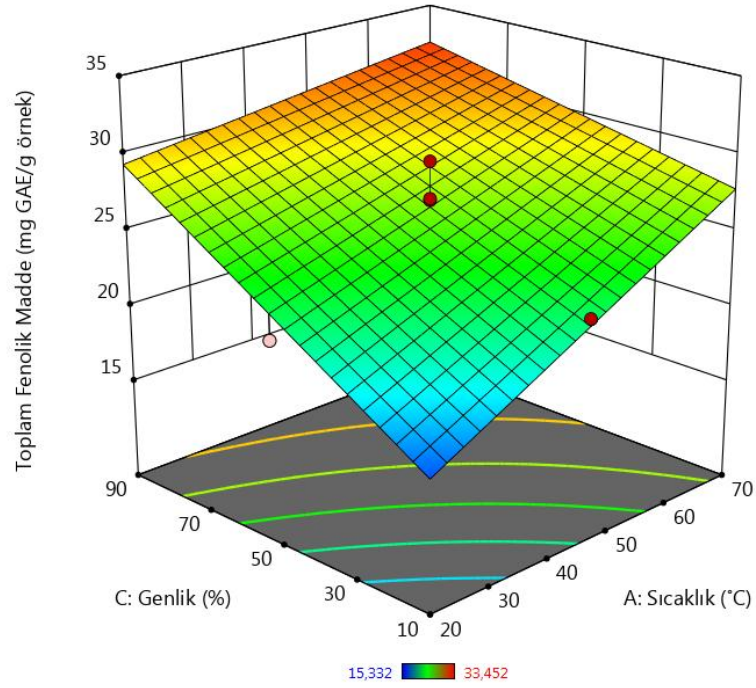


Şekil 26. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için antioksidan aktivite için yüzey grafiği; etanol konsantrasyonu ve ultrasonik genliğin etkisi, sıcaklık: 45 °C.

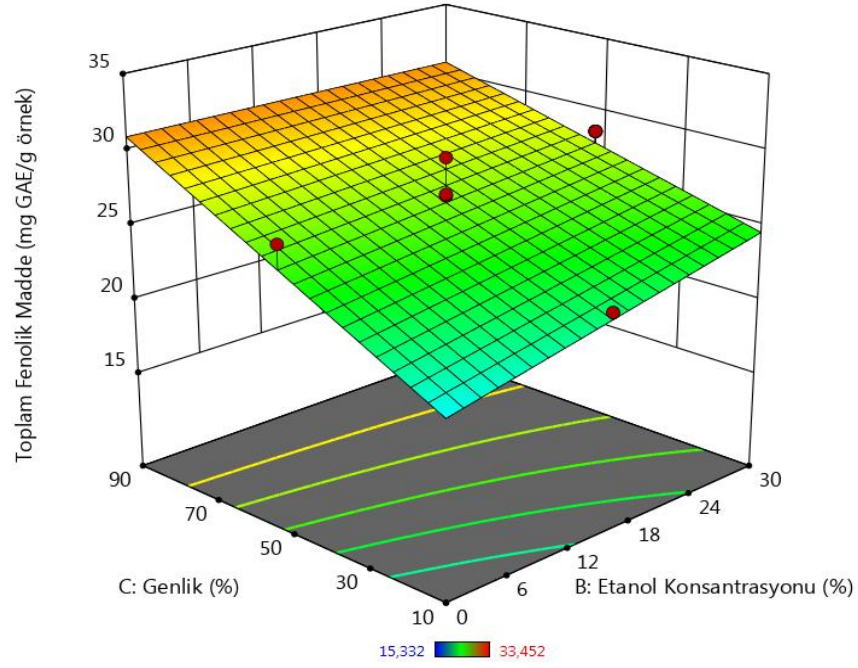
Toplam fenolik madde içeriğine sıcaklığın etkisi sıcaklık arttıkça artmaktadır (Şekil 27 ve 28). Ultrasonik genliğin toplam fenolik madde içeriğine etkisi genliğin artışına paralel olarak artmaktadır (Şekil 28 ve 29). Etanol konsantrasyonunun etkisi de konsantrasyon ile birlikte artmaktadır (Şekil 27 ve 29).



Şekil 27. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun etkisi, genlik seviyesi: % 50.



Şekil 28. Ultrasonik prob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; sıcaklık ve ultrasonik genliğin etkisi, etanol konsantrasyonu: % 15.



Şekil 29. Ultrasonikprob ile gerçekleştirilen ekstraksiyon için toplam fenolik madde için yüzey grafiği; etanol konsantrasyonu ve ultrasonik genliğin etkisi, sıcaklık: 45°C.

Optimum koşullar; maksimum istenilebilirlik fonksiyonu, maksimum antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği baz alınarak belirlenmiştir. Ultrasonik prob için yanıt yüzey optimizasyonu sonucunda belirlenen optimum koşullar; istenilebilirlik fonksiyonu 0,809, 52,43 °C, % 17,81 etanol konsantrasyonu, % 64,68 genlik koşullarında 7,36 mmol TE/g örnek antioksidan aktivite ve 29,19 mg GAE/g örnek toplam fenolik madde içeriği olarak tespit edilmiştir. Bu koşullara yaklaşılabilen en yakın deneysel koşullar; 52 °C, % 18 etanol konsantrasyonu, % 65 genlik kullanıldığında 7,17 mmol TE/g örnek antioksidan aktivite ve 28,24 mg GAE/g örnek toplam fenolik madde içeriği elde edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ceviz yeşil kabuğunun ultrasonik banyo ve ultrasonik prob ile ultrases destekli ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon koşullarının toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite kinetiklerine etkisi belirlenmiştir. Ekstraksiyon koşulları ultrasonik prob ekstraksiyonda, etanol konsantrasyonu (% 0, 30 ve 60), sıcaklık (20, 40 ve 60 °C) ve ultrases genliği (% 30, 60 ve 90) olarak; ultrasonik banyo ekstraksiyonda, etanol konsantrasyonu (% 0, 30 ve 60), sıcaklık (20, 40 ve 60 °C) ve ultrases gücü (% 30, 60 ve 90) olarak seçilmiştir.

Yanıt yüzey yöntemi kullanarak herbir ekstraksiyon yöntem için optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Bağımsız değişkenler; ultrasonik prob ekstraksiyonunda, etanol konsantrasyonu (% 0, 15 ve 30), sıcaklık (20, 45 ve 70 °C) ve ultrases genliği (% 10, 50 ve 90) olarak; ultrasonik banyo ekstraksiyonda, etanol konsantrasyonu (% 0, 30 ve 60), sıcaklık (20, 45 ve 70 °C) ve ultrases gücü (% 20, 60 ve 100) olarak seçilmiştir. Yanıt olarak toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi seçilmiştir.

Ekstraksiyon kinetikleri Peleg modeli ile başarılı bir şekilde ifade edilmiştir. Yanıt yüzey metoduna göre optimum koşullar her iki yöntem için gallik asit cinsinden (mg GAE/g örnek) toplam fenolik madde içeriği ve Trolox eşdeğeri cinsinden (mmol TE/g örnek) antioksidan aktivite olarak bulunmuştur.

Ultrasonik banyo ve ultrasonik prob ekstraksiyonlarının kinetikleri karşılaştırıldığında; ultrasonik banyoda 180. dakikada ekstraksiyonun tamamlandığı düşünülürse antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği için elde edilen en yüksek değerler sırasıyla yaklaşık olarak 12,4 mmol TE/g örnek ve 40,3 mg GAE/g örnek olarak bulunmuştur, Ultrasonik probda 40. dakika ekstraksiyonun tamamlandığı düşünülürse antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği için elde edilen en yüksek değerler sırasıyla yaklaşık olarak 12,4 mmol TE/g örnek ve 42,2 mg GAE/g örnek olarak bulunmuştur. Bu sonuca göre ultrasonik banyo ile yapılan ekstraksiyon daha yavaş bir işlem olup, ultrasonik prob kullanımına göre 4,5 kat daha fazla süreye ihtiyaç duymaktadır.

Her iki ekstraksiyon metodunda da antioksidan aktivitede 40 °C'de, toplam fenolik madde içeriğinde 60 °C'de en yüksek değere ulaşmıştır. Etanol konsantrasyonunun etkisi toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite için metodlarda farklılık göstermemiş olup başlangıçta (% 0-30) etanol konsantrasyonundaki artış verimi artırmıştır sonra (% 30-60) yükselen etanol konsantrasyonu ile verim düşmüştür.

Ultrasonik banyoda güç seviyesindeki artış toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitede azalmaya neden olmuştur. Düşük güç seviyeleri olan % 30'da yüksek verime ulaşılmıştır.

Ultrasonik probda genlik seviyesindeki artış her iki özellik için pozitif etkiye neden olmuştur, yani genlik seviyesi arttıkça elde edilen toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite artmıştır.

Yanıt yüzey optimizasyonu sonuçlarına göre ultrasonik banyoda antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde içeriği için sıcaklık ve etanol konsantrasyonu etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0,05$) fakat ultrasonik gücün etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ($p > 0,05$) görülmüştür. Ultrasonik probda ise antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde için sıcaklık, etanol konsantrasyonu ve ultrasonik genliğin etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0,05$) belirlenmiştir.

Yanıt yüzey optimizasyonu ile optimum koşullar maksimum istenilebilirlik fonksiyonu, maksimum antioksidan aktivite ve maksimum toplam fenolik madde miktarı ile belirlenmiştir. Ultrasonik banyo için istenilebilirlik fonksiyonu 0,955, etanol konsantrasyonu % 38,85, güç seviyesi % 76,52 ve sıcaklık 56,32 °C; ultrasonik prob için istenilebilirlik fonksiyonu 0,809, etanol konsantrasyonu % 17,81, genlik değeri % 64,68 ve sıcaklık 52,43 °C olarak tespit edilmiştir.

İki yöntem karşılaştırıldığında ceviz yeşil kabuğundan fenolik madde ekstraksiyonunda ultrasonik prob kullanımının daha etkili olduğu ve ekstraksiyon süresini önemli oranda kısalttığı belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışma sonuçları tarımsal atık olan ceviz yeşil kabuğunun doğal antioksidan ve fenolik madde için değerli bir kaynak olarak kullanılabilirliğini de göstermektedir. Ceviz yeşil kabuğundan elde

edilen fenolik madde ekstraktlarının farklı gıda maddelerinin üretiminde kullanımına yönelik çalışmalar yapılabilir.



7. KAYNAKLAR

Arapitsas, P., Turner, C., “Pressurized solvent extraction and monolithic column-HPLC/DAD analysis of anthocyanins in red cabbage”, *Talanta*, 74(5), 1218-1223, (2008).

Bucić-Kojić, A., Planinić, M., Tomas, S., Jakobek, L. and Šeruga, M., “Influence of solvent and temperature on extraction of phenolic compounds from grape seed, antioxidant activity and colour of extract”, *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2394-2401, (2009).

Büyüktuncel, E., “Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri”, *I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2), 209-242, (2012).

Cadoni, E., De Giorgi, M. R., Medda, E. and Poma, G., ”Supercritical CO₂ extraction of lycopene and β-carotene from ripe tomatoes”, *Dyes and Pigments*, 44(1), 27-32, (1999).

Camel, V., “Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples”, *Trends in Analytical Chemistry*, 19(4), 229-248, (2000).

Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M. and Barroso, C. G., “Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes”, *Analytica Chimica Acta*, 732, 100-104, (2012).

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S. and Abert-Vian, M., “Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 34, 540–560, (2017).

Chrzanowski, G., Leszczyński, B., Czerniewicz, P., Sytykiewicz, H., Matok, H. and Krzyżanowski, R., “Phenolic acids of walnut (*Juglans regia* L.)”, Poland, (2010).

Çam, M. ve Hışıl, Y., “Basınçlı solvent ekstraksiyonu ve uygulamaları”, *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 79-86, (2006).

D’Alessandro, L. G., Dimitrov, K., Vauchel, P. and Nikov, I., “Kinetics of ultrasound assisted extraction of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* (black chokeberry) wastes”, *Chemical Engineering Research and Design*, 92(10), 1818-1826, (2014).

Da Porto, C., Porretto, E. and Decorti, D., “Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1076-1080, (2013).

De Castro, M. L., Priego-Capote, F., “Soxhlet extraction: Past and present panacea”, *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2383-2389, (2010).

Demirdöven, A., Baysal, T., “The use of ultrasound and combined technologies in food preservation”, *Food Reviews International*, 25(1), 1-11, (2008).

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S. and Ju, Y. H., “Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Linnophila aromatica*”, *Journal of Food and Drug Analysis*, 22(3), 296-302, (2014).

Eskilsson, C. S., and Björklund, E., “Analytical-scale microwave-assisted extraction”, *Journal of Chromatography A*, 902(1), 227-250, (2000).

Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freire, M. S., Valentao, P., Andrade, P. B., González-Álvarez, J., and Pereira, J. A., “Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts”, *Industrial Crops and Products*, 42, 126-132, (2013).

Ghasemi, K., Ghasemi, Y., Ehteshamnia, A., Nabavi, S. M., Nabavi, S. F., Ebrahimzadeh, M. A., and Pourmorad, F., “Influence of environmental factors on antioxidant activity, phenol and flavonoids contents of walnut (*Juglans regia* L.) green husks”, *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(7), 1128-1133, (2011).

Golmohamadi, A., Möller, G., Powers, J. and Nindo, C., “Effect of ultrasound frequency on antioxidant activity, total phenolic and anthocyanin content of red raspberry puree”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(5), 1316-1323, (2013).

İnce, A. E., Şahin, S., Şümnü, S. G., “Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound”, *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(1), 69-75, (2013).

Jiang, C., Li, X., Jiao, Y., Jiang, D., Zhang, L., Fan, B. and Zhang, Q., “Optimization for ultrasound-assisted extraction of polysaccharides with antioxidant activity in vitro from the aerial root of *Ficus microcarpa*”, *Carbohydrate polymers*, 110, 10-17, (2014).

Lazar, L., Talmaciu, A. I., Volf, I. and Popa, V. I., “Kinetic modeling of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from *Picea abies* bark”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 32, 191-197, (2016).

Liu, Y., Wei, S. and Liao, M., “Optimization of ultrasonic extraction of phenolic compounds from *Euryale ferox* seed shells using response surface methodology”, *Industrial Crops and Products*, 49, 837-843, (2013).

Liu, Y., Gong, G., Zhang, J., Jia, S., Li, F., Wang, Y. and Wu, S., “Response surface optimization of ultrasound-assisted enzymatic extraction polysaccharides from *Lycium barbarum*”, *Carbohydrate Polymers*, 110, 278-284, (2014).

Lopez-Avila, V., “Sample preparation for environmental analysis”, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 29(3), 209-211, (1999).

Luque de Castro M., D., Valcárcel, M. and Tena M.,T., “Analytical supercritical fluid extraction”, Springer Verlag, Heidelberg, (1994).

Miranda, M., Maureira, H., Rodriguez, K., Vega-Galvez, A., “Influence of temperature on the drying kinetics, physicochemical properties, and antioxidant capacity of *Aloe Vera* (*Aloe barbadensis* miller) gel”, *Journal of Food Engineering*, 91 (2), 297–304, (2009).

Morelli, L. L. L., Prado, M. A., “Extraction optimization for antioxidant phenolic compounds in red grape jam using ultrasound with a response surface methodology”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(6), 1144-1149, (2012).

Nakilcioğlu, E., ve Ötleş, S., “Basınçlı çözügen ekstraksiyonu ve gıda sanayiindeki uygulamaları”, *Academic Food Journal/Akademik Gıda*, 12(2), (2014).

Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I. C., Bento, A., Estevinho, L. and Pereira, J. A., “Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks”, *Food and Chemical Toxicology*, 46(7), 2326-2327, (2008).

Pingret, D., Fabiano-Tixier, A. S., Le Bourvellec, C., Renard, C. M. and Chemat, F., “Lab and pilot-scale ultrasound-assisted water extraction of polyphenols from apple pomace”, *Journal of Food Engineering*, 111(1), 73-81, (2012).

Pradal, D., Vauchel, P., Decossin, S., Dhulster, P., and Dimitrov, K., “Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 32, 137-146, (2016).

Popovici, C., Gîtin, L., and Alexe, P., “Characterization of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extract obtained by supercritical carbon dioxide fluid extraction”, *Journal of Food and Packaging Science Technique and Technologies*, 1(1), 5-9, (2012).

Sacilik, K., "Effect of drying methods on thin-layer drying characteristics of hull-less seed pumpkin (*Cucurbita pepo* L.)", *Journal of Food Engineering*, 79(1), 23-30, (2007).

Salejda A.M., Janiewicz U., Korzeniowska M., Kolniak-Ostek J., Krasnowska G., "Effect of walnut green husk addition on some quality properties of cooked sausages", *LWT- Food Science and Technology* 65, 751-757, (2016).

Santos, D. T., Veggi, P. C. and Meireles, M. A. A., "Extraction of antioxidant compounds from jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) skins: yield, composition and economical evaluation", *Journal of Food Engineering*, 101(1), 23-31, (2010).

Singleton, V. L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventós, R. M., "Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent", *In Methods in Enzymology* (Vol. 299, pp. 152-178), Academic Press, (1999).

Soria, A. C., Villamiel, M., "Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review", *Trends in Food Science & Technology*, 21(7), 323-331, (2010).

Spigno, G., Tramelli, L., and De Faveri, D. M., "Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics", *Journal of Food Engineering*, 81(1), 200-208, (2007).

Tao, Y., Zhang, Z. and Sun, D. W., "Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: influence of acoustic energy density and temperature", *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(4), 1461-1469, (2014).

Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D. H., "Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts", *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7), 669-675, (2006).

Tiwari B.K., "Ultrasound: A clean, green extraction technology", *Trend in Analytical Chemistry*, 71, 100-109, (2015).

Tobiszewski, M., Mechlińska, A., Zygmunt, B., and Namieśnik, J., "Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants", *Trends in Analytical Chemistry*, 28(8), 943-951, (2009).

Tomšik, A., Pavlič, B., Vladić, J., Ramić, M., Brindza, J. and Vidović, S., "Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.)", *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 502-511, (2016).

Tüfekçi, S., “Ultras ses ön işleminin bamy ve elma örneklerinin kurutma performansları üzerine etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli, (2014).

Vetal, M. D., Lade, V. G., and Rathod, V. K., “Extraction of ursolic acid from *Ocimum sanctum* by ultrasound: Process intensification and kinetic studies”, *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 69, 24-30, (2013).

Vuong, Q. V., Thanh, D. T., Bhuyan, D. J., Goldsmith, C. D., Sadeqzadeh, E., Scarlett, C. J. and Bowyer, M. C., “Optimization of ultrasound-assisted extraction conditions for euphol from the medicinal plant, *Euphorbia tirucalli*, using response surface methodology”, *Industrial Crops and Products*, 63, 197-202, (2015).

Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X., “Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran”, *Food Chemistry*, 106, 804-810, (2008).

Wang, X., Wu, Y., Chen, G., Yue, W., Liang, Q. and Wu, Q., “Optimisation of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from *Sparganii rhizoma* with response surface methodology”, *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 846-854, (2013).

Qu, W., Pan, Z. and Ma, H., “Extraction modelling and activities of antioxidants from pomegranate marc”, *Journal of Food Engineering*, 99, 16–23, (2010).

Yağcıoğlu, P., “Farklı ekstraksiyon metotları ile adaçayı (*Salvia officinalis* L.) bitkisinden antioksidan ekstraksiyonunun optimizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, 2015.

Zhang, Z. S., Wang, L. J., Li, D., Jiao, S. S., Chen, X. D., and Mao, Z. H., “Ultrasound-assisted extraction of oil from flaxseed”, *Separation and Purification Technology*, 62(1), 192-198, (2008).

Zougagh, M., Valcárcel, M., and Rios, A., “Supercritical fluid extraction: A critical review of its analytical usefulness”, *Trends in Analytical Chemistry*, 23(5), 399-405, (2004).



EKLER

8. EKLER

EK A:Yüzey Merkezli Merkezi Birleşik Tasarım Deney Deseni için Uygunluk Özet Tablosu

Çizelge A1. Antioksidan Aktivite - Dolaylı yöntem

Kaynak	Ardışık p-değeri	Uyumsuzluk p-değeri	DeneySEL R ²	Tahminlenen R ²	R ²	
Linear	0,0059	0,3160	0,5136	0,3119		
2FI	0,6504	0,2774	0,4593	-0,7567		
Quadratik	0,0025	0,8586	0,8890	0,7192	0,9514	Önerilen
Kübik	0,7183	0,7513	0,8501	-1,7973		

Çizelge A2. Toplam Fenolik Madde İçeriği - Dolaylı yöntem

Kaynak	Ardışık p-değeri	Uyumsuzluk p-değeri	DeneySEL R ²	Tahminlenen R ²	R ²	
Linear	0,0019	0,0629	0,5933	0,4086		
2FI	0,7825	0,0510	0,5229	-0,8122		
Quadratik	0,0035	0,1922	0,8916	0,5326	0,9526	Önerilen
Kübik	0,0558	0,9590	0,9793	0,9838		

Çizelge A3. Antioksidan Aktivite - Doğrudan yöntem

Kaynak	Ardışık p-değeri	Uyumsuzluk p-değeri	DeneySEL R ²	Tahminlenen R ²	R ²	
Linear	< 0.0001	0,2878	0,8256	0,7081		
2FI	0,0129	0,5216	0,9194	0,8602	0,9496	Önerilen
Quadratik	0,2639	0,5709	0,9325	0,8334		
Kübik	0,8221	0,2431	0,8941	-17,0537		

Çizelge A4. Toplam Fenolik Madde İçeriği- Doğrudan yöntem

Kaynak	Ardışık p-değeri	Uyumsuzluk p-değeri	Deneysel R ²	Tahminlenen R ²	R ²	
Linear	< 0.0001	0,2607	0,7628	0,5925		
2FI	0,0058	0,5429	0,9073	0,8687	0,9421	Önerilen
Quadratik	0,2202	0,6208	0,9268	0,8343		
Kübik	0,7780	0,3000	0,8923	-14,7183		

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Nesrin SARITAŞ

Doğum Yeri ve Tarihi : Acıpayam 18.10.1990

Lisans Üniversite : Ege Üniversitesi

Elektronik posta : surucuoglugnesrin@gmail.com

İletişim Adresi : Yukarı Mah. Atatürk İlkokul Cad. No:23
Kat:5 Daire: 11 Acıpayam/ DENİZLİ

Konferans listesi

•Saritaş, N., Özkal, S.G., “Phenolic Extracts Having Antioxidant and Antimicrobial Properties from Walnut Green Husk”, 1. International Technological Sciences and Design Symposium, 2018 (Giresun, Turkey).