



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OPTİMİZE EDİLMİŞ SÜPERKRİTİK AKIŞKAN
SİSTEMLERİ İLE ELDE EDİLMİŞ *LUPINUS*
***ALBUS L.* TOHUMU EKSTRAKTLARININ**
İNCELENMESİ VE KAPSÜLASYONU

Hatice Kübra KARA

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

02/2025

KONYA

Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Hatice Kübra KARA tarafından hazırlanan “Optimize Edilmiş Süperkritik Akışkan Sistemleri ile Elde Edilmiş *Lupinus Albus* L. Tohumu Ekstraktlarının İncelenmesi ve Kapsülasyonu” adlı tez çalışması 11/02/2025 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Başkan

Prof. Dr. İbrahim Ender MULAZIMOĞLU

.....

Danışman

Doç. Dr. Fatih DURMAZ

.....

Üye

Prof. Dr. Aydan YILMAZ

.....

Üye

Prof. Dr. Mustafa TOPKAFA

.....

Üye

Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Ömer Faruk YÜKSEL
FBE Müdürü

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 20211037 nolu proje ile desteklenmiştir.

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza

Hatice Kübra KARA

Tarih:

ÖZET

DOKTORA TEZİ

OPTİMİZE EDİLMİŞ SÜPERKRİTİK AKIŞKAN SİSTEMLERİ İLE ELDE EDİLMİŞ *LUPINUS ALBUS L.* TOHUMU EKSTRAKTLARININ İNCELENMESİ VE KAPSÜLASYONU

Hatice Kübra KARA

Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Fatih DURMAZ

2025, 111 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. Fatih DURMAZ

Prof. Dr. İbrahim Ender Mülazımoğlu

Prof. Dr. Aydan YILMAZ

Prof. Dr. Mustafa TOPKAFA

Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ

Yüksek protein ve lif içeriğine sahip olmasının yanında biyoaktif bileşenler yönünden de zengin bir baklagil olan *Lupinus albus L.* tohumları Konya ve çevresinde yetişmektedir. Bu baklagilin içerdiği biyoaktif bileşiklerden biri olan alkaloidlerden dolayı acı olarak nitelendirilirler ve uzaklaştırılarak atıştırılabilir olarak tüketilmektedirler.

Çalışmanın ilk aşamasında; laboratuvar ölçekli süperkritik akışkan sistemi için, % ekstraksiyon verimi ve lupeol miktarı dikkate alınarak, ekstraksiyon süresi, tohum miktarı, basınç ve sıcaklık değişkenleri, optimize edilmiştir. Optimum şartlarda; acı ve acılığı giderilmiş tohumların ekstraksiyonu, laboratuvar ölçekli sistemde gerçekleştirildikten sonra, pilot ölçekli süperkritik akışkan sistemi kullanılmış, farklı basınç separatörlerinde toplanan farklı özellikteki ekstraktlar incelenmiş ve tokoferol-tokotrienol, fitosterol, yağ asitleri, lupeol, uçucu bileşenler, trigliseritler ve ekstraktların antioksidan kapasite tayinleri gerçekleştirilmiştir.

Acı ve acılığı giderilmiş tohumlardan elde edilen ekstraktlardaki biyoaktif bileşenlerin, çevresel etkilerden korumak ve biyoteknolojik uygulamalarda kullanmak amacıyla, kitosan konsantrasyonu, ekstrakt miktarı, çapraz bağlayıcı ve surfaktant oranı optimize edilerek, kitosan nanoparçacıklar ile kapsülasyonu gerçekleştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Biyoaktif bileşenler, bitkisel ekstrakt kapsülasyonu, *Lupinus albus* L. tohumu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu



ABSTRACT

Ph.D THESIS

INVESTIGATION AND ENCAPSULATION OF THE *LUPINUS ALBUS* L. SEED EXTRACTS OBTAINED BY OPTIMIZED SUPERCRITICAL FLUID SYSTEMS

Hatice Kübra KARA

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF SELÇUK
UNIVERSITY
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN CHEMISTRY**

Advisor: Assoc. Prof Dr. Fatih DURMAZ

2025, 111 Pages

Jury

Assoc. Prof. Dr. Fatih DURMAZ

Prof. Dr. İbrahim Ender MÜLAZIMOĞLU

Prof. Dr. Aydan YILMAZ

Prof. Dr. Mustafa TOPKAFA

Prof. Dr. Elif ÖZYILMAZ

Lupinus albus L. seeds are cultivated in Konya region and are known for their high protein and fiber content, as well as their richness in bioactive compounds. This legume is inherently bitter due to the presence of alkaloids, and it is consumed as a snack after these alkaloids are removed.

In the first part of the study, taking into account the extraction yield percentage and lupeol content, the extraction duration, seed amount, pressure, and temperature parameters were optimized for laboratory-scale supercritical fluid system. After conducting the extractions of bitter and debittered seeds under optimum conditions using laboratory-scale system, a pilot-scale supercritical fluid system was employed and the extracts, collected from different pressure separators which possessing different properties, were analyzed for tocopherols, tocotrienols, phytosterols, fatty acids, lupeol, volatile compounds, triglycerides, and antioxidant capacity.

The bioactive compounds of bitter and debittered seed extracts were encapsulated in chitosan nanoparticles, which were obtained through the optimization of chitosan concentration, extract amount, crosslinker, and surfactant ratios, for the protection of the compounds from environmental effects, as well as for their biotechnological application.

Keywords: Bioactive compounds, encapsulation of plant extract, *Lupinus Albus* L. seeds, supercritical fluid extraction



ÖNSÖZ

Bu çalışma, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Doktora Tezi olarak sunulmuştur.

Bu çalışma süresince yardımlarını benden esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Fatih DURMAZ' a teşekkür ederim.

Sayın TİK üyesi hocalarım Prof. Dr. Mustafa Topkara'ya ve Prof. Dr. Aydan Yılmaz'a teşekkür ederim.

Bu süreçte desteklerini benden esirgemeyen araştırma grubumuzdaki arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışmaların yürütülebilmesi için gerekli mali kaynağı, BAP 20211037 nolu proje ile sağlayan S.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğüne de teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince her türlü desteği ve yardımıyla yanımda olan çok kıymetli babama, anneme ve sevgili kardeşlerime çok teşekkür ederim.

Son olarak; bu tezi yokluklarını derinden hissettiğim bana olan güvenini ve desteğini bir an eksik etmeyen çok kıymetli dedelerime atfediyorum.

Hatice Kübra KARA
KONYA-2025

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT.....	vi
ÖNSÖZ	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1.Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu	3
1.2. <i>Lupinus Albus</i> L. Tohumları	5
1.2.1.Terpenoidler	6
1.2.2.Fitosteroller	7
1.2.3.Tokoferoller ve tokotrienoller.....	7
1.2.4.Monogliserit digliserit ve trigliseritler	8
1.2.5.Yağ asitleri	9
1.2.6.Kinolizidin Alkaloidleri	9
1.2.7.Fenolik bileşikler	10
1.3.Bitkisel Ekstraktların Kapsülasyonu.....	10
1.3.1.Kitosan nanoparçacıklar	11
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	18
3.1. Kullanılan Kimyasallar, Çözücüler, Numuneler ve Cihazlar	18
3.1. <i>Lupinus Albus</i> L. Tohumları	19
3.1.1. Acı tohum	19
3.1.2. Acılığı giderilmiş tohum	19
3.1.3. Acı ve acılığı giderilmiş tohumların nem analizleri	20
3.2.Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE).....	20
3.2.1.Laboratuvar ölçekli SFE sistemi ile parametrelerin optimizasyonu.....	20
3.2.1.1.Madde miktarı ve süre optimizasyonu.....	20
3.2.1.2.Merkezi kompozit tasarım ile basınç ve sıcaklık parametrelerinin optimizasyonu.....	21
3.2.2.Optimum parametrelerde, laboratuvar ölçekli SFE sistemi ile ekstraktların eldesi.....	22
3.2.3.Pilot ölçekli SFE sistemi ile ekstraktların eldesi	22
3.3.Ekstraktlardaki Bileşenlerin İncelenmesi	23
3.3.1.Uçucu bileşen analizi	23
3.3.2.Lupeol tayini	23

3.3.3.Tokoferol-tokotrienol analizi	24
3.3.4.Yağ asidi kompozisyonu.....	24
3.3.5.Gliserit Tür ve FFA Analizleri.....	25
3.3.6.Trigliserit analizi	25
3.3.7.Sterol Analizi	26
3.3.8.Antioksidan kapasitesi analizi	27
3.4. <i>Lupinus Albus</i> L. Tohumu Ekstraktlarının Kitosan Nanoparçacıklar ile Kapsülasyonu.....	27
3.4.1.Boş kitosan nanoparçacıkların sentez parametrelerinin optimizasyonu	27
3.4.2.Ekstraktların kitosan nanoparçacıklar ile kapsülasyon parametrelerinin optimizasyonu	27
3.4.2.1.Tween 80 konsantrasyonu ve ekstrakt miktarının belirlenmesi.....	27
3.4.3.Ekstraktların % yükleme kapasitesinin belirlenmesi	28
3.4.4.Nanoparçacıkların Karakterizasyonu	28
3.4.4.1.Dinamik Işık Saçılımı (DLS)	28
3.4.4.2.Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskop görüntüleri (FE-SEM)	28
3.4.4.3.Taramalı geçirimli elektron mikroskobu görüntülenmesi (STEM)	29
3.5.İstatistiksel Analizler	29
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	30
4.1. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemi	30
4.1.1. Ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu.....	30
4.1.1.1.Madde Miktarı ve Ekstraksiyon Süresi Optimizasyonu	30
4.1.1.2.Basınç ve sıcaklık parametrelerinin optimizasyonu	31
4.1.2. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının eldesi.....	35
4.1.3. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının lupeol analizi	36
4.1.4. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının uçucu bileşen analizleri	39
4.1.5. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının tokoferol-tokotrienol analizleri.....	39
4.1.6. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının yağ asidi kompozisyonu	44
4.1.7. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının trigliserit kompozisyon analizi	45
4.2. Pilot Ölçekli SFE sistemi	47
4.2.1. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının eldesi	47
4.2.2. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının lupeol analizi.....	48
4.2.3. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının uçucu bileşen analizleri.....	53
4.2.4. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının tokoferol ve tokotrienol analizleri	55
4.2.5. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının yağ asidi analizi	61
4.2.6. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının trigliserit kompozisyon analizi	61

4.2.7. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının gliserit tür ve FFA analizleri	66
4.2.8. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının sterol analizleri.....	67
4.2.9. Pilot ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının antioksidan kapasitesini belirleme	69
4.3. <i>Lupinus Albus</i> L. Tohum Ekstraktlarının Kitosan Nanoparçacıklar ile Kapsülasyonu.....	70
4.3.1. Boş kitosan nanoparçacıkların sentez parametrelerinin optimizasyonu	71
4.3.2. Ekstraktların kitosan nanoparçacıklar ile kapsülasyon parametrelerinin optimizasyonu	72
4.3.3. Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) görüntülemesi ...	73
4.3.4. Taramalı geçirimli elektron mikroskobu (STEM) görüntülemesi	74
4.3.5. Ekstraktların %yükleme kapasitesi tespiti	74
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	78
5.1. Sonuçlar	78
5.2 Öneriler	79
KAYNAKLAR	80
EKLER	91
ÖZGEÇMİŞ	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Lupeol molekülünün kimyasal yapısı.....	7
Şekil 1.2. a) monogliserit, b)digliserit c)trigliserit kimyasal yapıları	9
Şekil 3.1. Laboratuvar ölçekli SFE sistemi.....	20
Şekil 3.2. Pilot ölçekli SFE sistemi.....	23
Şekil 4.1. Ekstraksiyon süresi ve tohum miktarının ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi	30
Şekil 4.2. Basınç ve sıcaklık değişkenlerinin % ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisini gösteren YY grafikleri	33
Şekil 4.3. Basınç ve sıcaklık değişkenlerinin mg lupeol/kg KM üzerindeki etkileri gösteren YY grafikleri	34
Şekil 4.4. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının % ekstraksiyon verimlerinin karşılaştırılması	36
Şekil 4.5. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının lupeol analiz kromatogramları.....	37
Şekil 4.6. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol miktarı karşılaştırması.....	38
Şekil 4.7. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının kuru maddedeki lupeol miktarı karşılaştırması.....	38
Şekil 4.8. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki uçucu bileşen analiz kromatogramları	40
Şekil 4.9. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki tokoferol-tokotrienol analiz kromatogramı.....	41
Şekil 4.10. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktaki γ -Tokoferol miktar karşılaştırması	41
Şekil 4.11. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının kuru maddedeki γ -Tokoferol miktar karşılaştırması.....	42
Şekil 4.12 Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktaki toplam tokol madde miktar karşılaştırması	42
Şekil 4.13. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki yağ asit kompozisyon analizi kromatogramı.....	45
Şekil 4.14. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki trigliserit analiz kromatogramları	46
Şekil 4.15. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol analizi kromatogramları	50
Şekil 4.16. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol analizi kromatogramları	50
Şekil 4.17. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol miktarı karşılaştırması	51
Şekil 4.18. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının kuru maddedeki lupeol miktarı karşılaştırması	51
Şekil 4.19. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol miktarı karşılaştırması.....	51

Şekil 4.20. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının kuru maddedeki lupeol miktarı karşılaştırması.....	52
Şekil 4.21. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının kuru maddede bulunan toplam lupeol miktarı karşılaştırması....	52
Şekil 4.22. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki uçucu bileşen analizi kromatogramları	54
Şekil 4.23. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki uçucu bileşen analizi kromatogramları	54
Şekil 4.24. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki tokoferol-tokotrienol analizi kromatogramları.....	56
Şekil 4.25. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki tokoferol-tokotrienol analizi kromatogramları	58
Şekil 4.26. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki γ -Tokoferol miktarı karşılaştırması	58
Şekil 4.27. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının kuru maddeki γ -Tokoferol miktarı karşılaştırması.....	59
Şekil 4.28. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki γ -Tokoferol miktarı karşılaştırması	59
Şekil 4.29. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının kuru maddeki γ -Tokoferol miktarı karşılaştırması	60
Şekil 4.30. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının kuru maddeki toplam tokol madde miktarı.....	60
Şekil 4.31. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının yağ asidi kompozisyon analizi kromatogramları	62
Şekil 4.32. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının yağ asidi kompozisyon analizi kromatogramları.....	62
Şekil 4.33. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının % trigliserit kompozisyon analiz kromatogramı	64
Şekil 4.34. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının % trigliserit kompozisyon analizi kromatogramları	64
Şekil 4.35. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının gliserit tür ve FFA analizleri kromatogramları	66
Şekil 4.36. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının gliserit tür ve FFA analizleri kromatogramları.....	67
Şekil 4.37. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının sterol analiz kromatogramı.....	68
Şekil 4.38. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının sterol analiz kromatogramı	68
Şekil 4.39. Emülsiyon-iyonik jelleşme metodu ile kitosan nanoparçacıkların sentezinin gösterimi	70
Şekil 4.40. Ekstrakt: kitosan oranının vs % yükleme kapasitesi ve % kapsülasyon verimi grafiği.....	73
Şekil 4. 41. Boş KSNP(a,b) ve TS3 yüklü KSNP (c,d) ve AS2 yüklü KTNP'nin Fe-SEM görüntüleri	75
Şekil 4.42. a,b: Boş KSNP, c,d: TS3 yüklü, e,f: AS2 yüklü KSNP STEM görüntüleri .	76
Şekil 4.43. AS ve TS yüklü KSNP %yükleme kapasitesi karşılaştırması	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı çözücülerin kritik parametreleri	4
Çizelge 1.2. Yağ asitlerinin sınıflandırılması	10
Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasallar, çözücüler ve numuneler	18
Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar	19
Çizelge 3.3. Merkezi kompozit tasarım bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve gerçek değerleri	21
Çizelge 3.4. Merkezi kompozit tasarım deneysel tasarımının analiz şartları	21
Çizelge 3.5. Uçucu bileşen analiz GC-MS kromatografik şartları	23
Çizelge 3.6. Lupeol tayini için HPLC-UV kromatografik şartları	24
Çizelge 3.7. Tokoferol-tokotrienol analizi HPLC-FLD kromatografik şartları.....	24
Çizelge 3.8. Yağ asidi kompozisyon analizi GC-FID kromatografik şartları	25
Çizelge 3.9. Gliserit Tür ve FFA analizleri HPLC-RI kromatografik şartları.....	25
Çizelge 3.10. Triglicerit analizleri için HPLC-UV kromatografik şartları	26
Çizelge 3.11. Sterol analizleri için GC-MS kromatografik şartları	26
Çizelge 3.12. İstatiksel analizlerde kullanılan semboller ve anlamları.....	29
Çizelge 4. 1. Merkezi kompozit tasarım analiz şartları	31
Çizelge 4.2. Basınç ve sıcaklık bağımsız değişkenlerinin %ekstraksiyon verimi üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları.....	34
Çizelge 4.3. Basınç ve sıcaklık bağımsız değişkenlerinin mg lupeol/kg KM üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları.....	35
Çizelge 4.4. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraksiyon verimleri	35
Çizelge 4.5. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının lupeol miktarları.....	37
Çizelge 4.6. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarındaki tokoferol-tokotrienol madde miktarı. 43	
Çizelge 4.7. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının % yağ asit kompozisyonları.....	44
Çizelge 4.8. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının %triglicerit kompozisyonu.....	46
Çizelge 4.9. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının % ekstraksiyon verimleri	47
Çizelge 4.10. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının lupeol miktarları	49
Çizelge 4.11. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının tokoferol-tokotrienol madde miktarları 57	
Çizelge 4.12. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının %yağ asidi kompozisyonları.....	63
Çizelge 4.13. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının % triglicerit kompozisyonları	65
Çizelge 4.14. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının sterol miktarı.....	68
Çizelge 4.15. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. tohumlarının ekstraktlarının antioksidan aktivitesi	69

Çizelge 4.16. Tw80 konsantrasyonu, TPP: KS oranının parçacık boyutu üzerindeki etkisi.....	72
Çizelge 4.17. Farklı Tw80 konsantrasyonunun %yükleme kapasitesi üzerindeki etkisi	72



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	:Yüzde
°C	:Santigrat derece
Δ	:Delta
α	:Alfa
β	:Beta
γ	:Gama
δ	:Sigma
μ	:Mikro
μL	:Mikrolitre
mL	:Mililitre
L	:Litre
μg	:Mikrogram
g	:Gram
ng	:Nanogram
kg	:Kilogram
mg	:Miligram
mm	:Milimetre
nm	:Nanometre
Td	:Kritik T değeri

Kısaltmalar

3D	:Üç boyutlu
AOCS	:Amerikan yağ kimyacıları derneği
AS1	:Pilot ölçekli süperkritik akışkan sisteminde seperatör 1'den toplanmış acı <i>Lupinus Albus L.</i> ekstraktı
AS2	:Pilot ölçekli süperkritik akışkan sisteminde seperatör 2'den toplanmış acı <i>Lupinus Albus L.</i> ekstraktı
AS3	:Pilot ölçekli süperkritik akışkan sisteminde seperatör 3'den toplanmış acı <i>Lupinus Albus L.</i> ekstraktı
BSTFA	:Bis(trimetilsilil)trifloroasetamit
CCD	:Merkezi Kompozit Tasarım
CO ₂	:Karbondioksit
DAD	:Diodarray dedektör
FAME	:Yağ asidi metil esterleri
FFA	:Serbest yağ asidi
FLD	:Floresans dedektörü
FID	:Alev İyonlaşma Dedektör
GC	:Gaz kromatografisi
HPLC	:Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IC ₅₀	: İnhibisyon Konsantrasyonu 50
KA	:Laboratuvar ölçekli süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemlerinde optimum şartlarda alınmış acı <i>Lupinus Albus L.</i> ekstraktı
KM	:Kuru madde

KT	:Laboratuvar ölçekli süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemlerinde optimum şartlarda alınmış acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. ekstraktı
KS	:Kitosan
KV	:Kapsülasyon Verimi
KSNP	:Kitosan Nanoparçacık
Ln	:Linolenik asit
L	:Linoleik asit
MS	: Kütle Spektrometre
O	:Oleik asit
P	:Palmitik asit
PDI	: Polidispersite İndeksi
RCF	: Göreli Santrifüj Kuvveti (Relative Centrifugal Force)
RPM	: Dakika Başına Devir (Devir/dakika) (Revolutions Per Minute)
RID	: Kırılma İndisi Dedektörü
SFE	:Süperkritik akışkan ekstraksiyonu
SS	:Standart sapma
St	:Stearik asit
T	:Tokoferol
T3	:Tokotrienol
TG	:Trigliserit
TGs	:Trigliseritler
THF	:Tetrahidrofuran
TPP	:Tripolifosfat
TS1	:Pilot ölçekli süperkritik akışkan sisteminde seperatör 1'den toplanmış acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. ekstraktı
TS2	:Pilot ölçekli süperkritik akışkan sisteminde seperatör 2'den toplanmış acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. ekstraktı
TS3	:Pilot ölçekli süperkritik akışkan sisteminde seperatör 3'den toplanmış acılığı giderilmiş <i>Lupinus Albus</i> L. ekstraktı
Tw80	:Tween 80
UV	:Ultra viole görünür alan dedektörü
YK	:Yükleme Kapasitesi
YYY	:Yüzey Yanıt Yöntemi
YY	:Yüzey grafiği

1. GİRİŞ

Bitki kimyasalları demek olan fitokimyasallar bitkilerde doğal olarak bulunan çeşitli bileşikleridir. Biyoaktif fitokimyasallar veya bitkilerde bulunan biyoaktif bileşikler ise bitkisel kaynaklarda bulunabilen canlı vücuduyla etkileşime giren ve insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler oluşturan bileşikleridir. Biyoaktif fitokimyasallar genel olarak alkaloidler, organosülfürler, fenolikler, terpenler, steroller, karbonhidratlar, besleyici olmayan proteinler ve yağlar olarak sınıflandırılabilir (Bolling ve ark., 2011; Velavan, 2015).

Bulundurduğu alkaloidler, fenolik bileşikler, tokoferoller, steroller, yağ ve yağ asitlerini sayesinde gösterdiği antimikrobiyal, antioksidan ve antikanserojen vb. özelliklerinden dolayı Konya ve çevresinde sıklıkla yetiştirilen termiye olarak bilinen *Lupinus albus* L, tohumları potansiyelleri çok iyi değerlendirilememiş bitkilere örnek olarak verilebilir. Bu bitki yerel olarak farklı adlar almış baklagiller sınıfından otsu ve tek yıllık bir bitkidir. Bu bitkinin çok farklı türleri bulunmaktadır. Bunların başında *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius*, *Lupinus luteus* ve *L. mutabilis* dir (Yorgancılar, 1996; Huyghe, 1997; PASTOR-CAVADA ve ark., 2010; Yorgancılar ve Bilgiçli, 2014; Khan ve ark., 2015; Romeo ve ark., 2018; Estivi ve ark., 2022; Pereira ve ark., 2022; Gresta ve ark., 2023).

Bu baklagil lif ve kaliteli protein içeriği bakımından zengin bitkisel proteinler olarak kullanılan nişasta içermeyen bir türdür. İçeriğindeki alkaloidler, fenolik bileşikler, fitosteroller, tokoferoller, yağ ve yağ asitleri bulundurmasından dolayı biyoteknolojik çalışmalar açısından değerli bir bitkidir (PASTOR-CAVADA ve ark., 2010; Khan ve ark., 2015; Romeo ve ark., 2018; Czubinski ve ark., 2021; Vollmannova ve ark., 2021; Pereira ve ark., 2022; Gresta ve ark., 2023).

Ekstraksiyon sırasında malzemelerin hava ile temas etmemesi, düşük sıcaklıkta ekstraksiyon gerçekleştirilebilmesi, basınca bağlı olarak değişen çözücü yoğunluğuyla istenilen özelliklerdeki türlerin ekstraksiyonuna imkân sağlaması, farklı basınçtaki separatörler ile türlere göre ayırım sağlanması gibi birçok avantajı bulunan süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) bitkisel ekstraktların eldesinden tercih edilmektedir (Ude ve ark., 2002; Costa ve ark., 2015; Tang ve Dai, 2016; De Zordi ve ark., 2017; Hartati ve ark., 2018; Bin ve ark., 2020).

Süperkritik akışkan sistemlerinde; ucuz kolay temin edilebilirliği, zehirli ve yanıcı olmaması, tekrar kullanılabilir olması, ekstrakttan kolay uzaklaştırılabilmesi ve düşük sıcaklık ve basınçta süperkritik hale sahip olması gibi sebeplerle, bitki ekstraktlarının

eldeste genellikle çözücü olarak karbondioksit tercih edilmektedir. Düşük polariteye sahip türlerin ekstraksiyonu karbondioksit ile gerçekleştirilebilirken, polar özellikteki türlerin verimli ekstraksiyonunu sağlamak için karbondioksitle beraber yardımcı çözücü de kullanılmaktadır. İstenilen türlerin verimli bir şekilde ekstraksiyonunu sağlamak için basınç, sıcaklık, yardımcı solvent oranı, dinamik ve statik ekstraksiyon süresi gibi çoklu değişkenlerin bir arada optimize edilmesi ekstraksiyon verimi için önemlidir.(Ghasemi ve ark., 2011; Antunes-Ricardo ve ark., 2017; De Zordi ve ark., 2017)

Sıcaklık, ışık, pH gibi çevresel faktörler biyoaktif fitokimyasallar yapılarının bozulmasına ve biyoaktif özelliklerinin kaybolmasına neden olabilmektedir. Bu faktörlerin bileşiklerin üzerindeki olumsuz etkilerini ortadan kaldırarak tüm koşullarda stabilitelerini koruyabilmeleri için çeşitli kapsülasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Vitaminler, enzimler, antimikrobialler, esansiyel yağlar, fenolik bileşikler ve bunları içeren ham ekstraktların kapsüllenmesinde kullanılmaktadır (Chun ve ark., 2013; Emami ve ark., 2016; Tan ve ark., 2016; Amjadi ve ark., 2018; Ravanfar ve ark., 2018; Huang ve ark., 2019; Mirafzali ve ark., 2023).

Literatürde *Lupinus albus* L. tohumları üzerine klasik çözücü ekstraksiyonları ile elde edilmiş ekstraktların içeriklerinin analiz edildiği, SFE sistemi ile alkaloidlerin tohumlar uzaklaştırılmasında ve *Lupinus Albus* L. tohumunun kabuklarının SFE sistemi ile ekstraksiyona tabii tutulduğu ve içeriklerinin incelendiği çalışmalar bulunmaktadır. *Lupinus Albus* L. tohumunun tümü üzerinde SFE sistemi ile ekstraktların eldesi, ekstraktların ayrıntılı analizleri ve bu ekstraktların kapsülasyonu ile ilgili yapılmış herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada;

1. *Lupinus Albus* L. tohumları içerisinde bulunan biyoaktif bileşiklerin elde edilmesi için laboratuvar skalasındaki SFE cihazı kullanılarak, kuru ağırlık miktarı, ekstraksiyon süresi, sıcaklığı ve basıncı gibi çok önemli ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyon çalışmaları yürütülmüş ve madde miktarı, ekstraksiyon süresi tespit edildikten sonra 2 değişkenli 5 seviyeli Merkezi kompozit tasarımı ile en yüksek verimin elde edilebileceği ekstraksiyon parametreleri tespit edilmiştir.
2. Bu laboratuvar ölçekli SFE sistemi kullanılarak optimum parametrelerde acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraksiyonları yapılmış ve elde edilen ekstraktlardaki tokoferol-tokotrienol, yağ asitleri, lupeol, uçucu bileşenler, trigliseritler çeşitli kromatografik analiz yöntemleri ile incelenmiştir.

3. Optimize edilmiş sıcaklık ve basınç parametreleri kullanılarak, pilot ölçekli cihaz üzerinde daha büyük boyutta ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiş ve üç farklı basınç separatörleri ile fraksiyonlama yapılarak ve farklı separatörlerden elde edilen ekstraktların tokoferoller-tokotrienoller, fitosteroller, yağ asitleri, lupeol, uçucu bileşenler, trigliseritler gibi çok önemli biyoaktif bileşikler tayin edilmeye çalışılmış ve sahip oldukları antioksidan özellikler incelenmiştir.
4. Elde edilen ekstraktlardaki değerli bileşiklerinin kapsülasyonu kitosan nanoparçacıklar ile gerçekleştirilmiştir.

1.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Bir maddenin kritik basıncının ve sıcaklığının üzerinde bulunduğu yeni madde süperkritik akışkan olarak adlandırılır. Bu yeni hal sıvı ve gaz halden farklı özelliklere sahiptir. Yoğunluğu itibari ile gazlardan daha yüksek ve sıvılara benzerdir. Bu sayede çözücü güçleri sıvılarınkine benzerdir. Viskoziteleri ise sıvılardan daha düşük gazlara yakındır. Bu şekilde maddelerin arasından daha kolay şekilde geçebilirler. Süperkritik akışkanlar gazlar gibi yüksek difüz etme özelliklerine sahiplerken sıvılar gibi maddeleri çözebilme özelliklerine sahiptir. Bu yapının viskozitesi ve yoğunluğu dolayısıyla difüz etme kabiliyeti basınç ve sıcaklık ile ayarlanabilir. Bu avantajı sayesinde kullanım alanına göre basınç ve sıcaklık değiştirilerek özellikleri değiştirilebilir ve uygulama alanına göre istenilen verim sağlanabilir (Bernal ve ark., 2012; Antunes-Ricardo ve ark., 2017; Hartati ve ark., 2018; Bin ve ark., 2020; Kravanja ve ark., 2022).

Bu akışkanlar seçici olarak bazı bileşenleri çözüp taşıyabilirken bazı bileşenleri ise çözememektedir. Bu sayede istenilen bileşenlerin saflaştırılması ve zenginleştirilmesi için kullanılabilir. Aynı zamanda toksik ve yanıcı olmayan süperkritik akışkanlar bulunmasından dolayı çevre dostu olarak ifade edilebilirler. Bundan dolayı birçok geleneksel yöntemle kıyasla çeşitli prosesler için çok faydalı bir alternatiftir (Ghasemi ve ark., 2011; Bernal ve ark., 2012; Costa ve ark., 2015; De Zordi ve ark., 2017; Hartati ve ark., 2018; Bin ve ark., 2020; Kravanja ve ark., 2022).

Sıklıkla kullanılan süperkritik akışkanlar karbondioksit, su, etilen, etan, propan, amonyak, n-pentan, metanol ve tolüendir. Bu bileşiklerin kritik basınç, sıcaklıkları ve bu fazdaki yoğunlukları Çizelge 1.1’ de verilmiştir (Bernal ve ark., 2012).

Çizelge 1.1. Bazı çözücülerin kritik parametreleri (Bernal ve ark., 2012)

	T _c (°C)	P _c (MPa)	Yoğunluk (g/L)
Metan	-82.6	4.60	162
Floroform	26.3	4.85	516
Karbondioksit	31.3	7.29	469
Ethan	32.3	4.88	203
Sülfür hekzaflorit	45.5	3.77	755
Propan	96.7	4.25	217
Bütan	152.0	3.75	230
Metanol	239.6	8.09	272
Etanol	240.9	6.14	276
Aseton	235.1	4.70	278
Su	374.3	22.12	348

Süperkritik akışkan sistemlerinde; zehirli ve yanıcı olmaması, ucuz kolay temin edilebilirliği, tekrar kullanılabilir olması ve ekstraktan kolay uzaklaştırılabilmesi ve düşük sıcaklık (304 K) ve basınçta (73.8 atm) süperkritik hale sahip olması gibi sebeplerle, bitki ekstraktlarının eldesinde genellikle çözücü olarak karbondioksit tercih edilmektedir (Ghasemi ve ark., 2011; Bernal ve ark., 2012; Budisa ve Schulze-Makuch, 2014; Bin ve ark., 2020; Kravanja ve ark., 2022).

Süperkritik akışkanların birçok farklı uygulama alanları bulunmaktadır. Çeşitli boyut ve şekil parçacıklar üretmek, yüksek difüz etme ve çözme kabiliyetlerinden dolayı temizlik ve sterilizasyon proseslerinde, uzaklaştırılmak istenen bileşiklerin malzemeden uzaklaştırılmasında kullanılabilmektedir. En önemli kullanım alanlarından biri de bitkisel materyallerden istenilen bileşiklerin ekstraksiyonunda sıklıkla kullanılmaktadır (De Zordi ve ark., 2017; Hartati ve ark., 2018; Bin ve ark., 2020; Kravanja ve ark., 2022).

Süperkritik akışkanların çözücü olarak kullanıldığı ekstraksiyon sistemlerine süperkritik akışkan ekstraksiyonu denir. Bitki materyallerinin içerisinde bulunan bileşenlerin eldesi için kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinden bir tanesidir (Ghasemi ve ark., 2011; Costa ve ark., 2015; De Zordi ve ark., 2017; Bin ve ark., 2020).

Maserasyon, perkolasyon, soxhlet ve çözücü ekstraksiyonları; çözücü miktarının çok olması, yüksek sıcaklığa ihtiyaç duyulması, düşük verim elde edilmesi, sürelerin uzun olması, çözücü kalıntısı bulunması ve kullanılan çözücülerin bileşiklerin yapısına olan olumsuz etkisinden dolayı bitkilerden fitokimyasalların eldesine çok uygun yöntemler değildir (Nossack ve ark., 2000; Costa ve ark., 2015; Hartati ve ark., 2018).

Ekstraksiyon sırasında malzemelerin hava ile temas etmemesi, ekstraksiyon için yüksek sıcaklığa ihtiyaç duymaması, basınca bağlı olarak değişen çözücü yoğunluğuyla istenilen özelliklerdeki türlerin ekstraksiyonuna imkân sağlaması, farklı basınçtaki separatörler ile fraksiyonlama yapılarak ekstraktların ayırımı gibi birçok avantajı bulunan

SFE bitkisel ekstraktların eldesinden tercih edilmektedir (Ude ve ark., 2002; Ghasemi ve ark., 2011; Costa ve ark., 2015; Tang ve Dai, 2016; Antunes-Ricardo ve ark., 2017; Hartati ve ark., 2018; Bin ve ark., 2020).

Süperkritik akışkan formundaki CO₂'nin yoğunluğu ve çözücü gücü sıcaklık ve basınca bağlı olarak değişmektedir. Sıcaklık ve basıncın dolayısıyla çözücü gücünün ayarlanabilmesiyle istenilen türler seçici olarak elde edilebilmekte ve ayrı fraksiyonlar halinde toplanabilmektedir. Düşük polariteye sahip türlerin ekstraksiyonu karbondioksit ile gerçekleştirilebilirken, polar ve orta polar özellikteki türlerin ekstraksiyon verimini arttırmak için ko-solvent olarak belirli bir miktarda etanol, isopropil alkol ve su gibi çözücüler de kullanılmaktadır. Bunlara ek olarak ko-solvent sistemleri bitkisel malzemelerde bulunan bileşenleri daha yüksek seçicilikte elde edilmesini sağlar. İstenilen türlerin verimli bir şekilde ekstraksiyonunu sağlamak için basınç, sıcaklık, yardımcı solvent oranı, dinamik ve statik ekstraksiyon süresi gibi çoklu değişkenler ekstrakt içerikleri ve verimleri üzerinde etkileri sıklıkla incelenmektedir (Abbasi ve ark., 2008; Ghasemi ve ark., 2011; Budisa ve Schulze-Makuch, 2014; Costa ve ark., 2015; Antunes-Ricardo ve ark., 2017; De Zordi ve ark., 2017; Buszewski ve ark., 2019; Bin ve ark., 2020).

1.2. *Lupinus Albus* L. Tohumları

Tek yıllık ve otsu bir bitki olan, Konya ve çevresinde sıklıkla yetiştirilen *Lupinus albus* L, tohumları lif ve kaliteli protein içeriği bakımından zengin olmasının yanında bulundurduğu alkaloidler, fenolik bileşikler, tokoferoller, steroller, yağ ve yağ asitlerini sayesinde antimikrobiyal, antioksidan ve antikanserojen olarak kullanılabilecek bitkilere örnek olarak verilebilir. Bu baklagil içerdiği alkaloidler, fenolik bileşikler, fitosteroller, tokoferoller, yağ ve yağ asitlerinden dolayı farklı alanlarda değerlendirilebilecek yüksek potansiyele sahip bir bitkidir. (Yorgancılar, 1996; Huyghe, 1997; PASTOR-CAVADA ve ark., 2010; Khan ve ark., 2015; Romeo ve ark., 2018; Estivi ve ark., 2022; Pereira ve ark., 2022; Gresta ve ark., 2023)

Lupinus albus L. tohumları acı tatlarının nedeni içerdikleri alkaloidlerden kaynaklanmaktadır (Prusinski, 2017) ve bu biyoaktif bileşenlerin birçok biyoteknolojik uygulama alanı olmasına rağmen insanlar ve hayvanlar üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı tüketilmeden önce uzaklaştırılması gerekmektedir. Suda pişirme, suda bekletme ya da suyla yıkama gibi geleneksel metotlarla veya ileri tekniklerle *Lupinus albus* L. tohumlarından uzaklaştırılırlar (Musco ve ark., 2017; Romeo ve ark., 2018; Estivi ve ark., 2022). Fenolik bileşikler *Lupinus albus* L. tohumlarında bulunan önemli biyoaktif

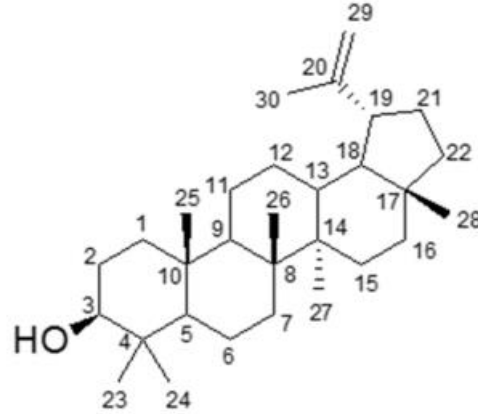
fitokimyasallardandır. Antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, antifungal vb. benzeri özellik göstermeleri ve şeker hastalık riskini azaltmaları, kanser önleyici / kolesterol düşürücü etkilerinden dolayı insan sağlığı için önem arz etmektedir(Khan ve ark., 2015; Prusinski, 2017; Vollmannova ve ark., 2021; Pereira ve ark., 2022; Gresta ve ark., 2023). *Lupinus albus* L. tohumu ekstraktlarında bulunan bir diğer bileşik de tokoferoldür. Doğal antioksidanlardan biri olan doğada bilinen sekiz tane doğal izomeri bulunan Vitamin E'nin antienflamatuvar etkisi de bulunmaktadır. Bunların yanı sıra kanser tedavisinde, kemik, kalp, damar, göz ve nörolojik hastalıklardan korunma gibi etkileri de gözlemlenmiştir (Peh ve ark., 2016; Pereira ve ark., 2022). Antienflamatuvar, antitümör ve antioksidan özellik göstermelerinden dolayı vücut için fayda sağlayacak bir diğer *Lupinus albus* L. tohumlarında bulunan bileşikler ise fitosterollerdir (Hamama ve Bhardwaj, 2004; Khan ve ark., 2015; Pereira ve ark., 2022). Sinir sistemi, kalp ve damar sağlığı üzerindeki etkilerinden dolayı oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit ihtiva eden *Lupinus albus* L. insan sağlığı bakımından faydalı ürünler sunmaktadır. Bu bileşiklerin yanında bulundurduğu birçok biyoaktif bileşen ile *Lupinus albus* L. tohumları çeşitli uygulamalar için önem arz etmektedir.(Hamama ve Bhardwaj, 2004; Musco ve ark., 2017; Prusinski, 2017; Rybiński ve ark., 2018; Pereira ve ark., 2022).

1.2.1. Terpenoidler

Terpenoidler biyolojik ve farmakolojik özellikleri bulunan bir biyoaktif bileşik grubudur. Bu bitkilerde bulunan biyoaktif bileşik antibakteriyel, antifungal, antiviral, antienflamatuvar ve enzim inhibisyon özellikleri gösterirler ve özellikle cilt hastalıklarının tedavisindeki olumlu etkileri gözlemlenmiştir (Jiang ve ark., 2020; Liu ve ark., 2021; Treppe ve ark., 2024).

Lupeol bitkilerde bulunan bir triterpenoiddir. (Şekil 1.1) Yapısında beş adet izopren birimi bulunur ve bu molekül türetilmiş pentasiklik bir terpendir (Tiwari ve ark., 2021). Lupeol; antioksidan (Sunitha ve ark., 2001), antienflamatuvar (Geetha ve Varalakshmi, 2001), antiartritik (Geetha ve Maralakshmi, 1999), antimutajenik(Prasad ve ark., 2008), antimalarial (Liu ve ark., 2021) antidiyabetik (Gupta ve ark., 2012) ve antikanser (Min ve ark., 2019) özellikleri olduğu rapor edilmiştir. Lupeol; otofaji, östrojenik aktivite ve protein kinazlarının modülasyonu gibi farklı biyolojik süreçler üzerindeki etkileri açısından da araştırılmıştır (Vidya ve ark., 2002; Saleem ve ark., 2004; Saleem ve ark., 2005; Prasad ve ark., 2009; Kallubai ve ark., 2015; Park ve Park, 2019; Eom ve ark., 2020; Tiwari ve ark., 2021).

Bu da lupeol bileşimini çeşitli sağlık uygulamalarında yüksek potansiyele sahip bir biyoaktif bileşik yapmaktadır.



Şekil 1.1. Lupeol molekülünün kimyasal yapısı(Zou ve ark., 2012)

1.2.2. Fitosteroller

Fitosteroller bitkilerin hücre zarında bulunan önemli yapısal bileşenlerden biridir. Bu bileşikler steran olarak adlandırılan dört halkalı bir yapı ile 3b hidroksil grubu ve çeşitlilik gösteren bir karbon zincirinden oluşur. Çok çeşitli fitosterol yapıları bulunmaktadır fakat bunların en çok bulunanları β -sitosterol, stigmasterol kampesterol dür (Hamama ve Bhardwaj, 2004; Zou ve ark., 2012; Olatunya ve ark., 2019).

Fitosteroller sindirim sisteminden kolesterol emilimini engelleyerek düşük yoğunluklu lipoprotein düşürür ve dolayısıyla kardiovasküler sağlık için olumlu etkiler oluşturur (Plat ve Mensink, 2002; Klingberg ve ark., 2008; Gylling ve ark., 2014). Aynı zamanda antikanser özellikleri (Woyengo ve ark., 2009; Huang ve ark., 2017), bağışıklık sistemine destek olmaları (Bouic ve Lamprecht, 1999; Aldini ve ark., 2014), karaciğer sağlığı üzerindeki pozitif etkilerinden de bahsedilmiştir (Plat ve ark., 2014; Wang ve ark., 2024).

1.2.3. Tokoferoller ve tokotrienoller

Tokoferol ve tokotrienoller E vitamin ailesinin oluşturan bir kromanol halkası ve hidrofobik bir yan zincire sahip biyoaktif bileşenlerdir (Sen ve ark., 2004; Yahaya ve ark., 2018). Bu bileşikleri α , β , γ , ve δ formu olmak üzere dört farklı alt gruba ayrılırlar (Zhou ve ark., 2004; Fukui, 2019; Shastak ve ark., 2023). Yapısındaki hidrojen atomu verebilen hidroksil grubu sayesinde serbest radikalleri nötralize etme özelliği gösterir. Hidrofobik yan grubu sayesinde biyolojik membranlara sızma özelliklerine sahiplerdir. (Barrera-Arellano ve ark., 2019)

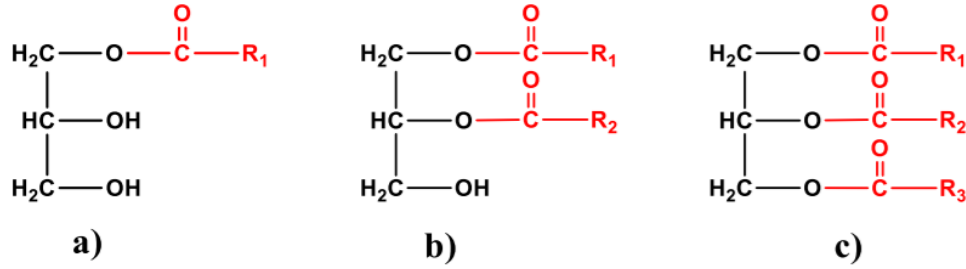
Tokoferol ve tokotrienollerin antioksidan aktivite (Brigelius-Flohé ve Traber, 1999) gösterebilmelerinin yanı sıra hücre zarının korunması (Bradford ve ark., 2003; Maruoka ve ark., 2008), cilt sağlığı üzerinde olumlu etkileri de görülmüştür (Maruoka ve ark., 2008). Aynı zamanda kardiovasküler sağlık üzerinde pozitif etkileri (Saldeen ve Saldeen, 2005; Devaraj ve ark., 2007), kolesterol düzeylerini düzenleme (Saldeen ve ark., 1999) ve antienflamatuvar etkilerinin gözlemlenmesi (Kopańska ve ark., 2022) bu bileşiklerin insan sağlığı için önemli bir bileşen olduğunu göstermektedir (Sen ve ark., 2004; Ahmad ve ark., 2005; Clarke ve ark., 2008; Peh ve ark., 2016).

1.2.4. Monoglisericit diglisericit ve triglisericitler

Monoglisericitler (Şekil 1.2.a) bir yağ asidinin gliserol molekülüne bağlı olduğu yapıdır. Diglisericit (Şekil 1.2.b) ise iki yağ asidinin bir gliserole bağlı olduğu yapıya verilen isimdir. Genellikle emülgatör stabilizatör olarak gıda, kozmetik ilaç ve temizlik endüstrisinde kullanılır (Brännström ve ark., 2018; Ravotti ve ark., 2020).

Bir lipid molekülü olan yağ asitleri üç adet yağ asidinin bir gliserol molekülüne ester bağları yardımıyla bağlanması ile oluşan biyoaktif bileşikler ise triglisericit (TG) (Şekil 1.2.c) olarak adlandırılır (Khot ve ark., 2001). Bu bileşikler içerdikleri yağ asitlerine göre farklılık gösterirler ve yağ asitlerinin doymuşluk derecesi, bulundurduğu yağ asitlerine göre sınıflandırılabilirler. Örneğin yapısında bulunan yağ asitlerin hepsinin doymuş yağ asitlerinden oluşabilirken, yapısında en az bir ya da daha fazla doymamış yağ asidi de bulundurabilirler. Aynı zamanda yapısında tek tip yağ asidi bulunduruyorsa basit triglisericit yapısında birden daha çok yağ asidi bulunduruyorsa karışık triglisericit olarak sınıflandırılabilirler (Tarhan, 2018).

Triglisericitler; vücutta enerji kaynağı olarak depolanmaları ve kullanılması, hücre zarının yapısında katılmaları, sinir sistemindeki etkin rollerinden, hormon sentezinde kullanılmaları, vücut ısısının korunması, yağda çözünen vitaminlerin vücutta taşınmasında ve emiliminde insan sağlığı açısından önemlidir. Bundan dolayı triglisericitlerin yeterli bir şekilde alınması insan sağlığının korunması ve iyileşmesinde etkili olabilir (Groot ve ark., 2016; Lee ve ark., 2017; Morris ve Mohiuddin, 2020; Ravotti ve ark., 2020; Parhofer, 2022).



Şekil 1.2. a) monogliserit, b)digliserit c)trigliserit kimyasal yapıları
R1, R2, R3 farklı yağ asitleri zincirlerini belirtmektedir (Brännström ve ark., 2018)

1.2.5. Yağ asitleri

Yağların temel bileşenlerini oluşturan yağ asitleri vücudumuzun biyolojik işlevlerini gerçekleştirmesinde önemli rol oynar. Yağ asit kompozisyonlarının belirlenmesi ürünün besinsel, terapötik ve fonksiyonel özelliklerinin anlaşılması ve kullanım amacının belirlenmesi için büyük önem taşımaktadır (Sebastián ve ark., 2009; Tokuyama ve Nakamoto, 2011; Glatz ve Luiken, 2015; Orsavova ve ark., 2015; Romeo ve ark., 2018; Morris ve Mohiuddin, 2020; Sergi ve ark., 2023).

Doymuş yağ asitleri, doymamış yağ asitleri ve çoklu doymamış yağ asitleri olarak gruplandırılabilir (Çizelge 1.2). Yağ asitlerinin gösterdiği antienflamatuvar özellikleri, kardiyovasküler sistem üzerindeki olumlu etkilerinden, beyin gelişimi ve beyin sağlığının korunması özelliklerinden dolayı terapötik ajanlar olarak da kullanılabilir. (Burdge ve ark., 2001; Fisher ve Sjögren, 2006; Chatterjee ve ark., 2009; Sebastián ve ark., 2009; Tokuyama ve Nakamoto, 2011; Lee, 2013; Glatz ve Luiken, 2015; Omeje ve ark., 2019; Morris ve Mohiuddin, 2020).

1.2.6. Kinolizidin Alkaloidleri

Kinolizidin alkaloidler; alkaloidlerin bir alt sınıfı olarak genellikle baklagil familyasında bulunan bileşiklerdir. *Lupinus albus* tohumlarında en yoğun bulunan kinolizidin alkaloidlerinin başında lupanin gelmektedir. Albin, multiflorin, spartein, isolupanin, gramin ve hidroksilupanin diğer bulunan alkaloid türlerindendir (Nossack ve ark., 2000; Erbas, 2010; Hwang ve ark., 2020). Bu alkaloidler oral olarak tüketildiklerinde toksik etki oluşturma potansiyelleri bulundurlar. Bundan dolayı alkaloidler bu tohumlardan tüketimden önce uzaklaştırılır (Erbas, 2010; Yorgancılar ve Bilgiçli, 2014; Romeo ve ark., 2018; Estivi ve ark., 2022). Fakat antivirüs, antienflamatuvar, antioksidant, antikanser özellikleri göstermesi aynı zamanda dolaşım sistemi, kardiyovasküler sistem, deri sağlığı ve sinir sistemi üzerindeki olumlu etkilerinden dolayı biyoteknolojik uygulamalar için önemli bir biyoaktif bileşiktir (Wiedemann ve ark., 2015; Romeo ve ark., 2018; Gavilan ve ark., 2019; Cely-Veloza ve ark., 2022).

1.2.7. Fenolik bileşikler

Fenolik bileşenler; bitkilerin birçoğunda bulunan biyoaktif bileşenlerden en önemlilerinden biridir. Kimyasal yapısında en az bir hidroksil grubu bağlı benzen halkasına sahiptir (Luthria, 2006; Ferreira ve ark., 2010).

Fenolik bileşiklerin insan sağlığı üzerinde pek çok olumlu etkileri bulunmaktadır. Antioksidan (Heleno ve ark., 2015; Vuolo ve ark., 2019), antimikrobiyal (Lima ve ark., 2019), antikanserojen (Owen ve ark., 2000), anti malarya (Laphookhieo ve ark., 2009) ve antidiyabetik (Ali Asgar, 2013) ajanlar olarak kullanılabilmektedirler. Bunların yanı sıra kardiyovasküler sistem sağlığını koruma (Torres-Fuentes ve ark., 2022) ve immün sistemi destekleme (Domínguez-Avila ve ark., 2022) gibi etkileri de bulunmaktadır.

Çizelge 1.2. Yağ asitlerinin sınıflandırılması (Lee, 2013)

Yağ Asitleri	Karbon ve Çift Bağ Sayısı
Doymuş Yağ Asid	
Miristik asit	C14:0
Stearik Asit	C18:0
Tekli Doymamış Yağ Asidi	
Palmitoleik Asit	C16:1
Oleik Asit	C18:1
Çoklu Doymamış Yağ Asidi	
Linoleik Asit	C18:2
Linolenik Asit	C18:3
Arşidonik Asit	C20:4
Ekosapentoik Asit	C20:5
Dokosahezanoik Asit	C22:6

1.3. Bitkisel Ekstraktların Kapsülasyonu

Bitkisel ekstraktlar kozmetik, gıda, tatlandırıcı, aroma, temizlik ve boya endüstrisi vb. alanlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bu ekstraktlardan elde edilecek olan ürünlerin faydası elde edilen ekstraktın fiziksel ve kimyasal özelliklerine, biyolojik aktivitelerine ve biyoyararlanımına bağlıdır. Genellikle bitkilerden elde edilen ekstraktlar birçok biyoaktif bileşik içermelerine rağmen bu bileşiklerin düşük stabiliteye sahip olmaları, çevresel değişkenlerden etkilenmeleri, genellikle hoş olmayan tatlarından dolayı ve sudaki çözünürlüklerinin düşük olmasında doğrudan uygulama alanları oldukça sınırlıdır (Nelly ve ark., 2018; Ranjbar ve Yousefi, 2018; Hasheminejad ve ark., 2019; El-Kader ve Abu Hashish, 2020; Reddy ve ark., 2022; Kłodová ve ark., 2023; Shavronskaya ve ark., 2023).

Kapsülasyon bu biyoaktif bileşiklerin biyolojik aktivitelerini sürdürmek, biyoyararlanımını artırmak ve çeşitli uygulama alanlarında daha verimli kullanmak adına uygulanabilecek en önemli tekniklerden birisidir. Bitkisel ekstraktların kapsülasyonu ile biyoaktif bileşenlerin korunması, fizikokimyasal özelliklerinin iyileştirilmesi, sudaki düşük çözünürlük probleminin üstesinden gelinmesi kontrollü bir salım sistemi sağlanması, biyoyararlanımının arttırılması ve farklı fonksiyonlandırmalar ile akıllı malzemelere dönüştürülmesi sağlanabilir. (Nelly ve ark., 2018; Hasheminejad ve ark., 2019; Sorasitthiyanukarn ve ark., 2019; Timilsena ve ark., 2020; Ryu ve Bae, 2021; Reddy ve ark., 2022; Kloidová ve ark., 2023; Shavronskaya ve ark., 2023).

Bu kapsülasyon işlemi için farklı ajanlar kullanılmaktadır. Bu ajanların istenilen özellikleri arasında yapıtaşlarının doğal olması, biyoçözünür, biyouyumlu ve toksik olmayan özellik göstermeleri ve kolay fonksiyonlandırılabilirlikleri vardır (Abdelkader ve ark., 2018; Valle ve ark., 2021). Kitosan, aljinat, nişasta, dekstrin ve pektin gibi biyopolimerle elde edilmiş nano-micro parçacıklar, biyofilmler ve hidrojeller; vitaminler, enzimler, antimikrobiyeller, esansiyel yağlar, fenolik bileşikler ve bunları içeren ham ekstraktların kapsülasyonunda kullanılmaktadır (Keawchaoon ve Yoksan, 2011; Wu ve ark., 2018; Ehterami ve ark., 2019; El-Kader ve Abu Hashish, 2020; Timilsena ve ark., 2020; Chiriac ve ark., 2021; Morales-Olán ve ark., 2021; Mandaji ve ark., 2022; Reddy ve ark., 2022; Zabet ve ark., 2022; Kloidová ve ark., 2023; Shavronskaya ve ark., 2023).

1.3.1. Kitosan nanoparçacıklar

Kitosan doğal bir biyopolimer olan kitinden elde edilen biyoçözünür, biyouyumlu ve toksik olmayan bir polimerdir. (Hasheminejad ve ark., 2019; Nah ve Jeong, 2021; Valle ve ark., 2021) Kitosan kullanılarak elde edilen nano boyuttaki parçacıklar; bitkisel ekstraktların kapsülasyonu ile tarım, farmasötik ve gıda uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu kapsülasyon sistemleri bitkisel ekstraktların içerisinde bulunan çeşitli türlerin korunmasının yanı sıra onların kontrollü salımını sağlayarak terapötik etkisinin artmasını sağlamaktadır. Bu parçacıklar koruyucu bir kapsülasyon ajanı olmasının yanı sıra antimikrobiyal etki gösterebilmektedir ve bu özelliği de diğer kapsülasyon ajanlarının karşısında gıda, tarım, medikal ve farmasötik uygulamalarda tercih edilme sebeplerinden biridir (Keawchaoon ve Yoksan, 2011; Sipoli ve ark., 2015; Mohammed ve ark., 2017; Abdelkader ve ark., 2018; Wu ve ark., 2018; Hasheminejad ve ark., 2019; Morales-Olán ve ark., 2021; Nah ve Jeong, 2021; Valle ve ark., 2021; Trombino ve ark., 2022).

Çeşitli metotlarla kitosan nanoparçacıklar ve bitkisel ekstraktların kapsülasyonu mümkündür. Bu metotların arasında en sık kullanılanlar; çapraz bağlama, emülsiyon, iyonik jelleşme, sprey kurutucu metotları vardır (Mohammed ve ark., 2017; Chang ve ark., 2021). Çapraz bağlama metodunda glutraldehit, genipin gibi çapraz bağlayıcı ajanlar ile kitosan nanoparçacıklar elde edilirken, emülsiyon tekniğinde kitosan organik bir çözelti içerisinde çözülerek sulu faz içerisinde emülsiyon elde edilmesi, daha sonra organik çözücünün uçurularak nanoparçacık oluşturması sağlanmaktadır. Bu yöntem genellikle hidrofobik bileşiklerin kapsüle edilmesinde kullanılmaktadır (Mohammed ve ark., 2017; Yanat ve Schroën, 2021). Bunların en sık kullanılanlarından biri de iyonik jelleşme metodudur. Bu metotta pozitif yüklü kitosan ile negatif yüklü polianyonalar kullanılarak nanoparçacıklar elde edilir. Bu metot kolay olması, nazik reaksiyon koşulları ve çeşitli boyutlarda parçacıklar elde edilebildiği sıklıkla tercih edilmektedir.(Hosseini ve ark., 2013; Mohammed ve ark., 2017; Zare ve ark., 2018; Hasheminejad ve ark., 2019; Yanat ve Schroën, 2021; Gutiérrez-Ruiz ve ark., 2024) Fakat iyonik jelleşme metodu özellikle hidrofobik moleküllerleri kapsülasyon veriminin artırılması amacıyla çeşitli surfaktantların kullanıldığı emülsiyon metoduna takiben iyonik jelleşme tekniği ile de bitkisel ekstraktların kapsülasyonu kullanılmaktadır. Bu metot hem emülsiyon hem de iyonik jelleşme metodunun avantajlarının kullanıldığı bir sentez metodudur. Bu metotta genellikle iyonik olmayan surfaktantlar ile kitosan çözeltisi ile karıştırılır devamında ise iyonik jelleştirme gerçekleştirilir. Bu metodun en büyük avantajı hidrofobik moleküllerin surfaktant içerisinde stabilizasyonu sağlanarak kapsülasyonun artırılmasıdır. Bir diğer avantajı ise nanoparçacıkların stabilizasyonunu artırarak ve yüzey gerilimini azaltarak parçacıkların aglomere olmasını engellemesidir. Bunların yanında iyonik çapraz bağlayıcı eklenirken daha iyi bir dispersiyon oluşturarak bu ajan ile interaksiyonunu kolaylaştırmaktadır. Bu avantajlarından dolayı özellikle hidrofobik moleküler ve hidrofobik moleküllerin yoğun olduğu karışımların kapsülasyonunda kullanımı için uygundur(Keawchaoon ve Yoksan, 2011; Hosseini ve ark., 2013; Nathiya ve ark., 2014; Wu ve ark., 2018; Hasheminejad ve ark., 2019; Sorasitthiyanukarn ve ark., 2019; Mirafzali ve ark., 2023).

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

Bu çalışmada kullanılacak olan *Lupinus albus* L. tohumlarında; alkaloidler, fenolik bileşikler, tokoferoller, steroidler, yağ ve yağ asitleri gibi biyoaktif bileşikler bulunmaktadır.

Farklı metotlar kullanılarak *Lupinus albus* tohumlarından alkaloidleri ayırma işlemleri geleneksel ve ileri tekniklerle yapılmaktadır (Nossack ve ark., 2000). Nossack ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *Lupinus albus*, *Lupinus mutabilis*, ve *L. sp* tohumlarından maserasyon/sonikasyon-katı faz ekstraksiyonu, maserasyon sonikasyon sıvı-sıvı ekstraksiyonu gibi geleneksel metotların yanında ileri tekniklerden biri olan süperkritik akışkan ekstraksiyonu kullanılarak alkaloidler ekstrakte edilmiştir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda CO₂, CO₂/metanol (MeOH), CO₂/isopropil alkol ve CO₂/su solvent sistemleri kullanılmış ve ekstraksiyon verimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Geleneksel yöntemlerin yanında SFE sisteminin de alkaloidlerin ekstraksiyonunda verimli sonuçlar aldığı gösterilmiştir. En önemli parametrenin yardımcı çözücüler olduğu ve CO₂/MEOH sisteminden yüksek verim alındığı belirtilmiştir. Multiflorin, spartein ve lupanin gibi alkaloidlerin bulunduğu tespit edilmiş ve lupanin en fazla bulunan alkaloid türü olduğu belirtilmiştir.

Fenolik bileşikler; *Lupinus albus* L. tohumlarının içerdiği en önemli biyoaktif bileşiklerdendir. Bu tohumlardan, alkaloidlerden sonra fenolik ve diğer biyoaktif bileşikler genellikle çözücü ekstraksiyonu kullanılarak elde edilmiş ve ekstraktların içerikleri çeşitli metotlarla incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada; toz haline getirilmiş yabani ve ekilmiş orta Anadolu bölgesinde ve Rusya’da yetişen *Lupinus albus* tohumları MeOH/su (4:1 h/h) çözeltisi ile 70°C’de ekstrakte edilmiş, ekstraktların toplam fenolik içeriği ve antioksidan kapasiteleri tayin edilmiştir. Antioksidan kapasite ölçümleri ABTS kasyonu radikal giderim aktiviteleri, DPPH serbest radikal süpürme kapasitesi yöntemi, demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP) ve β -karoten-linoleik asit emülsiyon yöntemleriyle belirlenmiştir. Ekstraktların ayrı ayrı analizi yapılmıştır ve p-kumarik asit türevi ve apigenin-6,8-di-C-glukozit en çok bulunan fenolik bileşiklerden olduğu belirtilmiştir (Karamać ve ark., 2018).

Farklı metotlar uygulanan *Lupinus* tohumları (*Lupinus luteus*, *Lupinus albus*, *Lupinus angustifolius*) MeOH/su çözeltisi ile ekstrakte edilmiş ve elde edilen isoflavonoid türleri RP-UHPLC–MS sistemi kullanılarak incelenmiştir (Aisyah ve ark., 2016).

Bir başka çalışmada *L. albus* cv. *Multolupa* tohumlarının farklı formları fosfat tamponu ve MeOH çözeltisi ile 37°C’de ekstrakte edilmiş ve farklı yöntemler kullanılarak antioksidan kapasiteleri, toplam fenolik ve toplam flavonoidler miktarları tayin edilmiştir (Martínez-Villaluenga ve ark., 2009).

Lupinus albus L. tohumlarında bulunan yağ ve yağ asitleri diğer biyoaktif bileşikler kadar önem arz etmektedir. Farklı koşullarda yetişen türlerin yağ ve yağ asitlerinin incelendiği bir çalışmada, farklı coğrafi koşullarda ve farklı yetiştirilme şartlarına maruz kalan türlerin sahip olduğu yağ ve yağ asidi içeriklerinin de farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. N-hekzan ile soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen numunelerde %9.81 yağ oranına sahip olduğu bildirilmiş ve sırasıyla azalan miktarda oleik asit (C18:1, %55.7), linoleik asit (C18:2, %19.6), linolenik asit (C18:3, %10.1), palmitik asit (C16:0), eikosenoik asit (C20:1), stearik asit(C18:0) gibi yağ asitleri bulunduğu tespit edilmiştir. Erusik asit (C22:1) çok az miktarda da olsa tespit edildiği bildirilmiştir. Farklı türler arasında $\omega 3/\omega 6$ oranının (>0.5) yüksek olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak doymuş yağ asitleri toplam yağ asitlerinin %9’unu oluştururken, doymamış yağ asitlerinin % 30’u esansiyel çoklu yağ asitleri olan linoleik ve linolenik asitten oluşmakta olduğu bildirilmiştir (Rybiński ve ark., 2018). Yapılan başka bir çalışmada ise kavrulmuş ve kavrulmamış tatlı ve acı lupin tohum yağları petrol eteri ile ultrasonik destekli yöntemle elde edilmiştir. Lupin tohumlarında %7.50-9.28 yağ oranı bulunmuş, kavrulmamış tohumlarda oleik asit, linoleik asit ve linolenik asit sırasıyla en çok bulunan yağ asitleri olmuştur (Al-Amrousi ve ark., 2022).

Lupin tohumlarıyla ilgili yapılan bir çalışmada tatlı ve acı lupin tohum yağları petrol eteri ile ultrasonik destekli yöntemle elde edilmiştir. Fitosterol açısından incelendiğinde ise kampasterol ve β -sitosterol yoğun oranda bulunmuş ve toplam fitosterol miktarı acı ve tatlı tohum yağlarında sırasıyla 442.59 and 406.18 mg/100 g yağ olarak bulunmuştur (Al-Amrousi ve ark., 2022). Başka bir çalışmada ise SFE ile elde edilmiş tohumlarda kampasterol, stigmasterol, β -sitosterol nitel olarak bulunmuştur (Buszewski ve ark., 2019).

Literatürde yapılan bir çalışmada çeşitli yöntemlerle acılığı giderilen *Lupinus albus* tohumlarının tokoferol miktar analizleri yapılmış, γ -Tokoferol en baskın tür olarak 191.6-169.4 mg/kg KM olarak bulunurken toplam tokoferol miktarı 195.4-172.8 mg/kg KM arasında bulunmuştur(Frias ve ark., 2005). Başka bir çalışma da ise çimlendirme ve fermentasyonun farklı tohumların biyoaktif bileşenlerine olan etkisi test edilmiş ve α , γ ,

δ - tokoferol tespit edilmiş ve γ tokoferol miktarı 201-134 mg/kg olarak bulunmuştur (Estivi ve ark., 2022).

Diğer önemli bir biyoaktif bileşik ise birçok bitkide bulunan ve antikanser, anti inflamatuvar antioksidan gibi özellikler gösteren lupeol *lupinus* tohumlarında bulunan fakat potansiyeli tam keşfedilememiş bir bileşiktir (Vidya ve ark., 2002; Saleem ve ark., 2004; Saleem ve ark., 2005; Prasad ve ark., 2009; Kallubai ve ark., 2015; Park ve Park, 2019; Eom ve ark., 2020; Tiwari ve ark., 2021). Yapılan bir çalışmada *Lupinus albus* tohumlarının kabuklarının değerlendirilmesi amacıyla kabuklardan hekzan ve süperkritik akışkan ekstraksiyonun ile ekstraktlar elde edilmiş, ekstraktların içerisindeki lupeol miktarları karşılaştırılmıştır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonun lupeol geri kazanımı açısından daha verimli bir sistem olduğu sonucuna varılmıştır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu 40°C’de ve 90 dak’de 80, 250 ve 320 bar basınçlar ile 50 ve 100 g/dak CO₂ akış hızı değişkenleri ile deneyerek en yüksek geri kazanımı 320 bar basınç, 50 g/dak CO₂ akış hızında olduğu belirtilmiştir. Ayrıca separatör basınçları ile fraksiyonlama yapılarak lupeol zenginleştirilmesi çalışmaları yapılmıştır ve sonuç olarak %70-75 (ağırlıkça) lupeol içeren ekstraktlar elde edilmiştir fakat bu fraksiyonlama sistemlerde lupeol zenginleştirme açısından anlamlı bir fark görülememiştir (Vázquez ve ark., 2024). Bunu destekleyen bir başka çalışma da ise *Lupinus luteus* tohumlarının ekstraktları süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile elde edilmiş lupeol bileşiğinin kalitatif olarak ekstraktlar içerisinde bulunduğu belirtilmiştir (Buszewski ve ark., 2019).

YYY kullanılarak yapılması planlanan süperkritik akışkan sistemleri, bir kaktüs türü olan *O. ficus-indica* (L.) Mill flavonoidlerin (Antunes-Ricardo ve ark., 2017), *Myrtus communis* L. yapraklarındaki esansiyel yağların (Ghasemi ve ark., 2011) ve italyan cevizindeki β -sitosterol, ω 3, ω 6 (De Zordi ve ark., 2017) vb. birçok türdeki biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılmış ve çok etkili olduğu tespit edilmiştir. *Lupinus* ’un başka bir türü olan; *Lupinus luteus* tohumlarındaki bazı biyoaktif bileşiklerin süperkritik akışkan sistemin ile ekstraksiyonu üzerine yapılan çalışmada Box-Behnken tasarımı ile yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak bir çalışma gerçekleştirilmiş, sıcaklık, basınç ve yardımcı çözücü yüzdesi değişkenlerinin ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi incelenmiş ve optimum parametreler belirlenmiştir (Buszewski ve ark., 2019).

Baklagillerde bulunan önemli bileşiklerin sıcaklık, ışık, pH ve oksijen gibi çevresel koşullardan etkilendikleri bilinmektedir. Yapılan çalışmada kuru baklagillerin pişirildikten sonra içerdiği fitosterol, tokoferol, polifenol miktarlarının azaldığı tespit edilmiştir. Fenoliklerin pişirilme sırasında termal oksidatif bozulmaya uğraması

sebebiyle miktarlarının önemli ölçüde azaldığı, α , β ve γ tokoferollerin pişirilmemiş baklagillere oranla 1-2 kat daha az bulunduğu ve fitosterollerde de azalmalar olduğu bildirilmiştir (Kalogeropoulos ve ark., 2010; Prusinski, 2017).

Bu sonuçlardan da çıkarılabileceği gibi *Lupinus albus* L. tohumlarının sahip olduğu biyoaktif bileşiklerin sıcaklık, pH vb. farklı çevresel koşullarda bozulması ve azalması öngörülmektedir. Bu çalışmada elde edilen ekstraktlardaki fitokimyasalların aktivitelerinin daha uzun süre stabil kalması, suda dispersiyonunun artması ve kontrollü salım sistemlerinin elde edilerek biyofaydalanımının artırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla, ekstraktların kapsüllemesi planlanmıştır. Kapsülasyon ajanı olarak, medikal, farmasötik ve gıda gibi uygulama alanlarında sıklıkla kullanılan, biyolojik olarak çözünebilen, biyoyumlu, toksik olmayan ve antimikrobiyal özellik gösterebilen kitosan nanoparçacıkları seçilmiştir (Mohammed ve ark., 2017; Yanat ve Schroën, 2021).

Literatürde *Lupinus albus* L. tohumu ham ekstraktlarının kapsüllemesiyle ilgili bir çalışma bulunmamasında rağmen çeşitli bitkisel ekstraktlar veya fitokimyasalların emülsiyon-iyonik jelleşme metodu kullanılarak kitosan nanoparçacıklar içerisine kapsüllenecek farklı amaçlar için yapılan çalışmalar bulunmaktadır.

Emülsiyon-iyonik jelleşme metodu kullanılarak elde edilen kitosan nanoparçacık kapsülasyon çalışmalarına örnek olarak Hasheminejad ve ark (2019)'nın yaptığı karanfil esansiyel yağının antifungal etkinliğinin artırılması için kitosan nanopartiküller ile kapsüle edilmesi verilebilir. Bu çalışmada kapsülasyon verimi %31-46 arasında değişirken yükleme kapasitesi %3.2-6.2 arasında değişmiştir. Sentez verimi ise %28.2-39.1 arasındadır. Parçacık boyutları ise kör numune için 40 nm iken karanfil esansiyel yağların kapsüle edildiğinde 100 nm civarındadır. (Hasheminejad ve ark., 2019) Bir diğer benzer çalışmada ise kekik esansiyel yağlarının yağ su emülsiyonu oluşturulup ardından iyonik jelleşme ile kapsülasyonu yapılmıştır. Kapsülasyon verimi %5.45-24.72 arasında değişirken, yükleme kapasitesi %1.32-2.12 arasında değişmektedir. Parçacık boyutları ise boş ve yüklü parçacıklar için sırasıyla 40 nm ve 80 nm olarak belirlenmiştir ve salım profili incelenmiştir. (Hosseini ve ark., 2013) Diğer bir benzer çalışmada ise karvakrol yüklü kitosan nanoparçacıklar sentezlenmiş, nanoparçacıkların antimikrobiyal etkisi ve salım profili çalışmaları yapılmıştır. Elde edilen parçacıkların kapsülasyon verimleri %13.6-31.4 arasında iken yükleme kapasiteleri %2.7-21.2 arasında bulunmuştur. Parçacık boyutları ise boş ve dolu parçacıklar için 40 ve 80 nm olarak bulunmuştur. (Keawchaon ve Yoksan, 2011) Benzer şekilde özellikler farklı Tw80, kitosan ve kurkumin dietil disüksinat konsantrasyonlarının değişkenler olarak seçildiği

kapsülasyon verimi, yükleme kapasitesi, zeta boyutu ve zeta potansiyel ise cevap değeri olarak değerlendirildiği yüzey yanıt metodolojisinin kullanıldığı bir çalışma yapılmış ve bu çalışma sonucunda %0.15 (a/h) kitosan konsantrasyonu, 1% Tw80 1.5 mg/mL kurkumin dietil disüksinat konsantrasyonlarının optimum koşullar olarak belirlenmiş, elde edilen boyutlar yaklaşık 166 nm parçacıklar elde edilmiş kapsülasyon verimi %66.3 ve yükleme kapasitesi %16.3 olarak bulunmuştur. Çalışma sonunda serbest hale kıyasla, optimize edilmiş şartlarda elde edilen kapsülasyon sistemin, mukoadhezivite, hücresel alım, sitotoksosite, antioksidan ve anti-inflamatuar etkiler dahil olmak üzere daha iyi biyofarmasötik ve biyolojik aktiviteler sergilediği görülmüştür. (Sorasitthiyanukarn ve ark., 2019). Bu metot ile en ayrıntılı parametre optimizasyonu çalışmalarından biri olan kitosan konsantrasyonunun, Tw80 konsantrasyonunu ve biyoaktif bileşen olarak kapsüle edilen kurkumin dietil disüksinat konsantrasyon değişkenlerinin kullanıldığı yüzey yanıt metodolojisinin kullanıldığı ve yanıt değeri olarak parçacık boyutu, zeta potansiyel, kapsülasyon verimi ve yükleme kapasitesinin alındığı bir çalışma yapılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasallar, Çözücüler, Numuneler ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasallar ve çözücüler gerekli saflıkta kullanılıp genellikle Merck, Fluka, Sigma Aldrich, Honeywell, Supelco firmalarının ürünleri kullanılmıştır. Analizlerde kullanılan kimyasallar ve numuneler Çizelge 3.1’de verilmiştir. Çalışma süresince kullanılan cihazlar ise Çizelge3.2’de listelenmiştir

Çizelge 3.1. Kullanılan kimyasallar, çözücüler ve numuneler

Yapılan Analiz	Kimyasallar ve Numuneler
Lupeol Tayini	Lupeol Standardı
	Metanol
	Asetonitril
Tokoferol Analizi	α , β , γ , δ Tokoferol Tokotrienol Standartları
	n-Hekzan
	Isopropil Alkol
Yağ Asiti Kompozisyon Analizi	Standart FFA karışımı
	Metanol
	Potasyum Hidroksit
	n-Hekzan
Polimerik Madde Tayini	Tetrahidrofuran
	Ayçiçek Yağı
	Stearik Asit
Trigliserit Kompozisyon Tayini	Aseton
	Asetonitril
	Rafine Soya Yağı
Sterol Miktarı Analizi	Etanol
	Potasyum Hidroksit
	Dietil eter
	Kloroform
	Pridin
	α -Kolestanol
	Bis(trimetilsilil)trifloroasetamit
Kapsülasyon	Kitosan
	Sodyum tripolifosfat
	Tween80
	Asetik Asit
	Hidroklorik asit
	n-Hekzan
	Metanol

Çizelge 3.2. Kullanılan cihazlar

Cihazlar	Marka-Model
Isıtıcıli Manyetik Karıştırıcı	IKA RCT classic
Ultrasonik Banyo	Kudos
Vorteks	IsoLab
Karıştırıcı	IsoLab MX-RL-Pro
HPLC-FLD	Agilent-1200 Series
HPLC-RID	Agilent-1200Series
HPLC-UV	Agilent-1260 Series
GC-FID	Agilent-7890 Series
GC-MS	Agilent-7890N/5975C
Mikroplaka Okuyucu	Thermo Fisher Scientific Multiskan SkyHigh Spektrofotometre
Sentrifüj	Nüve NF 900
Dinamik Işık Saçılım Spektrometre	Malvern ZetaSizer
Nem Tayin Terazisi	Ohaus MB35
Laboratuvar Ölçekli SFE cihazı	Superex F-500
Pilot Ölçekli SFE cihazı	Superex P-20
FE-SEM	Zeiss GeminiSEM 500

3.1. *Lupinus Albus* L. Tohumları

3.1.1. Acı tohum

Yerel olarak Deştiğin/Doğanhisar Konya, Türkiye’de yetiştirilen *Lupinus Albus* L. yerel üreticilerden alınmış, daha sonra tohumların içerisinde kalan yabancı maddeler, bitkilerin farklı kısımları, kırılmış ve sağlıklı görünmeyen tohumlar ayıklanmıştır. Ayıklanan tohumlar öğütülmüş ve 0.14 mm eleklerden geçirilerek analize hazır hale getirilmiştir.

3.1.2. Acılığı giderilmiş tohum

Acılığın giderilme işlemi yerel üreticilerin tohumları, tüketime sunmadan önce uyguladıkları geleneksel yöntemler kullanılarak yapılmıştır. Bu yöntem; literatürde de *Lupinus albus* tohumlarının acılığının giderilmesi için kullanılan metodun modifiye edilmiş halidir(Estivi ve ark., 2022). *Lupinus Albus* L. tohumları, 1 gece boyu suyun içerisinde beklemeye bırakılmış, daha sonra şişen tohumlardan süzülerek ayrılmıştır. Ardından tohumlar kazanın içerisine alınarak üzerini geçecek kadar su ilave edilmiş ve ısıtılmıştır. Kaynayan suda bekletilmiş ve tohumlar süzülerek alınmıştır. Ardından tohumlar akan suyun içerisinde acılığı tamamen giderilinceye kadar bekletilmiştir. Acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumları alttan ve üstten hava alacak şekilde kurtulmuştur. Daha sonra tohumların içerisinde kalan yabancı maddeler, bitkilerin farklı kısımları, kırılmış ve sağlıklı görünmeyen tohumlar ayıklanmıştır. Acılığı giderilen ve ayıklanan tohumlar, öğütülmüş ve 0.14 mm eleklerden geçirilerek analize hazır hale getirilmiştir.

3.1.3. Acı ve acılığı giderilmiş tohumların nem analizleri

SFE analizleri için hazırlanan öğütülmüş ve elenmiş tohumların nem oranları, termogravimetrik olarak analiz edilmiştir. % Nem oranı; belirli miktarda örnekler termogravimetrik nem tayin cihazına yerleştirilmiş, ölçümler arasındaki fark kalmayınca kadar 103°C’de ısıtılmaya devam edilmiş ve hesaplama gerçekleştirilmiştir.

3.2. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)

3.2.1. Laboratuvar ölçekli SFE sistemi ile parametrelerin optimizasyonu

Optimum ekstraksiyon parametrelerini belirlemek için yapılan laboratuvar ölçekli denemeler için 500 mL ekstraktör kolonu kullanılmıştır. CO₂ kolonun üstünden altına doğru hareket edecek şekilde gönderilmiş ve dinamik akış modu seçilerek ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. (Şekil 3.1)

3.2.1.1. Madde miktarı ve süre optimizasyonu

Cihaz koşulları göz önünde alınarak 50 g ve 25 g acı tohumlar ile her 30 dak da ekstrakt madde miktarı ölçülmüş, madde miktarı ve ekstraksiyon süresi optimizasyonu yapılmıştır.



Şekil 3.1. Laboratuvar ölçekli SFE sistemi

3.2.1.2. Merkezi kompozit tasarım ile basınç ve sıcaklık parametrelerinin optimizasyonu

SFE sisteminde basınç ve sıcaklık parametrelerinin optimizasyonu, deneysel sonuçların ampirik modellere uygunluğuna dayanan istatistiksel ve matematiksel yöntemlerden oluşan yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada deney tasarımı olarak Merkezi Kompozit Tasarım (Central Composite Design; CCD) yöntemi kullanılmıştır.

Cihaz ve karbondioksit süperkritik faz koşulları göz önüne alınarak, 2 değişkenli 5 seviyeli merkezi kompozit tasarım için belirlenen şartlar Çizelge 3.3 verilmiştir. 50 g kuru madde miktarı, 210 dak ekstraksiyon süresi ve 5.5 L/saat CO₂ gaz akışı sabit koşulları ile Çizelge 3.3’de kodlanmış ve gerçek değerleri verilen bağımsız değişkenlerle yapılan deney koşulları Çizelge 3.4’de belirtilmiştir. Elde edilen ekstraktların % ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır. % Ekstraksiyon verimlerinin ve mg lupeol/ kg KM cevap değeri olarak kullanılmış, optimum basınç ve sıcaklık değerleri bulunmuş ve optimum şartlar belirlenmiştir. Bu sonuçların elde edilmesiyle deneysel verilerin model ile olan uygunluğunu test etmek için varyans analizi gerçekleştirilmiş ve modelin uygunluğu değerlendirilmiştir. Bu şartlar altında analizler yapılarak cevap değerleri Design Expert® programı deneme sürümü kullanılarak YYY grafikleri elde edilmiş ve analizleri yapılmıştır.

Çizelge 3.3. Merkezi kompozit tasarım bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve gerçek değerleri

	-1.41421 (-α)	-1	0	+1	+1.41421(+α)
Basınç (bar)	130.1	155	215	275	299.9
Sıcaklık (°C)	50.76	52	55	58	59.24

Çizelge 3.4. Merkezi kompozit tasarım deneysel tasarımının analiz şartları

Analiz No	Basınç(bar)	Sıcaklık(°C)
1	215	55
2	155	52
3	275	58
4	299.9	55
5	215	50.76
6	215	59.24
7	275	52
8	215	55
9	215	55
10	155	58
11	130.1	55
12	215	55
13	215	55

3.2.2. Optimum parametrelerde, laboratuvar ölçekli SFE sistemi ile ekstraktların eldesi

50 g acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus albus* L. tohumunun, süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi ile 300 bar, 51°C, 210 dakika ve 5.5 L/saat CO₂ akış hızından ekstraksiyonları tamamlanmıştır. Elde edilen ekstraktların % ekstraksiyon verimleri, tohumların % nem miktarı dikkate alınarak kuru madde miktarı üzerinden Denklem 3.1'deki gibi hesaplanmıştır.

$$\% \text{Ekstraksiyon Verimi} = \frac{\text{Ekstrakt miktarı}}{\text{Kuru madde miktarı}} * 100 \quad (3.1)$$

3.2.3. Pilot ölçekli SFE sistemi ile ekstraktların eldesi

Laboratuvar ölçekli SFE sistemleri kullanılarak ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu gerçekleştirildikten sonra, pilot ölçekli süperkritik ekstraksiyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Cihazda, 10 L hacimli ekstraksiyon kolonu ve farklı basınçlara sahip 3 adet seperatör bulunmaktadır (Şekil 3.2). Ekstraktların seperatörlerde çözücünden (CO₂) ayrılmasından sonra, karbondioksit tam otomatik sıvılaştırma ve geri dönüşüm sistemi ile tekrar ekstraksiyon için kullanılmaktadır. Ekstraksiyon optimum koşulları olan 210 dakika, 300 bar ve 51° C'de deneyler gerçekleştirilmiştir. Kuru ağırlık, cihazın limitleri göz önüne alınarak yaklaşık 5 kg olarak belirlenmiştir. Seperatörlerdeki basınçlar, sırasıyla 90 bar, 60 bar ve 40 bar olarak ayarlanmıştır. Karbokdioksit akışı 0.7 L/dak olarak ayarlanmış ve çözmüş olduğu bileşikler seperatörlerde bırakarak tekrar kullanılmak üzere dinamik dönüşümlü CO₂ depo tankına geri gönderilmiştir. Farklı seperatörlerden elde edilen ekstraktların % ekstraksiyon verimleri ve toplam % ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır.



Şekil 3.2. Pilot ölçekli SFE sistemi

3.3. Ekstraktlardaki Bileşenlerin İncelenmesi

3.3.1. Uçucu bileşen analizi

Yaklaşık 100 mg ekstrakt tartılarak 1 mL aseton içerisinde dağıtılmış, 0.45 μ PTFE ile filtre edilerek analize hazır hale getirilmiştir. Literatürde belirtilen şartlar (Buszewski ve ark., 2019) modifiye edilmiş ve GC-MS ile yapılan analizlerin şartları Çizelge 3.5’de verilmiştir Uçucu bileşen türleri, cihaz kütüphanesindeki bileşiklerin kütle spektrumları ile karşılaştırılarak tespit edilmiş ve pik alanları kullanılarak % bulunma oranları hesaplanmıştır.

Çizelge 3.5. Uçucu bileşen analiz GC-MS kromatografik şartları

Enjektör (°C)	Dedektör (°C)	Akış Hızı (mL/dak)	Kolon Fırını		
			°C/dak	°C	dak
250	250	0,7		50	2
			10	200	10
Kolon		Taşıyıcı Gaz	20	280	5
HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m)(5%-Phenyl) methylpolysiloxane		Helyum	10	300	25

3.3.2. Lupeol tayini

Metanol içerisinde farklı konsantrasyonda standart lupeol çözeltileri hazırlanmış ve HPLC-UV cihazı kullanılarak lupeol tayinleri gerçekleştirilmiştir. HPLC-UV sistemine enjekte edilen standart çözeltilerden elde edilen kromatogramdaki pik alanına karşı konsantrasyon grafiğe geçirilerek kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir.

Belirli miktarda örnekler tartılarak metanol içerisinde 90 dakika karıştırılmıştır. Sonrasında 3500 rpm hızında 3.5 dakika santrifüj edilmiş çözünen kısım ve 0.45 μ ’luk PTFE filtreden geçirilerek analize hazır hale getirilmiştir. Numunelerin kromatogramlarında pik alanlarından yola çıkılarak, kalibrasyon eğrisi kullanılarak

numunelerin içerisindeki lupeol miktarları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlarının karşılaştırılması için t testi kullanılarak aralarındaki farklar istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Somwong ve Theanphong (2021)'nin yaptığı çalışmada kullandığı metot modifiye edilerek; lupeol tayini için analiz şartları Çizelge 3.6'da belirtilmiştir. (Somwong ve Theanphong, 2021)

Çizelge 3.6. Lupeol tayini için HPLC-UV kromatografik şartları

Kolon	Avantor ACE 5 C18 kolon 250x4,6 mm
Hareketli Faz	%90 MeOH %10 ACN
Akış Hızı	0,5 mL/dak
Dedektör Dalga Boyu	210 nm
Kolon Sıcaklığı	24 °C

3.3.3. Tokoferol-tokotrienol analizi

Bilinen konsantrasyonda α , β , γ ve δ tokoferoller ve tokotrienoller bulunduran stok çözeltilerden gerekli seyreltmeler yapılarak HPLC-FLD sisteminde analiz edilmiş, elde edilen pik alanlarına karşı konsantrasyonları grafiklere geçirilerek kalibrasyon eğrileri her bir bileşen için ayrı ayrı hazırlanmıştır.

Belirli miktarda örnekler tartılarak n-hekzan içerisinde çözülmüş ve 0.45 μ 'luk PTFE filtreden geçirilerek numuneler analize hazır hale getirilmiştir. Numunelerin kromatogramlarındaki pik alanlarından ve kalibrasyon eğrisi kullanılarak numunelerin içerisindeki tokoferol-tokotrienol miktarları hesaplanmıştır. Tarhan (2018) tarafından kullanılan metot modifiye edilerek, (Tarhan, 2018) Çizelge 3.7'de belirtilen şartlarda HPLC-FLD cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar t-testi kullanılarak karşılaştırılmaları istatistiksel olarak yapılmıştır.

Çizelge 3.7. Tokoferol-tokotrienol analizi HPLC-FLD kromatografik şartları

Kolon	Teknokroma Lichrospher 100 Diol 5 μ m 250x4 mm
Hareketli Faz	%99 Hekzan %1IPA
Akış Hızı	1 mL/dak
FLD Şartları	Uyarılma 295nm- Emisyon 330 nm
Kolon Sıcaklığı	20 °C

3.3.4. Yağ asidi kompozisyonu

Elde edilen ekstraktlardaki uçucu özellikte olmayan (sabit) yağ asitleri GC-FID sistemi ile tayin edilmiştir. Bu analiz için örnekler ön işlem olarak metil esterlerine dönüştürülmüşlerdir. Öncelikle yaklaşık 100 mg ekstrakt alınarak 2N KOH/MeOH'dan 100 mL ilave edilmiştir. Daha sonra üzerine yaklaşık 1 mL hekzan eklenerek ekstrakte edilmiş ve hekzan fazı 0.45 μ luk PTFE filtreden geçirilerek analize hazır hale getirilmiştir.

Hazırlanan numuneler GC-FID cihazı ile gerçekleştirilmiş ve analiz metodu Çizelge 3.8’de verilmiştir.(Topkafa, 2016) Numunelerin içerdiği yağ asitlerinin tespiti ve yüzdelerinin hesaplanması için yağ asidi metil esterlerinin (FAME) içeren karışım cihaza verilmiş alıkonma sürelerine göre yağ asitlerinin tespitleri yapılmış ve pik alanlarına göre yağ asidi yüzdeleri hesaplanmıştır.

Çizelge 3.8. Yağ asidi kompozisyon analizi GC-FID kromatografik şartları

Kolon	Agilent HP-88 (100m, 0,25mm, 0,25 µm) (%88 siyanopropil)-metilarilpolisiloksan		
Hareketli Faz	H ₂		
Hareketli Faz Akış Hızı	1,3 mL/dak		
Enjeksiyon türü	Splitless		
Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	280°C		
Kolon Sıcaklığı	°C/dak	°C	dak
		50	2
	4	240	10
Dedektör	FID		
	Sıcaklık: 250 °C		

3.3.5. Gliserit Tür ve FFA Analizleri

Ekstraktlar tartılarak tetrahidrofuran (THF) içinde çözülmüş ve 0.45 µ PTFE ile filtre edilerek hazırlanmıştır. Analizler HPLC-RID ile yapılmış ve standart olarak ayçiçek yağı ve stearik asit aynı koşullarda hazırlanarak analiz edilmiştir. Trigliserit, digliserit, monogliserit ve serbest yağ asidi tayini için analiz koşulları Çizelge 3.9’de verilmiştir (Dobarganes ve ark., 2000).

Çizelge 3.9. Gliserit Tür ve FFA analizleri HPLC-RI kromatografik şartları

Kolon	Koruyucu kolon ve seri bağlı 300x7,7 mm jel kolon: 500Å-100Å
Hareketli Faz	THF
Akış Hızı	1 mL/dak
Dedektör	Refraktif indeks (35°C)
Kolon fırını	30°C

3.3.6. Trigliserit analizi

Yaklaşık 100 mg ekstraktlar alınarak 1 mL aseton içerisinde dağıtılmış ve 0.45 µ PTFE ile filtre edilerek analize hazır hale getirilmiştir. Analizler HPLC-UV cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Rafine soya yağı aynı yöntemle hazırlanarak trigliserit analizleri için standart olarak kullanılmıştır. Tarhan (2018)’in kullandığı metot modifiye edilerek kullanılmış ve analiz şartları Çizelge 3.10’de verilmiştir. (Tarhan, 2018). Trigliserit kompozisyonu bilinen rafine soya yağı analiz edilerek trigliseritlerin alıkonma sürelerine göre türler tespit edilmiş ve pik alanları hesaplanarak % trigliserit kompozisyon analizleri yapılmıştır.

Çizelge 3.10. Trigliserit analizleri için HPLC-UV kromatografik şartları

Kolon	Merck Chromolith Performance RP-18 100mmx4.6mm
Hareketli Faz	%60 Asetonitril %40 Aseton
Akış Hızı	2 mL/dak
Dalga Boyu	210 nm
Kolon fırını	25°C

3.3.7. Sterol Analizi

İç standart olarak α -kolestanol alınarak çözücüsü uzaklaştırılmış içerisine yaklaşık 250 mg ekstrakt eklenmiştir. Üzerine 2.5 mL KOH/EtOH eklenerek 1 saat 90°C’de geri soğutucu altında ısıtılmıştır. Daha sonra eter ve su ile ekstrakte edilerek eter fazı ayrılmış eter uzaklaştırılarak karışım kloroform eklenerek çözülmüş ve 0.45 μ luk PTFE filtreden geçirilmiştir. Kloroform uzaklaştırıldıktan sonra 1:1 (h:h) oranında piridin ve BSTFA eklenerek 5 dak oda sıcaklığında 20 dak 60°C’de sonike edilerek sililleme işlemi tamamlanarak analize hazır hale getirilmiştir. GC-MS ile analiz edilmiştir. Caligiani ve ark (2010)’ın kullandığı metot modifiye edilerek sterol analiz şartları Çizelge 3.11’de verilmiştir(Caligiani ve ark., 2010).

Sterol miktarı Denklem 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Sterol mg/kg} = \frac{ax.ms.1000}{As.m} \quad (3.2)$$

ax: Sterol pik alanı

As: α -kolestanol pik alanı

ms: α -kolestanol miktarı (mg)

m: Numune miktarı (g)

Çizelge 3.11. Sterol analizleri için GC-MS kromatografik şartları

Kolon	HP-5MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m)(5%-Phenyl)-methylpolysiloxane		
Hareketli Faz	He		
Hareketli Faz Akış Hızı	1 mL/dak		
Enjeksiyon türü	Splitless		
Enjeksiyon Bloğu Sıcaklığı	280°C		
Kolon Sıcaklığı	°C/dak	°C	dak
		80	2
	15	280	20
	15	300	20
Dedektör	MS		

3.3.8. Antioksidan kapasitesi analizi

Acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus albus* L. tohumu ekstraktlarının antioksidan aktivitelerini belirlemek için DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) serbest radikali kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda metanol içerisindeki ekstraktlar hazırlanarak üzerlerine DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. Aynı işlem farklı konsantrasyonlarda metanol içerisinde hazırlanan troloks standart çözeltileri ile gerçekleştirilmiştir. 25°C’de 30 dakika beklemenin ardından 517 nm dalga boyunda absorbans ölçümü yapılmış ve elde edilen sonuçlar ile serbest radikal giderim aktivitesi Denklem 3.3 ile hesaplanmıştır (Martínez-Villaluenga ve ark., 2009).

$$\% \text{İnhibisyon} = \frac{\text{Kontrol Absorbansı} - \text{Numune Absorbansı}}{\text{Kontrol Absorbansı}} * 100 \quad (3.3)$$

3.4. *Lupinus Albus* L. Tohumu Ekstraktlarının Kitosan Nanoparçacıklar ile Kapsülasyonu

3.4.1. Boş kitosan nanoparçacıkların sentez parametrelerinin optimizasyonu

Kitosan nanoparçacıkların (KSNP) sentez metodu olarak emülsiyon-iyonik jelleşme tekniği kullanılarak literatür çalışmalarında çeşitli modifikasyonlar yapılarak optimize edilmiştir.(Keawchaon ve Yoksan, 2011; Hosseini ve ark., 2013; Hasheminejad ve ark., 2019; Sorasitthyanukarn ve ark., 2019) Kitosan çözeltileri %1 asetik asit çözeltileri içerisinde yaklaşık 16 saat karıştırmalı ısıtıcı ile karıştırılarak hazırlanmış, çözeltilerin pH 4.6 olarak ayarlanmış ve 0.45µ filtreden geçirilmiştir. Hazırlanan kitosan çözeltileri Tw80 üzerine eklenerek karıştırmalı ısıtıcı üzerinde 50°C’de yüksek hızda karıştırılmıştır. 1 saat sonunda hazırlanan TPP çözeltileri damla damla KS:TPP 1:1 (h:h) olacak şekilde eklenmiş ve 1 saat daha karıştırılmıştır. Daha sonra 7000-9000 rcp hızda santrifüj edilerek nanoparçacıklar toplanmıştır. Toplanan nanoparçacıklar su ve Tw80 çözeltileri ile yıkanmış ve ultra saf suyun içerisinde dağıtılarak -80°C’de dondurulmuştur. Ardından liyofilizatörde kurutularak saklanmıştır.

3.4.2. Ekstraktların kitosan nanoparçacıklar ile kapsülasyon parametrelerinin optimizasyonu

3.4.2.1. Tween 80 konsantrasyonu ve ekstrakt miktarının belirlenmesi

%0.2 (a/h) kitosan çözeltisi %1 asetik asit çözeltileri içerisinde yaklaşık 16 saat karıştırmalı ısıtıcı ile karıştırılarak hazırlanmış çözeltilerin pH 4.6 ayarlanmış ve 0.45 µ’luk filtreden geçirilmiştir. %0.2 (a/h) TPP çözeltileri ise ultra saf su içerisinde

hazırlanmış ve 0.45 μ filtreden geçirilmiştir. Hazırlanan kitosan çözeltileri ile Tw80 %1, 2 ve 3 (a/h) olacak şekilde hazırlanarak karıştırılmalı ısıtıcı üzerinde 50°C’de yüksek hızda karıştırılmıştır. 1 saat sonunda KS:ekstrakt (a/a) 1:5 olacak şekilde belirlenen aralıklarla çözeltiliye eklenmiş ve karıştırılmıştır. 1 saat sonunda hazırlanan TPP çözeltileri damla damla KS:TPP 1:1 (h:h) olacak şekilde eklenmiş ve 1 saat daha karıştırılmıştır. Daha sonra 7000-9000 rcp hızda santrifüj edilerek nanoparçacıklar toplanmıştır. Toplanan nanoparçacıklar su ve Tw80 çözeltileri ile yıkanmış ve ultra saf suyun içerisinde disperse edilerek -80°C’de dondurulmuştur. Ardından liyofilizatörde kurutularak saklanmıştır.

%1 Tw80 konsantrasyonu sabit tutularak 1:0.25, 1:0.50, 1:1.00, 1:2.50 ve 1:5.00 KS:ekstrakt oranlarında TS3 eklenerek aynı metot kullanılarak sentezlenmiştir. Elde edilen kapsüllerin % yükleme kapasitesi hesaplanmıştır.

3.4.3. Ekstraktların % yükleme kapasitesinin belirlenmesi

Elde edilen ekstrakt yüklü kitosan nanoparçacıklar belirli miktarda tartılarak 2M HCl çözeltisi içerisinde yaklaşık 2 mg/mL olacak şekilde dağıtılmış ve 95°C’de 30 dak karıştırılmış ve soğumaya bırakılmıştır. Daha sonra n-hekzan ile ekstrakte edilmiş ve hekzan azot gazı altında uçurulmuştur. Elde edilen ekstrakt metanol içerisinde çözülerek 0.45 μ filtreden geçilerek analize hazır hale getirilmiştir.

Kapsüle edilen ekstrakt miktarı lupeol içeriği üzerinden hesaplanmıştır. Farklı konsantrasyonda ekstraktlar metanol içerisinde dağıtılarak hazırlanıp filtrelenerek Bölüm 3.3.2’de (Lupeol Tayini) belirtilen şekilde analiz edilmiş ve kalibrasyon grafikleri hazırlanmıştır. Nanoparçacıkların içerisine ekstraktların yükleme kapasiteleri bu kalibrasyon grafiği ile hesaplanmıştır.

3.4.4. Nanoparçacıkların Karakterizasyonu

3.4.4.1. Dinamik Işık Saçılımı (DLS)

Elde edilen nanoparçacıklar ultra saf su içerisine alınarak ultrasonik banyoda bekletilmiş ve analize hazır hale getirilmiştir. Parçacıkların hidrodinamik parçacık büyüklüğü ve polidispersite indeksleri (PDI) DLS ölçümleri yapılarak belirlenmiştir.

3.4.4.2. Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskop görüntüleri (FE-SEM)

Liyofilize edilmiş parçacıklar numune tutucu üzerinde bulunan karbon bant üzerine alınmıştır. İridyum kaplama yapıldıktan sonra hazırlanan örnekler FE-SEM cihazına yerleştirilerek 2.00 kV hızlandırıcı voltajla taranmıştır.

3.4.4.3. Taramalı geçirimli elektron mikroskobu görüntülenmesi (STEM)

Ultra saf su içerisinde dağıtılan örnekler grid üzerine damlatılmış numunenin fazlası alınarak kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnekler cihaz içerisine yerleştirilerek 30.000 kV ile görüntülemeleri yapılmıştır.

3.5. İstatiksel Analizler

Yapılan analizlerden elde edilen sonuçların karşılaştırılması için sonuçların istatiksel analizinde t testi kullanılmıştır ve veriler 2'li olarak karşılaştırılmıştır. Kullanılan semboller ve anlamları Çizelge 3.12'de verilmiştir.

Çizelge 3.12. İstatiksel analizlerde kullanılan semboller ve anlamları

Sembol	Anlamı
ns	$p > 0.05$
*	$p \leq 0.05$
**	$p \leq 0.01$
***	$p \leq 0.001$
****	$p \leq 0.0001$

4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

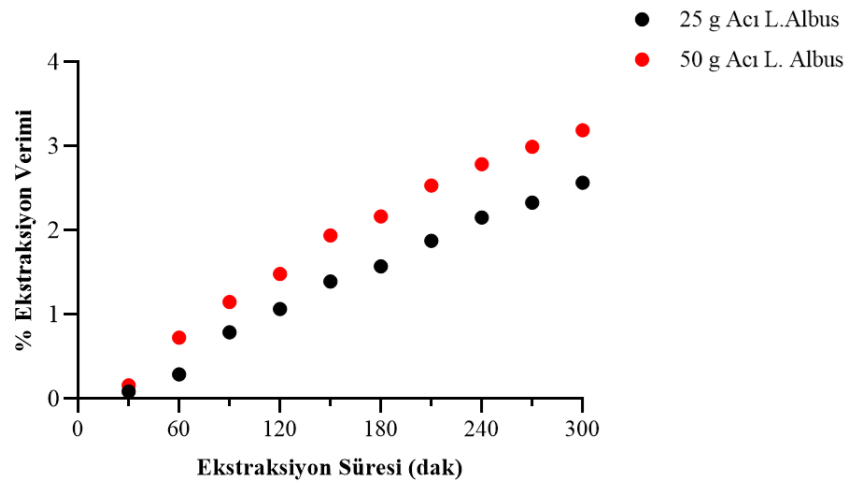
4.1. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemi

4.1.1. Ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu

4.1.1.1. Madde Miktarı ve Ekstraksiyon Süresi Optimizasyonu

Ekstraksiyona tabi tutulacak optimum madde miktarını bulmak için 25 g ve 50 g öğütülüp elenmiş olan numuneler, 215 bar ve 55°C’de süperkritik akışkan sistem ile ekstrakte edilmiş ve ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır. CO₂ akış hızı 5.5 L/sa olarak sabit tutulmuştur. Optimum madde miktarını belirlemek için yapılan çalışmalarda; madde miktarı; elde edilecek ekstrakt miktarı, harcanacak tohum miktarı, ekstraktörün içerisinde CO₂ difüzyonunu engellemeyecek yatak yüksekliği ve % ekstraksiyon verim parametreleri dikkate alınarak hesaplanmaya çalışılmıştır. Madde miktarı; ekstraktörde sıkışmamasını sağlayacak kadar az, ekstraktlarda yeterli sayıda analiz yapmaya yetecek kadar fazla olması dikkate alındığında, maksimum 50 g olarak belirlenmiştir. Tohumların ekstraksiyonu esnasında, her 30 dak’da toplanan ekstraktlar tartılmıştır. 50 g numune kullanıldığında % ekstraksiyon verimi, 25 g kullanıldığında göre daha yüksektir. 50 g’ dan daha az kuru madde ile yapılacak ekstraksiyonlarda analizler için yeterli ekstrakt toplanamayacağından dolayı optimizasyon çalışmaları için, 50 g numune miktarı, optimum değer olarak alınmış ve optimizasyon çalışmalarına devam edilmiştir.

Toplam ekstraksiyon veriminin doğrusal artışı 180 dakikada sona ermektedir. Farklı ekstraksiyon koşullarında değişiklik olabileceği düşünülerek optimum ekstraksiyon süresi 210 dak. olarak belirlenmiştir. (Şekil 4.1)



Şekil 4.1. Ekstraksiyon süresi ve tohum miktarının ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisi

4.1.1.2.Basınç ve sıcaklık parametrelerinin optimizasyonu

Cihazın kullanım özellikleri ve karbondioksit süperkritik faz koşulları göz önüne alınarak, merkezi kompozit tasarım için belirlenen şartlar Çizelge 4.1 'de gösterilmiştir. Tabloda belirtilen sıcaklık ve basınç değerlerinin yanında kurumadde miktarı (50 g), ekstraksiyon süresi (210 dakika) ve CO₂ akış hızı (5.5 L/sa) sabit tutularak 2 değişkenli 5 seviyeli merkezi kompozit tasarım çalışması gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 4. 1. Merkezi kompozit tasarım analiz şartları

		-1.41421 (- α)	-1	0	+1	+1.41421(+ α)
Basınç (bar)		130.1	155	215	275	299.9
Sıcaklık (°C)		50.76	52	55	58	59.24
Std	Sıra	Basınç(bar)	Sıcaklık(°C)	% Ekstraksiyon Verimi		
13	1	215	55	1.66		
7	2	215	50.76	2.02		
4	3	275	58	3.00		
3	4	155	58	0.55		
1	5	155	52	0.82		
6	6	299.9	55	3.79		
5	7	130.1	55	0.18		
12	8	215	55	1.93		
10	9	215	55	1.81		
8	10	215	59.24	1.71		
2	11	275	52	3.61		
11	12	215	55	2.01		
9	13	215	55	1.89		

Yapılan deneyler sonucunda % ekstraksiyon verimleri, numunedeki %8.63 nem oranı hesaba katılarak kuru madde (KM) üzerinden hesaplanmıştır. % ekstraksiyon verimlerinin cevap değeri olarak kullanıldığı basınç ve sıcaklık optimizasyon grafikleri analiz edilmiş ve optimum şartlar belirlenmiştir (Şekil 4.2). Design Expert programı tarafından önerilen doğrusal model kullanılmış ve modelin uygunluğu varyans analizi ile belirlenmiştir. Program tarafından düzenlenen ANOVA tablosu Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Modelin F değeri 374.46 ve p değeri<0.0001 olarak bulunmuştur. Bu değer modelin önemli olduğu hakkında bilgi vermektedir. p değerlerinin 0.05’den küçük olduğu terimlerin model üzerinde önemli olduğu şeklinde yorumlanabilmektedir. Bundan dolayı sıcaklık ve basınç bağımsız değişkenlerinin model üzerinde etkili terimler oldukları değerlendirilmiştir. Model uyumsuzluğu açısından değerlendirildiğinde; F değeri 1.05 ve p değeri 0.5049 olduğunda olası model uyumsuzluğunun önemli olmadığı yorumu yapılabilir. Belirleme katsayısı R² değeri ise 0.9868 olarak bulunmuş ve modelin uyumu

hakkında önemli bir bilgi vermektedir. Düzeltilmiş belirleme katsayısı (Adjusted R^2 0.9842) ve tahminlenmiş belirleme katsayısı (Predicted R^2 0.9775) arasındaki farkın 0.2'den az olması da bu ikisinin uyumlu olduğuna dair bilgi vermektedir. Program tarafından elde edilen Denklem 4.1'de verilmiştir.

$$\% \text{Ekstraksiyon Verimi} = 0.280505 - (0.054386 * \text{Sıcaklık}) + (0.021552 * \text{Basınç}) \quad (4.1)$$

YYY grafikleri yorumlandığında; basınç ile doğru sıcaklık ile ters orantılı olarak % ekstraksiyon veriminin değiştiği yorumu yapılabilir. Benzer bir çalışmada sıcaklık ve basınç parametrelerinin SFE sisteminde % ekstraksiyon verimine olan etkisi incelenmiş 150-350 bar arasında sabit sıcaklıkta basınç artışının % ekstraksiyon verimini arttırdığı görülmüştür. Özellikle 150 barda gerçekleştirilen denemelerde en düşük ekstraksiyon verimine ulaşıldığı görülmüştür. Karbondioksit yoğunluğunun bu basınçta düşük olması, basıncın yükseldikçe süperkritik akışkanın yoğunluğunun artması sonucu çözme gücünün iyileşmesi ve daha iyi penetrasyon kabiliyetine sahip olması ile daha yüksek bir ekstraksiyon verimine ulaşıldığı belirtilmiştir (Náthia-Neves ve ark., 2025).

Yapılan deneyler sonucunda elde edilen ekstraktaki lupeol miktarları tayin edilmiştir. Elde edilen cevap değerleri Design Expert sistemine girildikten sonra önerilen doğrusal model kullanılmış ve modelin uygunluğu varyans analizi ile doğrulanmıştır. Program tarafından düzenlenen ANOVA tablosu Çizelge 4.3'de verilmiştir.

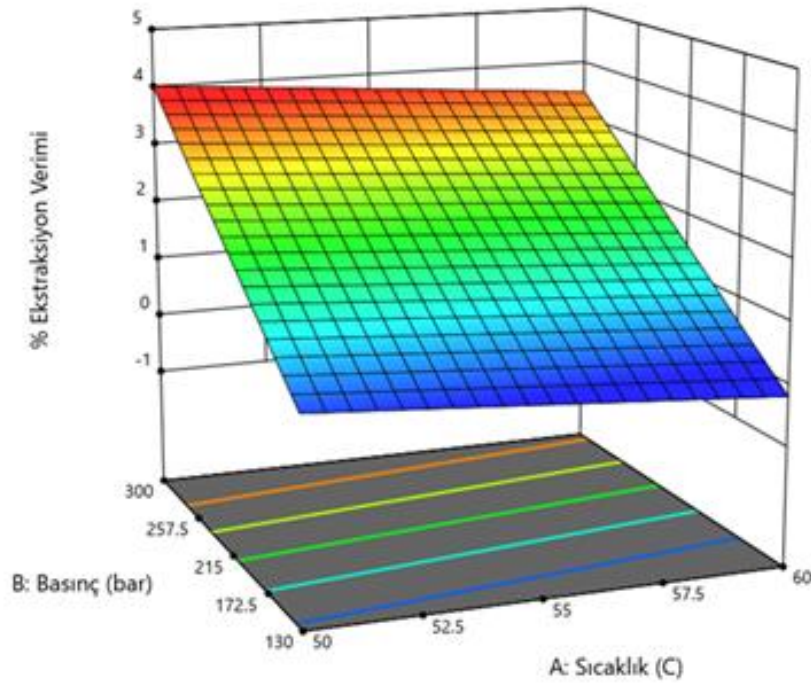
Modelin F değeri 183.48 ve p değeri <0.0001 olarak bulunmuştur. Bu değer modelin önemli olduğu hakkında bilgi vermektedir. p değerlerinin 0.05'den küçük olduğu terimlerin model üzerinde önemli olduğu şeklinde yorumlanabilmektedir. Bundan dolayı basınç bağımsız değişkeninin ($p < 0.0001$) model üzerinde etkili terim olduğu çıkarımı yapılmaktadır. Fakat sıcaklık bağımsız değişkeninin $p = 0.0677$ olduğunda dolaylı 0.05 üzerindeki p değeri için önemli bir terim olmadığı anlamı çıkarılmaktadır. Bu durumda elde edilen sonuçlar üzerinde sadece basınç bağımsız değişkenin önemli bir etkisi olduğu yorumu yapılabilir. Model uyumsuzluğu açısından değerlendirildiğinde; F değeri 0.54 ve p değeri 0.7637 olduğunda olası model uyumsuzluğunun önemli olmadığı yorumu yapılabilir. Belirleme katsayısı R^2 değeri ise 0.9735 olarak bulunmuş ve modelin uyumu hakkında önemli bir bilgi vermektedir. Düzeltilmiş belirleme katsayısı (Adjusted R^2 0.9682) ve tahminlenmiş belirleme katsayısı (Predicted R^2 0.9570) arasındaki farkın 0.2'den az olması da bu ikisinin uyumlu olduğuna dair bilgi vermektedir.

Program tarafından verilen gerçek faktörler cinsinden nihai Denklem 4.2’de verilmiştir.

$$\text{mg Lupeol/kg KM} = 15.96381 - (2.95379 * \text{Sıcaklık}) + (1.37339 * \text{Basınç}) \quad (4.2)$$

Elde edilen grafikte kuru madde üzerinden elde edilen lupeol miktarı, basınç ile doğru orantılı olarak artmakta olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3).

Bu şartlar göz önüne alındığında ekstraksiyon verimi ve ekstrakte edilen toplam lupeol miktarının maksimum olduğu noktalar seçilerek, optimum sıcaklık ve basınç değerleri sırasıyla 51°C ve 300 bar olarak belirlenmiştir.

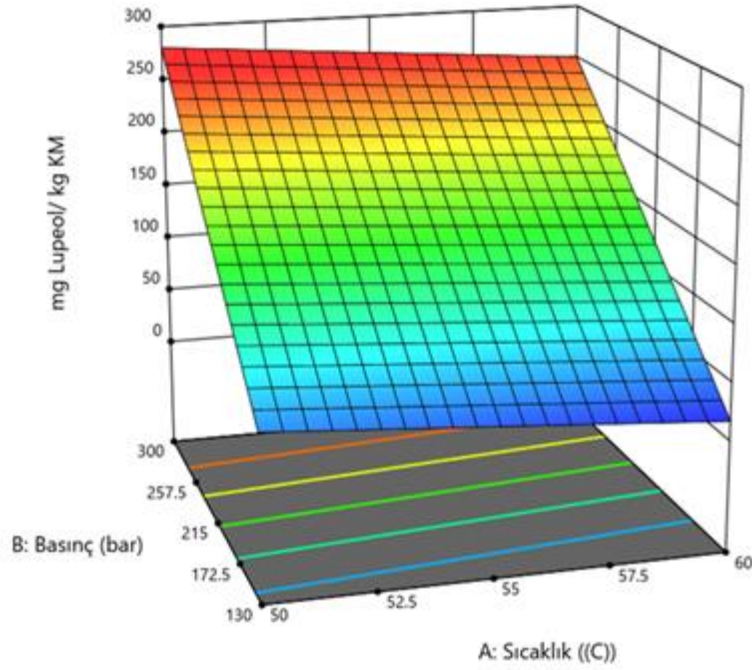


Şekil 4.2. Basınç ve sıcaklık değişkenlerinin % ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisini gösteren YY grafikleri

Çizelge 4.2. Basınç ve sıcaklık bağımsız değişkenlerinin %ekstraksiyon verimi üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F	p	
Model	2	6.79	374.46	< 0.0001	Önemli
Sıcaklık	1	0.2130	11.74	0.0065	
Basınç	1	13.38	737.19	< 0.0001	
Uyum Eksikliği	6	0.0185	1.05	0.5049	Önemsiz
Hata	4	0.0176			
Genel	12				

SD:Serbestlik Derecesi, KO:Kareler Ortalaması



Şekil 4.3. Basınç ve sıcaklık değişkenlerinin mg lupeol/kg KM üzerindeki etkileri gösteren YY grafikleri

Çizelge 4.3. Basınç ve sıcaklık bağımsız değişkenlerinin mg lupeol/kg KM üzerindeki etkilerine ait varyans analiz sonuçları

Varyasyon Kaynağı	SD	KO	F	P	
Model	2	27475.57	183.48	< 0.0001	Önemli
Sıcaklık	1	628.19	4.19	0.0677	
Basınç	1	54322.94	362.76	< 0.0001	
Uyum Eksikliği	6	111.55	0.5388	0.7626	Önemsiz
Hata	4	207.04			
Genel	12				

SD:Serbestlik Derecesi, KO:Kareler Ortalaması

4.1.2. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının eldesi

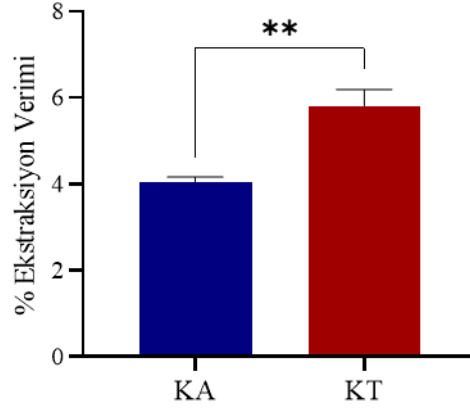
Optimizasyon çalışmalarında, hammadde miktarı 50 g, ekstraksiyon süresi 210 dak ekstraksiyon sıcaklığı 51°C ve basıncı 300 bar olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında acı (KA) ve acılığı giderilmiş (KT) tohum ekstraktları elde edilmiş ve sırasıyla %8.63 ve %9.07 nem oranları hesaba katılarak kuru madde üzerinden % ekstraksiyon verimleri hesaplanmıştır. Bu şartlar altında elde edilen acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının %ekstraksiyon verimleri Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraksiyon verimleri

	%Ekstraksiyon Verimi	
	Ort	SS
KA	4.05	0.09
KT	5.81	0.31

İstatiksel olarak karşılaştırılmalar t testi kullanılarak yapılmıştır. Acılığı giderilmiş tohumların % ekstraksiyon verimleri, acı tohumlara kıyasla daha yüksek bulunmuş ve istatistiksel olarak analiz edildiğinde aralarında anlamlı fark olduğu bulunmuştur (Şekil 4.4).

Acılığı giderilmiş tohumların ekstraksiyon veriminin yüksek olması, suda kaynatma ve suda yıkama gibi acılığın giderilme işlemleri esnasında tohumlardan bazı bileşiklerin (alkaloidler vb.) ayrılmasıyla porların oluşması, porlarının şişme esnasında genişlemesi ve süperkritik karbondioksitin numune taneciklerinin içerisine difüz etme kabiliyetinin artmasından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca kaynatma ve yıkanma aşamasında karbondioksitin parçacıkların içine sızmasını engelleyebilecek çeşitli bileşiklerin tohumlardan uzaklaştırılarak karbondioksit difüzyonunun artması ve daha yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmesini sağlamış olabileceği düşünülmektedir.



Şekil 4.4. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının % ekstraksiyon verimlerinin karşılaştırılması

Literatürde farklı *Lupinus* türü tohumlarının SFE sistemi ile maksimum % ekstraksiyon verimi 3,25 ve 4,50 olarak bulunmuştur (Buszewski ve ark., 2019; Náthia-Neves ve ark., 2025). Bu sonuçlarla kıyaslandığında, bu çalışmada yapılan optimizasyon işlemleri sonucunda acı tohum ekstraksiyonu için maksimum değere yakın bir veri elde edilirken acılığı giderilmiş tohum % ekstraksiyon verimi literatüre kıyasla daha yüksek bulunmuştur.

4.1.3. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının lupeol analizi

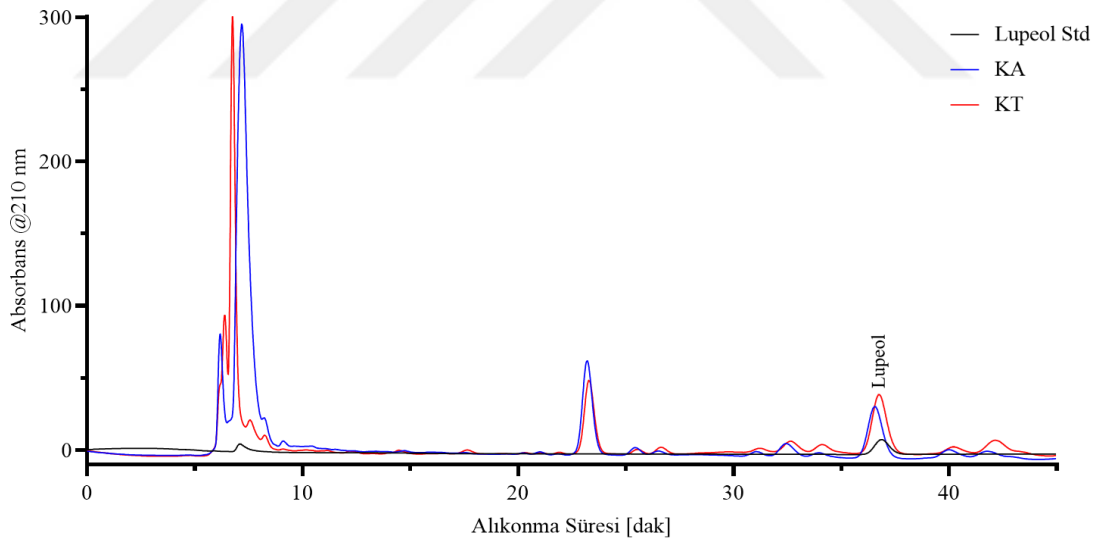
Lupeol; bitkilerde bulunan çeşitli özellikler gösteren önemli bir biyoaktif bileşiktir. Antienflamatuvar, antioksidan, antimikrobiyal ve antikanser özellik göstermeleri, kalp damar sağlığı üzerindeki olumlu etki gösterebilecek potansiyelinin bulunması ve nöroprotektif etki gösterdiğine dair ön çalışmaların yapılmasından dolayı incelenmeye değer önemli bir biyoaktif bileşiktir. (Geetha ve Maralakshmi, 1999; Geetha ve Varalakshmi, 2001; Sunitha ve ark., 2001; Vidya ve ark., 2002; Saleem ve ark., 2004; Saleem ve ark., 2005; Prasad ve ark., 2008; Gallo ve Sarachine, 2009; Prasad ve ark., 2009; Gupta ve ark., 2012; Kallubai ve ark., 2015; Park ve Park, 2019; Eom ve ark., 2020; Liu ve ark., 2021; Tiwari ve ark., 2021; Vázquez ve ark., 2024) Özellikle lupin tohumlarında ve tohum kabuklarında lupeol bileşiğinin bulunduğu, literatür çalışmalarında belirtilmiştir (Buszewski ve ark., 2019; Vázquez ve ark., 2024).

Numunelerdeki lupeol tayinleri yapılmış, kromatogramlar Şekil 4.5’de verilmiştir. Birim kuru maddedeki ve ekstrakttaki lupeol miktarı hesaplanmış, sonuçlar Çizelge 4.5’de verilmiştir. İstatiksel olarak karşılaştırmaları t testi kullanılarak yapılmış ve Şekil 4.6 ve Şekil 4.7’de verilmiştir.

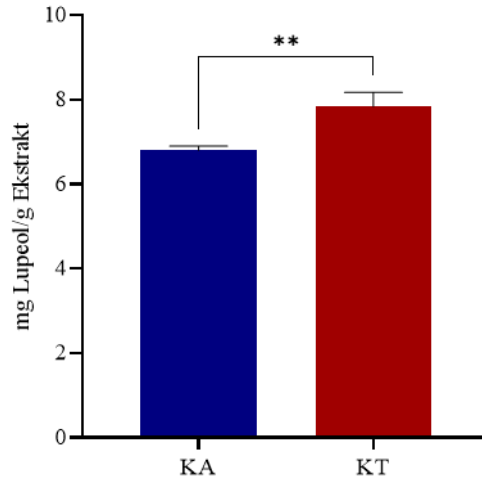
Çizelge 4.5. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının lupeol miktarları

	mg Lupeol /g Ekstrakt		mg Lupeol /kg KM	
	Ort	SS	Ort	SS
KA	6.80	0.09	275.17	3.14
KT	7.84	0.28	456.34	40.56

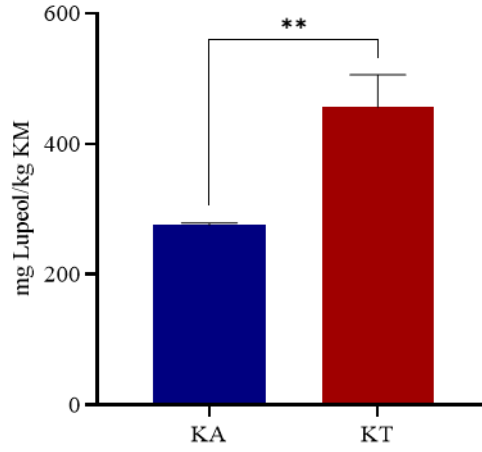
Bu analizler sonucunda, acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarında tayin edilen lupeol miktarı daha yüksek bulunmuş ve istatistiksel olarak analiz edildiğinde anlamlı bir fark görülmüştür. Bu fark kuru maddeden ekstrakte edilen lupeol miktarı yönünden de benzer özellik göstermektedir. Acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının birim ekstraktındaki ve kuru maddeden ekstrakte edilen lupeol miktarının daha yüksek olmasının nedeni; suda bekletme, yıkama aşamalarında şişerek porların genişlemesi, aynı zamanda yıkama sonrasında süperkritik akışkan haldeki karbondioksitin difüzyonunu engelleyebilecek bileşiklerin tohumlardan uzaklaşması sebebiyle olduğu değerlendirilmiştir. Böylelikle karbondioksitin difüzyonunun acı tohumlara kıyasla kolay olması ve daha fazla lupeol bileşiğinin taşıyabildiği şeklinde yorumlanabilir. Aynı zamanda yıkama esnasında lupeol bileşiğinin önemli bir kayba uğramadığı yorumu da yapılabilmektedir.



Şekil 4.5. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının lupeol analiz kromatogramları



Şekil 4.6. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol miktarı karşılaştırması



Şekil 4.7. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının kuru maddedeki lupeol miktarı karşılaştırması

4.1.4. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının uçucu bileşen analizleri

Uçucu bileşen analizleri, GC-MS sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiş, kromatogramlar Şekil 4.8’de gösterilmektedir. Kromatogramda çeşitli yağ asitleri, sterol türevleri, tokoferol yer almaktadır. Acı tohum ekstraktlarındaki uçucu bileşen türlerinde, lupanin 12.31 ± 0.97 olarak bulunmuş, hidroksilupanın türevleri olduğu düşünülen 0.56 ± 0.07 ve 1.03 ± 0.08 orana sahip türler kütle spektrum karşılaştırılmasında tespit edilmiştir. Lupanin bileşiği, *Lupinus albus* tohumlarında baskın alkaloid türlerinden biri olduğu, aynı zamanda hidroksilupanın türünün de bulunduğu bildirilmiştir. (Romeo ve ark., 2018)

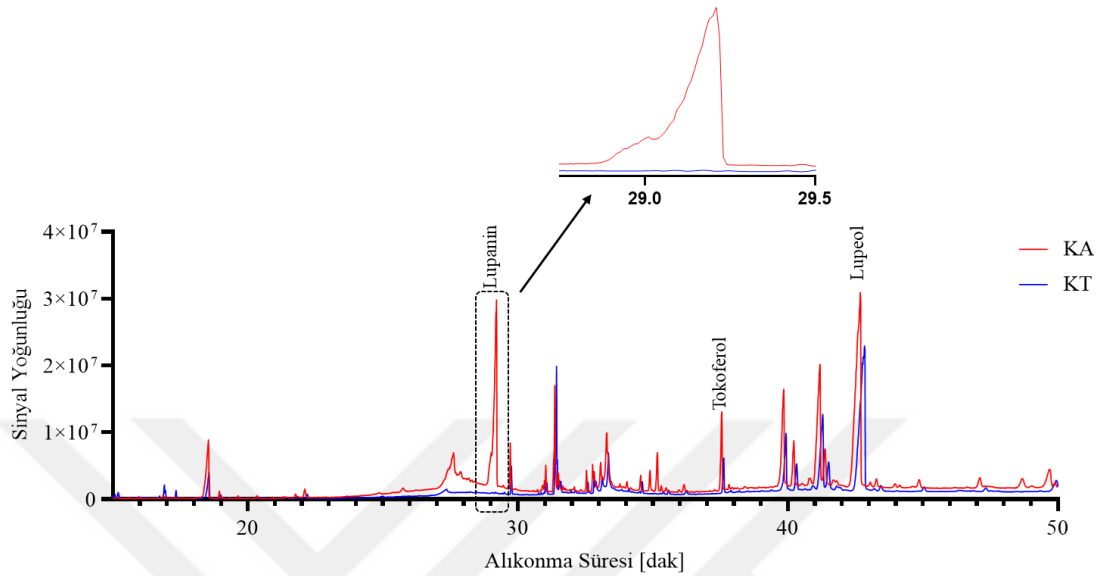
Acılığı giderilmiş olan tohumlarda SFE ekstraktlarında ise alkaloid türleri hariç diğer bileşiklerin benzerlik gösterdiği görülmüştür. Lupanin ve hidroksilupanın türevlerinin büyük ölçüde uzaklaştırılmış ve acılığın giderilmesinin başarılı olduğu sonucuna varılmıştır. Lupanin ve diğer kinolizidin alkaloidler yem ve besin olarak tüketildikleri zaman toksik etki oluşturdıklarından dolayı, tüketimden önce tohumlardan uzaklaştırılmaları gerekmektedir. Fakat bu alkaloidler; nöroprotektif etkileri olan antidiyabetik, antimikrobiyal ve antifungal potansiyeline sahip biyoaktif bileşiklerdir. (Wiedemann ve ark., 2015; Gavilan ve ark., 2019; Cely-Veloza ve ark., 2022) Bundan dolayı direkt tüketime uygun olmasalar da bazı biyoteknolojik uygulamalar için yüksek potansiyel taşımaktadır.

GC-MS ile uçucu bileşikler arasındaki bulunmuş olan çeşitli steroller, yağ asitleri, tokoferol madde miktarları ve lupeol miktarlarının tespiti farklı kromatografik teknikler kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

4.1.5. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının tokoferol-tokotrienol analizleri

Tokoferol ve tokotrienoller, E-vitaminin farklı kimyasal yapılara ve biyolojik özelliklere sahip türleridir. Bu bileşikler, antioksidan özellik göstermeleri, anti inflamatuvar özellikleri ve nöroprotektif etkilerinden dolayı önemli bileşiklerdir. Aynı zamanda cilt ve yağ dokusunda bulunmalarından dolayı çeşitli biyoteknolojik uygulamalar için önemlidir. Bundan dolayı ekstraktların tokoferol-tokotrienol miktarları hem ekstraktın potansiyel kullanım alanları hem de besin değeri için önemlidir (Brigelius-Flohé ve Traber, 1999; Saldeen ve ark., 1999; Bradford ve ark., 2003; Sen ve ark., 2004;

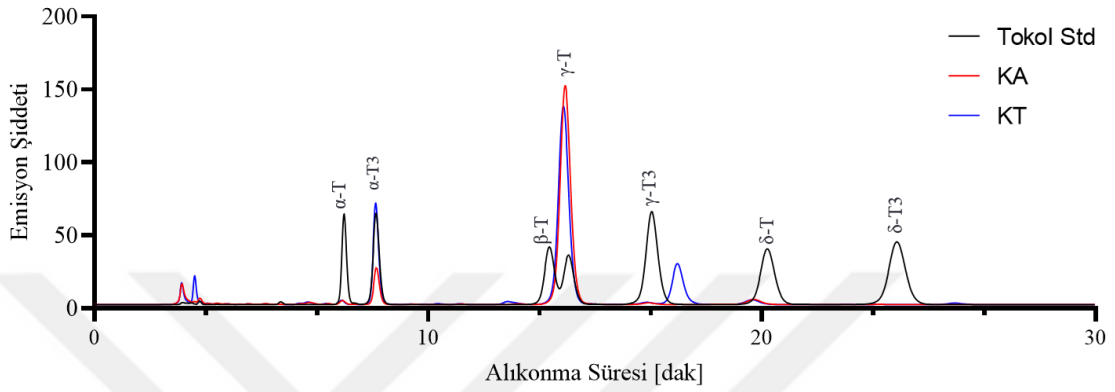
Ahmad ve ark., 2005; Saldeen ve Saldeen, 2005; Devaraj ve ark., 2007; Clarke ve ark., 2008; Maruoka ve ark., 2008; Peh ve ark., 2016; Kopańska ve ark., 2022).



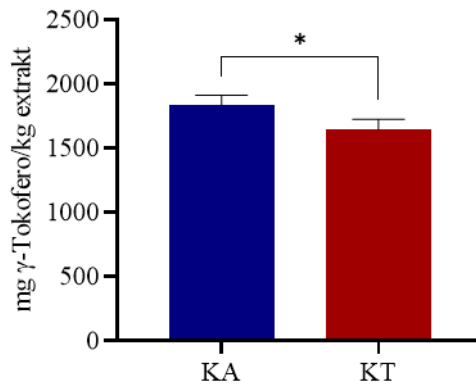
Şekil 4.8. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarındaki uçucu bileşen analiz kromatogramları

Acı ve acılığı giderilmiş tohumlardan elde edilen ekstraktlardaki tokoferol-tokotrienol miktarları tayin edilmiş, kromatogramlar Şekil 4.9’da, elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6’de verilmiştir. Çizelgede hem toplam kuru maddeden ekstrakte edilen hem de kilogram ekstrakttaki tokoferol-tokotrienol madde miktarı hesaplanmıştır. Acı ve acılığı giderilmiş türler arasında en baskın tür γ -tokoferoldür. Acı tohumlardan elde edilen ekstraktında bulunan γ -tokoferol miktarı, tatlı tohumlarından elde edilenlere göre daha fazla bulunmuştur (Şekil 4.10). Fakat acılığı giderilmiş tohumların ekstrakt verimlerinin daha yüksek olması sebebiyle, elde edilen toplam γ -tokoferol miktarı acı tohumlarınkinden daha fazladır. Toplam tokol madde açısından incelendiğinde acılığın giderilme işlemi sırasında büyük bir kayba uğramadığı ve acılığın giderilme işleminin tokol madde ekstraksiyonu açısından olumlu olduğu sonucu çıkarılabilmektedir.(Şekil 4.11) Bunun sebebi tokoferollerin sudaki çözünürlüğünün düşük olması hidrofobik yapısından dolayı suyla muamele sırasında tohumdan uzaklaşmamış ve molekül yapısının bozulmaya uğramadığı olarak açıklanabilir (Estivi ve ark., 2022). Elde edilen kromatogramlar Şekil 4.12’de verilmiştir. Literatürde yapılan farklı ekstraksiyon teknikleriyle elde edilen *Lupinus albus* tohumları tokoferol analizlerinde de γ -tokoferol en baskın tür olarak bulunmuştur. (Frias ve ark., 2005; Estivi ve ark., 2022; Náthia-Neves

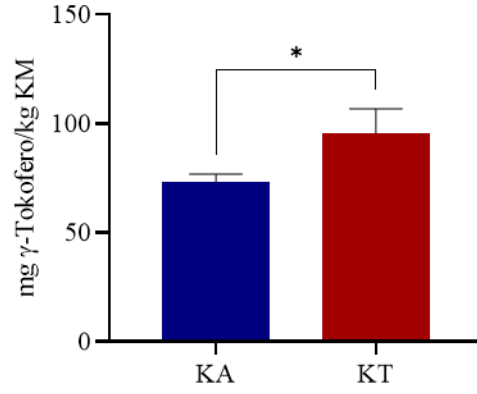
ve ark., 2025). Farklı bir lupin tohumlarıyla yapılan çalışmada, SFE sisteminin tokoferol ekstraksiyonu için uygun bir metot olduğu bildirilmiştir (Náthia-Neves ve ark., 2025).



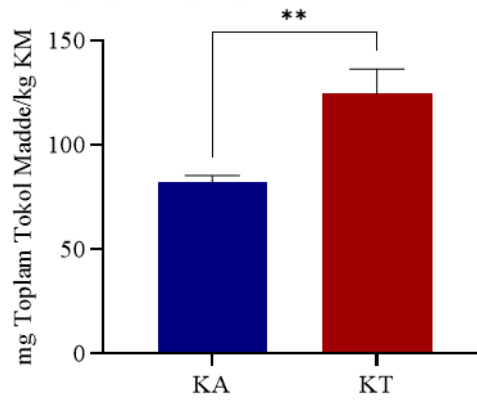
Şekil 4.9. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığ giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki tokoferol-tokotrienol analiz kromatogramı



Şekil 4.10. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığ giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktındaki γ-Tokoferol miktar karşılaştırması



Şekil 4.11. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının kuru maddedeki γ -Tokoferol miktar karşılaştırması



Şekil 4.12 Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktaki toplam tokol madde miktar karşılaştırması

Çizelge 4.6. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki tokoferol-tokotrienol madde miktarı

	KA				KT			
	mg tokol/kg ekstrakt		mg tokol/kg KM		mg tokol/kg ekstrakt		mg tokol/kg KM	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
α-Tokoferol	19.114	1.463	0.760	0.055	20.065	0.508	1.168	0.088
α Tokotrienol	167.196	18.644	6.648	0.677	439.789	36.104	25.491	1.545
γ-Tokoferol	1836.421	62.366	73.105	2.995	1642.598	68.298	95.680	9.124
γ-Tokotrienol	7.344	0.757	0.287	0.036	6.518	1.163	0.357	0.070
δ-Tokoferol	34.815	3.028	1.386	0.128	31.090	0.712	1.809	0.138
δ-Tokotrienol	0.775	0.162	0.031	0.007	0.520	0.271	0.031	0.018
Toplam Tokol Madde			82.216	2.581			124.535	9.737

4.1.6. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının yağ asidi kompozisyonu

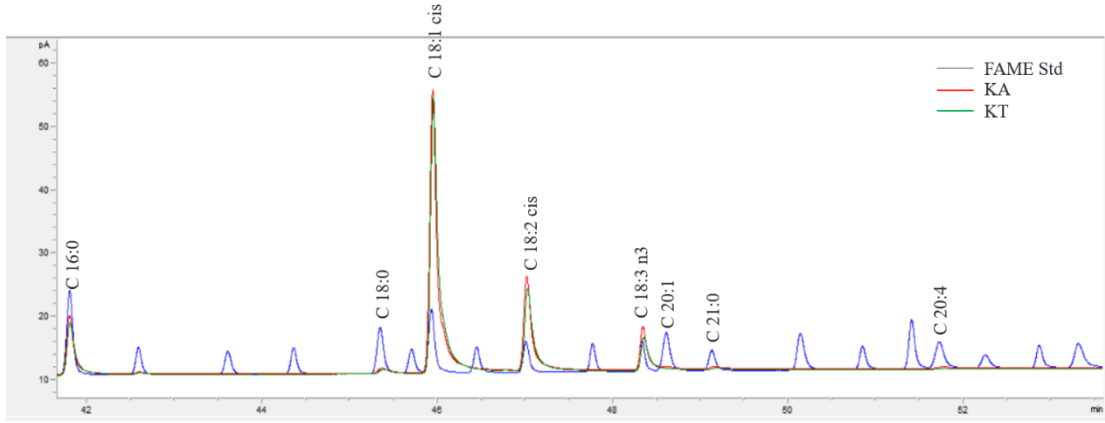
Yağ asitleri; insan vücudu için önemli rol oynayan yapıların başında yer almaktadır. Bu moleküller enerji kaynağı olması, hücre membranlarının yapısında bulunması, hücresel proseslerde rol alması, kardiyovasküler sağlık üzerindeki etkileri, nörolojik gelişim ve fonksiyonlar için önemli olması, antienflamatuvar etkilerinden dolayı çok önemli bileşikler arasında bulunmaktadır. Yağ asit kompozisyonlarının analizi; ekstraktın besin değeri ve potansiyel kullanımı açısından önemli bilgiler vermektedir (Burdge ve ark., 2001; Fisher ve Sjögren, 2006; Tokuyama ve Nakamoto, 2011; Glatz ve Luiken, 2015; Orsavova ve ark., 2015; Lee ve ark., 2017; Morris ve Mohiuddin, 2020).

Acı ve acılığı giderilmiş tohumlardan elde edilen ekstraktlardaki sabit yağ yağ asit kompozisyon analizleri GC-FID cihazı ile yapılmış ve elde edilen kromatogramları Şekil 4.13’de ve yağ asit kompozisyon içerikleri Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi en baskın tür olan oleik asit, KA ve KT için sırasıyla %57.02 ve %55.88 olarak bulunmuştur. Linoleik asit oranı KA için %19.25 ve KT için %19.52 olarak hesaplanmıştır. Palmitik asit %9.16 ve %8.79 olarak KA ve KT için hesaplanmıştır. Linolenik asit oranları, sırasıyla KA ve KT’de %8.22 ve %7.48 olarak hesaplanmıştır. Literatürde Türkiye’de yetiştirilen *Lupinus Albus* tohumları ile yapılan çalışmalarda benzer sonuçlar bulunmuş olup oleik asit (%47.6-61.7), linoleik asit (%18.9-20.3), linolenik asit (%8.0-9.2) ve palmitik asit (7.6-8.5) yüzdesi açısından benzerlik göstermektedir. (Uzun ve ark., 2007; Yorgancılar ve Bilgiçli, 2014).

Çizelge 4.7. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının % yağ asit kompozisyonları

Yağ Asiti Türleri		KA		KT	
		Ort	SS	Ort	SS
C16:0	Palmitik Asit	9.16	0.05	8.79	0.25
C18:0	Stearik Asit	1.63	0.10	2.01	0.25
C18:1 cis	Oleik Asit	57.02	0.33	55.88	0.57
C18:2 cis	Linoleik Asit	19.25	0.06	19.52	0.51
C18:3 n3	Linolenik Asit	8.22	0.06	7.48	0.14
C20:1	Ekosaniok Asit	1.20	0.02	1.43	0.27
C21:0	Heneikosanoik asit	1.49	0.01	2.14	0.43
C20:4	Araşidonik asit	1.04	0.08	1.19	0.33
Diğer		0.98		1.56	



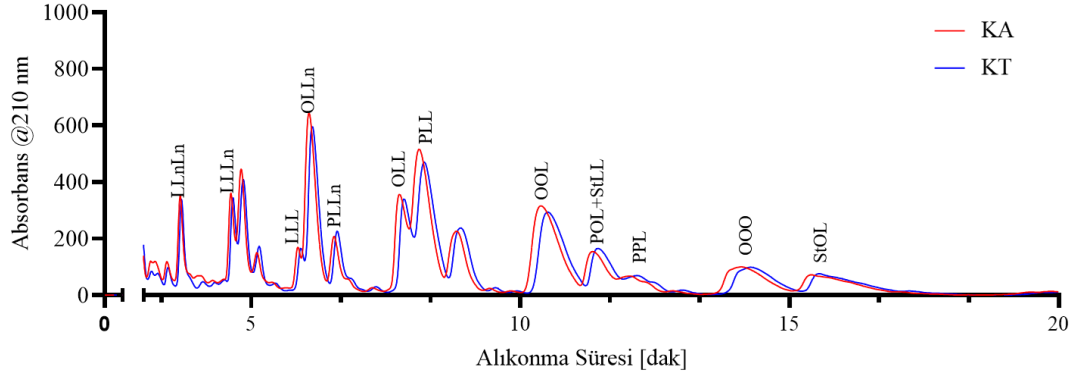
Şekil 4.13. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarındaki yağ asit kompozisyon analizi kromatogramı

4.1.7. Laboratuvar Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının trigliserit kompozisyon analizi

Trigliseritler üç adet yağ asidinin gliserol iskeletine esterleşmesiyle oluşmuş yapılardır. Belirli yağ asitlerinin bir araya gelmesiyle oluşan trigliserit yapıları, elde edilen yağın fiziksel yapısı, metabolik etkiler ve besin değerlerinin değerlendirilmesi açısından önem arz etmektedir (Khot ve ark., 2001; Groot ve ark., 2016; Lee ve ark., 2017; Morris ve Mohiuddin, 2020; Ravotti ve ark., 2020; Parhofer, 2022).

Acı ve acılığı giderilmiş tohumların trigliserit kompozisyon analizleri HPLC-UV sistemi ile gerçekleştirilmiştir. Standart olarak rafine soya yağı kullanılarak trigliseritlerin alıkonma süreleri tespit edilmiştir. Yapılan analizler sonunda acı tohum ekstraktının ve acılığı giderilmiş tohumların laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilen ekstraktların % trigliserit kompozisyonları tayin edilmiş, kromatogramları Şekil 4.14’de ve ayrıntılı analizleri Çizelge 4.8’de verilmiştir.

KA ve KT ekstraktlarının trigliserit kompozisyonunda PLL, OOO, OLLn, OOL, OLL, StOL, POL+StLL yoğunlukta bulunmuştur. Diğer bulunan trigliserit türleri ise birbirlerine yakın yüzdeye sahip olan LLnLn, LLLn, PLLn’dır. Bu yapılara bakıldığında en yoğun bulunan yağ asidi oleik asit, linoleik asit, palmitik asit ve linolenik asit olduğu görülmektedir bu da yağ asit kompozisyon analizleri ile paralellik göstermektedir.



Şekil 4.14. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarındaki trigliserit analiz kromatogramları

Çizelge 4.8. Laboratuvar ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarının %trigliserit kompozisyonu

Trigliserit Yapıları	KA		KT	
	ORT	SS	ORT	SS
LLnLn	3.592	0.036	3.904	0.064
LLLn	3.958	0.069	3.647	0.039
LLL	1.625	0.044	2.010	0.044
OLLn	14.394	0.258	14.805	0.172
PLLn	3.582	0.010	5.292	0.069
OLL	8.656	0.231	8.602	0.029
PLL	20.273	0.289	19.332	0.134
OOL	17.445	0.279	16.041	0.031
POL+StLL	6.110	0.563	6.183	0.085
PPL	3.056	0.225	2.936	0.099
OOO	8.922	0.281	8.959	0.039
StOL	8.386	0.058	8.288	0.294

4.2. Pilot Ölçekli SFE sistemi

4.2.1. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının eldesi

Lab ölçekli SFE sisteminde optimize edilen sıcaklık, basınç ve süre gibi ekstraksiyon parametreleri bu sistemde de kullanılmıştır. Kuru ağırlık olarak cihazın limitleri göz önüne alınarak yaklaşık 5000 g olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresi ise ekstrakt gelmeyinceye kadar süreç takip edilmiş ve süre 210 dakika olarak sabit tutularak deneyler tamamlanmıştır. Bu sistemde elde edilen ekstraktlar, farklı basınçlara sahip seperatörlerden ayırma ile toplanmıştır. Acı tohumların 1, 2 ve 3. seperatörden toplanan ekstraktlar; AS1, AS2 ve AS3 olarak kodlanırken, acılığı giderilmiş (tatlı) tohumların seperatörlerden toplanan ekstraktları ise TS1, TS2 ve TS3 olarak kodlanmıştır. Elde edilen ekstraksiyon verimleri acı ve acılığı giderilmiş tohumlar için % nem oranları hesaplanarak kuru madde miktarları üzerinden hesaplamalar yapılmıştır.

Acı tohumlarla yapılan ekstraksiyon sonunda AS1, AS2 ve AS3'ün % verimleri sırasıyla 4.96, 1.94 ve 0.21 olarak bulunmuş, toplam % ekstraksiyon verimi %7.11 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.9). Seperatörlerdeki % ekstraksiyon verimleri AS1>AS2>AS3 şeklinde sıralanmaktadır. Bunun sebebi basınç azaldıkça CO₂'nin kademeli olarak çözünürlük gücünün düşmesi ve basınç farkına bağlı olarak ekstraktların seperatörlerde toplanmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çizelge 4.9. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının % ekstraksiyon verimleri

Seperatörler	% Ekstraksiyon Verimi
AS1	4.96
AS2	1.94
AS3	0.21
AS Toplam	7.11
TS1	4.59
TS2	2.28
TS3	1.73
TS Toplam	8.60

Acılığı giderilmiş tohumların ekstraksiyonu sonunda toplam % ekstraksiyon verimi %8,60 olarak hesaplanmıştır. TS1, TS2 ve TS3'ün % verimleri sırasıyla 4.59, 2.28 ve 1.73 olarak bulunmuştur. Seperatör % ekstraksiyon verimleri TS1>TS2>TS3 şeklinde sıralanmaktadır. Bunun sebebi de yine basınç azaldıkça CO₂'nin kademeli olarak çözünürlük gücünün düşmesi ve çözünürlüğü az olan bileşiklerin ayrılarak azalmasıdır. Farklı *Lupinus* türü tohumlarının laboratuvar ölçekli SFE sistemi ile elde edilen ürünlerinin % ekstraksiyon verimi 3.25 ve 4.50 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlarla

kıyaslandığında pilot ölçekli SFE sisteminin hem bu çalışma dahilinde yapılmış laboratuvar ölçekli çalışmalardan hem de literatürde yapılmış laboratuvar ölçekli çalışmalardan daha yüksek verim elde edildiği görülmüştür. (Buszewski ve ark., 2019; Náthia-Neves ve ark., 2025)

4.2.2. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının lupeol analizi

Lupeol biyoaktif bileşiği bitkilerde bulunan, antienflamatuvar, antioksidan antimikrobiyal antikanser özellik gösteren kalp damar ve beyin sinir sistemi üzerindeki ve yara iyileştirme çalışmalarındaki potansiyel olumlu etkilerinden dolayı çeşitli biyoteknolojik uygulama için büyük öneme sahip bir biyoaktif bileşiktir. (Geetha ve Maralakshmi, 1999; Geetha ve Varalakshmi, 2001; Sunitha ve ark., 2001; Vidya ve ark., 2002; Saleem ve ark., 2004; Saleem ve ark., 2005; Prasad ve ark., 2008; Gallo ve Sarachine, 2009; Prasad ve ark., 2009; Gupta ve ark., 2012; Kallubai ve ark., 2015; Park ve Park, 2019; Eom ve ark., 2020; Pereira Beserra ve ark., 2020; Liu ve ark., 2021; Tiwari ve ark., 2021; Vázquez ve ark., 2024) Bu özelliklerinden dolayı lupin tohumlarında olduğu bilinen lupeol bileşiğinin ekstraktlardaki miktarları tayin edilmiştir. (Buszewski ve ark., 2019; Vázquez ve ark., 2024)

Pilot sistemdeki farklı separatörlerinden toplanan acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının lupeol tayinleri HPLC-UV ile yapılmış sonuçlar Çizelge 4.10'da ve kromatogramlar Şekil 4.15 ve Şekil 4.16'da verilmiştir.

AS1, AS2 ve AS3'de bulunan lupeol miktarı ve kg kuru maddede bulunan lupeol miktarı Çizelge 4.10'de verilmiştir. Separatörlerden toplanan ekstraktların karşılaştırılmalı sonuçları Şekil 4.17'de verilmiştir. Ekstrakta bulunan lupeol miktarı AS1 ve AS2 kıyaslandığında anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Fakat AS3'de bulunan ekstrakttaki lupeol miktarı (mg lupeol/ g ekstrakt) AS1 ve AS2'den fazla ve istatistiksel olarak da anlamlı bir farka sahiptir. Fakat kuru maddedeki lupeol miktarı ise $AS1 > AS2 > AS3$ 'dür ve separatör arasında anlamlı fark bulunmaktadır (Şekil 4.18). Bunun sebebi basınç azaldıkça toplanan ekstrakt miktarının azalmasından kaynaklanmaktadır. Acılığı giderilmiş tohumların pilot sistemde farklı separatörlerle fraksiyonlanan ekstraktlarının lupeol miktar karşılaştırılması Şekil 4.19'de verilmiştir. Sonuçlar gösteriyor ki separatör 1 ve 3 kıyaslandığında mg ekstrakta bulunan lupeol miktarının anlamlı farka sahip olduğu görülmektedir. Fakat acı tohumlara benzer şekilde separatör verimleri 1'den 3'e doğru azaldığından kuru maddeden ekstrakte edilen toplam

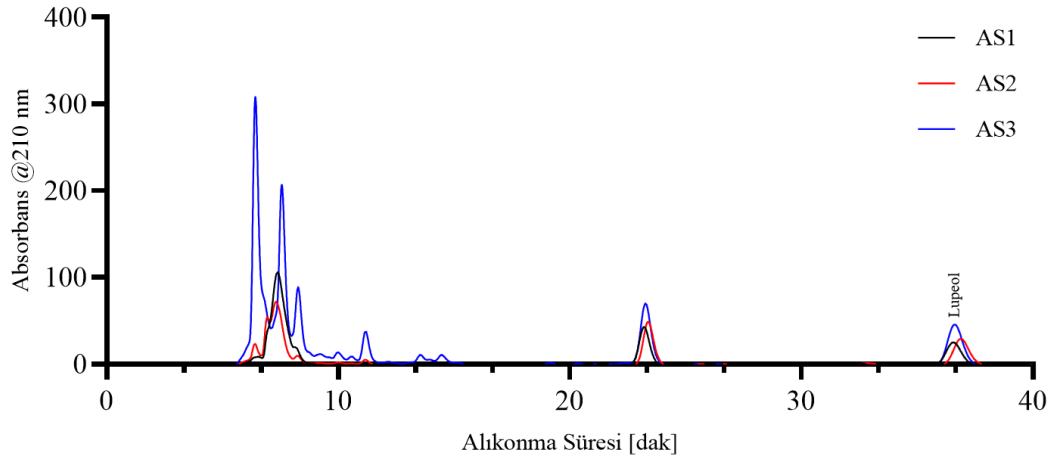
lupeol miktarı TS1'den TS3'e doğru azalmaktadır ve separatörler arasında yine anlamlı farka rastlanmıştır (Şekil 4.20).

Bunun sebebi separatörlerdeki basınçların azalmasıyla düşük çözünürlüğe sahip bileşiklerin yüksek basınçlı separatörlerde toplanmış olması ve separatörlerde elde edilen birim ekstrakttaki lupeol miktarının daha az bulunması şeklinde yorumlanabilir. Fakat bunun aksine separatörlerden elde edilen toplam ekstraktlarda bulunan toplam lupeol miktarı $S1 > S2 > S3$ şeklindedir.

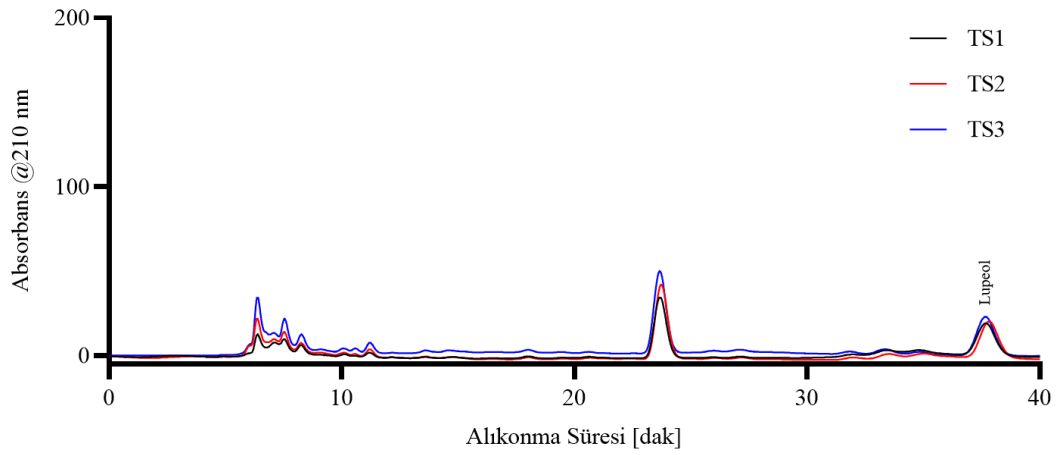
Acı ve acılığı giderilmiş tohumlardan elde edilen ekstraktlarda toplam elde edilen lupeol miktarları Çizelge 4.10'da ve karşılaştırılması Şekil 4.21'de verilmiştir. TS ve AS ekstraktlarındaki toplam lupeol miktarı arasında anlamlı bir farka rastlanmamıştır. Bu verilerden çıkarılan sonuçlar gösteriyor ki; acılığın giderilme prosesi sırasında lupeol bileşikleri tohumdan çok fazla uzaklaşmamış veya moleküler yapısı bozulmaya uğramamıştır.

Çizelge 4.10. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının lupeol miktarları

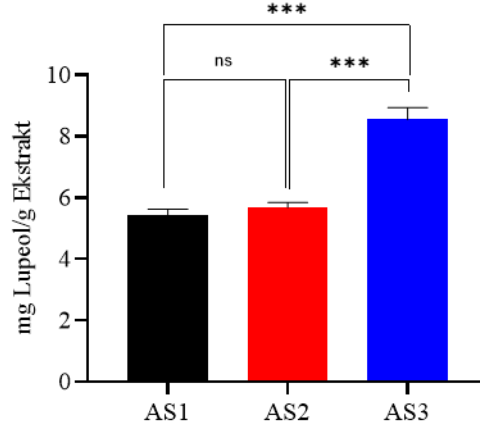
	mg Lupeol /g Ekstrakt		mg Lupeol /kg KM	
	Ort	SS	Ort	SS
AS1	5.43	0.17	269.24	8.28
AS2	5.68	0.14	110.25	2.68
AS3	8.55	0.32	17.71	0.65
AS Toplam			397.20	8.68
TS1	4.15	0.24	190.10	11.03
TS2	4.73	0.20	107.92	4.63
TS3	5.29	0.25	91.58	4.39
TS Toplam			389.60	19.73



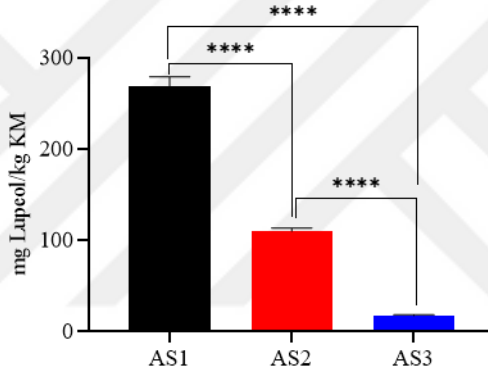
Şekil 4.15. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol analizi kromatogramları



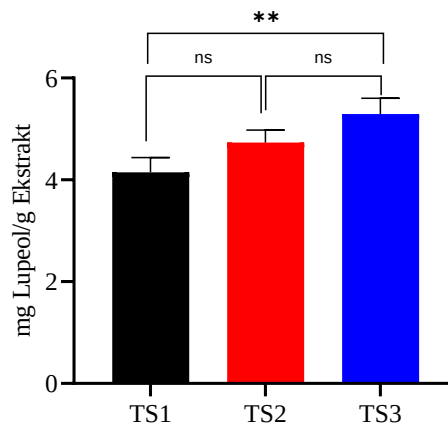
Şekil 4.16. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol analizi kromatogramları



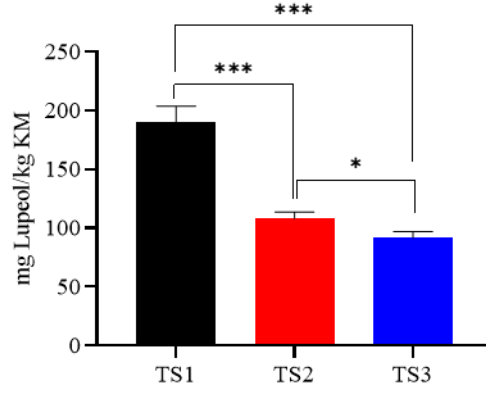
Şekil 4.17. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol miktarı karşılaştırması



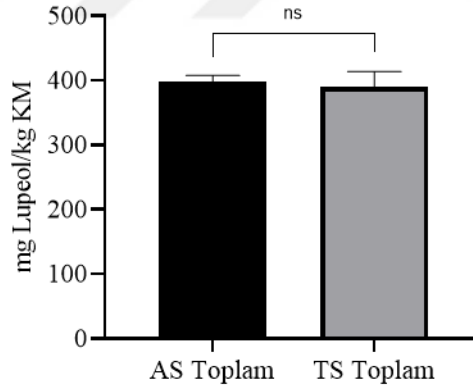
Şekil 4.18. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus L.* tohumlarının kuru maddedeki lupeol miktarı karşılaştırması



Şekil 4.19. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarındaki lupeol miktarı karşılaştırması



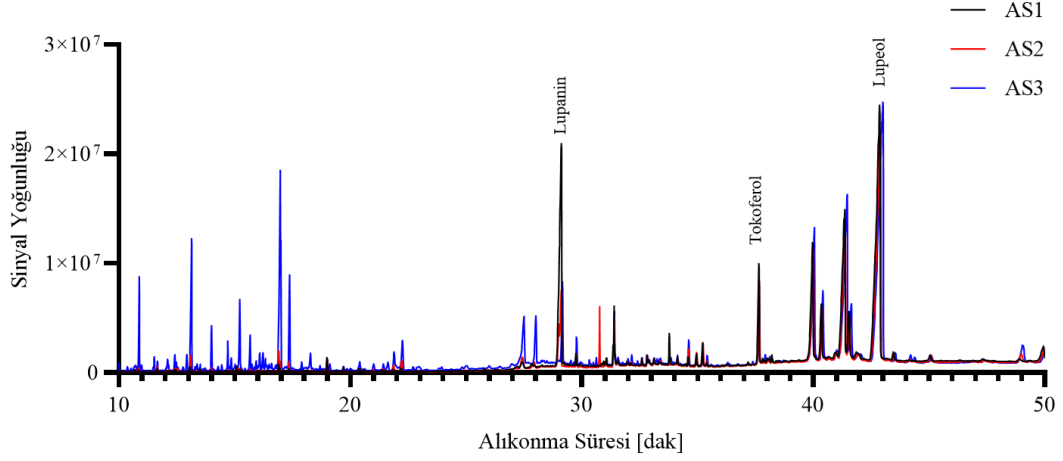
Şekil 4.20. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının kuru maddedeki lupeol miktarı karşılaştırması



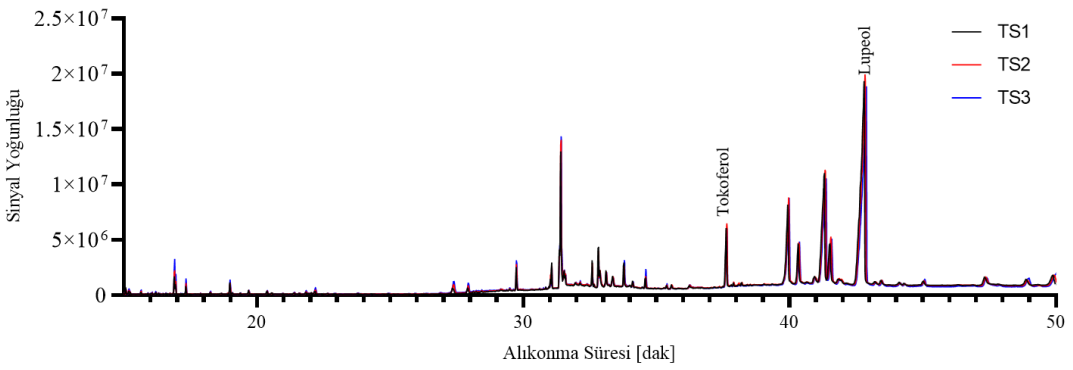
Şekil 4.21. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının kuru maddede bulunan toplam lupeol miktarı karşılaştırması

4.2.3. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının uçucu bileşen analizleri

Pilot ölçekli SFE sisteminden separatörlerden elde edilen ekstraktların uçucu bileşen analizleri yapılmış, kromatogramları Şekil 4.22 ve 4.23’de verilmiştir. Bu kromatogramların kütle spektroskopisi karşılaştırılmasıyla elde edilen bilgiler ışığında her iki tohumun farklı separatörlerden toplanan ekstraktlarının uçucu bileşen açısından yağ asitlerinin, çeşitli sterol türevlerinin tokoferol türlerinin bulunduğu sonucuna varılmıştır. Acı ve acılığı giderilmiş tohumlarının kromatogramlarının en önemli farkı alkaloid bileşiklerinden kaynaklanmaktadır. Acı tohumlarının analizlerinde baskın alkaloid türü olarak lupanin uçucu bileşen yüzdesi AS1’de 16.32 ± 0.19 , AS2’de 6.12 ± 0.2 ve AS3’de 2.28 ± 0.19 bulunmuştur. Aynı zamanda hidroksilupanin türü olduğu sonucuna vardığımız bazı minör alkaloid türleri de bulunmaktadır. Lupanin; *Lupinus albus* tohumlarında baskın alkaloid türlerinden biri olduğu aynı zamanda hidroksilupanin türünün de bulunduğu bilinmektedir.(Romeo ve ark., 2018) Farklı separatörlerde toplanan acı tohum ekstraktlarının her birinde lupanin türü bulunmaktadır. Acılığı giderilmiş tohumlarda ise alkaloid türlerinin uzaklaştığı tespit edilmiş ve lupanin bileşiğine rastlanmamıştır. Bu durum acılığın giderilme işlemi sırasında lupanin ve diğer alkaloid türlerinin tohumlardan uzaklaştığını göstermektedir. Lupanin ve diğer kinolizidin alkaloidleri özellikle baklagil familyasında bulunan alkaloid türleri olarak bilinmektedir. Genellikle direkt tüketim açısından toksik etki oluşturma potansiyelleri olsa da bu alkaloidlerin nöroprotektif, antidiyabetik, antimikrobiyal ve antifungal etki gösterme potansiyeli bulunan biyoaktif bileşiklerden olduğu bildirilmiştir. (Wiedemann ve ark., 2015; Gavilan ve ark., 2019; Cely-Veloza ve ark., 2022) Bundan dolayı acı tohum ekstraktlarının ve acılığın giderilme işlemi sonrası elde edilen alkaloidlerin çok çeşitli uygulama alanları bulunmaktadır.



Şekil 4.22. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki uçucu bileşen analizi kromatogramları



Şekil 4.23. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığını giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki uçucu bileşen analizi kromatogramları

4.2.4. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının tokoferol ve tokotrienol analizleri

Tokoferol ve tokotrienol, antioksidan, anti inflamatuvar özellikleri ve nöroprotektif etkilerinden dolayı önemli bileşiklerdendir. Aynı zamanda cilt ve yağ dokusunda bulunmaları çeşitli biyoteknolojik uygulama için önemli bir bileşiktir. Bundan dolayı ekstraktların tokoferol-tokotrienol miktar analizleri hem ekstraktın potansiyel kullanım alanları hem de besin değeri için önemli bir parametredir. (Brigelius-Flohé ve Traber, 1999; Saldeen ve ark., 1999; Bradford ve ark., 2003; Sen ve ark., 2004; Ahmad ve ark., 2005; Saldeen ve Saldeen, 2005; Devaraj ve ark., 2007; Clarke ve ark., 2008; Maruoka ve ark., 2008; Peh ve ark., 2016; Kopańska ve ark., 2022)

Acı ve acılığı giderilmiş tohumların pilot ölçekli SFE cihazı ile ekstraksiyon sonucunda elde edilen ekstraktların tokoferol ve tokotrienol miktarları tayin edilmiş ve kromatogramları Şekil 4.24 ve Şekil 4.25’de verilmiştir. Standart analizleri için bilinen konsantrasyonlarda tokoferol ve tokotrienol bulunan karışımlar HPLC-FLD ile analiz edilmiş ve pik alanları kullanılarak yazılım tarafından kalibrasyon grafikleri oluşturulmuştur. Elde edilen kalibrasyon grafikleri ve R^2 değerleri Ek 2-6’da verilmiştir.

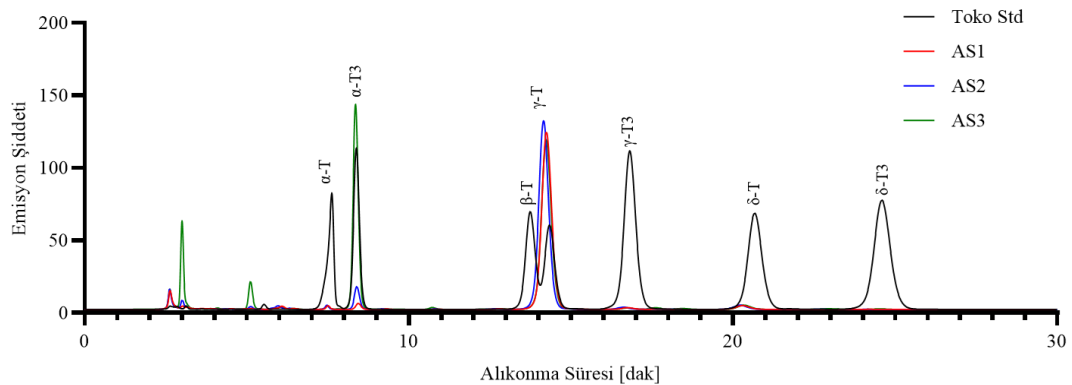
Acı ve acılığı giderilmiş tohumların ekstraktlarının analizleri hem kg ekstraktta bulunan tokoferol ve tokotrienol madde miktarı hem de kg kuru maddeden ekstrakte edilen mg tokol madde miktarları hesaplanmış ve sonuçlar Çizelge 4.11’de verilmiştir. Acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının ikisinde de tüm separatörlerden toplanan ekstraktların hepsinde en yüksek oranda görülen tür γ -tokoferol’dür. γ -tokoferol’ün kg ekstrakttaki miktarı ve istatistiksel olarak aralarındaki fark analiz edilmiştir. Ekstrakttaki mg γ -tokoferol miktarı açısından AS1 ve AS2 arasında anlamlı bir fark görülmezken AS2-AS3 ve AS1-AS3 arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir (Şekil 4.26). Ekstrakta bulunan γ -tokoferol en fazla AS3’de görülmüştür. Bunun sebebi düşük polariteye sahip olan tokol cinsinin karbondioksit çözme gücü azalsa dahi 3. separatöre kadar karbondioksit ile taşınmış, fakat diğer çözünürlüğü az olan türler separatör 1 ve 2’de toplanırken, 3. separatörden toplanan ekstrakt γ -tokoferol açısından daha yoğun bulunması sağlanmıştır.

Fakat kuru maddeden ekstrakte edilen toplam γ -tokoferol miktarı hesaplandığında AS1 diğerlerinden daha fazla γ -tokoferol bulundurmaktadır (Şekil 4.27). Bu farkın sebebi ekstraksiyon verimlerinin separatörde 1’den 3’e doğru azalmasından kaynaklanmaktadır. Sonuç olarak γ -tokoferol yoğunluğu en yüksek AS3’ de görülmesine rağmen toplamda en çok AS1’ de γ -tokoferol bulunmaktadır.

Tokoferol ve tokotrienol analizleri TS1, TS2 ve TS3 içinde gerçekleştirilmiştir. Ekstraktaki mg γ -Tokoferol miktarı açısından TS1 en düşük orana sahiptir ve TS2 ve TS3 ile kıyaslandığında anlamlı bir fark görülmüştür. Fakat TS2 ve TS3 arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 4.28). Fakat toplamda elde edilen γ -tokoferol miktarı yüksek % ekstraksiyon veriminden dolayı TS1’de TS2 ve TS3’e kıyasla daha yüksektir. Dolayısıyla TS1’de birim ekstrakt başına daha düşük γ -tokoferol bulunurken toplam γ -tokoferol sıralaması TS1>TS2>TS3 şeklindedir. (Şekil 4.29)

Toplam tokol madde açısından incelendiğinde acılığı giderilmiş tohumdan ekstrakte edilen toplam tokol madde miktarı 137.180 ± 3.229 mg toplam tokol madde/kg KM ve acı tohumdan ekstrakte edilen miktar 126.555 ± 2.959 mg toplam tokol madde/kg KM olarak bulunmuştur. Bu değerlere göre acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarından toplamda elde edilen tokol madde miktarı acı tohumlara kıyasla fazladır (Şekil 4.30). Bu da acılığın giderilme işlemi sırasında büyük bir kayba uğramadığı sonucuna varılabilir. Bunun sebebi lipofilik bir özellik gösteren tokoferollerin suda çözünmediğinden dolayı tohumlardan uzaklaşmamış olması olarak açıklanabilir (Estivi ve ark., 2022). Bunun yanında acılığın giderilme işleminin tokoferol ekstraksiyon verimi açısından olumlu bir etki oluşturduğu sonucu çıkarılmaktadır.

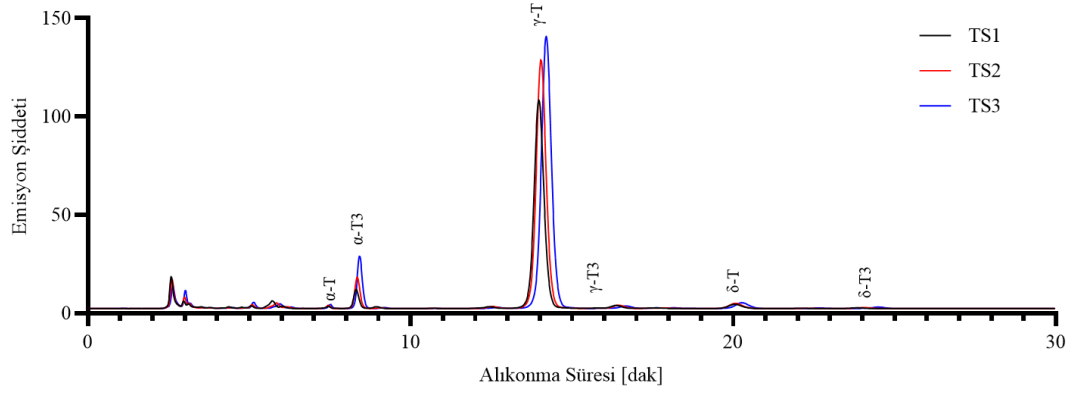
Literatürde *Lupinus albus* tohumları üzerine yapılan çalışmalarda tokoferol miktar analizleri yapılmış γ -Tokoferol bu çalışmaya paralel olarak en baskın tür olarak bulunmuştur (Frias ve ark., 2005; Estivi ve ark., 2022).



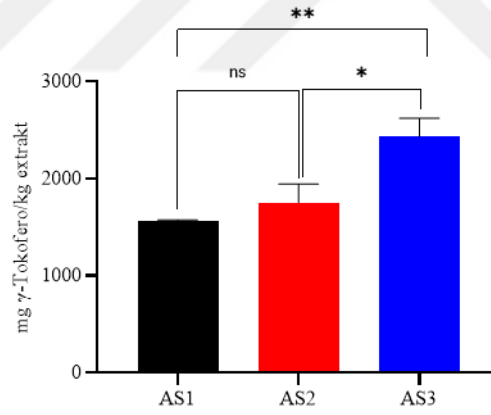
Şekil 4.24. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki tokoferol-tokotrienol analizi kromatogramları

Çizelge 4.11. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının tokoferol-tokotrienol madde miktarları

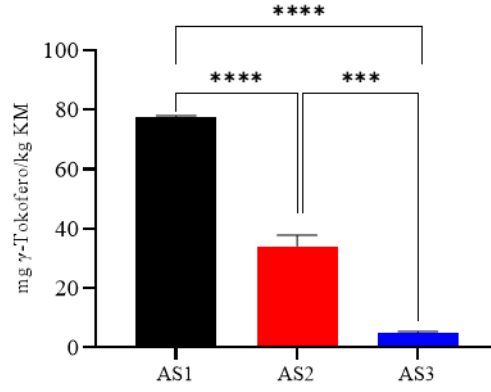
	α-Tokoferol				α Tokotrienol				γ-Tokoferol			
	mg tokol/kg ekstrakt		mg tokol/kg KM		mg tokol/kg ekstrakt		mg tokol/kg KM		mg tokol/kg ekstrakt		mg tokol/kg KM	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
AS1	15.665	0.363	0.777	0.018	22.437	0.509	1.113	0.025	1562.419	8.719	77.495	0.432
AS2	17.347	1.770	0.337	0.034	97.902	10.230	1.901	0.199	1754.836	156.912	34.074	3.047
AS3	23.046	2.683	0.048	0.006	1519.545	84.836	3.149	0.176	2434.881	154.142	5.045	0.319
TS1	6.854	0.427	0.314	0.020	53.384	1.337	2.448	0.061	1272.501	28.429	58.359	1.304
TS2	9.569	0.358	0.218	0.008	94.888	8.762	2.165	0.200	1625.260	138.166	37.081	3.152
TS3	12.111	0.302	0.210	0.005	158.029	1.220	2.734	0.021	1773.341	16.242	30.681	0.281
	γ-Tokotrienol				δ-Tokoferol				δ-Tokotrienol			
	mg tokol/kg ekstrakt		mg tokol/kg KM		mg tokol/kg ekstrakt		mg tokol/kg KM		mg tokol/kg ekstrakt		mg tokol/kg KM	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
AS1	5.990	0.413	0.297	0.020	26.998	0.655	1.339	0.032	0.688	0.041	0.034	0.002
AS2	8.710	0.203	0.169	0.004	31.749	2.933	0.616	0.057	1.301	0.142	0.025	0.003
AS3	11.963	0.111	0.025	0.001	48.726	4.965	0.101	0.010	4.400	0.396	0.009	0.001
TS1	7.077	0.692	0.325	0.032	20.482	0.398	0.939	0.018	1.984	0.132	0.091	0.006
TS2	7.008	0.453	0.160	0.010	27.449	2.531	0.626	0.058	3.695	0.315	0.084	0.007
TS3	7.286	0.052	0.126	0.001	30.162	0.543	0.522	0.009	5.535	0.229	0.096	0.004



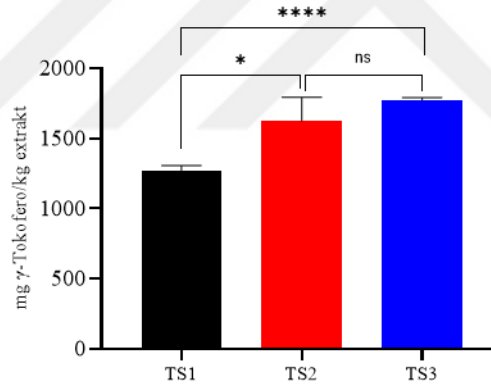
Şekil 4.25. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki tokoferol-tokotrienol analizi kromatogramları



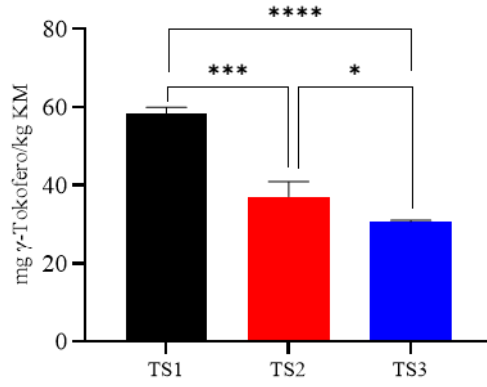
Şekil 4.26. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki γ-Tokoferol miktarı karşılaştırması



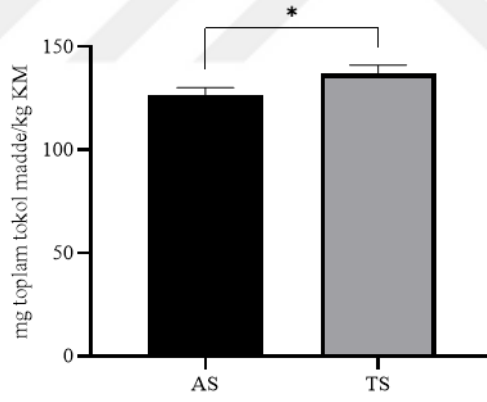
Şekil 4.27. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus* L. tohumlarının kuru maddeki γ -Tokoferol miktarı karşılaştırması



Şekil 4.28. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarındaki γ -Tokoferol miktarı karşılaştırması



Şekil 4.29. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının kuru maddeki γ -Tokoferol miktarı karşılaştırması



Şekil 4.30. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının kuru maddeki toplam tokol madde miktarı

4.2.5 Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının yağ asidi analizi

Acı ve acılığı giderilmiş tohumların pilot ölçekli SFE cihazı ekstraksiyonu sonrası farklı separatörden toplanan ekstraktların yağ asit kompozisyon analizleri yapılmış kromatogramları Şekil 4.31 ve Şekil 4.32’de ve ayrıntılı olarak yağ asit kompozisyon içerikleri Çizelge 4.12’de verilmiştir. Bu analizlerin sonunda AS ekstraktlarında oleik asit %53.87-%56.36 oranıyla en çok bulunan tür olmuştur. Linoleik asit ise %18.50-%18.72 oranıyla ikinci en çok bulunan yağ asididir. Palmitik asit (%7.13-8.54), linolenik asit (7.69-8.21) bulunma oranı yüksek yağ asitleridir.

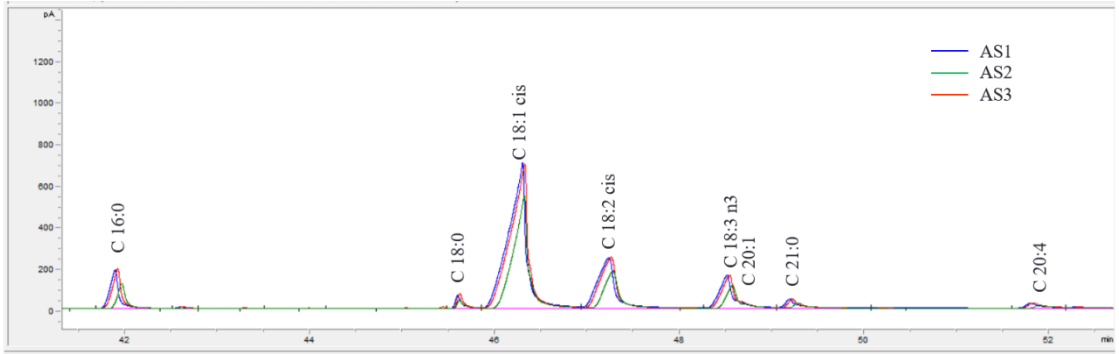
Acılığı giderilmiş tohumların yağ asit içerikleri ise %53.63-%57.47 oleik asit oranıyla en çok bulunan tür olmuştur. Linoleik asit ise %17.88-%18.63 oranıyla ikinci en çok bulunan yağ asididir. Linolenik asit (%7.05-%7.87) ve palmitik asitte (%8.77-%9.86) yüksek oranda bulunan yağ asitlerindendir. Acı ve acılığı giderilmiş tohumların sonuçları karşılaştırıldığında ise yağ asitlerinin bulunma sıralaması birbirlerine paralellik göstermektedir. Bu sonuçlardan çıkarılabileceği gibi acılığın giderilmesi prosesinde yağ asitlerinin etkileneceği bir adım bulunmamıştır. Benzer şekilde farklı separatörlerden elde edilen ekstraktların yağ asit oranları da birbirlerine benzerdir. Elde edilen sonuçlar ise *Lupinus Albus* ile literatürde bulunan yapılmış çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Uzun ve ark., 2007; Yorgancılar ve Bilgiçli, 2014).

4.2.6. Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının trigliserit kompozisyon analizi

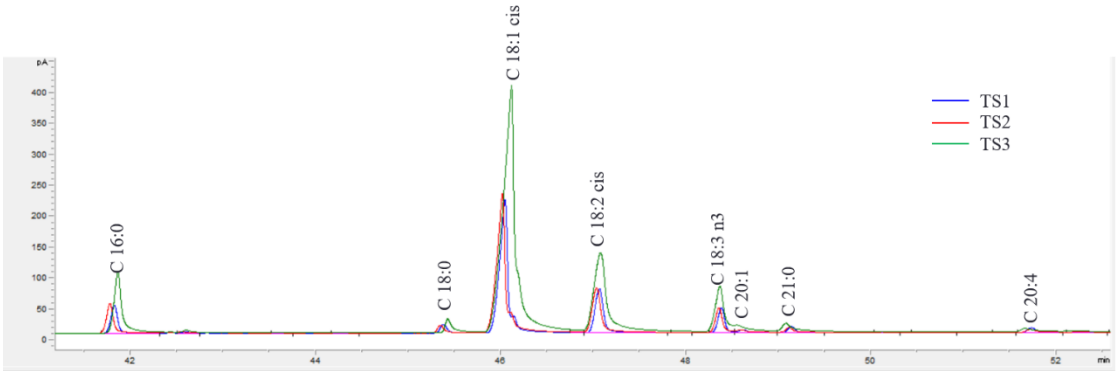
Acı ve acılığı giderilmiş tohumların trigliserit kompozisyon analizleri HPLC-UV sistemi ile gerçekleştirilmiştir ve kromatogramlar Şekil 4.33 ve Şekil 4.34’de verilmiştir. Standart olarak rafine soya yağı kullanılarak trigliseritlerin alıkonma süreleri tespit edilmiştir.

Pilot ölçekli cihazlarda farklı separatörlerden toplanan acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının trigliserit kompozisyon analiz sonuçları Çizelge 4.13’de gösterilmektedir. Tabloda görüldüğü gibi trigliserit kompozisyonda yoğun olarak PLL, OOL, OLLn ve OOO bulunmaktadır ve ekstraktlar içerisinde bulunan en yoğun trigliserit türleridir. Oleik asidin, linoleik ve palmitik asidin yağ asitlerinde de yüksek oranda bulunması bu sonuçları destekler niteliktedir.

Bunların yanı sıra POL+StLL, PPL StOL, OLL, LLnLn, LLLn, LLL, OLLn türleri de bulunmaktadır.



Şekil 4.31. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının yağ asidi kompozisyon analizi kromatogramları



Şekil 4.32. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acıgı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının yağ asidi kompozisyon analizi kromatogramları

Çizelge 4.12. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarının %yağ asidi kompozisyonları

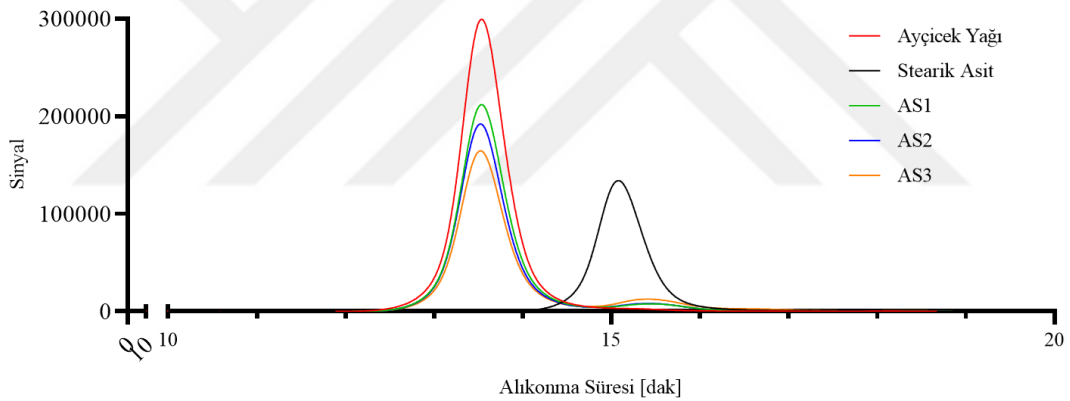
	Yağ Asidi Türleri	AS1		AS2		AS3		TS1		TS2		TS3	
		Ortalama	SS	Ortalama	SS	Ortalama	SS	Ortalama	SS	Ortalama	SS	Ortalama	SS
C16:0	Palmitik Asit	7.13	0.06	7.27	0.27	8.54	0.92	8.77	0.59	9.86	0.40	9.24	0.59
C18:0	Stearik Asit	1.82	0.13	1.94	0.20	2.27	0.10	2.85	0.08	2.23	0.26	1.72	0.27
C18:1 cis	Oleik Asit	53.87	0.26	56.36	1.94	54.87	0.48	53.63	1.41	56.84	0.72	57.47	1.53
C18:2 cis	Linoleik Asit	18.61	0.06	18.50	0.12	18.72	0.11	18.25	0.53	17.88	0.12	18.63	0.55
C18:3 n3	Linolenik Asit	7.83	0.10	7.69	0.10	8.21	0.12	7.87	0.33	7.55	0.17	7.05	0.21
C20:1	Ekosaniok Asit	2.08	0.05	1.88	0.17	1.46	0.41	1.59	0.11	1.37	0.13	1.87	0.18
C21:0	Heneikosanoik asit	3.14	0.12	2.53	0.59	1.76	0.27	2.38	0.08	1.71	0.21	1.99	0.53
C20:4	Araşidonik asit	1.65	0.10	1.57	0.30	0.98	0.30	2.38	0.14	1.30	0.24	1.02	0.12
Diğer		3.88		2.27		3.19		2.28		1.26		1.00	

Çizelge 4.13. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının % trigliserit kompozisyonları

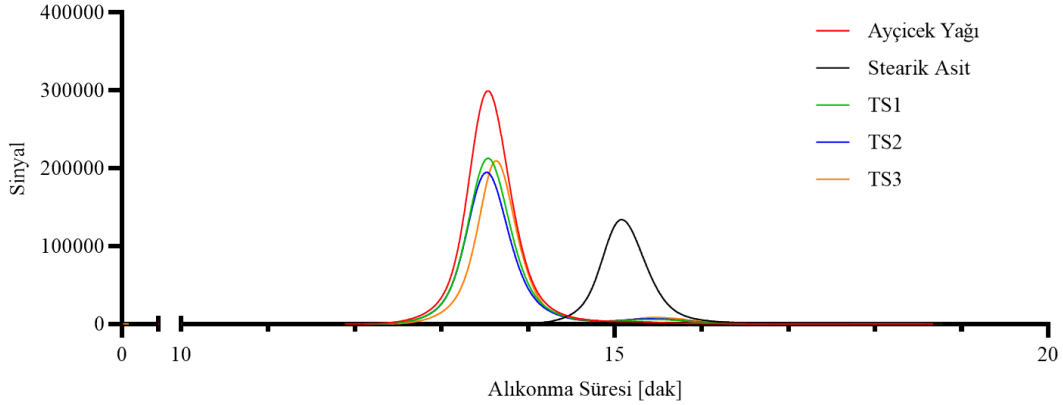
Trigliserit Yapıları	AS1		AS2		AS3		TS1		TS2		TS3	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
LLnLn	3.605	0.051	3.536	0.112	3.645	0.070	3.906	0.080	3.769	0.016	3.432	0.015
LLLn	3.754	0.053	3.601	0.035	3.399	0.039	3.027	0.018	3.129	0.014	3.453	0.021
LLL	1.515	0.032	1.506	0.003	1.705	0.018	1.705	0.008	1.801	0.003	1.319	0.026
OLLn	14.512	0.250	13.696	0.089	13.927	0.148	13.705	0.134	14.038	0.065	14.096	0.026
PLLn	3.562	0.329	2.852	0.009	3.544	0.043	4.568	0.066	4.695	0.089	4.809	0.016
OLL	8.050	0.098	8.173	0.017	8.458	0.100	7.986	0.007	8.151	0.007	6.994	0.066
PLL	20.072	0.269	19.894	0.147	19.896	0.223	19.248	0.092	19.436	0.033	19.289	0.251
OOL	17.727	0.221	18.245	0.093	17.945	0.197	17.833	0.058	17.769	0.015	16.803	0.070
POL+StLL	6.462	0.082	6.190	0.039	6.726	0.070	7,187	0.016	7.403	0.019	8.575	0.065
PPL	2.997	0.053	3.283	0.015	3.266	0.028	3.611	0.004	3.468	0.008	3.768	0.107
OOO	9.221	0.004	9.888	0.111	9.546	0.113	9.455	0.049	9.072	0.045	8.527	0.037
StOL	8.523	0.217	9.137	0.323	7.943	0.828	7.770	0.359	7.267	0.273	8.934	0.047

4.2.7 Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının gliserit tür ve FFA analizleri

Elde edilen ekstraktların FFA ve gliserit tür analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu metotta mini koruyucu kolon ve arkasına bağlanmış analitik boyut eleme kolonu ile analiz yapılmıştır. Bu analiz sonunda trigliseritler moleküler yapılarının daha büyük olmasından dolayı kolonda daha az tutunmuşlar ve en hızlı kolonu onlar terk ederken digliserit, monogliserit ve FFA şeklinde bir alıkonma zaman sıralaması vardır. Bu analizde ayçiçek yağı trigliserit alıkonma zamanını belirlemede standart olarak kullanılırken, stearik asitte FFA için standart olarak kullanılmıştır. AS1, AS2 ve AS3 örneklerinde fazla miktarda trigliserit ve çok az miktarda FFA olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.35). Aynı şekilde hazırlanan TS1, TS2 ve TS3 örneklerinde de trigliserit miktarının çok fazla, FFA miktarının ise çok az bulunduğu görülmektedir (Şekil 4.36).



Şekil 4.35. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının gliserit tür ve FFA analizleri kromatogramları



Şekil 4.36. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş *Lupinus Albus L.* tohumlarının ekstraktlarının gliserit tür ve FFA analizleri kromatogramları

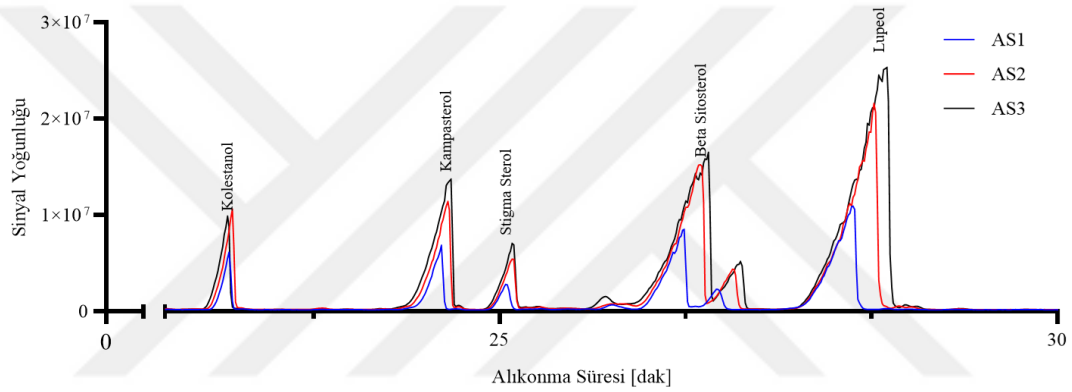
4.2.8 Pilot Ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının sterol analizleri

Fitosteroller bitki kökenli sterollerdir ve bu steroller bitkisel yağlarda bulunmaktadır. Bu sterollerin en yaygın olanları β -sitosterol, kampesterol ve stigmasteroldür. Fitosterollerin kolesterol düşürücü etkisinin bulunması, kalp damar sağlığı üzerindeki olumlu etkileri, antikanser özellikleri, antienflamatuvar ve antioksidan özelliklerinden dolayı bitkilerden elde edilen önemli bileşiklerden biridir (Bouic ve Lamprecht, 1999; Plat ve Mensink, 2002; Klingberg ve ark., 2008; Woyengo ve ark., 2009; Aldini ve ark., 2014; Gylling ve ark., 2014; Huang ve ark., 2017; Olatunya ve ark., 2019; Wang ve ark., 2024). Özellikle moleküler yapılarının süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile eldesinin mümkün olmasından dolayı (Buszewski ve ark., 2019) *Lupinus Albus L.* tohumu ekstraktlarındaki analizleri ekstraktlarının içerikleri için önemli bilgi vermektedir.

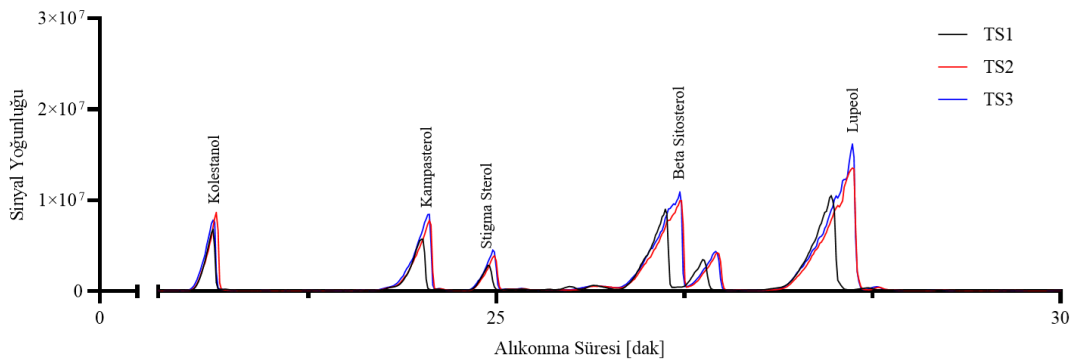
GC-MS analizlerinde tespit edilen ve SFE ekstraksiyonunda polaritelerinin süperkritik akışkan ile ekstrakte edilmeye uygun olan çeşitli sterol türevleri görülmüştür (Buszewski ve ark., 2019). Sterollerin analizleri için uygun numune hazırlama teknikleri kullanılmış, GC-MS ile analiz edilmiş sonuçlar Çizelge 4.14’de belirtilmiş, Şekil 4.37 ve Şekil 4.38’de kromatogramları verilmiştir. Hazırlanan numunelere iç standart olarak bilinen miktarda α -kolestanol eklenerek onun pik alanı kullanılarak diğer sterol türleri miktarları hesaplanmıştır. Elde edilen kromatogramda MS kütüphane karşılaştırmalarında ekstraktın içerisinde kampasterol, stigmasterol, β -sitosterol türleri bulunmuştur. Bu türler diğer *lupinus* türleri içerisinde ve *lupinus albus* türleri içerisinde de bulunan sterol türevleridir (Buszewski ve ark., 2019; Al-Amrousi ve ark., 2022).

Çizelge 4.14. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının sterol miktarı

Sterol Türü	AS1 (mg/kg ekstrakt)	AS2 (mg/kg ekstrakt)	AS3 (mg/kg ekstrakt)
Kampasterol	3313.8±122.3	3479.0±28.5	5306.4±121.2
Stigmasterol	1147.3±35.2	1218.4±4.9	1695.4±26.8
Beta.-Sitosterol	6450.6±229.4	7314.7±12.8	10322.7±217.5
	TS1 (mg/kg ekstrakt)	TS2 (mg/kg ekstrakt)	TS3 (mg/kg ekstrakt)
Kampasterol	2501.3±16.5	2633.5±15.5	3005.9±152.6
Stigmasterol	922.4±10.4	956.6±17.5	1104.9±71.9
Beta.-Sitosterol	5276.6±14.9	5581.0±42.7	6103.2±353.7



Şekil 4.37. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının sterol analiz kromatogramı



Şekil 4.38. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının sterol analiz kromatogramı

4.2.9 Pilot ölçekli SFE sistemlerinden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş tohum ekstraktlarının antioksidan kapasitesini belirleme

Ekstraktların serbest radikal giderim aktivitelerini belirlemek için DPPH serbest radikali kullanılmış ve farklı konsantrasyonlarda acı ve acılığı giderilmiş tohumların farklı separatörlerden toplanan ekstraktlarının çözeltiler hazırlanarak üzerlerine DPPH çözeltisi ilave edilmiş ve elde edilen sonuçlar ile serbest radikal giderim aktivitesi hesaplanmıştır.

Serbest radikal giderim aktivitesi IC50 değerleri mg troloks Eq/g ekstrakt ve mg Troloks Eq./kg KM olarak hesaplanmıştır ve Çizelge 4.15’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar gösteriyor ki separatör basınçlarının düşmesiyle elde edilen ekstraktın birim miktarının antioksidan kapasitesi yükselmektedir. Fakat kuru maddenin üzerinden hesaplamaya dönüştürülünce separatörlerin verimleri 1’den 3’e gittikçe azaldığı için toplam antioksidan aktivite 1’den 3’e doğru azalmaktadır. Bu durum lupeol madde miktarı ve tokoferol madde miktarı içinde paralellik göstermektedir. Dolayısıyla hidrofobik antioksidan moleküllerden olan tokoferol ve lupeolün bu dağılım üzerinde etkili olduğu yorumu yapılabilir. Literatürde bulunan *lupinus albus* metanol-su ekstraksiyonlarının elde edilen farklı ekstraktların DPPH radikali ile antioksidan kapasitesi ölçümleri sonucunda 0.26-0.62 mmol TE/g ekstrakt ve 0.053-0.23 mmol TE/g tohum KM olarak hesaplanmıştır. (Karamaç ve ark., 2018). Başka bir çalışmada ise 3.5-6.78 μ M TE/g KM ve 0.88-1.68 mg TE/g KM olarak hesaplanmıştır. (Siger ve ark., 2012). Bu değerler bu çalışmada elde edilen verilerden yüksek olsa da bu çalışmalarda metanol ve su gibi polaritesi yüksek olan solventlerle polaritesi yüksek olan çeşitli antioksidan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu sağlanmış olmaktadır. Fenolik bileşikler başta olmak üzere bu ekstraktların antioksidan özellik gösterecek biyoaktif bileşikler yönünden daha zengin oldukları için yüksek antioksidan özellik göstermeleri beklenendir.

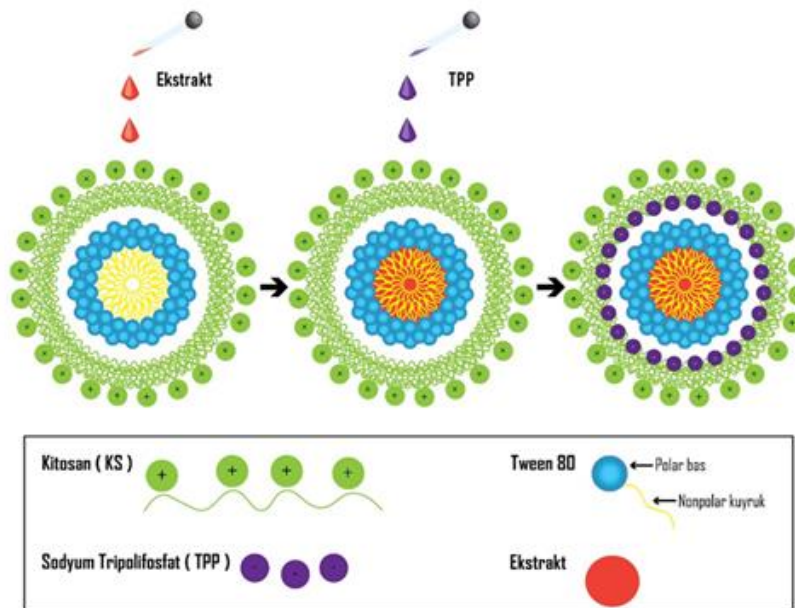
Çizelge 4.15. Pilot ölçekli SFE sisteminden elde edilmiş acı ve acılığı giderilmiş *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraktlarının antioksidan aktivitesi

	IC50 (mg/mL)		mg troloks/g ekstrakt		mg troloks/kg KM	
	Ort	SS	Ort	SS	Ort	SS
AS1	14.74	0.50	1.51	0.05	75.03	2.61
AS2	13.82	0.21	1.61	0.02	31.31	0.48
AS3	5.75	0.08	3.87	0.05	8.03	0.11
TS1	18.73	0.42	1.19	0.03	54.55	1.20
TS2	13.74	0.24	1.62	0.03	36.98	0.65
TS3	11.07	0.30	2.01	0.05	34.84	0.92

4.3 *Lupinus Albus* L. Tohum Ekstraktlarının Kitosan Nanoparçacıklar ile Kapsülasyonu

Elde edilen ekstraktların çeşitli çevresel koşullardan koruyarak stabilitesini daha uzun süre korumasını sağlamak, sulu ortamlarda dağılımını arttırmak, farmasötik etkisini arttırmak ve kontrollü salım sistemi elde etmek amacıyla nano-kapsülasyon sistemleri sıklıkla kullanılmaktadır (Mohammed ve ark., 2017; Abdelkader ve ark., 2018; Ranjbar ve Yousefi, 2018; Wu ve ark., 2018). Elde edilen *Lupinus albus* tohumlarının içeriğinde bulunan lupeol, çeşitli tokol maddeler, steroller, yağ ve yağ asitlerinin gösterdiği antioksidan kapasitesinden dolayı yara iyileşmesi çalışmalarında kullanılabilecek potansiyel bir bitkisel ekstrakt olarak kullanımı mümkün olabilmektedir (Trombino ve ark., 2022). Bu amaçla elde edilen ekstraktların kapsülasyonu için yara iyileştirme çalışmalarında sıklıkla kullanılan, antibakteriyel ve antioksidan özellik gösteren, biyobozunur, biyouyumlu ve toksik olmayan özelliklerinden dolayı kitosan seçilmiştir (Mohammed ve ark., 2017; Ranjbar ve Yousefi, 2018; Wu ve ark., 2018; Ehterami ve ark., 2019; Nah ve Jeong, 2021; Trombino ve ark., 2022).

Genellikle hidrofobik moleküler yapıları bulunan biyoaktif bileşenlerin kapsülasyonu hedeflendiği için emülsiyon-iyonik jelleşme metodu seçilmiştir. Metodun görsel anlatımı Şekil 4.39 'da gösterilmiştir.



Şekil 4.39. Emülsiyon-iyonik jelleşme metodu ile kitosan nanoparçacıkların sentezinin gösterimi

4.3.1. Boş kitosan nanoparçacıkların sentez parametrelerinin optimizasyonu

İlk olarak optimum kitosan konsantrasyonunu belirlemek amacıyla; %1 asetik asit içerisinde farklı konsantrasyonlarda kitosan çözeltileri ((%0.1-0.5 (a/h)) hazırlanmış ve çeşitli Tw80 ve TPP oranlarıyla denemeler yapılmıştır. %0.2 üzerindeki kitosan çözeltilerinde sentez öncesi ve sırasında jelleşmeler görülmüştür. Literatür çalışmalarında görülmüştür ki kitosan konsantrasyonunun artması parçacık boyutunun artmasına ve agregasyona sebep olabilmektedir.(Shapi'i ve ark., 2019; Sorasitthiyanukarn ve ark., 2019). Dolayısıyla %0.2 kitosan çözeltisi ile sentez optimizasyonlarına devam edilmiştir. Daha sonra TPP:KS oranını belirlemek için Çizelge 4.16'da verilen koşullarda nanoparçacıklar sentezlenmiş, nanoparçacık boyutu DLS ile analiz edilmiştir. Literatürden elde edilen bilgiler ışığında TPP:KS oranının artması ile parçacık boyutunun küçüldüğü bilinmektedir(Hasheminejad ve ark., 2019; Gutiérrez-Ruiz ve ark., 2024). Benzer bir sonuç bu çalışmada da elde edilmiştir. 1:5 ve 1:3.5 TPP:KS oranında PDI değerlerinin yüksek olması yüksek aglomerasyon görünmesi ve hidrodinamik boyutunun daha yüksek olmasından dolayı bu oranların uygun olmadığına karar verilmiştir. 1:1 ve 1:2 TPP:KS oranında elde edilen nanoparçacıkların boyutları birbirlerine yakındır ve ilerleyen çalışmalarda TPP:KS 1:1 oranıyla devam edilmiştir. Yapılan çalışmalar da Tw80 konsantrasyonu ile parçacık boyutu Tw80'in arayüz gerilmesini azalttığından dolayı daha küçük parçacık oluşumuna neden olduğu belirtilmiştir (Nathiya ve ark., 2014; Sorasitthiyanukarn ve ark., 2019). Fakat Tw80 oranını belirlemek için boyut kısas alınmamış, ilerleyen çalışmalarla % yükleme kapasitesi değerlerine göre belirlenmiştir.

Çizelge 4.16. Tw80 konsantrasyonu, TPP: KS oranının parçacık boyutu üzerindeki etkisi

Tw 80 konsantrasyon (%a/h)	TPP:KS (a:a)	Zeta Potansiyel Boyutu (nm)	PDI	İntesite Dağılımı (nm)	Sayısal Dağılım (nm)
%3	1:1	176.63±0.92	0.12±0.02	204.05±4.98	134.25±6.89
	1:2	385.50±3.67	0.19±0.02	380.97±3.32	331.03±3.15
	1:3.5	442.10±8.17	0.41±0.02	351.67±12.33	308.23±7.13
	1:5	939.60±32.32	0.59±0.05	526.50±34.70	516.97±34.27
%2	1:1	288.73±2.14	0.37±0.02	195.80±4.58	175.27±5.59
	1:2	325.37±3.15	0.17±0.01	331.63±2.85	290.6±6.94
	1:3.5	1003.6±129.85	0.78±0.05	271.03±13.07	267.3±12.44
	1:5	612.63±28.19	0.41±0.11	447.53±32.43	427.77±27.84
%1	1:1	239.33±1.43	0.27±0.02	269.63±20.38	140.45±3.95
	1:2	226.97±1.76	0.22±0.01	281.33±12.12	131.83±7.14
	1:3.5	946.40±21.55	0.55±0.03	554.67±3.99	543.20±3.53
	1:5	554.8±3.15	0.34±0.02	471.17±9.53	411.77±17.52

4.3.2. Ekstraktların kitosan nanoparçacıklar ile kapsülasyon parametrelerinin optimizasyonu

TPP:KS oranının 1:1 olarak seçildiği sistemde Tw80 oranlarının yükleme kapasitesi üzerindeki etkisi dikkate alınarak çalışmalara devam edilmiştir. Elde edilen kapsüllerin yükleme kapasitesi lupeol miktarı üzerinden analiz edilmiştir. Standart çözelti olarak TS3 ekstraktlarının metanol çözeltileri kullanılmış ve kapsüllenen ekstraktlardaki lupeol miktarı üzerinde %yükleme kapasitesi hesaplanmıştır.

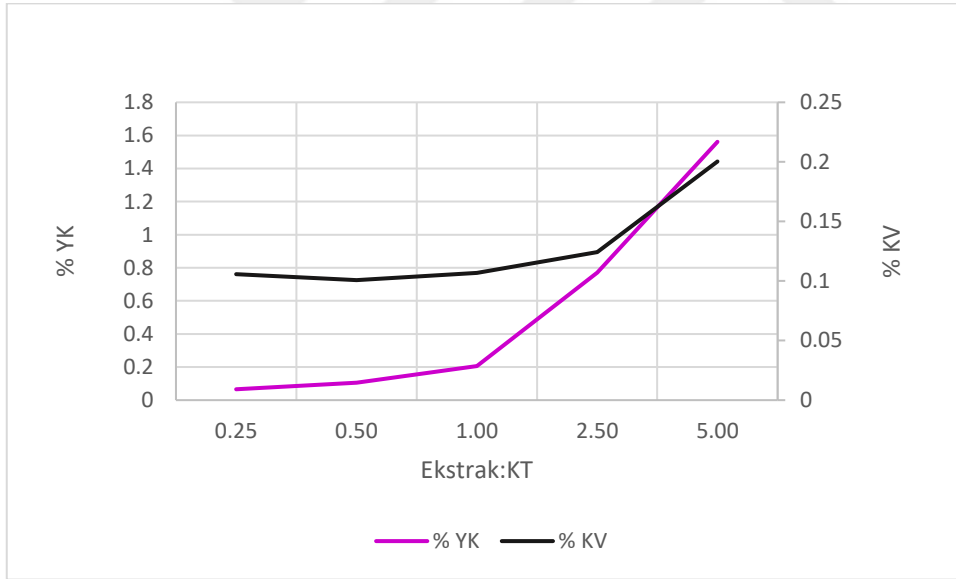
Tw80 oranının yükleme kapasitesine olan etkisini görmek amacıyla %1, %2 ve %3 Tw80 bulunan %0.2 kitosan çözeltileri hazırlanmıştır. KS:ekstrakt oranı 1:5 (a/a) olarak belirlenmiş ve %0.2 TPP çözeltisi 1:1 oranında eklenerek sentez tamamlanmış ve KSNP'nin içerisindeki ekstrakt miktarı tespit edilmiştir(Çizelge 4.17).

Analiz sonucunda %1 ve %3 Tw80 bulunan sentezlerin yükleme kapasitesi %2 Tw80 bulunan senteze göre daha fazladır. Sorasitthiyanukarn ve ark'nın yaptığı çalışmada da Tw80 oranının %YK üzerinde çalışmalar yapılmış Tw80 miktarının YK üzerinde anlamlı bir fark oluşturmadığı sonucuna varılsa da en düşük verim %2 Tw80 ile bulunmuştur (Sorasitthiyanukarn ve ark., 2019). Elde edilen sonuçlardan %1 Tw80 oranının kapsülasyon için en uygun oran olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. Farklı Tw80 konsantrasyonunun %yükleme kapasitesi üzerindeki etkisi

%Tw80:KS çöz(a/h)	Eks:KS (a/a)	TPP:KS(a/a)	%Yükleme Kapasitesi
1	5:1	1:1	%1.35
2	5:1	1:1	%0.52
3	5:1	1:1	%1.24

KS:TPP oranı 1:1 ile %1 Tw80 sabit koşullarında KS:ekstrakt(TS3) oranı 1:0.25 1:0.50 1:1.0 1:25 ve 1:5 olarak belirlenmiş ve % yükleme kapasitesi ve % kapsülasyon verimi hesaplamaları yapılmıştır. Bu hesaplamalar, belirli ağırlıkta nanoparçacıklar içerisindeki ekstraktlar salınarak bu ekstraktların içerisindeki lupeol miktarı üzerinden Çizelge 3.3'deki metot ile bulunmuştur. Yükleme kapasitesi çalışmaları ve kapsülasyon verimi için yapılan çalışmalar TS3 ekstraktı üzerinden optimize edilmiştir. Şekil 4.40'de görüldüğü gibi yükleme kapasitesi ekstrakt:KS oranı arttıkça artmaktadır. Literatürde yapılan çalışmalarda yükleme kapasitesinin ekstrakt:KS oranı arttıkça spektrofotometrik yöntemler ile analiz edildiğinde arttığı görülmüştür. Fakat bu oran kapsülasyon verimleri için geçerli olmayabilir. Bu iki parametreyi optimum seviyede tutarak ekstrakt:KS oranı kapsüle edilecek olan malzemeye göre bulunmuştur (Keawchaoon ve Yoksan, 2011; Hosseini ve ark., 2013; Hasheminejad ve ark., 2019). Yapılan bu çalışmada yükleme kapasitesinin artması kapsülasyon veriminden daha önemli olduğu düşünülmüş fakat ekstrakt miktarı göz önüne alınarak 5:1 (ekstrakt:KT) maksimum oran olarak kabul edilmiş ve bu oranla devam edilmiştir.



Şekil 4.40. Ekstrakt: kitosan oranının vs % yükleme kapasitesi ve % kapsülasyon verimi grafiği

4.3.3. Alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FE-SEM) görüntülemesi

Numuneler hazırlandıktan sonra liyofilizasyon işlemine tabii tutulan parçacıkların SEM görüntüleri alınmıştır. Şekil 4.41 a,b'de boş KSNP parçacık görüntülerinden anlaşılağı gibi nano boyutta sferik benzeri homojen parçacıklardan oluşmaktadır. Şekil 4.41 c,d'de görünen parçacıklar TS3 yüklenmiş ve liyofilize edilmiş KSNP ve Şekil 4.41 e,f'de AS2 yüklü liyofilize edilmiş KSNP'nin FE-SEM görüntüleri verilmiştir. Ekstrakt yüklü

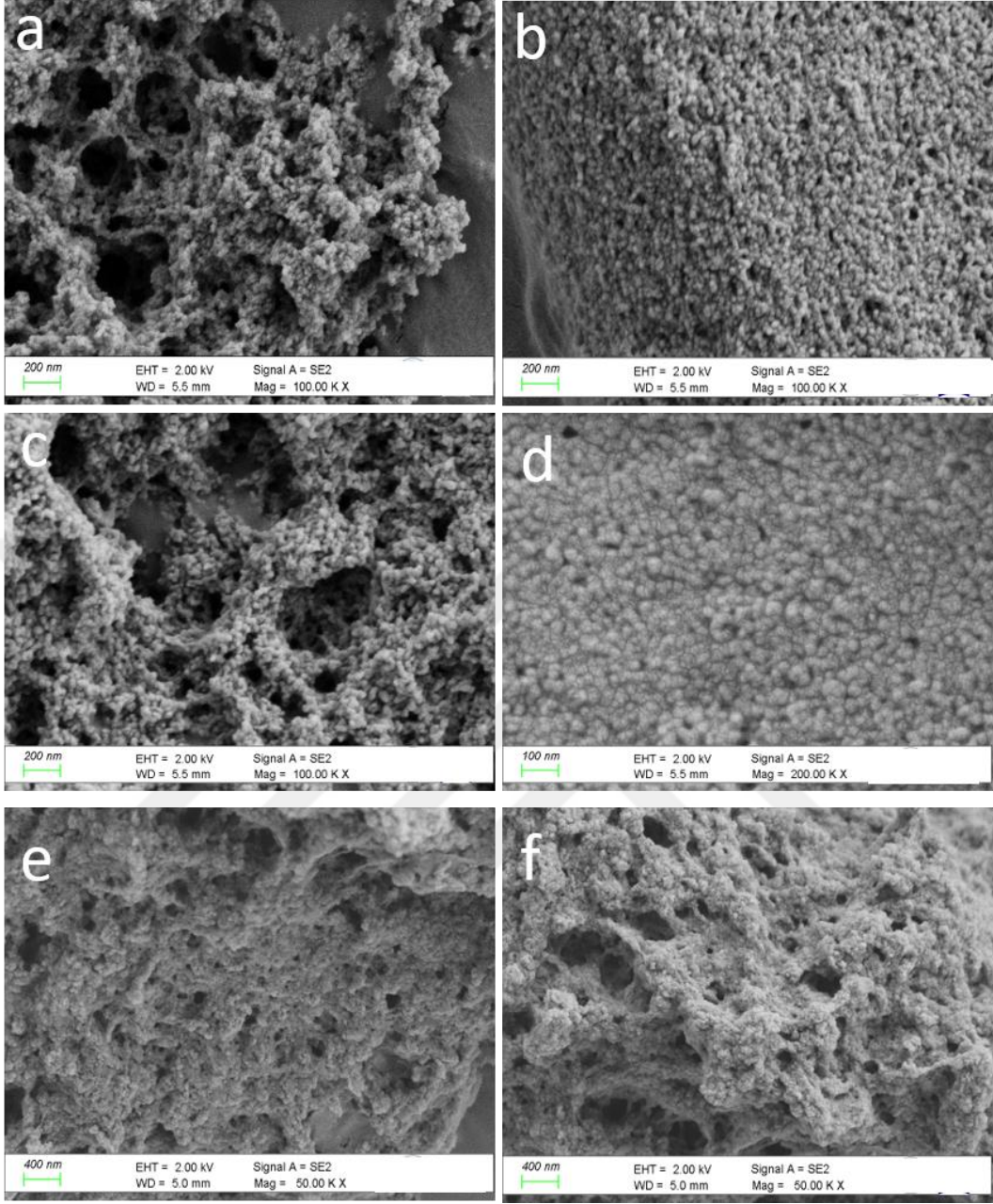
nanoparçacıklar da morfolojik olarak boş KSNP'a benzer, sferik ve yaklaşık sferik yapılara sahip homojen nanoyapılardır.

4.3.4. Taramalı geçirimli elektron mikroskobu (STEM) görüntülemesi

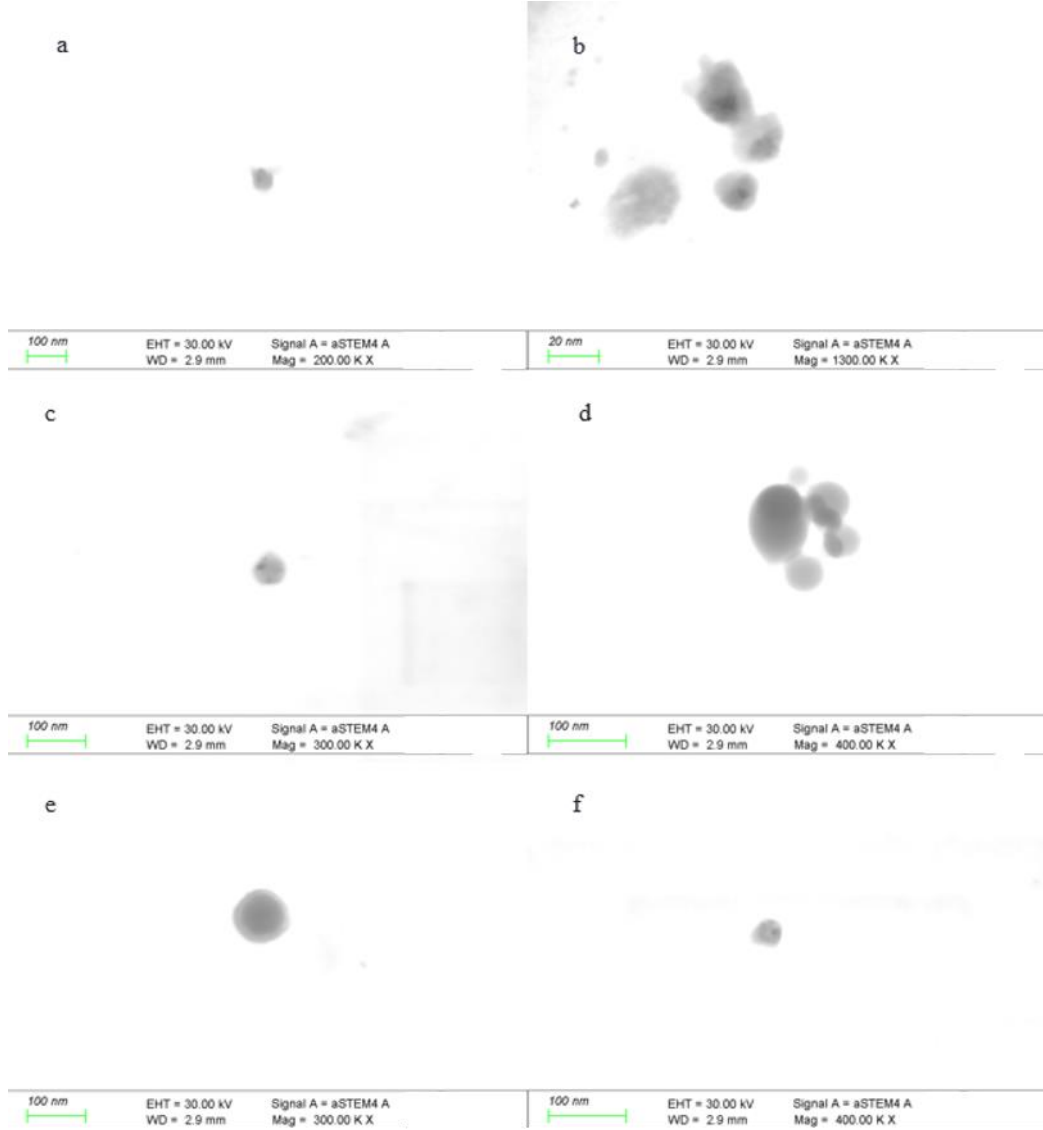
Boş, TS ve AS yüklü kitosan nanoparçacıkların STEM görüntülemesiyle morfoloji ve boyut analizleri yapılmıştır. FE-SEM görüntülerine paralel genel olarak STEM görüntülerinde de sferik benzeri nano yapılar görüntülenmiştir (Şekil4.42). Boyut olarak boş ve ekstrakt yüklü parçacıklarda genellikle 20 nm ile 100 nm arası parçacık boyutlarına rastlanmıştır.

4.3.5. Ekstraktların %yükleme kapasitesi tespiti

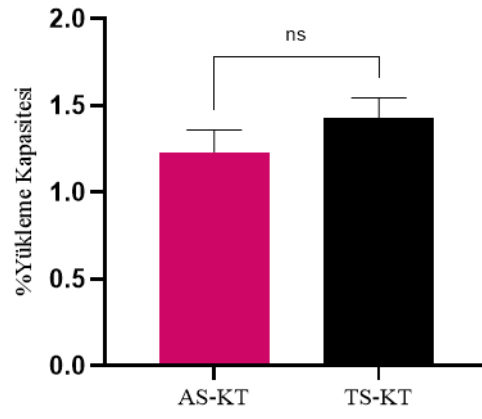
Kitosan:TPP 1:1, %1 Tw80 ve KS:ekstrakt oranı 1:5 (a/a) olarak belirlenerek, TS3 ve AS2 ekstraktlarının kitosan içerisine % yüklem kapasitesi tekrarlı çalışmalar ile hesaplanmıştır. % yüklem kapasitesi TS3 ve AS2 için sırasıyla 1.43 ± 0.09 ve 1.24 ± 0.10 bulunmuş ve aralarında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Şekil 4.43). Literatürde bulunan benzer çalışmalarda yüklem kapasitesi %1.32-21.2 arasında bulunmaktadır.(Keawchaon ve Yoksan, 2011; Hosseini ve ark., 2013; Hasheminejad ve ark., 2019). Bu çalışmalar içerisinde sentez sonrası kapsüle edilemeyen ekstrakt uzaklaştırma aşamasında sadece suyla yıkama ya da Tw80 ardından su kullanılarak yıkama yapılan farklı çalışmalar bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmada kapsüle olmayan ve nanoparçacıkların üzerine kalmış olan ekstraktları da uzaklaştırmak için Tw80 ile yıkamanın ardından suyla yıkama yapılmıştır. Fakat Tw80 ile yıkama yapılmayan parçacık sentezinde yüklem kapasitesi TS3 ekstraktı için %8.27 olurken AS2 için %9.15 olarak bulunmuştur. Tw80 ile yıkama esnasında kapsüle olmuş ekstraktlarında salımına neden olmuş olabilmektedir. Fakat tekrarlanabilir sonuçlar ve kapsüle olan miktarın daha doğru belirlenmesi için Tw80 çözeltisi yıkaması ardından suyla yıkama yapılmıştır.



Şekil 4. 41. Boş KSNP(a,b) ve TS3 yüklü KSNP (c,d) ve AS2 yüklü KTNP'nin Fe-SEM görüntüleri



Şekil 4.42. a,b: Boş KSNP, c,d: TS3 yüklü, e,f: AS2 yüklü KSNP STEM görüntüleri



Şekil 4.43. AS ve TS yüklü KSNP %yükleme kapasitesi karşılaştırması

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Konya ve çevresinde yetişen *Lupinus albus* L. tohumları, alkaloidleri uzaklaştırıldıktan sonra termiye olarak bilinen bir atıştırılabilirlik olarak tüketilmektedir. Bu tohumlar alkaloidler, fenolik bileşikler, tokoferoller, steroller, yağ ve yağ asitlerinin sayesinde gösterdiği antimikrobiyal, antioksidan ve antikanserojen vb. özellik gösterebilen değerli bir bitkidir (Yorgancılar, 1996; PASTOR-CAVADA ve ark., 2010; Khan ve ark., 2015; Romeo ve ark., 2018; Pereira ve ark., 2022).

Süperkritik akışkan ekstraksiyon yönteminin düşük sıcaklıkta yapılabilmesi, çözücü kalıntısı bulundurmaması, biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyon sırasında bozulmaya uğramaması, CO₂'nin basınç ve sıcaklıkla ekstraksiyon gücünün ayarlanabilmesinden dolayı son yıllarda sıklıkla kullanılan süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemleri ile ekstraktlarının elde edilmesi ve elde edilen ekstraktların bileşenlerinin ayrıntılı olarak incelenmesi yapılmıştır (Ude ve ark., 2002; Ghasemi ve ark., 2011; Costa ve ark., 2015; Tang ve Dai, 2016; Antunes-Ricardo ve ark., 2017; Hartati ve ark., 2018; Bin ve ark., 2020)..

Bu bağlamda öncelikle laboratuvar ölçekli SFE sistemleri kullanılarak *Lupinus Albus* L. tohumlarının ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Optimum madde miktarı ve ekstraksiyon süresi belirlenmiş, sonrasında basınç ve sıcaklık parametreleri % ekstraksiyon verimi ve önemli bileşenlerden biri olan toplam ekstrakte edilen lupeol miktarının en yüksek olduğu şartlar belirlenmiş ve optimum ekstraksiyon koşulları altında acı ve acılığı giderilmiş tohumlar tekrarlı olarak ekstrakte edilmiş ve bu ekstraktların analizleri gerçekleştirilmiştir. Belirlenen koşullar altında pilot ölçekli SFE sistemi ile farklı basınç separatörleri kullanılarak ekstraktların fraksiyonlanması yapılmış ve bu ekstraktların içerik analizleri de gerçekleştirilmiştir.

Uçucu bileşen analizleri, yağ asidi içerikleri, lupeol analizleri, trigliserit kompozisyon analizleri tokoferol tokotrienol analizleri, sterol analizleri ve antioksidan kapasitesi analizleri yapılmıştır.

Lupeol analizleri nitel olarak GC-MS ile gerçekleştirilen uçucu bileşen analizleri ile belirlenmiş ve nicel analizler için HPLC-UV sistemi kullanılmıştır. Acı ve acılığı giderilmiş tohumlarda ve farklı separatörden elde edilen ekstraktların her birinde lupeol bileşiğine rastlanmıştır.

Tokol maddeler nicel olarak yine GC-MS analizleri sırasında kütüphane karşılaştırılması yapılarak görülmüş nicel analizler için HPLC-FLD sistemi

kullanılmıştır. Analizler sonunda γ -tokoferol en baskın tokol madde olarak belirlenmiş, α -tokoferol, α -tokotrienol, γ -tokotrienol, δ -tokoferol ve δ -tokotrienol türleri de bulunduğu tespit edilmiştir.

Uçucu bileşen analizlerinde tespit edilen en önemli bileşenler ise *lupinus albus* L. tohumlarında baskın alkaloid türü olarak bilinen lupanin biyoaktif bileşiğinin acı tohum ekstraktlarında bulunduğu tespit edilmiş olmasıdır. Aynı zamanda hidroksilupanın olduğu düşünülen türlerde bulunmuştur. Bu alkaloid türleri acılığı giderilmiş tohumlarda rastlanmamıştır. Bu sayede acılığın giderilme işleminin başarılı bir şekilde yapıldığı sonucuna ulaşılmıştır.

Yağ asidi kompozisyon analizlerinde ise oleik asit, linoleik asit ve palmitik asit baskın türler olarak bulunmuştur. Buna paralel olarak PLL, OOL ve OLLn en baskın trigliserit yapıları olarak tespit edilmiştir.

Sterol analizleri ise GC-MS ile gerçekleştirilmiş; kampasterol, stigmasterol ve β -sitosterol türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Antioksidan kapasitesi değerlendirilmesi için DPPH radikal giderim metodu kullanılmış ve antioksidan kapasitesi hesaplamaları yapılmıştır.

Elde edilen ekstraktların kapsülasyon işlemleri için TS3 ve AS2 ekstraktları seçilmiş ve kitosan nanoparçacıklar içerisine emülsiyon-iyonik jelleşme metoduyla gerçekleştirilmiştir. Kapsülasyon şartları, kitosan konsantrasyonu, kitosan:TPP oranı Tw80 konsantrasyonu, ekstrakt miktarları belirlenmiş ve optimize edilen şartlarda kapsülasyon gerçekleştirilmiştir.

5.2 Öneriler

Elde edilen ekstraktların içerdiği biyoaktif bileşenler ile bu ekstraktın yara iyileştirilmesi, kalp damar sağlığı üzerindeki etkileri ve antikanser özellikleri açısından değerlendirilebilir. Aynı zamanda biyosidal çalışmalarda da değerlendirilebilmesi mümkündür.

KAYNAKLAR

- Abbasi, H., Rezaei, K., Emamdjomeh, Z. ve Mousavi, S. M. E., 2008, Effect of various extraction conditions on the phenolic contents of pomegranate seed oil, *European Journal of Lipid Science and Technology*, 110 (5), 435-440.
- Abdelkader, H., Hussain, S., Abdullah, N. ve Kmaruddin, S., 2018, Review on micro-encapsulation with Chitosan for pharmaceuticals applications, *MOJ Curr. Res. Rev.*, 1 (2), 77-84.
- Ahmad, N., Khalid, B., Luke, D. ve Ima Nirwana, S., 2005, Tocotrienol offers better protection than tocopherol from free radical-induced damage of rat bone, *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 32 (9), 761-770.
- Aisyah, S., Vincken, J.-P., Andini, S., Mardiah, Z. ve Gruppen, H., 2016, Compositional changes in (iso) flavonoids and estrogenic activity of three edible *Lupinus* species by germination and Rhizopus-elicitation, *Phytochemistry*, 122, 65-75.
- Al-Amrousi, E. F., Badr, A. N., Abdel-Razek, A. G., Gromadzka, K., Drzewiecka, K. ve Hassanein, M. M., 2022, A comprehensive study of lupin seed oils and the roasting effect on their chemical and biological activity, *Plants*, 11 (17), 2301.
- Aldini, R., Micucci, M., Cevenini, M., Fato, R., Bergamini, C., Nanni, C., Cont, M., Camborata, C., Spinozzi, S. ve Montagnani, M., 2014, Antiinflammatory effect of phytosterols in experimental murine colitis model: prevention, induction, remission study, *PloS one*, 9 (9), e108112.
- Ali Asgar, M., 2013, Anti-diabetic potential of phenolic compounds: A review, *International Journal of Food Properties*, 16 (1), 91-103.
- Amjadi, S., Ghorbani, M., Hamishehkar, H. ve Roufegarinejad, L., 2018, Improvement in the stability of betanin by liposomal nanocarriers: Its application in gummy candy as a food model, *Food Chemistry*, 256, 156-162.
- Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J. A. ve Guajardo-Flores, D., 2017, Extraction of isorhamnetin conjugates from *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill using supercritical fluids, *The Journal of Supercritical Fluids*, 119, 58-63.
- Barrera-Arellano, D., Badan-Ribeiro, A. P. ve Serna-Saldivar, S. O., 2019, Corn oil: composition, processing, and utilization, In: *Corn*, Eds: Elsevier, p. 593-613.
- Bernal, J. M., Lozano, P., García-Verdugo, E., Burguete, M. I., Sánchez-Gómez, G., López-López, G., Pucheault, M., Vaultier, M. ve Luis, S. V., 2012, Supercritical synthesis of biodiesel, *Molecules*, 17 (7), 8696-8719.
- Bin, L. K., Janakiraman, A. K., Abd Razak, F. S., Uddin, A. H., Sarker, M. Z. I., Ming, L. C. ve Goh, B. H., 2020, Supercritical fluid technology and its pharmaceutical applications: A revisit with two decades of progress, *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 54 (2s), s1-s11.
- Bolling, B. W., Chen, C.-Y. O., McKay, D. L. ve Blumberg, J. B., 2011, Tree nut phytochemicals: composition, antioxidant capacity, bioactivity, impact factors. A systematic review of almonds, Brazils, cashews, hazelnuts, macadamias, pecans, pine nuts, pistachios and walnuts, *Nutrition research reviews*, 24 (2), 244-275.
- Bouic, P. ve Lamprecht, J. H., 1999, Plant sterols and sterolins: a review of their immune-modulating properties, *Altern Med Rev*, 4 (3), 170-177.
- Bradford, A., Atkinson, J., Fuller, N. ve Rand, R., 2003, The effect of vitamin E on the structure of membrane lipid assemblies, *Journal of lipid research*, 44 (10), 1940-1945.

- Brännström, H., Kumar, H. ve Alén, R., 2018, Current and potential biofuel production from plant oils, *BioEnergy Research*, 11, 592-613.
- Brigelius-Flohé, R. ve Traber, M. G., 1999, Vitamin E: function and metabolism, *The FASEB journal*, 13 (10), 1145-1155.
- Budisa, N. ve Schulze-Makuch, D., 2014, Supercritical carbon dioxide and its potential as a life-sustaining solvent in a planetary environment, *Life*, 4 (3), 331-340.
- Burdge, G., Rodway, H., Kohler, J. ve Lillycrop, K., 2001, Effect of fatty acid supplementation on growth and differentiation of human IMR-32 neuroblastoma cells in vitro, *Journal of cellular biochemistry*, 80 (2), 266-273.
- Buszewski, B., Rafińska, K., Cvetanović, A., Walczak, J., Krakowska, A., Rudnicka, J. ve Zeković, Z., 2019, Phytochemical analysis and biological activity of *Lupinus luteus* seeds extracts obtained by supercritical fluid extraction, *Phytochemistry Letters*, 30, 338-348.
- Caligiani, A., Bonzanini, F., Palla, G., Cirilini, M. ve Bruni, R., 2010, Characterization of a potential nutraceutical ingredient: pomegranate (*Punica granatum* L.) seed oil unsaponifiable fraction, *Plant foods for human nutrition*, 65, 277-283.
- Cely-Veloza, W., Quiroga, D. ve Coy-Barrera, E., 2022, Quinolizidine-based variations and antifungal activity of eight *Lupinus* species grown under greenhouse conditions, *Molecules*, 27 (1), 305.
- Chang, P.-K., Tsai, M.-F., Huang, C.-Y., Lee, C.-L., Lin, C., Shieh, C.-J. ve Kuo, C.-H., 2021, Chitosan-based anti-oxidation delivery nano-platform: Applications in the encapsulation of dha-enriched fish oil, *Marine drugs*, 19 (8), 470.
- Chatterjee, S., Variyar, P. S. ve Sharma, A., 2009, Stability of lipid constituents in radiation processed fenugreek seeds and turmeric: role of phenolic antioxidants, *Journal of agricultural and food chemistry*, 57 (19), 9226-9233.
- Chiriac, A. P., Rusu, A. G., Nita, L. E., Chiriac, V. M., Neamtu, I. ve Sandu, A., 2021, Polymeric carriers designed for encapsulation of essential oils with biological activity, *Pharmaceutics*, 13 (5), 631.
- Chun, J.-Y., Choi, M.-J., Min, S.-G. ve Weiss, J., 2013, Formation and stability of multiple-layered liposomes by layer-by-layer electrostatic deposition of biopolymers, *Food hydrocolloids*, 30 (1), 249-257.
- Clarke, M. W., Burnett, J. R. ve Croft, K. D., 2008, Vitamin E in human health and disease, *Critical reviews in clinical laboratory sciences*, 45 (5), 417-450.
- Costa, A. R., Freitas, L. A., Mendiola, J. ve Ibáñez, E., 2015, *Copaifera langsdorffii* supercritical fluid extraction: Chemical and functional characterization by LC/MS and in vitro assays, *The Journal of Supercritical Fluids*, 100, 86-96.
- Czubinski, J., Grygier, A. ve Siger, A., 2021, *Lupinus mutabilis* seed composition and its comparison with other lupin species, *Journal of food composition and analysis*, 99, 103875.
- De Zordi, N., Cortesi, A., Kikic, I., Moneghini, M., Baldan, V., Sut, S., Solinas, D. ve Dall'Acqua, S., 2017, The Supercritical carbon dioxide extraction of ω -3, ω -6 lipids and β -sitosterol from Italian walnuts: A central composite design approach, *The Journal of Supercritical Fluids*, 127, 223-228.
- Devaraj, S., Tang, R., Adams-Huet, B., Harris, A., Seenivasan, T., De Lemos, J. A. ve Jialal, I., 2007, Effect of high-dose α -tocopherol supplementation on biomarkers of oxidative stress and inflammation and carotid atherosclerosis in patients with coronary artery disease, *The American journal of clinical nutrition*, 86 (5), 1392-1398.
- Dobarganes, M. C., Velasco, J. ve Dieffenbacher, A., 2000, Determination of polar compounds, polymerized and oxidized triacylglycerols, and diacylglycerols in

- oils and fats: results of collaborative studies and the standardized method (Technical report), *Pure and Applied Chemistry*, 72 (8), 1563-1575.
- Domínguez-Avila, J. A., Salazar-López, N. J., Montiel-Herrera, M., Martínez-Martínez, A., Villegas-Ochoa, M. A. ve González-Aguilar, G. A., 2022, Phenolic compounds can induce systemic and central immunomodulation, which result in a neuroprotective effect, *Journal of Food Biochemistry*, 46 (12), e14260.
- Ehterami, A., Salehi, M., Farzamfar, S., Samadian, H., Vaez, A., Ghorbani, S., Ai, J. ve Sahrapeyma, H., 2019, Chitosan/alginate hydrogels containing Alpha-tocopherol for wound healing in rat model, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51, 204-213.
- El-Kader, A. ve Abu Hashish, H., 2020, Encapsulation techniques of food bioproduct, *Egyptian Journal of Chemistry*, 63 (5), 1881-1909.
- Emami, S., Azadmard-Damirchi, S., Peighambari, S. H., Valizadeh, H. ve Hesari, J., 2016, Liposomes as carrier vehicles for functional compounds in food sector, *Journal of Experimental Nanoscience*, 11 (9), 737-759.
- Eom, S., Kim, C., Yeom, H. D., Lee, J., Lee, S., Baek, Y.-B., Na, J., Park, S.-I., Kim, G.-Y. ve Lee, C.-M., 2020, Molecular regulation of $\alpha 3\beta 4$ nicotinic acetylcholine receptors by lupeol in cardiovascular system, *International Journal of Molecular Sciences*, 21 (12), 4329.
- Erbas, M., 2010, The effects of different debittering methods on the production of lupin bean snack from bitter *Lupinus albus* L. seeds, *Journal of Food Quality*, 33 (6), 742-757.
- Estivi, L., Fusi, D., Brandolini, A. ve Hidalgo, A., 2022, Effect of Debittering with Different Solvents and Ultrasound on Carotenoids, Tocopherols, and Phenolics of *Lupinus albus* Seeds, *Antioxidants*, 11 (12), 2481.
- Ferreira, J. F., Luthria, D. L., Sasaki, T. ve Heyerick, A., 2010, Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer, *Molecules*, 15 (5), 3135-3170.
- Fisher, R. M. ve Sjögren, P., 2006, Fatty acid composition in relation to the metabolic syndrome and associated cardiovascular risk factors, *Scandinavian Journal of Food and Nutrition*, 50 (sup2), 114-120.
- Frias, J., Miranda, M. L., Doblado, R. ve Vidal-Valverde, C., 2005, Effect of germination and fermentation on the antioxidant vitamin content and antioxidant capacity of *Lupinus albus* L. var. Multolupa, *Food chemistry*, 92 (2), 211-220.
- Fukui, K., 2019, Neuroprotective and anti-obesity effects of tocotrienols, *Journal of nutritional science and vitaminology*, 65 (Supplement), S185-S187.
- Gallo, M. B. ve Sarachine, M. J., 2009, Biological activities of lupeol, *Int. J. Biomed. Pharm. Sci*, 3 (1), 46-66.
- Gavilan, J., Mennickent, D., Ramirez-Molina, O., Triviño, S., Perez, C., Silva-Grecchi, T., Godoy, P. A., Becerra, J., Aguayo, L. G. ve Moraga-Cid, G., 2019, 17 Oxo sparteine and lupanine, obtained from *Cytisus scoparius*, exert a neuroprotection against soluble oligomers of amyloid- β Toxicity by nicotinic acetylcholine receptors, *Journal of Alzheimer's Disease*, 67 (1), 343-356.
- Geetha, T. ve Maralakshmi, P., 1999, Effect of lupeol and lupeol linoleate on lysosomal enzymes and collagen in adjuvant-induced arthritis in rats, *Molecular and cellular biochemistry*, 201, 83-87.
- Geetha, T. ve Varalakshmi, P., 2001, Anti-inflammatory activity of lupeol and lupeol linoleate in rats, *Journal of ethnopharmacology*, 76 (1), 77-80.
- Ghasemi, E., Raofie, F. ve Najafi, N. M., 2011, Application of response surface methodology and central composite design for the optimisation of supercritical

- fluid extraction of essential oils from *Myrtus communis* L. leaves, *Food Chemistry*, 126 (3), 1449-1453.
- Glatz, J. F. ve Luiken, J. J., 2015, Fatty acids in cell signaling: historical perspective and future outlook, *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 92, 57-62.
- Gresta, F., Oteri, M., Scordia, D., Costale, A., Armone, R., Meineri, G. ve Chiofalo, B., 2023, White lupin (*Lupinus albus* L.), an alternative legume for animal feeding in the Mediterranean area, *Agriculture*, 13 (2), 434.
- Groot, C. C., Velikov, K. P. ve Bakker, H. J., 2016, Structure and dynamics of water molecules confined in triglyceride oils, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18 (42), 29361-29368.
- Gupta, R., Sharma, A. K., Sharma, M., Dobhal, M. ve Gupta, R., 2012, Evaluation of antidiabetic and antioxidant potential of lupeol in experimental hyperglycaemia, *Natural product research*, 26 (12), 1125-1129.
- Gutiérrez-Ruiz, S. C., Cortes, H., González-Torres, M., Almarhoon, Z. M., Güreş, E. S., Sharifi-Rad, J. ve Leyva-Gómez, G., 2024, Optimize the parameters for the synthesis by the ionic gelation technique, purification, and freeze-drying of chitosan-sodium tripolyphosphate nanoparticles for biomedical purposes, *Journal of Biological Engineering*, 18 (1), 12.
- Gylling, H., Plat, J., Turley, S., Ginsberg, H. N., Ellegård, L., Jessup, W., Jones, P. J., Lütjohann, D., Maerz, W. ve Masana, L., 2014, Plant sterols and plant stanols in the management of dyslipidaemia and prevention of cardiovascular disease, *Atherosclerosis*, 232 (2), 346-360.
- Hamama, A. A. ve Bhardwaj, H. L., 2004, Phytosterols, triterpene alcohols, and phospholipids in seed oil from white lupin, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 81 (11), 1039-1044.
- Hartati, H., Mohd Nasir, H., Idris, I. S. ve Abd Aziz, A., 2018, Evaluation of *Swietenia mahagoni* Jacq seed extracts in promoting wound healing properties, *Malaysian Journal of Fundamental and applied sciences*, 14 (4), 432-436.
- Hasheminejad, N., Khodaiyan, F. ve Safari, M., 2019, Improving the antifungal activity of clove essential oil encapsulated by chitosan nanoparticles, *Food chemistry*, 275, 113-122.
- Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R. ve Ferreira, I. C., 2015, Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review, *Food Chemistry*, 173, 501-513.
- Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M. ve Farahmandghavi, F., 2013, Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study, *Carbohydrate polymers*, 95 (1), 50-56.
- Huang, J., Xu, M., Fang, Y.-J., Lu, M.-S., Pan, Z.-Z., Huang, W.-Q., Chen, Y.-M. ve Zhang, C.-X., 2017, Association between phytosterol intake and colorectal cancer risk: a case-control study, *British Journal of Nutrition*, 117 (6), 839-850.
- Huang, M., Liang, C., Tan, C., Huang, S., Ying, R., Wang, Y., Wang, Z. ve Zhang, Y., 2019, Liposome co-encapsulation as a strategy for the delivery of curcumin and resveratrol, *Food & function*, 10 (10), 6447-6458.
- Huyghe, C., 1997, White lupin (*Lupinus albus* L.), *Field Crops Research*, 53 (1-3), 147-160.
- Hwang, I. M., Lee, H.-W., Lee, H. M., Yang, J.-S., Seo, H. Y., Chung, Y.-J. ve Kim, S. H., 2020, Rapid and simultaneous quantification of five quinolizidine alkaloids

- in *Lupinus angustifolius* L. and its processed foods by UPLC–MS/MS, *ACS omega*, 5 (33), 20825-20830.
- Jiang, M., Wu, Z., Guo, H., Liu, L. ve Chen, S., 2020, A review of terpenes from marine-derived fungi: 2015–2019, *Marine drugs*, 18 (6), 321.
- Kallubai, M., Rachamallu, A., Yeggoni, D. P. ve Subramanyam, R., 2015, Comparative binding mechanism of lupeol compounds with plasma proteins and its pharmacological importance, *Molecular BioSystems*, 11 (4), 1172-1183.
- Kalogeropoulos, N., Chiou, A., Ioannou, M., Karathanos, V. T., Hassapidou, M. ve Andrikopoulos, N. K., 2010, Nutritional evaluation and bioactive microconstituents (phytosterols, tocopherols, polyphenols, triterpenic acids) in cooked dry legumes usually consumed in the Mediterranean countries, *Food Chemistry*, 121 (3), 682-690.
- Karamać, M., Orak, H. H., Amarowicz, R., Orak, A. ve Piekoszewski, W., 2018, Phenolic contents and antioxidant capacities of wild and cultivated white lupin (*Lupinus albus* L.) seeds, *Food Chemistry*, 258, 1-7.
- Keawchaoon, L. ve Yoksan, R., 2011, Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles, *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*, 84 (1), 163-171.
- Khan, M. K., Karnpanit, W., Nasar-Abbas, S. M., Huma, Z. e. ve Jayasena, V., 2015, Phytochemical composition and bioactivities of lupin: A review, *International journal of food science & technology*, 50 (9), 2004-2012.
- Khot, S. N., Lascala, J. J., Can, E., Morye, S. S., Williams, G. I., Palmese, G. R., Kusefoglu, S. H. ve Wool, R. P., 2001, Development and application of triglyceride-based polymers and composites, *Journal of applied polymer science*, 82 (3), 703-723.
- Klingberg, S., Ellegård, L., Johansson, I., Hallmans, G., Weinehall, L., Andersson, H. ve Winkvist, A., 2008, Inverse relation between dietary intake of naturally occurring plant sterols and serum cholesterol in northern Sweden, *The American journal of clinical nutrition*, 87 (4), 993-1001.
- Klojdová, I., Milota, T., Smetanová, J. ve Stathopoulos, C., 2023, Encapsulation: a strategy to deliver therapeutics and bioactive compounds?, *Pharmaceuticals*, 16 (3), 362.
- Kopańska, M., Batoryna, M., Banaś-Ząbczyk, A., Błajda, J. ve Lis, M. W., 2022, The effect of α -tocopherol on the reduction of inflammatory processes and the negative effect of acrylamide, *Molecules*, 27 (3), 965.
- Kravanja, K. A., Finšgar, M., Knez, Ž. ve Knez Marevci, M., 2022, Supercritical fluid technologies for the incorporation of synthetic and natural active compounds into materials for drug formulation and delivery, *Pharmaceutics*, 14 (8), 1670.
- Laphookhieo, S., Maneerat, W. ve Koisomboon, S., 2009, Antimalarial and cytotoxic phenolic compounds from *Cratogeomys maine* and *Cratogeomys cochinchinense*, *Molecules*, 14 (4), 1389-1395.
- Lee, J.-H., 2013, Polyunsaturated fatty acids in children, *Pediatric gastroenterology, hepatology & nutrition*, 16 (3), 153-161.
- Lee, Y.-H., Kim, S.-N., Kwon, H.-J. ve Granneman, J. G., 2017, Metabolic heterogeneity of activated beige/brite adipocytes in inguinal adipose tissue, *Scientific reports*, 7 (1), 39794.
- Lima, M. d. C., De Sousa, C. P., Fernandez-Prada, C., Harel, J., Dubreuil, J. ve De Souza, E., 2019, A review of the current evidence of fruit phenolic compounds as potential antimicrobials against pathogenic bacteria, *Microbial pathogenesis*, 130, 259-270.

- Liu, K., Zhang, X., Xie, L., Deng, M., Chen, H., Song, J., Long, J., Li, X. ve Luo, J., 2021, Lupeol and its derivatives as anticancer and anti-inflammatory agents: Molecular mechanisms and therapeutic efficacy, *Pharmacological research*, 164, 105373.
- Luthria, D. L., 2006, Significance of sample preparation in developing analytical methodologies for accurate estimation of bioactive compounds in functional foods, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86 (14), 2266-2272.
- Mandaji, C. M., da Silva Pena, R. ve Chisté, R. C., 2022, Encapsulation of bioactive compounds extracted from plants of genus *Hibiscus*: A review of selected techniques and applications, *Food Research International*, 151, 110820.
- Martínez-Villaluenga, C., Zieliński, H., Frias, J., Piskula, M. K., Kozłowska, H. ve Vidal-Valverde, C., 2009, Antioxidant capacity and polyphenolic content of high-protein lupin products, *Food Chemistry*, 112 (1), 84-88.
- Maruoka, N., Murata, T., Omata, N., Takashima, Y., Fujibayashi, Y. ve Wada, Y., 2008, Effects of vitamin E supplementation on plasma membrane permeabilization and fluidization induced by chlorpromazine in the rat brain, *Journal of Psychopharmacology*, 22 (2), 119-127.
- Min, T.-R., Park, H.-J., Ha, K.-T., Chi, G.-Y., Choi, Y.-H. ve Park, S.-H., 2019, Suppression of EGFR/STAT3 activity by lupeol contributes to the induction of the apoptosis of human non-small cell lung cancer cells, *International journal of oncology*, 55 (1), 320-330.
- Mirafzali, Z., Thompson, C. S. ve Tallua, K., 2023, Application of liposomes in the food industry, In: *Microencapsulation in the food industry*, Eds: Elsevier, p. 195-207.
- Mohammed, M. A., Syeda, J. T., Wasan, K. M. ve Wasan, E. K., 2017, An overview of chitosan nanoparticles and its application in non-parenteral drug delivery, *Pharmaceutics*, 9 (4), 53.
- Morales-Olán, G., Luna-Suárez, S., Figueroa-Cárdenas, J. D. D., Corea, M. ve Rojas-López, M., 2021, Synthesis and characterization of chitosan particles loaded with antioxidants extracted from chia (*Salvia hispanica* L.) seeds, *International Journal of Analytical Chemistry*, 2021 (1), 5540543.
- Morris, A. L. ve Mohiuddin, S. S., 2020, Biochemistry, nutrients.
- Musco, N., Cutrignelli, M. I., Calabrò, S., Tudisco, R., Infascelli, F., Grazioli, R., Lo Presti, V., Gresta, F. ve Chiofalo, B., 2017, Comparison of nutritional and antinutritional traits among different species (*Lupinus albus* L., *Lupinus luteus* L., *Lupinus angustifolius* L.) and varieties of lupin seeds, *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 101 (6), 1227-1241.
- Nah, J.-W. ve Jeong, G.-W., 2021, Preparation and encapsulation techniques of chitosan microsphere for enhanced bioavailability of natural antioxidants, *Carbohydrate Research*, 500, 108218.
- Náthia-Neves, G., Getachew, A. T., Ghelichi, S. ve Jacobsen, C., 2025, The use of green technologies for processing lupin seeds (*Lupinus angustifolius* L.): Extraction of non-polar and polar compounds for concentrated-protein flour production, *Food Research International*, 200, 115434.
- Nathiya, S., Durga, M. ve Devasena, T., 2014, Preparation, physico-chemical characterization and biocompatibility evaluation of quercetin loaded chitosan nanoparticles and its novel potential to ameliorate monocrotophos induced toxicity, *Dig J Nanomater Bios*, 9 (4), 1603-1614.
- Nelly, M.-T., Ana, C.-C., Emanuel, H.-P., Hugo, E.-A., Tromboto, S., Teresa, A.-T. ve Neith, P.-L., 2018, Evaluation of the formation conditions and physicochemical

- characterization of Chitosan Nanoparticles, *JOURNAL OF BIOENGINEERING*, 2 (2), 9-16.
- Nossack, A. C., Vilegas, J. H., Baer, D. v. ve Lanças, F. M., 2000, Supercritical fluid extraction and chromatographic analysis (HRGC-FID and HRGC-MS) of *Lupinus* spp. alkaloids, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 11, 495-501.
- Olatunya, A. M., Omojola, A., Akinpelu, K. ve Akintayo, E. T., 2019, Vitamin E, Phospholipid, and Phytosterol contents of *Parkia biglobosa* and *Citrullus colocynthis* seeds and their potential applications to human health, *Preventive nutrition and food science*, 24 (3), 338.
- Omeje, K. O., Iroha, O. K., Edeke, A. A., Omeje, H. C. ve Apeh, V. O., 2019, Characterization and fatty acid profile analysis of oil extracted from unexploited seed of African star apple (Udara), *OCL*, 26, 10.
- Orsavova, J., Misurcova, L., Vavra Ambrozova, J., Vicha, R. ve Mlcek, J., 2015, Fatty acids composition of vegetable oils and its contribution to dietary energy intake and dependence of cardiovascular mortality on dietary intake of fatty acids, *International journal of molecular sciences*, 16 (6), 12871-12890.
- Owen, R., Giacosa, A., Hull, W., Haubner, R., Spiegelhalder, B. ve Bartsch, H., 2000, The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil, *European journal of cancer*, 36 (10), 1235-1247.
- Parhofer, K. G., 2022, New targets for treating hypertriglyceridemia, *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 29 (2), 106-111.
- Park, Y. M. ve Park, S. N., 2019, Inhibitory effect of lupeol on MMPs expression using aged fibroblast through repeated UVA irradiation, *Photochemistry and Photobiology*, 95 (2), 587-594.
- PASTOR-CAVADA, E., Juan, R., Pastor, J. E., Alaiz, M. ve Vioque, J., 2010, Antioxidant activity in the seeds of four wild lupinus species from southern Spain, *Journal of Food Biochemistry*, 34, 149-160.
- Peh, H. Y., Tan, W. D., Liao, W. ve Wong, W. F., 2016, Vitamin E therapy beyond cancer: Tocopherol versus tocotrienol, *Pharmacology & therapeutics*, 162, 152-169.
- Pereira, A., Ramos, F. ve Sanches Silva, A., 2022, Lupin (*Lupinus albus* L.) seeds: balancing the good and the bad and addressing future challenges, *Molecules*, 27 (23), 8557.
- Pereira Beserra, F., Sergio Gushiken, L. F., Vieira, A. J., Augusto Bérghamo, D., Luísa Bérghamo, P., Oliveira de Souza, M., Alberto Hussni, C., Kiomi Takahira, R., Henrique Nóbrega, R. ve Monteiro Martinez, E. R., 2020, From inflammation to cutaneous repair: Topical application of lupeol improves skin wound healing in rats by modulating the cytokine levels, NF- κ B, Ki-67, growth factor expression, and distribution of collagen fibers, *International journal of molecular sciences*, 21 (14), 4952.
- Plat, J. ve Mensink, R. P., 2002, Effects of plant stanol esters on LDL receptor protein expression and on LDL receptor and HMG-CoA reductase mRNA expression in mononuclear blood cells of healthy men and women, *The FASEB journal*, 16 (2), 1-16.
- Plat, J., Hendrikx, T., Bieghs, V., Jeurissen, M. L., Walenbergh, S. M., van Gorp, P. J., De Smet, E., Konings, M., Vreugdenhil, A. C. ve Guichot, Y. D., 2014, Protective role of plant sterol and stanol esters in liver inflammation: insights from mice and humans, *PloS one*, 9 (10), e110758.

- Prasad, S., Kumar Yadav, V., Srivastava, S. ve Shukla, Y., 2008, Protective effects of lupeol against benzo [a] pyrene induced clastogenicity in mouse bone marrow cells, *Molecular nutrition & food research*, 52 (10), 1117-1120.
- Prasad, S., Madan, E., Nigam, N., Roy, P., George, J. ve Shukla, Y., 2009, Induction of apoptosis by lupeol in human epidermoid carcinoma A431 cells through regulation of mitochondrial, Akt/PKB and NF-kappaB signaling pathways, *Cancer biology & therapy*, 8 (17), 1632-1639.
- Prusinski, J., 2017, White lupin (*Lupinus albus* L.)-Nutritional and health values in human nutrition-A review, *Czech Journal of Food Sciences*, 35 (2).
- Ranjbar, R. ve Yousefi, A., 2018, Effects of aloe vera and chitosan nanoparticle thin-film membranes on wound healing in full thickness infected wounds with methicillin resistant *Staphylococcus aureus*, *Bulletin of Emergency & Trauma*, 6 (1), 8.
- Ravanfar, R., Comunian, T. A. ve Abbaspourrad, A., 2018, Thermoresponsive, water-dispersible microcapsules with a lipid-polysaccharide shell to protect heat-sensitive colorants, *Food hydrocolloids*, 81, 419-428.
- Ravotti, R., Worlitschek, J., Pulham, C. R. ve Stamatiou, A., 2020, Triglycerides as novel phase-change materials: a review and assessment of their thermal properties, *Molecules*, 25 (23), 5572.
- Reddy, C. K., Agarwal, R. K., Shah, M. A. ve Suriya, M., 2022, Encapsulation techniques for plant extracts, In: *Plant extracts: Applications in the food industry*, Eds: Elsevier, p. 75-88.
- Romeo, F. V., Fabroni, S., Ballistreri, G., Muccilli, S., Spina, A. ve Rapisarda, P., 2018, Characterization and antimicrobial activity of alkaloid extracts from seeds of different genotypes of *Lupinus* spp, *Sustainability*, 10 (3), 788.
- Rybiński, W., Święcicki, W., Bocianowski, J., Börner, A., Starzycka-Korbas, E. ve Starzycki, M., 2018, Variability of fat content and fatty acids profiles in seeds of a Polish white lupin (*Lupinus albus* L.) collection, *Genetic resources and crop evolution*, 65, 417-431.
- Ryu, S.-J. ve Bae, H.-S., 2021, Properties analysis of crosslinked chitosan microcapsules by multiple emulsification method, *Fashion and Textiles*, 8, 1-14.
- Saldeen, K. ve Saldeen, T., 2005, Importance of tocopherols beyond α -tocopherol: evidence from animal and human studies, *Nutrition Research*, 25 (10), 877-889.
- Saldeen, T., Li, D. ve Mehta, J. L., 1999, Differential effects of α - and γ -tocopherol on low-density lipoprotein oxidation, superoxide activity, platelet aggregation and arterial thrombogenesis, *Journal of the American College of Cardiology*, 34 (4), 1208-1215.
- Saleem, M., Afaq, F., Adhami, V. M. ve Mukhtar, H., 2004, Lupeol modulates NF- κ B and PI3K/Akt pathways and inhibits skin cancer in CD-1 mice, *Oncogene*, 23 (30), 5203-5214.
- Saleem, M., Kweon, M.-H., Yun, J.-M., Adhami, V. M., Khan, N., Syed, D. N. ve Mukhtar, H., 2005, A novel dietary triterpene Lupeol induces fas-mediated apoptotic death of androgen-sensitive prostate cancer cells and inhibits tumor growth in a xenograft model, *Cancer Research*, 65 (23), 11203-11213.
- Sebastián, D., Guitart, M., García-Martínez, C., Mauvezin, C., Orellana-Gavaldà, J. M., Serra, D., Gómez-Foix, A. M., Hegardt, F. G. ve Asins, G., 2009, Novel role of FATP1 in mitochondrial fatty acid oxidation in skeletal muscle cells, *Journal of lipid research*, 50 (9), 1789-1799.

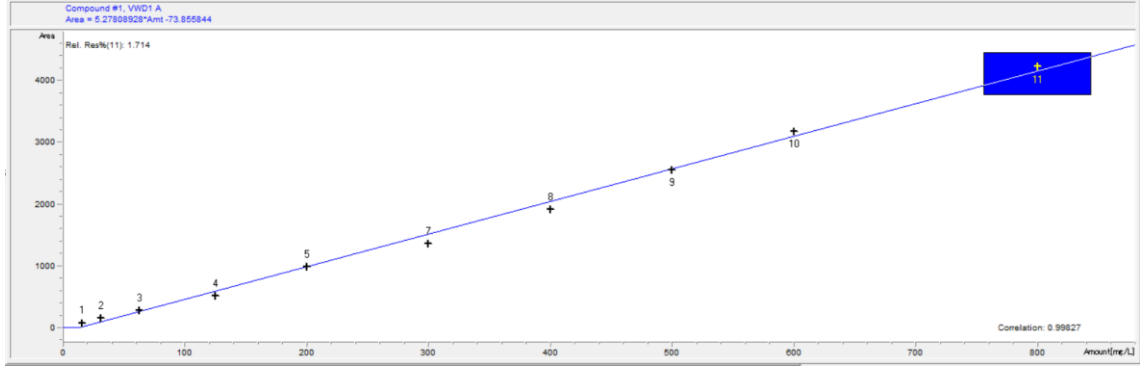
- Sen, C. K., Khanna, S. ve Roy, S., 2004, Tocotrienol: the natural vitamin E to defend the nervous system?, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1031 (1), 127-142.
- Sergi, D., Sanz, J. M., Lazzer, S., Brombo, G., Zuliani, G., Biolo, G., Šimunič, B., Pišot, R., Dalla Nora, E. ve Passaro, A., 2023, Interleukin-18 is a potential biomarker linking dietary fatty acid quality and insulin resistance: Results from a cross-sectional study in northern Italy, *Nutrients*, 15 (7), 1782.
- Shapi'i, R. A., Othman, S. H., Naim, M. N. ve Basha, R. K., 2019, Effect of initial concentration of chitosan on the particle size of chitosan nanoparticle, *International Journal of Nanotechnology*, 16 (11-12), 680-691.
- Shastak, Y., Obermueller-Jevic, U. ve Pelletier, W., 2023, A century of vitamin E: Early milestones and future directions in animal nutrition, *Agriculture*, 13 (8), 1526.
- Shavronskaya, D. O., Noskova, A. O., Skvortsova, N. N., Adadi, P. ve Nazarova, E. A., 2023, Encapsulation of hydrophobic bioactive substances for food applications: Carriers, techniques, and biosafety, *Journal of Food Processing and Preservation*, 2023 (1), 5578382.
- Siger, A., Czubinski, J., Kachlicki, P., Dwiecki, K., Lampart-Szczapa, E. ve Nogala-Kalucka, M., 2012, Antioxidant activity and phenolic content in three lupin species, *Journal of food composition and analysis*, 25 (2), 190-197.
- Sipoli, C. C., Santana, N., Shimojo, A. A. M., Azzoni, A. ve de la Torre, L. G., 2015, Scalable production of highly concentrated chitosan/TPP nanoparticles in different pHs and evaluation of the in vitro transfection efficiency, *Biochemical engineering journal*, 94, 65-73.
- Somwong, P. ve Theanphong, O., 2021, Quantitative analysis of triterpene lupeol and anti-inflammatory potential of the extracts of traditional pain-relieving medicinal plants *Derris scandens*, *Albizia procera*, and *Diospyros rhodocalyx*, *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 12 (2), 147-151.
- Sorasitthiyankarn, F. N., Muangnoi, C., Thaweesest, W., Rojsitthisak, P. ve Rojsitthisak, P., 2019, Enhanced cytotoxic, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumin diethyl disuccinate using chitosan-tripolyphosphate nanoparticles, *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 53, 101118.
- Sunitha, S., Nagaraj, M. ve Varalakshmi, P., 2001, Hepatoprotective effect of lupeol and lupeol linoleate on tissue antioxidant defence system in cadmium-induced hepatotoxicity in rats, *Fitoterapia*, 72 (5), 516-523.
- Tan, C., Feng, B., Zhang, X., Xia, W. ve Xia, S., 2016, Biopolymer-coated liposomes by electrostatic adsorption of chitosan (chitosomes) as novel delivery systems for carotenoids, *Food hydrocolloids*, 52, 774-784.
- Tang, Q. ve Dai, Y., 2016, Immunomodulatory effects of supercritical fluid CO₂ extracts from freeze-dried powder of *Tenebrio molitor* larvae (yellow mealworm), *Food Science and Technology*, 36, 493-498.
- Tarhan, İ., 2018, Zeytinyağı distilatındaki biyoaktif bileşenlerin monolitik kolonlarla incelenmesi.
- Timilsena, Y. P., Haque, M. A. ve Adhikari, B., 2020, Encapsulation in the food industry: A brief historical overview to recent developments, *Food and Nutrition Sciences*, 11 (6), 481-508.
- Tiwari, R., Jain, R., Dubey, R. S., Tiwari, A. ve Shukla, A. K., 2021, Lupeol: Bioactive triterpenoid act as anti-inflammatory agent, *Advance Pharmaceutical Journal*, 6 (2), 48-51.
- Tokuyama, S. ve Nakamoto, K., 2011, Unsaturated fatty acids and pain, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 34 (8), 1174-1178.

- Topkafa, M., 2016, Evaluation of chemical properties of cold pressed onion, okra, rosehip, safflower and carrot seed oils: triglyceride, fatty acid and tocol compositions, *Analytical methods*, 8 (21), 4220-4225.
- Torres-Fuentes, C., Suarez, M., Aragones, G., Mulero, M., Ávila-Román, J., Arola-Arnal, A., Salvadó, M. J., Arola, L., Bravo, F. I. ve Muguerza, B., 2022, Cardioprotective properties of phenolic compounds: A role for biological rhythms, *Molecular Nutrition & Food Research*, 66 (21), 2100990.
- Trepa, M., Sułkowska-Ziaja, K., Kała, K. ve Muszyńska, B., 2024, Therapeutic potential of fungal terpenes and terpenoids: application in skin diseases, *Molecules*, 29 (5), 1183.
- Trombino, S., Poerio, T., Curcio, F., Piacentini, E. ve Cassano, R., 2022, Production of α -tocopherol–chitosan nanoparticles by membrane emulsification, *Molecules*, 27 (7), 2319.
- Ude, M., Ashraf-Khorassani, M. ve Taylor, L., 2002, Supercritical fluid extraction of plasticizers in poly (vinyl butyral)(PVB) and analysis by supercritical fluid chromatography, *Chromatographia*, 55, 743-748.
- Uzun, B., Arslan, C., Karhan, M. ve Toker, C., 2007, Fat and fatty acids of white lupin (*Lupinus albus* L.) in comparison to sesame (*Sesamum indicum* L.), *Food chemistry*, 102 (1), 45-49.
- Valle, J. A. B., Valle, R. d. C. S. C., Bierhalz, A. C. K., Bezerra, F. M., Hernandez, A. L. ve Lis Arias, M. J., 2021, Chitosan microcapsules: Methods of the production and use in the textile finishing, *Journal of applied polymer science*, 138 (21), 50482.
- Vázquez, L., Bañares, C., Chabni, A., Reglero, G. ve Torres, C. F., 2024, Supercritical fluid technology for lupin hulls valorization: extraction and fractionation of lupeol, *Biomass Conversion and Biorefinery*, 1-11.
- Velavan, S., 2015, Phytochemical techniques-a review, *World Journal of Science and Research*, 1 (2), 80-91.
- Vidya, L., Lenin, M. ve Varalakshmi, P., 2002, Evaluation of the effect of triterpenes on urinary risk factors of stone formation in pyridoxine deficient hyperoxaluric rats, *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 16 (6), 514-518.
- Vollmannova, A., Lidikova, J., Musilova, J., Snirc, M., Bojnanska, T., Urmínska, D., Tirdilova, I. ve Zetochova, E., 2021, White Lupin as a promising source of antioxidant phenolics for functional food production, *Journal of Food Quality*, 2021 (1), 5512236.
- Vuolo, M. M., Lima, V. S. ve Junior, M. R. M., 2019, Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power, In: *Bioactive compounds*, Eds: Elsevier, p. 33-50.
- Wang, L., Feng, L., Prabahar, K., Hernández-Wolters, B. ve Wang, Z., 2024, The effect of phytosterol supplementation on lipid profile: A critical umbrella review of interventional meta-analyses, *Phytotherapy Research*, 38 (2), 507-519.
- Wiedemann, M., Gurrola-Díaz, C. M., Vargas-Guerrero, B., Wink, M., García-López, P. M. ve Düfer, M., 2015, Lupanine improves glucose homeostasis by influencing KATP channels and insulin gene expression, *Molecules*, 20 (10), 19085-19100.
- Woyengo, T., Ramprasath, V. ve Jones, P., 2009, Anticancer effects of phytosterols, *European journal of clinical nutrition*, 63 (7), 813-820.
- Wu, J., Shu, Q., Niu, Y., Jiao, Y. ve Chen, Q., 2018, Preparation, characterization, and antibacterial effects of chitosan nanoparticles embedded with essential oils

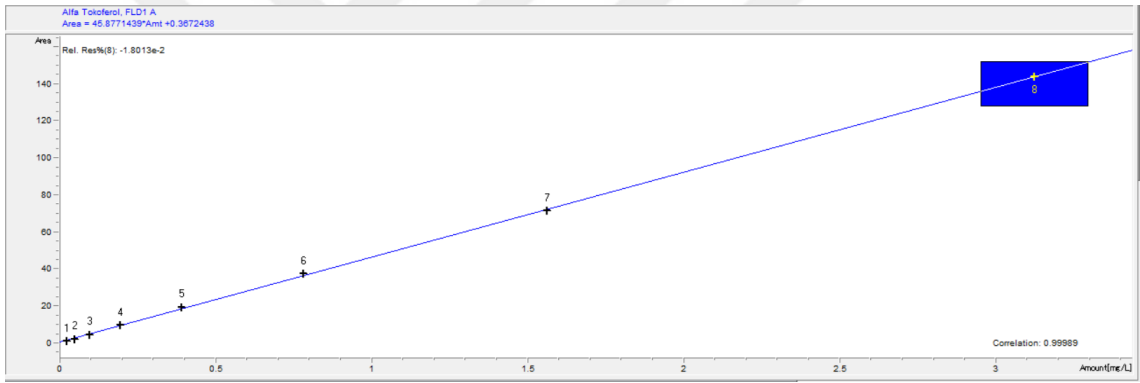
- synthesized in an ionic liquid containing system, *Journal of agricultural and food chemistry*, 66 (27), 7006-7014.
- Yahaya, M. F., Zainodin, A., Pupathy, R., Min, E. O. H., Bakar, N. A., Zamri, N. A., Ismail, H. ve Mohd Ramli, E., 2018, The effect of palm tocotrienol on surface osteoblast and osteoclast in excess glucocorticoid osteoporotic rat model, *Sains Malaysiana*, 47 (11), 2731-2739.
- Yanat, M. ve Schroën, K., 2021, Preparation methods and applications of chitosan nanoparticles; with an outlook toward reinforcement of biodegradable packaging, *Reactive and Functional Polymers*, 161, 104849.
- Yorgancılar, M. ve Bilgiçli, N., 2014, Chemical and nutritional changes in bitter and sweet lupin seeds (*Lupinus albus* L.) during bulgur production, *Journal of food science and technology*, 51, 1384-1389.
- Yorgancılar, M., 1996, Doğanhisar’da lüpen ziraatı, *Selçuk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Lisans Semineri*.
- Zabot, G. L., Schaefer Rodrigues, F., Polano Ody, L., Vinícius Tres, M., Herrera, E., Palacin, H., Córdova-Ramos, J. S., Best, I. ve Olivera-Montenegro, L., 2022, Encapsulation of bioactive compounds for food and agricultural applications, *Polymers*, 14 (19), 4194.
- Zare, M., Samani, S. M. ve Sobhani, Z., 2018, Enhanced intestinal permeation of doxorubicin using chitosan nanoparticles, *Advanced pharmaceutical bulletin*, 8 (3), 411.
- Zhou, C., Tabb, M. M., Sadatrafi, A., Grün, F. ve Blumberg, B., 2004, Tocotrienols activate the steroid and xenobiotic receptor, SXR, and selectively regulate expression of its target genes, *Drug Metabolism and Disposition*, 32 (10), 1075-1082.
- Zou, Y., Jiang, Y., Yang, T., Hu, P. ve Xu, X., 2012, Minor constituents of palm oil: Characterization, processing, and application, In: *Palm oil*, Eds: Elsevier, p. 471-526.

EKLER

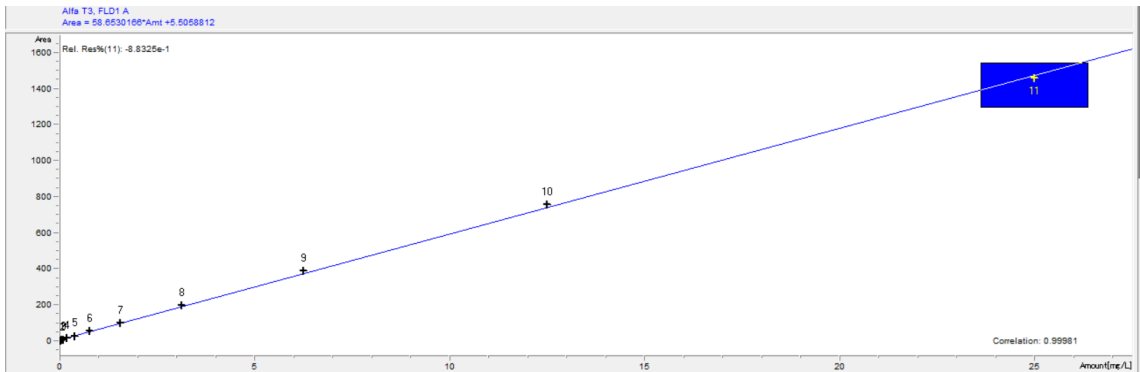
EK-1 Lupeol Kalibrasyon Grafiği



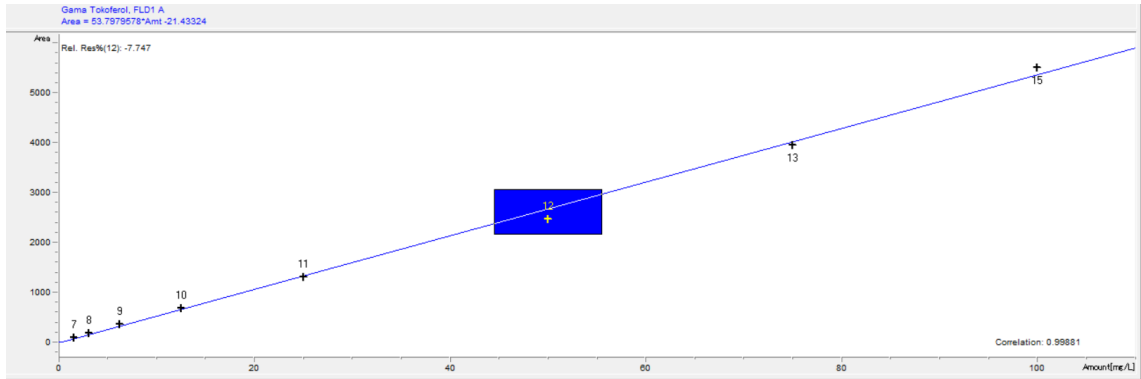
EK-2 α -Tokoferol Kalibrasyon grafiği



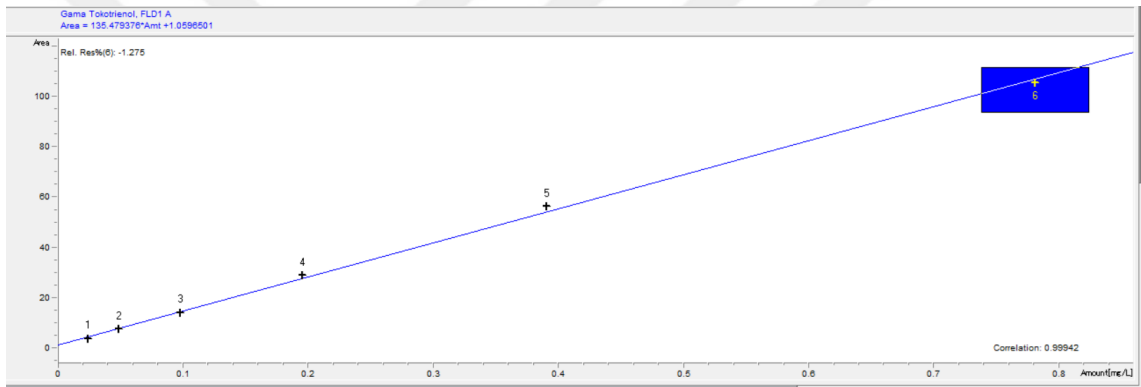
EK-3 α -Tokotrienol Kalibrasyon grafiği



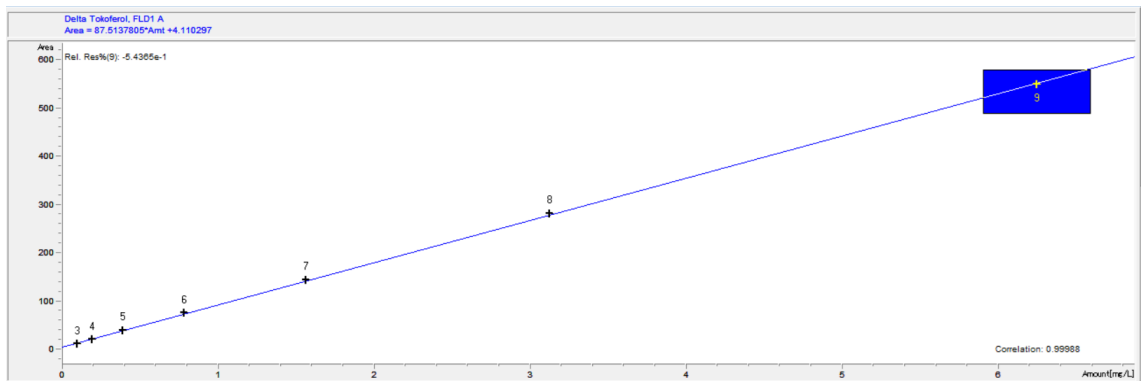
EK-4 γ -tokoferol Kalibrasyon grafiği

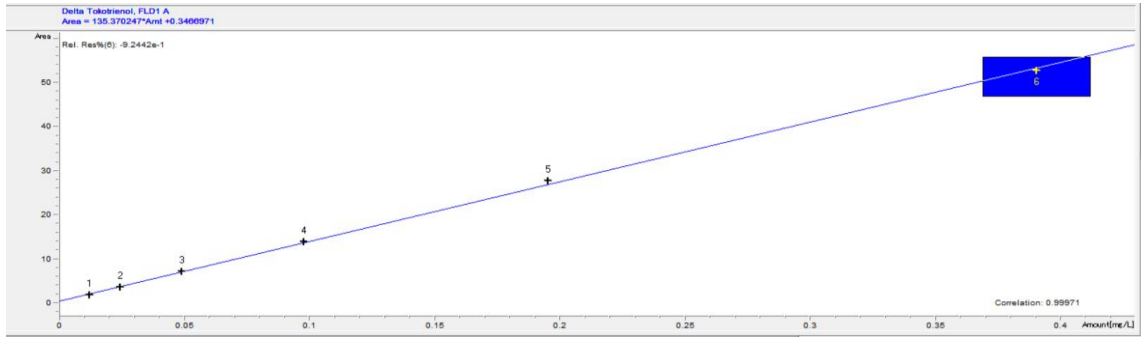


EK-5 γ -Tokotrienol Kalibrasyon grafiği



EK-6 δ -Tokoferol Kalibrasyon grafiği



EK-7 γ -Tokotrienol Kalibrasyon grafiği

ÖZGEÇMİŞ

