



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAYMAK AĞACI (FEİJOA SELLOWIANA) MEYVESİNİN İKİNCİL
METABOLİTLERİ: EKSTRAKSİYON KİNETİĞİ, EKSTRAKTIN KALİTESİ VE
STABİLİTESİ**

Ramiz ABİSHLİ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ**

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Tezli Yüksek Lisans Programı

Mayıs, 2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Ramiz ABISHLI tarafından, **Prof. Dr. Selin Şahin SEVGİLİ** danışmanlığında hazırlanan "**Tez Adı**" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **07/06/2023** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

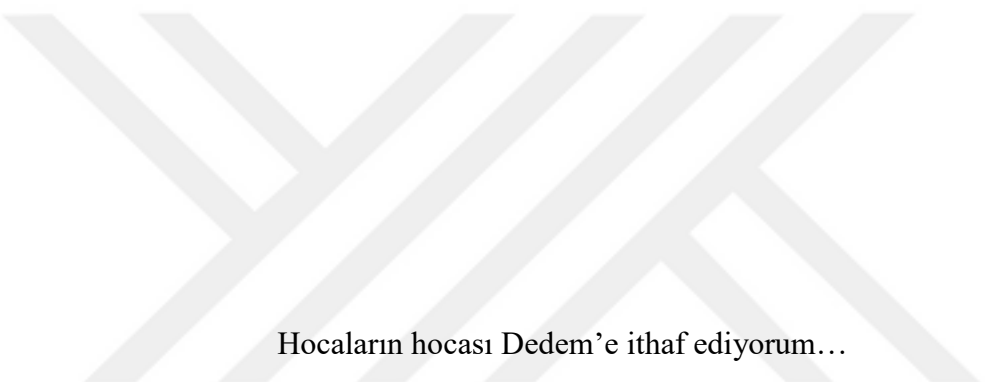
	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Nahide Gülşah DENİZ İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Organik Kimya Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Gökçe MEREY Marmara Üniversitesi Temel Sağlık Bilimleri Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Ramiz ABISHLI

(İmza)



Hocaların hocası Dedem'e ithaf ediyorum...

BÜTÇE DESTEKLERİ

KAYMAK AĞACI (FEIJOA SELLOWIANA) MEYVESİNİN İKİNCİL METABOLİTLERİ: EKSTRAKSİYON KİNETİĞİ, EKSTRAKTIN KALİTESİ VE STABİLİTESİ

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.

TEŞEKKÜR

En başta danışmanım Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ hocama çalışmalarım süresince ilgisini, sevgisini ve bilgi birikimini eksik etmediğinden, en başından en sona kadar gösterdiği inanılmaz desteğinden ve yardımlarından dolayı teşekkür ediyorum.

Bana çok değerli yardımlar sağlayan, Dr. Öğr. Üyesi Ebru KURTULBAŞ ŞAHİN ve Arş.Gör. İrem TOPRAKÇI YÜKSEL'e teşekkür ederim.

Çalışmalarım boyunca bana fazlasıyla yardım eden, zamanını ayıran Yüksek Lisans arkadaşım Raneen ALBARRİ'ye çok minnettarım.

Bana inanan, güvenen, Yüksek Lisans yapmaya ikna eden ve maddi, manevi her anlamda destek olan amcam Agshin ABISHOV'a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen canım annem ve babam başta olmak üzere tüm aileme, sevdiklerime ve sevdiğime her şey için çok teşekkür ederim.

Son olarak, beni yetiştiren, her zaman bilgisiyle kılavuzluk yapan, hayatı öğreten emekli öğretmen, 'Hocaların hocası' diye hitap ettiğim ve bu tezi de ithaf ettiğim canım dedem Zakir ABISHOV'a çok çok minnettarım.

Mayıs 2023

Ramiz ABISHLI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	x
TABLO LİSTESİ.....	xiii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ.....	xv
ÖZET	xviii
ABSTRACT	xx
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	3
2.1. Feijoanın orjini ve yetiştirildiği bölgeler	3
2.2. Yetiştirildiği bölgeler	3
2.3. Medikal alanda kullanımı	5
2.4. FENOLİK BİLEŞİKLER	6
2.4.1. Flavonoidler	6
2.4.2. Fenolik asit	7
2.4.3. Antioksidan aktivite	7
2.5. EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ.....	9
2.5.1. Katı-sıvı ekstraksiyon.....	9
2.5.2. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon (HDE).....	9
2.5.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE)	10
2.5.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE)	12
2.5.5. Otomatik Solvent Ekstraksiyonu (OSE)	13
2.6. FENOLİK BİLEŞİKLERİN ANALİZ YÖNTEMLERİ	15
2.6.1. Spektrofotometrik analizler.....	15
2.6.2. Folin-Ciocalteu ile Toplam Fenolik Madde (TPM) Analizi	16

2.6.3. Alüminyum Klorür Kolorimetrik ile Toplam Flavonoid Madde (TPC) Tayini.....	17
2.6.4. DPPH ile antioksidan kapasitesinin tayin yöntemi	18
2.6.5. ABTS ile antioksidan kapasitesinin tayin yöntemi	18
3. YÖNTEM	20
3.1. MALZEME VE CİHAZLAR	20
3.2. EKSTRAKSİYON İŞLEMLERİ	21
Fitokimyasallarca zengin bitkisel materyallerden özüt elde etmek için dört farklı çevre dostu yöntem kullanılmıştır: HDE, OSE, UDE ve MDE. Her yöntemin deneysel tasarımı, istatistiksel deneysel tasarım yöntemi olan YYM ile yapılmıştır. Proses şartlarının optimizasyonu ve modelleme çalışmaları da aynı istatistiksel deneysel tasarım yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.	21
3.2.1. Homojenizatör-Destekli Ekstraksiyon Yöntemi	21
3.2.2. Ultrason-Destekli Ekstraksiyon Yöntemi.....	22
3.2.3. Mikrodalga-Destekli Ekstraksiyon Yöntemi.....	22
3.2.4. Otomatik Solvent Ekstraksiyon Yöntemi.....	23
3.3. ANALİZ İŞLEMLERİ.....	25
3.3.1. Toplam Fenolik Madde Tayini.....	25
3.3.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini.....	25
3.3.3. ABTS Antioksidan Tayin Yöntemi.....	26
3.3.4. DPPH Antioksidan Tayin Yöntemi.....	26
3.4. KİNETİK, TERMODİNAMİK VE KÜTLE TRANSFERİ ÇALIŞMALARI	28
3.5. İSTATİSTİKSEL DENEYSEL TASARIM	31
4. BULGULAR	32
4.1. ÖN DENEMELER	32
4.2. KİNETİK, KÜTLE İLETİMİ VE TERMODİNAMİK ÇALIŞMALAR	34
4.2.1. Ultrason-Destekli Ekstraksiyon.....	34
4.2.2. Mikrodalga-Destekli Ekstraksiyon.....	40
4.3. MODELLEME VE OPTİMİZASYON ÇALIŞMALARI.....	47
4.3.1. Otomatik Solvent Ekstraksiyonu.....	47
4.3.2. Homojenizatör-Destekli Ekstraksiyon	55
4.3.3. Mikrodalga-Destekli Ekstraksiyon.....	64
4.4. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE	73
4.5. KARŞILAŞTIRMALI SONUÇLAR.....	74
5. TARTIŞMA.....	75
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

7. KAYNAKLAR.....	79
EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	86
ÖZGEÇMİŞ	87



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1 Feijoa meyvesi ve meyvenin kesiti	3
Şekil 2.2 Feijoa ağacı	4
Şekil 2.3 Feijoa bitkisinin çiçeği	5
Şekil 2.4 Flavonoidlerin alt grupları.....	7
Şekil 2.5 Homojenizatör ve rotor-statör düzeneği.....	10
Şekil 2.6 Ultrason destekli ekstraksiyon cihazı.....	12
Şekil 2.7 Mikrodalga destekli ekstraksiyon.....	13
Şekil 2.8 Otomatik Solvent Ekstraktörü	14
Şekil 2.9 Spektrofotometre analizörü	16
Şekil 3.1 Feijoa meyvesinin kabukları	20
Şekil 3.2 IKA T25 Ultra Turrax Homojenizatörü	21
Şekil 3.3 NEOS-GR cihazı mikrodalga ekstraksiyon cihazı	23
Şekil 3.4 Otomatik Solvent Ekstraksiyonu cihazı	24
Şekil 3.5 Folin ciocalteu yöntemi	25
Şekil 3.6 Alüminyum klorür yöntemi.....	26
Şekil 3.7 AA-ABTS yöntemi	26
Şekil 3.8 AA-DPPH yöntemi	27
Şekil 4.1 Kaymak ağacının (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyve ve kabuklarının toplam fenolik madde açısından karşılaştırması.....	32
Şekil 4.2 UDE sisteminde farklı genliklerde dengeye gelme süresinin belirlenmesi.....	35
Şekil 4.3 Sıcaklık ile denge sabiti arasındaki ilişki	36
Şekil 4.4 Farklı sıcaklık değerlerindeki difüzyon katsayıları	38

Şekil 4.5 Farklı sıcaklık değerlerindeki kütle transfer katsayıları	38
Şekil 4.6 Farklı sıcaklık değerlerindeki Biot sayıları	39
Şekil 4.7 Entropi değişimi ile denge sabiti arasındaki ilişki.....	40
Şekil 4.8 MDE sisteminde farklı genliklerde dengeye gelme süresinin belirlenmesi	42
Şekil 4.9 Sıcaklık ile denge sabiti arasındaki ilişki	43
Şekil 4.10 Farklı sıcaklık değerlerindeki Biot sayıları	44
Şekil 4.11 Farklı sıcaklık değerlerindeki kütle transfer katsayıları	45
Şekil 4.12 Farklı sıcaklık değerlerindeki difüzyon katsayıları	45
Şekil 4.13 Entropi değişimi ile denge sabiti arasındaki ilişki.....	46
Şekil 4.14 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde kabuk parçacık boyutu ile ekstraksiyon süresinin TPM miktarı üzerine etkisi	49
Şekil 4.15 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde kabuk parçacık boyutu ile çözücü konsantrasyonunun TPM miktarı üzerine etkisi	49
Şekil 4.16 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonunun TPM miktarı üzerine etkisi	50
Şekil 4.17 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde kabuk parçacık boyutu ile ekstraksiyon süresinin TFM miktarı üzerine etkisi	51
Şekil 4.18 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde kabuk parçacık boyutu ile çözücü konsantrasyonunun TFM miktarı üzerine etkisi	52
Şekil 4.19 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonunun TFM miktarı üzerine etkisi	52
Şekil 4.20 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresinin TPM miktarı üzerine etkisi	57
Şekil 4.21 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde çözücü konsantrasyonu ile karıştırma hızının TPM miktarı üzerine etkisi	58
Şekil 4.22 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile karıştırma hızının TPM miktarı üzerine etkisi	59

Şekil 4.23 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresinin TFM miktarı üzerine etkisi	60
Şekil 4.24 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde çözücü konsantrasyonu ile karıştırma hızının TFM miktarı üzerine etkisi	61
Şekil 4.25 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile karıştırma hızının TFM miktarı üzerine etkisi	61
Şekil 4.26 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde mikrodalga gücü ile ekstraksiyon süresinin TPM miktarı üzerine etkisi....	66
Şekil 4.27 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde mikrodalga gücü ile çözücü konsantrasyonunun TPM miktarı üzerine etkisi	66
Şekil 4.28 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonunun TPM miktarı üzerine etkisi	67
Şekil 4.29 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde mikrodalga gücü ile ekstraksiyon süresinin TFM miktarı üzerine etkisi....	68
Şekil 4.30 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde mikrodalga gücü ile çözücü konsantrasyonunun TFM miktarı üzerine etkisi	68
Şekil 4.31 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonunun TFM miktarı üzerine etkisi	69
Şekil 4.32 Ekstraksiyon yöntemlerinin fenolik miktar karşılaştırılması	74

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1 UDE sisteminde farklı genlik ve sürelerde ekstrakte edilen <i>Feijoa sellowiana</i> kabuklarının TPM içerikleri*	34
Tablo 4.2 UDE sistemine ait kinetik parametreler	36
Tablo 4.3 UDE sistemine ait difüzyon katsayısı, Biot sayısı ve kütle transfer katsayısı değerleri	37
Tablo 4.4 UDE sistemine ait termodinamik parametre değerleri	40
Tablo 4.5 MDE sisteminde farklı genlik ve sürelerde ekstrakte edilen <i>Feijoa sellowiana</i> kabuklarının TPM içerikleri *	41
Tablo 4.6 MDE sistemine ait kinetik parametreler	43
Tablo 4.7 MDE sistemine ait difüzyon katsayısı, Biot sayısı ve kütle transfer katsayısı değerleri	44
Tablo 4.8 MDE sistemine ait termodinamik parametre değerleri	46
Tablo 4.9 OSE sisteminde seçilen parametreler, sembolleri, seviye ve kodları	47
Tablo 4.10 OSE sisteminde MKT deseni ile elde edilen sonuçlar*	48
Tablo 4.11 OSE sistemine ait varyans analiz sonuçları	54
Tablo 4.12 OSE sistemi için optimum koşullar ve koşulların validasyonu	55
Tablo 4.13 HDE sisteminde seçilen parametreler, sembolleri, seviye ve kodları	55
Tablo 4.14 HDE sisteminde MKT deseni ile elde edilen sonuçlar	56
Tablo 4.15 HDE sistemine ait varyans analiz sonuçları	63
Tablo 4.16 HDE sistemi için optimum koşullar ve koşulların validasyonu	64
Tablo 4.17 MDE sisteminde seçilen parametreler, sembolleri, seviye ve kodları	64
Tablo 4.18 MDE sisteminde MKT deseni ile elde edilen sonuçlar	65
Tablo 4.19 MDE sistemine ait varyans analiz sonuçları	71
Tablo 4.20 MDE sistemi için optimum koşullar ve koşulların validasyonu	72

Tablo 4.21 Kaymak ağacı (<i>Feijoa sellowiana</i>) meyvesinin kabuklarına uygulanan HDE metodundan elde edilen ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri	73
---	----



SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
pH	: Çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birimi
°C	: Derece santigrat
mm	: Milimetre
cm	: Santimetre
m	: Metre
µm	: Mikrometre
nm	: Nanometre
L	: Litre
ml	: Mililitre
µL	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
%	: Yüzde
W	: Watt (power)
Hz	: Hertz
kHz	: Kiloherz
rpm	: Dakika başına devir
Pa	: Paskal
kPa	: Kilopaskal
3D	: Üç boyutlu
r	: Korelasyon
R²	: Belirtme katsayısı
A	: Absorbans
l	: Yol uzunluğu
c	: Emici konsantrasyon
ε	: Molar absorbans katsayısı
β₀	: Sabit
atm	: Atmosferik basınç

T	: Transmittans
I	: Işık huzmesinin yoğunluğu
I₀	: Işın yoğunluğu
ΔG°	: Gibbs enerjisi
ΔH°	: Entalpi
ΔS°	: Entropi farkı

Kısaltmalar

Açıklama

AA	: Antioksidan aktivite
ABTS	: 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ANOVA	: Varyans analiz
CE	: Kateşin eşdeğeri
CV	: Varyasyon katsayısı
CUPRAC	: Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FCR	: Folin&Ciocalteu reaktifi
FRAP	: Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü Yöntemi
GAE	: Gallik asit eşdeğer
OÇE	: Otomatik çözücü ekstraksiyonu
OSE	: Otomatik solvent ekstraksiyonu
HAE	: Homogenizer Assisted Extraction
HDE	: Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon
MAE	: Microwave Assisted Extraction
MDE	: Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

MKT	: Merkezi Kompozit Tasarım
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
TEAC	: Troloks eşdeğeri
TFC	: Total flavonoid content
TFM	: Toplam flavonoid madde miktarı
TPC	: Total phenolic content
TPM	: Toplam fenolik madde miktarı
UV-Vis	: Ultraviyole ve görünür bölge
UAE	: Ultrasonic Assisted Extraction
UDE	: Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon
Ys	: Ekstrake miktarı
YYM	: Yanıt Yüzey Metodu

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KAYMAK AĞACI (*FEIJOA SELLOWIANA*) MEYVESİNİN İKİNCİL METABOLİTLERİ: EKSTRAKSİYON KİNETİĞİ, EKSTRAKTIN KALİTESİ VE STABİLİTESİ

Ramiz ABİSHLİ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman : Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ

Biyoaktif bileşen içeren bitki ekstraktları, gıda, farmasötik ve kozmetik sektörlerinde kullanılma potansiyeline sahip oldukları için büyük ilgi çekmektedir. Diğer taraftan, bazı çalışmalar sentetik antioksidanların olası toksik etkilerini gösterdiği için doğal antioksidan kaynaklarının önemi dikkat çekmiştir. Bu tezde, doğal antioksidan kaynağı olarak kaymak ağacının (*Feijoa sellowiana*) meyvesi incelenmiştir. Meyvenin kendisi ve ağırlığının önemli bir kısmını kapsayan kabukları karşılaştırmalı olarak irdelenmiştir. İçeriğindeki ikincil metabolitleri temsil eden fenolik madde miktarları açısından değerlendirilmiş, biyoaktif bileşen açısından en zengin olan meyve bölümünün kabuk olduğu tespit edilmiştir. Tezin ilk aşamasında ikincil metabolit kaynağı meyvenin kabuğu olarak belirlendikten sonra, ultrason-destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga-destekli ekstraksiyon (MDE) yöntemleri ile fenolik maddelerce zengin ekstrakt elde edilmiştir. Her iki sistemin öncelikle kinetiği incelenmiş, ardından kütle iletimi ve termodinamik parametreleri hesaplanmıştır. Üçüncü aşama, ekstraksiyon yöntemlerinin optimizasyonu ve modellemesini oluşturmaktadır. Söz konusu biyokütlenin otomatik solvent ekstraksiyonu (OSE), homojenizatör-destekli

ekstraksiyon (HDE) ve MDE yöntemleri ile ekstraksiyonunda, sistemlerin deneysel tasarımı, modellenmesi ve optimizasyonu Design-Expert paket programı (versiyon 12) kullanılarak Yanıt Yüzey Metodu (YYM) ile gerçekleştirilmiştir. YYM'nin Merkezi Komposit Tasarım alt türü kullanılmıştır. Her bir sistem için toplam fenolik ve ve flavonoid içerikleri bağımlı değişken (cevap) olarak atanmıştır. Uygulanan ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak da farklı proses parametreleri bağımsız değişken (proses faktörü) olarak belirlenmiştir. Dördüncü aşamada ise farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktların kalite parametreleri (fenolik içerik, flavonoid içerik ve antioksidan aktivite gibi) değerlendirilmiştir. |

Mayıs 2023 , |86| sayfa.

Anahtar kelimeler: |Biyokütle, biyoaktif malzeme, aktivasyon enerjisi, Biot sayısı, optimizasyon, Yanıt Yüzey Metodu. |

ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

**[SECONDARY METABOLITES OF *FEIJOA SELLOWIANA* FRUIT: EXTRACTION
KINETICS, QUALITY AND STABILITY OF THE EXTRACT]**

[Ramiz ABISHLI]

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Unit Operations and Thermodynamics Program

[Supervisor : Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ]

Plant extracts containing bioactive components are of great interest as they have the potential to be used in the food, pharmaceutical and cosmetic industries. On the other hand, the importance of natural antioxidant sources has attracted attention since some studies have shown the possible toxic effects of synthetic antioxidants. In this thesis, the fruit of the kaymak tree (*Feijoa sellowiana*) was investigated as a natural antioxidant source. The fruit itself and its peel, which covers a significant part of its weight, were examined comparatively. It was evaluated in terms of the amount of phenolic substances representing the secondary metabolites in its content. It was determined that the richest part of the fruit in terms of bioactive component was the peel. In the first stage of the thesis, extract samples rich in phenolic substances were obtained by ultrasound-assisted extraction (UAE) and microwave-assisted extraction (MAE) methods, after determining the secondary metabolite source as the peel of the fruit. First, the kinetics of both systems were examined, then the mass transfer and thermodynamic parameters were calculated. The third stage was the optimization and modeling of the extraction processes. Experimental design, modeling and optimization of the

extraction systems for the biomass by automatic solvent extraction (ASE), homogenizer-assisted extraction (HAE) and MAE methods were carried out with the Response Surface Method (RSM) using the Design-Expert software (version 12). RSM's Central Composite Design subtype was used. The total phenolic and flavonoid contents for each system were assigned as the dependent variable (response). Depending on the extraction method applied, different process parameters were determined as the independent variable (process factor). In the fourth stage, the quality parameters (such as phenolic content, flavonoid content and antioxidant activity) of the extracts obtained by different methods were evaluated. |

March 2023, |86| pages.

Keywords: |Biomass, bioactive material, activation energy, Biot number, optimization, Response Surface Method.|

1. GİRİŞ

Meyve ve sebzelerden elde edilen ekstraktların sağlık faydalarının araştırılması durmaksızın devam etmektedir [1]. Bitkisel ekstraktlar, doğal kaynaklı ikincil metabolitlerin zengin bir kaynağıdır ve son yıllarda farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrilerinde büyük ilgi görmektedir. Bu ekstraktların en önemli biyoaktivitelerinden biri antioksidan aktivitedir ve bitkisel fenolik bileşikler, fenolik asitler, flavonoidler ve tanenler gibi bir grup doğal antioksidanın önemli bir kaynağıdır [2]. Artmış oksidatif stres ile kardiyovasküler ve metabolik hastalıklar, Alzheimer hastalığı ve kanser gibi birçok hastalık, ayrıca yaşlanma arasındaki açık ilişki nedeniyle, antioksidanlar hastalık önlemede ve tedavisinde, sağlık teşviki ve anti-agingde önemlidir [3]. Gıda ve Tarım Örgütü'ne (FAO) göre, insan tüketimi için üretilen 1.3 milyar ton gıda israf edilmekte ve bu 1 trilyon dolarlık bir kayba neden olmaktadır [4]. Ancak, bu atıklarda bulunan polifenoller, karotenoidler ve yağ asitleri gibi biyoaktif bileşikler antioksidan, antikanser, anti-enflamatuar, antiviral gibi birçok faydaya sahiptir.

Feijoa (*Feijoa sellowiana*) meyvesi, bu alanda büyük bir potansiyele sahip olan bir bitki olarak dikkat çekmektedir. Feijoa'nın besleyici değeri ve sağlık üzerindeki olumlu etkileri giderek daha fazla araştırılmaktadır. Feijoa pulpu sulu ve tatlıdır, ancak kabuğu, meyve ağırlığının yaklaşık %50'sini temsil eder ve meyvenin endüstriyel işleme sırasında atılır çünkü ekşi ve acıdır [5]. Bu meyvenin hem yaprakları hem de atık olarak kabul edilen kabukları antioksidan aktivite gösteren fenolik bileşikler ve diğer biyoaktif maddeler bakımından zengindir. Antioksidanlar, hücre hasarını önleyerek serbest radikallerin etkilerini azaltabilir ve çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlayabilir. Fenolik bileşikler ise antioksidan etkileri ile bağlantılıdır ve insan sağlığı üzerinde olumlu etkilere sahip olabilir.

Bu tez kapsamında öncelikle feijoa meyvesi ve kabukları karşılaştırmalı olarak biyoaktif içeriği açısından karşılaştırılmıştır. Kabuklarının meyvesinden çok daha yüksek seviyede ikincil metabolit içerdiği tespit edildikten sonra çalışmaya kabuk üzerinden devam edilmiştir. Ekstraktlar farklı yöntemlerle elde edilmiştir. Otomatik solvent ekstraksiyonu (OSE), homojenizatör-destekli ekstraksiyon (HDE), ultrason-destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga-destekli ekstraksiyon (MDE) olmak üzere dört farklı yöntem incelenmiştir. Söz

konusu yöntemlerle elde edilen ürünlerin ikincil metabolitleriyle ilgili değerler (fenolik madde, flavonoid madde, farklı yöntemlerle ölçülen antioksidan aktivite gibi) irdelenmiştir. Bu şekilde elde edilen ürünlerin kalitesi değerlendirilmiştir. Yanıt Yüzey metodu ile ekstraksiyon sistemlerinin modelleme ve optimizasyonunun yanı sıra, tezin odaklandığı konular arasında bazı yöntemlerin ekstraksiyon kinetiği, kütle iletim mekanizması ve termodinamiği de yer almaktadır. Bu çalışma, bitkisel ekstraktların önemi ve feijoa meyvesinin potansiyeli üzerindeki vurguyu artırmayı hedeflemektedir. Ayrıca antioksidanlar ve fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki önemini de vurgulayarak, gelecekteki araştırmalara yol gösterebilecek değerli bilgiler sunmaktadır.



2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1. Feijoa'nın orjini ve yetiştirildiği bölgeler

Feijoa (*Feijoa sellowiana* ya da *Acca sellowiana*), tatlı ve hoş kokulu bir meyvedir(Şekil2.1). Meyve kabuğu, türüne bağlı olarak parlak veya zeytin yeşil renklidir. Gıda sanayisinde yaygın olarak kullanılan Feijoa, aynı zamanda süs bitkisi, ilaç ve tekstil sanayisinde de kullanılan çok yönlü bir bitkidir[6][7]. Bilimsel literatürde bahsedilen meyve ve sebzeler arasında, en yüksek iyot içeriğine sahip olduğu bilinmektedir[8].



Şekil 2.1 Feijoa meyvesi ve meyvenin kesiti

Son yıllarda, dünya genelinde ve Türkiye'de Feijoa bitkisine olan ilgi artmıştır. Bu artışın nedeni, yüksek iyot içeriğine ve güçlü antioksidan kapasitesine sahip olması gibi araştırmacılar için faydalı özelliklerinin yanı sıra, bitkinin yapraklarının her mevsim yeşil kalması, güzel çiçekler açması ve peyzaj amaçlı kullanılabilmesi gibi yetiştiriciler için de faydalı özellikleridir. Taze olarak tüketilebildiği gibi, işlenmiş ürünleri de mevcuttur, örneğin meyve suyu, reçel, şarap ve likör gibi[9]

Myrtaceae ailesinin monotopik bir türü olan Feijoya (*Feijoa sellowiana* ya da *Acca sellowiana*) yaprak dökmeyen çalı ve ya küçük ağaçtır. Anavatanı Güney Amerika olarak bilinmekte ve Paraguay, Brezilya, Uruguay ve Arjantin'in yüksek rakımlı bölgelerinde bulunur[10]. Türkiye'de 'Kaymak ağacı'olarak da adlandırılan Fejoya 'Pineapple guava' ismiyle de bilinmektedir[11].

2.2. Yetiştirildiği bölgeler

Günümüzde ise Akdeniz bölgesi ile yanaşı ABD'de, Kafkasya'da, Rusya'da, Çin'de Avusturalya'da, Yeni Zelanda'da yetiştiriciliği yapılmaktadır. Güney Kafkasya'da feijoa,

1928'den beri Azerbaycan'ın güney kıyı bölgesinde yetiştirilmektedir[12][13]. Özellikle Yeni Zelanda'da ticari bir öneme sahiptir. Yeni Zelanda Feijoa Yetiřtiricileri Derneęi tarafından bu alandan elde edilen iç ticaret geliri 2011 yılı için 1.7 milyon dolar, dış ticaret geliri ise 0.2 milyon dolar olarak bildirilmiştir[14]

Türkiye'de ise 1988 yılından bu yana Atatürk Bahçe Kültürleri Merkez Araştırma Enstitüsü'nün koleksiyon bahçesinde yetiştirilmekte ve günümüzde Sakarya, Antalya, Mersin ve İzmir illerinde de adaptasyon çalışmaları devam etmektedir[15].

Boyu 5-8 metre kadar yükselir ve yaprak dökmeyen, her mevsim yeşil kalan bir alıya dönüşür, beyaz ve kırmızı çiçekleri, yapraklarının ise tatlı bir kokusu vardır[16](şekil 2.2).

Bitkinin ikonik parlak kırmızı ve beyaz çiçekleri vardır, sonbaharda yetişen meyvesinin uzunluğu 5-8 sm, ağırlığı 20-30 gram oluyor[17](şekil 2.3).

Genellikle kabuklu tüketilmektedir. Yapraklarının st kısmı pürüzsüz, parlak ve ince damarlı, alt kısmı ise tüylü ve gümüş grisi rengindedir. Bitkinin yapraklarının da ölçüsü meyvesi gibi 5-8 sm'e ulaşır[18].



şekil 2.2 Feijoa ağacı



Şekil 2.3 Feijoa bitkisinin çiçeği

2.3. Medikal alanda kullanımı

Feijoya neredeyse tümüyle faydalı bitkidir. Bitkinin hemen hemen her kısmından yararlanmak mümkündür. Bazı ülkeler yapraklarından ve köklerinden yararlandığı halde bazı ülkeler de çiçeğinden ve meyvesinden faydalanmaktadır. Hatta kullanım amacı ve yöntemleri de ülkelere göre farklılık göstermektedir.

Fenolik, flavonoid, karotenoid, terpanoid ve triterpen gibi metabolitler içeren ve bu aktif bileşenlerinin Feijoa sellowiana'ya kazandırdığı antioksidan, anti-kanser, anti-tümör, antimikrobiyel, antiviral gibi biyolojik özellikler vardır[19]. Birkaç çalışma, Feijoa'nın C vitamini ve antinosiseptif (ağrı kesici), antitussif (öksürük önleyici) , antimalarial (sıtma önleyici) piyelonefrit (böbrek iltihabı) aktiviteler gibi çoklu sağlık yararlarına katkıda bulunan temel mineraller gibi birçok biyoaktif bileşen içerdiğini göstermiştir[20]. Bazı ülkelerde geleneksel tıpta, Feijoa yapraklarının infüzyonunun çocuklara genel olarak bakteri ve mantar hastalıklarının ve özellikle koleranın tedavisi için verildiği de biliniyor. Feijoa çiçeklerinden yapılan losyon, güneş yanığı olan bölgelere uygulanarak acıyı hafifletici etki

göstermektedir[21]. Bazı çalışmalarda Feijoa'nın yapraklar gibi yenmeyen kısımlarının da antioksidan aktivitesi araştırılmış ve yapraklar da tıpkı meyve gibi yüksek antioksidan aktivite göstermiştir.

Feijoa bitkisinin köklerinin Hindistan'da ateş düşürücü olarak kullanıldığı, Paraguay'da çiçek ve meyvenin böcek ısırması ve kaşıntı durumlarında doğrudan uygulandığı, Panama ve Peru'da ise yapraklarının bazı işlemlerden geçirildikten sonra mide rahatsızlıkları için kullanıldığı görülmektedir[22]. Bu nedenle, Feijoa'nın tüm kısımları (kök, yaprak, meyve, çiçek) faydalıdır ve kullanım şekli ülkelere göre değişebilmektedir.

2.4. FENOLİK BİLEŞİKLER

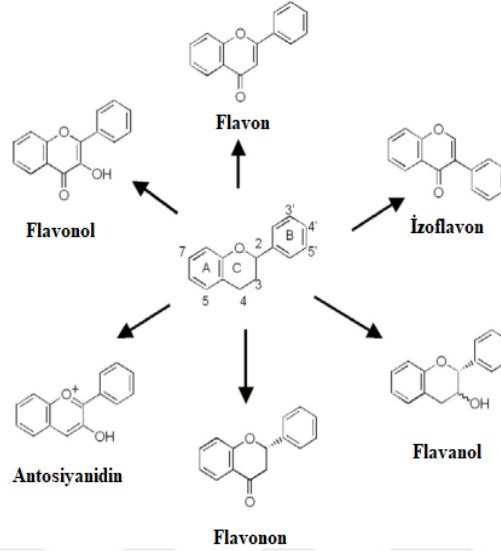
Metabolit, hücrelerde doğal olarak bulunan çeşitli enzimler tarafından katalize edilen metabolik reaksiyonların ara ürünlerine verilen addır. Metabolitler primer(birincil) ve sekonder(ikincil) olarak ikiye ayrılır. Fenolik bileşikler yapısında fenol grubu, yani aromatik halkasında bir hidroksil grubu bulunduran ve tüm bitkilerin dokularında bulunan ikincil metabolitlerdir. Onlar suda çözünen bileşikler (fenolik asitler, flavonoidler) ve suda çözünmeyen bileşikler (yoğun tanenler, ligninler) olarak sınıflandırılabilir[23]. Fenolik bileşikler birer antioksidan olarak hücreleri antiradikallere karşı korurlar, bakteri ve virüslerin çoğalmasını engellerler, kanser oluşumuna ve kalp krizine karşı direnç sağlarlar. Özellikle meyveler, sebzeler, tahıllar ve baklagiller Fenolik bileşiklerle zengindir[24] Gıdalarda bulunan birçok fenolik bileşiğin mutajenez ve karsinogenez üzerinde inhibitör etkileri olduğu son yıllarda büyük ilgi görmektedir[25].

2.4.1. Flavonoidler

Fenolik bileşiklerin en büyük grubu olan Flavonoidler, bitkilerdeki öneminin yanı sıra, radikal temizleyiciler olarak yüksek farmakolojik aktiviteleri nedeniyle insan sağlığı için de çok önemlidir. Flavonoidler, fenilalaninden sentezlenen bitki pigmentleridir. Birçok flavonoidin antioksidan aktiviteye, serbest radikal temizleme kapasitesine, koroner kalp hastalığını önleme ve antikanser aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir[26]. Meyve ve sebzeler, çay ve şarapla birlikte insanlar için flavonoidlerin ana besin kaynaklarıdır[27].

Heterosiklik oksijen halkası etrafındaki yapı bakımından farklılık gösterirler, ancak hepsinin karakteristik C6-C3-C6 karbon iskeleti vardır[27]. Genel olarak, tüm flavonoidler, A, B ve C

halkaları olarak adlandırılan üç fenolik halkadan oluşan 2-fenilkromon ana bileşiğinin türevleridir[28] Flavonoidlerin alt grubu olan flavanonlar, flavonlar, izoflavonoidler, flavanlar (flavanoller), antosiyaninler ve flavonoller özellikle yaygındır[29](Şekil2.4).



Şekil 2.4 Flavonoidlerin alt grupları

2.4.2. Fenolik asit

Fenolik asitler, fenolik bileşik olarak bitkiler aleminde yaygın olarak dağılmış aromatik ikincil bitki metabolitleridir[30]. Doğal olarak oluşan fenolik asitler, iki farklı karbon çerçevesi içerir: hidroksisinamik ve hidroksibenzoik yapılar[31]. Temel iskelet aynı kalsa da aromatik halkadaki hidroksil gruplarının sayıları ve konumları farkı yaratır ve çeşitliliği oluşturur. Fenolik asitler bitki bazlı gıdalarda yaygın olduğu için insanlar günlük olarak bu bileşikleri tüketirler[32]. Bugün, fenoliklerin biyolojik ve farmakolojik özellikleri, özellikle antienflamatuvar, antioksidan, antimutajenik ve antikanserojenik aktiviteleri nedeniyle önemli bir ilgi odağı haline gelmiştir. [33]. Fenolik asitler, fonksiyonel gıda katkı maddesi olarak da kullanılabilecekleri renk koruması, mikrobiyal büyümeyi önleme ve lipid oksidasyonunu engelleme gibi özelliklere sahiptir[34].

2.4.3. Antioksidan aktivite

Antioksidanlar vücudu oksidatif strese karşı koruduklarından dolayı hastalık riskinin azaltılması için kullanılır[35]. Serbest radikaller(ROS), sürekli olarak biyolojik reaksiyonlar yoluyla üretilen reaktif oksijen ve nitrojen türleri olarak bilinmektedir[36]. Antioksidanlar ise, bir maddenin oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddelerdir[37]. Fenolik bileşikler de

antioksidan özellikleri ile tanınmaktadır ve serbest radikal aracılı reaksiyonlar yoluyla biyomoleküllerin oksidatif hasar görmesini engelleyerek antioksidan aktivite gösterirler[38]. İnsan vücudunda doğal süreçler içerisinde sürekli olarak serbest radikaller meydana gelir. Vücut serbest radikalleri verimli bir şekilde işleyemez ve ortadan kaldıramazsa oksidatif stres oluşur. Bu da hücrelere ve vücut işlevlerine zarar verebilir. Ayrıca, antioksidanların oksidasyon süreçlerini engelleyerek gıdaların bozulmamasında önemli bir rol oynadıkları bilinmektedir. Antioksidanlar doğal ve yapay antioksidanlar olarak ikiye ayrılır[39]. Bazı bitki ve meyveler doğal antioksidanlarla zengindir. Bu yüzden, bitki ve meyvelerin antioksidan kapasitesinin belirlenmesi çok önemlidir. Antioksidan aktivite ölçümü için birçok farklı yöntem mevcuttur. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılanlar 2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH) Radikal Söndürücü Kapasite Yöntemi, Troloks Eşiti Antioksidan Kapasite (TEAC veya ABTS) Yöntemi, Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Gücü (FRAP) Yöntemi ve Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi'dir[40].

2.5. EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİ

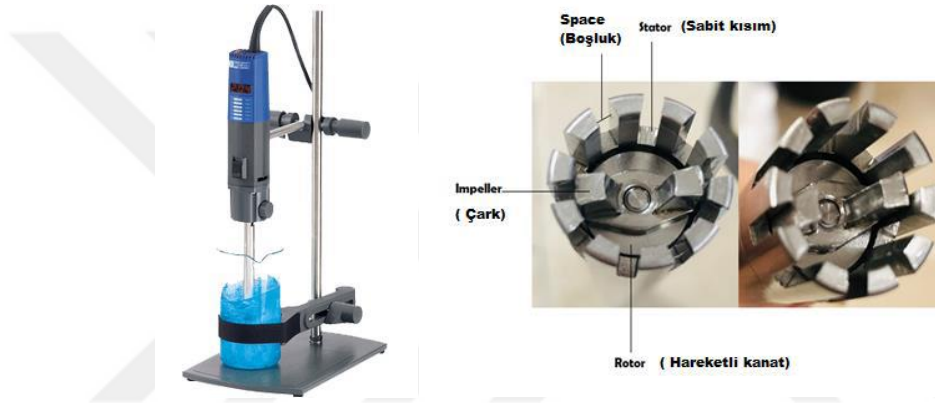
2.5.1. Katı-sıvı ekstraksiyon

Herhangi katı veya likid cisimde bulunan çözünebilir bir komponentin, bulunduğu fazdan uygun bir çözücü vasıtasıyla çıkarılmasına ekstraksiyon denir. Bitkisel ürünlerden aktif maddelerin veya yağların uygun bir çözücü vasıtasıyla ekstraksiyonu, kimya mühendisliğinde klasik bir işlemdir. Özellikle ilaç endüstrisi, aynı zamanda parfüm veya böcek ilacı üreten endüstriler de, bitkilerden aktif maddelerin geri kazanılması ile uğraşmak zorundadır[41]. Fenolik bileşiklerin elde edilmesi için iki farklı yöntem kullanılabilir: sıvı-sıvı ekstraksiyon ve katı-sıvı ekstraksiyon. Bir çözücü ile katı-sıvı ekstraksiyonu, birçok endüstriyel proseste görülen bir işlemdir. Katı-sıvı ekstraksiyonu işleminde çözünebilen katı madde, bulunduğu inert katı içinden, uygun bir çözücü yardımıyla çözündürülerek alınır. Çözünmüş madde daha sonra kristallendirme veya buharlaştırma gibi yöntemler ile ürün olarak elde edilir. Katı-sıvı ekstraksiyonun hızını etkileyen dört önemli faktör vardır: Tanecik boyutu, çözücü, sıcaklık, akışkanın karıştırılması[42].

2.5.2. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon (HDE)

Homejenizasyon, heterojen yapıdaki iki ya da daha fazla katı ve ya sıvı maddeyi karıştırabilmek ve birinin diğerinin içinde çözünmesini sağlamak için kullanılan yöntemdir. Sıvı içersinde bulunan katı veya sıvı parçaların kendinden çok daha küçük parçacıklara ayrılarak sıvının her yerine homojen biçimde dağılarak çözünmesini sağlayan cihazlara ise homojenizatör denir. Homojenizatör, hem karıştırma hem de ekstrakte etme amacı ile kullanılabilen bir cihazdır[43](Şekil 2.5). Cihazın rpm hızı ayarlandıktan ve süre tutulduktan sonra ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilir ve ekstraksiyon bittikten sonra ekstra bir filtreleme gereklidir. HDE-nin en belirgin özelliği hızlı ve maliyetinin düşük olmasıdır. Diş macunu, soslar, kremler, tatlandırıcılar gibi çeşitli ürünlerin yapımında HDE yaygın kullanılmaktadır[44]. Cihazın çalışma prensibi rotor-stator prensibine dayanmaktadır[45]. Rotor/stator düzeneği, iki veya daha fazla bıçaktan oluşan bir rotor(sabit) ve dikey ve ya eğik boşluklara sahip bir statordan(hareketli) oluşur[46]. Rotor, statorun içinde eşmerkezli olarak yerleştirilmiştir[47]. Rotor dönerken, sıvıyı düzeneğin içine ve dışına çekmek için bir vakum

oluşturur ve böylece sirkülasyon ortaya çıkar. Dağılan parçacıkların boyutunu küçülten iki ana kuvvetten biri, yüksek sıvı ivmesinden dolayı duvara mekanik çarpmadır. Diğer bir kuvvet, esas olarak rotor ve stator arasındaki boşlukta meydana gelen kesme kuvvetidir. Rotor-stator homojenleştiricilerde parçaları daha da küçültmek için rotorun rpm hızının artırılması, boşluk boyutunun küçültülmesi ve ya rotor tasarımının değiştirilmesi gerekir. Kurulumu ve çalışması kolay olan bu tekniğin diğerlerine oranla düşük yatırım gerektirmesi, nispeten yüksek verim alınması, büyük hacimli ekstraktlar hazırlamaya izin vermesi birçok bilimsel araştırmacılar tarafından bitki, meyve ve sebze türlerinden fenolik maddelerin elde edilmesi için sıklıkla tercih edilmiştir[48].



Şekil 2.5 Homojenizatör ve rotor-stator düzeneği

2.5.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE)

Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde uzun sürelerle ve büyük miktarlarda çözücüye gerek duyulduğundan ekstraksiyon süresini kısaltan, organik solvent tüketimini azaltan, çevre kirliliğini önleyen yeni ekstraksiyon tekniklerine olan ihtiyaç giderek artmaktadır[49]. Antioksidan maddelerin bitkilerden ekstraksiyonunda kullanılan yeni tekniklerden ultrason destekli ve mikrodalga destekli ekstraksiyonlar öne çıkmaktadırlar. Bu tekniklerde yüksek basınç ve/veya yüksek sıcaklıklarda çalışma imkanının olması ekstraksiyon süresini büyük oranda azaltmaktadır[50]. Ultrason genellikle katı/sıvı ortamda uygulanır[51]. Ultrason destekli ekstraksiyon, ultrasonik enerjinin kullanıldığı bir çeşit özütlemeyi ifade eder. Bu

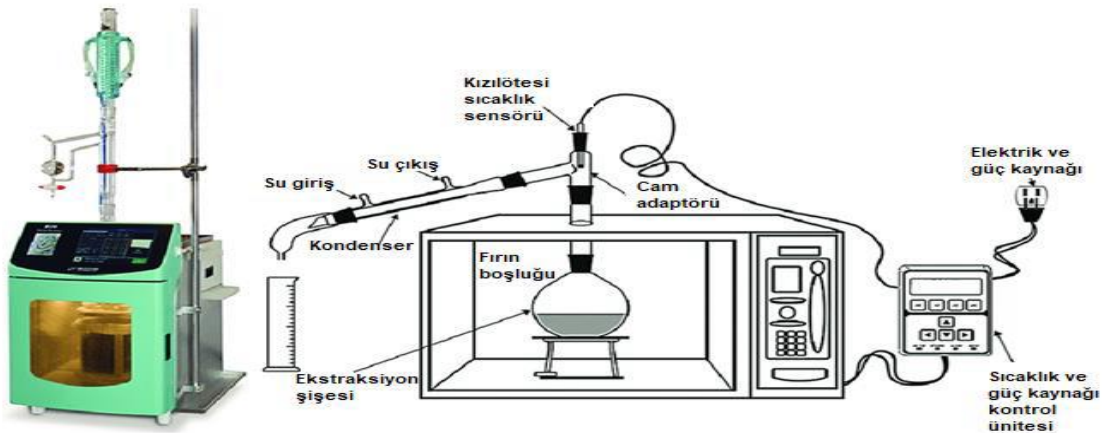
yöntemle, ultrasonik enerjinin yüksek frekanslı ses dalgaları vasıtasıyla bir sıvı içinde kavitasyon yaratılır[52](Şekil 2.6). Kavitasyon etkisi nedeniyle, hücreler parçalanır ve içeriklerinin çözücüye salınmasına neden olur. Bu sayede, ekstrakte edilen bileşiklerin miktarı artar ve ekstraksiyon süresi kısalmış olur. Ultrason uygulamasıyla hücre duvarı zedelendiğinden, bu yöntemle yapılan ekstraksiyon işlemi diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre çok daha hızlıdır[53]. İnsan işitme sınırının ötesinde frekanslı ses dalgalarından oluşan ultrason, 20 kHz veya daha yüksek frekanslarda olan akustik basınç dalgalarını ifade etmektedir[54]. Ultrason, 20 kHz ile 10 MHz aralığında olup; 1) yüksek yoğunluklu ve düşük frekanslı (20–100 kHz), 2) orta yoğunlukta ve ara frekans (100 kHz-1 MHz aralığı 3) düşük yoğunluklu ve yüksek frekanslı (1-10 MHz) olmak üzere üç kategoriden oluşmaktadır[55]. Ultrasonik enerjinin kavitasyonu, malzemelerin çözücüye daha hızlı geçmesine ve çözücünün malzemeyi daha iyi ayırmak için daha etkili bir şekilde hareket etmesine yardımcı olur. UDE yöntemi çevre dostu bir yöntem olarak kabul edilir, çünkü düşük sıcaklıkta çalışır ve daha az çözücü kullanır. Bu da, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre çevresel açıdan daha sürdürülebilir bir yöntem olduğunu gösterir. UDE yönteminde, ultrasonik dalgaların parametreleri (frekans, güç, süre) ekstraksiyon verimliliğini etkiler. Bu nedenle, optimum ultrasonik koşulların belirlenmesi, UDE yönteminin başarısı için kritik öneme sahiptir. Ultrasonik ekstraksiyon, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla birçok avantaj sunar. Bunlar arasında daha yüksek verimlilik, daha kısa sürede tamamlanması, daha az enerji tüketimi ve daha az çözücü kullanımı yer alır. Ancak, ultrasonik ekstraksiyon, yüksek maliyetli ultrasonik cihazların gerektirdiği yüksek yatırım maliyetleri nedeniyle geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre daha maliyetlidir.



Şekil 2.6 Ultrason destekli ekstraksiyon cihazı

2.5.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE)

Mikrodalgalar, dalga boyları 1mm - 1m arasında değişen, elektromanyetik spektrumda radyo dalgaları ile yüksek frekanslı kızılötesi dalgalar arasında yer alan elektromanyetik dalgalarlardır[56]. Mikrodalgaların frekans aralığı 300 MHz-300 GHz arasında olsa da 915 MHz ve 2.45 GHz frekans aralığı daha yaygın kullanılır. MDE, mikrodalga radyasyon enerjisi kullanarak malzemelerin hücre duvarlarının daha hızlı kırılmasını sağlayan ve ekstraksiyonu hızlandıran bir yöntemdir. Mikrodalga ısıtma mekanizmasını prensibi dipolar dönmeye ve iyonik iletme dayanmaktadır[57]. MDE yöntemi, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha hızlı ve verimli bir çözücü alımı sağlayabilir (Şekil 2.7). MDE-da ekstraksiyon süresinin kısa olması mikrodalga ısıtmasının geleneksel ısıtmadan farklı olarak kabın ısıtılmasına gerek kalmadan doğrudan çözeltini ısıtması ve ısının homojen dağılmasını sağlamasıdır. Bu MDE-nin en önemli avantajıdır. Diğer önemli avantajı ise diğer ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha az miktarda çözücü kullanılmasıdır. MDE-nin dezavantajları ise mikrodalga cihazlarının yüksek yatırım gerektirmesi ve bazı malzemelerin yüksek sıcaklıklara maruz kalmasından kaynaklanabilecek ürün kalitesi sorunlarıdır. Mikrodalganın frekansı, gücü, ekstraksiyon süresi, çözücünün cinsi, bitki materyali içinde bulunan su miktarı MDE-ye etki eden faktörlerdir[58]. Özellikle seçilen çözücünün yüksek dielektrik sabitine sahip olup mikrodalga ışınlarını iyi absorplaması ekstraksiyon verimini doğrudan etkiler[59]. MDE yöntemi, genellikle bitki özleri, biyokimyasallar, ilaçlar, gıdalar ve çevresel nünunelerin ekstrakte edilmesi için kullanılır.



Şekil 2.7 Mikrodalga destekli ekstraksiyon

2.5.5. Otomatik Solvent Ekstraksiyonu (OSE)

Günümüzde yeşil teknolojilerin kullanılması için çevresel kurumlar tarafından teşvikler ve kısıtlamalar giderek artmaktadır. Bu yüzden de kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin yeşil ekstraksiyon ilkelerine uyması önemlidir. Yeşil ekstraksiyon ilkelerine ekstraksiyon süresini kısaltmak, ekstraksiyon verimliliğini arttırıp ürün kalitesini iyileştirmek, çözücü tüketimini azaltmak ve çevre kirliliğini önlemek gibi talepleri ait edebiliriz. Son yıllarda bu ilkeler baz alınarak üreticiler tarafından otomatikleştirilmiş, daha yeşil teknoloji sayılan cihazlar üretilmiştir. Bunlardan biri de Otomatik Çözücü Ekstraktörü (OÇE) ve ya Otomatik Sokslet Ekstraktörü (OSE) gibi bilinen, geleneksel sokslet ekstraksiyonunun geliştirilmiş alternatifidir. OSE geleneksel Sokslet ekstraksiyonundan beş kat daha hızlı sonuç vermekle beraber, aynı anda altı çoğaltma yapabilmekte ve solvent kullanımını azaltarak, verimliliği arttırmaktadır[60][61] (Şekil 2.8).

OSE yöntemi kullanılarak ekstraksiyonun adımları 5 adımda özetlenmiştir:

1. Daldırma: Katı bir örnek verimli kütle aktarımı için kaynayan solvent içine daldırılır.
2. Buharlaştırma: Solvent seviyesi otomatik olarak ekstraksiyon kartuşunun altına düşürülmektedir. Solventin bir kısmı geri kazanım tankında toplanır ve geri kalanı numune üzerinde akmaya devam eder.
3. Yıkama: Ekstraksiyonu tamamlamak için numune üzerinden ve kartuştan konsantre solvent akıtılır.
4. Geri Kazanım: Solventin %80' inden fazlası geri kazanıldığı ve ekstraksiyonun büyük ölçüde tamamlandığı aşamadır.
5. Soğutma: Ekstraksiyon tamamlanır. Isıtma işlemi durur ve daha sonra ekstraktları içeren kaplar, ekstraktların yanmasını önlemek için otomatik olarak yukarı hareket eder[60].

Cihaz cam ve seramikten yapılmış yüksek hızlı ısıtma plakalarının yanı sıra, kullanılan çözücünün türüne göre ekstraksiyon sıcaklığını ayarlamak için bir kontrol panelinden oluşur. Titanyum kondansatörleri sayesinde, soğutulmuş geri kazanım tankında toplanan çözücünün %90 seviyelerinde geri kazanımını gerçekleştirilmektedir.



Şekil 2.8 Otomatik Solvent Ekstraktörü

2.6. FENOLİK BİLEŞİKLERİN ANALİZ YÖNTEMLERİ

2.6.1. Spektrofotometrik analizler

Spektroskopi, bir örnekteki atom, molekül veya iyonların, bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorplanan veya yayılan elektromanyetik ışımanın ölçülmesi ve yorumlanmasıdır. Ultraviyole ve görünür ışık (UV-Vis) absorpsiyon spektroskopinin temeli, bir ışın demetinin bir örnekten geçtikten sonra ışık şiddetinin azalmasına dayanır. Bu azalma absorplanan madde miktarının arttığını gösterir. Birçok molekül UV veya görünür bölge dalga boylarını absorplar. UV-Vis spektroskopisi genellikle çözeltideki moleküller veya organik, inorganik, biyokimyasal ve farmasötik bileşiklerin analizinde kullanılır. Örnek çözeltinin içerdiği madde miktarının yoğunluğuna göre çözeltinin absorpladığı ışın miktarı da artar[62]. UV-Vis spektroskopisi, UV (10-400 nm) ve Vis (400-800 nm) bölgelerinde ışığın yoğunluğunu ölçmek için kullanılan en eski analitik teknik olarak kabul edilmektedir. Bir spektrofotometre düzeneği, başlıca ışık kaynağı, dalga boyu seçicisi (monokromatör), dedektörden oluşur; dedektörde elektrik sinyaline çevrilen optik sinyal bir kaydedici veya bir galvanometre ile ölçülür(Şekil 2.9). Örnek, kullanılan dalga boyu bölgesinde ışığı geçiren maddeden yapılmış örnek kaplarına (küvet) konularak ışık yoluna yerleştirilir. Spektrofotometrelerde örneğin konulduğu örnek kapları (küvet), yuvarlak bir tüp veya dört köşe olabilir. Küvetler, soft veya borosilikat camdan, kuartz veya plastikten yapılır. Kuartz küvetler hem UV hem görünür dalga boyları için uygundur[63]. Küvetlerin temizliği ölçümlerin doğru olması için son derece önemlidir. Küvetler kullanıldıktan hemen sonra bol çeşme suyu ve ardından distile sudan geçirilmelidir. Aşırı kirlenen veya koyu renkli reaktiflerin okunduğu küvetler yumuşak deterjanlı su, çeşme suyu ve distile su ile yıkanmalıdır. Kesinlikle fırça kullanmamalıdır. Deterjanla temizlenemeyen küvetler, %20'lik nitrik asitte bir gece bekletildikten sonra, distile sudan geçirilip kullanılır. Işık geçirgenliği, “Transmitans” olarak adlandırılmakta olup şu şekilde tanımlanır:

$$T = \frac{I}{I_0} \quad 2.1$$

I - örnekten çıkan ışık huzmesinin yoğunluğu

I_0 - örneğe iletilen ışımının yoğunluğu

Örneğe iletilen ışık numuneden geçerken, emilen ışık miktarı absorbands (A) adlanır ve denklemi şu şekildedir:

$$A = \log \frac{1}{T} \quad 2.2$$

Absorbans, analitin konsantrasyonuyla ve analit boyunca ışığın kapladığı mesafe ile orantılıdır. Bir nümunenin absorbandsının ölçülmesi ve çözelti konsantrasyonunun çıkarılması Beer-Lambert yasası ile sağlana bilir.

$$A = \epsilon * l * c \quad 2.3$$

Bu denklemde A absorbands, ϵ molar absorbsiyon katsayısı ($M^{-1} \text{ cm}^{-1}$), l (cm) yol uzunluğu ve c (M) emici konsantrasyon anlamına gelmektedir[65].

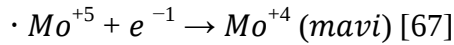
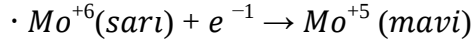
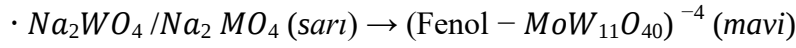


Şekil 2.9 Spektrofotometre analizörü

2.6.2. Folin-Ciocalteu ile Toplam Fenolik Madde (TPM) Analizi

Fenolik bileşiklerin 8000 den fazla türü belirlenmiştir. Her meyve ve sebzenin kendine has bir fenolik bileşik profili vardır. Bunların ayrı ayrı analizi zaman alan ve zahmetli bir analizdir. Bu amaçla toplam fenolik madde miktarı bir fenolik madde eşdeğeri olarak verilir. 1927'de Otto Folin ve Vintila Ciocalteu tarafından proteinlerdeki tirozin ve triptofanı ölçmek için oluşturulan (Folin ve Ciocalteu 1927), Folin-Ciocalteu (FC) yöntemi, bitki dokularında ve gıdalarda polifenollerin tayini için geniş kullanılmaktadır[66]. Orijinali sarı renkli olan ve fosfomolibdat/fosfotungstik kompleksinden oluşan Folin&Ciocalteu reaktifi (FCR) bitki özlerinde bulunan polifenoller ile reaksiyona girer ve reaksiyon sonucunda FCR mavi

komplekse dönüşür. Mavi rengin absorbansının ölçülmesiyle, analizi yapılan örnekteki fenolik bileşiklerin toplam miktarlarının hesaplanması mümkün olmaktadır. Oluşan kompleksin renk şiddeti fenolik maddelerin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Görünür ışık spektrofotometrisiyle ölçülebilen mavi kompleks UV-Vis spektrofotometrinde 760 nm’de okunur.



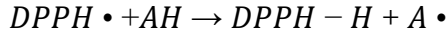
Meyve ve sebzeler pek çok fenolik bileşiği bir arada içerir ancak bunların toplam miktarı gallik asit, kateşin gibi bir fenolik bileşik cinsinden verilebilir. Gallik asit, yüksek saflıkta ve ucuz bir madde olarak kolayca bulunduğu için çoğu çalışmada kullanılmıştır[68]. Gallik asidin metanolle farklı konsantrasyonlarda (1-0,5-0,25-0,125-0,0625-0,03125 mg/mL) hazırlanıp, absorbanları okunur. Numunenin 100 gramındaki mg gallik asit eşdeğeri [mg GAE (Gallik Asit Eşdeğeri)/100 g numune] fenolik madde miktarı olarak hesap yapılır.

2.6.3. Alüminyum Klorür Kolorimetrik ile Toplam Flavonoid Madde (TPC) Tayini

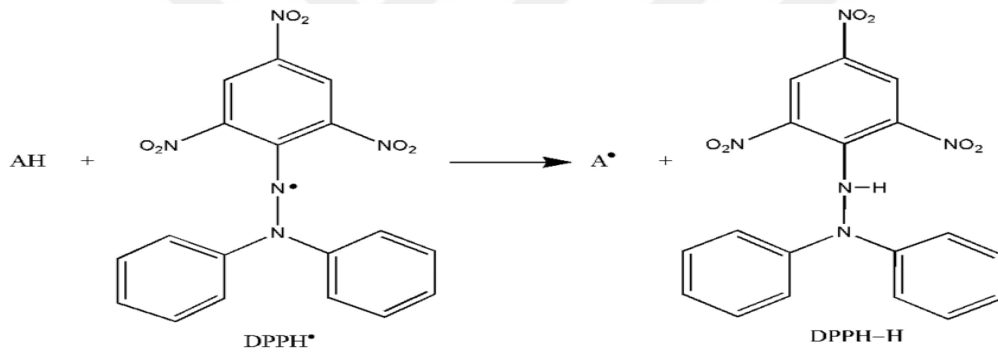
Bitkilerde toplam flavonoid miktarının (TFC) belirlenmesi için alüminyum klorür kolorimetrik deneyi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntem ilk olarak 1960 yılında Christ ve Muller tarafından ilaçlarda flavonol türevlerinin belirlenmesi için önerilmiştir[69]. Bu deneyde Al(III) bir kompleks oluşturunca olarak kullanılır. Bu metodun prensibi, alüminyum klorürün, flavonoidlerin 4-keto ve C-3 ya da C-5 (ya da her ikisi) hidroksil grubu ile kararlı bir asit kompleksinin oluşturulmasına dayanmaktadır[70]. Standart olarak genellikle kuersetin, kateşin ve rutin kullanılmaktadır. Alüminyum klorür, standart olarak seçilen bileşenlerle reaksiyona girerek kararlı ve sarı renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Ayrıca, zamanla AlCl₃/ NaNO₂ tekniği de geliştirilmiştir ki, bu zaman NaNO₂ AlCl₃-ten önce eklenir. Bu iki teknik arasındaki esas fark spektrofotometrik ölçümlerdedir. Spektrofotometrik olarak ölçümler AlCl₃ yöntemiyle 410-440 nm' de, AlCl₃/NaNO₂ yönteminde ise 510 nm’de yapılmaktadır[69].

2.6.4. DPPH ile antioksidan kapasitesinin tayin yöntemi

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ile antioksidan kapasitenin belirlenmesi yaygın kullanılan yöntemlerdendir, çünkü (DPPH•) serbest radikali antioksidan (AH) bileşiklerle doğrudan ve hızlı reaksiyona girerler.



(DPPH•) radikali antioksidan bileşikten hidrojeni alarak 2,2-difenil-1-pikrilhidrazine (DPPH-H) dönüşür ve çözeltinin rengi mordan sarıya doğru değişir(Şekil 2.10).



Şekil 2.10: Fenolik bileşikten DPPH radikaline H transferi [71]

Tek elektronlu paramanyetik bir bileşik olan DPPH radikali, metanolde 517 nm'de güçlü absorpsiyon bandı gösterir ve UV-VIS Spektrofotometresinde ölçümler bu dalga boyunda yapılır[72].

2.6.5. ABTS ile antioksidan kapasitesinin tayin yöntemi

2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asidin (ABTS) yöntemi de tıpkı DPPH yöntemi gibi, antioksidan aktivite tayininde en popüler yöntemler arasındadır[73]. Her iki yöntem de serbest radikallerin (DPPH ve ABTS) söz konusu antioksidan materyalle süpürülmesi etkisine

dayanmaktadır. 1993 yılında, ABTS bir oksidan ile etkileşime girerek istikrarlı bir radikal katyon oluşturma yöntemi önerilmiş ve bu yöntem “toplam antioksidan kapasitesi” nin ölçülmesi için kullanılmıştır[74]. ABTS metodu mavi-yeşil renkli stabil bir bileşik olan ABTS radikalinin yok edilmesi sonucu, renkte meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak 734 nm de ölçülmesi temeline dayanmaktadır [75].



3. YÖNTEM

3.1. MALZEME VE CİHAZLAR

Bu çalışma Azerbaycan'dan getirilen Feijoa meyvesinin kabuklarıyla yapılmıştır. Meyve öncelikle temiz içme suyu kullanılarak kirlerinden arındırıldı. Daha sonra meyvenin kabuğu etli kısmından ayrıldı (Şekil 3.1). Sonrasında, güneş ışınlarının doğrudan etkilemeyeceği ve toz ve haşerelerden korunacağı bir odada temiz bir bez üzerinde serildi. Daha sonra, kabuklar ev tipi bir mikser ile öğütüldü ve partikül boyutu tayini için farklı boyutlarda elek sistemi kullanılarak elendi. Elde edilen partiküllerin ortalama boyutu, önceden yapılan deneylere göre 2000, 1500, 855, 605, 427.5 ve 302.5 (μm) olarak belirlendi.

Bu tez çalışmasında, ucuz ve toksik olmayan bir çözücü olarak etanol tercih edildi. Folinciocalteu reaktifi, sodyum karbonat, (+)-kateşin, 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sülfonik asit diamonyum tuzu (AA-ABTS), hidroklorik asit, sodyum hidroksit, 2,2-difenil1-pikrilhidrazil (AA-DPPH) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (trolox) ve gallik asit monohidrat Sigma-Aldrich'ten temin edildi. Etanol ve metanol ise Merck'ten sağlandı ve deiyonize saf su Millipore Milli-Q arıtma sistemi ile elde edildi. Alüminyum klorür, sodyum nitrit ve potasyum persülfat da yine Merck'ten temin edildi.



Şekil 3.1 Feijoa meyvesinin kabukları

3.2. EKSTRAKSİYON İŞLEMLERİ

Fitokimyasallarca zengin bitkisel materyallerden özüt elde etmek için dört farklı çevre dostu yöntem kullanılmıştır: HDE, OSE, UDE ve MDE. Her yöntemin deneysel tasarımı, istatistiksel deneysel tasarım yöntemi olan YYM ile yapılmıştır. Proses şartlarının optimizasyonu ve modelleme çalışmaları da aynı istatistiksel deneysel tasarım yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Homojenizatör-Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Bu yöntemde, belirli bir miktarda (0,5 g) feijoa yaprağı tozu kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon süresi, homojenizatör hızı ve çözücü konsantrasyonu gibi üç faktör incelenmiştir. HDE yöntemi için IKA T25 Ultra Turrax Homojenizatör'ü kullanılmış ve elde edilen ekstrakt örnekleri 14 mL kapasiteli santrifüj plastik test tüplerinde 4°C'de saklanmıştır(Şekil 3.2). Ekstraktları süzmek için 0.45 µm'lik şırınga filtresi kullanılmıştır. Çalışmalar, ekstraksiyon süresi (30, 60 ve 90 saniye), karıştırma hızı (5000, 7000 ve 9000 rpm), çözücü konsantrasyonu (%30, %60, %90, v/v), çözücü hacmi (35 mL) gibi faktörler ve farklı seviyeleri kullanılarak yapılmıştır.



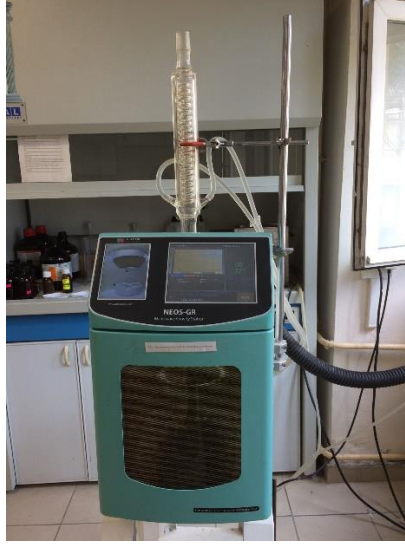
Şekil 3.2 IKA T25 Ultra Turrax Homojenizatörü

3.2.2. Ultrason-Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Aynı bitkiden ekstrakte edilen biyoaktif bileşiklerin yüzdesi, farklı koşullara bağlı olarak değişebilir. Bu amaçla, analizler yapılmadan önce her örnek için en uygun ekstraksiyon yönteminin belirlenmesi ve optimize edilmesi gerekmektedir[76]. Bu yüzden, antioksidan ekstraksiyon işleminin kinetiği, termodinamiği ve kütle transfer mekanizmalarının incelenmesi için ilk adım olarak UDE yöntemi kullanılır[77]. Sonics and Materials Inc. (Newtown, ABD; 750 W ve 20kHz) tarafından üretilen cihazla UDE işlemi yapıldı. Ekstraksiyon işlemi, problu bir sistem kullanılarak gerçekleştirildi ve elde edilen ekstrakt örnekleri 0.45 µm'lik bir şırınga filtresi kullanılarak filtrelenerek 4°C'de saklandı. Yaklaşık 30 mL hacimli ekstrakt numuneleri, 50 mL kapasiteli santrifüj plastik test tüplerinde saklandı. Bu çalışmada, ekstraksiyon süresi, genlik titreşimleri, çözücü konsantrasyonu, çözücü hacmi ve bitki tozunun ağırlığı faktörleri ve farklı seviyeleri kullanılarak çalışmalar yapıldı. Ekstraksiyon süresi 5 dakika olarak belirlendi ve genlik titreşimleri %10, %15 ve %20 olarak değişkenlik gösterdi. Çözücü konsantrasyonu ise %30, %60 ve %90 olarak belirlendi. Çözücü hacmi 35 mL olarak tutuldu ve bitki yaprağının tozunun ağırlığı 0.5 g olarak ayarlandı.

3.2.3. Mikrodalga-Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, Milestone Srl tarafından üretilen NEOS-GR mikrodalga ekstraksiyon reaktörü kullanılarak gerçekleştirildi(Şekil 3.3). Ekstraktların filtrelenmesi için 0.45 µm'lik bir şırınga filtresi kullanıldı ve elde edilen örnekler 4°C'de saklandı. Çalışmalar, Feijoa Sellowiana yaprak tozu (1 g) kullanılarak yapıldı ve ekstraksiyon süresi (100, 250 ve 400 sn), ekstraksiyon gücü (200, 350 ve 500 W), çözücü konsantrasyonu (%30, %60, %90 v/v), çözücü hacmi (80 mL), parçacık boyutu (0.5, 1.25 ve 2 mm) gibi faktörler ve seviyeleri kullanılarak optimize edildi.



Şekil 3.3 NEOS-GR cihazı mikrodalga ekstraksiyon cihazı

3.2.4. Otomatik Solvent Ekstraksiyon Yöntemi

Ekstraksiyon, Velp Scientifica marka otomatik çözücü ekstraktörü kullanılarak gerçekleştirildi ve örnekler tartılarak selüloz ekstraksiyon kaplarına konuldu(Şekil 3.4). Cihazın kontrol paneli, kullanılan çözücünün türüne göre ayarlandı ve ekstraksiyon sıcaklığı, yıkama süresi, daldırma süresi, uzaklaştırma süresi ve geri kazanım süresi de buna göre ayarlandı. Elde edilen ekstrakt örnekleri 0.45 (μm) lik şırınga filtresi kullanılarak süzüldü ve 50 mL kapasiteli santrifüj plastik test tüplerinde 4 °C'de saklandı.

Çalışmalar, aşağıdaki faktörler ve seviyeleri kullanılarak gerçekleştirildi: daldırma süresi (20 dk), yıkama süresi (40, 50 ve 60 dk), iyileşme süresi (30 dk), kaldırma süresi (0 dk), soğutma süresi (4 dk), nümunenin ağırlığı (1 g), çözücü hacmi (80 ml), parçacık boyutu (0,5, 1,25 ve 2 mm) ve çözücü konsantrasyonu (%30, 60 ve 90, v/v).

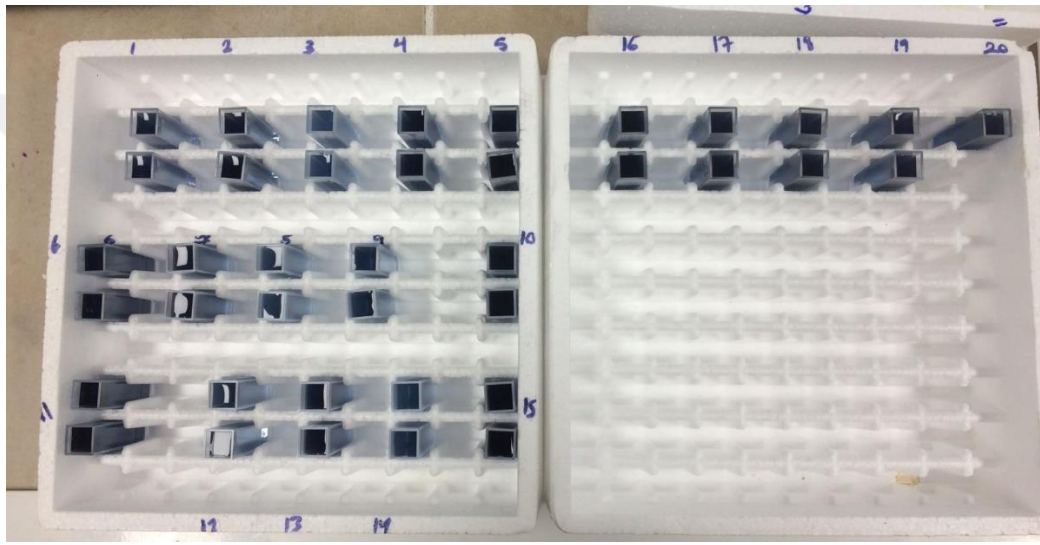


Şekil 3.4 Otomatik Solvent Ekstraksiyonu cihazı

3.3. ANALİZ İŞLEMLERİ

3.3.1. Toplam Fenolik Madde Tayini

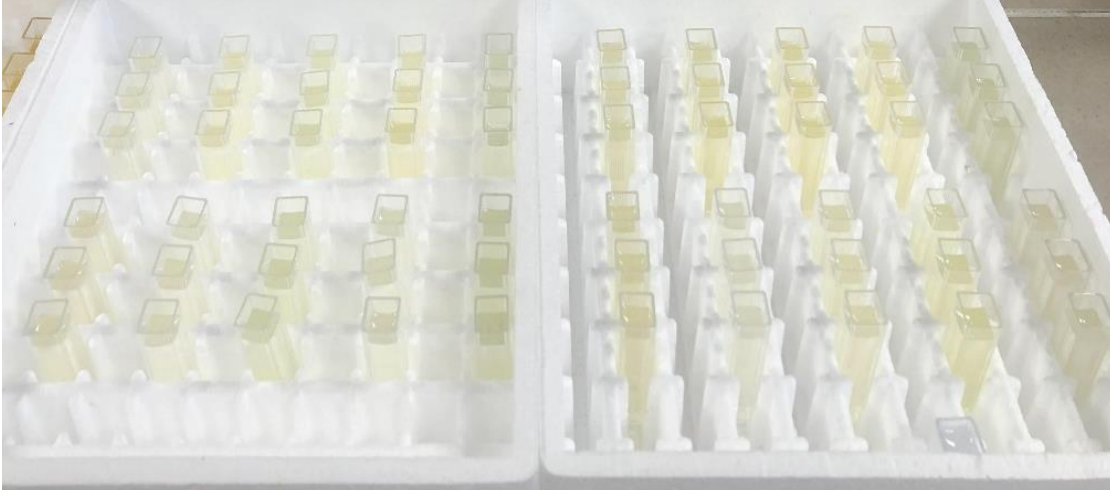
UV spektrofotometresi (PG Instruments, T60/Leicestershire, İngiltere) kullanılarak TPM, 765 nanometrede ölçüldü(Şekil 3.5). Yöntem ayrıntıları daha önceki çalışmalarda belirlendi ve inkübasyon süresi 30 dakika olarak ayarlandı. Bu sonuçlar, her litre Feijoa (Kaymak ağacı) özütü için gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanan fenol içeriklerini (mg-GAE/L) göstermektedir. Toplam fenol içerikleri, kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplandı ve kurutulmuş Feijoa (Kaymak ağacı) örneğinde (mg-GAE/g-KM) ifade edildi.



Şekil 3.5 Folin ciocalteu yöntemi

3.3.2. Toplam Flavonoid Madde Tayini

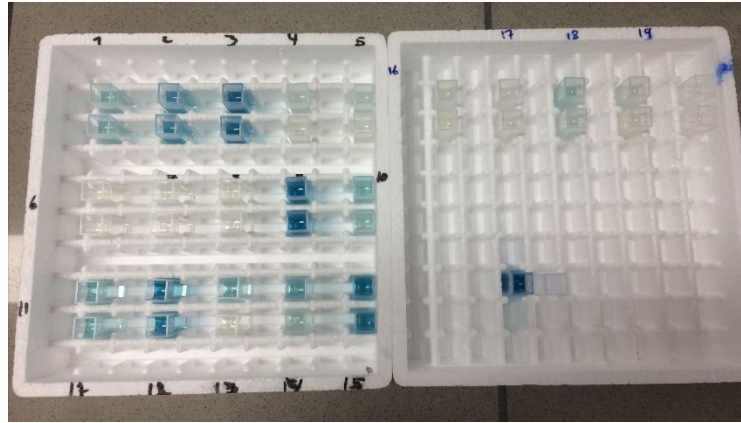
TFM ölçümü, 510 nanometrede PG Instruments T60 UV spektrofotometresi kullanılarak gerçekleştirildi(Şekil 3.6). Yöntem ayrıntıları daha önceki çalışmalarda belirlendi ve kaydedilen sonuçlar, her (+) Feijoa özütü için kateşin eşdeğeri cinsinden (mg-CE/L) hesaplanmış olan toplam flavonoid içeriğini göstermektedir. Bu içerikler, kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplanmış ve kurutulmuş Feijoa örneğinde (mg-CE/g) ifade edilmiştir.



Şekil 3.6 Alüminyum klorür yöntemi

3.3.3. ABTS Antioksidan Tayin Yöntemi

Antioksidan aktivitesi (AA), AA-ABTS yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak 734 nm'de ölçüldü(Şekil 3.7). Hesaplanan sonuçlar, her litre Feijoa özütü (mg TEAC/L) başına saf troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-terametil kroman-2-karboksilik asit) eşdeğeri cinsinden ifade edilmiştir. Toplam AA-ABTS içeriği, kalibrasyon eğrilerinden elde edilerek (mg-TEAC/g-KM) ile kurutulmuş Feijoa olarak ifade edildi.



Şekil 3.7 AA-ABTS yöntemi

3.3.4. DPPH Antioksidan Tayin Yöntemi

517 nanometrede spektrofotometrik olarak, AA-DPPH yöntemi kullanılarak antioksidan aktivite (AA) ölçümü gerçekleştirildi(Şekil 3.8). İlk olarak AA-DPPH çözeltisi hazırlandı ve DPPH metanol solüsyonuyla karıştırıldı. Ardından, metanol çözeltisi eklenerek seyreltildi ve

numunelere metanol (%80, v/v) ilave edildi. Seyreltilmiş AA-DPPH, karışıma eklendi ve karışım oda sıcaklığında 30 dakika karanlıkta bekletildi. Kaydedilen sonuçlar, her litre Feijoa (Kaymak ağacı) özütü için saf troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-terametil kroman-2-karboksilik asit) eşdeğeri cinsinden (mg-TEAC/L) hesaplanan toplam AA-DPPH içeriğini göstermektedir. Bu içerikler, kalibrasyon eğrileri kullanılarak hesaplanmış ve kurutulmuş Feijoa örneğinde (mg-TEAC/g-KM) ifade edilmiştir.



Şekil 3.8 AA-DPPH yöntemi

3.4. KİNETİK, TERMODİNAMİK VE KÜTLE TRANSFERİ ÇALIŞMALARI

UDE ve MDE yöntemleri, Feijoa bitkisinin yapraklarından fenolik antioksidanlar gibi fitokimyasal bileşiklerin ekstraksiyon kinetiğini hesaplamak için incelenmiştir. Her iki yöntemin kinetik, termodinamik ve kütle transferi özellikleri de araştırılmıştır. Farklı sıcaklıklarda dengeye gelme süreleri belirlenmiş ve elde edilen verilerle ilgili parametreler hesaplanmıştır. Ekstraksiyonun hızı, ekstraksiyon işleminin gerçekleştiği sistemin sıcaklığına bağlıdır ve yalancı birinci derece ve ikinci derece modeller kullanılarak hesaplanmıştır[78]. Ekstraksiyon hızı sabitleri de belirtilen denklemler yardımıyla hesaplanmıştır[79].

Yalancı birinci derece denklem:

$$\ln\left(\frac{c_{\infty}}{c_{\infty}-c_t}\right) = k_1 t + \ln\left(\frac{c_{\infty}}{c_{\infty}-c_t}\right) \quad 3.1$$

Yalancı ikinci derece denklem:

$$\frac{t}{C_t} = \frac{1}{k_2 C_e^2} + \frac{t}{C_e} \quad 3.2$$

Arrhenius denklemi kullanılarak, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon hızı sabiti arasındaki ilişkiyi açıklamak için aktivasyon enerjisi (E_a) belirlenmiştir[80]

Arrhenius denklemi:

$$\ln k = \left(-\frac{E_a}{R} \right) \times \frac{1}{T} + \ln k_0 \quad 3.3$$

Kimyasal sistemler kendiliğinden tetiklenebilir ve bu süreçler endotermik veya ekzotermik olabilir. Bu nedenle, bir sürecin nasıl gerçekleştiğini belirlemek için termodinamik parametreler kullanılır, örneğin entalpi, entropi ve Gibbs serbest enerji değişimleri gibi[80]. Ekstraksiyon işlemi, birden fazla aşamadan oluşur. Katı-sıvı ekstraksiyon sürecinin ilk aşaması, bitkiden çözücüye biyoaktif bileşiklerin transfer aşamasıdır. Bu aşamada, bileşikler çözücünden yüksek konsantrasyondan düşük konsantrasyona doğru hareket ederler. Dağılım aşaması, sabit bir sıcaklık ve basınçta termodinamik bir sisteme uygulanan Gibbs serbest enerjisi gibi enerjileri hesaba katmaktadır. Gibbs serbest enerjisi, kimyasal reaksiyonun doğasını ifade eder. Temel bileşenlerin serbest enerjilerinin belirlenmesi, ekstraksiyon işlemi

sırasında meydana gelen kimyasal değişimleri anlamak için önemlidir. Bu nedenle bileşiklerin standart entalpisi ve entropisi, Van't Hoff denklemi kullanılarak hesaplanır[81]. Standart entropi ve entalpi değerleri, sürecin standart Gibbs serbest enerjisini hesaplamak için kullanılır ve bu hesaplama aşağıdaki denklem ile yapılır[82]:

$$\Delta G^{\circ} = \Delta H^{\circ} - T \times \Delta S^{\circ} \quad 3.4$$

Van't Hoff denklemi:

$$\ln K_e = - \frac{\Delta H}{R} \times \frac{1}{T} + \frac{\Delta S}{R} \quad 3.5$$

$$K_e = \frac{Y_s}{Y_{max} - Y_s} \quad 3.6$$

Fenoliklerin Fick kanunu ile fenoliklerin difüzyon katsayısı belirlenmiştir:

$$\ln\left(\frac{Y_s}{Y_s - Y_t}\right) = \left(\frac{D_e \pi^2}{r \pi^2}\right)t + \frac{\ln \pi^2}{6} \quad 3.7$$

Kütle transfer katsayısı ise, zaman ve $\ln(C_{\infty}/C_{\infty} - C_t)$ arasındaki ilişki kullanılarak hesaplanmıştır, bu ilişki aşağıdaki denklemde gösterilir:

$$\ln\left(\frac{C_{\infty}}{C_{\infty} - C_t}\right) = \left(\frac{K_T A}{V_s}\right) \quad 3.8$$

Kütle transferinin iç ve dış dirençlerinin oranını belirlemek için, Biot sayısı hesaplanır. Biot sayısı denklemi[80]:

$$B_i = \frac{r p K_T}{D_e} \quad 3.9$$

Biot sayısı (Bi), iç ve dış dirençler arasındaki ilişkiyi ölçen bir parametredir. Ayrıca, malzeme yüzeyi ile çevre arasındaki sıcaklık farkının da bir ölçüsüdür[83]. Biot sayısı üç kategoriye ayrılabilir:

- 1) $Bi < 0.1$ ise, dış direnç iç dirençten daha büyüktür, yani kütle difüzyonu veya katı maddeye karşı iç direnç göz ardı edilebilir.
- 2) $0.1 < Bi < 100$ ise, iç ve dış dirençler benzer düzeydedir.
- 3) $Bi > 100$ ise, dış direnç iç dirençten daha düşüktür, yani dış akış kontrol edici faktördür[83].

3.5. İSTATİSTİKSEL DENEYSEL TASARIM

Yanıt Yüzey Metodu (YYM) istatistiksel ve matematiksel tekniklerin bir kombinasyonu olarak, süreçlerin geliştirilmesi, iyileştirilmesi ve optimize edilmesinde önemli bir rol oynar. Cevap, performans göstergeleri için kullanılan bir terimdir. Bu araştırmada, YYM, biyoaktif bileşiklerin miktarını optimize etmek için farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak uygulanmıştır. YYM yüzeyleri, bağımsız değişkenlerin cevapları üzerindeki etkilerini açıklamak, bağımsız değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemek ve tüm bağımsız değişkenlerin birleşik etkisini açıklamak için kullanılmıştır. Bağımlı değişkenler, ekstraksiyon süresi, çözücü konsantrasyonu, ekstraksiyon gücü gibi parametrelerdir, ancak cevaplar fenolik ve flavonoid madde miktarları gibi kalite niteliklerini ifade eder. Bu parametrelere bağımsız değişkenler denir. YYM sürekli bir değer aralığına sahip parametrelerin cevap değişkenini oluşturmak, optimize etmek ve iyileştirmek için etkili olan bir istatistiksel ve matematiksel teknik kombinasyonudur.

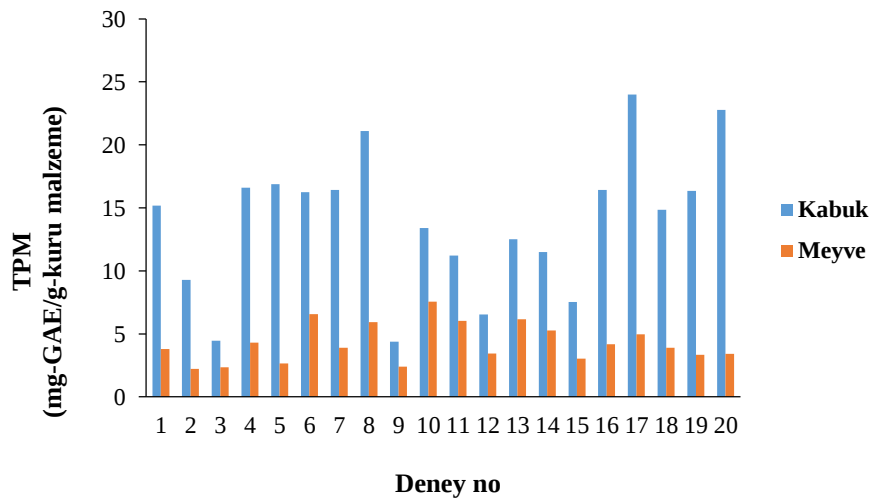
Bu tez kapsamında her bir ekstraksiyon sisteminin deneysel tasarımı, modellenmesi ve optimizasyonu Design-Expert paket programı (versiyon 12) kullanılarak YYM uygulanmıştır. YYM'nin Merkezi Komposit Tasarım (MKT) alt türü kullanılmıştır. Her bir sistem için TPM ve TFM bağımlı değişken (cevap) olarak atanmıştır. Bağımsız değişkenler ise kullanılan prosese göre farklılıklar göstermiştir.

4. BULGULAR

Bu tez çalışması dört aşamadan oluşmaktadır. Öncelikle ön denemeler ile kaymak ağacının (*Feijoa sellowiana*) bütün bölümleri (meyvesi ve kabuğu) toplam fenolik madde açısından irdelenmiştir. Biyoaktif bileşen açısından en zengin olan yan ürün ortaya çıkarılmıştır. Yapılan ön denemeler neticesinde en zengin ürün meyvenin kabuğu olarak tespit edilmiştir. İkinci aşama çalışmanın kinetik, kütle iletimi ve termodinamik olarak değerlendirilmesini kapsamaktadır. Üçüncü aşama, ekstraksiyon yöntemlerinin optimizasyonu ve modellemesini oluşturmaktadır. Dördüncü aşaması ise farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktları kalite parametreleri (fenolik ve flavonoid içerik ve antioksidan aktivite gibi) açısından karşılaştırmalı olarak değerlendirmektir.

4.1. ÖN DENEMELER

Meyvenin ve kabuğunun içeriği karşılaştırılırken homojenizatör-destekli ekstraksiyon (HDE) yöntemi kullanılmıştır. Şekil 4.1 farklı koşullarda elde edilen ekstraktların TPM içeriklerini göstermektedir.



Şekil 4.1 Kaymak ağacının (*Feijoa sellowiana*) meyve ve kabuklarının toplam fenolik madde açısından karşılaştırması

Sonuç olarak, ekstraksiyon koşullarına bağı olarak kabukların içeriğindeki TPM miktarının meyveninkinin ≈ 2 ile 7 katı daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durumda, çalışmalara kabuk üzerinden devam edilmiştir.



4.2. KİNETİK, KÜTLE İLETİMİ VE TERMODİNAMİK ÇALIŞMALAR

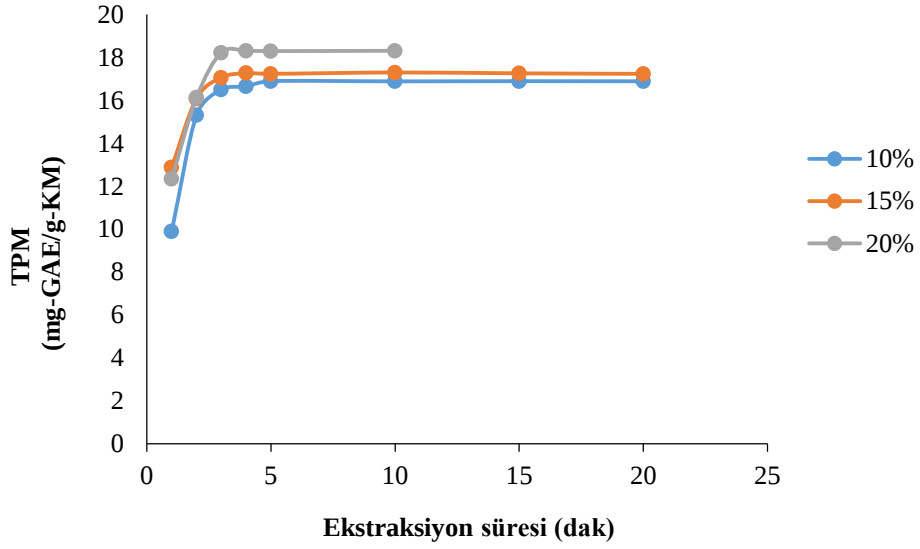
Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabukları ultrason-destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga-destekli ekstraksiyon (MDE) yöntemleri uygulanırken öncelikle mekanizmanın kinetiği incelenmiş, dengeye gelme süreleri belirlenmiştir. Katı-sıvı ekstraksiyon sırasında sistemin kütle iletim mekanizması ve kinetik davranışının belirlenmesi endüstriyel ölçekte üretime geçerken proses koşullarının tahminini kolaylaştırmaktadır. Öncelikle, UDE yönteminin kinetik, kütle iletimi ve termodinamik parametreleri hesaplanmıştır. Daha sonra, benzer işlemler MDE ile ekstraksiyon işlemine uygulanmıştır.

4.2.1. Ultrason-Destekli Ekstraksiyon

Tablo 4.1 ve Şekil 4.2, UDE yöntemi ile ekstrakte edilen *Feijoa sellowiana* kabuklarının kinetik verilerini sergilemektedir.

Tablo 4.1 UDE sisteminde farklı genlik ve sürelerde ekstrakte edilen *Feijoa sellowiana* kabuklarının TPM içerikleri

Genlik (%)	Süre (dak)	Solvent hacmi (mL)	TPM (mg-GAE/g-KM)	Sıcaklık (°C)
10	1	35	9,9 ±	21
	2	32,5	15,3±	
	3	30,5	16,5±	
	4	28,5	16,6±	
	5	26,5	16,9±	
	10	24,5	16,9±	
	15	22,5	16,89±	
	20	21	16,88±	
15	1	35	12,87±	25
	2	33,5	16,07±	
	3	32	17,057±	
	4	30,5	17,26±	
	5	29	17,23±	
	10	27,5	17,30±	
	15	26	17,25±	
	20	24,5	17,23±	
20	1	35	12,34±	30
	2	33	16,12±	
	3	31	18,23±	
	4	29	18,3±	
	5	27	18,3±	
	10	25	18,3±	



Şekil 4.2 UDE sisteminde farklı genliklerde dengeye gelme süresinin belirlenmesi

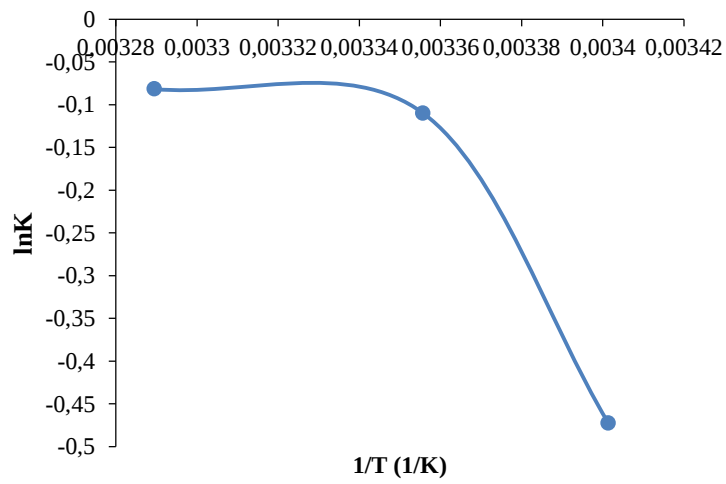
Söz konusu sistemin ilk beş dakikasında dengeye geldiği görülmektedir. Enerjinin genliğinin arttırılması ortamın sıcaklığını arttırmış, bu durumda verim çok az oranda artmıştır. TPM verimi yaklaşık 16,5'ten (%10) $\approx$ 17 mg-GAE/g-KM'ye (%15), ve son olarak da $\approx$ 18 mg-GAE/g-KM'ye (%20) ulaşmıştır.

4.2.1.1. Kinetik Çalışmalar

Bu çalışma kapsamında, UDE ile *F. sellowiana* meyvesi kabuklarından ekstrakt eldesinde kinetik mekanizma 2 farklı matematiksel model ile açıklanmıştır. Bu modeller yalancı birinci dereceden kinetik model ve yalancı ikinci dereceden kinetik modeldir. Üç farklı sıcaklık (294, 298 ve 304 K) değerlerinde çalışılmıştır. Tablo 4.2, birinci ve ikinci dereceden hız sabitleri, aktivasyon enerjisi ve söz konusu denklemler için R^2 değerlerini göstermektedir.

Tablo 4.2 UDE sistemine ait kinetik parametreler

Model	Parametre	Sıcaklık (K)		
		294	298	304
	k_1 (sn ⁻¹)	0,6235	0,8959	0,9215
Yalancı birinci derecen	R ²	0,9949	0,9985	0,9757
	E _a (kj mol ⁻¹)	106,303		
	R ²	0,7136		
	k_2 (L mg ⁻¹ sn ⁻¹)	0,0023	0,0029	0,0024
Yalancı ikinci dereceden	R ²	0,9976	0,9984	0,9960
	E _a (kj mol ⁻¹)	4,90		
	R ²	0,9520		

**Şekil 4.3** Sıcaklık ile denge sabiti arasındaki ilişki

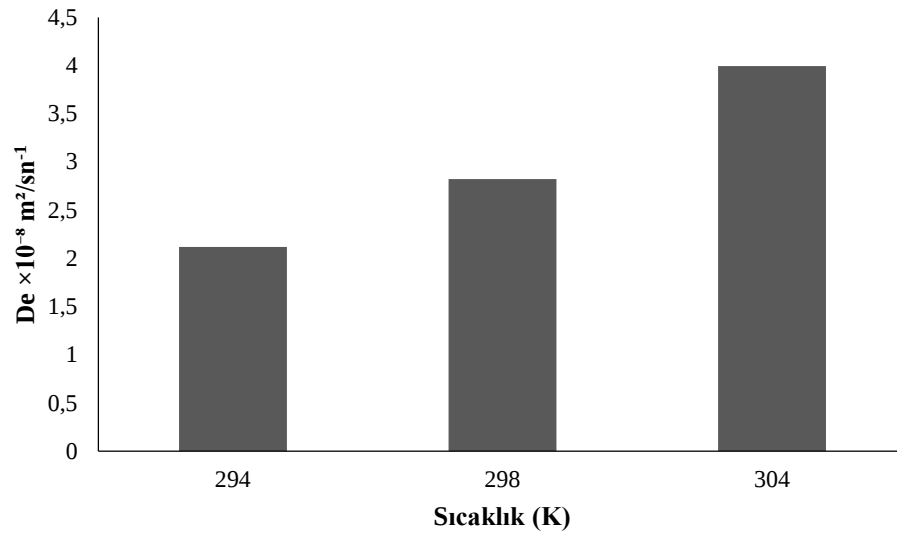
4.2.1.2. Kütle İletimi Çalışmaları

UDE ile *F. sellowiana* meyvesi kabuklarından ekstrakt eldesinde kütle transfer mekanizması difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayısı ve Biot sayısı ile ifade edilmiştir. Üç farklı sıcaklık (294, 298 ve 304 K) değerlerinde çalışılmıştır. Tablo 4.3, söz konusu sistem için difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayısı ve Biot sayısı değerlerini göstermektedir.

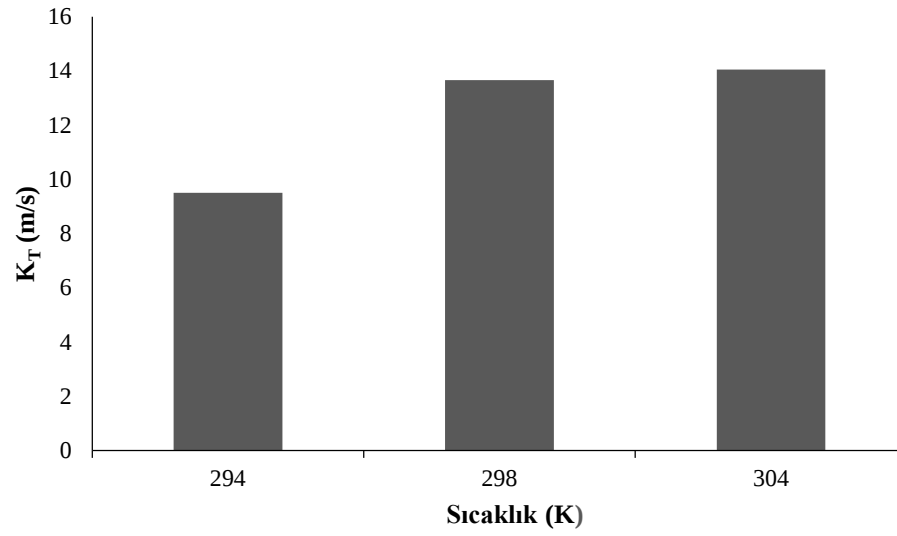
Tablo 4.3 UDE sistemine ait difüzyon katsayısı, Biot sayısı ve kütle transfer katsayısı değerleri

Parametre	Sıcaklık (K)		
	294	298	304
$D_e \text{ (m}^2 \text{ sn}^{-1}) \times 10^{-8}$	2,120	2,823	3,995
$Bi \times 10^3$	191,710	206,867	150,333
$K_T \text{ (m sn}^{-1})$	9,507	13,661	14,050

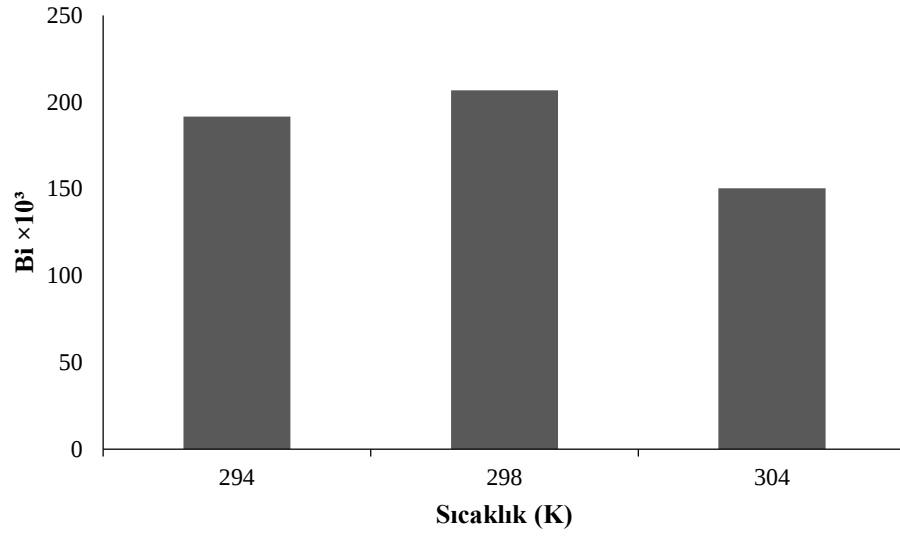
Tablo 4.3'te de görüldüğü gibi, difüzyon katsayısı $2,120 \times 10^{-8}$ ile $3,995 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ sn}^{-1}$ arasında değişmektedir. Biot sayısı ise $150,333 \times 10^3$ ile $206,867 \times 10^3$ arasında değişmektedir. Kütle transfer katsayısı ise 9,507 ile 14,050 m sn^{-1} arasında hesaplanmıştır. Sıcaklık ile beraber kütle iletiminin de arttığı gözlenmektedir. Bu beklenen bir sonuçtur. Zira, sıcaklığın artması viskoziteyi düşürmekte ve bu durumda hedef komponentin solvent sistemine iletimini arttırıcı bir durumdur.



Şekil 4.4 Farklı sıcaklık değerlerindeki difüzyon katsayıları



Şekil 4.5 Farklı sıcaklık değerlerindeki kütle transfer katsayıları



Şekil 4.6 Farklı sıcaklık değerlerindeki Biot sayıları

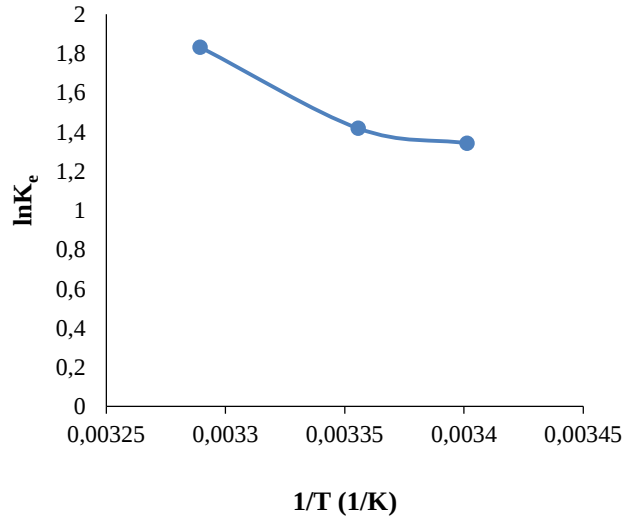
4.2.1.3. Termodinamik Çalışmaları

UDE ile *F. sellowiana* meyvesi kabuklarından ekstrakt eldesinde sistemin termodinamik yapısı ΔH , ΔS ve ΔG gibi parametreler ile değerlendirilmiştir. Tablo 4.4 ilgili parametreleri göstermektedir.

Entalpi değişiminin pozitif olması sistemin endotermik olduğunu göstermektedir. Entropi değişiminin pozitif olması sistemin düzensizliğe doğru gittiğinin bir göstergesidir. Gibbs serbest enerjisi tüm sıcaklık değerlerinde negatif olarak hesaplanmıştır. Bu durum da çalışılan UDE sisteminin kendiğinden olduğuna işaret etmektedir.

Tablo 4.4 UDE sistemine ait termodinamik parametre değerleri

Parametre	Sıcaklık (K)		
	294	298	304
K_e	3,8259	4,1276	6,2390
ΔH (kJ mol ⁻¹)	37,45		
ΔS (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)	0,138		
ΔG (kJ mol ⁻¹)	-3,122	-3,674	-4,502
R^2	0,9272		

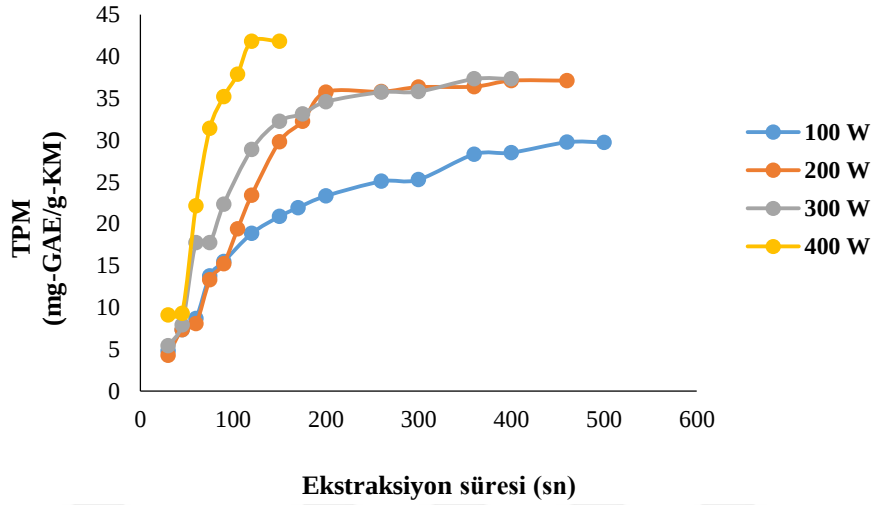
**Şekil 4.7** Entropi değişimi ile denge sabiti arasındaki ilişki

4.2.2. Mikrodalga-Destekli Ekstraksiyon

Tablo 4.5 ve Şekil 4.8, MDE yöntemi ile ekstrakte edilen *Feijoa sellowiana* kabuklarının kinetik verilerini sergilemektedir.

Tablo 4.5 MDE sisteminde farklı genlik ve sürelerde ekstrakte edilen *Feijoa sellowiana* kabuklarının TPM içerikleri

Güç (W)	Süre (sn)	Solvent hacmi (mL)	TPM (mg-GAE/g-KM)	Sıcaklık (°C)
100	30	80	4,82±0,001	22
	45	78,5	7,34±0,0001	
	60	77	8,67±0,0001	
	75	75,5	13,77±0,001	
	90	74	15,47±0,0001	
	120	72,5	18,83±0,001	
	150	71	20,86±0,0002	
	170	69,5	21,92±0,0001	
	200	68	23,31±0,0001	
	260	66,5	25,06±0,001	
	300	64,5	25,27±0,0001	
	360	63	28,3±0,0001	
	400	61,5	28,49±0,001	
	460	60	29,74±0,0001	
200	500	58,5	29,73±0,003	25
	560	57	29,72±0,0001	
	30	80	4,28±0,0001	
	45	78,5	7,32±0,0001	
	60	77	8,07±0,0001	
	75	75,5	13,29±0,001	
	90	74	15,23±0,001	
	105	72,5	19,37±0,001	
	120	71	23,38±0,009	
	150	69,5	29,79±0,003	
	175	68	32,24±0,002	
	200	66,5	35,72±0,001	
	260	65	35,77±0,001	
	300	63,5	36,32±0,001	
300	360	62	36,38±0,001	28
	400	60,5	37,10±0,001	
	460	59	37,10±0,001	
	500	57,5	37,10±0,004	
	30	80	5,44±0,0001	
	45	78,5	7,90±0,0001	
	60	77	17,72±0,005	
	75	75,5	17,75±0,001	
	90	74	22,33±0,008	
	120	71	28,85±0,002	
	150	69,5	32,24±0,001	
	175	68	33,11±0,004	
	200	66,5	34,57±0,001	
	260	65	35,72±0,002	
400	300	63,5	35,78±0,005	31
	360	62	37,30±0,002	
	400	60,5	37,30±0,001	
	460	59	37,30±0,001	
	30	80	9,09±0,008	
	45	78,5	9,30±0,0005	
	60	77	22,14±0,001	
	75	75,5	31,39±0,002	
	90	74	35,19±0,002	
	105	72,5	37,86±0,004	
	120	71	41,80±0,002	
	150	69,5	41,80±0,004	
	175	68	41,80±0,009	



Şekil 4.8 MDE sisteminde farklı genliklerde dengeye gelme süresinin belirlenmesi

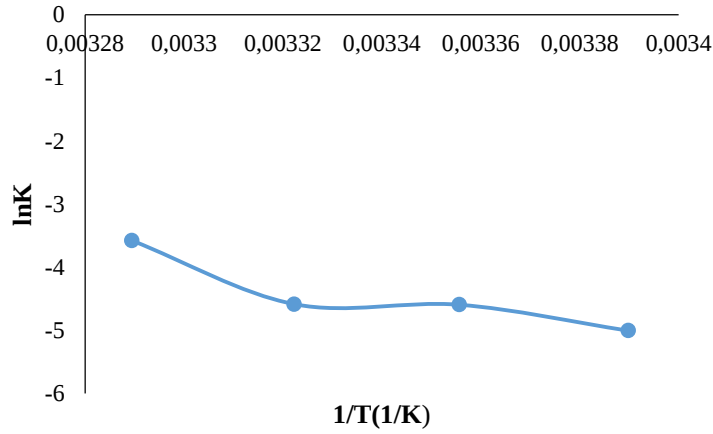
Tablo 4.5 ve Şekil 4.8’de gözüktüğü gibi mikrodalga gücünün artması ile beraber önce belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. 200 W ve 300 W güç altında, 400 saniyede dengeye ulaşılmış, sırasıyla 37,10 mg-GAE/g-KM ve 37,30 mg-GAE/g-KM verim elde edilmiştir. Mikrodalga gücü 400 W olduğunda ise 120 saniyede 41,80 mg-GAE/g-KM TPM verimi elde edilmiştir.

4.2.2.1. Kinetik Çalışmalar

Bu çalışma kapsamında, MDE ile *F. sellowiana* meyvesi kabuklarından ekstrakt eldesinde kinetik mekanizma 2 farklı matematiksel model ile açıklanmıştır. Bu modeller yalancı birinci dereceden kinetik model ve yalancı ikinci dereceden kinetik modeldir. Dört farklı sıcaklık (295, 298, 301 ve 304 K) değerlerinde çalışılmıştır. Tablo 4.6 birinci ve ikinci dereceden hız sabitleri, aktivasyon enerjisi ve söz konusu denklemler için R^2 değerlerini göstermektedir.

Tablo 4.6 MDE sistemine ait kinetik parametreler

Model	Parametre	Sıcaklık (K)			
		295	298	301	304
	k_1 (sn ⁻¹)	0,0067	0,0101	0,0102	0,0279
Yalancı birinci dereceden	R ²	0,9757	0,9788	0,9906	0,9629
	E _a (kJ mol ⁻¹)	106,30			
Yalancı ikinci dereceden					
	k_2 (L mg ⁻¹ sn ⁻¹)	0,0012	0,0006	0,0009	0,0005
	R ²	0,9527	0,5119	0,804	0,2291

**Şekil 4.9** Sıcaklık ile denge sabiti arasındaki ilişki

4.2.2.2. Kütle İletimi Çalışmaları

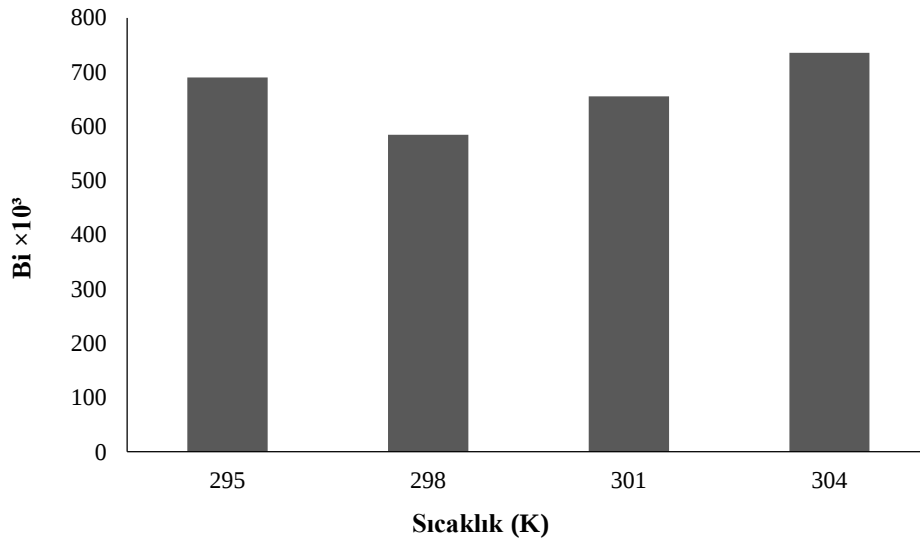
MDE ile *F. sellowiana* meyvesi kabuklarından ekstrakt eldesinde kütle transfer mekanizması difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayısı ve Biot sayısı ile ifade edilmiştir. Üç farklı sıcaklık

(294, 298 ve 304 K) değerlerinde çalışılmıştır. Tablo 4.7, söz konusu sistem için difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayısı ve Biot sayısı değerlerini göstermektedir.

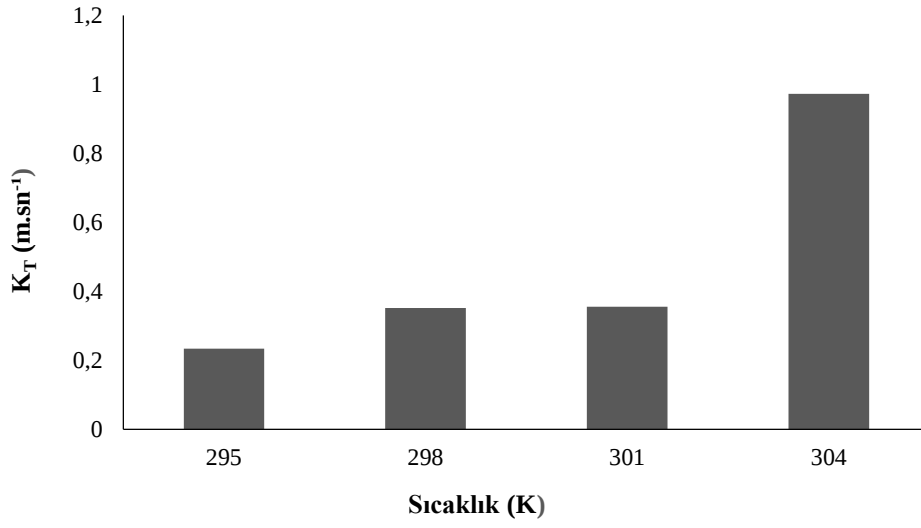
Tablo 4.7 MDE sistemine ait difüzyon katsayısı, Biot sayısı ve kütle transfer katsayısı değerleri

Parametre	Sıcaklık (K)			
	295	298	301	304
$D_e \times 10^{-10} (\text{m}^2 \text{sn}^{-1})$	1,446	2,576	2,32	5,653
$Bi \times 10^3$	690,23	584,16	655,00	735,36
$K_T (\text{m sn}^{-1})$	0,2335	0,3520	0,3555	0,9724

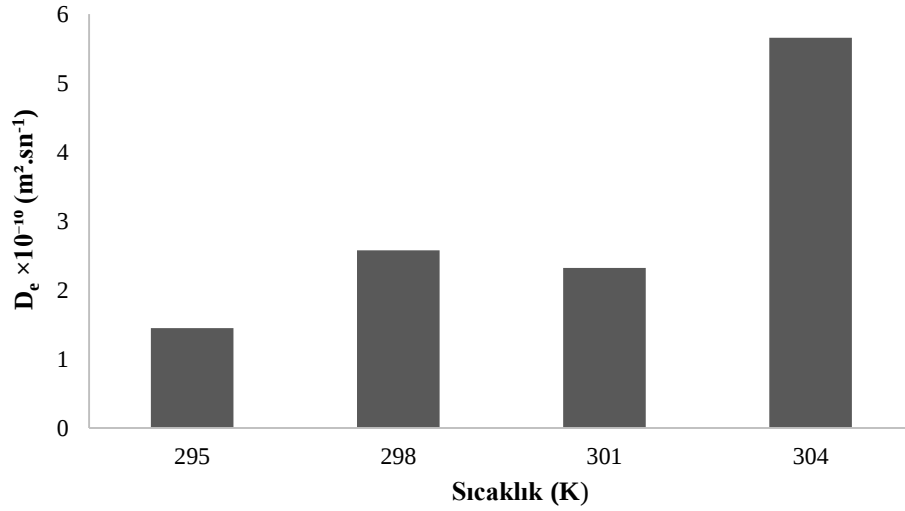
Tablo 4.7’de görüldüğü gibi, difüzyon katsayısı $1,446 \times 10^{-10}$ ile $5,653 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{sn}^{-1}$ arasında değişmektedir. Biot sayısı ise $584,16 \times 10^3$ ile $735,36 \times 10^3$ arasında değişmektedir. Kütle transfer katsayısı ise 0,2335 ile 0,9720 m sn^{-1} arasında hesaplanmıştır. Sıcaklık ile beraber kütle iletiminin de arttığı gözlenmektedir. Bu da yine yukarıda açıklandığı gibi beklenen bir sonuçtur.



Şekil 4.10 Farklı sıcaklık değerlerindeki Biot sayıları



Şekil 4.11 Farklı sıcaklık değerlerindeki kütle transfer katsayıları



Şekil 4.12 Farklı sıcaklık değerlerindeki difüzyon katsayıları

4.2.2.3. Termodinamik Çalışmaları

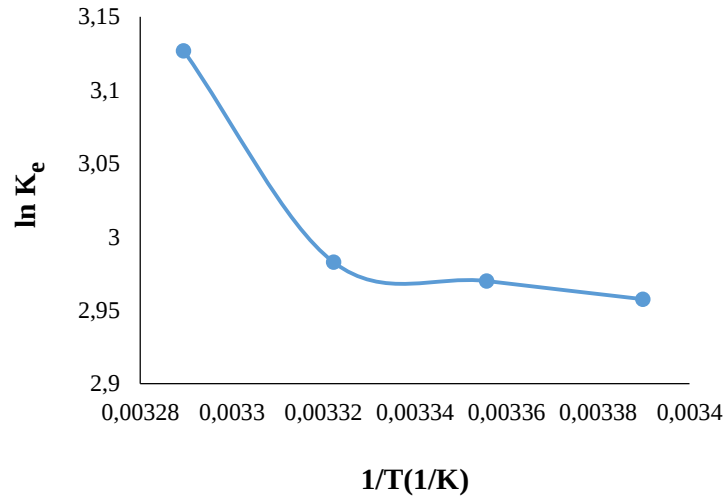
MDE ile *F. sellowiana* meyvesi kabuklarından ekstrakt eldesinde sistemin termodinamik yapısı ΔH , ΔS ve ΔG gibi parametreler ile değerlendirilmiştir. Tablo 4.8 ilgili parametreleri göstermektedir.

Bu sistemde de yine UDE sisteminde olduğu gibi entalpi değişiminin pozitif olması sistemin endotermik olduğunu göstermektedir. Entropi değişiminin pozitif olması sistemin

düzensizliğe doğru gittiğinin bir göstergesidir. Gibbs serbest enerjisi tüm sıcaklık değerlerinde negatif olarak hesaplanmıştır. Bu durum da çalışılan UDE sisteminin kendiğinden olduğuna işaret etmektedir.

Tablo 4.8 MDE sistemine ait termodinamik parametre değerleri

Parametre	Sıcaklık (K)			
	295	298	301	304
K_e	19,25	19,49	19,74	22,8
ΔH (kJ mol ⁻¹)	12,87			
ΔS (kJ mol ⁻¹ K ⁻¹)	0,06799			
ΔG (kJ mol ⁻¹)	-7,187	-7,390	-7,595	-7,799
R^2	0,7154			



Şekil 4.13 Entropi değişimi ile denge sabiti arasındaki ilişki

4.3. MODELLEME VE OPTİMİZASYON ÇALIŞMALARI

Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabukları otomatik solvent ekstraksiyonu (OSE), homojenizatör-destekli ekstraksiyon (HDE), ultrason-destekli ekstraksiyon (UDE) ve mikrodalga-destekli ekstraksiyon (MDE) yöntemleri ile ekstrakte edilmiş, biyoaktif içerik açısından zengin ekstrakt elde edilmiştir. OSE, HDE ve MDE sistemlerinin deneysel tasarımı, modellenmesi ve optimizasyonu Design-Expert paket programı (versiyon 12) kullanılarak Yanıt Yüzey Metodu (YYM) uygulanmıştır. YYM'nin Merkezi Komposit Tasarım (MKT) alt türü kullanılmıştır. Her bir sistem için TPM ve TFM bağımlı değişken (cevap) olarak atanmıştır. Uygulanan ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak da farklı proses parametreleri bağımsız değişken (proses faktörü) olarak belirlenmiştir.

4.3.1. Otomatik Solvent Ekstraksiyonu

OSE yönteminde bağımsız değişken olarak kabukların parçacık boyutu, ekstraksiyon süresi ve çözücü (etanol) konsantrasyonu seçilmiştir. Optimizasyon TPM ve TFM bağımlı değişkenlerini maksimum yapacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.9, OSE sisteminde kullanılan bağımsız değişkenleri ve seviyelerini göstermektedir.

Tablo 4.9 OSE sisteminde seçilen parametreler, sembolleri, seviye ve kodları

Parametre	Sembol	Seviye ve kod		
		-1	0	1
Parçacık boyutu (mm)	A	0,5	1,25	2
Süre (dak)	B	40	50	60
Çözücü konsantrasyonu (% v/v)	C	30	60	90

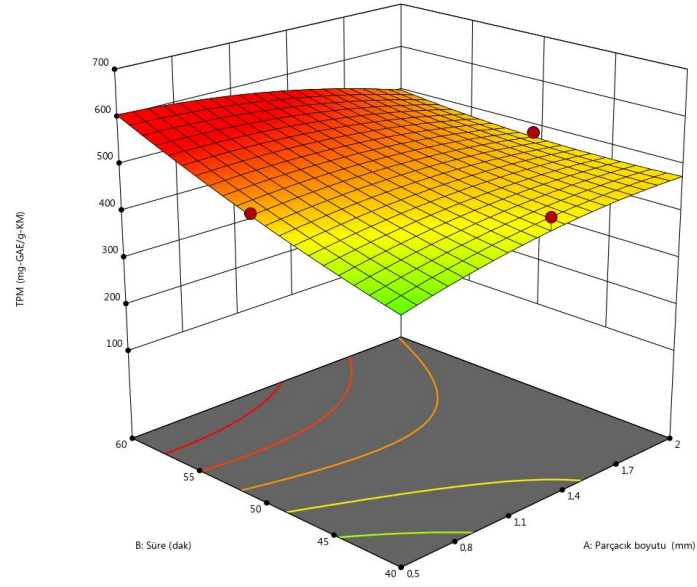
Tablo 4.10 meyve kabuklarının OSE sistemi ile ekstraksiyonunda MKT ile deneysel tasarım sonucu üretilen deseni göstermektedir. 3 parametre ve 3 seviyeli MKT ile 20 deney üretilmiştir. Sonuçlar karşılaştırmalı (deneysel ve tahmini) olarak verilmiştir.

Tablo 4.10 OSE sisteminde MKT deseni ile elde edilen sonuçlar

No	A (mm)	B (dak)	C (%,v/v)	Deneysel TPM (mg-GAE/g- KM)	Tahmini TPM (mg-GAE/g- KM)	Deneysel TFM (mg-CE/g- KM)	Tahmini TFM (mg-CE/g- KM)
1	1,25	50	60	498,52±0,002	504,53±0,002	363,87±0,002	371,66±0,002
2	1,25	50	90	304,70±0,001	294,19±0,001	294,3±0,001	287,79±0,001
3	0,5	50	60	495,30±0,002	490,49±0,002	353,7,6±0,003	347,88±0,003
4	1,25	40	60	487,90±0,008	460,64±0,008	316,89±0,006	296,99±0,006
5	1,25	60	60	562,16±0,007	575,20±0,007	355,68±0,002	354,97±0,002
6	1,25	50	60	500,21±0,003	504,53±0,003	365,1±0,001	371,66±0,001
7	2	60	30	523,06±0,005	501,29±0,005	244,78±0,001	245,24±0,001
8	2	40	30	512,23±0,004	537,01±0,004	271,87±0,001	279,11±0,001
9	1,25	50	30	458,10±0,001	454,39±0,001	397,83±0,003	386,86±0,003
10	1,25	50	60	499,71±0,001	504,53±0,001	364,74±0,002	371,66±0,002
11	1,25	50	60	501,21±0,001	504,53±0,001	365,83±0,001	371,66±0,001
12	2	40	90	167,76±0,003	157,76±0,003	133,98±0,002	138,91±0,002
13	1,25	50	60	500,41±0,003	504,53±0,003	365,25±0,003	371,66±0,003
14	0,5	40	30	314,90±0,002	302,06±0,002	252,97±0,006	256,02±0,006
15	2	50	60	485,87±0,005	476,46±0,005	298,16±0,008	283,4±0,008
16	2	60	90	226,00±0,006	242,40±0,006	148,38±0,001	150,8±0,001
17	1,25	50	60	498,62±0,003	504,43±0,003	363,94±0,001	371,66±0,001
18	0,5	60	30	432,98±0,001	446,54±0,001	360,15±0,002	360,38±0,002
19	0,5	60	90	526,62±0,001	505,40±0,001	304,53±0,001	302,45±0,001
20	0,5	40	90	215,22±0,002	240,55±0,002	147,95±0,003	152,64±0,003

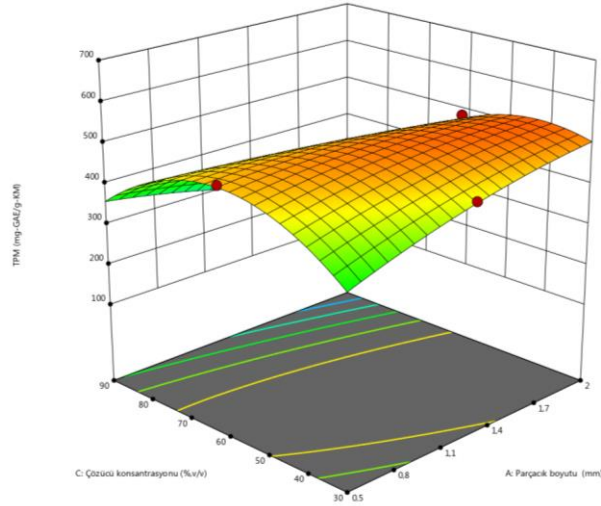
Tablo 4.10'dan da görüldüğü gibi, TPM miktarı 167,76 mg-GAE/g-KM ile 562,16 mg-GAE/g-KM arasında değişmektedir. Yine ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak TFM ise 133,98 mg-CE/g-KM ile 365,82 mg-CE/g-KM arasında değişmektedir.

Proses parametrelerinin verim üzerinde etkilerini daha net görebilmek için Design-Expert programı ile üç boyutlu (3D) görseller üretilmiştir. Şekil 4.14, 4.15 ve 4.16 TPM üzerine parametrelerin etkilerini göstermektedir. Şekil 4.17, 4.18 ve 4.19 ise TFM üzerine parametrelerin etkilerini göstermektedir.



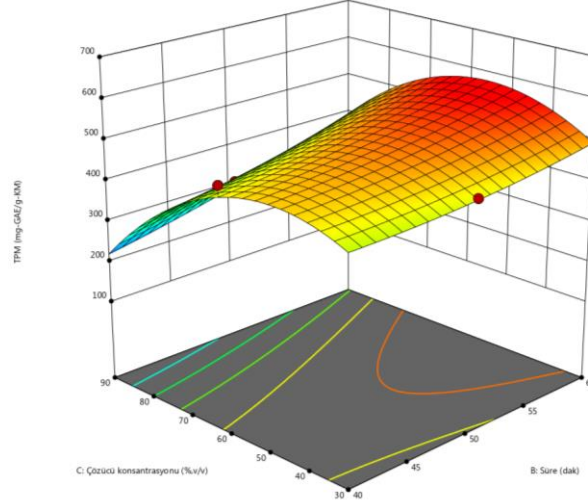
Şekil 4.14 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde kabuk parçacık boyutu ile ekstraksiyon süresinin TPM miktarı üzerine etkisi

Ekstraksiyon süresinin artması toplam fenolik madde miktarını düzenli olarak arttırmıştır. Parçacık boyutunun belirgin bir etkisi olmadığı gözlenmektedir (Şekil 4.14).



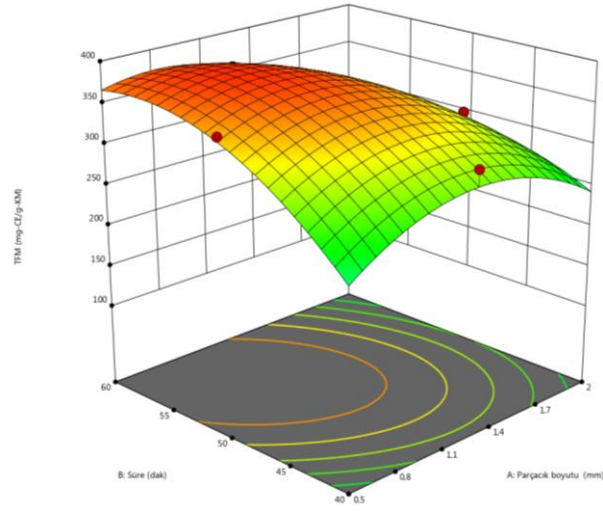
Şekil 4.15 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde kabuk parçacık boyutu ile çözücü konsantrasyonunun TPM miktarı üzerine etkisi

Etanol konsantrasyonunun artması TPM seviyesini önce düzenli olarak arttırmıştır. Yaklaşık %70 etanol seviyesinden sonra ise verimde azalma gözlenmiştir (Şekil 4.15). Bu durum, etanol solüsyonu içerisindeki belirli miktardaki suyun ekstraksiyonu iyileştirdiğinin göstergesidir.



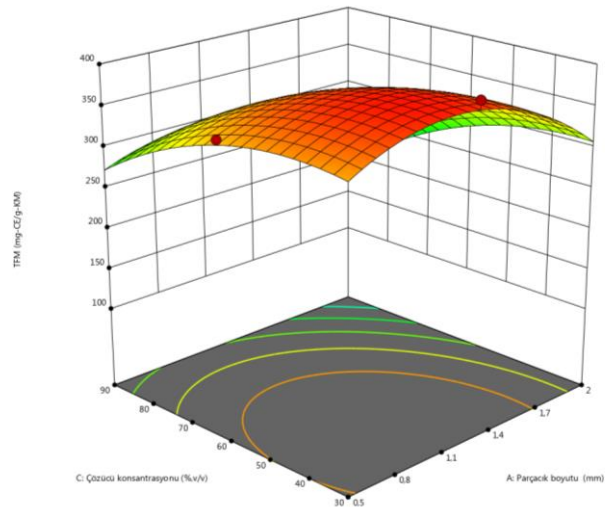
Şekil 4.16 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonunun TPM miktarı üzerine etkisi

Şekil 4.16’da süre ve etanol konsantrasyonu etkilerini yine aynı şekilde sergilemektedir.



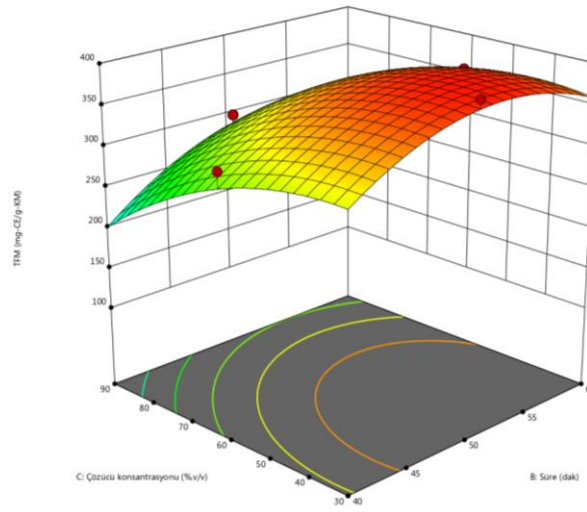
Şekil 4.17 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde kabuk parçacık boyutu ile ekstraksiyon süresinin TFM miktarı üzerine etkisi

Ekstraksiyon süresinin artması toplam flavonoid madde miktarını da düzenli olarak arttırmıştır. Parçacık boyutunun etkisi ise TFM üzerinde farklı olmuştur (Şekil 4.17). Parçacık boyutunun seviyesi 1,2'den sonra, verim olumsuz etkilenmiştir. BU durum kütle iletim prensipleriyle uyumludur. Çünkü, tanecik boyutu küçüldükçe birim alana etkiyen işlem de artmaktadır.



Şekil 4.18 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde kabuk parçacık boyutu ile çözücü konsantrasyonunun TFM miktarı üzerine etkisi

Şekil 4.18’den de görüldüğü gibi çözücü konsantrasyonu TFM üzerine yukarıda (TPM) belirtildiği gibi bir etki göstermiştir.



Şekil 4.19 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından OSE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonunun TFM miktarı üzerine etkisi

Şekil 4.19’da TFM verimi üzerine çözücü konsantrasyonu ve süre etkilerini göstermektedir. Süre belirli bir seviyeye (≈ 55 dak) ulaştıktan sonra dengeye gelmekte, ardından verim düşmeye başlamaktadır. Alkol etkisi de yine benzer trend vermiştir.

4.3.1.1. Modelleme ve Optimizasyon

Design-Expert programı ile üretilen 2. dereceden modeller, denklem 4.1 ve 4.2 ile verilmiştir:

$$Y_{TPM} = 504,53 - 7,01A + 57,28B - 80,10C - 45,05AB - 79,44AC + 30,09BC - 21,05A^2 + 13,39B^2 - 130,24C^2 \quad (4.1)$$

$$Y_{TFM} = 371,66 - 32,22A + 28,99B - 49,53C - 34,56AB - 9,21AC + 11,36BC - 56,00A^2 - 45,67B^2 - 34,33C^2 \quad (4.2)$$

Tablo 4.11, ikinci derece modellerin varyans analiz (ANOVA) sonuçlarını vermektedir. Her iki model de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.0001$). TPM için parçacık boyutu hariç tüm parametreler etkin ($p < 0.0001$) bulunmuştur. En önemli proses parametresi ise etnaol konsantrasyonu olarak bulunmuştur. Tüm parametre etkileşimleri de sistem için önemli bulunmuştur. Parçacık boyutu ve ekstraksiyon süresinin ikinci dereceden kuvvetleri ise sistem için etkin değildir ($p > 0.05$).

TFM açısından bakıldığında tüm proses parametreler (A, B ve C) önemli olup ($p < 0.0001$), en önemlisi yine etanol konsantrasyonudur. Bunun yanında tüm etkileşimler ve ikinci dereceden kuvvetler de sistem için önemli bulunmuştur.

Her iki cevap değeri için de varyasyon katsayısı (CV) %10'un altında bir değere sahiptir (Tablo 4.11). Bu da yine modellerin güvenilir olduğunu doğrulamaktadır. R^2 değerleri de 0,98'den büyük olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.11 OSE sistemine ait varyans analiz sonuçları

	Kaynaklar	Kareler Toplam	Df	Ortalama kare	F değer	p-değer
TPM	Model	2,636E+05	9	29293,72	69,95	< 0,0001 Önemli
	A-Parçacık boyutu	491,45	1	491,45	1,17	0,3041
	B-Yıkama süresi	32812,58	1	32812,58	78,36	< 0,0001
	C-Çözücü konsantrasyonu	64157,01	1	64157,01	153,21	< 0,0001
	AB	16236,86	1	16236,86	38,77	< 0,0001
	AC	50482,64	1	50482,64	120,55	< 0,0001
	BC	7244,19	1	7244,19	17,30	0,0020
	A ²	1218,99	1	1218,99	2,91	0,1188
	B ²	493,28	1	493,28	1,18	0,3032
	C ²	46646,01	1	46646,01	111,39	< 0,0001
	Kalıntı	4187,59	10	418,76		
	Uyum eksikliği	4182,03	5	836,41	753,16	< 0,0001 Önemli
	Saf hata	5,55	5	1,11		
	Kor Total	2,678E+05	19			
%C.V. = 4,70		R ² = 0,9844		Düzeltilmiş R ² = 0,9703	Öngörülen R ² = 0,7298	
TFM	Model	1,229E+05	9	13652,59	108,00	< 0,0001 Önemli
	A-Parçacık boyutu	10381,03	1	10381,	82,12	< 0,0001
	B-Yıkama süresi	8401,48	1	8401,48	66,46	< 0,0001
	C-Çözücü konsantrasyonu	24534,98	1	24534,98	194,09	< 0,0001
	AB	9553,77	1	9553,77	75,58	< 0,0001
	AC	678,11	1	678,11	5,36	0,0431
	BC	1032,67	1	1032,67	8,17	0,0170
	A ²	8623,92	1	8623,92	68,22	< 0,0001
	B ²	5736,62	1	5736,62	45,38	< 0,0001
	C ²	3240,96	1	3240,96	25,64	0,0005
	Kalıntı	1264,13	10	126,41		
	Uyum eksikliği	1261,17	5	25223,36	426,38	< 0,0001 Önemli
	Saf hata	2,96	5	59,16		
	Kor Toplam	1,241E+05	19			
%C.V. = 3,70		R ² = 0,9898		Düzeltilmiş R ² = 0,9807	Öngörülen R ² = 0,9483	

Tablo 4.12 OSE sistemi için optimum koşulları ve bu koşullarda elde edilen maksimum TPM ve TFM değerlerini göstermektedir. Verilen koşullar için doğrulama deneyleri yapılmış, sonuçların tahmini değerler ile uyumlu (hata<%2) olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.12 OSE sistemi için optimum koşullar ve koşulların validasyonu

Optimum Ekstraksiyon Koşullar						
A (mm)	B (dak)	C (%v/v)	Cevap	Tahmini	Deneysel	Hata oranı (%)
0,89	57	51	TPM	562,164	560,750	< 2
			TFM	391,075	385,030	

4.3.2. Homojenizatör-Destekli Ekstraksiyon

HDE yönteminde bağımsız değişken olarak kabukların çözücü konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi ve karıştırma hızı seçilmiştir. Optimizasyon TPM ve TFM bağımlı değişkenlerini maksimum yapacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.13, HDE sisteminde kullanılan bağımsız değişkenleri ve seviyelerini göstermektedir.

Tablo 4.13 HDE sisteminde seçilen parametreler, sembolleri, seviye ve kodları

Parametre	Sembol	Seviye ile kod		
		-1	0	1
Çözücü konsantrasyonu (% v/v)	A	30	60	90
Ekstraksiyon süresi (sn)	B	30	60	90
Karıştırma hız (rpm)	C	5000	7000	9000

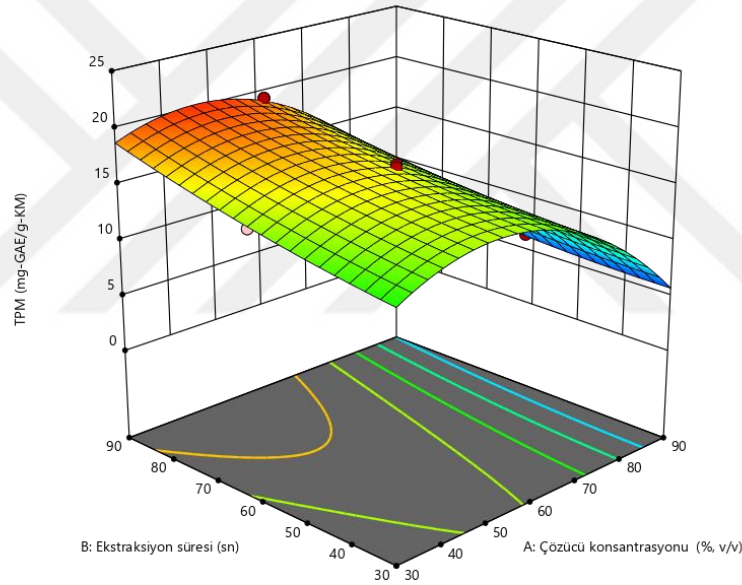
Tablo 4.14 meyve kabuklarının HDE sistemi ile ekstraksiyonunda MKT ile deneysel tasarım sonucu üretilen deseni göstermektedir. 3 parametre ve 3 seviyeli MKT ile 20 deney üretilmiştir. Sonuçlar karşılaştırmalı (deneysel ve tahmini) olarak verilmiştir.

Tablo 4.14 HDE sisteminde MKT deseni ile elde edilen sonuçlar

	A (%,v/v)	B (sn)	C (rpm)	Deneysel TPM (mg-GAE/g- KM)	Öngörülen TPM (mg-GAE/g- KM)	Deneysel TFM (mg-CE/g-KM)	Öngörülen TFM (mg-CE/g-KM)
1	30	90	5000	15,17±0,002	15,61±0,002	23,62±0,007	24,55±0,007
2	90	90	9000	9,28±0,001	9,76±0,001	25,07±0,005	25,98±0,005
3	90	30	9000	4,44±0,001	3,99±0,001	6,44±0,001	5,36±0,001
4	60	60	9000	16,60±0,003	16,78±0,003	31,9±0,002	33,21±0,002
5	60	60	7000	16,89±0,005	16,59±0,005	35,25±0,002	35,91±0,002
6	60	90	7000	19,38±0,002	19,12±0,002	45,52±0,001	45,84±0,001
7	60	60	7000	16,42±0,001	16,59±0,001	38,81±0,002	35,91±0,002
8	60	60	7000	16,63±0,004	16,59±0,004	35,66±0,002	35,91±0,002
9	90	30	5000	6,02±0,001	6,40±0,001	18,03±0,001	19,47±0,001
10	60	60	7000	16,63±0,001	16,59±0,001	35,66±0,001	35,91±0,001
11	30	60	7000	15,25±0,001	15,43±0,001	27,24±0,002	28,51±0,002
12	90	60	7000	6,54±0,001	6,4±0,001	19,11±0,001	18,43±0,001
13	60	60	5000	15,39±0,002	15,33±0,002	32,97±0,003	32,24±0,003
14	30	30	9000	11,50±0,002	11,75±0,002	30,24±0,004	30,68±0,004
15	90	90	5000	5,58±0,003	5,31±0,003	30,31±0,005	29,72±0,005
16	60	60	7000	16,42±0,003	16,59±0,003	35,63±0,002	35,91±0,002
17	30	90	9000	21,16±0,003	20,77±0,003	42,19±0,003	40,61±0,003
18	60	30	7000	14,85±0,002	15,15±0,002	35,49±0,001	35,75±0,001
19	30	30	5000	13,94±0,001	13,45±0,001	26,05±0,007	24,99±0,007
20	60	60	7000	16,63±0,001	16,59±0,001	35,66±0,005	35,91±0,005

Tablo 4.14'ten de görüldüğü gibi, TPM miktarı 5,58 mg-GAE/g-KM ile 19,38 mg-GAE/g-KM arasında değişmektedir. Yine ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak TFM ise 6,44 mg-CE/g-KM ile 42,19 mg-CE/g-KM arasında değişmektedir.

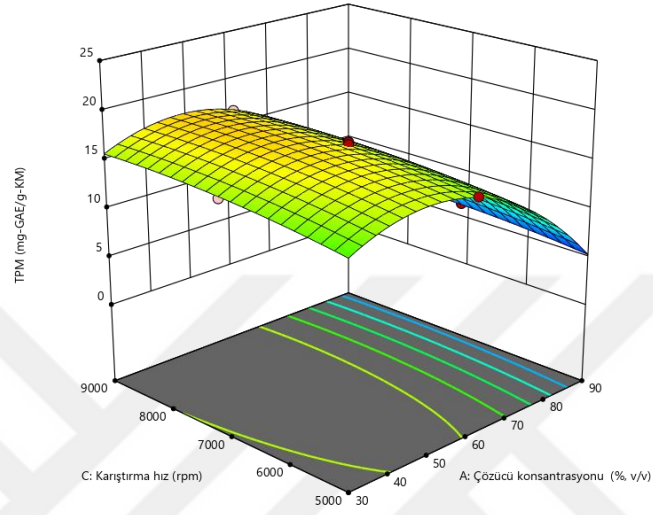
Proses parametrelerinin verim üzerinde etkilerini daha net görebilmek için Design-Expert programı ile 3D görseller üretilmiştir. Şekil 4.20, 4.21 ve 4.22 TPM üzerine parametrelerin etkilerini göstermektedir. Şekil 4.23, 4.24 ve 4.25 ise TFM üzerine parametrelerin etkilerini göstermektedir.



Şekil 4.20 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresinin TPM miktarı üzerine etkisi

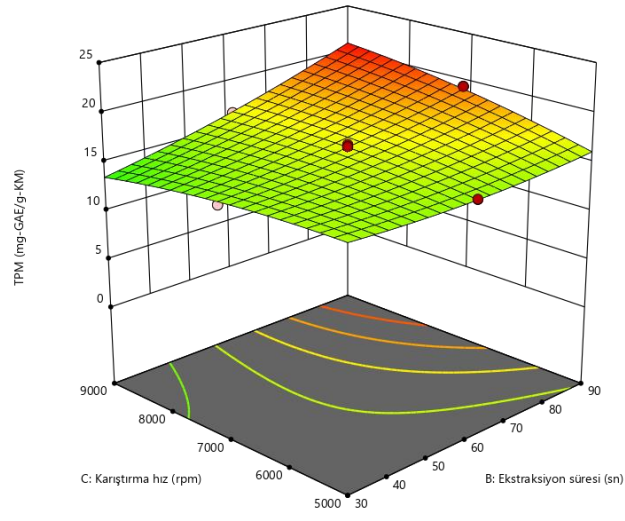
Şekil 4.20'den de görüldüğü gibi etanol konsantrasyonunun artması ile TPM verimi artmış, ardından azalma gözlenmiştir. %60'lardan sonra gözlenen bu düşüş polaritenin azalması ile açıklanabilir. Suyun polaritesi etanolün polaritesine (1'e karşı 0,654) göre daha yüksek değerdedir. Solüsyon içerisindeki etanol artışı solventin polaritesini düşürecek ve polar

fenolik madde miktarının polaritesi azalmış solüsyona difüzyonu da azalacaktır. Diğer taraftan, daha uçucu olan etanol ekstraksiyon sürecinde ısınma ile daha hızlı bir şekilde buharlaştığı için etkinliği de azalabilir.



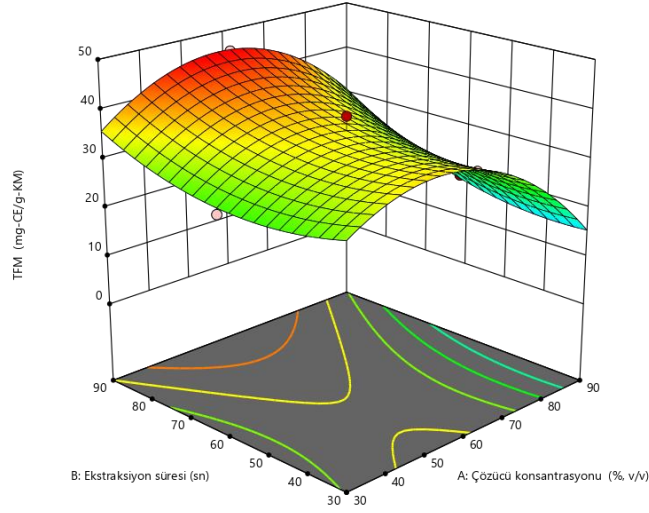
Şekil 4.21 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde çözücü konsantrasyonu ile karıştırma hızının TPM miktarı üzerine etkisi

Şekil 4.21, karıştırma hızının TPM verimi üzerinde çok etkin olmadığını göstermektedir.



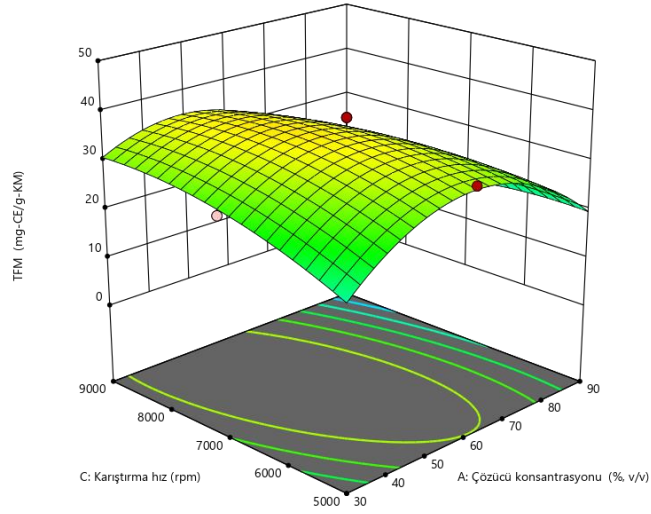
Şekil 4.22 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile karıştırma hızının TPM miktarı üzerine etkisi

Şekil 4.22 ise sürenin verim üzerinde çok hafif bir şekilde olumlu etkide olduğunu göstermektedir.



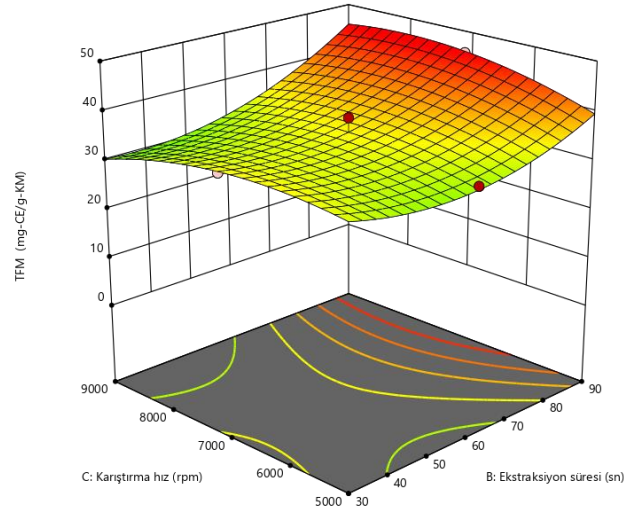
Şekil 4.23 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresinin TFM miktarı üzerine etkisi

Şekil 4.23, TFM verimi üzerinde etanol konsantrasyonu etkisinin TPM’de olduğu gibi bir eğilim içinde olduğunu göstermektedir. Ekstraksiyon süresinin ise genel olarak verimi artırıcı yönde bir eğilim içerisinde olduğu yine Şekil 4.23 ve Şekil 4.25’ten gözlenmektedir. Sürenin artması ile verimin artması kütle iletiminin dengeye gelmesi ile ilgili bir durumdur. Yani zamanla katı malzeme içerisindeki biyoaktif maddelerin solüsyona geçişi artmaktadır. Ayrıca, yapılan ön denemeler 90 dakikadan sonra verimin düştüğünü göstermiştir. Bu durum söz konusu sistem için dengeye gelme süresi (doymunluk) 90 dakika olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.24 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde çözücü konsantrasyonu ile karıştırma hızının TFM miktarı üzerine etkisi

Karıştırma hızının yaklaşık 7000 rpm'e kadar verimi arttırdığı ardından değişimin belirgin olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.24).



Şekil 4.25 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından HDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile karıştırma hızının TFM miktarı üzerine etkisi

4.3.2.1. Modelleme ve Optimizasyon

Design-Expert programı ile üretilen 2. dereceden modeller, denklem 4.3 ve 4.4 ile verilmiştir:

$$Y_{TPM} = 16,60 - 4,52A + 1,98B + 0,6874C - 0,8122AB - 0,1779AC + 1,71BC - 5,68A^2 + 0,5440B^2 - 0,5762C^2 \quad (4.3)$$

$$Y_{TFM} = 35,92 - 5,04A + 5,05B + 0,4861C + 2,67AB - 4,95AC + 2,59BC - 12,44A^2 + 4,89B^2 - 3,19C^2 \quad (4.4)$$

Tablo 4.15, ikinci derece modellerin varyans analiz (ANOVA) sonuçlarını vermektedir. Her iki model de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,0001$). TPM için konsantrasyon ile karıştırma hızı ($p > 0,05$) hariç tüm parametreler etkin ($p < 0,0001$) bulunmuştur. En önemli proses parametresi ise etanol konsantrasyonu olarak bulunmuştur. Bunu konsantrasyonun ikinci dereceden kuvveti, süre ve süre ile karıştırma hızının etkileşimi takip etmiştir ($p < 0,0001$).

TFM açısından bakıldığında karıştırma hızı hariç tüm parametreler istatistiksel olarak önemlidir. En önemlisi ise etanol konsantrasyonunun ikinci dereceden kuvveti olarak gözlenmiştir. Ayrıca, tüm parametrelerin birbirleriyle etkileşimi de yine söz konusu ekstraksiyon sistemi için istatistiksel olarak önemlidir (Tablo 4.15).

Her iki cevap değeri için de varyasyon katsayısı (CV) %10'un altında bir değere sahiptir (Tablo 4.15). Bu da yine modellerin güvenilir olduğunu doğrulamaktadır. R^2 değerleri de 0,98'den büyük olarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.15 HDE sistemine ait varyans analiz sonuçları

	Kaynaklar	Kareler Toplam	Df	Ortalama kare	F değeri	p-değer	
TPM	Model	440,57	9	48,95	292,37	< 0,0001	Önemli
	A-Çözücü konsantrasyonu	203,87	1	203,87	1217,61	< 0,0001	
	B-Ekstraksiyon süresi	39,34	1	39,34	234,95	< 0,0001	
	C-Karıştırma hızı	4,73	1	4,73	28,22	0,0003	
	AB	5,28	1	5,28	31,52	0,0002	
	AC	0,2532	1	0,2532	1,51	0,2470	
	BC	23,49	1	23,49	140,32	< 0,0001	
	A ²	88,69	1	88,69	529,73	< 0,0001	
	B ²	0,8138	1	0,8138	4,86	0,0520	
	C ²	0,9130	1	0,9130	5,45	0,0417	
	Kalıntı	1,67	10	0,1674			
	Uyum Eksikliği	1,52	5	0,3049	10,19	0,0117	Önemli
	Saf hata	0,1496	5	0,0299			
	Kor Toplam	442,25	19				
%C.V. = 2,98		R ² = 0,9962		Düzeltilmiş R ² _D = 0,9928	Öngörülen R ² _Ö = 0,9293		
TFM	Model	1541,25	9	171,25	75,39	< 0,0001	Önemli
	A-Çözücü konsantrasyonu	253,75	1	253,75	111,71	< 0,0001	
	B-Ekstraksiyon süresi	254,62	1	254,62	112,09	< 0,0001	
	C-Karıştırma hızı	2,36	1	2,36	1,04	0,3318	
	AB	57,11	1	57,11	25,14	0,0005	
	AC	195,92	1	195,92	86,25	< 0,0001	
	BC	53,75	1	53,75	23,66	0,0007	
	A ²	425,63	1	425,63	187,37	< 0,0001	
	B ²	65,63	1	65,63	28,89	0,0003	
	C ²	27,92	1	27,92	12,29	0,0057	
	Kalıntı	22,72	10	2,27			
	Uyum Eksikliği	13,85	5	2,77	1,56	0,3180	Önemsiz
	Saf hata	8,86	5	1,77			
	Kor Toplam	1563,97	19				
%C.V. = 4,93		R ² = 0,9855		Düzeltilmiş R ² = 0,9724	Öngörülen R ² = 0,8451		

Tablo 4.16 HDE sistemi için optimum koşulları ve bu koşullarda elde edilen maksimum TPM ve TFM değerlerini göstermektedir. Verilen koşullar için doğrulama deneyleri yapılmış, sonuçların tahmini değerler ile uyumlu (hata<%2) olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.16 HDE sistemi için optimum koşullar ve koşulların validasyonu

Optimum Ekstraksiyon Koşullar						
A (%v/v)	B (sn)	C(rpm)	Cevap	Tahmini	Deneyisel	Hata oranı (%)
52	88	8300	TPM	21,206	20,890	< 2
			TFM	46,183	45,860	

4.3.3. Mikrodalga-Destekli Ekstraksiyon

MDE yönteminde bağımsız değişken olarak kabukların çözücü konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi ve mikrodalga gücü seçilmiştir. Optimizasyon TPM ve TFM bağımlı değişkenlerini maksimum yapacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Tablo 4.17, MDE sisteminde kullanılan bağımsız değişkenleri ve seviyelerini göstermektedir.

Tablo 4.17 MDE sisteminde seçilen parametreler, sembolleri, seviye ve kodları

Parametre	Sembol	Seviye ile kod		
		-1	0	1
Mikrodalga gücü (W)	A	100	250	400
Ekstraksiyon süresi (sn)	B	120	290	460
Çözücü konsantrasyonu (%v/v)	C	30	60	90

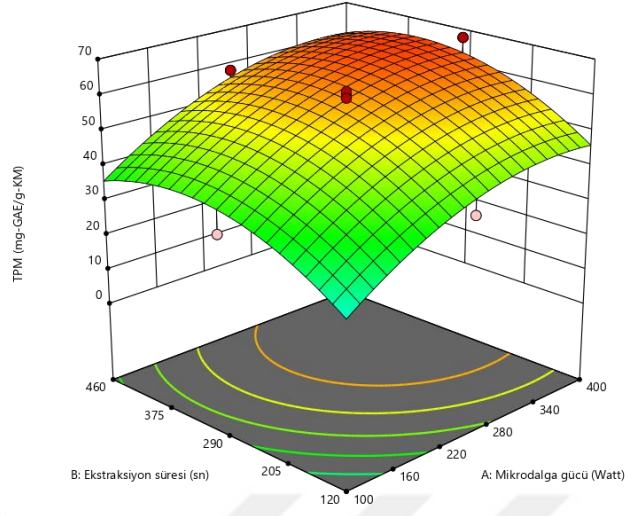
Tablo 4.18 meyve kabuklarının HDE sistemi ile ekstraksiyonunda MKT ile deneysel tasarım sonucu üretilen deseni göstermektedir. 3 parametre ve 3 seviyeli MKT ile 20 deney üretilmiştir. Sonuçlar karşılaştırmalı (deneysel ve tahmini) olarak verilmiştir.

Tablo 4.18 MDE sisteminde MKT deseni ile elde edilen sonuçlar

	A (W)	B (sn)	C (%,v/v)	Deneysel TPM (mg- GAE/g-KM)	Öngörülen TPM (mg- GAE/g-KM)	Deneysel TFM (mg- CE/g-KM)	Öngörülen TFM (mg- CE/g-KM)
1	250	290	60	59,21±0,001	58,85±0,001	106,10±0,002	104,97±0,002
2	250	290	60	59,47±0,002	58,85±0,002	112,13±0,002	104,97±0,002
3	100	120	90	4,03±0,001	1,34±0,001	4,20±0,003	2,60±0,003
4	250	290	90	22,62±0,001	24,87±0,001	45,12±0,003	53,49±0,003
5	100	290	60	32,61±0,003	39,32±0,003	51,77±0,003	60,01±0,003
6	400	290	60	67,61±0,003	63,22±0,003	112,25±0,004	107,64±0,004
7	250	290	60	61,14±0,002	58,85±0,002	107,80±0,007	10,97±0,007
8	100	460	90	5,41±0,005	4,20±0,005	11,03±0,001	5,23±0,001
9	100	460	30	32,16±0,004	31,65±0,004	47,86±0,001	51,48±0,001
10	250	460	60	58,02±0,001	55,89±0,001	101,69±0,001	99,62±0,001
11	250	290	60	58,48±0,001	58,85±0,001	99,41±0,001	104,97±0,001
12	250	290	60	58,83±0,002	58,85±0,002	112,25±0,002	104,97±0,002
13	100	120	30	11,46±0,002	9,16±0,002	13,25±0,002	8,78±0,002
14	250	290	60	60,63±0,001	58,85±0,001	99,42±0,003	104,97±0,003
15	250	290	30	56,88±0,003	56,96±0,003	114,80±0,001	110,07±0,001
16	400	120	90	9,85±0,001	9,78±0,001	18,16±0,001	13,63±0,001
17	250	120	60	37,76±0,002	42,21±0,002	65,03±0,001	70,73±0,001
18	400	460	30	68,91±0,001	71,02±0,001	135,01±0,001	135,70±0,001
19	400	460	90	12,94±0,001	14,67±0,001	25,16±0,004	28,72±0,004
20	400	120	30	45,88±0,002	46,50±0,002	75,66±0,004	80,55±0,004

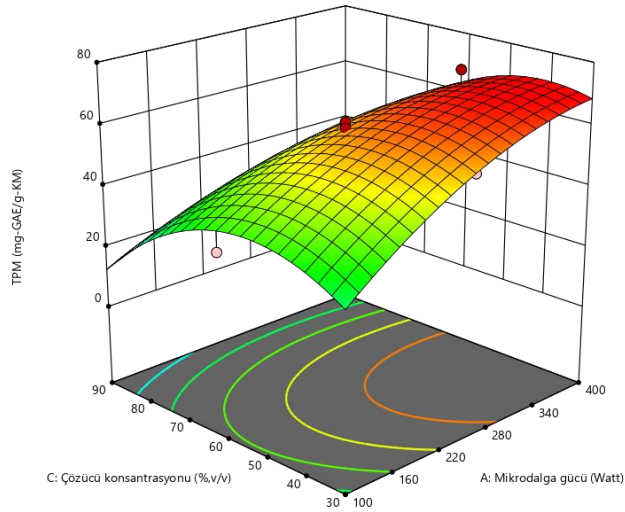
TPM miktarı 4,03 mg-GAE/g-KM ile 68,91 mg-GAE/g-KM arasında değişmektedir (Tablo 4.18). Yine ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak TFM ise 4,20 mg-CE/g-KM ile 135,01 mg-CE/g-KM arasında değişmektedir.

Proses parametrelerinin verim üzerinde etkilerini daha net görebilmek için Design-Expert programı ile 3D görseller üretilmiştir. Şekil 4.26, 4.27 ve 4.28 TPM üzerine parametrelerin etkilerini göstermektedir. Şekil 4.29, 4.30 ve 4.31 ise TFM üzerine parametrelerin etkilerini göstermektedir.



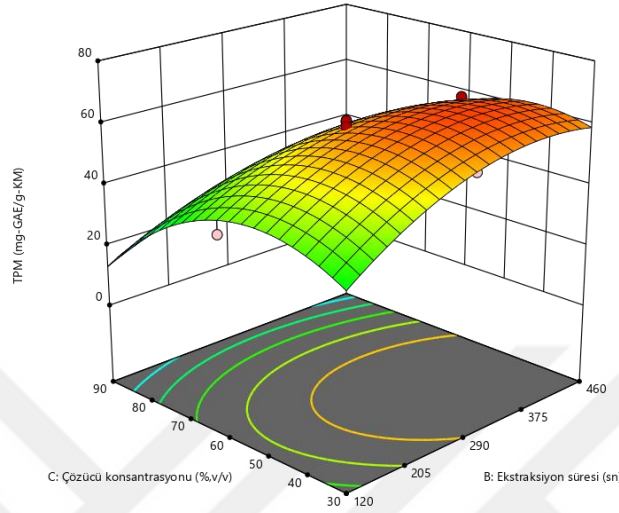
Şekil 4.26 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde mikrodalga gücü ile ekstraksiyon süresinin TPM miktarı üzerine etkisi

Mikrodalga gücünün sistem üzerinde etkisine bakıldığında (Şekil 4.26), belirli bir değere kadar TPM verimi üzerinde olumlu bir etkisi olmuştur. Belirli bir değerden sonra ise verim değişmemiştir. Yani ekstrakte edilen TPM seviyesinde doygunluk seviyesine ulaşılmıştır.



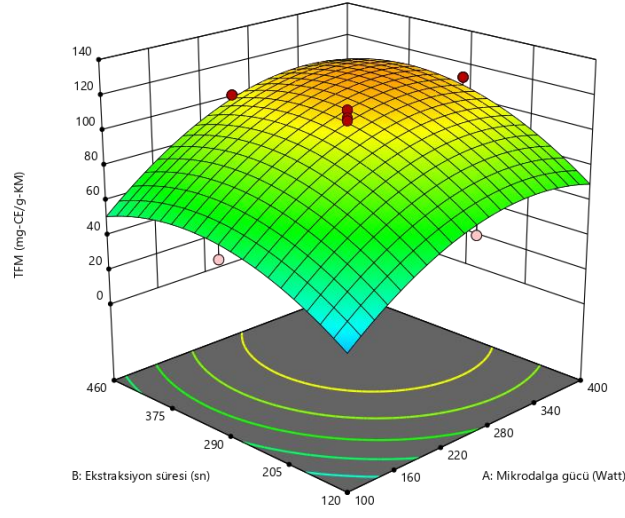
Şekil 4.27 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde mikrodalga gücü ile çözücü konsantrasyonunun TPM miktarı üzerine etkisi

Şekil 4.27 çözücü içerisindeki etanol oranının TPM üzerinde etkisini göstermektedir. Yukarıdaki yöntemde (HDE) gözlenen trend bu yöntemde de gözlenmiştir. Olası sebebi ise yukarıda açıklanmıştır.

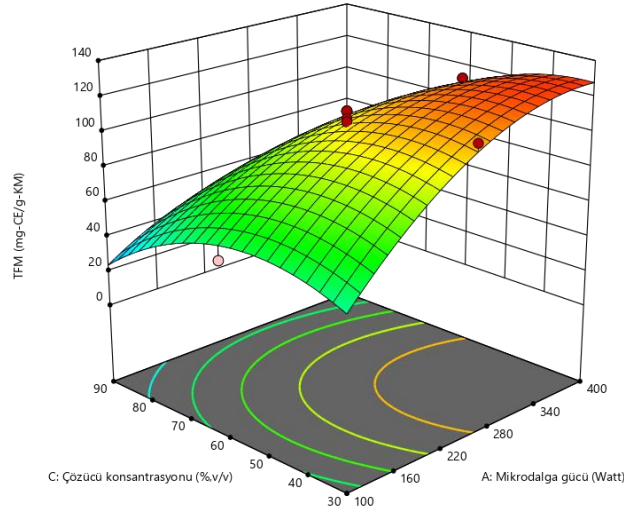


Şekil 4.28 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonunun TPM miktarı üzerine etkisi

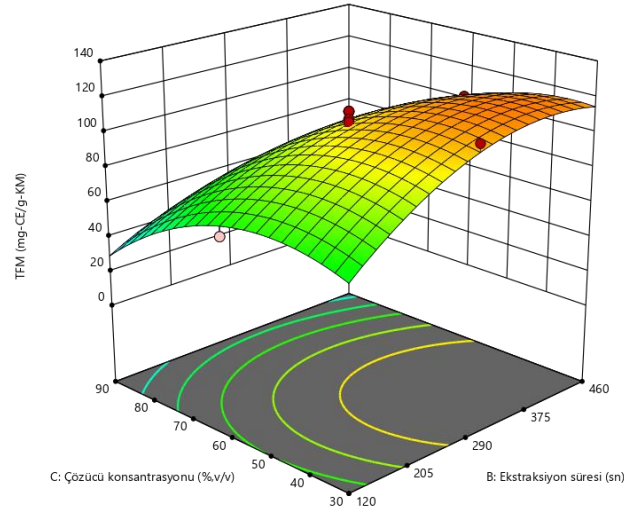
Süre de güce benzer bir eğilim içerisinde (Şekil 4.28). 400 saniyeden sonra verimde bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu durum yine dengeye gelme süresi ile ilgili bir durumdur. ~400 saniyeden sonra çözücüye transfer olacak olan hedef bileşenler artık durmuş, çözücü istenen bileşence doymuştur.



Şekil 4.29 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde mikrodalga gücü ile ekstraksiyon süresinin TFM miktarı üzerine etkisi



Şekil 4.30 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde mikrodalga gücü ile çözücü konsantrasyonunun TFM miktarı üzerine etkisi



Şekil 4.31 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarından MDE yöntemi ile ekstrakt eldesinde ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonunun TFM miktarı üzerine etkisi

TFM açısından bakıldığında, TFM veriminin değişkenlere bağlı olarak yukarıda açıklananlar ile benzer bir eğilimde olduğu görülmektedir (Şekil 4.29, 4.30 ve 4.31).

4.3.3.1. Modelleme ve Optimizasyon

Design-Expert programı ile üretilen 2. dereceden modeller, denklem 4.5 ve 4.6 ile verilmiştir:

$$Y_{\text{TPM}} = 58,85 + 11,95A + 6,85B - 16,04C + 0,5071AB - 7,23AC - 4,91BC - 7,58A^2 - 9,80B^2 - 17,94C^2 \quad (4.5)$$

$$Y_{\text{TFM}} = 104,97 + 23,81A + 14,45B - 28,29C + 3,11AB - 15,18AC - 10,02BC - 21,15A^2 - 19,80B^2 - 23,20C^2 \quad (4.6)$$

Tablo 4.19, ikinci derece modellerin varyans analiz (ANOVA) sonuçlarını vermektedir. Her iki model de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0,0001$). TPM için konsantrasyon ile

güç etkileşimi ($p>0,05$) hariç tüm parametreler etkin ($p<0,05$) bulunmuştur. En önemli proses parametresi ise etanol konsantrasyonu olarak bulunmuştur ($p<0,0001$).

TFM açısından bakıldığında da aynı şekilde konsantrasyon ile güç etkileşimi ($p>0,05$) hariç tüm parametreler etkin ($p<0,05$) bulunmuştur (Tablo 4.20). En önemli proses parametresi de yine etanol konsantrasyonu olarak bulunmuştur ($p<0,0001$).

Her iki cevap değeri için de varyasyon katsayısı (CV) %10'un altında bir değere sahiptir (Tablo 4.19). Bu da yine modellerin güvenilir olduğunu doğrulamaktadır. R^2 değerleri de 0,98'den büyük olarak hesaplanmıştır.



Tablo 4.19 MDE sistemine ait varyans analiz sonuçları

	Kaynaklar	Kareler Toplam	Df	Ortalama kare	F değer	p-değer
TPM	Model	9774,38	9	1086,04	87,07	< 0,0001 Önemli
	A-Mikrodalga gücü	1428,43	1	1428,43	114,52	< 0,0001
	B-Ekstraksiyon süresi	468,54	1	468,54	37,56	0,0001
	C-Çözücü konsantrasyonu	2573,75	1	2573,75	206,34	< 0,0001
	AB	2,06	1	2,06	0,1649	0,6932
	AC	418,00	1	418,00	33,51	0,0002
	BC	192,64	1	192,64	15,44	0,0028
	A ²	157,94	1	157,94	12,66	0,0052
	B ²	263,94	1	263,94	21,16	0,0010
	C ²	884,71	1	884,71	70,93	< 0,0001
	Kalıntı	124,73	10	12,47		
	Uyum eksikliği	119,31	5	23,86	22,01	0,0020 Önemli
	Saf hata	5,42	5	1,08		
	Kor Topla	9899,11	19			
%C.V. = 8,57		R ² = 0,9874		Düzeltilmiş R ² = 0,9761	Öngörülen R ² = 0,9102	
TFM	Model	33580,03	9	3731,11	71,70	< 0,0001 Önemli
	A-Mikrodalga gücü	5670,59	1	5670,59	108,97	< 0,0001
	B-Ekstraksiyon süresi	2086,58	1	2086,58	40,10	< 0,0001
	C-Çözücü konsantrasyonu	8003,81	1	8003,81	153,80	< 0,0001
	AB	77,56	1	77,56	1,49	0,2501
	AC	1844,37	1	1844,37	35,44	0,0001
	BC	802,60	1	802,60	15,42	0,0028
	A ²	1229,61	1	1229,61	23,63	0,0007
	B ²	1077,62	1	1077,62	20,71	0,0011
	C ²	1479,59	1	1479,59	28,43	0,0003
	Kalıntı	520,39	10	52,04		
	Uyum eksikliği	353,97	5	70,79	2,13	0,2136 Önemsiz
	Saf hata	166,42	5	33,28		
	Kor Toplam	34100,43	19			
%C.V. = 9,89		R ² = 0,9847		Düzeltilmiş R ² = 0,9710	Öngörülen R ² = 0,8818	

Tablo 4.20 MDE sistemi için optimum koşulları ve bu koşullarda elde edilen maksimum TPM ve TFM değerlerini göstermektedir. Verilen koşullar için doğrulama deneyleri yapılmış, sonuçların tahmini değerler ile uyumlu (hata<%2) olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.20 MDE sistemi için optimum koşullar ve koşulların validasyonu

Optimum Ekstraksiyon Koşullar						
A (W)	B (sn)	C (%v/v)	Cevap	Tahmini	Deneysel	Hata oranı (%)
389	404	32	TPM	72,481	70,895	< 2
			TFM	137,276	13	

4.4. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE

Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabukları homojenizatör-destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edildikten sonra farklı koşullarda elde edilen örneklerin içeriği antioksidan aktivite bakımından analiz edilmiştir. Sonuçların güvenilirliği için 2 farklı *in vitro* test (DPPH ve ABTS) uygulanmıştır. Tablo 4.21 farklı koşullarda ekstrakte edilen örneklerin antioksidan aktivite tayin sonuçlarını karşılaştırmalı olarak göstermektedir.

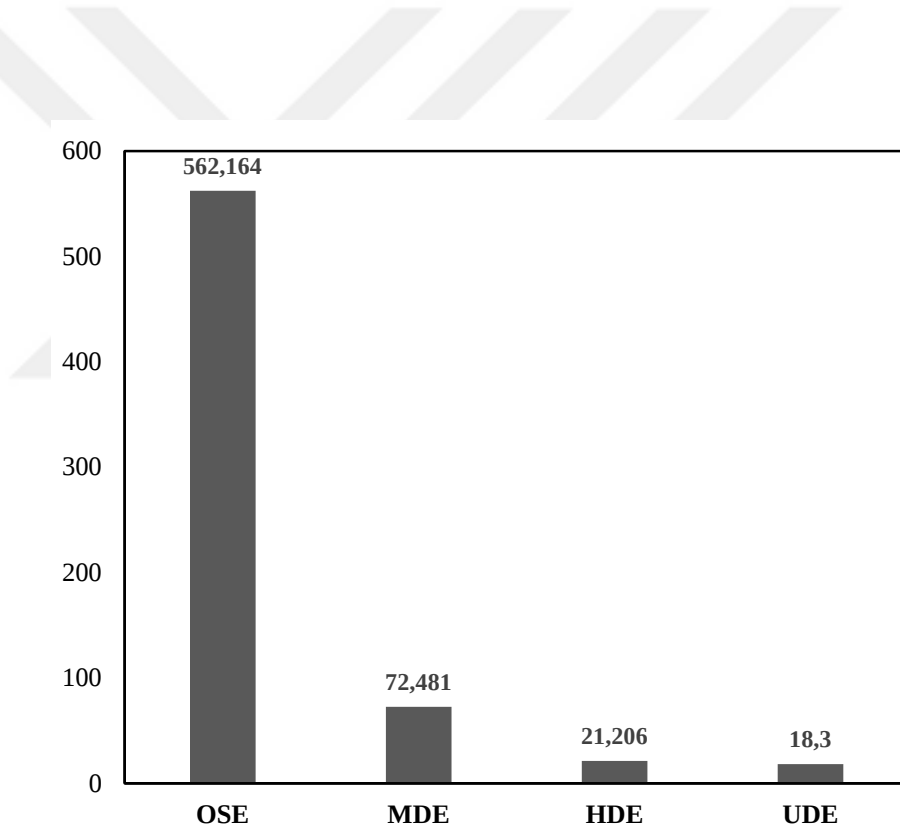
Tablo 4.21 Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabuklarına uygulanan HDE metodundan elde edilen ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri

No	A (%,v/v)	B (sn)	C (rpm)	AA-DPPH (mg-TEAC/g-KM)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-KM)
1	30	90	5000	15,51±0,001	22,07±0,002
2	90	90	9000	3,28±0,003	52,45±0,006
3	90	30	9000	5,93±0,002	27,28±0,005
4	60	60	9000	0,11±0,001	31,6±0,007
5	60	60	7000	0,12±0,005	31,32±0,002
6	60	90	7000	0,11±0,005	1,87±0,003
7	60	60	7000	0,11±0,003	2,93±0,001
8	60	60	7000	0,1±0,004	35,63±0,004
9	90	30	5000	5,96±0,001	27,52±0,001
10	60	60	7000	0,23±0,002	28,82±0,003
11	30	60	7000	15,95±0,001	21,84±0,001
12	90	60	7000	3,74±0,001	43,17±0,001
13	60	60	5000	0,26±0,002	26,87±0,005
14	30	30	9000	15,84±0,003	23,87±0,002
15	90	90	5000	3,51±0,003	43,96±0,003
16	60	60	7000	0,17±0,006	34,64±0,007
17	30	90	9000	16,23±0,007	30,14±0,003
18	60	30	7000	0,2±0,003	31,23±0,002
19	30	30	5000	16,34±0,001	27,93±0,002
20	60	60	7000	0,14±0,001	36,76±0,001

Örnekler DPPH yöntemi ile analiz edildiğinde sonuçlar 0,10 ile 16,34 mg-TEAC/g-KM arasında değerler vermiştir. ABTS yönteminden elde edilen bulgular 1,87 ile 52,45 mg-TEAC/g-KM arasında değişmiştir. ABTS yönteminden elde edilen antioksidan aktivite değerleri DPPH yönteminden elde edilen verilere kıyasla daha yüksek hesaplanmıştır. Bu durum, söz konusu antioksidan aktiviteye sahip maddenin kendine özgü karmaşık yapısının ilgili antioksidan tayin yönteminin mekanizmasına farklı reaksiyon göstermesi ile ilgili olabilir[84].

4.5. KARŞILAŞTIRMALI SONUÇLAR

Kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin kabukları homojenizatör-destekli ekstraksiyon, otomatik solvent ekstraksiyonu, ultrason-destekli ekstraksiyon ve mikrodalga-destekli ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte edilmiş, optimum koşullarda elde edilen örneklerin içeriklerindeki fenolik madde miktarları karşılaştırılmıştır. Söz konusu yöntemlerin karşılaştırmalı sonuçları Şekil 4.32 ile verilmiştir. Sonuçlar ekstraktlar içerisindeki TPM miktarlarını temsil etmektedir. En yüksek TPM seviyesi OSE ile elde edilmiş, en düşük değer ise UDE yönteminde gözlenmiştir (562,16 mg-GAE/g-KM'ye karşılık 18,30 mg-GAE/g-KM). Yani en yüksek ve en düşük verim karşılaştırıldığında, OSE ile ~30 kat daha yüksek verim elde edildiği görülmektedir.



Şekil 4.32 Ekstraksiyon yöntemlerinin fenolik miktar karşılaştırılması

OSE ile yaklaşık 1 saat ekstraksiyon süresinde söz konusu verime ulaşılmıştır. HDE ile 1,5 dakikada, MDE ile yaklaşık 7 dakikada ve UDE ile de yaklaşık 10 dakika gibi bir sürede dengeye ulaşılmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Biyoaktif bişelen kaynağı olarak kaymak ağacı (*Feijoa sellowiana*) meyvesinin seçilmiş olduğu bu çalışmada, öncelikle meyve ve kabukları (meyvenin ortalama %50 ağırlığına sahip) içerdığı antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşenlerce karşılaştırılmıştır. Ön denemeler neticesinde elde edilen bulgulara göre, ikincil metabolit seviyesi olarak en yüksek konsantrasyona kabuklar sahip olduğundan çalışmalar feijoa kabukları üzerinden devam etmiştir. Bu karşılaştırmalı sonuçlar tezin ilk adımını oluşturmuştur. İkinci aşamada ultrason-destekli ekstraksiyon ve mikrodalga-destekli ekstraksiyon yöntemlerinin kinetik verileri elde edilerek ekstraksiyon süreleri tespit edilmiştir. Her iki yöntemin kinetik mekanizması, yalancı birinci dereceden kinetik model ve yalancı ikinci dereceden kinetik model olmak üzere 2 farklı matematiksel model ile açıklanmıştır. Ayrıca yine elde edilen kinetik veriler ile söz konusu sistemlerin aktivasyon enerjileri hesaplanmıştır. Ultrason-destekli ekstraksiyon ve mikrodalga-destekli ekstraksiyon proseslerinin kütle transfer mekanizmaları farklı sıcaklıklar altında difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayısı ve Biot sayısı ile ifade edilmiştir. Yine aynı sistemlerin termodinamik parametreleri (entalpi, entropi ve Gibbs serbest enerji değişimleri) de hesaplanmıştır. Bir diğer adımda ise otomatik solvent ekstraksiyonu, homojenizatör-destekli ekstraksiyon ve mikrodalga-destekli ekstraksiyon sistemlerinin deneysel tasarımı, modellenmesi ve optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bunun için de Design-Expert paket programı (versiyon 12) kullanılarak Yanıt Yüzey Metodu uygulanmıştır. 3 seviyeli 3 faktörlü Merkezi Komposit Tasarım kullanılmıştır. Cevap değerleri ekstrakt içeriğindeki toplam fenolik ve flavonoid madde miktarları olarak belirlenmiştir. Son adımda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri iki farklı in vitro test ile tayin edilmiştir. Örneklerin antioksidan aktivite değerleri ayrı ayrı DPPH and ABTS serbest radikallerini süpürme etkisi cinsinden ifade edilmiştir. Yani elde edilen ürünlerin kalite parametreleri fenolik madde, flavonoid madde ve antioksidan aktivite özellikleriyle ifade edilmiştir. Son olarak da her bir yöntemin optimum değerinde elde edilen ekstraktların karşılaştırılması yaparak en yüksek verime sahip olan ekstraksiyon prosesi belirlenmiştir. Tez boyunca yapılan her adımı özetleyecek olursak:

- Homojenizatör-destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak meyve ve kabuğunun biyoaktif içerikleri karşılaştırmış, kabukların içeriğindeki toplam fenolik madde miktarının meyveninkinin ≈ 2 ile 7 katı (koşullara bağlı olarak) daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu durumda, çalışmalara kabuk üzerinden devam edilmiştir.
- Ultrason uygulamalarında üç farklı genlikte (%10, 15 ve 20) çalışılmış ve her üç sisteminde ilk beş dakikada dengeye geldiği gözlenmiştir. Enerjinin genliğinin artırılması ortamın sıcaklığını arttırmış, bu durumda verim çok az oranda artmıştır. Toplam fenolik madde verimi yaklaşık 16,5'ten (%10) ≈ 17 mg-GAE/g-KM'ye (%15), ve son olarak da ≈ 18 mg-GAE/g-KM'ye (%20) ulaşmıştır.
- Ultrason uygulamasında sistemin kinetik verilerini her iki kinetik modelde temsil etmektedir ($R^2 > 0.97$). Ayrıca, her iki kinetik modelin hız sabitlerinin (k_1 ve k_2) sıcaklık ile genel olarak arttığı gözlenmiştir. Bu durum sıcaklığın sistem kinetiğini arttırarak dengeye gelme süresini kısalttığını göstermektedir.
- UDE sisteminde difüzyon katsayısı $2,120 \times 10^{-8}$ ile $3,995 \times 10^{-8} \text{ m}^2 \text{ sn}^{-1}$ arasında değişmektedir. Biot sayısı ise $150,333 \times 10^3$ ile $206,867 \times 10^3$ arasında değişmektedir. Kütle transfer katsayısı ise $9,507$ ile $14,050 \text{ m sn}^{-1}$ arasında hesaplanmıştır. Sıcaklık ile beraber kütle iletiminin artması, viskozitenin düşmesi ile açıklanabilir.
- UDE sisteminin termodinamik yapısı ΔH , ΔS ve ΔG gibi parametreler ile değerlendirildiğinde entalpi değişiminin pozitif olması sistemin endotermik olduğunu, entropi değişiminin pozitif olması sistemin düzensizliğe doğru gittiğini ve son olarak Gibbs serbest enerjisinin tüm sıcaklık değerlerinde negatif olması sisteminin kendiğinden olduğuna işaret etmektedir.
- Mikrodalga uygulamalarında 4 farklı mikrodalga gücünde (100, 200, 300 ve 400 W) çalışılmıştır. Mikrodalga gücünün artması ile beraber önce belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir. 200 W ve 300 W güç altında, 400 saniyede dengeye ulaşılmış, sırasıyla 37,10 mg-GAE/g-KM ve 37,30 mg-GAE/g-KM verim elde edilmiştir. Mikrodalga gücü 400 W olduğunda ise 120 saniyede 41,80 mg-GAE/g-KM fenolik madde verimi elde edilmiştir.

- Mikrodalga uygulamasında sistemin kinetik verilerini en iyi yalancı birinci dereceden kinetik modelde temsil etmektedir ($R^2 > 0.96$). Ayrıca, her söz konusu kinetik modelin hız sabiti (k_1) sıcaklık ile artmaktadır.
- MDE sisteminin aktivasyon enerjisi $106.30 \text{ kJ mol}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Bu durum ekstraksiyon prosesinin difüzyonla değil reaksiyonla kontrol olduğunu göstermektedir.
- MDE sisteminin difüzyon katsayısı $1,446 \times 10^{-10}$ ile $5,653 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ sn}^{-1}$ arasında değişmektedir. Sıcaklık ile beraber kütle iletiminin de arttığı gözlenmektedir. Biot sayısı ise $584,16 \times 10^3$ ile $735,36 \times 10^3$ arasında değişmektedir. Kütle transfer katsayısı ise $0,2335$ ile $0,9720 \text{ m sn}^{-1}$ arasında hesaplanmıştır. Bu çalışmada hesaplanan yüksek Bi sayıları (> 100), iç direncin yüzey direncinden daha güçlü olduğunu göstererek solvent ve ham madde arasında etkili bir teması doğrulamaktadır.
- MDE sisteminde tespit edilen pozitif ΔH , sistemin endotermik olduğunu göstermektedir. $\Delta S > 0$ ise sistemin düzensizliğe doğru bir eğilime işaret etmektedir. $\Delta G < 0$, sistemin kendiliğinden olduğunu göstergesidir. Sıcaklığın artması ile ΔG 'nin mutlak değeri de artmıştır. Bu sonuç, sıcaklığın artırılmasının MDE sistemini daha uygulanabilir ve daha kendiliğinden hale getirdiğini göstermektedir.
- OSE, HDE ve MDE sistemler için modeller TPM ve TFM cevap değerleri için ayrı ayrı üretilmiş ve üretilen tüm ikinci derece modellerin istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,0001$) olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, yine tüm sistemlerde her iki cevap değeri için de varyasyon katsayısı %10'un altında bir değere sahiptir. Bu da yine modellerin güvenilir olduğunu doğrulamaktadır. R^2 değerleri de tüm sistemlerde 0,98'den büyük olarak hesaplanmıştır.
- 3 seviyeli 3 faktörlü MKT sonuçlarına göre OSE yöntemi için optimum koşullar 0,89 mm partikül boyutu, 57 dakika ekstraksiyon süresi ve %51 etanol konsantrasyonudur. Belirlenen koşullarda maksimum TPM ve TFM verimi ise sırasıyla 562,164 mg-GAE/g-KM ve 391,075 mg-CE/g-KM olarak hesaplanmıştır.
- 3 seviyeli 3 faktörlü MKT sonuçlarına göre HDE yöntemi için optimum koşullar %52 etanol konsantrasyonu, 88 saniye süre ve 8300 rpm karıştırma hızıdır. Belirlenen

koullarda maksimum TPM ve TFM verimi ise sırasıyla 21,206 mg-GAE/g-KM ve 46,183 mg-CE/g-KM olarak hesaplanmıştır.

- 3 seviyeli 3 faktörlü MKT sonuçlarına göre MDE yöntemi için optimum koşullar 389 W, 404 saniye ve %32 etanol konsantrasyonudur. Belirlenen koullarda maksimum TPM ve TFM verimi ise sırasıyla 72,481 mg-GAE/g-KM ve 137,276 mg-CE/g-KM olarak hesaplanmıştır.
- Her üç sistem için de programın önerdiği optimum koşullar için doğrulama deneyleri yapılmış, sonuçların tahmini değerler ile uyumlu (hata<%2) olduğu gözlenmiştir.
- Kaymak ağacı meyvesinin kabukları homojenizatör-destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edildikten sonra farklı koşullarda (20 koşulda) elde edilen örneklerin biyoaktif içeriği antioksidan aktivite bakımından analiz edilmiştir. Sonuçların güvenilirliği için 2 farklı *in vitro* test (DPPH ve ABTS) uygulanmıştır. Sonuçlar literatürde de belirtildiği gibi ilgili biyoatığın belirtilen serbest radikalleri süpürdüğünü doğrulamıştır. Sonuç olarak kaymak ağacı meyvesinin kabukları doğal bir antioksidan kaynağı olarak potansiyel göstermektedir.
- Son olarak tüm uygulanan ekstraksiyon işlemleri karşılaştırıldığında en yüksek fenolik madde miktarına otomatik solvent ekstraksiyon yöntemi ile ulaşılmıştır. Şöyle ki en düşük verime sahip ultrason-destekli ekstraksiyon yönteminin ürünü olan ekstrakt örneğine kıyasla, OSE yöntemiyle yaklaşık 30 kat yüksek bir TPM verime sahip ürün elde edilmiştir.
- Bu tezden üretilen tüm bulgular, feijoa meyvesinin ve kabuklarının ikincil metabolitlerce zengin antioksidan katkısı olarak potansiyele sahip olduğunu doğrulamaktadır. İlgili ürünün doğal katkı maddesi olarak gıda, kozmetik ve farmasötik uygulamalarda önerilebilmesi için biyoyumumluluk, *in vivo* ve klinik çalışmalar gibi ileri çalışmalar gerekebilir.

KAYNAKLAR

1. Peng, Y., Bishop, K. S., & Quek, S. Y., 2019, Extraction optimization, antioxidant capacity and phenolic profiling of extracts from flesh, peel and whole fruit of New Zealand grown feijoa cultivars. *Antioxidants*, 8(5), 141.
2. Rice-Evans, C., Miller, N., & Paganga, G., 1997, Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in plant science*, 2(4), 152-159.
3. Valko, M., Rhodes, C. J. B., Moncol, J., Izakovic, M. M., & Mazur, M., 2006, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 160(1), 1-40.
4. Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015, Global initiative on food loss and waste reduction, <http://www.fao.org/3/a-i4068e.pdf> (accessed December 6, 2017).
5. Santos, P. H., Ribeiro, D. H. B., Micke, G. A., Vitali, L., & Hense, H. (2019). Extraction of bioactive compounds from feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret) peel by low and high-pressure techniques. *The Journal of Supercritical Fluids*, 145, 219-227.
6. Ruberto G., Tringali C., 2004. Secondary Metabolites from the Leaves of Feijoa sellowiana Berg. *Phytochemistry*, 65: 2947–2952.
7. Santos K.L., Peroni N., Guries R.P., ve Nodari R.O., 2009. Traditional Knowledge and Management of Feijoa (*Acca sellowiana*) in Southern Brazil, *Economic Botany*, 63 (2): 204–214p
8. Bozbıyık N, 2013, *Fejoya'nın (Acca sellowiana) fiziksel ve kimyasal özelliklerinin araştırılması ve infrared kurutma yöntemi ile kurutma parametrelerinin belirlenmesi*, Doktora tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
9. Duan, Y., 2015, Non-destructive measurements of internal maturity of Feijoa (*Acca sellowiana*): Master degree of AgriScience in Horticulture at Palmerston North. *Massey University New Zealand*, 87.
10. Poodi, Y., Bimakr, M., Ganjloo, A., & Zarringhalami, S., 2017, Optimization and comparative evaluation of ultrasound-assisted extraction of bioactive phenolic compounds from feijoa (*Feijoa sellowiana*) leaves. *Innovative Food Technologies*, 5(1), 49-64.
11. Tazegül E., 1988, *Dictionary of Agricultural Sciences*. 1: 818
12. Aliev R.K., Orudzhev I.M., Aliev T.A. ve AKh R., 1964. Juice From Feijoa Fruit. *Aptechnaya Delo.*, 13: 24–26.

13. Pugliano G., 1987. Gennaiol Febbralo. *Agricoltura Ricerca*. 13-20
14. Gough B., 2008. *An Encyclopedia of Small Fruit*. Taylor&Francis Group, CRS press. Baca Raton. 38-39.
15. Kahraman K.A., Atak A. ve Kil L., 2007, Tohumdan Yetişen Bazı Kaymak Ağacı (Feijoa) Tiplerinin Fenolojik ve Pomolojik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Türkiye 5. Bahçe Bitkileri Kongresi*, Erzurum.
16. Vuotto, M. L., Basile, A., Moscatiello, V., De Sole, P., Castaldo-Cobianchi, R., Laghi, E., & Ielpo, M. T. L., 2000, Antimicrobial and antioxidant activities of Feijoa sellowiana fruit. *International journal of antimicrobial agents*, 13(3), 197-201.
17. Amarante, C. V. T. D., Souza, A. G. D., Steffens, C. A., & Benincá, T. D. T., 2019, Centesimal and mineral composition of the fruit in Brazilian genotypes of feijoa (Acca sellowiana). *Revista Brasileira de Fruticultura*, 41
18. Odenwald N.G. ve Turner J.G., 2006, *Identification, Selection, and use of Southern Plants*. (4th ed). Claitors publ. Louisiana. 6p
19. Lim L.K., 2012. Edible Medicinal and Non Medicinal Plants Fruits, Acca sellowiana. *Springer Netherlands*. 601-608.
20. Cimmino, F., Cianciullo, P., Maresca, V., Saggiomo, S., Sorbo, S., Bontempo, P., & Basile, A., 2022, *Feijoa sellowiana fruit, an amazing source of anticancer molecules*. *Annals of Research Oncology*, 123-137.
21. Roberts M.J., 2000, *Edible & Medicinal Flowers*. New Africa Books Ltd. Claremond, California. 160p.
22. Gutierrez R.M.P., Mitchell S.ve Solis R.V., 2008, *Psidium Guajava A Review of Ġts Traditional Uses*, Phytochemistry and Pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 117: 1-27
23. Haminiuk, C. W., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S., & Peralta, R. M., 2012, Phenolic compounds in fruits—an overview. *International Journal of Food Science & Technology*, 47(10), 2023-2044.
24. Tsao, R., 2010, *Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols*, *Nutrients* 2 (12), 1231–1246.
25. Ho, C. T., 1992, Phenolic compounds in food. In: Ho, C. T., Lee, C. Y. and Huang, M. T. (Eds), *Phenolic Compounds in Food and their Effects on Health I*. Washington DC: American Chemical Society, pp. 1-7
26. Yao, L. H., Jiang, Y. M., Shi, J., Tomas-Barberan, F. A., Datta, N., Singanusong, R., & Chen, S. S., 2004, *Flavonoids in food and their health benefits*. *Plant foods for human nutrition*, 59, 113-122
27. Dias, M. C., Pinto, D. C., & Silva, A. M., 2021, Plant flavonoids: Chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26(17), 5377.

28. Li J, Jiang Y., 2007, Litchi flavonoids: isolation, identification and biological activity. *Molecules*, 12(4):745-58
29. Samsonowicz, M. and E. Regulska., 2017 Spectroscopic study of molecular structure, antioxidant activity and biological effects of metal hydroxyflavonol complexes. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017. 173: p. 757-771
30. Lin D, Xiao M, Zhao J, Li Z, Xing B, Li X, Kong M, Li L, Zhang Q, Liu Y, Chen H, Qin W, Wu H, Chen S., 2016, An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules*, 21(10):1374.
31. Kumar N, Goel N., 2019, Phenolic acids: Natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnol Rep (Amst)*,24:e00370.
32. Stalikas, C. D., 2007, Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids, *Journal of separation science*, 30 (18), 3268–3295.
33. Karasawa, M.M.G. and C. Mohan, 2018, Fruits as prospective reserves of bioactive compounds: a review. *Natural products and bioprospecting*,8(5): p. 335-346.
34. Gülçin, I., et al., 2010, Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8- 9): p. 2227-2238.
35. Shahidi, F., & Zhong, Y., 2015, Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*, 18, 757-781.
36. Fernandez-Panchon, M. S., Villano, D., Troncoso, A. M., and Garcia-Parrilla, M. C. , 2008, Antioxidant activity of phenolic compounds: From in vitro results to in vivo evidence, *Critical reviews in food science and nutrition*, 48 (7), 649–671.
37. Francenia Santos-Sánchez, N., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C., and Hernández Carlos, B., 2019, Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism, *Antioxidants*, In: Shalaby E. (Ed.), IntechOpen, London, 1-29.
38. Vuolo, M. M., Lima, V. S., and Maróstica Junior, M. R., 2018, Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power, Bioactive compounds: health benefits and potential applications, In: Campos M. R. S. (Ed.), Chapter 2, Woodhead Publishing, Brazil, 33-50.
39. Saibaba, K. N., 2023, Next generation biosurfactants and their practical application in the food sector. In *Applications of Next Generation Biosurfactants in the Food Sector* (pp. 349-360). Academic Press.
40. Alhamad T., 2022, *Farklı Kurutma Yöntemleri Kullanarak Laurus Nobilis L.'Nin Kurutulması, Kurutma Kinetiğinin İncelenmesi Ve Antioksidan Kapasitesinin Değerlendirilmesi*, Yüksek Lisans tezi, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

41. Vinatoru, M., Mason, T.J., Calinescu, I., 2017. Ultrasonically Assisted Extraction (UAE) and Microwave Assisted Extraction (MAE) of Functional Compounds From Plant Materials. *Trends In Analytical Chemistry*, 97: 159-178.
42. Şengül, M., Topdaş, E. F., 2019, Katı-sıvı ekstraksiyonunda kullanılan modern teknikler ve bu teknikler arasında ultrason yardımlı ekstraksiyonun yeri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 50(2), 201-216.
43. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC Method, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 (26), 7970-7981.
44. Gazolu-Rusanova, D., Lesov, I., Tcholakova, S., Denkov, N., & Ahtchi, B., 2020, Food grade nanoemulsions preparation by rotor-stator homogenization. *Food Hydrocolloids*, 102, 105579.
45. Kano, T., Y. Aota, and K. Maruoka, 2016, Rate Acceleration of Solid-Liquid Phase-Transfer Catalysis by Rotor-Stator Homogenizer. *Advanced Synthesis & Catalysis*,. 358(18): p. 2996-2999.
46. Maa, Y. F., & Hsu, C., 1996, Liquid-liquid emulsification by rotor/stator homogenization. *Journal of Controlled Release*, 38(2-3), 219-228.
47. Javadi, T., et al., 2020, Homogenizer assisted dispersive liquid-phase microextraction for the extraction-enrichment of phenols from aqueous samples and determination by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1614: p. 460733
48. Park, J.-Y., et al., 2015, Sonication-assisted homogenization system for improved lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. *Renewable Energy*, 79: p. 3-8.
49. Wen, C., Zhang, J., Zhang, H., Dzah, C.S., Zandile, M., Duan, Y., Ma, H., Luo, X., 2018, Advances in Ultrasound Assisted Extraction of Bioactive Compounds From Cash Crops. *Ultrasonics Sonochemistry*, 48: 538-549.
50. Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., & Akkaya, Z., 2009, Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda*, 34(3), 175-182.
51. Esclapez, MD, García-Pérez, JV, Mulet, A., & Cárcel, JA., 2011, Doğal ürünlerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda Mühendisliği İncelemeleri* , 3 , 108-120.
52. Chemat, F., et al., 2017, Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34: p. 540-560.
53. Demirkol, Ö. Ş., Yakan, A. İ., & Alifakı, Y. Ö., 2018, Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) meyvesinden fenolik bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda*, 43(5), 846-855.

54. Pingret, D., Fabiano-Tixter, A.S., Chemat, F., 2013, *Ultrasound-assisted extraction, Natural Product Extraction: Principles and Applications*, In: Rostagno, M.A., Prado, J.M., (Eds.), Chapter 3, *Royal Society of Chemistry*, Dorchester, UK, 89-112.
 55. Gharibzahedi, S. M. T., & Smith, B., 2020, The functional modification of legume proteins by ultrasonication: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 98, 107-116.
 56. Şahin, Ö., 2019, *Melocan (Smilax excelsa L.) Bitkisinin Farklı Kısımlarının Ultrason ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon İle Elde Edilen Bileşenlerinin Tanımlanması*, Yüksek Lisans, Hacettepe Üniversitesi
 57. Dülger, G. Ç., Geçgel, Ü., & Culpan, E., 2018, Mikrodalga Ekstraksiyon Yöntemiyle Uçucu Yağ Eldesi, *Proceedins Book of International Eurasian Congress on Natural Nutrition & Healthy Life*, 12-15 Temmuz 2018, 525-530
 58. Kaufmann, B. and P. Christen., 2002, Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques*, 13(2): p. 105-113.
 59. Sevindik, O., & Selli, S., 2017, Üzüm Çekirdek Yağı Eldesinde Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemleri. *Gıda*, 42(1), 95-103.
 60. Şahin, S., Kurtulbaş, E., Pekel, A. G., Toprakçı, İ., and Bilgin, M. , 2021, Enhanced extraction of high added-value products from Hibiscus sabdariffa using automatic solvent extractor: Kinetics and modeling, *Sustainable chemistry and pharmacy*, 19, 100356.
 61. Kurtulbaş Şahin, E., Bilgin, M., and Şahin, S. , 2020, Automatic solvent extraction of sour cherry peels and storage stability of the products, *Biomass conversion and biorefinery*, 1–11.
 62. Hacimurat, N., 2019, *Hydrachna globosa, Hydryphantes dispar ve Limnesia fulgida (Acari, Hydrachnidia) türlerinde spektrofotometrik analizler*, Yüksek Lisans tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi
 63. Altinişik, M., & AD, A. B., 2004, Spektroskopik analiz yöntemleri. *Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Ders Notları*, 25.
 64. Wentworth, W. E., 1966, Dependence of the Beer-Lambert absorption law on monochromatic radiation: An experiment of spectrophotometry. *Journal of chemical education*, 43(5), 262.
 65. Musci, M., & Yao, S., 2017, Optimization and validation of Folin–Ciocalteu method for the determination of total polyphenol content of Pu-erh tea. *International journal of food sciences and nutrition*, 68(8), 913-918.
- Hudz, N., Yezerska, O., Shanaida, M., Sedláčková, V. H., & Wieczorek, P. P., 2019, Application of the Folin-Ciocalteu method to the evaluation of Salvia sclarea extracts. *Pharmacia*, 66(4), 209-215.

66. Martins, G. R., Monteiro, A. F., do Amaral, F. R. L., & da Silva, A. S. A., 2021, A validated Folin-Ciocalteu method for total phenolics quantification of condensed tannin-rich açai (*Euterpe oleracea* Mart.) seeds extract. *Journal of food science and technology*, 1-10.
67. Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M., 2021, Determination of total flavonoid content by aluminum chloride assay: A critical evaluation. *LWT*, 150, 111932.
68. Keskin, S., Sirin, Y., Cakir, H. E., Kaya, G., & Keskin, M. ,2019, Phenolic composition and antioxidant properties of *Spiraea nipponica*. *Int. J. Sci. Technol. Res*, 5, 87-92.
69. Güdr, A., 2016, Influence of total anthocyanins from bitter melon (*Momordica charantia* Linn.) as antidiabetic and radical scavenging agents. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 15(1), 301.
70. Chandrasekar, D., Madhusudhana, K., Ramakrishna, S., & Diwan, P. V., 2006, Determination of DPPH free radical scavenging activity by reversed-phase HPLC: a sensitive screening method for polyherbal formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 40(2), 460-464.
71. Wołosiak, R., Drużyńska, B., Derewiaka, D., Piecyk, M., Majewska, E., Ciecierska, M., & Pakosz, P., 2022, Verification of the conditions for determination of antioxidant activity by ABTS and DPPH assays—A practical approach. *Molecules*, 27(1), 50.
72. Miller, N.J., Rice-Evans, C. Davies., M.J.; Gopinathan, V.; Milner, A., 1993, A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical Science*, 84, 407–412.
73. Sevim, D., 2011, Antioksidanlar ve zeytinyağı. *Zeytin Bilimi*, 2(1), 43-47.
74. Rodríguez-Pérez, C., et al., 2015, Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from *Moringa oleifera* Lam leaves. *Industrial Crops and Products*, 66: p. 246-254.
75. Ha, G.-S. and J.-H. Kim., 2016, Kinetic and thermodynamic characteristics of ultrasound-assisted extraction for recovery of paclitaxel from biomass. *Process Biochemistry*, 51(10): p. 1664-1673.
76. Goula, A.M., 2013, Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil–Kinetic modeling. *Journal of Food Engineering*, 117(4): p. 492-498.
77. Butterworth, P.J., et al., 2012, Analysis of starch amylolysis using plots for first-order kinetics. *Carbohydrate Polymers*, 87(3): p. 2189-2197
78. Raj, G.B. and K.K. Dash., 2020, Ultrasound-assisted extraction of phytochemicals from dragon fruit peel: Optimization, kinetics and thermodynamic studies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2020. 68: p. 105180.

79. Lima, E.C., A.A. Gomes, and H.N. Tran, 2020, Comparison of the nonlinear and linear forms of the van't Hoff equation for calculation of adsorption thermodynamic parameters (ΔS° and ΔH°). *Journal of Molecular Liquids*, 311: p. 113315.
80. Krishnan, R.Y. and K. Rajan, 2016, Microwave assisted extraction of flavonoids from *Terminalia bellerica*: study of kinetics and thermodynamics. *Separation and Purification Technology*, 157: p. 169-178
81. Górnicki, K., R. Winiczenko, and A. Kaleta, 2019, Estimation of the Biot number using genetic algorithms: application for the drying process. *Energies*, 12(14): p. 2822.
82. Şahin, S., 2015, A novel technology for extraction of phenolic antioxidants from mandarin (*Citrus deliciosa* Tenore) leaves: Solvent-free microwave extraction. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 32, 950-9

Ramiz ABISHLI Yüksek Lisans Tezi

ORJİNALLİK RAPORU

% **12**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **11**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **2**

YAYINLAR

% **5**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1

acikbilim.yok.gov.tr

İnternet Kaynağı

% **3**

2

Submitted to The Scientific & Technological
Research Council of Turkey (TUBITAK)

Öğrenci Ödevi

% **2**

3

www.scribd.com

İnternet Kaynağı

% **1**

4

dergipark.org.tr

İnternet Kaynağı

% **1**

5

www.ktu.edu.tr

İnternet Kaynağı

<% **1**

6

gida.erciyes.edu.tr

İnternet Kaynağı

<% **1**

7

nek.istanbul.edu.tr:4444

İnternet Kaynağı

<% **1**

8

avesis.istanbulc.edu.tr

İnternet Kaynağı

<% **1**

9

9lib.net

İnternet Kaynağı

<% **1**