



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



YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÇEŞİTLİ DEPOLAMA KOŞULLAR ALTINDA MUHAFAZA EDİLEN MORİNGA
OLEİFERA YAPRAĞI ÖZÜTÜNÜN BOZUNMA KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ**

Raneen ALBARRI

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

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik Programı

Mayıs, 2022

TEZ KABUL VE ONAYI

Raneen ALBARRI tarafından, **Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ** danışmanlığında hazırlanan "**ÇEŞİTLİ DEPOLAMA KOŞULLARI ALTINDA MUHAFAZA EDİLEN MORİNGA OLEİFERA YAPRAĞI ÖZÜTÜNÜN BOZUNMA KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ** " başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Tarih girmek için tıklayın veya dokunun tarihinde yapılan sınav sonucunda Bir öge seçin. ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Xxxx XXXX	☐
	 Üniversitesi	Kabul
	 Anabilim Dalı	☐
		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX	☐
	 Üniversitesi	Kabul
	 Anabilim	☐
	Dalı	Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX	☐
	 Üniversitesi	Kabul
	 Anabilim Dalı	☐
		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX	☐
	 Üniversitesi	Kabul
	 Anabilim Dalı	☐
		Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX	☐
	 Üniversitesi	Kabul
	 Anabilim Dalı	☐
		Ret

BÜTÇE DESTEKLERİ

ÇEŞİTLİ DEPOLAMA KOŞULLAR ALTINDA MUHAFAZA EDİLEN MORİNGA OLEİFERA YAPRAĞI ÖZÜTÜNÜN BOZUNMA KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ

Bu tez çalışması için herhangi bir kurumdan bütçe desteği alınmamıştır.

TEŞEKKÜR

Öncelikle hocam Prof. Dr. Selin Şahin Sevgili' ye en içten teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans çalışmalarımı kendi grubunda yapma fırsatı verdiği, tavsiyeleri, sabrı, cesaretlendirmesi ve yoğun ilgisi için minnettarım. Her şeyden önemlisi dil ve kültür engellerinin neden olduğu ilk zorlukları, bana göstermiş olduğu dostluğu ve güveni sayesinde atlatabildiğim için çok teşekkür ediyorum.

Laboratuvarda uygulama bölümüne başladığımdan beri bana çok değerli yardımlar sağlayan, Dr. Ebru Kurtulbaş Şahin ve Arş.Gör. İrem Toprakçı Yüksel' e teşekkür ederim. Ayrıca, Dr. Shadi Sawalha' ya eğitim kariyerim boyunca bana verdiği destek ve cesaret için özellikle teşekkür etmek istiyorum.

Başta Amal Abu Shomer, Rayane Meghni, Maram Abu Hijleh, Maryam Said, Maysaa Abu Samhadana, Celalettin Saka ve Sari Joukhadar olmak üzere tüm arkadaşlarıma ve meslektaşlarıma teşekkürlerimi iletmek istiyorum.

Canım annem Fatma' ya ve sevgili babam Mostafa' ya, sevgili kardeşim Yonuis ve kız kardeşlerim Shireen, Nisreen, Reem, Lena ve Sewar'a, her zorluğun üstesinden gelmem için bana her zaman güç verdikleri için minnettarım. Son olarak, beni desteklediği ve her zaman yanımda olduğu için en sevdiğim kişi Majde Hassoun' a teşekkür etmek istiyorum.

Benimle olduğunuz için teşekkür ederim.

Mayıs 2022

Raneen ALBARRI

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ.....	1
2. LİTREATÜR İNCELEMESİ.....	4
2.1. SERBEST RADİKALLER VE OKSİDATİF STRES	4
2.1.1. Serbest Radikal Teorinin Kökenleri ve Tarihçesi.....	4
2.1.2. Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri	5
2.1.3. Antioksidan	8
2.1.4. Oksidatif Stres ve Hastalıklar	12
2.2. FİTOKİMYASAL	14
2.2.1. Fenolik Bileşikler	14
2.2.1.1. Fenolik asit	15
2.2.1.2. Flavonoid.....	19
2.3. MORINGA OLEIFERA	22
2.3.1. Yetiştirilmesi ve Ekilmesi	23
2.3.2. Bileşimi, Genel Besin ve Tıbbi Değerleri	26
2.3.3. Genel kullanımı	27
2.3.3.1. Doğal ilaçlar	28
2.3.3.2. İnsan gıdası	30
2.3.3.3. Hayvan yemi	32
2.3.3.4. Su arıtma	32
2.3.3.5. Gübre.....	32
2.3.3.6. Doğal Tarım İlacı	32
2.4. FENOLİK BİLEŞKLERİN EKSTRAKSİYON	33
2.4.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon (HDE).....	33
2.4.2. Otomatik Çözücü Ekstraksiyon (OÇE)	36
2.4.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE)	40
2.4.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE)	45
2.5. ANALİTİK YÖNTEMLER.....	51
2.5.1. Spektrofotometrik Analizler.....	51

2.5.1.1. Folin-Ciocalteu ile Toplam Fenolik Madde Analizi.....	53
2.5.1.2. Alüminyum Klorür Kolorimetrik ile Toplam Flavonoid Madde Analizi	55
2.5.1.3. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil Radikal Temizleme Tahlili (AA-DPPH·).....	55
2.5.1.4. 2,2-Azinobis 3-Etilbenzotiazolin-6-Sülfonik Asit Radikal Temizleme Tahlili (AA-ABTS)	57
2.6. STABİLİTE ÇALIŞMASI.....	59
3. METODOLOJİ.....	62
3.1. MALZEME.....	62
3.2. YÖNTEM	63
3.2.1. Ekstraksiyon İşlemleri.....	63
3.2.1.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon	63
3.2.1.2. Otomatik Çözücü Ekstraksiyon.....	64
3.2.1.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon	64
3.2.1.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon	65
3.2.2. Kinetik, Termodinamik ve Kütle Transferi Çalışmaları	66
3.2.3. Spektrofotometrik Analizler.....	68
3.2.3.1. Folin Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi	68
3.2.3.2. Alüminyum Klorür Yöntemi ile Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi	69
3.2.3.3. AA-DPPH Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Ölçümü	70
3.2.3.4. AA-ABTS Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Ölçümü.....	70
3.2.4. İstatistiksel Deneysel Tasarım.....	71
3.2.5. Stabilitate Çalışması.....	77
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	78
4.1. KALİBRASYON ÇALIŞMALARI	78
4.2. ÖN DENEMELER	85
4.2.1. HDE ve OÇE Yöntemlerinde Parametre ve Seviyelerin Belirlenmesi	85
4.2.2. MDE ve UDE Yöntemlerinde Parametre ve Seviyelerin Belirlenmesi	85
4.3. KİNETİK, TERMODİNAMİK VE KÜTLE TRANSFER ANALİZİ	88
4.4. EKSTRAKSİYON ÇALIŞMALARI	104
4.4.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon.....	104
4.4.1.1. Modelleme Çalışması ve Proses Parametrelerinin Etkisi	107
4.4.1.2. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları	112
4.4.2. Otomatik Çözücü Ekstraksiyonu.....	115
4.4.2.1. Modelleme Çalışması ve Proses Parametrelerinin Etkisi	118
4.4.2.2. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları	124

4.4.3. Mikrogalga Destekli Ekstraksiyon	126
4.4.3.1. <i>Modelleme çalışması ve proses parametrelerinin etkisi</i>	129
4.4.3.2. <i>Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları</i>	136
4.4.4. Ultrason Destekli Ekstraksiyon	138
4.4.4.1. <i>Modelleme Çalışması ve Proses Parametrelerinin Etkisi.</i>	141
4.4.4.2. <i>Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları</i>	147
4.5. SABİLİZASYON ÇALIŞMALARI	149
4.5.1. HDE ile Elde Edilen Ekstraktların Depolama Çalışmaları	150
4.5.2. OÇE ile Elde Edilen Ekstraktların Depolama Çalışmaları.....	163
4.5.3. MDE ile Elde Edilen Ekstraktların Depolama Çalışmaları.....	175
4.5.4. UDE ile Elde Edilen Ekstraktların Depolama Çalışmaları	187
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	200
6. KAYNAKLAR.....	204

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1: Antioksidanların sınıflandırılması.....	10
Şekil 2.2: Sentetik antioksidanlar.	11
Şekil 2.3: Fenolik asitlerin yapısı a: Hidroksibenzoik asit türevleri, b: Hidroksisinnamik asit türevleri.....	18
Şekil 2.4: Flavonoid alt gruplarının yapısı.	21
Şekil 2.5: Dünya çapında Moringa oleifera'nın tarımı.	23
Şekil 2.6: Homojenizatör destekli ekstraksiyon ve rotor-stator homojenizatör.	34
Şekil 2.7: Otomatik çözücü ekstraksiyonu.	37
Şekil 2.8: Otomatik çözücü ekstraksiyon proses adımları.....	38
Şekil 2.9: Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi.	41
Şekil 2.10: Kavitasyon oluşumu.....	42
Şekil 2.11: Ultrason frekansı.	43
Şekil 2.12: Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi.	45
Şekil 2.13: Mikrodalga ve geleneksel ısıtma işlemi.	46
Şekil 2.14: Spektrofotometre analizörü.....	52
Şekil 2.15: Spektrofotometre analiz prensibi.	53
Şekil 2.16: Bir fenolik bileşikten (AR-OH) DPPH' ye H-transfer reaksiyonu.....	55
Şekil 2.17: Bir antioksidan (AH) ile temizleme mekanizmaları.	56
Şekil 2.18: ABTS' nin $K_2S_2O_8$ ile oksitlenmesi ve AA-ABTS $\bullet^+$ üretimi.	58
Şekil 3.1: Folin ciocalteu yöntemi.....	69
Şekil 3.2: Alüminyum klorür yöntemi.....	69
Şekil 3.3: AA-DPPH yöntemi.	70
Şekil 3.4: AA-ABTS yöntemi.	71

Şekil 4.1: Kalibre edilmiş numunelerin konsantrasyonu ile soğurulan ışık miktarı arasındaki ilişki (a) TPM ; (b) TFM; (c) AA-DPPH; (d) AA-ABTS.	83
Şekil 4.2: Ekstraksiyon sıcaklığının ve mikrodalga gücünün <i>Moringa oleifera</i> yaprağı ekstraktındaki toplam fenolik içerik üzerine etkisi.....	85
Şekil 4.3: MDE yönteminde mikrodalga gücüne göre işlem süresinin değişimi.	86
Şekil 4.4: Mikrodalga gücünün her bir güç için denge zamanında toplam fenolik içerik üzerindeki etkisi.....	86
Şekil 4.5: <i>Moringa oleifera</i> yaprağı ekstraktında ekstraksiyon sıcaklığının ve ultrason genliğinin toplam fenolik içerik üzerindeki etkisi.	87
Şekil 4.6: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında Arrhenius denkleminde aktivasyon enerjisinin belirlenmesi.	91
Şekil 4.7: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında denge hız sabiti ve sıcaklığa bağlı olarak entalpi ve entropi değişimlerinin tayini.	93
Şekil 4.8: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında difüzyon katsayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.	95
Şekil 4.9: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında kütle transfer katsayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.	95
Şekil 4.10: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında Biot sayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.	96
Şekil 4.11: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında Arrhenius denkleminde aktivasyon enerjisinin belirlenmesi.	99
Şekil 4.12: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında denge sabit hızı ve sıcaklığa bağlı olarak entalpi ve entropi değişimlerinin belirlenmesi.	100
Şekil 4.13: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında difüzyon katsayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.	102
Şekil 4.14: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında kütle transfer katsayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.	102
Şekil 4.15: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında Biot sayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.	103
Şekil 4.16: HDE ile elde edilen TPM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) solvent konsantrasyonunu ile karıştırma hız arasındaki ilişki (ekstraksiyon süresi = 60 sn); (b) ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (karıştırma hızı = 7000 rpm); (c) karıştırma hızı ile süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60).	110

Şekil 4.17: HDE ile elde edilen TFM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) solvent konsantrasyonunu ile karıştırma hız arasındaki ilişki (ekstraksiyon süresi = 60 sn); (b) ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (karıştırma hızı = 7000 rpm); (c) karıştırma hızı ile süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60). 111

Şekil 4.18: TPM ve TFM için gerçek bulgulara karşı öngörülen bulgular (a) TPM; (b) TFM. 114

Şekil 4.19: OÇE ile elde edilen TPM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) partikül boyutu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60); (b) çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (partikül boyutu = 1,25 mm); (c) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (ekstraksiyon süresi = 50 dk). 122

Şekil 4.20: OÇE ile elde edilen TFM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) partikül boyutu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60); (b) çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (partikül boyutu = 1,25 mm); (c) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (ekstraksiyon süresi = 50 dk). 123

Şekil 4.21: TPM ve TFM için gerçek bulgulara karşı öngörülen bulgular (a) TPM; (b) TFM. 125

Şekil 4.22: MDE ile elde edilen TPM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) mikrodalga gücü ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve parçacık boyutu = 1.25 mm); (b) çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (mikrodalga gücü = 350 W ve parçacık boyutu = 1,25 mm); (c) partikül boyutu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve güç =350 W); (ç) çözücü konsantrasyonu ile mikrodalga gücü arasındaki ilişki (parçacık boyutu = 1,25 ve ekstraksiyon süresi = 250 sn); (d) mikrodalga gücü ile partikül boyutu arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve ekstraksiyon süresi =250 sn); (e) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (mikrodalga gücü= 350 W ve ekstraksiyon süre = 250 sn). 133

Şekil 4.23: MDE ile elde edilen TFM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) mikrodalga gücü ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve parçacık boyutu = 1.25 mm); (b) çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (mikrodalga gücü = 350 W ve parçacık boyutu = 1,25 mm); (c) partikül boyutu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve güç =350 W); (ç) çözücü konsantrasyonu ile mikrodalga gücü arasındaki ilişki (parçacık boyutu = 1,25 ve ekstraksiyon süresi = 250 sn); (d) mikrodalga gücü ile partikül boyutu arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve ekstraksiyon süresi =250 sn); (e) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (mikrodalga gücü= 350 W ve ekstraksiyon süre = 250 sn). 135

Şekil 4.24: TPM ve TFM için gerçek bulgulara karşı öngörülen bulgular (a) TPM; (b) TFM. 137

Şekil 4.25: UDE ile elde edilen TPM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (genlik= %15); (b) genlik ile

çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (parçacık boyutu = 1.25 mm); (c) genlik ile partikül boyutu arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60).	144
Şekil 4.26: UDE ile elde edilen TFM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (genlik= %15); (b) genlik ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (parçacık boyutu = 1.25 mm); (c) genlik ile partikül boyutu arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60).	145
Şekil 4.27: TPM ve TFM için gerçek bulgulara karşı öngörülen bulgular (a) TPM; (b) TFM.	148
Şekil 4.28: HDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	154
Şekil 4.29: HDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve asidik ortamda (pH 3) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	155
Şekil 4.30: HDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve bazik ortamda (pH 10) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerindeki değişimler.	155
Şekil 4.31: HDE ile elde edilen ve 4 °C'de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	156
Şekil 4.32: HDE ile elde edilen ve 4 °C ve asidik ortamda depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi (pH 3).	157
Şekil 4.33: HDE ile elde edilen ve 4 °C' de depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinde ve temel ortamdaki değişiklikler (pH 10).	157
Şekil 4.34: HDE ile elde edilen ve -20 °C' de saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	158
Şekil 4.35: HDE ile elde edilen ve normal oda aydınlatması ve sıcaklığında saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	159
Şekil 4.36: HDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve lamba altında belli bir mesafede saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	160
Şekil 4.37: HDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	161
Şekil 4.38: HDE yöntemiyle ekstrakte edilen numunelerin renk değişimi.	162
Şekil 4.39: OÇE ile elde edilen ve 25 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	167
Şekil 4.40: OÇE ile elde edilen ve 25 °C' de ve asidik ortamda (pH 3) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	168
Şekil 4.41: OÇE ile elde edilen ve 25 °C' de ve bazik ortamda (pH 10) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerindeki değişimler.	168

Şekil 4.42: OÇE ile elde edilen ve 4 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	169
Şekil 4.43: OÇE ile elde edilen ve 4 °C ve asidik ortamda depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi (pH 3).	170
Şekil 4.44: OÇE ile elde edilen ve 4 °C' de depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinde ve temel ortamdaki değişiklikler (pH 10).	170
Şekil 4.45: OÇE ile elde edilen ve -20 °C' de saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	171
Şekil 4.46: OÇE ile elde edilen ve normal oda aydınlatması ve sıcaklığında saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	172
Şekil 4.47: OÇE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve lamba altında belli bir mesafede saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	173
Şekil 4.48: OÇE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	173
Şekil 4.49: OÇE yöntemiyle ekstrakte edilen numunelerin renk değişimi.	174
Şekil 4.50: MDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	179
Şekil 4.51: MDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve asidik ortamda (pH 3) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	180
Şekil 4.52: MDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve bazik ortamda (pH 10) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerindeki değişimler.	180
Şekil 4.53: MDE ile elde edilen ve 4 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	181
Şekil 4.54: MDE ile elde edilen ve 4 °C ve asidik ortamda depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi (pH 3).	182
Şekil 4.55: MDE ile elde edilen ve 4 °C' de depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinde ve temel ortamdaki değişiklikler (pH 10).	182
Şekil 4.56: MDE ile elde edilen ve -20 °C 'de saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	183
Şekil 4.57: MDE ile elde edilen ve normal oda aydınlatması ve sıcaklığında saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	184
Şekil 4.58: MDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve lamba altında belli bir mesafede saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	185

Şekil 4.59: MDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.....	185
Şekil 4.60: MDE yöntemiyle ekstrakte edilen numunelerin renk değişimi.....	186
Şekil 4.61: UDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	191
Şekil 4.62: UDE ile elde edilen ve 25 °C 'de ve asidik ortamda (pH 3) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	192
Şekil 4.63: UDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve bazik ortamda (pH 10) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerindeki değişimler.	192
Şekil 4.64: UDE ile elde edilen ve 4 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	193
Şekil 4.65: UDE ile elde edilen ve 4 °C ve asidik ortamda depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi (pH 3).	194
Şekil 4.66: UDE ile elde edilen ve 4 °C'de depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinde ve temel ortamdaki değişiklikler (pH 10).....	195
Şekil 4.67: UDE ile elde edilen ve -20 °C' de saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	196
Şekil 4.68: UDE ile elde edilen ve normal oda aydınlatması ve sıcaklığında saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	197
Şekil 4.69: UDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve lamba altında belli bir mesafede saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.	198
Şekil 4.70: UDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.....	198
Şekil 4.71: UDE yöntemiyle ekstrakte edilen numunelerin renk değişimi.	199

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Serbest radikal reaksiyonları: radikallerin radikalleri nasıl oluşturduğu. Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronun varlığını gösteren bir üst simge nokta ile gösterilmektedir.	5
Tablo 2.2: Metabolizma sırasında üretilen ROS ve RNS listesi ^[21, 39, 40]	8
Tablo 2.3: Doğal fenolik asitlerin kimyasal yapıları ve formülü, benzoik asit türevleri ve sinnamik asit türevleri gibi bileşikler.	16
Tablo 2.4: Yaprakların, yaprak tozunun, tohumların ve baklaların besin bileşimleri (tüm değerler bitki materyali başına 100 g cinsindendir).	27
Tablo 2.5: <i>Moringa oleifera</i> 'nin farklı bitki kısımlarının tıbbi kullanımlarının özeti.	29
Tablo 2.6: MAE' de kullanılan çözücülerin fiziksel sabiti.	47
Tablo 3.1: HDE,OÇE, UDE ve MDE' nin optimizasyonu için CYY' de kullanılan bağımsız değişkenler, seviyeleri ve sembolleri.....	72
Tablo 3.2: Depolama koşulları ve numune detayları.....	77
Tablo 4.1: Gallik asit, kateşin ve troloksun farklı konsantrasyonlarda etanol içeren saf çözeltilerinin spektrofotometrik ölçümleri için absorbans değerleri*.....	79
Tablo 4.2: Çeşitli konsantrasyonlarda etanolde gallik asit, kateşin ve trolox çözeltilerinin çeşitli analiz yöntemleri için geliştirilmiş kalibrasyon denklemi parametreleri.....	81
Tablo 4.3: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu çeşitli koşullar altında*.....	89
Tablo 4.4: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunun kinetik parametreleri.....	91
Tablo 4.5: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunun termodinamik parametreleri.	93
Tablo 4.6: Difüzyon ve kütle transfer katsayıları ve Biot sayıları.....	94
Tablo 4.7: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin çeşitli koşullar altında ultrason destekli ekstraksiyonu*.....	97

Tablo 4.8: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonunun kinetik parametreleri.....	98
Tablo 4.9: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonunun termodinamik parametreleri.	100
Tablo 4.10: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu için difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayıları ve Biot sayıları.	101
Tablo 4.11: <i>Moringa Oleifera</i> 'dan biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için HDE' nin işlem parametreleri.....	104
Tablo 4.12: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarına uygulanan HDE metodunun MKT ile oluşturulan deneysel sonuçları*.....	105
Tablo 4.13: HDE metodu ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları*.....	106
Tablo 4.14: HDE yönteminde değişkenler arasındaki korelasyon.	107
Tablo 4.15: HDE yöntemi kullanılarak <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından elde edilen TPM ve TFM için varyans test sonuçları.	108
Tablo 4.16: HDE için optimum koşulların doğrulama sonuçları.	113
Tablo 4.17: HDE yöntemi için elde edilen model denklemlerinin güvenilirlik kriterleri.	114
Tablo 4.18: <i>Moringa Oleifera</i> 'dan biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için OÇE' nin işlem parametreleri.....	115
Tablo 4.19: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarına uygulanan OÇE metodunun MKT ile oluşturulan deneysel sonuçları*.....	116
Tablo 4.20: OÇE metodu ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları*.....	117
Tablo 4.21: OÇE yönteminde değişkenler arasındaki korelasyon.	118
Tablo 4.22: OÇE yöntemi kullanılarak <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından elde edilen TPM ve TFM için varyans test sonuçları.	119
Tablo 4.23: OÇE için optimum koşulların doğrulama sonuçları.	124
Tablo 4.24: OÇE yöntemi için elde edilen model denklemlerinin güvenilirlik kriterleri.	126
Tablo 4.25: <i>Moringa Oleifera</i> 'dan biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için MDE' nin işlem parametreleri.....	126
Tablo 4.26: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarına uygulanan MDE metodunun MKT ile oluşturulan deneysel sonuçları*.....	127

Tablo 4.27: MDE metodu ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları*.....	128
Tablo 4.28: MDE yönteminde değişkenler arasındaki korelasyon.....	129
Tablo 4.29: MDE yöntemi kullanılarak <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından elde edilen TPM ve TFM için varyans testi sonuçlarının analizi.	130
Tablo 4.30: MDE için optimum koşulların doğrulama sonuçları.....	136
Tablo 4.31: MDE yöntemi için elde edilen model denklemlerinin güvenilirlik kriterleri. ...	138
Tablo 4.32: <i>Moringa Oleifera</i> 'dan biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için UDE' nin işlem parametreleri.....	138
Tablo 4.33: <i>Moringa oleifera</i> yapraklarına uygulanan UDE metodunun MKT ile oluşturulan deneysel sonuçları*.....	139
Tablo 4.34: UDE metodu ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları*.....	140
Tablo 4.35: UDE yönteminde değişkenler arasındaki korelasyon.	141
Tablo 4.36: UDE yöntemi kullanılarak <i>Moringa oleifera</i> yapraklarından elde edilen TPM ve TFM için varyans testi sonuçlarının analizi.....	142
Tablo 4.37: UDE için optimum koşulların doğrulama sonuçları.	147
Tablo 4.38: UDE yöntemi için elde edilen model denklemlerinin güvenilirlik kriterleri.	148
Tablo 4.39: HDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının TPM içeriklerinin stabilite süreleri*.	150
Tablo 4.40: HDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının TFM içeriklerinin stabilite süreleri*.	151
Tablo 4.41: HDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının DPPH ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.	152
Tablo 4.42: HDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının ABTS ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.	153
Tablo 4.43: OÇE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının TPM içeriklerinin stabilite süreleri*.	163

Tablo 4.44: OÇE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının TFM içeriklerinin stabilite süreleri*.	164
Tablo 4.45: OÇE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının DPPH ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.	165
Tablo 4.46: OÇE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının ABTS ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.	166
Tablo 4.47: MDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının TPM içeriklerinin stabilite süreleri*.	175
Tablo 4.48: MDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının TFM içeriklerinin stabilite süreleri*.	176
Tablo 4.49: MDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının DPPH ile ölçülen içeriklerinin stabilite süreleri*.	177
Tablo 4.50: MDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının ABTS ile ölçülen içeriklerinin stabilite süreleri*.	178
Tablo 4.51: UDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının TPM içeriklerinin stabilite süreleri*.	187
Tablo 4.52: UDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının TFM içeriklerinin stabilite süreleri*.	188
Tablo 4.53: UDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının DPPH ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.	189
Tablo 4.54: UDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen <i>Moringa oleifera</i> yaprak ekstraktlarının ABTS ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.	190

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
Sn	: Saniye
dk	: Dakika
kg	: Kilogram
g	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
%	: Yüzde
W	: Watt (power)
Hz	: Hertz
kHz	: Kilohertz
rpm	: Dakika başına devir
Pa	: Paskal
kPa	: Kilopaskal
3D	: Üç boyutlu
r	: Korelasyon
R ²	: Belirtme katsayısı
R _o ²	: Öngörülen korelasyon katsayısı
R _d ²	: Düzeltmiş yada ayarlanmış korelasyon katsayısı

A	: Absorbans
b	: Yol uzunluğundur
c	: Emici konsantrasyondur
ϵ	: Molar absorbans katsayısı
ϵ'	: Dielektrik sabit
ϵ''	: Dielektrik kapı / elektromanetik enerjinin
$\tan\delta$	: Dağılma faktörü
β_0	: Sabit
β_i	: Doğrusal katsayı / Lineer etki katsayısı
β_{ii}	: Kare katsayı / İkinci dereceden kuvvetin etki katsayısı
β_{ij}	: Çapraz çarpım katsayısıdır
N	: Deney sayısı
σ	: Standart sampa
atm	: Atmosferik basınç
OH[•]	: Hidroksil radikali
O₂[•]	: Oksijen radikal
O₂^{-•}	: Süperoksit anyon radikal
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
O₃	: Ozon
O₂	: Oksijen
N₂	: Nitrojen
NO₂[•]	: Nitrik dioksit radikal
NO[•]	: Nitrik oksit radikal
ROO[•]	: Peroksit radikal
RO[•]	: Alkoksil radikal
ROOH	: Organik peroksit
ArOH	: Antioksidan bileşikler
Cu⁺²	: Bakır anyon
Fe⁺²	: Demir anyon
MnO₂	: Manganez dioksit
MnO₄	: Permanganat
MnO₄⁻	: Permanganat anyon
AlCl₃	: Alüminyum klorür

Kısaltmalar	Açıklama
ABTS	: 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ANOVA	: Varyans analiz
ASE	: Automatic Solvent Extraction
BDE	: Bağ ayrışma enerjisi
BHA	: Bütilhidroksianizol
BHT	: Bütilhidroksitoluen
CAT	: Katalaz
CCD	:Central Composite Design
CCRD	: Central Composite Rotatable Design
CYY	: Cevap Yüzeyi Yöntemi
CE	: Kateşin ekivalenti
CNS	: Central Nervous System / Merkez sinir sistemi
CV	: Varyasyon katsayısı
DNP	: 2,4-dinitrofenilhidrazin
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
FDA	: Gıda ve İlaç idaresinin / Food and drugs Administration
FRSA	: Ferrik Azaltıcı Antioksidan Kapasite
FSC	: Gıda Tedarik Zinciri / Food Service Centre
GAE	: Gallik asit ekivalenti
GRAS	: Çevre dostu ve genellikle güvenli
GPx	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redükaz
GSH	: Glutasyon
HAE	: Homogenizer Assisted Extraction
HAT	: Hidrojen transfer / Hydrogen atoms transfer
HDE	:Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
IR	: Kızılotesi
IP	: İyonlaşma potansiyeli
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
M	: Ortalama
MAE	: Microwave Assisted Extraction

MDE	: Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon
MKT	: Merkezi Kompozit Tasarım
OÇE	: Otomatik Çözücü Ekstraksiyon
OG	: Oktil gallat
ORAC	: Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
PG	: Propil gallat
RMSE	: Ortalama karekök hatası
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RSM	: Response Surface Methodology
SD	: Standart sampa
SET	: Single electron transfer
SFMAE	: Çözücü içermeyen mikrodalga destekli ekstraksiyon
SOD	: Süperoksit dismutaz
TBHQ	: Tert-Bütillhidrokinon
TEAC	: Trolox ekivalenti
TFC	: Total Flavonoid Content
TFM	: Toplam Flavonoid Miktarı
TOH	: α -Tokoferol (E vitamin)
TPC	: Total Phenolic Content
TPM	: Toplam Fenol Miktarı
UAE	: Ultrasonic Assisted Extraction
UDE	: Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon
UV	: Ultraviyole
VLDL	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü / World Health Organization
Ys	: Ekstrakte miktarı

ÖZET

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

[ÇEŞİTLİ DEPOLAMA KOŞULLAR ALTINDA MUHAFAZA EDİLEN MORİNGA OLEİFERA YAPRAĞI ÖZÜTÜNÜN BOZUNMA KİNETİĞİNİN İNCELENMESİ]

[RANEEN ALBARRI]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik Programı

[Danışman : Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ]

Bitkiler içerdikleri antioksidan, antimikrobiyal, anti-mutajenik, anti-viral ve anti-inflamatuar aktivite gibi biyoaktif özelliklere sahip fenolik bileşiklerinden ötürü büyük ilgi görmektedirler ve giderek daha yoğun araştırma konusu haline gelmektedir. Ayrıca, günümüzün Yeşil Kimya gerçeği ise gıda, ilaç ve kozmetik gibi insan sağlığı ile doğrudan ilgili olan biokütleden biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için yeni yöntemlerin araştırılması ve uygulanması için baskı yapmaktadır.

Bu tez çalışmasının amacı, *Moringa oleifera* bitkisinden çeşitli yöntemlerle optimum koşullarda ekstrakt elde etmek ve elde edilen özütlerin çeşitli metodlar ile biyoaktif özelliklerini belirlemek olmuştur. Söz konusu biokütleden özüt elde etmek için Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon (HDE), Otomatik Çözücü ekstraksiyon (OÇE), Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) ve Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE) olmak üzere 4 farklı çevre dostu ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Diğer taraftan, Cevap Yüzeyi Yöntemi (CYY)

uygulanarak deneysel tasarım, modelleme ve optimizasyon gerçekleştirilmiştir. Bioaktif zellikler toplam fenolik madde (TPM), toplam flavonoid madde (TFM) ve antioksidan aktivite değerleri açısından değerlendirilmiştir. Antioksidan aktivite değerleri 2,2' azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) ve 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) olmak üzere iki farklı in vitro test ile tayin edilmiştir. Ayrıca, UDE ve MDE yöntemlerinin TPM açısından dengeye gelme süresi belirlenerek, sistemlerin kinetik, kütle transferi ve termodinamik parametreleri de belirlenmiştir. Son olarak, farklı ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlanmış olan ekstraktlar farklı koşullarda depolanarak belirli aralıklar ile içeriğindeki kalite kriterlerinin değişimi gözlenmiştir. Bunun için ekstraktlara ışık (karanlık ve aydınlık), ısı (oda şartları ve soğuk) ve asidite (asit ve baz) gibi stresler uygulanarak ve belirli srelerde ölçümler alınarak ürün stabilitesi değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, örneklerin bozunma kinetiği çıkarılmıştır. |

Mayıs 2022 , |218| sayfa.

Anahtar kelimeler: | Yeşil kimya, evre dostu ekstraksiyon yöntemleri, biokütle, *Moringa oleifera*, çok değişkenli optimizasyon yöntemleri, stabilite. |

ABSTRACT

[M.Sc. THESIS]

INVESTIGATION OF DEGRADATION KINETICS OF MORINGA OLEIFERA LEAF EXTRACT PRESERVED UNDER VARIOUS STORAGE CONDITIONS

[Raneen ALBARRI]

Istanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Unit Operations and Thermodynamics Program

[Supervisor : Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ]

Phenolic compounds, ubiquitous in plants, are of considerable interest and are increasingly becoming a subject of intensive research due to their bioactive properties such as antioxidant, antimicrobial, anti-mutagenic, anti-viral and anti-inflammatory activity. Additionally, Today's Green Chemistry is pushing for the search and application of novel methods for the extraction of bioactive ingredients from biomass, which are directly related to human health such as food, pharmaceuticals and cosmetics.

The aim of this thesis was to obtain extracts from *Moringa oleifera* plant under optimum conditions by various methods, and to determine the bioactive properties of the obtained extracts by several methods. In order to obtain extracts from the concerned biomass, 4 different environmentally friendly extraction methods such as Homogenizer Assisted Extraction (HAE), Automatic Solvent Extraction (ASE), Microwave Assisted Extraction (MAE) and Ultrasound Assisted Extraction (UAE) were applied. On the other hand, experimental design, modeling and optimization were carried out by applying Response Surface Method (RSM). Bioactive properties were evaluated in terms of total phenolic material (TPM), total flavonoid material

(TFM) and antioxidant activity values. Antioxidant activity values were determined by 2 different in vitro tests such as 2,2' azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) radical cation, and 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH). Furthermore, the kinetic, mass transport and thermodynamic parameters of the UDE and MDE systems were also determined in terms of TPM by identification of the equilibrium time. Finally, the extracts prepared with different extraction methods were stored under different conditions. Then, the changes in the quality criteria in their contents were observed at certain intervals. Therefore, the product stability was evaluated by applying stresses such as light (dark and light), heat (ambient conditions and cold) and acidity (acid and base) to the extracts, and taking measurements at certain periods. To conclude, the degradation kinetics of the samples were produced. |

May 2022, |218| pages.

Keywords: | Green chemistry, environmentally friendly extraction methods, biomass, *Moringa oleifera*, multivariate optimization methods, stability |

1. GİRİŞ

Gıda üretimi, işlenmesi, pazarlaması ve tüketimi hayatımızı devam ettirebilmemiz açısından çok önemli bir mevzudur. Ayrıca, tarım ve gıdanın karşı karşıya olduğu en büyük zorluklardan bazılarını ele almak için çözümler geliştirilmelidir. Gıda israfı, dünya çapında gıda endüstrisinde önemli bir sorundur. Konuyla ilgili araştırma ve çalışmalar devam etmekte olup, çöp ve atık bertaraf yöntemleri geliştirilmektedir. Gıda endüstrisinden kaynaklanan atıklar esas olarak ürüne özel atıklar olarak karakterize edilir [1]. Diğer taraftan işlenen hammaddelerin organik kalıntılarından kaynaklanan atık miktarı ve türü de dikkate alınmalıdır [2]. Yüksek enzimatik aktivite, düşük biyolojik stabilite ve potansiyel olarak tehlikeli doğası nedeniyle bu atıkların bertarafı zor olabilir; Birçok atık malzeme önemli sayıda bakteri içerir ve/veya mikrobiyal aktivite ile değişikliğe tabidir. Yüksek yağ içeriğine sahip atıklar, kötü kokulu yağ asitlerinin salınımına yol açan oksidasyona duyarlı olduğunda hızlı oksidasyon potansiyeli vardır [3].

Gıda endüstrisinde atık bertarafı ve yan ürün yönetimi aynı zamanda çevresel ve sürdürülebilirlik sorunlarını da beraberinde getirmektedir [4]. Günümüzde gıda tedarik zincirinden (FSC) kaynaklanan çok sayıda gıda yan ürünü, önemli kaynakları israf etmekte ve önemli çevre sorunlarına neden olmaktadır. Bu çevre sorunlarıyla başa çıkmak için seçenekler çok sınırlıdır. Bilim, gıda atıklarını günlük hayatımızda kullanılabilecek bileşiklere dönüştürme fikrine odaklanmaktadır. Modern teknolojiler, gıda atıkları önemli bileşenler kaynağı olduğundan hedef bileşiklerin geri kazanılmasını ve yeniden kullanılmasını sağlarlar [5]. Gıda ve tarım endüstrilerinden kaynaklanan atıklar genellikle kabuk, yaprak, gövde ve kök gibi kısımları içermektedir. Bu yan ürünler, pek çok hastalığın tedavisinde önemli faydalı bileşenler olan fitokimyasallar içermelerine rağmen hayvan yemi olarak kullanılmaktadırlar [6].

Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre dünyayı etkileyen hastalıkların çoğu, insan vücudundaki biyolojik süreçleri etkileyen yetersiz sağlık ve beslenmenin sonucudur. Diyabet, kardiyovasküler hastalık, akut enfeksiyonlar, kanser, viral hastalıklar ve bakteriyel hastalıklar dahil olmak üzere birçok insan hastalığı vücuttaki serbest radikalleri etkiler [7]. Tüm canlı organizmalardan az miktarda serbest radikal uzaklaştırılır. Vücutta serbest radikallerin artması, ana hücrelerdeki DNA, protein ve lipidlerin yapısını değiştiren ve birçok hastalığa neden olan

oksidatif stres yaratır. Serbest radikal üretimindeki artış, insan hastalığına bağlı olabilir, çünkü serbest radikal oluşumu, aşırı radikalleri temizlemede antibiyotiklerin rolünden daha ağır basar [8]. Gıda sistemleri, doymamış yağlar ve yağ asitleri içeren gıdaların üretiminde önemli bir rol oynamaktadır. Doymamış yağlar ve yağ asitleri içeren gıda sistemleri, gıda kalitesini, rengini, kokusunu ve ekonomik kalitesini etkileyen oksidatif süreçlere katkı yapmaktadırlar [9]. Oksidasyon iki reaksiyonla gerçekleşir: oksijene doğrudan maruz kalma yoluyla meydana gelen spontan oksidasyon ve oksijen atomlarını etkileyen ve onları tek tek oksijene dönüştüren UV ışınlarına maruz kalma yoluyla oluşan optik oksidasyon. Gıda kalitesini sürdürmek için, gıdaları muhafaza ederken güvenlik standartlarına uymak çok önemlidir. Ayrıca lipidleri oksidasyondan koruyabilmek adına, ürünlere hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidanlar eklenir [10]. Oksidatif hasarı önlemek için sentetik antioksidanlar kullanılır. Bütillenmiş hidroksitoluen ve bütillenmiş hidroksianisol en sık kullanılan sentetik antioksidan katkı maddeleri olmalarına rağmen sağlığa zararlı etkileri de ortaya konmuştur [11]. Bu nedenle bilimsel olarak odak noktası, antioksidan olarak kullanılması amaçlanan ve insan sağlığına zararlı olmayan doğal kaynakların bulunmasıdır.

Doğal sebzeler, meyveler, bitkiler, otlar ve gıda atıkları fenolik bileşikler, vitaminler, proteinler ve mineraller gibi biyoaktif bileşenleri içerir. Bu bileşikler vücudun fizyolojisi ile uyumludur ve yan etkileri çok azdır ve birçok hastalık riskini azaltır. Fenolik bileşikler bitkilerde bulunan en önemli bileşikler arasındadır. Bu bileşikler diyabet, kanser, antibakteriyel ve viral, antienflamatuar, antimikrobiyal, antialerjik, antioksidan ve kardiyovasküler hastalıklar gibi hastalıklarla mücadele etme yeteneğine sahiptir. Ayrıca flavonoidler, fenolik asitler, stilbenler, tokoferoller, tokotrienoller, askorbik asit ve bileşik fenolik karotenoidler gibi antioksidanlar içerir. Bu antioksidanlar, serbest radikal sayısındaki artışın neden olduğu oksidatif stres reaksiyonlarını (reaktif oksidasyon ve reaktif nitrojen) engelleyerek vücudu enfeksiyonundan kaynaklanan hasarlardan korumak için çalışırlar [12-14].

Moringa oleifera, Moringaceae ailesindeki 14 türden biridir. Bilimsel adı *Moringaceae oleifera*'dır. *Moringa oleifera* tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişir [15]. Bu bitkilerin ana konumu Hindistan'dır. Son zamanlarda, bu bitki dünyadaki birçok ülkeye yayılmıştır. *Moringa oleifera* bitkisi Türkiye'de yoktur. Ancak gelecekte Türkiye'nin güneyindeki Akdeniz bölgesinde yetiştirme olasılığı vardır. *Moringa oleifera* ağacı yılın herhangi bir zamanında dikilebilir, ancak sıcak iklimi sevdiği için Haziran ve Temmuz aylarında dikilmesi tercih edilir [16]. Vitaminler, proteinler, kalsiyum, yağlar, çinko, bakır, magnezyum, sodyum ve demir gibi

çok önemli besinleri içerdiğinden bu bitkinin tüm kısımları kullanılabilir [17]. Özellikle bu bitkinin yaprağı, içerdiği besin maddeleri ve fenolik bileşikler ve flavonoidler gibi hastalıkları önleyici özelliklere sahip biyoaktif maddeler nedeniyle en önemli kısımlarından biri olarak kabul edilir. Bu nedenle kanser, tip 2 diyabet, kronik rahatsızlıklar, viral ve bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca kozmetik ürünlerin imalatında da kullanılmıştır [18].

Moringa oleifera özütünün kalitatif ve kantitatif bileşimini etkileyen birçok faktör vardır. Yetiştirme alanı, iklim, ekim zamanı, gübre, hasat zamanı ve yöntemi, yaprak temizleme yöntemi, kurutma yöntemi ve ekstraksiyon metodu bu faktörler arasındadır. Ayrıca, nem, sıcaklık, ışık, depolama yöntemi, depolama süresi gibi faktörler de *Moringa oleifera* özütünün içeriğini etkileyebilir. Ek olarak, çözücü tipi, çözücü yoğunluğu, çözücü-çözünen oranı, parçacık boyutu, özütleme sıcaklığı, özütleme süresi ve pH gibi çeşitli parametreler de verimi etkileyen diğer önemli etkenlerdir. Bu çalışmada da bu durumun önemi anlaşılmış ve söz konusu ham maddenin özütünün eldesinde fenolik ve flavonoid içerikler açısından zengin yöntemler geliştirilmiştir [19, 20]. Elde edilen ürünlerin bozunma kinetiği incelenerek, ürün stabilitesi çeşitli parametrelerce (biyoaktif içerik ve antioksidan aktivite gibi) değerlendirilmiştir.

2. LİTREATÜR İNCELEMESİ

2.1. SERBEST RADİKALLER VE OKSİDATİF STRES

2.1.1. Serbest Radikal Teorisinin Kökenleri ve Tarihçesi

Son yıllarda, çeşitli fizyolojik durumlardaki önemleri ve çeşitli bozukluk ve hastalıklara katılımları nedeniyle serbest radikallerin biyolojideki rolü hakkında daha fazla bilgiye ilgi artmaktadır. Kimyada, "radikal" terimi, daha büyük bir molekülün veya tek bir molekülün parçası olsun ya da olmasın, bir metil grubu veya bir karboksil grubu gibi birbirine bağlı herhangi bir atom grubunu tanımlamak için kullanılmıştır [21, 22].

1900 Yılında, ilk serbest organik radikal, Amerika Birleşik Devletleri'ndeki Michigan Üniversitesi'ndeki bilim adamı Moses Gomberg tarafından canlı bir hücrede keşfedildi. Buradan canlı hücredeki serbest radikaller üzerine birçok bilimsel araştırma başlattı ve serbest radikalleri insanları etkileyen birçok hastalığa bağladı [22]. Morris S. Kharasch ve Frank Mayo, 1933'te Markovnikov karşıtı hidrojen bromürün alil bromüre eklenmesinin serbest radikallerden kaynaklandığını öne sürdüler [23]. 1954'te Gershman, oksijenin toksisitesinin serbest radikal üretme eğiliminden kaynaklandığını belirten "serbest radikal oksijen toksisitesi teorisini" sundu [24, 25]. Serbest radikal kimyasını yaşlanmaya bağlayan ilk kişi Denham Harman oldu [26]. 1956'da Denham Harman bu konuyla ilgili bir özet yayınladı. Harman, tüm canlıların tek bir evrensel mekanizma nedeniyle yaşlandığını ve öldüğünü varsaydı [27]. 1969'da ikinci bir serbest radikal araştırma dönemi başladı, McCord ve Fridovich (1969), vücuttaki süperoksit serbest radikalleri yok eden süperoksit anyonuna karşı ilk doğal enzim savunma sistemi olan süperoksit dismutazı (SOD)[28, 29]. 1971'de Loschen, hücrel metabolik solunum sırasında reaktif oksijen türlerinin üretildiğini göstermiştir [30]. Mittal ve Murad, 1977'de hidroksil radikalının, OH, enzim guanilat siklazını aktive ettiğini ve ikinci haberci olan siklik GMP'NİN oluşturulmasına neden olduğunu keşfetti [31]. Halliwell ve Gutteridge'in 1989'daki araştırmasına göre reaktif oksijen türleri (ROS) hem serbest radikal hem de radikal olmayan oksijen türevleridir [32]. Beckmann ve Ames (1998) serbest radikallerin yaşlanma üzerindeki etkisini yeniden incelemektedir. "Yaşlanma Sürecinin Serbest Radikal Teorisi" başlıklı bir çalışmada, oksidanların yaşlanmada ve birçok dejeneratif

hastalığın etiyolojisinde önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir [33]. Diplok ve diğ. (1998) ayrıca oksidatif hasarın insanlardaki hastalıkların önemli bir nedeni olduğunu ve antioksidanların bunu önlemeye veya azaltmaya yardımcı olabileceğini destekleyen ve belirleyen bilimsel bir inceleme yayınladı[34]. Harman'ın serbest radikallerin kanser, artrit, ateroskleroz ve nörolojik hastalıklar gibi birçok insan hastalığında önemli bir faktör olduğu teorisini destekleyen birçok çalışma ve bilimsel araştırma bulunmaktadır.

2.1.2. Serbest Radikaller, Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri

Serbest radikaller, dış atomik veya moleküler orbitallerinde bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren bir molekül veya moleküler parçalar olarak tanımlanır. Öte yandan, serbest radikaller bağımsız olma yeteneğine sahiptir. Serbest radikaller, elektronları kaybederek ve elektronları diğer moleküllerden uzaklaştırarak indirgeyici veya oksitleyici maddeler olarak işlev görür [35]. Serbest radikaller aşağıdakiler dahil olmak üzere bir çok farklı şekilde oluşabilir:

- Her bir parçanın eşleştirilmiş elektronlarından birini tutmasıyla düzenli bir molekülün ortak bağının homojen kırılması;
- Normal bir molekülden bir elektron kaybı;
- Normal bir moleküle bir elektron eklenmesi;
- Elektron transferi.

Eşlenmemiş elektron, stabiliteye ulaşmak için elektronları diğer moleküllerden transfer edebilen, dolayısıyla bir elektronu stabil molekülden uzaklaştıran stabil olmayan ve oldukça reaktif olan bir molekül oluşturur. Bir elektron yok olduğunda önceden stabil olan molekül (serbest radikal), yokolur ve bu da yıkıcı bir zincir reaksiyonu ile sonuçlanır (tablo 2.1).

Tablo 2.1: Serbest radikal reaksiyonları: radikallerin radikalleri nasıl oluşturduğu. Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronun varlığını gösteren bir üst simge nokta ile gösterilmektedir.

Reaksiyon türü	Denklem
Ek	$X^{\bullet} + Y \rightarrow [X-Y]^{\bullet}$
hidrojen soyutlama	$X^{\bullet} + YH \rightarrow XH + Y^{\bullet}$
elektronik bağış	$X^{\bullet} + Y \rightarrow Y^{\bullet} + X^{+}$
Elektronik aktarım	$X^{\bullet} + Y \rightarrow X + Y^{\bullet}$
elektronik kaldırma	$X^{\bullet} + Y \rightarrow X^{+} + Y^{+}$
Sonlandırma	$X^{\bullet} + X^{\bullet} \rightarrow X_2$ $X^{\bullet} + Y^{\bullet} \rightarrow XY$

Biyoloji ve kimyada serbest radikaller ve reaktif oksijen ve azot türleri hakkında artan bilgi birikimi ile bilim, hastalık yönetimi için tıbbi bir devrim yapmıştır. Reaktif oksijen (ROS) ve azot türlerinin (RNS) serbest radikalleri, çeşitli iç sistemler tarafından veya dış fizikokimyasal etkilere maruz kalmanın bir sonucu olarak canlı organizmaların vücutlarında yaratılır. Ek olarak, serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri insan vücudunda ya insan vücudundaki temel metabolik süreçlerle ya da X ışınlarına, ozona, sigara içilmesine, hava kirleticilerine ve endüstriyel kimyasallara maruz kalma gibi dış kaynaklardan elde edilir [21].

Enzimatik ve enzimatik olmayan reaksiyonların bir sonucu olarak hücrelerde serbest radikaller oluşur. Solunum zinciri, fagositoz, prostaglandin sentezi ve sitokrom P-450 sistemi, serbest radikal üreten enzimatik reaksiyonların örnekleridir. Enzimatik olmayan oksijen-organik bileşik reaksiyonlarının yanı sıra iyonlaştırıcı reaksiyonlar da serbest radikaller üretebilir [36].

Reaktif oksijenden elde edilen serbest radikal üretiminin iç ve dış kaynakları özetlenmiştir. Bazı dahili ve üretilen serbest radikal kaynakları şunlardır [36, 37]:

- Mitokondri: Oksijensiz radikaller, mitokondrinin aracılık ettiği elektron taşıma işlemlerinin bir yan ürünü olarak yaratılır.
- Ksantin oksidaz
- Peroksizomlar
- İltihap
- lipid peroksidasyonu
- Fagositoz
- Araşidonat yolları
- İskemi / reperfüzyon hasarı

Dışarıdan üretilen bazı serbest radikal kaynakları şunlardır:

- Sigara dumanı
- Çevresel kirleticiler: atmosferdeki oksijensiz radikallerin kirleticisi olarak kabul edildiği yerler.
- Radyasyon: UV radyasyonları, X-ışınları, gama ışınları ve mikrodalga radyasyonu

- Bazı ilaçlar, alkol alımı,
- pestisitler ve herbisitler,
- bazı metal iyonları, mantar toksinleri ve ksenobiyotik.
- Endüstriyel çözücüler
- Ozon

Daha önce de belirtildiği gibi, serbest radikaller, bir kimyasal bağın benzer şekilde bölünmesi ve redoks reaksiyonları yoluyla moleküllerden oluşur. Oksijenden elde edilen serbest radikaller metabolik süreçlerden elde edilen en önemli radikaller arasındadır. Oksijen ve azot türlerinin reaktifleri iki bileşik grubuna ayrılır: radikal ve radikal olmayan. Radikal bileşikler, atom çekirdeğini çevreleyen kabuklarda eşlenmemiş bir elektron içeren tiplerdir. En güçlü etkileşim türü olarak nitelendirilir, çünkü stabil duruma ulaşmak için bir elektron bağışlama veya kazanma eğiliminde olan çok eşli elektronlar içerir. Radikal olmayan bileşiklerden daha az stabil olmasına rağmen, bu radikallerin temel amacı, proteinlerin, DNA' nın, lipidlerin, hücre yapılarının ve nükleik asitlerin yok edilmesi gibi canlı organizmaların vücudundaki her türlü molekülü yok etmektir [10, 38].

Her tür reaktif oksijenin hidrojen peroksit gibi çok eşli bir elektron içermediği ve buna radikal olmayan türler denildiği dikkate alınmalıdır. Bu reaksiyonlar serbest radikal değildir, ancak canlı organizmalarda kolayca serbest radikal reaksiyonlarına yol açar. Reaktif oksijen ve azot türlerinin grupları daha detaylı açıklanacaktır (Tablo 2.2).

Tablo 2.2: Metabolizma sırasında üretilen ROS ve RNS listesi [21, 39, 40]

Serbest radikal	Sembol
Reaktif Oksijen Türleri- ROS	
Radikaller	
Süperoksit	$O_2^{\cdot-}$
Hidroksit	$OH^{\cdot}$
Alkoksil Radikal	$RO^{\cdot}$
Peroksil Radikal	$ROO^{\cdot}$
Radikal olmayanlar	
Hidrojen peroksit	H_2O_2
Singlet oksijen	O_2
Ozon	O_3
Organik peroksit	$ROOH$
Hipokloröz asit	$HOCl$
Hipobromöz asit	$HOBr$
Reaktif Nitrojen Türleri- RNS	
Radikaller	
Nitrik oksit	$NO^{\cdot}$
Nitrojen dioksit	$NO_2^{\cdot}$
Radikal olmayanlar	
Peroksinitrit	$ONOO^{\cdot}$
Nitrosil katyon	NO^+
Nitrosil anyonu	NO^-
Dinitrojen trioksit	N_2O_3
Dinitrojen tetraoksit	N_2O_4
Nitröz asit	HNO_2
Peroksinitröz asit	$ONOOH$
Nitril klorür	NO_2Cl

2.1.3. Antioksidan

Antioksidanlar, oksidatif süreçleri ve ROS' un olumsuz etkilerini azaltmada hem gıda sistemlerinde hem de insan vücudunda önemli bir işleve sahiptir. Bir antioksidan, bir elektronu serbest radikale verecek ve nötralize edecek kadar stabil olan ve zarar verme kapasitesini azaltan bir moleküldür [36]. Sindhi ve arkadaşlarının çalışmasına göre, antioksidanlar amino asit ve protein oksidasyonunun azaltılmasına ve lipid kaynaklı karbonillerin protein fonksiyonunu değiştiren proteinlerle etkileşimine yardımcı olur [41]. Ayrıca, Halliwell ve Gutteridge 1989 bir antioksidanın, diğer moleküllerin oksitlenmesini önleyebilecek bir madde olduğunu açıklamaktadır. Ancak, daha sonra antioksidanı bir moleküle verilecek oksidatif hasarı erteleyen, durduran veya ortadan kaldıran herhangi bir kimyasal olarak tanımlandı. Bir antioksidanın diğer bir tanımı, ROS' u doğrudan veya dolaylı olarak temizleyen, antioksidan savunmaların kontrolünü artıran veya ROS oluşumunu baskılayan bir kimyasaldır [42]. Bir antioksidan molekül, serbest radikallerle birleşebilir ve elektronlarından birine katkıda

bulunarak onları nötralize edebilir, böylece karbon çalma işlemini sonlandırabilir. Çünkü antioksidanlar hücre ve doku gelişimini uyarır, hücre ve doku hasarına karşı korurlar. Savunma sistemleri sayesinde hücre aşırı serbest radikallere karşı bir savunma oluşturur. Glutasyon, ubikinol ve ürik asit gibi bu antioksidanların bazıları düzenli metabolizma sırasında vücut tarafından oluşturulur. Gıdada daha az güçlü antioksidanlar bulunabilir. Vücudun serbest radikalleri temizleyen çeşitli enzim sistemlerine sahip olmasına rağmen, ana mikro besin (vitamin) antioksidanları E vitamini (a-tokoferol) (TOH), C vitamini (askorbik asit) ve B-karotendir. Vücut belirli mikro besinleri üretemediğinden, bu mikro besinlerin beslenme yoluyla elde edilmeleri gerekir. İnsanlar antioksidanları doğrudan kanser ve kardiyovasküler sorunlar da dahil olmak üzere çeşitli rahatsızlıklara karşı korunmaya yardımcı olan yüksek konsantrasyonda flavonoidler ve antioksidan takviyelerini içeren taze ve kurutulmuş meyve ve sebzelerden elde ederler [43-45].

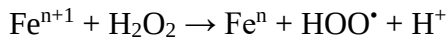
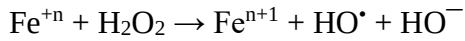
Antioksidanların koruyucu niteliklerini uygulayabilecekleri birincil mekanizmalar iki kategoriye ayrılabilir. Birincisi, ana antioksidanın sistemin serbest radikaline bir elektron verdiği zincir kırma işlemidir. İkinci yöntem, ROS/RNS başlatıcılarını (ikincil antioksidanlar) ortadan kaldıran zincir başlatıcı katalizörün söndürülmesini içerir [46]. Antioksidanlar biyolojik sistemleri aşağıdakiler de dahil olmak üzere çeşitli yollarla etkileyebilir:

- Hidrojen atom transferi ve elektron bağı: H-atom transfer örneğinde, fenol antioksidan (R•) stabil olmayan bir serbest radikal hidrojen atomu verir, bu aromatik halka üzerinde eşlenmemiş elektron delokalizasyon ile stabilize olan fenoksil radikalini oluşturulmasını sağlar. Öte yandan, fenoksil radikali, fenol antioksidanının tek elektron oksidasyonu ve ardından ortaya çıkan radikal katyonun hızlı protondan ayırma işlemi ile elektron transferinde oluşturulur. Ayrıca, iki önemli fizikokimyasal faktör bu düşürücü etkileri tanımlamaktadır: O-H bağının bağ ayrışma enerjisi (BDE) ve iyonlaşma potansiyeli (IP). Bir fenolik bileşik azaltıcı aktivitesi ne kadar yüksekse, BDE ve IP o kadar düşüktür [47].



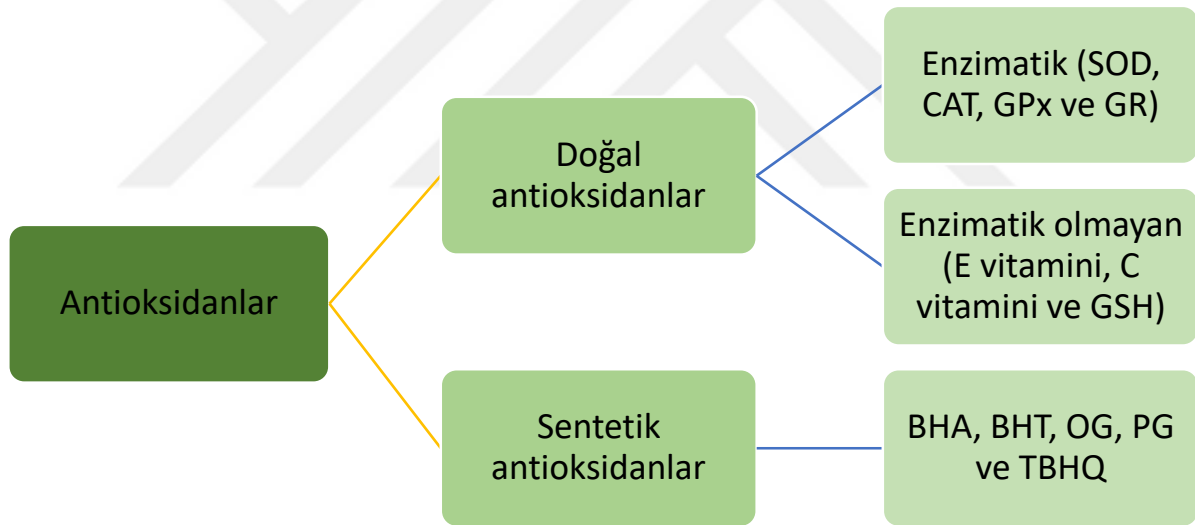
Reaksiyon (1)'de, a-tokoferol radikallere hidrojen verdiği a-tokoferoksil radikali oluşur. burada fenolik antioksidan bileşikler (ArOH), reaksiyonda (2) a tokoferoksil radikalini azaltarak a-tokoferolu yeniden üretir.

- Metal iyonu kıskaçlama ($\text{Cu}^{+2} \text{Fe}^{+3}$): Antioksidanlar, Fenton reaksiyonu yoluyla $\text{O}_2^{\cdot-}$ ve H_2O_2 'nin $\text{HO}^{\cdot}$ 'ya dönüştürülmesinde demir (II) / bakır (I) ve demir (III) / bakır (II) iyonlarının kıskaçlanması işlemi yoluyla metal iyonlarının oksidatif etkisini engeller, burada Fenton reaksiyonu, demir (II) (Fe^{+2}) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) arasındaki bir reaksiyon yoluyla hidroksit (OH^-) ve hidroksil radikalinin oluşumunu tanımlamaktadır [48, 49].



- Eş zamanlı-antioksidanlar ve gen ekspresyon modülasyonu.

ROS'u toksinlerden arındırmak için için hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidanlar hücre içi ve hücre dışı ortamlarda bulunur [50].

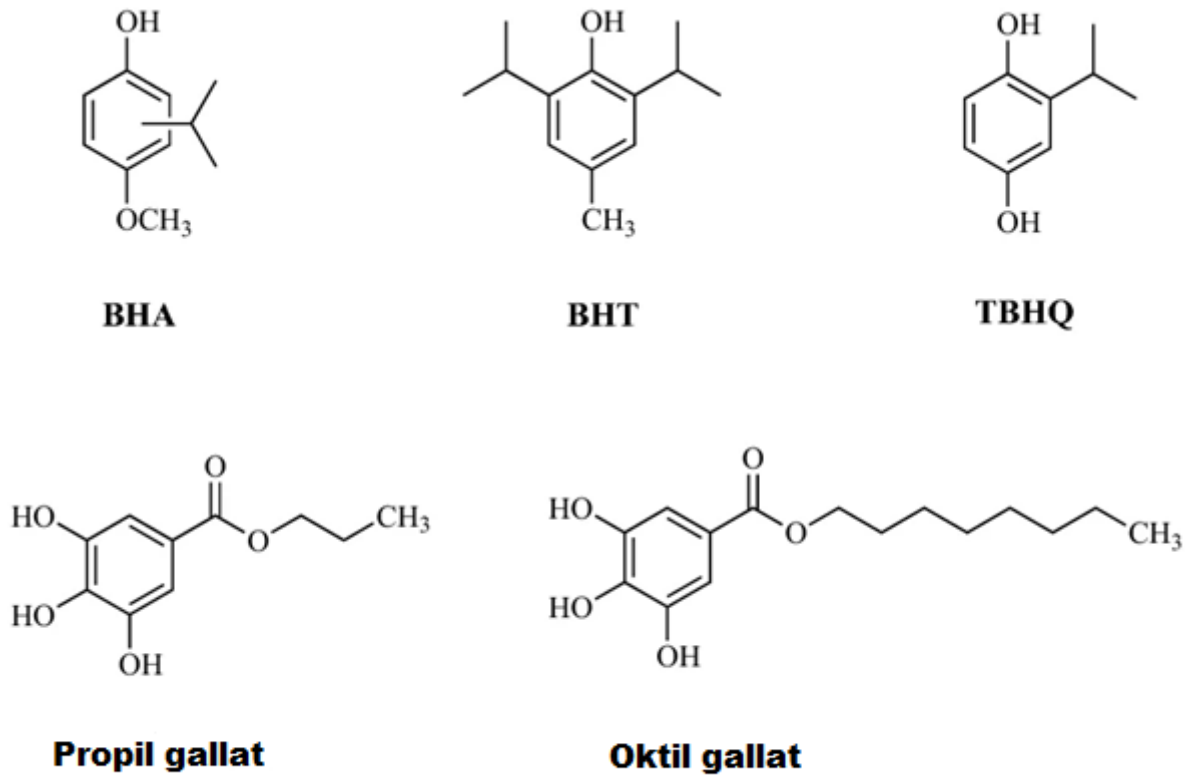


Şekil 2.1: Antioksidanların sınıflandırılması.

Vücut, serbest radikalleri nötralize etmek ve vücudu doku hasarının neden olduğu çeşitli hastalıklardan korumak için çeşitli antioksidanlar (endojen antioksidanlar) oluşturur. Vücutta gıda yoluyla verilen dış kaynaklı antioksidanlar da vücudun korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Vücut, enzimatik ve enzimatik olmayan şekilde iki türe ayrılan birçok endojen antioksidan savunma mekanizması geliştirmiştir. endojen enzimatik sisteme Süperoksit

dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) içermektedir. Enzimatik olmayan savunma sistemi E vitamini, C vitamini ve azaltılmış glutatyon (GSH) içermektedir. SOD, süperoksit radikallerini H_2O 'ya dönüştürerek ROS' a karşı ilk savunma hattı görevi gören yaygın ve önemli bir endojen antioksidan enzimdir. C ve E vitaminleri normal hücrelerde bulunan enzimatik olmayan endojen antioksidanlardır. Peroksil ve diğer reaktif radikalleri yakalayarak radikal zincir süreçlerini bozarlar [51, 52].

Bütilhidroksianizol (BHA), bütilhidroksitoluen (BHT), tert-bütilhidrokinon (TBHQ), propil gallat (PG) ve oktil gallat (OG) gibi fenolik maddeler en sık kullanılan sentetik antioksidanlardır. Birçok ülkenin gıdaları oksidasyondan korumak için gıda katkı maddesi olarak BHT'yi kullanmaktadır. Bu nedenle, gıda ve ilaç idaresi'nin (FDA) BHA ve BHT' yi gıda katkı maddesi olarak kullanmasına izin verilmiştir. BHA, kısa zincirli yağ asitlerinin oksidasyonunu düzenlemede çok etkilidir. Bununla birlikte, BHT, molekülde BHA' dan daha yüksek yapısal engellemeye neden olan iki tert-bütil grubunun varlığı nedeniyle BHA kadar verimli değildir. Ayrıca, BHA, gıda katkı maddelerinde görülenlerle karşılaştırılabilir dozlarda antikarsinojenik yeteneklere sahiptir (şekil 2.2) [53, 54].



Şekil 2.2: Sentetik antioksidanlar.

Birçok sentetik ve doğal bileşik, gıda, kozmetik ve tedavi endüstrisinde antioksidan olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Bununla birlikte, BHT ve BHA' nın yüksek sıcaklıklarda aşırı uçuculukları ve değişkenlikleri, diğer koşulların patojenik doğası gibi bazı fiziksel özellikleri, üreticilerin ve tüketicilerin dikkatini doğal antibiyotik ve antioksidan üretim kaynakları arayışına yönlendirmiştir. Gıda, kozmetik ve tedavi endüstrisinde doğal antioksidanların kullanımı, düşük maliyeti, kalitesi açısından sentetik antioksidanlara iyi bir alternatiftir ve besin alımıyla oldukça uyumludur ve insan vücuduna zararlı etkileri yoktur [55, 56].

Son yıllarda, birçok antioksidan bileşiği tanımlayan birçok çalışma ortaya çıkmıştır. Meyvelerin antioksidan potansiyelini gösteren birçok rapor bulunmaktadır. Böğürtlen, kiraz, turunçgiller, şeftali, zeytin, *Moringa oleifera* bitkisi, çilek ve diğer sebze, bitki ve meyvelerde güçlü antioksidan aktiviteler bulunur[56].

2.1.4. Oksidatif Stres ve Hastalıklar

Reaktif oksijen ve azot türlerinin serbest radikalleri, normal işlevlerinin bir parçası olarak vücudun tüm hücrelerinde üretilir. ROS ve ROS üretimi biyolojik dokulara zarar verir ve çeşitli hasarlar arasında lipid oksidasyonu, proteinlerin tahrip edilmesi, hücre yapılarının tahrip edilmesi, lipitler ve nükleik asitler bulunmaktadır [57]. Organizmalar, vücutta serbest radikallerin neden olduğu oksidatif strese karşı çalışan, koruyucu mekanizmalar, onarım mekanizmaları ve fiziksel savunma gibi çeşitli savunma mekanizmalarını içeren bir savunma sistemi geliştirmiştir. Bağışıklık sistemi ROS hasarını azaltmaya katkıda bulunan antioksidanlar üretir. Ek olarak, savunma sistemi serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengeyi sağlarlar [43, 58]. Antioksidanların konsantrasyonuna kıyasla reaktif oksijen türlerinin serbest radikallerinin konsantrasyonunda bir artış, oksidatif stres adı verilen bir duruma yol açar. Yağlardaki oksidatif hasar, gıdaların bozulmasına (renk, koku ve lezzet değişikliği) neden olur. Proteinlere ve nükleik asitlere verilen hasar fark edilmeyebilir ve nadiren araştırılabilir[59]. Oksidatif stres çeşitli şekillerde tetiklenebilir. Böylece, ciddi yetersiz beslenme, mineralleri (Cu, Mn, Zn ve Se gibi) ve vitaminleri (askorbat, riboflavin ve a-tokoferol gibi) tüketebilir [60]. Ayrıca, bazı ilaçlar ve zehirler, bir örnek olarak karbon tetraklorür ile metabolizmaları sırasında oksidatif strese neden olur [61]. Örneğin Paraquat, insanlarda akciğer hasarına neden olan bir herbisittir. Akciğerdeki metabolizması önemli

miktarda $O_2^{\bullet}$ ve H_2O_2 üretir [62]. Ek olarak, sigara içimi ve aşırı radyasyon oksidatif strese neden olur [63, 64]. Oksidatif stres insanlarda doku hasarına ve çeşitli hastalıklara neden olur. İnsanları etkileyen hastalıklar aşağıdakileri içermektedir [65-67]:

- Alzheimer hastalığı, parkinson hastalığı, multipl skleroz, amiotrofik lateral skleroz, hafıza kaybı ve depresyon gibi nörodejeneratif bozukluklar
- Ateroskleroz, iskemik kalp hastalığı, kardiyomegali, hipertansiyon, şok gibi kardiyovasküler hastalıklar
- Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi enflamatuvar akciğer hastalıkları
- Bronşiyolit, displazi, periventriküler lökomalazi, intraventriküler kanama, prematürite retinopatisi ve enterokolit gibi preterm bebeklerle ilişkili hastalıklar
- Romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklar
- Glomerülonefrit ve tübülointerstisyel nefrit, kronik böbrek yetmezliği, proteinüri, poliüri gibi böbrek bozuklukları
- Peptik ülser, inflamatuvar barsak hastalığı ve kolit gibi gastrointestinal hastalıklar
- Akciğer kanseri, lösemi, meme, yumurtalık, rektal gibi rahatsızlıklar
- Katarakt, yaşa bağlı retina ve maküler retinopati gibi göz hastalıkları
- Yaşlanma süreci
- Diyabet
- Deri lezyonları
- Bağışıklık sistemini baskılayan tedaviler
- Karaciğer hastalığı ve pankreatit
- AIDS

2.2. FİTOKİMYASAL

Hayvan biyokimyası ve metabolizmasına yönelik farklı biyolojik etkilere sahip bitki bileşenleri olarak tanımlanan fitokimyasallar, reaktif oksijen türlerine ve serbest radikallerin neden olduğu çeşitli hastalıklara karşı koruma sağlayan antioksidanlar gibi terapötik ve sağlığa faydaları nedeniyle araştırılmaktadır. Bitkiler, flavonoidler, uçucu yağlar, alkaloidler, lignanlar, terpenler, terpenoidler, tokoferoller, fenolik asitler, fenoller, peptitler ve çok işlevli organik asitler dahil olmak üzere fitokimyasallar olarak bilinen çok çeşitli ikincil metabolitler üretir. Bitkilerin tüm bölümlerinde bulunabilen bitki fenolleri, doğal antioksidanların birincil kaynaklarıdır [56]. Liu, Rui ve diğ. yaptıkları çalışmada, sebze ve meyvelerin kalp hastalığı ve kanser riskini azaltmadaki faydalarını açıklamıştır. Elmalardaki C vitamini toplam antioksidan aktivitenin sadece <0.4 'üne katkıda bulunmuştur. Bu nedenle, antioksidan aktivitenin çoğu C vitamininden değil fitokimyasallardan (fenoller ve flavonoidler) gelmektedir. Elma özleri ayrıca yapay ortamda tümör hücre çoğalmasını baskılayan biyoaktif kimyasalları da içermektedir. Mililitre başına 50 mg elma kabuğundaki fitokimyasallar (nemli bazda) tümör hücresi büyümesini %42 oranında önlemektedir. Mililitre başına kabuksuz 50 mg elmadaki fitokimyasallar, tümör hücresi büyümesini %23 azaltmaktadır [68].

2.2.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik kimyasallar, tüm bitkilerin (meyve ve sebze dokuları) yanı sıra mikroorganizmalar ve hayvan dokularında bulunan ikincil metabolitlerdir. Fenolik bileşikler, normal metabolik süreçlerden kaynaklanan zararlı serbest radikalleri temizleyen antioksidanlar olarak kabul edilmektedir. Fenolik bileşiklerin çok çeşitli yapısal varyasyonlara sahip olduğu keşfedilmiştir [69]. Glikozitler veya aglikonlar, matris veya serbest bağlı kimyasallar ve ağırlıklı olarak polimerize veya aromatik halkalar üzerinde hidroksil gruplarının varlığı ile karakterize edilen monomer yapılar olabilir. Fenolik bileşikler, içerdikleri fenol halkalarının sayısına ve bunları birbirine bağlayan elementlerin yapısına göre sınıflandırılır. Fenolik asitler (hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler dahil), polifenoller (hidrolize edilebilir ve yoğunlaştırılmış tanenler) ve flavonoidler en önemli beslenme fenolikleridir [70]. Fenolik bileşikler geniş bir alanda araştırılmıştır. Dokuları kronik hastalıklara karşı koruma amacıyla insanlar ve hayvanlardaki antioksidan rolleri için çeşitli gıdalardan alınır. E vitamini, C vitamini, B-karoten ve

karotenoidler gibi antioksidanlar ve antimikrobiyal özelliklerin yanı sıra gıda bitkilerinden elde edilen tanenler ve flavonoidler gibi bitki fenolik bileşikler, diyabet, kardiyovasküler hastalık, artrit, biliş hastalıkları ve kanser gibi büyük oksidasyonla bağlantılı hastalıkları yönetmek için tasarlanmış besin müdahalesi için kullanılmaktadır [71].

2.2.1.1. Fenolik asit

Fenolik asitler en önemli biyoaktif bileşikler arasındadır. Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşiklerin üçte birini fenolik asitler sağlamaktadır. Fenolik asitler antioksidanlar, antienflamatuar, anti-kanser, anti-aterosklerotik, anti-pıhtılaştırıcı, anti-bakteriyel, anti-alerjik, anti-diyabetik ve bağışıklık düzenleyici olarak koruyucu rolleri ve besinsel faydaları ile büyük ilgi görmektedir [72]. Ayrıca, fenolik asit molekülleri, renk tutma, mikrobiyal gelişmeyi geciktirme ve lipid oksidasyonunu engelleme gibi fonksiyonel gıda katkı maddeleri olarak kullanılabilir [73].

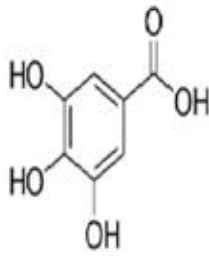
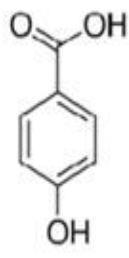
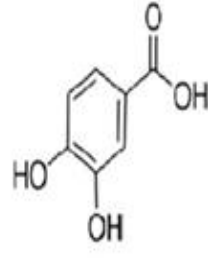
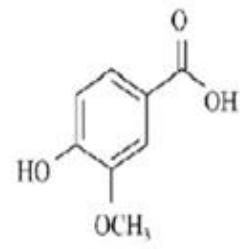
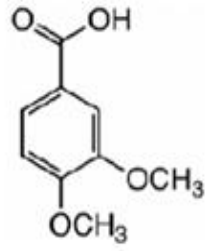
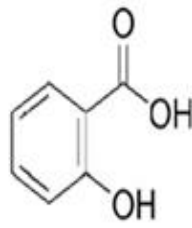
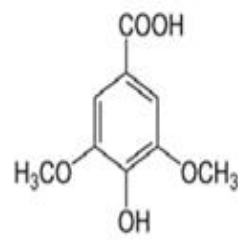
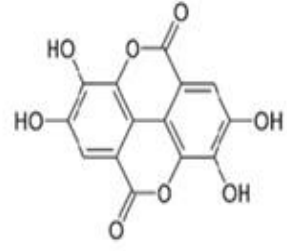
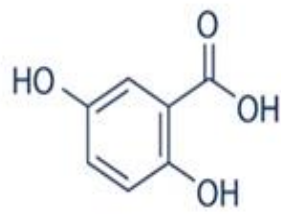
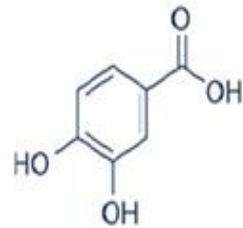
Fenolik asitler aromatik karboksilik asitlerin gıdalara lezzet, renk, aroma, lezzet ve tokluk kazandıran hidroksi türevleridir. Fenolik asitler hidroksibenzoik asit grubu ve hidroksisinnamik asit grubu olarak iki ana gruba ayrılır. Hidroksibenzoik asitler, C6-C1 karbon atomu yapısına sahip benzoik asit türevleridir. Başlıca hidroksibenzoik asitler, gallik asit, p-hidroksibenzoik asit, 3,4-Dihidroksibenzoik asit, veratrik asit, salisilik asit, ellagik asit, gentisik asit, protokolekuik asit, sirinik asit ve vanilik asittir. Hidroksisinnamik asitler ise C6-C3 yapılı sinamik asitlerin türevleridir. En yaygın hidroksisinnamik asitler, p-kumarik asit, O-coumarik asit, kafeik asit, ferulik asit, sinapik asitler, izoferulik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit, kafeoilguinik asit ve p-hidroksisinnamikleri içermektedir (tablo 2.3, şekil 2.3). Gallik asit, yapısında beş-OH grubu bulunan yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir ve en yaygın yapay ortam testlerdir [74, 75].

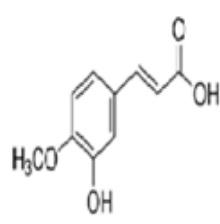
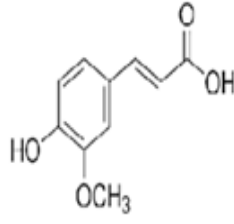
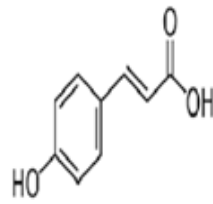
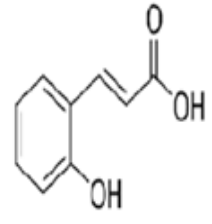
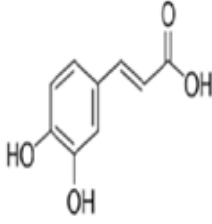
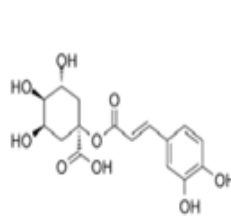
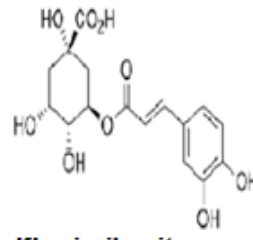
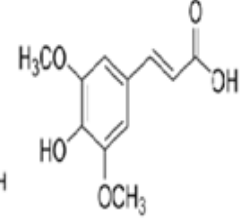
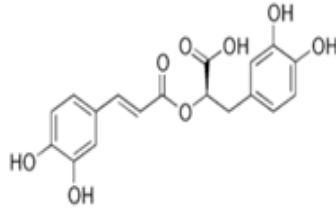
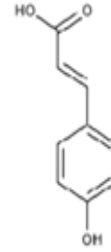
Fenolik asitlerin antioksidan aktivitesi, moleküldeki aromatik halkaya bağlı hidroksil gruplarının sayısına ve konumuna bağlıdır. Molekülün antioksidan aktivitesi, hidroksil gruplarının veya atomlar arasındaki bağların sayısındaki artışla artmaktadır. Buna ek olarak, antioksidanların aktivitesi, karbonil grubunun aromatik halkadan uzaklaştırılmasıyla artar. Bu nedenle, sinamik asitler, aromatik halkanın ($\text{CH} = \text{CH}-\text{COOH}$) çift bağından dolayı benzoik asitlerden daha yüksek antioksidan aktiviteye sahiptir [49]. Ayrıca, hidroksisinnamik asitler doğada hidroksibenzoik asitlerden daha yaygındır ve sıklıkla çeşitli bağlı formlarda görülürler, Kafeik asit, birçok meyve ve sebzede bulunan klorojenik asit (kafeoilkinik asit) üretmek için

kinik asit ile etkileşime girebilir, ancak hidroksibenzoik asitler genellikle serbest formda bulunurlar, ekstrakte edilme sırasında kimyasal veya enzimatik hidrolizden kaynaklanırlar [76].

Tablo 2.3: Doğal fenolik asitlerin kimyasal yapıları ve formülü, benzoik asit türevleri ve sinnamik asit türevleri gibi bileşikler.

Benzoik asit türevleri	Formül	sinnamik asit türevleri	Formül
Gallik asit	C ₇ H ₆ O ₅	P-kumarik asit	C ₉ H ₈ O ₃
p-hidroksibenzoik asit	C ₇ H ₆ O ₃	O-kumarik asit	C ₉ H ₈ O ₃
3,4-Dihidroksibenzoik asit	C ₇ H ₆ O ₄	Ferulik asit	C ₁₀ H ₁₀ O ₄
Vanilik asit	C ₈ H ₈ O ₄	Izoferulik asit	C ₁₀ H ₁₀ O ₄
Veratrik asit	C ₉ H ₁₀ O ₄	kafeik asit	C ₉ H ₈ O ₄
Salicilik asit	C ₇ H ₆ O ₃	kafeoilkinik asit	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
Siringik asit	C ₉ H ₁₀ O ₅	klorojenik asit	C ₁₆ H ₁₈ O ₉
Ellagik asit	C ₁₄ H ₆ O ₈	Sinapik asit	C ₁₁ H ₁₂ O ₅
Gentisik asit	C ₇ H ₆ O ₄	Rosmarinik asit	C ₁₈ H ₁₆ O ₈
Protokateşik asit	C ₇ H ₆ O ₄	P-hidroksisinnamik asit	C ₉ H ₈ O ₃

**Galik asit****P-Hidroksibenzoik asit****3,4Dihidroksibenzoik asit****Vanilik asit****Veratrik asit****Salisilik asit****Siringik asit****Ellagik asit****Gentisik asit****Protokateçik asit**

**Izoferulik asit****Ferulik asit****P-Kumarik asit****O-Kumarik asit****Kafeik asit****Kafeoilkinik asit****Klorojenik asit****Sinapik asit****Rosmarinik asit****P-Hidroksisinnamik asit****b****Şekil 2.3:** Fenolik asitlerin yapısı a: Hidroksibenzoik asit türevleri, b: Hidroksisinnamik asit türevleri.

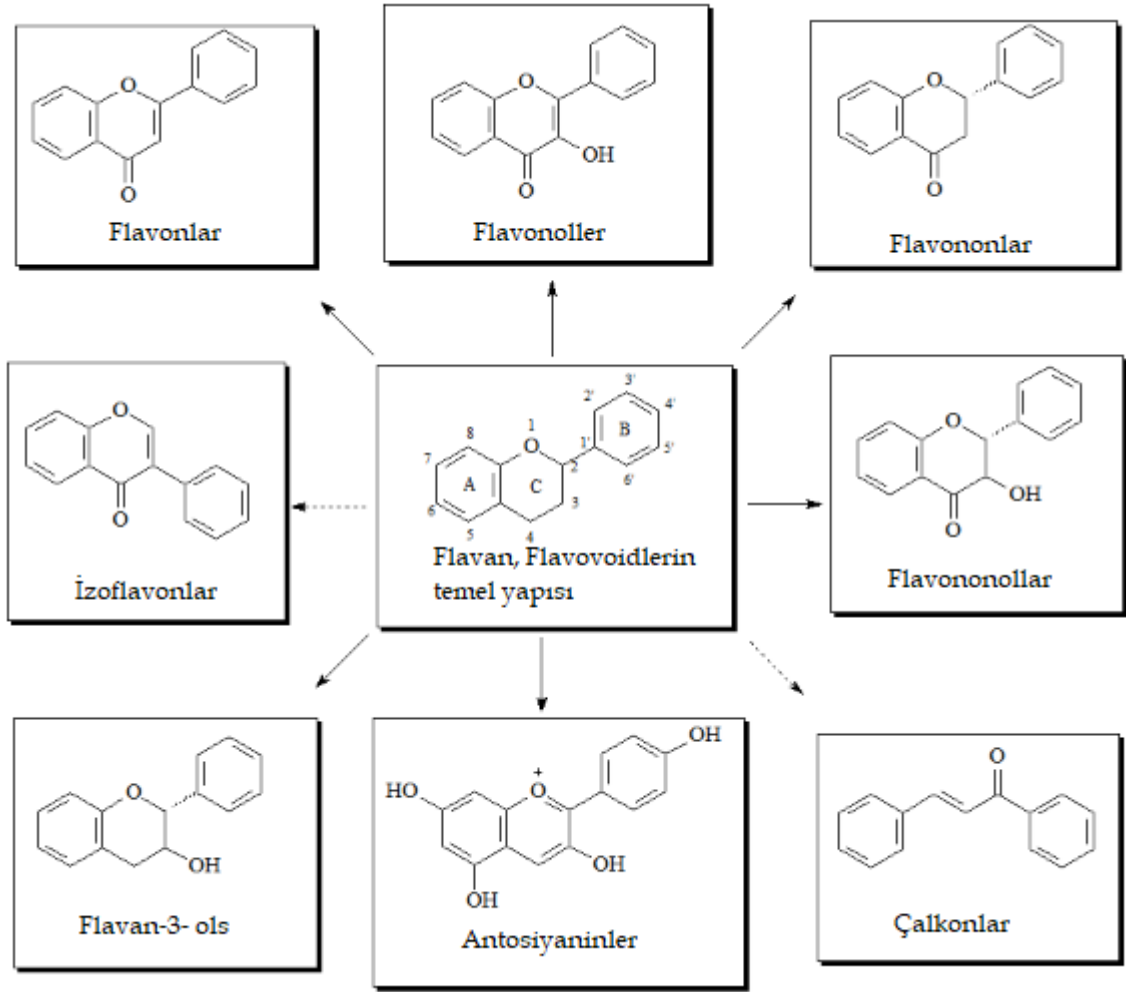
2.2.1.2. Flavonoid

Flavonoidler, bitkiler tarafından çeşitli biyotik ve abiyotik faktörlere cevap olarak ikincil metabolitler olarak üretilen küçük moleküllerdir. Bunlar polifenolik bileşiklerdir, 4000' den fazla flavonoid bileşiği de dahil olmak üzere çeşitli bitkilerde 8000' den fazla polifenolik kimyasal bulunmuştur ve bu sayı sürekli artmaktadır[77]. Bu kimyasal bileşikler, sağlığı artırıcı bir etkiye sahiptir. Bu bileşikler anti-oksidatif, anti-inflamatuar, anti-mutajenik ve anti-kanserojen özellikleri nedeniyle çok etkili antioksidanlardır [78]. Flavonoidler, en önemlileri Flavonononlar, Flavonlar, Flavanoller, Flavanonlar, Antosiyanidinler, İzoflavonoidler ve kalkanlar olan flavan türevlerinin birkaç alt grubuna ayrılır [79]. Flavan çekirdeği, A, B ve C sembolleri (şekil 2.4) ile gösterilen üç halka halinde gruplandırılmış 15 karbon atomundan (C6–C3–C6) oluşan temel flavonoid yapısıdır. İki aromatik halka (genellikle A ve B olarak belirtilir) üç karbonlu bir zincirle bağlanmıştır. Bağlantı karbon zinciri, heterosiklik merkezi halkanın (C olarak belirtilmiştir) bir bileşenidir. Bu halkalar hidroksil, metoksil ve glikozitler gibi yan grupları içermektedir. Tüm alt grup bileşikleri aynı difenil propan (C6-C3-C6) yapısına sahiptir. Farklı flavonoid sınıfları, C halkasında bir çift bağ, bir karbonil, hidroksil, metoksil ve glikozitler grubunun varlığına göre sınıflandırılır (şekil 2.4) [80]. Farklı flavonoid sınıfları oksidasyon seviyelerinde ve C-halkası yer değişiminde farklılık gösterirken, bir sınıf içindeki bireysel bileşikler A ve B halkalarının yer değişiminde farklılık gösterir. A ve B halkalarının hidroksil grupları ile yer değiştirmesi, her sınıfın bireysel bileşiklerini nitelendirir [81]. Flavonoid bileşikleri bitkinin yaprakları, sapları, kökleri, çiçekleri, meyveleri veya tohumları gibi tüm kısımlarından ekstrakte edilmektedir.

- Meyve ve sebzelerde flavonoller ve flavanoidler bol miktarda bulunur. En çok araştırılan flavan-3-oller, polar alkollü çözücülerde karşılaştırılabilir çözünürlükleri nedeniyle kateşin ve epikateşindir. Flavonoller ve flavan-3-ol' ler elde edilmiş ve böğürtlen, şarap, kırmızı meyveler, çay ve kahve dahil olmak üzere çeşitli yiyecek ve içeceklerde bulunmaktadır. Flavonoller soğan, domates, brokoli, elma ve üzümde bulunmaktadır [82]. Ek olarak, aşağıdaki gibi şifalı bitkilerden özütülebilir: *Brysonima crassa* (Compositae) [83], *Betula pendula* (Betulaceae)[84], *Bauhinia monandra* (Fabaceae) [85], *Pteris vittata* L (Pteridaceae)[86], *Esrar sativa* (Compositae)[87], *Azadirachta indica* (Meliaceae) ve *Angelica* L. (Apiaceae)[88, 89].
- Flavonlar yapraklarda, çiçeklerde ve meyvelerde glukozit olarak bulunur ve birincil kaynakları maydanoz gibi yeşil yapraklı baharatlardır [90]. Ayrıca meyve kabukları,

kırmızı şarap, karabuğday, kırmızı biber ve domates kabuğunda da bulunmaktadır [91]. Luteolin en yaygın flavondur [92]. Ayrıca, aşağıdaki gibi şifalı bitkilerden çıkarılabilir: *Salvia officinalis* L. (*Lamiaceae*) ve *Timus* L. (*Lamiaceae*)[93].

- Tüm turunçgillerde flavanonlar bulunabilir. Bu flavonoid sınıfı hesperitin, naringenin, eriodiktyol, taksifolin ve hesperidin içerir [94]. Bu bileşikler, greyfurt, limon ve portakal da dahil olmak üzere turunçgillerin suyu ve kabuğunun acı tadına yol açmaktadır [95]. Bademler ayrıca naringin ve eriodictyol içerir [96]. Ayrıca, hastalıkların tedavisine katkıda bulunan birçok şifalı bitki, aşağıdaki gibi flavanonlar içerir: *Glycyrrhizin glabra* (*Leguminosae*)[97].
- Antosiyaninler, çiçek ve meyvelere renklerini veren pigmentlerdir. Siyanidin en çok araştırılan antosiyanindir. Meyve kabuklarında yoğunlaşan antosiyaninler, kiraz, kıızılcık ve çilek gibi çeşitli kırmızı ve mavi meyvelerde bol miktarda bulunmaktadır [98]. Önemi nedeniyle, antosiyanin içeren bitkilerin ekstrakte edilmesi, hastalıkların tedavisi ve kozmetik endüstrisi için kapsüller ve tabletler şeklinde tüketim için ticari olarak formüle edilmiştir [99].
- İzoflavonlar, sığırların tüketebileceği, sindirebileceği ve süte bırakabileceği bitki kaynaklı kimyasallardır. Bunlar insan sağlığına iyi gelen bileşiklerdir. Sığırların sindirim sisteminde üretilen izoflavon metabolitleri arasında equol olarak bilinen son derece faydalı bir kimyasal bulunmaktadır. Sütteki Equol içeriği, farklı miktarlarda izoflavon içeren yemler kullanılarak veya süt işleme ve depolama ile değiştirilebilir. Genistin, Biochanin A ve daidzin gibi izoflavonlar çoğunlukla soya fasulyesi gibi baklagillerde, aynı zamanda kıvıllı yonca ve yer fıstığında bulunur [100, 101]. İzoflavonlar, çeşitli farmakolojik ve antioksidan özellikleri nedeniyle insanın beslenmesinde önemlidir. *Kalopogonium mukonoidler* (*Fabaceae*)[102], *Butea monosperma* (*Fabaceae*)[103], *Cratylia argentea* (*Fabaceae*) ve *A. macrothyrsa* (*Melastomataceae*) gibi birçok şifalı bitkide bulunabilir [104, 105].



Şekil 2.4: Flavonoid alt gruplarının yapısı.

2.3. MORINGA OLEIFERA

Moringa oleifera, Moringaceae ailesindeki 14 türden biridir. *Moringaceae oleifera* bitkinin bilimsel adıdır. *Moringa oleifera* tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişmektedir. Bu bitkilerin ana vatanı Hindistan'dır. Son zamanlarda, bu bitki dünyanın birçok ülkesinde yayıldı. *Moringa oleifera* nın büyümesinin genişlemesi Çin ve Hindistan gibi Güney Asya' dan Brezilya' da Güney Afrika ve Güney Amerika' ya kadar devam etmiştir (şekil 2.5). Bu bitkiye mucize ağaç denir [106]. Bu bitki vitaminler, proteinler, kalsiyum, yağlar, çinko, bakır, magnezyum, sodyum ve demir gibi çok önemli besinleri içerdiğinden tüm kısımları kullanılabilir [17]. Fenolik asit, flavonoidler gibi biyoaktif bileşiklere ek olarak. *Moringa* ağacının kökleri, yaprakları, çiçekleri, yeşil kabukları ve tohumları da dahil olmak üzere her parçası tıbbi, fonksiyonel, gıda, su arıtma ve biyodizel üretimi gibi birçok endüstride faydalı olarak kabul edilmektedir.

Özellikle, bu bitkinin yaprağı, besin maddeleri ve fenolik bileşikler ve flavonoidler gibi hastalık önleyici özelliğe sahip biyoaktif maddeleri nedeniyle en önemli parçalardan biri olarak kabul edilir [106]. Bu nedenle kanser [107], tip iki diyabet [108], kronik hastalıklar [109], gibi birçok hastalığın tedavisinde, viral ve bakteriyel hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır [18]. Ayrıca, kozmetik ürünlerin üretiminde de kullanılmıştır.



Şekil 2.5: Dünya çapında *Moringa oleifera*'nın tarımı.

2.3.1. Yetiştirilmesi ve Ekilmesi

Sudan' da *Moringa oleifera* nın geleneksel ekimi tohum yayılımına odaklanırken, bitki örtüsü yayılımı Hindistan, Endonezya ve Batı Afrika'nın bazı bölgelerinde çok yaygındır [110]. Kuzey Sudan' da ekim, serin kurak, sıcak kurak mevsim ve yağışlı mevsim boyunca test edildi. *Moringa oleifera* tohumlarının ön işlenmesinin yılın herhangi bir zamanında avantajı bulunmamaktadır. Aksine, 8°C' ye kadar soğutmak, çimlenmenin başlangıcında hafif bir gecikmeye ve çimlenme sıklığında küçük bir azalmaya neden oldu, ancak 8°C' ye kadar soğutmanın *Moringa Long Tuba* tohumlarının çimlenmesi için faydalı olduğuna dair kanıtlar bulunmuştur.[110]

Moringa oleifera nın çimlenmesi için en uygun ışık yarı gölgeli bir ortamda elde edilmiştir, *Moringa oleifera* nın çimlenme sıklığı tam ışıktaki sadece yüzde 40 ve 52 iken, yarı gölgede yüzde 92 ve 94 idi. Ayrıca *Moringa oleifera* nın ortalama ve maksimum yükseklikleri tam ışıığa göre yarı gölgede 1,7-2,2 kat daha yüksekti. Ek olarak, serin mevsimde tohumların yarı gölgede büyümesi sıcak kuru mevsimden daha hızlı gerçekleşmiştir. Ayrıca, fideler çok erken dikilmemelidir. İlk çiçekler iki buçuk yıl sonra ortaya çıktı.

Yeterli sulama yapmak önemlidir: fidanları durgun su havuzlarında günlerce bırakmak zararlıdır. Dikilen tohumların yeterli derecede büyümesi, uygun aralığa ve yeterli sulamaya bağlıdır.

250 mm ile 3000 mm arasında yağış alan Hindistan ve tropik bölgelerde kuraklığa dayanıklıdır; kuraklık durumunda yapraklarını kaybedebilir. Bu bitkinin ölü olduğu anlamına gelmez ve yağmur yağdığında düzelir. En iyi şekilde 600 m' ye kadar olan yüksekliklerde büyür, ancak 1000 m yükseklikte büyür. Ayrıca, Moringa'nın 25°C ila 40°C arasında bir sıcaklık aralığına ihtiyacı vardır, ancak 48°C sıcaklığa ve hafif donlara tolerans gösterebilir. [111]

Hindistan' da yetiştirilen *Moringa oleifera*, Nijerya' da yetiştirilenden biraz farklı besin değerlerine sahiptir. Ekolojik konumlarda ve Savan bölgelerinde bulunan yapraklardaki besin farklılıkları üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Savana bölgelerinde beslenmenin daha az olduğu, bunun bölgedeki yüksek sıcaklıklardan kaynaklandığı tespit edildi. Proteinler ve enzimler doğal yapısını kaybeder ve yüksek sıcaklıklardan etkilenir [112].

Ek olarak, toprak, bitkinin besin içeriğini ve gücünü tanımlayan önemli bir faktördür [113]. *Moringa oleifera*, nötr ila hafif asitli toprakları tercih eder ve iyi drene edilmiş tınlı-kil-tınlı topraklarda en iyi şekilde yetişir. Killi toprağı tolere edebilir ancak suya doyarsa iyi şekilde büyümmez. *Moringa oleifera* tropik iklimi tercih etmektedir [113].

Eylül 2001' den itibaren Senegal' de [114], Dakar' ın 300 kilometre kuzeyindeki bir alanda bir *Moringa oleifera* çiftliği bulunmaktadır. Bir sulama kanalına 200 m mesafede bir arazi yer almaktadır. Yapılan toprak analizi, arazinin tuzsuz olduğunu ve tatmin edici bir pH dengesine sahip olduğunu göstermiştir (7 ile 8 arasında).

Mümkün olan en yüksek yeşil madde miktarını elde etmek için Moringa ağaçlarının optimal aralığını belirlemek için, toplamda 2.5 x 2.5 cm' lik aralık ile hektar başına 10.000 bitki arasında değişen bitki yoğunluklarının üretim oranlarını karşılaştıran bir çalışma analiz edildi. Ayrıca, kumlu, verimli ve iyi drene olan toprakta en uygun ekim yoğunluğu 10x10cm' dir yani hektar başına bir milyon bitkidir [115].

Ekim yoğunluğunun seçimi üretim hedeflerine bağlıdır. Örneğin, amaç maksimum protein ve minimum lignin içeriğine sahip yeşil ot üretimi ise, hasat her 33 ila 40 günde bir yapılmalıdır. Amaç maksimum lignoselüloz lifli kağıt hamuru üretmekse, hasat ideal olarak altı ila sekiz aylık büyümeden sonra yapılacaktır[114].

Ekimden önce, arazinin 50 cm derinliğe kadar sürülmesi, daha sonra gübre uygulaması (60 T/ha) yapılması, damla sulama sisteminin kurulması (20 cm mesafeli daldırma delikleri), benzinle çalışan motorlu pompanın satın alınması, 10 cm aralıklarla aralıklı tohumların ekilmesi gerekmektedir. En iyi performansın mineral ve eser elementlerle zenginleştirilmiş suda çözünür gübre 21/7/20(NPK) ile alındığını gösteren sonuçlar bulunmuştur. Hektara uygulanan gübre miktarı, bitkilerin görünür koşullarına bağlı olarak haftada 32 ila 48 kg arasındaydı. NPK gübresine ek olarak, her iki haftada bir hektara 8 kg oranında üre kullanılmıştır[114].

Mevsime göre kullanılan su miktarı:[114]

- Yağmur mevsimi: 72.000 litre / ha / gün, bir bar basınçla bir saat hızında.
- Kuru mevsim: 108.000 litre / ha / gün, aynı basınçla bir buçuk saat sulama oranında.

Bir kg kurutulmuş yaprak üretmek için 8 kg taze yaprak (sapları çıkarılmış) gerekir. Hasat, bitkiler 1 m yüksekliğe ulaşana kadar yıl boyunca her iki ayda bir yapılır.

***Moringa oleifera* Tohumlarının Ekilmesi ve Yetiştirilmesi için Teknik belge [114]:**

- Sulama yöntemi: Damla tüpler
- Toprak: 95 % kum
- Bitki sayısı / ha: 1.000.000 bitki. 2 Yıl sonra, yaklaşık 600.000 bitki canlı kaldı
- Dikim mesafesi: 10 cm
- Damla delikleri arasındaki mesafe: 20 cm
- Hasat yöntemi: Manuel (el)
- Kurutma yöntemi: Kurutma odasında güneş ışığından korunan 250 kurutma rafı
- Sulama: Yağmur mevsimi: 72.000 litre / ha / gün
- Kuru mevsim: 108.000 litre / ha / gün
- Gübreleme: 16-48 kg/ha/hafta NPK (21-7-20) ve 8 kg yıl/2 hafta.

2.3.2. Bileşimi, Genel Besin ve Tıbbi Değerleri

Fitokimyasallar, bitkiler tarafından üretilen ve bitki sağlığı, aroması, dokusu, kokusu veya rengi üzerinde etkili olabilen ve aynı zamanda insanlar tarafından hayati besinler olarak ihtiyaç duyulan kimyasallardır. Bitkide, tanenler, steroller, terpenoidler, flavonoidler, saponinler, antrakinonlar, alkaloidler ve indirgen şeker gibi fitokimyasallar, glukozinolatlar, izotiyosiyanatlar, glikozit bileşikler ve gliserol-1-9 oktadekanoat gibi anti-kanser maddeleri ile birlikte bulunur [116]. *Moringa oleifera* türlerindeki fitokimyasallarının analizi, çeşitli benzersiz maddelerin incelenmesini sağlamaktadır. Örneğin, hipotansif, antikanser ve antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu bildirilen *Moringa* preparatlarının spesifik bileşenleri arasında 4-(4'-O-asetil-a-L-rhamnopyranosiloksi)benzil izotiyosiyanat, 4-(a-L-rhamnopyranosiloksi)benzil izotiyosiyanat, niazimisin, pterygospermin, benzil izotiyosiyanat ve 4-(a-L-rhamnopyranosiloksi)benzil glukozinolat bulunmaktadır [117]. Hem bilimsel hem de popüler kaynaklarda *Moringa oleifera*'nın beslenme özellikleri hakkında çeşitli yayınlar bulunmaktadır. *Moringa oleifera* yaprakları "havuçtan daha fazla A vitamini, süttten daha fazla kalsiyum, ıspanaktan daha fazla demir, portakaldan daha fazla C vitamini ve muzdan daha fazla potasyum" içerir ve protein kalitesi süt ve yumurtaya eşittir [118]. *Moringa oleifera*'nın yaprakları kalsiyum, potasyum, çinko, magnezyum, demir ve bakır gibi mineraller bakımından zengindir [119]. A vitaminindeki beta-karoteni, folik asit, piridoksin ve nikotinik asit gibi B vitamini, C vitamini, D ve E gibi vitaminler de *Moringa oleifera*'da bulunur. *Moringa oleifera* yaprakları da düşük kalori değerine sahiptir ve obez kişilerin beslenmesinde kullanılabilir. (tablo 2.4) [120].

Tablo 2.4: Yaprakların, yaprak tozunun, tohumların ve baklaların besin bileşimleri (tüm değerler bitki materyali başına 100 g cinsindendir).

Besin	Taze yaprak	Kuru yaprak	Yaprak tozu	Tohum	Bakla
Kalori (kal)	92	329	205	–	26
Protein (g)	6,70	29,40	27,10	0,19 ± 35,97	2,50
Yağ (g)	1,70	5,20	2,30	0,03 ± 38,67	0,10
Karbohidrat (g)	12,50	41,20	38,20	0,12 ± 8,67	3,70
Lif (g)	0,90	12,50	19,20	0,03 ± 2,87	4,80
B1 Vitamini (mg)	0,06	2,02	2,64	0,05	0,05
B2 Vitamini (mg)	0,05	21,30	20,50	0,06	0,07
B3 Vitamini (mg)	0,80	7,60	8,20	0,20	0,20
C Vitamini (mg)	220	15,80	17,30	0,17 ± 4,50	120
E Vitamini (mg)	448	10,80	113	4,41 ± 751,67	–
Kalsiyum (mg)	440	2185	2003	45	30
Magnezyum (mg)	42	448	368	8,66 ± 635	24
Fosfor (mg)	70	252	204	75	110
Potasyum (mg)	259	1236	1324	–	259
Bakır (mg)	0,07	0,49	0,57	0,15 ± 5,20	3,10
Demir (mg)	0,85	25,60	28,20	–	5,30
Kükürt (mg)	–	–	870	0,05	137

Bu bitkide bulunan besin değerleri nedeniyle, yetersiz beslenme, diyabet, kanser, ısı azaltma ve anti-epilepsi, bakteri ve mantarın yanı sıra anti-spazm ve kolesterolün korunması gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılır [121].

2.3.3. Genel kullanımı

Birçok deneysel çalışmaya dayanarak, moringanın gıda kaynağı olarak kullanılmasından ilaç ve diğer endüstrilerde kullanımına kadar basit ve kompleks olmak üzere birçok uygulamada kullanıldığı söylenebilir. Ağacının tüm parçaları (tohumlar, meyveler, çiçekler, yapraklar ve kabuklar) yenilebilir ve bu parçalar insanlar tarafından uzun zamandır tüketilmektedir. *Moringa oleifera* ağacı ilaçlar, gıda, su arıtma, hayvan yemi, azotu arttıran bitki dikimi, gübre, ev temizlik maddesi, yakacak odun gibi alanlarda kullanılabilir. *Moringa oleifera* bitkisi, birçok

önemli besin maddesi (vitamin ve protein gibi) içerdiğinden insan vücudunun enerjisini artırır. Yapraklar ve tohumlar gıda, ilaç, sterilizasyon, kirli suyun temizlenmesi gibi uygulamalarda faydalı bir kaynak olarak kullanılırlar [117].

2.3.3.1. Doğal ilaçlar

Moringa oleifera bitkisi, bir çok besin içerdiğinden, anemi, kanser ve diğerleri gibi 300' den fazla hastalığın önlenmesinde ve tedavi edilmesinde kullanılır [122]. *Moringa oleifera* bitkisinin çeşitli kısımları dolaşım uyarıcıları, anti-kalp hastalığı, antiepileptik, antipiretik, antiülser, anti-enflamatuar, antispazmodik, anti-hipertansif, diüretik, antioksidan, anti-diyabetik, kolesterol düşürücü, antibakteriyel, hepatoprotektif ve antifungal aktivite kaynağı olarak kullanılır. Tablo 2.5, *Moringa oleifera* bitkisinin her bir parçasının tedavi edici özellikleri özetlenmektedir.

• Yapraklar

Yapraklar kuru veya taze olarak kullanılır ve hiperglisemi, astım, grip, kalp yanığı, dislipidemi, sıtma, sifiliz, ishal, zatürree, iskorbüt, baş ağrısı, bronşit, cilt hastalıkları, göz ve kulak enfeksiyonları gibi birçok hastalığın tedavisinde kullanılmak üzere tablet veya kapsül şeklinde üretimi için uygun bir şekilde kurutulur ve öğütülür. *Moringa oleifera* yaprakları, birçok vitamin, besin ve kimyasal içeren *Moringa oleifera* tozu adı verilen bir toza dönüştürüldükten sonra hastalıkların tedavisinde en çok kullanılan kısımlardan biridir (tablo 2.4) [122]. Ayrıca, kan basıncını ve kolesterolü düşürür ve antikanser, antioksidan, antimikrobiyal, anti-aterosklerotik ve antidiyabetik madde, nöro koruyucu olarak işlev görür [123].

• Tohumlar

Moringa oleifera tohumları, Chrohn hastalığı, hipertiroidizm, romatizma, anti-herpes simpleks virüsü artriti, kramp, epilepsi gut ve cinsel yolla bulaşan hastalıkların tedavisinde yardımcı olur, antimikrobiyal ve anti-enflamatuar madde olarak işlev görebilir [124].

• Kökler

Kök kabuğu, bir anti-ülser, anti-enflamatuar ve kardiyak uyarıcı madde olarak işlev görür [125].

- **Çiçekler**

Moringa oleifera çiçekleri anti-artritik olarak işlev görür, hipokolesterolemi madde idrar ve grip gibi sorunları tedavi edebilir [126]. *Moringa oleifera* çiçeğinin suyu emzirirken anne sütünün kalitesini ve akışını iyileştirir [127].

- **Kabuklar**

Moringa oleifera kabukları karaciğer, ishal ve dalak problemlerini ve eklem ağrısını tedavi etmek için kullanılır [128]. Tablo (2.5), *Moringa oleifera*'nın her bir parçasının tıbbi özelliklerini açıklayacaktır [129].

Tablo 2.5: *Moringa oleifera*'nın farklı bitki kısımlarının tıbbi kullanımlarının özeti.

<i>Moringa Oleifera</i> 'nın bir parçası	Tıbbi özellikler
Kökler, ağaç kabuğu, taze yapraklar ve yağı alınmış ve kabuksuz tohumlar	Antimikrobiyal
Yapraklar, kökler, ağaç kabuğu ve tohumlar	Antikanser
Yapraklar, çiçekler ve kökler	Anti-hepatotoksik
Yapraklar ve çiçek tomurcukları	Antiülser
Kökler ve kuru tohumlar	Antienflamatuvar
Çiçekler, tohumlar, yapraklar, ağaç kabuğu ve kökler	Antienflamatuvar
Kurutulmuş yapraklar ve kurutulmuş tohumlardan elde edilen yağ	Antioksidan
Yapraklar ve meyveler	Anti-hiperlipidemi
Kökler ve kabuki	Antifertilite
Kökler	Merkezi sinir sistemi (CNS) depresanı

a. Kolesterol düşürücü

Moringa oleifera yapraklarının ham özü, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların serumundaki, biyoaktif bir Fitokonstituentlerin, yani β - sitosterolün varlığına bağlanabilecek önemli bir kolesterol düşürücü etkiye sahiptir. *Moringa oleifera* meyvesinin serum kolesterolünü, fosfolipidleri, trigliseritleri, düşük yoğunluklu lipoproteini (LDL), çok düşük yoğunluklu

lipoprotein (VLDL) kolesterolü, aterojenik indeks lipidini düşürdüğü ve hiperkolesteremik tavşanlarda karaciğer, kalp ve aortun lipid profilini düşürdüğünü ve fekal kolesterol atılımını arttırdığı bulunmuştur [130].

b. Körlük ve göz enfeksiyonlarında kullanımı

Körlüğün birçok nedeni olmasına rağmen, A vitamin eksikliği, bozulmuş karanlık uyumuna ve gece körlüğüne neden olur. Yüksek oranda A vitamini içeren *Moringa oleifera* yapraklarını, kabuğu ve yaprak tozlarını yemek, çocuklarda gece körlüğü ve göz problemlerini önlemeye yardımcı olabilir. Yağlı (Bkaroten ve leutin) altın yağmur sinamekisinin yutulması, A Vitamin ile beslenmenin iyileştirilmesine yardımcı olur ve katarakt başlangıcını geciktirebilir. Ayrıca, göz nezlesi vakalarında meyve özsu gözlere damlatılabilir [130].

c. Kalp ve dolaşım uyarıcı

Ağacın tüm bölümlerinin Kalp ve dolaşım uyarıcısı olarak kullanıldığı bildirilmektedir. *Moringa oleifera* ağacının kök kabuğu, kalp uyarıcı olarak işlev gören ve sempatik sinir sistemi üzerinde etkili olan alkaloid bileşikler *Moringa oleifera* 'nin içermektedir [130].

2.3.3.2. İnsan gıdası

Tüm *Moringa oleifera* gıda ürünleri çok yüksek bir besin değerine sahiptir. Ağacın parçalarında, özellikle filizlerde, kabuklarda, çiçeklerde, köklerde insan gıda için kullanılabilecek besinler bulunmaktadır. İnsanlar parçaları pişirebilir ve yemeklerine sevdikleri şekilde dahil edebilirler.

• Yapraklar

Ağacın tüm parçaları arasında en çok yapraklar kullanılır, çünkü yağ ve karbonhidrat bakımından düşüktür ve mineraller, demir ve B vitamini bakımından zengindir. Yaşlandıkça sertleşirler, bu nedenle büyüyen sapsarı ve genç yaprakları seçmek en iyisidir. Yaprakları ağaçsı gövdeden çıkarın, çünkü gövde pişirme sırasında yumuşamaz. Yapraklar ıspanakla aynı şekilde kullanılabilir.

Yaprakların kurutulması ve ezilmesi veya dövülmesi ile bir yaprak tozu üretilir. Yaprak sapsarını çıkarmak için tozu eleyebilirsiniz. Bu toz daha sonra diğer çeşniler veya sebzeler

eklendiğinde aynı anda soslara eklenebilir [131]. Ayrıca, kurutulmuş veya taze yapraklar salataya eklenebilir [132].

- **Çiçekler**

Çiçekler pişirilebilir ve diğer yiyeceklerle karıştırılabilir veya hamur olarak kızartılabilir. Ayrıca çayını yapmak için beş dakika sıcak suda bekletmek yeterlidir. Ayrıca bal üreten arılar için iyi bir bal nektar kaynağıdır [127].

- **Kabuklar**

Kabuklar, ilk meydana geldikleri andan kolayca koparılamayacak kadar odunsu hale geldikleri zamana kadar (30 cm uzunluğa kadar) yenebilir. Yeşil fasulye gibi pişirilirler ve kuşkonmazla benzer bir tada sahiptirler. Bazı acı tada sahip kabuklar çok fazla yenildiğinde zehirli olabilir. Fazla odunsu hale gelen kabuklar bile yumuşayana kadar haşlanabilir. Açılırlar ve içindeki beyaz etler kazınır ve kaynar suya geri atılır. Bu etler çorba ve güveçte kullanılabilir [127].

- **Tohumlar**

Tohumlar genellikle bezelye olarak adlandırılır ve göründükleri andan sarıya dönene ve kabukları sertleşmeye başlayana kadar kullanılabilir. Tohumlar yemek pişirmede kullanılır. Tohumlar olgunlaştığında, kabukları sertleşir ve acılaşır. Bu yağ ekstraksiyonu için preslenebilir. Bir pres bulunmuyorsa, tohumlar kızartılabilir, öğütülebilir, kaynar suya atılabilir ve yağı yüzeye ekstrakte eder. Tohumlar %35 yağ içerir ve bu pişirme amacıyla kullanılır. Yağı kokmaz ve ayrıca dumansız şekilde yanar [127].

- **Kökler**

Fide sadece 60 cm boyundayken köklerinden yaban turpu sosuna benzer bir sos yapılabilir. Zararlı maddeler içerdiğinden kök kabuğu tamamen çıkarılmalı, ardından kök öğütülmeli ve

sirke ve tuz ilave edilmelidir. Ancak fazla tüketilmemelidir. Sosun buzdolabında saklanması önerilmektedir [127].

2.3.3.3. Hayvan yemi

Moringa oleifera hayvan yemlerinde kullanılır.Çalışmalar, hayvan yeminde *Moringa oleifera*'nın ağırlıkta %32' ye varan bir artışa yol açabileceğini ve ayrıca hayvan yeminin günlük 15 ila 17 kg yem içeren taze *Moringa oleifera* yaprakları ile desteklenebileceğini göstermiştir. Taze *Moringa oleifera* yapraklarının 2 kg kuru yeme eklenmesi ile süt üretimi %58 ve taze *Moringa oleifera* yapraklarının 3 kg kuru yeme eklenmesi ile süt üretimi %65 artırılabilir [115].

2.3.3.4. Su arıtma

Tohum tozu, kolay, basit ve ucuz olduğu için kirli suyu arıtma amacıyla kullanılır ve alüminyum sülfat ve diğer kimyasallar gibi kimyasallar insanlar ve çevre için tehlike oluşturduğu için tohum tozu bunların yerini almaktadır. Toz katı maddelerle birleşir ve bu şekilde suda bulunan bakterilerin %90-99' unu yok eder. 20 litre suya 2 gr *Moringa oleifera* tohum tozu eklenerek ve 5 dakika çalkalanarak su arıtılır. Arıtılacak olan kirli su, temiz bir bezle kaba süzülür. Su berraklaşana ve pislikler dibe çökene kadar kovayı bir saat boyunca ellemeyin, ardından suyu temiz bir bezle süzün ve içmeden önce suyu kaynatın.[133]

2.3.3.5. Gübre

Yağ ekstrakte edilmek için tohumlara basılarak üretilen tohum küspesi, zararlı maddeler içerdiğinden yenemez. Bununla birlikte, yüksek düzeyde protein içerir, bu nedenle tarımda kullanılabilen iyi kalitede bir gübre meydana gelir [127].

2.3.3.6. Doğal Tarım İlacı

Moringa oleifera yaprakları ekimden önce toprağa ekilir bu şekilde fideler arasında hastalık (*Pythium debaryanum*) oluşumu önlenabilir [134].

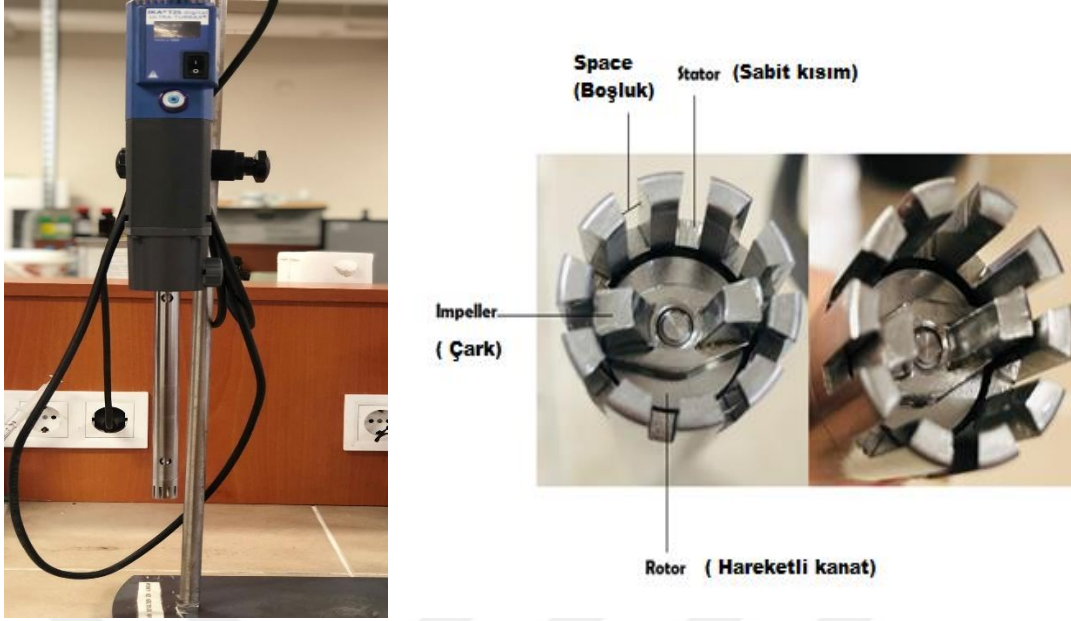
2.4. FENOLİK BİLEŞKLERİN EKSTRAKSİYON

2.4.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon (HDE)

Homojenizatör destekli ekstraktör, emülsiyonlar ve süspansiyonlar için yüksek performanslı bir rotor-stator karıştırma makinesidir. Karıştırma, birbirlerinin için çözülmeyen, birbirlerinin içinde zor çözülen ve kimyasal olarak birbirleriyle reaksiyonu girmeyen en az iki maddenin karıştırılmasıdır. Bir karıştırma işlemi sırasında bir madde (karıştırma fazı) başka bir maddeye (sürekli faz) dağıtılır. Çoğu karıştırma işleminin amacı, bir emülsiyon veya süspansiyonun üretilmesidir. Her ikisi de sürekli sıvı aşaması ile uğraşan karışımlardır. Bir emülsiyonun karıştırma aşaması da sıvıdır. Bir süspansiyonun üretimi sırasında, katı parçacıklar bir sıvı içinde düzgün bir şekilde dağıtılmalıdır. Yiyecek, içecek, kozmetik, ilaç gibi bir çok farklı üretim endüstrisi tarafından kullanılır. Bu yüksek parçalayıcılı karıştırıcı çok çeşitli ürünleri (soslar, tatlandırıcılar, meyve suları, konsantreler, damıtılmış sıvı, kükürt, ilaç ve biyolojik kristal katılar, tablet kaplama, kişisel bakım, diş macunu, kremler, merhemler, losyonlar) yapmak için kullanılır [135].

Katı maddenin sıvı içinde homojenizatör destekli bir ekstraktör ile karıştırılması rotor-stator prensibine dayanmaktadır (Şekil 2.6). Burada rotor yüksek bir çevresel hız ile hareket ettirilir. Rotasyon, etrafındakileri rotora çeken emme üretir. Fazlar daha sonra santrifüj sel olarak hızlandırılır ve daha sonra rotor ve stator arasındaki kesme boşluğuna ulaşır ve bunları rotor ve stator arasındaki hassas boşlukta mekanik kesmeye tabi tutar. Bunu, ürün stator ekranından yüksek hızda zorlandığı ve karışıma geri dolaştırıldığı için yoğun hidrolik kesme izler. Taze malzeme sürekli olarak rotora çekilir, globül veya partikül boyutunu kademeli olarak azaltır ve hızlı bir şekilde homojen bir ürün elde edilir [136, 137].

Rotor statör homojenizatör karıştırma tekniklerinin basit ve sağlam tasarım, kolay kurulum ve çalıştırma gibi diğer teknolojiler üzerinde pek çok avantajı bulunmaktadır; Nispeten düşük yatırım maliyetlerine, yüksek verimliliğe sahiptir; viskoz sistemleri ile uyumludur, kullanıcıların yüksek çevresel hızlarda yüksek enerji kullanımına yol açmaz, küçük rotor çapları ile bile çalışmaktadır ve çevre dostudur. Rotor-stator düzeneği, iki veya daha fazla bıçaklı bir rotordan (hareketli parça) ve homojenizatör hücresinin duvarı etrafında dikey veya eğimli boşluklara sahip bir statordan (sabit parça) oluşur. Rotor, statorun içinde eşmerkezli olarak konumlandırılmıştır (şekil 2.6)[138, 139].



Şekil 2.6: Homojenizatör destekli ekstraksiyon ve rotor-stator homojenizatör.

Homojenizatör destekli ekstraksiyon yöntemi fenolik maddelerin elde edilmesi için büyük önem kazanmıştır. Birçok bilimsel araştırmacı farklı bitki, meyve ve sebze türlerinden biyolojik olarak aktif bileşikler ekstraksiyon için araştırmalar yayınlamıştır.

Üzüm posasından fenolik asitler, flavonoidler ve antosiyaninler gibi fitokimyasalların ekstraksiyonu incelemiş ve bu çalışmada HDE yönteminin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ucuz, toksik olmayan ve yeşil çözücü olan gliserol konsantrasyonu değerlendirildi. Bu koşullar kullanılarak elde edilen ekstraktın teorik toplam fenolik içeriği 24,1(g GAE / kg-DM), toplam flavonoid içeriği 4088,51 (mg CE/kg-dm), serbest radikal temizleme aktivitesi 11,62 (g TEAC / kg-dm), toplam monomerik antosiyanin içeriği 1393,47 (mg C₃G / kg dm), toplam proantosiyanidin içeriği 6,34 (mg siyanidin/kg dm) ve askorbik asit 87,7 (mg/kg-dm) değerindedir. Çalışma, yeşil bir çözücü olarak gliserol kullanılarak homojenizatör destekli ekstraksiyonun, gıda işleme yan ürünlerinden fitokimyasalların ekstrakte edilmesi için iyi bir yöntem olduğunu göstermiştir [140].

Pereira, Gustavo ve arkadaşları muz kabuğundan toplam fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda HDE yöntemini optimize etmeyi incelemiştir. Fenolik bileşikleri, farklı etanol konsantrasyonu (%20-70, v/v, EC) ve katı çözücü oranı (%2,5–7,5, w/v, SSR) altında çözücü olarak etanol ile ekstrakte edilmiştir. Öte yandan, koşulların muz kabuğundan TPM ekstraksiyonu üzerindeki etkisi, cevap yüzeyi metodolojisi kullanılarak değerlendirildi. Muz kabuğundan en iyi eşde

edilen TPM ekstraksiyonun koşulları %54 etanol konsantrasyonu (v/v) ve %7,5 katı çözücü oranı (w/v) olarak tanımlanmıştır. Optimum koşullarda, HDE yüksek bir TPM konsantrasyonu 2,44 (g GAE/100 g dw), TFM 2,32 (g CE/100 g dw) ekstrake edilmektedir. Ayrıca, DPPH IC₅₀ 71,74 (µg / ml), DPPH 380,37 (µmol TE/ g dw), TEAC 325,84 (µmol-TE/g-dw) ve H-ORACFL 420,388 (µmol-TE/g-dw) antioksidan aktivitesini değerlendirmek için çeşitli testler kullanılmıştır. HDE, antioksidan kimyasalları bitki materyalinden güvenli, hızlı ve düşük etkili bir şekilde ekstraksiyon için kullanılabilir. Ek olarak, muz kabukları yenilenebilir ve düşük maliyetli bir antioksidan kimyasal kaynağı olarak düşünülebilir [141].

Bitki ve sebze atıkları gibi gıda atıkları, birçok bilim adamı ve araştırmacı tarafından büyük ilgi görmüştür. Çünkü modern ekstraksiyonun teknikleri kullanılarak ekstrakte edilebilen biyolojik olarak aktif maddeler içermektedir. Züin, vanya ve arkadaşları, biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edilmesine odaklanarak mango atığının entegre biyo-arıtım konseptine dayalı fizibilite ve teknolojik olanakları tartışmak için homojenizatör destekli ekstraksiyon gibi yeşil teknolojileri kullandı. Ayrıca, sürdürülebilir, düşük zaman alan ve enerji tüketen bir ekstraksiyon teknolojisi HDE için değişkenleri optimize etmeye yönelik yeşil bir yaklaşım olarak istatistiksel olarak güçlü bir metodoloji sundu. Biyoaktif bileşiklerin maksimum konsantrasyonları, mangiferin 354,4 (mg/kg) için etanol/su konsantrasyonu (%67,73 ve %70,11), numune/çözücü oranı (%29,33 ve %28,17) ve zaman (4,47 ve 5,00 dakika) standartlarına benzer değerlerle elde edildi. Bu sonuçlar, Brezilya' da çok yaygın ve önemli tropik meyve atıklarından biyoaktif bileşiklerin elde edilmesi için önerilen yeşil ve sürdürülebilir yöntemin etkinliğini göstermiştir [142].

Son zamanlarda, *Moringa oleifera* bitkisi gibi birçok şifalı bitki birçok araştırma ve çalışmanın konusu haline gelmiştir. Pereira, Juliana ve ark. *Moringa oleifera* yaprağı ekstresi için UDE ve HDE yöntemi arasındaki verimliliği karşılaştırdı. Fitokimyasal bileşikler ekstraktlarının optimizasyonu incelenmiştir. HDE yöntemi ile 10 dakika boyunca 12,000 rpm' de gerçekleştirilmiştir. UDE 120 W ve 20 kHz'lik bir ultrasonikatörde 5 dakika boyunca gerçekleştirildi. Her iki yöntem için de optimum ekstraksiyon koşulları 4:200 katı:çözücü (g/v) ve 1:1 su:etanol (v/v) oranı olarak tanımlanmıştır. Elde edilen sonuçlar, HDE ve UDE' nin *Moringa oleifera* yapraklarından antioksidan ekstraktlar elde etmek için uygun olduğunu göstermiştir. HDE, UDE' den (5 dakika) daha uzun bir ekstraksiyon süresine sahiptir. Bununla birlikte, HDE' nin fenolik ve flavonoid bileşiklerini ekstraksiyondaki etkinliği UDE' den daha fazladır. UDE ve HDE için sırasıyla 1,448 (g/100 g-DL) ve 1,875 (g/100g-DL) TPM değerleri.

Ekstraksiyon için yeşil teknolojiler, özel ürünler üretmek için alternatif biyo-bazlı çözücüler ve biyokütle uygulayarak çok fazla çözücü ve enerji gereksinimi olmadan yüksek çaba gerektirir [145]. Otomatik çözücü ekstraksiyonu, sürdürülebilir bir hammaddeden yenilenebilir bir doğal ürün elde etmek için yeşil ekstraksiyon olarak kullanılmaktadır (Şekil 2.7). OÇE, en son teknolojiyi sunarak enerji, zaman ve kimyasal tüketimleri azaltmak amacıyla Soxhlet ekstraksiyonuna alternatif olarak geliştirilmiştir [146].



Şekil 2.7: Otomatik çözücü ekstraksiyonu.

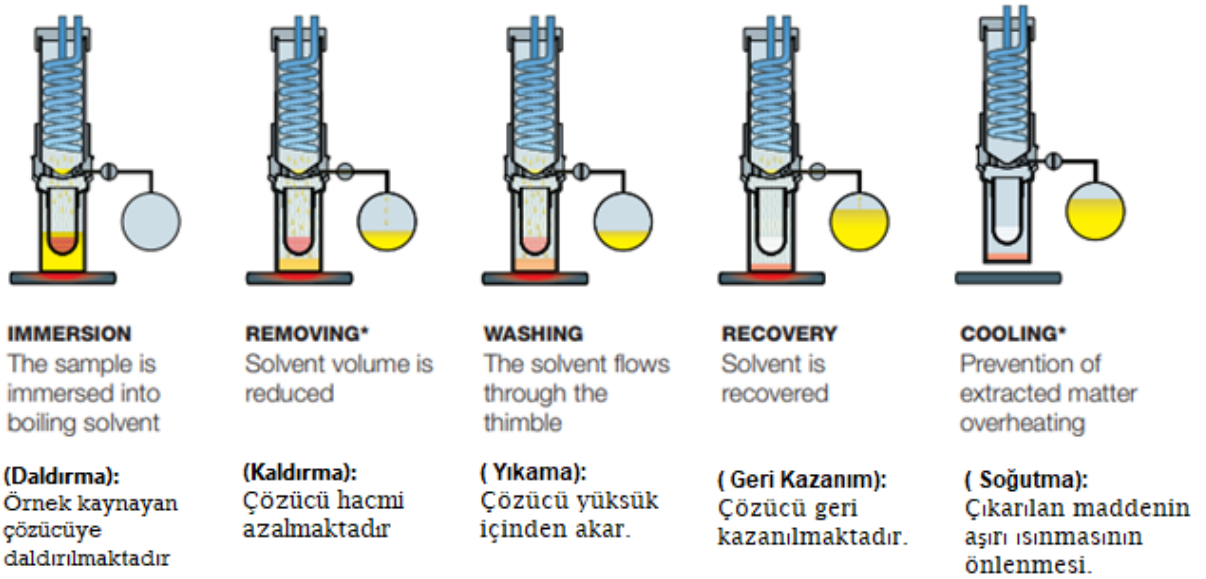
Soxlet ekstraksiyon özellikleri (çok uzun ekstraksiyon süreleri, ciddi çözücü tüketimi ve aşırı ısı ve ışığa maruz kalma) göz önüne alındığında, OÇE fenolik kimyasalları doğal kaynaklardan özümek için uygun bir seçenek olduğu düşünülmektedir. OÇE' un sadece çözücü kullanımını azaltarak çevreye yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda çözücü ekstraksiyon tekniği daha kısa süreçlere ve daha hassas bir ekstraksiyon işlemine sahip olduğundan verimi de artırır. Ayrıca, endüstri ve ekstraksiyon süreçleri ilerlediğinden, birçoğu artık yüksek sıcaklıklara dayanma kabiliyetine sahiptir. Modern yazılım ve güvenli programların bir sonucu olarak, OÇE tekniği güvenli ve sağlam ısıtma işlemlerinin yanı sıra tekrarlanabilir ekstraksiyon prosedürleri sunmaktadır. Bu yöntem 3 ana adımda gerçekleştirilir: daldırma, yıkama ve geri kazanım ve performansı en üst düzeye ekstrakte edilmek için ekstraksiyon ve soğutma adımları eklenebilir (şekil 2.8).

OÇE yöntemi kullanılarak ekstraksiyonun adımları 5 adımda özetlenmiştir:

- Daldırma: Verimli kütle aktarımı sağlamak için katı bir numunenin kaynayan bir çözücüye daldırıldığı aşamadır. Analizi hızlandırmak için sıcak çözücülerin kullanıldığı

durumlarda çözücünün kaynama noktasına hızlı bir şekilde ulaşması sağlanır. Aslında, sıcak çözücü ile yapılan hızlı çözündürme, ekstraksiyon süresinin önemli ölçüde azalmasına (yaklaşık 90 dakika) izin verir).

- Buharlaşma: Çözücü seviyesi otomatik olarak ekstraksiyon kartuşunun altına düşürülür. Çözücünün bir kısmı geri kazanım tankında toplanır ve geri kalanı numune üzerinde akmaya devam eder.
- Yıkama: Konsantre çözücü, ekstraksiyon işlemini tamamlamak için numunenin üzerinden ve kartuştan akar.
- Geri kazanım: Bu aşamada ekstraksiyon büyük ölçüde tamamlanır ve çözücünün %80' inden fazlası geri kazanılır. Ek olarak, titanyum yoğunlaşmasının varlığı, kriyojenik geri kazanım tankında toplanan çözücünün %90' ını geri kazandırır.
- Soğutma: Ekstraksiyon tamamlanır ve ısıtma işlemi durdurulur [147].



Şekil 2.8: Otomatik çözücü ekstraksiyon proses adımları.

Son olarak, ekstraktları içeren kaplar, ekstraktların yanmasını önlemek için otomatik olarak kaldırılır. Ekstraksiyon cihazı, cam ve seramikten yapılmış yüksek hızlı ısıtma plakalarının yanı sıra, kullanılan çözücünün türüne göre ekstraksiyon sıcaklığını ayarlamak için bir kontrol panelinden oluşur. Çözünen maddenin aşırı ısınması ve yanması önlenir [148-150].

21. yüzyılda, doğal antioksidanlar gıda endüstrisinde tıbbi bir madde olarak yetiştirilmiştir. Bu nedenle, bu biyolojik aktif maddelere olan ilgi, kamu yararı ve tüketici taleplerini karşılamak için gelişmeye devam etmektedir [151]. Biyolojik aktif bileşikler, tipik olarak gıdalarda çok küçük miktarlarda bulunan gıda dışı bileşenlerdir. Genellikle bu bileşikler milyonlarca bitki, hayvan, deniz organizması ve mikroorganizma türünde bulunur ve çeşitli yöntemlerle (ekstraksiyon ve biyoteknolojik) elde edilebilir [152].

Kurtulbaş Şahin ve diğ., gelişmiş bir alternatif teknoloji olarak vişne kabuklarından fenoliklerin geri kazanılması için otomatik çözücü ekstraksiyonun kullanıldığı vişne atıklarından eşde edilen antosiyaninler açısından zengin fenolik bileşikler incelemiştir. Bu eşsiz yöntemin işlem değişkenlerini (daldırma süresi, yıkama süresi, katı kütle ve çözücü konsantrasyonu) iyileştirmek için cevap yüzeyi yaklaşımının yüzey merkezli kompozit tasarımı kullanıldı. Numunelerin ana antosiyaninini (siyanidin-3-glukozit) belirlemek için kromatografik analiz (HPLC) de kullanılmıştır. Prosedür, spektrofotometrik olarak değerlendirilen toplam fenolik ve antosiyanin içeriği gibi bağımlı parametreleri en üst düzeye ekstrakte edilmek için optimize edildi. Ekstraksiyon, bir Velp SER 158 otomatik çözücü ekstraksiyon (Velp Scientifica, Usmate, İtalya) kullanılarak yapıldı. Çeşitli miktarlardaki vişne kabukları, selüloz ekstraksiyon posalarına konularak ekstraksiyon kaplarına yerleştirildi. Ekstraksiyon kapları daha sonra 80 ml ekstraksiyon çözücü (çeşitli oranlarda EtOH: H₂O; yüzde 0,01 HCl) ile dolduruldu. Tam otomatik çözücü ekstraksiyon, (10-30) dakikalık daldırma, (40-60) dakikalık yıkama, 30 dakikalık geri kazanım, 2 dakikalık soğutma ve süresiz ekstraksiyon ile etanol çözücü tipine göre uygun ısıtma seviyesinde ayarlandı. Toplam ekstraksiyon süresi 1 saat 22 dakika ile 2 saat 2 dakika arasında değişmekteydi. Ekstraksiyondan sonra çözücü hacmi yaklaşık 15 ml olmuştur. Optimize edilmiş koşullarda tahmin edilen TPM ve TA verimleri sırasıyla 119,63 (mg GAE/g FM) ve 24,31 (mg siyanidin-3-glukozit/g FM)' dir 23,79 dk daldırma süresi, 52,21 dk yıkama süresi, 0,47 g katı kütle, %80 çözücü konsantrasyonu. Bu çalışma, OÇE yönteminin bitkiden biyoaktif bileşiği ekstrakte edilmek için etkili ve çok önemli olduğunu ortaya koydu [150].

Başka bir çalışmada, Şahin ve ark. OÇE yöntemi için kinetik yaklaşımı inceledi ve çözücü olarak etanol kullanarak kara bamyayı ekstrakte edilmek için OÇE yöntemini kullandı. Ekstraksiyon sisteminin süreç parametreleri etanol konsantrasyonu (%10-80), ekstraksiyon için yıkama süresi (40-60 dk) ve katı kara bamyaya numunesinin partikül büyüklüğü (0,5–2 mm) olarak seçildi. Cevap Yüzey Yönteminin Yüzey Merkezli Kompozit Tasarımının

uygulanmasıyla otomatik çözücü ekstraksiyon sisteminin optimizasyonu için toplam polifenoller ve antosiyaninler, cevap (ölçülen) değişkeniydi. Toplam polifenoller ve antosiyaninler için en iyi bulgular, prosesin optimal koşullarında (%80 etanol konsantrasyonu, 60 dakika yıkama süresi ve 0,5 mm) 164,695 (mg GAE/g) kurutulmuş bitki ve 28,349 (mg-C3G/g) kurutulmuş bitki olmuştur. Öte yandan, kinetik verilerin modellenmesi ikinci dereceden kinetik model ve film teorisi ile gerçekleştirilmiştir. Toplam polifenoller ve antosiyaninlerin etkin difüzyon katsayıları kinetik değerlendirmeye göre ($2,5 \times 10^{-10}$ ve $1,97 \times 10^{-10}$ m²/s) olarak hesaplanmıştır. Bu çalışma, Yeşil Kimya açısından mükemmel bir alternatif olan otomatik çözücü ekstraksiyonu ortaya elde edildi [147].

Portakal kabuğu bu nedenle karotenoid açısından zengindir. Toprakçı, irem ve diğerleri, karotenoidi çeşitli çözücüler (heksan, heptan ve kloroform) ile (OÇE) kullanarak ekstrakte edilmeye yöneliktir. Portakal kabuklarından karotenoid ekstraksiyonu, farklı OÇE parametreleri (parçacık boyutu, ekstraksiyon süresi ve çözücü tipi) altında gerçekleştirilmiştir. 5 g portakal kabuğunun özü, ekstraksiyon süresi (30-50 dakika), partikül boyutu (1,5-4 mm) ve çözücü tipi (Heksan, Heptan ve Kloroform) altında 80 ml çözücü ile ekstrakte edildi. Deneylerin tasarımı, deneysel verilerin modellenmesi ve ekstraksiyon işleminin optimizasyonu için D-optimal tasarım kullanılmıştır. En yüksek etki, partikül boyutu ile elde edildi, bunu ekstraksiyon süresi ve çözücü izledi. Maksimum β -karoten verimine (her taze kabuk başına 86,85 mg), heptanlı 1,53 mm partikül çaplı soyma malzemesi ile 46 dakikalık OÇE süresi boyunca ulaşıldı [149].

2.4.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE)

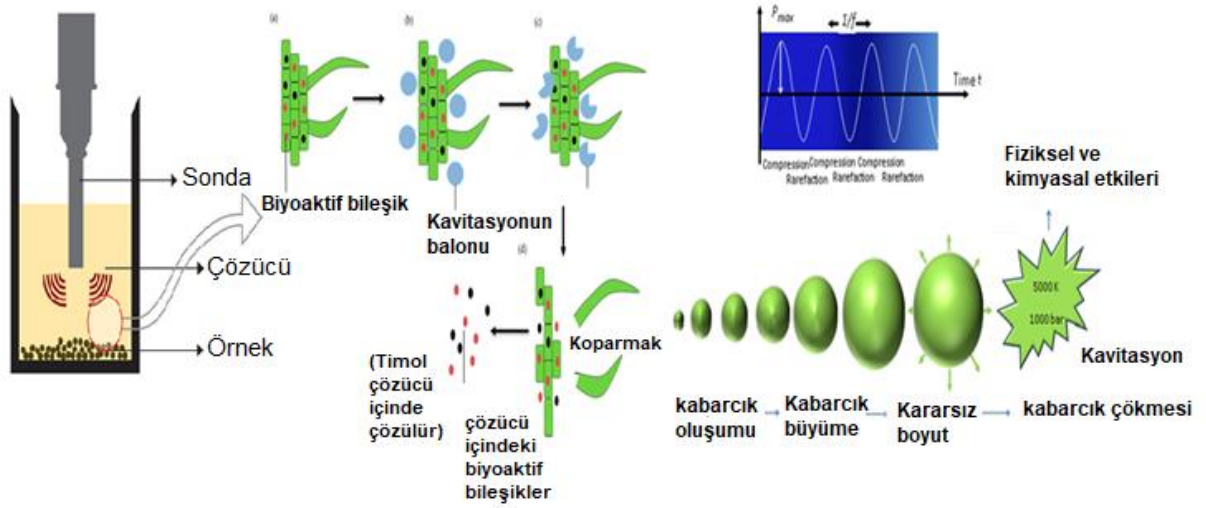
Günümüzde ekstraksiyon prosesleri parfüm, kozmetik, gıda, ilaç ve biyoenerji endüstrileri gibi birçok sanayi sektöründe kullanılmaktadır. Birçok üretim hattındaki kimya endüstrileri, çevre kirliliğine yol açan sera gazı yayma sorunlarının yanı sıra artan enerji maliyetleri sorunlarıyla da karşı karşıyadır. Bu nedenle, kimya endüstrisi sektörleri enerji tüketimini azaltan, maliyetleri düşüren, ürün kalitesini artıran, emisyonlar ve küresel ısınma ile ilgili yasal gereklilikleri karşılayan yeni teknolojiler bulma eğilimindedir. Son yirmi yılda, ultrason destekli ekstraksiyon gibi gelişmiş ve verimli ekstraksiyon tekniklerinin kullanılması düşünülmüştür (şekil 2.9). Daha kısa ekstraksiyon süreleri, daha düşük organik çözücü tüketimi, nihai ürünün daha yüksek saflığı ve enerji ve maliyet tasarrufu ile nitelendirilir. Ultrason, doğal ürünlerin yeşil ekstraksiyonu için gerekli bir teknolojidir [153, 154].



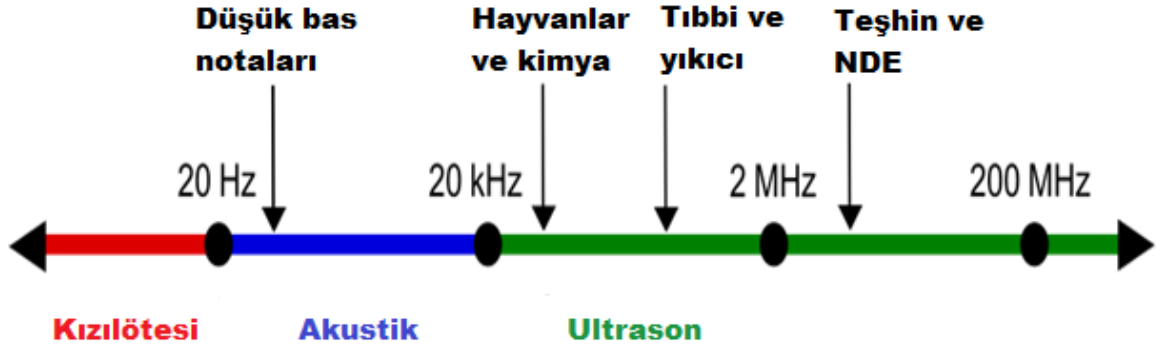
Şekil 2.9: Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi.

Ultrasonik ekstraksiyon, yüksek enerjili olduğunda elde edilir; düşük frekanslı ultrason dalgaları, bir çözücü içinde bitki maddesinden oluşan bir bulamaca bağlanır. Prob tipi bir ultrasonik işlemci, yüksek enerjili ultrasonu bulamaçla birleştirmektedir. Akustik kavitasyon, son derece yoğun ultrasonik dalgalar bir sıvıdan akıp, değişen yüksek basınç/düşük basınç döngülerine neden olduğunda meydana gelir (şekil 2.10). Akustik veya ultrasonik kavitasyon, ortamda küçük ölçekte şiddetli sıcaklıklara, basınçlara, ısıtma/soğutma oranlarına, basınç farklılıklarına ve güçlü kesme kuvvetlerine neden olur. Kavitasyon kabarcıkları katı nesnelerle (örneğin partiküller, bitki hücreleri, dokular, vb.) çarpıştığında, mikro düzlemler ve bölümler arasındaki çarpışmalar yüzey soyulmasına, erozyona, partikül çökmesine, sonopores (hücre duvarları ve hücre zarlarının bir arada bulunması) ve hücre bozulmasına neden olur. Ayrıca, sıvı ortamdaki kavitasyon kabarcıklarının çökmesi, kısmi karıştırmanın yanı sıra tam türbülansa neden olur. Sonikasyon, kavitasyona ve sıvı jetler ile mikrop taşınması, materyallerde daha sonra hücre duvarlarının bozulması ve dekompresyon ve daha yüksek ısıtma ve soğutma oranları gibi ilgili mekanizmalara neden olduğundan, ultrason ısıması kütle taşıma süreçlerini

iyileştirmek için etkili bir yöntemdir. Prob tipi ultrason, sikatris kavitasyonu üretimi için gerekli olan son derece yüksek genlikler üretebilir. Kavitasyonu yoğunlaştırmak için ultrasonik reaktörler basınç ve akış hücrelerini kullanır. Kavitasyon ve kavitasyon kesme kuvvetleri, basınç arttıkça daha fazla zarar verir ve ultrasonik ekstraksiyonun etkilerini iyileştirir. Ultrason hücre yırtılmasına neden olur ve kütle transferini artırır. Ultrason, hücreleri parçalayarak ve katı matris etrafındaki sınır tabakasında kütle hareketini artırarak ekstraktlara yardımcı olabilir. Ultrason kaynaklı kavitasyonun ısı ve basınç farklılıkları, şok dalgaları, kesme kuvvetleri, sıvı jetleri ve ince akış gibi mekanik etkileri, çözücülerin hücre içine nüfuzunu artırır ve hücre ile çözücü 20 ve 25 kHz arasındaki kütle transferini iyileştirir (şekil 2.11) [155-158].



Şekil 2.10: Kavitasyon oluşumu.



Şekil 2.11: Ultrason frekansı.

Kokular, renkler, antioksidanlar ve diğer organik ve mineral bileşikler dahil olmak üzere birçok gıda ve ilaç bileşeni sınıfı, çok çeşitli hayvan dokularından, mikroalglerden, mayalardan, besinlerden ve bitkilerden ekstrakte edilmiş, incelenmiş ve formüle edilmiştir.

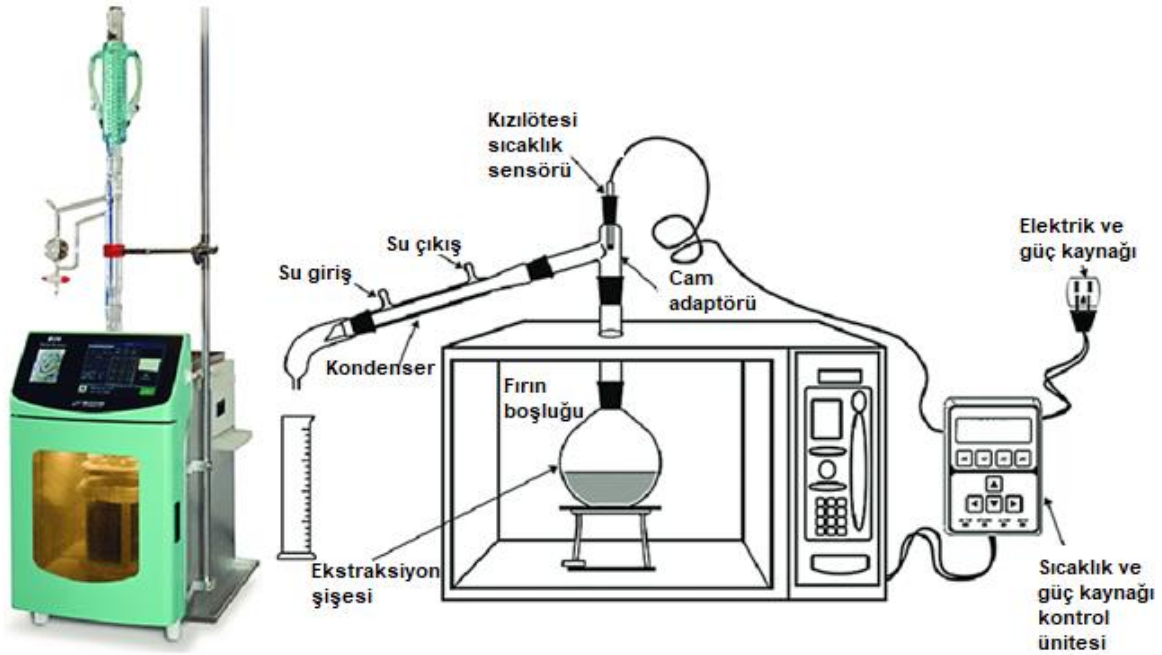
Chakraborty, Sushme ve ark. acı elmadan (*Momordica charantia*) antioksidanları, toplam fenolik ve çözünür proteinleri değerlendirmek için normal ve darbeli mod olmak üzere iki sonikasyon modunu inceledi. Öte yandan, cevap değişkenleri, cevap yüzeyi yöntemini (CYY) deney tasarımı kullanılarak sıcaklığın, ekstraksiyonun süresinin ve sebze/su oranının bir fonksiyonu olarak ele alınmıştır. UDE, açık sistem ultrasonik banyoda gerçekleştirildi ve bir su banyosuyla desteklendi. UDE deneyleri, ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon sıcaklığı ve bitkisel ekstraksiyon ortamı (su) oranı olmak üzere üç bağımsız değişken tarafından gerçekleştirildi. Deney, biyoaktif bileşiklerin optimal durumunu ve optimal içeriğini elde etmek için tasarlanmıştır. Deneylerin küresel merkezi kompozit tasarımı benimsenerek, bağımsız değişken aralığı alfa değeri (1,73205) ve minimum ve maksimum proses parametrik değer aralığı sıcaklık için 25 ve 80 °C; zaman için 1 ve 15 dakika ve konsantrasyon için 0,1 ve 0,5 (g/ml) temel alınarak belirlenmiştir. Değişken aralıklar ve bu noktaların limiti alfa değerleri ile belirlenir. Buna göre sıcaklık, zaman ve konsantrasyon aralığı (36,6–68,4 °C), zaman (3,9–12 dakika) ve konsantrasyon aralığı (0,18-0,42 g/ml) olarak belirlenmiştir. Acı elma sebzisinin normal mod UDE için optimal kontrol değişkeni değerleri sırasıyla sıcaklık, ekstraksiyon süresi ve sebze-su oranı için 68,4 (°C), 11,6 (dk) ve 0,3 (g/L) idi. Karşılık gelen optimal cevap değişken değerleri, 103,4 (mg GAE/g) toplam polifenol içeriği, %69,9 antioksidan aktivite ve 46,2

(mg/1000 ml) toplam çözünür protein içeriğidir. Durum için deneysel olarak elde edilen cevap değişken değerleri 11'e karşılık gelir. Toplam polifenoller, antioksidan aktivite ve toplam çözünür proteinler için sırasıyla ($2,5 \pm 4$ mg GAE/g), ($68,2 \pm 2$ ve 41 ± 4 mg/1000 ml). Darbeli mod sonikasyon için, optimal kontrol değişkenleri seti, $68,4$ ($^{\circ}\text{C}$), zaman 12 (dk) ve $0,25$ (g/ml)' lik acı kabak su oranına karşılık gelir; bunun için optimal cevap değişkenleri, antioksidan aktivite, polifenoller ve $77,9$ ' luk çözünür protein değerlerine karşılık gelmektedir. Chakraborty, Sushme ve ark. marjinal olarak daha düşük sebze-çözücü oranı, ancak daha yüksek biyo-aktif içerik ile normal sonikasyon modundan daha etkili bir şekilde gerçekleştirilen darbeli mod sonikasyonunu açıklamıştır. Bu araştırmanın bulguları, tıbbi ve fonksiyonel gıda uygulamaları için acı elma sulu ekstat üretiminde kullanılan geleneksel ekstat yöntemlerine göre darbeli mod ultra sonikasyon işlemi için umut verici fırsatlar olduğunu göstermektedir [159].

Bimacr, Mandan et al. ultrason destekli ekstraksiyon değişkenlerinin *Malva sylvestris* yapraklarından biyoaktif fenoliklerin ekstrakte edilme değeri (EV) üzerindeki etkilerini, yani ekstraksiyon sıcaklığı ($40-60$ $^{\circ}\text{C}$), ultrasonik güç ($50-150$ W) ve sonikasyon süresini ($40-60$ dk) araştırdı. İnceleme ve optimize için cevap yüzeyi yaklaşımı kullanıldı. Ekstraksiyon değeri çözücünün (etanol, etil asetat ve n-heksan) ise ekstraksiyon değerine etkisi incelenmiştir. Öte yandan, serbest radikal temizleme aktivitesini (FRSA), toplam fenolik içeriği ve temel biyoaktif fenolikleri incelemek için karıştırmalı yatay ekstraksiyonu (ABE) kullanıldı ve sonuçlar UDE bulgularıyla karşılaştırıldı. Deneysel EV ekstraksiyon değerleri, optimal UDE koşullarında (48 $^{\circ}\text{C}$, 110 W ve $48,77$ dk) ($71,12$ ve $0,15\%$) DPPHsc, ($73,35$ ve $0,11$ %) ABTSsc ve ($152,25$ ve $0,14$ mg GAE/g) TPM ile ($279,89$ ve $0,21$ mg/g) idi. Etanolik ABE, FRSA ve TPM değerleri daha düşük olmasına rağmen, UDE' den daha büyük bir ekstraksiyon değerine ($320, 16$ ve $0,25$ mg/g) sahiptir [160].

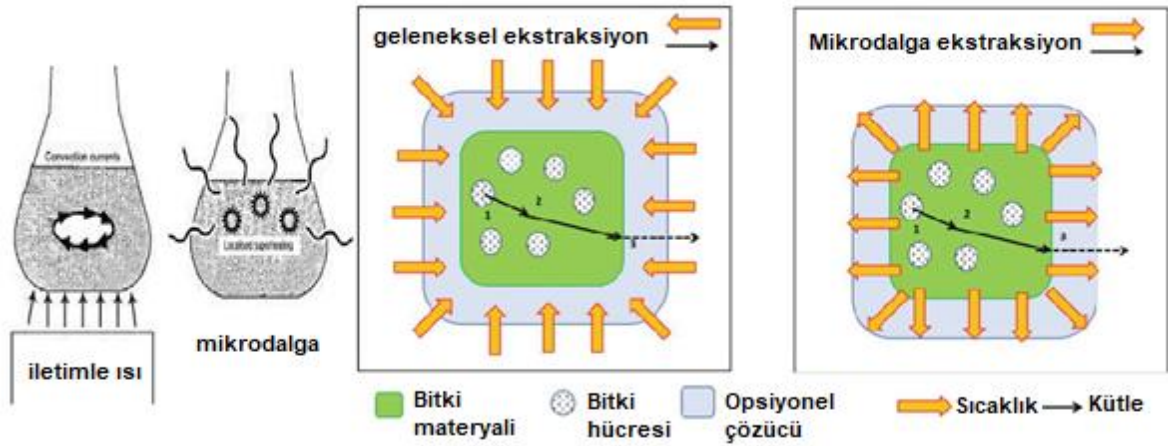
2.4.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE)

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, mikrodalga ve geleneksel çözücü ekstraksiyonunu birleştiren yeni ekstraksiyon tekniklerinden biridir. Çevre dostu yeşil teknolojilerden biri olarak kabul edilir (şekil 2.12). Mikrodalga enerjisi ilk kez 1975 yılında Abu Samara ve diğerleri tarafından kullanılmıştır. Metal eserlerini analiz etmek amacıyla biyolojik numuneleri işlemek için laboratuvarlarda ev tipi fırınlar kullanıldı. 1986' da bilim adamı Ganzler ve diğerleri, organik bileşikler ekstre edilmek için mikrodalga ışımasını kullandılar. İlk doğal ürün, 1995 yılında bilim adamı Barry tarafından mikrodalga fırınlar kullanılarak elde edildi. Son zamanlarda, mikrodalga dalgaları ile ekstraksiyon yöntemleri geniş bir araştırma alanı kazanmıştır. Mikrodalga teknolojisi başlangıçta çevresel, biyolojik ve jeolojik matrisler gibi çeşitli numune türleri için bir parçalama yöntemi olarak kullanıldı. Ayrıca Analitik absorpsiyon, desorpsiyon, numune temizleme, kolorimetrik reaksiyonlar, distilasyon ve mikrodalga plazma atomik spektrometrisinde kullanılmıştır. MDE şu anda bitki materyallerinden doğal bileşikler ekstre edilmek için sıklıkla kullanılmaktadır ve son yıllarda popülerlik kazanmıştır. MDE tekniği, daha kısa ekstraksiyon süresi, daha az çözücü, daha yüksek ekstraksiyon hızı ve daha ucuz maliyet gibi çeşitli matrislerden, özellikle doğal ürünlerden kimyasalları ekstre edilmek için geleneksel yöntemlere kıyasla çeşitli faydalar sağlar [161-163].



Şekil 2.12: Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi.

MDE yöntemi ile geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden farklıdır. MDE' de mikrodalga enerjisi, çözücüler katı veya sıvı numunelerle temas halinde ısıtmak ve numuneden çözeltinin doğrudan ısıtıldığı çözücüye kimyasal dağılımını iyileştirmek için kullanılır. Sonuç olarak, sıcaklık gradyanları en aza indirgenir ve mikrodalga radyasyonu ile ısıtma daha hızlı gerçekleşir. Ek olarak, aynı yönde hareket eden ısı ve kütle transfer olaylarının sinerjik bir kombinasyonu nedeniyle proses ivmesi ve yüksek ekstraksiyon verimliliği oluşabilir. Ancak, geleneksel ekstraksiyonlarda, alt katmanın dışından içeriye ısı transferi gerçekleşmesine rağmen (önce yüzey ısıtılır), kütle transferi içeriden dışarıya doğru gerçekleşir. Bununla birlikte, MDE' deki ısı, radyoaktif ortamda hacimsel olarak dağıtılır (Tüm numuneler aynı anda ısıtılır) (şekil 2.13) [164].



Şekil 2.13: Mikrodalga ve geleneksel ısıtma işlemi.

MDE, dik elektrik ve manyetik alanlara sahip iyonlaştırıcı olmayan bir elektromanyetik radyasyondur. Bilgi taşıyıcıları veya enerji vektörleri olarak kullanılabilirler. Dalgaların frekansı 300 MHz ile 300 GHz arasında değişmektedir (şekil 8). Mikrodalgalarla ısıtma iki mekanizma ile yapılır: hem numunelerde hem de çözücünde dipol sirkülasyonu ve iyonik iletim. Bu iki işlem mikrodalga enerjisini ısı enerjisine dönüştürmek için birlikte çalışır. Bu yöntem, numunenin aynı anda ısıtılması ve numunedeki zayıf hidrojen moleküllerinin + inaktivasyonu avantajına sahiptir. Ayrıca, bu yöntem çözücünün polaritesine bağlıdır. Oysa MDE işleminde,

çözücü hızla ısıtılır ve bitki materyalinin hücre duvarı, moleküllerin çift kutuplu dönüşüne veya bileşenlerin çözünmesini ve ekstraksiyonu hızlandıran iyonların göçüne neden olmak için hızla tahrip olur. İyonik iletim mekanizmasında, bir elektromanyetik alanın uygulanması, iyonların çözeltiye göçü ile sonuçlanır. Çözeltideki iyonların yönü, alanın sinyalini değiştirmesiyle sürekli değişmektedir. Çözeltinin iyon akışına karşı direnci ve moleküller arasındaki çarpışma, sürtünmeye ve dolayısıyla çözeltinin ısınmasına neden olur. Diğer yandan, bir spin-dipol mekanizmasında, molekülün dipolleri hızla değişen elektrik alanı ile yeniden hizalanır. Ayrıca, dipol rotasyonu, dipol momentleri (elektrik alan tarafından indüklenen) içeren ve elektrik alanı ile hizalanmaya çalışan polar moleküllerin alternatif hareketi ile ilişkilidir. Alan zayıfladıkça, termal düzensizlik geri döner ve termal enerjinin serbest kalmasına neden olur. 2.450 GHz' de (mobil, TV vb. gibi ticari sistemlerde kullanılan frekans), moleküller hizalanır ve ardından düzensizliğe dönüşleri saniyede $4,9 \times 10^2$ kez olur, bu da önemli bir ısınmaya neden olur. Bu dipol dönüşü, zayıf hidrojen sınırlarının bozulmasına yol açar [165].

Ayrıca, daha önce de belirtildiği gibi, MDE işlemi, kısmen dağılma faktörü ($\tan \delta$) tarafından polaritesine bağlıdır. Yüksek dağılımı faktörü ne kadar yüksekse, termal enerji o kadar yüksek olur (Tablo 2.6) [166].

$$\tan \delta = \varepsilon''/\varepsilon'$$

ε' , molekülün bir elektrik alanı tarafından polarize edilme kapasitesini yansıtan dielektrik değişmezidir ve ε'' elektromanyetik enerjinin ısıya dönüştürüldüğü verimliliği temsil eden dielektrik kayıp faktörünü gösterir.

Tablo 2.6: MAE' de kullanılan çözücülerin fiziksel sabiti.

Çözücü	ε'	ε''	$\tan \delta (\times 10^{-4})$	Kaynama noktası $^{\circ}\text{C}$
Heksan	1,89	< 0,1		69
Heptan	1,92	0		98,42
Diklorometan	8,90	1,14		39,60
2- propanol	19,90	1,66	6700	82
Aseton	20,70	2,69		56
Etanol	24,30	1,69	2500	78
Metanol	32,60	2,87	6400	65
Asetonitril	37,50	3,44		82
Su	78,30	1,87	1570	100

Su gibi polar çözücüler yüksek dielektrik kayıplarına sahiptir; Kalıcı dipol torku kuvvetli emilen mikrodalgalarla etkilenecektir. Ancak, heksan olarak polar olmayan çözücü, mikrodalgalarla maruz kaldığında ısınmaz ve mikrodalga şeffaf çözücüler olarak adlandırılır.

Bu nedenle, mikrodalga ısıtmanın özelliklerinden biri seçiciliktir, çünkü sadece polar moleküller ısıtılabilir [167]. MDE işlemi genellikle çözücünün doğası ve hacmi, ekstraksiyon süresi, mikrodalga gücü, matris özellikleri ve sıcaklıktan etkilenir [168].

MDE ile ekstraksiyon verimi, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinininkiyle karşılaştırıldı. MDE yöntemi, biyolojik olarak aktif maddeleri şifalı bitkilerden, meyvelerden ve sebzelerden ekstrakte edilmek için ideal bir yöntem olarak kullanılmıştır.

Da rosa, Gabriel ve ark. zeytin yapraklarından (*Olea europaea* L.) biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için mikrodalga, ultrason ve geleneksel teknikler arasında karşılaştırma yaptı. 0,5 (g zeytin yaprağını *Olea europaea* L) 25 (ml) çözücüye (40, %70 etanol ve su) ekleyerek MDE, UDE ve maserasyon ekstraksiyon yöntemleri uygulandı. Ekstraksiyon, sıcaklık değerleri (50 - 80 C), zaman aralıkları (5-25 dk) ve mikrodalga gücü 1000 W gibi farklı koşullar altında yapıldı. UDE için ekstraksiyon, süresi aralıkları (5-20 dk) ve ultrasonik güç aralıklarının genliği (%25-55) gibi farklı koşullar altında yapıldı. Maserasyon yöntemi için ekstraksiyon 24 saat oda sıcaklığında yapıldı. Bu çalışmada, ekstaksiyon prosedürlerinin fenolik (TP) kimyasalların toplam verimi ve antioksidan aktivite (AA) üzerindeki etkileri, merkezi bir istatistiksel tasarım (CCRD) kullanılarak değerlendirildi ve karşılaştırıldı. Modelleme ve talep fonksiyonuna dayalı olarak, zeytin yaprağı fenolik antioksidanlarının MDE ve UDE için optimal durumu belirlendi. Bulgular MDE için en iyi ekstraksiyon koşulluna 1000 W mikrodalga gücünde, 86 C ekstraksiyon sıcaklığında, 3 dakikada (110 mg GAE/g DL) toplam fenolik, (%90,3 ve 422,99 mg/g)antioksidan aktivite değerleri ile ulaşıldığını göstermiştir. 29 dakikalık ekstraksiyon süresinde UDE için (110 mg GAE/g DL) toplam fenolik, (%90.3 ve 422.99 mg/g) antioksidan aktivite değerleri ile 1000 W mikrodalga gücünde, 3 dakika boyunca 86 C ekstraksiyon sıcaklığında elde edilmiştir. Ek olarak maserasyon ekstraksiyon yönteminde TPM (57,28 , 98,14 ve 115,75 mg GAE/g DL), farklı çözücüde (su, %40 ve %70 etanol) %AA (67,25, %91,81 ve %93,09) idi. Daha yüksek bir sıcaklıkta 86 (°C) MDE, daha kısa ekstraksiyon süresi (3 dk) ile TP verimi açısından daha verimliydi. Bu sonuç, UDE' de ön işlem olarak kullanılan MAE' nin daha verimli olduğunu gösterdi [169].

Şahin, Selin ve diğerleri, cevap yüzeyi yöntemini (CYY) ve yapay sinir ağlarını (YSA) araştırdı. Çözücü içermeyen mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi (SFMAE) kullanılarak zeytin ağacının (*Olea europaea*) yapraklarından elde edilen toplam fenolik içeriği (TPM) ve oleuropein verimlerini tahmin etmede ve arttırmada en iyi yaklaşımı bulmak için karşılaştırıldı. SFMAE, mikrodalga radyasyon gücü (250-350 W), ekstraksiyon süresi (2-3 dk) ve numune

miktarı (5-10 g) dahil olmak üzere çeşitli koşullar altında işlendi. Ayrıca, zeytin yaprağı ekstraktlarının antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri bir dizi laboratuvar deneylerinde incelenmiştir. TPM ve oleuropein ekstrakte edilmek için en iyi ekstraksiyon koşulları ışınlama gücü 250 (W), ekstraksiyon süresi 2 (dk) ve numune miktarı 5 (g)' dir. En fazla oleuropein üretimi (0,060 ppm) ve TPM miktarı (2,480 ppm) bu koşullar altında elde edilmiştir. Oysa ANN, TPC ve oleuropein verim tahmini açısından CYY' den daha iyi performans göstermiştir. Sonuç olarak, zeytin yaprağı gıda endüstrisinde kullanılabilir ve antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerinden yararlanılabilir [170].

Abishli, Albarri ve ark. *Feijoa sellowiana* kabuklarından biyoaktif materyaller elde etmek için mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemini uygulayarak sıcaklık, mikrodalga gücü ve ekstraksiyon süresi parametrelerinin ekstraksiyon termodinamiği ve kinetiği, difüzyon ve kütle transfer katsayıları üzerindeki etkilerini incelemiştir. 80 (ml) çözücü (%60 etanol) 1 g *Feijoa sellowiana* kabuğu ekleyerek, farklı sıcaklık değerleri (295, 298, 301 ve 304 K), zaman periyotları (30-560 sn) ve mikrodalga gücü değerleri (100, 200, 300 ve 400 W) ile ekstraksiyon birkaç kez gerçekleştirildi. Kinetik çalışmaya göre uygulanan MDE sistemi için aktivasyon enerjisi 106,3 (kJ/mol) olarak hesaplanmış ve ekstraksiyon hızının sıcaklıkla arttığı gözlemlenmiştir. Seçilen kütle transfer parametrelerinin artan sıcaklıkla paralel olarak arttığı gözlemlenmiştir. Ek olarak, termodinamik çalışmasına göre sistem endotermikti. Sonuç olarak, *Feijoa sellowiana* kabuklarının zengin bir biyoaktif bileşen kaynağı olduğu gösterilmiştir [171].

Asghari, Jila ve diğ., mikrodalga ışınlama ile şifalı Asya bitkilerinden E- ve Z-guggolsteron, sinnamaldehit ve tanen gibi biyoaktif kimyasal bileşikler ekstrakte edildiler. Ek olarak, bu çalışma, geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile MDE yöntemi arasında karşılaştırılmıştır. 13,3 (g) C. mukul reçinesi ince ince kıyılmış ve 130 (ml) EtOAc (etilasetat) ile 300 (W) ve 80(°C)' de mikrodalga ışıması kullanılarak 1 saat süreyle geri akış koşulunda elde edilmişti. Bununla birlikte, 50 (g) C. mukul, geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanılarak 3 saat boyunca oda sıcaklığında 500 (ml) EtOAc ile eld edildi. Ek olarak, Q infectoria tanen ekstrakte edilmek için kullanılır. 15 (g) mazı meşesi tozu, 30 (dk) boyunca geri akış koşulunda 67 (°C)' de mikrodalga ışıması kullanılarak 125 (ml) %90 MeOH ile ekstrakte edildi. Bununla birlikte, 50 (g) mazı meşesi, geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanılarak oda sıcaklığında 500 (ml) Sulu metanol ile 24 saat boyunca elde edildi. Sinnamaldehit, 1 saat boyunca 300 (W) ve 120 (°C)' de mikrodalga ışıması uygulanarak 40 ml %80 EtOH ile 3 g *C. verum J.S. Presl* bitkisinden ekstrakte edildi. 15-20 (g) bitki ise geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile 97 (°C)' de 500 (ml) su

ile 2 saat süreyle elde edilmiştir. E- ve Z guggulsteron, tanen ve sinnamaldehit miktar tayini, HPLC spektroskopi analizi kullanılarak değerlendirildi. Guggulipid' de geçerli bir kantitatif E- ve Z guggulsteron aralığı MDE için (%2,5 - %3) ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi için %2 olarak değerlendirildi. Tanen asit, MDE için (%10-20) ve CSE yöntemi için %10 olarak değerlendirildi. Ayrıca MDE yöntemi için Sinnamaldehit (%0,84-1) değerlendirildi. Sonuçlar, MDE yönteminin geleneksel ekstraksiyon tekniklerine kıyasla ekstrakte edilmek için hızlı, kolay bir prosedür ve yüksek verim sağladığını göstermektedir [172].



2.5. ANALİTİK YÖNTEMLER

2.5.1. Spektrofotometrik Analizler

Bir spektrofotometre, bir çözümde analizi hem niteliksel hem de niceliksel olarak ölçen bir tür analitik cihazdır. Tam otomatik analizör sistemlerinde bile, son okuma aracı olarak bir spektrofotometre kullanılır. Spektrofotometrik yöntemde (şekil 2.14), bir analit saptanır ve görünür (400-800 nm) veya morötesi dalga boyu (380 nm' nin altında) kullanılarak ölçülür. Ayrıca, elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşiminden yararlanan prosedürler vardır. Enerji seviyesi değişikliklerinden kaynaklanan spektrum ölçülür. Her kimyasal madde, belirli bir dalga boyu aralığında (elektromanyetik radyasyon) ışığı emer, iletir veya yansıtır. Spektrofotometri, elektromanyetik radyasyonun görünür, ultraviyole (UV) ve kızılötesi (IR) bantlarında emilmesine dayanır. Elektromanyetik spektrum, X ışınları gibi ultra kısa dalga boylarından mikrodalgalar ve radyo dalgaları gibi ultra uzun dalga boylarına kadar her şeyi içerir. Bu radyasyonların hepsi aynı türdür ve ışık hızında akar. Madde etkileşimi üzerindeki etkilerinin yanı sıra frekans ve dalga boyu açısından da farklılık gösterirler. Işık, dalga boyu özelliklerine sahip olmasının yanı sıra, enerjisi dalga boyuyla ters orantılı olan foton adı verilen ayrı enerji paketlerinden oluşuyormuş gibi davranır. Örneğin 200 (nm) dalga boyuna sahip UV ışığı, 750 (nm) dalga boyuna sahip kızılötesi radyasyondan daha fazla enerjiye sahiptir. Spektrofotometri, ışık kaynağının dalga boyu spektrumuna göre iki türe ayrılır.:

- UV-görünür spektrofotometre: Elektromanyetik radyasyon spektrumunun UV (185-400 nm) ve görünür (400-700 nm) aralıklarında ışık kullanan bir cihazdır.
- IR spektrofotometre: Elektromanyetik radyasyon spektrumunun kızılötesi bölgesinde (700-15 000 nm) ışık kullanan bir cihazdır.

En sık spektrofotometreler spektrumun ultraviyole ve görünür bölümlerinde kullanılır, bazı aletler de yakın kızılötesi alanda çalışır [173, 174].



Şekil 2.14: Spektrofotometre analizörü.

Yoğunluğu I_0 olan bir ışın, belirli bir dalga boyundaki ışığı emen bir kimyasal çözeltisi içeren bir kare hücreden geçtiğinde ve iletilen ışının yoğunluğu I olduğunda (şekil 2.15), ışık geçirgenliği şu şekilde tanımlanır

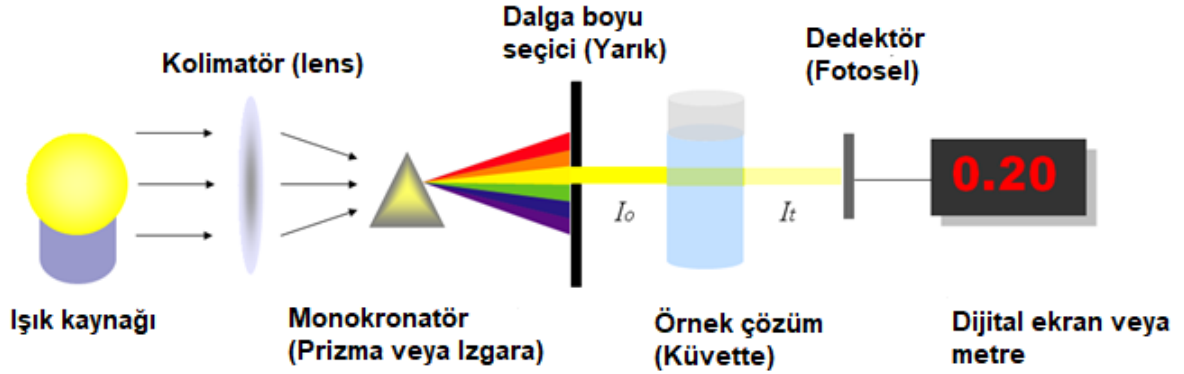
$$T = \frac{I}{I_0} \quad 2.1$$

Bununla birlikte, gelen ışığın bir kısmı hücre yüzeyi tarafından yansıtılabilir veya hücre duvarı veya çözücü tarafından emilebilir. Bu değişkenler, örnek hücreyle karşılaştırılabilir ancak referans hücrenin çözücüsünden ilgili bileşenin eksikliği nedeniyle bir referans hücre kullanılarak ortadan kaldırılır. Bu referans hücreden geçirgenlik (T), IR bölü I_0 ' a eşittir ve çözeltideki kimyasalın geçirgenliği, I bölü I' ye eşittir. Uygulamada, referans hücresi eklenir ve cihaz, örneğin yüzde geçirgenlik ölçümü alındıktan sonra (%100 geçirgenliğe karşılık gelen) 100' lük bir ölçek okumasına ayarlanır. Gelen ışık numuneden geçerken, emilen ışık miktarı (A) eşittir [175]:

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

Absorbans, belirlenecek analitin konsantrasyonunun yanı sıra ışınlama sırasında ışığın kapladığı mesafe ile orantılıdır. Beer yasası genellikle $A = \epsilon \times b \times c$ olarak ifade edilir, burada A absorbans anlamına gelir, ϵ (L/mol.cm) cinsinden molar absorbans katsayısıdır (dalga boyuna bağlı), b (cm) cinsinden yol uzunluğudur, ve c , (mol/L) cinsinden emici konsantrasyondur. Bu doğrusal ilişki, spektrofotometre özellikleri, moleküllerin foto bozunması, numunede saçılma

veya soğurma girişimlerinin varlığı, numunedeki floresan bileşikler, analit ve çözücü arasındaki etkileşimler ve pH gibi çeşitli faktörlerden etkilenebilir [176].

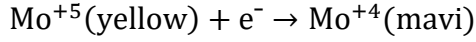
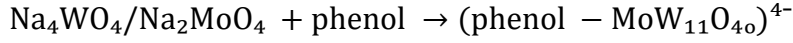


Şekil 2.15: Spektrofotometre analiz prensibi.

2.5.1.1. Folin-Ciocalteu ile Toplam Fenolik Madde Analizi

Bitkilerin ve besinlerin genel fenolik içeriğini belirlemek için galik asit veya başka bir fenolik bileşenin eşdeğeri kullanılır. Bitki fenoller, başlıca antioksidanlar veya serbest radikal temizleyiciler olarak işlev gören en önemli kimyasal sınıflarından biridir. TPM ayrıca kafeik asit, kateşin, klorojenik asit veya ferulik asit eşdeğeri olarak da bilinir. Diğer yandan, daha büyük bir fenol konsantrasyonu, daha büyük antioksidan potansiyeli ile ilişkilendirilmiştir. Bu tahlil, bir antioksidanın genel kapasitesini belirlemek için yararlı bir testtir. Fenoller doğada tahmini toplam fenol içeriği 8000 olarak bulunur ve aromatik bir hidroksil çekirdekten oluşan aynı temel yapıya sahiptir. İlk olarak bir fenolik amino asit olarak tirozin içeren proteinleri değerlendirmek amaçlanmıştır. Yöntemin temel prensibi, protein içeriğiyle orantılı olarak molibden mavisinin oluşmasıyla sonuçlanan FCR ve bir oksitleyici ajanın amino asitlerden herhangi biri ile etkileşimine dayanmaktadır. Fenol çözeltisi, FCR olarak bilinen parlak sarı renktedir. Bununla birlikte, 765 nm' de maksimum absorpsiyon ile mavi bir kromofor oluşturmak üzere indirgenen fosfomolibdik/fosfotungstik asit komplekslerini içerdiği düşünülmektedir. Asit nötralizasyon (GAE) tekniği, fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayini için bir fosfomolibdik-fosfotungstat kombinasyonunu kullanır. Reaktifin oksitlenmesini önlemek için test edilen malzemenin ne kadarının gerekli olduğunu belirleyerek çalışır. Test sistemi, yüksek bazikliğe sahip (%5-10 Na₂CO₃) sulu bir ortamda tungstat ve molibdattan oluşur. Bazik ortamda, fenoller geniş ölçüde oksitlenir, bu da O₂⁻ oluşumuna yol

açar, daha sonra molibdat ile birleşerek 750 nm' ye yakın önemli bir absorbands ile molibden oksit MoO_4^+ üretir. Oysa Mo iyonu, fenolik antioksidandan gelen bir elektronu kabul ederek kullanılır [54, 177-179].



Genel olarak, gallik asit, referans standart bir bileşik olarak yaygın olarak kullanılır ve sonuçlar, gallik asit eşdeğerleri olarak ifade edilir. Antioksidan solüsyon, Folin Ciocalteu reaktifi ile birleştirilmeden önce su ile seyreltilir. %7,5 doymuş sodyum karbonat solüsyonu eklendikten sonra sıvı iyice çalkalanır. Nihai karışım, spektrofotometrede oluşturulan mavi absorbands 765 nm' de ölçülmeden önce 30 (dk) karanlıkta üretildi [180]. Bu testin birçok avantajı ve dezavantajı bulunmaktadır:

Avantajlar:

- Kullanışlı, anlaşılır, kesin ve tekrarlanabilir.
- DPPH, FRAP, TEAC ve ORAC dahil olmak üzere diğer testlerle mükemmel doğrusal bağlantı.
- Kromoforun uzun dalga boyu, sıklıkla renklendirilen numune matrisinden gelen paraziti azaltır.
- Araştırma tesislerinde yaygın olarak kullanılan iyi kabul edilmiş bir test olarak, önemli miktarda karşılaştırma verisi bulunmaktadır.
- Botanik örneklerin karakterizasyonu ve standardizasyonu

Dezavantajlar:

- Şeker, aromatik aminler, kükürt asitleri ve Fe^{2+} ' dan kaynaklanan parazit.
- Bazı fenolik olmayan organik ve inorganik bileşikler hatalı sonuçlar verebilir.
- Sulu fazda gerçekleştirilir ve lipofilik antioksidanlarla ilgili değildir.

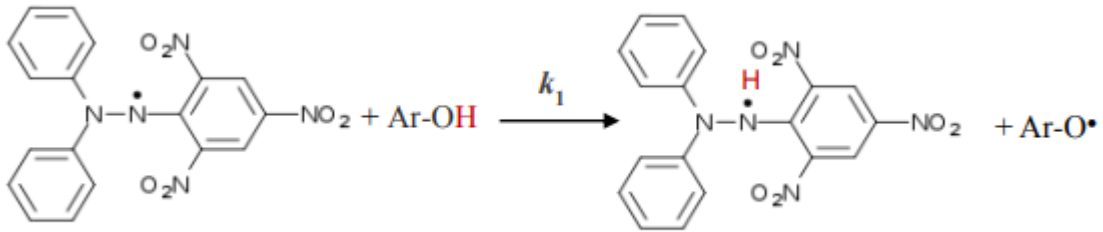
Yüksek absorbandslı arka planlar, birden fazla reaktif OH grubu içeren standartlara göre üretilir [181].

2.5.1.2. Alüminyum Klorür Kolorimetrik ile Toplam Flavonoid Madde Analizi

Her bir bitki materyali grubunun toplam flavonoid içeriği, AlCl_3 ile daha iyi reaksiyona giren flavonları ve flavonoller ölçmek için alüminyum klorür (AlCl_3) ve flavanonlar ve flavanonoller ölçmek için 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNP) kullanan iki tamamlayıcı kolorimetrik yöntem kullanılarak belirlendi. Alüminyum klorür kolorimetrik tekniği, alüminyum klorürün, C-4 keto grubu ve C-3 veya C5 hidroksil grubu flavonlar ve flavonoller ile aside kararlı kompleksler oluşturması ilkesine göre çalışır. Ayrıca alüminyum klorür, flavonoidlerin A veya B halkasında orto hidroksil gruplarıyla asit kararsız bileşikler oluşturur. Flavonoidler içeren bitki özleri, 510 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülebilen sarı bir renk tonu oluşturmak için alüminyum klorür ile reaksiyona girer. $\text{AlCl}_3/\text{NaNO}_2$ tekniği ile belirlenen toplam flavonoid seviyeleri tipik olarak kateşin eşdeğerleri olarak tahmin edilir [182, 183].

2.5.1.3. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil Radikal Temizleme Tahlili (AA-DPPH).

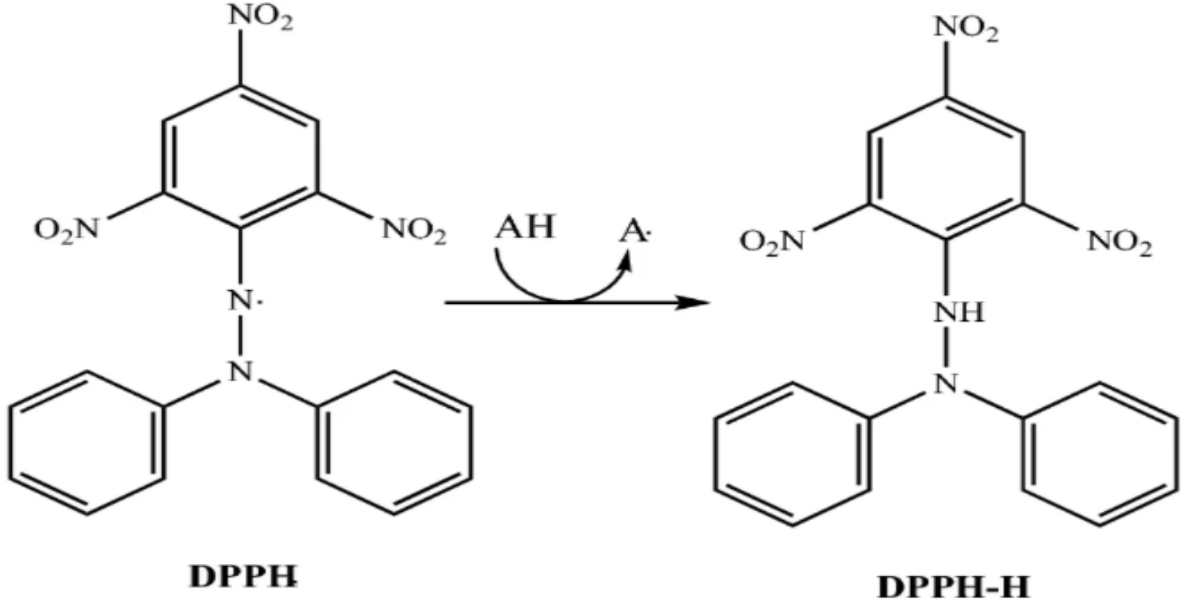
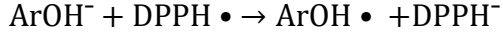
AA-DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal bir temizleme yöntemidir. AA-DPPH tekniği, bitki ekstraktlarının serbest radikal temizleme kabiliyetini belirlemek için en sık kullanılan testtir. Bir fenolik molekülden AA-DPPH radikaline H transferi, bir hidrojen/elektron donörü (serbest radikal temizleyici antioksidan) varlığında gerçekleşir (şekil2.16).



Şekil 2.16: Bir fenolik bileşikten (AR-OH) DPPH' ye H-transfer reaksiyonu.

Alınan elektronların miktarına göre, absorpsiyon yoğunluğu azalır ve radikal çözelti (AA-DPPH radikallerinin mor kromojeni), 517 nm' de spektrofotometrik olarak ölçülebilen uçuk sarı bir hidrazine dönüşür. AA-DPPH, homojen bir sistemde hidrojen atomlarını veya elektronları transfer eden ve hem elektron transfer (SET) hem de hidrojen transfer (HAT) sistemlerinde çalışan bir kimyasal veya kompleks kombinasyonu belirleyebilir (şekil 2.17). Bu testin birçok avantajı ve dezavantajı vardır [184].





Şekil 2.17: Bir antioksidan (AH) ile temizleme mekanizmaları.

Avantajlar:

- Gıdaların antiradikal aktivitesini belirlemek için hızlı, kolay ve düşük maliyetli bir yaklaşım.
- (515-520) nm' de koyu mor renkte kararlı organik azot radikalleri üretir [185].

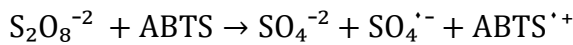
Dezavantaj:

- Bazı antioksidanların spektrumları 517 nm' de AA-DPPH' ye müdahale eder, bu da bir kusura yol açar ve sonuçlara müdahale eder [181].
- AA-DPPH radikali sadece hidrofilik antioksidanların rolünü açıklayan organik çözücüler (metanol, etanol, aseton) içinde çözülebilir [186].
- Çözücü, pH, numune konsantrasyonu ve reaksiyon süresi gibi çeşitli faktörler tahlili etkileyebilir.
- AA-DPPH radikalinin (515-520) nm' de emilmesi, ışık, oksijen ve bazı çözücü türleri gibi bir dizi maddeden etkilenir ve bu da emiliminde bir azalmaya neden olur [187].

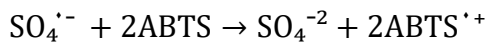
- Çeşitli çalışmalar, antioksidanların konsantrasyonu ile AA-DPPH' nin radikal temizleme aktivitesi arasında doğrusal olmayan bir ilişki olduğunu göstermiştir [188].

2.5.1.4. 2,2-Azinobis 3-Etilbenztiyazolin-6-Sülfonik Asit Radikal Temizleme Tahlili (AA-ABTS)

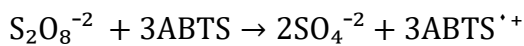
Antioksidanlar, H₂O₂ varlığında peroksil radikalleri veya diğer oksidanlar tarafından AA-ABTS' nin (mavi/yeşil) çok dengeli bir kromoforik katyon radikalının oluşumunu engelleyebilir. Bu analizde AA-ABTS, oksidanlar tarafından güçlü bir şekilde renkli olan AA-ABTS^{•+} radikal katyonuna oksitlenir ve antioksidan kapasite, test bileşiklerinin AA-ABTS radikaliyle doğrudan reaksiyona girerek rengini azaltma yeteneği olarak değerlendirilir. AA-ABTS^{•+} hem lipofilik hem de hidrofilik moleküllerde kullanılabilir. AA-ABTS^{•+} radikalleri, radikalın AA-DPPH' sinden daha reaktiftir. Hem HAT hem de SET, AA-ABTS^{•+} radikalleri ile reaksiyonlarda yer alır. Bununla birlikte, radikalın, şüpheli antioksidanlarla etkileşimden önce doğrudan dengeli bir durumda oluşturulduğu bir dekolonizasyon prosedürü, deney için daha kabul edilebilir bir formattır. AA-ABTS^{•+}, sulu sıvılarda (414, 734 ve 815 nm) ve etanolik ortamlarda (414, 730 ve 873 nm) maksimum absorpsiyon gösterir. 743 nm' de absorbe eden (mavimsi yeşil bir renk veren) AA-ABTS^{•+} radikali, bir elektron kaybı ile AA-ABTS' nin (2,2'-azino-bis (3-etilbenztiyazolin-6-sülfonik asit)) nitrojen atomundan oluşur. Trolox' un (veya başka bir hidrojen donör antioksidanının) varlığında, nitrojen atomu hidrojen atomunu söndürerek çözeltinin renginin bozulmasına neden olur. K₂S₂O₈' in kimyasal reaksiyonu AA-ABTS^{•+} radikal katyon üretir (Şekil 2.18). Elektron transferini takiben K₂S₂O₈' in kesilmesi, persülfat sistemi ile AA-ABTS radikal katyonunun oluşumunda rol oynar. Dalga boyunun saptanması açısından 734 (nm) tercih edilir çünkü diğer soğurucu bileşenlerden gelen müdahaleyi ve numune bulanıklığını en aza indirir.

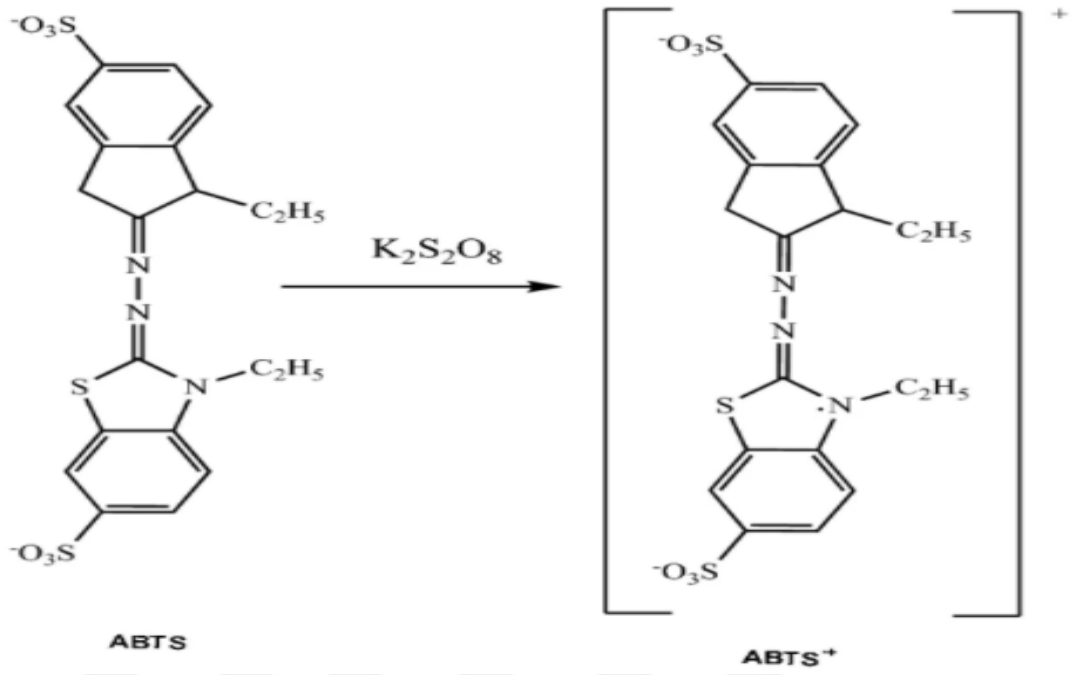


çok fazla AA-ABTS varlığında elektron transferinden sonra K₂S₂O₈ dağılımının meydana gelebileceği durumlarda, sülfat radikali aşağıdaki gibi cevap verecektir:



Aşağıda tarafından verilen toplam cevap ile sonuçlanır





Şekil 2.18: ABTS' nin K₂S₂O₈ ile oksitlenmesi ve AA-ABTS•⁺ üretimi.

2.6. STABİLİTE ÇALIŞMASI

Sıcaklık, oksijen, ışık ve pH gibi bazı faktörler doğal ürünlerin bozunma sürecini ve besin maddelerinin, özellikle biyoaktif bileşiklerin kaybını hızlandırma eğilimindedir[189]. Gıda ve ilaç endüstrilerinde, stabilite araştırmaları genellikle üreticiler tarafından bozunma ve bunun bitki özleri veya bitkisel özler içeren ürünlerin kalitesi üzerindeki nispi etkisi üzerinde çalışmak için aranır [190]. Bunu yaparken, müşterilerine ürünlerinin kalitesi konusunda güvence vermek için düzenleyici kurumlardan onay alarak itibarlarını korurlar. Stabilite araştırmaları sayesinde, bitki özlerinin kalitesi çeşitli çevresel koşullarda değerlendirilebilmektedir [191].

Biyolojik olarak aktif birçok sulu çözelti için pH, sıcaklık, ışık ve bazen oksitleyici bir atmosfer gibi stres koşulları ilacın maksimum stabilitesini etkileyebilmektedir. Bir ilacın stabilitesi, “kalitesini ve saflığını korumak için belirtilen spesifikasyonlar içinde kalma yeteneği olarak tanımlanan kimlik, potens” olarak tanımlanır. İstenen farmakolojik etkilerin elde edilmesini sağlamak için, biyolojik olarak aktif maddenin kullanımdan sonra formülasyonundan sonra yeterli bir süre boyunca stabilitesini korumak son derece önemlidir. İlaç kararsızlığı, performansında istenmeyen değişikliklere neden olabilir veya başarısızlığa yol açabilmektedir. Bir ilacın zamanla toksik hale gelebileceği göz önüne alındığında, bozulmayı belirlemek her zaman önemlidir [192].

Stabilite, bir biyoaktif maddenin veya biyoaktif ürünün, yeniden test veya son kullanma tarihleri boyunca kimliğini, dayanıklılığını, kalitesini ve saflığını koruyarak belirtilen spesifikasyonlar içinde kalma yeteneği olarak tanımlanmaktadır. Aktif maddenin veya nihai ürünün stabilite testi, biyoaktif maddenin veya biyoaktif ürünün kalitesinin sıcaklık, nem ve ışık gibi çeşitli çevresel faktörlerden etkilenecek zaman içinde nasıl değiştiğine dair kanıt sağlamaktadır[192-194].

Chaaban ve diğerleri, tüm flavonoidlerin, çevrenin fizyo-kimyasal faktörlerine maruz kalma ile bir tür bozulmaya uğradığı sonucuna varmışlardır. Işık ve oksijene maruz kaldıklarında çoklu fenolik flavonoidlerin önemli derecede bozunmasını rapor etmişlerdir [195]. Olifenollerin doymamış bağları ve güçlü bir antioksidan kapasitesi vardır, bu da onları ısıya, pH değişimlerine, ışığa, enzimatik aktivitelere ve metal iyonlarının ve oksijenin varlığına duyarlı hale getirmektedir [196]. Ayrıca, bu bileşikler, uzun süreli depolama sırasında stabilite

eksikliği göstermişmektedir[197]. Bu bileşiklerin kararlılığını etkileyebilecek faktörler arasında, moleküler yapıları termolabil olduğundan sıcaklık öne çıkmaktadır. Örneğin, yüksek sıcaklıklar (-)-epikateşinin (-)-kateşine ve (+)-kateşinin (+)-epikateşine epimerizasyonunu indükleyebilmektedir [198]. Aynı şekilde resveratrol oksijen, ısı, ışık ve pH gibi farklı faktörlerin etkisine karşı oldukça kararsız, etkinliğini azaltabilen veya yok edebilen bir bileşiktir[199]. Rocha-Parra ve diğerleri, ekstrenin su aktivitesi arttıkça bazı polifenollerin (malvidin-3-glukozit, kateşin ve epikateşin) stabilitesinin azaldığını bulmuşlardır[200]. Volf ve diğerleri, UV ışığı ve sıcaklık altında bazı fenolik bileşiklerin (gallik asit, kateşin ve vanilik asit) stabilitesini analiz etmiştir[201]. Albuquerque ve diğerleri, flavan-3-ollerin stabilite sonuçlarının bitki matrisi kaynağına büyük ölçüde bağlı olduğunu bildirmiştir[202]. Bu, her bir özel ekstrakte edilmek için hem ekstraksiyon proseslerini hem de stabilite ve koruma koşullarını bilme ve kontrol etme ihtiyacını vurgular. Tüm bu nedenlerle, fenolik bileşiklerin stabilitesi, yalnızca kimyasal doğasına değil, aynı zamanda özütün genel bileşimine de bağlı olacaktır, çünkü matriste bulunan farklı bileşikler, belirli bir bileşiğin bozunma işlemlerini iyileştirebilir veya hafifletebilmektedir. ek olarak, biyoaktif bileşiklerin bozunması, şifalı otlar kurutma, ekstraksiyon ve uzun süreli depolamaya tabi tutulduğu için ön işleme, işleme ve depolama dahil olmak üzere birçok aşamada gerçekleşebilmektedir. Bu, kalitesinin ve güvenliğinin yanı sıra etkinliği de dahil olmak üzere sonraki aşamalarda özelliklerinin sürekliliğinin sağlanabileceği uygun depolama koşullarının belirlenmesini sağlamaktadır[203, 204].

Bitkilerden, sebzelerden ve meyvelerden ekstrakte edilen biyoaktif bileşiklerin stabilitesini inceleyen birkaç çalışma yayınlanmıştır.

Olga solomon ve diğerleri. oksijen ve ışığa maruz kalmanın ve bu iki parametrenin kombinasyonunun askorbik asidin tutulması, enzimatik olmayan esmerleşmenin oluşumu, 5-hidroksimetil-2-furfuraldehit (HMF) ve furfural oluşumu üzerindeki etkisini inceledi. Portakal suyu, 52 (gün) boyunca 8 (°C)' de saklandı. Askorbik asit içeriği, meyve suyundaki çözünmüş oksijen seviyesinden önemli ölçüde etkilenmiştir, ancak bu çalışmanın koşulları altında ışığın hiçbir etkisi gözlemlenmemiştir. Esmerleşme, tüm numunelerde depolamanın ilk 3 haftasında arttı ve tüm depolama süresi boyunca çözünmüş oksijen seviyesiyle önemli ölçüde ilişkiliydi, ancak ışığın etkisi önemsizdi. HMF ve furfural içeriği, 8 (°C)' de 52 günlük depolama sırasında numunelerin hiçbirinde önemli ölçüde yükselmedi[205].

Okogeri ve diğerleri, Sızma Zeytinyağının Depolama Sırasında Fenolik Bileşikler ve α -Tokoferol üzerindeki parametrelerin etkisini inceledi. 3,4-dihidroksifeniletanol (FII ve FIV

fraksiyonları) ve p-hidroksifeniletanol (FIII)' e bağlı α -tokoferol, toplam fenoller ve kompleks fenollerin konsantrasyonlarında natürel zeytinyağının çevresel koşullarda depolanması sırasında meydana gelen değişimler incelenmiştir. Dağınlık ışık altında, α -tokoferol 4 ayda %79 oranında parçalanırken, aynı dönemde fenollerin < %45' i kaybolmuştur. Fenoller arasında FII en az kararlılığı göstermiş ve 6 ayda %72 oranında azalmıştır. Toplam fenoller, FIII ve FIV, 6 ayda (%57–63) aralığında azalma kaydetti. Yağ karanlıkta saklandığında, α -tokohperol, toplam fenoller, FIII ve FIV, ilk 6 ayda (%39-45) ve 12 ayda (%50-62) oranında azalmayla benzer bozulma profilleri sergiledi. FII karanlıkta en az kararlı bileşikti ve 6 ayda %64 ve 12 ayda %79 kayıp kaydetti. Yukarıdaki antioksidanların seviyeleri ayrıca peroksit oluşumu ile ilgiliydi. PV 20 (meq/kg)' da bu bileşiklerin kalan seviyeleri, dağınlık ışık altında %50 ile %73 arasında ve karanlıkta %40 ile %62 arasında değişmiştir[206].

Chen ve diğerleri, havuç suyunun depolanması sırasında karotenoidlerin ve A vitamininin stabilitesini araştırdı. Havuç suyu asitleştirildi, pastörize edildi ve ardından 4, 25 ve 35 (°C)' de 3 ay boyunca aydınlık ve karanlık depolamaya tabi tutuldu. Karotenoidlerin izomerizasyonu ve bozunması, diyet dizisi algılamalı yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile izlendi. Sonuçlar, artan depolama sıcaklığı ile havuç suyundaki lutein, α -karoten, β -karoten ve A vitamini miktarlarının azaldığını göstermiştir. Işık karotenoidler için karanlıktan daha yıkıcı olabilmektedir [207].

3. METODOLOJİ

3.1. MALZEME

Bitkisel materyal

Moringa oleifera yaprakları Filistin' den getirildi. Yeşil yapraklar yeşil lekeler olmadan seçildi. Örnekler, üç aşamada yıkandı. Önce kirleri temizlemek için temiz içme suyu kullanılarak yıkandı. Bu yapraklar, mikropları uzaklaştırmak için 3-5 (dk) %1' lik tuzlu su çözeltisinde bekletildi. Son olarak yapraklar damıtılmış suda iki kez yıkandı. Bir elek kullanılarak elendiler ve yapraklara fazla baskı uygulamadan temiz bir pamuklu bez kullanılarak kurutuldular. Daha sonra besin değerlerinin ve vitaminlerin kaybolmaması için güneş ışınlarının doğrudan oda sıcaklığına girmediği ve kirlenmeyi önlemek için toz ve haşerelerden korunan bir odada temiz bir bez üzerine serildiler. Havalandırılmaları için günlük olarak çevrildi ve bu şekilde küf oluşumu engellendi. *Moringa oleifera* yaprakları ev tipi bir mikser ile ufalandı. Arından, partikül boyutu tayini için farklı boyutlarda elek sistemi kullanılarak elendi. Partiküllerin ortalama boyutu ön deneylere dayanarak 2000, 1500, 855, 605, 427,5 ve 302,5 (µm) olarak kabul edilmiştir.

Kimyasal malzeme

Bu tez çalışmasında, polar, toksik olmayan ve ucuz bir çözücü olarak etanol seçilmiştir. Folin-ciocalteu reaktifi, sodyum karbonat ($\geq \%99,0$), (+)-kateşin, 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sülfonik asit diamonyum tuzu (AA-ABTS), hidroklorik asit, sodyum hidroksit, 2,2 -difenil-1-pikrilhidrazil (AA-DPPH) ve 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (trolox) ve gallik asit monohidrat ($\geq \%98,0$) Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, MO, ABD) temin edilmiştir. Etanol ($\geq \%99,8$), metanol ($\geq \%99,9$), alüminyum klorür, sodyum nitrit ve potasyum persülfat ise Merck' ten (Darmstadt, Almanya) Deiyonize saf su Millipore Milli-Q arıtma sistemi ile sağlanmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Ekstraksiyon İşlemleri

Bitkisel materyelden fitokimyasallarca zengin özüt elde etmede HDE, OÇE, UDE ve MDE olmak üzere 4 farklı çevre dostu yöntem uygulanmıştır. Herbir yöntemin deneysel tasarımı istatistiksel deneysel tasarım yöntemi olan CYT ile gerçekleştirilmiştir. Proses şatalarının optimizasyonu ve modelleme çalışmaları da yine aynı istatistiksel deneysel tasarım yöntemi ile sağlanmıştır.

3.2.1.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon

Bu yöntemde ekstraksiyon, partikül boyutu 2000 µm olan sabit miktarda yaprak alınarak yapılmıştır. Diğer taraftan homojenizatör hızı (rpm), çözücü konsantrasyonu %(v/v) ve ekstraksiyon süresi (sn) olmak üzere üç faktör incelenmiştir. HDE yöntemi bir homojenizatör (IKA T25 ULTRA TURRAX) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraktları süzmek için 0.45 µm'lik şırınga filtresi kullanıldı. Elde edilen ekstrakt örnekleri 14 mL kapasiteli santrifüj plastik test tüplerinde 4 °C' de saklandı.

Çalışmalar aşağıdaki faktörler ve seviyeleri kullanılarak yapıldı:

- Ekstraksiyonun süresi (30, 60 ve 90 sn)
- Karıştırma hızı (5000, 7000 ve 9000 rpm)
- Çözücü konsantrasyonu (%30 %60, %90, v/v)
- Çözücü hacmi (35 mL)
- *Moringa oleifera* yaprakları tozunun ağırlığı (0,5 g)

3.2.1.2. Otomatik Çözücü Ekstraksiyon

Ekstraksiyon otomatik çözücü ekstraktörü (Velp Scientifica, Usmate, İtalya) kullanılarak yapılmış ve örnekler tartılarak selüloz ekstraksiyon kaplarına (Whatman, Maidstone, UK-33 mm x 80 mm) konulmuştur. Cihazdaki kontrol paneli aracılığıyla çözücünün cinsine bağlı olarak ekstraksiyon sıcaklığı ayarlandı. Yıkama süresi, daldırma süresi, uzaklaştırma süresi ve geri kazanım süresi de buna göre ayarlandı. Ekstraktları süzmek için 0.45 (μm)' lik şırınga filtresi kullanıldı. Elde edilen ekstrakt örnekleri 50 mL kapasiteli santrifüj plastik test tüplerinde 4 °C' de saklandı..

Çalışmalar aşağıdaki faktörler ve seviyeleri kullanılarak yapıldı:

- Daldırma süresi (20 dk)
- Yıkama süresi (40, 50 ve 60 dk)
- İyileşme süresi (30 dk)
- Kaldırma süresi (0 dk)
- Soğutma süresi (4 dk)
- Numunenin ağırlığı (1 g)
- Çözücü hacmi (80 ml)
- Parçacık boyutu (0,5, 1,25 ve 2 mm)
- Çözücü konsantrasyonu (%30, 60 ve 90, v/v)

3.2.1.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Biyoaktif bileşiklerin yüzdesi, ekstrakte edildikleri farklı koşullara bağlı olarak aynı bitkide değişebilir. Bu nedenle, her ekstraksiyondan önce izlenmesi gereken en önemli adımlardan biri, numunelerin analitik açıklamasını yapmadan önce her numune için ekstraksiyon yöntemini optimize etmektir [208]. Bu nedenle, ilk adım UDE kullanarak antioksidan ekstraksiyon işleminin kinetik, termodinamik ve kütle transfer mekanizmasını incelemektir [209]. UDE

işlemi problu bir sistem (VCX 750, Sonics and Materials Inc., Newtown, ABD; 750 W ve 20 kHz) kullanılarak gerçekleştirildi. Ekstraktları filtrelemek için 0.45 (µm)' luk bir şırınga filtresi kullanıldı. Elde edilen ekstrakt örnekleri 4 °C' de saklandı. 50 mL kapasiteli santrifüj plastik test tüplerinde, ekstrakt numunelerinin hacmi yaklaşık 30 mL idi.

Çalışmalar aşağıdaki faktörler ve seviyeleri kullanılarak yapıldı:

- Ekstraksiyon süresi (5 dk)
- Genlik titreşimleri (%10, %15 ve %20)
- Çözücü konsantrasyonu (%30 %60, %90, v/v)
- Çözücü hacmi (35 mL)
- *Moringa oleifera* yaprak tozunun ağırlığı (0,5 g)

3.2.1.4. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

MDE, bir mikrodalga ekstraksiyon reaktöründe (NEOS-GR, Milestone Srl, İtalya) gerçekleştirildi. Ekstraktları filtrelemek için 0.45 µm' luk bir şırınga filtresi kullanıldı. Elde edilen ekstrakt örnekleri 4 °C' de saklandı.

Çalışmalar aşağıdaki faktörler ve seviyeleri kullanılarak yapıldı:

- 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)
- *Moringa oleifera* yaprak tozu ağırlığı (1 g)
- Parçacık boyutu (0,5, 1,25 ve 2 mm).

3.2.2. Kinetik, Termodinamik ve Kütle Transferi Çalışmaları

UDE ve MDE yöntemlerinin her ikisi de kinetik, termodinamik ve kütle transferi bakımından da incelenmiştir. Her iki sistem de farklı sıcaklıklarda dengeye gelme süreleri belirlenmiş ve elde edilen veriler ile söz konusu parametreler elde edilmiştir.

Moringa oleifera bitkisinin yapraklarından UDE ve MDE yöntemleri kullanılarak fenolik antioksidanlar gibi fitokimyasal bileşiklerin ekstraksiyon kinetiğini hesaplamak için yalancı birinci derece ve ikinci derece modeller kullanıldı [210]. Ekstraksiyon hızı, ekstraksiyon sisteminin sıcaklığına bağlıdır. Ekstraksiyon hızı sabitleri aşağıdaki denklemler kullanılarak hesaplanmıştır [211]:

Yalancı birinci derece denklem:

$$\ln \left(\frac{C_{\infty}}{C_{\infty}-C_t} \right) = k_1 t + \ln \left(\frac{C_{\infty}}{C_{\infty}-C_0} \right) \quad 3.1$$

Yalancı ikinci derece denklem:

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

Aktivasyon enerjisi (E_a), ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon hızı sabiti arasındaki ilişkiyi çıkarmak için Arrhenius denklemi kullanılarak belirlendi [212].

Arrhenius denklemi:

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

Bir kimyasal sistem kendiliğinden tetiklenebilir. Kendiliğinden olmayan, endotermik veya ekzotermik olabilir. Bu nedenle, sürecin nasıl gerçekleştiğini belirlemek için entalpi, entropi ve Gibbs serbest enerji değişimleri gibi termodinamik parametreler kullanılır [213]. Ekstraksiyon işlemi birkaç aşamadan geçer. Bitkiden çözücüye (en yüksek konsantrasyondan en düşük konsantrasyona) biyoaktif bileşiklerin transfer aşaması, katı-sıvı ekstraksiyon sürecinin ilk

aşamasıdır. Dağılım aşaması, Gibbs serbest enerjisi gibi sabit bir sıcaklık ve basınçta bir termodinamik sistemde hesaba katılan enerjileri üretir. Gibbs serbest enerjisi, kimyasal reaksiyonun doğasını ifade eder. Bu nedenle ekstraksiyon işleminden kaynaklanan kimyasal değişimlerin belirlenebilmesi için temel bileşenlerin serbest enerjilerinin belirlenmesi gerekir. Bileşiklerin standart entalpisi ve standart entropisi Van't Hoff denklemi uygulanarak hesaplanır [213]. Standart entropi ve standart entalpi hesaplanarak, sürecin standart Gibbs serbest enerjisi aşağıdaki denklem kullanılarak belirlenir [213, 214].

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

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 difüzyon katsayısı Fick kanunu kullanılarak hesaplanmıştır:

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

Ayrıca kütle transfer katsayısı, aşağıdaki denklemde gösterildiği gibi $\ln(C_{\infty}/C_{\infty}-C_t)$ ile zaman arasındaki ilişki kullanılarak hesaplanmıştır:

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

Difüzyon katsayısının ve kütle transfer katsayısının hesaplanması sürecinde dikkate alınabilecek birkaç hipotez vardır: Partiküllerin boyutu 855 μm küre şeklindedir. Ekstraksiyon işlemini etkileyen dış faktörler çok küçüktür, bu yüzden ihmal edilebilirler. Ayrıca kütle transferinin dış ve iç dirençlerinin bağlı miktarlarını belirlemek için Biot sayısı aşağıdaki denklemde gösterildiği gibi hesaplanır [212]:

$$Bi = \frac{rpK_T}{D_e}$$

3.9

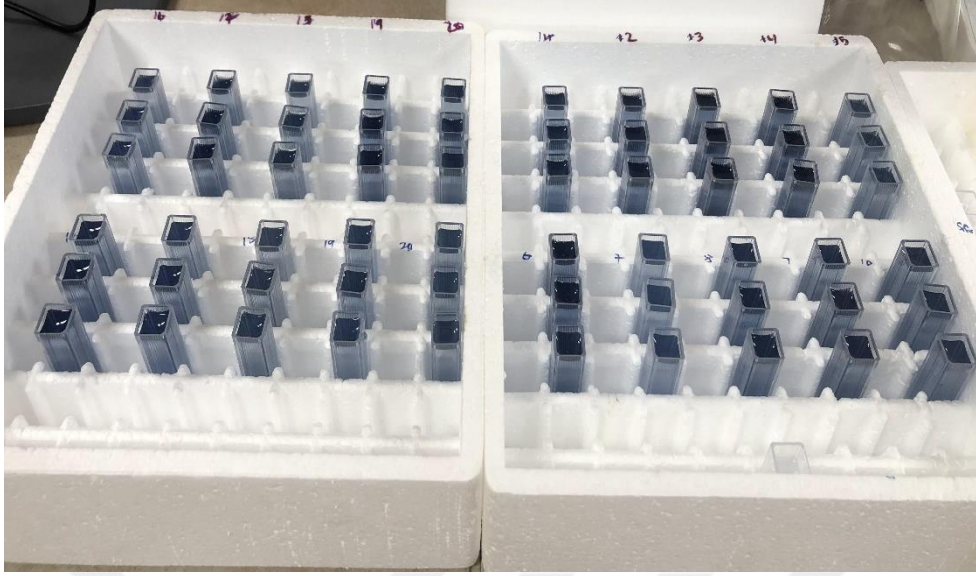
Biot sayısı (Bi), iç ve dış akışlar arasındaki izaflıyetin bir ölçüsüdür, iç ve dış dirençler arasındaki bir ölçüdür. Ek olarak, malzeme yüzeyi ile çevre arasındaki sıcaklığa göre sıcaklık farkının bir ölçüsüdür [215]. Biot sayısı üç gruba ayrılabilir:

- $Bi < 0.1$ ise, dış direnç, tesis içindeki kütle difüzyonuna veya katı maddeye karşı iç dirençten çok daha büyüktür.
- $0.1 < Bi < 100$ ise, iç ve dış direnç değerleri benzerdir.
- $Bi > 100$ ise, dış direnç iç dirençten çok daha düşüktür [215].

3.2.3. Spektrofotometrik Analizler

3.2.3.1. Folin Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi

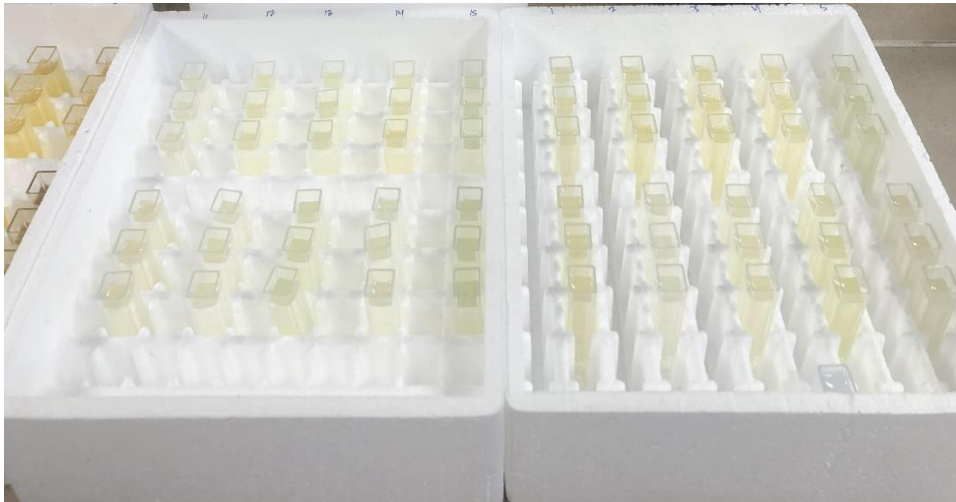
TPM, 765 nm' de UV spektrofotometresi (PG Instruments, T60/Leicestershire, İngiltere) ile belirlendi. Metodun detayları daha önceki çalışmalarda belirlenmiştir [150]. İnkübasyon süresi 30 dk olarak belirlenmiştir. Kaydedilen bu sonuçlar, her litre *Moringa oleifera* özütü (mg-GAE/L) başına galik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Toplam fenol içerikleri kalibrasyon eğrilerinden elde edildi ve (mg-GAE/g) kurutulmuş *Moringa oleifera* olarak ifade edildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Folin ciocalteu yöntemi.

3.2.3.2. *Alüminyum Klorür Yöntemi ile Toplam Flavonoid İçeriğinin Belirlenmesi*

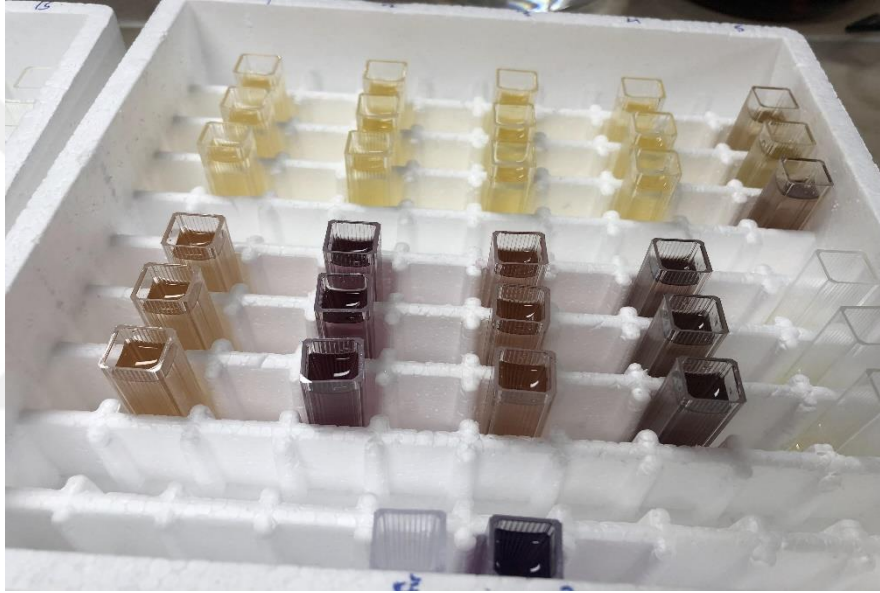
TFM, 510 nm' de UV spektrofotometresi (PG Instruments, T60/Leicestershire, İngiltere) ile belirlendi. Metodun detayları daha önceki çalışmalarda belirlenmiştir [150]. Kaydedilen bu sonuçlar, (+) *Moringa oleifera* özütü başına (mg-CE/ L) kateşin eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Toplam flavonoid içerikleri kalibrasyon eğrilerinden elde edilmiş ve (mg-CE/ g) kurutulmuş *Moringa oleifera* olarak ifade edilmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2: Alüminyum klorür yöntemi.

3.2.3.3. AA-DPPH Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Ölçümü

AA-DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite (AA) ölçümü spektrofotometrik olarak 517 nm' de belirlendi. İlk aşamada AA-DPPH çözeltisi hazırlandı. DPPH metanol solüsyonu ile karıştırıldı, ardından metanol çözeltisi eklenerek seyreltildi. Numunelere metanol (%80, v/v) ilave edildi. Karışıma seyreltilmiş AA-DPPH eklendi. Karışım oda sıcaklığında 30 dk karanlıkta bırakıldı. Kaydedilen bu sonuçlar, her litre *Moringa oleifera* özütü (mg-TEACL) başına saf troloks (6-hidroksi-2,5,7,8-terametil kroman-2-karboksilik asit) eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Toplam AA-DPPH içerikleri kalibrasyon eğrilerinden elde edildi ve (mg-TEAC/g) ile kurutulmuş *Moringa oleifera* olarak ifade edildi (Şekil 3.3).



Şekil 3.3: AA-DPPH yöntemi.

3.2.3.4. AA-ABTS Yöntemi ile Antioksidan Aktivite Ölçümü

AA-ABTS yöntemi ile AA ölçümü spektrofotometrik olarak 734 (nm)' de belirlendi. Çalışmanın detayları belirtilen kaynakta verilmiştir [217]. Sonuçlar, *Moringa oleifera* özütü (mg TEACL) başına saf trolox (6-hidroksi-2,5,7,8-terametil kroman-2-karboksilik asit) eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Toplam AA-ABTS içerikleri kalibrasyon eğrilerinden elde edildi ve (mg-TEAC/g) kurutulmuş *Moringa oleifera* olarak ifade edildi (Şekil 3.4).



Şekil 3.4: AA-ABTS yöntemi.

3.2.4. İstatistiksel DeneySEL Tasarım

Cevap yüzeyi yöntemi (CYY) süreçleri iyileştirmek, geliştirmek ve optimize etmek için önemli olan istatistiksel ve matematiksel teknikler arasındaki bir kombinasyondur. Cevap, kalite nitelikleri için performans göstergelerinin terimidir. Bu araştırmada, CYY, farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanarak biyoaktif bileşiklerin miktarını optimize etmek için kullanılmıştır. Öte yandan, bu yüzeyler bağımsız değişkenlerin cevaplarını nasıl etkilediğini açıklamak, bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiler hakkında bilgi sağlamak ve tüm bağımsız değişkenlerin cevap üzerindeki birleşik etkisini açıklamak için kullanıldı. Bağımlı değişkenler prosesi etkileyen parametreler iken bağımlı değişkenler ekstraksiyon süresi, çözücü konsantrasyonu, ekstraksiyon gücü gibi fenolik, flavonoid ve antioksidanların miktarı gibi cevaplardır. Bu parametrelere bağımsız değişkenler denir. Ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesi için gerekli parametrelerin yanı sıra her bir ekstraksiyon yöntemi için bağımsız değişkenleri belirlemek için ön testler kullanıldı. Tablo 3.1, HDE, OÇE, MDE ve UDE prosedürleri kullanılarak *Moringa oleifera* yapraklarının ekstraksiyonunda kullanılan bağımsız parametreleri, birimleri, değişken sembolleri ve seviye değerlerini gösterir.

Tablo 3.1: HDE,OÇE, UDE ve MDE' nin optimizasyonu için CYY' de kullanılan bağımsız değişkenler, seviyeleri ve sembolleri.

Yöntem	Faktör	Birim	Sembol	Seviye kodu		
				-1	0	1
HDE	Çözücü Konsantrasyonu	%v/v	X ₁	30	60	90
	Karıştırma Hızı	rpm	X ₂	5000	7000	9000
	Ekstraksiyon Süresi	sn	X ₃	30	60	90
OÇE	Yıkama Zamanı	dk	X ₃	40	50	60
	Parçacık Boyutu	mm	X ₄	0,5	1,25	2
	Çözücü Konsantrasyonu	%v/v	X ₅	30	60	90
MDE	Ekstraksiyon Süresi	sn	X ₆	100	250	400
	Ekstraksiyon Gücü	W	X ₇	200	350	500
	Çözücü Konsantrasyonu	%v/v	X ₈	30	60	90
	Parçacık Boyutu	mm	X ₉	0,5	1,25	2
UDE	Çözücü Konsantrasyonu	%v/v	X ₁₀	30	60	90
	Parçacık Boyutu	mm	X ₁₁	0,5	1,25	2
	Ultrasonik Titreşimlerin Genliği	%	X ₁₂	10	15	20

Bu tablo TFM, TPM, AA-DPPH ve AA-ABTS' yi etkileyen bağımsız değişkenleri gösterir. X1' den X12' ye kadar faktörlerin herhangi bir kombinasyonu TFM, TPM, AA-DPPH ve AA-ABTS miktarını değiştirebilir. Bu nedenle, bu faktörler zamanla değişebilir. Cevap yüzey yöntemi, parametreler sürekli bir değer aralığından olduğunda cevap değişkenini oluşturmak,

iyileştirmek ve optimize etmek için etkilidir. Bu durumda, TPM (Y_1, Y_5, Y_9 ve Y_{13}), TFM (Y_2, Y_6, Y_{10} ve Y_{14}), AA-DPPH (Y_3, Y_7, Y_{11} ve Y_{15}) ve AA-ABTS (Y_4, Y_8, Y_{12} ve Y_{15}) cevap değişkenidir ve ekstraksiyondan bağımsız parametrelerin bir fonksiyonudur. Bağımlı değişken olarak ifade edilebilir, $Y, X_1, X_2 \dots$ ve X_{12}' nin bir fonksiyonudur.

$$Y = f(X_n, X_{n+1}) + \varepsilon \quad 3.10$$

Burada Y cevaptır (bağımlı değişken), X_1' den X_{12}' ye bağımsız değişkenlerdir ve ε istatistiksel hatadır.

Cevap yüzeyi yöntemi, yüzey konumlandırmasına dayanmaktadır. Cevap değişkeni y ile bağımsız faktörler arasındaki ilişki bilinmediğinde cevap yüzeyini açıklamak için düşük dereceli bir polinom modeli kullanılır. Cevap yüzeyinin bir kısmında, polinom modelleri genellikle uygun bir yaklaşımdır. Sonuç olarak, bilinmeyen fonksiyonun tahminine bağlı olarak birinci derece veya ikinci derece modeller kullanılmaktadır [218].

Birinci Derece Cevap Yüzeyi

Birinci dereceden model, eğimli yüzeyleri içeren veya içermeyen düz yüzeyleri açıklamak için kullanılır. Ayrıca, birinci dereceden bir model, yukarı ve aşağı cevap eğilimi önerir. cevapda, maksimumu hesaplamak için yükselme tekniği kullanılır ve minimumu elde etmek için alçalma tekniği kullanılır. Cevapda bağımsız değişkenin doğrusal bir fonksiyonu olduğu durumlarda, tahmin fonksiyonu birinci dereceden bir modeldir. Ancak bu model maksimum, minimum ve tepe çizgilerini analiz etmek için yetersizdir. Cevap, bağımsız değişkenin lineer bir fonksiyonu olduğunda, tahmin fonksiyonu birinci derecedendir. Öte yandan, tasarım merkez noktalı $2q$ faktöriyel içerdiğinde birinci dereceden model uygulanır. Y cevabı, bağımsız değişkenler üzerinde N deneysel işlemle birinci dereceden bir model uygulanarak aşağıdaki gibi ifade edilir:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_{i1} + \beta_2 X_{i2} + \dots + \beta_k X_{ik} + \varepsilon_i \quad (i = 1, 2, 3 \dots N) \quad 3.11$$

Bu işlev, k bağımsız değişkene sahip bir çoklu doğrusal regresyon değişkenidir. X_i' nin bağımsız bir değişken olduğu durumlarda (regresyon değişkenleri), $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_k$ bilinmeyen parametrelerdir. β_0 parametresi, lineer fonksiyonun bir kesişimidir. β_1, X_2 içerik olduğunda X_1' deki birim değişiklik başına y' deki öngörülebilir değişikliği ölçmek için kullanılan her yerde bir regresyon katsayısıdır. β_k , kalan bağımsız değişkenler (X_{i+1}) sabit olduğunda X_i' deki

birim değişiklik başına Y cevapındaki öngörülebilir değişikliği açıklayan bir regresyon katsayısıdır. ε deneysel bir hatadır [219, 220].

İkinci Derece Cevap Yüzeyi

İkinci derece model, eğrilik ile gerçek cevap yüzeyinin bir kısmına yaklaşımda yararlı olduğu cevap yüzeylerinde bir eğrilik olduğunda iyi kabul edilir..

İkinci derece model aşağıdaki gibi ifade edilir:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + \sum \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon_i \quad 3.12$$

İkinci derece cevap yüzey modeli, birinci derece cevap yüzey modeli artı (β_{ii}, X_i^2) gibi ikinci derece cevap toplamı artı ($\beta_{ij}, X_i X_j$) gibi çapraz çarpım terimlerinin toplamıdır. Y, tahmin edilen cevap, β_0 bir sabit, β_i doğrusal katsayı, β_{ii} kare katsayı ve β_{ij} çapraz çarpım katsayısıdır (X_i ve X_j arasındaki birinci derece etkileşim). İkinci derece modele göre minimum, maksimum, sırt gibi ikinci derece yüzeyler gösterilir. Grafik görselleştirme, cevap yüzeyini anlamının en önemli yollarından biridir. İkinci derece modelin, bitkilerden ekstrakte edilen biyoaktif içeriğın miktarını optimize etmek için kullanılabilecek en iyi model olduğunu düşünür. Sonuç olarak, Merkezi Kompozit Tasarım, ikinci derece modeli tasarım cevap yüzeylerine uydurmak için en yaygın tasarımıdır. Öte yandan, Box-Behnken tasarımı, cevap yüzeylerinin tasarımı için de kullanılabılır[221-223].

Merkezi bir kompozit tasarım, üç faktör seviyesinden oluşan bir cevap yüzeyi yöntemidir: üst seviye, alt seviye ve merkez nokta. Ek olarak eksen noktası veya yıldız noktası vardır. Eksenel nokta veya yıldız genellikle (α) sembolü ile gösterilir. Bu nokta seviye sayısını 5' e ekstrakte edilerek deneysel tasarım esnekliği sağlar. Ek olarak, deney tasarımcısının cevap üzerindeki faktörlerin etkisini görmesini sağlar. Ancak, merkezi kompozit tasarımında minimum faktörler iki tanedir [224].

Merkezi kompozit tasarım, aşağıdaki gibi üç nokta kümesinden oluşur [225]:

1. İlk olarak, iki seviyeli faktöriyel tasarım noktaları (2^k) üst seviye olarak +1 ve alt seviye olarak -1 faktörlerinin olası kombinasyonlarından oluşur.
2. İkincisi, büyük mesafelerden eksenel olarak sabitlenen eksenel veya yıldız noktaları ($2k$). Ek olarak, merkezden ikinci derece terimler oluşturulur.

3. Üçüncüsü, merkez noktaları, bu noktalar deneysel hatanın iyi bir tahminini oluşturur.

Bu noktalara bağlı olarak, deney sayısı ve eksenel noktanın değeri aşağıdaki denklemlere dayanarak hesaplanır:

$$N = k^2 + 2k + n \quad 3.13$$

$$\alpha = (2^k)^{0.25} \quad 3.14$$

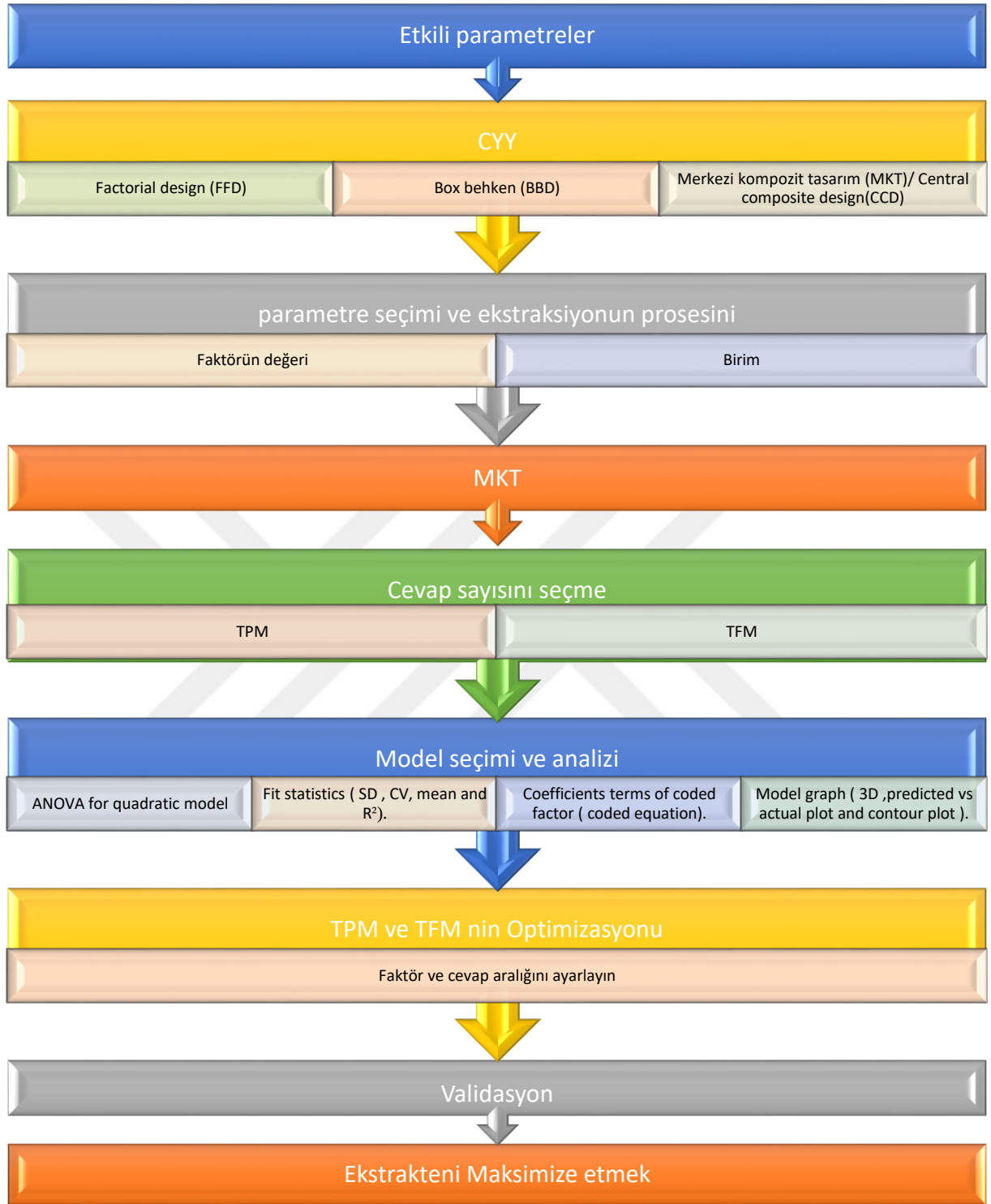
Eksenel nokta = hem üst hem de alt seviyenin ortalaması $\pm \alpha$ (üst ve alt seviye arasındaki aralık 2' ye bölünür)

$$\text{Axial point} = \bar{X} \pm \alpha (\text{Range}/2) \quad 3.15$$

Burada N toplam deney sayısı, k incelenen faktör sayısı, n tekrar sayısı, α eksen noktası değeridir. Bu değer, deney alanındaki eksen noktasının konumunu belirlemek için önemlidir ve $\bar{X}$, hem üst hem de alt seviyenin ortalamasıdır.

İkinci derece cevap yüzeyi modeline bağlı olarak, cevaplar ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişki elde edilir[226].

Bu araştırmada, CYY, aşağıdaki şemada belirtilen adımları izleyerek ve Design-Expert (12. versiyon) kullanılarak toplam fenolik ve flavonoid miktarını optimize etmek için kullanılmıştır:



Çalışmalarda CYY'nin alt tasarımı olan Merkezi Kompozit Tasarım (MKT) uygulanmıştır.

3.2.5. Stabilite Çalışması

Ürünlerin elde edilmesi kadar saklanma şartları da son derece önemlidir. Dolayısıyla, farklı yöntemler kullanılarak elde edilmiş ürünlerin yine aynı ekstraktan ortamında farklı koşullarda muhafaza edilerek stabiliteleri de incelenmiştir. Bu çalışma kapsamında, sadece sıcaklık değil ışık ve ortamın asitliği gibi durumlarda ele alınarak, ürünler farklı streslerde depolanıp içeriğindeki fitokimyasal profilinin stabilitesi takip edilmiştir. Numuneler farklı sıcaklıklarda (25, 4 ve -20 °C) ve aydınlık ve karanlık koşullarda saklandı. Ek olarak, asidik ve alkali depolama koşullarının numunelerin fenolik profilinin stabilitesi üzerindeki etkisinin incelenmesi, sodyum hidroksit çözeltisi ve hidrojen klorür çözeltisi damlaları eklenerek gerçekleştirilmiştir. Tablo 3.2 numunelerin saklama koşullarını ve detaylarını göstermektedir.

Tablo 3.2: Depolama koşulları ve numune detayları.

Depolama koşulları		Numune miktarı (mL)
PH 1 atm, 25°C	3	50+50=100
	7	50+50=100
	10	50+50=100
Sıcaklık 1 atm	-20	50
	4	50
	25	50
Aydınlatma 1 atm, 25°C	Lamba aydınlatması altında	50
	Normal ışık odası	50
	Karanlık	50
		600

Örneklerin içeriği belirli periyotlarda ölçüldü. Bunun için TPM, TFM ve antioksidan kapasitesi (AA-ABTS ve AA-DPPH) değerleri gözlendi. Testler iki günde bir, sonra her hafta üst üste yapıldı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. KALİBRASYON ÇALIŞMALARI

Fenolik içeriği, flavonoid içeriği ve antioksidan kapasiteyi belirlemek için testler yapıldı ve numuneler bir UV spektrofotometresi kullanılarak analiz edildi. Bu cihazın prensibi, emilen ışığın miktarına dayanmaktadır. Numune ışığı emer ve fotodedektör numune tarafından emilen ışık miktarını alet ekranında görünen bir sayıya dönüştürür. Tablo 4.1, farklı etanol konsantrasyonlarına sahip saf gallik asit, kateşin ve troloks çözeltilerinin spektrofotometrik ölçümleri için absorbans değerlerini göstermektedir. Şekil 4.1, kalibre edilmiş numunelerin konsantrasyonu ile emilen ışık miktarı arasındaki ilişkiyi gösterir.

Tablo 4.2, farklı etanol konsantrasyonlarına sahip saf gallik asit, kateşin ve troloks çözeltilerinde toplam fenollerin, toplam flavonoidlerin ve antioksidan kapasitenin spektrofotometrik ölçümleri için kalibrasyon denklemi değerlerini açıklar. Ayrıca numuneler için absorbe edilen ışık miktarı ile elde edilen kalibrasyon denklemleri kullanılarak fenol, flavonoid ve antioksidan konsantrasyonu hesaplanabilmektedir.

Tablo 4.1: Gallik asit, kateşin ve troloksun farklı konsantrasyonlarda etanol içeren saf çözeltilerinin spektrofotometrik ölçümleri için absorbands değerleri*.

Madde	Spektrofotometrik analiz yöntemi	Madde konsantrasyonu (ppm)	EtOH konsantrasyonu (%v/v)	ABS(1)	ABS(2)	ABS Ortalama
Gallik asit	TPM – Folin	100	30	0,098	0,084	0,0910±0,009
		50		0,047	0,048	0,0475±0,001
		25		0,031	0,032	0,0315±0,001
		12,5		0,024	0,023	0,0235±0,001
		6,25		0,020	0,021	0,0205±0,001
		100	60	0,083	0,100	0,0915±0,012
		50		0,043	0,045	0,0440±0,001
		25		0,037	0,040	0,0385±0,002
		12,5		0,029	0,030	0,0295±0,001
		6,25		0,024	0,024	0,0240±0,000
		100	90	0,087	0,095	0,0910±0,005
		50		0,046	0,040	0,0430±0,004
		25		0,038	0,041	0,0395±0,002
		12,5		0,031	0,033	0,0320±0,001
		6,25		0,027	0,026	0,0265±0,001
Kateşin	TFM- AlCl ₃	1000	30	0,016	0,015	0,0155±0,001
		500		0,008	0,007	0,0075±0,001
		250		0,005	0,005	0,005±0,0000
		125		0,003	0,003	0,003±0,0000
		62,5		0,002	0,002	0,002±0,0000
		1000	60	0,017	0,019	0,018±0,0020
		500		0,007	0,008	0,0075±0,001
		250		0,004	0,005	0,0045±0,001
		125		0,003	0,003	0,003±0,0000
		62,5		0,003	0,002	0,0025±0,001
		1000	90	0,013	0,017	0,015±0,002
		500		0,007	0,007	0,007±0,000
		250		0,004	0,009	0,0065±0,003
		125		0,003	0,003	0,003±0,0000
		62,5		0,002	0,002	0,002±0,0000
Troloks	AA- DPPH	50	30	0,344	0,346	0,345±0,001
		25		0,439	0,435	0,437±0,002
		12,5		0,480	0,480	0,480±0,0000
		6,25		0,503	0,496	0,4995±0,004
		50	60	0,409	0,393	0,401±0,011
		25		0,469	0,465	0,467±0,002

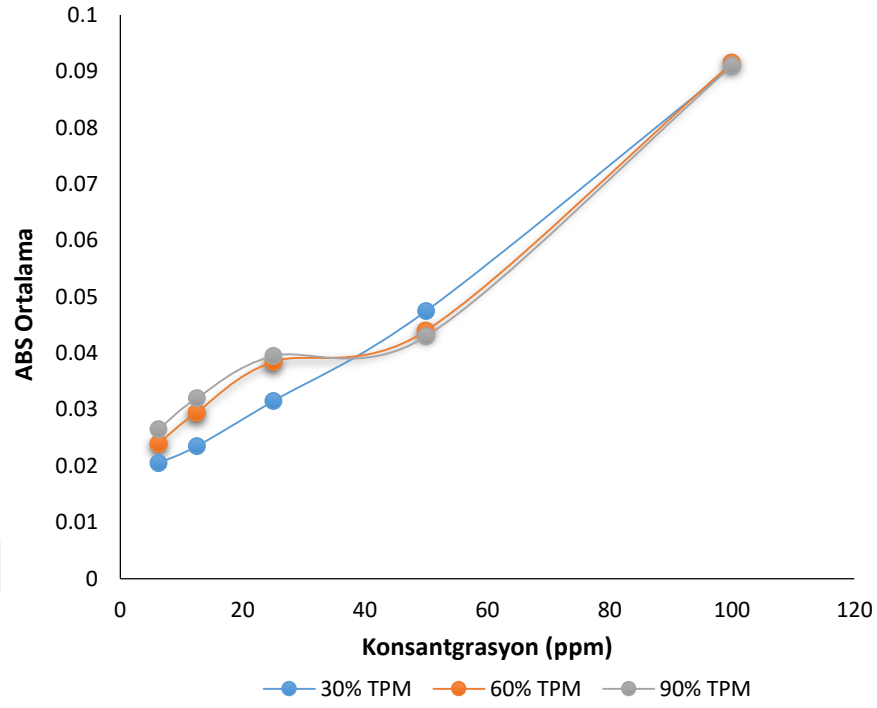
		12,5		0,493	0,491	0,492±0,001
		6,25		0,513	0,696	0,6045±0,13
		50		0,591	0,585	0,588±0,004
		25	90	0,666	0,662	0,664±0,002
		12,5		0,693	0,687	0,69±0,004
		6,25		0,704	0,703	0,7035±0,000
Troloks	AA- ABTS	50		0,601	0,622	0,6115±0,014
		25	30	0,656	0,656	0,656±0,0000
		12,5		0,676	0,673	0,6745±0,002
		6,25		0,684	0,682	0,683±0,001
		50		0,634	0,622	0,628±0,008
		25	60	0,655	0,658	0,6565±0,002
		12,5		0,677	0,672	0,6745±0,003
		6,25		0,684	0,682	0,683±0,001
		50		0,639	0,634	0,6365±0,003
		25	90	0,667	0,662	0,6645±0,003
		12,5		0,679	0,677	0,678±0,001
		6,25		0,638	0,636	0,637±0,001

* Veriler ortalama (2 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.2: Çeşitli konsantrasyonlarda etanolde gallik asit, kateşin ve trolox çözeltilerinin çeşitli analiz yöntemleri için geliştirilmiş kalibrasyon denklemi parametreleri.

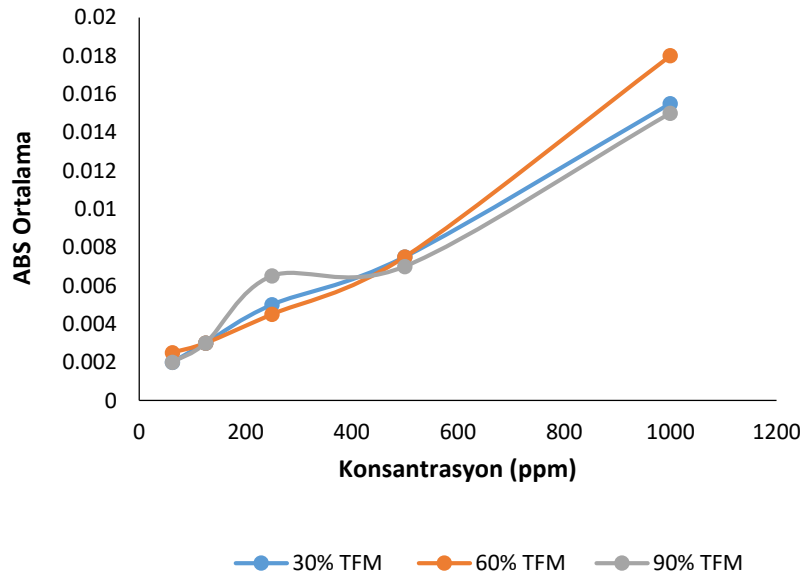
Madde	Spektrofotometrik analiz yöntemi	Denklem $Y=aX\pm b$	Etanol konsantrasyonu (%, v/v)		
			30	60	90
Gallik asit	TPM- Folin	A	0,0008	0,0007	0,0007
		B	0,0135	0,0187	0,021
		R ²	0,9927	0,9614	0,9439
Kateşin	TFM-AlCl ₃	A	0,00001	0,00002	0,00001
		B	0,0011	0,0007	0,0016
		R ²	0,9943	0,9787	0,9592
Troloks	AA- DPPH	A	-0,0036	-0,0039	-0,0027
		B	0,5236	0,5827	0,7236
		R ²	0,9993	0,9959	0,9917
	AA- ABTS	A	-0,0016	-0,0013	-0,0004
		B	0,6948	0,6899	0,6627
		R ²	0,9971	0,9967	0,9218

TPM

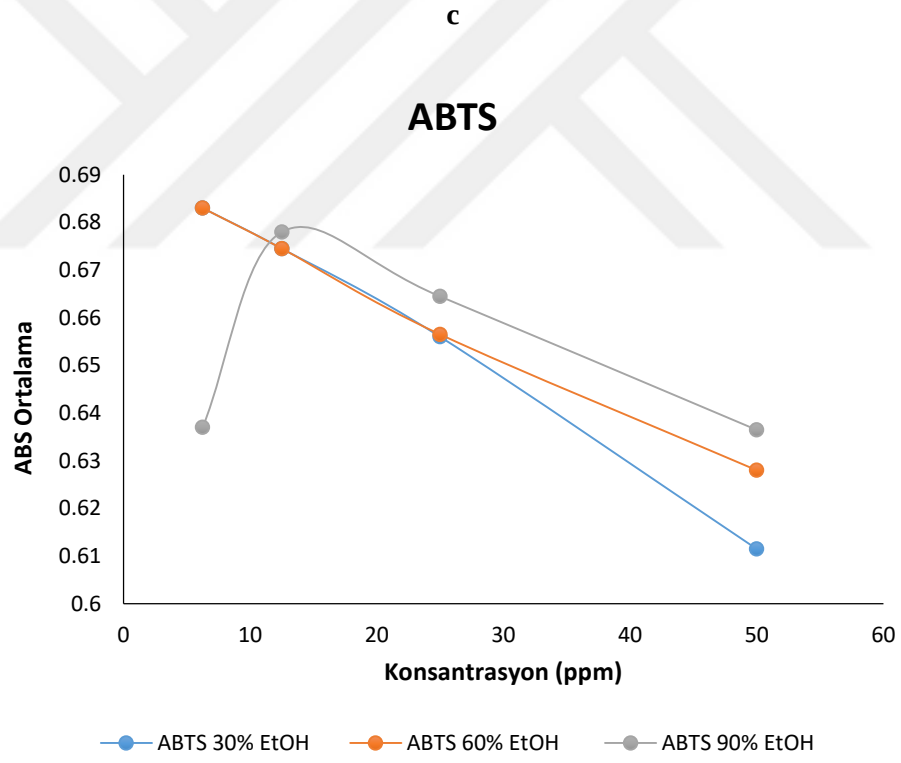
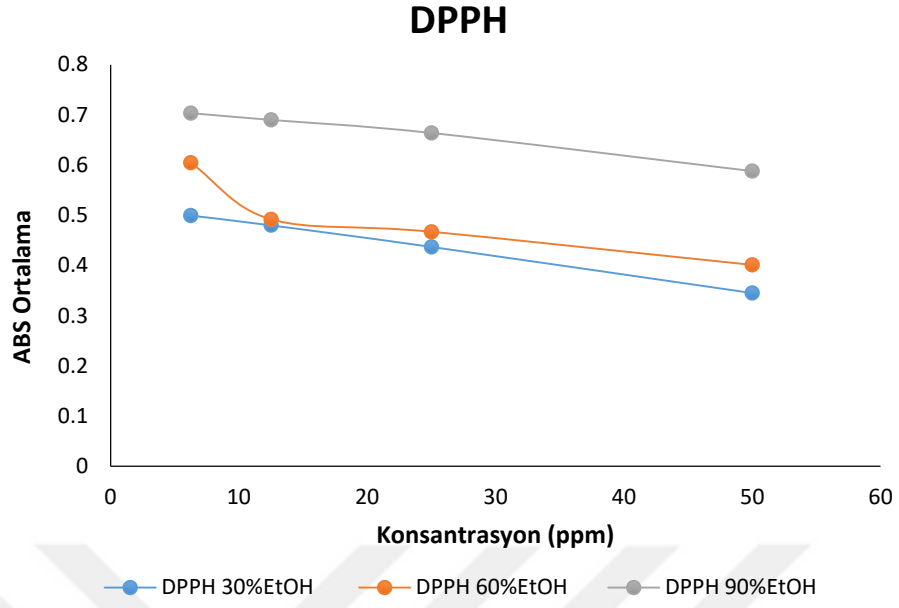


a

TFM



b



Şekil 4.1: Kalibre edilmiş numunelerin konsantrasyonu ile soğurulan ışık miktarı arasındaki ilişki (a) TPM ; (b) TFM; (c) AA-DPPH; (d) AA-ABTS.

Tablo 4.1 ve 4.2 ve Şekil 4.1' de gösterildiği gibi, fenolik bileşikler, elektron değişimi dayalı dört yöntemden Folin Ciocalteu reaktifi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü ve sonuçlar gallik asit eşdeğerleri olarak sunuldu. Flavonoid bileşiklerinin miktarı da $AlCl_3$ kolorimetrik spektrofotometre yöntemi kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar kateşin eşdeğerleri olarak ifade edildi. Ayrıca, AA-DPPH için reaktif olarak 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil ve AA-ABTS için reaktif olarak 2,2-azino-bis 3-etil benz-tiazolin-6- sülfonik asit kullanarak AA-ABTS ve AA-DPPH olmak üzere iki farklı yöntem kullanılarak antioksidan bileşik seviyeleri belirlendi.



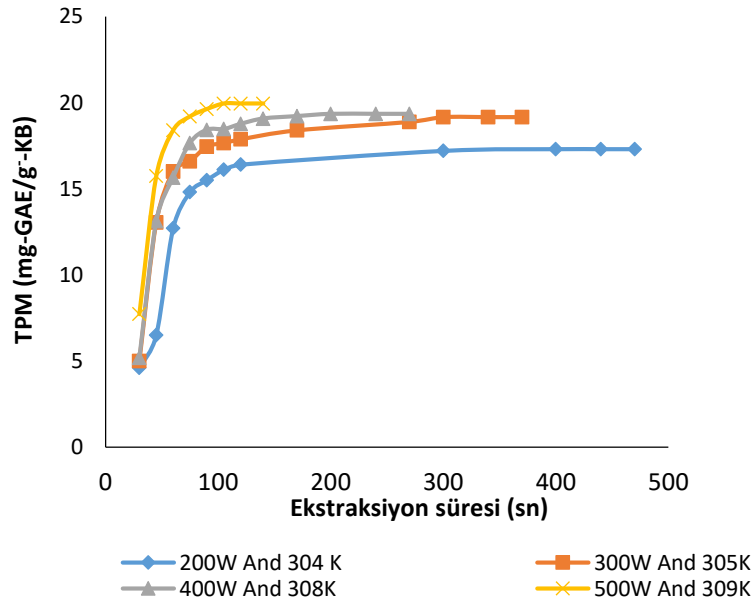
4.2. ÖN DENEMELER

4.2.1. HDE ve OÇE Yöntemlerinde Parametre ve Seviyelerin Belirlenmesi

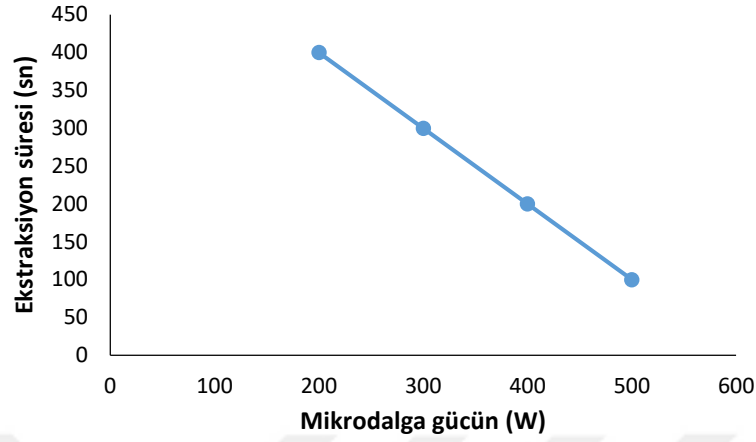
Her bir ekstraksiyon işlemi için fenol miktarı belirlenmiş ve ön deneylere dayalı olarak bağımsız katsayılar incelenmiştir. HDE ve OÇE için ana parametreler, gözden geçirilen önceki bilimsel çalışmalara göre belirlendi. HDE yönteminde Şahin ve diğerlerinin belirlediği seviyeler takip edilmiş [227], OÇE yönteminde ise Kurtulbaş ve diğerlerinin uygulamış olduğu seviye değerleri kullanılmıştır [228]. Sonuç olarak, HDE yöntemi için ekstraksiyon süresi için 30 ila 90 sn, karıştırma hızı için 5000 ila 9000 rpm ve etanol konsantrasyonu için 30 ila 90 % (v/v) seçilmiştir. Ayrıca, OÇE açısından daldırma süresi için 20 dk, geri kazanım süresi için 30 dk, yıkama süresi için 40 ila 60 dk, soğutma süresi için 4 dk, partikül boyutu için 0,5 ila 2 mm ve etanol konsantrasyonu için yine 30 ila 90 % kullanılmıştır.

4.2.2. MDE ve UDE Yöntemlerinde Parametre ve Seviyelerin Belirlenmesi

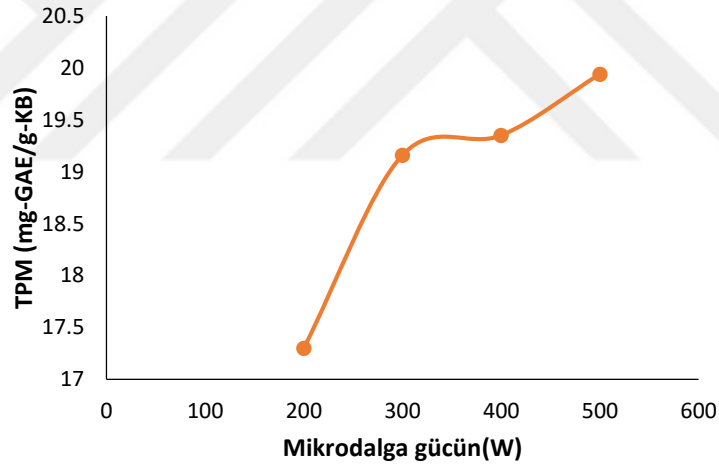
Şekil 4.2-4.4, MDE prosesinde ekstraksiyon süresinin, solvent konsantrasyonunun ve ekstraksiyon gücünün toplam fenol içeriği üzerindeki etkisini göstermektedir.



Şekil 4.2: Ekstraksiyon sıcaklığının ve mikrodalga gücünün *Moringa oleifera* yaprağı ekstraktındaki toplam fenolik içerik üzerine etkisi.



Şekil 4.3: MDE yönteminde mikrodalga gücüne göre işlem süresinin değişimi.

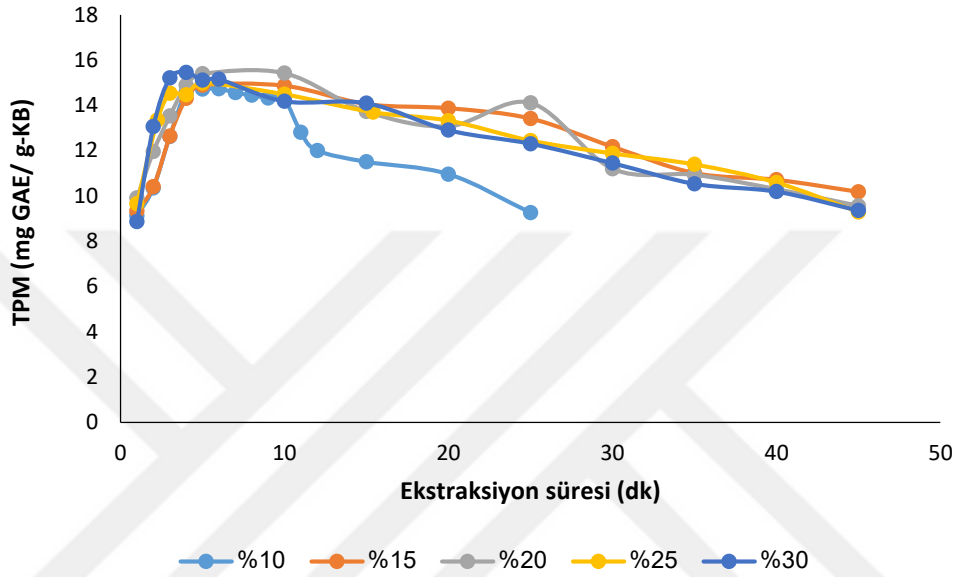


Şekil 4.4: Mikrodalga gücünün her bir güç için denge zamanında toplam fenolik içerik üzerindeki etkisi.

MDE yönteminin en verimli bağımsız değişkenleri analiz edilmiş, 80 mL %60 sulu etanol ve MDE ile 1 g numune ile *Moringa oleifera* yaprak ekstraksiyonu elde edilmiştir. Bu yöntem ile cihaz farklı güç değerlerine (200, 300, 400 ve 500 W) ayarlanır. Ekstraksiyon süresi kalıcı olarak 30 sn'den 500 sn'e değiştirildi. Şekil 4.2-4.4'te gösterildiği gibi, TPM dengeye ulaşılan kadar güç ve buna karşılık gelen sıcaklık ile artmıştır. En verimli koşullar, ekstraksiyon süresi

100 ila 400 sn, ekstraksiyon mikrodalga gücü için 200 -500 W , etanol hacmi 80 mL, etanol konsantrasyonu %30 -90 ve *Moringa oleifera* yapraklarının miktarı 1 g olarak gözlenmiştir.

Şekil 4.5, UDE yönteminde ekstraksiyon süresinin ve ekstraksiyon amplitüd gücünün toplam fenolik içerik üzerindeki etkisini göstermektedir.



Şekil 4.5: *Moringa oleifera* yaprağı ekstraktında ekstraksiyon sıcaklığının ve ultrason genliğinin toplam fenolik içerik üzerindeki etkisi.

UDE yönteminin en verimli bağımsız değişkenleri analiz edildi. Partikül boyutu 855 µm olan 0,5 g *Moringa oleifera* tozu, 35 mL etanol solüsyonu (%60, v/v) ile karıştırıldı. UDE cihazı, ses dalgalarının kuvvetinin ve ekstraksiyon süresinin ayarlanabildiği ve sonuç olarak ekstraksiyon işleminden kaynaklanan enerji ve sıcaklığın görüntülenebildiği bir kontrol ekranına sahiptir. Bu yöntemde cihaz farklı ultrason amplitüd değerlerine (%10, %15, %20, %25 ve %30) ayarlanmıştır. Her bir genlik değeri için ekstraksiyon süresi değiştirildi (sırasıyla 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 ve 45 dk). Toplam fenolik bileşen, daha önce belirtildiği gibi Folin-Ciocalteu yöntemi ve kalibrasyon eğrisi ($y = 0,0007X + 0,0187$ ile $R^2 = 0,9614$) kullanılarak spektrofotometrik olarak test edildi.

Şekil 4.5' te gösterildiği gibi, ekstraksiyon süresinin her ultrasonik genlik okumasında fenol içeriğinin verimliliği beşinci dakikaya kadar kademeli olarak arttı ve ardından ekstraksiyon

verimliliği kademeli olarak azalmaya başladı. Ek olarak, ultrasonik genliğin %25 ve %30' unda uzaklaştırılan fenol içeriğinin verimi, ultrasonik genliğin %10,15' inde ve %20' nin altında ekstrakte edilen fenol içeriğinin ekstraksiyon veriminden daha fazla düşmüştür. Birleşik UDE için yapılan ön deneylerin sonuçlarına dayanarak, ekstraksiyonu gerçekleştirmek için istatistiksel olarak en anlamlı katsayılar belirlendi. Ekstraksiyon süresi 5 dk, ultrasonik genlik 10 -20 (%), etanol hacmi 35 mL, etanol konsantrasyonu 30-90 (%v/v) ve *Moringa oleifera* yapraklarının miktarı 0,5 g olarak belirlenmiştir.

4.3. KİNETİK, TERMODİNAMİK VE KÜTLE TRANSFER ANALİZİ

Aynı bitkide elde edildiği farklı koşullara bağlı olarak fenolik madde yüzdesinin değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle, herhangi bir ekstraksiyon prosedüründen önceki en önemli adımlardan biri, numunelerin analitik bir tanımı yapılmadan önce her numune için ekstraksiyon yönteminiN geliştirilmesidir [208]. Tez kapsamında, MDE ve UDE yöntemlerinin kinetik, termodinamik ve kütle transfer mekanizmaları incelenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı, ultrasonik genlik, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon gücünün ekstrakte edilen fenol yüzdesi üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Farklı bitkilerden biyoaktif maddeleri ekstrakte edebilmenin endüstriyel uygulanabilirliği için, sürecin temellerini anlamak önemlidir.

Tablo 4.3, 1 g numune ile 80 mL %60 sulu etanol ile MDE ile elde edilen *Moringa oleifera* yaprağı ekstraksiyonunun deneysel verilerini vermektedir.

Tablo 4.3: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu çeşitli koşullar altında*.

Güç (W)	Zaman (sn)	Hacim (mL)	Sıcaklık (°C)	TPM (mg-GAE/L)	TPM (mg-GAE/g-KB)	Tortalama (°C)
200	30	80	28	58,20±0,006	4,60±0,006	31
	45	78,5	29	138,20±0,003	10,80±0,003	
	60	77	29	170,30±0,001	13,10±0,001	
	75	75,5	30	201,50±0,008	15,23±0,008	
	90	74	31	215,50±0,006	15,90±0,006	
	105	72,5	30	222,50±0,006	16,10±0,006	
	120	71	31	231,00±0,002	16,40±0,002	
	300	62	32	278,00±0,006	17,20±0,006	
	400	57,5	33	301,90±0,001	17,30±0,001	
	440	56	34	309,10±0,007	17,30±0,007	
	470	54,5	34	318,20±0,003	17,30±0,003	
300	30	80	25	62,60±0,006	5,01±0,006	32
	45	78,5	27	158,60±0,007	12,44±0,007	
	60	77	28	191,23±0,003	14,72±0,003	
	75	75,5	30	216,78±0,007	16,36±0,007	
	90	74	30	230,21±0,004	17,03±0,004	
	105	72,5	32	243,03±0,005	17,61±0,005	
	120	71	33	251,90±0,001	17,87±0,001	
	170	68	35	276,35±0,002	18,78±0,002	
	270	63,5	37	298,20±0,006	18,93±0,006	
	300	62	38	309,23±0,001	19,16±0,001	
	340	60,5	38	316,80±0,005	19,16±0,005	
	370	59	38	324,90±0,005	19,16±0,005	
400	30	80	32	65,00±0,006	5,20±0,006	35
	45	78,5	32	167,10±0,005	13,11±0,005	
	60	77	33	203,29±0,005	15,65±0,005	
	75	75,5	33	234,00±0,001	17,66±0,001	
	90	74	33	249,00±0,008	18,42±0,008	
	105	72,5	35	254,71±0,001	18,46±0,001	
	120	71	36	264,35±0,008	18,76±0,008	
	140	69,5	36	274,50±0,001	19,07±0,001	
	170	68	37	282,50±0,005	19,21±0,005	
	200	66,5	38	291,14±0,006	19,35±0,006	
	240	65	38	297,80±0,003	19,35±0,003	
	270	63,5	38	304,80±0,001	19,35±0,001	
500	30	80	33	96,86±0,009	7,72±0,009	36

45	78,5	35	201,14±0,003	15,73±0,003
60	77	36	239,71±0,001	18,39±0,001
75	75,5	36	246,86±0,001	18,56±0,001
90	74	37	266,14±0,009	19,62±0,009
105	72,5	37	276,14±0,008	19,94±0,008
120	71	37	282,00±0,001	19,94±0,001
140	69,5	37	288,00±0,001	19,94±0,001

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

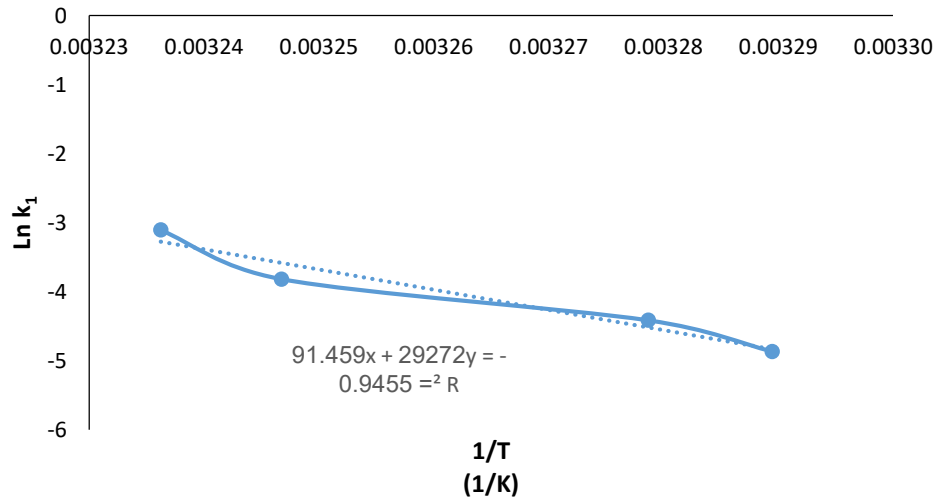
Şekil 4.2, zaman ve mikrodalga gücün TPM verimliliği üzerindeki etkilerini görsel olarak göstermektedir. Artan mikrodalga gücü ile denge ekstraksiyon süresi azalmıştır. Denge ekstraksiyon süreleri 200, 300, 400 ve 500 (W) mikrodalga gücü için sırasıyla 400, 300, 200 ve 100 (sn) olarak belirlendi. TPM, dengeye ulaşılan kadar güç ve buna karşılık gelen sıcaklık değeri ile artmıştır. İlk 30 saniyedeki TPM, kurutulmuş bitki başına sırasıyla 200, 300, 400 ve 500 W mikrodalga gücü altında 4,60, 5,01, 5,20 ve 7,72 mg-GAE/g-KB olarak belirlendi. Son olarak, dengelenme süresi, kurutulmuş *Moringa oleifera* gramı başına 17.3, 19.16, 19.35 ve 19.94 mg-GAE/g-KB elde etmek için her mikrodalga maruz kalma gücü için 400, 300, 200 ve 100 sn olarak belirlendi. Daha önce bahsedildiği gibi, fenol içeriğinin ekstraksiyonu, doyma aşamasına ulaşana kadar ekstraksiyon süresi, mikrodalga gücü ve sıcaklık ile artmıştır.

MDE işleminde ekstraksiyon işlemi iki temel işlemde gerçekleşir. İlk işlemde, biyokütlenin (*Moringa oleifera* yaprağı) yüzeyinde bulunan fenoller, radyasyon ve ortaya ekstrakte edilen sıcaklıkla parçalanır. İkinci işlemde, fenoller en düşük konsantrasyondan en yüksek konsantrasyona doğru yayılır, yani hedef bileşikler biyokütle ekstraktör sistemine yayılır [229].

Tablo 4.4, her sıcaklık değeri altındaki mevcut ekstraksiyon sistemi için kinetik parametrelerin bir özetini vermektedir. R² sonuçlarına göre, yalancı birinci dereceden model, *Moringa oleifera* bitkisinden fenolik ekstraksiyon için daha uygundur. Şekil 4.6, aktivasyon enerjisini hesaplamak için kullanılan $\ln k$ ve $1/T$ arasındaki ilişkiyi açıklar.

Tablo 4.4: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunun kinetik parametreleri.

Model	Parametre	Sıcaklık (K)			
		304	305	308	309
Yalancı birinci derece model	k_1 (1/sn)	0,0077	0,0121	0,022	0,0448
	R^2	0,9131	0,9770	0,9864	0,9691
	E_a (kJ/mol)	243,367			
Yalancı ikinci derece model	k_2 (L/mg.sn)	0,0027	0,0025	0,0021	0,0014
	R^2	0,945	0,8959	0,7197	0,4926



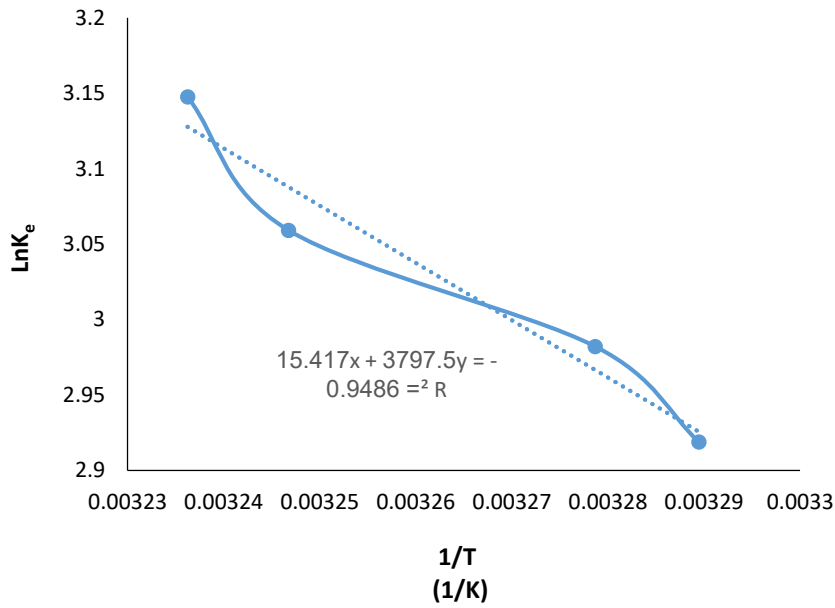
Şekil 4.6: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında Arrhenius denkleminde aktivasyon enerjisinin belirlenmesi.

Kinetik analizi gerçekleştirmek için, veriler Denklem (3.1) ve (3.2) kullanılarak yalancı birinci ve ikinci mertebeden modellere uygulanmış, aktivasyon enerjisi ise Denklem (3.3) kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.4, her sıcaklık değeri altında mevcut ekstraksiyon sistemi için kinetik parametrelerin bir özetini vermektedir. R^2 sonuçlarına göre, yalancı birinci dereceden model, *Moringa oleifera* bitkisinden fenolik ekstraksiyon için daha uygundur. Beklendiği gibi, ekstraksiyon hızı sıcaklık ve mikrodalga gücü ile artar. Yalancı birinci kinetik modele dayalı olarak, ekstraksiyon hızı 304, 305, 308 ve 309 K' de sırasıyla 0,0077, 0,0121, 0,022 ve 0,0448 (1/s) olarak hesaplanmıştır. İlk reaksiyon bimoleküler reaksiyondur. Bu reaksiyon, çok miktarda substrat bulunduğunda veya substratı diğer maddeye kıyasla sabit bir konsantrasyonda tutmak için meydana gelir. Reaksiyon hızı ölçülür ve ayrıca moleküler düzeyde fenomenleri tanımlayabilir. Ayrıca, etkileşimi etkileyen tüm dış faktörler göz ardı edilir [230]. Ekstraksiyon verimini artırmak için sıcaklıkla ekstraksiyon hızındaki artış, artan sıcaklıkla fenollerin çözünürlüğünün artmasından kaynaklanmaktadı [229]. $\ln k$ ve $1/T$ arasındaki ilişkiden oluşturulan Denklem (3.3) ve (Şekil 4.4), 243,36 kJ/mol aktivasyon enerjisi verdi. Bu sonuç, *Moringa oleifera*' dan fenollerin ekstraksiyonu için gereken minimum enerjinin 243,367 kJ/mol olduğu anlamına gelir. Bu bulgu, E_a 'nın 220 kJ/mol [231] ve 242,1 kJ/mol olduğu diğer raporlarla tutarlıdır [232]. Termodinamik parametreler, Tablo 4.5' te gösterildiği gibi prosesin termal hareketini gösterecek şekilde hesaplanmıştır. Şekil 4.7 ayrıca entalpi ve entropi değişimlerini belirlemek için $\ln K_e$ ve $1/T$ arasındaki ilişkiyi gösterir.

Tablo 4.5: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunun termodinamik parametreleri.

Parametre	Sıcaklık (K)			
	304	305	308	309
K_e	18,52	19,73	21,31	23,28
ΔH (kJ/mol)	31,572			
ΔS (kJ/mol.K)	0,1281			
ΔG (kJ/mol)	-7,3704	-7,4985	-7,8828	-8,0109
R^2	0,9486			



Şekil 4.7: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında denge hız sabiti ve sıcaklığa bağlı olarak entalpi ve entropi değişimlerinin tayini.

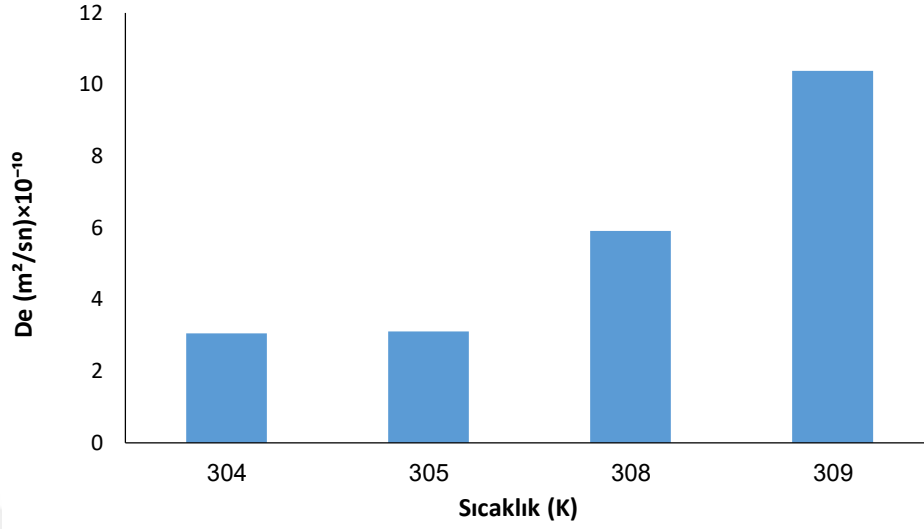
Termodinamik parametreler, prosesin termal hareketini temsil edecek şekilde hesaplanmıştır (Tablo 4.5). İlgili sıcaklık değerlerinde maksimum konsantrasyonlar 318,2, 324,9, 304,8 ve 288 mg-GAE/L olarak hesaplanmıştır. Tablo 4.5' ten de görülebileceği gibi, denge sabiti sıcaklıkla birlikte artmıştır. Pozitif bir entalpi değişim değeri ($\Delta H > 0$), MDE sürecinin endotermik olduğu anlamına gelirken, pozitif bir entropi değişim değeri, sürecin rastgele olduğunu gösterir. Bu

bozulmanın nedeni, çözeltinin (fenolik bileşikler) katı halden moleküllerin düzenlendiği bir ortama, daha az düzenli sıvı çözücüye transferinde yatmaktadır[214]. Bu artan türbülansa yol açar. Öte yandan, Gibbs serbest enerji değişiminin negatif değeri, ekstraksiyon sürecinin doğasını gösterir [229]. Gibbs serbest enerjisi, entropi enerjisine ve sıcaklığa bağlıdır. $-\Delta ST$ negatif olduğunda, sıcaklıktaki bir artış Gibbs serbest enerjisinde bir azalmaya yol açar. Daha önce de belirtildiği gibi, ekstraksiyon işlemi iki adımda gerçekleşir. İkinci adım, hedef bileşiklerin (fenoller) katının içinden (*Moringa oleifera* yaprağı) dış yüzeye difüzyonunu ve ardından çözücüye (%60 etanol) aktarılmasını içerir [229].

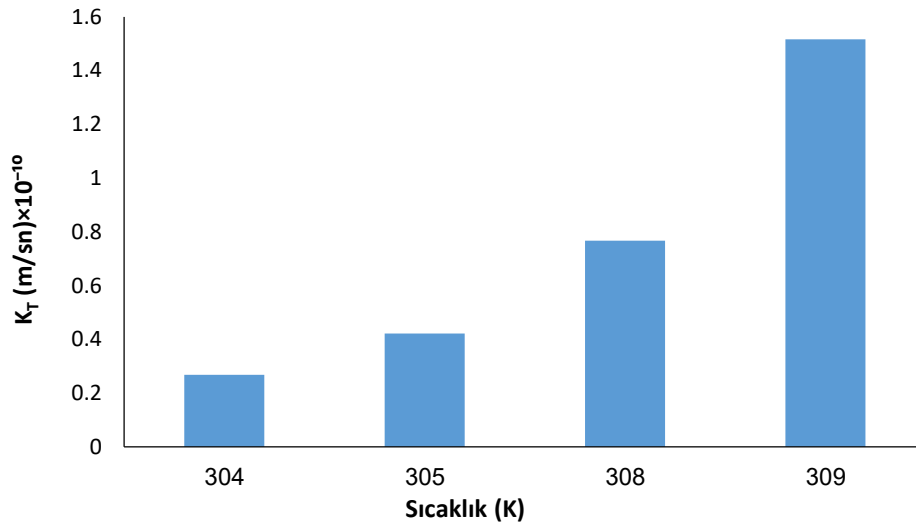
Tablo 4.6, her bir sıcaklık değerindeki kütle transfer parametrelerini göstermektedir. Ayrıca Şekil 4.8-4.10, sıcaklığın difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayısı ve Biot sayıları üzerindeki etkisini göstermektedir.

Tablo 4.6: Difüzyon ve kütle transfer katsayıları ve Biot sayıları

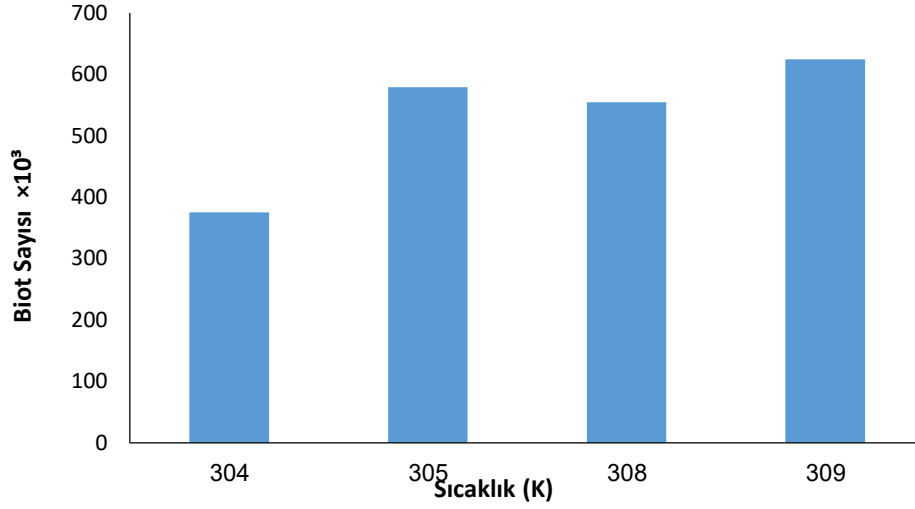
Parametre	Sıcaklık(K)			
	304	305	308	309
$De (m^2/sn) \times 10^{-10}$	3,058	3,114	5,912	10,380
$Bi \times 10^3$	375,0	578,9	554,4	624,5
$K_T (m/sn)$	0,2683	0,4217	0,7667	1,5163



Şekil 4.8: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında difüzyon katsayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.



Şekil 4.9: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında kütle transfer katsayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.



Şekil 4.10: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sırasında Biot sayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.

Kütle transferi ve difüzyon sürecinin mekanizmasını doğrulamak ve tanımlamak için difüzyon ve kütle transfer katsayıları ve Biot sayısı hesaplanmalıdır. Beklendiği gibi, difüzyon katsayısı ve kütle aktarım katsayısı sıcaklıkla artar ve her sıcaklık değerinde çizilen kütle aktarım parametreleriyle çözeltideki katı parçacıkların ayrılmasını artırır (Şekil 4.8-4.10 ve Tablo 4.6). Tablo 4.6' dan görülebileceği gibi, difüzyon katsayısı sıcaklıkla artmıştır. Öte yandan, *Moringa oleifera* partiküllerinin dış yüzeyinden solvente fenolik bileşiklerin transfer edildiği kütle transfer işlemi solventin viskozitesine, difüzyon katsayısına ve sıcaklığa bağlıdır [229]. Çözücünün viskozitesi arttıkça kütle transfer katsayısı azalır. Bu nedenle, K_T 0,2683, 0,4217, 0,7667 ve 1,5613 m/sn artan sıcaklıkla arttı. Denklem (3.9)' a göre, Biot sayısı temel olarak difüzyon katsayısına, partikül boyutuna ve kütle transfer katsayısına bağlıdır. Bu nedenle Bi 375×10^3 , $578,9 \times 10^3$, $554,4 \times 10^3$ ve $624,48 \times 10^3$ artan sıcaklıkla arttı. Bu nedenle, kütle aktarımı Biot sayısının yüksek değeri, kütle aktarımı için dış dirençlerin ihmal edilebilir olduğunu gösterir ve çözünen ile çözücü arasında verimli karıştırmayı doğrular [214].

Tablo 4.7, toplam fenolik seviyelerine ilişkin deneysel verileri vermektedir. Ekstraksiyon oranını hesaplamak için yalancı birinci ve ikinci derece modeller kullanıldı. UDE yoluyla 35 mL %60 sulu etanol içinde 0,5 g numune ile çalışılmıştır.

Tablo 4.7: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin çeşitli koşullar altında ultrason destekli ekstraksiyonu*.

Genlik (%)	Ekstraksiyon Süresi (dk)	Hacim (mL)	TPM (mg-GAE/L)	TPM (mg-GAE/g-KB)	T _{ortalama} (°C)
10%	1	35,0	133,00±0,008	9,30±0,008	25
	2	33,5	154,80±0,001	10,33±0,001	
	3	32,0	196,57±0,001	12,56 ±0,001	
	4	30,5	230,00±0,002	14,01±0,002	
	5	29,0	256,00±0,006	14,83±0,006	
	6	27,5	269,71±0,007	14,83±0,007	
15%	1	35,0	133,20±0,001	9,32±0,001	28
	2	33,5	155,43±0,001	10,40±0,001	
	3	32,0	197,57±0,001	12,63 ±0,001	
	4	30,5	234,71±0,001	14,30±0,001	
	5	29,0	256,86±0,004	14,88±0,004	
	10	27,5	270,42±0,001	14,86±0,001	
20%	1	35,0	141,86±0,009	9,904±0,009	33
	2	33,5	179,00±0,009	11,96±0,009	
	3	32,0	211,86±0,001	13,52±0,001	
	4	30,5	244,71±0,001	14,89±0,001	
	5	29,0	266,14±0,007	15,40±0,007	
	10	27,5	281,14±0,002	15,40±0,002	

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

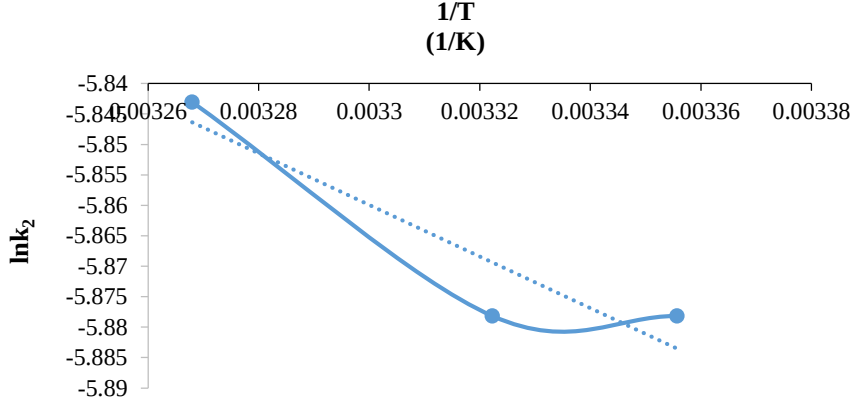
TPM, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon gücünden etkilenmiştir (Şekil 4.5). Fenol miktarı, sabit bir duruma ulaşana kadar zamanla artar. Bu duruma denge denir. Ek olarak, artan ekstraksiyon gücü ve sıcaklığı ile TPM artar. İlk dakikada TPM, kurutulmuş *Moringa oleifera* yaprağı başına sırasıyla 10, 15 ve 20 % genlik altında 9,3, 9,32 ve 9,9 mg GAE idi. Son olarak, denge ekstraksiyon süresi olarak 5 dk alındığında, kurutulmuş *Moringa oleifera* yaprağı başına 14,83, 14,88 ve 15,4 mg-GAE TPM elde edildi. *Moringa oleifera* bitkisinden yüksek hızda malzemeye zarar vermeden fenolik ekstraksiyon sürecini iyileştirmek için kinetik bir çalışma yapılmıştır. Daha önce bahsedildiği gibi, artan sıcaklık ve akustik dalga gücü ile ekstrakte

edilen fenol miktarı, Şekil 4.5' te gösterildiği gibi 5 dk' lık ekstraksiyon periyodunda en yüksek değere ulaşana kadar artmış, bundan sonra ekstrakte edilen fenol miktarı sabitlenmiştir.

Kinetik çalışma için yalancı birinci derece ve ikinci derece modeller kullanıldı. Tablo 4.8' de yalancı birinci derece ve ikinci derece denklemlere dayalı kinetik parametreler verilmektedir. R^2 değerlerine dayalı olarak, yalancı ikinci derece model, *Moringa oleifera* yapraklarından fenol ekstraksiyonu için daha uygundur. Aktivasyon enerjisi, Şekil 4.11' de gösterildiği gibi $\ln k_2$ ile $1/T$ arasındaki eğriden türetilmiştir.

Tablo 4.8: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonunun kinetik parametreleri.

Model	Parametre	Sıcaklık (K)		
		298	300	306
Yalancı birinci derece model	k_1 (1/sn)	0,5195	0,5694	0,5747
	R^2	0,9311	0,9125	0,9493
Yalancı ikinci derece model	k_2 (L/mg.sn)	0,0028	0,0028	0,0029
	R^2	0,9499	0,9493	0,9827
	E_a (kJ/mol)	3,5225		



Şekil 4.11: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında Arrhenius denkleminden aktivasyon enerjisinin belirlenmesi.

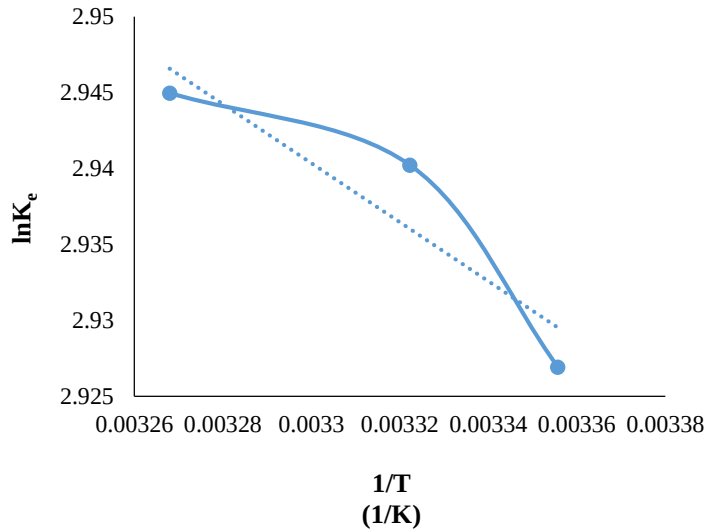
Denklem (3.1 ve 3.2) kullanılarak ekstraksiyon oranını hesaplamak için yalancı birinci ve ikinci mertebeden modeller kullanıldı. Tablo 4.8' de yalancı birinci ve ikinci dereceden denklemlere dayalı kinetik parametreler verilmektedir. R^2 değerlerine dayalı olarak, yalancı ikinci dereceden model *Moringa oleifera* yapraklarından fenol ekstraksiyonu için daha uygundur. Beklendiği gibi, ekstraksiyon hızı sıcaklık ve güç ile artar. Yalancı ikinci derece modele bağlı olarak, ekstraksiyon hızı 298, 300 ve 306 K' de sırasıyla 0,0028, 0,0028 ve 0,0029 (L/mg.sn)' dir. Sıcaklık artışı nedeniyle yalancı birinci ve ikinci oranlar aynıdır. Artan sıcaklık ve güç ile fenolün etanol çözeltisinde çözünürlüğünün ve difüzyonunun artması nedeniyle, ekstraksiyon verimliliğini artırmak için ekstraksiyon hızının sıcaklıkla artması beklenir.

Aktivasyon enerjisi Denklem (3.3) kullanılarak belirlendi. Aktivasyon enerjisi, Şekil 4.11' de gösterildiği gibi $\ln k_2$ ve $1/T$ arasındaki eğri çizilerek belirlendi. Aktivasyon enerjisi 3,5225 kJ/mol idi ve bu işlemde bitkilerden fenollerin ekstraksiyonu için gereken minimum enerjiyi sağladı. Sırasıyla Rebea, Lipton ve Alkbous gibi farklı çay markalarından fenolik bileşiklerin ve antioksidanların ekstraksiyonu için önceki çalışmalarda benzer E_a değerleri belirlenmiştir [233].

Tablo 4.9 ve Şekil 4.12, *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrasonik destekli ekstraksiyonunun termodinamik parametrelerini vermektedir.

Tablo 4.9: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonunun termodinamik parametreleri.

Parametre	Sıcaklık (K)		
	298	300	306
K_e	18,67	18,92	19,01
ΔH (kJ/mol)		1,615	
ΔS (kJ/mol.K)		0,02977	
ΔG (kJ/mol)	-7,2356	-7,3247	-7,4732
R^2		0,8459	



Şekil 4.12: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında denge sabit hızı ve sıcaklığa bağlı olarak entalpi ve entropi değişimlerinin belirlenmesi.

Termodinamik parametreler Denklem (3.4) ve (3.5)' ten ve Şekil 4.12' den hesaplanmıştır. Görünüşe göre, sürecin termal hareketini açıklamak için entalpi, entropi ve Gibbs serbest

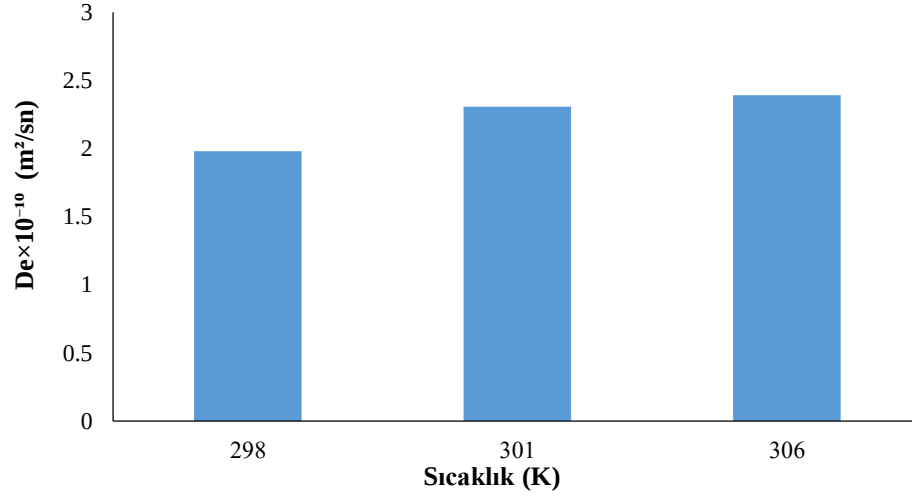
enerjisinin değişimleri hesaplandı. Tablo 4.7' den görülebileceği gibi, her ekstraksiyon sıcaklığında 298, 300, 306 (K) maksimum konsantrasyon sırasıyla 269,71, 270,42 ve 281,14 mg-GAE/L idi. Ekstraksiyon sıcaklığının artmasıyla fenoliklerin konsantrasyonu artmıştır. Ekstrakte edilen TPM miktarı (Y_s) ile ekstrakte edilmemiş TPM miktarı ($Y_{max}-Y_s$) arasındaki orana göre denge ekstraksiyon sabiti (K_e) 18,67, 18,92 ve 19,01 idi. Denge ekstraksiyon sabiti sıcaklıkla arttı.

Entalpideki (ΔH) değişim pozitifdir (Tablo 4.9). Bu durum UDE sürecinin endotermik olduğunu gösterir. Entropideki değişimin (ΔS) pozitif değeri, UDE sürecinin rastgele olduğunu ve kavitasyon fenomeni tarafından bozulduğunu gösterir. Ayrıca Gibbs serbest enerjisinin negatif değeri, UDE sürecinin kendiliğinden ve mümkün olduğu anlamına gelir. Kavitasyon olgusu, aktif maddenin katının içinden katının dış yüzeyine ve daha sonra çözeltiye transferine katkıda bulunur [234].

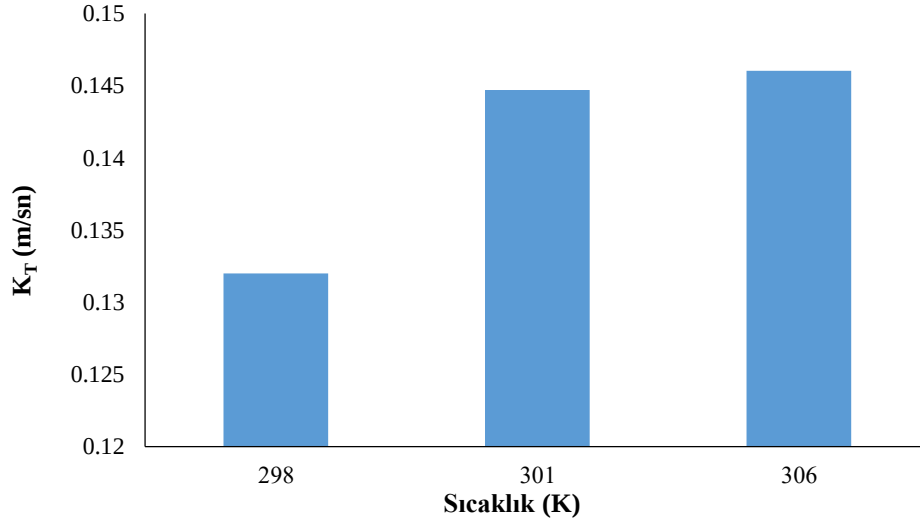
Difüzyon mekanizmasını ve maddenin çözeltiye kütle transferini netleştirmek için, UDE işleminin difüzyon ve transfer katsayıları ve Biot sayıları hesaplandı (Tablo 4.10). Difüzyon, kütle transfer katsayıları ve Biot sayısı, Şekil 4.13-4.15' te görüldüğü gibi ekstraksiyon sıcaklığına bağlıdır.

Tablo 4.10: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu için difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayıları ve Biot sayıları.

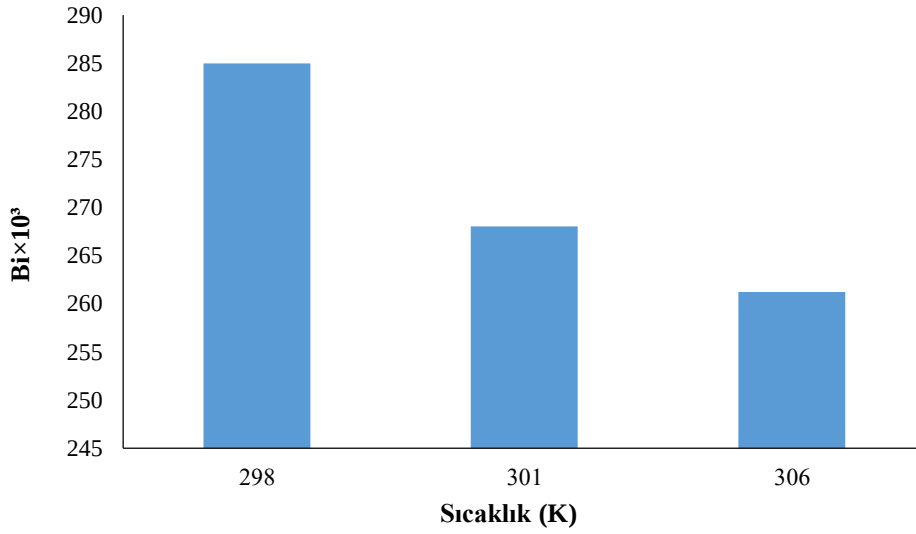
Parametre	Sıcaklık (K)		
	304	305	308
$D_e \text{ (m}^2\text{/sn)} \times 10^{-10}$	1,9800	2,3070	2,3905
$Bi \times 10^3$	285,00	268,05	261,22
$K_T \text{ (m/sn)}$	0,1320	0,1447	0,1460



Şekil 4.13: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında difüzyon katsayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.



Şekil 4.14: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında kütle transfer katsayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.



Şekil 4.15: *Moringa oleifera* yapraklarından toplam fenolik bileşenlerin ultrason destekli ekstraksiyonu sırasında Biot sayısı ve sıcaklık arasındaki ilişki.

Tablo 4.10 ve Şekil 4.13-4.14' te görüldüğü gibi, ekstraksiyon sıcaklığı ile difüzyon ve kütle transfer katsayıları artmıştır. Sıcaklığın artmasının termal enerjideki artışı arttırdığı bilinmektedir, bu nedenle difüzyon ve kütle transfer katsayılarındaki artışın, işlemin termal enerjisindeki artıştan kaynaklandığı bilinmektedir [212]. Difüzyon katsayısı $1,98 \times 10^{-10}$, $2,3077 \times 10^{-10}$ ve $2,3905 \times 10^{-10}$ m²/sn olarak değişti. Ayrıca, kütle transfer katsayısı sıcaklıkla 0,132, 0,1447'den 0,14604 m/sn' ye yükseldi.

Şekil 4.15 c' ye göre, artan ekstraksiyon sıcaklığı ile Biot sayısı azalmıştır. Bu nedenle Biot sayısı sıcaklıkla birlikte 285×10^3 , 268.055×10^3 'den 261.22×10^3 e düşmüştür. $Bi > 100$ ise dış direncin iç dirençten çok daha düşük olduğunu gösterir. Bu nedenle, dış direnç ihmal edilebilir [215]. Kinetik, termodinamik ve kütle transferi çalışmaları, önerilen işlemin *Moringa oleifera* yapraklarından fenoliklerin ekstrakte edilmesi için etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir.

4.4. EKSTRAKSİYON ÇALIŞMALARI

HDE, OÇE, MDE ve UDE sürecini optimize etmek için Cevap Yüzey Yönteminin (CYY) merkezi kompozit tasarımı (MKT) kullanıldı. Sistem, ekstrakttaki toplam fenolik (TPM) ve flavonoid (TFM) içeriğini en üst düzeye ekstraksiyonu için optimize edilmiştir. Bu istatistiksel yaklaşım aynı zamanda deneysel çalışmanın tasarımını, HDE, OÇE, MDE, UDE' nin modellenmesini ve deneysel verilerin analizine olanak sağlamıştır. Ayrıca, elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri 2 farklı in vitro ölçümle (ABTS ve DPPH) değerlendirildi.

4.4.1. Homojenizatör Destekli Ekstraksiyon

Tablo 4.11, söz konusu bitkisel metaryelden biyoaktif maddelerin HDE ile ekstraksiyonu için kullanılan parametreleri ve seviye değerlerini göstermektedir. Tablo 4.12 ise MKT ile tasarlanan koşullarda elde edilen deneysel ve tahmini verileri (TPM ve TFM açısından) göstermektedir.

Tablo 4.11: *Moringa Oleifera*'dan biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için HDE' nin işlem parametreleri.

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

Tablo 4.12: *Moringa oleifera* yapraklarına uygulanan HDE metodunun MKT ile oluşturulan deneysel sonuçları*.

	A	B	C	Deneysel TPM (mg-GAE/g-KB)	Öngörülen TPM (mg-GAE/g-KB)	Deneysel TFM (mg-CE/g-KB)	Öngörülen TFM (mg-CE/g-KB)
1	90	5000	30	0,23±0,002	0,18±0,002	49,40±0,000	53,99±0,000
2	30	5000	90	17,09±0,014	16,75±0,014	275,31±0,002	274,80±0,002
3	60	7000	60	15,68±0,011	17,17±0,011	119,95±0,002	132,38±0,002
4	60	7000	90	16,85±0,014	17,53±0,014	134,87±0,003	146,97±0,003
5	60	7000	60	16,79±0,014	17,17±0,014	125,83±0,003	132,38±0,003
6	60	7000	60	17,44±0,015	17,17±0,015	126,87±0,001	132,38±0,001
7	30	5000	30	14,65±0,010	15,13±0,010	230,16±0,001	240,73±0,001
8	60	7000	60	16,64±0,011	17,17±0,011	130,39±0,003	132,38±0,003
9	30	9000	90	17,35±0,013	17,46±0,013	272,08±0,002	269,31±0,002
10	60	9000	60	18,35±0,016	18,21±0,016	138,33±0,005	145,62±0,005
11	60	7000	60	18,43±0,007	17,17±0,007	137,30±0,001	132,38±0,001
12	30	9000	30	15,93±0,017	15,99±0,017	253,43±0,002	255,32±0,002
13	60	5000	60	16,95±0,015	16,87±0,015	135,08±0,002	120,50±0,002
14	90	7000	60	2,22±0,004	2,34±0,004	118,99±0,001	120,86±0,001
15	90	9000	30	1,760±0,004	2,15±0,004	107,37±0,003	109,71±0,003
16	60	7000	30	16,63±0,014	15,75±0,014	122,16±0,003	102,77±0,003
17	30	7000	60	16,82±0,018	16,50±0,018	276,03±0,003	266,86±0,003
18	90	5000	90	2,29±0,002	2,28±0,002	128,47±0,002	128,40±0,002
19	60	7000	60	17,63±0,013	17,17±0,013	139,33±0,002	132,38±0,002
20	90	9000	90	4,52±0,002	4,09±0,002	172,79±0,001	164,04±0,001

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

MKT tarafından tasarlanan HDE sisteminin çeşitli koşullar altında TPM ve TFM ölçümleri Tablo 4.11' de verilmiştir. HDE ile ekstrakte edilen numunelerde ölçülen TPM değerleri, 0,233 ve 18,43 mg-GAE/g-KB arasında değişirken, TFM ise Tablo 4.12' de gösterildiği gibi 49,4 ile 276,03 mg-CE/g-KB arasında değişmiştir. Pereira ve arkadaşları, *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının HDE ile elde edilen TPM değerlerini etanol ve suda (1/1) 1,06±0,07 ve 2,75 mg-GAE/g-KB olarak bildirmiştir [143]. TFM, çözücü bileşimine ve katı/çözücü oranına bağlı olarak 0,86 ila 2,52 mg-CE/g-KB arasında değişmektedir Benzer şekilde, Rocchetti ve arkadaşları da mevcut çalışmaninkilerle uyumlu olan TPM ve TFM değerlerini bildirmişlerdir [235]. Saf metanol ile özütlenen numuneler 10,60 mg-GAE/g-KB TPM verirken, metanol: su (50:50 v/v) ile 6,23 mg-GAE/g-KB vermiştir. 5,77 mg-GAE/g-KB saf etanol ile belirlendi. TFM sırasıyla 2,40 , 4,93 ve 0,53 mg- CE/g-KB olarak değişti [235].

Öte yandan Tablo 4.13' te HDE yöntemiyle hazırlanan *Moringa oleifera* yaprak ekstraktının antioksidan kapasitesi ile ilgili iki farklı yöntemle (AA-DPPH ve AA-ABTS) çalışılan sonuçlar yer almaktadır.

Tablo 4.13: HDE metodu ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları*.

	A	B	C	AA-DPPH (mg-TEAC/g-KB)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-KB)
1	90	5000	30	5,04±0,003	18,42±0,004
2	30	5000	90	5,96±0,000	27,88±0,040
3	60	7000	60	7,40±0,003	23,96±0,010
4	60	7000	90	7,68±0,001	21,50±0,030
5	60	7000	60	7,40±0,001	21,75±0,040
6	60	7000	60	7,40±0,001	23,68±0,007
7	30	5000	30	5,43±0,001	29,25±0,020
8	60	7000	60	7,42±0,002	23,46±0,009
9	30	9000	90	9,90±0,001	26,49±0,020
10	60	9000	60	9,02±0,001	23,66±0,020
11	60	7000	60	7,42±0,000	25,28±0,020
12	30	9000	30	9,26±0,000	27,51±0,020
13	60	5000	60	5,40±0,001	24,08±0,020
14	90	7000	60	7,22±0,006	17,32±0,010
15	90	9000	30	8,84±0,010	19,91±0,010
16	60	7000	30	7,10±0,001	27,26±0,030
17	30	7000	60	7,60±0,001	25,76±0,020
18	90	5000	90	5,57±0,090	17,03±0,007
19	60	7000	60	7,42±0,007	25,47±0,010
20	90	9000	90	9,27±0,010	16,39±0,020

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.13' te gösterildiği gibi, numunelerin AA-DPPH serbest radikallerine karşı süpürme aktivitesi, kurutulmuş numunelerin gramı başına 5,04 ila 9,90 mg-TEAC arasında değişmiştir. AA-ABTS serbest radikal aktivitesi, 16,39 ile 29,25 mg-TEAC/g-KB arasında ölçüldü. Her iki testin sonuçları da pozitif korelasyon gösterdi ($r > 0,80$). Tablo 4.13' te gösterildiği gibi AA-ABTS testi kullanılarak antioksidan aktivite kapasitesi, AA-DPPH yöntemi kullanılarak belirlenen antioksidan aktiviteden daha yüksektir. Angeloni ve diğerleri, HDE yöntemiyle ekstrakte edilen *Verbascum bombyciferum* bitkisi için AA-DPPH testine kıyasla AA-ABTS antioksidan aktivite testi ile 80,04 ila 85,6 mg-TEAC/g-KB arasında değişen, AA-ABTS ile daha iyi sonuçlar bildirmiştir. AA-DPPH 10,4 ila 51,33 mg-TEAC/g-KB arasında olduğu bildirilmiştir [236]. Dall'Acqua ve diğerleri, HDE 'den türetilen *Cochlospermum planchonii* ekstrelerinin AA-ABTS ve AA-DPPH değerlerini sırasıyla 766,27 ve 525,51 mg-TEAC/g-KB olarak bildirmiştir [237]. Bu sonuçlardan, *Moringa oliefera* kuru yapraklarının antioksidan kapasitesinin, AA-ABTS testi ile ölçüldüğünde, AA-DPPH testi ile ölçüldüğünden çok daha büyüktür. Bu sonuçlardan, AA-ABTS testinin, çok çeşitli gıda ve bitkilerde antioksidan kapasiteyi belirlemede AA-DPPH testinden daha etkili olabileceğini düşündürmektedir [238].

Bu, AA-ABTS' nin daha fazla antioksidan (hem hidrofik hem de hidrofilik) ölçmeyi sağlamasıyla açıklanabilir [239].

Ek olarak, Tablo 4.14, TPM ile TFM, AA-DPPH, AA-ABTS arasındaki korelasyonları göstermektedir. AA-ABTS' nin antioksidatif aktivite sonuçları HDE yönteminde TPM ile daha yüksek bir pozitif korelasyon gösterdi ($r = 0,6454$ e karşı 0,0265). Bu, fenollerin *Moringa oleifera* yaprak ekstraktının antioksidan aktivitesi üzerinde daha büyük bir etkiye sahip olduğunu gösterir [240].

Tablo 4.14: HDE yönteminde değişkenler arasındaki korelasyon.

Yöntem	Y	X	Denklem $Y=aX+b$	R^2
HDE	TPM	TFM	$Y=3,9851X+107,05$	0,1655
		AA-DPPH	$Y=0,7711X+7,5175$	0,0265
		AA-ABTS	$Y=1,3795X-18,919$	0,6454
	TFM	TPM	$Y=3,9851X+107,05$	0,1655
		AA-DPPH	$Y=12,532X+67,140$	0,0729
		AA-ABTS	$Y=10,165X-77,061$	0,3652

4.4.1.1. Modelleme Çalışması ve Proses Parametrelerinin Etkisi

HDE yöntemiyle ekstrakte edilen ilgili sistemler (TPM ve TFM) için ikinci dereceden modeller aşağıdaki denklemlerle ifade edilmiştir:

$$\text{HDE-TPM} = 17,17-7,08 A + 0,67 B + 0,8916 C + 0,2769 AB + 0,1191 AC - 0,0388 BC - 7,76 A^2 + 0,3706 B^2 - 0,5321 C^2 \quad 4.1$$

$$\text{HDE-TFM} = 132,38-73A + 12,56 B + 22,10 C + 10,28 AB + 10,08 AC - 5,02 BC + 61,49A^2 + 0,6822B^2 - 7,51C^2 \quad 4.2$$

Desing-Expert programı kullanılarak CYY' nin MKT'si ile üretilen istatistiksel analiz (ANOVA) bulguları, uygun istatistiksel değişkenlerle birlikte her cevap için Tablo 4.15' te sunulmaktadır.

Tablo 4.15: HDE yöntemi kullanılarak *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen TPM ve TFM için varyans test sonuçları.

	Kaynak	Kareler Toplamı	Df	Ortalama Kare	F-değeri	P-değeri Prob > F	
TPM	Model	823,61	9	91,51	138,96	< 0,0001	Önemli
	A-Çözücü konsantra-syonu	501,29	1	501,29	761,20	< 0,0001	
	B-hız	4,49	1	4,49	6,82	0,0260	
	C-süre	7,95	1	7,95	12,07	0,0060	
	AB	0,6135	1	0,6135	0,9315	0,3572	
	AC	0,1134	1	0,1134	0,1722	0,6869	
	BC	0,0121	1	0,0121	0,0183	0,8950	
	A ²	165,39	1	165,39	251,14	<0,0001	
	B ²	0,3777	1	0,3777	0,5735	0,4664	
	C ²	0,7787	1	0,7787	1,18	0,3024	
	Kalıntı	6,59	10	0,6586			
	Uyum Eksikliği	2,12	5	0,4231	0,4732	0,7845	Önemsiz
	Saf Hata	4,47	5	0,8941			
	Cor Toplam	830,20	19				
CV: %6,14		R ² =0,9921	Düzeltilmiş R _D ² =0,9849		Öngörülen R _O ² =0,9668		
TFM	Model	78250,52	9	8694,50	61,84	< 0,0001	Önemli
	A-Çözücü konsantrasyonu	53290,80	1	53290,80	379,03	< 0,0001	
	B-hız	1577,02	1	1577,02	11,22	0,0074	
	C-süre	4883,77	1	4883,77	34,74	0,0002	
	AB	845,79	1	845,79	6,02	0,0341	
	AC	813,65	1	813,65	5,79	0,0370	
	BC	201,52	1	201,52	1,43	0,2588	
	A ²	10396,52	1	10396,52	73,95	< 0,0001	
	B ²	1,28	1	1,28	0,0091	0,9259	
	C ²	155,03	1	155,03	1,10	0,3184	
	Kalıntı	1405,97	10	140,60			
	Uyum Eksikliği	1137,47	5	227,49	4.24	0.0695	Önemsiz
	Saf hata	268,50	5	53,70			
	Cor Toplam	79656,48	19				
CV.: %7,42		R ² =0,9823	Düzeltilmiş R _D ² =0,9665		Öngörülen R _O ² =0,8863		

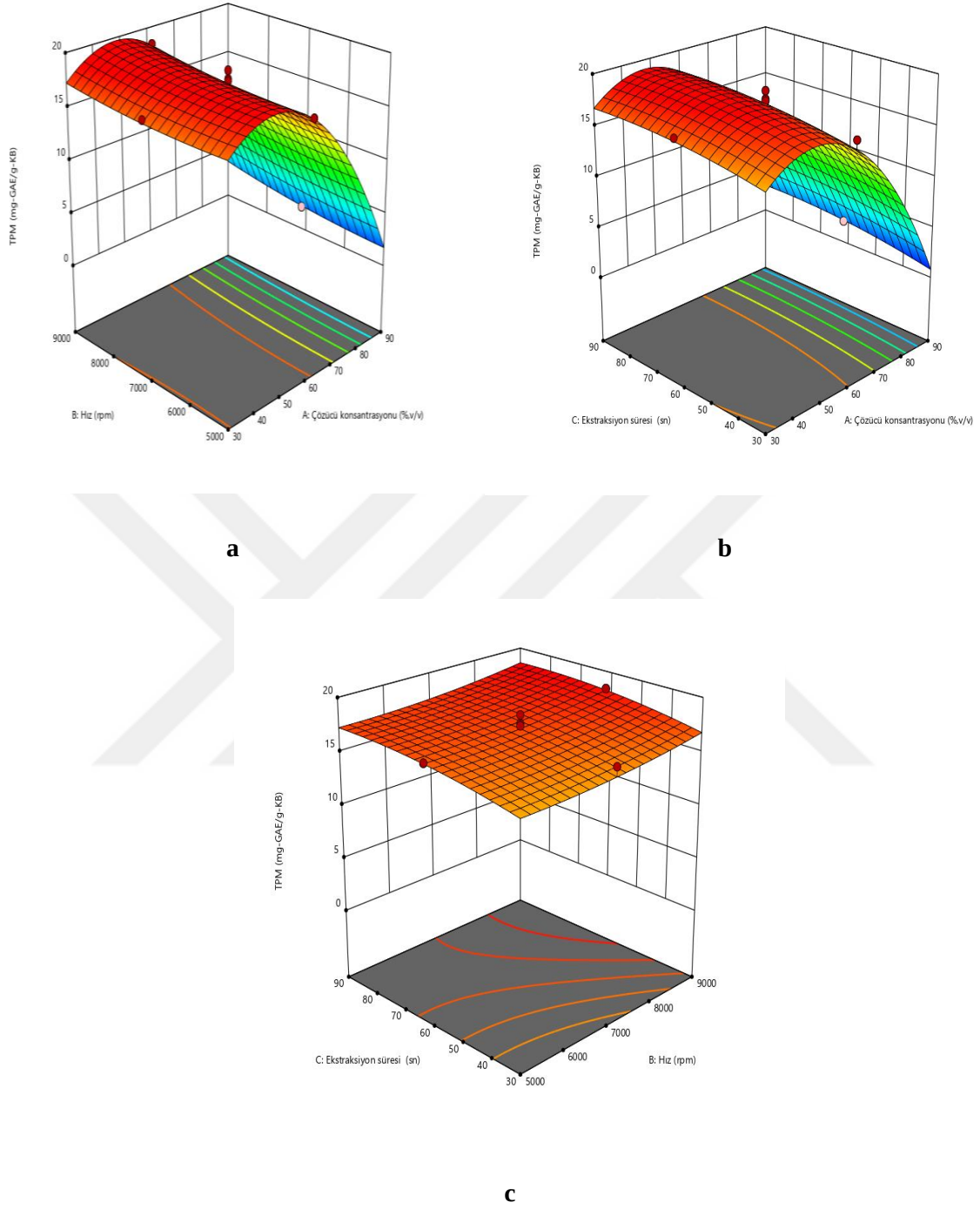
ANOVA testi, F değeri, P değeri, uyum eksikliği değeri, belirleme katsayıları (R^2 , düzeltilmiş R^2 ve öngörülen R^2) ve varyasyon katsayısı (CV) gibi en popüler istatistiksel araçlara dayalı model uyumu doğrulaması sağlar. P değerleri, TPM ve TFM için oluşturulan ikinci dereceden modellerin hem istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ($P < 0,05$) hem de deneysel bulgularla tutarlı olduğunu gösterir. Öte yandan, ikinci dereceden denklemlerin belirleme katsayıları tatmin edici görünmektedir ($R^2 > 0,98$). TPM ve TFM' nin R^2 si, Y değerlerindeki varyasyonların %99,21 ve %98,23' ünün önerilen model denklemleri ile açıklanabileceğini göstermektedir. TPM ve TFM' nin düzeltilmiş R_D^{21} si %98,49 ve %96,65 idi. Dolayısıyla, TPM ve TFM' nin öngörülen R_O^{21} si %96,68 ve %88,63 olmuştur. Bu çalışmada düzeltilmiş R_D^{22}

değerinin yüksek olması ve R^2 'ye yakın olması modelin yüksek önemini göstermektedir. Öngörülen dayalı $R_{\text{ö}}^2$, modelin yeni verileri ne kadar iyi tahmin debileceğini açıklar. Yeterince yüksek R^2 değerleri ve tahmin edilen $R_{\text{ö}}^2$, elde edilen istatistiksel modellerin uyum iyiliğini gösterir [241, 242]. Farkın 0,2' den az olması düzeltilmiş R_D^2 değerleri ile öngörülen $R_{\text{ö}}^2$ değerleri arasında makul bir uyumu gösterir. Adeq Precision, sinyal-gürültü oranını ölçmektedir. 4' ten büyük bir oran arzu edilir. TPM için 31,427 ve TFM için 26,335' lik yeterli hassasiyet, yeterli bir sinyali gösterir. Bu model, tasarım alanında gezinmek için kullanılabilir. Ayrıca CV, 10' dan küçük ise bu modellerin tekrarlanabilirliğini gösteren önemli bir katsayıdır. Elde edilen CV değerinin TPM için %6,14, TFM için %7,42 olduğu, modelin tekrarlanabilir olduğunu ifade eder. Elde edilen sonuçlara göre model, optimizasyon ve tahmin için kullanılabilecek iyi bir modeldir.

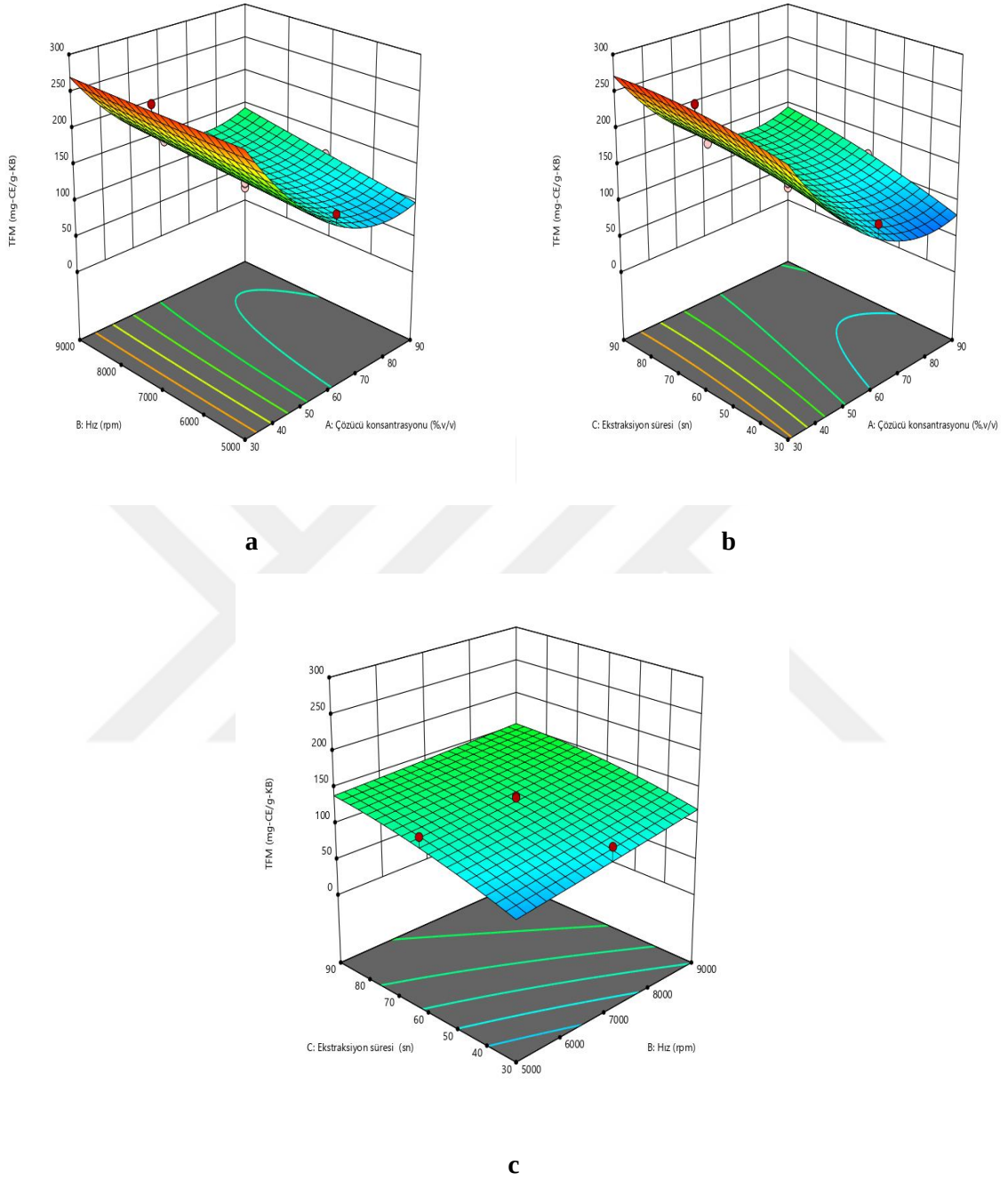
Tablo 4.15' te gösterildiği gibi, MKT tabanlı modelden türetilen TPM ve TFM için uyum değerlerinin eksikliği önemsiz ($P > 0,05$), sistemin modele tekabül etmesinin istendiğini gösterir. TPM için 0.47' lik Uyum Eksikliği F değeri, Uyum Eksikliğinin hataya göre önemli olmadığını ima eder. Gürültü nedeniyle, Bu kadar büyük bir F-değeri uyumsuzluğun gürültüden kaynaklanma olasılığı %78,45' tir. Önemli olmayan uyum eksikliği kabul edilebilir. Ayrıca, TFM için 4,24' lük Uyum Eksikliği F değeri, gürültü nedeniyle bu kadar büyük bir Uyum Eksikliği F değerinin oluşma olasılığının %6,95 olduğu anlamına gelir.

TPM verimi için HDE proses parametreleri göz önüne alındığında, çözücü konsantrasyonu en etkili parametreydi ($P < 0,05$), ardından karıştırma hızı ve ekstraksiyon süresi belirlendi. Çözücü konsantrasyonunun etkileri de istatistiksel olarak anlamlıydı ($P < 0,05$). TFM' ye gelince, sadece etanol konsantrasyonu ve ikinci derece etanol konsantrasyonu en önemli parametreydi ($P < 0,0001$), ardından karıştırma hızı ve ekstraksiyon süresi de istatistiksel olarak ($P < 0,05$) idi. Etanol konsantrasyonunun etkileşimi ve karıştırma hızı da istatistiksel olarak takip edildi ($P < 0,05$). Ek olarak, etanol konsantrasyonu ve karıştırma hızının etkileşimi de HAE ile *Moringa oleifera* yaprağı ekstraksiyonundan TFM' nin geri kazanılmasında istatistiksel olarak ($P < 0,05$) etkiliydi.

Ayrıca, *Moringa oleifera* yapraklarından homojenizatör destekli ekstraksiyon yöntemi ile aktif maddelerin ekstraksiyonunda görsel olarak bağımsız uygulamaların cevap değerlerine etkisi incelenmiştir. Bağımsız faktörlerin sistemi nasıl etkilediğini anlamak için üç boyutlu grafikler de program ile çizilmiştir (Şekil 4.16-4.17).



Şekil 4.16: HDE ile elde edilen TPM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) solvent konsantrasyonunu ile karıştırma hız arasındaki ilişki (ekstraksiyon süresi = 60 sn); (b) ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (karıştırma hızı = 7000 rpm); (c) karıştırma hızı ile süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60).



Şekil 4.17: HDE ile elde edilen TFM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) solvent konsantrasyonunu ile karıştırma hız arasındaki ilişki (ekstraksiyon süresi = 60 sn); (b) ekstraksiyon süresi ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (karıştırma hızı = 7000 rpm); (c) karıştırma hızı ile süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60).

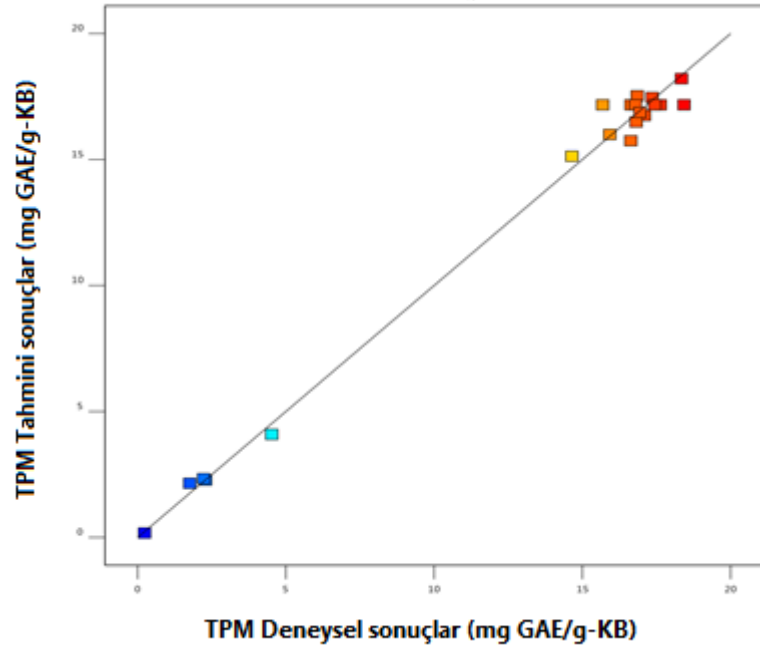
Bağımsız değişkenlerin cevaplar üzerindeki etkileri, model denklemlerinden oluşturulan üç boyutlu cevap yüzey çizimleri ile açıklanabilir. Şekil 4.16-4.17' de gösterildiği gibi, bağımsız HDE değişkenlerinin TPM ve TFM üzerindeki etkileri, bağımsız faktörlerden biri sabit olduğunda, alanın renginin maviden kırmızıya değişmesi artan cevabı gösterir. Şekil 4.16-4.17' de gösterildiği gibi, karıştırma hızı ve ekstraksiyon süresi sistemler üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, TPM ve TFM, karıştırma hızındaki (rpm) ve ekstraksiyon süresindeki (sn) artışla biraz arttı. Ayrıca Şekil 4.16.a' da gösterildiği gibi, TPM miktarı, etanol konsantrasyonunun artmasıyla kademeli olarak, etanol konsantrasyonunun yaklaşık %50' sinde en yüksek değere ulaşana kadar artmıştır. Daha sonra fenol içeriği yavaş yavaş azalmaya başladı. Ek olarak, Şekil 4.17.a' de gösterildiği gibi, etanol konsantrasyonundaki artışla TFM önemli ölçüde azaldı. Benzer şekilde, Kaur ve diğerleri etanol konsantrasyonu %55' ten %70' e yükseldiğinde *Stevia rebaudiana* Bertoni' nin fenolik içeriğinde bir artış ve ardından %70 etanol çözeltisinden sonra bir düşüş bildirmiştir [243]. Benzer bir durum, MDE yöntemi ile patlıcan kabuğu yan ürününden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda da gözlenmiştir [244]. Etanol konsantrasyonu fenolik bileşiklerin çözünürlüğünü artırır. Çözeltilerdeki etanol konsantrasyonunun artırılması, karışımın ısınmasında bir azalmaya ve dolayısıyla geri kazanılan bileşiklerin daha az termal bozunmasına yol açar. Bununla birlikte, yüksek etanol konsantrasyonları protein denatürasyonuna neden olabilir, polifenollerin çözünmesini engelleyebilir ve ekstraksiyon hızını etkileyebilir. Öte yandan, su, hücreler için bir şişirme ajanı olduğu için polifenoller ile çözücü arasındaki temas alanını arttırdığı için en iyi çözücülerden biri olarak kabul edilir [244]. Bu nedenle, çözücü çözeltisindeki su yüzdesi ne kadar yüksek olursa, çözücü konsantrasyonu o kadar düşük olur ve dolayısıyla polifenolün uzaklaştırma hızı o kadar yüksek olur.

4.4.1.2. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

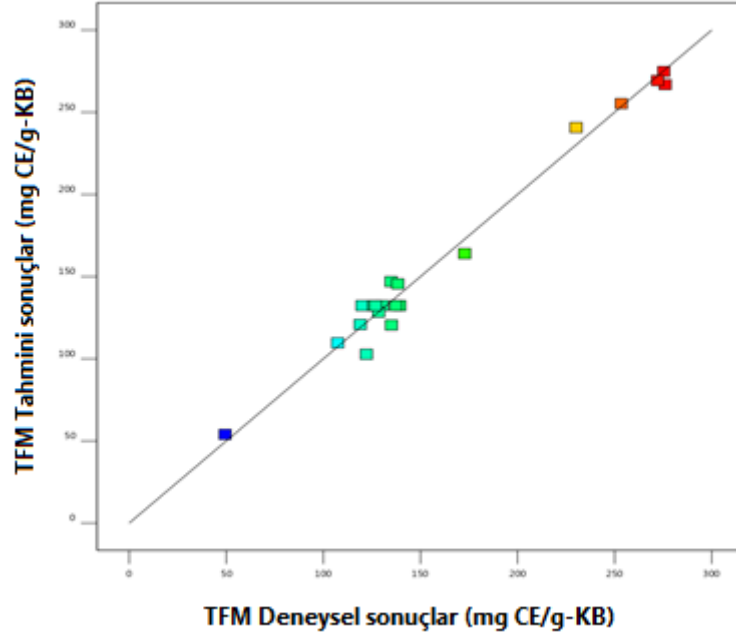
TPM ve TFM' yi en iyi şekilde optimize etmek için optimizasyon analizi yapıldı. Tablo 4.16, bu optimum koşullar altında hesaplanan optimum koşulları ve maksimum cevap değerlerini göstermektedir. Öte yandan, Şekil 4.18, TPM ve TFM için beklenen sonuçlara (tahmin edilen sonuçlar) karşı gerçek sonuçları gösterir. Gerçek değer ile tahmin edilen değerler arasındaki ilişki belirlendi. Tablo 4.17, HDE yöntemiyle ekstrakte edilen TPM ve TFM' nin gerçek ve tahmin edilen değerleri arasındaki ilişkiyi temsil eden denklemleri açıklamaktadır. Türetilmiş model denklemlerinin güvenilirlik derecesini ölçmek için R^2 ve RMSE hesaplanmıştır.

Tablo 4.16: HDE için optimum koşulların doğrulama sonuçları.

Optimum Ekstraksiyon Koşulları			Cevap	Öngörülen	Deneysel	SD	CV	Hata oranı
A (%,v/v)	B (rpm)	C (sn)						
77	9000	30	TPM	17,51	17,20	0,812	4,64	<%2
			TFM	271,37	266,24	11,86	4,37	



a



b

Şekil 4.18: TPM ve TFM için gerçek bulgulara karşı öngörülen bulgular (a) TPM; (b) TFM.

Tablo 4.17: HDE yöntemi için elde edilen model denklemlerinin güvenilirlik kriterleri.

Cevap	Yöntem	Denklem	R ²	RMSE
TPM	HDE	$Y=0,9902X+0,1143$	0,9917	0,582
TFM	HDE	$Y=0,9824X+2,8181$	0,9823	8,30

En yüksek TPM ve TFM verimlerini elde etmek için optimum koşullar Tablo 4.16' da verilmiştir. Maksimum TPM ve TFM (17.51 mg-GAE/g-KB TPM ve 271.37 mg-CE/g-KB TFM) elde etmek için optimum koşullar 77 sn ekstraksiyon süresi, 9000 rpm karıştırma hızı ve %30 (v/v) etanol çözeltisi olarak belirlenmiştir. Validasyon deneyleri de yazılımın koşulları altında gerçekleştirilmiştir. Gerçek ve tahmin edilen değerler arasındaki fark (< %2) ikinci dereceden modellerin kabul edildiğini doğrular. Aslında, modelin yeterliliği, gerçekleşen ve tahmin edilen miktar arasındaki korelasyon hesaplanarak da değerlendirilebilir. Şekil 4.18 de bu durumu görsel olarak açıklamaktadır. TPM ve TFM ($R^2 < 0,98$) ve RMSE' nin gerçek ve tahmin edilen değerleri arasındaki korelasyon TPM için 0,582 ve TFM için 8,30 olarak

hesaplanmıştır (Tablo 4.17). RMSE, modelin yanıtı ne kadar doğru tahmin ettiğinin iyi bir ölçüsüdür. Daha düşük bir RMSE değeri daha iyi model performansını destekler. Tersine, daha yüksek bir R^2 değeri (1'e yakın) regresyon çizgisinin verilere iyi uyduğunu ve model performansının daha iyi olduğunu gösterir [245].

4.4.2. Otomatik Çözücü Ekstraksiyonu

Tablo 4.18, söz konusu bitkisel metaryelden biyoaktif maddelerin HDE ile ekstraksiyonu için kullanılan parametreleri ve seviye değerlerini göstermektedir. Tablo 4.19 ise MKT ile tasarlanan koşullarda elde edilen deneysel ve tahmini verileri (TPM ve TFM açısından) göstermektedir.

Tablo 4.18: *Moringa Oleifera*'dan biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için OÇE' nin işlem parametreleri.

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

Tablo 4.19: *Moringa oleifera* yapraklarına uygulanan OÇE metodunun MKT ile oluşturulan deneysel sonuçları*.

	A	B	C	Deneyisel TPM (mg-GAE/g- KB)	Öngörülen TPM (mg-GAE/g- KB)	Deneyisel TFM (mg-CE/g- KB)	Öngörülen TFM (mg-CE/g- KB)
1	50	1,25	60	34,04±0,012	33,50±0,012	60,25±0,000	71,06±0,000
2	50	1,25	60	33,86±0,010	33,50±0,010	82,37±0,001	71,06±0,001
3	50	1,25	60	29,65±0,018	33,50±0,018	70,15±0,002	71,06±0,002
4	50	1,25	60	35,94±0,018	33,50±0,018	75,34±0,005	71,06±0,005
5	50	1,25	90	24,72±0,014	27,16±0,014	125,65±0,003	131,43±0,003
6	60	0,5	30	33,55±0,030	33,29±0,030	137,44±0,001	131,27±0,001
7	40	2	30	17,05±0,006	15,37±0,006	84,36±0,000	83,76±0,000
8	50	0,5	60	31,90±0,013	29,32±0,013	54,49±0,001	56,49±0,001
9	60	2	90	35,18±0,022	32,42±0,022	150,52±0,005	142,46±0,005
10	60	2	30	25,31±0,014	26,23±0,014	108,37±0,000	114,14±0,000
11	50	2	60	25,20±0,013	28,70±0,013	46,51±0,000	42,81±0,000
12	40	1,25	60	32,03±0,019	32,29±0,019	98,56±0,000	89,42±0,000
13	40	2	90	25,30±0,025	25,32±0,025	120,36±0,002	126,96±0,002
14	60	1,25	60	38,91±0,024	39,57±0,024	110,25±0,001	117,69±0,001
15	50	1,25	60	35,56±0,010	33,50±0,010	68,52±0,000	71,06±0,000
16	50	1,25	30	28,77±0,015	27,23±0,015	101,25±0,000	93,77±0,000
17	50	1,25	60	33,81±0,023	33,50±0,023	66,35±0,000	71,06±0,000
18	60	0,5	90	21,73±0,013	23,18±0,013	162,35±0,010	163,38±0,001
19	40	0,5	30	23,31±0,007	25,84±0,007	81,73±0,000	90,22±0,000
20	40	0,5	90	20,63±0,009	19,48±0,009	142,56±0,004	137,22±0,004

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.19' da gösterildiği gibi, OÇE ile ekstrakte edilen numunelerde ölçülen TPM değerleri 17,05 ile 35,94 mg-GAE/g-KB arasında değişirken, TFM 46,51 ile 162,35 mg-CE/g-KB arasında değişmiştir. Sreelatha ve Padma (2009), Soxhlet tarafından sudan elde edilen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TPM değerlerini yaprağın olgunluğuna bağlı olarak 36,02 ve 45,81 mg-GAE/g-KB olarak bildirmiştir [246]. Benzer şekilde, Jahan ve arkadaşları mevcut çalışmaninkilerle uyumlu olan TPM değerlerini bildirmiştir [247]. Metanol ile ekstrakte edilen numuneler 32,83 mg-GAE/g-KB olarak belirlenmiş, heksan ile de 30,69 mg-GAE/g-KB değeri elde edilmiştir.

Öte yandan Tablo 4.20' de OÇE yöntemiyle üretilen *Moringa Oleifera* yaprak ekstraktının iki farklı yöntem (AA-DPPH ve AA-ABTS) kullanılarak incelenen antioksidan kapasite sonuçları yer almaktadır.

Tablo 4.20: OÇE metodu ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları*.

	A	B	C	AA-DPPH (mg-TEAC/g-KB)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-KB)
1	50	1,25	60	10,85±0,000	34,04±0,010
2	50	1,25	60	10,76±0,000	38,97±0,020
3	50	1,25	60	10,70±0,000	42,30±0,000
4	50	1,25	60	10,70±0,000	41,57±0,008
5	50	1,25	90	18,91±0,010	78,30±0,020
6	60	0,5	30	9,86±0,001	31,99±0,023
7	40	2	30	9,65±0,004	19,21±0,013
8	50	0,5	60	10,58±0,000	33,26±0,026
9	60	2	90	17,50±0,001	103,14±0,03
10	60	2	30	10,01±0,001	25,39±0,02
11	50	2	60	10,28±0,003	33,48±0,019
12	40	1,25	60	10,48±0,001	37,10±0,022
13	40	2	90	15,79±0,020	74,38±0,015
14	60	1,25	60	10,43±0,000	39,68±0,024
15	50	1,25	60	10,40±0,001	35,05±0,025
16	50	1,25	30	9,70±0,001	30,19±0,017
17	50	1,25	60	10,10±0,004	36,70±0,023
18	60	0,5	90	13,10±0,020	79,80±0,021
19	40	0,5	30	7,65±0,020	23,90±0,016
20	40	0,5	90	12,34±0,030	68,34±0,021

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Moringa oleifera yaprak ekstrelerinin antioksidan aktivitesini incelemek için daha önce bahsedildiği gibi iki farklı antioksidan aktivite analizi (AA-DPPH ve AA-ABTS) yapılmıştır. Tablo 4.20, farklı koşullar altında elde edilen *Moringa oleifera* yaprak özütlerinin serbest radikal temizleme aktivitesini sunar. Numunelerin AA-DPPH serbest radikallerine karşı temizleme aktivitesi, kurutulmuş numune başına 7,65 ile 17,50 mg-TEAC arasında değişmiştir. AA-ABTS serbest radikaline karşı aktivite ise 19,21-103,14 mg TEAC/g-KB arasında ölçüldü. Test sonuçlarının her ikisi de pozitif korelasyon gösterdi ($r > 0,80$). AA-ABTS yöntemi, Tablo 4.20' de görüldüğü gibi AA-DPPH testinden daha yüksek antioksidan aktivite bulguları verdi. Floegel ve arkadaşları da bazı gıda ürünleri için AA-DPPH testine kıyasla AA-ABTS antioksidan aktivite testi ile daha iyi sonuçlar bildirmiştir [238]. Bu, AA-ABTS' nin daha önce bahsedildiği gibi daha fazla antioksidan ölçmeyi sağlamasıyla açıklanabilir. AA-ABTS testi ise hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidan sistemlerde kullanılabilen mavi AA-ABTS çözeltisinin üretilmesi üzerine kuruludur. AA-DPPH testi ise organik ortamda çözünmüş bir radikal kullanır. Bu nedenle hidrofobik sistemlere hizmet verebilir [238]. Ek olarak, Tablo 4.21' de gösterildiği gibi, AA-ABTS tarafından üretilen antioksidan aktivite sonuçları, TFM ile daha yüksek bir pozitif korelasyon bildirmiştir ($r = 0,4827$ ' ye karşı 0,3085). Bu, flavonoidlerin

Moringa oleifera yaprak ekstraktının antioksidan aktivitesi üzerinde daha fazla etkiye sahip olduğunu göstermektedir [240].

Tablo 4.21: OÇE yönteminde değişkenler arasındaki korelasyon.

Yöntem	Y	X	Denklem Y=aX+b	R ²
OÇE	TPM	TFM	Y=-1,3133X+135,88	0,0550
		AA-DPPH	Y=-0,7101X+31,276	0,0062
		AA-ABTS	Y=-0,0185X+30,163	0,0048
	TFM	TPM	Y=-1,3133X+135,88	0,0550
		AA-DPPH	Y=6,7197X+20,167	0,3085
		AA-ABTS	Y=1,0416X+50,145	0,4827

4.4.2.1. Modelleme Çalışması ve Proses Parametrelerinin Etkisi

OÇE yöntemiyle ekstrakte edilen ilgili sistemler (TPM ve TFM) için ikinci dereceden modeller aşağıdaki denklemlerle ifade edilmiştir:

$$\text{OÇE-TPM} = 33,50 + 3,64A - 0,3072B - 0,0422C + 0,8496AB - 0,9392AC + 4,08BC + 2,43A^2 - 4,49B^2 - 6,3C^2 \quad 4.3$$

$$\text{OÇE-TFM} = 71,06 + 14,14A - 6,84B + 18,83C - 2,67AB - 3,72AC - 0,9496BC + 32,49A^2 - 21,41B^2 + 41,53C^2 \quad 4.4$$

Desing-Expert programı kullanılarak CYY' nin MKT'si ile üretilen istatistiksel analiz (ANOVA) bulguları, uygun istatistiksel değişkenlerle birlikte her cevap için Tablo 4.22' de sunulmaktadır.

Tablo 4.22: OÇE yöntemi kullanılarak *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen TPM ve TFM için varyans test sonuçları.

	Kaynak	Kareler Toplamı	Df	Ortalama kare	F-değeri	P-değeri Prob > F	
TPM	Model	620,13	9	68,90	9,27	0,0009	Önemli
	A-Yıkama süresi	132,25	1	132,25	17,79	0,0018	
	B-Parçacık boyutu	0,9435	1	0,9435	0,1269	0,7291	
	C-Çözücü konsantrasyonu	0,0178	1	0,0178	0,0024	0,9619	
	AB	5,77	1	5,77	0,7766	0,3989	
	AC	7,06	1	7,06	0,9491	0,3529	
	BC	132,94	1	132,94	17,88	0,0017	
	A ²	16,20	1	16,20	2,18	0,1707	
	B ²	55,47	1	55,47	7,46	0,0211	
	C ²	109,03	1	109,03	14,67	0,0033	
	Kalıntı	74,35	10	7,43			
	Uyum eksikliği	49,39	5	9,88	1,98	0,2359	Önemsiz
	Saf hata	24,96	5	4,99			
	Cor Toplam	694,48	19				
CV: %9,30		R ² =0,8929	Düzeltilmiş R _D ² =0,7966		Öngörülen R _O ² =0,0874		
TFM	Model	20968,77	9	2329,86	28,39	< 0,0001	Önemli
	A-Yıkama süresi	1998,24	1	1998,24	24,35	0,0006	
	B-Parçacık boyutu	468,51	1	468,51	5,71	0,0380	
	C-Çözücü konsantrasyonu	3545,20	1	3545,20	43,20	< 0,0001	
	AB	56,90	1	56,90	0,6934	0,4245	
	AC	110,77	1	110,77	1,35	0,2723	
	BC	7,21	1	7,21	0,0879	0,7729	
	A ²	2902,78	1	2901,78	35,37	0,0001	

B ²	1260,94	1	1260,94	15,37	0,0029	
C ²	4744,02	1	4744,02	57,81	< 0,0001	
Kalıntı	820,57	10	82,06			
Uyum eksikliği	529,97	5	105,99	1,82	0,2628	Önemsiz
Saf hata	290,60	5	58,12			
Cor Toplam	21789,35	19				
C.V: %9,30	R ² =0,9623	Düzeltilmiş R _D ² =0,9284		Öngörülen R _O ² =0,6365		

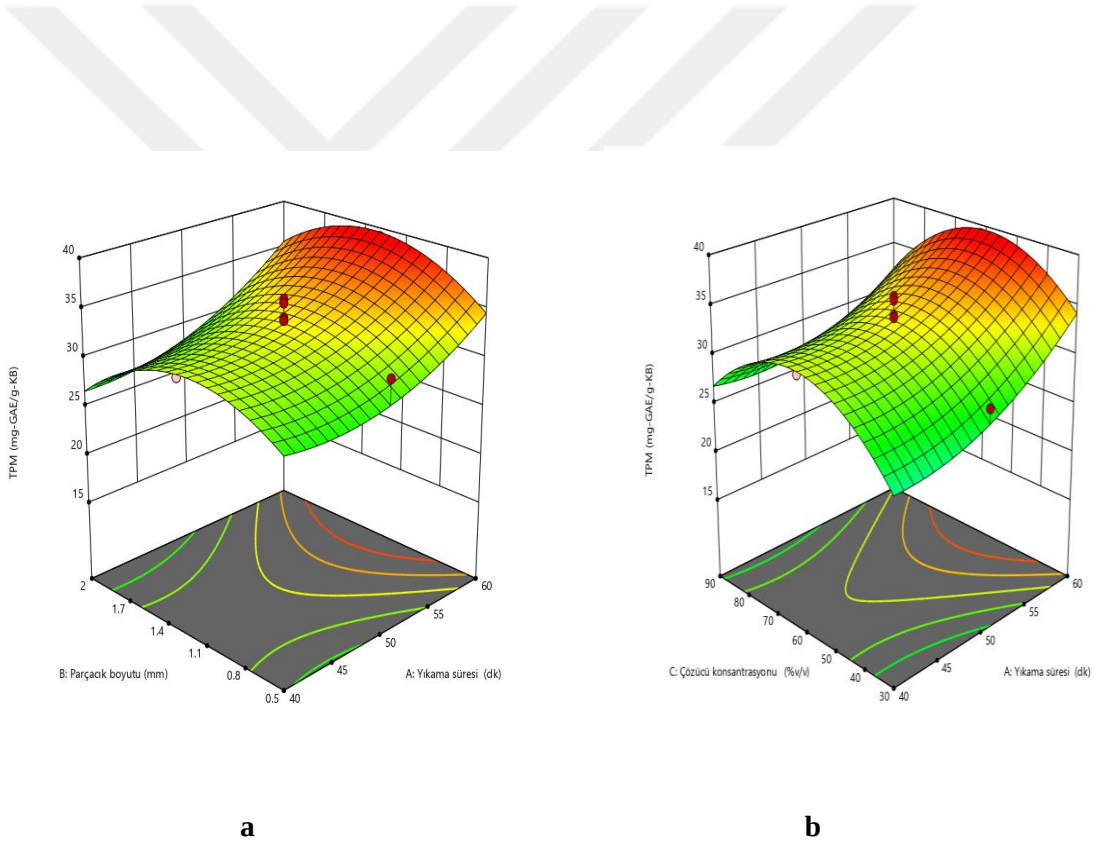
İkinci derece denklemlerin belirleme katsayıları tatmin edici görünmektedir ($R^2 > 0,89$). TPM ve TFM' nin R^2 si, Y değerlerindeki değişkenliklerin %89,29 ve %96,23' ünün önerilen model denklemleri ile açıklanabileceğini göstermektedir. TPM ve TFM' nin düzeltilmiş R_D^2 si %79,66 ve %92,84 idi. Ayrıca, R^2 miktarları, düzeltilmiş R_D^2 miktarları ile makul bir uyum içinde olup, türetilmiş modellerin önemini desteklemektedir [248]. TPM ve TFM için tahmin edilen R_O^2 %8,74 ve %63,65 idi. R^2 , beklendiği gibi düzeltilmiş R_D^2 ye yakın değil; yani fark 0,2' den fazladır. Bu, büyük bir blok etkisini veya model veya verilerle ilgili olası bir sorunu gösterebilir. Model azaltma, cevap dönüştürme, aykırı değerler dikkate alınması gereken işlemlerdir. Tüm ampirik modeller, doğrulama çalışmaları yapılarak test edilmelidir. Adeq Precision, sinyal-gürültü oranını ölçmektedir. 4' ten büyük bir oran arzu edilir. TPM için 12,547 ve TFM için 18,824' lük yeterli hassasiyet, yeterli bir sinyali gösterir. Bu model, tasarım alanında gezinmek için kullanılabilir. Ayrıca CV, 10' dan küçükse modellerin tekrarlanabilirliğini gösteren önemli bir katsayıdır. Elde edilen CV değerinin hem TPM hem de TFM için %9,3 olduğu keşfedilmiştir. Bu modelin tekrarlanabilir olduğu anlamına gelir. Elde edilen sonuçlara göre model, optimizasyon ve tahmin için kullanılabilecek iyi bir modeldir.

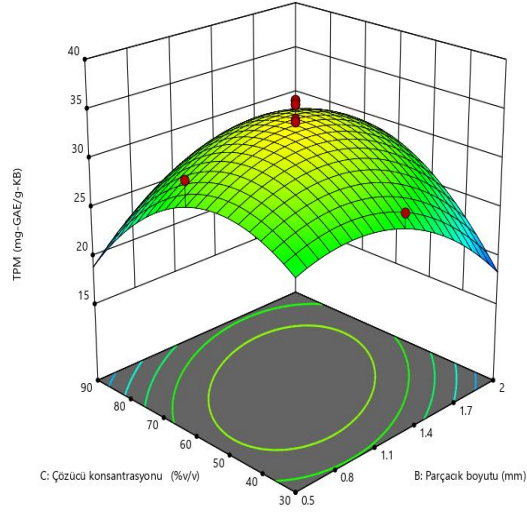
Ek olarak, MKT tabanlı modelden türetilen TPM ve TFM için uyum değerlerinin eksikliği anlamlı bulunmamıştır ($P > 0,05$) ve sistemin modele uyması için arzu edilir olduğunu göstermektedir. TPM için 1,98 ve TFM için 1,82' lik Uyum Eksikliği F değeri, Uyum Eksikliğin saf hataya göre önemli olmadığını ima eder. Gürültü nedeniyle bu kadar büyük bir Eksik F-değerinin meydana gelme olasılığı %23,59 ve %26,28' dir. Önemsiz olmayan uyum eksikliği kabul edilebilir.

TPM verimi için OÇE proses parametreleri göz önüne alındığında, ekstraksiyon süresi en etkili parametreydi ($P < 0,05$), ardından etanol konsantrasyonu ve partikül boyutu etkileşimi

bildirildi. Çözücü konsantrasyonunun ve partikül boyutunun etkileri de istatistiksel olarak anlamlıydı ($P < 0,05$). TFM' ye gelince, ikinci derece etanol konsantrasyonu en önemli parametreydi ve bunu etanol konsantrasyon etkisi izlemektedir ($P < 0,0001$). OÇE ile *Moringa oleifera* yaprak ekstraksiyonundan TFM' nin geri kazanılması için zaman ve partikül boyutu da istatistiksel olarak etkiliydi ($P < 0,05$).

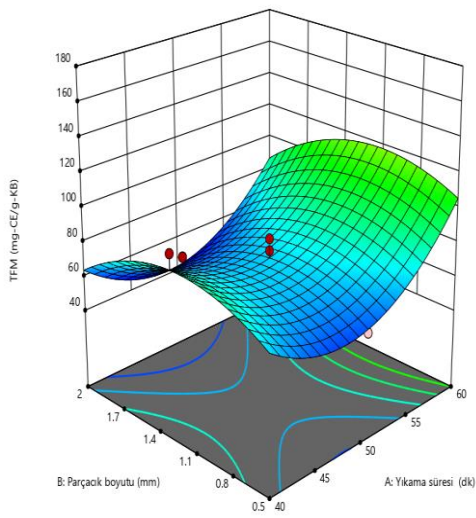
Ayrıca, *Moringa oleifera* yapraklarından otomatik çözücü ekstraksiyon yöntemi ile aktif maddelerin ekstraksiyonunda görsel olarak bağımsız uygulamaların cevap değerleri üzerindeki etkisi incelenmiştir. Şekil 4.19-4.20, bağımsız faktörlerin OÇE üzerindeki etkilerini üç boyutlu görseller ile göstermektedir.



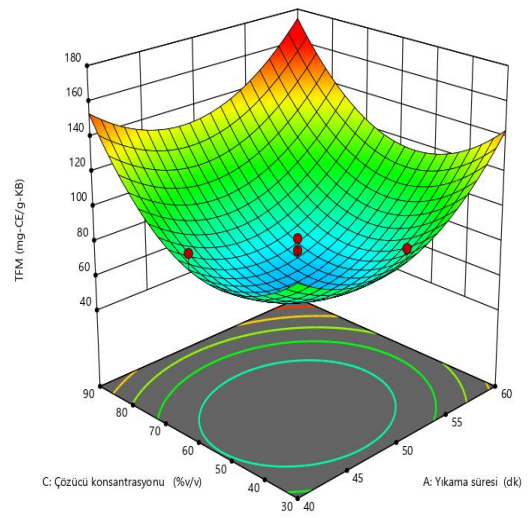


c

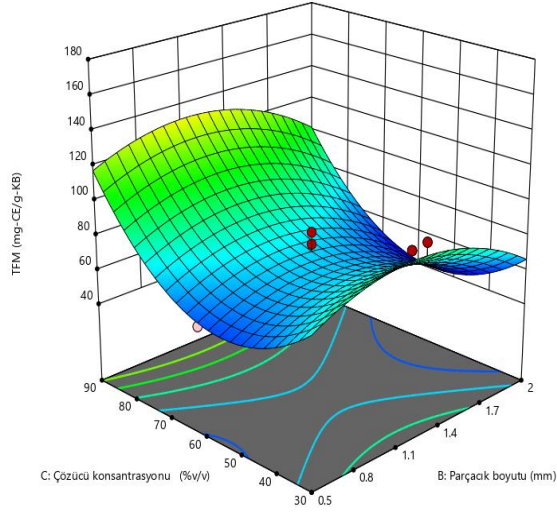
Şekil 4.19: OCE ile elde edilen TPM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) partikül boyutu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60); (b) çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (partikül boyutu = 1,25 mm); (c) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (ekstraksiyon süresi = 50 dk).



a



b



c

Şekil 4.20: OÇE ile elde edilen TFM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) partikül boyutu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60); (b) çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (partikül boyutu = 1,25 mm); (c) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (ekstraksiyon süresi = 50 dk).

Cevap yüzeyi veya 3 boyutlu (3D) çizimler Denklem (4.3) ve (4.4) ile oluşturulmuştur. Şekil 4.19a ve 4.20a' da görüldüğü gibi zamanın sistemler üzerinde olumlu bir etkisi vardır. Çözücü sistemindeki etanol konsantrasyonunun artırılması, her iki bağımlı değişkeni de (TPM ve TFM) hafifçe arttırdı. Yıkama ekstraksiyon süresinin artırılması, her iki verimi de düzenli olarak artırdı. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile şeftali atıklarından fenolik ve antosiyanin açısından zengin ekstraktın ekstraksiyonunda da benzer bir durum gözlenmiştir [249]. Beklendiği gibi, müdahale süresi ile artan termal etki nedeniyle hammadde daha fazla ısınmaya maruz kalmıştır. Bu nedenle, bu parametredeki bir artışın işlenmiş numuneye sağlanan enerji miktarını arttırdığı bilindiğinden verimlilikte bir artış beklenir. TPM açısından etanol etkisi dikkate alındığında etanol oranındaki artış başlangıçta verimi artırmıştır (Şekil 4.19b). Belirli bir değerden sonra (yaklaşık %70) etanol miktarının artması ile çözücünün TPM ekstraksiyondaki başarısı azalmaya başlamıştır. Benzer şekilde, Yang ve arkadaşları, etanol konsantrasyonu %30' dan %70' e yükseldiğinde *Phyllanthus emblica* L. kabuğunun fenolik içeriğinde bir artış ve ardından %70 etanol çözeltisinden sonra bir düşüş gözlemledi [250]. Bu

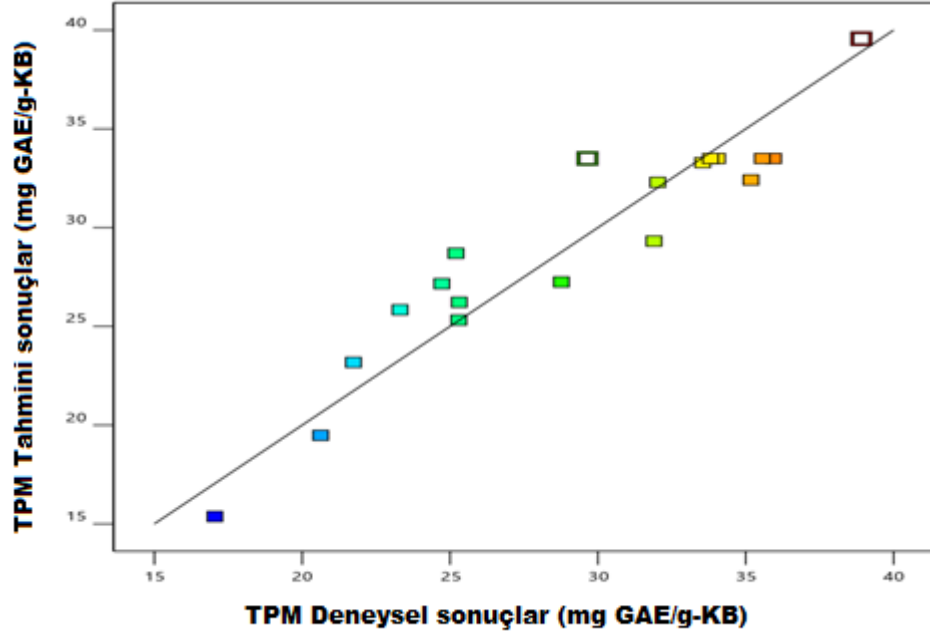
durumu, fazla etanolün fenolik ekstraksiyon zararlı etkiye neden olması nedeniyle denatürasyon sorunu olarak yorumlamışlardır. Etanol konsantrasyonunun TFM üzerinde sürekli artan bir etki gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4.20b). Çözücü sisteminde fazla su bulunması, suda yaşayan ancak alkolde olmayan mikroorganizmaların neden olduğu bozunma nedeniyle uygun görünmemektedir [251]. Başka bir açıklamaya göre bu konu, polifenollerin suda aktif olan ve alkolde aktif olmayan enzimler tarafından oksidasyonu ile açıklanmıştır [252]. Bu eğilim, şeker pancarı melasından TPM ekstrakte edilirken etanol konsantrasyonunun aynı etkisinin gözlemlendiği başka bir çalışma ile tutarlıdır [253]. Şekil 4.19c ve 4.20c, partikül boyutunun sırasıyla TPM ve TFM verimleri üzerindeki etkisini göstermektedir. Parçacık boyutunun artırılması, daha küçük tozlar aglomerasyona yol açtığından, başlangıçta daha yüksek bir verim sağladı [254]. Daha sonra, yüzey alanının kütle transferi olgusu nedeniyle her iki verim de azalmaya başladı.

4.4.2.2. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

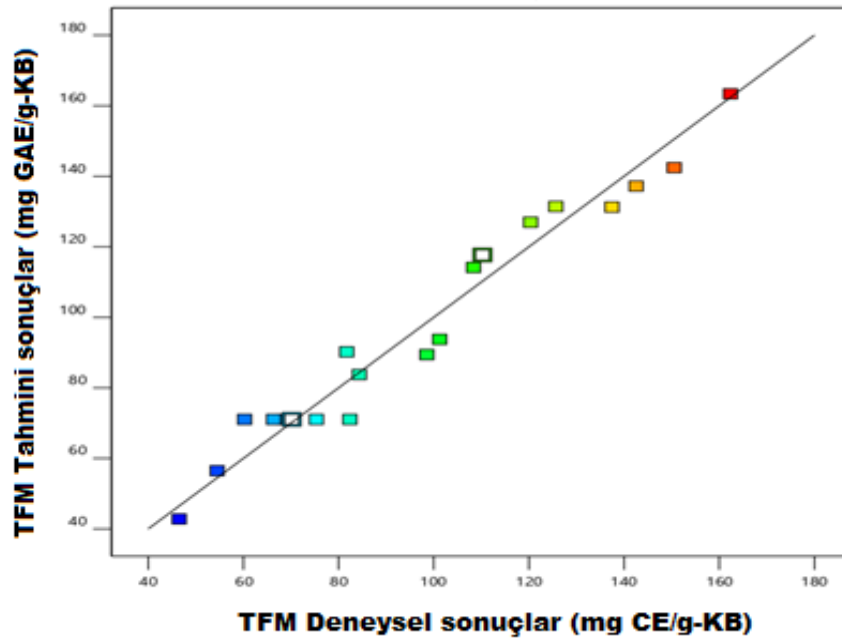
Tablo 4.23, bu optimum koşullar altında hesaplanan optimum koşulları ve maksimum cevap değerlerini gösterir. Şekil 4.21, TPM ve TFM için beklenen sonuçlara karşı gerçek sonuçları gösterir. Tablo 4.24, OÇE yöntemiyle ekstrakte edilen TPM ve TFM' nin gerçek ve tahmin edilen değerleri arasındaki ilişkiyi temsil eden denklemleri açıklamaktadır. Türetilmiş model denklemlerinin güvenilirlik derecesini ölçmek için R^2 ve RMSE hesaplanmıştır.

Tablo 4.23: OÇE için optimum koşulların doğrulama sonuçları.

Optimum Ekstraksiyon Koşulları			Cevap	Öngörülen	Deneysel	SD	CV	Hata oranı
A (dk)	B (mm)	C (%, v/v)						
60	1,25	87	TPM	34,201	33,55	3,46	10	<2 %
			TFM	162,349	159,60	11,49	7,07	



a



b

Şekil 4.21: TPM ve TFM için gerçek bulgulara karşı öngörülen bulgular (a) TPM; (b) TFM.

Tablo 4.24: OÇE yöntemi için elde edilen model denklemlerinin güvenilirlik kriterleri.

Cevap	Yöntem	Denklem	R ²	RMSE
TPM	OÇE	$Y=0,8929X+3.1374$	0,8928	1,930
TFM	OÇE	$Y=0,9624X+3.6605$	0,9623	6,40

En yüksek TPM ve TFM verimlerini elde etmek için optimum koşullar Tablo 4.23' te verilmiştir. Optimum koşullar, en iyi ekstrakt verimleri (34,201 mg-GAE/g-KB TPM ve 162,349 mg-CE/g-KB TFM) için 60 dk' lık ekstraksiyon süresi, 1,25 mm partikül boyutu ve %87 (v/v) etanol çözeltisidir. Yazılım ile doğrulama deneyleri de yapılmıştır. Gerçek ve tahmin edilen değerler arasındaki fark (< %2), ikinci derece modellerin kabul edilebilirliğini doğrular. Aslında Şekil 4.21 de bu durumu görsel olarak açıklamaktadır. Tablo 4.24' te TPM ve TFM' nin gerçek ve tahmin edilen değerleri arasındaki korelasyon ($R^2 < 0,98$) ve RMSE (TPM için 1,93 ve TFM için 6,40) değerleri de gayet tatmin edicidir.

4.4.3. Mikrogalga Destekli Ekstraksiyon

Tablo 4.25, söz konusu bitkisel metaryelden biyoaktif maddelerin HDE ile ekstraksiyonu için kullanılan parametreleri ve seviye değerlerini göstermektedir. Tablo 4.26 ise MKT ile tasarlanan koşullarda elde edilen deneysel ve tahmini verileri (TPM ve TFM açısından) göstermektedir.

Tablo 4.25: *Moringa Oleifera*'dan biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için MDE' nin işlem parametreleri.

Parametre	Sembol	Seviye ile kod		
		-1	0	1
Ekstraksiyon Süre (sn)	A	100	250	400
Mikrodalga Gücü (Watt)	B	200	350	500
Çözücü konsantrasyonu (% v/v)	C	30	60	90
Parçacık boyutu (mm)	D	0,5	1,25	2

Tablo 4.26: *Moringa oleifera* yapraklarına uygulanan MDE metodunun MKT ile oluşturulan deneysel sonuçları*.

	A	B	C	D	Deneysel TPM (mg-GAE/g-KB)	Öngörülen TPM (mg-GAE/g-KB)	Deneysel TFM (mg-CE/g-KB)	Öngörülen TFM (mg-CE/g-KB)
1	400	350	60	1,25	19,45±0,016	19,12±0,016	37,20±0,001	37,98±0,001
2	250	350	60	1,25	18,15±0,009	18,69±0,009	31,48±0,002	32,93±0,002
3	400	200	90	0,5	12,17±0,009	11,82±0,009	115,10±0,001	112,60±0,000
4	100	200	90	2	2,050±0,001	0,88±0,001	3,20±0,000	2,13±0,000
5	100	500	30	0,5	18,05±0,011	16,89±0,011	47,10±0,001	46,65±0,001
6	400	200	30	2	17,51±0,014	17,05±0,014	47,10±0,000	46,48±0,000
7	250	200	60	1,25	19,44±0,024	18,41±0,024	26,50±0,001	25,25±0,001
8	250	500	60	1,25	19,55±0,018	20,18±0,018	34,72±0,000	36,08±0,000
9	250	350	60	1,25	19,50±0,011	18,69±0,011	32,21±0,000	32,93±0,000
10	250	350	60	2	18,80±0,006	17,60±0,006	23,20±0,000	22,95±0,000
11	400	500	90	0,5	13,88±0,009	13,10±0,009	109,94±0,000	108,30±0,000
12	250	350	90	1,25	9,020±0,006	8,47±0,006	54,49±0,001	57,38±0,001
13	100	200	30	2	11,19±0,008	12,32±0,008	34,47±0,001	36,32±0,001
14	250	350	60	1,25	19,50±0,011	18,69±0,011	33,20±0,000	32,93±0,000
15	250	350	60	0,5	19,74±0,015	20,54±0,015	57,20±0,001	57,56±0,001
16	100	350	60	1,25	14,71±0,006	14,65±0,006	25,20±0,000	24,53±0,000
17	400	500	30	0,5	17,56±0,011	18,48±0,011	47,10±0,001	47,97±0,001
18	250	350	60	1,25	18,52±0,014	18,69±0,014	35,20±0,000	32,93±0,000
19	400	200	90	2	6,720±0,010	8,23±0,010	27,10±0,000	27,72±0,000
20	100	500	90	0,5	8,680±0,001	8,89±0,001	91,10±0,002	91,52±0,002
21	250	350	60	1,25	17,23±0,009	18,69±0,009	33,20±0,000	32,93±0,000
22	400	500	30	2	17,37±0,019	17,02±0,019	43,80±0,000	41,79±0,000
23	250	350	30	1,25	16,73±0,013	16,88±0,013	47,10±0,000	44,32±0,000
24	400	200	30	0,5	18,16±0,012	18,05±0,012	63,32±0,000	66,10±0,000
25	250	350	60	1,25	18,06±0,011	18,69±0,011	32,59±0,000	32,93±0,000
26	100	200	30	0,5	14,37±0,011	14,15±0,011	36,10±0,000	34,14±0,000
27	100	500	30	2	14,48±0,001	14,59±0,001	59,96±0,001	62,28±0,001
28	100	500	90	2	3,540±0,003	3,99±0,003	44,52±0,006	41,91±0,006
29	100	200	90	0,5	4,610±0,012	5,309±0,012	63,00±0,000	65,18±0,000
30	400	500	90	2	9,070±0,009	9,04±0,009	35,10±0,001	36,86±0,001

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.26' da gösterildiği gibi MDE yöntemi ile ekstrakte edilen numunelerde ölçülen TPM değerleri 2,05 ile 19,74 mg-GAE/g-KB arasında değişirken, TFM 3,2 ile 115,1 mg-CE/g-KB arasında değişmektedir. Başka bir araştırmacı, MDE yöntemini kullanarak *Moringa oleifera* yapraklarının TPM miktarını inceledi. Buna göre, MDE ile saf metanol ile elde edilen *Moringa oleifera* yaprak özütlerinin TPM değerlerini 22,4 mg-Eq/g-KM ve %50 metanol ile 16,97 mg-Eq/g-KM olarak bildirmişlerdir [255].

Tablo 4.27' de MDE yöntemiyle üretilen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktının iki farklı yöntem (AA-DPPH ve AA-ABTS) kullanılarak incelenen antioksidan kapasite sonuçları yer almaktadır.

Tablo 4.27: MDE metodu ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları*.

	A	B	C	D	AA-DPPH (mg-TEAC/g-DP)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-DP)
1	400	350	60	1,25	10,83±0,002	35,42±0,018
2	250	350	60	1,25	10,87±0,000	34,98±0,008
3	400	200	90	0,5	16,05±0,003	79,70±0,008
4	100	200	90	2	4,60±0,001	15,22±0,004
5	100	500	30	0,5	10,36±0,001	30,28±0,018
6	400	200	30	2	10,43±0,001	27,78±0,004
7	250	200	60	1,25	10,85±0,001	32,76±0,016
8	250	500	60	1,25	10,82±0,001	35,30±0,021
9	250	350	60	1,25	10,87±0,001	34,30±0,028
10	250	350	60	2	10,77±0,001	34,48±0,026
11	400	500	90	0,5	17,73±0,017	86,50±0,033
12	250	350	90	1,25	10,70±0,012	56,78±0,016
13	100	200	30	2	8,77±0,026	22,26±0,020
14	250	350	60	1,25	10,78±0,002	35,77±0,025
15	250	350	60	0,5	10,67±0,001	37,73±0,001
16	100	350	60	1,25	9,95±0,022	28,78±0,003
17	400	500	30	0,5	10,21±0,000	29,80±0,033
18	250	350	60	1,25	10,65±0,001	31,77±0,007
19	400	200	90	2	9,41±0,011	49,61±0,010
20	100	500	90	0,5	11,74±0,032	63,99±0,019
21	250	350	60	1,25	10,62±0,001	31,61±0,020
22	400	500	30	2	10,16±0,005	29,73±0,020
23	250	350	30	1,25	10,15±0,002	30,83±0,025
24	400	200	30	0,5	10,13±0,001	32,30±0,028
25	250	350	60	1,25	10,66±0,006	37,22±0,040
26	100	200	30	0,5	10,06±0,006	28,20±0,012
27	100	500	30	2	9,97±0,001	28,23±0,008
28	100	500	90	2	4,86±0,036	36,99±0,015
29	100	200	90	0,5	6,28±0,003	36,91±0,011
30	400	500	90	2	11,43±0,017	64,92±0,023

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Antioksidan kapasite iki farklı yöntemle (AA-DPPH ve AA-ABTS) değerlendirildi. Numunelerin AA-DPPH serbest radikal süpürme aktivitesi, kurutulmuş numune başına 4,6 ile 17,73 mg-TEAC/g-KB arasında değişti. AA-ABTS serbest radikal aktivitesi 15,22-86,50 mg-TEAC/g-KB arasında ölçüldü. Tablo 4.27' de gösterildiği gibi test sonuçlarının her ikisi de pozitif korelasyon gösterdi ($r > 0,80$). AA-ABTS yöntemi, Tablo 4.27' de görüldüğü gibi AA-DPPH testinden daha yüksek antioksidan aktivite bulguları verdi. Akbari ve diğerleri, farklı koşullar altında MDE yöntemi ile çemen tohumlarından ekstrakte edilen antioksidan kapasiteyi açıklamıştır. AA-DPPH inhibisyonunun %85,79 ile %93,44 arasında değişmiş ve AA-ABTS inhibisyonunun %88,58 ile %96,14 arasında değiştiği gözlemlenmiştir [256]. Bu sonuç, AA-ABTS' nin bitkilerde ve gıdalarda antioksidan kapasiteyi değerlendirmede daha etkili olduğunu göstermiştir. Ek olarak, AA-ABTS tarafından üretilen antioksidan aktivite sonuçları, TFM ile

daha yüksek bir pozitif korelasyon vermiştir ($r = 0,5624$ ' e karşı $0,3954$). Bu, flavonoidlerin *Moringa oleifera* yaprağı ekstresi antioksidan aktivitesi üzerinde daha büyük bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.28: MDE yönteminde değişkenler arasındaki korelasyon.

Yöntem	Y	X	Denklem $Y=aX+b$	R^2
MDE	TPM	TFM	$Y=-0,0215X+15,576$	0,0096
		AA-DPPH	$Y=0,9622X+4,6069$	0,1982
		AA-ABTS	$Y=-0,0743X+17,467$	0,0508
	TFM	TPM	$Y=-0,0215X+15,576$	0,0096
		AA-DPPH	$Y=6,1818X+18,447$	0,3954
		AA-ABTS	$Y=1,1245X+2,2284$	0,5624

4.4.3.1. Modelleme çalışması ve proses parametrelerinin etkisi

MDE yöntemiyle ekstrakte edilen ilgili sistemler (TPM ve TFM) için ikinci dereceden modeller aşağıdaki denklemlerle ifade edilmiştir:

$$\begin{aligned} \text{MDE-TPM} = & 18,69 + 2,23A + 0,8867B - 4,20C - 1,47D - 0,5756AB + 0,6531AC \\ & + 0,2094AD + 0,2119BC - 0,1169BD - 0,6481CD - 1,81A^2 + 0,6082B^2 - 6,01C^2 + \\ & 0,3832D^2 \end{aligned} \quad 4.5$$

$$\begin{aligned} \text{MDE-TFM} = & 32,93 + 6,73A + 5,41B + 6,53C - 17,31D - 7,66AB + 3,86AC - \\ & 5,45AD + 3,46BC + 3,36BD - 16,31CD - 1,67A^2 - 2,26B^2 + 17,92C^2 + 7,33D^2 \end{aligned} \quad 4.6$$

Desing-Expert programı kullanılarak CYY' nin MKT'si ile üretilen istatistiksel analiz (ANOVA) bulguları, uygun istatistiksel değişkenlerle birlikte her cevap için Tablo 4.29' da sunulmaktadır.

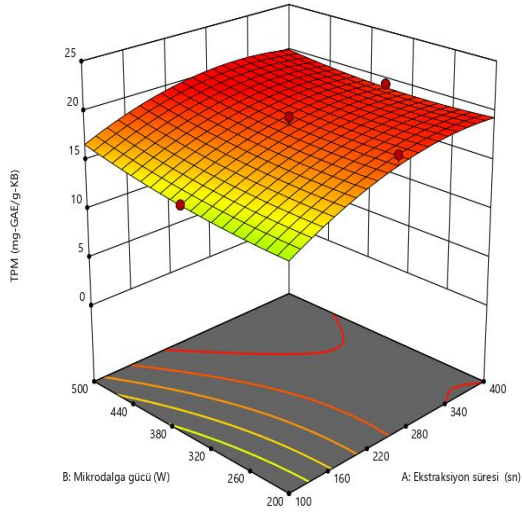
Tablo 4.29: MDE yöntemi kullanılarak *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen TPM ve TFM için varyans testi sonuçlarının analizi.

	Kaynak	Kareler Toplamı	D f	Ortalama Kare	F-değeri	P-değer Prob > F	
TPM	Model	803,87	14	57,42	50,24	< 0,0001	Önemli
	A-Süre	89,82	1	89,82	78,59	< 0,0001	
	B-Mikrodalga gücü	14,15	1	14,15	12,38	0,0031	
	C-Çözücü konsantrasyonu	318,19	1	318,19	278,40	<0,0001	
	D-Parçacık bouytu	38,98	1	38,89	34,11	<0,0001	
	AB	5,30	1	5,30	4,64	0,0479	
	AC	6,83	1	6,83	5,97	0,0274	
	AD	0,7014	1	0,7014	0,6137	0,4456	
	BC	0,7183	1	0,7183	0,6284	0,4403	
	BD	0,2186	1	0,2186	0,1912	0,6681	
	CD	6,72	1	6,72	5,88	0,0284	
	A ²	8,46	1	8,46	7,40	0,0158	
	B ²	0,9583	1	0,9583	0,8384	0,3743	
	C ²	93,64	1	93,64	81,93	<0,0001	
	D ²	0,3804	1	0,3804	0,3328	0,5726	
	Kalıntı	17,14	15	1,14			
	Uyum eksikliği	13,21	10	1,32	1,68	0,2946	Önemsiz
	Saf hata	3,93	5	0,7858			
	Cor Toplam	821,02	29				
	C.V: %7.33	R ² =0,9791	Düzeltilmiş R _D ² =0,9596			Öngörülen R _O ² =0,8814	
TFM	Model	16909,46	14	1207,82	226,38	< 0,0001	Önemli
	A-Süre	814,87	1	814,87	152,73	< 0,0001	
	B-Mikrodalga gücü	527,58	1	527,58	98,88	<0,0001	
	C-Çözücü konsantrasyonu	767,01	1	767,01	143,76	<0,0001	
	D-Parçacık bouytu	5391,03	1	5391,03	1010,41	<0,0001	
	AB	939,27	1	939,27	176,04	< 0,0001	
	AC	238,16	1	238,16	44,64	<0,0001	
	AD	475,35	1	475,35	89,09	< 0,0001	
	BC	191,06	1	191,06	35,81	<0,0001	
	BD	180,84	1	180,84	33,89	<0,0001	
	CD	4255,28	1	4255,28	797,55	<0,0001	
	A ²	7,24	1	7,24	1,36	0,2623	
	B ²	13,25	1	13,25	2,48	0,1359	
	C ²	832,32	1	832,32	156,00	<0,0001	
	D ²	139,15	1	139,15	26,08	0,0001	
	Kalıntı	80,03	15	5,34			
	Uyum eksikliği	72,00	10	7,20	4,48	0,0558	Önemsiz
	Saf hata	8,04	5	1,61			
	Cor Toplam	16989,49	29				
	C.V: %5.05	R ² =0,9953	Düzeltilmiş R _D ² =0,9909			Öngörülen R _O ² =0,9689	

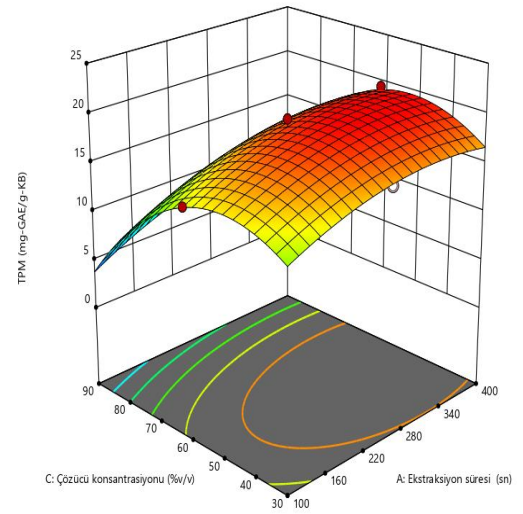
Tablo 4.29, P değerleri, TPM ve TFM için üretilen ikinci derece modellerin her ikisinin de istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ($P < 0,05$) ve deneysel bulgulara uygun olduğunu gösterir. Öte yandan, ikinci derece denklemlerin belirleme katsayıları tatmin edici görünmektedir ($R^2 > 0,97$). TPM ve TFM' nin R^2 si, Y değerlerindeki değişkenliklerin %97,91 ve %99,53' ünün önerilen model denklemleri ile açıklanabileceğini göstermektedir. TPM ve TFM' nin düzeltilmiş R_D^2 si %95,96 ve %99,09' du. Ayrıca, R^2 miktarları, düzeltilmiş R_D^2 miktarları ile makul bir uyum içinde olup, türetilmiş modellerin önemini desteklemektedir [248]. TPM ve TFM için tahmin edilen R^2 %88,14 ve %96,89 idi. Bu sonuçlar modelin yüksek önemini ve modelin uyum iyiliğini göstermektedir. Adeq Precision, sinyal-gürültü oranını ölçmektedir ve 4'ten büyük bir oran arzu edilir. TPM için 26,01 ve TFM için 67,62' lik yeterli hassasiyet, yeterli bir sinyali gösterir. Bu model, tasarım alanında gezinmek için kullanılabilir. Elde edilen CV değerinin TPM ve TFM için sırasıyla %7,33 ve %5,05 olduğu keşfedilmiştir ve modelin tekrarlanabilir olduğu anlamına gelir. Elde edilen sonuçlara göre model, optimizasyon ve tahmin için kullanılabilecek iyi bir modeldir. Ek olarak, Tablo 4.29' da gösterildiği gibi uyum değerlerinin eksikliği, sistemin modele uyması için arzu edilir olduğunu göstererek, önemsiz bulunmuştur ($P > 0,05$).

TPM verimi için MDE proses parametreleri göz önüne alındığında, çözücü konsantrasyonu ve çözücü konsantrasyonunun ikinci dereceden etkileri en etkili parametreydi ($P < 0,0001$), daha sonra ekstraksiyon süresi ve etanol konsantrasyonunun etkileşimi, etanol konsantrasyonu ve parçacık boyutu etkileşimi istatistiksel olarak bulundu ($P < 0,05$). Ekstraksiyon süresi, partikül boyutu, ekstraksiyon gücü ve ikinci ekstraksiyon süresi de istatistiksel anlamlı olarak bulundu ($P < 0,05$). Ek olarak, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon mikrodalga gücünün etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlıydı ($P < 0,05$). TFM' ye gelince, yalnızca etanol konsantrasyonu ve ikinci sıra etanol konsantrasyonu en önemli parametreydi ($P < 0,0001$). Daha sonra ekstraksiyon süresi ve etanol konsantrasyonunun etkileşimi istatistiksel olarak yapıldı ($P < 0,05$). Ekstraksiyon mikrodalga gücünün ve etanol konsantrasyonunun etkileşimi de istatistiksel olarak anlamlıdır ($P < 0,05$). Ayrıca ekstraksiyon süresi, ekstraksiyon mikrodalga gücünün, partikül boyutu, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon mikrodalga gücünün etkileşimi, ekstraksiyon süresi ve partikül boyutu etkileşimi, ekstraksiyon mikrodalga gücünün ve partikül boyutu etkileşimi ve partikül boyutunun kuadratik etkileri, MDE ile TFM' nin *Moringa oleifera* yaprak ekstraksiyonundan geri kazanılmasında istatistiksel olarak ($P < 0,05$) etkiliydi.

Ayrıca, mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile *Moringa oleifera* yapraklarından aktif maddelerin ekstrakte edilmesinde görsel olarak bağımsız uygulamaların cevap değerleri üzerindeki etkisi incelenmiştir (Şekil 4.22-4.23).

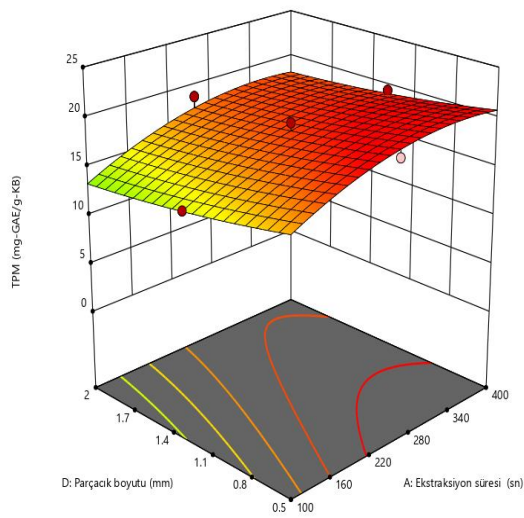


a

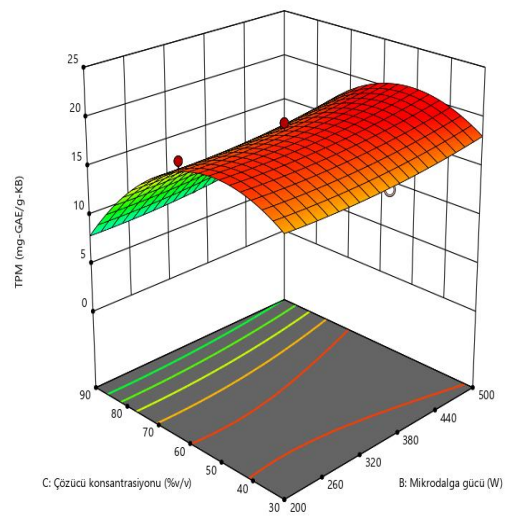


b

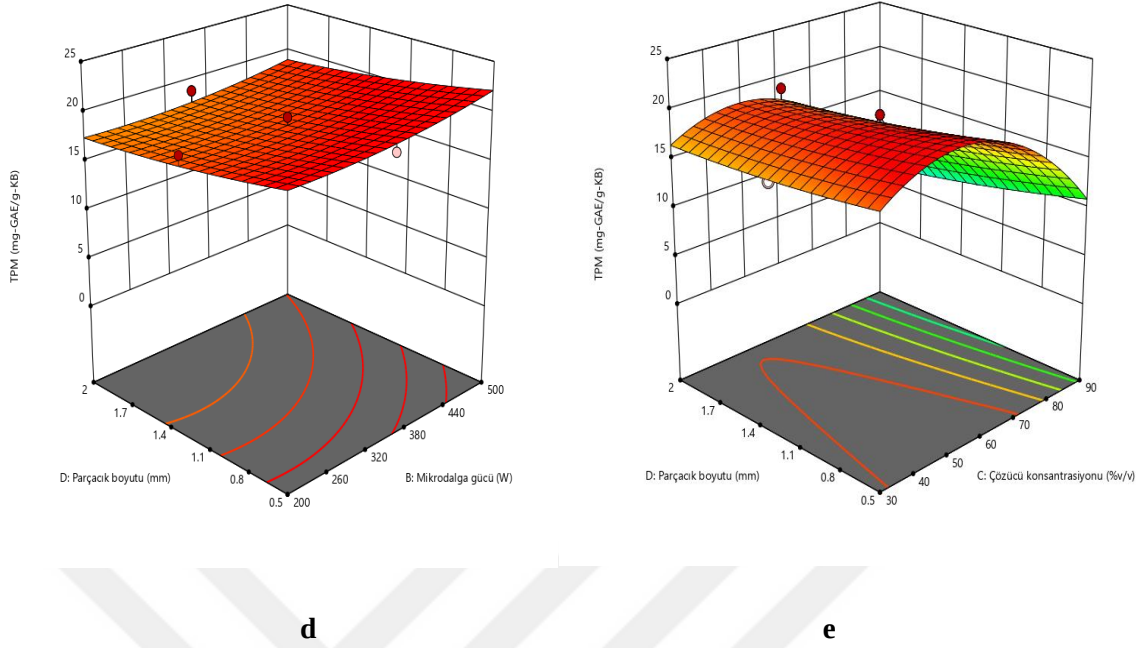
3D Surface



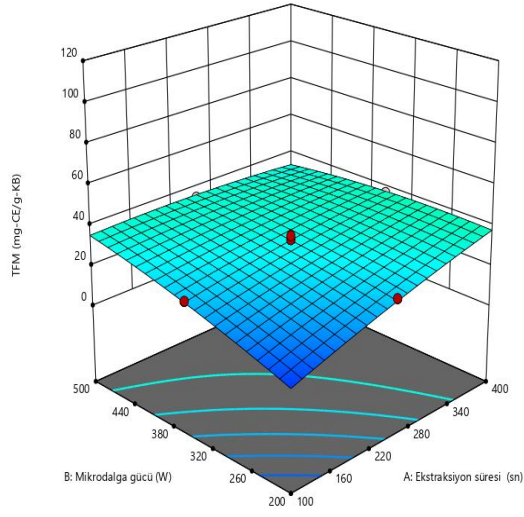
c



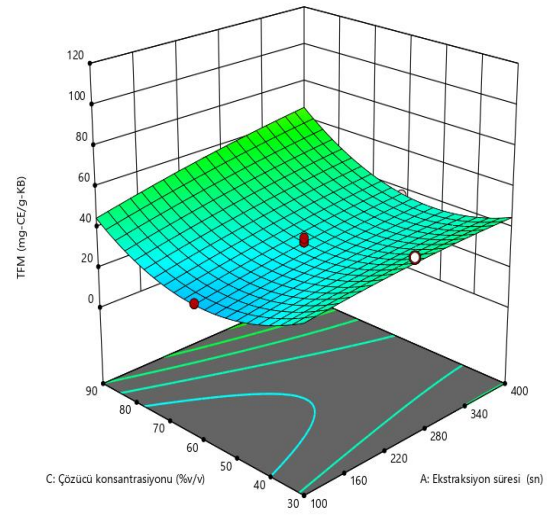
ç



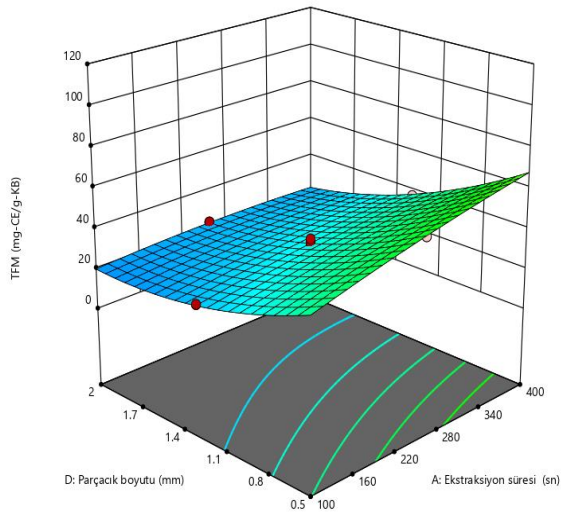
Şekil 4.22: MDE ile elde edilen TPM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) mikrodalga gücü ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve parçacık boyutu = 1.25 mm); (b) çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (mikrodalga gücü = 350 W ve parçacık boyutu = 1,25 mm); (c) partikül boyutu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve güç =350 W); (ç) çözücü konsantrasyonu ile mikrodalga gücü arasındaki ilişki (parçacık boyutu = 1,25 ve ekstraksiyon süresi = 250 sn); (d) mikrodalga gücü ile partikül boyutu arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve ekstraksiyon süresi =250 sn); (e) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (mikrodalga gücü= 350 W ve ekstraksiyon süre = 250 sn).



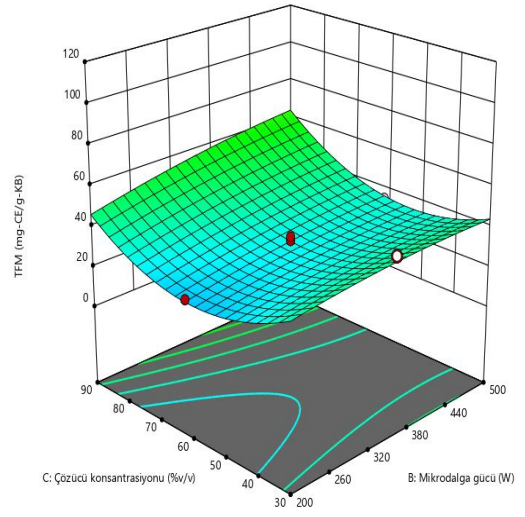
a



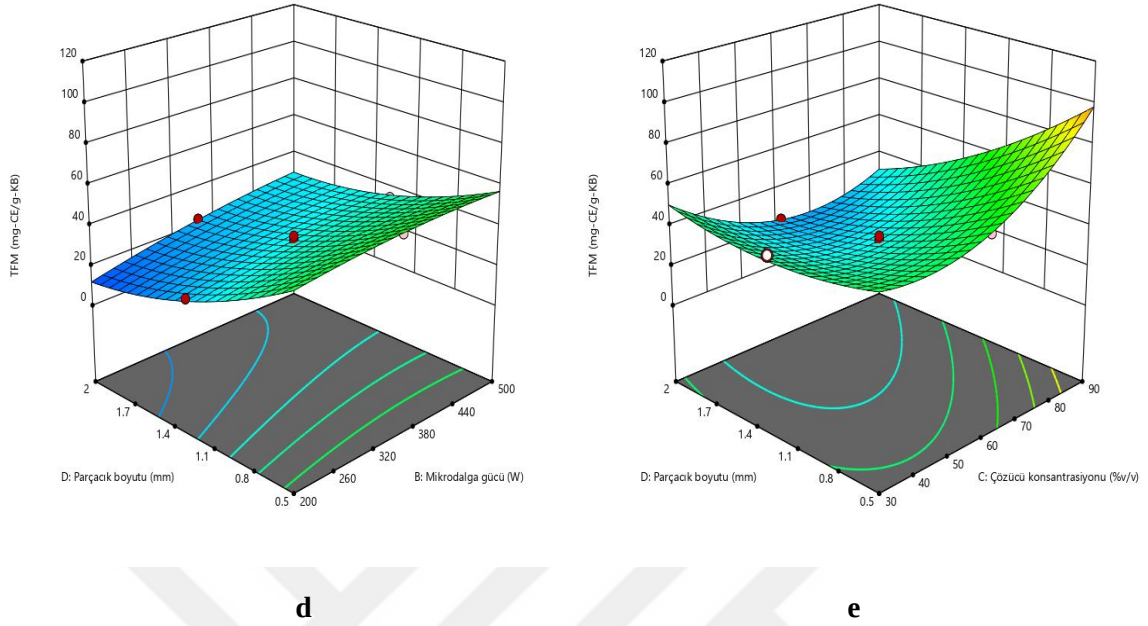
b



c



ç



Şekil 4.23: MDE ile elde edilen TFM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) mikrodalga gücü ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve parçacık boyutu = 1.25 mm); (b) çözücü konsantrasyonu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (mikrodalga gücü = 350 W ve parçacık boyutu = 1,25 mm); (c) partikül boyutu ile ekstraksiyon süresi arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve güç =350 W); (ç) çözücü konsantrasyonu ile mikrodalga gücü arasındaki ilişki (parçacık boyutu = 1,25 ve ekstraksiyon süresi = 250 sn); (d) mikrodalga gücü ile partikül boyutu arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60 ve ekstraksiyon süresi =250 sn); (e) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (mikrodalga gücü= 350 W ve ekstraksiyon süre = 250 sn).

Bağımsız faktörlerin cevaplar üzerindeki etkileri, model denklemleri ile üretilen üç boyutlu cevap yüzey çizimleri ile değerlendirilebilir. Şekiller (4.22-4.23), bir veya daha fazla bağımsız faktör sabit olduğunda MDE bağımsız değişkenlerinin TPM ve TFM üzerindeki etkilerini göstermektedir. Şekil 4.22-4.23' te gösterildiği gibi, ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon mikrodalga gücü, sistemler üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. TPM ve TFM, ekstraksiyon süresi (sn) ve mikrodalga gücündeki (W) artışla biraz artış göstermiştir. Şekil 4.22c ve 4.23c, sırasıyla partikül boyutunun TPM ve TFM verimleri üzerindeki etkisini gösterir. Parçacık boyutunun arttırılması, daha küçük tozlar aglomerasyona yol açtığından, başlangıçta daha yüksek bir verim sağlar [254]. Daha sonra, yüzey alanının kütle transferi fenomeni nedeniyle her iki verim de azalmaya başladı. Öte yandan, Şekil 4.22b, 4.22ç ve 4.22e' de gösterildiği gibi, TPM miktarı, etanol konsantrasyonunun yaklaşık %40-50' sinde en yüksek değere ulaşana kadar artan etanol konsantrasyonu ile kademeli olarak artmıştır. Bundan sonra TPM yavaş

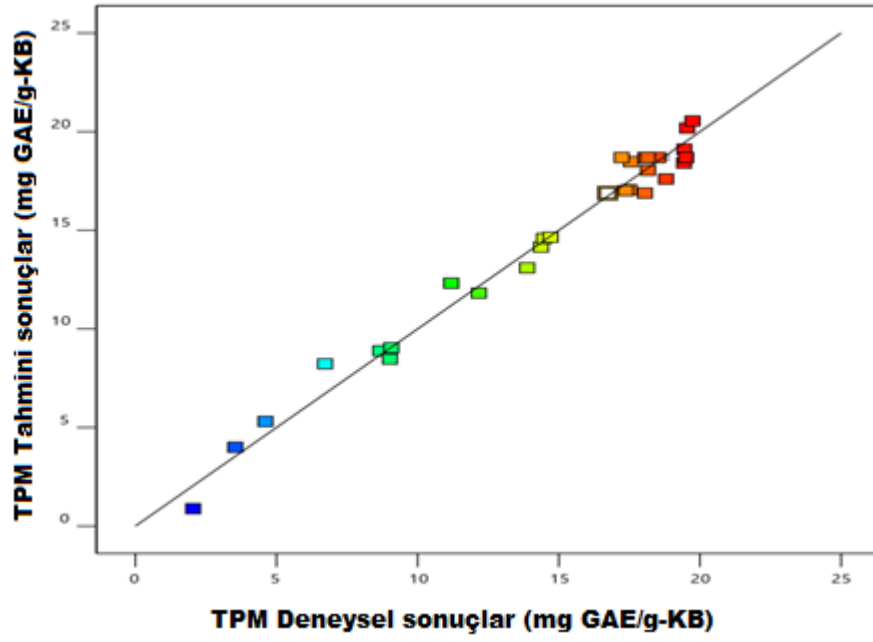
yavaş azalmaya başlamıştır. Ek olarak, Şekil 4.23b, 4.23ç ve 4.23e' de gösterildiği gibi, artan etanol konsantrasyonu ile birlikte TFM, etanol konsantrasyonu %60' a ulaşana kadar hafifçe azaldı, TFM önemli ölçüde artmaya başladı. Buna uygun olarak, Dahmoune ve diğ., etanol konsantrasyonu %20' den %40' a yükseldiğinde *Myrtus communis L.* yapraklarının fenolik içeriğinde bir artış ve ardından %40-50 etanol çözeltisinden sonra bir düşüş bildirmiştir [257]. Daha önce bahsedildiği gibi, yüksek etanol konsantrasyonları protein denatürasyonuna yol açarak polifenollerin çözünmesini önleyebilir ve ekstraksiyon oranını etkileyebilir. Öte yandan, su, hücreler için bir şişirme ajanı olduğu için polifenoller ve çözücü arasındaki temas yüzeyini arttırdığı için en iyi çözücülerden biri olarak kabul edilir [244].

4.4.3.2. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

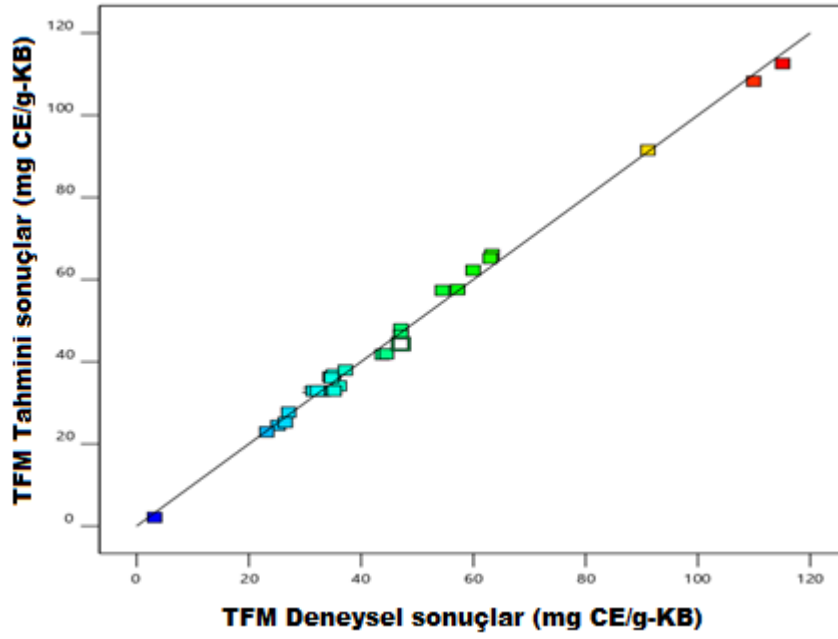
Tablo 4.30, hesaplanan optimum koşulları ve maksimum cevap değerlerini göstermektedir. Şekil 4.24, TPM ve TFM için beklenen sonuçlara karşı gerçek sonuçları göstermektedir. Tablo4.31, MDE yöntemiyle elde edilen TPM ve TFM' nin gerçek ve tahmin edilen değerleri arasındaki ilişkiyi temsil eden denklemleri açıklamaktadır. Türetilmiş model denklemlerinin güvenilirlik derecesini ölçmek için R^2 ve RMSE hesaplanmıştır.

Tablo 4.30: MDE için optimum koşulların doğrulama sonuçları.

Optimum Ekstraksiyon Koşulları				Cevap	Öngörülen	DeneySEL	SD	CV	Hata oranı
A (sn)	B (W)	C (%, v/v)	D (mm)						
400	200	72	0,5	TPM	18,835	18,45	1,07	5,68	<%2
				TFM	83,10	81,75	2,31	6,04	



a



b

Şekil 4.24: TPM ve TFM için gerçek bulgulara karşı öngörülen bulgular (a) TPM; (b) TFM.

Tablo 4.31: MDE yöntemi için elde edilen model denklemlerinin güvenilirlik kriterleri.

Cevap	Yöntem	Denklem	R ²	RMSE
TPM	MDE	$Y=0,9792X+0,3037$	0,9791	0,755
TFM	MDE	$Y=0,9955X+0,2094$	0,9953	1,63

En yüksek TPM (18.807 mg GAE/g-KB) ve TFM (83.236 mg CE/g-KB) verimlerini elde etmek için optimum koşullar Tablo 4.25' te verilmiştir. Optimum koşullar 400 sn ekstraksiyon süresi, 200 W ekstraksiyon mikrodalga gücü, %72 (v/v) çözücü konsantrasyonu ve 0,5 mm parçacık boyutudur. Yazılımın türetilmiş koşulları altında doğrulama deneyleri de yapıldı. Gerçek ve tahmin edilen değerler arasındaki fark (< %2), ikinci derece modellerin kabul edilebilirliğini doğrulamaktadır. Aslında Şekil 4.24 de bu durumu görsel olarak açıklamaktadır.

4.4.4. Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Tablo 4.32, söz konusu bitkisel metaryelden biyoaktif maddelerin HDE ile ekstraksiyonu için kullanılan parametreleri ve seviye değerlerini göstermektedir. Tablo 4.33 ise MKT ile tasarlanan koşullarda elde edilen deneysel ve tahmini verileri (TPM ve TFM açısından) göstermektedir.

Tablo 4.32: *Moringa Oleifera*'dan biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için UDE' nin işlem parametreleri.

Parametre	Sembol	Seviye ile kod		
		-1	0	1
Çözücü konsantrasyonu (% v/v)	A	30	60	90
Parçacık boyutu (mm)	B	0,5	1,25	2
Titreşimlerin genliği (%)	C	10	15	20

Tablo 4.33: *Moringa oleifera* yapraklarına uygulanan UDE metodunun MKT ile oluşturulan deneysel sonuçları*.

	A	B	C	Deneysel TPM (mg-GAE/g-KB)	Öngörülen TPM (mg-GAE/g-KB)	Deneysel TFM (mg-CE/g-KB)	Öngörülen TFM (mg-CE/g-KB)
1	90	2	10	1,05±0,000	0,23±0,000	49,26±0,002	50,45±0,002
2	60	1,25	20	11,30±0,014	10,70±0,014	22,01±0,000	22,27±0,000
3	60	1,25	10	8,67±0,009	9,28±0,009	11,54±0,000	11,49±0,000
4	30	0,5	10	16,00±0,015	15,64±0,015	34,27±0,002	35,03±0,002
5	90	1,25	15	1,900±0,005	2,27±0,005	79,70±0,001	79,99±0,001
6	60	1,25	15	9,92±0,005	10,44±0,005	13,97±0,000	15,19±0,000
7	60	1,25	15	10,48±0,007	10,44±0,007	14,52±0,002	15,19±0,002
8	60	1,25	15	10,11±0,009	10,44±0,009	23,28±0,002	15,19±0,002
9	60	0,5	15	14,25±0,012	13,69±0,012	30,13±0,000	31,29±0,000
10	90	2	20	1,55±0,000	1,90±0,000	76,21±0,000	75,39±0,000
11	60	1,25	15	10,30±0,001	10,44±0,001	13,29±0,002	15,19±0,002
12	30	1,25	15	12,63±0,009	12,28±0,009	23,77±0,003	23,69±0,003
13	90	0,5	10	3,55±0,003	3,88±0,003	112,90±0,002	111,60±0,002
14	30	0,5	20	16,00±0,014	16,82±0,014	32,88±0,004	31,63±0,004
15	60	1,25	15	10,31±0,010	10,44±0,010	13,28±0,000	15,19±0,000
16	90	0,5	20	4,20±0,017	3,97±0,017	99,65±0,002	100,20±0,002
17	60	2	15	7,96±0,003	8,53±0,003	5,540±0,004	4,59±0,004
18	30	2	10	7,16±0,002	7,39±0,002	7,10±0,000	6,46±0,000
19	30	2	20	10,49±0,007	10,15±0,007	38,20±0,001	39,41±0,001
20	60	1,25	15	11,56±0,016	10,44±0,016	13,28±0,000	15,19±0,000

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

UDE tarafından ekstrakte edilen numunelerdeki TPM, 1,05 ile 16 mg-GAE/g-KB arasında değişirken, TFM 5,54 ile 112,91 mg-CE/g-KB arasında değişmiştir (Tablo 4.33). Pollini ve diğerleri, UDE tarafından su ve metanol yoluyla elde edilen *Moringa oleifera* yapraklarının TPM değerlerini çözücü konsantrasyonuna bağlı olarak 3,9 ve 13,4 mg-GAE/g-KM olarak bildirmiştir [241]. Wu ve diğerleri UDE tarafından elde edilen *Moringa oleifera* yaprağı ekstrelerinin TFM değerlerinin 18 ile 53,2 mg-RE/g-KB arasında değiştiğini bildirmiştir [258].

Tablo 4.34' te UDE yöntemiyle üretilen *Moringa Oleifera* yaprak ekstraktının iki farklı yöntem (AA-DPPH ve AA-ABTS) kullanılarak incelenen antioksidan kapasite sonuçları yer almaktadır.

Tablo 4.34: UDE metodu ile eld edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırmalı sonuçları*.

	A	B	C	AA-DPPH (mg-TEAC/g-KB)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-KB)
1	90	2	10	6,35±0,000	11,48±0,001
2	60	1,25	20	8,67±0,007	20,96±0,002
3	60	1,25	10	8,16±0,030	12,29±0,037
4	30	0,5	10	8,14±0,036	17,94±0,060
5	90	1,25	15	7,60±0,009	14,37±0,009
6	60	1,25	15	8,50±0,005	15,20±0,010
7	60	1,25	15	8,56±0,000	14,07±0,046
8	60	1,25	15	8,46±0,000	15,96±0,046
9	60	0,5	15	8,90±0,002	23,91±0,018
10	90	2	20	8,29±0,001	15,85±0,007
11	60	1,25	15	8,51±0,002	16,06±0,054
12	30	1,25	15	8,53±0,002	17,42±0,048
13	90	0,5	10	9,97±0,001	22,20±0,015
14	30	0,5	20	8,72±0,000	24,94±0,012
15	60	1,25	15	8,57±0,006	17,60±0,029
16	90	0,5	20	8,73±0,012	26,10±0,018
17	60	2	15	6,75±0,015	14,91±0,013
18	30	2	10	7,15±0,000	13,75±0,008
19	30	2	20	8,22±0,004	17,39±0,041
20	60	1,25	15	8,70±0,001	17,80±0,022

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Numunelerin AA-DPPH serbest radikallerine karşı temizleme aktivitesi, kurutulmuş numune başına 6,35 ila 9,97 mg-TEAC arasında değişmiştir. AA-ABTS serbest radikale karşı aktivite ise 11,48-26,10 mg-TEAC/g-KB arasında ölçüldü. Tablo 4.34' te gösterildiği gibi test sonuçlarının her ikisi de pozitif korelasyon gösterdi ($r > 0,80$). Bu sonuca dayanarak, AA-ABTS' nin AA-DDPH kapasitesinden daha yüksek olması, AA-ABTS' nin daha önce bahsedildiği gibi daha fazla antioksidanın (hem hidrofik hem de hidrofilik) ölçülmesine izin vermesiyle açıklanabilir. Öte yandan AA-ABTS, TFM ile daha yüksek bir pozitif korelasyon verdi ($r = 0,1619$ ' a karşı $0,082$) (Tablo 4.35). Bu, flavonoidlerin *Moringa oleifera* yaprağı ekstresinin antioksidan aktivitesi üzerinde daha fazla etkiye sahip olduğunu göstermektedir [240].

Tablo 4.35: UDE yönteminde değişkenler arasındaki korelasyon.

Yöntem	Y	X	Denklem Y=aX+b	R ²
UDE	TPM	TFM	Y=-0,0875X+12,095	0,3722
		AA-DPPH	Y=1,8144X-6,0428	0,1035
		AA-ABTS	Y=0,3506X+2,8297	0,1026
	TFM	TPM	Y=-0,0875X+12,095	0,3722
		AA-DPPH	Y=11,340X-58,086	0,0820
		AA-ABTS	Y=3,0932X-18,423	0,1619

4.4.4.1. Modelleme Çalışması ve Proses Parametrelerinin Etkisi.

UDE yöntemiyle ekstrakte edilen ilgili sistemler (TPM ve TFM) için ikinci dereceden modeller aşağıdaki denklemlerle ifade edilmiştir:

$$\text{UDE-TPM} = 10,44 - 5,00A - 2,58B + 0,7110C + 1,15AB - 0,27251AC + 0,3975BC - 3,17A^2 + 0,6723B^2 - 0,4477C^2 \quad 4.7$$

$$\text{UDE-TFM} = 15,20 + 28,15A - 13,35B + 5,39C - 8,15AB - 2,00AC + 9,09BC + 36,35A^2 + 2,75B^2 + 1,69C^2 \quad 4.8$$

Desing-Expert programı kullanılarak CYY' nin MKT'si ile üretilen istatistiksel analiz (ANOVA) bulguları, uygun istatistiksel değişkenlerle birlikte her cevap için Tablo 4.36' de sunulmaktadır.

Tablo 4.36: UDE yöntemi kullanılarak *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen TPM ve TFM için varyans test sonuçlarının analizi.

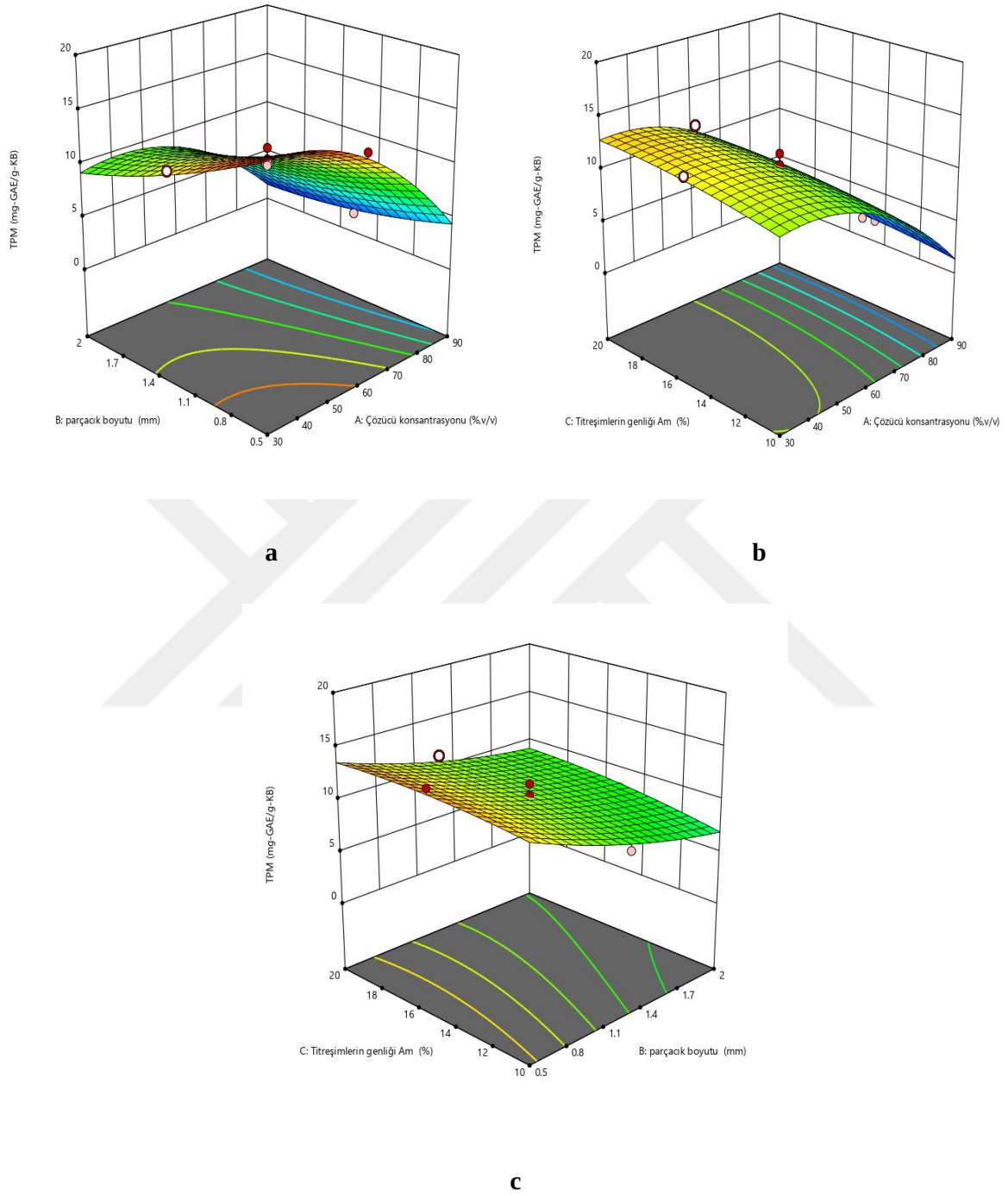
	Kaynak	Kareler Toplamı	Df	Ortalama kare	F-değeri	P-değeri Prob > F	
TPM	Model	381,67	9	42,41	81,14	< 0,0001	Önemli
	A-Çözücü konsantrasyonu	250,30	1	250,30	478,90	<0,0001	
	B-Parçacık boyutu	66,51	1	66,51	127,26	<0,0001	
	C- Titreşimlerin genliği	5,06	1	5,06	9,67	0,0111	
	AB	10,58	1	10,58	20,24	0,0111	
	AC	0,5940	1	0,5940	1,14	0,3114	
	BC	1,26	1	1,26	2,42	0,1510	
	A ²	27,59	1	27,59	52,80	<0,0001	
	B ²	1,24	1	1,24	2,38	0,1541	
	C ²	0,5513	1	0,5513	1,05	0,3286	
	Kalıntı	5,23	10	0,5227			
	Uyum eksikliği	3,55	5	0,7110	0,4732	0,7845	Önemsiz
	Saf hata	1,67	5	0,3343			
	Cor Toplam	386,89	19				
C.V: %8,06		R ² =0,9865	Düzeltilmiş R _D ² =0,9743		Öngörülen R _O ² =0,8620		
TFM	Model	18994,00	9	2110,44	237,78	< 0,0001	Önemli
	A-Çözücü konsantrasyonu	7924,79	1	7924,79	892,86	< 0,0001	
	B-Parçacık boyutu	1783,03	1	1783,03	200,89	< 0,0001	
	C- Titreşimlerin genliği	290,20	1	290,20	32,70	0,0002	
	AB	532,03	1	532,03	59,94	< 0,0001	
	AC	32,08	1	32,08	3,61	0,0865	
	BC	660,66	1	660,66	74,43	< 0,0001	
	A ²	3693,59	1	3693,59	416,15	< 0,0001	
	B ²	20,78	1	20,78	2,34	0,1570	
	C ²	7,84	1	7,84	0,8835	0,3694	
	Kalıntı	88,76	10	8,88			
	Uyum eksikliği	10,50	5	2,10	0,1342	0,9771	Önemsiz
	Saf hata	78,25	5	15,65			
	Cor Toplam	19082,76	19				
C.V: %8,34		R ² =0,9953	Düzeltilmiş R _D ² =0,9912		Öngörülen R _O ² =0,9844		

Tablo 4.36 P değerleri, TPM ve TFM için oluşturulan ikinci derece modellerin her ikisinin de istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ($P < 0,05$) ve deneysel bulgulara uygun olduğunu gösterir. Öte yandan, ikinci derece denklemlerin belirleme katsayıları tatmin edici görünmektedir ($R^2 > 0,98$). TPM ve TFM'nin R^2 ' si, Y değerlerindeki değişkenliklerin %98,65 ve %99,53' ünün önerilen model denklemleri ile açıklanabileceğini göstermektedir. TPM ve TFM'nin düzeltilmiş R^2 'si %97,34 ve %99,12 idi. Ayrıca, R^2 miktarları, düzeltilmiş R_D^2 miktarları ile makul bir uyum içinde olup, türetilmiş modellerin önemini desteklemektedir [248]. TPM ve TFM için tahmin edilen R^2 %86,20 ve %98,44 idi Öngörülen R_O^2 , farkın 0,2' den fazla olduğu Düzeltilmiş

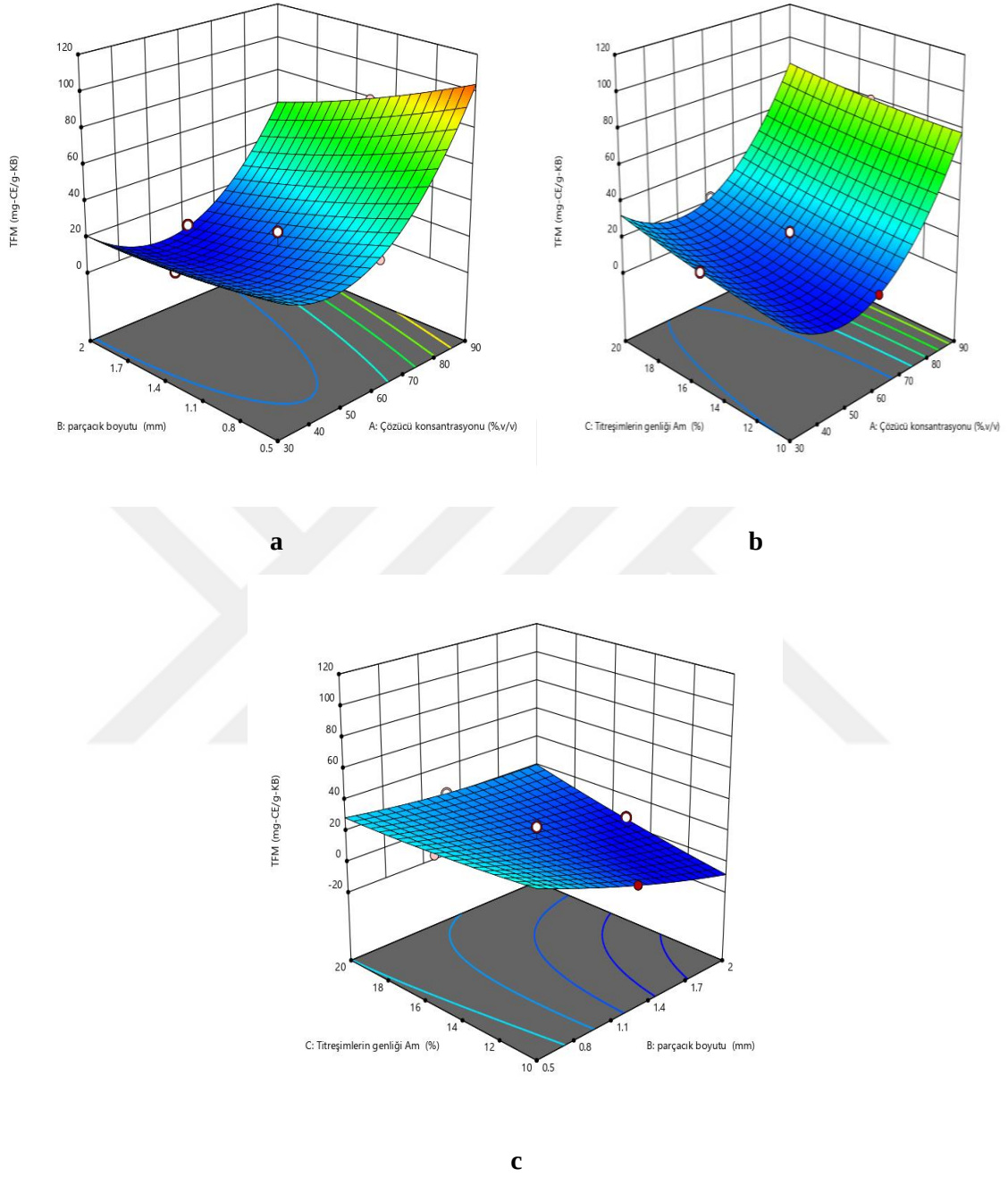
R^2 ile kapanıyor. Bu sonuçlar modelin yüksek önemini ve modelin uyum iyiliğini göstermektedir. Ayrıca Adeq Precision, sinyal-gürültü oranını ölçer. 4'ten büyük bir oran arzu edilmektedir. TPM için 32,4501 ve TFM için 50,82' lik yeterli hassasiyet, yeterli bir sinyali gösterir. Bu model, tasarım alanında gezinmek için kullanılabilir. Elde edilen CV değerinin TPM ve TFM için sırasıyla %8,06 ve %8,34 olduğu keşfedilmiştir. Modelin tekrarlanabilir olduğu anlamına gelir. Elde edilen sonuçlara göre model, optimizasyon ve tahmin için kullanılabilecek iyi bir modeldir. Ek olarak, MKT tabanlı modelden türetilen TPM ve TFM için uyum değerlerinin eksikliği, sistemin modele uyması için arzu edilir olduğunu gösteren anlamlı olmayan ($P > 0,05$) bulunmuştur. TPM için 2,13 ve TFM için 0,13 olan Eksik Uyum F değeri, Uyum Eksikliğinin saf hataya göre önemli olmadığını gösterir. Gürültü nedeniyle bu kadar büyük bir Eksik Uyum F-değerinin meydana gelme olasılığı %21,36 ve %97,71' dir. Önemli olmayan uyum eksikliği iyidir.

TPM verimi için UDE proses parametreleri göz önüne alındığında, etanol konsantrasyonu ve ikinci derece etanol konsantrasyonu en etkili parametreydi ($P < 0,05$), ardından etanol konsantrasyonu ve partikül boyutu etkileşimi meydana geldi. Parçacık boyutu ve genlik dalgalanması da istatistiksel olarak anlamlıydı ($P < 0,05$). TFM' ye gelince, etanol konsantrasyonu ve ikinci derece etanol konsantrasyonu en önemli parametreydi, bunu etanol konsantrasyonu ve partikül boyutu etkisinin etkileşimi izledi ($P < 0,0001$). Parçacık boyutu, genlik dalgalanması ve parçacık boyutunun genlik dalgalanması ile etkileşimi de UDE ile *Moringa oleifera* yaprak ekstraksiyonundan TFM' nin geri kazanılması için istatistiksel olarak ($P < 0,05$) etkiliydi.

Şekiller (4.25-4.26), bağımsız faktörlerin UDE' yi nasıl etkilediğini göstermektedir.



Şekil 4.25: UDE ile elde edilen TPM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (genlik= %15); (b) genlik ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (parçacık boyutu = 1.25 mm); (c) genlik ile partikül boyutu arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60).



Şekil 4.26: UDE ile elde edilen TFM bakımından zengin ekstraktın cevap yüzey grafiği (a) partikül boyutu ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (genlik= %15); (b) genlik ile çözücü konsantrasyonu arasındaki ilişki (parçacık boyutu = 1.25 mm); (c) genlik ile partikül boyutu arasındaki ilişki (çözücü konsantrasyonu = %60).

Ayrıca, bağımsız faktörlerin cevaplar üzerindeki etkileri, model denklemleri ile üretilen üç boyutlu cevap yüzey çizimleri ile değerlendirilebilir. Şekil 4.25 ve Şekil 4.26 bir veya daha

fazla bağımsız faktör sabit olduğunda UDE bağımsız değişkenlerinin TPM ve TFM üzerindeki etkilerini gösterir. Şekiller 4.25 ve 4.26 ' da gösterildiği gibi, genlik dalgalanmasının sistemler üzerinde olumlu bir etkisi vardır. TPM ve TFM, genlik dalgalanmasındaki (%) artışla biraz arttı. Poyraz ve diğerleri, elde edilen toplam fenoller için ultrasonik genliğin Citrus unshiu biyotatik üzerindeki yararlı etkisini tanımladılar [259]. Bu sonuca dayanarak, genlik titreşimindeki (ultrason gücü) artan sistem sıcaklığının artmasına neden olmuştur. Dolayısıyla kavitasyon hücre duvarları arttı, bu da kütle transferinin artmasına neden oldu [260].

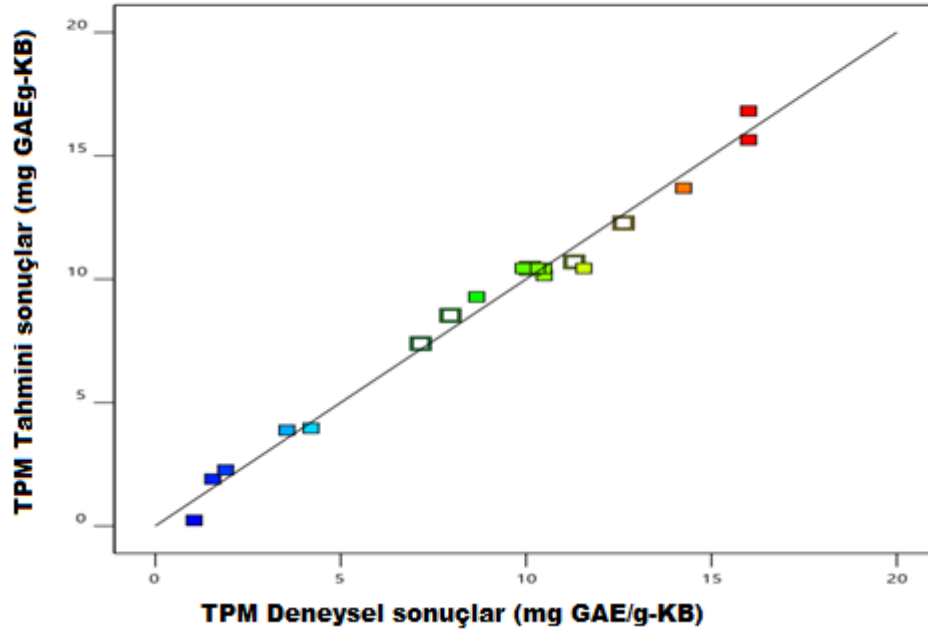
Şekil 4.25c ve 4.26c, parçacık boyutunun sırasıyla TPM ve TFM verimleri üzerindeki etkisini göstermektedir. Parçacık boyutunun arttırılması, daha küçük toz aglomerasyona yol açtığından, ilk başta daha yüksek bir verim vermiştir. Daha sonra, yüzey alanının kütle transferi fenomeni nedeniyle her iki verim de azalmaya başladı. Diğer yandan Şekil 4.25a ve 4.25b ' te görüldüğü gibi TPM miktarı fenol miktarı konsantrasyon 40'a ulaşana kadar hemen hemen sabit kalmış, daha sonra artan etanol konsantrasyonu ile TPM önemli ölçüde azalmaya başlamıştır. Ek olarak, Şekil 4.26a ve 4.26b' de gösterildiği gibi, artan etanol konsantrasyonu ile TFM, etanol konsantrasyonu %50' ye ulaşana kadar biraz azaldı, ardından TFM önemli ölçüde artmaya başladı. Artan etanol konsantrasyonu ile fenolik bileşiklerin azalması, *Moringa oleifera* yapraklarındaki fenolik bileşiklerin hidrofilik bileşikler olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, çözücü çözeltisindeki su oranının artmasıyla elde edilen fenolik bileşiklerin miktarı artar. Bununla birlikte, artan etanol konsantrasyonu ile flavonoid bileşiklerdeki artış, *Moringa oleifera* yapraklarındaki flavonoid bileşiklerin lipofilik olduğunu göstermiştir. Mengkudu'nun (*Morinda citrifolia*) TPM' sinin rapor edilen verimi, etanol konsantrasyonunun %40' ında maksimize edildi. Bu nedenle, artan etanol ile TFM verimi arttı ve %100 etanolde maksimum değere ulaştı [261].

4.4.4.2. Optimizasyon ve Validasyon Çalışmaları

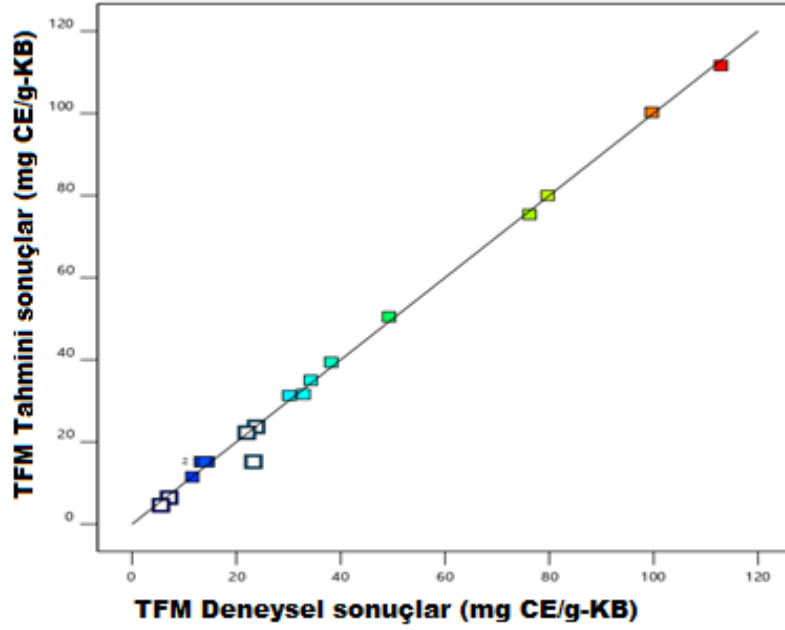
Tablo 4.37, hesaplanan optimum koşulları ve maksimum cevap değerlerini göstermektedir.

Tablo 4.37: UDE için optimum koşulların doğrulama sonuçları.

Optimum Ekstraksiyon Koşulları			Cevap	Öngörülen	Deneysel	SD	CV	Hata oranı
A (%,v/v)	B (mm)	C (%)						
77	0,5	11	TPM	8,670	8,514	0,723	8,3	<2
			TFM	69,467	68,22	2,97	4,3	



a



b

Şekil 4.27: TPM ve TFM için gerçek bulgulara karşı öngörülen bulgular (a) TPM; (b) TFM.

Tablo 4.38: UDE yöntemi için elde edilen model denklemlerinin güvenilirlik kriterleri.

Cevap	Yöntem	Denklem	R ²	RMSE
TPM	UDE	$Y=0,9866X+0,1196$	0,9864	0,5126
TFM	UDE	$Y=0,9951X+0,1672$	0,9953	2,107

En yüksek TPM (8,67 mg-GAE/g-KB) ve TFM (69,45 mg-CE/g-KB) verimlerini elde etmek için optimum koşullar Tablo 4.37' de verilmiştir. Optimum koşullar, en iyi ekstrakt verimleri için %77 (v/v) çözücü konsantrasyonu, 0,5 mm partikül boyutu ve %11 genlik titreşimdir. Yazılım ile doğrulama deneyleri de yapıldı. Gerçek ve tahmin edilen değerler arasındaki fark (< %2), ikinci derece modellerin kabul edilebilirliğini doğrular. Aslında Şekil 4.27 de bu durumu görsel olarak açıklamaktadır. TPM ve TFM' nin gerçek ve tahmin edilen değerleri arasındaki korelasyon ve RMSE değerleri tatmin edici bulunmuştur.

4.5. SABİLİZASYON ÇALIŞMALARI

Optimal koşullar kullanılarak elde edilen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktları, farklı koşullar altında saklandı. Sıcaklığın, ışığın ve asiditenin ekstraktların biyoaktif özellikleri üzerine etkisi incelenmiştir. Belirli zaman aralıklarında analiz edilerek fenolik profilin değişimi, toplam flavonoid miktarlarının değişimi ve antioksidan özelliklerin değişimi izlendi. Fiziksel özellik olan renkteki değişim izlenerek, biyoaktif özelliklerin %20-50' si FDA yönergelerine ve raf ömrüne göre bozulana kadar analizlere aralıklarla devam edilmiştir. TPM, 250 gün boyunca 2 günde bir incelendi, TFM her 2 günde bir, ardından 5 gün sonra 280 gün boyunca incelendi. Ek olarak, AA-DPPH ve AA-ABTS, 250-270 gün boyunca her 2 günde bir takip edildi.



4.5.1. HDE ile Elde Edilen Ekstraktların Depolama Çalışmaları

Numuneler HDE' nin optimum koşulları altında hazırlanmış ve farklı koşullar altında saklanmıştır (Tablo 4.39-4.40). TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özellikler analiz edildi.

Tablo 4.39: HDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TPM içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları	Stabilite süresi (gün)	TPM (mg-GAE/g-KB)	
		Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	17,50±0,001	12,10±0,001
	7	17,50±0,001	14,20±0,002
	10	17,50±0,001	12,40±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	17,40±0,001	14,90±0,002
	7	17,50±0,001	16,50±0,001
	10	17,35±0,002	14,80±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	17,50±0,003	14,20±0,002
	4	17,50±0,002	16,50±0,003
	-20	17,50±0,001	16,90±0,001
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	17,50±0,001	14,20±0,002
	Karanlık	17,50±0,001	15,50±0,003
	Normal oda aydınlatması	17,50±0,002	14,30±0,001

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.40: HDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TFM içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	TFM (mg-CE/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	280	268,80±0,004	132,30±0,002
	7	280	272,30±0,001	135,80±0,001
	10	280	272,30±0,002	135,30±0,005
PH 1 atm, 4 °C	3	280	268,80±0,001	198,80±0,002
	7	280	272,30±0,001	202,30±0,001
	10	280	272,30±0,002	202,30±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	280	272,30±0,003	135,80±0,002
	4	280	272,30±0,001	202,30±0,003
	-20	280	272,30±0,002	226,80±0,001
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	280	272,30±0,002	135,80±0,002
	Karanlık	280	272,30±0,002	191,80±0,003
	Normal oda aydınlatması	280	272,30±0,003	139,30±0,004

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.41: HDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının DPPH ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	AA-DPPH (mg-TEAC/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	270	7,741±0,003	4,760±0,001
	7	270	7,806±0,003	6,782±0,001
	10	270	7,767±0,002	4,812±0,003
PH 1 atm, 4 °C	3	270	7,741±0,002	5,278±0,002
	7	270	7,806±0,003	7,443±0,002
	10	270	7,767±0,003	5,330±0,001
Sıcaklık °C 1 atm	25	270	7,806±0,001	6,782±0,003
	4	270	7,806±0,002	7,443±0,003
	-20	270	7,806±0,001	7,612±0,001
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	270	7,806±0,001	6,782±0,001
	Karanlık	270	7,806±0,001	7,404±0,003
	Normal oda aydınlatması	270	7,806±0,001	6,808±0,001

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

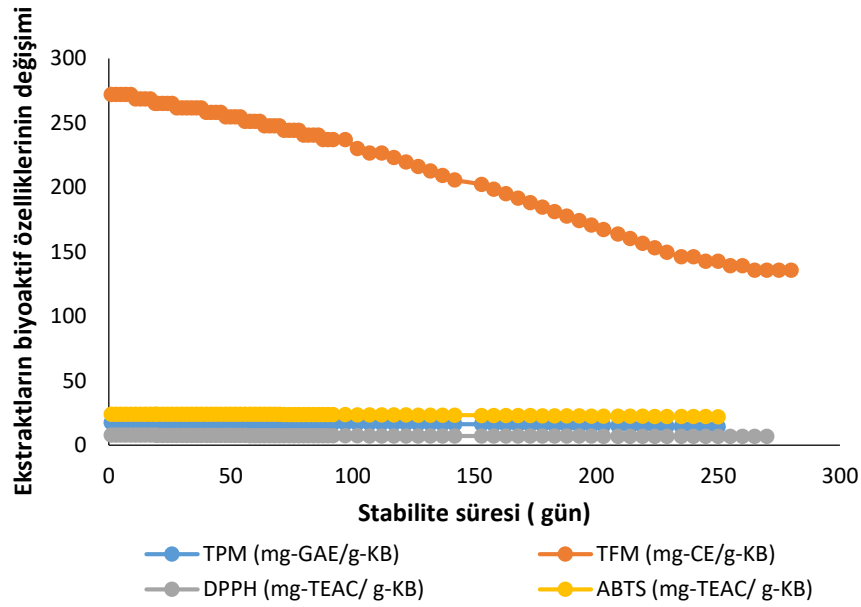
Tablo 4.42: HDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının ABTS ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	250	24,010±0,001	21,960±0,001
	7	250	24,010±0,001	22,072±0,002
	10	250	24,010±0,001	22,018±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	250	24,010±0,001	21,964±0,002
	7	250	24,010±0,001	23,148±0,001
	10	250	24,010±0,002	23,041±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	250	24,010±0,003	22,072±0,002
	4	250	24,010±0,002	23,148±0,003
	-20	250	24,010±0,001	23,902±0,003
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	250	24,010±0,002	22,072±0,002
	Karanlık	250	24,010±0,003	23,041±0,004
	Normal oda aydınlatması	250	24,010±0,002	22,179±0,004

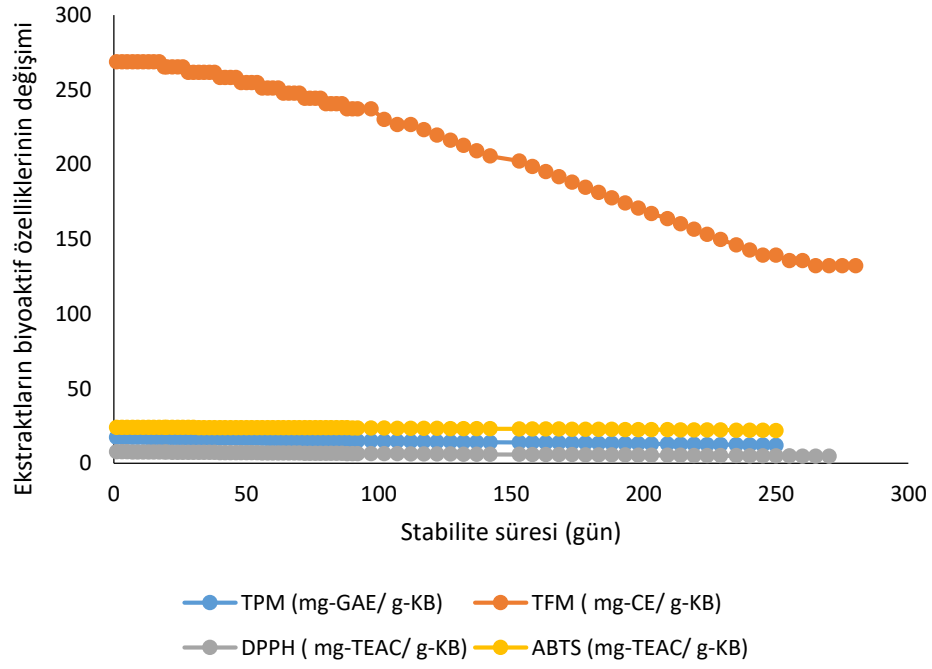
* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Numuneler 1 atm basınçta ve 25°C' de farklı pH (3, 7 ve 10) ile depolandığında, TPM' nin bozunması Tablo 4.39' da gösterildiği gibi 250 günlük depolama ile analiz edildi. Analizlere göre pH 7 iken *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen fenol içeriğinde %20 oranında bozulma, ayrıca pH 3 ve 10 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen fenol içeriğinde %30 oranında bozulma gözlemlenmiştir. Aynı depolama koşulları altında, TFM' nin bozunması, tablo 4.40' te gösterildiği gibi 280 gün boyunca depolama ile analiz edildi. Analiz sonuçlarına göre, pH (3,7 ve 10) olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen flavonoid içeriğinin %50' sinde bozulma gözlenmiştir. Ayrıca, antioksidan aktivite, sıcaklık ve basıncın aynı saklama koşulları altında analiz edildi. AA-DPPH ve AA-ABTS' nin bozunması, sırasıyla 270 ve 250 günlük depolama ile analiz edildi. Tablo 4.41' de gösterildiği gibi, pH 7 iken *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen AA-DPPH içeriğinde %13-20 oranında bir bozulma gözlemlendi. Ancak pH 3 ve 10 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından

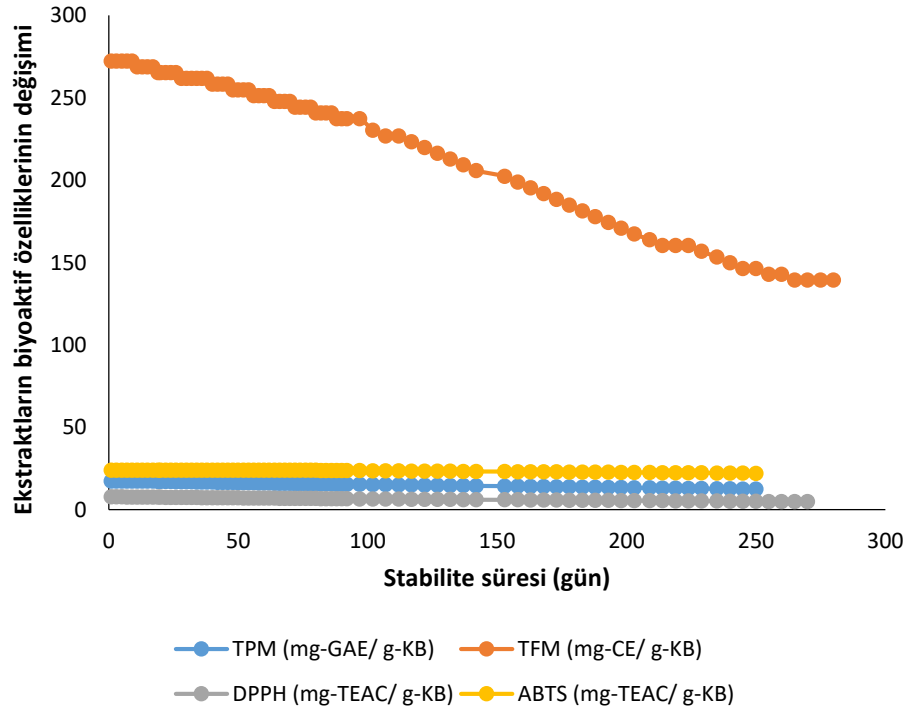
ekstrakte edilen AA-DPPH içeriğinin %40' ında bir bozulma gözlemlendi. Tablo 4.42' de gösterildiği gibi, pH (3, 7 ve 10) olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen AA-ABTS' de %10' luk bir bozulma gözlemlendi. Aşağıdaki Şekiller (4.28-4.30), 25 °C, 1atm basınçta ve pH (3, 7 ve 10) değerlerinde saklandığında, zamanla TPM, TFM ve antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin bozunmasını göstermektedir.



Şekil 4.28: HDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

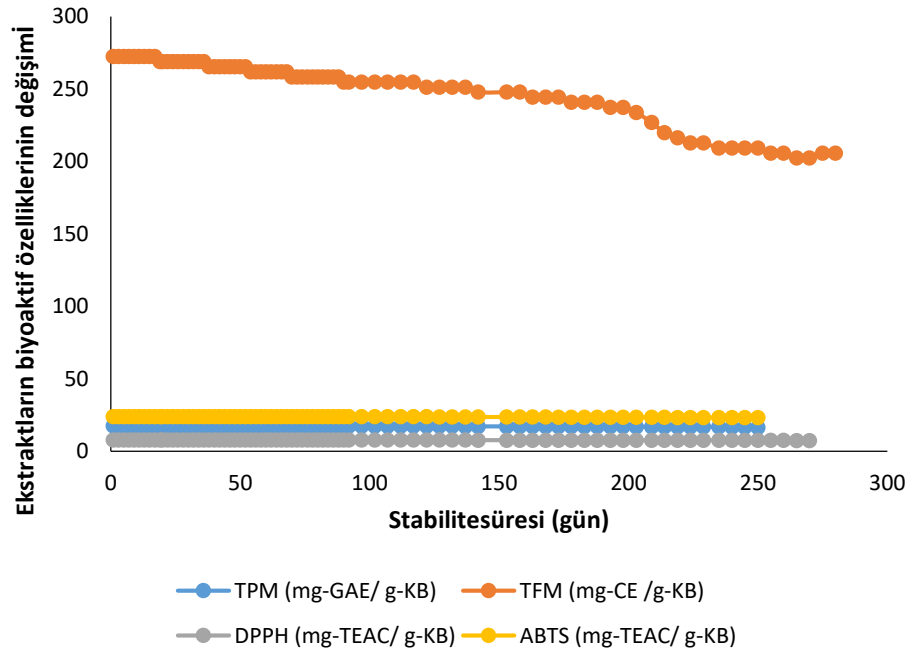


Şekil 4.29: HDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve asidik ortamda (pH 3) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

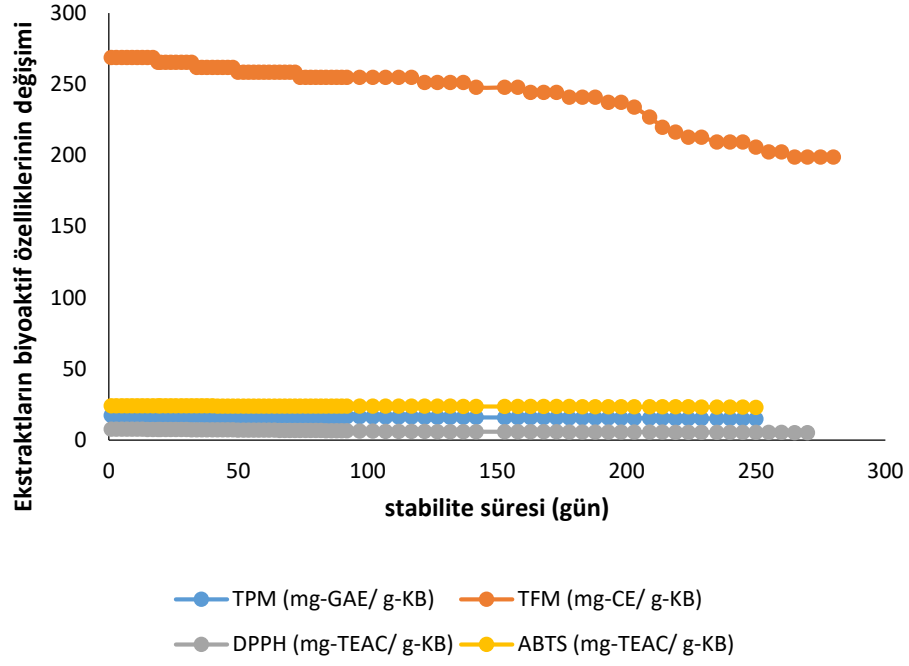


Şekil 4.30: HDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve bazik ortamda (pH 10) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerindeki değişimler.

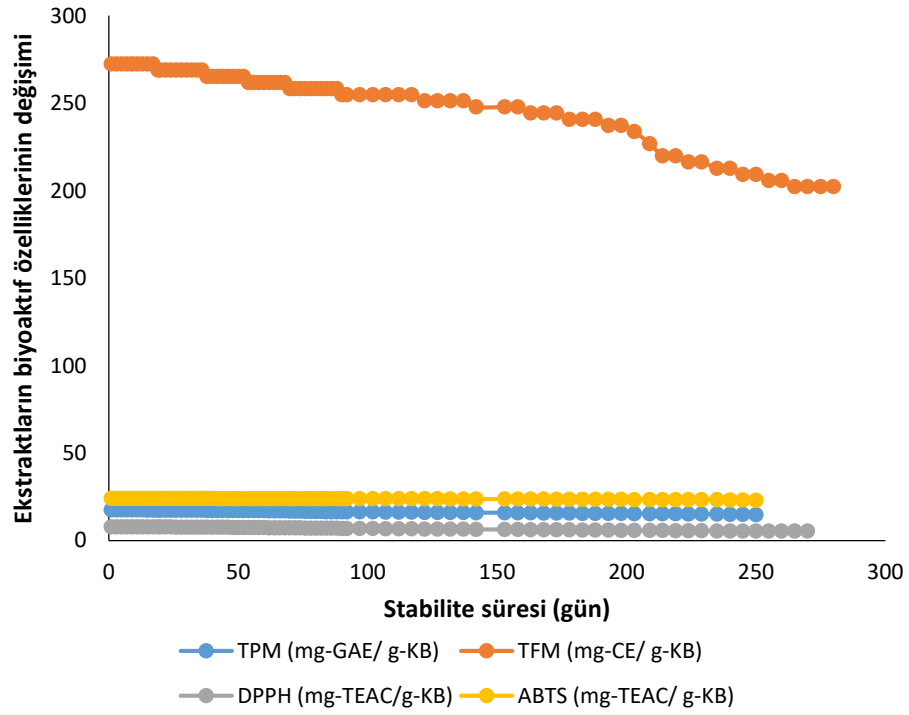
Ayrıca numuneler 1 atm basınçta ve 4 °C' de farklı pH' larda (3, 7 ve 10) saklanmıştır. TPM, TFM, AA-DPPH ve AA-ABTS' nin bozunması, sırasıyla 250, 280, 270 ve 250 günlük depolama ile analiz edildi. Tablo4.39' da yapılan analizlere göre *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen TPM' nin pH' ında % 6-10 oranında bozulma olduğu görülmüştür (pH=7). Ayrıca, tablo4.39' te gösterildiği gibi pH (3 ve 10) olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen TPM' nin %15' inde bir bozulma gözlemlendi.. Tablo 4.40' te gösterildiği gibi, pH (3, 7 ve 10) olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen TFM' de % 25' lik bir bozulma gözlemlendi. Ayrıca tablo 4.41' de görüldüğü gibi *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen AA-DPPH' nin pH (3 ve 10) olduğunda %30' luk bir bozulma, pH' da ise %5 AA-DPPH (pH =7) olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, antioksidan aktivite yüzdesi AA-ABTS pH' da (7 ve 10) başlangıç değerinin %5' ine ve pH' ta başlangıç değerinin %8' ine 3' e düşürülmüştür. Aşağıdaki Şekiller (4.31-4.33), 4°C 'de, 1atm basınçta ve pH' ta (3, 7 ve 10) saklandığında zamanla TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin bozulmasını göstermektedir.



Şekil 4.31: HDE ile elde edilen ve 4 °C'de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

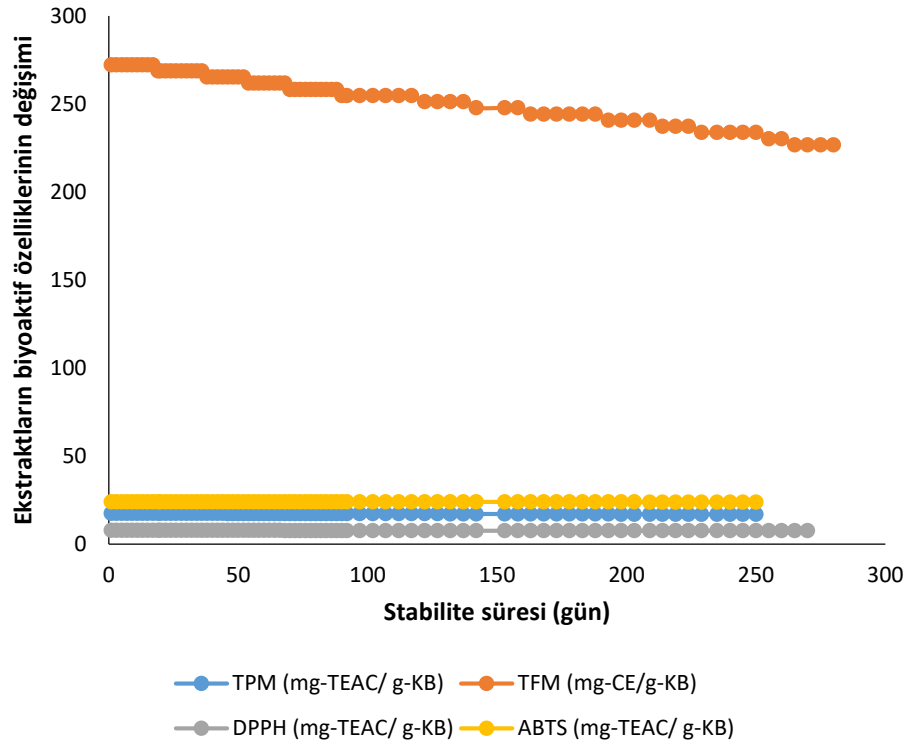


Şekil 4.32: HDE ile elde edilen ve 4 °C ve asidik ortamda depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi (pH 3).



Şekil 4.33: HDE ile elde edilen ve 4 °C' de depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinde ve temel ortamdaki değişiklikler (pH 10).

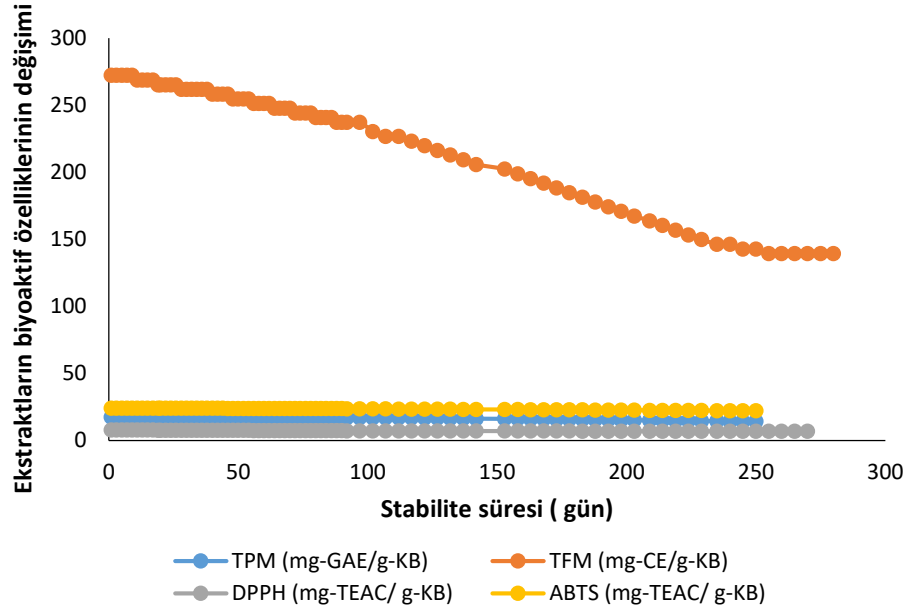
Tablo 4.39-4.42' de gösterildiği gibi, 250 gün sonra ürünlerin TPM' sinin %5' i, 280 gün sonra ürünlerin TFM' sinin %16' sı, 270 gün sonra ürünlerin AA-DPPH' sinin %2' si ve 250 gün sonra ürünlerin AA-ABTS' sinin %0,5' i bozuldu. Şekil 4.34, -20°C ve 1 atm basınçta saklandığında TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin zamanla bozulmasını göstermektedir.



Şekil 4.34: HDE ile elde edilen ve -20 °C' de saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Öte yandan ışığın TPM, TFM, DPPH ve ABTS üzerindeki etkisi incelenmiştir. HDE' nin optimum koşullarında hazırlanan ve normal oda aydınlatmasında, 1 atm basınçta ve 25 °C' de saklanan numune analiz edilerek 250 gün boyunca TPM aktivitesi izlendi. Tablo 4.39' da gösterildiği gibi, TPM' nin aktivitesi 17,5' ten 14,30 mg-GAE/g-KB' ye düşmüştür. Tablo 4.40' da gösterildiği gibi, TFM aktivitesi 280 gün boyunca takip edilirken, TFM 272,30' dan 139,3 mg-CE/g-KB' ye düşmüştür. Tablo 4.41' de gösterildiği gibi, AA-DPPH 270 gün takip edilirken, AA-DPPH 7,806' dan 6,808 mg TEAC/ g-KB' ye düştü. Ayrıca, Tablo 4.42' de gösterildiği gibi, AA-ABTS 250 gün boyunca takip edilirken AA-ABTS 24,01' den 22,179 (mg-TEAC/g-KB' ye indi. Şekil 4.35 normal oda aydınlatması, 1 atm basınç ve 25 °C altında

saklandığında TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin zamanla bozulmasını göstermektedir.

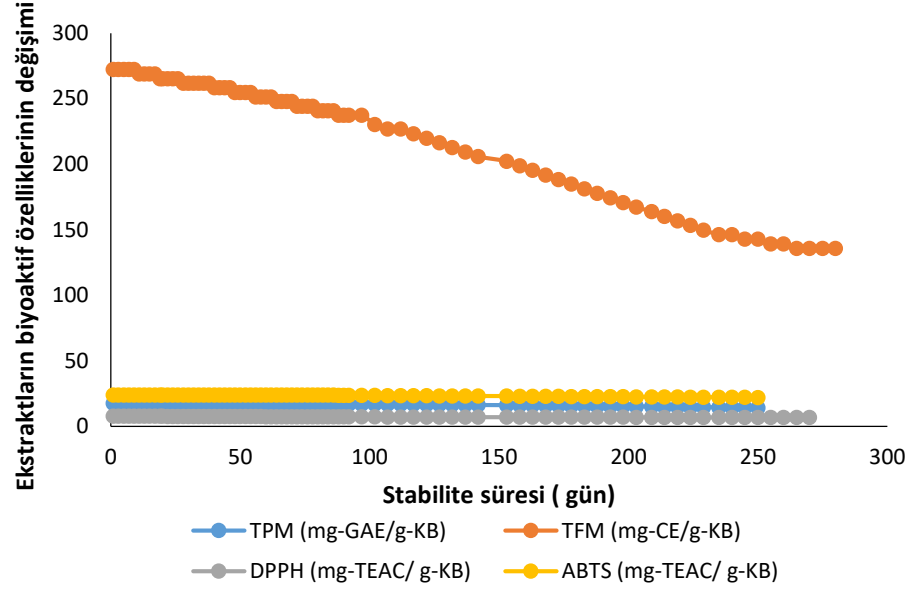


Şekil 4.35: HDE ile elde edilen ve normal oda aydınlatması ve sıcaklığında saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

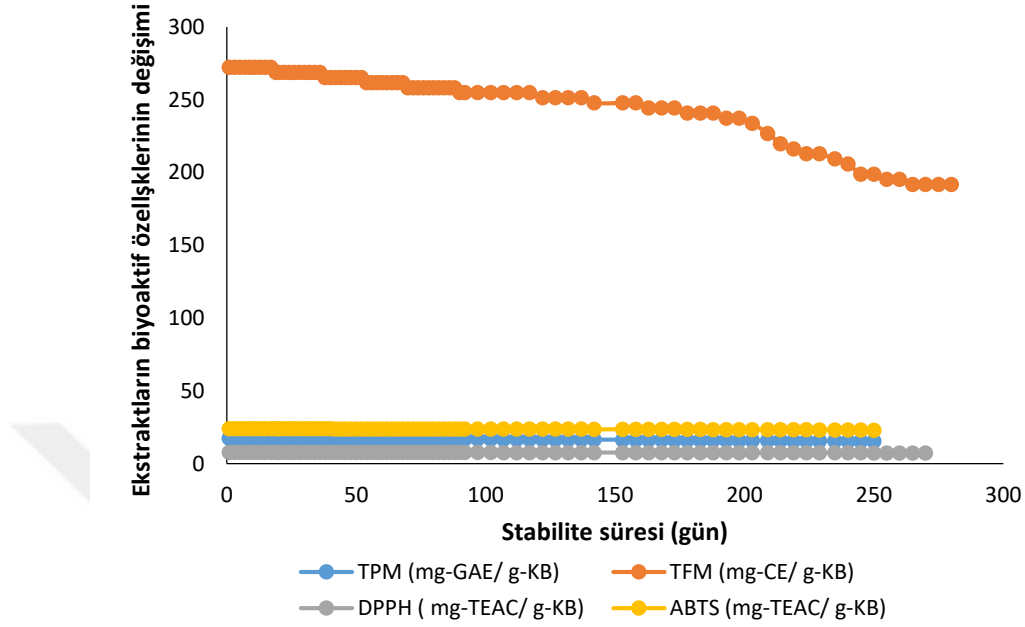
Ayrıca yine aynı koşullarda, ancak bu sefer numuneler lamba altında belli bir mesafede tutulmuş, numune biyoaktivitesini 250, 280, 270 ve 250 gün boyunca stabil olarak korumuştur. Tablo 4.39, 4.40, 4.41, 4.42 ve Şekil 4.36' de gösterildiği gibi, TPM aktivitesinin yüzdesi başlangıç değerinin %5' ine düşürüldü, TFM aktivitesi başlangıç değerinin %50' sine düşürüldü, AA-DPPH aktivitesi düşürüldü başlangıç değerinin %13-20' sine ve AA-ABTS etkinliği başlangıç değerinin %10' una düşmüştür.

Aynı durum Tablo 4.39, 4.40, 4.41, 4.42 ve Şekil 4.37' de görüldüğü gibi karanlık ortam açısından da değerlendirilmiştir. TPM aktivitesi 15,50 mg-GAE/g-KB' ye, TFM aktivitesi

191,80 mg-CE/g-KB' ye, AA-DPPH 7,404 mg-TEAC/g-KB' ye ve AA-ABTS 23,041 mg-TEAC/g-KB' ye inmiştir.

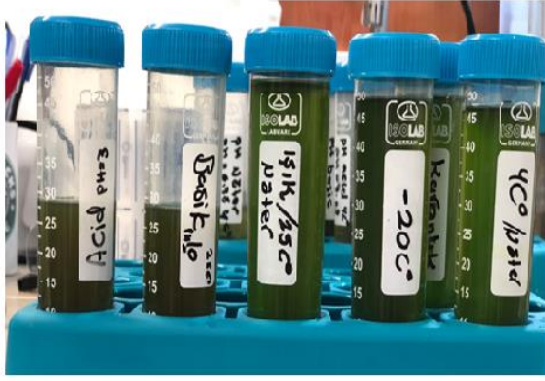


Şekil 4.36: HDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve lamba altında belli bir mesafede saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

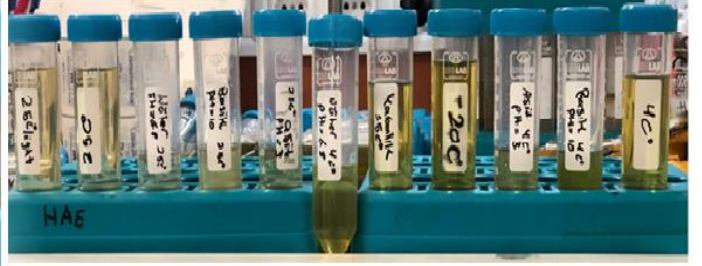


Şekil 4.37: HDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Ayrıca, rengin kararsızlığı, biyoaktif bileşiklerin stabilite çalışmasında bir gösterge olarak kullanılabilir. Biyoaktif bileşiklerin rengini etkileyen faktörlerden biri de pH seviyesidir. İşleme ve depolama sırasında pH ve sıcaklığın artırılması, biyoaktif bileşiklerin bozunma oranlarını artıracaktır. Numunelerin birkaç gün saklama sırasındaki renk değişimi çıplak gözle gözlemlendi. Şekil 4.38, farklı koşullar altında saklama günleri boyunca numunelerin renk değişimini gösterir. Numunenin rengi, oda aydınlatması altında 25 °C sıcaklıkta pH 3, 7 ve 10' da başlangıçta olduğundan çok daha açıktı. -20 °C, 4 °C ve karanlık ortamlarda saklandığında numunenin renginde birkaç önemli değişiklik olmuştur. Bunlar, sıcaklık ne kadar düşük olursa biyolojik olarak aktif bileşiklerin parçalanmasının o kadar düşük olduğunu gösterir.



Başlangıç



Bitiş

Şekil 4.38: HDE yöntemiyle ekstrakte edilen numunelerin renk değişimi.

4.5.2. OÇE ile Elde Edilen Ekstraktların Depolama Çalışmaları

Numuneler OÇE' nin optimum koşulları altında hazırlanmış ve farklı koşullar altında saklanmıştır (Tablo 4.43-4.46). TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özellikler analiz edildi.

Tablo 4.43: OÇE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TPM içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	TPM (mg-GAE/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	250	30,97±0,002	25,20±0,002
	7	250	34,74±0,005	25,71±0,006
	10	250	23,94±0,006	9,02±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	250	30,97±0,001	27,26±0,006
	7	250	34,74±0,001	28,97±0,005
	10	250	23,94±0,002	15,43±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	250	34,74±0,002	25,71±0,005
	4	250	34,74±0,005	28,97±0,005
	-20	250	34,74±0,007	33,08±0,006
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	250	34,74±0,005	25,71±0,002
	Karanlık	250	34,74±0,003	32,80±0,003
	Normal oda aydınlatması	250	34,74±0,005	25,83±0,003

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.44: OÇE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TFM içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	TFM (mg-CE/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	280	163,20±0,002	119,20±0,002
	7	280	163,20±0,003	139,20±0,004
	10	280	163,20±0,006	127,20±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	280	163,20±0,001	151,20±0,006
	7	280	163,20±0,001	155,20±0,005
	10	280	163,20±0,002	147,20±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	280	163,20±0,003	139,20±0,004
	4	280	163,20±0,005	155,20±0,005
	-20	280	163,20±0,007	159,20±0,006
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	280	163,20±0,003	139,20±0,004
	Karanlık	280	163,20±0,003	147,20±0,001
	Normal oda aydınlatması	280	163,20±0,003	143,20±0,004

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.45: OÇE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının DPPH ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları	Stabilite süresi (gün)	AA-DPPH (mg-TEAC/g-KB)	
		Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	15,455±0,002	9,736±0,001
	7	18,181±0,002	13,959±0,002
	10	15,469±0,001	9,914±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	15,455±0,001	14,744±0,002
	7	18,181±0,001	15,781±0,001
	10	15,469±0,002	14,759±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	18,181±0,003	13,959±0,002
	4	18,181±0,002	15,781±0,003
	-20	18,181±0,001	17,736±0,001
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	18,181±0,001	13,959±0,002
	Karanlık	18,181±0,001	17,469±0,003
	Normal oda aydınlatması	18,181±0,002	14,151±0,001

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

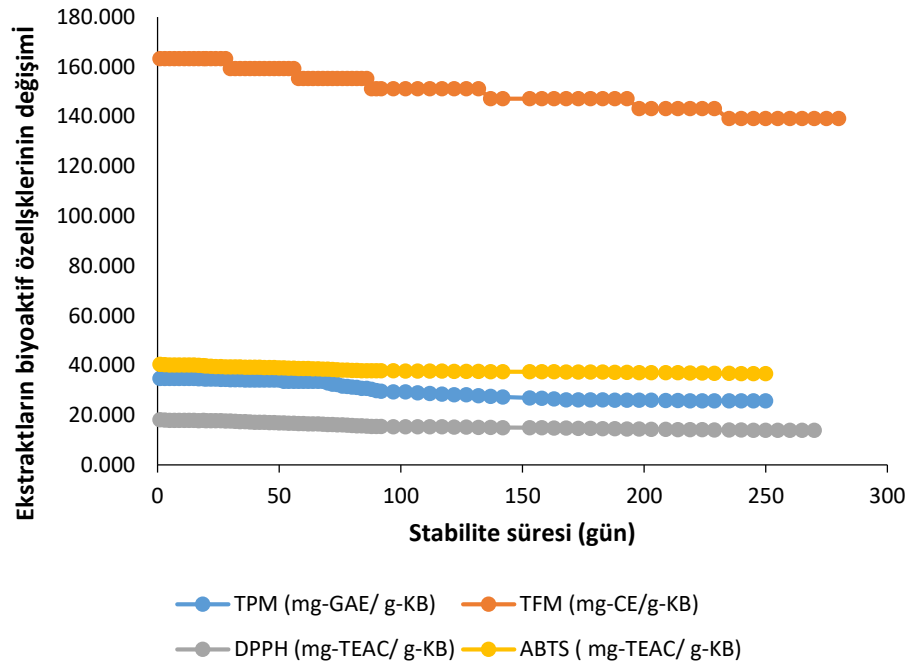
Tablo 4.46: OÇE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının ABTS ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	250	29,778±0,002	19,041±0,002
	7	250	40,425±0,005	36,702±0,006
	10	250	37,717±0,006	13,778±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	250	29,778±0,001	28,609±0,006
	7	250	40,425±0,001	37,409±0,005
	10	250	37,717±0,002	32,302±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	250	40,425±0,002	36,702±0,005
	4	250	40,425±0,005	37,409±0,005
	-20	250	40,425±0,007	40,209±0,006
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	250	40,425±0,005	36,702±0,002
	Karanlık	250	40,425±0,003	38,394±0,003
	Normal oda aydınlatması	250	40,425±0,005	36,855±0,003

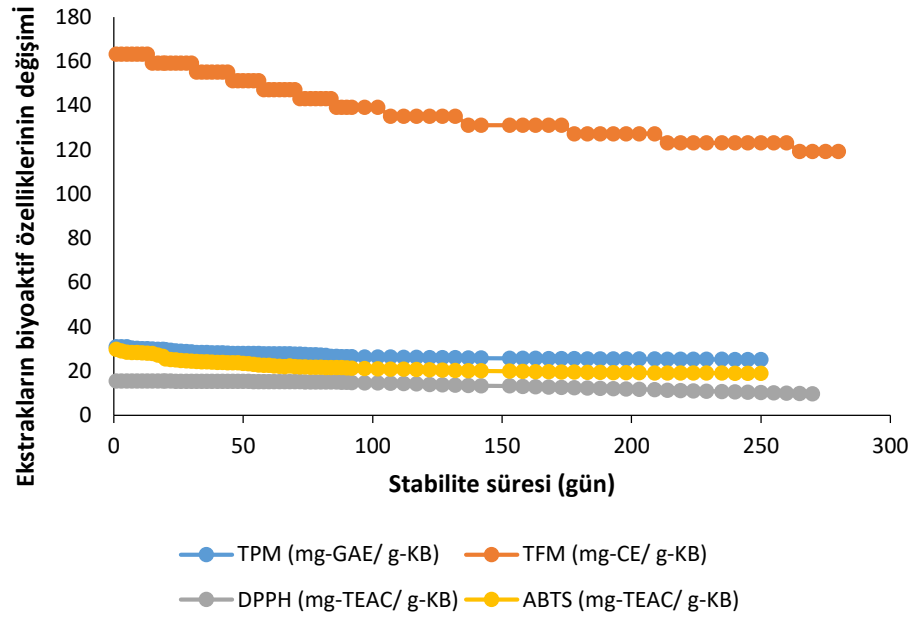
* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

TPM' nin bozunma kinetiği, Tablo 4.43' te gösterildiği gibi 250 günlük depolama süresince incelendi. Analizlere göre pH 7 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen fenol içeriğinde %25 oranında bozulma gözlemlendi. Tablo 4.43' te gösterildiği gibi fenolik içeriğin başlangıç değerinde bir azalma gözlemlendi. Bu, asidik ortamın ve bazın, OÇE tarafından ekstrakte edilen fenolik içeriğin aktivitesini azalttığını gösterir. *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen fenol içeriğinde pH sırasıyla 3 ve 10 olduğunda sırasıyla %18 ve %62 oranında bozulma gözlenmiştir. Aynı depolama koşulları altında, TFM' nin bozunması, Tablo 4.44' te gösterildiği gibi 280 gün boyunca depolama ile analiz edildi. Analiz sonuçlarına göre *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen flavonoid içeriğinde pH 3,7 ve 10 olduğunda sırasıyla %26, %15 ve %22 oranında bozunma gözlenmiştir. Ayrıca, antioksidan aktivite, aynı sıcaklık ve basınç saklama koşulları altında analiz edildi. AA-DPPH ve AA-ABTS' nin

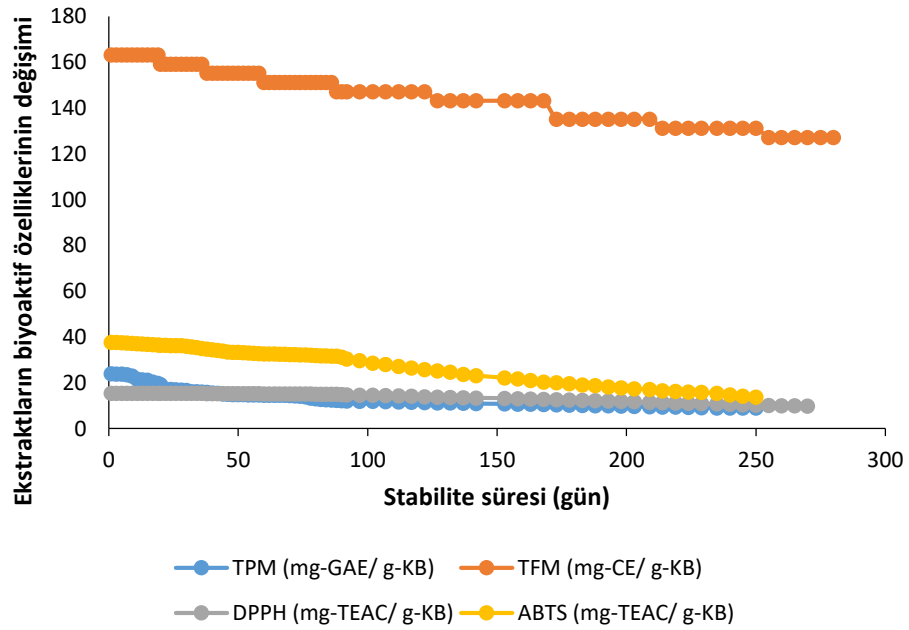
bozunması, sırasıyla 270 ve 250 gün sürdü. Tablo 4.45' te gösterildiği gibi, pH 7 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen AA-DPPH içeriğinde %23' lük bir bozulma gözlemlendi. Ayrıca, pH 3 ve 10 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen AA-DPPH içeriğinde %37' lik bir bozulma gözlemlendi. Tablo 4.46' da gösterildiği gibi, *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen AA-ABTS' de pH sırasıyla 3, 7 ve 10 olduğunda %36, %10 ve %63 oranında bir bozulma gözlemlendi. Asidik ve bazik bir çözelti eklenirken AA-DPPH ve AA-ABTS aktivitesinin başlangıç değerindeki azalma daha önce belirtilmiştir. Şekil 4.39-4.41, TPM, TFM ve antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin 25 °C, 1atm basınç ve farklı pH (3, 7 ve 10) değerlerinde depolanma sürecindeki değişimini göstermektedir.



Şekil 4.39: OÇE ile elde edilen ve 25 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

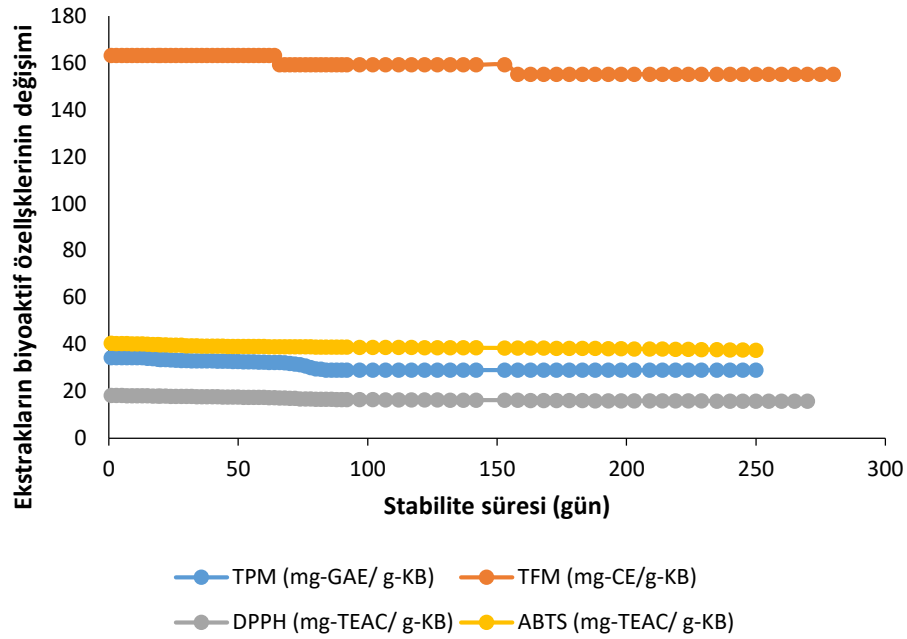


Şekil 4.40: OÇE ile elde edilen ve 25 °C' de ve asidik ortamda (pH 3) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

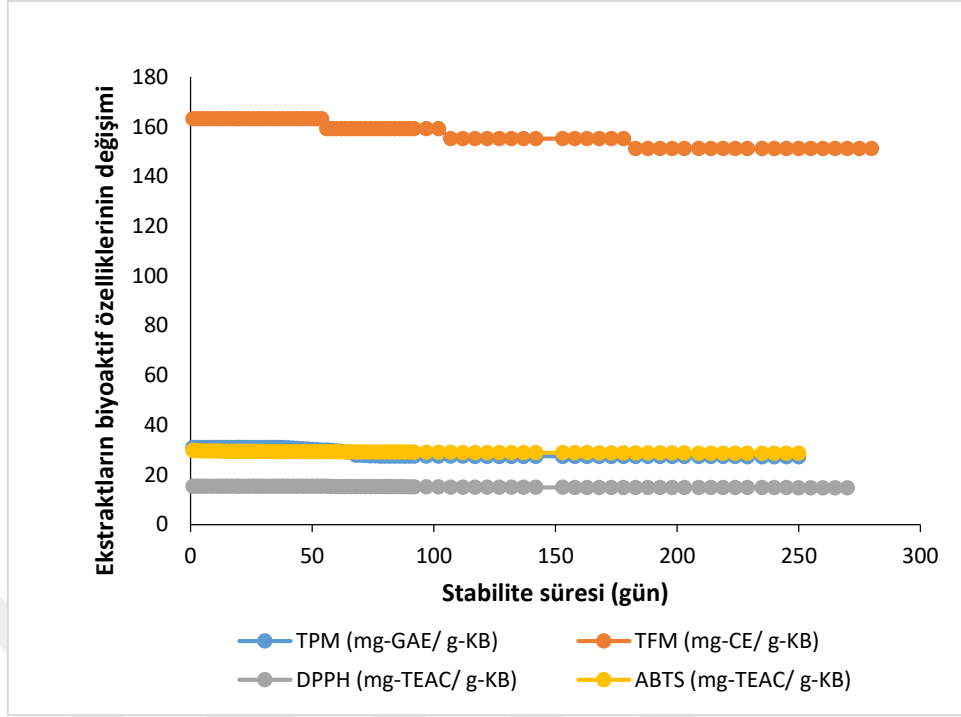


Şekil 4.41: OÇE ile elde edilen ve 25 °C' de ve bazik ortamda (pH 10) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerindeki değişimler.

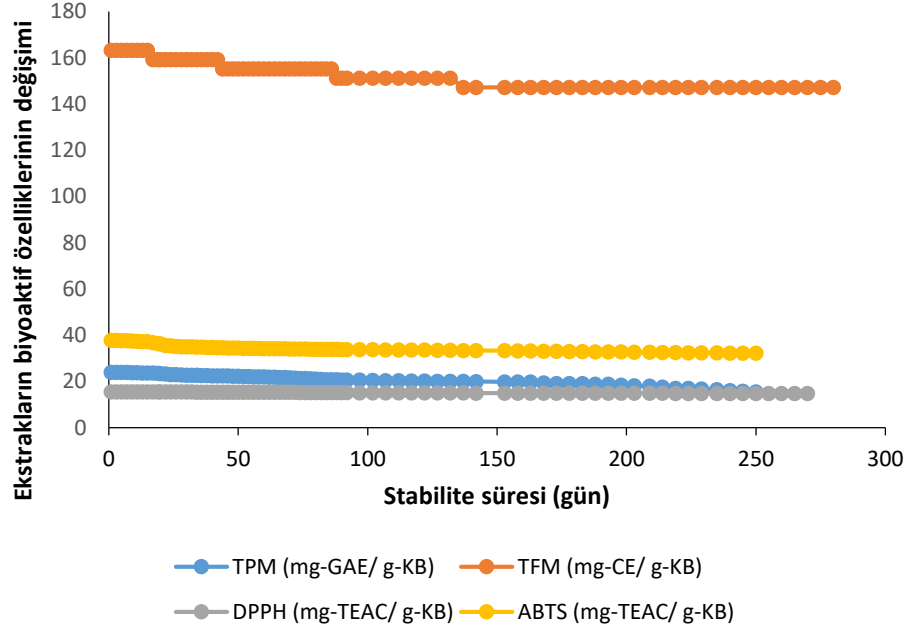
Ayrıca numuneler 1 atm basınçta ve 4 °C' de farklı pH' larda (3, 7 ve 10) saklanmıştır. TPM, TFM, AA-DPPH ve AA-ABTS'nin bozunması, sırasıyla 250, 280, 270 ve 250 gün izlendi. Tablo 4.43' te yapılan analizlere göre *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen TPM' de pH 7 olduğunda % 16 oranında bozulma gözlemlenmiştir. Ayrıca, tablo4.43' te gösterildiği gibi, pH 3 ve 10 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen TPM' de %18 ve %62 oranında bozulma gözlenmiştir. Tablo 4.44' de gösterildiği gibi, *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen TFM' de pH sırasıyla 3, 7 ve 10 olduğunda %7, %5 ve %10' luk bir bozulma gözlemlendi. Ayrıca tablo 4.45' da görüldüğü gibi, *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen AA-DPPH' de pH 3 ve 10 olduğunda % 5' lik bir bozulma, pH 7' da ise % 13' lük bir bozulma gözlemlenmiştir. AA-ABTS yüzdesi pH 3' te başlangıç değerinin %4' üne, pH 7' de başlangıç değerinin %7' sine ve pH 10' da başlangıç değerinin %14' üne düşürülmüştür. Şekil 4.42-4.44, 4 °C ve 1atm basınçta saklandığında TPM, TFM ve antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin bozunma kinetiğini göstermektedir.



Şekil 4.42: OCE ile elde edilen ve 4 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

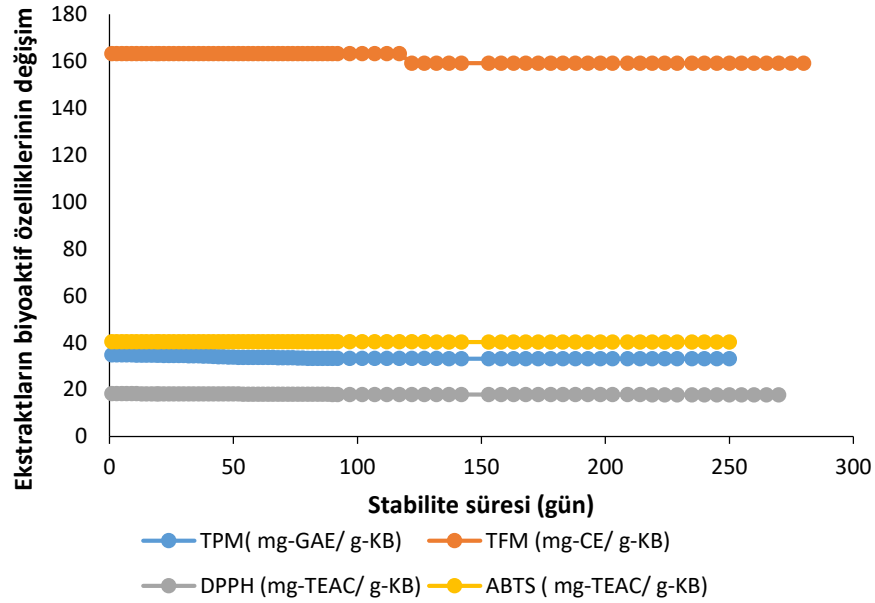


Şekil 4.43: OÇE ile elde edilen ve 4 °C ve asidik ortamda depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi (pH 3).



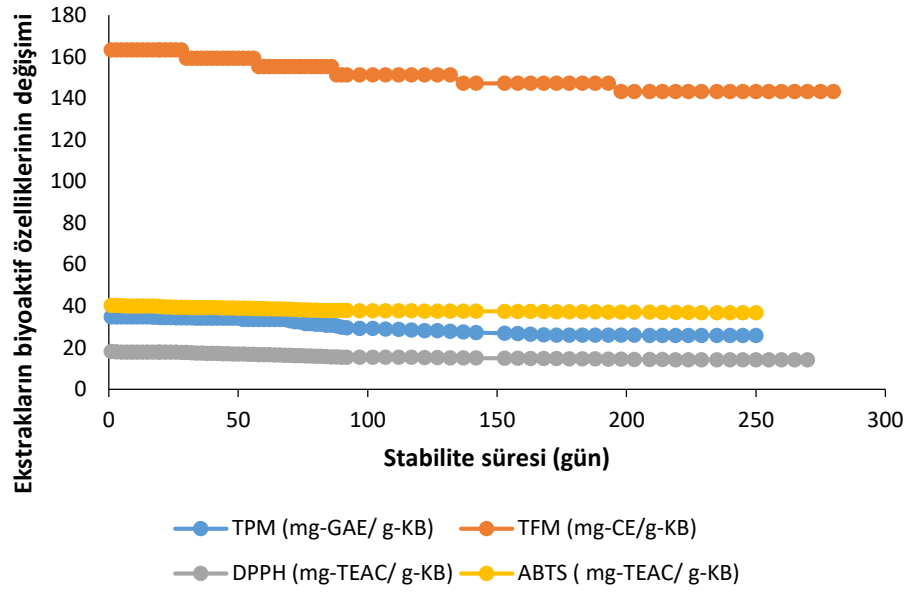
Şekil 4.44: OÇE ile elde edilen ve 4 °C' de depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinde ve temel ortamdaki değişiklikler (pH 10).

Aynı süreçte (250, 280, 270 ve 250 gün), numuneler (pH= 3, 7 ve 10) 1 atm basınçta ve -20 °C' de saklanmıştır. Tablo 4.43-4.46' da gösterildiği gibi, 250 gün sonra ürünlerin TPM' sinin %5' i, 280 gün sonra ürünlerin TFM' sinin %2.5' i, 270 gün sonra ürünlerin AA-DPPH' sinin %2.4' ü ve ürünlerin ABTS' sinin %0.5' i bozulmuştur. Şekil4.45, -20 °C ve 1 atm basınçta saklandığında TPM, TFM ve antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin bozunma kinetiğini göstermektedir.



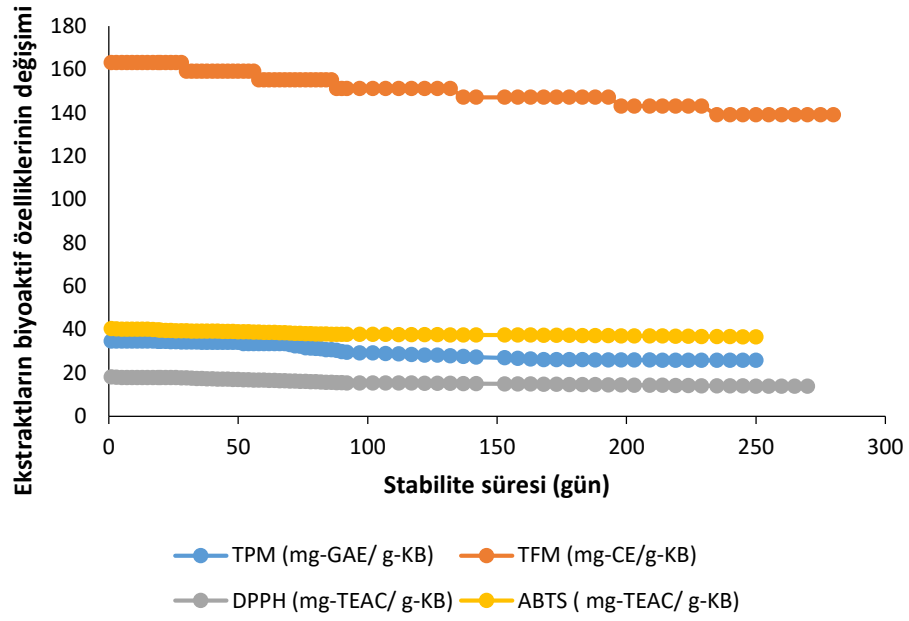
Şekil 4.45: OÇE ile elde edilen ve -20 °C' de saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Öte yandan, ışığın TPM, TFM, AA-DPPH ve AA-ABTS üzerindeki etkisi incelenmiştir. Normal oda aydınlatması, 1 atm basınç ve 25 °C' de saklanan numune 250 gün boyunca TPM miktarı takip edildi. Tablo 4.43' te gösterildiği gibi, TPM' nin aktivitesi 34,745' ten 25,829 mg-GAE/ g-KB' ye düşmüştür. Tablo 4.44' te gösterildiği gibi, TFM 280 gün boyunca takip edilirken, TFM 163,20' den 143,20 mg-CE/g-KB' ye inmiştir. AA-DPPH aktivitesi 270 gün takip edildi, AA-DPPH ise Tablo 4.45' te gösterildiği gibi 18,181' den 14,151 mg-TEAC/ g-KB' ye düştü. Tablo 4.46' da görüldüğü gibi, AA-ABTS 40,425' ten 36,855 mg-TEAC/g-KB' ye indi. Şekil 4.46, normal oda aydınlatması, 1 atm basınç ve 25 °C altında saklandığında, TPM, TFM ve antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin bozunma kinetiğini göstermektedir.

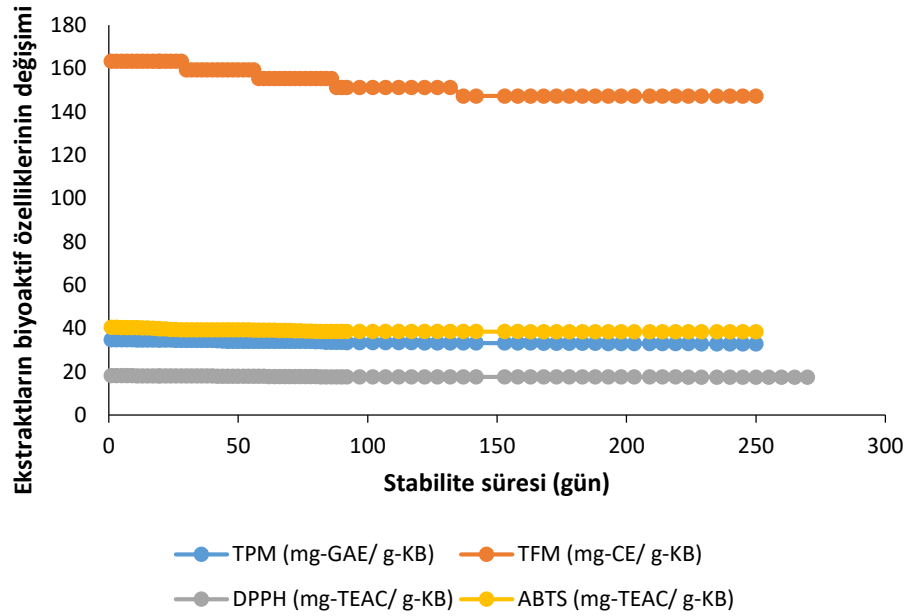


Şekil 4.46: OÇE ile elde edilen ve normal oda aydınlatması ve sıcaklığında saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Ayrıca yine aynı koşullarda, ancak bu sefer numuneler lamba altında belli bir mesafede tutularak, numune biyoaktivitesini 250, 280, 270 ve 250 gün boyunca stabil olarak korumuştur. Tablo (4.43, 4.44, 4.45, 4.46 ve Şekil 4.47)' de gösterildiği gibi, TPM aktivite yüzdesi başlangıç değerinin %25' ine, TFM aktivitesi başlangıç değerinin %15' ine, AA-DPPH aktivitesi başlangıç değerinin %23' üne ve AA-ABTS aktivitesi başlangıç değerinin %9.20' sine düşürülmüştür. Aynı durum tablo (4.43, 4.44, 4.45, 4.46 ve şekil 4.48) 'ta görüldüğü gibi karanlık ortam açısından da değerlendirilmiştir .TPM aktivitesi 32,80 (mg GAE/g-KB)' ye, TFM aktivitesi 147,20 (mg CE/g-KB)' ye, AA-DPPH aktivitesi 17,469 (mg TEAC/g-KB)' ye ve AA-ABTS aktivitesi 38,394 (mg TEAC/g-KB)' ye düşürülmüşlerdir.

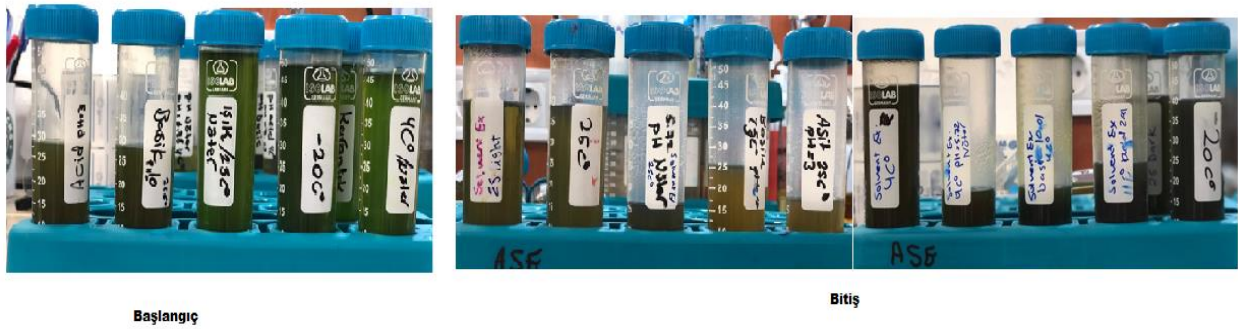


Şekil 4.47: OÇE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve lamba altında belli bir mesafede saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.



Şekil 4.48: OÇE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Ek olarak, rengin kararsızlığı, biyoaktif bileşiklerin stabilite çalışmasında bir gösterge olarak kullanılabilir. Numunelerin birkaç gün saklama sırasındaki renk değişimi çıplak gözle gözlemlendi. Şekil 4.49, farklı koşullar altında saklama günleri boyunca numunelerin renk değişimini gösterir. Numunenin rengi, oda aydınlatması altında 25 °C sıcaklıkta pH 3, 7 ve 10' da başlangıçta olduğundan daha açıktı. -20 °C, 4 °C ve karanlık ortamlarda saklanırken numunenin renginde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bunlar, sıcaklık ne kadar düşük olursa biyolojik olarak aktif bileşiklerin parçalanmasının o kadar düşük olduğunu gösterir.



Şekil 4.49: OCE yöntemiyle ekstrakte edilen numunelerin renk değişimi.

4.5.3. MDE ile Elde Edilen Ekstraktların Depolama Çalışmaları

Numuneler MDE' nin optimum koşulları altında hazırlanmış ve farklı koşullar altında saklanmıştır (Tablo 4.47-4.50). TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özellikler analiz edildi.

Tablo 4.47: MDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TPM içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	TPM (mg-GAE/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	250	17,83±0,002	14,57±0,002
	7	250	18,86±0,003	12,97±0,004
	10	250	17,83±0,006	14,17±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	250	17,83±0,001	15,94±0,006
	7	250	18,86±0,001	16,91±0,005
	10	250	17,83±0,002	15,94±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	250	18,86±0,003	12,97±0,004
	4	250	18,86±0,005	16,91±0,005
	-20	250	18,86±0,007	17,83±0,006
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	250	18,86±0,003	12,97±0,004
	Karanlık	250	18,86±0,003	16,23±0,001
	Normal oda aydınlatması	250	18,86±0,003	13,08±0,004

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.48: MDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TFM içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	TFM (mg-CE/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	280	83,20±0,002	63,20±0,002
	7	280	83,20±0,005	71,20±0,006
	10	280	83,20±0,006	39,20±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	280	83,20±0,001	75,20±0,006
	7	280	83,20±0,001	79,20±0,005
	10	280	83,20±0,002	63,20±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	280	83,20±0,002	71,20±0,005
	4	280	83,20±0,005	79,20±0,005
	-20	280	83,20±0,007	79,20±0,006
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	280	83,20±0,005	71,20±0,002
	Karanlık	280	83,20±0,003	75,20±0,003
	Normal oda aydınlatması	280	83,20±0,005	71,20±0,003

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.49: MDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının DPPH ile ölçülen içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	AA-DPPH (mg-TEAC/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	270	11,944±0,001	7,988±0,001
	7	270	17,603±0,001	9,884±0,002
	10	270	11,973±0,001	8,047±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	270	11,944±0,001	10,862±0,002
	7	270	17,603±0,001	14,092±0,001
	10	270	11,973±0,002	10,892±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	270	17,603±0,003	9,884±0,002
	4	270	17,603±0,002	14,092±0,003
	-20	270	17,603±0,001	15,871±0,001
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	270	17,603±0,001	9,884±0,002
	Karanlık	270	17,603±0,001	12,580±0,003
	Normal oda aydınlatması	270	17,603±0,002	10,329±0,001

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

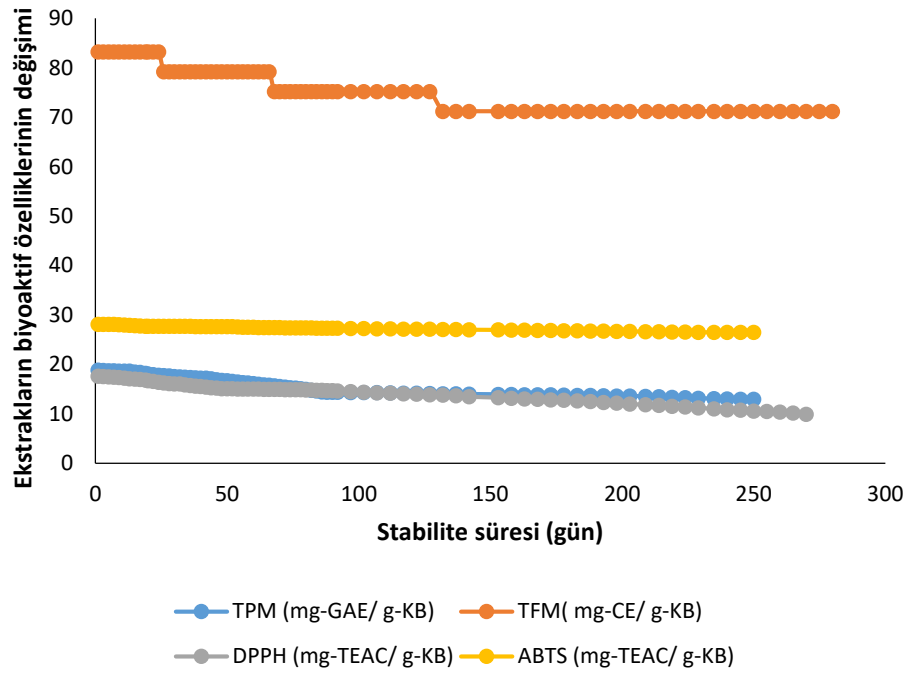
Tablo 4.50: MDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının ABTS ile ölçülen içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	250	19,990±0,002	18,117±0,002
	7	250	28,120±0,003	26,455±0,004
	10	250	24,420±0,006	13,440±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	250	19,990±0,001	19,378±0,006
	7	250	28,120±0,001	26,609±0,005
	10	250	24,420±0,002	24,117±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	250	28,120±0,003	26,455±0,004
	4	250	28,120±0,005	26,609±0,005
	-20	250	28,120±0,007	27,963±0,006
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	250	28,120±0,003	26,455±0,004
	Karanlık	250	28,120±0,003	26,948±0,001
	Normal oda aydınlatması	250	28,120±0,003	26,517±0,004

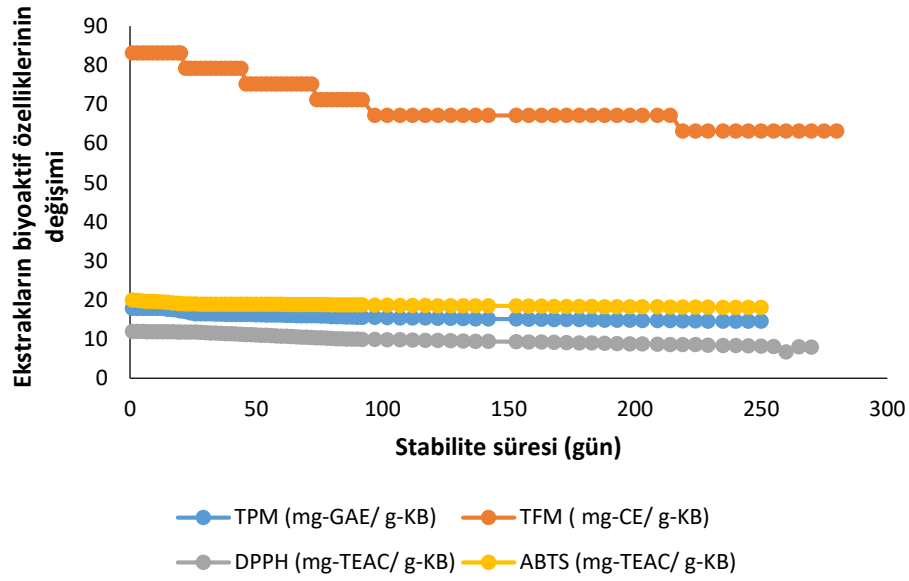
* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Analizlere göre pH 7 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen fenol içeriğinde %31 oranında bozulma gözlemlendi. Fenolik içeriğin başlangıç değerinde Tablo 4.47' de gösterildiği gibi bir düşüş gözlemlendi. Tablo 4.47' de gösterildiği gibi fenolik içeriğin başlangıç değerinde bir azalma gözlemlendi. *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen fenol içeriğinde pH sırasıyla 3 ve 10 olduğunda sırasıyla %18 ve %20 oranında bozulma gözlemlenmiştir. Aynı depolama koşulları altında, TFM' nin bozunması, Tablo 4.48' de gösterildiği gibi 280 gün boyunca depolama ile analiz edildi. Analiz sonuçlarına göre *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen flavonoid içeriğinde pH 3,7 ve 10 olduğunda sırasıyla %24, %14,4 ve %53 oranında bozunma gözlemlenmiştir. Ayrıca, antioksidan aktivite, aynı sıcaklık ve basınç saklama koşulları altında analiz edildi. AA-DPPH ve AA-ABTS' nin bozunması, sırasıyla 270 ve 250 gün depolama ile analiz edildi. Tablo 4.49' da gösterildiği gibi, pH 7 iken *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen AA-DPPH içeriğinin %44' ünde bir bozunma gözlemlendi. Ancak, pH 3 ve 10 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen

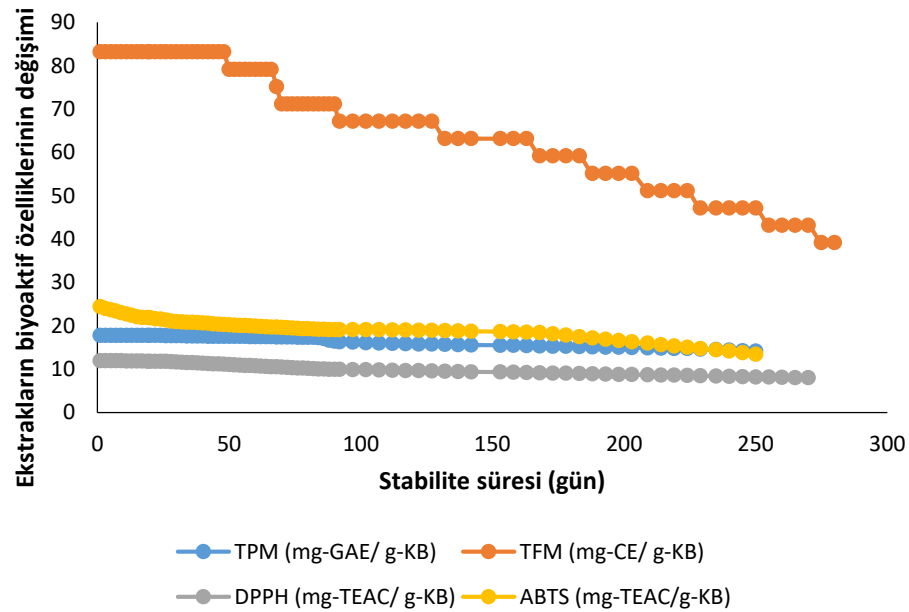
AA-DPPH içeriğinin %33' ünde bir bozunma gözlemlendi. Tablo 4.50' de gösterildiği gibi, *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen AA-ABTS' de pH sırasıyla 3, 7 ve 10 olduğunda %9, %6 ve %45 oranında bozulma gözlemlenmiştir. Şekil 4.50-4.52 TPM, TFM ve antioksidan aktivitenin (DPPH ve ABTS) 25°C 1atm basınçta ve farklı pH'larda (3, 7 ve 10) saklandığında biyoaktif özelliklerinin bozunma davranışını göstermektedir.



Şekil 4.50: MDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.



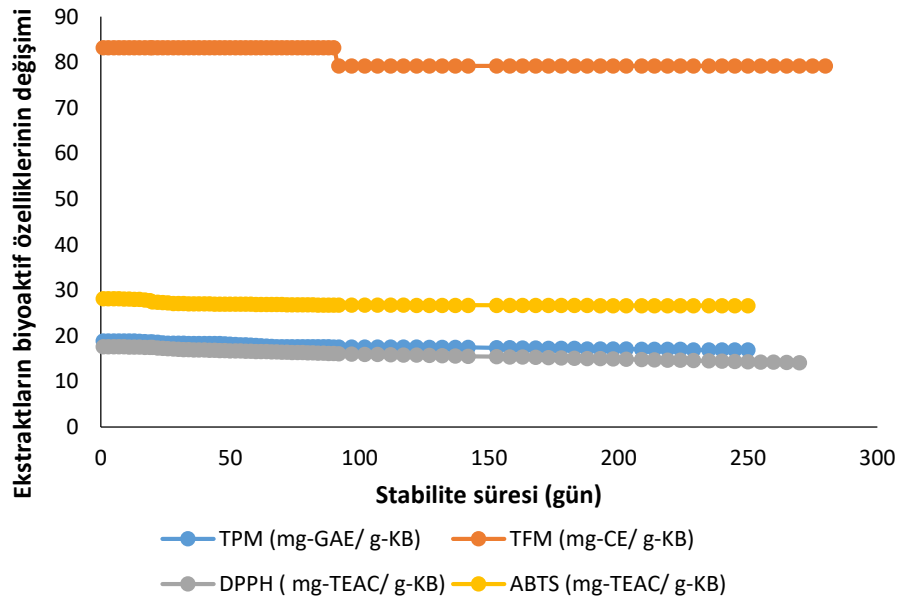
Şekil 4.51: MDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve asidik ortamda (pH 3) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.



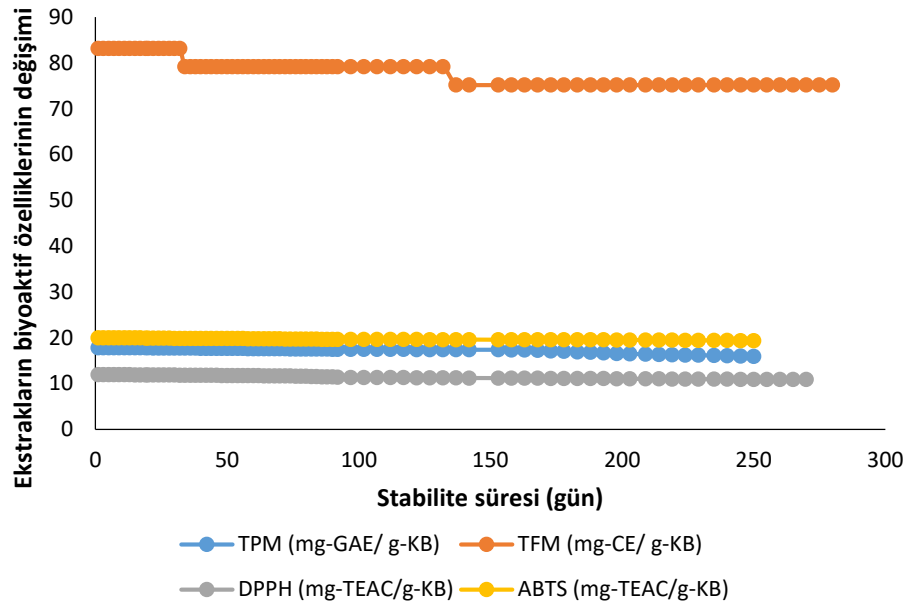
Şekil 4.52: MDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve bazik ortamda (pH 10) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerindeki değişimler.

Ayrıca numuneler 1 atm basınçta ve 4 °C' de farklı pH'larda (3, 7 ve 10) saklanmıştır. TPM, TFM, AA-DPPH ve AA-ABTS'nin bozunması, sırasıyla 250, 280, 270 ve 250 günlük depolama

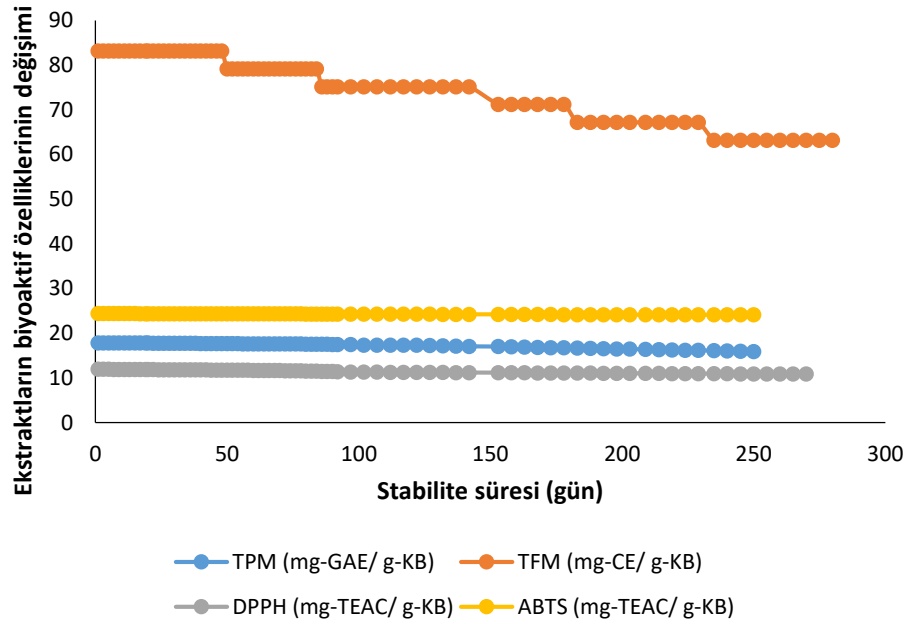
boyunca analiz edildi. Analizlere göre, Tablo 4.47' de gösterildiği gibi pH 3, 7 ve 10 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen TPM' nin %10' luk bir bozulma gözlemlendi. Ayrıca Tablo 4.48' te görüldüğü gibi *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen TFM' de pH (3, 7 ve 10) iken sırasıyla %10, %5 ve %24 oranında bozulma gözlemlenmiştir. Ek olarak, Tablo 4.49' te gösterildiği gibi, *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen AA-DPPH' nin pH 3 ve 10 olduğunda % 9' luk bir bozulma ve pH 7 olduğunda AA-DPPH' nin %20' sinde bir bozulma gözlemlendi. Ayrıca, tablo 4.50' de AA-ABTS antioksidan aktivite yüzdesi pH 3' te başlangıç değerinin %3' üne, pH 7' de başlangıç değerinin %5.4' üne ve pH 10' da başlangıç değerinin %1.2' sine düşürülmüştür. Aşağıdaki Şekiller (4.53-4.55) 4°C' de, 1atm basınçta ve pH' ta (3, 7 ve 10) saklandığında zamanla TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin bozulmasını göstermektedir.



Şekil 4.53: MDE ile elde edilen ve 4 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.



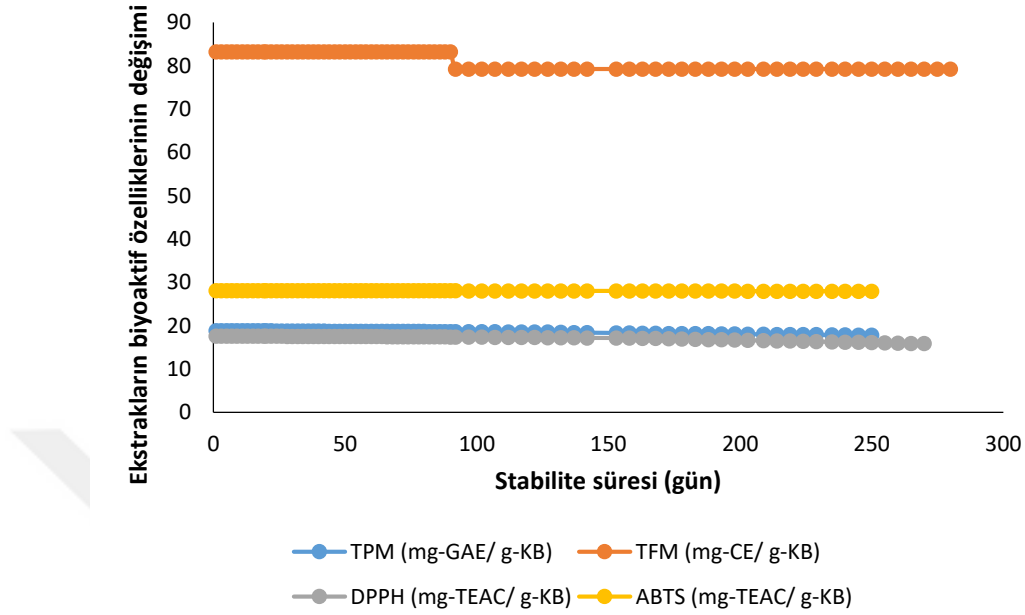
Şekil 4.54: MDE ile elde edilen ve 4 °C ve asidik ortamda depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi (pH 3).



Şekil 4.55: MDE ile elde edilen ve 4 °C' de depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinde ve temel ortamdaki değişiklikler (pH 10).

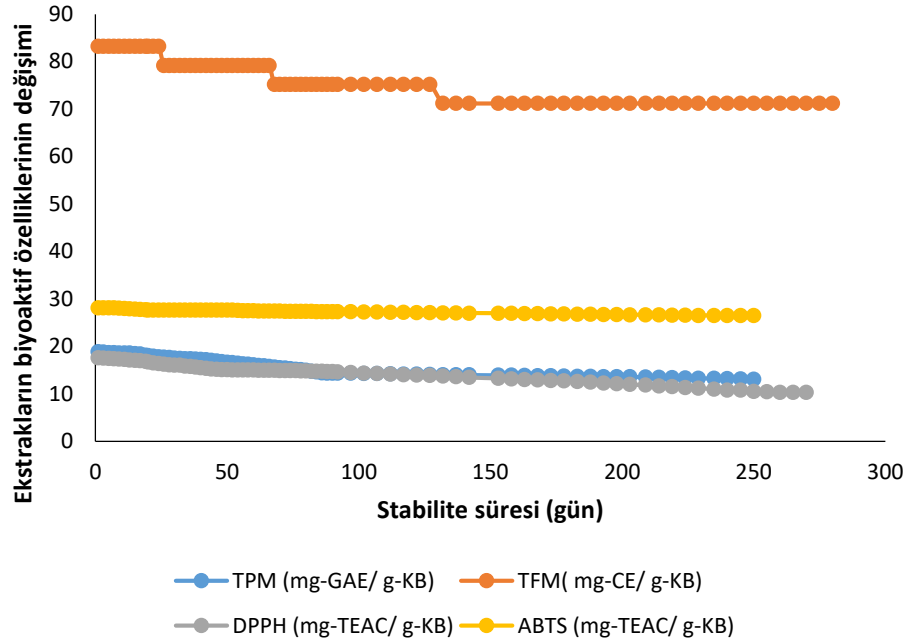
Tablo 4.47-4.50' de gösterildiği gibi, 250 gün sonra ürünlerin TPM' sinin %5.5' i, 280 gün sonra ürünlerin TFM' sinin %5' i, 270 gün sonra ürünlerin AA-DPPH' sinin %11' i ve ürünlerin AA-ABTS' sinin %0.5' i bozunmuştur. Şekil 4.56, -20°C ve 1atm basınçta saklandığında TPM, TFM

ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin zamanla bozulmasını göstermektedir.



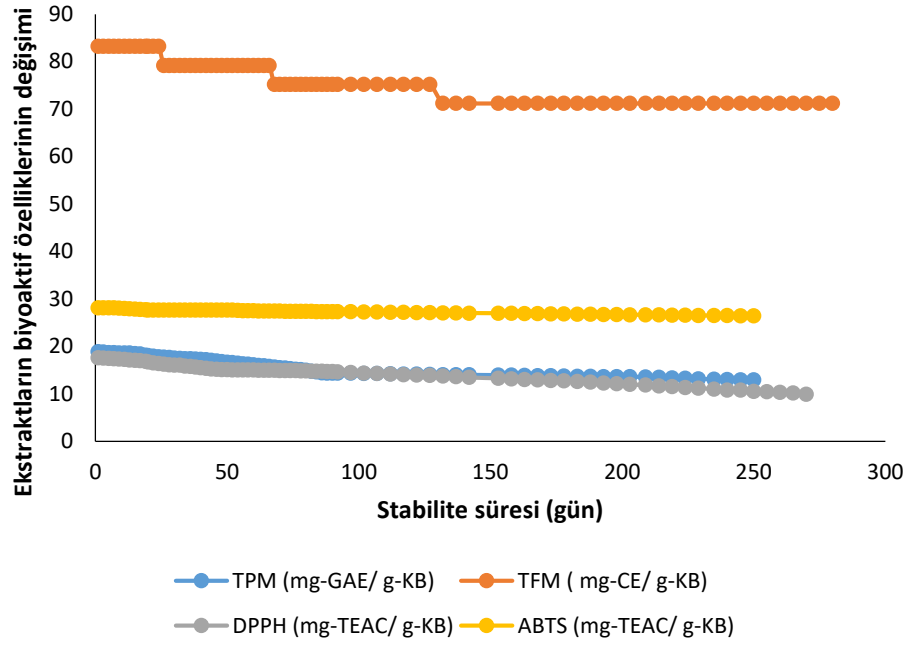
Şekil 4.56: MDE ile elde edilen ve -20 °C 'de saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Optimum koşullarında hazırlanan ve normal oda aydınlatmasında, 1 atm basınçta ve 25 °C' de saklanan numune 250 gün boyunca analiz edilerek TPM seviyesi izlendi. Tablo 4.47' de gösterildiği gibi, TPM' nin aktivitesi 18,83' ten 13,08 mg-GAE/ g-KB' ye düşmüştür. Tablo 4.48' te gösterildiği gibi, TFM aktivitesi 280 gün boyunca takip edilirken TFM, 83,20' den 75,20 mg -CE/g-KB' ye düşmüştür. AA-DPPH aktivitesi 270 gün boyunca takip edilirken AA-DPPH, Tablo 4.49' da gösterildiği gibi 17,603' ten 10,329 mg-TEAC/g-KB' ye düşürülmüştür. Ayrıca AA-ABTS aktivitesi 250 gün takip edilirken değeri 28,12' den 26,517 mg-TEAC/ g-KB' ye düştü (Tablo 4.50). Şekil 4.57, normal oda aydınlatması, 1 atm basınç ve 25°C altında saklandığında, TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin zamanla bozulmasını göstermektedir.

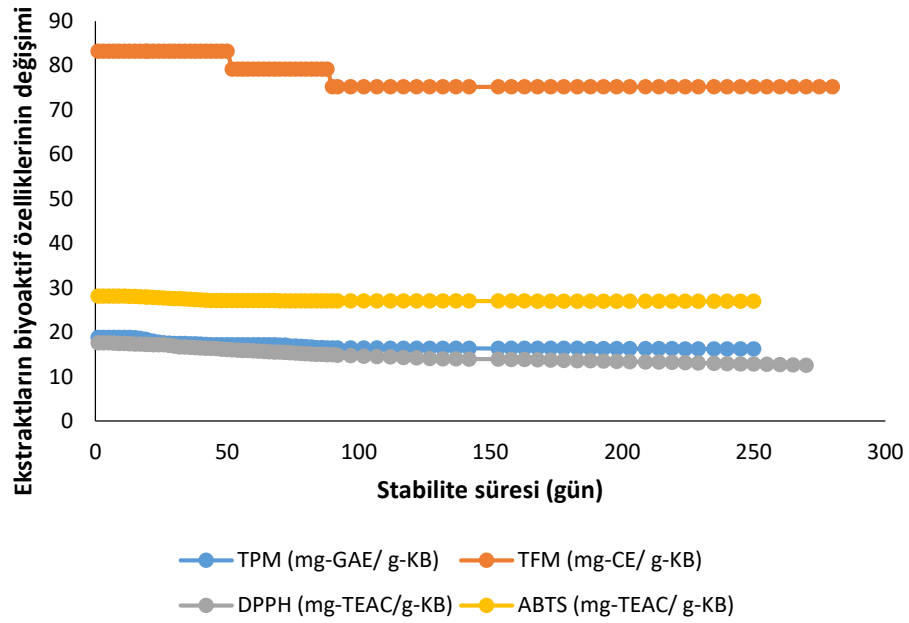


Şekil 4.57: MDE ile elde edilen ve normal oda aydınlatması ve sıcaklığında saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Ayrıca yine aynı koşullarda, ancak bu sefer numuneler lamba altında belli bir mesafede tutularak, numune biyoaktivitesini 250, 280, 270 ve 250 gün boyunca izlenmiştir. Tablo 4.47, 4.48, 4.49, 4.50 ve Şekil 4.58' de gösterildiği gibi TPM yüzdesi başlangıç değerinin %31' ine, TFM başlangıç değerinin %14,4' üne, AA-DPPH başlangıç değerinin %44' üne ve AA-ABTS başlangıç değerinin %6' sına gerilemiştir. Aynı durum Tablo 4.47, 4.48, 4.49, 4.50 ve Şekil 4.59' da gösterildiği gibi karanlık ortam açısından da değerlendirilmiştir. TPM 16.23 mg-GAE/g-KB' ye, TFM 75.20 mg-CE/g-KB' ye, AA-DPPH 12.58 mg-TEAC/g-KB' ye ve AA-ABTS a26.948 mg-TEAC/g-KB' ye düşmüştür.

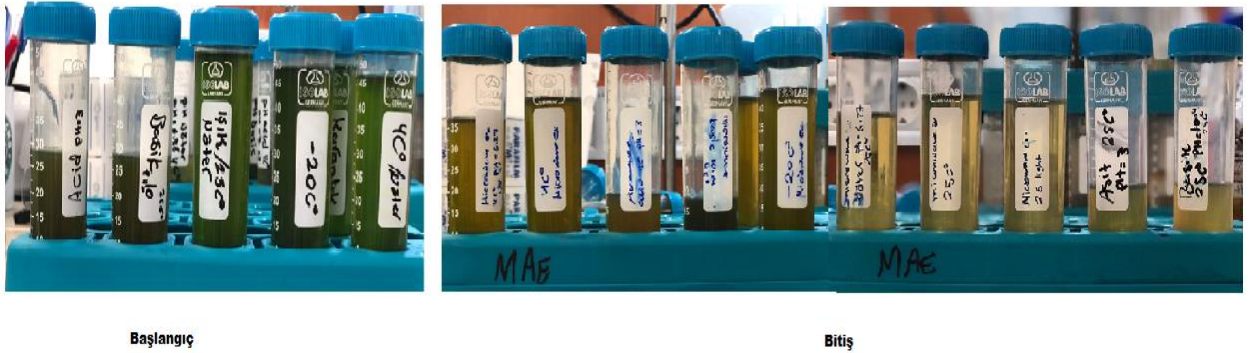


Şekil 4.58: MDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve lamba altında belli bir mesafede saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.



Şekil 4.59: MDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Şekil 4.60, farklı koşullar altında saklama günleri boyunca numunelerin renk değişimini gösterir. Numunenin rengi, oda aydınlatması altında 25 °C sıcaklıkta pH (3, 7 ve 10)' da başlangıçta olduğundan daha açıktı. Soğukta ve karanlık ortamlarda saklanırken numunenin renginde önemli bir değişiklik olmamıştır. Bunlar, sıcaklık ne kadar düşük olursa biyolojik olarak aktif bileşiklerin parçalanmasının o kadar düşük olduğunu gösterir.



Şekil 4.60: MDE yöntemiyle ekstrakte edilen numunelerin renk değişimi.

4.5.4. UDE ile Elde Edilen Ekstraktların Depolama Çalışmaları

Numuneler UDE' nin optimum koşulları altında hazırlanmış ve farklı koşullar altında saklanmıştır (Tablo 4.51-4.54). TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özellikler analiz edildi.

Tablo 4.51: UDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TPM içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	TPM (mg-GAE/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	250	8,00±0,002	3,70±0,002
	7	250	8,75±0,005	7,30±0,006
	10	250	7,90±0,006	3,75±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	250	8,00±0,001	5,00±0,006
	7	250	8,75±0,001	7,70±0,005
	10	250	7,90±0,002	5,05±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	250	8,75±0,002	7,30±0,005
	4	250	8,75±0,005	7,70±0,005
	-20	250	8,75±0,007	8,55±0,006
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	250	8,75±0,005	7,30±0,002
	Karanlık	250	8,75±0,003	7,55±0,003
	Normal oda aydınlatması	250	8,75±0,005	7,45±0,003

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.52: UDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının TFM içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	TFM (mg-CE/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	280	69,30±0,001	37,80±0,001
	7	280	69,30±0,001	44,80±0,003
	10	280	69,30±0,005	37,80±0,005
PH 1 atm, 4 °C	3	280	69,30±0,001	41,30±0,005
	7	280	69,30±0,001	58,80±0,004
	10	280	69,30±0,002	44,80±0,001
Sıcaklık °C 1 atm	25	280	69,30±0,003	44,80±0,001
	4	280	69,30±0,005	58,80±0,003
	-20	280	69,30±0,006	62,30±0,004
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	280	69,30±0,002	44,80±0,005
	Karanlık	280	69,30±0,003	58,80±0,002
	Normal oda aydınlatması	280	69,30±0,002	48,30±0,003

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.53: UDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları altında incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının DPPH ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	AA-DPPH (mg-TEAC/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	270	10,801±0,001	5,460±0,001
	7	270	10,982±0,001	10,153±0,002
	10	270	10,814±0,001	5,473±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	270	10,801±0,001	6,964±0,002
	7	270	10,982±0,001	10,269±0,001
	10	270	10,814±0,002	7,0155±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	270	10,982±0,003	10,153±0,002
	4	270	10,982±0,002	10,269±0,003
	-20	270	10,982±0,001	10,490±0,001
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	270	10,982±0,001	10,153±0,002
	Karanlık	270	10,982±0,001	10,217±0,003
	Normal oda aydınlatması	270	10,982±0,002	10,179±0,001

* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

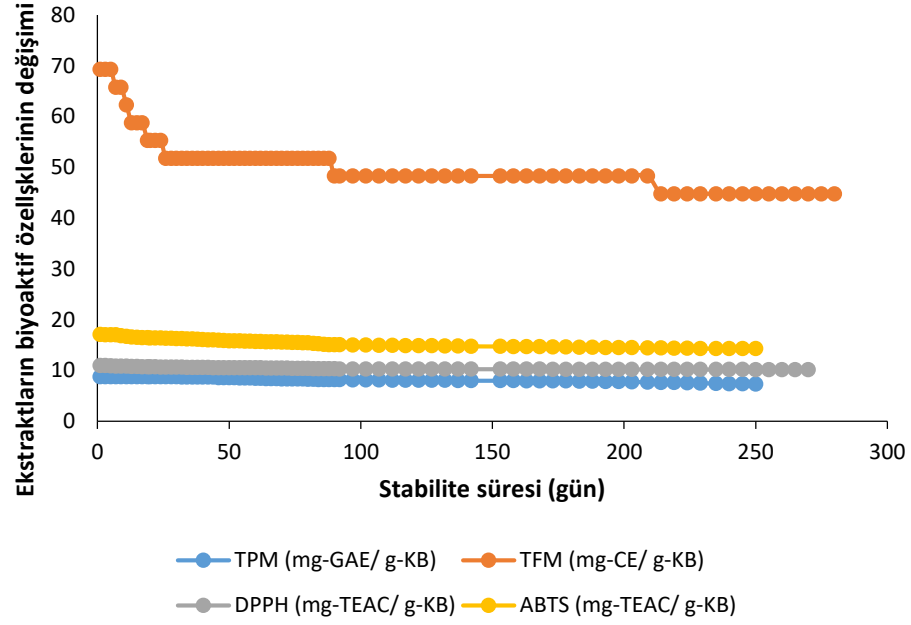
Tablo 4.54: UDE yönteminin optimum koşulları altında elde edilen ve farklı depolama koşulları incelenen *Moringa oleifera* yaprak ekstraktlarının ABTS ile ölçülen AA içeriklerinin stabilite süreleri*.

Depolama koşulları		Stabilite süresi (gün)	AA-ABTS (mg-TEAC/g-KB)	
			Başlangıç	Bitiş
PH 1 atm, 25 °C	3	250	13,995±0,002	11,948±0,002
	7	250	17,064±0,005	14,317±0,006
	10	250	12,675±0,006	8,610±0,002
PH 1 atm, 4 °C	3	250	13,995±0,001	12,972±0,006
	7	250	17,064±0,001	16,983±0,005
	10	250	12,675±0,002	12,379±0,002
Sıcaklık °C 1 atm	25	250	17,064±0,002	14,317±0,005
	4	250	17,064±0,005	16,983±0,005
	-20	250	17,064±0,007	17,010±0,006
Işık 1atm , 25 °C	Lamba aydınlatması altında	250	17,064±0,005	14,317±0,002
	Karanlık	250	17,064±0,003	14,964±0,003
	Normal oda aydınlatması	250	17,064±0,005	14,345±0,003

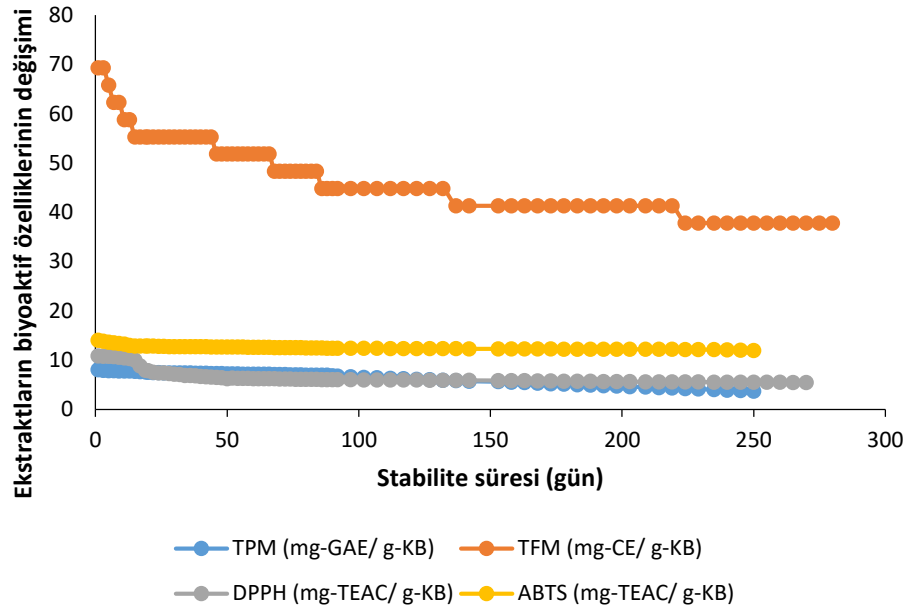
* Veriler ortalama (3 tekrar) ± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo 4.51' deki bulgulara göre, pH 7 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen fenol içeriğinde %16,5 oranında bozulma gözlemlendi. *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen fenol içeriğinde pH sırasıyla 3 ve 10 olduğunda sırasıyla %54 ve %53 oranında bozulma gözlemlenmiştir. Aynı depolama koşulları altında, TFM' nin bozunması, Tablo 4.52' de gösterildiği gibi 280 gün boyunca depolama ile analiz edildi. Analiz sonuçlarına göre *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen flavonoid içeriğinde pH (3,7 ve 10) olduğunda sırasıyla %45,5, %35 ve %45,5 oranında bozulma gözlemlenmiştir. Ayrıca, antioksidan aktivite, aynı sıcaklık ve basınç saklama koşulları altında analiz edildi. AA-DPPH ve AA-ABTS' nin bozunması, sırasıyla 270 ve 250 gün izlendi. Tablo 4.53' te gösterildiği gibi, pH 7 iken *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen AA-DPPH içeriğinin %7,5' inde bozulma, ayrıca pH 3 ve 10 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen AA-DPPH içeriğinin %50' sinde bozulma gözlemlenmiştir. Tablo 4.54' te gösterildiği gibi, *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen AA-ABTS' de pH sırasıyla 3, 7 ve 10 olduğunda %14,6, %16 ve %32

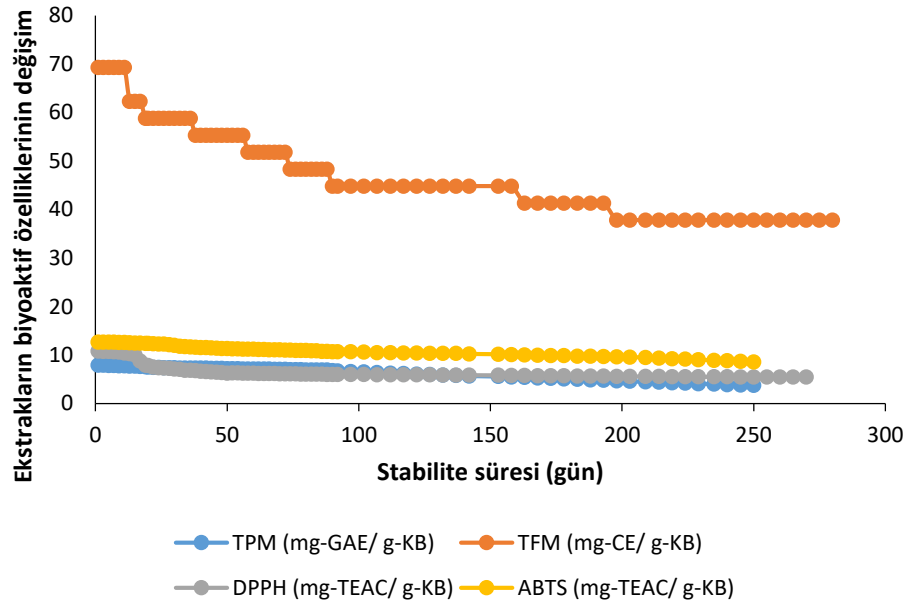
oranında bozunma gözlemlenmiştir. Şekil 4.61-4.63 TPM, TFM ve antioksidan aktivite gibi biyoaktif özelliklerin 25°C, 1atm basınç ve farklı pH değerlerinde (3, 7 ve 10) depolandığında bozunma grafiklerini göstermektedir.



Şekil 4.61: UDE ile elde edilen ve 25 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.



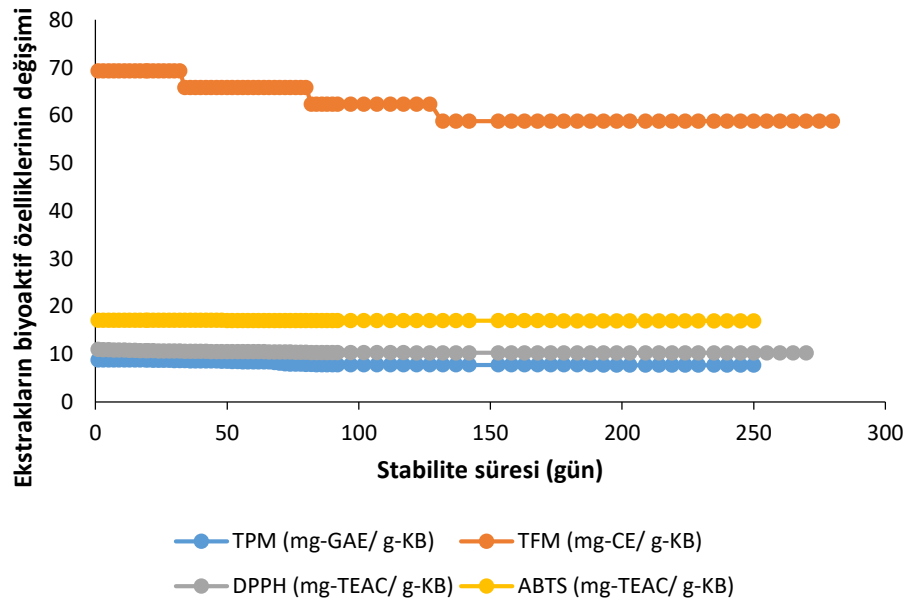
Şekil 4.62: UDE ile elde edilen ve 25 °C 'de ve asidik ortamda (pH 3) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.



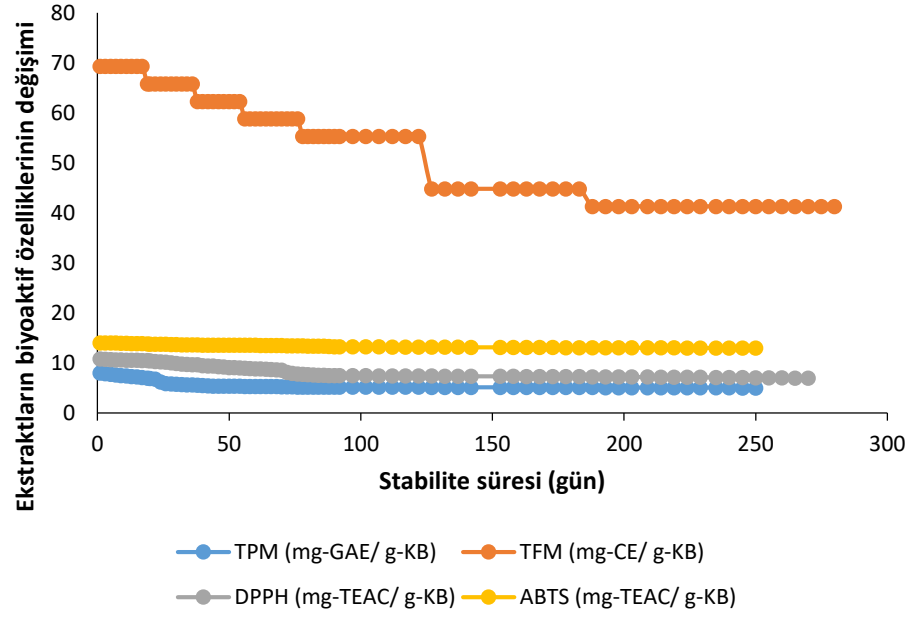
Şekil 4.63: UDE ile elde edilen ve 25 °C 'de ve bazık ortamda (pH 10) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerindeki değişimler.

Ayrıca numuneler 1 atm basınçta ve 4 °C' de farklı pH' larda (3, 7 ve 10) saklanmıştır. TPM, TFM, AA-DPPH ve AA-ABTS' nin bozunması, sırasıyla 250, 280, 270 ve 250 günlük depolama ile analiz edildi. Analizlere göre, pH 3, 10 ve 7 olduğunda *Moringa oleifera* yapraklarından ekstrakte edilen TPM' de Tablo 4.51' de gösterildiği gibi sırasıyla % 37.5 ve % 12 oranında bozunma gözlemlenmiştir. Ayrıca, Tablo 4.52' de gösterildiği gibi, *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen TFM' de pH sırasıyla 3, 7 ve 10 olduğunda sırasıyla % 39,60, % 15 ve % 35,40 oranında bir bozulma gözlemlendi.

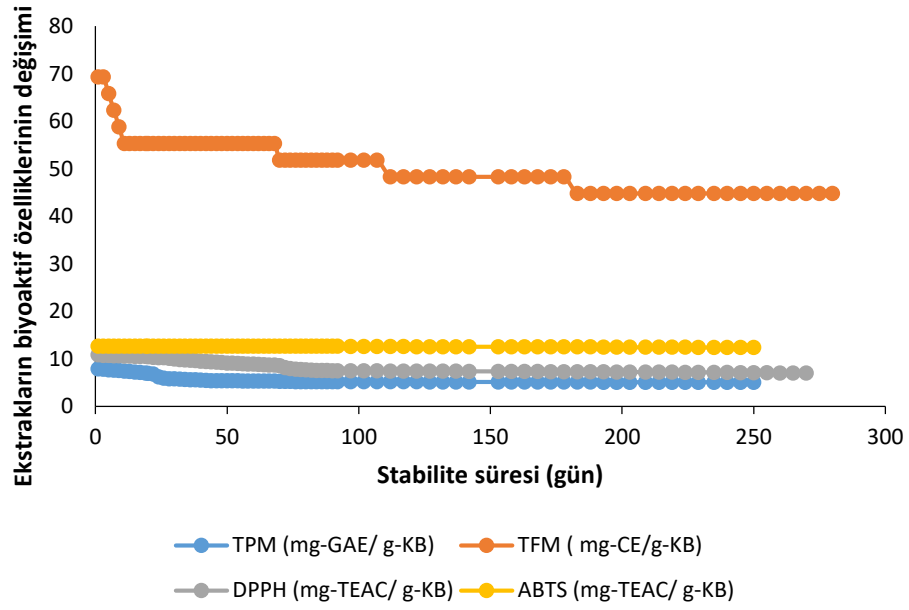
Tablo 4.53' te görüldüğü gibi *Moringa oleifera* yapraklarından elde edilen AA-DPPH' de pH 3 ve 10 olduğunda % 35,5 oranında bozulma, pH 7 olduğunda ise % 6,50 AA-DPPH oranında bozulma gözlemlenmiştir. Ayrıca, Tablo 4.54' te görüldüğü gibi AA-ABTS antioksidan aktivite yüzdesi pH 3' te başlangıç değerinin %7,30' una, pH 7' de başlangıç değerinin %0,5' ine ve pH 10' da başlangıç değerinin %2,30' una düşürülmüştür. Şekil 4.64-4.66, 4 °C' de, 1atm basınçta ve pH 3, 7 ve 10 değerlerinde saklandığında zamanla TPM, TFM ve antioksidan aktivite gibi biyoaktif özelliklerin bozulmasını göstermektedir.



Şekil 4.64: UDE ile elde edilen ve 4 °C' de ve nötr ortamda (pH 7) saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

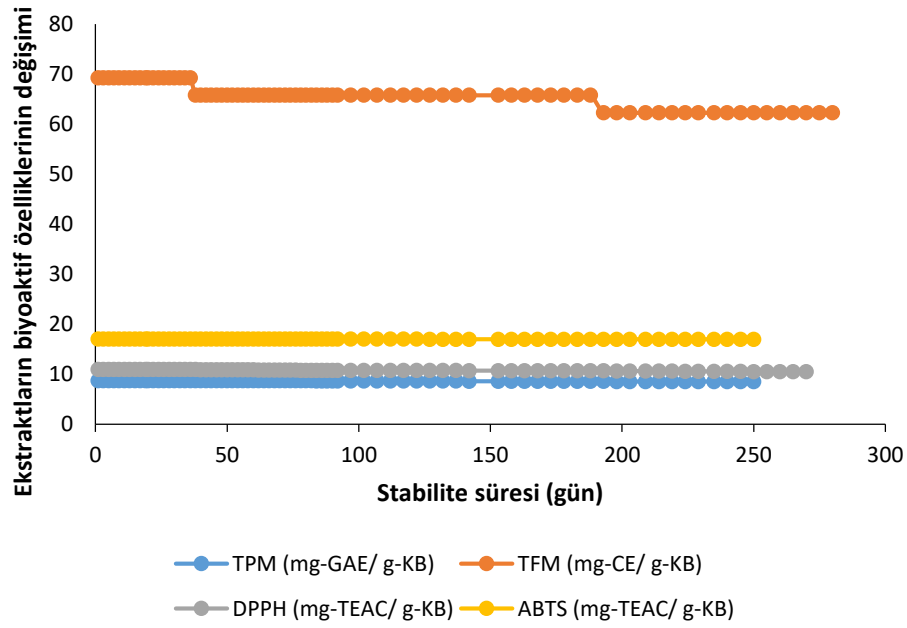


Şekil 4.65: UDE ile elde edilen ve 4 °C ve asidik ortamda depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi (pH 3).



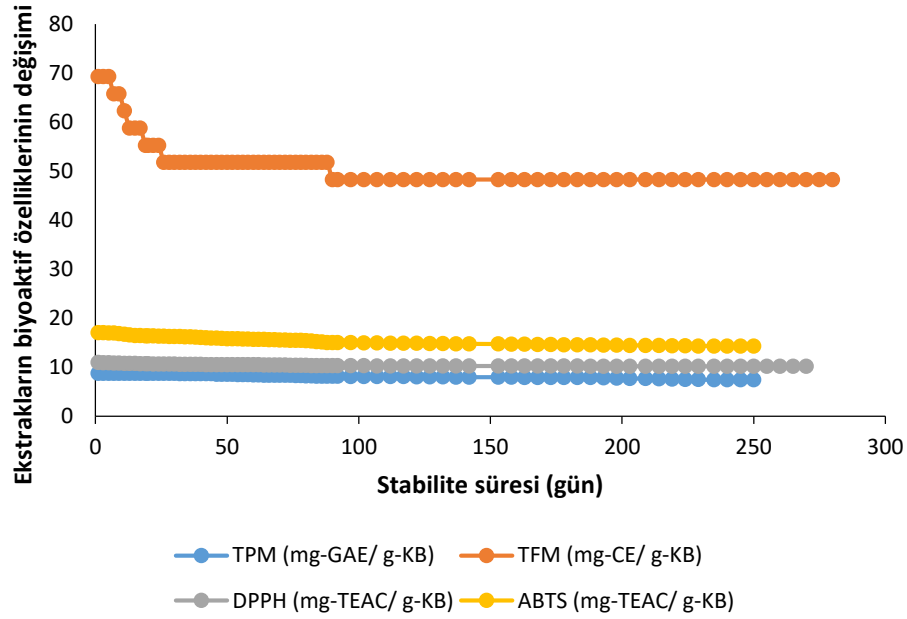
Şekil 4.66: UDE ile elde edilen ve 4 °C'de depolanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinde ve temel ortamdaki değişiklikler (pH 10).

Tablo 4.51-4.54' te gösterildiği gibi, 250 gün sonra ürünlerin TPM' sinin %2.30' u bozuldu, 280 gün sonra ürünlerin TFM'sinin %10' u bozuldu, 270 gün sonra ürünlerin AA-DPPH' sinin %4,50' si bozuldu. Ayrıca ürünlerin AA-ABTS' sinin %0.32' si 250 gün sonra bozulmuştur. Şekil 4.67, -20°C ve 1 atm basınçta saklandığında TPM, TFM ve antioksidan aktivite gibi biyoaktif özelliklerin zamanla bozulmasını göstermektedir.



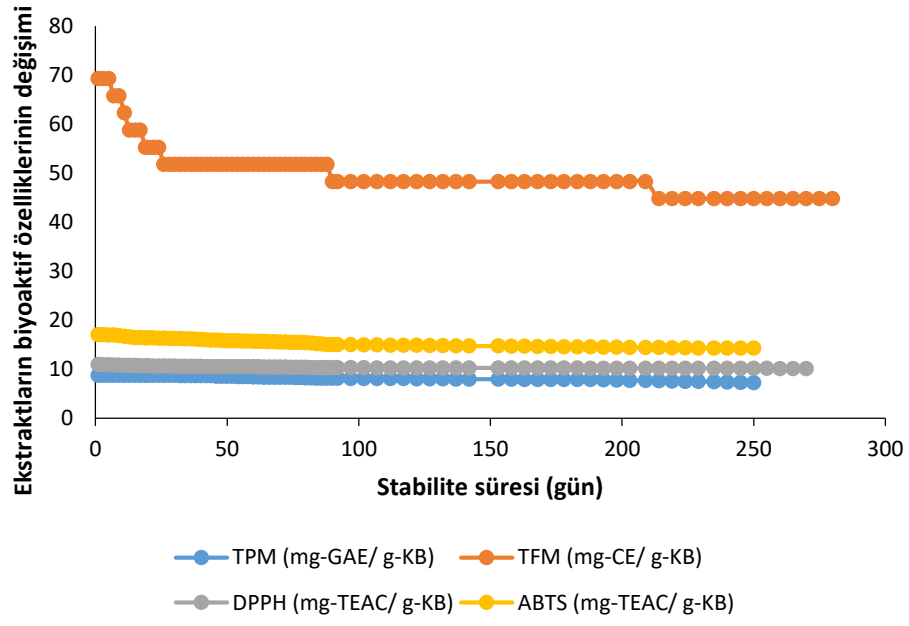
Şekil 4.67: UDE ile elde edilen ve -20 °C' de saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Öte yandan ışığın TPM, TFM, AA-DPPH ve AA-ABTS üzerindeki etkisi de incelenmiştir. UDE' nin optimum koşullarında hazırlanan ve normal oda aydınlatmasında, 1 atm basınçta ve 25°C 'de saklanan numune 250 gün boyunca analiz edilerek TPM değeri izlendi. Tablo 4.51' de gösterildiği gibi, TPM' nin aktivitesi 8,75' ten 7,45 mg-GAE/ g-KB' ye düşmüştür. Tablo 4.52' de gösterildiği gibi, TFM aktivitesi 280 gün sonunda 69,30' dan 48,30 mg CE/g-KB' ye düştü. AA-DPPH aktivitesi 270 gün takip edildi (Tablo 4.53). Değeri 10,982' den 10,179 mg-TEAC/ g-KB' ye geriledi. Ayrıca, AA-ABTS aktivitesi 250 gün sonunda 17,064' ten 14,345 mgEAC/g-KB' ye geriledi. Şekil 4.68, normal oda aydınlatması, 1 atm basınç ve 25°C altında saklandığında TPM, TFM ve antioksidan aktivite (AA-DPPH, AA-ABTS) gibi biyoaktif özelliklerin zamanla değişimini göstermektedir.

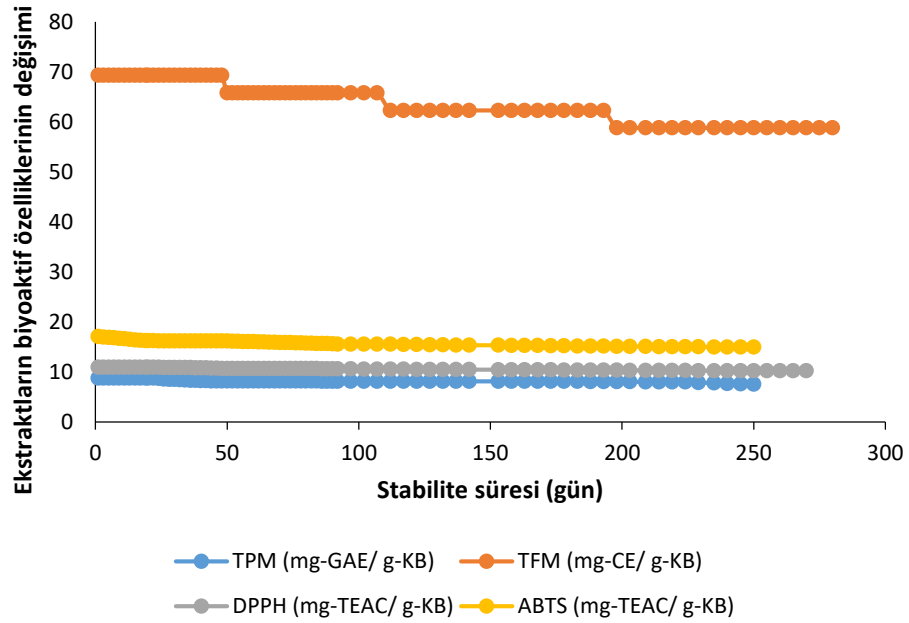


Şekil 4.68: UDE ile elde edilen ve normal oda aydınlatması ve sıcaklığında saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Ayrıca yine aynı koşullarda, ancak bu sefer numuneler lamba altında belli bir mesafede tutularak, numune biyoaktivitesini 250, 280, 270 ve 250 gün boyunca stabil olarak korumuştur. (Tablo 4.51, 4.52, 4.53, 4.54 ve şekil 4.69)' ta görüldüğü gibi , TPM aktivite yüzdesi başlangıç değerinin %16,5' ine, TFM aktivitesi başlangıç değerinin %35,4' üne, AA-DPPH aktivitesi başlangıç değerinin %7,50' ına ve AA-ABTS aktivitesi başlangıç değerinin %16' sına düşürülmüştür. Aynı durum tablo (4.51, 4.52, 4.53, 4.54 ve şekil 4.69)' ta görüldüğü gibi karanlık ortam açısından da değerlendirilmiştir. TPM aktivitesi 7,55 (mg GAE/g-KB)' ye, TFM aktivitesi 58,80 (mg CE/g-KB)' ye, AA-DPPH aktivitesi 10,217 (mg TEAC/g-KB)' ye ve AA-ABTS aktivitesi 14,964 (mg TEAC/g-KB)' ye düşürülmüşlerdir.

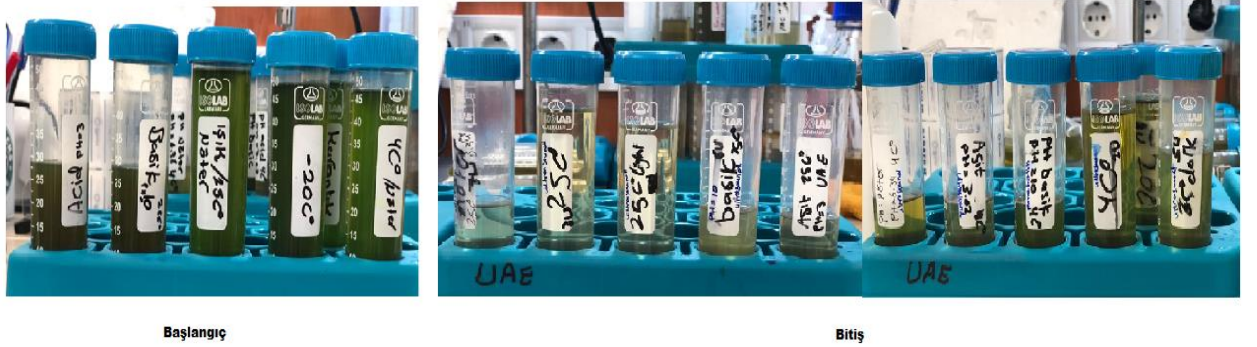


Şekil 4.69: UDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve lamba altında belli bir mesafede saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.



Şekil 4.70: UDE ile elde edilen ve oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanan ekstraktların çeşitli biyoaktif özelliklerinin değişimi.

Şekil 4.71, farklı koşullar altında saklanan numunelerin renk değişimini gösterir. Numunenin rengi, oda aydınlatması altında 25°C sıcaklıkta pH (3, 7 ve 10)' da başlangıçta olduğundan çok açıktı. -20°C, 4°C ve karanlık ortamlarda saklanırken numunenin renginde çok bir değişiklik olmamıştır. Bunlar, sıcaklık ne kadar düşük olursa biyolojik olarak aktif bileşiklerin parçalanmasının o kadar düşük olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.71: UDE yöntemiyle ekstrakte edilen numunelerin renk değişimi.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- İlaç ve gıda uygulamalarında *Moringa oleifera* ağacının tüm parçalarının insanlara ve hayvanlara yardımcı olabilecek faydalı özelliklere sahip olduğu söylenmektedir. Mevcut bitki sağlığa faydalı bileşikler açısından çok zengin olduğundan, gıda ve ilaç gibi endüstriyel sektörlerde kullanımı büyük ilgi görmüştür. Bu çalışmada, *Moringa oleifera* yapraklarından homojenizatör destekli ekstraksiyon, otomatik solvent ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak ekstrakt elde edilmiş ve içeriğindeki fenolik, flavonoid ve antioksidan aktivite seviyeleri belirlenmiştir. Elde edilen ekstraktların biyoaktif özelliklerinin stabilitesi, 250-280 gün süreyle farklı fiziksel ve kimyasal koşullar altında saklanarak incelenmiştir.
- Bu çalışmanın amacı, yeşil teknolojileri kullanan bir yöntem geliştirmek olduğundan, çözücü sistemi olarak çevre dostu ve genellikle güvenli (GRAS) olarak bilinen etanol ve sulu çözeltileri seçilmiştir. Bu, hedef ürünlerin gıda, ilaç ve kozmetik gibi alanlarda doğal katkı maddesi olarak önerilmesi nedeniyle önemlidir.
- Deneysel çalışmanın planlanması için istatistiksel deneysel tasarım tekniği olan cevap yüzeyi yönteminin ve merkezi kompozit tasarım alt türü kullanılmıştır. Bu yöntem ile modelleme ve optimizasyonda sağlanmıştır.
- HDE yönteminde, en yüksek toplam fenolik (17,51 mg-GAE/g-KB) ve toplam flavonoid (271,3-mg CE/g-KB) verimini elde etmek için gereken en iyi proses koşulları 77 sn, 9000 rpm ve %30 etanol çözücü sistemi ile elde edildi. Her iki sistem için türetilen kuadratik model denklemlerinin, yüksek belirleme katsayılarına ($> 0,88$), istatistiksel olarak anlamlı P değerlerine ($< 0,05$), CV değerlerine ($< \%10$) bağlı olarak deneysel verileri başarıyla açıkladığı sonucuna varılabilir.
- OÇE yönteminde, en yüksek toplam fenolik (34,201 mg-GAE/g-KB) ve toplam flavonoid (162,349 mg-CE/g-KB) verimi elde etmek için gereken en iyi proses koşulları 60 dk, 1,25 mm ve %87 etanol çözücü sistemi ile elde edildi. Her iki

sistem için türetilen kuadratik model denklemlerinin, yüksek belirleme katsayılarına ($> 0,98$), istatistiksel olarak anlamlı P değerlerine ($<0,05$), CV değerlerine ($< \%10$) bağlı olarak deneysel verileri başarıyla açıkladığı sonucuna varılabilir.

- MDE yönteminde, en yüksek toplam fenolik (18,81 mg-GAE/g-KB) ve toplam flavonoid (83,24 mg-CE/g-KB) verimi elde etmek için gereken en iyi proses koşulları 400 sn, 200 W ve %72 etanol çözücü sistemi ile elde edildi. Her iki sistem için ikinci derece model denklemlerinin, yüksek belirleme katsayılarına ($> 0,97$), istatistiksel olarak anlamlı P değerlerine ($<0,05$), CV değerlerine ($< \%10$) bağlı olarak deneysel verileri başarıyla açıkladığı sonucuna varılabilir.
- UDE yönteminde, en yüksek toplam fenolik (8,67 mg-GAE/g-KB) ve toplam flavonoid (69,47 mg-CE/g-KB) verimi elde etmek için gereken en iyi proses koşulları %11 genlik, 0,5 mm ve %77 etanol çözücü sistemi ile elde edildi. Her iki sistem için türetilen ikinci derece model denklemlerinin, yüksek belirleme katsayılarına ($> 0,98$) bağlı olarak deneysel verileri başarıyla açıkladığı, istatistiksel olarak anlamlı P değerleri ($<0,05$), her iki cevap değeri için seçilen tüm parametrelerin sistemi istatistiksel olarak etkilediği sonucuna varılabilir.
- Mikrodalga destekli ekstraksiyonun kinetik ve termodinamik analizi yapılmış, kütle transfer parametreleri irdelenmiştir. *Moringa oleifera* bitkisinin yapraklarından fenolik bileşenleri elde edilmek için 30 ila 400 saniye arasında değişen zaman periyotlarında çeşitli mikrodalga güç değerlerinde mikrodalga destekli ekstraksiyon uygulandı. Deneysel verilerin kinetiği, yalancı birinci derece kinetik model ($R^2 > 0,91$) ile yalancı ikinci derece kinetik denkleme göre daha iyi açıklanmıştır. *Moringa oleifera* yapraklarından fenoliklerin ekstraksiyonu için aktivasyon enerjisi, E_a 'nın 243,367 kJ/mol olduğu Arrhenius denkleminin uygulanmasıyla da hesaplandı. Termodinamik analizler, mevcut sürecin doğasının endotermik ve kendiliğinden olan artan bir düzensizliğe doğru giden bir system olduğunu göstermiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon sisteminin difüzyon süreci de sıcaklığa bağlı olarak difüzyon katsayısı, kütle transfer katsayısı ve Biot sayısı tahmin edilerek değerlendirilmiştir. Artan sıcaklık, seçilen kütle transfer parametrelerinin yüksek değerlerine yol açmıştır.
- Ultrason destekli ekstraksiyonun kinetik ve termodinamik analizi yapılmış, kütle transfer parametreleri irdelenmiştir. Deneysel kinetik veriler, yalancı ikinci

derece kinetik modelle ($R^2 > 0,98$) birinci derece kinetik denkleme göre daha iyi açıklanmıştır. Fenoliklerin ekstraksiyonu için aktivasyon enerjisi 3,5225 kJ/mol idi. *Moringa oleifera* yapraklarından fenoliklerin ekstraksiyonda UDE sürecinin termodinamik analizleri, sürecin endotermik, rastgele ve kendiliğinden olduğunu göstermektedir. Öte yandan, mevcut sistemin ultrason destekli ekstraksiyonunun difüzyon sürecini tahmin etmek için difüzyon ve kütle transfer katsayıları ile Biot sayısı hesaplanmıştır. Ek olarak, Biot sayısı sıcaklıkla birlikte düşmüştür.

- *Moringa oleifera* yaprakları dört farklı gelişmiş ayırma yöntemi (HDE, OÇE, UDE ve MDE) kullanılarak ekstrakte edildi. Hem toplam fenolik hem de toplam flavonoid içeriği açısından en yüksek verim otomatik çözücü ekstraksiyonu ile elde edilmiştir.
- Bu çalışma ile *Moringa oleifera* yaprağının zengin bir biyoaktif bileşen kaynağı olduğu gösterilmiştir (kurutulmuş bitki kütlesinin yaklaşık olarak %2'si).
- Seçilen sistemlerin kinetik, termodinamik ve transport analizi ise proses yapısının ve endüstriyel uygulamalarının anlaşılması için vazgeçilmezdir. Kinetik, termodinamik ve kütle transferi çalışmaları, önerilen işlemlerin *Moringa oleifera* yapraklarından fenolik antioksidanların eldesi için etkili bir yöntem olduğunu göstermiştir.
- Araştırmanın son ve en önemli kısmı ise elde edilen doğal ürünlerin farklı depolama koşulları altında bozunma sürecinin incelenmesi olmuştur. Yaklaşık 280 gün boyunca örneklerin TPM, TFM ve 2 farklı yöntemle ölçülen antioksidan aktivite değerleri takip edilmiştir. Sıcaklığın, ışığın ve asiditenin ürünün raf ömrüne nasıl bir etkide bulunduğu gözlemlenmiştir.
- Öncelikle biyoaktif içeriği daha yüksek olan ekstraktlar bozunmaya daha uzun süre direnç göstermişlerdir. Bu da antioksidatif etkiye sahip olan fenolik ve flavonoid maddelerin oksidasyona karşı göstermiş oldukları direncin yani koruyucu etkilerinin bir kanıtıdır.
- Buradan biyolojik olarak aktif malzemelerin kalitesi ne kadar yüksek olursa, farklı depolama koşulları altında bozulmaya karşı dirençlerinin o kadar yüksek olduğu sonucuna varılır.
- Depolama koşullarının da ekstraktın bozunma davranışını etkilediği gözlenmiştir. Özellikle sıcaklık değerinin düşük olması bozunmayı

yavaşlatmıştır. Yani ürünün buzdolabı koşullarında saklanması ürün kalitesinin muhafazasına katkı sağlamaktadır.



6. KAYNAKLAR

1. Russ, W. and R. Meyer-Pittroff, *Utilizing waste products from the food production and processing industries*. Critical reviews in food science and nutrition, 2004. **44**(1): p. 57-62.
2. Vuong, Q.V., *Utilisation of bioactive compounds from agricultural and food production waste*. 2017: CRC Press.
3. Aldag, R. and H. Döhler, *Arbeitsmaterialien des Bundesamtes für Ernährung und Forstwirtschaft*. Frankfurt, March, 1990.
4. Foster, C., K. Green, and M. Bleda, *Environmental impacts of food production and consumption: final report to the Department for Environment Food and Rural Affairs*. 2007.
5. Manzini, R. and R. Accorsi, *The new conceptual framework for food supply chain assessment*. Journal of food engineering, 2013. **115**(2): p. 251-263.
6. McClements, D.J. and B. Öztürk, *Utilization of nanotechnology to improve the application and bioavailability of phytochemicals derived from waste streams*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021.
7. Rahman, K., *Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors*. Clinical interventions in aging, 2007. **2**(2): p. 219.
8. O'Donovan, D.J. and C.J. Fernandes, *Free radicals and diseases in premature infants*. Antioxidants and redox signaling, 2004. **6**(1): p. 169-176.
9. Donnelly, J.K. and D.S. Robinson, *Invited Review Free Radicals in Foods*. Free Radical Research, 1995. **22**(2): p. 147-176.
10. Halliwell, B., et al., *Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work*. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 1995. **35**(1-2): p. 7-20.
11. Williams, G., M. Iatropoulos, and J. Whysner, *Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives*. Food and chemical toxicology, 1999. **37**(9-10): p. 1027-1038.
12. Slavin, J.L. and B. Lloyd, *Health benefits of fruits and vegetables*. Advances in nutrition, 2012. **3**(4): p. 506-516.
13. Imeh, U. and S. Khokhar, *Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations*. Journal of agricultural and food chemistry, 2002. **50**(22): p. 6301-6306.
14. Johansen, J.S., et al., *Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice*. Cardiovascular diabetology, 2005. **4**(1): p. 1-11.
15. Edoga, C., et al., *Blood sugar lowering effect of Moringa oleifera Lam in albino rats*. International Journal of Science and Technology, 2013. **3**(1): p. 88-90.
16. Leone, A., et al., *Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of Moringa oleifera leaves: An overview*. International journal of molecular sciences, 2015. **16**(6): p. 12791-12835.
17. Moyo, B., et al., *Nutritional characterization of Moringa (Moringa oleifera Lam.) leaves*. African Journal of Biotechnology, 2011. **10**(60): p. 12925-12933.

18. Anwar, F., et al., *Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses*. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 2007. **21**(1): p. 17-25.
19. Nweze, N.O. and F.I. Nwafor, *Phytochemical, proximate and mineral composition of leaf extracts of Moringa oleifera Lam. from Nsukka, South-Eastern Nigeria*. 2014.
20. Shin, Y., et al., *Harvest maturity, storage temperature and relative humidity affect fruit quality, antioxidant contents and activity, and inhibition of cell proliferation of strawberry fruit*. Postharvest Biology and Technology, 2008. **49**(2): p. 201-209.
21. Phaniendra, A., D.B. Jestadi, and L. Periyasamy, *Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases*. Indian journal of clinical biochemistry, 2015. **30**(1): p. 11-26.
22. Gomberg, M., *An instance of trivalent carbon: Triphenylmethyl*. Journal of the American chemical Society, 1900. **22**(11): p. 757-771.
23. Kharasch, M.S. and F.R. Mayo, *The peroxide effect in the addition of reagents to unsaturated compounds. I. The addition of hydrogen bromide to allyl bromide*. Journal of the American Chemical Society, 1933. **55**(6): p. 2468-2496.
24. Halliwell, B. and J. Gutteridge, *Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease*. Biochemical journal, 1984. **219**(1): p. 1.
25. Hugo, V., *Theory of Oxygen Toxicity*. Oxygen and Living Processes: An Interdisciplinary Approach, 2012: p. 44.
26. Harman, D., *Free radical theory of aging*. Mutation Research/DNAging, 1992. **275**(3-6): p. 257-266.
27. Harman, D., *Free radical theory of aging: an update: increasing the functional life span*. Annals of the New York academy of sciences, 2006. **1067**(1): p. 10-21.
28. McCord, J.M. and I. Fridovich, *Superoxide dismutase: an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein)*. Journal of Biological chemistry, 1969. **244**(22): p. 6049-6055.
29. McCord, J.M. and I. Fridovich, *The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions: I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen*. Journal of Biological Chemistry, 1969. **244**(22): p. 6056-6063.
30. Loschen, G., L. Flohe, and B. Chance, *Respiratory chain linked H₂O₂ production in pigeon heart mitochondria*. FEBS letters, 1971. **18**(2): p. 261-264.
31. Katsuki, S., et al., *Stimulation of guanylate cyclase by sodium nitroprusside, nitroglycerin and nitric oxide in various tissue preparations and comparison to the effects of sodium azide and hydroxylamine*. Journal of cyclic nucleotide research, 1977. **3**(1): p. 23-35.
32. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. 2015: Oxford university press, USA.
33. Beckman, K.B. and B.N. Ames, *The free radical theory of aging matures*. Physiological reviews, 1998.
34. Diplock, A., et al., *Functional food science and defence against reactive oxidative species*. British journal of nutrition, 1998. **80**(S1): p. S77-S112.
35. Cheeseman, K.H. and T.F. Slater, *An introduction to free radical biochemistry*. British Medical Bulletin, 1993. **49**(3): p. 481-493.
36. Lobo, V., et al., *Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health*. Pharmacognosy reviews, 2010. **4**(8): p. 118.
37. Valko, M., et al., *Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer*. Chemico-biological interactions, 2006. **160**(1): p. 1-40.

38. Nagendrappa, G., *An appreciation of free radical chemistry 3. Free radicals in diseases and health*. Resonance, 2005. **10**(4): p. 65-74.
39. Kohen, R. and A. Nyska, *Invited review: Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification*. Toxicologic pathology, 2002. **30**(6): p. 620-650.
40. Halliwell, B., *Free radicals and other reactive species in disease*. e LS, 2001.
41. Sindhi, V., et al., *Potential applications of antioxidants—A review*. Journal of pharmacy research, 2013. **7**(9): p. 828-835.
42. Halliwell, B. and J. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*, 2nd edn. Clarendon. 1989, Oxford.
43. Sen, S., et al., *Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect*. International journal of pharmaceutical sciences review and research, 2010. **3**(1): p. 91-100.
44. Cooper, C.E., et al., *Exercise, free radicals and oxidative stress*. Biochemical society transactions, 2002. **30**(2): p. 280-285.
45. Sies, H. and W. Stahl, *Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants*. The American journal of clinical nutrition, 1995. **62**(6): p. 1315S-1321S.
46. Krinsky, N.I., *Mechanism of action of biological antioxidants*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1992. **200**(2): p. 248-254.
47. Leopoldini, M., et al., *Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism*. The Journal of Physical Chemistry A, 2004. **108**(22): p. 4916-4922.
48. Kabanda, M.M., *A theoretical study of the antioxidant properties of phenolic acid amides investigated through the radical-scavenging and metal chelation mechanisms*. European Food Research and Technology, 2015. **241**(4): p. 553-572.
49. Gulcin, I., *Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview*. Archives of toxicology, 2020. **94**(3): p. 651-715.
50. Jacob, R.A., *The integrated antioxidant system*. Nutrition research, 1995. **15**(5): p. 755-766.
51. Harris, E.D., *Regulation of antioxidant enzymes 1*. The FASEB Journal, 1992. **6**(9): p. 2675-2683.
52. Willcox, J.K., S.L. Ash, and G.L. Catignani, *Antioxidants and prevention of chronic disease*. Critical reviews in food science and nutrition, 2004. **44**(4): p. 275-295.
53. Williams, G.M., M. Iatropoulos, and J. Whysner, *Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives*. Food and chemical toxicology, 1999. **37**(9-10): p. 1027-1038.
54. Gülçin, I., *Antioxidant activity of food constituents: an overview*. Archives of toxicology, 2012. **86**(3): p. 345-391.
55. Shahidi, F. and U. Wanasundara, *Effect of natural antioxidants on the stability of canola oil*, in *Developments in Food Science*. 1995, Elsevier. p. 469-479.
56. Shahidi, F. and P. Ambigaipalan, *Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects—A review*. Journal of functional foods, 2015. **18**: p. 820-897.
57. McCord, J.M., *The evolution of free radicals and oxidative stress*. The American journal of medicine, 2000. **108**(8): p. 652-659.
58. Sies, H., *Oxidative Stress: Oxidants and Antioxidants Academic Press*. New York and London, 1991.

59. Tian, Y.-Y., et al., *Neuroprotective effect of catalpol against MPP⁺-induced oxidative stress in mesencephalic neurons*. European journal of pharmacology, 2007. **568**(1-3): p. 142-148.
60. Golden, M.H. and D. Ramdath, *Free radicals in the pathogenesis of kwashiorkor*. Proceedings of the Nutrition Society, 1987. **46**(1): p. 53-68.
61. Brent, J.A. and B.H. Rumack, *Role of free radicals in toxic hepatic injury II. Are free radicals the cause of toxin-induced liver injury?* Journal of Toxicology: Clinical Toxicology, 1993. **31**(1): p. 173-196.
62. Hallwell, B. and J. Gutteridge, *Free radicals in biology and medicine*. 1989, Oxford: Clarendon Press.
63. von Sonntag, C., *The chemical basis of radiation biology*. 1987: Taylor & Francis London.
64. Cross, C.E., et al., *Cigarette Smoke Oxidation of Human Plasma Constituents a*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1993. **686**(1): p. 72-89.
65. Mahantesh, S., A. Gangawane, and C. Patil, *Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines in human health: Future perspets*. World Research Journal of Medicinal & Aromatic Plants, 2012. **1**(1): p. 6-10.
66. Kehrer, J.P., *Free radicals in biology: sources, reactivities, and roles in the etiology of human diseases*. Natural antioxidants in human health and disease, 1994: p. 25-62.
67. Pham-Huy, L.A., H. He, and C. Pham-Huy, *Free radicals, antioxidants in disease and health*. International journal of biomedical science: IJBS, 2008. **4**(2): p. 89.
68. Liu, R.H., *Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals*. The American journal of clinical nutrition, 2003. **78**(3): p. 517S-520S.
69. Alara, O.R., N.H. Abdurahman, and C.I. Ukaegbu, *Extraction of phenolic compounds: a review*. Current Research in Food Science, 2021.
70. Vuolo, M.M., V.S. Lima, and M.R.M. Junior, *Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power*, in *Bioactive compounds*. 2019, Elsevier. p. 33-50.
71. Shetty, K. and M. Wahlqvist, *A model for the role of the proline-linked pentose-phosphate pathway in phenolic phytochemical bio-synthesis and mechanism of action for human health and environmental applications*. Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition, 2004. **13**(1).
72. Karasawa, M.M.G. and C. Mohan, *Fruits as prospective reserves of bioactive compounds: a review*. Natural products and bioprospecting, 2018. **8**(5): p. 335-346.
73. Gülçin, I., et al., *Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey*. Food and Chemical Toxicology, 2010. **48**(8-9): p. 2227-2238.
74. Shahidi, F. and M. Naczki, *Food phenolics*. 1995: Technomic Pub. Co.
75. Rashmi, H.B. and P.S. Negi, *Phenolic acids from vegetables: A review on processing stability and health benefits*. Food Research International, 2020. **136**: p. 109298.
76. Clifford, M.N., *Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000. **80**(7): p. 1033-1043.
77. Alzand, K.I. and M.A. Mohamed, *Flavonoids: Chemistry, biochemistry and antioxidant activity*. J. Pharm. Res, 2012. **5**(40134012): p. 37.
78. Atmani, D., et al., *Flavonoids in human health: from structure to biological activity*. Current Nutrition & Food Science, 2009. **5**(4): p. 225-237.

79. Samsonowicz, M. and E. Regulska, *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.
80. Croft, K.D., *The chemistry and biological effects of flavonoids and phenolic acids a*. Annals of the New York Academy of Sciences, 1998. **854**(1): p. 435-442.
81. Musialik, M., et al., *Acidity of hydroxyl groups: an overlooked influence on antiradical properties of flavonoids*. The Journal of organic chemistry, 2009. **74**(7): p. 2699-2709.
82. Holiman, P.C., M.G. Hertog, and M.B. Katan, *Analysis and health effects of flavonoids*. Food chemistry, 1996. **57**(1): p. 43-46.
83. Kumar, S. and A.K. Pandey, *Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview*. The scientific world journal, 2013. **2013**.
84. Mircea, T., P. Carmen, and P. Anda, *The analysis of flavonoids from indigenous species of Betulaceae*. Farmacia, 2008. **56**: p. 556-562.
85. Farag, M.A., et al., *Phytochemical, antioxidant and antidiabetic evaluation of eight Bauhinia L. species from Egypt using UHPLC–PDA–qTOF-MS and chemometrics*. Phytochemistry, 2015. **119**: p. 41-50.
86. Salatino, M.L.F. and J. Prado, *Flavonoid glycosides of Pteridaceae from Brazil*. Biochemical systematics and ecology, 1998. **26**(7): p. 761-769.
87. Izzo, L., et al., *Analysis of phenolic compounds in commercial Cannabis sativa L. Inflorescences using UHPLC-Q-Orbitrap HRMS*. Molecules, 2020. **25**(3): p. 631.
88. Chakraborty, T., L. Verotta, and G. Poddar, *Evaluation of Azadirachta indica leaf extract for hypoglycaemic activity in rats*. Phytotherapy Research, 1989. **3**(1): p. 30-32.
89. Zhu, T., et al., *Integrated Metabolomic and Transcriptomic Analysis Reveals Differential Mechanism of Flavonoid Biosynthesis in Two Cultivars of Angelica sinensis*. Molecules, 2022. **27**(1): p. 306.
90. Panche, A.N., A.D. Diwan, and S.R. Chandra, *Flavonoids: an overview*. Journal of nutritional science, 2016. **5**.
91. Hertog, M.G., P.C. Hollman, and M.B. Katan, *Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands*. Journal of agricultural and food chemistry, 1992. **40**(12): p. 2379-2383.
92. Ashaari, Z., et al., *The flavone luteolin improves central nervous system disorders by different mechanisms: a review*. Journal of Molecular Neuroscience, 2018. **65**(4): p. 491-506.
93. Miura, K., H. Kikuzaki, and N. Nakatani, *Antioxidant activity of chemical components from sage (Salvia officinalis L.) and thyme (Thymus vulgaris L.) measured by the oil stability index method*. Journal of agricultural and food chemistry, 2002. **50**(7): p. 1845-1851.
94. Ameer, B., et al., *Flavanone absorption after naringin, hesperidin, and citrus administration*. Clinical Pharmacology & Therapeutics, 1996. **60**(1): p. 34-40.
95. Khan, M.K., et al., *Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (Citrus sinensis L.) peel*. Food chemistry, 2010. **119**(2): p. 851-858.
96. Monagas, M., et al., *Almond (Prunus dulcis (Mill.) DA Webb) skins as a potential source of bioactive polyphenols*. Journal of agricultural and food chemistry, 2007. **55**(21): p. 8498-8507.
97. SHARIFI, T.M., A. Kazemi, and L. Shabani, *Phenetic relationships among natural population accessions of Glycyrrhiza glabra L.(Fabaceae) in central Zagros region of*

- Iran, based on quantitative morphology, flavonoids and glycyrrhizin contents data. 2013.
98. Escribano-Bailón, M.T., C. Santos-Buelga, and J.C. Rivas-Gonzalo, *Anthocyanins in cereals*. Journal of Chromatography A, 2004. **1054**(1-2): p. 129-141.
 99. Ibrahim, M.H., et al., *Involvement of nitrogen on flavonoids, glutathione, anthocyanin, ascorbic acid and antioxidant activities of Malaysian medicinal plant Labisia pumila Blume (Kacip Fatimah)*. International Journal of Molecular Sciences, 2012. **13**(1): p. 393-408.
 100. Lundh, T., *Metabolism of estrogenic isoflavones in domestic animals*. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, 1995. **208**(1): p. 33-39.
 101. Ruiz-Larrea, M.B., et al., *Antioxidant activity of phytoestrogenic isoflavones*. Free radical research, 1997. **26**(1): p. 63-70.
 102. Ndemangou, B., et al., *Urease inhibitory isoflavonoids from different parts of Calopogonium mucunoides (Fabaceae)*. Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry, 2013. **28**(6): p. 1156-1161.
 103. Tiwari, P., S. Jena, and P. Sahu, *Butea monosperma: Phytochemistry and Pharmacology*. Acta Scientia Pharmaceutica, 2019. **3**(4): p. 19-26.
 104. Santana, L.N., et al., *Anti-infective activity of Cratylia argentea lectin (CFL) against experimental infection with virulent Listeria monocytogenes in Swiss mice*. Phytomedicine, 2022. **94**: p. 153839.
 105. Sabbag Cunha, G.O., D. Coelho da Cruz, and A.C. Severo Menezes, *An Overview of Miconia genus: Chemical Constituents and Biological Activities*. Pharmacognosy Reviews, 2019. **13**(26).
 106. Abdull Razis, A.F., M.D. Ibrahim, and S.B. Kntayya, *Health benefits of Moringa oleifera*. Asian pacific journal of cancer prevention, 2014. **15**(20): p. 8571-8576.
 107. Tiloke, C., et al., *Moringa oleifera and their phytonanoparticles: Potential antiproliferative agents against cancer*. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2018. **108**: p. 457-466.
 108. Kumari, D.J., *Hypoglycaemic effect of Moringa oleifera and Azadirachta indica in type 2 diabetes mellitus*. Bioscan, 2010. **5**(20): p. 211-214.
 109. Vergara-Jimenez, M., M.M. Almatrafi, and M.L. Fernandez, *Bioactive components in Moringa oleifera leaves protect against chronic disease*. Antioxidants, 2017. **6**(4): p. 91.
 110. Samia Al Azharia Jahn, H.A.M.a.H.B. *The tree that purifies water: Cultivating multipurpose Moringaceae in the Sudan*.
 111. Thurber MD, F.J., *Adoption of Moringa oleifera to combat under-nutrition viewed through the lens of the "Diffusion of innovations" theory*. Ecology of Food and Nutrition, 2009.
 112. William Jasper Asante, I.L.N., Damian Tom-Dery, Kwame Ochire-Boadu and Kwami Bernard Kentil, *Nutrient composition of Moringa oleifera leaves from two agro ecological zones in Ghana*. African Journal of Plant Science 2014. **8**(1): p. 65-71.
 113. S. O. Dania, P.A., and O. O. Eghagara, *Comparative Effects of Different Fertilizer Sources on the Growth and Nutrient Content of Moringa (Moringa oleifera) Seedling in a Greenhouse Trial*. Advances in Agriculture, 2014. **2014**.
 114. Caroline Olivier, I.F.M.S. *INTENSIVE MORINGA OLEIFERA CULTIVATION IN THE NORTH OF SENEGAL*. 2013.
 115. Foidl N., M.H.P.S.a.B.K. *THE POTENTIAL OF MORINGA OLEIFERA FOR AGRICULTURAL AND INDUSTRIAL USES*. Moringa Oleifera Web page, 2001.

116. Berkovich, L., et al., *Moringa Oleifera* aqueous leaf extract down-regulates nuclear factor-kappaB and increases cytotoxic effect of chemotherapy in pancreatic cancer cells. BMC complementary and alternative medicine, 2013. **13**(1): p. 1-7.
117. Jed W. Fahey, S.D., *Moringa oleifera: A Review of the Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties. Part 1*. Trees for Life Journal, 2005.
118. Fahey, J.W., *Moringa oleifera: a review of the medical evidence for its nutritional, therapeutic, and prophylactic properties. Part 1*. Trees for life Journal, 2005. **1**(5): p. 1-15.
119. Kasolo, J.N., et al., *Phytochemicals and uses of Moringa oleifera leaves in Ugandan rural communities*. Journal of Medicinal Plants Research, 2010. **4**(9): p. 753-757.
120. Mbikay, M., *Therapeutic potential of Moringa oleifera leaves in chronic hyperglycemia and dyslipidemia: a review*. Frontiers in pharmacology, 2012. **3**: p. 24.
121. Ramalingum, N. and M.F. Mahomoodally, *The therapeutic potential of medicinal foods*. Advances in pharmacological sciences, 2014. **2014**.
122. Gedefaw, M., *Environmental and Medicinal value analysis of Moringa (Moringa oleifera) tree species in Sanja, North Gondar, Ethiopia*. American International Journal of Contemporary Scientific Research, 2015. **2**(4).
123. Lakshmipriya Gopalakrishnan, K.D., Devarai Santhosh Kumar, *Moringa oleifera: A review on nutritive importance and its medicinal application*. Food Science and Human Wellness 2016. **5**: p. 49-56.
124. Rockwood, J.L., Anderson, B.G.Casamatta, D.A., *POTENTIAL USES OF Moringa oleifera AND AN EXAMINATION OF ANTIBIOTIC EFFICACY CONFERRED BY M. oleifera SEED AND LEAF EXTRACTS USING CRUDE EXTRACTION TECHNIQUES AVAILABLE TO UNDERSERVED INDIGENOUS POPULATIONS*. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHYTOTHEAPRY RESEARCH 2013. **3**(2).
125. Choudhary MK, B.S., Gupta SK., *Assessment of the antiulcer potential of Moringa oleifera root-bark extract in rats*. Journal of Acupuncture Meridian Studies, 2013. **6**(4): p. 214-220.
126. Fuglie, L.J. *The Moringa Tree: A local solution to malnutrition*. Miracle Trees, 2005.
127. Fuglie, L.J., *The Miracle Tree: Moringa Oleifera: natural nutrition for the tropics*. Church World Service, 2001.
128. Josephine N. Kasolo, G.S.B., Lonzy Ojok, Joseph Ochieng and Jasper W. Ogwal-okeng, *Phytochemicals and uses of Moringa oleifera leaves in Ugandan rural communities*. Journal of Medecinal Plants Research, 2010. **4**(9): p. 753-775.
129. Anwar F, L.S., Ashraf M, Gilani AH., *Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses*. Phytotherapy Research, 2007. **21**(1): p. 17-25.
130. Durgesh Kumar Dubey, J.D., Anil Kumar and Ratan Kumar Gulsan, *A Multipurpose Tree- Moringa oleifera*. INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND CHEMICAL SCIENCES, 2013. **2**(1): p. 415-423.
131. Sánchez., J.M.R., *Organic enterpreneurship and Moringa in Cambodia*. 2015, Baca Villa Production.
132. Monica Premi*, H.K.S., B. C. Sarkar and C. Singh, *Kinetics of drumstick leaves(Moringa oleifera) during convective drying*. African Journal of Plant Science, 2010. **4**(10): p. 391-400.
133. Prof. Dr. M. Ashfaq, S.M.B.a.U.A. *MORINGA" A MIRACLE PLANT OF AGRO FORESTRY AND SOUTHERN PUNJAB, PAKISTAN*. 2011.
134. *Moringa oleifera A multi-purpose tree*. Garden Organic Web site, 2002.

135. Gazolu-Rusanova, D., et al., *Food grade nanoemulsions preparation by rotor-stator homogenization*. Food Hydrocolloids, 2020. **102**: p. 105579.
136. Kano, T., Y. Aota, and K. Maruoka, *Rate Acceleration of Solid-Liquid Phase-Transfer Catalysis by Rotor-Stator Homogenizer*. Advanced Synthesis & Catalysis, 2016. **358**(18): p. 2996-2999.
137. Cabrera-Trujillo, M.A., et al., *Stability of low-fat oil in water emulsions obtained by ultra turrax, rotor-stator and ultrasound homogenization methods*. International Journal of Gastronomy and Food Science, 2018. **13**: p. 58-64.
138. Javadi, T., et al., *Homogenizer assisted dispersive liquid-phase microextraction for the extraction-enrichment of phenols from aqueous samples and determination by gas chromatography*. Journal of Chromatography A, 2020. **1614**: p. 460733.
139. Park, J.-Y., et al., *Sonication-assisted homogenization system for improved lipid extraction from Chlorella vulgaris*. Renewable Energy, 2015. **79**: p. 3-8.
140. Eyiz, V., I. Tontul, and S. Turker, *Optimization of green extraction of phytochemicals from red grape pomace by homogenizer assisted extraction*. Journal of Food Measurement and Characterization, 2020. **14**(1): p. 39-47.
141. Pereira, G.A., et al., *Optimizing the homogenizer-assisted extraction (HAE) of total phenolic compounds from banana peel*. Journal of food process engineering, 2017. **40**(3): p. e12438.
142. Zuin, V.G., M.L. Segatto, and K. Zanotti, *Towards a green and sustainable fruit waste valorisation model in Brazil: optimisation of homogenizer-assisted extraction of bioactive compounds from mango waste using a response surface methodology*. Pure and Applied Chemistry, 2020. **92**(4): p. 617-629.
143. Pereira, J.M., et al., *Optimization of the extraction of antioxidants from Moringa leaves: A comparative study between ultrasound-and ultra-homogenizer-assisted extractions*. Journal of Food Processing and Preservation, 2021: p. e15512.
144. Kurtulbaş, E., et al., *Evaluation of the phenolic antioxidants of olive (Olea europaea) leaf extract obtained by a green approach: Use of reduced graphene oxide for electrochemical analysis*. Chemical Engineering Communications, 2020. **207**(7): p. 920-932.
145. Chemat, F., M.A. Vian, and G. Cravotto, *Green extraction of natural products: concept and principles*. International journal of molecular sciences, 2012. **13**(7): p. 8615-8627.
146. Chemat, F., et al., *Green extraction of natural products. Origins, current status, and future challenges*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2019. **118**: p. 248-263.
147. Şahin, S., et al., *Enhanced extraction of high added-value products from Hibiscus sabdariffa using automatic solvent extractor: Kinetics and modeling*. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2021. **19**: p. 100356.
148. Richter, B.E., et al., *Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation*. Analytical chemistry, 1996. **68**(6): p. 1033-1039.
149. Toprakçı, İ., et al., *Application of D-optimal design for automatic solvent extraction of carotenoid from orange peel*. Journal of Food Processing and Preservation, 2021. **45**(9): p. e15724.
150. Kurtulbaş Şahin, E., M. Bilgin, and S. Şahin, *Automatic solvent extraction of sour cherry peels and storage stability of the products*. Biomass Conversion and Biorefinery, 2020: p. 1-11.
151. Đorđević, V., et al., *Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds*. Food Engineering Reviews, 2015. **7**(4): p. 452-490.
152. Ayala-Zavala, J., et al., *Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives*. Food Research International, 2011. **44**(7): p. 1866-1874.

153. Chemat, F., et al., *Green extraction: from concepts to research, education, and economical opportunities*. Green extraction of natural products: Theory and practice, 2015: p. 1-36.
154. Rombaut, N., et al., *Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery*. Biofuels, Bioproducts and Biorefining, 2014. **8**(4): p. 530-544.
155. Chemat, F., et al., *Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review*. Ultrasonics sonochemistry, 2017. **34**: p. 540-560.
156. Vilkh, K., et al., *Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2008. **9**(2): p. 161-169.
157. Suslick, K.S. and G.J. Price, *Applications of ultrasound to materials chemistry*. Annual Review of Materials Science, 1999. **29**(1): p. 295-326.
158. Chemat, F. and M.K. Khan, *Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction*. Ultrasonics sonochemistry, 2011. **18**(4): p. 813-835.
159. Chakraborty, S., R. Uppaluri, and C. Das, *Optimization of ultrasound-assisted extraction (UAE) process for the recovery of bioactive compounds from bitter melon using response surface methodology (RSM)*. Food and Bioproducts Processing, 2020. **120**: p. 114-122.
160. Bimkr, M., et al., *Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from Malva sylvestris leaves and its comparison with agitated bed extraction technique*. Food Science and Biotechnology, 2017. **26**(6): p. 1481-1490.
161. Ganzler, K. and A. Salgó, *Microwave-extraction-a new method superseding traditional Soxhlet extraction*. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 1987. **184**(4): p. 274-276.
162. Ganzler, K., A. Salgó, and K. Valkó, *Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography*. Journal of chromatography A, 1986. **371**: p. 299-306.
163. Jain, T., et al., *Microwave assisted extraction for phytoconstituents—An overview*. Asian Journal of Research in Chemistry, 2009. **2**(1): p. 19-25.
164. Delazar, A., et al., *Microwave-assisted extraction in natural products isolation*. Natural products isolation, 2012: p. 89-115.
165. Destandau, E., T. Michel, and C. Elfakir, *Microwave-assisted extraction*. Natural product extraction: principles and applications, 2013(21): p. 113.
166. Jassie, L., et al., *Microwave-assisted solvent extraction*. Microwave-Enhanced Chemistry. Fundamentals, Sample Preparation, and Applications, Kingston HMS, Haswell SJ. eds). American Chemical Society: Washington, DC, 1997: p. 569-609.
167. Eskilsson, C.S. and E. Björklund, *Analytical-scale microwave-assisted extraction*. Journal of chromatography A, 2000. **902**(1): p. 227-250.
168. Kaufmann, B. and P. Christen, *Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction*. Phytochemical Analysis: An International Journal of Plant Chemical and Biochemical Techniques, 2002. **13**(2): p. 105-113.
169. da Rosa, G.S., et al., *Comparison of microwave, ultrasonic and conventional techniques for extraction of bioactive compounds from olive leaves (Olea europaea L.)*. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2019. **58**: p. 102234.
170. Şahin, S., et al., *Solvent-free microwave-assisted extraction of polyphenols from olive tree leaves: Antioxidant and antimicrobial properties*. Molecules, 2017. **22**(7): p. 1056.

171. Abishli, R., R. Albarri, and S. Şahin, *Mass transfer, kinetics, and thermodynamics studies during the extraction of polyphenols from Feijoa sellowiana peels*. Journal of Food Processing and Preservation, 2021. **45**(9): p. e15736.
172. Asghari, J., B. Ondruschka, and M. Mazaheritehrani, *Extraction of bioactive chemical compounds from the medicinal Asian plants by microwave irradiation*. Journal of Medicinal Plants Research, 2011. **5**(4): p. 495-506.
173. Chapman, J., et al., *A high-throughput and machine learning resistance monitoring system to determine the point of resistance for Escherichia coli with tetracycline: Combining UV-visible spectrophotometry with principal component analysis*. Biotechnology and Bioengineering, 2021. **118**(4): p. 1511-1519.
174. Hosker, B.S., *Demonstrating principles of spectrophotometry by constructing a simple, low-cost, functional spectrophotometer utilizing the light sensor on a smartphone*. Journal of Chemical Education, 2018. **95**(1): p. 178-181.
175. Perkampus, H.-H., *UV-VIS Spectroscopy and its Applications*. 2013: Springer Science & Business Media.
176. Passos, M.L. and M.L.M. Saraiva, *Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies*. Measurement, 2019. **135**: p. 896-904.
177. Singleton, V.L. and J.A. Rossi, *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. American journal of Enology and Viticulture, 1965. **16**(3): p. 144-158.
178. Singleton, V.L., R. Orthofer, and R.M. Lamuela-Raventós, *[14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent*, in *Methods in enzymology*. 1999, Elsevier. p. 152-178.
179. Folin, O. and V. Ciocalteu, *On tyrosine and tryptophane determinations in proteins*. J. biol. Chem, 1927. **73**(2): p. 627-650.
180. Huang, D., B. Ou, and R.L. Prior, *The chemistry behind antioxidant capacity assays*. Journal of agricultural and food chemistry, 2005. **53**(6): p. 1841-1856.
181. Karadag, A., B. Ozcelik, and S. Saner, *Review of methods to determine antioxidant capacities*. Food analytical methods, 2009. **2**(1): p. 41-60.
182. Iloki-Assanga, S.B., et al., *Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of Bucida buceras L. and Phoradendron californicum*. BMC research notes, 2015. **8**(1): p. 1-14.
183. Hudz, N., et al., *Approaches to the identification and assay of flavonoids in bee bread extracts by spectrophotometric method*. Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality, 2017(1).
184. Paixao, N., et al., *Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines*. Food Chemistry, 2007. **105**(1): p. 204-214.
185. Locatelli, M., et al., *Study of the DPPH-scavenging activity: Development of a free software for the correct interpretation of data*. Food chemistry, 2009. **114**(3): p. 889-897.
186. Arnao, M.B., *Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case*. Trends in Food Science & Technology, 2000. **11**(11): p. 419-421.
187. Apak, R., et al., *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, 2004. **52**(26): p. 7970-7981.

188. Eklund-Jonsson, C., A.-S. Sandberg, and M.L. Alminger, *Reduction of phytate content while preserving minerals during whole grain cereal tempe fermentation*. Journal of Cereal Science, 2006. **44**(2): p. 154-160.
189. Dias, M.I., I.C. Ferreira, and M.F. Barreiro, *Microencapsulation of bioactives for food applications*. Food & function, 2015. **6**(4): p. 1035-1052.
190. Preparations, W.E.C.o.S.f.P. and W.H. Organization, *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: thirty-fourth report*. 1996: World Health Organization.
191. Heigl, D. and G. Franz, *Stability testing on typical flavonoid containing herbal drugs*. Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences, 2003. **58**(12): p. 881-885.
192. de Haro Moreno, A. and H.R.N. Salgado, *Stability study and degradation kinetics of ceftazidime in pharmaceutical preparations*. Adv Anal Chem, 2012. **2**(1): p. 1-5.
193. Ivana, I., Z. Ljiljana, and Z. Mira, *A stability indicating assay method for cefuroxime axetil and its application to analysis of tablets exposed to accelerated stability test conditions*. Journal of Chromatography A, 2006. **1119**(1-2): p. 209-215.
194. Kalinkova, G., *Studies of beneficial interactions between active medicaments and excipients in pharmaceutical formulations*. International journal of pharmaceutics, 1999. **187**(1): p. 1-15.
195. Chaaban, H., et al., *The photostability of flavanones, flavonols and flavones and evolution of their antioxidant activity*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2017. **336**: p. 131-139.
196. Galmarini, M.V., et al., *Stability of individual phenolic compounds and antioxidant activity during storage of a red wine powder*. Food and Bioprocess Technology, 2013. **6**(12): p. 3585-3595.
197. Munin, A. and F. Edwards-Lévy, *Encapsulation of natural polyphenolic compounds; a review*. 2011. Epub ahead of print, 2011.
198. Hurst, W.J., et al., *Impact of fermentation, drying, roasting and Dutch processing on flavan-3-ol stereochemistry in cacao beans and cocoa ingredients*. Chemistry Central Journal, 2011. **5**(1): p. 1-10.
199. Tian, B. and J. Liu, *Resveratrol: A review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2020. **100**(4): p. 1392-1404.
200. Rocha-Parra, D.F., et al., *Influence of storage conditions on phenolic compounds stability, antioxidant capacity and colour of freeze-dried encapsulated red wine*. LWT, 2016. **70**: p. 162-170.
201. Volf, I., et al., *Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols*. Chemical Papers, 2014. **68**(1): p. 121-129.
202. Albuquerque, B.R., et al., *Assessment of the stability of catechin-enriched extracts obtained from Arbutus unedo L. fruits: Kinetic mathematical modeling of pH and temperature properties on powder and solution systems*. Industrial crops and products, 2017. **99**: p. 150-162.
203. Mediani, A., et al., *Effects of different drying methods and storage time on free radical scavenging activity and total phenolic content of Cosmos caudatus*. Antioxidants, 2014. **3**(2): p. 358-370.
204. Ioannou, I., et al., *Review of the effects of food processing and formulation on flavonol and anthocyanin behaviour*. Journal of Food Engineering, 2012. **111**(2): p. 208-217.

205. Solomon, O., U. Svanberg, and A. Sahlström, *Effect of oxygen and fluorescent light on the quality of orange juice during storage at 8 C*. Food chemistry, 1995. **53**(4): p. 363-368.
206. Okogeri, O. and M. Tasioula-Margari, *Changes occurring in phenolic compounds and α -tocopherol of virgin olive oil during storage*. Journal of agricultural and food chemistry, 2002. **50**(5): p. 1077-1080.
207. Chen, H., H. Peng, and B. Chen, *Stability of carotenoids and vitamin A during storage of carrot juice*. Food Chemistry, 1996. **57**(4): p. 497-503.
208. Rodríguez-Pérez, C., et al., *Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from Moringa oleifera Lam leaves*. Industrial Crops and Products, 2015. **66**: p. 246-254.
209. Ha, G.-S. and J.-H. Kim, *Kinetic and thermodynamic characteristics of ultrasound-assisted extraction for recovery of paclitaxel from biomass*. Process Biochemistry, 2016. **51**(10): p. 1664-1673.
210. Goula, A.M., *Ultrasound-assisted extraction of pomegranate seed oil–Kinetic modeling*. Journal of Food Engineering, 2013. **117**(4): p. 492-498.
211. Butterworth, P.J., et al., *Analysis of starch amyolysis using plots for first-order kinetics*. Carbohydrate Polymers, 2012. **87**(3): p. 2189-2197.
212. Raj, G.B. and K.K. Dash, *Ultrasound-assisted extraction of phytochemicals from dragon fruit peel: Optimization, kinetics and thermodynamic studies*. Ultrasonics Sonochemistry, 2020. **68**: p. 105180.
213. Lima, E.C., A.A. Gomes, and H.N. Tran, *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, 2020. **311**: p. 113315.
214. Krishnan, R.Y. and K. Rajan, *Microwave assisted extraction of flavonoids from Terminalia bellerica: study of kinetics and thermodynamics*. Separation and Purification Technology, 2016. **157**: p. 169-178.
215. Górnicki, K., R. Winiczenko, and A. Kaleta, *Estimation of the Biot number using genetic algorithms: application for the drying process*. Energies, 2019. **12**(14): p. 2822.
216. Chen, Z., R. Bertin, and G. Froldi, *EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs*. Food chemistry, 2013. **138**(1): p. 414-420.
217. Ozgen, M., et al., *Modified 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2006. **54**(4): p. 1151-1157.
218. Hill, W.J. and W.G. Hunter, *A review of response surface methodology: a literature survey*. Technometrics, 1966. **8**(4): p. 571-590.
219. Dean, A., D. Voss, and D. Draguljić, *Response surface methodology*, in *Design and analysis of experiments*. 2017, Springer. p. 565-614.
220. Khuri, A., *A measure of rotatability for response-surface designs*. Technometrics, 1988. **30**(1): p. 95-104.
221. Bradley, N., *The response surface methodology*. 2007, Indiana University South Bend.
222. Lenth, R.V., *Response-surface methods in R, using rsm*. Journal of Statistical Software, 2010. **32**: p. 1-17.
223. Azami, M., et al., *Central composite design for the optimization of removal of the azo dye, methyl orange, from waste water using fenton reaction*. Journal of the Serbian Chemical Society, 2012. **77**(2): p. 235-246.

224. Asghar, A., A.A. Abdul Raman, and W.M.A.W. Daud, *A comparison of central composite design and Taguchi method for optimizing Fenton process*. The Scientific World Journal, 2014. **2014**.
225. Montgomery, D., *Montgomery: design and analysis of experiments*. John Willy & Sons, 2017.
226. Kasiri, M., H. Aleboyeh, and A. Aleboyeh, *Modeling and optimization of heterogeneous photo-fenton process with response surface methodology and artificial neural networks*. Environmental science & technology, 2008. **42**(21): p. 7970-7975.
227. Şahin, S., E. Sayım, and M. Bilgin, *Effect of olive leaf extract rich in oleuropein on the quality of virgin olive oil*. Journal of food science and technology, 2017. **54**(6): p. 1721-1728.
228. Şahin, E.K., M. Bilgin, and S. Şahin, *Automatic solvent extraction of sour cherry peels and storage stability of the products*. Biomass Conversion and Biorefinery, 2020: p. 1-11.
229. Jo, Y.-J. and J.-H. Kim, *Effective diffusivity and mass transfer coefficient during the extraction of paclitaxel from Taxus chinensis using methanol*. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2019. **24**(5): p. 818-823.
230. Farid, M.A.A., et al., *Kinetic and thermodynamic of heterogeneously K₃PO₄/AC-catalysed transesterification via pseudo-first order mechanism and Eyring-Polanyi equation*. Fuel, 2018. **232**: p. 653-658.
231. Mishra, K. and S. Sinha, *Development and assessment of Moringa oleifera (Sahajana) leaves filler/epoxy composites: Characterization, barrier properties and in situ determination of activation energy*. Polymer Composites, 2020. **41**(12): p. 5016-5029.
232. Valenga, M.G.P., et al., *Agro-industrial waste and Moringa oleifera leaves as antioxidants for biodiesel*. Industrial Crops and Products, 2019. **128**: p. 331-337.
233. Bakht, M.A., et al., *Ultrasound-assisted extraction of some branded tea: Optimization based on polyphenol content, antioxidant potential and thermodynamic study*. Saudi journal of biological sciences, 2019. **26**(5): p. 1043-1052.
234. Liu, H.-L., et al., *Cavitation-enhanced ultrasound thermal therapy by combined low-and high-frequency ultrasound exposure*. Ultrasound in medicine & biology, 2006. **32**(5): p. 759-767.
235. Rocchetti, G., et al., *Phenolic profiling and in vitro bioactivity of Moringa oleifera leaves as affected by different extraction solvents*. Food Research International, 2020. **127**: p. 108712.
236. Angeloni, S., et al., *An insight into Verbascum bombyciferum extracts: Different extraction methodologies, biological abilities and chemical profiles*. Industrial Crops and Products, 2021. **161**: p. 113201.
237. Dall'Acqua, S., et al., *An insight into Cochlospermum planchonii extracts obtained by traditional and green extraction methods: Relation between chemical compositions and biological properties by multivariate analysis*. Industrial Crops and Products, 2020. **147**: p. 112226.
238. Floegel, A., et al., *Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods*. Journal of food composition and analysis, 2011. **24**(7): p. 1043-1048.
239. Martysiak-Żurowska, D. and W. Wenta, *A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk*. Acta scientiarum polonorum technologia alimentaria, 2012. **11**(1): p. 83-89.

240. Sridhar, K. and A.L. Charles, *In vitro antioxidant activity of Kyoho grape extracts in DPPH and ABTS assays: Estimation methods for EC50 using advanced statistical programs*. Food Chemistry, 2019. **275**: p. 41-49.
241. Pollini, L., et al., *Impact of ultrasound extraction parameters on the antioxidant properties of Moringa oleifera leaves*. Antioxidants, 2020. **9**(4): p. 277.
242. Ahmadi, M., F. Ghanbari, and S. Madihi-Bidgoli, *Photoperoxi-coagulation using activated carbon fiber cathode as an efficient method for benzotriazole removal from aqueous solutions: modeling, optimization and mechanism*. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry, 2016. **322**: p. 85-94.
243. Kaur, R., P. Manchanda, and G.S. Sidhu, *Optimization of extraction of bioactive phenolics and their antioxidant potential from callus and leaf extracts of Stevia rebaudiana Bertoni*. Journal of Food Measurement and Characterization, 2021: p. 1-10.
244. Doulabi, M., M.T. Golmakani, and S. Ansari, *Evaluation and optimization of microwave-assisted extraction of bioactive compounds from eggplant peel by-product*. Journal of Food Processing and Preservation, 2020. **44**(11): p. e14853.
245. Vafaeipour, M., et al., *Application of sliding window technique for prediction of wind velocity time series*. International Journal of Energy and Environmental Engineering, 2014. **5**(2): p. 1-7.
246. Sreelatha, S. and P. Padma, *Antioxidant activity and total phenolic content of Moringa oleifera leaves in two stages of maturity*. Plant foods for human nutrition, 2009. **64**(4): p. 303-311.
247. Abdulkadir, A.R., D.D. Zawawi, and M.S. Jahan, *DPPH antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content of different part of Drumstic tree (Moringa oleifera Lam.)*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2015. **7**(4): p. 1423-1428.
248. Liu, H.-L. and Y.-R. Chiou, *Optimal decolorization efficiency of Reactive Red 239 by UV/TiO₂ photocatalytic process coupled with response surface methodology*. Chemical Engineering Journal, 2005. **112**(1-3): p. 173-179.
249. Plazzotta, S., et al., *Optimizing the antioxidant biocompound recovery from peach waste extraction assisted by ultrasounds or microwaves*. Ultrasonics sonochemistry, 2020. **63**: p. 104954.
250. Yang, L., et al., *Optimum extraction process of polyphenols from the bark of Phyllanthus emblica L. based on the response surface methodology*. Journal of separation science, 2009. **32**(9): p. 1437-1444.
251. Boussetta, N., *Intensification de l'extraction des polyphénols par électrotechnologies pour la valorisation des marcs de Champagne*. 2010, Compiègne.
252. Zhang, Z., et al., *Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp*. Food Chemistry, 2005. **90**(1-2): p. 47-52.
253. Chen, M., Y. Zhao, and S. Yu, *Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses*. Food chemistry, 2015. **172**: p. 543-550.
254. Baldosano, H.Y., et al. *Effect of particle size, solvent and extraction time on tannin extract from Spondias purpurea bark through soxhlet extraction*. in *Proceedings of the DLSU Research Congress*. 2015.
255. Rocchetti, G., et al., *Impact of conventional/non-conventional extraction methods on the untargeted phenolic profile of Moringa oleifera leaves*. Food research international, 2019. **115**: p. 319-327.
256. Akbari, S., N.H. Abdurahman, and R.M. Yunus, *Optimization of saponins, phenolics, and antioxidants extracted from fenugreek seeds using microwave-assisted extraction*

- and response surface methodology as an optimizing tool. Comptes Rendus Chimie*, 2019. **22**(11-12): p. 714-727.
257. Dahmoune, F., et al., *Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from Myrtus communis L. leaves*. Food chemistry, 2015. **166**: p. 585-595.
258. Wu, L., et al., *Deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from Moringa oleifera L. leaves: Optimization, comparison and antioxidant activity*. Separation and Purification Technology, 2020. **247**: p. 117014.
259. Poyraz, Ç., et al., *Valorization of Citrus unshiu biowastes to value-added products: an optimization of ultrasound-assisted extraction method using response surface methodology and particle swarm optimization*. Biomass Conversion and Biorefinery, 2021: p. 1-11.
260. Şahin, S., Z. İlbay, and Ş.İ. Kırbaşlar, *Pulsed ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from mandarin (Citrus deliciosa Tenore) leaves: Experimental and modeling study*. Chemical Engineering Communications, 2018. **205**(6): p. 717-726.
261. Thoo, Y.Y., et al., *Effects of binary solvent extraction system, extraction time and extraction temperature on phenolic antioxidants and antioxidant capacity from mengkudu (Morinda citrifolia)*. Food Chemistry, 2010. **120**(1): p. 290-295.

4. Raneen Albarri, Selin Şahin(2022), Monitoring the recovery of bioactive molecules from Moringa oleifera leaves: microwave treatment vs ultrasound treatment. Biomass Conversion and Biorefinery, 2022: p. 1-13.
5. Raneen Albarri, Selin Şahin (2022), A green method for the extraction of Moringa oleifera leaves: evaluation of several in vitro assays for bioactive properties. Biomass Conversion and Biorefinery, 2022: p. 1-9.

Kongreler

Raneen Albarri, Selin Şahin Optimization of Extraction of Phenolics from Moringa Oleifera Leaves using Response Surface Methodology. 3rd International Academic Researches in Life Sciences for Sustainability. İstanbul, Turkey |