



T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

LAVANTADAN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONUNDA VE
BİYOBOZUNUR FİLM ÜRETİMİNDE DERİN ÖTEKTİK SIVILARIN
KULLANIMI

HAMZA ALAŞALVAR

ARALIK 2023

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

LAVANTADAN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONUNDA VE
BİYOBÖZÜNÜR FİLM ÜRETİMİNDE DERİN ÖTEKTİK SIVILARIN
KULLANIMI

HAMZA ALAŞALVAR

Doktora Tezi

Danışman

PROF. DR. ZELİHA YILDIRIM

ARALIK 2023

Hamza ALAŞALVAR tarafından **Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM** danışmanlığında hazırlanan “**Lavantadan Biyoaktif Bileşiklerin Ekstraksiyonunda ve Biyobozunur Film Üretiminde Derin Ötektik Sıvıların Kullanımı**” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Gıda Mühendisliği** Ana Bilim Dalı’nda Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Mustafa ÇAM
Erciyes Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Hilal YILDIZ
Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Hakan ERİNÇ
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Safa KARAMAN
Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından .../.../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun .../.../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Prof. Dr. Mustafa KARATEPE
MÜDÜR

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



İmza

Hamza ALAŞALVAR

ÖZET

LAVANTADAN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONUNDA VE BİYOBOZUNUR FİLM ÜRETİMİNDE DERİN ÖTEKTİK SIVILARIN KULLANIMI

ALAŞALVAR, Hamza

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM

Aralık 2023, 118 sayfa

Bu tezde, lavanta bitkisinden antioksidan fenolik bileşiklerin ultrases destekli çevre dostu ekstraksiyonunda yeni nesil ekstraksiyon çözücülerini ve pektin filmlerin üretiminde plastikleştirici olarak derin ötektik sıvıların (DÖS'lerin) kullanım potansiyellerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Tek değişkenli deneyler, kesirli faktöriyel tasarım, en dik iniş/çıkış yöntemi ve merkezi tümleşik tasarım gibi yöntemler kullanılarak ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Film uygulamalarında, kolin klorit: gliserolden oluşan DÖS plastikleştirici, lavantanın DÖS ekstraktının hem plastikleştirici hem de aktif bileşenlerin kaynağı ve liyofilize edilmiş lavanta ekstraktının farklı miktarlarda ilavesinin (%0,5, %1 ve %2) pektin filmlerin özelliklerine olan etkileri incelenmiştir. Ayrıca pektin çözeltileri pişmiş köfte örneklerinde kaplama materyali olarak kullanılmış ve buzdolabı depolama esnasında lipit oksidasyonu üzerine etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, DÖS'nin fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu ve antioksidan ambalaj teknolojisini geliştirmek için faydalı bir şekilde kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Lavanta, antioksidan kapasitesi, ultrases, ekstraksiyon, doğal derin ötektik sıvı, optimizasyon, pektin, yenilebilir film

SUMMARY

APPLICATION OF DEEP EUTECTIC LIQUIDS IN THE EXTRACTION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM LAVENDER AND THE PRODUCTION OF BIODEGRADABLE FILM

ALAŞALVAR, Hamza

Niğde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Food Engineering

Supervisor : Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM

December 2023, 118 pages

In this thesis, it was aimed to examine the potential use of deep eutectic liquids (DELs) as new generation extraction solvent and plasticizer in the ultrasound-assisted green extraction of antioxidant phenolic compounds from lavender and the production of pectin-based films. One variable at a time, fractional factorial design, steepest ascent/descent method, and central composite design were used to optimize the extraction conditions. In the film applications, the potential effects of choline chloride: glycerol-based DEL as a plasticizer, DEL extract of lavender as both plasticizer and active ingredient, as well as the addition of lyophilized extract of lavender at different concentrations (0.5%, 1%, and 2%) on the properties of pectin films were evaluated during storage. Furthermore, pectin solutions have been employed as coating material in cooked meatballs, and their effects on lipid oxidation have been evaluated. In conclusion, the results indicate that DEL could be beneficially used to improve the extraction of phenolic compounds and antioxidant packaging technology.

Keywords: Lavender, antioxidant capacity, ultrasound, extraction, natural deep eutectic solvent, optimization, pectin, edible film.

ÖN SÖZ

Bu tez çalışmasında yeni nesil çözücüler ve plastikleştiriciler olarak derin ötektik sıvıların lavantadan biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda ve yenilebilir filmlerin üretiminde kullanım potansiyelleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçların gelecek çalışmalara ışık tutmasını temenni ederim.

Doktora yaptığım süre içerisinde bilgi ve birikimini benden esirgemeyen, çalışmalarım boyunca farklı bakış açısı, bilgisi ve bilimsel katkılarıyla bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof. Dr. Zeliha YILDIRIM'a,

Tez çalışmam süresince değerli bilimsel katkılarını esirgemeyen ve tezin akışına pozitif yönde etki eden saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Metin YILDIRIM'a, Prof. Dr. Hilal YILDIZ'a, Doç. Dr. Hakan ERİNÇ'e ve Doç. Dr. Safa KARAMAN'a

Akademik hayatım boyunca yol gösterici olan, desteklerini her zaman hissettiğim ve örnek aldığım hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa ÇAM'a

Maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, analizlerde yardımcı olan, sürekli bilgi alışverişinde bulunduğum değerli arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Bülent BAŞYİĞİT'e, Öğr. Gör. Dr. Kutlu ÇEVİK'e, Gıda Yüksek Müh. Mehmet HORZUM'a, Arş. Gör. Betül OSKAYBAŞ EMLEK'e ve Serap BERKTAŞ'a, lavanta bitkisinin temininde yardımcı olan Sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Burak ŞEN'e

Çalışmalarım süresince maddi ve manevi olarak beni daima sabırla destekleyen her zaman moral ve güç veren yol arkadaşım sevgili eşim Gamze KOÇER ALAŞALVAR'a, emeklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve her zaman yanımda olan annem Asiye ALAŞALVAR'a, babam Bahtiyar ALAŞALVAR'a ve kardeşlerim Özcan ALAŞALVAR ve Ali ALAŞALVAR'a sonsuz teşekkür ediyorum.

Bu tez çalışmasına maddi destek veren Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne (Proje No: TGT2021/2-LUTEPE) teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	iv
SUMMARY.....	v
ÖN SÖZ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
FOTOĞRAFLAR DİZİNİ.....	xiv
SİMGE VE KISALTMALAR.....	xv
BÖLÜM I.....	1
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM II.....	4
KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1 Lavanta (<i>Lavandula angustifolia</i>).....	4
2.2 Fenolik bileşikler.....	5
2.2.1 Lavanta bitkisinin fenolik bileşikleri.....	6
2.3 Ekstraksiyon.....	7
2.3.1 Ekstraksiyon çözücüleri.....	8
2.3.1.1 Derin ötektik sıvılar.....	10
2.3.2 Ekstraksiyon metotları.....	13
2.3.2.1 Ultrases destekli ekstraksiyon.....	14
2.3.3 Deneysel tasarımlar ve yanıt yüzey yöntemi.....	15
2.3.3.1 Ultrases destekli ekstraksiyon uygulamalarında optimizasyon.....	17
2.4 Yenilebilir filmler.....	20
2.4.1 Pektin filmler.....	22
2.4.2 Yenilebilir filmlerin üretiminde kullanılan plastikleştiriciler.....	23
2.4.3 Plastikleştirici olarak derin ötektik sıvıların kullanımı.....	24
2.4.4 Biyoaktif pektin filmler.....	26
2.5 Aktif film ve kaplamaların gıdaların muhafazasında uygulamaları.....	29
BÖLÜM III.....	31
MATERYAL VE METOT.....	31

3.1 Materyaller	31
3.1.1 Kimyasallar.....	31
3.2 Metotlar.....	32
3.2.1 Lavantadan antioksidan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu	32
3.2.1.1 Derin ötektik sıvıların hazırlanması	32
3.2.1.2 Lavantadan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu	34
3.2.1.2.1 Çözücü seçimi	34
3.2.1.2.2 Kısmi faktöriyel deneme tasarımı (FFD).....	34
3.2.1.2.3 En dik artış/azalış yöntemi.....	35
3.2.1.2.4 Merkezi tümleşik dönebilen deneme tasarımı.....	35
3.2.1.2.5 Klasik metanol ekstraksiyonu	35
3.2.1.3 Toplam fenolik madde miktarı	36
3.2.1.4 Toplam flavonoid madde miktarı.....	36
3.2.1.5 Antioksidan kapasite analizleri	36
3.2.1.5.1 DPPH antioksidan kapasite	37
3.2.1.5.2 ABTS antioksidan kapasite	37
3.2.1.5.3 CUPRAC	37
3.2.1.6 Bireysel fenolik bileşiklerin belirlenmesi.....	38
3.2.1.7 Uçucu bileşenlerin belirlenmesi.....	39
3.2.2 Pektin filmlerin üretimi ve karakterizasyonu	40
3.2.2.1 Lavantadan fenolik bileşiklerin su ile ekstraksiyonu	40
3.2.2.2 Filmlerin üretimi	40
3.2.2.3 Kalınlık	40
3.2.2.4 Nem miktarı.....	41
3.2.2.5 Mekanik özellikleri	41
3.2.2.6 Optik özellikler	42
3.2.2.7 Su buharı geçirgenliği	42
3.2.2.8 Taramalı elektron mikroskobu.....	43
3.2.2.9 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi	43
3.2.2.10 X-ışını kırınım deseni	43
3.2.2.11 Termogravimetrik analiz (TGA).....	44
3.2.2.12 Antioksidan kapasite	44

3.2.2.12.1 Filmlerden antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu	44
3.2.2.12.2 DPPH antioksidan kapasite	44
3.2.2.12.3 ABTS antioksidan kapasite	44
3.2.3 Pişmiş köfte örneklerinde yenilebilir kaplama olarak pektin filmlerin kullanımı	45
3.2.3.1 Oleojel üretimi	45
3.2.3.2 Köfte örneklerinin üretimi ve yenilebilir kaplamaların uygulanması ...	45
3.2.3.3 Köfte örneklerinde tiyobarbütirik asit reaktif maddelerin (TBARS) miktarının belirlenmesi.....	46
3.2.4 İstatistiksel analizler	46
BÖLÜM IV	48
BULGULAR VE TARTIŞMA	48
4.1 Lavantadan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu.....	48
4.1.1 Ekstraksiyon çözücüsünün seçimi	48
4.1.2 Ekstraksiyon değişkenlerinin taranması	50
4.1.2.1 Toplam fenolik madde miktarı üzerine etkili faktörlerin belirlenmesi .	51
4.1.2.2 Toplam flavonoid madde miktarı üzerine etkili faktörlerin belirlenmesi	54
4.1.3 En dik artış/azalış yöntemi ile değişken aralıklarının belirlenmesi	58
4.1.4 Yanıt yüzey yöntemi	60
4.1.5 Optimizasyon, doğrulama ve karşılaştırma	68
4.1.6 Lavanta ekstraktındaki bireysel fenolik bileşikler	69
4.1.7 Lavanta ekstraktının uçucu bileşenleri	70
4.2 Pektin filmlerin karakterizasyonu	72
4.2.1 Fiziksel özellikler	72
4.2.2 Mekanik özellikler	75
4.2.3 Optik özellikleri	76
4.2.4 Taramalı elektron mikroskopu (SEM)	79
4.2.5 FTIR analizi	80
4.2.6 Termogravimetrik analiz	83
4.2.7 XRD analizi	85
4.2.8 Antioksidan kapasite	86
4.3 Pişmiş köfte örneklerinde lipit oksidasyonu üzerine pektin kaplamaların etkileri ...	89

BÖLÜM V	91
SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	91
KAYNAKLAR	95
ÖZ GEÇMİŞ	118
TEZ ÇALIŞMASINDAN ÜRETİLEN ESERLER	119



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Ultrases ve DÖS destekli ekstraksiyon çalışmaları	20
Çizelge 2.2. Yenilebilir filmlerde DÖS'lerin plastikleştirici olarak kullanımı.....	25
Çizelge 2.3. DÖS kullanılarak elde edilen bitkisel ekstraktların yenilebilir filmlerde uygulamaları.....	28
Çizelge 3.1. Derin ötektik sıvıların bileşenleri ve mol oranları	33
Çizelge 3.2. Faktöriyel kesirli denemede kullanılan bağımsız değişkenlerin deneysel değerleri ve kodlanmış seviyeleri	34
Çizelge 3.3. Merkezi bileşik dönebilen tasarımda kullanılan bağımsız değişkenlerin deneysel değerleri ve kodlanmış seviyeleri.....	35
Çizelge 3.4. Fenolik bileşiklerin analizinde uygulanan dereceli elüsyon programı	39
Çizelge 3.5. Fındık yağının ve oleojelin yağ asidi kompozisyonları	45
Çizelge 4.1. Kısmi faktöriyel deneme tasarımı ve toplam fenolik madde miktarı	51
Çizelge 4.2. Toplam fenolik madde miktarı için kısmi faktöriyel deneme tasarımı verilerinin varyans analizi	54
Çizelge 4.3. Kısmi faktöriyel deneme tasarımı ve toplam flavonoid madde miktarı	55
Çizelge 4.4. Toplam flavonoid madde miktarı için kısmi faktöriyel deneme tasarımı verilerinin varyans analizi	56
Çizelge 4.5. Merkezi tümleşik dönebilen deneme tasarımı ve deneysel cevaplar	62
Çizelge 4.6. Toplam fenolik madde miktarı için regresyon modelinin varyans analizi ..	63
Çizelge 4.7. Toplam flavonoid madde miktarı için regresyon modelinin varyans analizi	63
Çizelge 4.8. DPPH antioksidan kapasite analizi için regresyon modelinin varyans analizi	64
Çizelge 4.9. ABTS antioksidan kapasite analizi için regresyon modelinin varyans analizi	64
Çizelge 4.10. CUPRAC antioksidan kapasite analizi için regresyon modelinin varyans analizi	65
Çizelge 4.11. Optimum noktada elde edilen lavanta ekstraktının bireysel fenolik kompozisyonu.....	70
Çizelge 4.12. Optimum noktada elde edilen lavanta ekstraktının uçucu bileşenleri	72

Çizelge 4.13. Pektin filmlerin fiziksel özellikleri	73
Çizelge 4.14. Pektin filmlerin mekanik özellikleri	76
Çizelge 4.15. Pektin filmlerin renk özellikleri.....	77
Çizelge 4.16. Pektin filmlerin beyazlık, sarılık indeksleri ve opaklık değerleri.....	78



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Fenolik bileşiklerin ana sınıfları	6
Şekil 3.1. Tez kapsamında yürütülen çalışmaların akış şeması	32
Şekil 4.1. Derin ötektik sıvıların ve klasik çözücülerin ekstraksiyon performansları	49
Şekil 4.2. Toplam fenolik madde miktarı için Pareto grafiği	52
Şekil 4.3. Toplam fenolik madde miktarı için yarı normal dağılım grafiği.....	53
Şekil 4.4. Toplam flavonoid madde miktarı için pareto grafiği.....	57
Şekil 4.5. Toplam flavonoid madde miktarı için yarı normal dağılım grafiği.....	58
Şekil 4.6. En dik artış/azalış yöntemi ile toplam fenolik ve flavonoid madde miktarındaki değişimlerin incelenmesi	59
Şekil 4.7. Bağımsız değişkenlerin TPC (A), TFC (B), DPPH antioksidan kapasite (C ve D), ABTS antioksidan kapasite (E) ve CUPRAC antioksidan kapasite (F ve G) üzerine etkilerinin üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri	67
Şekil 4.8. Optimum ekstraksiyon koşulları ve tahmini değerler.....	68
Şekil 4.9. Pektin filmlerin ışık geçirgenlikleri	79
Şekil 4.10. Pek (a), Pek-Gliserol (b), Pek-DÖS (c), Pek-DÖS ekstraktı (d), Pek-DÖS-%0,5 (e), Pek-DÖS-%1 (f) ve Pek-DÖS-%2 (g) filmlerin taramalı elektron mikroskopu görüntüleri	80
Şekil 4.11. Pektin filmlerin FTIR spektrumları	82
Şekil 4.12. Pektin filmlerin termogravimetrik (a) ve diferansiyel termogravimetrik (b) eğrileri.....	84
Şekil 4.13. Pektin filmlerin XRD kırınım desenleri.....	86
Şekil 4.14. Pektin filmlerin ABTS (A) ve DPPH (B) antioksidan kapasiteleri	88
Şekil 4.15. Pişmiş köfte örneklerinin TBARS miktarında meydana gelen değişimler ...	90

FOTOĞRAFLAR DİZİNİ

Fotoğraf 4. 1. Pektin filmlerin görünüşleri77



SİMGE VE KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
%	Yüzde
ABTS	2,2-azinobis-(3-etil-benzotiyazolin-6-sülfonik asit)
CCRD	Merkezi tümleşik deneme tasarımı
RSM	Yanıt yüzey yöntemi
CUPRAC	Bakır (II) iyonu indirgeme yöntemiyle antioksidan kapasite
DÖS	Derin ötektik sıvı
HBA	Hidrojen bağı alıcı
HBV	Hidrojen bağı verici
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
FFD	Kısmi faktöriyel deneme tasarımı
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GC	Gaz kromatografisi
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
KE	Kateşin eşdeğeri
KK	Kolin klorit
MS	Kütle spektroskopisi
Pek	Pektin
SEM	Taramalı elektron mikroskopu
TE	Troloks eşdeğeri
TFC	Toplam flavonoid madde
TGA	Termogravimetrik analiz
DTGA	Diferansiyel termogravimetrik analiz
TPC	Toplam fenolik madde
v/v	Hacim/hacim
w/w	Kütle/kütle
XRD	X-ışını kırınım deseni

MDA	Malondialdehit
TBARS	Tiyobarbütirik asit reaktif maddeler
ANOVA	Varyans analizi



BÖLÜM I

GİRİŞ

Tıbbi bitkiler, hastalıkları önleyecek, insan sağlığını koruyacak ve iyileştirecek etkilere sahip olan ve bu etkileri geleneksel olarak bilinen veya modern yöntemler ile kanıtlanmış tıbbi değeri yüksek bitkiler olarak tanımlanırlar. Aromatik bitkiler ise hoş kokuları için kullanılan bir bitki sınıfını temsil etmektedir (Saha ve Basak, 2020). Bu tanımlamalara göre hem insan sağlığı üzerine olumlu etkiler sergileyen hem de hoş kokulu bitkiler tıbbi ve aromatik bitkiler olarak nitelendirilmektedir. Bu bitkiler insan uygarlığının başlangıcından bu yana şifa amaçlı olarak kullanılmaktadır. Günümüzde ise modern ilaçlar ile birlikte tamamlayıcı tıp uygulamalarında kullanımları yaygınlaşmıştır. Tıbbi ve aromatik bitkiler yaygın olarak bitkisel çay formunda, gıda takviyesi olarak, fonksiyonel gıdaların ve kozmetik ürünlerinin içeriklerinde bulunmaktadır. Bu sebeple tıbbi bitkilere olan talep son yıllarda giderek artmaktadır (Fierascu vd., 2020).

Günümüzde sentetik ilaçların yan etkilerinden dolayı birçok insan hayatını kaybedebilmektedir (Karimi vd., 2015). Tüketiciler tarafından sentetik ilaçların yan etkileri ile ilgili endişelerin artması bitkisel ilaçlara olan ilgiyi arttırmıştır. Tıbbi bitkilerin insan sağlığına faydaları yapılarında yer alan biyoaktif moleküllerle yakından ilişkilidir. Dolayısıyla, bitkisel materyallerden bu aktif bileşenlerin elde edilmesi hem ekonomik hem de sosyal açıdan oldukça önemli bir konu olarak görülmektedir (Fierascu vd., 2020). Tıbbi bitkilerin etkili bir şekilde kullanılması ve artık materyallerin azaltılması için aktif bileşenlerin kazanımında etkin metotların kullanılması gerekmektedir. Bu amaçla günümüzde çevre dostu ekstraksiyon teknikleri ve ekstraksiyon çözücülerinin kullanımı üzerine yoğun bir ilgi mevcuttur. Son yıllarda, ultrases destekli ekstraksiyon teknolojisinin ve derin ötektik sıvıların (DÖS'lerin) bu doğrultuda kullanımı oldukça etkili bir yaklaşım olarak nitelendirilmektedir.

İnsanlık tarihinin başlangıcından günümüze kadar hayatımızı kolaylaştıran ve refahımızı artıran birçok teknolojik ilerleme gerçekleşmiştir. Teknolojik gelişmeler ile beraber eski olarak nitelendirdiklerimiz yerlerini yenilerine bırakmıştır. Ancak, bu teknolojik ürünlerin bazıları ilk ortaya çıktığı zamanlarda zararsız gibi görünse de zaman içerisinde hem insanlar hem de çevre için tehlikeli hale gelmiştir. Bu tehlikeli ürünlerden biri petrol

türevi plastik malzemeler olarak karşımıza çıkmaktadır. Petrol esaslı polimer malzemeler sınıfında yer alan plastikler su ve kara ekosistemlerinde ölümcül etkiler meydana getirmektedir (Singh Jadaun vd., 2022).

Plastik malzemeler ile ilgili ortaya çıkan olumsuzlukların birçoğunun altında insanların yanlış ve aşırı kullanımı gibi normal olmayan davranışlar yatmaktadır. Bu bağlamda toplumun bilinçlendirilmesine yönelik çalışmaların yanı sıra plastiklerin doğal olanlar ile ikame edilmesi üzerine farklı alanlarda sayısız çalışma yürütülmektedir. Ancak, plastiklerin ortaya çıkmasının en önemli sebebi doğal olanların mevcut ihtiyaçları karşılamaadaki yetersizlikleridir. Bundan dolayı plastiklerin doğal materyaller ile ikame edilme süreci tamamen bir geri dönüşü temsil etmemektedir. Çünkü gelişen teknoloji ile doğal polimerlerin özelliklerinin plastiklerin özelliklerine benzer hale getirilmesi artık mümkündür. Bu günlerde, bitkisel ve hayvansal kaynaklardan elde edilen ürünler, yan ürünler ve atıkların içerdiği doğal biyolojik materyaller kullanılarak elde edilen filmler plastik malzemelere en iyi alternatifler olarak düşünülmektedir. Ancak, yenilenebilir olmalarından dolayı ambalaj üretmek amacıyla hayvansal kaynaklardan ziyade bitkisel kaynaklar daha çok tercih edilmektedir.

Sürdürülebilirlik göz önüne alındığında endüstriyel atıklar olarak gıda işleme artıkları ve yan ürünleri, gıda ambalaj filmi üretmek için ideal seçenekler olarak dikkat çekmektedir. Endüstriyel artık materyallerden elde edilen karbonhidratlar, proteinler ve yağlar film oluşturmak amacıyla başlıca tercih edilen materyallerdir. Meyve suyu işleme endüstrisinin bir atık ürünü olarak elma ve turunçgil meyve kabuklarından elde edilen pektin bu amaçla yaygın olarak kullanılan karbonhidratlardan biridir. Ancak pektin filmlerin istenilen özellikleri sağlması için plastikleştirici maddelerin ilavesi ile özelliklerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Son yıllarda, DÖS'lerin plastikleştirici olarak kullanımı üzerine yoğun bir ilgi vardır.

Film üretimi ile ilgili diğer önemli bir konu ise ambalajların pasif özelliklerinin geliştirilmesi ile aktif ambalaj malzemelerinin elde edilmesidir. Bu kapsamda doğal bitkisel ekstraktlar kullanılarak üretilen antioksidan ve antimikrobiyal özellikler sergileyen filmler oldukça ilgi çekmektedir.

Bu tez çalışmasında, tıbbi ve aromatik bir bitki olarak lavantadan antioksidan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu DÖS'ler ve ultrases destekli ekstraksiyon kullanılarak yürütülmüştür. Ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu deneysel tasarım yaklaşımları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen DÖS ekstraktı, hem plastikleştirici hem de antioksidan bileşiklerin kaynağı olarak pektin esaslı filmlerde kullanılmış ve üretilen filmlerin özellikleri fiziksel, mekanik, görünüş, ısı, optik ve moleküler olarak karakterize edilmiştir. Ayrıca çalışmada kullanılan DÖS'nin plastikleştirici potansiyelinin belirlenmesinden sonra DÖS ile plastikleştirilen filmlere dondurarak kurutma yöntemi ile üretilen lavanta ekstraktı ilave edilmiş ve filmlerin antioksidan özellikleri geliştirilmiştir. Ardından, üretilen bu filmler pişmiş köfte örneklerinde lipid oksidasyonunu kontrol etmek amacıyla kaplama ajanı olarak kullanılmıştır.

BÖLÜM II

KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1 Lavanta (*Lavandula angustifolia*)

Bitkiler âleminde tıbbi özellikleri tanımlanan birçok bitki bulunmaktadır. Lamiaceae, Asteraceae ve Apiaceae gibi bitki familyaları tıbbi özellikleri ile bilinmektedirler. Bu bitki familyaları arasında, *Lamiaceae* hoş kokulu bitkilerin en büyük ailelerinden birisi olup yaklaşık 237 cins ve 7756 tür içermektedir (Harley vd., 2004). Lamiaceae familyasının *Lavandula*, *Mentha*, *Ocimum*, *Scutellaria* ve *Thymus* gibi cinsleri önemli tıbbi özellikler göstermektedirler. Bu sebeple, bu cinslerin bazı türleri (lavanta, fesleğen, nane, adaçayı ve kekik gibi) ilaç ve gıda olarak tüketmek amacıyla ticari olarak yetiştirilmektedir. Ayrıca, bu bitkiler içerisinde pek çok tür, önemli özelliklerinden biri olan uçucu yağlarının aromatik özellikleri nedeniyle kozmetik endüstrisi tarafından da yaygın olarak kullanılmaktadır (Nazar vd., 2022). Dolayısıyla, bu familya içerisinde yer alan bitkiler ilaç, parfümeri, kozmetik ve gıda endüstrilerinde önemli bir yere sahiptirler.

Lamiaceae familyasının *Lavandula* cinsi 39 tür, 79 tür altı takson, 3 alt cinse ve 8 bölüme ayrılan birçok melez türü içermektedir (Passalacqua vd., 2017). Bu cins içerisinde en yaygın olarak yetiştirilen türler *L. angustifolia* (lavanta veya gerçek lavanta), *L. latifolia* Medik (başak lavanta), *L. stoechas* L. (İspanyol lavantası) ve *L. × intermedia* Emeric ex Loisel. (lavandin) olarak rapor edilmiştir (Nazar vd., 2022). *Lavandula* türleri, parfüm endüstrisinin esansiyel bir hammaddesidir ve en çok aromaterapi kullanımları (rahatlatıcı aromatik nitelikleri) ile ünlüdürler. Lavanta ve lavandin uçucu yağ üretimi için en çok yetiştirilen *Lavandula* türleridir. Ancak lavanta uçucu yağı, lavandin uçucu yağından daha düşük kafur (camphor) içeriğine sahip olduğundan, kalite açısından daha iyi olarak kabul edilmektedir (Kara ve Baydar, 2013). Bu nedenle, lavanta uçucu yağı yaygın olarak parfüm endüstrisinde kullanılırken, lavandin uçucu yağı ise daha çok deterjan ve kozmetik ürünlerinin üretiminde tercih edilmektedir. Ayrıca, lavandinin uçucu yağ verimi lavantadan daha yüksektir. Dahası, lavanta uçucu yağının fiyatı lavandin uçucu yağından 3-7 kat daha pahalıdır (Beale vd., 2017; Pokajewicz vd., 2022).

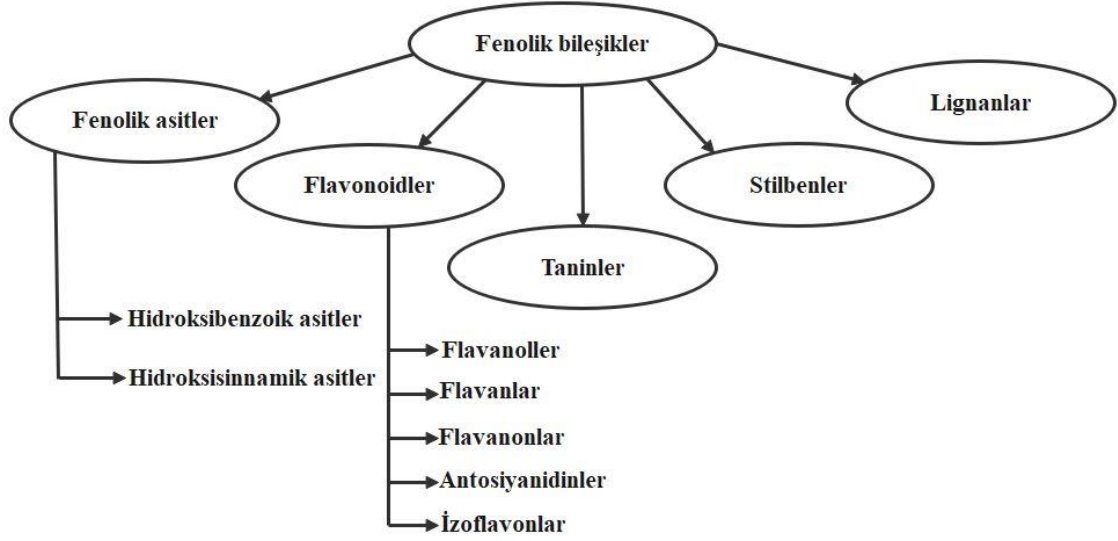
Lavanta, Akdeniz bölgesine özgü çok yıllık yaprak dökmeyen çalı şeklinde çiçekli bir bitkidir (Crişan vd., 2023; Gavahian ve Chu, 2018). Genellikle, Haziran ile Temmuz

ayları arasında çiçek açarlar. Çiçeklenme periyodunun başlangıcı veya tam çiçeklenme dönemi uygun hasat zamanı olarak nitelendirilmektedir. Uygun hasat zamanının belirlenmesinde yetiştirilme amacına uygun olarak uçucu yağ verimi, dikkate alınan en önemli parametredir (Détár vd., 2021). Ancak lavanta, uçucu yağı haricinde tanenler, antosiyaninler, mineraller, saponinler, flavonoidler ve fenolik asitler gibi birçok bitkisel kimyasalın da önemli bir kaynağıdır (Héral vd., 2021). Literatürde, ekonomik öneminden dolayı lavantanın uçucu yağ bileşimi ve uçucu yağının biyolojik aktiviteleriyle ilgili birçok çalışma yer almaktadır. Ancak, tıbbi ve aromatik bitkilerin sağlık üzerine olumlu etkileri sadece uçucu yağlarıyla değil, aynı zamanda fenolik bileşikleriyle de yakından ilişkilendirilmektedir. Lavanta ekstraktları, ekstraktların fenolik profili ve antioksidan kapasiteleri ile ilgili literatürde sınırlı bilgi bulunmaktadır.

2.2 Fenolik bileşikler

Fenolik bileşikler bir veya birden fazla hidroksil grubu (-OH) içeren ve en az bir aromatik halkaya sahip yaygın bir kimyasal yapıya sahiptirler. Fenolik bileşikler veya fenolikler başlıca meyvelerde, baklagillerde, sebzelerde, çayda, şarapta ve kahvede bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, bulunduğu bitkisel gıdaların tat ve renkleri üzerinde önemli bir etkiye sahiptirler. Fenolik asitler gibi basit fenoliklerden tanenler gibi karmaşık bileşiklere kadar birçok fenolik bileşik bulunmaktadır. Fenolik bileşikler kimyasal yapılarına bağlı olarak fenolik asitler, flavonoidler, taninler, stilbenler ve lignanlar gibi alt gruplara ayrılabilir (Şekil 2.1) (Alara vd., 2021).

Son yıllarda, araştırmacıların ve gıda üreticilerinin fenolik bileşiklerin kullanımı ile ilgili üzerinde durduğu en önemli nokta, fenolik bileşiklerin güçlü antioksidan özellikleri ve bunların oksidatif stresle ilişkili olumsuz durumları önleyici nitelikleri olmuştur. Ancak fenolik bileşikler antioksidan özelliklerinin dışında, antimutajenik, antikarsinojenik, anti-inflamatuar, antiproliferatif ve antimikrobiyal özellikler gibi birçok biyolojik aktivite göstermektedirler (Shahidi ve Ambigaipalan, 2015). Yukarıda bahsedilen biyoaktif özelliklerinden dolayı fenolik bileşikler genellikle gıda, ilaç ve kozmetik endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar.



Şekil 2.1. Fenolik bileşiklerin ana sınıfları

2.2.1 Lavanta bitkisinin fenolik bileşikleri

Lavanta bitkisinin uçucu yağı haricinde kimyasal kompozisyonu içerisinde fenolik bileşikler gibi farklı biyoaktif maddeler de yer almaktadır. Ancak uçucu yağının ekonomik değerinden dolayı lavanta fenolikleri üzerine sınırlı sayıda çalışma yürütülmüştür. Adaszyńska-Skwirzyńska ve Dzięcioł (2017) tarafından yürütülen bir çalışmada lavantanın “Blue River” ve “Ellagance Purple” kültürlerinin ve farklı bitki kısımlarının (çiçek ve yapraklı sap) fenolik asit ve flavonoid kompozisyonu araştırılmıştır. Fenolik asitler olarak rosmarinik, ferulik ve kafeik asit; flavonoid olarak ise apigenin, luteolin ve kersetin gibi fenolik bileşiklerin bulunduğu rapor edilmiştir. Ayrıca araştırmacılar lavanta çiçeğinin ve yapraklı sapının birbirinden farklı düzeyde fenolik madde içerdiğini bildirmiştir. Ayrıca, Dobros vd. (2022) tarafından yürütülen bir çalışmada yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile fenolik asitler (rosmarinik asit, ferulik asit glukozit, kafeik asit, ellajik asit), flavonoidler (morin, isoquersitrin, vanillin) ve kumarinler (herniarin, kumarin) belirlenmiştir. Lavanta bitkisinin ve distilasyonundan arta kalan yan ürünlerinin fenolik kompozisyonu üzerine yürütülen bir çalışmada ise dokuz fenolik asidin (gallik, protokateşik, klorojenik, kafeik, siringik, *p*-kumarik, ferulik, salisilik ve rosmarinik asit) ve beş flavonoidin (kateşin, epikateşin, rutin, hesperidin ve kersetin) varlığı tespit edilmiştir (Marovska vd., 2023). Cesur Turgut vd. (2016) tarafından yürütülen bir çalışmada, lavanta ekstraktında 11 adet fenolik bileşik

tanımlanmış ve konsantrasyonları dikkate alındığında lavanta ekstraktındaki başlıca fenolik bileşikler çoktan aza doğru kafeik asit, rosmarinik asit ve 4-hidroksibenzoik asit olarak belirlenmiştir. Ayrıca, Turrini vd. (2021) rutin, apigenin ve luteolin gibi flavonoidlerin varlığını rapor etmiştir. Bu çalışmalar lavantada yer alan yaygın fenolik bileşiklerin fenolik asitler ve flavonoidler olduğunu ortaya koymaktadır.

2.3 Ekstraksiyon

Bitkisel materyallerden biyoaktif bileşenlerin elde edilmesinde anahtar adımlardan biri ekstraksiyon işlemidir. Ekstraksiyon, katı veya sıvı içerisindeki hedef bileşenin veya bileşenlerin bir çözücü veya çözücü karışımları yardımıyla ayrılması işlemidir (Alaşalvar ve Çam, 2019). Fenolik bileşiklerin farklı endüstrilerde kullanım potansiyeli bulunmaktadır. Ancak, bütün fenoliklerin veya belirli bir grubun bitkisel materyallerden geri kazanılması için genel kabul görmüş bir ekstraksiyon metodu mevcut değildir (Tülek vd., 2021). Herhangi bir bitkiden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu gerçekleştirmek için uygulanması gereken ekstraksiyon koşulları bitkisel materyalin ve hedef bileşenin özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. Fenolik bileşiklerin yapısal farklılıkları, onların çözünürlüklerini ve ekstraksiyon özelliklerini önemli düzeyde etkileyebilmektedir. Polarite, molekül ağırlığı ve bitki matrisi ile etkileşim gibi çeşitli etkenler fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda önemli bir etkiye sahiptir. Fenolik bileşikler, bitkisel materyallerde serbest, çözünebilir esterler veya konjuge ve çözünmez bağlı formlarda bulunmaktadır. Fenolik bileşiklerin çözünmeyen bağlı formları, hücre duvarı yapısal bileşenleri ile bağlantılı durumdadır (Zhang vd., 2020). Ayrıca bazı fenolik bileşikler çevresel etkilere karşı dayanıklıyken, bazıları oksijen varlığına, ısıya ve ışığa karşı hassasiyet gösterebilmektedir (Alara vd., 2021).

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu çoğunlukla, organik çözücülerle (metanol, etanol, aseton, kloroform, etil asetat vb.) veya su/organik çözücü karışımlarıyla gerçekleştirilen katı-sıvı ekstraksiyon temeline dayanmaktadır. Genel olarak, tek bir ekstraksiyon çözücüsünden ziyade çözücü karışımlarının kullanımının daha yüksek ekstraksiyon verimi sağladığı bilinmektedir (Sultana vd., 2009). Diğer yandan, organik çözücülerin toksisite, uçuculuk, yanıcılık ve yüksek maliyet gibi bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bu sebeple, ekstraksiyon sürecindeki kullanımları hem insan sağlığı hem de çevre üzerine potansiyel riskler oluşturmaktadır (Clarke vd., 2018).

Biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için kullanılan yöntemleri geleneksel ve yenilikçi yöntemler olarak iki grup altında toplamak mümkündür. Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri, yüksek miktarda organik çözücülerin kullanımı, uzun ekstraksiyon süresi ve yüksek sıcaklık uygulanması esasına dayanmaktadır. Modern ekstraksiyon yöntemleri ise toksik organik çözücü kullanımını, ekstraksiyon süresini ve yüksek sıcaklık uygulamasını azaltırken daha yüksek ekstraksiyon verimi sağlayan teknikler olarak tanımlanmaktadır (da Silva vd., 2022).

Günümüzde, geleneksel organik çözücülerin çevre dostu yeni nesil çözücüler yoluyla ikame edilmesi ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile ilgili sorunların çözümlenmesi önemli bir araştırma alanı olarak görülmektedir (Ozturk vd., 2018). Son yıllarda, derin ötektik çözücüler veya DÖS'ler olarak adlandırılan yeni nesil çözücülerin fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda organik çözücüler yerine kullanımı üzerine yoğun bir ilgi mevcuttur. Dahası, bu yeni nesil çözücülerin yenilikçi ekstraksiyon yöntemleri ile kombine edilmesi, ekstraksiyon performanslarının artırılması, enerji tasarrufunun sağlanması ve çevresel olumsuzlukların azaltılması gibi birçok avantajı da beraberinde getirmektedir.

2.3.1 Ekstraksiyon çözücülerini

Su, etanol, metanol, aseton ve etil asetat gibi çözücüler bitkisel materyallerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda en yaygın kullanılan çözücülerdir. Literatürde farklı bitkisel materyallerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine yürütülmüş birçok çalışma yer almaktadır.

Alara vd. (2018) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Vernonia amygdalina* bitkisinin yapraklarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu %20, %40, %60, %80 ve %100 (v/v) etanol kullanılarak incelenmiştir. Araştırmacılar tarafından en yüksek verim ve fenolik madde miktarının %60 v/v etanol kullanıldığında elde edildiği bildirilmiştir.

Moringa oleifera, *Azadirachta indica*, *Terminalia arjuna*, *Acacia nilotica*, *Eugenia jambolana*, *Aloe barbadensis* gibi bitkilerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine yürütülen bir çalışmada ekstraksiyon çözücülerini olarak mutlak etanol, mutlak metanol, %80 (v/v) etanol ve %80 (v/v) metanol kullanılmıştır. İlgili mutlak organik çözücülerle

karşılaştırıldığında sulu organik çözücülerin kullanımı ile bitki materyallerinden genellikle daha yüksek ekstrakt verimi elde edildiği ve bu ekstraktların fenolik içerik ve antioksidan kapasitelerinin ise daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Sultana vd., 2009).

Llorent-Martínez vd. (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada, *Cirsium yildizianum* bitkisinden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için su ve metanol kullanımının etkileri incelenmiş ve fenolik bileşikler için en iyi ekstraksiyon çözücüsünün metanol olduğu belirlenmiştir.

Rhizophora racemosa bitkisinin yaprak ve kabuğundan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunun incelendiği bir diğer çalışmada ise ekstraksiyon çözücüleri olarak metanol, etil asetat ve su kullanılmış ve fenolik bileşikler açısından metanolik ekstraktların diğer çözücülerden daha zengin olduğu bildirilmiştir (Chiavaroli vd., 2020).

Başlıca yeşil çözücüler polietilen glikol, etil laktat, su, alkoller (etanol), esterler (etil laktat ve etil asetat) ve terpenler olarak düşünülmektedir (Martínez-Zamora vd., 2023). Su, etanol ve bu çözücülerin karışımları, insan tüketimine yönelik ürünler için gıda sınıfı çözücüler olarak kabul edilmektedir (Magangana vd., 2020). Etanolün ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanımı ile ilgili Müslümanların dini endişeleri bulunmaktadır. Bunun haricinde etanol düşük düzeyde de olsa insanlar için toksik etkiler gösterebilmektedir. Dolayısıyla, bu çözücüler arasında insan sağlığı ve çevresel etkiler düşünüldüğünde en iyi seçenek ekstraksiyon işleminde suyun kullanımı olarak görülmektedir (Alasalvar vd., 2023). Ancak su yüksek polariteye sahip biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için iyi bir çözücüdür. Bu sebeple alternatif çevre dostu ekstraksiyon çözücüleri üzerine kapsamlı araştırmalar yürütülmektedir. Bu kapsamda, basınçlı sıcak su, süperkritik sıvılar, iyonik sıvılar ve DÖS'ler gibi yeni nesil çözücüler, insan sağlığına ve çevreye çok az veya sıfır toksisite oluşturma, yenilenebilir kaynakların kullanımı, tehlikeleri azaltma, daha az enerji tüketimi ve sürdürülebilirlik gibi umut veren özellikler sergileyen yeşil çözücüler olarak nitelendirilmektedir (Ling ve Hadinoto, 2022). Ancak, bu yeni nesil çözücüler arasında basınçlı sıcak suyun ve süperkritik sıvıların ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanımı için yüksek maliyetlere sahip cihazların kullanılması gerekmektedir (Picot-Allain vd., 2021). Bundan dolayı, iyonik sıvılar ve DÖS'ler, umut verici iki yeni nesil çevre dostu çözücü grubu olarak kabul görmekte ve giderek daha popüler hale gelmektedir.

DÖS'ler ve iyonik sıvılar, düşük uçuculuk, yüksek viskozite, kimyasal kararlılık, termal kararlılık ve yanıcı olmamaları gibi benzer fiziksel özellikleri paylaştıklarına rağmen, DÖS'ler tamamen iyonik bileşikten oluşmadığı için iyonik sıvılardan farklılaşmaktadır. Ayrıca, iyonik sıvılar ile karşılaştırıldığında DÖS'ler genellikle daha güvenli, daha yüksek biyolojik parçalanma ve daha uygun maliyetli olmaları gibi avantajlara sahiptirler (Płotka-Wasyłka vd., 2020).

2.3.1.1 Derin ötektik sıvılar

Bir ötektik sistem, reaksiyon sırasında kovalent bağlar oluşturmayan ancak kendini oluşturan bileşenlerden daha düşük erime noktası gösteren ve tek bir sıcaklıkta eriyen iki veya daha fazla bileşenden oluşan bir karışımdır. Ötektik bir karışımın oluşması için bileşenlerin katı halde karışmaması, sıvılaşma sırasında karışabilir olması, karışımın erime noktasının düşmesi için bileşenler arasında hidrojen bağları, van der Waals kuvvetleri, dipol-dipol etkileşimleri gibi etkileşimlerin olması ve bileşenlerin fiziksel etkileşim gösterebilen bazı fonksiyonel gruplara sahip olması gerekmektedir (Raman vd., 2022).

DÖS, belirli bir molar oranda karıştırıldığında hidrojen bağı etkileşimlerinden dolayı karışımı oluşturan bileşenlerden daha düşük erime sıcaklığı gösteren ötektik karışımlar olarak tanımlanmaktadır (Perna vd., 2020). Ancak "derin" sıfatının kullanımı yalnızca ötektik nokta sıcaklığının ideal bir sıvı karışımının (belirli bir bileşiğin diğer bileşenlerle mükemmel bir şekilde karıştığı ve kimyasal etkileşimlerin olmadığı sıvı karışımları) sıcaklığının çok altında olan karışımlar için kullanılmaktadır (Martins vd., 2019). DÖS'ler, özellikle son yıllarda kapsamlı şekilde çalışılmış olsa da, DÖS'lerin oluşumu ve özelliklerinin ardındaki ilkenin anlaşılması konusunda hala eksiklikler mevcuttur (El Achkar vd., 2021). Bu durum, DÖS'lerin doğasını ve geleneksel ötektik karışımlardan farkının ne olduğunu anlamaya yönelik sınırlı sayıda çalışma yürütülmüş olması ile açıklanmaktadır. Esas olarak, araştırma fon ve kaynaklarının temel çalışmalardan ziyade araştırma, geliştirme ve uygulamalar üzerine yoğunlaşması bu durumun sebebi olarak görülmektedir (Martins vd., 2019; Paiva vd., 2018). Araştırmacılar tarafından DÖS'lerin uygulamaları ile ilgili elde edilen bilgilerin hızlıca artması ve potansiyellerinin ortaya konulması, temel sorulara cevap aramayı ve maddi kaynak sağlamayı güçleştirmektedir.

DÖS'ler genel olarak iki bileşenden oluşmaktadır; bunlardan biri hidrojen bağı alıcı (HBA) olma özelliğine sahipken, diğeri hidrojen bağı verici (HBV) özellik göstermektedir. DÖS'ler, iyonik sıvıların dezavantajlarının üstesinden gelmek için iyonik sıvılara alternatif arayışları sonucunda keşfedilmiştir. Bu sebeple, bazı araştırmacılar tarafından DÖS'ler iyonik sıvıların alt sınıfı olarak düşünülürken bazıları tarafından farklı bir çözücü grubu olarak nitelendirilmektedir (Płotka-Wasyłka vd., 2020). DÖS'lerin keşfi ve adlandırılması yaklaşık 20 yıl önce Abbott vd. (2003) tarafından gerçekleştirilmiştir. Abbott vd. (2003) tarafından yapılan bu çalışmada, belirli HBV'lerin ve HBA'ların ötektik bileşiminde beklenmeyen bir erime noktası düşüşü olduğunu gözlemlenmiştir. Kolin klorit (KK) ve üre kullanarak 1:2 molar oranında hazırladıkları karışımın erime noktasını 12°C olarak bulmuşlardır. Bu belirlenen erime noktasının karışımı oluşturan KK (302°C) ve ürenin (133°C) erime noktasından oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Erime noktasındaki bu önemli düşüşün, üre molekülleri ile klorür iyonu arasındaki etkileşimlerden kaynaklandığı rapor edilmiştir.

DÖS'lerin keşfinden birkaç yıl sonra Choi vd. (2011) tarafından “doğal derin ötektik sıvılar (DDÖS)” kavramı ortaya atılmıştır. DDÖS kavramı organik asitler, amino asitler, şekerler, alkoller, betain ve kolin türevleri gibi doğal maddelerden üretilen DÖS'leri ifade etmek için kullanılmıştır (Aroso vd., 2017). Doğal maddelerden oluştukları için DDÖS'lerin gıda uygulamalarında kullanımı daha uygun ve daha güvenli kabul edilmektedir (Mišan vd., 2020).

DÖS'ler ekstraksiyonda, kromatografide, biyomedikal uygulamalarda, kimyasal dönüşümlerde, biyoteknolojik uygulamalarda ve eczacılık uygulamalarında kullanılabilirler (Liu vd., 2018; Perna vd., 2020; Smith vd., 2014). Gıda endüstrisinde ise DÖS'ler gıdaların dondurulmasında kriyoprotektan (donma etkisinden koruyucu), biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda çözücü, lezzet artırıcı ve yenilebilir filmlerin üretiminde plastikleştirici gibi farklı uygulama alanlarında kullanım potansiyeli göstermektedirler (Wu vd., 2022).

Son yıllarda, gıda bilimi ve teknolojisi alanında DÖS'lerin değerli bileşiklerin ekstraksiyonunda yeşil ve çevre dostu çözücü olarak kullanımı önemli bir araştırma konusu olmuştur. Çevre dostu özelliklerine ilaveten, kolaylıkla modifiye edilebilen özellikleri, çok yönlülükleri, hazırlanma kolaylıkları, çeşitli bileşiklere karşı yüksek ilgi

gösteren benzersiz moleküler yapıları, yüksek çözücü güçleri ve stabilize etme yetenekleri ekstraksiyon çözücüsü olarak DÖS'lerin kullanımında artan ilginin başlıca sebepleri olarak görülmektedir (Ling ve Hadinoto, 2022; Zannou ve Koca, 2022). Ancak, farklı HBA ve HBV bileşikler kullanılarak üretilebilecek birçok DÖS bulunmakta ve ekstraksiyon işleminde kullanılabilir. Bu sebeple hedef bileşiğin veya bileşiklerin etkili bir şekilde ekstraksiyonu için hangi DÖS karışımının en uygun olduğunu belirlemek büyük önem arz etmektedir. DÖS'lerin viskozite, yoğunluk, polarite ve pH gibi temel özellikleri, ekstraksiyonda etkinliklerini belirleyen önemli faktörler olarak kabul edilmektedir (Mohd Fuad vd., 2021).

DÖS'lerin viskoziteleri HBV ve HBA bileşiklerin özelliklerine bağlı olarak birbirlerinden farklılıklar göstermektedir. Örneğin organik asit esaslı DÖS'ler alkol esaslı DÖS'lerden daha yüksek viskoziteye sahiptirler (Mohd Fuad vd., 2021). Diğer yandan sıvı formda DÖS bileşenlerinin kullanımı ile üretilen DÖS'ler dikkate alındığında, DÖS'lerin viskozitesi DÖS'yi oluşturan sıvı bileşenin viskozitesinden düşük olabilmektedir. Bu bağlamda en iyi örneklerden biri gliserol esaslı DÖS'ler ile karşılaştırıldığında gliserolün daha yüksek bir viskozite sergilemesidir (Ozturk vd., 2018). Genel olarak, DÖS'lerin viskoziteleri organik çözücülerden oldukça yüksektir. Bu durum DÖS'lerin ekstraksiyon işlemlerinde kullanımında karşılaşılan önemli sorunlardan bir tanesidir. Ancak, kullanılacak olan DÖS içerisine belirli oranda suyun ilavesi ile bu sorunun üstesinden kolaylıkla gelinebilmektedir. Suyun yardımcı çözücü olarak kullanımı ile DÖS viskozitesi önemli düzeyde azalmakta ve bu sayede ekstraksiyon etkinliği artmaktadır. Yukarıda da bahsedildiği gibi, DÖS'ler hidrojen bağı etkileşimi ile oluşan çözücülerdir. Belirli düzeyde suyun kullanımı DÖS içerisindeki hidrojen bağı etkileşiminin artışı teşvik etmekte ve viskozitenin azalmasına olanak sağlamaktadır. Diğer yandan, aşırı düzeyde suyun kullanımı hidrojen bağlarının zayıflamasına ve parçalanmasına, dolayısıyla DÖS'lerin çözücü özelliğinin sınırlanmasına veya tamamen kaybolmasına sebep olmaktadır. Bu sebeple %50'nin üzerinde suyun DÖS içerisinde kullanılmaması önerilmektedir (Dai vd., 2015; Vilková vd., 2020).

Viskoziteye ilaveten, DÖS'lerin ekstraksiyon amacıyla kullanımında en önemli parametrelerden biri de polaritedir. DÖS'yi oluşturan HBA ve HBV bileşenlerin özelliklerine göre DÖS'lerin polariteleri birbirinden farklılıklar göstermektedir. Çözücü polaritesi yarı deneysel doğrusal serbest enerji ilişkileri kullanılarak karakterize

edilebilmektedir. En çok kullanılan yaklaşımlardan biri $E_T(30)$ polarite ölçeğidir (Reichardt, 1965). Bu ölçeklendirmede polarite değerleri normalleştirilmiş polarite (E_T^N) ölçeği ile ifade edilmektedir. Normalleştirilmiş polarite ölçeğine göre yaygın olarak kullanılan polar çözücülerin polariteleri su (1,00), metanol (0,76), etanol (0,66), aseton (0,79) ve gliserol (0,82) şeklinde ifade edilmektedir. Bu ölçeklendirmeye göre yaygın olarak kullanılan DÖS'lerin polarite değerleri KK-gliserol (0,86), KK-üre (0,81), KK-laktik asit (0,87) ve KK-sitrik asit (0,87) şeklinde bulunmuştur (Farooq vd., 2020). KK kullanılarak üretilen DÖS'ler dikkate alındığında, organik asit esaslı DÖS'ler en yüksek polariteye sahipken, alkol esaslı DÖS'ler düşük polarite göstermektedir (Mohd Fuad vd., 2021). DÖS'ler arasında farklı polaritenin meydana gelmesi hidrojen bağı oluşturma yetenekleri ile ilişkilendirilmektedir (Farooq vd., 2020). Genel olarak yüksek polarite göstermelerinden dolayı DÖS'lerin polar bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanımları yaygındır. Viskozitenin ayarlanmasında olduğu gibi DÖS'lere su ilavesi ile çözücülerin polaritesinin modifikasyonu da mümkündür. Su ilavesi, çözücünün polaritesini artırarak, zayıf polar bileşikler yerine polar bileşiklerin ekstraksiyonunu kolaylaştırmaya olanak sağlamaktadır (Dai vd., 2014).

Ekstraksiyonda DÖS kullanımını etkileyen bir diğer önemli parametre ise asitlik derecesi olarak ifade edilmektedir. Genel olarak sulu olmayan bir çözücü için pH değeri, hidrojenin kimyasal potansiyeli ile ilişkilendirilmektedir. Bu tür çözücülerin kimyasal potansiyeli anyon ve katyonların varlığından etkilenmektedir. DÖS'lerin pH değerleri, HBA ve HBV'nin asitliği ve bazikliği ile bunların birleşik asitliği ve bazikliği tarafından belirlenmektedir (Skulcova vd., 2018). Beklendiği gibi organik asit kullanılarak üretilen DÖS'ler düşük pH değerine (1,50-1,80) sahipken, alkoller ve monosakkaritler kullanılarak üretilen DÖS'ler nispeten yüksek (4,1-5,8) pH değeri göstermektedir (Boateng, 2023; Sazali vd., 2023; Skulcova vd., 2018). Bu sebeple ekstrakte edilecek bileşiğin çözünürlük özelliklerine uygun DÖS'nin seçilmesi önem arz etmektedir.

2.3.2 Ekstraksiyon metotları

Biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanılan çözücü kadar kullanılan ekstraksiyon metodunun da elde edilen ekstraktın verimi ve biyolojik aktivite değerleri üzerine etkisi bulunmaktadır. Ekstraksiyon metotları, geleneksel ve modern ekstraksiyon yöntemleri olarak iki gruba ayrılmaktadır. Katı-sıvı ekstraksiyonu, Soxhlet ekstraksiyonu, sıvı-sıvı

ekstraksiyonu ve maserasyon gibi teknikler geleneksel ekstraksiyon kategorisinde en çok kullanılan yöntemlerdir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin bazı dezavantajları olduğundan, bu dezavantajları gidermek amacıyla birçok çalışma yürütülmektedir.

Geleneksel yöntemlerin zayıflıklarını gidermek amacıyla modern ekstraksiyon yöntemlerinin kullanılması oldukça hız kazanmıştır. Modern ekstraksiyon yöntemleri, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, kritik altı su ekstraksiyonu, süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon, katı faz ekstraksiyonu, ultrases destekli ekstraksiyon, yüksek hidrostatik basınç ekstraksiyonu, enzim destekli ekstraksiyon, vurgulu elektrik alan ve ohmik destekli ekstraksiyon gibi yöntemlerden oluşmaktadır (Picot-Allain vd., 2021). Modern tekniklerin gelişmiş özelliklerinden bazıları arasında otomasyon, gelişmiş seçicilik, ekstraksiyon çözücülerinin tüketimini azaltma, daha etkin enerji ve ekstraksiyon verimliliği yer almaktadır.

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılan geleneksel ekstraksiyon yöntemleri maserasyon, ısıtma, karıştırma, infüzyon ve Soxhlet ekstraksiyonu gibi tekniklerdir. Bu yöntemler arasında en yaygın kullanılan yöntem maserasyon yöntemidir. Maserasyon yoluyla ekstraksiyon, öğütülmüş bir numunenin kapalı bir sistemde uygun çözücü ile karıştırılması şeklinde yürütülen basit bir işlemdir. Maserasyon tekniğinde ısının veya karıştırmanın uygulanması ile ekstraksiyon gücü geliştirilebilmektedir. Ayrıca, bu yöntem ile laboratuvar ölçekli üretimden endüstriyel ölçekli üretime kolaylıkla geçmek mümkündür (Tülek vd., 2021). Ancak, geleneksel ekstraksiyon yöntemleri, yüksek organik çözücü hacimlerine ihtiyaç duymaları nedeniyle önemli çevre sorunlarına sebep olmakta ve modern yöntemler ile kıyaslandığında düşük ekstraksiyon etkinliği göstermektedirler.

2.3.2.1 Ultrases destekli ekstraksiyon

Ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi, maserasyon yönteminin dezavantajlarını ortadan kaldıran modern ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Ultrases destekli ekstraksiyonda hedef bileşenlerin bitkisel materyalden çözücüye difüzyonunu kolaylaştırmak için bitki dokularının parçalanmasını sağlayan mikro boyutlu kabarcıkların oluşumu ve patlaması ile oluşan mekanik bir güç söz konusudur. Ultrases yöntemiyle ekstraksiyon işleminin

temel mekanizması hücresel parçalanma ve kütle transferinin hızlanması ile açıklanmaktadır (Yusoff vd., 2022).

Ultras ses destekli ekstraksiyon hem laboratuvar ölçekli hem de endüstriyel ölçekli uygulamalarda kullanılabilir basit ve düşük maliyetli bir yöntem olarak nitelendirilmektedir (Shirzad vd., 2017). Deneysel süreçte genellikle hücre duvarı geçirgenliğini artırmak ve kavitasyon oluşturmak için 20-2000 kHz frekans aralığına sahip ultras ses gücünün kullanılması gerekmektedir. Çeşitli çalışmalara göre ultras ses destekli ekstraksiyon, diğer ekstraksiyon tekniklerine göre ekstraksiyonu hedeflenen bileşiklerin parçalanmasını en aza indirerek fenolik bileşiklerin daha hızlı ve daha etkin bir şekilde ekstraksiyonuna olanak sağlamaktadır (Alara vd., 2021; Vinatoru, 2001).

Son zamanlarda, DÖS ve ultras ses destekli ekstraksiyon gibi yenilikçi, çevre dostu ekstraksiyon çözücülerinin ve tekniklerinin birlikte kullanımı ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyon veriminin arttığı birçok çalışmada rapor edilmiştir (Patil vd., 2021; Wu vd., 2020). Bu yöntemlerin kombine edilmesi, ekstraksiyon veriminin yanı sıra çevresel olarak hem çözücülerden hem de ekstraksiyon yöntemlerinden kaynaklı sorunları minimize etmekte ya da tamamen ortadan kaldırmaktadır. Ancak, yüksek verimin elde edilebilmesi, çözücü kullanımının azaltılması, enerji-süre tasarrufu sağlanması ve biyoaktif bileşenlerin parçalanması gibi olumsuzlukların önlenmesi amacıyla ekstraksiyon koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir.

2.3.3 Deneysel tasarımlar ve yanıt yüzey yöntemi

Türk Dil Kurumu'na göre optimizasyon, "en uygun hale getirmek" anlamını taşıyan bir sözcüktür (Anonim, 2023). Her sistem ve ürün belirli bir amaçla kullanılmakta ve üretilmektedir. Her zaman, üretilen ürün veya kullanılan sistemin arzu edilen nitelikleri eksiksiz olarak sağlaması beklenmektedir. Genellikle, bir sistemin çalışmasında ve malın üretiminde bağımlı (kontrol edilemeyen) ve bağımsız (kontrol edilebilen) değişkenler bulunmaktadır (Pereira vd., 2021). Optimizasyonun gerçekleştirilmesinde bağımsız değişkenler dikkate alınarak, bağımlı değişkenlerde meydana gelen değişimler incelenmektedir.

Geleneksel olarak optimizasyon işlemi, diğer değişkenler sabit tutulurken her seferinde bir değişkenin değiştirilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Bu işlem belirlenen değişkenlerin alt ve üst limitleri içerisinde yürütülmektedir. Bu yaklaşım, bir optimizasyon tekniği olarak genellikle hatalı ve verimsiz olarak kabul edilmektedir (Lee, 2019). Kullanılan değişkenler arasındaki etkileşimler dikkate alınmadığından, elde edilen sonuçların yanlış yorumlanma olasılığı oldukça yüksektir (Narendran vd., 2019). Yani değişkenler üzerinden doğrusal deneysel bir araştırma yürütülürken göz ardı edilen değişken etkileşimlerinden dolayı doğrusal olmayan sonuçlar ortaya çıkabilmektedir. Bu doğrusal olmayan sonuçların incelenmesi için istatistiksel modelleme araçlarının ve deneme tasarımlarının kullanılması gerekmektedir (Lee, 2019; Taylor vd., 2023). Gıda uygulamalarında ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu yaygın olarak deneme tasarımlarının uygulaması ve yanıt yüzey yönteminin (response surface methodology, RSM) kullanımı ile gerçekleştirilmektedir.

RSM, işlem değişkenleri ile ölçülebilen cevaplar arasındaki etkileşimi inceleyen istatistiksel bir yöntemdir. RSM yaklaşımında incelenen işlemi tanımlamak ve deneysel koşulları modellemek ve optimize etmek için doğrusal ve/veya ikincil dereceden modeller kullanılmaktadır (Bezerra vd., 2008).

Ekstraksiyon işleminde çok sayıda değişken hedeflenen verimi etkileyebilmektedir. Bu değişkenlerin her birinin katkılarını belirlemek ve kontrol etmek oldukça zor bir süreçtir. Ekonomik açıdan, etkisi büyük olan değişkenlerin seçilmesi oldukça önemlidir. Çeşitli deneysel değişkenlerden hangisinin ve bunların etkileşimlerinin daha anlamlı etkiler oluşturduğunu belirlemek için tarama tasarımlarının kullanılması gerekmektedir. Plackett Burman deneme tasarımı ve kısmi faktöriyel iki seviyeli deneme tasarımları esas olarak verimli ve ekonomik olduklarından dolayı bu amaç için kullanılabilirler. Ancak kısmi iki seviyeli (-1 ve +1) faktöriyel deneysel tasarımlar yalnızca doğrusal yanıt modelleri üretmektedir. Bu nedenle doğrusal olmayan ilişkiler hakkında bilgi vermemektedirler (Hibbert, 2012). Doğrusal olmayan değişken ilişkilerinin açıklanabilmesi için RSM yaklaşımlarının kullanılması gerekmektedir.

Üç seviyeli faktöriyel deneme tasarımı, Doehlert deneme tasarımı, Box-Behnken deneme tasarımı ve merkezi tümleşik deneme tasarımı (central composite design, CCD), en sık kullanılan RSM yaklaşımlarıdır. Bu deneme tasarımları, deney noktalarının seçimi,

değişkenlere yönelik seviye sayısı, deney sayısı ve blok sayısı bakımından birbirinden farklılık göstermektedirler (Bezerra vd., 2008). Bu RSM yaklaşımları arasında ekstraksiyon uygulamalarında CCD yaygın olarak kullanılmaktadır (Narendaran vd., 2019).

CCD, kısmi faktöriyel deneme tasarımına merkez nokta (0) ilavesi ile üretilen bir deneme tasarımıdır. CCD'nin farklı çeşitleri bulunmaktadır. Bunlardan en çok kullanılan yüzey merkezli (face-centered) ve merkezi tümleşik dönebilen deneme tasarımı (central composite rotatable design, CCRD) olarak karşımıza çıkmaktadır. CCRD, ikinci dereceden modellere uyacak şekilde merkez (0) ve yıldız noktalar ($-\alpha$ ve $+\alpha$) eklenmiş 2 seviyeli (-1 ve +1) faktöriyel deneysel tasarıma dayanmaktadır. Buna göre CCRD'de her bir bağımsız değişken için 5 seviye ($-\alpha$, -1, 0, +1, $+\alpha$) bulunmaktadır. Yıldız noktalar kullanılan bağımsız değişkenin maksimum ve minimum noktalarını temsil etmektedir. Merkez noktada tekrar edilen analizler ve yıldız noktaların varlığı bağımsız değişken etkilerinin birbirlerinden bağımsız olarak tahmin edilebilmesini ve tahmin edilen yanıtın varyasyonunun deney tasarımının merkezinden eşit uzaklıktaki tüm noktalarda aynı olmasını sağlayarak üretilen modellerin tahmin etme gücünü artırmaktadır (Pereira vd., 2021).

2.3.3.1 Ultrases destekli ekstraksiyon uygulamalarında optimizasyon

Ekstraksiyon işleminde kullanılan yöntem, örnek ve çözücü özelliklerine bağlı olarak farklı değişkenler ekstraksiyon özelliklerini önemli düzeyde etkilemektedir. Ultrases destekli ekstraksiyon biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda kullanıldığında ultrases gücü, ultrases genliği, sıcaklık, örneğin parçacık boyutu, süre ve katı/sıvı oranı gibi farklı değişkenlerin dikkate alınması gerekmektedir. Bu değişkenlerden her birinin artışı veya azalışı ile ekstraksiyon veriminde farklılıklar meydana gelebilmektedir. Örneğin 50°C üzerinde sıcaklık ve uzun ekstraksiyon süresinin uygulanması fenolik bileşiklerin parçalanmasına sebep olabilmektedir. Dahası ekstraksiyon çözücüsü olarak su kullanıldığında ve yüksek ultrases gücü uygulandığında yüksek oranda serbest radikallerin oluşumu meydana gelebilmektedir (Dzah vd., 2020). Bu sebeple en yüksek verimle hedef bileşenlerin ekstrakte edilebilmesi için çalışma koşullarının optimize edilmesi gerekmektedir.

Literatürde ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine yürütülmüş birçok çalışma yer almaktadır. Shehata vd. (2021) tarafından portakal kabuğundan fenolik bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonu üzerine gerçekleştirilen çalışmada süre (40-60 dakika), sıcaklık (30-50°C) ve etanol/su oranı (%40-60) gibi değişkenlerin etkileri incelenmiş ve optimum ultrases destekli ekstraksiyon koşulları 44 dakika ekstraksiyon süresi, 50°C ekstraksiyon sıcaklığı ve %57,7 etanol/su oranı olarak belirlenmiştir.

Yabani kekikten biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine yürütülen bir çalışmada maserasyon, sıcaklık destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyon gibi farklı yöntemlerin optimizasyonu parçacık boyutu (0,3-0,7 mm), katı-sıvı oranı (1/20-1/30), su oranı (%30-50) ve ekstraksiyon süresi (15-30 dakika) gibi değişkenler dikkate alınarak gerçekleştirilmiştir (Jovanović vd., 2017). Bu çalışmada parçacık boyutu, sıcaklık ve etanol konsantrasyonunun biyoaktif bileşikler üzerine istatistiksel olarak önemli etkilerinin olduğu ancak ekstraksiyon süresinin etkisinin olmadığı tespit edilmiş ve ultrases destekli ekstraksiyon en etkili yöntem olarak rapor edilmiştir.

Bir diğer çalışmada, kestane kabuklarından antioksidan fenolik bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyonu üzerine sıcaklık (34-76°C) ve süre (4-46 dakika) değişkenlerinin etkisi incelenmiş ve optimum ekstraksiyon koşulları 70°C'de 40 dakika olarak belirlenmiştir (Lameirão vd., 2020).

Yukarıdaki çalışmalardan da görüldüğü gibi ekstraksiyonda kullanılan materyale ve çözücüye göre ekstraksiyon koşulları birbirinden oldukça farklılaşmaktadır. Bu sebeple yeni nesil çözücüler olarak DÖS'lerin ultrases destekli ekstraksiyon uygulamalarının araştırılması önem arz etmektedir.

Ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılarak biyoaktif bileşiklerin özellikle fenoliklerin ekstraksiyonunda DÖS'lerin ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanımı ile etanol, metanol, su ve bu çözücülerin karışımları gibi klasik çözücülerden daha yüksek ekstraksiyon etkinliğinin elde edildiğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (da Silva vd., 2022; Osamede Airouyuwa vd., 2022; Pal ve Jadeja, 2019; Rashid vd., 2023; Zannou ve Koca, 2022). Dahası DÖS'lerin yüksek etkinlikleri ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu ile daha da geliştirilebilmektedir. Ultrases destekli ekstraksiyon tekniği ve

DÖS'ler kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon çalışmalarından bazıları Çizelge 2.1'de sunulmuştur. Bu çalışmalar incelendiğinde ultrases ve DÖS destekli ekstraksiyon yöntemi kullanıldığında ultrases gücü, ultrases genliği, sıcaklık, süre, katı/sıvı oranı ve DÖS'deki su miktarı gibi çeşitli değişkenlerin maksimum fenolik madde veriminin sağlanması için optimize edilmesi gerektiği açıkça görülmektedir.



Çizelge 2.1. Ultrases ve DÖS destekli ekstraksiyon çalışmaları

Materyal	Hedef bileşik	Çözücü	Optimum koşullar	Kaynak
Darı kepeği	Fenolik bileşikler	Betain-gliserol	- %29 su - 247 W güç - 61°C - 31 dakika	(Zheng vd., 2022)
Hurma ağacı tohumu	Fenolik bileşikler	KK-laktik asit	- 15 dakika - %90 ultrases genliği - %30 su - 1:30 g/ml katı/sıvı oranı	(Osamede Airouyuwa vd., 2022)
<i>Dendrobium officinale</i> yaprağı	Fenolik bileşikler	KK-okzalik asit	- 330 W ultrasonik güç - 60°C - 53:1 mL/g sıvı/katı oranı	(Wang vd., 2023)
<i>Syringa pubescens Turcz</i>	Ekinakozit ve oleuropein	KK-gliserol	- %20 su - 200 W ultrases gücü - 68°C - 20:1 mL/g sıvı/katı oranı - 45 dakika	(Wang vd., 2020)
<i>Pistacia lentiscus L.</i> meyvesi	Fenolik bileşikler	KK-asetik asit	- %28,3 su - 40°C - 18 dakika	(Tebbi vd., 2023)
<i>Melia azedarach</i> meyvesi	Fenolik bileşikler	Amonyum asetat-gliserol	- 50 °C - %50 su - %100 ultrases genliği	(Jamshaid vd., 2022)
<i>Ixora javanica</i> çiçeği	Ferulik asit	KK-1,2-propanediol	- 40 dakika - %25 su - 1/27 g/mL katı/sıvı oranı	(Oktaviyanti vd., 2022)
<i>Moringa oleifera L.</i> yaprağı	Fenolik bileşikler	Prolin-gliserol	- %37 su - 144 W ultrasonik güç - 40°C	(Wu vd., 2020)

*Fenolik bileşiklerin analizi Folin-Ciocalteu reaktifi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

2.4 Yenilebilir filmler

Gıda ambalajları, gıda tedarik zincirinin en önemli parçalarından biridir. Gıda ambalajları, gıda ürünlerinin saklandığı bir kap olmanın ötesinde fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehlikelere karşı koruyucu bir bariyer görevi de üstlenmektedir (Khezerlou vd., 2021; Rhim vd., 2013). Dolayısıyla gıda ambalajları; taşıma, dağıtım ve depolama süreçlerinde gıda güvenliğini ve kalitesini sürdürmek için gıda tedarik zinciri içerisinde oldukça önemli bir yere sahiptirler. Ambalajlanacak gıdanın özelliklerine bağlı olarak

cam, kâğıt, metal ve plastik gibi bazı malzemeler yaygın olarak gıda maddelerinin ambalajlanması için kullanılmaktadırlar (Rhim vd., 2013). Bu temel ambalaj malzemeleri arasında plastikler düşük maliyet, kolay işlenmeleri, üstün fiziksel ve mekanik özelliklerinden dolayı kısa süreli veya tek kullanımlık ambalaj uygulamalarında fazlaca tercih edilmektedirler. Ancak, çoğu plastik ambalaj malzemesi çevre üzerine olumsuz etkileri olan petrol temelli kaynaklardan elde edilmektedir. Plastik malzeme ile ambalajlanan gıdanın tüketilmesinden sonra arta kalan plastik ambalaj malzemesi, sınırlı biyolojik bozulma ve geri dönüşüm gösterdiği için ciddi çevresel kirliliğe neden olan atıklar haline gelmektedir (Mohamed vd., 2020; Rhim vd., 2013).

Plastik ambalaj malzemeleri ile ilgili diğer bir sorun ise insan sağlığı ile doğrudan ilgili olan migrasyondur. Günümüzde hızla artan plastik ambalaj kullanımı ile mikroplastik (<5mm) olarak adlandırılan küçük boyuttaki plastik parçalarının, direkt temas ya da zaman içinde salım yoluyla gıdaya geçişi ile ilgili endişeler bulunmaktadır (Jadhav vd., 2021). Bal, şeker, tuz, musluk suyu, maden suyu, süt ve özellikle deniz canlıları mikroplastiklerin varlığının tespit edildiği bazı gıda kaynakları olarak rapor edilmiştir. Mikroplastiklerin insan vücuduna girmesinin potansiyel bir risk oluşturup oluşturmadığı hala bilimsel literatürde tartışmalı bir konudur (Jadhav vd., 2021; Kedzierski vd., 2020). Ancak, tüketicilerin bu konu ile ilgili endişelerinin olduğu bilinmektedir. Doğal polimerlerden elde edilen filmlerin yakın zamanda petrol türevi plastiklerin yerini alması mümkün olarak görülmemektedir. Yine de mikroplastik migrasyonunun oluşturduğu tehlikelere karşı gıda ile temas eden ambalaj yüzeyinde doğal polimerlerden elde edilen filmlerin kullanımının bir çözüm olabileceği düşünülmektedir.

Hem çevresel hem de insan sağlığı ile ilgili olumsuz etkilerinden dolayı, gıda ürünlerinin ambalajlanmasında petrol türevi plastiklerin kullanımı konusunda artan endişeler bulunmaktadır. Bu sebeple, plastik filmler yerine yenilenebilir doğal polimerlerden üretilen gıda ambalajı filmlerinin üretimi üzerine birçok çalışma yürütülmektedir (Teixeira-Costa ve Andrade, 2022).

Polisakkaritler, proteinler ve lipitler, yenilenebilir film üretimi için yaygın olarak kullanılan doğal kaynaklardır. Bu malzemeler biyolojik olarak parçalanabilir, güvenilir ve yenilenebilir olmaları dolayısıyla oldukça umut vadetmektedir. Ayrıca, bu doğal polimer malzemelerin birçoğu tarım-gıda endüstrisi atıklarından veya yan ürünlerinden kolaylıkla

elde edilebilmekte ve yenilebilir film uygulamaları için değerlendirilebilmektedir (Bayram vd., 2021; Karimi Sani vd., 2023).

2.4.1 Pektin filmler

Narenciye kabukları ve elma posası gibi gıda işleme atıklarından elde edilen pektin yenilebilir filmlerin üretimi için yaygın olarak kullanılan polimerlerden biridir (Mao vd., 2019; da Silva vd., 2009). Pektin, esas olarak α -1,4 glikozidik bağı ile bağlı galakturonik asit zincirlerinden oluşan karmaşık bir polisakkarit olarak tanımlanmaktadır. Pektinin ana zincirini oluşturan galakturonik asidin karboksil grupları ya serbest ya da metil ile esterleşmiş halde bulunmaktadır. Metil esterifikasyon derecesi veya metilasyon derecesi pektine karakteristik özelliklerini sağlayan en önemli parametrelerdendir. Metil esterifikasyon derecesi %50'den yüksek olan pektinler yüksek metoksilli pektin olarak tanımlanırken, %50'nin altında olanlar ise düşük metoksilli pektin olarak adlandırılmaktadır (Chandel vd., 2022). Yüksek ve düşük metoksilli pektinler arasındaki temel farklılık jel oluşturma mekanizmalarından kaynaklanmaktadır. Yüksek metoksilli pektinlerde, yüksek şeker içeriklerinde ve $\text{pH} \leq 3,5$ olduğunda metoksil grupları arasındaki hidrojen bağları ve hidrofobik kuvvetler tarafından çapraz bağlar oluşturulurken, düşük metoksilli pektinler kalsiyum iyonları ve serbest karboksil grupları arasında iyonik çapraz bağlar oluşturmaktadır (Löfgren ve Hermansson, 2007; Pereira vd., 2016). Bu özellikleri ile pektin, gıda endüstrisinde çeşitli ürünlerde stabilizatör, kıvam artırıcı ve emülgatör işlevi gören bir katkı maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Chandel vd., 2022). Bu uygulamalar dışında film oluşturma özelliğinden dolayı pektin filmlerin üretimi ve gıdalarda ambalaj materyali olarak kullanımına yönelik birçok araştırma yürütülmektedir. Ancak pektin esaslı filmlerde moleküller arasındaki güçlü etkileşimden kaynaklanan kırılgenlik ve sertlik, pektin filmlerinin gıda uygulamalarında kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu sebeple pektin filmlerin üretiminde plastikleştirici olarak adlandırılan çeşitli maddelerin kullanılması gerekmektedir. Plastikleştiricilerin kullanımı, moleküller arası kuvveti azaltarak ve moleküller hareketliliği artırarak pektin filmlerin daha esnek bir yapı kazanmasını sağlamaktadır (Giancone vd., 2011; Zhang vd., 2016).

2.4.2 Yenilebilir filmlerin üretiminde kullanılan plastikleştiriciler

Plastikleştiricilerin yenilebilir filmlerde kullanımı genellikle önemli mekanik özellikler olan çekme gerilimi ve esneklik ile ilgili iken plastikleştiricilerin filmlerde kullanımı ile nem, kalınlık, su buharı geçirgenliği, ışık geçirgenliği, ısıl dayanım ve renk gibi özelliklerde de farklılıkların meydana geldiği bilinmektedir. Yenilebilir filmlerin üretiminde istenilen mekanik özellikleri sağlamak amacıyla birçok plastikleştirici kullanılabilir. Plastikleştiriciler yukarıda da bahsedildiği gibi polimer-polimer arasındaki etkileşimleri azaltmak için kullanılmaktadır. Bu anlamda kullanılacak en iyi plastikleştiricilerden birisi sudur. Ancak suyun kolaylıkla buharlaşabilmesi yenilebilir filmlerde plastikleştirici olarak kullanımını zorlaştırmaktadır (Zhang vd., 2016).

Yenilebilir film üretiminde plastikleştirici olarak genellikle monosakkaritler (glukoz ve früktoz), oligosakkaritler, polioller (gliserol, sorbitol, propilen glikol ve etilen glikol), lipitler ve lipit türevleri kullanılmaktadır (Han, 2014). Literatürde farklı plastikleştirici türlerinin kullanımı ile farklı materyallerden üretilen yenilebilir filmlerin özelliklerinde meydana gelen değişimleri inceleyen sayısız çalışma mevcuttur. Malik vd. (2022) tarafından hidroksipropil metilselüloz filmlerin üretiminde plastikleştirici olarak gliserol, polietilen glikol ve sorbitol kullanılmıştır. Bu çalışmada hidroksipropil metilselüloz miktarının %25'i oranında gliserol ve polietilen glikol kullanıldığında filmlerin esnekliğinin sorbitol kullanılan filmlerden daha yüksek olduğu rapor edilmiştir. Bir diğer çalışmada müsilaj esaslı filmlerin üretiminde gliserol, sorbitol, polietilen glikol 200 ve polietilen glikol 400 plastikleştirici olarak kullanılmış ve en yüksek esneklik değerinin gliserol kullanıldığında elde edildiği bildirilmiştir (Gheribi vd., 2018). Benzer şekilde pektin filmler üzerine yürütülen bir çalışmada früktoz, sorbitol ve gliserol plastikleştirici olarak kullanılmış ve mekanik özelliklerden çekme direnci ve esneklik bakımından arzu edilen sonuçların gliserol kullanımı ile elde edildiği rapor edilmiştir (Go ve Song, 2020). Bu çalışmalardan da anlaşılacağı gibi gliserol, filmlerin mekanik özellikleri dikkate alındığında etkili bir plastikleştiricidir. Ancak, gliserolün plastikleştirici olarak kullanımı ile filmlerin su içeriği, su buharı geçirgenliği ve suda çözünürlüğü gibi özellikleri gliserolün hidrofilik doğasından dolayı artmaktadır (Gheribi vd., 2018). Bu artışlar filmlerin ambalaj malzemesi olarak kullanımını olumsuz olarak etkileyebilmektedir. Bu sebeple alternatif plastikleştiricilerin yenilebilir film üretiminde kullanımı üzerine yoğun bir ilgi mevcuttur.

2.4.3 Plastikleştirici olarak derin ötektik sıvıların kullanımı

Gıda uygulamalarında, DÖS'ler her ne kadar biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılsa da son yıllarda DÖS'lerin yenilebilir filmlerde plastikleştirici olarak kullanımı ile ilgili araştırmalar hız kazanmış durumdadır. DÖS'lerin plastikleştirici potansiyelinin incelendiği bazı çalışmalar Çizelge 2.2'de verilmiştir. Çizelgede rapor edilen çalışmalar incelendiğinde, DÖS'lerin genellikle kitosan esaslı filmlerde plastikleştirici olarak kullanıldığı dikkat çekmektedir. Pektin filmlerin üretimi üzerine DÖS'lerin plastikleştirici olarak kullanımı ile ilgili literatürde sınırlı sayıda çalışma olduğu tespit edilmiştir (Gouveia vd., 2019; Shafie vd., 2022, 2020). Bu sebeple pektin esaslı filmlerde DÖS kullanımının etkilerinin incelenmesinin literatüre önemli katkılar sunacağı düşünülmektedir.

Çizelge 2.2. Yenilebilir filmlerde DÖS’lerin plastikleştirici olarak kullanımı

Materyal	DÖS	Önemli bulgular	Kaynak
Niğasta	- KK-okzalik asit - KK-askorbik asit - KK-gliserol	- Optik, fiziksel ve mekanik özellikler artmıştır. - %30 oranında KK-okzalik asit, %40 gliserol kullanımı ile benzer fiziksel ve mekanik özellikler sağlamıştır.	(Sousa vd., 2022)
Kitosan	- KK-gliserol - KK-asetilsalisilik asit - KK-C vitamini - KK-malonik asit - KK-sitrik asit - KK-laktik asit	- Asetilsalisilik asit ve C vitamini içeren DÖS’ler ile plastikleştirilen filmler güçlü UV koruyucu ve antioksidan özellik göstermiştir. - Asetilsalisilik asit, malonik asit ve laktik asit içeren DÖS’ler daha yüksek antibakteriyel aktivite sergilemiştir. - DÖS ilavesi ile ısıl dayanımı azalmıştır.	(Yu vd., 2023)
Kitosan	- KK-laktik asit	- KK-laktik asit içeren filmler düzgün ve pürüzsüz bir yüzey sergilemiştir. - KK-laktik asit kullanımı ile esneklik ve antioksidan kapasite artarken çekme direnci azalmıştır. - Plastikleştirici miktarı film özelliklerini etkilemiştir.	(Jakubowska vd., 2021)
Kitosan	- KK-sitrik asit	- DÖS, filmlerin esnekliğini önemli ölçüde geliştirmiştir. - DÖS kullanımı ile nem miktarı, suda çözünürlük ve su buharı geçirgenliği artmıştır.	(Song vd., 2022)
Pektin	- KK-sitrik asit	- DÖS’yi oluşturan bileşenlerin molar oranları film özelliklerini etkilemiştir. - KK miktarı arttıkça plastikleştirici özellik azalmıştır.	(Shafie vd., 2022)
Momordica charantia biyoaktif polisakkariti	- KK-gliserol	- DÖS kullanımı ile filmlerin kırılma dayanımı azalmıştır. - DÖS kullanımı ile ısıl dayanım, çekme özellikleri ve su buharı geçirgenliği değerlerinde iyileşme gözlenmiştir.	(Shafie vd., 2018)

2.4.4 Biyoaktif pektin filmler

Pektin filmlerin ambalaj malzemesi olarak kullanımında esneklik dışında diğerk bir önemli konu ise, doğal bitki ekstraktlarının pektin filmlerle birleştirilerek aktif filmlerin geliştirilmesidir. Bozulma etmeni ve patojenik mikroorganizmaların gelişmesi ile lipit oksidasyonu, gıda kalitesini ve güvenliğini olumsuz etkileyen önemli sorunlar olarak görülmektedir. Bu nedenle, aktif film ve kaplamaların hazırlanmasında biyoaktif bileşenlerce zengin bitki ekstraktlarının kullanımı oldukça popüler hale gelmiştir. Doğal polimer esaslı filmlerin üretiminde bitkisel ekstraktların kullanımı ile ilgili literatürde birçok çalışma bulunmaktadır (Smaoui vd., 2022; Yong ve Liu, 2021).

Han ve Song (2021) pektin filmlerin üretiminde %0,5, %1 ve %1,5 kivi kabuğu ekstraktı kullanmış ve filmlerin mekanik özellikleri, su buharı geçirgenliği, optik özellikleri ve mikro yapılarını incelemiştir. Araştırmacılar, %1,5 kivi kabuğu ekstraktı kullanımının lipit oksidasyonuna karşı en iyi etkiyi sağladığını rapor etmiştir. Pektin filmlerin üretiminde %0,6, %1 ve %1,4 oranlarında adaçayı ekstraktının kullanıldığı bir çalışmada ise, konsantrasyona bağlı olarak filmlerin antioksidan kapasitelerinin arttığı bildirilmiştir (Han ve Song, 2020).

Bu çalışmalar dikkate alındığında pektin filmlere ilave edilen bitkisel ekstrakt miktarı arttıkça biyoaktif özelliklerin buna bağlı olarak arttığı gözlenmektedir. Ancak, ilave edilen ekstraktın miktarına bağlı olarak filmlerin fiziksel, mekanik ve optik özellikleri gibi diğerk karakteristikleri olumsuz olarak etkilenebilmektedir. Bu sebeple uygun ekstrakt miktarının belirlenmesi ideal özellikler sergileyen filmlerin üretimi için oldukça önemlidir. Bu bağlamda, lavanta ekstraktı kullanılarak filmlerin biyoaktif, fiziksel, mekanik, optik, morfolojik ve moleküler özelliklerinde meydana gelen değişimlerinin incelendiği herhangi bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Bu sebeple, lavanta ekstraktı, antioksidan özellikli aktif pektin filmlerin geliştirilmesi için fenolik maddelerin iyi bir kaynağı olarak düşünülebilir.

Yukarıda açıklandığı gibi DÖS'ler hem ekstraksiyon çözücüsü hem de plastikleştirici olarak kullanılabilir. DÖS kullanılarak biyoaktif bileşikler elde edildikten sonra biyoaktif bileşenlerin kullanılabilmesi için ayırma ve saflaştırma işlemlerinin uygulanması gerekmektedir. DÖS'lerin düşük buhar basınçlarından dolayı, organik

çözücüler ve su gibi buharlaştırma yoluyla biyoaktif bileşiklerin elde edilmesi mümkün değildir (Ruesgas-Ramón vd., 2017). Bu sorunun hem ekstraksiyon performansları hem de plastikleştirici potansiyelleri dikkate alınarak bitkisel materyalden elde edilen DÖS ekstraktının direkt olarak film üretiminde kullanımı ile çözülebileceği düşünülmektedir. DÖS ekstraktının hem plastikleştirici hem de aktif bileşenlerin kaynağı olarak farklı filmlerin üretiminde kullanımı ile ilgili bazı çalışmalar Çizelge 2.3’de sunulmuştur. Bu çalışmalar incelendiğinde, DÖS’lerin plastikleştirici potansiyelinin yanında aktif bileşiklerin kaynağı olarak da DÖS ekstraktının kullanılabileceğini gösteren bulgular mevcuttur. Literatürde pektin filmlerin üretiminde herhangi bir bitkisel materyalden elde edilen DÖS ekstraktının kullanımı üzerine yürütülen bir çalışma bulunmamaktadır.



Çizelge 2.3. DÖS kullanılarak elde edilen bitkisel ekstraktların yenilebilir filmlerde uygulamaları

Film Materyali	Plastikleştirici	DÖS ekstraktı	Önemli bulgular	Kaynak
Kitosan	- KK-laktik asit	- Astaksantin içeren ekstrakt	- Ekstrakt filmler plastikleştirici özellik sergilemiştir. - Filmlerin antioksidan kapasitesi artmıştır.	(Chandra Roy vd., 2021)
Karragenan	- Laktik asit-glikoz - KK-gliserol - Gliserol-glikoz - Tartarik asit-glikoz	- Antosiyanin içeren ekstrakt	- DPPH antioksidan kapasitede değişim gözlenmemiştir. - ABTS antioksidan kapasite laktik asit: gliserol ekstraktı kullanıldığında en yüksek bulunmuştur. - Antibakteriyel özellikler gelişmiştir.	(Velásquez vd., 2021)
Kitosan	- KK-gliserol-laktik asit - KK-laktik asit - KK-gliserol	- Fenolik bileşiklerce zengin ekstrakt	- Fenolik ekstraktın ilavesi ile pürüzlü yüzeyler meydana gelmiştir.	(Alves vd., 2022)
Kitosan/zein	- KK-laktik asit	- Ekstraksiyon verimi en yüksek ekstrakt	- Filmlere eklenen DÖS ekstraktı miktarı mekanik özellikler üzerinde etkili olmuştur. - DÖS ekstraktı miktarına bağlı olarak antioksidan kapasite artmıştır.	(Zhao vd., 2022)
Kitosan	- KK-gliserol	- Fenolik bileşiklerce zengin ekstrakt	- DÖS ekstraktı kullanımı ile filmlerin parlaklıkları azalmıştır ancak saf DÖS kullanımı ile filmlerin parlaklık değerleri değişmemiştir.	(Kyriakidou vd., 2021)
Kitosan	- KK-etilen glikol	- Betain içeren ekstrakt	- DPPH ve ABTS antioksidan kapasitelerde gelişme gözlenmemiştir. - DÖS ekstraktı plastikleştirici özellik sergilemiştir.	(Prajapati ve Jadeja, 2023)

2.5 Aktif film ve kaplamaların gıdaların muhafazasında uygulamaları

Yenilebilir kaplamalar ve filmler, yenilebilir ve insanlar için toksik olmadığı bilinen bileşenlerden oluşan ambalaj materyalleri olarak tanımlanmaktadır. Yenilebilir kaplamalar gıdaya sıvı formda uygulanırken, yenilebilir filmler katı tabakalar halinde üretilerek gıda ürünlerinin ambalajlanmasında kullanılmaktadır. Yenilebilir filmler ve kaplamalar, gıdaların gaz ve nem kaybını önlemek, mekanik özelliklerini korumak, duyuşal özelliklerini geliştirmek, mikrobiyal güvenliğini sağlamak ve ürünlerinin raf ömrünü uzatmak için kullanılmaktadır (Falguera vd., 2011; Galus ve Kadzińska, 2015).

Yenilebilir kaplamalar doğrudan meyve, sebze, et ürünleri ve diğer gıda ürünlerinin yüzeyine uygulanabilmektedir. Yenilebilir kaplamaların uygulanmasında farklı teknikler kullanılsa da daldırma ve püskürtme yöntemleri en yaygın kullanılan tekniklerdir. Kaplama yönteminin seçimi, gıda ürününün yüzey özellikleri ve kaplama katmanının amacı gibi çeşitli faktörler dikkate alınarak gerçekleştirilmektedir. Kaplama oluşumunda öncelikle kaplama materyalinin gıda yüzeyine yayılması gerçekleşmekte ve daha sonra kaplama malzemesi ile gıda yüzeyi arasında yapışma meydana gelmesi sağlanmaktadır (Kumar vd., 2021). Kaplama işlemi sonucunda gıda yüzeyinde bariyer özelliği gösteren ince bir tabaka meydana gelmektedir.

Yenilebilir kaplamalar kullanılarak çeşitli gıdalarda kimyasal ve mikrobiyolojik bozulmaların kontrol edilmesi ile gıdaların raf ömrünün uzadığı birçok çalışmada rapor edilmiştir (Aayush vd., 2022; Mahdavi vd., 2018; Noshad vd., 2021; Soares vd., 2021; Zhao vd., 2022). Hem mikrobiyolojik hem de kimyasal bozulmalara hassas olan taze etin ve et ürünlerinin muhafazasında yenilebilir kaplama uygulamasının istenmeyen renk oluşumunu önlediği, mikrobiyal gelişimi ve lipit oksidasyonunu inhibe ettiği bilinmektedir. Ayrıca fenolik bileşikler içeren doğal ekstraktların ve uçucu yağların kaplama maddelerine ilavesi ile kaplama materyallerinin gıdaların bozulmalarına karşı gösterdiği koruyucu özelliklerin geliştiği ortaya konulmuştur (Mahdavi vd., 2018; Şen ve Kılıç, 2021).

Günümüzde tüketici talepleri doğrultusunda et ürünlerinden yüksek oranda doymuş yağ asidi içeren hayvansal yağın doymamış yağ asitleri bakımından zengin bitkisel yağlar ile ikame edilmesi oldukça önemli bir konu olmuştur. Aşırı hayvansal yağ tüketimi,

kardiyovasküler hastalıklar gibi çeşitli sağlık sorunlarıyla ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle tüketiciler hayvansal yağ tüketiminden kaynaklanan sağlık riskleri konusunda giderek daha fazla endişe duymaya başlamışlardır. Bu durum, et ürünlerine daha sağlıklı yağların eklenmesine yönelik artan bir talebe sebep olmuştur. Bu nedenle mevcut araştırma eğilimi, et ürünlerinde hayvansal yağın yerine daha sağlıklı bitkisel yağların kullanılması yönündedir (Alasalvar vd., 2022).

Et ürünlerinde, bitkisel yağlar direkt olarak hayvansal yağ ile ikame edildiğinde ürünlerin besinsel özellikleri gelişse de yapısal özelliklerinde istenmeyen teknolojik sorunlar meydana gelebilmektedir. Bu sebeple bitkisel yağların katı özellikteki hayvansal yağa benzer nitelikler sergilemesi için farklı yapılandırma teknikleri kullanılmaktadır. Bitkisel yağlardan elde edilen emülsiyon jeller ve oleojeller bu amaçla yaygın olarak kullanılan teknikler olarak dikkat çekmektedir (Guo vd., 2023). Ancak yapılandırılmış formda dahi doymamış yağ asitleri lipit oksidasyonuna oldukça hassastırlar ve hayvansal yağ içeren et ürünleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek oksidasyona sebep olabilmektedirler (Guo vd., 2023; Moghtadaei vd., 2021; Vargas-Ramella vd., 2020). Bu soruna bir çözüm olarak bu çalışmada, daha önceki aşamalarda üretilen antioksidan özellikler sergileyen pektin esaslı film çözeltileri, yağ kaynağı olarak fındık yağı içeren pişmiş köfte örneklerinde kaplama çözeltisi olarak kullanılmış ve köfte örneklerinin oksidasyon düzeylerinde meydana gelen değişimler depolama süresince izlenmiştir.

BÖLÜM III

MATERYAL VE METOT

3.1 Materyaller

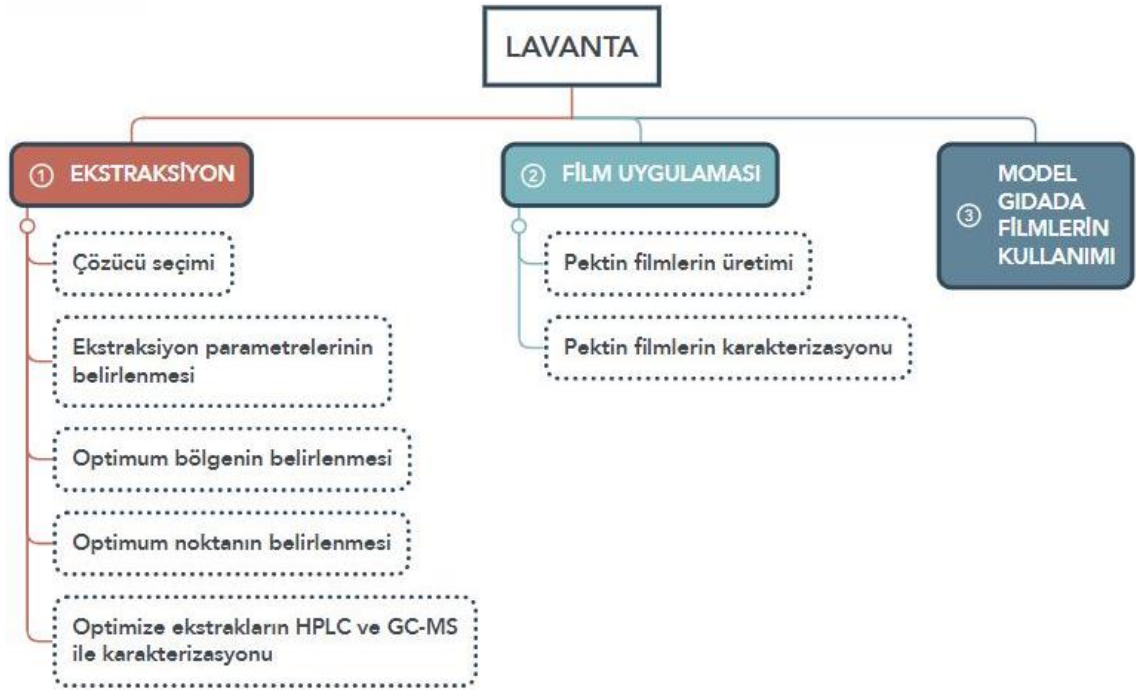
Lavanta bitkisi, Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Tarım Bilimleri ve Teknolojileri Fakültesi Araştırma ve Uygulama Alanı'ndan 2020 yılı hasat sezonunda toplanmıştır. Bu tez çalışmasında lavanta bitkisinin sap ve yaprakları ayırdıktan sonra elde edilen çiçekler materyal olarak kullanılmıştır. Taze hasat edilen çiçekler, güneş ışığı ile temas olmaksızın oda sıcaklığında (~25°C) sabit ağırlığa gelene kadar kurutulmuştur. Kurutulmuş çiçekler, analiz öncesinde tanecik boyutunu küçültmek için kahve değirmeni kullanılarak öğütülmüştür. Ardından elde edilen tanecikler 212 µm çapında gözenekli elekten geçirilmiş ve elek altında kalan kısım çalışmada kullanılmıştır. Ayrıca filmlerin üretiminde kullanılan yüksek metoksilli ticari elma pektini (esterleşme derecesi = %66,58-68,52) Tito, Smart Kimya Tic. ve Dan. Ltd. Şti. (İzmir, Türkiye)'den satın alınmıştır.

3.1.1 Kimyasallar

Kolin klorit (KK, Acros Organics, Belçika), gliserol (Tekkim, Türkiye), sitrik asit monohidrat (Isolab, Almanya), (S)-laktik asit (Merck, Almanya), asetik asit (Sigma-Aldrich, ABD), oksalik asit (Tekkim, Türkiye), L-(+)-tartarik asit (Merck, Almanya), D-(+)-ksiloz (Fluka, Almanya), D-(-)-früktöz (Merck, Almanya) ve D-(+)-glikoz (Sigma, ABD) DÖS'leri hazırlamak için kullanılmıştır. Gallik asit, 6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilroman-2-karboksilik asit (Trolox), 2,2-azinobis-(3-etil-benzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS), 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), etanol, neokuproin, kemferol, klorojenik asit, sirinik asit, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve kersetin Sigma-Aldrich (ABD)'ten; rutin ve ferulik asit sırasıyla Selleckchem (ABD) ve Fluka (Almanya)'dan; katesin ve rosmarinik asit Extrasynthese (Fransa)'den temin edilmiştir. Diğer tüm kimyasallar, reaktifler ve çözücüler analitik derecelidir ve Merck (Almanya)'ten satın alınmıştır.

3.2 Metotlar

Bu tez çalışması kapsamında yürütülen çalışmalar Şekil 3.1’de verilmiştir. Buna göre çalışma (1) lavantadan biyoaktif bileşenlerin DÖS’ler ile ekstraksiyonu, (2) DÖS, DÖS ekstraktı ve su kullanılarak elde edilen lavanta ekstraktların farklı oranlarda (%0,5, %1 ve %2) ilavesi ile pektin filmlerin üretimi ve (3) üretilen filmlerin gıda uygulamasında kullanımı basamaklarından oluşmaktadır.



Şekil 3.1. Tez kapsamında yürütülen çalışmaların akış şeması

3.2.1 Lavantadan antioksidan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

3.2.1.1 Derin ötektik sıvıların hazırlanması

Çalışmada kullanılan DÖS bileşenleri Çizelge 3.1’de sunulmuştur. HBA’lar ve HBV’ler kullanımdan önce 24 saat boyunca 45°C’de kurutulmuştur. DÖS’ler (DÖS #5 hariç) dondurarak kurutma yöntemine göre hazırlanmıştır (Nam vd., 2015). DÖS bileşenleri Çizelge 3.1’de belirtildiği gibi uygun mol oranlarında tartılmışlardır. Karışım, homojen bir sıvı elde etmek için sürekli karıştırma altında minimum miktarda suyla çözülmüş, ardından -80°C’de 2 saat süreyle dondurulmuşlardır. Kurutma sonrasında DÖS #5’in katı

halde kaldığı ve ötektik sıvı oluşturmadığı gözlenmiştir. Bu durum asetik asidin uçuculuğu ile ilişkilendirilmiştir. Bu sebeple, DÖS #5 berrak bir sıvı oluşana kadar 70°C’de ısıtılıp karıştırılarak hazırlanmıştır (Dai vd., 2015). Hazırlanan DÖS’ler daha sonra nem emilimini önlemek için bir desikatörde muhafaza edilmiştir.

Çizelge 3.1. Derin ötektik sıvıların bileşenleri ve mol oranları

	Hidrojen bağı alıcı	Hidrojen bağı verici	Mol oranı
1	Sitrik asit	Gliserol	1:4
2	Laktik asit	Glikoz	5:1
3	Glikoz	Sitrik asit	1:1
4	Früktoz	Sitrik asit	1:1
5	Kolin klorit	Asetik asit	1:1
6	Kolin klorit	Gliserol	1:2
7	Kolin klorit	Gliserol	1:3
8	Kolin klorit	Gliserol	1:4
9	Kolin klorit	Sitrik asit	1:2
10	Kolin klorit	Sitrik asit	2:1
11	Kolin klorit	Sitrik asit	1:1
12	Kolin klorit	Laktik asit	1:2
13	Kolin klorit	Laktik asit	1:3
14	Kolin klorit	Oksalik asit	1:1
15	Kolin klorit	Tartarik asit	2:1
16	Kolin klorit	Ksiloz	2:1
17	Kolin klorit	Glikoz	5:2
18	Kolin klorit	Früktoz	5:2

3.2.1.2 Lavantadan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu

3.2.1.2.1 Çözücü seçimi

Çözücülerin ekstraksiyon verimliliklerinin ilk incelenmesinde, lavanta örnekleri (100 mg) seçilen çözücülerle (1 mL) karıştırılmıştır. Diğer parametreler, tek faktör deneme tasarımı yaklaşımına uygun olarak sabit tutulmuştur. Buna göre fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, 40°C’de 30 dakika boyunca %20 ultrases genliğinde (425 W, WiseClean WUC-D06H, Daihan, Gangwon-Do, Güney Kore) gerçekleştirilmiştir. DÖS’nin su içeriği de viskoziteyi azaltmak ve ekstraksiyon verimini artırmak için %30 (v/v) olarak ayarlanmıştır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra 10 000 g kuvvetinde 10 dakika süreyle santrifüj işlemi (Smart 15, Hanil, Kore) uygulanmış ve üst faz analizlerde kullanmak için ayrılmıştır. Elde edilen ekstraktlar karanlıkta +4°C’de muhafaza edilmiştir.

3.2.1.2.2 Kısmi faktöriyel deneme tasarımı (FFD)

Fenolik maddelerin ekstraksiyonu üzerine bağımsız değişkenlerin etkilerini değerlendirmek için kısmi faktöriyel deneme tasarımı (2^{5-1}) kullanılmıştır. Çizelge 3.2’de gösterildiği gibi ultrases genliği, sıcaklık, süre, sıvı/katı oranı ve DÖS’deki su miktarı gibi beş bağımsız değişken düşük düzeyde (-1) ve yüksek düzeyde (+1) taranmıştır. Kısmi faktöriyel deneme tasarımı 16 deneme noktasından meydana gelmiştir.

Çizelge 3.2. Faktöriyel kesirli denemede kullanılan bağımsız değişkenlerin deneysel değerleri ve kodlanmış seviyeleri

Bağımsız değişkenler	Semboller	Birimler	Kodlanmış seviyeler	
			-1	+1
Ultrases genliği	A	%	20	100
Sıcaklık	B	°C	40	70
Süre	C	Dakika	5	30
Sıvı/katı oranı	D	mL/g	10	50
DÖS’deki su miktarı	E	%	10	50

3.2.1.2.3 En dik artış/azalış yöntemi

Ekstraksiyonda optimum bölgeye ulaşmak için en dik artış/azalış yöntemi kullanılmıştır. Deneyler, kısmi faktöriyel deneme tasarımından elde edilen modele göre gerçekleştirilmiştir. Öte yandan istatistiksel olarak önemsiz değişkenler ilgili değişkenlerin merkez noktalarında sabitlenmiştir. Kısmi faktöriyel deneme tasarımından seçilen üç bağımsız değişken, TPC değerinde daha fazla artış olmadığı noktaya kadar başlangıç merkez noktalarından giderek azaltılmış veya artırılmıştır. Optimum bölgelerin düşük ve yüksek düzeyleri daha ileri optimizasyon işlemleri için kullanılmıştır.

3.2.1.2.4 Merkezi tümleşik dönebilen deneme tasarım

Lavantadan antioksidan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda optimum ekstraksiyon noktasını belirlemek için üç faktör ve beş seviye içeren merkezi tümleşik döndürülebilir deneme tasarımı (CCRD) kullanılmıştır. Deneysel tasarım 20 deneme noktasından oluşmuştur. Bağımsız değişkenler ve aralıkları sırasıyla FFD ve en dik yükselme/iniş yöntemlerine dayanmaktadır. Sonuçlara göre, sıcaklık, sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarı, Çizelge 3.3'de verildiği gibi beş kodlu düzeyde (-1,68, -1, 0, 1, +1,68) değerlendirilmiştir.

Çizelge 3.3. Merkezi bileşik dönebilen tasarımda kullanılan bağımsız değişkenlerin deneysel değerleri ve kodlanmış seviyeleri

Bağımsız değişkenler	Semboller	Birimler	Kodlanmış seviyeler				
			-1,68	-1	0	+1	+1,68
Sıcaklık	B	°C	46,6	50	55	60	63,4
Sıvı/katı oranı	D	mL/g	22,4	25,5	30	34,5	37,6
DÖS'deki su miktarı	E	%	24,1	26,5	30	33,5	35,9

3.2.1.2.5 Klasik metanol ekstraksiyonu

Ultrases destekli DÖS ekstraksiyon etkinliğini değerlendirmek için lavanta çiçeklerinden antioksidan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda geleneksel ekstraksiyon tekniği olarak maserasyon yöntemi seçilmiştir. Maserasyon tekniğinde lavanta çiçekleri (1 g) oda

sıcaklığında 30 mL mutlak metanol ile 24 saat boyunca 80 rpm'de su banyosu (BS-21, Hanil, Kore) kullanılarak çalkalanmıştır. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra 5000 g'de 10 dakika süreyle santrifüj işlemi (NF 800R, Nüve, Ankara, Türkiye) uygulanmış ve üst faz analizlerde kullanmak için ayrılmıştır. Elde edilen metanolik ekstrakt karanlıkta +4°C'de karanlıkta muhafaza edilmiştir.

3.2.1.3 Toplam fenolik madde miktarı

Toplam fenolik madde miktarı (TPC) Ozturk vd. (2018) tarafından açıklanan yöntem kullanılarak ölçülmüştür. Kısaca, 40 µL ekstrakt, 1,56 mL distile su ve 100 µL Folin-Ciocalteu reaktifi 1 dakika boyunca vorteks ile karıştırılmıştır. Ardından taze hazırlanmış %20 (w/v) Na₂CO₃ çözeltisinden 300 µL eklenmiş ve karışım karanlıkta 60 dakika boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Absorbans değeri 750 nm dalga boyunda UV-VIS spektrofotometre (Evolution 300, Thermo Scientific, Waltham, ABD) kullanılarak ölçülmüştür. TPC değerleri, $y = 0,019x + 0,0191$ ($R^2=0,9987$) denklemi kullanılarak gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g) olarak ifade edilmiştir.

3.2.1.4 Toplam flavonoid madde miktarı

Toplam flavonoid madde miktarı (TFC), Meyers vd. (2003) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak belirlenmiştir. Kısaca, 250 µL ekstrakt, 1250 µL distile su ve 75 µL %5 (w/v) NaNO₂ karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 6 dakika bekletildikten sonra 150 µL %10 (w/v) AlCl₃ eklenmiş ve 5 dakika daha inkübe edilmiştir. Bu işlemi takiben 0,5 mL 1 M NaOH eklenmiş ve saf su eklenerek karışım hacmi 2,5 mL'ye tamamlanmıştır. Absorbans değerleri 510 nm dalga boyunda kaydedilmiştir. TFC değerleri, $y = 0,028x - 0,0051$ ($R^2=0,9999$) denklemi kullanılarak kateşin eşdeğeri (mg KE/g) olarak ifade edilmiştir.

3.2.1.5 Antioksidan kapasite analizleri

Lavanta ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini belirlemek için üç farklı metot kullanılmıştır.

3.2.1.5.1 DPPH antioksidan kapasite

DPPH yöntemi ile antioksidan kapasite analizi Görgüç vd. (2019) tarafından belirtilen yöntemle göre gerçekleştirilmiştir. Kısaca, 2,9 mL etanolde çözülmüş 0,1 mM DPPH radikal çözeltisi ve 0,1 mL ekstrakt karıştırılarak oda sıcaklığında karanlıkta 30 dakika boyunca bekletilmiş ve absorbans değeri 517 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar, $y = -0,0016x + 1,2599$ ($R^2=0,9989$) denklemi kullanılarak troloks eşdeğeri (mg TE/g) olarak ifade edilmiştir.

3.2.1.5.2 ABTS antioksidan kapasite

ABTS yöntemiyle antioksidan kapasite analizi Re vd. (1999)'ın metoduna göre gerçekleştirilmiştir. 7 mM ABTS çözeltisi ile 2,45 mM potasyum persülfat arasındaki reaksiyonla bir radikal çözeltisi hazırlanmıştır. Bu karışım oda sıcaklığında karanlıkta 12-16 saat boyunca inkübe edilmiştir. Analize başlamadan önce, stok çözelti fosfat tampon (pH 7,4) çözeltisi ile seyreltilmiş ve 734 nm dalga boyunda 0,700 ($\pm 0,02$) absorbans elde edilmiştir. Ardından 20 μ L ekstrakt, ABTS radikal çözeltisi içeren küvete (1,98 mL) eklenmiş ve 6 dakika inkübasyondan sonra absorbans değeri ölçülmüştür. Sonuçlar, $y = 138,67x + 2,403$ ($R^2=0,9999$) denklemi kullanılarak troloks eşdeğeri (mg TE/g) olarak ifade edilmiştir.

3.2.1.5.3 CUPRAC

Bakır (II) iyonu indirgeme yöntemiyle antioksidan kapasite (CUPRAC) analizi, Apak vd. (2008) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz için 1 mL 10 mM CuCl_2 , 1 mL 7,5 mM neokuproin ve 1 mL 1 M NH_4Ac tamponu (pH 7,0) karıştırılmıştır. Hazırlanan karışıma 0,1 mL ekstrakt eklenerek hacim saf su ile 4,1 mL'ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildikten sonra, absorbans değeri 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Sonuçlar, troloks eşdeğeri (mg TE/g) olarak ifade edilmiştir. TE antioksidan kapasitenin hesaplanması için aşağıdaki denklem (3.1) kullanılmıştır.

$$y \left(\text{mmol} \frac{\text{TE}}{\text{g}} \right) = \frac{A}{\epsilon} * \frac{V_t}{V_s} * SF * \frac{V_e}{m} \quad (3.1)$$

A= Absorbans

ϵ =Troloks bileşiğinin molar absorplama katsayısı (16700 L mol⁻¹ cm⁻¹)

V_t =Solüsyonun toplam hacmi (4,1 mL)

V_s =Örnek hacmi (mL)

SF =Seyreltme faktörü

V_e =Ekstraktın hacmi (mL)

m =Analizde kullanılan örnek miktarı (g)

3.2.1.6 Bireysel fenolik bileşiklerin belirlenmesi

DÖS ekstraktından fenolik bileşiklerin geri kazanımı aprotik bir çözücü olan etil asetatın kullanımı ile sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Pal ve Jadeja, 2019). DÖS ekstraktı ve etil asetat 1:3 (v/v) oranında bir ayırma hunisine yerleştirilmiştir. Karıştırma ve belirli bir süre beklemenin ardından, ayırma hunisinde faz ayrımı gerçekleşmiş ve iki farklı faz oluşmuştur. Bunlardan üstteki faz etil asetat ve fenolik bileşikler iken, alttaki faz ise DÖS olmuştur. Fenolik bileşikler, aynı etil asetat miktarı kullanılarak kalan DÖS'den üç kere ekstrakte edilmiştir. Sodyum sülfat ile dehidrasyon gerçekleştirildikten sonra, etil asetat döner buharlaştırıcı (Heidolph, Almanya) kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Kalan fenolik bileşikler 10 mL %70 etanol ile çözülmüş ve ardından 0,45 µm gözenek boyutlu membran filtre ile filtrelenmiştir.

Ekstraksiyon sonrasında fenolik bileşikler, yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) sistemi (Shimadzu, Kyoto, Japonya) kullanılarak tanımlanmış ve miktarları ölçülmüştür. Örnekler HPLC cihazına 50 µL hacminde enjekte edilmiştir. Fenolik bileşiklerin ayrılması, Brisa LC2 C18 kolon (150 mm×4,6 mm, 5 µm, Teknokroma, Barselona, İspanya) kullanılarak 25°C'de gerçekleştirilmiştir. Mobil faz olarak %0,5 asetik asitli su (v/v, A) ve %100 asetonitril (B) kullanılarak 0,8 mL/dakika akış sabit hızında Çizelge 3.4'de belirtilen şekilde dereceli elüsyon uygulanmıştır. Fenolik bileşiklerin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyları standartlar kullanılarak belirlenmiştir. Buna göre dalga boyları gallik-sirinjik asit (270 nm), ferulik-kafeik asit (320 nm), klorojenik-rosmarinik asit (330 nm), *p*-kumarik asit (309 nm), kateşin (280 nm), kersetin-kemferol (370 nm) ve rutin (260 nm) şeklinde belirlenmiştir. Fenolik bileşikler, standartların spektrumları ve alıkonma zamanına göre tanımlanmıştır. Fenolik bileşiklerin miktarları dış standart yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

Çizelge 3.4. Fenolik bileşiklerin analizinde uygulanan dereceli elüsyon programı

Çözücü A (%0,5 asetik asitli saf su)	Çözücü B (Asetonitril)	Süre (Dakika)
%86	%14	0-6
%86'dan %75'e	%14'den %25'e	6-30
%75'den %50'e	%25'den %50'ye	30-40
%50'den %86'a	%50'den %14'e	40-42
%86	%14	42-48

3.2.1.7 Uçucu bileşenlerin belirlenmesi

DÖS ekstraktlarından uçucu bileşiklerin geri kazanımı diklorometan kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir (Vasileva vd., 2018). DÖS ekstraktı ve diklorometan 1:1 (v/v) oranında 50 mL hacimli bir erlene konulmuştur. Karışım, azot gazı altında 4°C'de 60 dakika boyunca karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi tamamlandıktan sonra iki farklı faz meydana gelmiştir. Alt (diklorometan) fazdan 0,5 mL örnek alınmıştır.

Uçucu bileşiklerin ayrımı ve tanımlanması kütle spektrometre dedektörü ile kombine edilmiş gaz kromatografisi cihazı (GC-MS, QP2010 Ultra, Shimadzu) ve Rxi 5 MS kapiler kolon (30 m × 0,25 mm ID, 0,25 µm, Restek, Bellefonte, PA, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fırın sıcaklığı başlangıçta 40°C'de 1 dakika tutulmuş, ardından 5°C/dakika artırılarak 300°C'ye yükseltilmiş ve son olarak 300°C'de 10 dakika bekletilmiştir. Enjektör, dedektör ve iyon kaynağı sıcaklıkları 250°C olarak ayarlanmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum 1 mL/dakika akış hızıyla kullanılmıştır. Bileşikler, alıkonma indisleri ve kütle spektrumlarına göre farklı kütüphaneler (W9N11, FFNSC1.2 ve DD2012) ve GC-MS verileri ile eşleştirilerek tanımlanmıştır.

3.2.2 Pektin filmlerin üretimi ve karakterizasyonu

3.2.2.1 Lavantadan fenolik bileşiklerin su ile ekstraksiyonu

Pektin filmlerin üretiminde aktif bileşen olarak lavantanın su ile elde edilen ekstraktlarının hazırlanmasında, DÖS kullanılarak elde edilen optimum ekstraksiyon koşulları kullanılmış ve elde edilen ekstraktlar dondurarak kurutma işlemine tabi tutularak toz forma dönüştürülmüştür.

3.2.2.2 Filmlerin üretimi

Film çözeltileri, 2,00 g pektinin 100 mL su içinde çözündürülmesi ile hazırlanmıştır. Pektinin çözünmesini sağlamak için karışım gece boyunca oda sıcaklığında (~25°C) 600 rpm hızında karıştırılmıştır. Plastikleştirici olarak gliserol, DÖS ve DÖS ekstraktı ağırlıkça pektinin %30'u oranında çözeltilere ilave edilmiştir. Liyofilize ekstrakt ile aktifleştirilen filmlerin üretiminde ise, ekstrakt 20 dakika boyunca karıştırılarak (600 rpm) pektin çözeltinin hacimce %0,5, %1 ve %2 konsantrasyonlarında ilave edilmiştir. Liyofilize ekstrakt içeren çözeltilere plastikleştirici olarak DÖS yine pektinin ağırlıkça %30'u oranında eklenmiştir. Kontrol film (Pek) formülasyonu ekstrakt veya plastikleştirici eklenmeden hazırlanmıştır. Üretilen diğer filmler, plastikleştirici türüne bağlı olarak Pek-Gliserol, Pek-DÖS ve Pek-DÖS ekstraktı; liyofilize ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak ise Pek-DÖS-%0,5, Pek-DÖS-%1 ve Pek-DÖS-%2 olarak adlandırılmıştır. Başlangıç kalınlığını kontrol etmek için her film çözeltisinden 40 mL alınarak petri kaplarına (120 mm x 120 mm) dökülmüştür. Analizlerden önce petri kapları 25°C sıcaklıkta %50 nemli ortamda en az 72 saat süreyle kurumaya bırakılmıştır.

3.2.2.3 Kalınlık

Filmlerin kalınlıkları 0,001 mm hassasiyete sahip bir dijital mikrometre (Dasqua, İtalya) kullanılarak en az yedi noktadan ölçüm alınarak belirlenmiştir. Ortalama değerler filmlerin mekanik, optik ve geçirgenlik özelliklerinin hesaplanmasında kullanılmıştır.

3.2.2.4 Nem miktarı

Filmlerin nem içeriği 105°C sıcaklıkta etüv kullanılarak gravimetrik olarak belirlenmiştir. Filmlerin başlangıç ağırlığı (M_0) ölçülmüş ve kurutma işleminden sonra film ağırlığı (M_1) kaydedilmiştir. Bu değerler (M_0 ve M_1) kullanılarak filmlerin nem içerikleri aşağıda verilen denklem 3.2 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Nem miktarı (\%)} = \frac{M_0 - M_1}{M_0} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.2.5 Mekanik özellikleri

Çekme direnci, kopma anındaki uzama ve young modulus değerleri tekstür analiz cihazı (TA-XT2i, Stable Micro Systems, Surrey, İngiltere) kullanılarak D882-10 standart yöntemine göre tensile grip aparatlarıyla ölçülmüştür (ASTM, 2010). Filmler, bir bisturi kullanılarak 10 mm × 80 mm boyutlarında dikdörtgen örnekler halinde kesilmiştir. Tekstür analiz cihazı, başlangıç mesafesi 60 mm ve çekme hızı 0,1 mm/s değerlerinde çalıştırılmıştır. Young modulus değeri, gerilme-deformasyon eğrisinin doğrusal eğimi kullanılarak belirlenmiştir. Çekme direnci değeri, maksimum kuvvetin (F_{\max}) başlangıç kesit alanına (A) bölünmesiyle aşağıdaki denklem 3.3'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Çekme direnci (MPa)} = \frac{F_{\max} (N)}{A (mm^2)} \quad (3.3)$$

Ayrıca, kopma anındaki uzama değeri denklem 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\text{Kopma anındaki uzama (\%)} = \frac{\Delta L}{L_0} \times 100 \quad (3.4)$$

ΔL (mm) ve L_0 (mm) sırasıyla filmin uzunluğundaki değişimi ve filmin başlangıç uzunluğunu ifade etmektedir.

3.2.2.6 Optik özellikler

Film örneklerinin rengi, renk tayin cihazı (CR-400, Konica, Minolta, Japonya) kullanılarak CIELAB renk parametreleri L^* (parlaklık), a^* (kırmızılık-yeşillik) ve b^* (sarılık-mavilik) ölçülerek belirlenmiştir. Ölçümlerden önce renk tayin cihazı beyaz kalibrasyon plakası ile standardize edilmiştir. Toplam renk farkı (ΔE), beyazlık indeksi ve sarılık indeksi aşağıdaki denklemler (3.5, 3.6 ve 3.7) kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\Delta E = \sqrt{(L_{std}^* - L^*)^2 + (a_{std}^* - a^*)^2 + (b_{std}^* - b^*)^2} \quad (3.5)$$

$$WI = 100 - \sqrt{(100 - L^*) + a^{*2} + b^{*2}} \quad (3.6)$$

$$YI = \frac{142,86b^*}{L^*} \quad (3.7)$$

L_{std}^* , a_{std}^* ve b_{std}^* : Standart beyaz kalibrasyon plakasının değerlerini temsil etmektedir.

L^* , a^* ve b^* : Film örneklerinin renk değerlerini ifade etmektedir.

Opaklık değerlerinin değerlendirilmesi için filmlerin absorbans değerleri, referans olarak boş bir kuvars küvet kullanılarak spektrofotometre ile 600 nm dalga boyunda kaydedilmiştir. Opaklık değerleri aşağıda verilen denklem (3.8) yoluyla hesaplanmıştır.

$$Opaklık = \frac{Abs_{600nm}}{Kalınlık (mm)} \quad (3.8)$$

3.2.2.7 Su buharı geçirgenliği

Pektin filmlerinin su buharı geçirgenliği (WVP) E 96-95 standart metoduna göre su yöntemiyle gravimetrik olarak ölçülmüştür (ASTM, 1995). Filmlerin daire şeklindeki parçaları (alan=0,016 m²), saf suyla dolu test kaplarına mühürlenerek %100 neme ulaşılmıştır. Test kapları, sıcaklık ve nem kontrollü test dolabı (TK 120, Nüve, Ankara, Türkiye) içinde 25°C ve %50 bağıl nemli ortama yerleştirilmiştir. Test kapları belirli sürelerde (1, 2, 3, 4, 5, 6, 12, 18, 24, 30, 36 ve 48 saat) tartılmıştır. Test kaplarının ağırlık kaybı sürenin fonksiyonu olacak şekilde grafik halinde çizilmiştir. Eğrilerin eğimi doğrusal regresyon yöntemiyle hesaplanmıştır. Su buharı geçiş hızı (g s⁻¹ m⁻²) aşağıda verilen denklem (3.9) doğrultusunda belirlenmiştir.

$$\text{Su buharı geçiş hızı} = \frac{\text{Ağırlık kaybı vs zaman grafiğinin eğimi}}{\text{Film alanı}} \quad (3.9)$$

Su buharı geçirgenliği ($\text{g s}^{-1} \text{ m}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$) ise aşağıda sunulan denklem (3.10) kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\text{Su buharı geçirgenliği} = \frac{\text{Su buharı geçiş hızı} \times l}{S \times (RH_1 - RH_2)} \quad (3.10)$$

l : Film kalınlığının ortalamasını (m), S : 25°C’de doymuş buhar basıncını, RH_1 : Test kaplarının bağıl nemini (%100), RH_2 : İklımlendirme kabınının bağıl nemini (%50) ifade etmektedir.

3.2.2.8 Taramalı elektron mikroskopu

Film rneklerinin yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskopu (Zeiss Sigma 300 Field Emission SEM, Oberkochen, Almanya) kullanılarak analiz edilmiştir. Analizden önce, filmler 48 saat boyunca dondurularak kurutulmuş ve daha sonra iletken hale getirmek için ince bir altın tabakası ile kaplanmıştır. Görüntüler, 10.000 V voltaj ve 5.000 veya 10.000 \times büyütme seviyelerinde kaydedilmiştir.

3.2.2.9 Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi

Film rneklerinin kimyasal yapıları 4 cm^{-1} znrlğnde FTIR spektrometresi (Vertex 70, Bruker Optics, Almanya) kullanılarak analiz edilmiştir. FTIR spektrumları, 4000-500 cm^{-1} dalga sayısı aralığında kaydedilmiştir.

3.2.2.10 X-ışını kırınım deseni

Film yapılarının yapısal değişiklikleri X-ışını difraktometresi (PANalytical Empyrean, Hollanda) kullanılarak incelenmiştir. Bu analizde Cu K α ışın kaynağıyla çalışılmış ve 2 θ = 10°-40° arasında 40 kV ve 40 mA’de ölçümler gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.11 Termogravimetrik analiz (TGA)

Film örneklerinin termal dayanımını incelemek için termogravimetrik analiz cihazı (STA TG-DSC/DTA PT1600, Linseis, Almanya) kullanılmıştır. Örnekler azot atmosferi altında sabit bir sıcaklık artış hızı (10°C/dakika) ile 25°C'den 600°C'ye kadar ısıtılmıştır. Kütle kaybı ve sıcaklık eğrilerinin 1. dereceden türevi alınarak elde edilen differansiyel TGA (DTGA) eğrileri kullanılarak kütle kaybının en yüksek olduğu sıcaklık değerleri belirlenmiştir.

3.2.2.12 Antioksidan kapasite

3.2.2.12.1 Filmlerden antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu

Film örneği çözeltilisini hazırlamak için film örnekleri (100 mg) 10 mL saf su ile bir deney tüpünde karıştırılmış ve 25°C'de 2 saat boyunca su banyosunda ekstrakte edilmiştir. 3000 g hızında 10 dakika boyunca santrifüjleme yapıldıktan sonra üst faz antioksidan kapasite analizleri için kullanılmıştır.

3.2.2.12.2 DPPH antioksidan kapasite

DPPH testinde, her bir film çözeltilisinden 10 µL alınarak 2,9 mL 0,1 mM etanolik DPPH çözeltilisi ile karıştırılmış ve 10 saniye boyunca çalkalanmıştır. Ardından, bu karışım oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, karışım 3000×g hızında 10 dakika süreyle santrifüjlenmiş ve üst faz analiz için kullanılmıştır. Absorbans değerleri 517 nm dalga boyunda kaydedilmiştir. Sonuçlar Trolox eşdeğer olarak (mg TE/g) ifade edilmiştir.

3.2.2.12.3 ABTS antioksidan kapasite

ABTS testi için 2,45 mM potasyum persülfat içeren 7 mM ABTS radikal çözeltilisi hazırlanmış ve karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 12-16 saat boyunca inkübe edilmiştir. Ardından, bu çözelti fosfat tamponu (pH 7,4) ile seyreltilmiş ve 734 nm dalga boyunda absorbans değeri 0,700 (±0,02) olacak şekilde ayarlanmıştır. Küvet içerisinde 20 µL ekstrakt ve 1,98 mL ABTS radikal çözeltilisi karıştırıldıktan sonra karanlık bir

ortamda oda sıcaklığında 6 dakika boyunca inkübe edilmiş ve çözeltinin absorbanans değeri 734 nm dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Analiz sonuçları Trolox eşdeğeri olarak (mg TE/g) ifade edilmiştir.

3.2.3 Pişmiş köfte örneklerinde yenilebilir kaplama olarak pektin filmlerin kullanımı

3.2.3.1 Oleojel üretimi

Oleojel, %90 (w/w) oranında fındık yağı (Altaş, Ordu, Türkiye) ve %10 (w/w) oranında sodyum stearol laktatın (Aspek, İstanbul, Türkiye) 80°C’de manyetik karıştırıcı (TA Instruments, New Castle, ABD) ile tozun yağda tamamen erimesi sağlanacak şekilde karıştırılması ve ısıtılması ile hazırlanmıştır. Daha sonra karışımlar 20°C’de 24 saat süreyle soğutulmuş ve aynı koşullarda depolanmıştır. Oleojelasyon işleminden önce ve sonra fındık yağının Alasalvar vd. (2022) tarafından önerilen yöntemle göre belirlenen majör yağ asitleri kompozisyonları Çizelge 3.5’te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Fındık yağının ve oleojelin yağ asidi kompozisyonları

Yağ asidi	Fındık yağı (%)	Oleojel (%)
Palmitik asit (C16:0)	5,94±0,01	7,81±0,07
Stearik asit (C18:0)	2,45±0,04	3,63±0,04
Oleik asit (18:1)	78,71±0,02	75,92±0,19
Linoleik asit (18:2)	12,11±0,04	11,78±0,07

3.2.3.2 Köfte örneklerinin üretimi ve yenilebilir kaplamaların uygulanması

Taze sığır eti yerel bir kasaptan (Kırmızı-Beyaz, Niğde, Türkiye) temin edilmiştir. Et örneklerinin gözle görünebilir deri altı yağ ve bağ dokusu bıçak yardımıyla kastan tamamen uzaklaştırılmıştır. Daha sonra et örnekleri kıyma makinasından geçirilmiştir. Köfte örneklerinin hazırlanmasında ağırlıkça %69 et, %20 oleojel, %10 su ve %1 sodyum klorür kullanılmıştır. Ardından örnekler 5 dakika boyunca karıştırıcı (KM400, Kenwood, Birleşik Krallık) kullanılarak karıştırılmış ve buzdolabı sıcaklığında (+4°C) 2 saat dinlendirilmiştir. Et karışımı 5 cm çapında 1 cm yüksekliğinde köfte şekline getirildikten

sonra önceden ısıtılmış 180°C sıcaklıktaki elektrikli fırında (Arçelik, Türkiye), 72°C iç sıcaklığa ulaşmaya kadar yaklaşık 20 dakika süreyle pişirilmiştir.

Pişmiş köfteler, test edilen 4 pektin çözeltisine 1 dakika boyunca daldırılmıştır. Köfteler çözeltiden çıkarıldıktan sonra 30 saniye kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra kaplanan köfteler buzdolabında +4°C sıcaklıkta depolanmıştır. Kaplanan köfte örneklerinin oksidasyon analizleri 0., 1., 3., 5. ve 7. günlerde gerçekleştirilmiştir.

3.2.3.3 Köfte örneklerinde tiyobarbitürik asit reaktif maddelerin (TBARS) miktarının belirlenmesi

Pişmiş köfte örneklerinde depolamanın başlangıcında ve depolama süresince gerçekleşen lipid oksidasyonu TBARS metodu kullanılarak belirlenmiştir (Doon vd., 2018). Köfte örneklerinden yaklaşık 3 g alınmış, 9 mL distile su ve etanol kullanılarak çözündürülmüş 60 µL %6'lık (w/v) bütillenmiş hidroksitoluen kullanılarak beher içerisinde 30 saniye boyunca homojenize edilmiştir. Elde edilen karışım 2000 g'de 30 dakika santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra üst fazdan 2 mL alınarak 4 mL TBA reaktifi (20 mM 2-tiyobarbitürik asit içeren %15 trikloroasetik asit çözeltisi) ile 80°C'lik su banyosunda 60 dakika reaksiyona sokulmuştur. Reaksiyon tamamlanıp pembe renk oluşumu gözlemlendikten sonra örnekler soğutulmuş ve 2000 g'de 10 dakika tekrar santrifüj edilmiştir. Üst faz Whatman No. 1 filtre kâğıdı kullanılarak süzildikten sonra absorbans değeri, 532 nm dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Köfte örneklerindeki TBARS miktarı malondialdehit (MDA) eş değeri olarak mg MDA/kg olarak hesaplanmıştır.

3.2.4 İstatistiksel analizler

Ekstraksiyon çözücülerinin fenoliklerin ekstraksiyonundaki istatistiksel farkları SPSS 24 paket programı kullanılarak (SPSS, Şikago, ABD) varyans analizi (ANOVA) ve ardından Duncan çoklu karşılaştırma testi uygulanarak tespit edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık %95 düzeyinde belirlenmiştir. Deney tasarımlarının (FFD ve CCRD) oluşturulması, deneysel verilerin regresyon analizi ve 3 boyutlu yanıt yüzey grafiklerinin çizimi Design Expert v11.0 sürümü (Stat-Ease, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneysel veriler

ikinci dereceden bir polinom modeline uyarlanmış (Denklem 3.11) ve regresyon katsayıları çoklu doğrusal regresyonlarla elde edilmiştir.

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=0}^n \beta_i X_i + \sum_{i=0}^n \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n \beta_{ij} X_i X_j \quad (3.11)$$

Burada, Y tahmin edilen bağımlı değişkeni; X_i ve X_j , Y değerini etkileyen bağımsız değişkenleri ($i \neq j$); β_0 , β_i , β_{ii} , β_{ij} sırasıyla kesişim, doğrusal, ikinci dereceden ve etkileşim terimlerinin regresyon katsayılarını; n ise değişken sayısını ifade etmektedir.

ANOVA testinde, regresyon katsayısının istatistiksel anlamlılığı Fisher (F)-testi ile %95 güven düzeyinde değerlendirilmiştir. Uygunluk polinom modelinin ifadesi için uyum katsayısı (R^2) ve uyum eksikliği (lack of fit) testi kullanılmıştır. Film örneklerinin fiziksel, mekanik ve optik özellikleri ile film kaplamanın pişmiş köfte örneklerinin özellikleri üzerindeki etkileri yine ANOVA ile tespit edilmiş ve ortalamalar arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak %95 güven aralığında belirlenmiştir.

BÖLÜM IV

BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Lavantadan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu

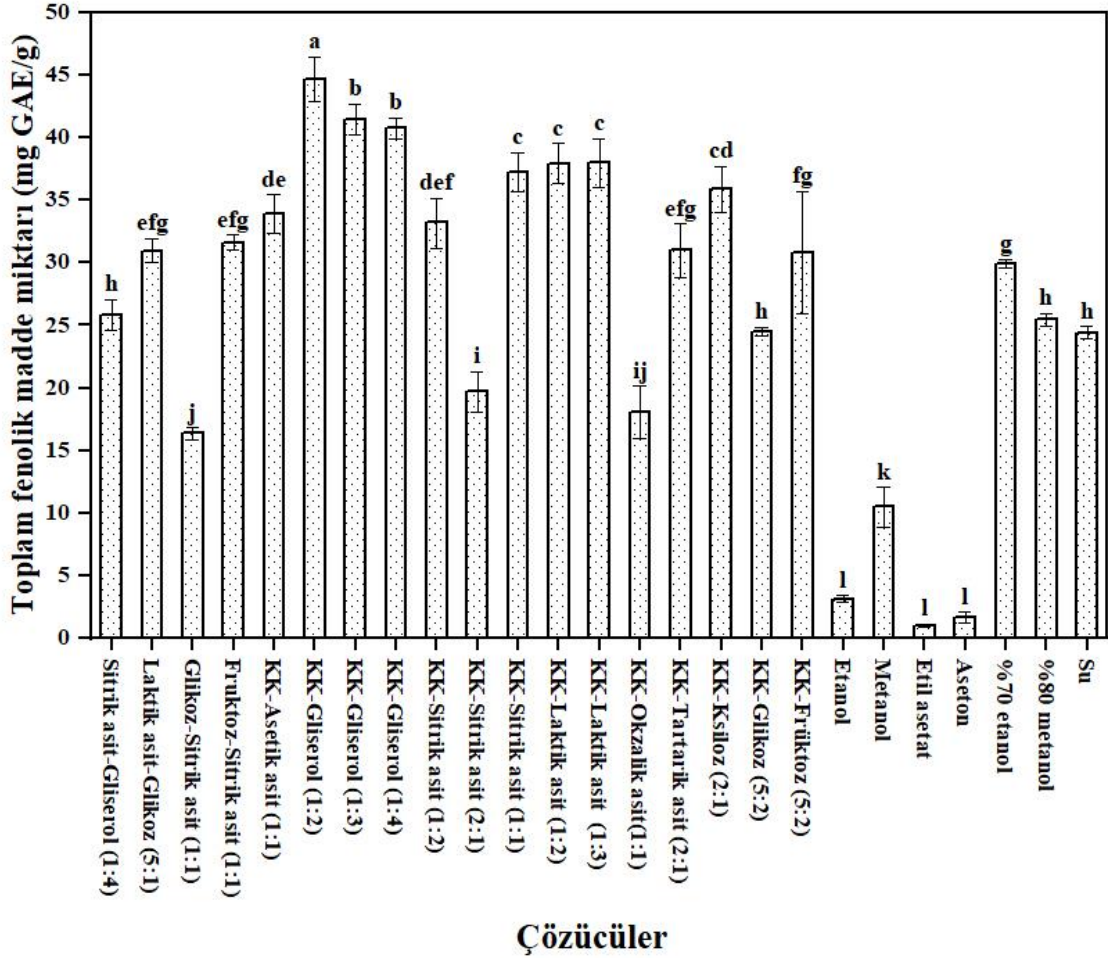
Lavantadan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda çözücü seçimi, etkili ekstraksiyon değişkenlerinin belirlenmesi, etkili değişkenler için değişken seviyelerinin tespit edilmesi ve son olarak RSM yöntemi ile optimum noktanın ortaya konması işlemleri sırasıyla uygulanmıştır. Ayrıca optimum noktada elde edilen ekstraktın bireysel fenolik bileşenleri ve uçucu bileşenlerinin kompozisyonları da belirlenmiştir.

4.1.1 Ekstraksiyon çözücüsünün seçimi

Ekstraksiyonda kullanılan çözücülerin polarite, çözünürlük ve viskozite gibi fizikokimyasal özellikleri, bitkisel materyalden hedef bileşiklerin ekstrakte edilmesini etkileyen önemli faktörlerdir (Uysal vd., 2021; Wu vd., 2021). Literatürde, farklı ekstraksiyon çözücülerinin kullanımı ile elde edilen lavanta ekstraktlarının fenolik madde içeriği üzerine yürütülen çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bu tez çalışmasında lavantadan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu gerçekleştirmek için DÖS'ler, organik çözücüler, metanol-su ve etanol-su karışımları kullanılmıştır. Lavantadan fenolik bileşiklerini ekstrakte etmek amacıyla kullanılan çözücülerin ekstraksiyon performansları arasında önemli farklılıklar gözlenmiştir. Ekstraksiyon çözücüsüne bağlı olarak 0,98-44,65 mg GAE/g arasında değişen miktarlarda TPC elde edilmiştir (Şekil 4.1).

Literatürde yer alan çalışmalarda bu geleneksel çözücülerin polariteleri en yüksekten en düşüğe su > metanol > etanol > aseton ≥ etil asetat olarak sıralanmaktadır (Ma vd., 2019; Zhu vd., 2020). Literatür bilgisine paralel olarak bu çalışmada benzer sonuçlar elde edilmiştir. Lavantadan geleneksel çözücüler ile elde edilen ekstraktların TPC düzeyleri sırasıyla su (24,39 mg GAE/g) > metanol (10,48 mg GAE/g) > etanol (3,14 mg GAE/g) > aseton (1,65 mg GAE/g) > etil asetat (0,98 mg GAE/g) şeklinde bulunmuştur. Elde edilen bu sonuçlar lavantadan fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstraksiyonu için kullanılan çözücülerin polaritelerinin önemini açıkça ortaya koymaktadır. Öte yandan, %80 metanol (25,47 mg GAE/g) ve %70 etanol (29,96 mg GAE/g) kullanımı sadece metanol ve etanol kullanılarak elde edilen ekstraktlardan daha yüksek TPC sağlamıştır.

Bu durum, su eklenmesiyle bu çözücülerin polaritesinin artması ile ilişkilidir. Bu sonuçlar, fenolik bileşiklerin tek bir çözücüden ziyade çözücü karışımları ile daha etkin bir şekilde ekstrakte edildiğini gösteren birçok çalışmayla uyumluluk göstermektedir (Metrouh-Amir vd., 2015; Sultana vd., 2009).



Şekil 4.1. Derin ötektik sıvıların ve klasik çözücülerin ekstraksiyon performansları

Şekil 4.1’de verilen sonuçlara göre, lavantadan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda DÖS’ler organik çözücülerden daha yüksek ekstraksiyon yeteneği sergilemişlerdir. Lavantadan fenolik bileşiklerin en etkili ekstraksiyonu 1:2 mol oranında KK-glisserol kullanıldığında elde edilmiş ve bu çözücüü KK-glisserol 1:3 ve 1:4 mol oranlarıyla takip etmiştir. Benzer şekilde, Gao vd. (2020) ile López-Linares vd. (2021) sırasıyla dut yapraklarından ve bira üretimi atığından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için 1:2 mol oranında KK-glisserol kullanımı ile en yüksek TPC elde ettiklerini bildirmişlerdir. Ayrıca, bazı çalışmalarda en iyi ekstraksiyon sonucu elde edilmese de KK-glisserolün 1:2 mol

oranının fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda etkili bir çözücü olduğu rapor edilmiştir (Bosiljkov vd., 2017; Cao vd., 2018; Cao vd., 2018; Yao vd., 2015; Yoo vd., 2018). Bu bulgular ışığında “benzer benzeri çözer” teorisine göre, lavantada yer alan fenolik bileşiklerin polariteleri ile KK-gliserol çözücüsünün polaritelerinin benzer olduğu yorumu yapılabilir. Farklı mol oranlarında KK ve gliserolden oluşan DÖS’ler karşılaştırıldığında 1:2, 1:3 ve 1:4 mol oranlarındaki KK-gliserol ile elde edilen ekstraktlarının TPC değerleri sırasıyla 44,65, 41,46 ve 40,75 mg GAE/g olarak belirlenmiştir. Benzer bir bulgu, Ozturk vd. (2018) tarafından portakal kabuğu atığından TPC ekstraksiyonunda da gözlemlenmiştir. Yazarlar gliserolün HBD olarak artan mol oranı ile KK’den oluşan DÖS’lerin viskozitelerinin arttığını rapor etmişlerdir. Çok yüksek viskozite, ekstraksiyon çözücüsünün hedef bileşiklerle etkileşimini azaltarak kütle transferinin sınırlandırılmasına yol açmakta ve böylece ekstraksiyon veriminin azalmasına sebep olmaktadır. Sonuç olarak, KK-gliserolün 1:2 mol oranında kullanımı ekstraksiyon performansı göz önünde bulundurularak optimizasyon aşamasında ekstraksiyon çözücüsü olarak seçilmiştir.

4.1.2 Ekstraksiyon değişkenlerinin taranması

Ekstraksiyon çözücüsünün dışında süre, ultrases genliği, sıcaklık, DÖS’deki su miktarı ve sıvı/katı oranı gibi çeşitli değişkenler, ultrases destekli ekstraksiyonda ekstraksiyon verimini etkileyebilen önemli parametrelerdir (Patil vd., 2021; Wu vd., 2020). Bununla birlikte, bazı değişkenlerin etkileri hedef bileşiklerin ekstraksiyonu sırasında daha az önemli veya önemsiz olabilmektedir. RSM uygulanmadan önce, birçok değişken arasından önemli olanları seçmek için tarama tasarımlarının kullanımı oldukça yaygındır (Hibbert, 2012; Narendran vd., 2019). Böylece hem yapılması gereken analiz sayısının azaltılması hem de kullanılacak olan kimyasal, enerji ve zamandan tasarruf edilmesi mümkündür.

4.1.2.1 Toplam fenolik madde miktarı üzerine etkili faktörlerin belirlenmesi

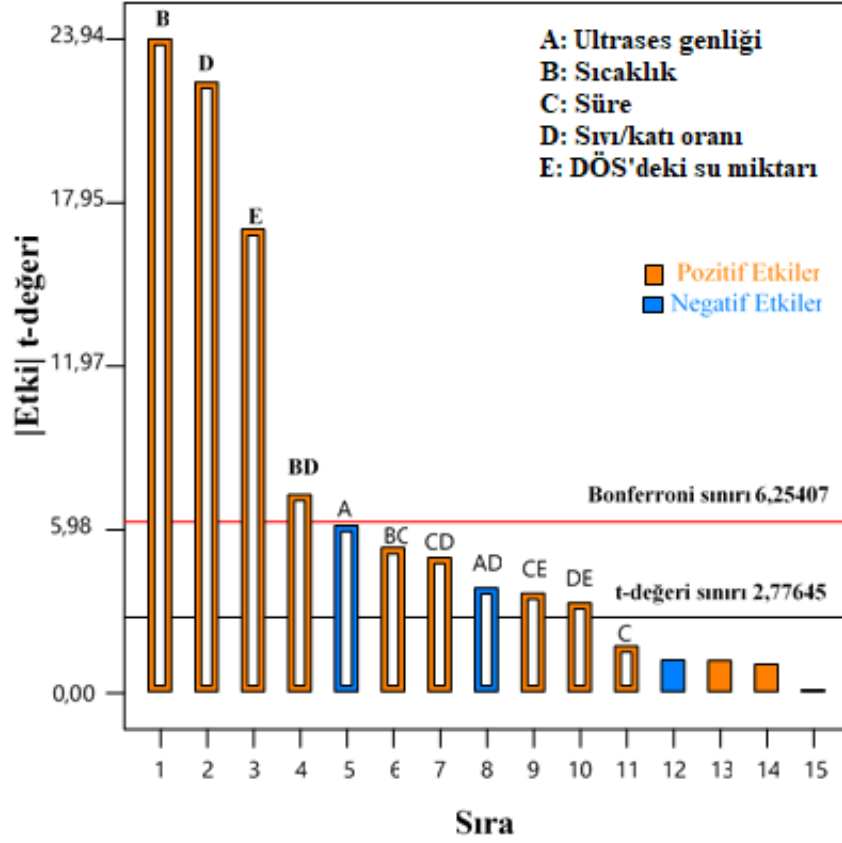
Bu çalışmada ultrases genliği (A), sıcaklık (B), süre (C), sıvı/katı oranı (D) ve DÖS'deki su miktarı (E) gibi bağımsız değişkenlerin TPC üzerine etkisi 2^{5-1} kısmi faktöriyel deneme tasarımı kullanılarak taranmıştır. Deneme matrisi ve deneysel sonuçlar Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Çizelge 4.1. Kısmi faktöriyel deneme tasarımı ve toplam fenolik madde miktarı

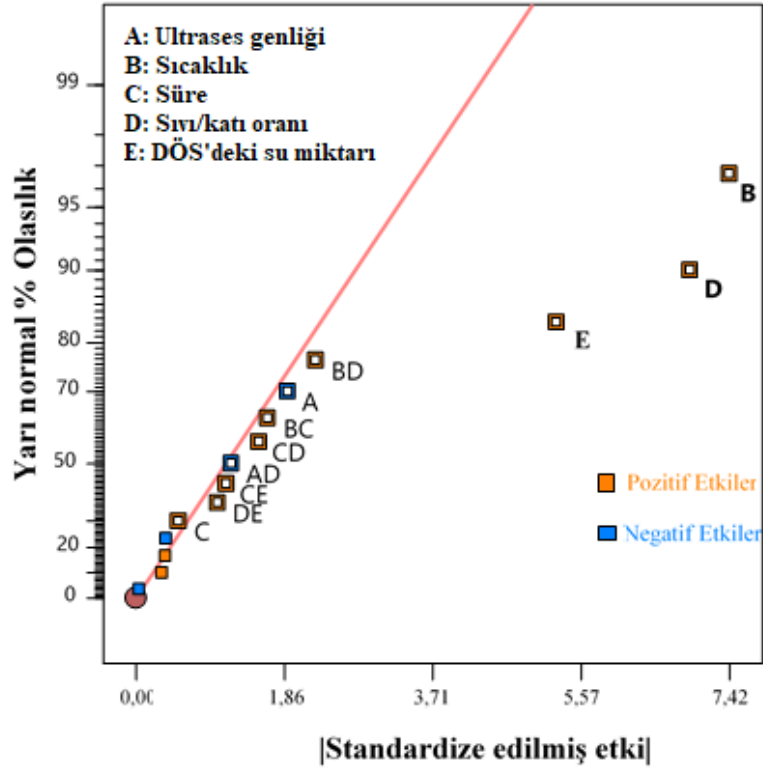
Deneme	Ultrases genliği (%)	Sıcaklık (°C)	Süre (Dakika)	Sıvı/katı oranı (mL/g)	DÖS'deki su miktarı (%)	TPC (mg GAE/g)
1	20 (-1)	70 (+1)	5 (-1)	10 (-1)	10 (-1)	35,90±3,83
2	20 (-1)	40 (-1)	30 (+1)	10 (-1)	10 (-1)	27,81±1,23
3	20 (-1)	40 (-1)	5 (-1)	50 (+1)	10 (-1)	35,28±1,20
4	20 (-1)	70 (+1)	5 (-1)	50 (+1)	50 (+1)	48,50±0,74
5	20 (-1)	40 (-1)	5 (-1)	10 (-1)	50 (+1)	34,78±3,97
6	20 (-1)	70 (+1)	30 (+1)	10 (-1)	50 (+1)	40,05±2,57
7	20 (-1)	70 (+1)	30 (+1)	50 (+1)	10 (-1)	45,93±1,61
8	100 (+1)	70 (+1)	5 (-1)	10 (-1)	50 (+1)	37,52±3,59
9	100 (+1)	40 (-1)	5 (-1)	10 (-1)	10 (-1)	30,94±1,31
10	100 (+1)	70 (+1)	5 (-1)	50 (+1)	10 (-1)	39,55±2,05
11	100 (+1)	40 (-1)	30 (+1)	50 (+1)	10 (-1)	31,53±2,04
12	100 (+1)	40 (-1)	30 (+1)	10 (-1)	50 (+1)	33,26±0,82
13	20 (-1)	40 (-1)	30 (+1)	50 (+1)	50 (+1)	41,33±2,81
14	100 (+1)	70 (+1)	30 (+1)	50 (+1)	50 (+1)	50,21±2,24
15	100 (+1)	70 (+1)	30 (+1)	10 (-1)	10 (-1)	34,01±0,92
16	100 (+1)	40 (-1)	5 (-1)	50 (+1)	50 (+1)	37,38±2,17

Değişkenlerin yanıt üzerindeki etkisi Pareto grafiği (Şekil 4.2) ve yarı-normal grafiği (Şekil 4.3) kullanılarak gösterilmiştir. Şekil 4.2 bağımsız değişkenlerin önemini gösteren Pareto grafiğini temsil etmektedir. Çubukların yüksekliği, incelenen değişkenlerin TPC üzerindeki standartlaştırılmış etkilerini ifade etmektedir. Grafiğin üzerindeki iki yatay

çizgi Bonferroni (6,25407) ve t değeri (2,77645) sınırlarını göstermektedir. Bir çubuk t değeri ve Bonferroni sınırlarını aşıyorsa, etki istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$), t değeri sınırının altındaki etki ise önemsiz olarak kabul edilmektedir ($p > 0,05$). Ayrıca, etkisi Bonferroni sınırını aşan değişkenler kesinlikle önemli iken Bonferroni sınırı ile t değeri sınırı arasında etkisi olan değişkenler muhtemelen önemli olarak sınıflandırılmaktadır (Shah ve Pathak, 2010).



Şekil 4.2. Toplam fenolik madde miktarı için Pareto grafiği



Şekil 4.3. Toplam fenolik madde miktarı için yarı normal dağılım grafiği

Bu çalışmada, kesinlikle önemli değişkenler B, D, E ve BD iken muhtemelen önemli olanlar A, BC, CD, AD, CE ve DE şeklinde belirlenmiştir. Önemli değişkenler, toplam varyasyonun %99,55'ini açıklamaktadır (Çizelge 4.2). Bununla birlikte, yarı-normal dağılım grafiğine (Şekil 4.3) göre en önemli değişkenler B, D ve E olarak belirlenmiştir. Bu üç değişken toplam varyasyonun %87,81'ini açıklamaktadır (Çizelge 4.2). Jain vd. (2019), istatistiksel olarak önemli değişkenleri seçmek için Pareto grafiği yerine yarı-normal grafiğinin kullanılmasını önermiştir. Yukarıdaki bilgiler dikkate alınarak sıcaklık (B), sıvı/katı oranı (D) ve DÖS'deki su miktarı (E) ileri deneylerde kullanılmıştır. FFD'den elde edilen TPC'e ait model denklemi (yalnızca istatistiki önem düzeyine sahip parametreler dâhil edilerek) aşağıda verilmiştir (B: Sıcaklık, D: Sıvı/katı oranı, E: DÖS'deki su miktarı):

$$Y_{TPC} = 37,7 + 3,71B + 3,47D + 2,63E \quad (4.1)$$

Çizelge 4.2. Toplam fenolik madde miktarı için kısmi faktöriyel deneme tasarımı verilerinin varyans analizi

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri	%Katkı
Model	594,25	11	54,02	140,52	0,0001	-
A: Ultrases genliği	14,42	1	14,42	37,51	0,0036	2,42029
B: Sıcaklık	220,33	1	220,33	573,10	< 0,0001	36,9808
C: Süre	1,14	1	1,14	2,96	0,1604	0,191125
D: Sıvı/katı oranı	192,11	1	192,11	499,71	< 0,0001	32,2452
E: DÖS'deki su miktarı	110,69	1	110,69	287,93	< 0,0001	18,5793
AD	5,70	1	5,70	14,82	0,0183	0,956219
BC	10,86	1	10,86	28,24	0,0060	1,82201
BD	20,24	1	20,24	52,64	0,0019	3,39681
CD	9,47	1	9,47	24,64	0,0077	1,58976
CE	5,12	1	5,12	13,31	0,0218	0,858648
DE	4,18	1	4,18	10,87	0,0300	0,701724
R²	0,9974					
Ayarlanmış-R²	0,9903					
Tahmini-R²	0,9587					

sd: serbestlik derecesi. Yan yana iki farklı büyük harf bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi ifade etmektedir.

4.1.2.2 Toplam flavonoid madde miktarı üzerine etkili faktörlerin belirlenmesi

TPC analizinde olduğu gibi ultrases genliği (A), sıcaklık (B), süre (C), sıvı/katı oranı (D) ve DÖS'deki su miktarı (E) gibi bağımsız değişkenlerin TFC üzerine etkisi 2^{5-1} kısmi faktöriyel deneme tasarımı kullanılarak incelenmiştir. Deneme matrisi ve deneysel sonuçlar Çizelge 4.3'de ve varyans analizi Çizelge 4.4'te sunulmuştur. Kısmi faktöriyel deneme deseninden elde edilen sonuçlara göre lavanta ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarları 15,04-38,86 mg KE/g arasında değişmiştir.

Çizelge 4.3. Kısmi faktöriyel deneme tasarımı ve toplam flavonoid madde miktarı

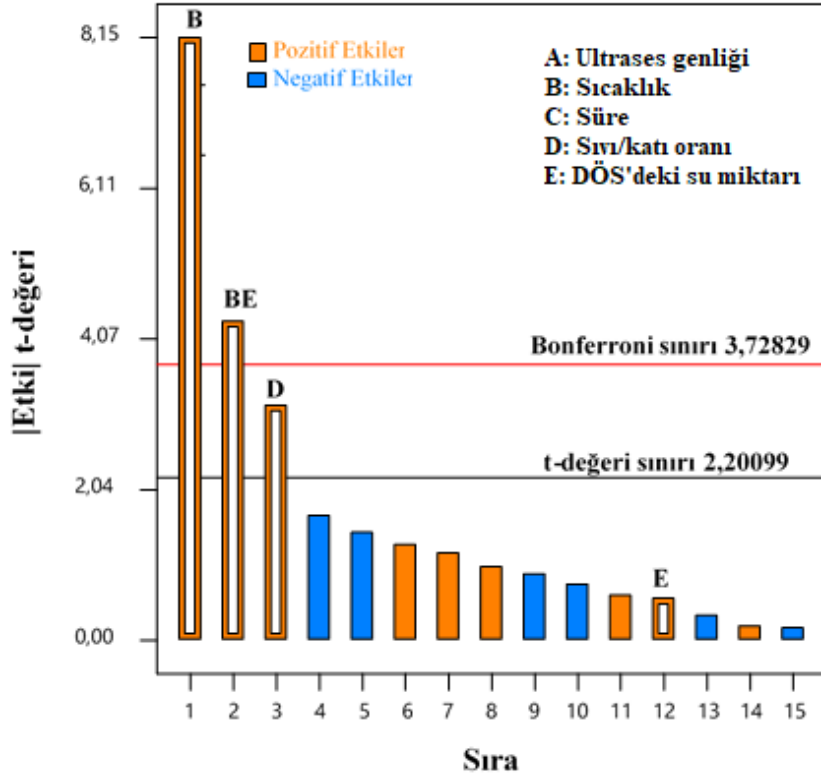
Deneme	Ultrasen genliği (%)	Sıcaklık (°C)	Süre (Dakika)	Sıvı/katı oranı (mL/g)	DÖS'deki su miktarı (%)	TFC (mg KE/g)
1	20 (-1)	70 (+1)	5 (-1)	10 (-1)	10 (-1)	25,07±2,36
2	20 (-1)	40 (-1)	30 (+1)	10 (-1)	10 (-1)	23,49±0,59
3	20 (-1)	40 (-1)	5 (-1)	50 (+1)	10 (-1)	28,68±0,80
4	20 (-1)	70 (+1)	5 (-1)	50 (+1)	50 (+1)	38,86±1,34
5	20 (-1)	40 (-1)	5 (-1)	10 (-1)	50 (+1)	15,75±0,29
6	20 (-1)	70 (+1)	30 (+1)	10 (-1)	50 (+1)	33,99±1,66
7	20 (-1)	70 (+1)	30 (+1)	50 (+1)	10 (-1)	32,16±1,96
8	100 (+1)	70 (+1)	5 (-1)	10 (-1)	50 (+1)	33,68±1,11
9	100 (+1)	40 (-1)	5 (-1)	10 (-1)	10 (-1)	27,77±1,91
10	100 (+1)	70 (+1)	5 (-1)	50 (+1)	10 (-1)	21,45±3,39
11	100 (+1)	40 (-1)	30 (+1)	50 (+1)	10 (-1)	20,20±0,54
12	100 (+1)	40 (-1)	30 (+1)	10 (-1)	50 (+1)	15,04±0,04
13	20 (-1)	40 (-1)	30 (+1)	50 (+1)	50 (+1)	24,75±0,63
14	100 (+1)	70 (+1)	30 (+1)	50 (+1)	50 (+1)	37,43±2,77
15	100 (+1)	70 (+1)	30 (+1)	10 (-1)	10 (-1)	29,04±0,04
16	100 (+1)	40 (-1)	5 (-1)	50 (+1)	50 (+1)	21,45±0,18

Çizelge 4.4. Toplam flavonoid madde miktarı için kısmi faktöriyel deneme tasarımı verilerinin varyans analizi

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri	%Katkı
Model	688,65	4	172,16	23,86	< 0,0001	-
B: Sıcaklık	479,10	1	479,10	66,39	< 0,0001	62,3803
D: Sıvı/katı oranı	72,81	1	72,81	10,09	0,0088	9,4804
E: DÖS'deki su miktarı	2,32	1	2,32	0,3211	0,5823	0,30174
BE	134,42	1	134,42	18,62	0,0012	17,5012
R²	0,8966					
Ayarlanmış-R²	0,8590					
Tahmini-R²	0,7813					

sd: serbestlik derecesi. Yan yana iki farklı büyük harf bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi ifade etmektedir.

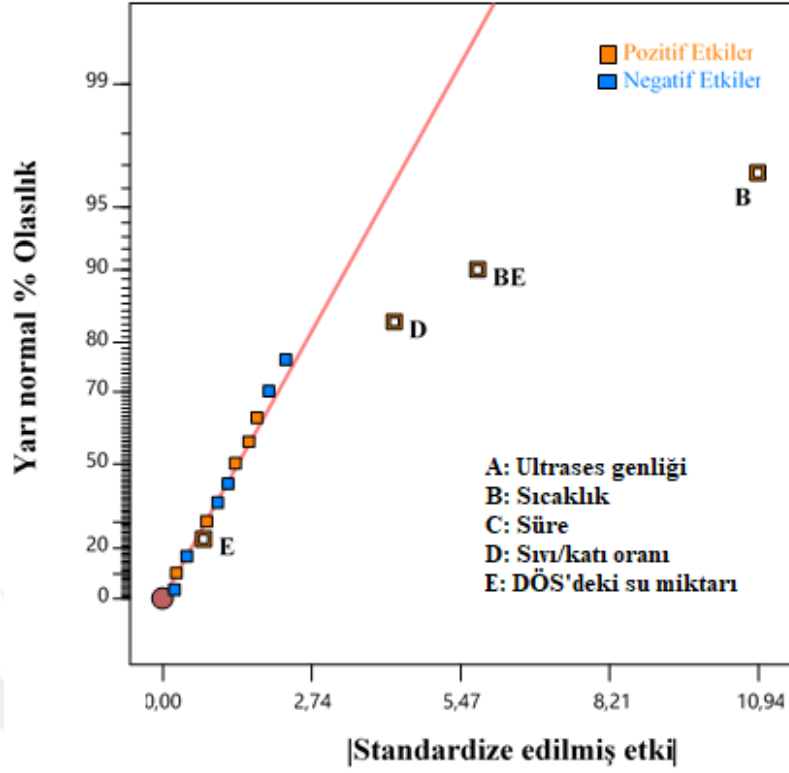
Şekil 4.4'de TFC için pareto grafiği sunulmuştur. Benferroni ve t değeri sınırlarına göre sıcaklık (B), sıcaklık-DÖS'deki su miktarı etkileşimi (BE) ve sıvı/katı oranı (D) kullanılan değişkenler arasında lavantadan TFC ekstraksiyonu için en etkili parametreler olarak belirlenmiştir. Sıcaklık (B) ve sıcaklık-DÖS'deki su miktarı etkileşimi (BE) kesinlikle önemli parametreler iken sıvı/katı oranı (D) muhtemelen önemli bağımsız değişken olarak sınıflandırılmıştır.



Şekil 4.4. Toplam flavonoid madde miktarı için pareto grafiği

Şekil 4.5'te yer alan yarı normal dağılım grafiği incelendiğinde, en büyük etkinin sıcaklık (B) değişkeninden kaynaklandığı gözlenmektedir. Bu değişkeni sırasıyla sıcaklık-DÖS'deki su miktarı etkileşimi (BE) ve sıvı/katı oranı (D) takip etmiştir. TPC üzerine bağımsız değişkenlerin incelenmesinde belirlendiği gibi TFC için de aynı değişkenler istatistiksel olarak önemli olarak bulunmuştur. Buna göre bu değişkenler kullanılarak daha ileri optimizasyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. FFD'den elde edilen TFC'ye ait model denklemi (yalnızca istatistiki önem düzeyine sahip parametreler dâhil edilerek) aşağıda verilmiştir (B: Sıcaklık, D: Sıvı/katı oranı, E: DÖS'deki su miktarı):

$$Y_{TFC} = 27,27 + 5,47B + 2,13D + 2,90BE \quad (4.2)$$



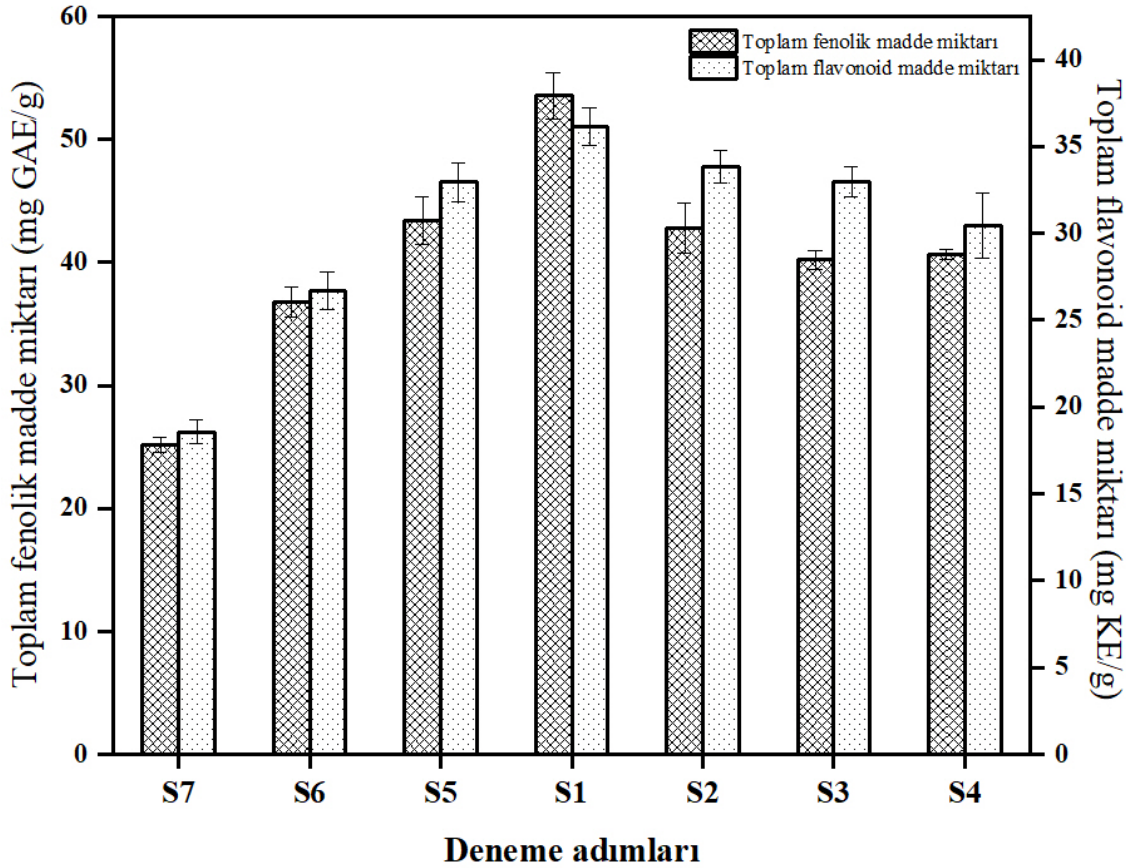
Şekil 4.5. Toplam flavonoid madde miktarı için yarı normal dağılım grafiği

4.1.3 En dik artış/azalış yöntemi ile değişken aralıklarının belirlenmesi

Bir deneysel tasarımda değişken seviyelerinin seçiminin, değişkenin kendisinden daha önemli olabileceği rapor edilmiştir (Hibbert, 2012). Bir çalışmada belirlenen değişken aralıkları optimum bölgenin dışında yer alabilir. Tarama tasarımlarından elde edilen bilgi sadece bağımsız değişkenin artışına ya da azalışına bağlı olarak değişkenin cevap üzerine meydana getirdiği etkinin yönü hakkında bilgi vermektedir. Bağımsız değişkenler için elde edilen bu etki yönüne göre çalışmada en dik artış/azalış metodu kullanılarak değişken seviyelerinin yeniden düzenlenmesi mümkündür (Tol vd., 2020). Bu çalışmada, istenen değişken seviyelerine ulaşmak için en dik artış/azalış yöntemi uygulanmıştır. FFD'deki merkez noktalardan (B, D ve E) seçilen değişkenler için TPC denklemi ile tahmin edilen her bir değişkenin katsayısı, o değişkenin TPC üzerindeki etkisinin gücünü temsil etmektedir.

En dik artış/azalış yöntemi, FFD'de kullanılan bağımsız değişkenlerin merkez noktalarından (S1) başlayarak seçilen değişkenler (B, D ve E) için uygulanmış, diğer

değişkenler ise FFD'nin merkez noktalarında sabitlenmiştir. Diğer bir ifadeyle ultrases genliği (A) %60 ve süre (C) 17,5 dakika olacak şekilde sabit tutulmuştur. En dik artış/azalış yönteminde TPC için elde edilen model dikkate alınarak analizler yürütülmüştür. TPC için elde edilen modelin kullanımı DÖS'deki su miktarı (E) değişkeni için etkileşimsel etkiden ziyade bu değişkenin TPC üzerine direkt etkisinin olmasından dolayı tercih edilmiştir.



Şekil 4.6. En dik artış/azalış yöntemi ile toplam fenolik ve flavonoid madde miktarındaki değişimlerin incelenmesi (S1: 55°C, 30 mL/g, %30; S2: 60°C, 34,5 mL/g, %33,5; S3: 65°C, 39 mL/g, %37; S4: 70°C, 43,5 mL/g, %40,5; S5: 50°C, 25,5 mL/g, %26,5; S6: 45°C, 21 mL/g, %23; S7: 40°C, 16,5 mL/g, %19,5)

TPC için elde edilen modele göre, FFD'nin merkez noktasından B yönünde her 3,71 birim değişim gerçekleştiğinde D için 3,47 birim ve E için 2,63 birim değişim meydana gelmektedir. Bu değişimler, D değişkeni için 1 birim olduğu durumda B yönünde 0,9 birim ve E yönünde 0,7 birim olacak şekilde tekrar ölçeklendirilmiştir. Gerçek adım büyüklüğü B için 5°C olarak seçilmiştir. Buna göre D ve E'nin gerçek adım büyüklüğü sırasıyla 4,5 mL/g ve %3,5 olarak belirlenmiştir. Şekil 4.6 incelendiğinde, TPC ve TFC

değerinin sıcaklık, sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarının artmasıyla arttığı, optimum bölgede bir tepe oluşturduğu ve bu değişkenlerin daha fazla artmasıyla azaldığı görülmektedir. *Polygonum aviculare* yapraklarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda sıcaklık ve su miktarı için benzer bir eğilim bildirilmiştir (Wu vd., 2021).

Sonuç olarak, en yüksek TPC ve TFC değerleri ilk adımda (S1) ölçülmüş ve bu noktadan önceki ve sonraki tüm adımlar TPC ve TFC'de azalmalara neden olmuştur. Sıcaklık, sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarı için optimum noktaya yakın bölgelerin sırasıyla 50-60°C, 25,5-34,5 mL/g ve %26,5-33,5 arasında olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, maksimum TPC ve TFC'nin bağımsız değişkenlerin incelenen aralıkları içinde olduğunu açıkça göstermektedir. Bu bulgular dikkate alarak, bağımsız değişkenlerin yeniden düzenlenen deneysel seviyeleri CCRD'de alt ve üst limitler olarak kullanılmıştır.

4.1.4 Yanıt yüzey yöntemi

CCRD'ye göre, bağımsız değişkenlerin (sıcaklık, sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarı) bağımlı değişkenler olarak TPC, TFC, DPPH, ABTS ve CUPRAC üzerindeki etkilerini test etmek için 20 deney rastlantısal olarak gerçekleştirilmiştir (Çizelge 4.5). Sonuçlar TPC için 42,01-53,42 mg GAE/g, TFC için 31,14-38,00 mg KE/g, DPPH için 36,66-43,10 mg TE/g, ABTS için 58,33-79,64 mg TE/g ve CUPRAC için 119,73-169,95 mg TE/g aralığında bulunmuştur. Modellerin istatistiksel önemi ve ANOVA sonuçları Çizelge 4.6, Çizelge 4.7, Çizelge 4.8, Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10'da rapor edilmiştir. Bağımsız değişkenlerin etkisini modellemede TPC, DPPH, ABTS ve CUPRAC için en iyi performansı ikinci derece modeller gösterirken TFC için iki faktör etkileşimini (2FI) içeren modelin kullanımı uygun bulunmuştur. ANOVA'da, istatistiksel olarak önemsiz ($p>0,05$) model terimleri geriye doğru eleme (backward elimination) işlemiyle modellerden çıkarılarak basit regresyon modelleri oluşturulmuştur. Bununla birlikte, yanıt üzerinde istatistiksel olarak önemsiz etkisi olan bazı hiyerarşik terimler, diğer parametrelerle önemli etkileşimler gösterdiği için geriye doğru eleme sürecinden sonra regresyon denklemlerine eklenmiştir. Gözlenen ve tahmin edilen değerler arasındaki ilişkiyi gösteren R^2 değerleri TPC, TFC, DPPH, ABTS ve CUPRAC için sırasıyla 0,9534, 0,8758, 0,7975, 0,9541 ve 0,9355 olarak bulunmuştur. Tahmini- R^2 değerlerinin, tüm modeller için düzeltilmiş- R^2 değerleriyle uyum içinde olduğu gözlenmiştir. Ayrıca,

tahmin edici modellerin uygunluğu uyum eksikliği testiyle de test edilmiştir. İstatistiksel olarak önemsiz uyum eksikliği değerleri ($p>0,05$), kullanılan modellerin yanıtları tahmin etmek için yeterliliğini göstermiştir.



Çizelge 4.5. Merkezi tümleşik dönebilen deneme tasarımı ve deneysel cevaplar

Deneme	Sıcaklık (°C)	Sıvı/katı oranı (mL/g)	DÖS'deki su miktarı (%)	TPC (mg GAE/g)	TFC (mg KE/g)	DPPH (mg TE/g)	ABTS (mg TE/g)	CUPRAC (mg TE/g)
1	50	25,5	26,5	47,52±2,56	31,16±0,78	40,53±0,74	70,47±1,77	150,31±1,53
2	60	34,5	33,5	49,87±2,93	35,42±0,18	43,10±0,63	74,63±3,93	169,95±5,27
3	55	30	30	50,99±2,39	34,96±0,76	40,24±0,48	77,56±0,92	148,99±1,36
4	50	34,5	33,5	47,71±1,92	35,41±0,68	40,34±0,60	78,60±0,69	132,91±8,59
5	55	30	30	52,12±1,64	34,55±0,28	39,00±0,52	79,26±2,18	153,44±3,08
6	60	34,5	26,5	51,03±2,29	35,34±0,63	40,25±0,67	74,64±1,19	149,70±1,78
7	50	25,5	33,5	48,13±2,59	31,14±0,54	36,66±0,15	70,37±0,60	144,13±3,32
8	60	25,5	33,5	49,50±2,11	38,00±0,86	38,64±0,46	75,34±1,18	163,34±3,87
9	55	30	30	52,64±1,99	36,16±1,15	38,29±0,41	79,64±1,08	150,23±2,04
10	55)	30	30	51,80±1,98	35,73±0,77	37,31±0,53	77,43±2,02	152,36±3,10
11	50	34,5	26,5	45,51±2,24	37,70±1,29	40,83±0,85	78,65±3,70	142,73±3,21
12	60	25,5	26,5	51,67±3,49	37,02±0,67	39,46±0,73	74,96±0,92	146,10±6,33
13	55	30	30	48,19±3,04	36,56±1,71	40,56±0,53	78,71±2,21	146,82±4,39
14	55	30	35,9	46,92±3,04	35,41±0,42	41,15±0,48	79,22±2,98	151,15±4,03
15	55	22,4	30	42,30±3,59	34,37±0,24	37,64±0,31	58,33±0,67	150,94±4,87
16	55	30	24,1	47,51±3,53	34,98±0,77	40,99±0,61	76,09±0,92	139,38±2,13
17	55	37,6	30	42,01±2,21	35,58±0,73	40,74±0,26	65,61±2,86	142,18±2,01
18	63,4	30	30	53,42±2,50	35,58±1,34	38,95±0,44	72,31±2,64	148,03±2,63
19	46,6	30	30	47,02±2,60	31,87±1,40	37,60±0,76	75,30±2,50	119,73±2,62
20	55	30	30	50,45±2,99	34,63±0,43	39,40±0,58	76,94±2,73	137,23±2,42
Maserasyon	25	30	-	21,24±0,84	18,53±0,22	15,92±0,28	40,14±2,47	67,58±1,59

Çizelge 4.6. Toplam fenolik madde miktarı için regresyon modelinin varyans analizi

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri	
Model	148,83	6	24,81	40,89	< 0,0001	Önemli
B: Sıcaklık	42,04	1	42,04	69,28	< 0,0001	
D: Sıvı/katı oranı	0,7434	1	0,7434	1,23	0,2900	
E: DÖS'deki su miktarı	0,1660	1	0,1660	0,2735	0,6105	
BE	4,72	1	4,72	7,79	0,0163	
D²	96,67	1	96,67	159,34	< 0,0001	
E²	9,02	1	9,02	14,87	0,0023	
Uyum eksikliği R²	3,29	8	0,4118	0,4132	0,8663	Önemsiz
Ayarlanmış-R²	0,9534					
Tahmini-R²	0,9300					
	0,8914					

sd: Serbestlik derecesi

Çizelge 4.7. Toplam flavonoid madde miktarı için regresyon modelinin varyans analizi

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri	
Model	53,94	3	17,98	23,43	< 0,0001	Önemli
B: Sıcaklık	20,16	1	20,16	26,28	0,0001	
D: Sıvı/katı oranı	5,41	1	5,41	7,05	0,0180	
BD	28,36	1	28,36	36,97	< 0,0001	
Uyum eksikliği R²	8,04	11	0,7310	0,8431	0,6302	Önemsiz
Ayarlanmış-R²	0,8242					
Tahmini-R²	0,7890					
	0,6701					

sd: Serbestlik derecesi

Çizelge 4.8. DPPH antioksidan kapasite analizi için regresyon modelinin varyans analizi

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri	
Model	38,05	6	6,34	7,88	0,0013	Önemli
B: Sıcaklık	2,09	1	2,09	2,59	0,1332	
D: Sıvı/katı oranı	15,27	1	15,27	18,97	0,0009	
E: DÖS'deki su miktarı	0,3062	1	0,3062	0,3804	0,5489	
BE	5,11	1	5,11	6,35	0,0270	
DE	6,20	1	6,20	7,70	0,0168	
E²	9,08	1	9,08	11,27	0,0057	
Uyum eksikliği R²	4,43	8	0,5543	0,4243	0,8595	Önemsiz
Ayarlanmış-R²	0,7975					
Tahmini-R²	0,6963					
	0,6032					

sd: Serbestlik derecesi

Çizelge 4.9. ABTS antioksidan kapasite analizi için regresyon modelinin varyans analizi

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri	
Model	459,24	7	65,61	32,69	< 0,0001	Önemli
B: Sıcaklık	0,9333	1	0,9333	0,4650	0,5094	
D: Sıvı/katı oranı	55,83	1	55,83	27,82	0,0003	
E: DÖS'deki su miktarı	2,20	1	2,20	1,10	0,3171	
BD	38,04	1	38,04	18,96	0,0011	
B²	6,70	1	6,70	3,34	0,0948	
D²	341,15	1	341,15	169,99	< 0,0001	
E²	6,63	1	6,63	3,30	0,0965	
Uyum eksikliği R²	16,60	7	2,37	1,73	0,3108	Önemsiz
Ayarlanmış-R²	0,9541					
Tahmini-R²	0,9249					
	0,8161					

sd: Serbestlik derecesi

Çizelge 4.10. CUPRAC antioksidan kapasite analizi için regresyon modelinin varyans analizi

Kaynak	Kareler toplamı	sd	Ortalama kare	F-değeri	p-değeri	
Model	1624,28	6	270,71	29,00	< 0,0001	Önemli
B: Sıcaklık	832,04	1	832,04	89,12	< 0,0001	
D: Sıvı/katı oranı	39,76	1	39,76	4,26	0,0614	
E: DÖS'deki su miktarı	124,78	1	124,78	13,36	0,0033	
BD	105,20	1	105,20	11,27	0,0057	
BE	357,67	1	357,67	38,31	< 0,0001	
B²	164,83	1	164,83	17,65	0,0012	
Uyum eksikliği R²	53,85	8	6,73	0,4628	0,8357	Önemsiz
Ayarlanmış-R²	0,9355					
Tahmini-R²	0,9032					
	0,8534					

sd: Serbestlik derecesi

TPC, TFC, DPPH, ABTS ve CUPRAC için nihai model denklemler sırasıyla aşağıda sunulmuştur.

$$Y_{TPC} = 50,86 + 1,75B - 0,2333D - 0,1102E - 0,7685BE - 2,58D^2 - 0,7875E^2 \quad (4.3)$$

$$Y_{TFC} = 35,04 + 1,22B + 0,6295D - 1,88BD \quad (4.4)$$

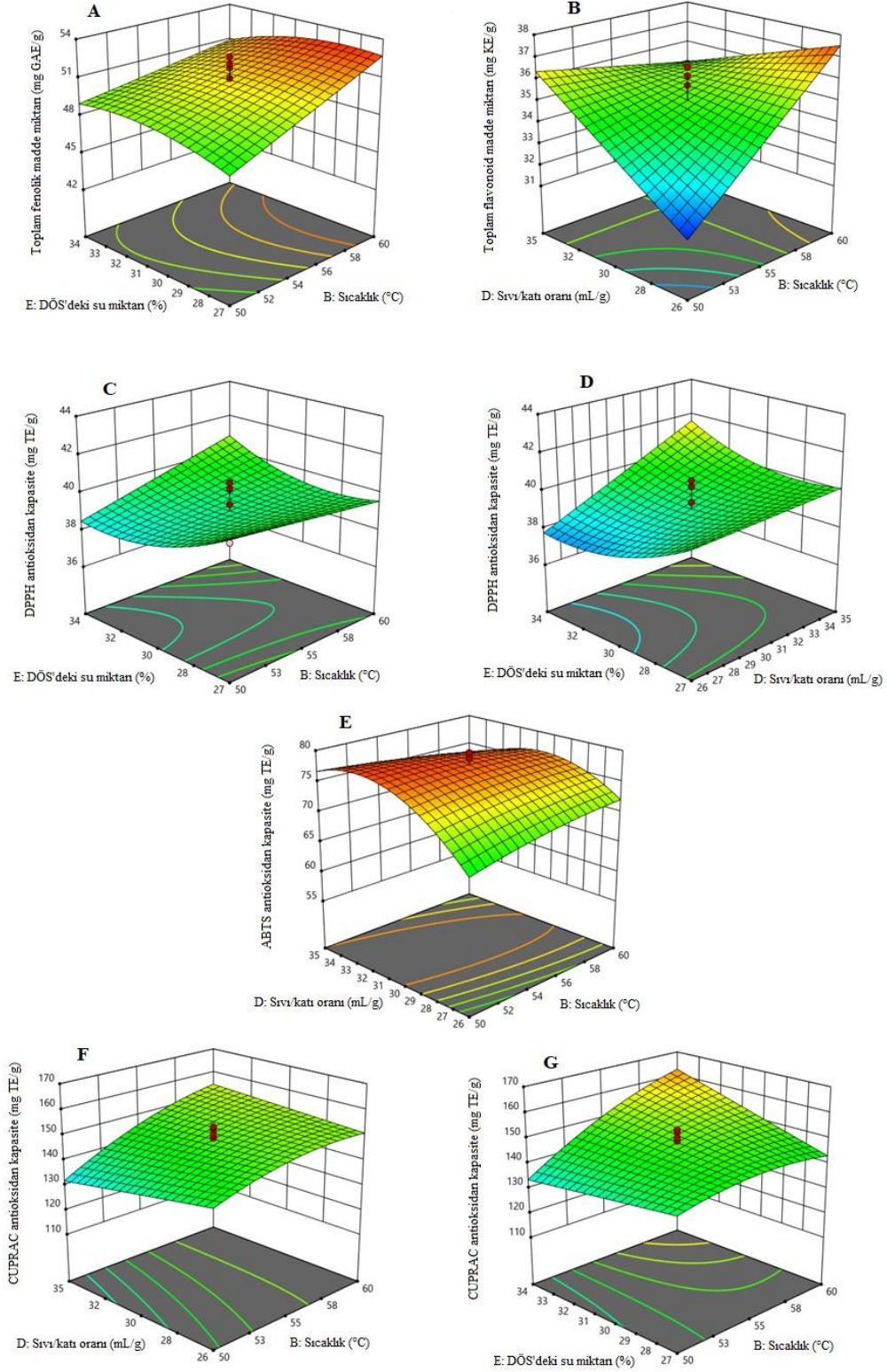
$$Y_{DPPH} = 39,05 + 0,3911B + 1,06D - 0,1497E + 0,7991BE + 0,8801DE + 0,7866E^2 \quad (4.5)$$

$$Y_{ABTS} = 77,73 - 0,2614B + 2,02D + 0,4018E + 2,18BD - 0,6823B^2 - 4,87D^2 + 0,6784E^2 \quad (4.6)$$

$$Y_{CUPRAC} = 148,44 + 7,81B - 1,71D + 3,02E + 3,63BD + 6,69BE - 3,35B^2 \quad (4.7)$$

Modellerin regresyon katsayıları ve ANOVA'ya göre sıcaklığın ABTS hariç tüm yanıtlar üzerinde olumlu bir etkisi olduğu sonucuna varılmıştır. Sıcaklığın ABTS değeri üzerinde negatif etkisinin olduğu gözlenmiş ancak bu etkinin istatistiksel olarak önemsiz olduğu tespit edilmiştir ($p>0,05$). Sıvı/katı oranı, TFC, DPPH ve ABTS üzerinde olumlu, ancak TPC ve CUPRAC üzerinde negatif bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, DÖS'deki su miktarının CUPRAC dışında diğer tüm yanıtlar üzerinde önemsiz bir etkiye sahip olduğu saptanmıştır.

Bağımsız değişkenlerin lavanta ekstraktlarının TPC, TFC ve antioksidan kapasite analizleri üzerindeki etkileşimleri Şekil 4.7'de sunulmuştur. Sıcaklığın artmasıyla TPC'nin arttığı ($p<0,05$), DÖS'deki su miktarının artmasıyla da azaldığı ($p>0,005$) belirlenmiştir (Şekil 4.7A). Sıcaklık ve DÖS'deki su miktarının etkileşiminin (BE) TPC üzerinde negatif etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Sıcaklığın artması ve sıvı/katı oranının azalması en yüksek TFC değerini sağlamıştır (Şekil 4.7B). Antioksidan kapasite analizlerinden DPPH antioksidan kapasitenin sıcaklık ve DÖS'deki su miktarının (BE) etkileşimi ile sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarının (DE) etkileşimi tarafından pozitif yönde etkilendiği, söz konusu değişkenlerin artmasıyla en yüksek değere ulaştığı belirlenmiştir (Şekil 4.7C-D). Şekil 4.7E, sıcaklık ve sıvı/katı oranının ABTS antioksidan kapasite üzerindeki etkisini göstermektedir. Şekilde de görüldüğü üzere, sıcaklıktaki artışın ABTS üzerinde negatif, sıvı/katı oranındaki artışın ise pozitif etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Sıcaklık ile sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarının etkileşimi arttıkça CUPRAC antioksidan kapasitenin arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.7F-G).

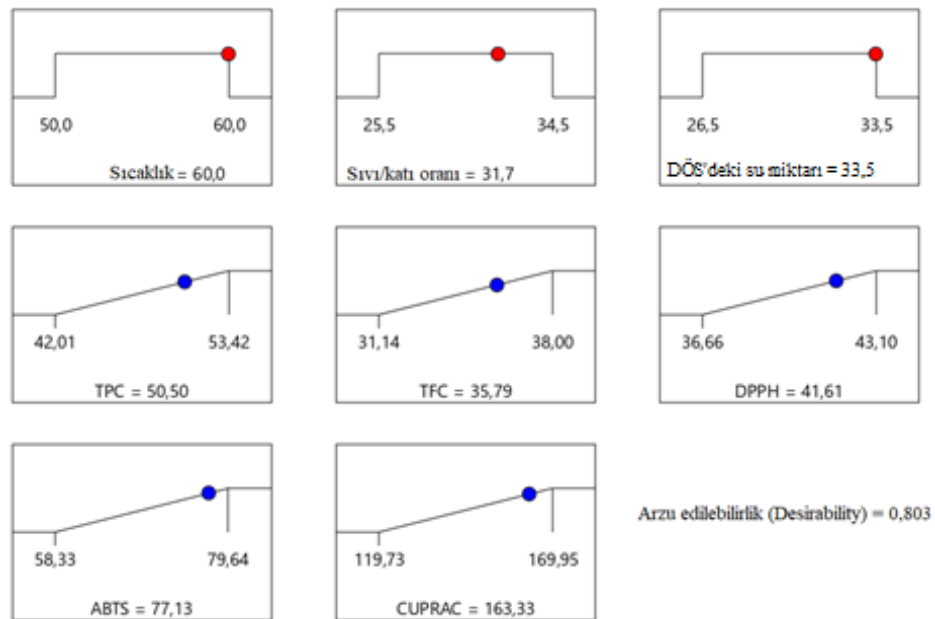


Şekil 4.7. Bağımsız değişkenlerin TPC (A), TFC (B), DPPH antioksidan kapasite (C ve D), ABTS antioksidan kapasite (E) ve CUPRAC antioksidan kapasite (F ve G) üzerine etkilerinin üç boyutlu yanıt yüzey grafikleri

4.1.5 Optimizasyon, doğrulama ve karşılaştırma

Optimizasyon işlemi, ekstraksiyon değişkenlerinin incelenen aralığında en yüksek TPC, TFC, DPPH, ABTS ve CUPRAC değerleri hedeflenerek gerçekleştirilmiştir. Optimal deneysel koşullar 60°C sıcaklık, 31,7 mL/g sıvı/katı oranı ve %33,5 DÖS'deki su miktarı şeklinde belirlenmiştir. Elde edilen bu koşullarda arzu edilebilirlik değeri 0,803 olarak bulunmuştur. Optimum koşullarda TPC, TFC, DPPH, ABTS ve CUPRAC değerleri sırasıyla 50,50 mg GAE/g, 35,79 mg KE/g, 41,61 mg TE/g, 77,13 mg TE/g ve 163,33 mg TE/g olarak tahmin edilmiştir (Şekil 4.8). Ayrıca, tahmin edilen değerlerin uygunluğunu doğrulamak için ilave deneyler (n=3) gerçekleştirilmiştir. Gözlenen TPC, TFC, DPPH, ABTS ve CUPRAC değerleri sırasıyla 50,66±0,78 mg GAE/g, 36,48±0,88 mg KE/g, 42,51±0,90 mg TE/g, 77,67±1,42 mg TE/g ve 166,88±3,06 mg TE/g olarak ölçülmüştür. Deneysel veriler %95 güven aralığı içinde yer almıştır.

Literatürde, lavantadan fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarının optimizasyonu üzerine sınırlı çalışma bulunmaktadır. Tyškiewicz vd. (2019), yeşil bir teknoloji olarak süperkritik karbondioksit kullanarak lavanta çiçeklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyon koşullarını optimize etmiştir. Çalışma sonucunda bizim sonuçlarımıza kıyasla daha düşük bir TPC değeri (10,17 mg GAE/g) rapor edilmiştir.



Şekil 4.8. Optimum ekstraksiyon koşulları ve tahmini değerler

Yapılan bir çalışmada, DÖS'nin bir çözücü olarak kullanılmasının bazı fitokimyasalların biyolojik etkinliklerini artırdığı bildirilmiştir (Cao vd., 2020). Ayrıca, Cao vd. (2018), *Ginkgo biloba* yapraklarından proantosiyanidin ekstraksiyonunda DÖS kullanımının geleneksel organik çözücülere kıyasla verimi çok artırdığını ve DÖS ile ekstrakte edilen proantosiyanidinlerin antioksidan kapasitesinin %70 metanol ve %70 etanol ile benzer olduğu ancak %70 aseton ile benzer olmadığını bildirmişlerdir. Araştırmacılar herhangi bir ekstraktta aktif bileşiğin daha yüksek miktarlarda bulunması durumunda bile ekstraksiyon çözücüsünün ekstraktın antioksidan kapasitesini etkileyebileceğini ifade etmişlerdir. Bu tez çalışmasında, optimize edilmiş koşullarda lavantanın DÖS ekstraktının metanolik ekstrakt ile karşılaştırıldığında daha yüksek bir antioksidan kapasiteye sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 4.5). Bu bağlamda, lavantanın optimize edilmiş ekstraktının daha yüksek TPC ve TFC değerlerine sahip olduğu da belirtilmelidir.

4.1.6 Lavanta ekstraktındaki bireysel fenolik bileşikler

Lavanta türlerinde fenolik bileşiklerin tanımlanması üzerine yürütülen önceki çalışmalar ışığında, fenolik bileşiklerin analizi HPLC kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gallik asit, ferulik asit, kafeik asit, sinerjik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit ve *p*-kumarik asit ile kateşin, kersetin, kemferol ve rutin olmak üzere on bir fenolik bileşik lavantanın DÖS ekstraktında taranmıştır. Bu bileşikler arasında beş fenolik bileşik varlığı standartlar kullanılarak tanımlanmış ve miktarları belirlenmiştir (Çizelge 4.11). Sonuçlar, lavanta ekstraktındaki baskın fenolik bileşiğin rutin olduğunu göstermiştir. Zenão vd. (2017) lavantanın etanolik ekstraktında rutin bulunduğunu, ancak en yüksek miktarda bulunan fenolik bileşik olmadığını, en yüksek oranda bulunan fenolik bileşiğin ferulik asit olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca Spiridon vd. (2011) ferulik asit ve kemferolün lavantada bulunan önemli fenolik bileşikler olduğunu belirlemiştir. Ancak bu çalışmalarda lavantanın toprak üstü kısımları (çiçekler ve yaprakların karışımı veya sadece yapraklar) kullanılmıştır. Adaszyńska-Skwirzyńska ve Dziecioł (2017) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, ferulik asit lavantanın yapraklı sapında tespit edilmesine karşın lavanta çiçeklerinde bulunmamıştır. Benzer şekilde Sytar vd. (2018), lavanta yapraklarında yüksek miktarda ferulik asit olduğunu bildirmişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları ile literatür arasındaki fark, ekstraksiyon sürecinde kullanılan bitki kısımlarındaki farklılıklarla ilişkili olabilir. Ayrıca, lavanta ekstraktındaki yüksek rutin içeriği ekstraksiyon çözücüsünün (KK-gliserol) özellikleri ile de açıklanabilir. Nitekim Huang

vd. (2017) rutin çözünürlüğünün suya kıyasla KK-gliserolde 660-1577 kat arttığını belirtmişlerdir.

Çizelge 4.11. Optimum noktada elde edilen lavanta ekstraktının bireysel fenolik kompozisyonu

No.	Fenolik bileşikler	Miktar (mg/g)
1	Gallik asit	1,05±0,61
2	Kafeik asit	0,19±0,02
3	Ferulik asit	0,48±0,27
4	Rutin	11,13±0,97
5	Rosmarinik asit	5,49±0,96

HPLC verileri ayrıca lavanta ekstraktının gallik, kafeik, ferulik ve rosmarinik asit gibi fenolik asitler içerdiğini göstermektedir. Rosmarinik asit, Lamiaceae familyasının kemotaksonomik bir göstergesi olan temel fenolik asit olarak nitelendirilmektedir. Benzer fenolik asit kompozisyonu daha önceki çalışmalarda da tespit edilmiştir (Cesur Turgut vd., 2016; Spiridon vd., 2011). Ayrıca, Cesur Turgut vd. (2016) lavanta ekstraktlarında 3,4-dihidroksibenzoik asit, 4-hidroksibenzoik asit, klorojenik asit, vanilik asit ve *p*-kumarik asit gibi bileşiklerin de bulunduğunu rapor etmiştir.

4.1.7 Lavanta ekstraktının uçucu bileşenleri

Fenolik bileşikler açısından zengin ekstraktlar gıda veya ilaç uygulamalarında kullanıldığında, uçucu bileşikler bu ürünlerin kabul edilebilirliğini etkileyebilmektedir. Bu çalışmada, lavanta ekstraktının uçucu bileşenleri GC-MS kullanılarak karakterize edilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen ekstraktlarda toplam 20 bileşik tespit edilmiştir (Çizelge 4.12). Lavanta ekstraktının ana uçucu bileşikleri linalool (%45,45), linalil asetat (%18,46), kafur (%9,76) ve borneol (%8,45) olarak belirlenmiştir. Da Porto vd. (2009) tarafından yapılan çalışmada da lavantanın süperkritik ekstraktlarında linalool (%43,30 ve %45,78), linalil asetat (%17,91 ve %21) ve kafur (%7,02 ve %8,20) tespit edilmiştir. Lavantanın uçucu yağı, yüksek oranda linalool (%25-38) ve linalil asetat

(%25-45) ile düşük oranda kafur (%0,5-1,0) içermesiyle özdeşleşmiştir (ISO 3515, 2002; Kıvrak, 2018).

Lavanta ekstraktlarının uçucu bileşen kompozisyonu ekstraksiyon çözücülerine ve yöntemlerine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir (Da Porto vd., 2009; Guo ve Wang, 2020; Radu vd., 2020). Radu vd. (2020) süperkritik-CO₂ ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyonla elde edilen lavanta ekstraktlarının uçucu bileşiklerini incelemiştir. Süperkritik-CO₂ ekstraktlarında β -linalool (%19,94 ve %20,44), linalool asetat (%15,28 ve %18,08), ökaliptol (%16,72 ve %17,62), kafur (%7,82 ve %10,3), β -trans-ocimene (%4,02 ve %5,13) ve limonen (%3,48 ve %4,87) tespit edilirken; ultrases destekli ekstraksiyonda linalool asetat (%25,86), β -linalool (%15,18), 6-metil-2-(2-oksiranil)-5-hepten-2-ol (%6,74), linalool oksit (%5,76), lavandülil asetat (%5,62) ve kafur (%4,39) saptanmıştır.

Guo ve Wang (2020) tarafından yürütülen bir çalışmada, lavantanın su, %95 ve %99 etanol ile elde edilen ekstraktlarının uçucu bileşen kompozisyonları incelenmiştir. Çalışmada, ekstraktlarda başlıca uçucu bileşiklerin linalil asetat (%46,62-47,22), lavandülil asetat (%10,32-11,88), linalool (%7,72-12,51) ve (E)- β -karyofilen (%4,7-6,67) olduğu bildirilmiştir.

Çizelge 4.12. Optimum noktada elde edilen lavanta ekstraktının uçucu bileşenleri

No.	Alıkonma zamanı (Dakika)	Uçucu Bileşik	Alan (%)	Alıkonma İndeksi
1	12,39	Ökalyptol	1,41 ± 0,18	1059
2	13,691	cis-Linalool oksit	1,88 ± 0,20	1095
3	14,193	trans-Linalool oksit	1,21 ± 0,11	1080
4	14,557	Linalool	45,45 ± 2,26	1069
5	16,02	Kafur (Camphor)	9,76 ± 0,45	1143
6	16,682	Borneol	8,45 ± 0,33	1138
7	17,292	Tespit edilemedi	0,36 ± 0,04	-
8	19,304	Linalil asetat	18,46 ± 0,14	1250
9	19,798	8-Hidroksilinalool	3,98 ± 0,23	1325
10	20,295	Lavandulil asetat	0,91 ± 0,08	1284
11	21,678	α-Terpineol	2,70 ± 0,27	1143
12	22,044	α-Pinene oksit	0,78 ± 0,07	961
13	22,127	Limonen oksit	0,26 ± 0,04	1146
14	22,892	Lavandülil asetat	0,55 ± 0,38	1284
15	23,317	Linalol asetat	0,76 ± 0,11	1366
16	24,176	β-Karyofilin	0,59 ± 0,07	1494
17	26,373	Linalool propanoat	0,48 ± 0,10	1333
18	28,476	Karyofilin oksit	0,56 ± 0,04	1587
19	30,709	α-Bisabolol	1,51 ± 0,12	1625
20	35,481	Asetik asit	0,28 ± 0,02	1682

4.2 Pektin filmlerin karakterizasyonu

4.2.1 Fiziksel özellikler

Çizelge 4.13'te pektin filmlerinin kalınlığı, nem içeriği ve su buharı geçirgenliği değerleri sunulmuştur. Filmlerin kalınlığı, plastikleştirici maddelerin varlığıyla artmıştır. Bu durum muhtemelen pektin-pektin zincirleri arasındaki etkileşimlerin azalmasından kaynaklanmaktadır. Pek-DÖS ve Pek-DÖS ekstraktı filmlerin Pek-gliserol filminden daha kalın olduğu belirlenmiştir. Gliserol ve farklı DÖS plastikleştiriciler kullanılarak

elde edilen kitosan filmlerin kalınlığının da benzer özellik gösterdiği bildirilmiştir (Yu vd., 2023). DÖS ekstraktı içeren filmin kalınlığı DÖS filminden daha fazla olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Ancak, Chandra Roy vd. (2021) astaksantin içeren DÖS ekstraktı ile plastikleştirilen kitosan filmlerinin saf DÖS ile plastikleştirilen filmlerden daha kalın olduğunu rapor etmiştir. Bu durum, araştırmacılar tarafından DÖS ile elde edilen ekstrakttaki biyoaktif bileşiklerle ilişkilendirilmiştir. Liyofilize ekstrakt ilavesi ile kalınlıkta gözlenen değişimler incelendiğinde, katı madde miktarının film çözeltilerinde artırılmasıyla daha kalın filmler elde edilmiştir. Beklendiği gibi en kalın film Pek-DÖS-%2 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, bitkisel ekstraktların eklenmesinin daha kalın filmlere neden olduğunu rapor eden önceki çalışmalarla uyum içindedir (Go ve Song, 2020; Han ve Song, 2020; Kumar vd., 2021).

Çizelge 4.13. Pektin filmlerin fiziksel özellikleri

Filmler	Kalınlık (μm)	Nem miktarı (%)	Su buharı geçirgenliği ($\times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$)
Pek	32,11 \pm 1,18 ^{a*}	11,43 \pm 0,46 ^a	0,62 \pm 0,03 ^a
Pek-Gliserol	41,88 \pm 2,50 ^b	22,52 \pm 0,94 ^f	1,29 \pm 0,27 ^b
Pek-DÖS	45,33 \pm 2,79 ^c	19,08 \pm 0,78 ^e	1,43 \pm 0,05 ^b
Pek-DÖS ekstraktı	47,23 \pm 3,37 ^{cd}	16,78 \pm 0,79 ^b	1,37 \pm 0,05 ^b
Pek-DÖS-%0,5	49,75 \pm 4,80 ^d	18,64 \pm 0,86 ^{de}	1,35 \pm 0,02 ^b
Pek-DÖS-%1	65,38 \pm 4,48 ^e	17,33 \pm 0,54 ^{bc}	1,73 \pm 0,13 ^c
Pek-DÖS-%2	82,46 \pm 6,29 ^f	17,78 \pm 0,79 ^{cd}	2,07 \pm 0,02 ^d

* Aynı sütunlardaki farklı harfler film örnekleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade eder ($p<0,05$).

Ayrıca, pektin filmlerde plastikleştirici ve liyofilize ekstrakt kullanımı nem içeriği üzerinde istatistiksel olarak önemli ($p<0,05$) değişimler meydana getirmiştir (Çizelge 4.13). Pek filmiyle kıyaslandığında filmlerin nem miktarlarının, plastikleştirici ve liyofilize ekstrakt eklenmesiyle arttığı gözlenmiştir. En yüksek nem miktarı Pek-gliserol filmlerinde ölçülmüştür. Bu sonuç, gliserol ile plastikleştirilen nişasta tabanlı filmlerdeki nem içeriğinin KK-oksalik asit ve KK-askorbik asit gibi DÖS plastikleştiricilerle plastikleştirilen filmlere kıyasla daha yüksek olduğunu bildiren Sousa vd. (2022)'nin çalışması ile paralellik göstermektedir. Ayrıca, Pek-DÖS ekstraktı filmlerinin Pek-DÖS

filmlerine göre daha düşük bir nem içeriğine sahip olduğu ve bu sonuçların Chandra Roy vd. (2021) tarafından rapor edilen sonuçlar ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Liyofilize ekstrakt ilavesiyle üretilen aktif filmlerin nem içeriği, Pek-DÖS filmine kıyasla azalmıştır. Bu azalma, liyofilize ekstrakttaki fenolik bileşikler ile pektinin hidroksil grupları arasındaki etkileşim nedeniyle hidroksil gruplarının su molekülleriyle etkileşiminin sınırlanması ile açıklanmıştır.

Pektin filmlerinin su buharı geçirgenlik değerleri $0,62$ ile $2,07 \times 10^{-10} \text{ g m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1} \text{ Pa}^{-1}$ arasında değişmektedir (Çizelge 4.13). Film matrisine plastikleştirici madde eklenmesiyle su buharı geçirgenliği değerleri artmıştır. Pektin filmlerinin su buharı geçirgenliği değerlerinin kullanılan plastikleştiricilerin türüne, hidrofilik özelliklerine ve molekül ağırlıklarına bağlı olarak değişebileceği bilinmektedir (Pasini Cabello vd., 2015). Gliserol gibi plastikleştiriciler, polimer-polimer etkileşimlerini azaltmakta ve moleküler hareketliliği artırmaktadır. Bu da su buharlarının difüzyonunu kolaylaştırmakta ve su buharı geçirgenliğinin artmasına neden olmaktadır (Ghasemlou vd., 2011; Rodríguez vd., 2006). Bununla birlikte gliserol, DÖS ve DÖS ekstraktı ile plastikleştirilen pektin filmlerinin su buharı geçirgenliği değerleri arasında önemli bir farklılık ($p > 0,05$) bulunmamıştır. Yani plastikleştirici türü su buharı geçirgenliği üzerinde istatistiksel olarak anlamlı ($p > 0,05$) bir farklılık göstermemiştir. Benzer şekilde kitosan, mikrokristalin selüloz ve kurkumin kullanılarak kompozit film üretilen bir çalışmada, gliserol ve KK-gliserol (1:2) plastikleştiricilerinin su buharı geçirgenliği üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (Pereira ve Andrade, 2017). Gouveia vd. (2019) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise gliserol ve KK-gliserol (1:2) kullanılarak termo-kompresyon kalıplama yöntemiyle üretilen pektin filmlerinin su buharı geçirgenliği üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile Gouveia vd. (2019) tarafından yapılan çalışmanın sonuçları arasındaki fark, pektin filmlerinin üretiminde kullanılan farklı film oluşturma yöntemlerine atfedilmiştir. Plastikleştiricilere ek olarak, liyofilize ekstraktın kullanımının da filmlerin su buharı geçirgenliği üzerinde önemli bir etkiye ($p < 0,05$) sahip olduğu gözlenmiştir. Pek-DÖS ve Pek-DÖS-%0,5 filmlerinin benzer bir su buharı geçirgenliği değerine sahip olduğu, pektin filmlerinin su buharı geçirgenliği değerlerinin %1 ve %2 liyofilize ekstrakt ilavesinden sonra önemli ölçüde ($p < 0,05$) arttığı belirlenmiştir. Bu artış, su kullanılarak ekstrakte edilen LE'nin hidrofilik karakteri ile ilişkilendirilmiştir.

4.2.2 Mekanik özellikler

Plastikleştirici ve liyofilize ekstraktın filmlerin çekme direnci, kopma anındaki uzama ve young modulus değerleri üzerindeki etkileri Çizelge 4.14’de sunulmuştur. Sonuçlar, plastikleştirici ve liyofilize ekstraktın pektin filmlerinin mekanik özellikleri üzerinde anlamlı bir etkiye ($p < 0,05$) sahip olduğunu göstermiştir. Pek filmin diğer filmlere kıyasla daha yüksek çekme direnci ve young modulus değerine sahip olmasına rağmen daha düşük bir kopma anındaki uzama değerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu bulgular, polimer zincirleri arasındaki güçlü etkileşimle açıklanabilmektedir. Benzer bir bulgu, Almeida vd. (2018) tarafından plastikleştirici içermeyen kitosan filmler için de rapor edilmiştir. Gliserol, DÖS ve DÖS ekstraktının pektin filmlerine ilave edilmesi çekme direnci ve young modulus değerlerini azaltırken kopma anındaki uzama değerini artırmıştır. Film çözeltisine plastikleştirici eklemenin moleküler hareketliliği artırarak daha esnek bir yapı sağladığı iyi bilinmektedir (Grala vd., 2022). Bulgularımızla uyumlu olarak önceki bir çalışmada, KK-gliserol içeren %30 DÖS ve yeşil çay fenolikleri içeren DÖS ekstraktının kitosan filmlerde plastikleştirici olarak kullanılması ile çekme direncinin azaldığı ve kopma anındaki uzamanın arttığı bildirilmiştir (Alves vd., 2022). Bu çalışmada, DÖS ekstraktının DÖS’ye göre daha yüksek bir çekme direnci ve daha düşük bir kopma anındaki uzama değeri göstermesi su içeriğiyle açıklanabilir. DÖS’ler biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonu için oldukça etkili çözücüler olarak kabul edilmektedir. Ancak DÖS’lerin viskozitesi ekstraksiyon performanslarını önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Bu nedenle, viskozite seviyelerini azaltmak ve düzenlemek için su ilavesi gereklidir. DÖS ekstraktının su içeriği, lavanta fenoliklerinin etkili bir şekilde ekstrakte edilmesi için %33,5 olarak belirlenmiştir. Tüm film örneklerinde plastikleştirici miktarı sabit olmasına rağmen, DÖS ekstraktındaki su varlığı plastikleştirici olarak etkinliğini sınırlandırmaktadır. Ayrıca, DÖS ile plastikleştirilen filmlere liyofilize ekstraktın ilave edilmesi çekme direnci ve young modulus değerlerinde azalmaya ve kopma anındaki uzama değerinde aşamalı bir artışa neden olmuştur. Benzer sonuçlar, Han ve Song (2021) tarafından kavun kabuğu pektini kullanılarak üretilen filmlere kivi kabuğu ekstraktı ilavesi ile gözlenmiştir.

Çizelge 4.14. Pektin filmlerin mekanik özellikleri

Filmler	Çekme direnci (MPa)	Kopma anındaki uzama (%)	Young modulus (MPa)
Pek	68,27±2,50 ^f	3,31±0,45 ^a	94,57±2,75 ^d
Pek-Gliserol	32,41±2,41 ^d	19,38±2,48 ^d	11,16±0,75 ^b
Pek-DÖS	30,81±0,88 ^d	16,29±1,83 ^c	12,36±1,67 ^c
Pek-DÖS ekstraktı	39,62±2,11 ^e	14,77±1,16 ^b	12,66±1,07 ^c
Pek-DÖS-%0,5	21,28±2,95 ^c	20,59±2,58 ^{de}	12,16±0,90 ^{bc}
Pek-DÖS-%1	18,85±2,84 ^b	22,04±1,69 ^e	11,14±0,58 ^b
Pek-DÖS-%2	14,15±1,64 ^a	25,37±3,31 ^f	8,74±0,58 ^a

* Aynı sütunlardaki farklı harfler film örnekleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade eder (p<0,05).

4.2.3 Optik özellikleri

Filmlerin görünüşleri ve renk özellikleri sırasıyla Fotoğraf 4.1 ve Çizelge 4.15’de sunulmuştur. Gliserol, DÖS ve DÖS ekstraktı gibi plastikleştiricilerin filmlere eklenmesinin, renk parametreleri olan L*, a*, b* ve ΔE üzerinde istatistiksel olarak önemsiz (p>0,05) bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte filmlerin renk özellikleri, film çözeltisine eklenen liyofilize ekstrakt miktarına bağlı olarak önemli düzeyde değişimler göstermiştir. Liyofilize ekstrakt miktarının artmasıyla birlikte, filmlerin L* değeri azalarak daha koyu bir renk meydana gelmiştir. Ayrıca, sarılığı ifade eden b* değeri de liyofilize ekstrakt ilavesi ile birlikte artmıştır. Beyazlık indeksindeki azalışlar ve sarılık indeksindeki artışlar birbiriyle paralellik göstermektedir (Çizelge 4.16). Bu renk farklılıkları, ekstraktların orijinal rengine atfedilmiştir. Literatürdeki bir çalışmada, rambutan kabuğu ekstraktının pektin filmlere eklenmesiyle L* ve b* değerlerinde benzer bir eğilim gözlemlenmiştir (Go ve Song, 2020).



Fotoğraf 4. 1. Pektin filmlerin görünüşleri

Çizelge 4.15. Pektin filmlerin renk özellikleri

Filmler	L*	a*	b*	ΔE
Pek	93,23±0,28 ^d	-0,88±0,04 ^c	4,94±0,22 ^a	2,04±0,34 ^a
Pek-Gliserol	93,32±0,45 ^d	-0,91±0,03 ^c	5,04±0,12 ^a	2,05±0,37 ^a
Pek-DÖS	93,28±0,26 ^d	-0,91±0,01 ^c	5,09±0,20 ^a	2,10±0,28 ^a
Pek-DÖS ekstraktı	93,33±0,31 ^d	-0,89±0,01 ^c	5,10±0,09 ^a	2,08±0,21 ^a
Pek-DÖS-%0,5	87,98±0,16 ^c	-1,69±0,05 ^a	24,69±0,19 ^b	22,14±0,21 ^b
Pek-DÖS-%1	85,33±0,87 ^b	-1,23±0,26 ^b	32,57±1,98 ^c	30,45±1,95 ^c
Pek-DÖS-%2	71,54±0,54 ^a	6,95±0,38 ^d	53,51±0,72 ^d	55,56±0,87 ^d

* Aynı sütunlardaki farklı harfler film örnekleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade eder ($p < 0,05$).

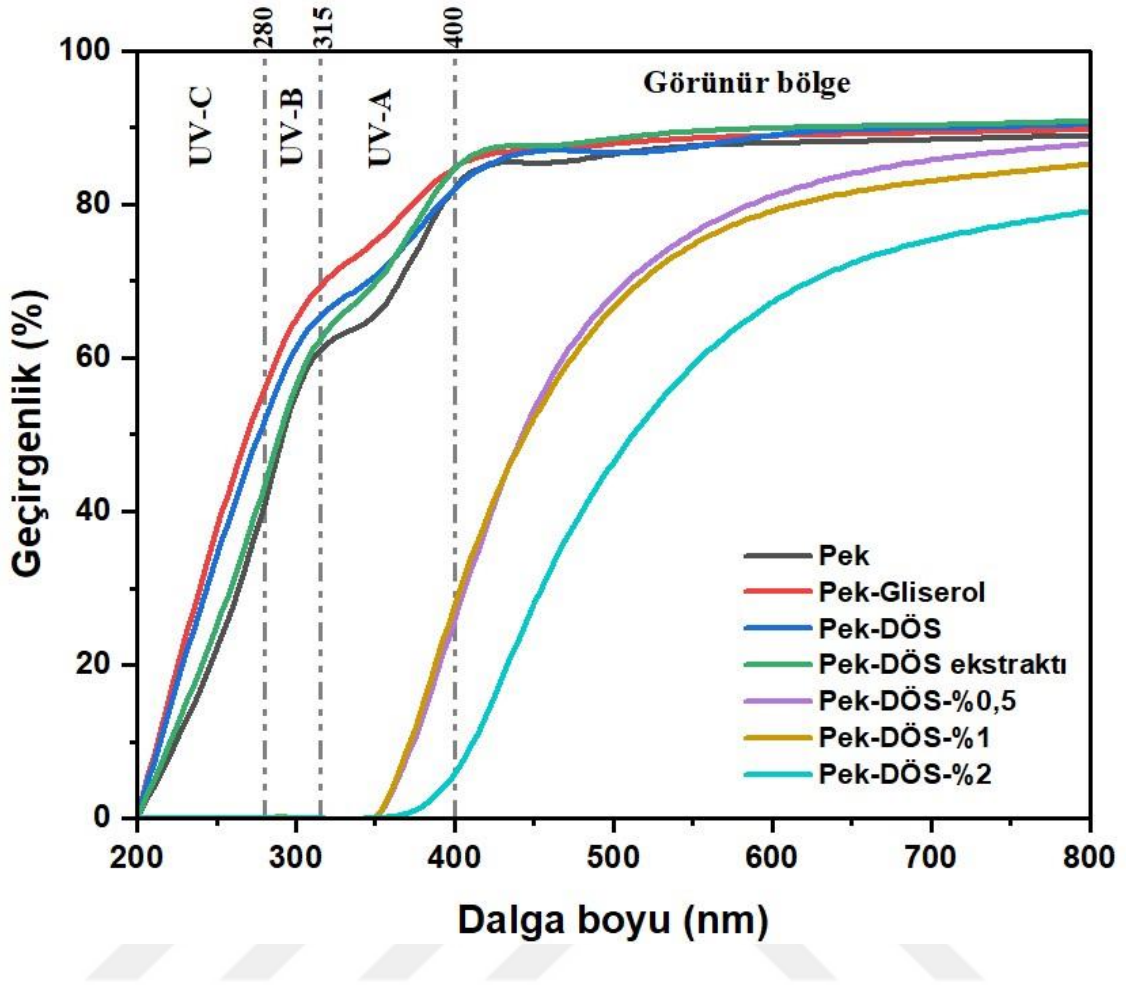
Filmlerin ışık geçirgenlik özellikleri incelendiğinde, plastikleştiricilerin eklenmesinden sonra opaklık değerinin istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) düzeyde azaldığı görülmüştür (Çizelge 4.16). Başka bir ifadeyle, plastikleştirici içeren filmler daha şeffaf bir yapıya sahip olmuştur. Bu durum plastikleştiricilerin seyreltme etkisiyle ilişkilendirilmiştir. Öte yandan, DÖS ile plastikleştirilen filmlerin opaklık değeri farklı liyofilize ekstrakt miktarlarının eklenmesiyle 1,25'ten 2,16'ya yükselmiştir. Bu sonuç liyofilize ekstrakttaki biyoaktif bileşiklerin ışık absorplama yeteneği ile ilişkilendirilmiştir. Benzer bir sonuç, farklı konsantrasyonlarda rambutan kabuğu ekstraktı ile üretilen pektin filmler için bildirilmiştir (Go ve Song, 2020).

Çizelge 4.16. Pektin filmlerin beyazlık, sarılık indeksleri ve opaklık değerleri

Filmler	Beyazlık indeksi	Sarılık indeksi	Opaklık (Abs₆₀₀/mm)
Pek	94,35±0,21 ^d	7,56±0,35 ^a	1,82±0,11 ^e
Pek-Gliserol	94,27±0,14 ^d	7,71±0,21 ^a	1,23±0,08 ^b
Pek-DÖS	94,21±0,18 ^d	7,80±0,31 ^a	1,25±0,07 ^b
Pek-DÖS ekstraktı	94,22±0,08 ^d	7,80±0,13 ^a	1,12±0,03 ^a
Pek-DÖS-%0,5	75,01±0,19 ^c	40,09±0,36 ^b	1,43±0,07 ^c
Pek-DÖS-%1	67,18±1,97 ^b	54,54±3,44 ^c	1,56±0,09 ^d
Pek-DÖS-%2	45,78±0,74 ^a	106,87±2,14 ^d	2,16±0,05 ^f

* Aynı sütunlardaki farklı harfler film örnekleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade eder (p<0,05).

Opaklık haricinde filmlerin ışık geçirgenlikleri 200-800 nm dalga boyları arasında UV-C, UV-B, UV-A ve görünür bölgede incelenmiştir (Şekil 4.9). Buna göre UV-C, UV-B ve UV-A bölgelerinde filmlere plastikleştirici ilavesi ile ışık geçirgenliğinin arttığı gözlenmiştir. Ancak filmlere liyofilize ekstrakt ilavesi ile UV-C ve UV-B bölgelerinde ışık geçişinin olmadığı ölçülürken, UV-A bölgede liyofilize ekstrakt içermeyen filmlere göre oldukça düşük bir geçirgenlik gösterdikleri belirlenmiştir. Yine benzer şekilde, görünür bölgede liyofilize ekstrakt kullanılarak üretilen filmlerin Pek filmine ve plastikleştirici içeren filmlere kıyasla ışık geçirgenliklerinin etkili bir şekilde azaldığı gözlenmiştir. Bu bulgular, liyofilize ekstrakt içeren pektin filmlerinin ışık tarafından tetiklenen lipit oksidasyonunu önlemek için iyi bir bariyer olabileceğini göstermektedir.

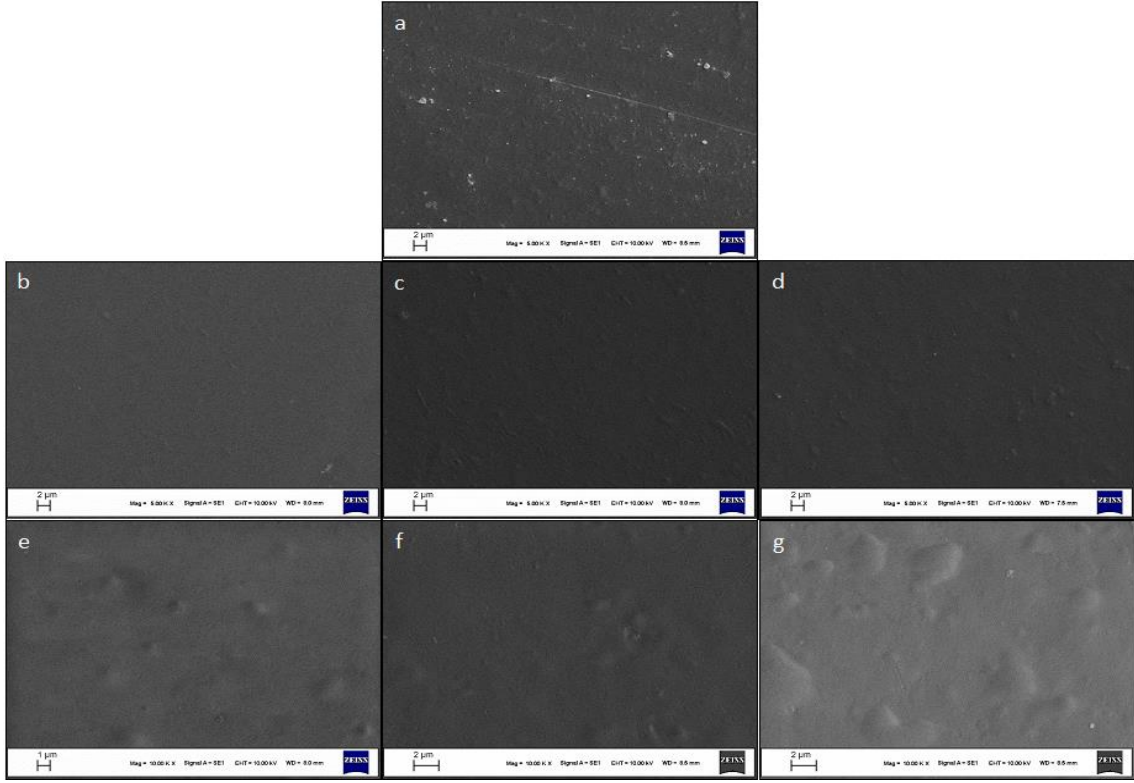


Şekil 4.9. Pektin filmlerin ışık geçirgenlikleri

4.2.4 Taramalı elektron mikroskopu (SEM)

SEM analizi yüksek büyütme oranlarında filmlerin yüzey yapısını değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir. Pektin filmlerin SEM görüntüleri Şekil 4.10'da sunulmuştur. Filmlerin yüzey bölgelerinde çatlak ve faz ayrılması gözlenmemiştir. Bu bulgu tutarlı bir film matrisinin oluştuğunu göstermektedir. Tüm film örnekleri sürekli bir mikroyapı sergilemiştir. Üzerinde katı parçacıklar gözlenen Pek film, diğer filmlere kıyasla daha pürüzlü bir yüzeye sahiptir. Plastikleştiricilerin eklenmesinden sonra yüzeyde bazı düzensizlikler gözlemlense de görüntüler plastikleştiricilerin eklenmesiyle daha düzgün bir yüzey morfolojisinin elde edildiğini ortaya koymaktadır. Plastikleştirici eklenen filmler arasında gliserol kullanımı, DÖS ve DÖS ekstraktına kıyasla daha düzgün bir yüzey sağlamıştır. Ayrıca, liyofilize ekstraktın eklenmesi film yüzey yapısında belirgin bir etkiye sahiptir. Liyofilize ekstrakt içeren filmlerin yüzeylerinde şişkinlikler

gözlenmiştir. Bu durumun liyofilize ekstraktın bileşenleri ile pektin matrisi arasındaki etkileşimden kaynaklandığı düşünülmektedir. Genel olarak SEM görüntüleri, DÖS, DÖS ekstraktı ve liyofilize ekstrakt kullanımında düzenli bir film yapısının elde edildiğini işaret etmektedir.

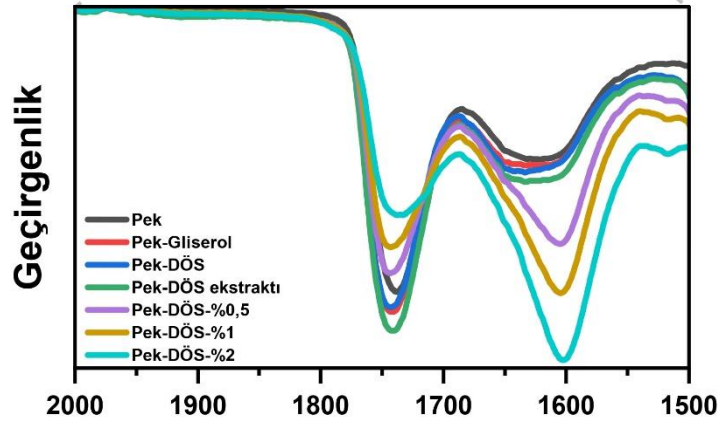
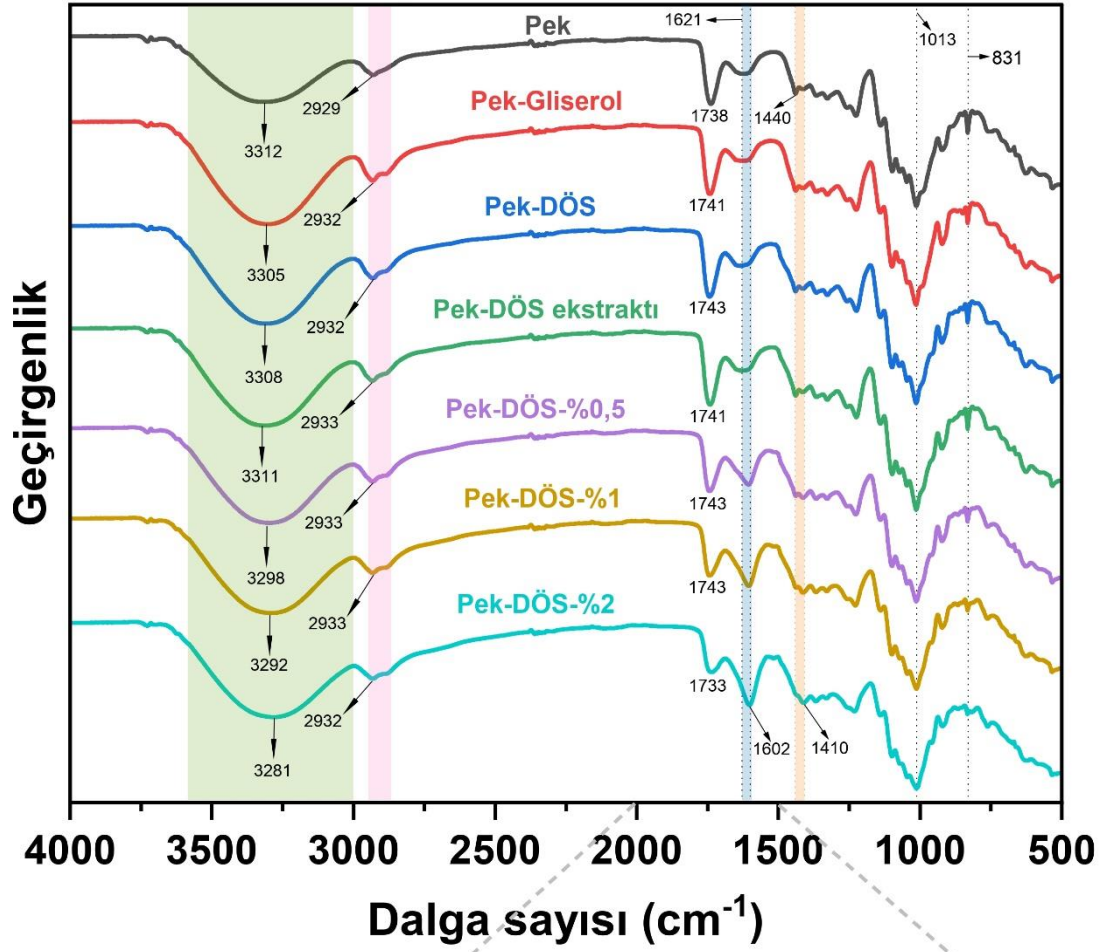


Şekil 4.10. Pek (a), Pek-Gliserol (b), Pek-DÖS (c), Pek-DÖS ekstraktı (d), Pek-DÖS-%0,5 (e), Pek-DÖS-%1 (f) ve Pek-DÖS-%2 (g) filmlerin taramalı elektron mikroskopu görüntüleri

4.2.5 FTIR analizi

Filmlerin moleküler yapılarının değerlendirilmesi için FTIR analizi ile gerçekleştirilmiş olup pektin filmlerinin FTIR spektrumları Şekil 4.11’de sunulmuştur. Tüm pektin filmlerinin spektrumu, O-H gerilme titreşimi olarak temsil edilen 3600 ila 3000 cm^{-1} arasında geniş bir bant göstermiştir (Pasini Cabello vd., 2015). 3312 cm^{-1} ’de merkezlenen pik, plastikleştiricilerin ve liyofilize ekstraktın eklenmesiyle hafifçe genişlemiş ve daha düşük bir dalga sayısına kaymıştır. Bu durum, plastikleştiricilerin ve liyofilize ekstraktın pektin matrisiyle daha fazla hidrojen bağı oluşturduğunu göstermektedir. 2929 cm^{-1} civarındaki ikili pik, filmlerde metil ve metilen grubunun C-H bağ gerilme titreşimlerini

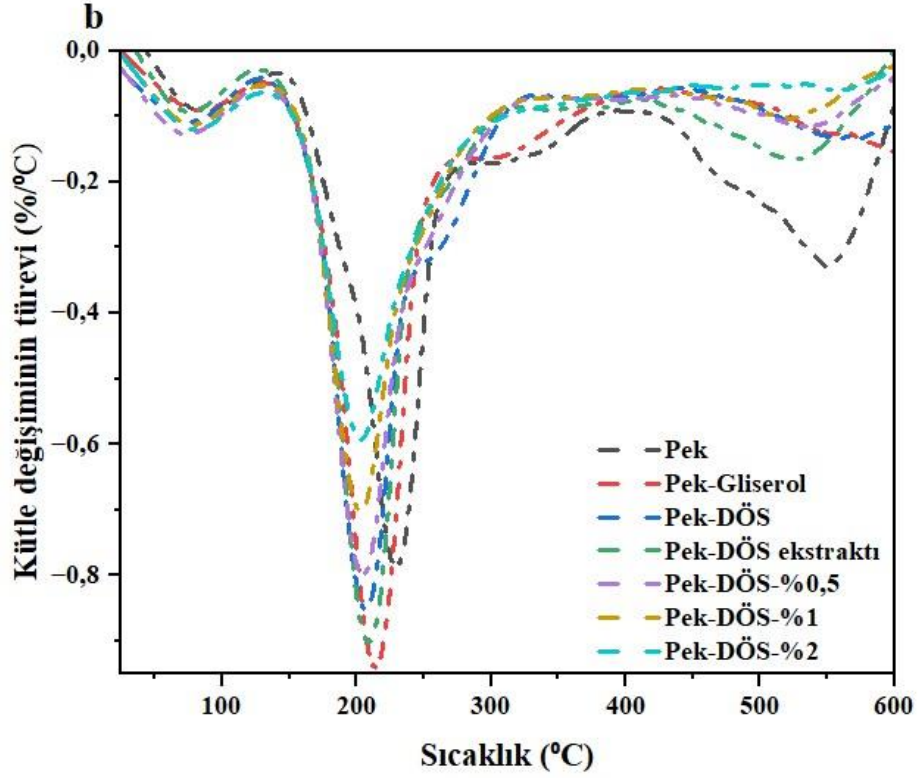
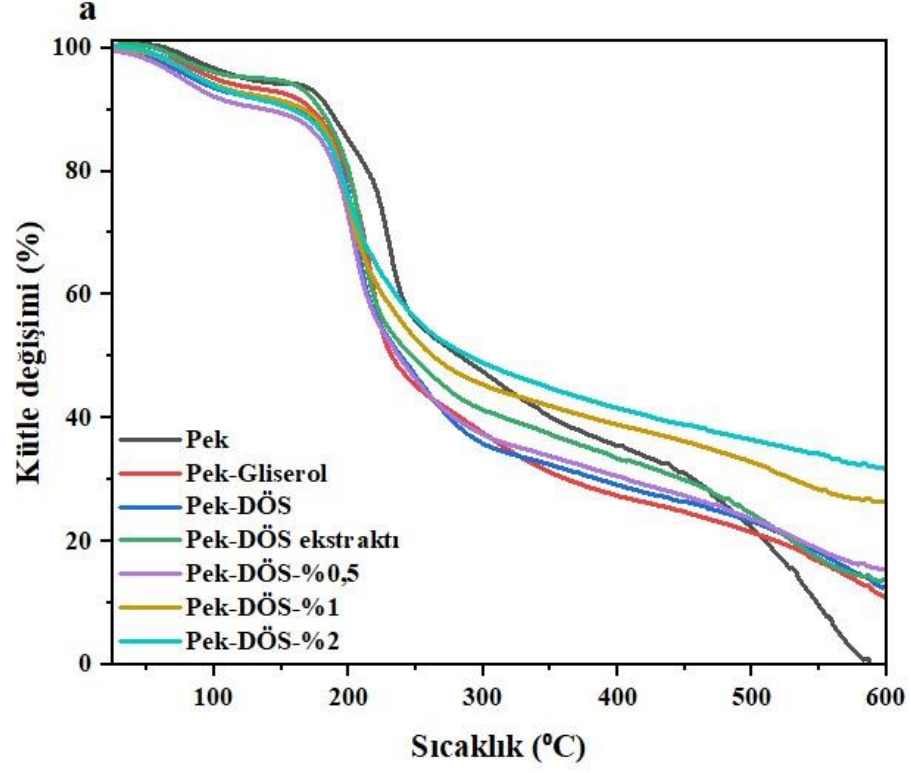
temsil etmektedir (Han ve Song, 2020). 1738 cm^{-1} civarındaki pik, metil esterleşmiş karbonil gruplarının ($-\text{COOCH}_3$) $\text{C}=\text{O}$ gerilme titreşimini göstermektedir. Ayrıca, 1621 cm^{-1} ve 1440 cm^{-1} 'deki pikler serbest karboksil gruplarının asimetrik ve simetrik gerilme titreşimini temsil etmektedir (Meng vd., 2020). 1738 cm^{-1} 'deki pikin yoğunluğu liyofilize ekstraktın eklenmesiyle azalırken, 1621 cm^{-1} 'deki pik keskinleşmiş ve 1602 cm^{-1} 'e doğru kayma göstermiştir. Pik yoğunluklarındaki değişiklikler, film yapısındaki liyofilize ekstrakt seviyesiyle orantılı olarak gerçekleşmiştir. Bu bulgu, pektin zinciri ile liyofilize ekstrakt arasındaki etkileşime bağlı olarak karbonil gruplarının de-metilasyonunun bir göstergesi olarak düşünülmektedir. Bu çıkarım, serbest karboksilin asimetrik gerilme titreşimini temsil eden 1621 cm^{-1} 'deki pikin yoğunluğunun artmasıyla desteklenmiştir (Şekil 4.11). Benzer bir gözlem Han ve Song (2020) tarafından farklı konsantrasyonlarda adaçayı yaprağı ekstraktı içeren pektin filmleri için rapor edilmiştir.



Şekil 4.11. Pektin filmlerin FTIR spektrumları

4.2.6 Termogravimetrik analiz

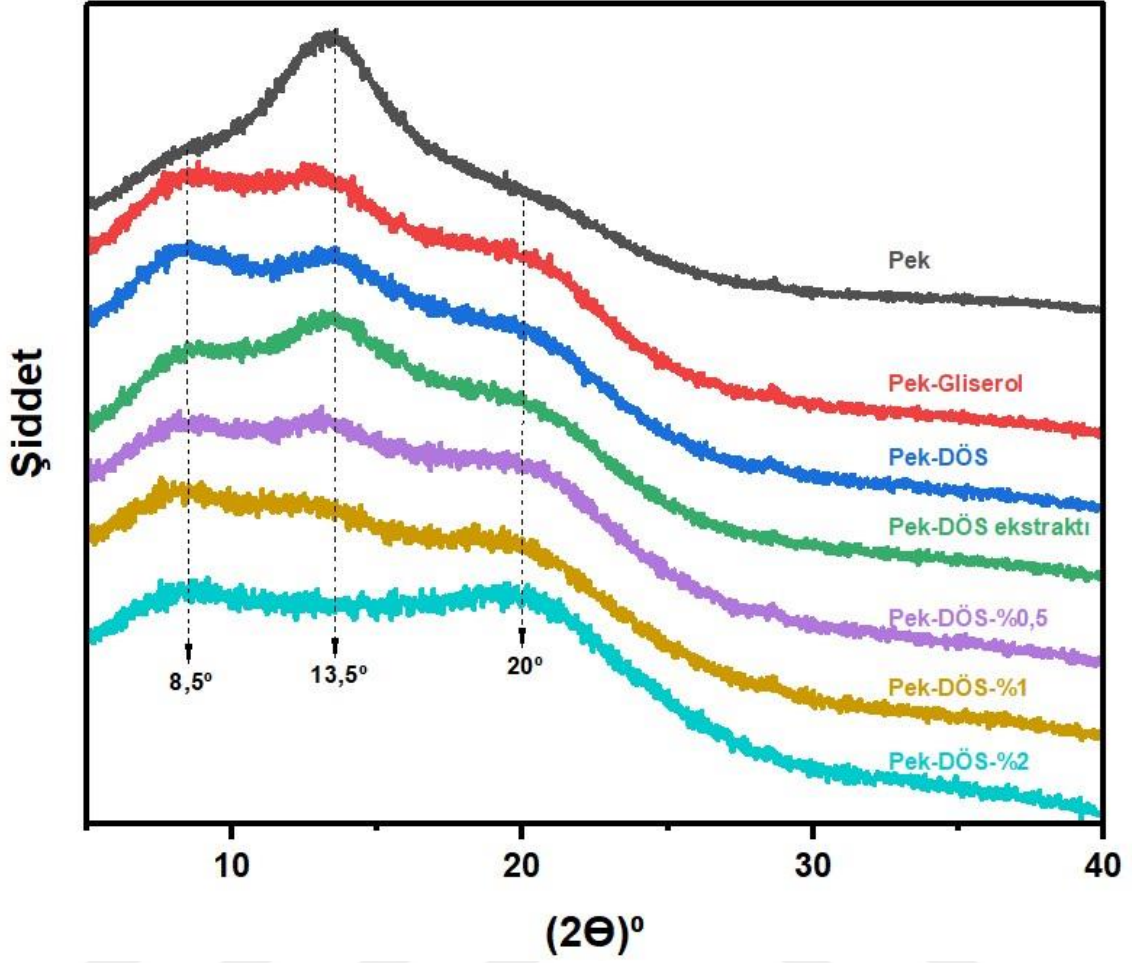
Pektin filmlerinin termal özellikleri TGA kullanılarak değerlendirilmiştir. Film örneklerinin TGA ve DTGA eğrileri Şekil 4.12’de verilmiştir. Pektin filmlerinin TGA/DTGA eğrilerine göre birden fazla aşamada kütle kaybının gerçekleştiği gözlenmiştir. İlk aşama, 41-143°C aralığında serbest suyun buharlaşması, pektin yapısına bağlı suyun ve liyofilize ekstraktın uçucu bileşiklerinin kaybı nedeniyle meydana gelmiştir. 143°C ile 390°C arasındaki kütle kaybı, plastikleştiricilerin ve pektin yapısının parçalanmasına atfedilmiştir. Pek filmi için maksimum kütle kaybı sıcaklığı (T_{max}) 229°C olarak belirlenmiştir. Plastikleştiriciler ve liyofilize ekstraktın eklenmesiyle filmlerin T_{max} değeri Pek filmine göre daha düşük bir sıcaklığa doğru hareket etmiştir. Pek-Gliserol, Pek-DÖS, Pek-DÖS ekstraktı, Pek-DÖS-%0,5, Pek-DÖS-%1 ve Pek-DÖS-%2 için T_{max} değeri sırasıyla 213°C, 206°C, 208°C, 203°C, 203°C ve 203°C olarak belirlenmiştir. Sonuçlar, DÖS ve DÖS ekstraktının plastikleştirici olarak kullanılmasının gliserole kıyasla daha düşük termal dayanıma sebep olduğunu göstermektedir. Benzer bir bulgu, KK-gliserol ile plastikleştirilen kitosan filmler için de rapor edilmiştir (Yu vd., 2023). Pek-DÖS filmlere liyofilize ekstrakt eklenmesiyle T_{max} değeri 206°C’den 203°C’ye düşmüştür. Bununla birlikte, liyofilize ekstrakt konsantrasyonunun artması filmlerin termal özelliklerini etkilememiştir. Bu durum liyofilize ekstrakt içeren filmlerde benzer bir şekilde depolimerizasyonun meydana geldiğini göstermektedir. Ayrıca, Pek filmi 589°C’de tamamen yanmıştır. Yanma sonrası kalan ağırlıklar Pek-Gliserol, Pek-DÖS, Pek-DÖS ekstraktı, Pek-DÖS-%0,5, Pek-DÖS-%1 ve Pek-DÖS-%2 filmleri için sırasıyla %10,57, %12,23, %13,20, %15,06, %25,98 ve %31,43 olarak bulunmuştur. %0,5, %1 ve %2 liyofilize ekstrakt içeren filmlerin 600°C’de kalan ağırlığı diğer filmlere kıyasla daha yüksek bulunmuştur. Bu gözlem, liyofilize ekstrakttaki fenolik bileşiklerden gelen termal olarak kararlı aromatik halkaların varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Han ve Song, 2020).



Şekil 4.12. Pektin filmlerin termogravimetrik (a) ve diferansiyel termogravimetrik (b) eğrileri

4.2.7 XRD analizi

Pektin filmlerinin XRD kırınım desenleri Şekil 4.13'de sunulmuştur. Filmlerin difraktogramları keskin difraksiyon pikleri göstermezken geniş hale şeklinde pikler sergilemiştir. Bu, tüm filmlerin amorf bir yapıya ve düşük kristallenme derecesine sahip olduğunu göstermektedir (Hosseini vd., 2020). Pek filmde $2\theta \approx 13,5^\circ$ 'de geniş bir difraksiyon piki gözlemlenmiştir. Daha önceki çalışmalarda, pektin filmlerinin $12,4^\circ$ (Norcino vd., 2020), $15,72^\circ$ (Nisar vd., 2018) ve $22,4^\circ$ (Almasi vd., 2020) değerlerinde karakteristik piklere sahip olduğu bildirilmiştir. Plastikleştiriciler eklendikten sonra, $2\theta \approx 13,5^\circ$ 'deki pikin yoğunluğu azalmıştır. Ayrıca, plastikleştiricilerin kullanımıyla $2\theta \approx 8,5$ ve $\approx 20^\circ$ olmak üzere iki yeni geniş pik ortaya çıkmıştır. Bu gözlem, pektin molekülleri ile plastikleştiriciler arasındaki moleküler etkileşimlere bağlı olarak pektin-pektin zincirleri arasındaki hidrojen bağlarının zayıfladığını göstermektedir. Genel olarak, plastikleştirici kullanılarak üretilen filmlerin difraksiyon deseni birbirine benzerdir. Öte yandan, %0,5 seviyesinde liyofilize ekstrakt eklenmesi, $2\theta \approx 13,5^\circ$ 'deki pikin yoğunluğunda liyofilize ekstrakt içermeyen pektin filmlerine kıyasla daha büyük bir azalmaya neden olmuştur. Benzer bir bulgu Marangoni Júnior vd. (2022) tarafından yeşil propolis ekstraktı kullanılarak aktif pektin filminin geliştirildiği bir çalışmada da rapor edilmiştir. Dahası bu geniş pik, liyofilize ekstraktın konsantrasyonu %2'ye kadar arttığında kaybolmuştur. Bu gözlem, liyofilize ekstrakt ile hazırlanan filmlerin liyofilize ekstrakt eklenmeyen filmlere kıyasla daha amorf olduğunu ifade etmektedir. Tepeciklerde bazı değişiklikler tespit edilmiş olmasına rağmen hem plastikleştiricilerin hem de liyofilize ekstraktın pektin matrisine eklenmesi filmlerin amorf karakterini etkilememiştir. XRD analizinden elde edilen sonuçlar, plastikleştiriciler ve liyofilize ekstrakt içeren filmlerin daha düşük çekme direnci ve young modulus değerlerine ve daha yüksek kopma anındaki uzama değerine sahip olduğunu gösteren mekanik analizden elde edilen sonuçlarla yüksek oranda uyumluluk göstermektedir (Çizelge 4.14).



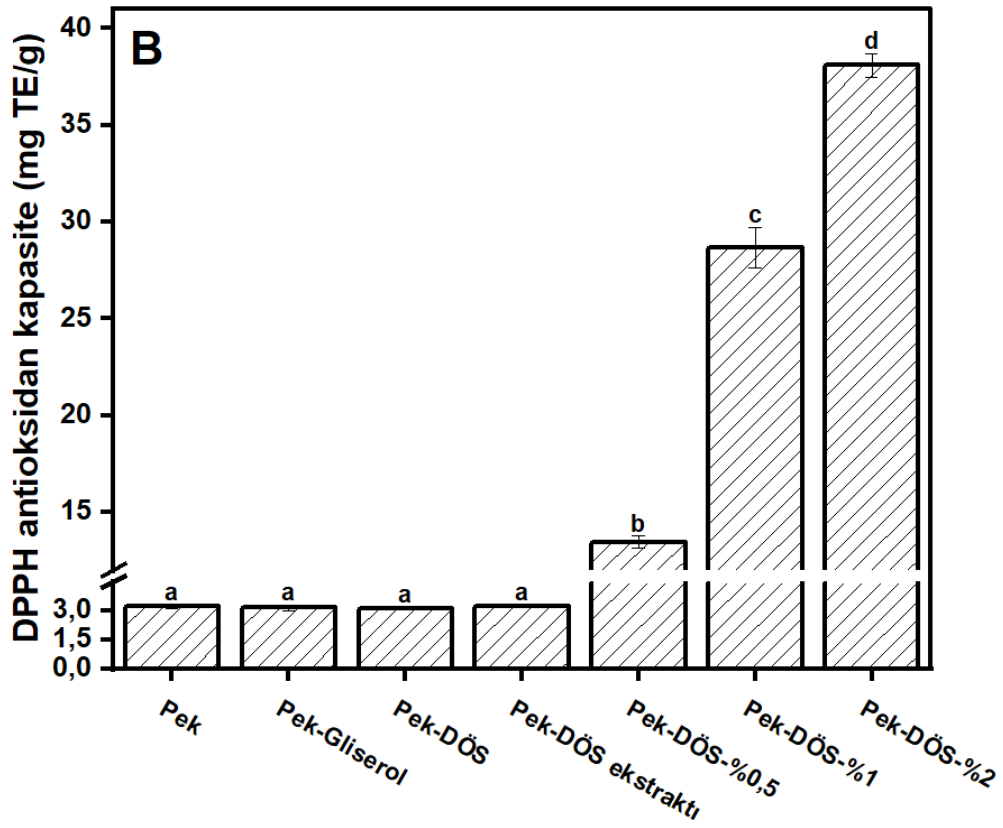
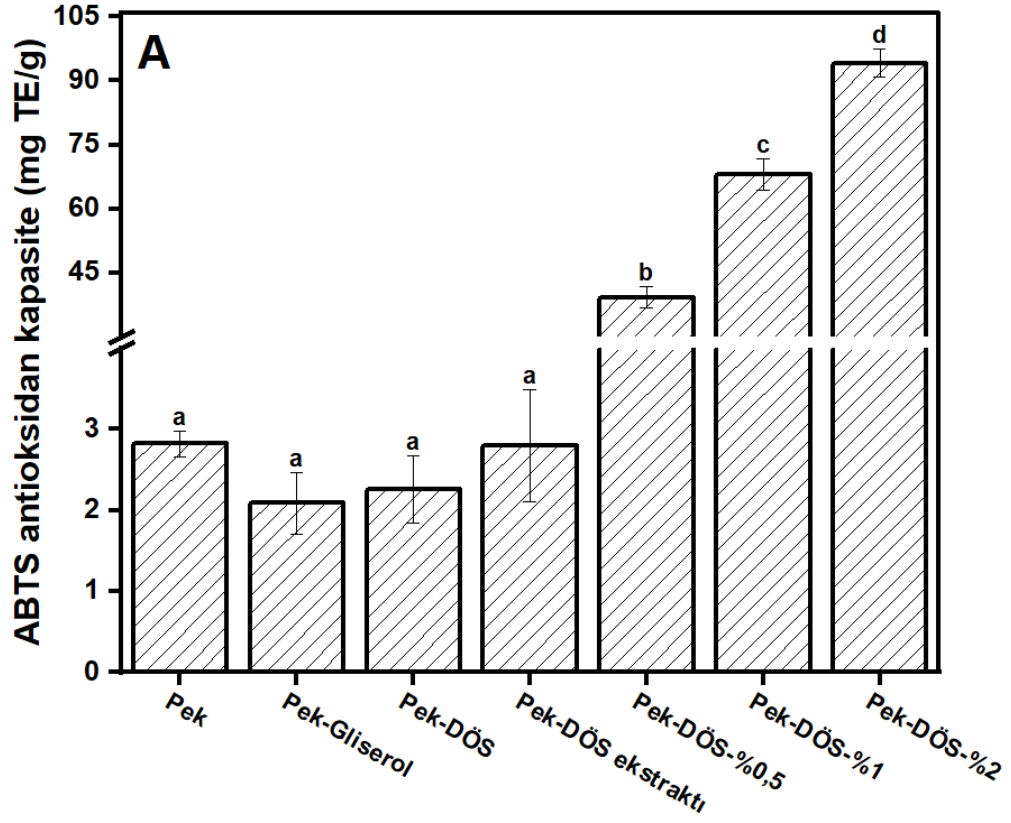
Şekil 4.13. Pektin filmlerin XRD kırınım desenleri

4.2.8 Antioksidan kapasite

Pektin filminin antioksidan kapasitesi ABTS ve DPPH testleri kullanılarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.14’de verilmiştir. Her iki testte de tüm filmler radikallere karşı inhibitör etki göstermiştir. Pek, Pek-Gliserol, Pek-DÖS ve Pek-DÖS ekstraktı filmleri arasında antioksidan kapasiteleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Benzer şekilde, Meerasri ve Sothornvit (2020) tarafından yapılan çalışmada da pektin film ile gliserol kullanılarak plastikleştirilmiş pektin film arasında antioksidan kapasite açısından anlamlı bir farkın olmadığı rapor edilmiştir. Yu vd. (2023) tarafından yürütülen bir çalışmada, kitosan filmlerinin antioksidan kapasitesi üzerine DÖS türü ve konsantrasyonunun etkisi incelenmiş ve plastikleştirici olarak KK-gliserol ve gliserol kullanıldığında antioksidan kapasitede bir azalma olduğu, KK-asetilsalisilik asit ve KK-C vitamini kullanıldığında ise daha yüksek

bir antioksidan kapasite gözlemlendiği bildirilmiştir. Ayrıca, araştırmacılar KK-asetilsalisilik asit ve KK-C vitamini konsantrasyonlarının %20'den %60'a çıkarılması ile filmlerin ABTS antioksidan kapasitesi ve Fe³⁺ indirgeme yeteneğinin arttığını rapor etmişlerdir (Yu vd., 2023). Bir başka çalışmada, kırmızı ejder meyvesinin kabuğundan betaninin KK-üre, KK-gliserol ve KK-etilen glikol olmak üzere üç farklı çözücü kullanılarak DÖS ekstraksiyonu gerçekleştirilmiş ve elde edilen ekstraktlar plastikleştirici ve antioksidan bileşik kaynağı olarak kitosan filmlere eklenmiştir. Çalışma sonucunda kontrol filmiyle kıyaslandığında filmlerin antioksidan kapasiteleri arasında önemli bir farkın olmadığı belirtilmiştir (Prajapati ve Jadeja, 2023). Dolayısıyla, bu tez çalışmasında DÖS ve DÖS ekstraktı kullanımıyla elde edilen filmlerin antioksidan kapasitesinde istatistiksel olarak önemsiz sonuçlar elde edilmesinde, kullanılan DÖS türü ve DÖS ekstraktı konsantrasyonu ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir.

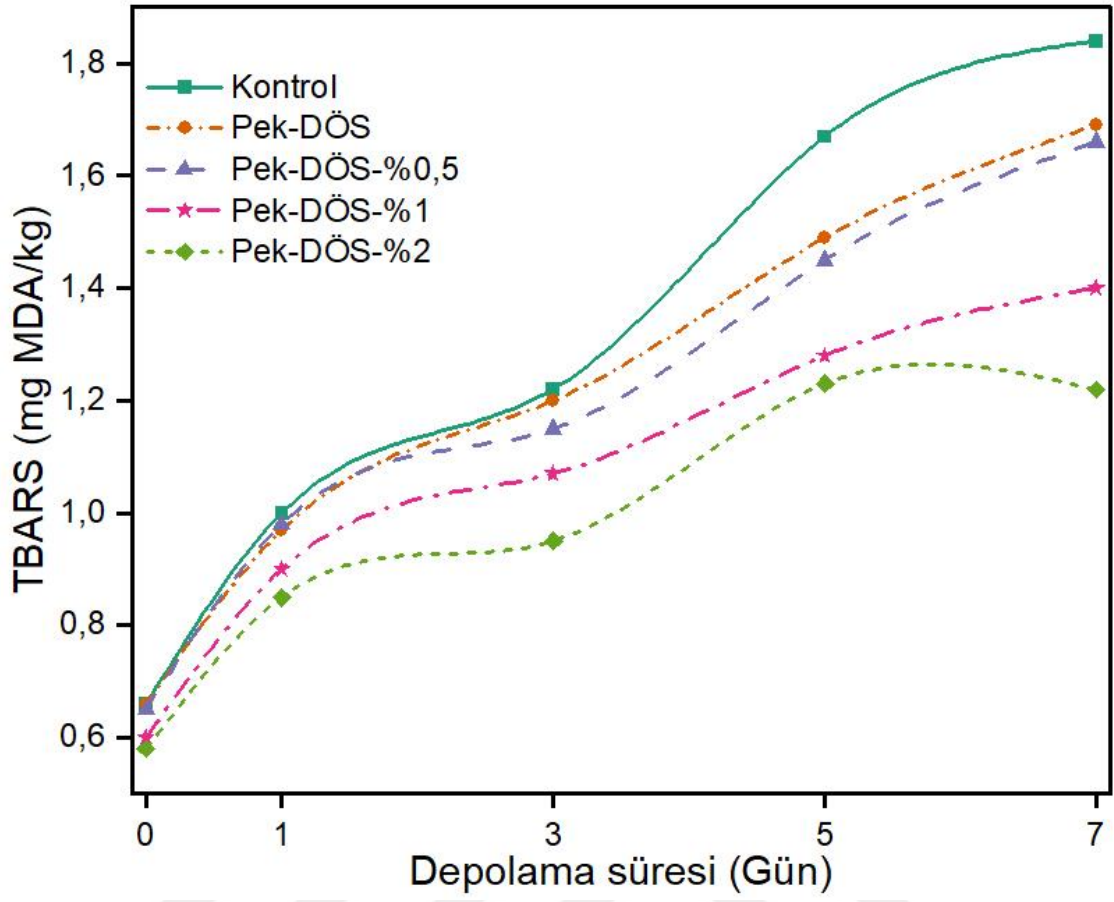
Liyofilize ekstrakt eklemenin etkisi incelendiğinde, liyofilize ekstraktın film çözeltisine ilave edilmesi antioksidan kapasiteyi istatistiksel olarak anlamlı (p<0,05) bir şekilde artırmıştır. Ayrıca liyofilize ekstraktın ilave edilmesiyle filmlerin antioksidan kapasitesi konsantrasyona bağlı olarak artmıştır. Beklenildiği gibi en yüksek antioksidan kapasite Pek-DÖS-%2 filminde tespit edilmiştir. Lavantanın sulu ekstraktındaki fenolik bileşiklerin, pektin filmlerin gelişmiş antioksidan kapasitesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir (Çizelge 4.5). Bu sonuçlar, önceki çalışmaların bulgularıyla paralellik göstermektedir (Go ve Song, 2020; Han ve Song, 2021; Marangoni Júnior vd., 2022). Bu çalışmalarda pektin filmlerinin doğal ekstraktlar eklenmesiyle daha üstün antioksidan kapasiteye sahip olduğu bildirilmiştir. Bulgularımıza göre, lavantadan elde edilen liyofilize ekstraktın, DÖS ile plastikleştirilmiş pektin filmlerinin üretiminde kullanımı antioksidan pektin filmlerinin geliştirilmesi için potansiyel bir kaynaktır.



Şekil 4.14. Pektin filmlerin ABTS (A) ve DPPH (B) antioksidan kapasiteleri

4.3 Pişmiş köfte örneklerinde lipit oksidasyonu üzerine pektin kaplamaların etkileri

Pişmiş köfte örneklerinde farklı pektin kaplamaların kullanımı ve +4°C depolama sıcaklığında TBARS miktarında meydana gelen değişimler Şekil 4.15’de gösterilmiştir. Depolama başlangıcında pişmiş köfte örneklerinin TBARS değerleri 0,58 ile 0,66 mg MDA/kg arasında belirlenmiştir. Hem kaplama işlemi hem de depolama sonucunda köfte örneklerinin TBARS değerlerinde istatistiksel olarak önemli ($p < 0,05$) artışlar meydana gelmiştir. Depolama sonucunda örneklerin TBARS değerleri 1,22 ile 1,84 mg MDA/kg arasında değişmiştir. Depolamanın başlangıcında kontrol örneğinde 0,66 mg MDA/kg olan TBARS miktarı depolama sonunda 1,84 mg MDA/kg değerine ulaşmıştır. TBARS miktarındaki en yüksek artış kontrol örneğinde gözlenmiştir. Kaplama işleminin uygulanması ile köfte örneklerinde kontrol örneğine kıyasla daha düşük TBARS değerleri elde edilmiştir. Benzer sonuçlar tavuk budunun depolanmasında kivi kabuğu ekstraktı içeren pektin filmlerin TBARS değeri üzerine etkilerini inceleyen Han ve Song (2021) ve hindi etinin +4°C sıcaklıkta depolanmasında *Malva sylvestris* ekstraktı içeren müsülaj esaslı kaplamaların oksidasyon üzerine etkilerini inceleyen Mojarradi vd. (2023) tarafından rapor edilmiştir. Kaplama işlemi ile lipit oksidasyonundaki azalma pektin esaslı kaplamaların antioksidan özellikleri ile ilişkilendirilmiştir. Diğer yandan pektin kaplamalara liyofilize ekstrakt ilavesi pektin filmlerin antioksidan özelliklerini daha ileri bir seviyeye taşımıştır. Liyofilize ekstraktın ilavesi ile kaplamaların antioksidan kapasitesi artmış ve buna bağlı olarak da lipit oksidasyonunu inhibe edici kapasitesi gelişmiştir. Depolama sonucunda Pek-DÖS ile Pek-DÖS-%0,5 kaplamaların kullanımı ile TBARS miktarında istatistiksel olarak önemli bir farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Ancak artan liyofilize ekstrakt miktarı ile birlikte TBARS miktarı da azalmıştır. Bu durum liyofilize ekstrakt miktarına bağlı olarak kaplamaların antioksidan özelliklerinin arttığını açıkça ortaya koymaktadır. Depolama sonucunda en düşük TBARS miktarı (1,22 mg MDA/kg) Pek-DÖS-%2 kaplamanın uygulandığı köfte örneklerinde belirlenmiştir. Bu sonuçlar, pişmiş köfte örneklerinde lipit oksidasyonuna karşı pektin esaslı aktif kaplamaların uygulanması ile köftelerde lipit oksidasyonunun kontrol edilebileceğini ifade etmektedir.



Şekil 4.15. Pişmiş köfte örneklerinin TBARS miktarında meydana gelen değişimler

BÖLÜM V

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında yürütülen çalışmalar üç ana başlık altında toplanmıştır. Çalışmaların ilk aşamasında lavanta bitkisinden fenolik bileşiklerin yeni nesil ekstraksiyon çözücülerini olarak da tanımlanan DÖS'ler kullanılarak ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. DÖS'ler kullanılarak elde edilen sonuçlar klasik ekstraksiyon çözücülerini ile kıyaslanmış ve sonuç olarak DÖS'lerin ekstraksiyonda etkinliği ortaya konulmuştur. Ardından ekstraksiyon etkinliğini artırmak için istatistiksel optimizasyon yöntemleri kullanılmıştır. Lavantadan fenolik bileşiklerin ultrases destekli ve DÖS'ler kullanılarak ekstraksiyonu üzerine etki edebilecek faktörler literatür araştırması sonucunda belirlenmiş ve bu faktörlerin etki düzeyleri FFD kullanılarak analiz edilmiştir. Bir diğer istatistiksel yaklaşım olarak en dik artış/azalış yöntemi kullanılarak ekstraksiyon değişkenlerinin optimum seviye aralıklarının belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerin ardından ekstraksiyonda etkili olan faktörler ve seviyeleri belirlenmiştir. Ekstraksiyon çalışmalarının son aşamasında en etkin ekstraksiyon noktalarının belirlenmesi için RSM kullanılmıştır. Doğrulama analizleri gerçekleştirildikten sonra elde edilen ekstraktların uçucu bileşenleri ve fenolik madde kompozisyonları belirlenmiştir. Bu aşamada elde edilen sonuçlar aşağıda detaylandırılmıştır:

- Ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu bakımından en iyi çözücü, 1:2 molar oranında hazırlanan KK ve gliserolden oluşan DÖS olarak belirlenmiştir.
- Ultrases genliği, sıcaklık, süre, sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarı gibi farklı değişkenlerin ekstraksiyon üzerine etkileri incelendiğinde sıcaklık, sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarı istatistiksel olarak önemli değişkenler olarak bulunmuştur. Ultrases genliği ve sürenin fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine etkilerinin ihmal edilebilir düzeyde olduğu tespit edilmiştir.
- Sıcaklık, sıvı/katı oranı ve DÖS'deki su miktarı değişkenlerinin seviyelerinin fenolik madde ekstraksiyonuna etkileri incelendiğinde optimum noktaya en yakın bölgenin 50-60°C sıcaklık, 25,5-34,5 mL/g sıvı/katı oranı ve %26,5-33,5 DÖS'deki su miktarı aralıklarında olduğu belirlenmiştir.

- RSM kullanılarak yürütülen deneyler sonucunda deneysel optimum noktalar 60°C sıcaklık, 31,7 mL/g sıvı/katı oranı ve %33,5 DÖS'deki su miktarı uygulandığında elde edilmiştir. Yürütülen doğrulama analizleri sonucunda deneysel verilerin ve tahmin edilen değerlerin birbiri ile uyum içinde olduğu gözlenmiştir.
- HPLC yoluyla optimum noktada elde edilen ekstraktların fenolik bileşikleri incelendiğinde rutin en baskın bileşik olduğu belirlenmiştir. Diğer yandan fenolik asitler arasında ise rosmarinik asit en baskın bileşik olarak tespit edilmiştir.
- GC-MS analiz sonuçlarına göre linalol ve linalil asetat optimize edilmiş koşullarda elde edilen ekstrakttaki majör uçucu bileşenler olarak ölçülmüştür.

Tez çalışmasının ikinci aşamasında pektin esaslı yenilebilir filmlerin üretilmesi amaçlanmıştır. Bu bağlamda ekstraksiyon aşamasında etkinliği belirlenen DÖS ve DÖS ekstraktı, filmlerin üretiminde kullanılmıştır. Bu çözücülerin plastikleştirici potansiyelleri klasik plastikleştirici olarak gliserol ile kıyaslanmıştır. Ayrıca bu aşamada pektin filmlerin biyoaktif özelliklerini geliştirmek ve aktif filmlerin üretimi amacıyla pektin çözeltilerine su ile elde edilen lavanta ekstraktları liyofilize edilerek ilave edilmiştir. Üretilen filmlerin özelliklerinde meydana gelen değişimler fiziksel, mekanik, optik, morfolojik ve termal karakteristiklerinin analizi ile belirlenmiştir. Filmlerin üretimi ve karakterizasyonu sonucunda elde edilen bulgular şu şekildedir:

- Pektin esaslı filmlerde DÖS ve DÖS ekstraktı kullanımı ile filmlerin fiziksel ve mekanik özelliklerinde değişimlerin meydana geldiği gözlenmiştir. Bu çözücülerin pektin esaslı filmlerde plastikleştirici olarak davrandıkları tespit edilmiştir.
- Plastikleştiricilerin kullanımı ile film kalınlıkları, nem miktarları ve su buharı geçirgenlikleri artmıştır.

- Plastikleştiricilerin kullanımı ile filmlerin çekme direnci ve young modulus değerlerinde azalmalar meydana gelirken kopma anındaki uzama değerinde artışlar meydana gelmiştir. Bu durum KK: gliserol karışımından oluşan DÖS'nin iyi bir plastikleştirici olduğunun önemli bir göstergesidir.
- Plastikleştiricilerin kullanımı ile filmlerin renk özelliklerinde istatistiksel olarak önemsiz değişimler meydana gelişmiştir. Ancak liyofilize ekstrakt kullanımı ile filmlerin parlaklıkları azalmış ve sarılıkları artmıştır.
- Filmlerin ışık geçirgenliği değerleri incelendiğinde plastikleştiricilerin kullanımı ile filmlerin opaklıkları azalırken liyofilize ekstrakt kullanımı ile opaklık değerleri artış göstermiştir.
- SEM analiz sonuçlarına göre plastikleştiricilerin kullanımı ile daha pürüzsüz film yüzeyleri elde edilmiştir. Plastikleştirici kullanımı ile film yüzeyinde gözlenen kırıklar ve delikler ortadan kalmıştır. Diğer yandan liyofilize ekstrakt film üretiminde kullanıldığında bazı tümseklerin liyofilize ekstrakt ile film matrisinin etkileşiminden kaynaklandığı gözlenmiştir.
- FTIR analizinde plastikleştiricilerin ilavesi ile ilave hidrojen bağlarının oluşumu gözlenmiştir. Aktif bileşen olarak liyofilize ekstrakt ilavesi sonucunda pektin filmlerin yapısında de-metilasyon meydana geldiği tespit edilmiştir.
- Filmlerde plastikleştirici olarak KK-gliserol esaslı DÖS kullanıldığında gliserol ile kıyaslandığında filmlerin termal dayanımlarının azaldığı tespit edilmiştir. Liyofilize ekstrakt kullanımı ile filmlerin maksimum yanma sıcaklıklarında bir değişim meydana gelmezken kalıntı miktarlarında önemli artışlar gözlenmiştir.
- Filmlerde hem DÖS esaslı plastikleştiricilerin hem de liyofilize ekstraktın kullanımı, filmlerin kristal yapısını değiştirmiştir. Hem DÖS esaslı plastikleştiriciler hem de liyofilize ekstrakt, pektin filmlerin kristalliklerinde azalmalara sebep olmuştur.

- Filmlerde DÖS ve DÖS ekstraktı kullanımı ile antioksidan kapasitede herhangi bir değişim gözlenmezken, liyofilize ekstrakt ilavesi ile konsantrasyona bağlı olarak filmlerin antioksidan kapasitelerinde istatistiksel olarak önemli artışlar meydana gelmiştir.

Tez çalışmasının son aşamasında elde edilen film çözeltilerinin tekli doymamış yağ asitlerince zengin oleojelasyon yöntemi ile yapılandırılmış fındık yağı ile formüle edilen pişmiş köfte örneklerinde kaplama ajanı olarak etkinlikleri incelenmiştir. Pişmiş köfte örnekleri kaplama çözeltileri ile muamele edildikten sonra 0, 1, 3, 5 ve 7. depolama günlerinde TBARS miktarları belirlenerek oksidasyon düzeyleri analiz edilmiştir. Depolama sonucunda elde edilen sonuçlara göre;

- Pişmiş köfte örneklerine pektin esaslı kaplama uygulanması ile lipit oksidasyonu önemli düzeyde azalmıştır.
- Pektin çözeltilisine liyofilize ekstrakt ilave edilerek antioksidan özellik kazandırılması oksidasyona karşı pektin kaplamanın etkinliğini önemli düzeyde artırmıştır.

Çalışma sonucunda DÖS'lerin antioksidan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda etkinlikleri gösterilmiş olmasına rağmen elde edilen ekstraktların antioksidan kapasitenin ötesinde sindirim enzimleri üzerine inhibitör etkilerinin, biyo-yararlılıklarının ve biyo-erişilebilirliklerinin belirlenmesi diğer çalışmaların konusu olmalıdır. Dahası pektin üretiminde KK: gliserol esaslı DÖS'nin plastikleştirici potansiyeli ortaya konulmuş olmasına rağmen farklı konsantrasyonlarda kullanımının etkilerinin de aydınlatılması gerekmektedir. Ayrıca, farklı DÖS'lerin pektin filmlerin özelliklerinde meydana getirdiği değişimlerin incelenmesi gelecek araştırmaların konusunu oluşturmaktadır.

KAYNAKLAR

Aayush, K., McClements, D. J., Sharma, S., Sharma, R., Singh, G. P., Sharma, K., Oberoi, K., "Innovations in the development and application of edible coatings for fresh and minimally processed apple", *Food Control*, 141, 109188, 2022.

Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Rasheed, R. K., Tambyrajah, V., "Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures", *Chemical Communications*, 70–71, 2003.

Adaszyńska-Skwirzyńska, M., Dziecioł, M., "Comparison of phenolic acids and flavonoids contents in various cultivars and parts of common lavender (*Lavandula angustifolia*) derived from Poland", *Natural Product Research*, 31(21), 2575–2580, 2017.

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Mudalip, S. K. A., Olalere, O. A., "Characterization and effect of extraction solvents on the yield and total phenolic content from *Vernonia amygdalina* leaves", *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(1), 311–316, 2018.

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., "Extraction of phenolic compounds: A review", *Current Research in Food Science*, 4, 200–214, 2021.

Alaşalvar, H., Çam, M., "Process for production of ready to drink iced teas from sage (*Salvia officinalis* L.) and linden (*Tilia cordata*): pressurized hot water extraction and spray drying", *Food Science and Biotechnology*, 28(3), 779–785, 2019.

Alasalvar, H., Kaya, M., Berktaş, S., Basyigit, B., Cam, M., "Pressurised hot water extraction of phenolic compounds with a focus on eriocitrin and hesperidin from lemon peel", *International Journal of Food Science & Technology*, 58(4), 2060–2066, 2023.

Alasalvar, H., Kocer Alasalvar, G., Yıldırım, Z., "Effect of partial fat replacement by hazelnut oil microcapsules in beef burger formulations on physicochemical properties,

fatty acid composition, and sensory attributes", *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(5), e16644, 2022.

Almasi, H., Azizi, S., Amjadi, S., "Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana L.*) essential oil", *Food Hydrocolloids*, 99, 105338, 2020.

Almeida, C. M. R., Magalhães, J. M. C. S., Souza, H. K. S., Gonçalves, M. P., "The role of choline chloride-based deep eutectic solvent and curcumin on chitosan films properties", *Food Hydrocolloids*, 81, 456–466, 2018.

Alves, T. F. P., Teixeira, N., Vieira, J., Vicente, A. A., Mateus, N., de Freitas, V., Souza, H. K. S., "Sustainable chitosan packaging films: Green tea polyphenolic extraction strategies using deep eutectic solvents", *Journal of Cleaner Production*, 372, 133589, 2022.

Anonim, "Türk Dil Kurumu Sözlükleri", <https://sozluk.gov.tr>, 09 Ekim 2023.

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Çelik, S. E., "Mechanism of antioxidant capacity assays and the CUPRAC (cupric ion reducing antioxidant capacity) assay", *Microchimica Acta*, 160, 413–419, 2008.

Aroso, I. M., Paiva, A., Reis, R. L., Duarte, A. R. C., "Natural deep eutectic solvents from choline chloride and betaine – Physicochemical properties", *Journal of Molecular Liquids*, 241, 654–661, 2017.

ASTM, Standard test method for water vapor transmission of materials, *American Society for Testing and Materials, ASTM International*, West Conshohocken, PA, 1995.

ASTM, Standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting, *American Society for Testing and Materials, ASTM International*, West Conshohocken, PA, 2010.

Bayram, B., Ozkan, G., Kostka, T., Capanoglu, E., Esatbeyoglu, T., "Valorization and application of fruit and vegetable wastes and by-products for food packaging materials",

Molecules, 26, 4031, 2021.

Beale, D. J., Morrison, P. D., Karpe, A. V., Dunn, M. S., "Chemometric analysis of lavender essential oils using targeted and untargeted GC-MS acquired data for the rapid identification and characterization of oil quality", *Molecules*, 22, 1339, 2017.

Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., Escaleira, L. A., "Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry", *Talanta*, 76(5), 965–977, 2008.

Boateng, I. D., "Evaluating the status quo of deep eutectic solvent in food chemistry. Potentials and limitations", *Food Chemistry*, 406, 135079, 2023.

Bosiljkov, T., Dujmić, F., Cvjetko Bubalo, M., Hribar, J., Vidrih, R., Brnčić, M., Zlatic, E., Radojčić Redovniković, I., Jokić, S., "Natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction: Green approaches for extraction of wine lees anthocyanins", *Food and Bioproducts Processing*, 102, 195–203, 2017.

Cao, J., Cao, J., Wang, H., Chen, L., Cao, F., Su, E., "Solubility improvement of phytochemicals using (natural) deep eutectic solvents and their bioactivity evaluation", *Journal of Molecular Liquids*, 318, 113997, 2020.

Cao, J., Chen, L., Li, M., Cao, F., Zhao, L., Su, E., "Efficient extraction of proanthocyanidin from *Ginkgo biloba* leaves employing rationally designed deep eutectic solvent-water mixture and evaluation of the antioxidant activity", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 158, 317–326, 2018.

Cao, Q., Li, J., Xia, Y., Li, W., Luo, S., Ma, C., Liu, S., "Green extraction of six phenolic compounds from Rattan (*Calamoideae faberii*) with deep eutectic solvent by homogenate-assisted vacuum-cavitation method", *Molecules*, 24(1), 113, 2018.

Cesur Turgut, A., EMEN, F. M., Seçilmiş Canbay, H., Demirdöğen, R. E., Çam, N., Kılıç, D., Yeşilkaynak, T., "Chemical characterization of *Lavandula angustifolia* Mill. which is a phytocosmetic species and investigation of its antimicrobial effect in cosmetic

products", *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A: Chemistry*, 4(1), 283–283, 2016.

Chandel, V., Biswas, D., Roy, S., Vaidya, D., Verma, A., Gupta, A., "Current advancements in pectin: Extraction, properties and multifunctional applications", *Foods*, 11, 2683, 2022.

Chandra Roy, V., Ho, T. C., Lee, H.-J., Park, J. S., Nam, S. Y., Lee, H., Getachew, A. T., Chun, B. S., "Extraction of astaxanthin using ultrasound-assisted natural deep eutectic solvents from shrimp wastes and its application in bioactive films", *Journal of Cleaner Production*, 284, 125417, 2021.

Chiavaroli, A., Sinan, K. I., Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Sadeer, N. B., Etienne, O. K., Cziáky, Zoltán, C., Jekő, J., Glamocilja, J., Sokovic, M., Recinella, L., Brunetti, L., Leone, S., Abdullah, H. H., Angelini, P., Flores, G. A., Venanzoni, R., Menghini, L., Orlando, G., Ferrante, C., "Identification of chemical profiles and biological properties of *Rhizophora racemosa* G. Mey. extracts obtained by different methods and solvents", *Antioxidants*, 9, 533, 2020.

Choi, Y. H., van Spronsen, J., Dai, Y., Verberne, M., Hollmann, F., Arends, I. W. C. E., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., "Are natural deep eutectic solvents the missing link in understanding cellular metabolism and physiology?", *Plant Physiology*, 156(4), 1701–1705, 2011.

Clarke, C. J., Tu, W. C., Levers, O., Bröhl, A., Hallett, J. P., "Green and sustainable solvents in chemical processes", *Chemical Reviews*, 118(2), 747–800, 2018.

Crișan, I., Ona, A., Vârban, D., Muntean, L., Vârban, R., Stoie, A., Mihăiescu, T., Morea, A., "Current trends for lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) crops and products with emphasis on essential oil quality", *Plants*, 12, 357, 2023.

Da Porto, C., Decorti, D., Kikic, I., "Flavour compounds of *Lavandula angustifolia* L. to use in food manufacturing: Comparison of three different extraction methods", *Food Chemistry*, 112(4), 1072–1078, 2009.

da Silva, R. F., Carneiro, C. N., Cheila, C. B., J. V. Gomez, F., Espino, M., Boiteux, J., de los Á. Fernández, M., Silva, M. F., de S. Dias, F., "Sustainable extraction bioactive compounds procedures in medicinal plants based on the principles of green analytical chemistry: A review", *Microchemical Journal*, 175, 107184, 2022.

Dai, Y., Verpoorte, R., Choi, Y. H., "Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*)", *Food Chemistry*, 159, 116–121, 2014.

Dai, Y., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., Choi, Y. H., "Tailoring properties of natural deep eutectic solvents with water to facilitate their applications", *Food Chemistry*, 187, 14–19, 2015.

Détár, E., Zámboiri-Németh, Gosztola, B., Harmath, A., Ladányi, M., Pluhár, Z., "Ontogenesis and harvest time are crucial for high quality lavender – Role of the flower development in essential oil properties", *Industrial Crops and Products*, 163, 113334, 2021.

Dobros, N., Zawada, K., Paradowska, K., "Phytochemical profile and antioxidant activity of *Lavandula angustifolia* and *Lavandula x intermedia* cultivars extracted with different methods", *Antioxidants*, 11(4), 711, 2022.

Doon, D.-K., Kim, J.-H., Cho, W.-Y., Ji, D.-S., Lee, H.-J., Kim, J.-H., Lee, C.-H., "Effect of *Allium hookeri* root on physicochemical, lipid, and protein oxidation of *Longissimus dorsi* muscle meatball", *Food Science of Animal Resources*, 38(6), 1203–1215, 2018.

Dzah, C. S., Duan, Y., Zhang, H., Wen, C., Zhang, J., Chen, G., Ma, H., "The effects of ultrasound assisted extraction on yield, antioxidant, anticancer and antimicrobial activity of polyphenol extracts: A review", *Food Bioscience*, 35, 100547, 2020.

El Achkar, T., Greige-Gerges, H., Fourmentin, S., "Basics and properties of deep eutectic solvents: a review", *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 3397–3408, 2021.

Falguera, V., Quintero, J. P., Jiménez, A., Muñoz, J. A., Ibarz, A., "Edible films and

coatings: Structures, active functions and trends in their use", *Trends in Food Science & Technology*, 22(6), 292–303, 2011.

Farooq, M. Q., Abbasi, N. M., Anderson, J. L., "Deep eutectic solvents in separations: Methods of preparation, polarity, and applications in extractions and capillary electrochromatography", *Journal of Chromatography A*, 1633, 461613, 2020.

Fierascu, R. C., Fierascu, I., Ortan, A., Georgiev, M. I., Sieniawska, E., "Innovative approaches for recovery of phytoconstituents from medicinal/aromatic plants and biotechnological production", *Molecules*, 25, 309, 2020.

Galus, S., Kadzińska, J., "Food applications of emulsion-based edible films and coatings", *Trends in Food Science & Technology*, 45(2), 273–283, 2015.

Gao, M. Z., Cui, Q., Wang, L. T., Meng, Y., Yu, L., Li, Y. Y., Fu, Y. J., "A green and integrated strategy for enhanced phenolic compounds extraction from mulberry (*Morus alba* L.) leaves by deep eutectic solvent", *Microchemical Journal*, 154, 104598, 2020.

Gavahian, M., Chu, Y. H., "Ohmic accelerated steam distillation of essential oil from lavender in comparison with conventional steam distillation", *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 50, 34–41, 2018.

Ghasemlou, M., Khodaiyan, F., Oromiehie, A., "Physical, mechanical, barrier, and thermal properties of polyol-plasticized biodegradable edible film made from kefiran", *Carbohydrate Polymers*, 84(1), 477–483, 2011.

Gheribi, R., Puchot, L., Verge, P., Jaoued-Grayaa, N., Mezni, M., Habibi, Y., Khwaldia, K., "Development of plasticized edible films from *Opuntia ficus-indica* mucilage: A comparative study of various polyol plasticizers", *Carbohydrate Polymers*, 190, 204–211, 2018.

Giancone, T., Torrieri, E., Pierro, P. Di, Cavella, S., Giosafatto, C. V. L., Masi, P., "Effect of surface density on the engineering properties of high methoxyl pectin-based edible films", *Food and Bioprocess Technology*, 4(7), 1228–1236, 2011.

Go, E. J., Song, K. Bin, "Development and characterization of *Citrus junos* pomace pectin films incorporated with rambutan (*Nephelium lappaceum*) peel extract", *Coatings*, 10, 714, 2020.

Görgüç, A., Bircan, C., Yılmaz, F. M., "Sesame bran as an unexploited by-product: Effect of enzyme and ultrasound-assisted extraction on the recovery of protein and antioxidant compounds", *Food Chemistry*, 283, 637–645, 2019.

Gouveia, T. I. A., Biernacki, K., Castro, M. C. R., Gonçalves, M. P., Souza, H. K. S., "A new approach to develop biodegradable films based on thermoplastic pectin", *Food Hydrocolloids*, 97, 105175, 2019.

Grala, D., Biernacki, K., Freire, C., Kuźniarska-Biernacka, I., Souza, H. K. S., Gonçalves, M. P., "Effect of natural deep eutectic solvent and chitosan nanoparticles on physicochemical properties of locust bean gum films", *Food Hydrocolloids*, 126, 107460, 2022.

Guo, J., Cui, L., Meng, Z., "Oleogels/emulsion gels as novel saturated fat replacers in meat products: A review", *Food Hydrocolloids*, 137, 108313, 2023.

Guo, X., Wang, P., "Aroma characteristics of lavender extract and essential oil from *Lavandula angustifolia* Mill.", *Molecules*, 25(23), 5541, 2020.

Han, H. S., Song, K. Bin, "Antioxidant activities of mandarin (*Citrus unshiu*) peel pectin films containing sage (*Salvia officinalis*) leaf extract", *International Journal of Food Science & Technology*, 55(9), 3173–3181, 2020.

Han, H. S., Song, K. Bin, "Antioxidant properties of watermelon (*Citrullus lanatus*) rind pectin films containing kiwifruit (*Actinidia chinensis*) peel extract and their application as chicken thigh packaging", *Food Packaging and Shelf Life*, 28, 100636, 2021.

Han, J. H., *Edible Films and Coatings: A Review*, 2nd ed., *Academic Press*, San Diego, 2014.

Harley, R. M., Atkins, S., Budantsev, A. L., Cantino, P. D., Conn, B. J., Grayer, R. and Upson, T., Labiatae, *Springer*, Berlin, Heidelberg, 2004.

Héral, B., Stierlin, É., Fernandez, X., Michel, T., "Phytochemicals from the genus *Lavandula*: a review", *Phytochemistry Reviews*, 20, 751–771, 2021.

Hibbert, D. B., "Experimental design in chromatography: A tutorial review", *Journal of Chromatography B*, 910, 2–13, 2012.

Hosseini, S., Parastouei, K., Khodaiyan, F., "Simultaneous extraction optimization and characterization of pectin and phenolics from sour cherry pomace", *International Journal of Biological Macromolecules*, 158, 911–921, 2020.

Huang, Y., Feng, F., Jiang, J., Qiao, Y., Wu, T., Voglmeir, J., Chen, Z. G., "Green and efficient extraction of rutin from tartary buckwheat hull by using natural deep eutectic solvents", *Food Chemistry*, 221, 1400–1405, 2017.

ISO 3515, "Oil of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.)" <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:3515:ed-3:v1:en>, 24 Nisan 2021.

Jadhav, E. B., Sankhla, M. S., Bhat, R. A., Bhagat, D. S., "Microplastics from food packaging: An overview of human consumption, health threats, and alternative solutions", *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 16, 100608, 2021.

Jain, A., Hurkat, P., Jain, S. K., "Development of liposomes using formulation by design: Basics to recent advances", *Chemistry and Physics of Lipids*, 224, 104764, 2019.

Jakubowska, E., Gierszewska, M., Nowaczyk, J., Olewnik-Kruszkowska, E., "The role of a deep eutectic solvent in changes of physicochemical and antioxidative properties of chitosan-based films", *Carbohydrate Polymers*, 255, 117527, 2021.

Jamshaid, S., Ahmed, D., Aydar, A. Y., "Ultrasound-assisted extraction optimization of polyphenols, flavonoids, and antioxidant compounds from fruit of *Melia azedarach* using

a glycerol-based green deep eutectic solvent", *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(8), e16657, 2022.

Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., Bugarski, B. M., "Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum L.* herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques", *Separation and Purification Technology*, 179, 369–380, 2017.

Kara, N., Baydar, H., "Determination of lavender and lavandin cultivars (*Lavandula sp.*) containing high quality essential oil in Isparta, Turkey", *Turkish Journal of Field Crops*, 18(1), 58–65, 2013.

Karimi, A., Majlesi, M., Rafieian-Kopaei, M., "Herbal versus synthetic drugs; beliefs and facts", *Journal of Nephro pharmacology*, 4(1), 27–30, 2015.

Karimi Sani, I., Masoudpour-Behabadi, M., Alizadeh Sani, M., Motalebinejad, H., Juma, A. S. M., Asdagh, A., Eghbaljoo, H., Khodaei, S. M., Rhim, J. W., Mohammadi, F., "Value-added utilization of fruit and vegetable processing by-products for the manufacture of biodegradable food packaging films", *Food Chemistry*, 405, 134964, 2023.

Kedzierski, M., Lechat, B., Sire, O., Le Maguer, G., Le Tilly, V., Bruzard, S., "Microplastic contamination of packaged meat: Occurrence and associated risks", *Food Packaging and Shelf Life*, 24, 100489, 2020.

Khezerlou, A., Zolfaghari, H., Banihashemi, S. A., Forghani, S., Ehsani, A., "Plant gums as the functional compounds for edible films and coatings in the food industry: A review", *Polymers for Advanced Technologies*, 32(6), 2306–2326, 2021.

Kıvrak, Ş., "Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of lavender and lavandin from western Anatolia", *Industrial Crops and Products*, 117, 88–96, 2018.

Kumar, L., Ramakanth, D., Akhila, K., Gaikwad, K. K., "Edible films and coatings for

food packaging applications: a review", *Environmental Chemistry Letters*, 20, 875–900, 2022.

Kumar, N., Pratibha, Trajkovska Petkoska, A., Khojah, E., Sami, R., Al-Mushhin, A. A. M., "Chitosan edible films enhanced with pomegranate peel extract: Study on physical, biological, thermal, and barrier properties", *Materials*, 14, 3305, 2021.

Kyriakidou, A., Makris, D. P., Lazaridou, A., Biliaderis, C. G., Mourtzinis, I., "Physical properties of chitosan films containing pomegranate peel extracts obtained by deep eutectic solvents", *Foods*, 10, 1262, 2021.

Lameirão, F., Pinto, D., Vieira, E. F., Peixoto, A. F., Freire, C., Sut, S., Dall'acqua, S., Costa, P., Delerue-Matos, C., Rodrigues, F., "Green-sustainable recovery of phenolic and antioxidant compounds from industrial chestnut shells using ultrasound-assisted extraction: Optimization and evaluation of biological activities in vitro", *Antioxidants*, 9, 267, 2020.

Lee, R., "Statistical design of experiments for screening and optimization", *Chemie Ingenieur Technik*, 91(3), 191–200, 2019.

Ling, J. K. U., Hadinoto, K., "Deep eutectic solvent as green solvent in extraction of biological macromolecules: A review", *International Journal of Molecular Sciences*, 23, 3381, 2022.

Liu, Y., Friesen, J. B., McAlpine, J. B., Lankin, D. C., Chen, S. N., Pauli, G. F., "Natural deep eutectic solvents: Properties, applications, and perspectives", *Journal of Natural Products*, 81(3), 679–690, 2018.

Llorent-Martínez, E. J., Zengin, G., Sinan, K. I., Polat, R., Canli, D., Picot-Allain, M. C. N., Mahomoodally, M. F., "Impact of different extraction solvents and techniques on the biological activities of *Cirsium yildizianum* (Asteraceae: Cynareae)", *Industrial Crops and Products*, 144, 112033, 2020.

Löfgren, C., Hermansson, A. M., "Synergistic rheological behaviour of mixed HM/LM

pectin gels", *Food Hydrocolloids*, 21(3), 480–486, 2007.

López-Linares, J. C., Campillo, V., Coca, M., Lucas, S., García-Cubero, M. T., "Microwave-assisted deep eutectic solvent extraction of phenolic compounds from brewer's spent grain", *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 96(2), 481–490, 2021.

Ma, Y., Li, X., Hou, L. X., Wei, A. Z., "Extraction solvent affects the antioxidant, antimicrobial, cholinesterase and HepG2 human hepatocellular carcinoma cell inhibitory activities of *Zanthoxylum bungeanum* pericarps and the major chemical components", *Industrial Crops and Products*, 142, 111872, 2019.

Magangana, T. P., Makunga, N. P., Fawole, O. A., Opara, U. L., "Processing factors affecting the phytochemical and nutritional properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel waste: A Review", *Molecules*, 25, 4690, 2020.

Mahdavi, V., Hosseini, S. E., Sharifan, A., "Effect of edible chitosan film enriched with anise (*Pimpinella anisum* L.) essential oil on shelf life and quality of the chicken burger", *Food Science & Nutrition*, 6(2), 269–279, 2018.

Malik, G. K., Khuntia, A., Mitra, J., "Comparative effect of different plasticizers on barrier, mechanical, optical, and sorption properties of hydroxypropyl methylcellulose (HPMC)-based edible film", *Journal of Biosystems Engineering*, 47(2), 93–105, 2022.

Mao, G., Wu, D., Wei, C., Tao, W., Ye, X., Linhardt, R. J., Orfila, C., Chen, S., "Reconsidering conventional and innovative methods for pectin extraction from fruit and vegetable waste: Targeting rhamnogalacturonan I", *Trends in Food Science & Technology*, 94, 65–78, 2019.

Marangoni Júnior, L., Gonçalves, S. de Á., Silva, R. G. da, Martins, J. T., Vicente, A. A., Alves, R. M. V., Vieira, R. P., "Effect of green propolis extract on functional properties of active pectin-based films", *Food Hydrocolloids*, 131, 107746, 2022.

Marovska, G., Hambarliyska, I., Petkova, N., Ivanov, I., Vasileva, I., Slavov, A.,

"Chemical composition and antioxidant activity of ethanol extracts obtained from lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.)", *Philippine Journal of Science*, 152(3), 861–870, 2023.

Martínez-Zamora, L., Cano-Lamadrid, M., Artés-Hernández, F., Castillejo, N., "Flavonoid extracts from lemon by-products as a functional ingredient for new foods: A systematic review", *Foods*, 12, 3687, 2023.

Martins, M. A. R., Pinho, S. P., Coutinho, J. A. P., "Insights into the nature of eutectic and deep eutectic mixtures", *Journal of Solution Chemistry*, 48(7), 962–982, 2019.

Meerasri, J., Sothornvit, R., "Characterization of bioactive film from pectin incorporated with gamma-aminobutyric acid", *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 1285–1293, 2020.

Meng, Y., Wang, S., Guo, Z., Cheng, M., Li, J., Li, D., "Design and preparation of quaternized pectin-Montmorillonite hybrid film for sustained drug release", *International Journal of Biological Macromolecules*, 154, 413–420, 2020.

Metrouh-Amir, H., Duarte, C. M. M., Maiza, F., "Solvent effect on total phenolic contents, antioxidant, and antibacterial activities of *Matricaria pubescens*", *Industrial Crops and Products*, 67, 249–256, 2015.

Meyers, K. J., Watkins, C. B., Pritts, M. P., Liu, R. H., "Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(23), 6887–6892, 2003.

Mišan, A., Nađpal, J., Stupar, A., Pojić, M., Mandić, A., Verpoorte, R., Choi, Y. H., "The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector", *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15), 2564-2592, 2020.

Moghtadaei, M., Soltanizadeh, N., Goli, S. A. H., Sharifimehr, S., "Physicochemical properties of beef burger after partial incorporation of ethylcellulose oleogel instead of animal fat", *Journal of Food Science and Technology*, 58(12), 4775–4784, 2021.

Mohamed, S. A. A., El-Sakhawy, M., El-Sakhawy, M. A. M., "Polysaccharides, protein and lipid -based natural edible films in food packaging: A review", *Carbohydrate Polymers*, 238, 116178, 2020.

Mohd Fuad, F., Mohd Nadzir, M., Harun@Kamaruddin, A., "Hydrophilic natural deep eutectic solvent : A review on physicochemical properties and extractability of bioactive compounds", *Journal of Molecular Liquids*, 339, 116923, 2021.

Mojarradi, F., Bimakr, M., Ganjloo, A., "Effect of bio-edible coating based on *Lallemantia iberica* seed mucilage incorporated with *Malva sylvestris* leaf bioactive compounds on oxidative stability of turkey meat", *Journal of Food Measurement and Characterization*, 1–11, 2023.

Nam, M. W., Zhao, J., Lee, M. S., Jeong, J. H., Lee, J., "Enhanced extraction of bioactive natural products using tailor-made deep eutectic solvents: Application to flavonoid extraction from *Flos sophorae*", *Green Chemistry*, 17(3), 1718–1727, 2015.

Narenderan, S. T., Meyyanathan, S. N., Karri, V. V. S. R., "Experimental design in pesticide extraction methods: A review", *Food Chemistry*, 289, 384–395, 2019.

Nazar, N., Howard, C., Slater, A., Sgamma, T., "Challenges in medicinal and aromatic plants DNA barcoding—Lessons from the Lamiaceae", *Plants*, 11, 137, 2022.

Nisar, T., Wang, Z. C., Yang, X., Tian, Y., Iqbal, M., Guo, Y., "Characterization of citrus pectin films integrated with clove bud essential oil: Physical, thermal, barrier, antioxidant and antibacterial properties", *International Journal of Biological Macromolecules*, 106, 670–680, 2018.

Norcino, L. B., Mendes, J. F., Natarelli, C. V. L., Manrich, A., Oliveira, J. E., Mattoso, L. H. C., "Pectin films loaded with copaiba oil nanoemulsions for potential use as bio-based active packaging", *Food Hydrocolloids*, 106, 105862, 2020.

Noshad, M., Alizadeh Behbahani, B., Jooyandeh, H., Rahmati-Joneidabad, M., Hemmati Kaykha, M. E., Ghodsi Sheikhjan, M., "Utilization of *Plantago major* seed mucilage

containing *Citrus limon* essential oil as an edible coating to improve shelf-life of buffalo meat under refrigeration conditions", *Food Science & Nutrition*, 9(3), 1625–1639, 2021.

Oktaviyanti, N. D., Setiawan, F., Kartini, K., Azminah, A., Avanti, C., Hayun, H., Mun'im, A., "Development of a simple and rapid HPLC-UV method for ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction optimization of ferulic acid and antioxidant activity from *Ixora javanica* flowers", *South African Journal of Chemical Engineering*, 40, 165–175, 2022.

Osamede Airouyuwa, J., Mostafa, H., Riaz, A., Maqsood, S., "Utilization of natural deep eutectic solvents and ultrasound-assisted extraction as green extraction technique for the recovery of bioactive compounds from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seeds: An investigation into optimization of process parameters", *Ultrasonics Sonochemistry*, 91, 106233, 2022.

Ozturk, B., Parkinson, C., Gonzalez-Miquel, M., "Extraction of polyphenolic antioxidants from orange peel waste using deep eutectic solvents", *Separation and Purification Technology*, 206, 1–13, 2018.

Paiva, A., Matias, A. A., Duarte, A. R. C., "How do we drive deep eutectic systems towards an industrial reality?", *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 11, 81–85, 2018.

Pal, C. B. T., Jadeja, G. C., "Deep eutectic solvent-based extraction of polyphenolic antioxidants from onion (*Allium cepa* L.) peel", *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1969–1979, 2019.

Pasini Cabello, S. D., Takara, E. A., Marchese, J., Ochoa, N. A., "Influence of plasticizers in pectin films: Microstructural changes", *Materials Chemistry and Physics*, 162, 491–497, 2015.

Passalacqua, N. G., Tundis, R., Upson, T. M., "A new species of *Lavandula* sect. *Lavandula* (Lamiaceae) and review of species boundaries in *Lavandula angustifolia*", *Phytotaxa*, 292(2), 161–170–161–170, 2017.

Patil, S. S., Pathak, A., Rathod, V. K., "Optimization and kinetic study of ultrasound assisted deep eutectic solvent based extraction: A greener route for extraction of curcuminoids from *Curcuma longa*", *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105267, 2021.

Pereira, L. M. S., Milan, T. M., Tapia-Blácido, D. R., "Using response surface methodology (RSM) to optimize 2G bioethanol production: A review", *Biomass and Bioenergy*, 151, 106166, 2021.

Pereira, P. F., Andrade, C. T., "Optimized pH-responsive film based on a eutectic mixture-plasticized chitosan", *Carbohydrate Polymers*, 165, 238–246, 2017.

Pereira, P. H. F., Oliveira, T. Í. S., Rosa, M. F., Cavalcante, F. L., Moates, G. K., Wellner, N., Waldron, K. W., Azeredo, H. M. C., "Pectin extraction from pomegranate peels with citric acid", *International Journal of Biological Macromolecules*, 88, 373–379, 2016.

Perna, F. M., Vitale, P., Capriati, V., "Deep eutectic solvents and their applications as green solvents", *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 21, 27–33, 2020.

Picot-Allain, C., Mahomoodally, M. F., Ak, G., Zengin, G., "Conventional versus green extraction techniques - a comparative perspective", *Current Opinion in Food Science*, 40, 144–156, 2021.

Plotka-Wasyłka, J., de la Guardia, M., Andruch, V., Vilková, M., "Deep eutectic solvents vs ionic liquids: Similarities and differences", *Microchemical Journal*, 159, 105539, 2020.

Pokajewicz, K., Białoń, M., Svydenko, L., Hudz, N., Balwierz, R., Marciniak, D., Wieczorek, P. P., "Comparative evaluation of the essential oil of the New Ukrainian *Lavandula angustifolia* and *Lavandula x intermedia* cultivars grown on the same plots", *Molecules*, 27(7), 2152, 2022.

Prajapati, R. A., Jadeja, G. C., "Optimization of ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of betanin and its application in chitosan-based biofilm", *Biomass Conversion and Biorefinery*, 2023.

Radu, S. D., Mihalcea, L., Aprodu, I., Socaci, S. A., Cotârleț, M., Enachi, E., Crăciunescu, O., Barbu, V., Oancea, A., Dulf, F. V., Alexe, P., Bahrim, G. E., Râpeanu, G., Stănciuc, N., "Fostering lavender as a source for valuable bioactives for food and pharmaceutical applications through extraction and microencapsulation", *Molecules*, 25(21), 5001, 2020.

Raman, A. P. S., Singh, M. B., Chaudhary, M., Bahdur, I., Jain, P., Kaushik, N., Lal, A. A., Singh, P., "DFT calculations, molecular docking and SAR investigation for the formation of eutectic mixture using thiourea and salicylic acid", *Journal of Molecular Liquids*, 362, 119650, 2022.

Rashid, R., Mohd Wani, S., Manzoor, S., Masoodi, F. A., Masarat Dar, M., "Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction: Optimisation, comparison and bioactivity", *Food Chemistry*, 398, 133871, 2023.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay", *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237, 1999.

Reichardt, C., "Empirical parameters of the polarity of solvents", *Angewandte Chemie International Edition*, 4(1), 29–40, 1965.

Rhim, J.-W., Park, H.-M., Ha, C.-S., "Bio-nanocomposites for food packaging applications", *Progress in Polymer Science*, 38(10–11), 1629–1652, 2013.

Rodríguez, M., Osés, J., Ziani, K., Maté, J. I., "Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films", *Food Research International*, 39(8), 840–846, 2006.

Ruesgas-Ramón, M., Figueroa-Espinoza, M. C., Durand, E., "Application of deep eutectic solvents (DES) for phenolic compounds extraction: Overview, challenges, and opportunities", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(18), 3591–3601, 2017.

Saha, A., Basak, B. B., "Scope of value addition and utilization of residual biomass from

medicinal and aromatic plants", *Industrial Crops and Products*, 145, 111979, 2020.

Sazali, A. L., AlMasoud, N., Amran, S. K., Alomar, T. S., Pa'ee, K. F., El-Bahy, Z. M., Yong, T. L. K., Dailin, D. J., Chuah, L. F., "Physicochemical and thermal characteristics of choline chloride-based deep eutectic solvents", *Chemosphere*, 338, 139485, 2023.

Şen, D. B., Kılıç, B., "Effects of edible coatings containing acai powder and matcha extracts on shelf life and quality parameters of cooked meatballs", *Meat Science*, 179, 108547, 2021.

Shafie, M. H., Samsudin, D., Yusof, R., Gan, C. Y., "Characterization of bio-based plastic made from a mixture of *Momordica charantia* bioactive polysaccharide and choline chloride/glycerol based deep eutectic solvent", *International Journal of Biological Macromolecules*, 118, 1183–1192, 2018.

Shafie, M. H., Yusof, R., Naharudin, I., Wong, T. W., Zafarina, Z., Gan, C. Y., "Effect of different molar ratios of choline chloride–citric acid monohydrate in deep eutectic solvents as plasticizers for *Averrhoa bilimbi* pectin films", *Journal of Food Measurement and Characterization*, 16(5), 3832–3843, 2022.

Shafie, M. H., Yusof, R., Samsudin, D., Gan, C. Y., "*Averrhoa bilimbi* pectin-based edible films: Effects of the linearity and branching of the pectin on the physicochemical, mechanical, and barrier properties of the films", *International Journal of Biological Macromolecules*, 163, 1276–1282, 2020.

Shah, M., Pathak, K., "Development and statistical optimization of solid lipid nanoparticles of simvastatin by using 2^3 full-factorial design", *AAPS PharmSciTech*, 11(2), 489–496, 2010.

Shahidi, F., Ambigaipalan, P., "Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review", *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897, 2015.

Shehata, M. G., Abd El Aziz, N. M., Youssef, M. M., El-Sohaimy, S. A., "Optimization

conditions of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from orange peels using response surface methodology", *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(10), e15870, 2021.

Shirzad, H., Niknam, V., Taheri, M., Ebrahimzadeh, H., "Ultrasound-assisted extraction process of phenolic antioxidants from olive leaves: a nutraceutical study using RSM and LC–ESI–DAD–MS", *Journal of Food Science and Technology*, 54(8), 2361–2371, 2017.

Silva, M. A. da, Bierhalz, A. C. K., Kieckbusch, T. G., "Alginate and pectin composite films crosslinked with Ca²⁺ ions: Effect of the plasticizer concentration", *Carbohydrate Polymers*, 77(4), 736–742, 2009.

Singh Jadaun, J., Bansal, S., Sonthalia, A., Rai, A. K., Singh, S. P., "Biodegradation of plastics for sustainable environment", *Bioresource Technology*, 347, 126697, 2022.

Skulcova, A., Russ, A., Jablonsky, M., Sima, J., "The pH behavior of seventeen deep eutectic solvents", *BioResources*, 13(3), 5042–5051, 2018.

Smaoui, S., Ben Hlima, H., Tavares, L., Ben Braïek, O., Ennouri, K., Abdelkafi, S., Mellouli, L., Mousavi Khaneghah, A., "Application of eco-friendly active films and coatings based on natural antioxidant in meat products: A review", *Progress in Organic Coatings*, 166, 106780, 2022.

Smith, E. L., Abbott, A. P., Ryder, K. S., "Deep eutectic solvents (DESs) and their applications", *Chemical Reviews*, 114(21), 11060–11082, 2014.

Soares, K. S., Souza, M. P., Silva-Filho, E. C., Barud, H. S., Ribeiro, C. A., Santos, D. D., Rocha, K. N. S., de Moura, J. F. P., Bezerra, L. R., "Effect of edible onion (*Allium cepa* L.) film on quality, sensory properties and shelf life of beef burger patties", *Molecules*, 26, 7202, 2021.

Song, X., Wang, L., Liu, L., Li, J., Wu, X., "Impact of tea tree essential oil and citric acid/choline chloride on physical, structural and antibacterial properties of chitosan-based

films", *Food Control*, 141, 109186, 2022.

Sousa, A. S. B. de, Lima, R. P., Silva, M. C. A. da, Moreira, D. das N., Pintado, M. M. E., Silva, S. de M., "Natural deep eutectic solvent of choline chloride with oxalic or ascorbic acids as efficient starch-based film plasticizers", *Polymer*, 259, 125314, 2022.

Spiridon, I., Colceru, S., Anghel, N., Teaca, C. A., Bodirlau, R., Armatu, A., "Antioxidant capacity and total phenolic contents of oregano (*Origanum vulgare*), lavender (*Lavandula angustifolia*) and lemon balm (*Melissa officinalis*) from Romania", *Natural Product Research*, 25(17), 1657–1661, 2011.

Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M., "Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts", *Molecules*, 14(6), 2167–2180, 2009.

Sytar, O., Hemmerich, I., Zivcak, M., Rauh, C., Brestic, M., "Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants", *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(4), 631–641, 2018.

Taylor, C. J., Pomberger, A., Felton, K. C., Grainger, R., Barecka, M., Chamberlain, T. W., Bourne, R. A., Johnson, C. N., Lapkin, A. A., "A brief introduction to chemical reaction optimization", *Chemical Reviews*, 123(6), 3089–3126, 2023.

Tebbi, S. O., Debbache-Benaida, N., Kadri, N., Kadi, R., Zaidi, S., "A novel strategy to improve the recovery of phenolic compounds from *Pistacia lentiscus* L. fruits using design-based statistical modeling for ultrasound-deep eutectic solvents extraction and the evaluation of their antioxidant potential", *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 31, 100933, 2023.

Teixeira-Costa, B. E., Andrade, C. T., "Natural polymers used in edible food packaging—history, function and application trends as a sustainable alternative to synthetic plastic", *Polysaccharides*, 3, 32–58, 2022.

Tol, T., Tawde, H., Gorad, S., Jagdale, A., Kulkarni, A., Kasbale, A., Desai, A., Samanta,

G., "Optimization of a liquid chromatography method for the analysis of related substances in daclatasvir tablets using design of experiments integrated with the steepest ascent method and Monte Carlo simulation", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 178, 112943, 2020.

Tülek, Z., Alaşalvar, H., Başığit, B., Berktaş, S., Salum, P., Erbay, Z., Telci, İ., Çam, M., "Extraction optimization and microencapsulation of phenolic antioxidant compounds from lemon balm (*Melissa officinalis* L.): Instant soluble tea production", *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), e14995, 2021.

Turrini, F., Beruto, M., Mela, L., Curir, P., Triglia, G., Boggia, R., Zunin, P., Monroy, F., "Ultrasound-assisted extraction of lavender (*Lavandula angustifolia* miller, cultivar rosa) solid by-products remaining after the distillation of the essential oil", *Applied Sciences*, 11(12), 5495, 2021.

Tyśkiewicz, K., Konkol, M., Rój, E., "Supercritical carbon dioxide (scCO₂) extraction of phenolic compounds from lavender (*Lavandula angustifolia*) flowers: A Box-Behnken experimental optimization", *Molecules*, 24(18), 3354, 2019.

Uysal, A., Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Picot-Allain, C., Jekő, J., Cziáky, Z., Rodrigues, M. J., Ak, G., Polat, R., Urusan, Z., Sinan, K. I., Custodio, L., "A comparative study on biological properties and chemical profiles of different solvent extracts from *Centaurea bingöelensis*, an endemic plant of Turkey", *Process Biochemistry*, 102, 315–324, 2021.

Vargas-Ramella, M., Munekata, P. E. S., Pateiro, M., Franco, D., Campagnol, P. C. B., Tomasevic, I., Domínguez, R., Lorenzo, J. M., "Physicochemical composition and nutritional properties of deer burger enhanced with healthier oils", *Foods*, 9(5), 571, 2020.

Vasileva, I., Denkova, R., Chochkov, R., Teneva, D., Denkova, Z., Dessev, T., Denev, P., Slavov, A., "Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and melissa (*Melissa officinalis*) waste on quality and shelf life of bread", *Food Chemistry*, 253, 13–21, 2018.

Velásquez, P., Bustos, D., Montenegro, G., Giordano, A., "Ultrasound-assisted extraction of anthocyanins using natural deep eutectic solvents and their incorporation in edible films", *Molecules*, 26(4), 984, 2021.

Vilková, M., Płotka-Wasyłka, J., Andruch, V., "The role of water in deep eutectic solvent-base extraction", *Journal of Molecular Liquids*, 304, 112747, 2020.

Vinatoru, M., "An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs", *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3), 303–313, 2001.

Wang, P., Tian, B., Ge, Z., Feng, J., Wang, J., Yang, K., Sun, P., Cai, M., "Ultrasound and deep eutectic solvent as green extraction technology for recovery of phenolic compounds from *Dendrobium officinale* leaves", *Process Biochemistry*, 128, 1–11, 2023.

Wang, X., Wu, Y., Li, J., Wang, A., Li, G., Ren, X., Yin, W., "Ultrasound-assisted deep eutectic solvent extraction of echinacoside and oleuropein from *Syringa pubescens Turcz.*", *Industrial Crops and Products*, 151, 112442, 2020.

Wu, K., Ren, J., Wang, Q., Nuerjiang, M., Xia, X., Bian, C., "Research progress on the preparation and action mechanism of natural deep eutectic solvents and their application in food", *Foods*, 11(21), 3528, 2022.

Wu, L., Chen, Z., Li, S., Wang, L., Zhang, J., "Eco-friendly and high-efficient extraction of natural antioxidants from *Polygonum aviculare* leaves using tailor-made deep eutectic solvents as extractants", *Separation and Purification Technology*, 262, 118339, 2021.

Wu, L., Li, L., Chen, S., Wang, L., Lin, X., "Deep eutectic solvent-based ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Moringa oleifera* L. leaves: Optimization, comparison and antioxidant activity", *Separation and Purification Technology*, 247, 117014, 2020.

Yao, X. H., Zhang, D. Y., Duan, M. H., Cui, Q., Xu, W. J., Luo, M., Li, C. Y., Zu, Y. G., Fu, Y. J., "Preparation and determination of phenolic compounds from *Pyrola incarnata* Fisch. with a green polyols based-deep eutectic solvent", *Separation and Purification*

Technology, 149, 116–123, 2015.

Yong, H., Liu, J., "Active packaging films and edible coatings based on polyphenol-rich propolis extract: A review", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 20(2), 2106–2145, 2021.

Yoo, D. E., Jeong, K. M., Han, S. Y., Kim, E. M., Jin, Y., Lee, J., "Deep eutectic solvent-based valorization of spent coffee grounds", *Food Chemistry*, 255, 357–364, 2018.

Yu, J., Xu, S., Goksen, G., Yi, C., Shao, P., "Chitosan films plasticized with choline-based deep eutectic solvents: UV shielding, antioxidant, and antibacterial properties", *Food Hydrocolloids*, 135, 108196, 2023.

Yusoff, I. M., Mat Taher, Z., Rahmat, Z., Chua, L. S., "A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins", *Food Research International*, 157, 111268, 2022.

Zannou, O., Koca, I., "Greener extraction of anthocyanins and antioxidant activity from blackberry (*Rubus* spp.) using natural deep eutectic solvents", *LWT-Food Science and Technology*, 158, 113184, 2022.

Zenão, S., Aires, A., Dias, C., Saavedra, M. J., Fernandes, C., "Antibacterial potential of *Urtica dioica* and *Lavandula angustifolia* extracts against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from diabetic foot ulcers", *Journal of Herbal Medicine*, 10, 53–58, 2017.

Zhang, B., Zhang, Y., Li, H., Deng, Z., Tsao, R., "A review on insoluble-bound phenolics in plant-based food matrix and their contribution to human health with future perspectives", *Trends in Food Science & Technology*, 105, 347–362, 2020.

Zhang, P., Zhao, Y., Shi, Q., "Characterization of a novel edible film based on gum ghatti: Effect of plasticizer type and concentration", *Carbohydrate Polymers*, 153, 345–355, 2016.

Zhao, P., Wang, J., Yan, X., Cai, Z., Fu, L., Gu, Q., Liu, L., Jin, H., Fu, Y., "Functional

chitosan/zein films with *Rosa roxburghii* Tratt leaves extracts prepared by natural deep eutectic solvents", *Food Packaging and Shelf Life*, 34, 101001, 2022.

Zhao, R., Zhang, Y., Chen, H., Song, R., Li, Y., "Performance of eugenol emulsion/chitosan edible coating and application in fresh meat preservation", *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(3), e16407, 2022.

Zheng, B., Yuan, Y., Xiang, J., Jin, W., Johnson, J. B., Li, Z., Wang, C., Luo, D., "Green extraction of phenolic compounds from foxtail millet bran by ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction: Optimization, comparison and bioactivities", *LWT-Food Science and Technology*, 154, 112740, 2022.

Zhu, H., Zhang, J., Li, C., Liu, S., Wang, L., "*Morinda citrifolia* L. leaves extracts obtained by traditional and eco-friendly extraction solvents: Relation between phenolic compositions and biological properties by multivariate analysis", *Industrial Crops and Products*, 153, 112586, 2020.

ÖZ GEÇMİŞ

Hamza ALAŞALVAR **.**.**** tarihinde *****'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini *****'da tamamladı. 2010 yılında girdiği Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nden 2014'de mezun oldu. Yine aynı yıl içerisinde Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde tezli yüksek lisans programına başladı. 2017 yılında yüksek lisans eğitimini tamamlayıp Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde doktora eğitimine başladı. 2017 yılından bu yana Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır. Yüksek lisans ve doktora eğitimi süresince 16 tanesi SCI kapsamında taranan dergilerde olmak üzere toplam 24 adet ulusal ve uluslararası makale yayınlamıştır.

TEZ ÇALIŞMASINDAN ÜRETİLEN ESERLER

Bu tez çalışmasından, 2 (iki) adet SCI kapsamında uluslararası makale ile 1 (bir) adet uluslararası bildiri üretilmiştir. İlgili çalışmalar aşağıda sunulmuştur.

Alasalvar, H., Yildirim, Z., "Ultrasound-assisted extraction of antioxidant phenolic compounds from *Lavandula angustifolia* flowers using natural deep eutectic solvents: An experimental design approach", *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 22, 100492, 2021.

Alasalvar, H., Yildirim, Z., Yildirim, M., "Development and characterization of sustainable active pectin films: The role of choline chloride/glycerol-based natural deep eutectic solvent and lavender extracts". *Heliyon*, 9(11), e21756, 2023.

Alasalvar, H., Yildirim, Z., "Lavantadan (*Lavandula angustifolia*) toplam flavonoid maddelerin ultrases destekli ekstraksiyonunda etkili faktörlerin belirlenmesi", *III. International Turkic World Congress on Science and Engineering*, Niğde, Türkiye, s 69, 14-15 Haziran, 2021.

