

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

**SUMAKTAN FARKLI EKSTRAKSİYON METOTLARI
İLE OLEORESİN ELDESİ VE BAZI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Merve IŞIKLI**

**Danışman
Prof. Dr. Hasan YALÇIN**

Doktora Tezi

**Aralık 2023
KAYSERİ**

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

**SUMAKTAN FARKLI EKSTRAKSİYON METOTLARI
İLE OLEORESİN ELDESİ VE BAZI BİYOLOJİK
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI
(Doktora Tezi)**

**Hazırlayan
Merve IŞIKLI**

**Danışman
Prof. Dr. Hasan YALÇIN**

**Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından FDK-2021- 11513 kodlu proje ile desteklenmiştir.**

**Aralık 2023
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Merve IŞIKLI

“Sumaktan Farklı Ekstraksiyon Metotları ile Oleoresin Eldesi ve Bazı Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması” adlı Doktora tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan

Merve IŞIKLI

Danışman

Prof. Dr. Hasan YALÇIN

Gıda Mühendisliği ABD Başkanı

Prof. Dr. Zülal KESMEN

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım ve akademik kariyerim boyunca bilimsel katkıları ile aydınlatarak yoluma ışık tutan ve güler yüzü ile her türlü yardımı ve fedakârlığı sağlayan danışmanım, saygıdeğer hocam Prof. Dr. Hasan YALÇIN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmalarım sırasında karşılaştığım problemlerde yardımcı olarak hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen bütün laboatuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim. Özellikle de akademik kariyerim boyunca hep yanımda olan ve beni her zaman destekleyen sevgili eşim Hayri Can IŞIKLI'ya ve benim bu günlere gelmemde çok büyük emekleri olan, maddi ve manevi her türlü destek ile hep yanımda olan canım aileme çok teşekkür ederim. En çok da doğduğundan beri zamanından çaldığım ve beni bu akademik yolda sabır göstererek, küçücük yaşıyla hep anlayışla karşılayan biricik oğlum İbrahim Eymen'e teşekkür ederim.

Doktora tez çalışmam için maddi destek sağlayan 2211-A Genel Yurtiçi Doktora Burs programı ile TÜBİTAK'a ve FDK-2021- 11513 kodlu proje ile Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca belirtmek isterim ki bu tez çalışması sürecinde hem Covid-19 pandemisi hem de 2023 Kahramanmaraş-Hatay depremi yaşanmıştır. Yaralılara acil şifalar ve ölenlere Allah'tan rahmet diliyorum. Bu hayattaki herkese ise iyilikler ve güzellikler dilerim. İnanıyorum ki sağlığımız iyi olduğu ve bir şeyleri başaracağımıza olan inancımızı kaybetmediğimiz sürece hep güzel kapılar açılacaktır.

Merve IŞIKLI

Aralık, 2023, KAYSERİ

SUMAKTAN FARKLI EKSTRAKSİYON METOTLARI İLE OLEORESİN ELDESİ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve IŞIKLI

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Doktora Tezi, Aralık 2023
Danışman: Prof. Dr. Hasan YALÇIN

ÖZET

Bu tez çalışmasında Kahramanmaraş ilinden hasat döneminde (ağustos ayında) dalıyla birlikte taze olarak toplanan sumak (*Rhus coriaria L.*) meyveleri materyal olarak kullanılmıştır. Güneşte kurutulan sumak meyveleri, tez çalışması boyunca kullanılmak üzere vakum ambalajlanarak depolanmıştır. Sumak meyvelerinden oleoresin eldesi için yenilikçi ekstraksiyon metotlarından ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon teknikleri kullanılmıştır. Çalışmada, belirtilen ekstraksiyon teknikleri ile sumaktan oleoresin elde etmek için şartların optimizasyonu ve elde edilen sumak oleoresinlerinin sağlıkla ilişkilendirilen birtakım enzimler üzerine inhibisyon yeteneğinin araştırılması ve biyoaktif özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Yenilikçi ekstraksiyon koşulları Design-Expert 8.0.7.1 istatistik programı kullanılarak Box-Benhnken cevap-yanıt tasarımına göre belirlenmiştir. Bağımsız değişkenlerin [mikrodalga gücü (watt), genlik (%), süre (saniye), katı/solvent oranı (g/ml), % etanol konsantrasyonu] verim üzerine olan etkisi temel alınarak kuru madde üzerinden en yüksek verime (%) göre şartlar optimize edilmiştir. Mikrodalga ekstraksiyonu için optimize noktalar: 513.13 watt güç, 185.84 saniye işlem süresi, 0.04 katı/solvent oranı (g/ml), %73 etanol konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Ultrasonik destekli ekstraksiyon için ise çalışma şartları: %75.62 genlik, 11.31 dakika işlem süresi, 0.06 katı/solvent oranı (g/ml) ve %59.01 etanol konsantrasyonu olarak optimize edilmiştir. Yenilikçi ekstraksiyon ile alınan oleoresinlerin bazı kimyasal özellikleri ve biyolojik aktivitelerini kıyaslamak için klasik ekstraksiyon metodu olarak ısıl olmayan maserasyon tekniği seçilmiştir. Farklı ekstraksiyon teknikleri ile alınan oleoresinlerin toplam fenolik madde miktarları, antikanser, antioksidan, antitrombotik, antihipertansif, antidiyabetik, antimikrobiyal ve antiobezite aktiviteleri kıyaslanmıştır.

Anahtar Kelimeler: ultrasonik ekstraksiyon, mikrodalga ekstraksiyonu, oleoresin, sumak (*Rhus coriaria L.*), antidiyabetik, antioksidan, antihipertansif, antitrombotik

**INVESTIGATION OF OLEORESIN AND SOME BIOLOGICAL ACTIVITIES
BY DIFFERENT EXTRACTION METHODS FROM SUMAC
(*RHUS CORIARIA L.*)**

Merve IŞIKLI

**Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
PhD Thesis, December 2023
Supervisor: Prof. Dr. Hasan YALÇIN**

ABSTRACT

In this thesis, sumac (*Rhus coriaria L.*) fruits, which are freshly harvested from Kahramanmaraş province during the harvest period (in August), were used as material. Sumac fruits, dried by the sun, were stored in vacuum packaging to be used throughout the thesis. Ultrasonic and microwave assisted extraction techniques, which are among the innovative extraction methods, were used to obtain oleoresin from sumac fruits.

In this study, it was aimed to optimize the conditions for obtaining oleoresins from sumac with different extraction techniques and to investigate the inhibition ability of the obtained sumac oleoresins on some enzymes associated with health and determine the bioactive properties of sumac oleoresins. Innovative extraction conditions were determined according to the Box-Benhken response-surface methodology design method by using the Design-Expert 8.0.7.1 statistical program. Based on the effect of independent variables [microwave power (watt), amplitude (%), duration (seconds), solid/solvent ratio (g/ml), % ethanol concentration] on yield, conditions were optimized according to the highest yield (%) on dry matter. Optimized extraction points for microwave extraction were determined 513.13 watt as power, 185.84 seconds, 0.04 solids/solvent ratio (g/ml), 73% ethanol concentration. For ultrasonic- assisted extraction, the operating conditions were optimized as 75.62% amplitude, 11.31 minutes, 0.06 solids/solvent ratio (g/ml) and 59.01% ethanol concentration. In order to compare some chemical properties and biological activities of oleoresins obtained by innovative extraction, non-thermal maceration technique was chosen as classical extraction method. The total phenolic content, anticancer, antioxidant, antithrombotic, antihypertensive, antidiabetic, antimicrobial and antiobesity activities of oleoresins obtained by different extraction techniques were compared.

Keywords: ultrasonic extraction, microwave extraction, oleoresin, sumac, anti-diabetic, anti-obesity, anti-hypertensive, anti-thrombotic

İÇİNDEKİLER

SUMAKTAN FARKLI EKSTRAKSİYON METOTLARI İLE OLEORESİN ELDESİ VE BAZI BİYOLOJİK AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK.....	iii
KABUL VE ONAY	iv
ÖNSÖZ	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
GİRİŞ	1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Problem Durumu	4
1.2. Araştırmanın Amacı	5
1.3. Araştırmanın Önemi.....	5
1.4. Sumak Bitkisi.....	6
1.5. Katı-Sıvı Ekstraksiyonu	8
1.5.1. Konvansiyonel Ekstraksiyon (Maserasyon)	8
1.5.2. Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Yöntemi	8
1.5.3. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Tekniği	9
1.6. Ekstraksiyon Optimizasyonu-Box-Benhken Tasarımı	10
1.7. Enzimler	12
1.7.1. α-Amilaz Enzimi.....	13
1.7.2. Lipaz Enzimi.....	14
1.7.3. α-Glukozidaz Enzimi	14
1.7.4. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim-1 (ADE-1).....	16
1.8. Oleoresin	17
1.9. Oleoresin Ekstraksiyonu Üzerine Yapılan Literatür Çalışmaları.....	18

1.10 Biyoaktivite Özellikleri	20
1.10.1. Antitrombotik Aktivite	20
1.10.2. Antikanser Aktivite	22
1.10.3. Antidiyabetik Aktivite	23
1.10.4. Antihipertansif Aktivite.....	24
1.10.5. Antiobezite Aktivitesi.....	25
1.10.6. Antioksidan Aktivite	27

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal	29
2.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar	29
2.3. Yöntem	30
2.3.1. Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Yöntemi	30
2.3.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Yöntemi	31
2.3.3. Klasik Ekstraksiyon Yöntemi	32
2.3.4. Yanıt Yüzey (Response Surface Methodology) Deney Tasarımı ile Sumak Oleoresinlerinin Optimizasyonu	32
2.3.5. % Kuru Madde Tayini	35
2.3.6. % Yağ Miktarı Tayini	35
2.3.7. % Protein Miktarı Tayini.....	36
2.3.8. % Kül Miktarı Tayini.....	36
2.3.9. % Asitlik Tayini	37
2.3.10. pH Tayini	37
2.3.11. Renk Değeri Tayini	37
2.3.12. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini	38
2.3.13. Antioksidan Aktivite Tayini (DPPH radikal kovucu metodu ile).....	38
2.3.14. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Aktivite Tayini (TEAC metodu ile)	39
2.3.15. Enzim İnhibisyon Analizleri	39
2.3.15.1. In vitro α-Glukozidaz Aktivite Tayini.....	39
2.3.15.2. In vitro Pankreatik Lipaz Aktivite Tayini.....	39
2.3.15.3. In vitro α-Amilaz Aktivite Tayini.....	40
2.3.15.4. In vitro Antitrombotik Aktivite Tayini.....	41
2.3.15.5. In vitro Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ADE-2) Aktivite Tayini	42

2.3.17. Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini	44
2.3.18. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	44
2.3.19. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometre (FT-IR) Tayini	45
2.3.20. AFM (Atomik Güç Mikroskopisi) ile pıhtı yapısını görüntüleme	45
2.3.21. İstatistiksel Analizler	45

3. BÖLÜM

BULGULAR ve TARTIŞMA

3.1. Sumak Bitki Materyalinin Fizikokimyasal Özellikleri.....	46
3.2. Ekstraksiyonların Optimizasyonu	47
3.4. Maserasyon (SO _{M-ult}) Tekniği için Süre Optimizasyonu	59
3.5. Sumak Oleoresinlerinin pH Değerleri.....	61
3.7. Sumak Oleoresinlerinin Renk Değerleri.....	63
3.8. Sumak Oleoresinlerinin Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	64
3.9. Sumak Oleoresinlerinin DPPH Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite Değerleri.....	66
3.10. Sumak Oleoresinlerinin TEAC Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite Değerleri.....	69
3.11. Sumak Oleoresinlerinin Toplam Monomerik Antosiyanin İçerikleri.....	71
3.12. Sumak Oleoresinlerinin FT-IR Spektrumları ve Yorumlanması.....	72
3.13. Sumak Oleoresinlerinin α - Glukozidaz Enzim İnhibisyon Sonuçları.....	74
3.14. Sumak Oleoresinlerinin α -Amilaz Enzim İnhibisyon Sonuçları	79
3.15. Sumak Oleoresinlerinin Pankreatik Lipaz Enzim inhibisyon Sonuçları.....	83
3.16. Sumak Oleoresinlerinin In vitro Antitrombotik Aktivite Sonuçları.....	86
3.17. Sumak Oleoresinlerinin Antikanser Aktivite Sonuçları.....	93
3.18. Sumak Oleoresinlerinin Antihipertansif Aktivite Sonuçları	98
3.19. Sumak Oleoresinlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları	101

4. BÖLÜM

SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1. Sonuç	107
4.2. Öneriler	110
KAYNAKÇA	112
EKLER	129
ÖZGEÇMİŞ.....	132

KISALTMALAR

SO _{mik}	: Mikrodalga ekstraksiyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini
SO _{M-mik}	: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini
SO _{ult}	: Ultrasonik ekstraksiyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini
SO _{M-ult}	: Ultrasonik ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini
abs	: absorbans
nm	: nanometre
DPPH	: 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikali
ABTS	: 2,2-azinobis (3-etilbenzothiazollin-6-sülfonik asit) radikali
TEAC	: Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
mg	: Miligram
g	: gram
L	: litre
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
cm	: Santimetre
nd	: not determined (belirlenemedi)
mmol	: milimol
NaCl	: sodyum klorür
AFM	: Atomik güç mikroskopisi (atomic force microscopy)
mM	: milimolar
ANOVA	: Varyans analizi
FTIR	: Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
ADE	: Anjiotensin dönüştürücü enzim
AAE	: Askorbik asit eşdeğeri
HHL	: Hippuryl-L-histidyl-L-leucine
HPLC	: Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
vd.	: ve diđerleri
ark.:	arkadařları
mmHg	: milimetre civa

kg	:kilogram
m	: metre
rpm	: 1 dakikada gerçekleşen devir sayısı (revolutions per minute)
RSM	: Cevap-yanıt metodu (response-surface methodology)
IC50	: Enzim aktivitesini yarıya düşüren inhibitör konsantrasyonu
vb	: ve benzeri



TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1.	Ultrasonik ekstraksiyon şartlarının optimizasyonu için Box-Benhken deney tasarımında çalışılan noktalar	33
Tablo 2.2.	Mikrodalga ekstraksiyon şartlarının optimizasyonu için Box-Benhken deney tasarımında çalışılan noktalar	34
Tablo 2.3.	Ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği için seçilen ve yanıt-yüzey yönteminde kullanılan bağımsız değişken aralıkları	34
Tablo 2.4.	Mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniği için seçilen ve yanıt-yüzey yönteminde kullanılan bağımsız değişken aralıkları	35
Tablo 3.1.	Sumak meyvesinin fizikokimyasal özellikleri (%)	46
Tablo 3.2.	Farklı ultrason parametreleri ile yapılan ekstraksiyonda elde edilen oleoresin verimleri	48
Tablo 3.3.	Farklı mikrodalga parametreleri uygulanarak yapılan ekstraksiyonda elde edilen oleoresin verimleri.....	49
Tablo 3.4.	Mikrodalga ekstraksiyon optimizasyonu için Box-Benhken tasarım-kuadratik modelde sumak oleoresin verimine ait varyans analiz tablosu..	54
Tablo 3.5.	Ultrasonik ekstraksiyon optimizasyonu için Box-Benhken tasarım-kuadratik modelde sumak oleoresin verimine ait varyans analiz tablosu..	54
Tablo 3.6.	Deneyssel olarak sağlanan sonuçlar ile tahmini değerlerin karşılaştırılması	55
Tablo 3.7.	Deneyssel sağlanan sonuçlar ile tasarıma ait tahmini değerlerin karşılaştırılması	55
Tablo 3.8.	SO _{mik} örneğinden maksimum verim elde etmek için süre optimizasyonu.	59
Tablo 3.9.	SO _{ult} örneğinden maksimum verim elde etmek için süre optimizasyonu ..	60
Tablo 3.10.	Sumak Oleoresinlerinin pH Değerleri	61
Tablo 3.11.	Sumak Oleoresinlerinin Titrasyon Asitliği (%) Değerleri	62
Tablo 3.12.	Sumak oleoresinlerinin renk değerleri	64
Tablo 3.13.	Sumak oleoresinlerinin toplam antosiyanin miktarları (mg siyanidin/g) ..	72
Tablo 3.14.	Sumak oleoresinlerinin α-glukozidaz enzim inhibisyonu değerleri	75
Tablo 3.15.	Sumak olooesin örneklerinin α-amilaz enzim inhibisyonu değerleri	82
Tablo 3.16.	Sumak olooesinlerinin pankreatik lipaz enzim inhibisyonu değerleri	84

Tablo 3.17. Sumak oleoresin örneklerinin fibrin polimerizasyon inhibisyon değerleri (%)	92
Tablo 3.18. Sumak oleoresin örneklerinin antikanser aktivite sonuçları	98
Tablo 3.19. Sumak oleoresinlerinin Anjiotensin-1 dönüştürücü enzim inhibisyonları	99
Tablo 3.20. SO _{ult} ve SO _{M-ult} örneklerinin <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> bakterileri üzerine etkili inhibisyon zon çapları (mm).....	101
Tablo 3.21. SO _{mik} ve SO _{M-mik} örneklerinin <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> bakterileri üzerine etkili inhibisyon zon çapları(mm).....	102



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1.	Sumak Meyvesi.....	7
Şekil 1.2.	Akarboz inhibitörünün kimyasal yapısı	15
Şekil 1.3.	Fibrin pıhtı oluşumu ve kan hücrelerini saran ağ görüntüsü	22
Şekil 2.1.	Sumak (<i>Rhus coriaria</i> L.) bitkisi b) Öğütülmüş sumak meyvesi c) Sumak oleoresin ekstraktları d) Sumak oleoresini stok çözeltileri (10mg/ml)	30
Şekil 3.1.	Ultrasonik ekstraksiyon için modele göre elde edilen 3 boyutlu grafikler	52
Şekil 3.2.	Mikrodalga ekstraksiyon için modele göre elde edilen 3 boyutlu grafikler.....	53
Şekil 3.3.	Sumak oleoresinlerinin toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/g) ...	66
Şekil 3.4.	Sumak oleoresinlerinin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri (mg/g troloks eşdeğeri).....	68
Şekil 3.5.	Sumak oleoresinlerinin TEAC yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri (mg /g troloks eşdeğeri).....	70
Şekil 3.6.	SO _{ult} ve SO _{M-ult} örneklerinin FT-IR spektrumları.....	74
Şekil 3.7.	SO _{mik} ve SO _{M-mik} örneklerinin FT-IR spektrumları	74
Şekil 3.8.	SO _{ult} ve SO _{M-ult} örneklerinin α- glukozidaz % enzim inhibisyonları	78
Şekil 3.9.	SO _{mik} ve SO _{M-mik} örneklerinin α- glukozidaz % enzim inhibisyonları	79
Şekil 3.10.	SO _{mik} ve SO _{M-mik} örneklerinin % α-amilaz enzim inhibisyonları.....	82
Şekil 3.11.	SO _{ult} ve SO _{M-ult} örneklerinin % α-amilaz enzim inhibisyonları	82
Şekil 3.12.	SO _{ult} ve SO _{M-ult} örneklerinin pankreatik lipaz % enzim inhibisyonları	86
Şekil 3.13.	SO _{mik} ve SO _{M-mik} örneklerinin pankreatik lipaz % enzim inhibisyonları...	86
Şekil 3.14.	20 dakika sonunda örnek içermeyen solüsyonda oluşan pıhtı görüntüleri (Negatif Kontrol)	89
Şekil 3.15.	Fibrinojen polimerizasyon işleminin tam olarak tamamlanamadığı zamanda oluşan pıhtı görüntüleri.....	89
Şekil 3.16.	Oluşan fibrin yapısının tampon çözeltisi döküldükten sonraki görüntüsü	90
Şekil 3.17.	SO _{M-ult} örneğini içeren solüsyonlarda oluşan pıhtı görüntüleri.....	90
Şekil 3.18.	SO _{ult} örneğini içeren solüsyonlarda oluşan pıhtı görüntüleri	90
Şekil 3.19.	SO _{mik} içeren solüsyonlarda 20 dakika sonunda oluşan pıhtı görüntüleri...	91

Şekil 3.20.	2000 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan heparin ilacının eklendiği solüsyonun 20 dakika sonundaki görüntüsü	91
Şekil 3.21.	20 dakika sonunda sağlanan pıhtının AFM görüntüsü	91
Şekil 3.22.	SO _{ult} ve SO _{M-ult} örneklerinin in vitro sitotoksikolojik analiz sonuçları.....	96
Şekil 3.23.	SO _{mik} ve SO _{M-mik} örneklerinin in vitro sitotoksikolojik analiz sonuçları...	97
Şekil 3.24.	SO _{ult} ve SO _{M-ult} örneklerinin Anjiotensin-1 dönüştürücü enzim inhibisyonları	98
Şekil 3.25.	SO _{mik} ve SO _{M-mik} örneklerinin Anjiotensin-1 dönüştürücü enzim inhibisyonları (%)	99
Şekil 3.26.	<i>E.coli</i> bakterileri ekili petrilerde sumak oleoresinlerinin (40 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri.....	102
Şekil 3.27.	<i>E. coli</i> bakterisi ekili petrilerde sumak oleoresinlerinin (20 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri.....	103
Şekil 3.28.	<i>E. coli</i> bakterileri ekili petrilerde sumak oleoresinlerinin (10 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri.....	103
Şekil 3.29.	<i>E. coli</i> bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (2 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri.....	103
Şekil 3.30.	<i>S. aureus</i> bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (2 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri.....	103
Şekil 3.31.	<i>S. aureus</i> bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (10 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri.....	104
Şekil 3.32.	<i>S. aureus</i> bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (20 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri.....	104
Şekil 3.33.	<i>S. aureus</i> bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (40 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri.....	104

GİRİŞ

Anacardiaceae familyasına ait, bilimsel adı *Rhus Coriaria L.* olan sumak, sıcak iklimde yetişen, kırmızı renkte dış perikarp kısmı ve kahverengi çekirdeği olan bir bitkidir. Bitki, 1-4 metre boylarında çalı şeklindedir (Yılmaz vd., 2020; Zannou vd., 2022). Birçok tropikal bölgede yetişebilmesine rağmen en yaygın yetiştiği yerler Güney Avrupa, Kuzey Afrika, İran, Batı Asya ve Türkiye'nin Akdeniz bölgesidir (Abu-Reidah vd., 2015). *Rhus* cinsine ait yaklaşık 250'den fazla türü bulunan sumak bitkisinin Türkiye'de yetişen tek cinsi *Rhus coriaria*'dır (Gök vd., 2020). Baharat olarak bilinip tüketilmesine rağmen, aslında bir meyve olan sumak bitkisi, tohumla ya da yer altına uzanan kökleri ile yayılarak çalı şeklinde büyümektedir. 'Sumak' kelimesinin kökeninin Arapça koyu kırmızı anlamına gelen 'summāq' kelimesinden geldiği bilinmektedir. Sumak, gıda endüstrisinin yanı sıra ilaç ve kozmetik sektörü için de ticari bir öneme sahiptir. Çok eski zamandan bu yana baharat olarak bilinip tüketilen sumak, yemek sektöründe sos ve içecek gibi farklı şekillerde de kullanılmaktadır (Abu-Reidah vd., 2015).

Sumak (*Rhus coriaria*) bitkisinin meyve, yaprak ve çekirdek olmak üzere her bir bölümü farklı miktarlarda önemli bileşenler içermektedir. Yağ asitlerinden oleik asit (%42.2-43.3), linoleik asit (%25.2-28.5) ve palmitik asit (%18.04-21.5) major yağ asitleridir (Yılmaz vd., 2020). Bunun dışında yapısında protein, çeşitli vitaminler, tanen, antosiyanin ve fenolik asitler bulunmaktadır. Özellikle meyveleri önemli miktarda gallik asit içermektedir. Ayrıca quersetin, kamferol, metil gallat gibi flavonoid glikozitleri de yapısında bulundurmaktadır (Caliskan ve Dirim, 2013; Brunke vd., 1993). Sumak bitkisinin en önemli grubunu ise hidrolize olabilen tanenler ve flavonoid grubu oluşturmaktadır. Tanen bileşiklerinin hidrolize olabilmesi, onların sindirimini ve emilimini kolaylaştırmaktadır. Bu özelliği ile sağlık üzerine faydalı özellikleri

bulunmaktadır. Sumak meyvesinin ekşi tadını veren baskın bileşikler ise sitrik ve malik asitlerdir (Asgarpanah, 2014).

Baharatların depolanması, zamanla baharatlarda tat ve renk kayıplarının meydana gelmesi ve mikrobiyolojik bozulma gibi sebeplerden dolayı problem oluşturmaktadır. Bu nedenle genelde baharat yerine esas bileşikleri içeren baharat ekstraktları tercih edilmektedir. Baharat ekstraktları yani oleoresinler, daha homojen bir karışımın elde edilmesini kolaylaştırması ve depolama boyunca yapıda mikrobiyolojik açıdan daha az bozulma görülmesi gibi sebeplerden dolayı baharata kıyasla kullanıma daha elverişlidir (Zannou vd., 2022; Caliskan ve Dirim, 2013). Oleoresinler çeşitli baharatlardan organik solventlerle elde edilen, yapısında uçucu yağları da bulunduran reçinemsî ekstraktlardır (Morsy, 2016). Çeşitli bitkilerden elde edilen oleoresinler, lezzet artırıcı ve doğal koruyucu gibi özellikleri sayesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Budiastra vd., 2020). Oleoresin elde edilirken tercih edilen solventin tipi, oleoresinin kalitesini ve miktarını etkilemektedir. Oleoresinlerin baharatın kendisine göre kullanımının kolay olması, depolama boyunca daha dayanıklı yapıda olması ve daha az yer kaplaması gibi avantajları bulunmaktadır. Baharatın tat profiline en yakın ekstrakt oleoresindir. Ayrıca baharatın kendisine göre daha az kullanımı ile daha yoğun aroma ve tat elde edilmektedir. Baharatlarda raf ömrü boyunca küf oluşma riski bulunmaktadır, oleoresinler ise içerdiği doğal antioksidan maddeler sayesinde antimikrobiyal özellik göstermeleri sebebi ile mikrobiyal açıdan daha güvenlidir. Böylece baharata kıyasla oleoresinin oksidasyona karşı daha dirençli olması ve depolama boyunca yapısındaki aroma kayıplarının daha az olması gibi özelliklerinden ötürü büyük avantaj sağlamaktadır (Khasanah vd., 2017; Morsy, 2016).

Oleoresinler genellikle klasik bir teknik olan maserasyon tekniği ile elde edilmektedir. Bu metodun avantajları olduğu kadar dezavantajları da bulunmaktadır. Fazla solvent ve zaman tüketimi ise en büyük dezavantajlarından. Bu nedenle daha kısa sürede ve daha etkin şekilde oleoresin elde etmek amacıyla son zamanlarda gelişmiş yeşil ekstraksiyon yöntemleri tercih edilmektedir.

Çalışmamızda, farklı gelişmiş ekstraksiyon teknikleri kullanılarak, belirlenen optimum şartlarda sumak meyvesinden en yüksek verimde oleoresin elde edilmesi ve oleoresin ekstraktlarının sağlık üzerine olan etkilerinin ortaya konması hedeflenmiştir. Yenilikçi

ekstraksiyon metodu olarak mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon teknikleri seçilmiştir. Klasik bir ekstraksiyon metodu olan soğuk maserasyon tekniği ile yenilikçi yöntemler, sumak oleoresinlerinin biyoaktif özellikleri üzerine olan etkisi açısından karşılaştırılmıştır. Yenilikçi ekstraksiyon teknikleri ile sumak oleoresini elde edilmesi ve klasik yöntemle karşılaştırılarak avantaj ve dezavantajlarının ortaya konması amaçlanmıştır. Yenilikçi ekstraksiyon teknikleri ile sağlanan sumak oleoresinlerinin bazı enzimler üzerine etkisinin incelenerek biyoaktif özelliklerinin (antihipertansif, antiobezite, antioksidan, antidiyabetik, antitrombotik ve sitotoksikolojik etki) belirlenmesi ile ilgili çalışmalara, yapılan literatür araştırmasında rastlanmamıştır. Bu tez çalışması ile birlikte sumak oleoresinin sağlık üzerine faydalı etkilerini ortaya çıkararak, baharat yerine avantajları fazlaca bulunan sumak oleoresinin zamanla endüstride kullanımına yer verilmesi ve insanların sumak meyvesi üzerine daha çok bilgi edinmesini sağlayarak tüketiminin artırılması hedeflenmiştir.

Tez çalışmaları sonucunda sumak oleoresin verimini arttıran yenilikçi mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemlerinin optimizasyonu sağlanmıştır. Sumak oleoresin ekstraktlarının insan sağlığı ile ilişkili olan antidiyabetik, antihipertansif, antioksidan, antitrombotik, antiobezite ve antikanser etkileri yapılan in vitro çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca elde edilen sumak oleoresinleri FT-IR ile incelenerek bağ yapıları hakkında bilgi edinilmiştir.

Fonksiyonel gıda bileşeni olarak kullanıldığında alternatif tıp ve ilaç sektörüne büyük katkı sağlayacağı düşünülen sumak oleoresinin, üretim optimizasyonu gerçekleştirilerek ve sağlık ile ilişkili biyoaktif özellikleri ortaya konularak literatüre katkı sağlanmıştır.

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Problem Durumu

Çok fazla biyoaktif özelliğe sahip olan sumak meyvesi, halk arasında baharat ve sumak ekşisi olarak bilinip tüketilmektedir. Tarım ve Orman Bakanlığı Kayıt Sistemi 2019 yılı fizibilite raporuna göre, 2012 yılında ülkemizde doğadan toplanarak ticareti yapılan sumak miktarı 3 ton iken, 2019 yılında yaklaşık 18 ton olarak belirtilmiştir. 2019 verilerine göre toplamda 2.089 ton sumak ihracatı yapılmış iken 721 ton sumak ithalatı gerçekleştirilmiştir. Sumağın en fazla doğadan toplanarak ticaretinin yapıldığı ülkelerden birisi olmasına rağmen Türkiye’de tüketiminin çok yaygın olmadığı ve bu durumun oluşmasında sumağın mutfakta kullanımının sınırlı olması ve sağlık açısından öneminin çok fazla bilinmemesinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

1970’li yıllardan itibaren özellikle Amerika ve İngiltere’de teknolojinin ilerlemesi ile beraber baharat oleoresinlerinin üretimi yaygınlaşmıştır. Fakat daha sonraları fazla maliyet oluşturduğundan ötürü üretmek yerine oleoresinler ithal alınmıştır. Macaristan, İspanya, Endonezya, Hindistan ve Singapur ülkelerinde biber başta olmak üzere farklı baharatlardan oleoresin üretim tesisleri bulunmaktadır (Ünver A., 2006). Ticari öneminin gün geçtikçe arttığı sumak baharatının ise oleoresin üretimi halen yapılmamaktadır. Oysa sumak bitkisinin oleoresin şeklinde kullanımının baharata kıyasla daha uzun raf ömrüne sahip olması, lezzet ve aroma yönünden sumaktan istenen lezzetin daha iyi alınabilmesi ve kolay kullanımı, renk ve kıvamı itibarı ile kolayca bir fonksiyonel gıda girdisi olarak düşünülebilmesi gibi birçok avantajı bulunmaktadır. Daha fazla bilinçlendirme sağlanarak ülkemizde de sumak bitkisi de dâhil olmak üzere baharatların oleoresin şeklinde üretim ve tüketimi sağlanarak yaygınlaştırılmalıdır.

1.2. Araştırmanın Amacı

Sumak meyvesinden oleoresin elde etmek için kullanılacak olan en uygun çözücüler ve bağımsız parametreler asıl tez çalışmalarına başlamadan önce ön denemeler ile belirlenmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında;

- ✓ Sumak meyvesinden kütle üzerinden en yüksek verimde oleoresin elde etmek ve bu amaçla belirli parametre aralıklarında çalışarak ekstraksiyon şartlarının Design-Expert 8.0.7.1 istatistik programı ile Box-Benhken cevap-yanıt tasarımına göre optimize edilmesi,
- ✓ Her bir ekstraksiyon tekniği için ayrı ayrı belirlenen optimum şartlarda sumak oleoresinlerinin toplanması,
- ✓ Optimum şartlarda elde edilen en yüksek verimli sumak oleoresinlerinin seçilen enzimler üzerine etkisinin araştırılması ve bazı biyoaktif özelliklerinin incelenmesi,
- ✓ Sumak oleoresinlerinin biyoaktif özellikleri üzerine etkisi açısından, yenilikçi ekstraksiyon metotlarından mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon teknikleri ile klasik bir yöntem olan ısıl olmayan maserasyon tekniğinin kıyaslanması,
- ✓ Sumak oleoresinlerinin yapılan analizler doğrultusunda sağlık ile ilişkilendirilmesi amaçlanmıştır.
- ✓ Ayrıca, bu tez çalışması ile sumağın sağlık açısından öneminin daha çok vurgulanması sağlanarak tüketiminin artırılmasının teşvik edilmesi hedeflenmektedir. Tüketiminin yaygınlaştırılması adına, oleoresin ekstraktı olarak sumağın mutfaklarda kullanımının kolaylaştırılması amaçlanmıştır.

1.3. Araştırmanın Önemi

Yakın zamanda tüm dünyada çok fazla ölümlere ve çeşitli hastalıklara yol açan Covid-19, halen insanlar üzerindeki etkisini sürdürmektedir. Pandemi dönemiyle birlikte insanlar, Covid-19 ve bunun gibi birçok salgın hastalığa karşı bağışıklığını daha da güçlendirmek ve hastalıklara karşı savaşmak için ilaçların olası yan etkilerinden dolayı

alternatif tıbbi ve doğal bitkilere yönelmişlerdir. Sumak, biyoaktif özelliklerinden dolayı tercih edilen bu doğal bitkilerden birisidir. Özellikle son zamanlarda, sumağın sağlığa faydalarının daha da fark edilmesi ile insanların tüketimi de artış göstermeye başlamıştır. Ancak baharatlar raf ömrü boyunca bir takım mikrobiyolojik bozulmalara maruz kaldığından çoğunlukla baharat olarak tüketilen sumak meyvesinin oleoresin ekstraktı şeklinde saklanması ve tüketilmesi daha avantajlı olacaktır. Sumak oleoresini, baharata kıyasla hem kıvamı, hem de suda kolay çözünürlüğü açısından daha kolay tüketilebilir bir fonksiyonel gıda girdisi olarak da düşünülebilir.

1.4. Sumak Bitkisi

Bilimsel ismi *Rhus coriaria* olan *Anacardiaceae* familyasına ait sumak bitkisi özellikle Akdeniz diyetinde sıklıkla kullanılan bir baharattır. ‘Sumak’ kelimesinin Arapça’da "koyu kırmızı" anlamına gelen "summaq" kelimesinden geldiğine inanılmak ile birlikte Süryanice kırmızı anlamına gelen ‘sumaga’ kelimesinden de gelmiş olabileceği düşünülmektedir. Şekil 1.1’de görüldüğü gibi 5-10 cm boyunda olan küçük, kırmızımsı ve tüysü yapıdaki sumak meyve taneleri, birbiriyle sıkıca kümeleşmiş şekilde bulunur. Yarı tropikal ve sıcak kesimlerde bulunan sumak bitkisi kırsal kesimlerde yabani, çalı şeklinde yetişmektedir. Afrika, Batı Asya ve Türkiye’nin Akdeniz bölgesi en çok sumağın yetiştiği yerlerdir. Hem yer altına yayılan kökleri ile hem de tohumla çoğalabilmektedir (Sakhr vd., 2020).

Rhus cinsinin dünyada 250’den fazla türü bulunmaktadır. Bunların içinde Türkiye’de buluna tek tür *Rhus coriaria*’dır. Halk arasında sumak olarak bilinmektedir ve meyvesinin toz hali baharat olarak tüketilmektedir. Tarım ve Orman Bakanlığının yayınladığı Türk Gıda Kodeksi Baharat tebliğine (2022/7) göre sumak baharatı; ‘*Rhus coriaria* L. (*Anacardiaceae*) türüne giren bitkilerin olgunlaşmış meyvelerinin hasat edilip tekniğine uygun olarak kurutulduktan sonraki bütün halini ya da tuz (ağırlıkça en fazla %6) katılarak öğütülmüş bütün halini veya öğütülmüş meyve kabuklarını ifade etmektedir’ şeklinde tanımlanmaktadır.

Meyvenin sumak ekşisi olarak bilinen suyu ise yemek ve soslarda kullanılmaktadır. Sumakta bulunan organik asitleri HPLC metodu ile incelediklerinde baskın şekilde bulunan, ekşiliğinden sorumlu temel organik asitin, malik asit izomerleri ve türevleri olduğu açıklanmıştır (Abu-reidah vd., 2015). Sumak, yapısında suda çözünen tanenler, fenolik asitler, flavonoidler ile bazı önemli yağ asitleri, vitamin ve organik asitleri

içermektedir. Bu önemli bileşenlerle ilişkili olarak çeşitli çalışmalarda, in vivo, in vitro ve klinik olarak sumak bitkisinin biyoaktif özellikleri açıklanmıştır. Antioksidan, antiviral, antiinflamator, analjezik, antibakteriyel, hipoglisemik gibi önemli özelliklerinden ötürü kozmetik, ilaç ve gıda endüstrisinde de önemli yeri bulunmaktadır (Aydogdu vd., 2023; Gök vd., 2020; Sakhr vd., 2020). Diyabet, kanser, ishal, diş ve diş eti hastalıkları, kızamık, hipertansiyon, mide ve karaciğer rahatsızlıkları gibi birçok hastalığın tedavisinde sumak kullanımının faydalı sonuçlar verdiği rapor edilmektedir (Tohma vd., 2019; Abu-reidah vd., 2015). Sumak bitkisi, antioksidan ve insülin benzeri aktiviteler gibi daha birçok biyolojik aktiviteye sahiptir (Mohit vd., 2021).

Sumak meyvesinde en çok bulunan fenolik bileşik gallik asittir. Sumak bitkisinin yapısında bulunan renk pigmentlerinden sorumlu antosiyanin bileşikler ise delfidin-3-glukozid, kuersetin-3 glukozid, siyanidin 3-galaktosid, siyanidin-3-glukozid, kamferol, butein, mirisitin ve limonindir. Sumağın içinde bulunan kırmızı renk maddelerinden dolayı renklendirici olarak değerlendirilmesi mümkündür. Sumağın kırmızı şaraba benzer renklendirme özelliği bulunmaktadır. Her ikisinde de aynı kırmızı pigmentasyondan sorumlu bileşik hidroksifenil proantosiyanindir (Sakhr vd., 2020; Dabas vd., 2016).

Sumak, oksidatif stresi ve iltihaplanmayı engellemeye yardımcı olduğu bilinen flavonoid ve fenolik asitleri yapısında bulundurmaktadır. Bu özelliği sayesinde pankreasa ait beta hücrelerinin işlevini korur ve insülin üretimini iyileştirerek hücrelere glukoz alımını artırır. Sumağın yapısında bulunan gallik asit ve kuersetin bileşiklerinin ise bağırsaktan glukoz emilimini azaltarak hipoglisemik aktivite sergilediği bilinmektedir (Mohit vd., 2021).



Şekil 1.1. Sumak Meyvesi

1.5. Katı-Sıvı Ekstraksiyonu

1.5.1. Konvansiyonel Ekstraksiyon (Maserasyon)

Ekstraksiyon işleminde asıl amaç gıda materyalinin yapısına zarar vermeden sağlanabilecek en yüksek verimde, istenen bileşikleri ekstrakt içerisinde toplayabilmektir (Tiwari, 2015). Katı-sıvı ekstraksiyon teknikleri gelişmiş ve klasik ekstraksiyon teknikleri olarak iki sınıfa ayrılmaktadır. Soxhlet ve maserasyon teknikleri bilinen klasik ekstraksiyon tekniklerindendir. Basınçlı solvent ekstraksiyonu, mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon, süper kritik akışkan ekstraksiyonu ise yenilikçi ekstraksiyon teknikleri olarak bilinen, etkin ve hızlı ekstraksiyon yöntemleridir (Christen, 2002).

Klasik bir ekstraksiyon yöntemi olan maserasyon tekniği, araştırılan bitkinin çoğunlukla da toz formunun, bir solvent içerisinde oda koşullarında ve belirli sürede (genellikle 1-3 gün arası) çalkalanması ile ıslatılmasını içeren basit bir ekstraksiyon yöntemidir. Maserasyon işlemi, solvent kaybını en aza indirmek için kapalı olarak gerçekleştirilir. Çözücü seçimi örnekten çeşitli fitokimyasalların ayrıştırılmasında son derece önemlidir. Maserasyon tekniği, sıcaklığa duyarlı bileşiklerin ekstrakte edilmesinde avantajlı olmakla birlikte, sürenin uzun olması ve etkinliğinin düşük olması en büyük dezavantajlarıdır (Bitwell vd., 2023).

1.5.2. Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Ultrasonik, insan kulağının duyma sınırlarını aşan 20 kHz ve daha yüksek frekanslardaki ses dalgaları ile ekstraktta oluşturduğu kavitasyon sayesinde, yapıda bir takım fiziksel ve kimyasal değişikliklere sebep olan bir ses türüdür. Yüksek yoğunluk ve düşük frekansa sahip ultrasonik ($f = 20$ ile 100 kHz) uygulamaları kavitasyona neden olduğu için 'güç ultrasoniği' olarak bilinir ve gıda endüstrisinde uygulanmaktadır (Chemat vd., 2017; Lasunon vd., 2022). Ultrasonik dalgaların sebep olduğu kavitasyon sayesinde gıda materyalinden istenen biyoaktif bileşikler ekstrakte edilmektedir. Oluşan bitki materyalinin yüzeyine yakın yerlerde toplanan kavitasyon baloncukları, sıcaklık ve basınç artışına sebep olarak bitki hücre duvarının yıkılmasını ve böylece istenen bileşenlerin çözücüye geçmesini sağlamaktadır (Nurcan, 2021; Colodel vd., 2019).

Laboratuvarlarda farklı tiplerde ultrasonik cihazlar kullanılmaktadır. Bunlardan ilki ultrasonik banyolardır. Ultrasonik banyolar, katı partiküllerin boyutunu azaltarak çözünürlüğün artmasını sağlamak, solüsyonlarda gaz gidermek ve küçük cam laboratuvar malzemelerinin temizlenmesini sağlamak gibi ekstraksiyon dışında farklı amaçlar için de kullanılmaktadır. Ultrasonik banyolar, kullanımı basit olması ve ekonomik oluşu dolayısıyla avantajlı olsa da ultrasonik banyolarda uygulanan kimyasal reaksiyonların tekrarlanabilirliği düşüktür. Bir diğer ekipman ise ultrasonik problardır. Ultrasonik problarda yoğunluk, küçük bir yüzeyde iletildiği için ultrasonik banyolara kıyasla daha güçlü sistemlerdir. Ultrasonik problar, direkt örnek solüsyonuna daldırıldığı için sıcaklıkta ani artış meydana gelebileceğinden yüksek sıcaklığa hassas olan örnekler ile çalışılırken dikkatli olunmalıdır (Chemat vd., 2017).

Ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin aksine nispeten daha ucuz olması, çevreye zararlı olmaması gibi avantajları ile birlikte kısa sürede daha az solvent tüketimi ile yüksek verimde biyoaktif bileşik ekstrakte edilmesine olanak sağlayan yenilikçi bir ekstraksiyon tekniğidir (Zamora-gasga, 2018; Rashid vd., 2023).

1.5.3. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Tekniği

Mikrodalga, 300 MHz ile 300 GHz frekans aralığında olan ve iyonize olmayan bir enerji türüdür. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ise bu frekans aralığındaki dalgalar sayesinde, hedef materyal içinden istenen bileşenlerin elde edildiği bir ekstraksiyon tekniğidir (Lasunon vd., 2022). Polar molekülleri etkileyerek çözücü ve bitki dokusunun ısınmasını sağlayan mikrodalga enerjisi, ekstraksiyon kinetiğinin gelişmesini sağlamaktadır. Yapıdaki mikrodalga enerjisinin ısıya dönüşmesi dipolar dönüşler sayesinde gerçekleşmektedir. Isınma, çözücülerin dielektrik sabiti ile doğru orantılıdır. Çözücünün viskozitesi de ekstraksiyon sürecini önemli ölçüde etkilemektedir. Düşük viskozite, iyonların dağılmasını sağlayarak çözünmeyi kolaylaştırmaktadır (Bitwell vd., 2023).

Mikrodalga enerjisi, yapıda oluşan hızlı ısınma ile hedef bileşenin solvante difüzyonunu arttırmaktadır, bunu yaparken de hücreye olan zarar en az seviyede olmaktadır (Lasunon vd., 2022). Mikrodalga ekstraksiyonu, çözücünün örneğe difüzyonu, ardından çözünen maddenin fonksiyonel bölgeden ayrılarak çözücülere geçişi ile gerçekleşmektedir

(Bitwell vd., 2023). Hedef materyal içerisinde nüfuz edebilen mikrodalgaların sebep olduğu moleküler hareketlilik sayesinde materyalde ısı meydana gelmektedir. Böylece istenen hedef bileşenler, ısınan örneğin hücre duvarlarında, su buharının meydana getirdiği basınç sayesinde solvent içerisinde çözünerek toplanmaktadır (Nurcan, 2021).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, kütle ve ısı transferleri ile gerçekleşen yenilikçi bir ekstraksiyon yöntemidir. Klasik ekstraksiyon yöntemlerinde ısı transferi dışarıdan içeriye doğru gerçekleşirken, kütle transferi tersi şeklinde gerçekleşmektedir. Gelişmiş yeşil bir ekstraksiyon yöntemi olan mikrodalda ekstraksiyonunda ise hem ısı hem kütle transferi içerden dışarıya doğru olmaktadır. Bu sayede klasik ekstraksiyon metoduna göre daha kısa sürede, daha yüksek verimle, kaliteli ekstraktlar elde edilmesi mümkün olmaktadır (Oalere vd., 2021).

Ayrıca mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, örnek ekstraktlarının biyolojik aktivitelerini koruma yönünden de avantajlı bir tekniktir. Mikrodalga enerjisi ile bitki materyalinden ekstrakte edilen flavonoidler, polifenoller ve saponinler gibi fitokimyasallar polar bileşiklerdir ve mikrodalgalar bu bileşikler üzerine doğrudan etkili olup, artan sıcaklığa bağlı olarak ekstraksiyonu oldukça verimli hale getirmektedir. Sıcaklık dışında, uygulanan mikrodalga gücü ve ekstraksiyon süresi de mikrodalga ekstraksiyon verimliliğini etkileyen önemli parametrelerdir (Bitwell vd., 2023).

1.6. Ekstraksiyon Optimizasyonu-Box-Benhken Tasarımı

Yanıt-yüzey metodolojisi (RSM), bağımsız değişkenlerin birbiri arasındaki etkileşimi ile yanıt arasındaki fonksiyonel ilişkiyi tanımlayan bir takım matematiksel ve istatistiksel tekniklerin bütünüdür. Yanıt-yüzey metodu (RSM), Box ve Wilson tarafından geliştirilmiştir. O zamandan bu yana bitki materyalinden biyoaktif materyallerin ekstraksiyonu da dahil olmak üzere birçok farklı işlemde bir optimizasyon aracı olarak kullanılmaktadır. RSM, bağımsız değişken aralıklarının belirlenmesi, deneysel tasarım model seçimi, regresyon oluşturma, deneysel sonuçlara dayalı model denklemlerinin oluşturulması, model yeterliliğinin doğrulanması, modelin grafik gösterimleri ve optimal koşulların belirlenmesi gibi birçok aşamayı içermektedir (Weremfo vd., 2022).

Box-Benhken modeli, matematiksel denklemin birinci ve ikinci dereceden katsayılarının tahmini modellenmesini sağlayarak 3 seviyeli faktöriyel düzenlemede noktaların nasıl seçileceğini açıklayan bir yanıt-yüzey deneysel tasarım modelidir (Almeida vd., 2008).

Üç ve ya üçten fazla bağımsız değişkenin cevap üzerine etkisinin değerlendirildiği, bir cevap-yanıt metodolojisi olan Box-Benhken tasarımı, ilaç bilimi, gıda mühendisliği, zirai kimyasal gibi birçok endüstriyel alanda çeşitli biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edilmesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Box-Benhken tasarımında, yanıt üzerine bağımsız değişkenlerin etkisinin daha az veri ile incelenmesi büyük avantaj sağlamaktadır (Zamora-gasga, 2018).

Box-Benhken tasarım modelinde köşe noktaları yoktur, bu nedenle olmaması istenilen uç noktalardan kaçınılır. Üç ve ya üçten fazla deneysel faktör ile çalışılır. Bütün tasarım üzerinden iyi bir tahminleme yapılması sağlanır. Yalnız, Box-Benhken modeli ikinci dereceden polinomlara uygunluğu açısından sınırlı kalmaktadır.

Deney sayısı $2k.(k-1)+cp$ fomülüne göre hesaplanır. Burada k bağımsız değişken sayısı, cp ise merkezi noktanın tekrarlanma sayısıdır (Weremfo vd., 2022).

Biyoaktif maddeler açısından zengin, yüksek kaliteli ekstraktların elde edilmesinde son zamanlarda nispeten daha zahmetli olan klasik ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak modern ekstraksiyon teknolojileri tercih edilmektedir. Vurgulu elektrik alan, ultrasonik destekli ekstraksiyon, mikrodalga ve süper kritik akışkan ekstraksiyonu yenilikçi ekstraksiyon yöntemlerinden bazılarıdır. Bu yenilikçi ekstraksiyon yöntemlerinde ekstraksiyon performansı üzerine etkili birçok önemli faktör bulunmaktadır. Ekstraksiyon işleminin etkinliği solventin tipi, ekstraksiyon süresi ve sıcaklık ile beraber mikrodalga ve ultrasonik güç, sonikasyon süresi, ekstraksiyon döngüsü, solvent/materyal oranı, parçacık boyutu ve basınç gibi birçok önemli faktöre bağlıdır. Bu nedenle, ekstraksiyon etkinliğini belirleyebilmek ve optimizasyon çalışmalarını gerçekleştirebilmek için iki ve üç seviye faktör dizaynı, Plackett–Burman, Doehlert merkezi bileşik ve Box–Behnken dizaynı gibi bazı deneysel tasarım modelleri kullanılmaktadır. Ekstraksiyon değişkenlerinin arasındaki etkileşimi değerlendirebilmek ve etkinliğin belirlenmesi için gerekli olan deney sayısını azaltmak için bu deneysel tasarım modellerinden yararlanılmaktadır (Tsiaka vd., 2023; Almeida vd., 2008).

Bu tez çalışmasında Design-Expert 8.0 deneysel tasarım programı kullanılarak ekstraksiyon verileri Box-Benhken modeline göre değerlendirilmiştir. Bağımsız değişken olarak 4 faktör kullanılmıştır, merkezi nokta ise 3 tekerrürlü gerçekleştirilmiştir. $2k.(k-1)+cp$ formülüne göre modelin oluşturduğu farklı ekstraksiyon koşullarında 27 deney gerçekleştirilerek maksimum verim sağlanması için gerekli optimum noktalar belirlenmiştir.

1.7. Enzimler

Enzimler, aktivasyon enerjisini düşürerek biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran son derece spesifik biyokatalizörlerdir. Enzimler, çok fazla sayıda aminoasitlerin peptit bağları ile bir araya gelmesi ile oluşan ve moleküler ağırlıkları 10 kilodalton ile 2000 kilodalton arasında değişen protein yapısında makromoleküllerdir. Enzimler üçüncül ve dördüncül protein yapılarına kavuştuğunda enzimatik aktiviteleri için en önemli şey, hidrofobik kısımlarına yerleşen aktif bölgeleridir. Bu aktif bölgeler enzimlerin spesifik olmasını sağlamaktadır (Okpara, 2022). Her bir enzim Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji (IUBMB) kurumu tarafından oluşturulan enzim komisyonunun (Enzymes Commission) belirlediği numaralandırma sistemine göre sınıflandırılarak adlandırılmaktadır. Enzimler başında EC ifadesi bulunan farklı sayılar ile kodlanmaktadır (Patel vd., 2017).

7 farklı sınıf enzim grubu bulunmaktadır. Bunlar;

- ✓ Liyazlar
- ✓ Ligazlar
- ✓ Oksidoredüktazlar
- ✓ Transferazlar
- ✓ Translokazlar
- ✓ Hidrolaz grubu enzimlerdir.

Hidrolaz grubu enzimler, yapıdaki suyun varlığı ile makromolekülün yapısında bulunan bağları kırarak daha küçük moleküllerin oluşumunu katalizleyen bir grup mikrobiyal enzimlerdir. Amilaz, glukozidaz ve lipaz enzimleri hidrolaz grubu enzimlerden birkaç tanesidir (Okpara, 2022).

Pankreatik α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri nişastayı hidrolize ederek bağırsakta emilmekte ve böylece glukoz şeklinde kana karışmaktadır. Bu yüzden özellikle diyabet rahatsızlığı olan kişilerde kan glukoz seviyesinin düzenlenmesi ile alakalı enzimler olmalarından ötürü işlevlerini yerine getirebilme oranları önemlidir. Hiperglisemi hastalarında yemek sonrası kanda aşırı glukoz birikmektedir. Bu durum vücutta serbest radikal üretimi ve buna bağlı olarak ta oksidatif stres ve vasküler bozukluklara sebep olmaktadır (Sunagar ve Sreerama, 2023). Hiperglisemiyi önlemek için klinik olarak inhibitör ilaçlar kullanılmaktadır. Bilinen en yaygın α -glukozidaz inhibitör ilacı ise akarbozdur. Akarboz, aktinomisetler tarafından izole edilmektedir. İnhibitör maddeler α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin aktivitesini inhibe ederek glukoz salınımını geciktirmektedirler. Bu durum hiperglisemi hastaları için ideal ve istenen bir hedeftir (Dirir vd., 2022). Ancak uzun vadede bu tip ilaçların oluşturabileceği yan etkilerinden ötürü doğal inhibitör ikamelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu tip hastalar bu yüzden daha çok doğal ürünlere yönelmektedir (Sunagar ve Sreerama, 2023).

1.7.1. α -Amilaz Enzimi

α -Amilaz enzimi (EC-3.2.1.1) karbonhidratlardaki sabit α -1,4 glukozidik bağları kırarak polisakkaritlerin kısa zincirli dekstrinlere dönüşümünü hidrolize eden endoenzimdir. Nişasta sıvılaştırılması, bira, meyve suyu ve unlu mamüller olmak üzere gıda endüstrisinde birçok alanda da kullanım olanağına sahiptir. Şekerleme endüstrisinde ise glukoz ve fruktoz şuruplarının üretiminde nişasta sıvılaştırılması işleminde amilaz enzimi kullanılmaktadır. Ekmekçilik sektöründe unda bulunan nişastayı daha basit şekerlere dönüştürerek hem fermentasyonu sağlamak hem de ekmeğin lezzet ve kalitesini arttırmak amaçları ile de kullanılmaktadır (Maarel ve Veen, 2002). Hayvan yemi sanayinde yemlerin sindirilebilirlik özelliklerini iyileştirmek amacıyla da yine amilaz enzimi yaygın kullanılmaktadır. Bakteriler, mantarlar ve hayvanların çeşitli bölümleri de dâhil olmak üzere çeşitli canlılardan elde edilebilen bir enzimdir. Gıda endüstrisinde en yaygın kullanılan amilaz enzim kaynakları ise *Saccharomyces Cerevisiae*, bakteri kökenli olarak *Bacillus spp.* türleri ve mantar kökenli olarak *Aspergillus spp.* türlerinden elde edilen amilaz enzimidir (Okpara, 2022).

Glukozit hidrolaz grubunun bir üyesi olan α -amilaz enzimi yapısında kalsiyum taşımaktadır. Yapısındaki kalsiyum (Ca^{+2}), enzimin stabilitesi ve aktivitesinden sorumludur (D. Liu vd., 2017).

1.7.2. Lipaz Enzimi

Lipaz enzimi (EC 3.1.1.3) ester bağlarını kırarak trigliseritlerin gliserol ve yağ asitlerine hidrolitik parçalanma reaksiyonunu katalizleyen hidrolaz grubu bir enzimdir. Susuz ortamlarda dahi aktivite ve stabilite gösterebilmektedirler. Ortamdaki aşırı su varlığında ise ester bağlarını hidrolize edebilmek için ara fazda aktivite olarak yine görevini gerçekleştirebilmektedir (Melani vd., 2020). Hayvansal ve mikrobiyal orjinli birçok lipaz enzimi optimum alkali pH (8-9) da aktivite göstermektedir. Ancak bu optimum pH aralığı ortamda tuzun varlığı, kullanılan substrat gibi şartlara bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir (Kilara vd., 2011). Bitkilerin çeşitli kısımlarından elde edilebilen lipaz enzimi, aslında yağların sindirimini gerçekleştirebilmek için insanlar ve hayvanların mide ve pankreaslarında salgılanmaktadır. Ucuz olmasından kaynaklı endüstride en çok kullanılanı da hayvansal kökenli domuz pankreasından elde edilen lipazdır. Endüstriyel üretim için kullanılan lipaz enzimi ise genelde mantar ve bakteri kaynaklıdır. Lipaz enzimi, fırıncılık sektörü, bira gibi içecek sektörü ve peynir üretimi gibi daha birçok gıda endüstri alanında kullanım olanağına sahiptir (Melani vd., 2020). Bu tip enzimler özellikle gıda endüstrisinde antifungal ve emülsifiyer ajan üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca lipaz enzimi, kolza tohumu, soya ve ayçiçeği yağında organoleptik özellikleri iyileştirmek için yapıdan fosfatların uzaklaştırılması amacıyla gam giderici ajan olarak ta kullanılabilme olanağına sahiptir (Melani vd., 2020; Borrelli ve Trono, 2015).

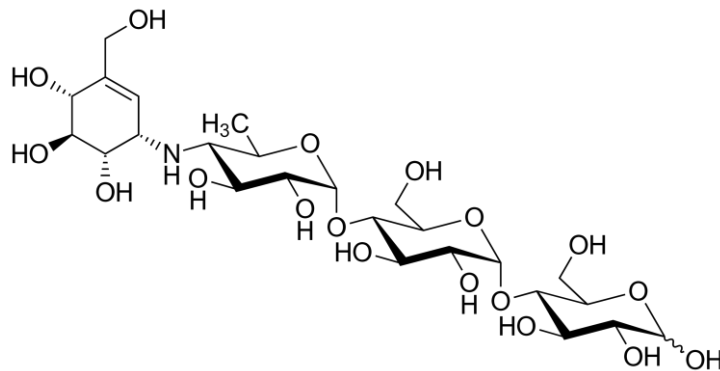
1.7.3. α -Glukozidaz Enzimi

α -glukozidaz enzimi, çoğunlukla hayvan, bitki ve mikroorganizma dokularında bulunan ekzo hidrolaz grubu bir enzimdir. İnce bağırsağın epitelinden salgılanan, zara bağlı bulunan bir enzimdir. Substratın indirgeyici olmayan ucundan, α -glukozun serbest kalmasını katalizler (Kumar vd., 2011). α -Glukozidaz enzimi enterositlerin (ince bağırsağın epitelyum hücreleri) fırça kenarlarında bulunmaktadır (Dirir vd., 2022). Bu enzimin sindirim sisteminine bağlı olarak diyabetik olaylarla büyük ilgisi vardır. Çünkü glukozidaz enzimi ince bağırsakta oligosakkaritlerin monosakkaritlere hidrolizini

katalizleyerek glukozon ince bağırsak tarafından emilim işlemini kolaylaştırmaktadır. Diyabet tedavisindeki asıl hedef glukoz emilimini geciktirmektir ve bu enzimin inhibe olması, yemek sonrası kan şekeri seviyesinin yükselmesini yavaşlatmaktadır. Akarboz ve vogliboz, nojirimisin, gıdaların yapısında bulunan flavonoid, alkaloid ve antosiyanin gibi birçok doğal gıda bileşiklerinin glukozidaz inhibitörü olduğu rapor edilmektedir (Kumar vd., 2011; Adisakwattana vd., 2009; Jong-anurakkun vd., 2007).

Farmakolojik olarak farklı glukoz inhibitörü ilaçlar kullanılmaktadır. En yaygın kullanılan glukozidaz inhibitörü akarbozdur. Akarboz bileşiği (O-4,6-dideoksi-4-[(1S,4R,5S,6S)-4, 5, 6-trihidroksi-3-(hidroksimetil)-2-siklohegzen-1-yl]amino]-a-D-glukopironozil-(1,4)-O-a-D-glukopironozil (1,4)-D-glukoz), *Actinoplanes sp. SE50* bakterileri tarafından üretilen ikincil bir metabolittir (Şekil 1.2). Akarbozun α-glukozidaz bağlanma bölgelerine yüksek affinite gösterme sebebinin yapısal olarak oligosakkaritlere olan benzerliğinden kaynaklı olduğu sanılmaktadır. Akarbozun sindirim enzimleri tarafından hidrolize edilememesinin temel sebebinin ise inhibitör özelliğini sergilemesinde kilit faktör olarak görülen yapısındaki imino köprüsü olduğu düşünülmektedir (Naik ve Kokil, 2013).

Akarboz inhibitörü (Şekil 1.2), α-glukozidaz enziminin aktivitesini inhibe ederek glukoz absorblanmasını geciktirir. Böylece kan şekeri düzeyini azaltarak karbonhidrat sindirimini yavaşlatması ile etki mekanizmasını gösterir. Özellikle Tip 2 diyabet rahatsızlığını önlemek için antidiyabetik olarak kullanılmaktadır. Ancak akarboz gibi inhibitör bileşiklerin insanlar üzerinde mide-bağırsak bozuklukları dâhil olmak üzere çeşitli yan etkileri görülebilmektedir (Upadhyay vd., 2017; Naik ve Kokil, 2013).



Şekil 1.2. Akarboz inhibitörünün kimyasal yapısı

Gastrointestinal sistemde, karbonhidratların bir dizi parçalanma reaksiyonu ile ince bağırsakta absorblanan monosakkaritlere kadar yıkılarak sindirimi gerçekleşmektedir. Karbonhidratların sindirim mekanizmasını α -amilaz ve α -glukozidaz enzimleri birlikte gerçekleştirmektedir. Sindirim süreci pankreas ve tükürük bezleri tarafından salgılanan α -amilaz enziminin nişastayı daha kısa polisakkaritlere hidrolize etmesiyle başlamaktadır. Midenin asidik yapısı sayesinde tükürük amilazları inhibe olmaktadır. Bu sayede nişastanın gereğinden daha fazla yıkılması engellenmektedir. α -Amilaz enzimi, ince bağırsağa ulaştıktan sonra kısmen hidrolize olan nişastanın α -1,4 bağlarını kırarak dekstrinlerin oluşmasını katalizlemektedir. Son aşamada ise α -glukozidaz enzimi disakkaritlerdeki α -glukozidik bağların hidrolizini katalizleme görevini yerine getirmektedir (Dirir vd., 2022).

1.7.4. Anjiotensin Dönüştürücü Enzim-1 (ADE-1)

Anjiotensin dönüştürücü enzim, asidik yapıda bir glukoprotein olan bir dipeptit karboksidaz enzimidir. Rennin-anjiotensin sisteminde önemli rol oynamaktadır. ADE enziminin inhibisyonu, kan basıncının azaltılmasında önemli rol oynamaktadır. Kan basıncının kontrol edilmesine ilaveten ADE enzimi ve onun peptit substratlarının kardiyovasküler, üreme ve bağışıklık gibi birçok sağlık alanında önemli etkileri bulunmaktadır. ADE-1 enzimi sadece dokularda bulunmaz, onun çözünebilir formu şeklinde idrar, beyin omiliik sıvısı ve serum gibi birçok sıvı yapısında da bulunmaktadır. Bu özelliğinden ötürü de hipertansiyon ve daha birçok hastalık ile ilişkili bir enzimdir (Bueno ve Frasca, 2023). Böbreklerden sentezlenen rennin enzimi bir decapeptit olan anjitesinojeni anjiotensin-1 dönüştürür. Daha sonra anjiotensin 1'in, bir oktapeptit olan anjiotensin enzimi sayesinde anjiotensin-2'ye dönüşümü gerçekleşir. Bu gerçekleşen mekanizma kan damarlarının daralmasına ve böylece kan basıncının artmasına sebep olmaktadır. Anjiotensin dönüştürücü enzimi inhibe edildiğinde bu mekanizma basamağı kırılır ve dönüşüm gerçekleşemez. Sonuç olarak bu enzimin aktivitesinin inhibe edilmesi neticesinde kan basıncı düşer. Oluşan bu durum, hipertansiyon hastalarının tedavisinde büyük önem taşıyan bir yaklaşımdır. ADE inhibitör ilaçları olarak en çok captopril, lisinopril, perindopril ve enalapril kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların alerjik reaksiyonlar ve ciltte döküntü gibi bir takım olası yan etkileri bulunduğundan dolayı insanlar doğal inhibitör arayışına yönelmektedir (Zeytinlunoğlu, 2019).

1.8. Oleoresin

Oleoresinler çeşitli baharatlardan organik solventler ile elde edilen, yapısında uçucu yağları bulunduran reçinemsi ekstraktlardır. Baharat ekstraktları olarak bilinen oleoresinler, daha homojen bir karışımın elde edilmesini kolaylaştırması ve depolama boyunca yapıda mikrobiyolojik açıdan daha az bozulma görülmesi gibi sebeplerden dolayı baharata kıyasla kullanıma daha elverişlidir (Zannou vd., 2022; Caliskan ve Dirim, 2013; Morsy, 2016). Çeşitli bitkilerden elde edilen oleoresinler, lezzet artırıcı ve doğal koruyucu gibi özellikleri sayesinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Budiastra vd., 2020). Oleoresin elde edilirken tercih edilen solventin tipi, oleoresinin kalitesini ve miktarını etkilemektedir. Oleoresin üretiminde çeşitli farklı solventler (etil asetat, metanol, propil alkol, kloroform, hegzan gibi) kullanılmakla birlikte, en zararsız solvent olması sebebi ile tercih edilen solvent etanoldür. Tercih edilen solvent tipi ekstrakte edilen maddelerin farklı oranlarda ve çeşitte olmasına da neden olmaktadır. Kullanılan solvante göre reçine maddeleri ile mumsu maddeler, gamlar ve bitki yağları da ekstrakta geçmektedir (Heath vd., 1986).

Oleoresinler gıda endüstrisinde un, tuz ve dekstroz gibi çeşitli katı taşıyıcı maddeler ilave edilerek ya da çeşitli emülsifiye edici maddeler ile emülsifiye şekilde pazarlanmaktadır (Heath vd., 1986).

Baharat oleoresinlerinin, baharat ve uçucu yağlara kıyasla çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır.

Avantajları şöyle sıralanabilir:

- Oleoresinlerin, baharatın kendisine göre daha homojen yapıları sayesinde kullanımları daha kolaydır.
- Depolamada nispeten daha az yer kaplarlar.
- Baharatın tat profiline en yakın ekstrakt oleoresindir.
- Ayrıca baharatın kendisine göre daha az kullanımı ile daha yoğun aroma ve tat elde edilmektedir.

- Baharatlarda raf ömrü boyunca küf oluşma riski bulunmaktadır, oleoresinler ise içerdiği doğal antioksidan maddeler sayesinde antimikrobiyal özellik göstermeleri sebebi ile mikrobiyal açıdan daha güvenlidir.
- Baharata kıyasla oleoresinin oksidasyona karşı daha dirençli olması ve depolama boyunca yapısındaki aroma kayıplarının daha az olması gibi özelliklerinden ötürü büyük avantaj sağlamaktadır (Khasanah vd., 2017; Morsy, 2016; Ünver, 2006).

Dezavantajları ise şöyle sıralanabilir:

- Baharat oleoresinlerinin lezzet profili büyük ölçüde hammadde olarak kullanılan bitki türünün kalitesi ve kullanılan solventin tipine bağlı olarak değişiklik gösterebilir.
- Oleoresinler son derece konsantre ürünlerdir. Bu yüzden gıda girdisi olarak kullanımları zorluk teşkil edebilir (Heath vd., 1986; Ünver A., 2006).

1.9. Oleoresin Ekstraksiyonu Üzerine Yapılan Literatür Çalışmaları

Yapılan bir çalışmada %90 amplitud 75 dakika, %96 etanol konsantrasyonu ve 1:4 katı/solvent oranı şartlarında ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile biberden elde edilen oleoresin verimini maserasyon tekniği (7 saat) ile kıyaslamışlar, ultrasonik ekstraksiyon yönteminin (%13.7) maserasyon tekniğinden (%13.0) istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermediğini ancak zaman açısından ultrasonik yöntemin daha avantajlı olduğunu belirtmişlerdir (Budiasra vd., 2020).

Klasik ve yenilikçi yöntemlerin kıyaslandığı bir başka çalışmada ise, maserasyon ve ultrasonik teknikleri ile elde edilen hindistan cevizi oleoresinlerinin verimleri karşılaştırılmıştır. Maserasyon oleoresinleri 3 saat etanol ile alınmıştır. Ultrasonik ekstraksiyonunda ise farklı güç ve süreler uygulanarak oleoresinler elde edilmiştir. %20 maksimum güçte 20 dakika, %20 güç- 25 dakika, %40 güç-10 dakika, %40 güç ve 25 dakika şartlarındaki ultrasonik oleoresin verimlerini ise sırasıyla %4.55- 5.15- 8.26- 7.98 olarak bulmuşlardır. Maserasyon ile alınan oleoresin verimini ise %9.63 olarak rapor etmişlerdir. Maserasyon tekniğinin, diğer ekstraksiyon teknikleri ile kıyaslandığında daha yüksek oleoresin verimine sahip olduğunu, %40 maksimum güç

ve 10 dakika şartlarında ultrasonik tekniği ile benzer oleoresin verimi sağlanmasına rağmen, süre açısından ultrasonik tekniğinin daha avantajlı olduğunu ve bu ultrasonik şartlarında daha kaliteli oleoresinler elde edildiğini ifade etmişlerdir (Morsy, 2016).

Soxhlet klasik ekstraksiyon tekniği kullanarak etanol ve hegzan solventleri ile kurutulmuş ve taze naneden (*Mentha longifolia L.*) ayrı ayrı oleoresin ekstraktı elde etmişlerdir. Kurutma işleminin oleoresinlerin kalitatif ve kantitatif özellikleri üzerinde önemli etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Taze naneden etanol ile alınan oleoresinlerde kurutulmuş naneye kıyasla daha yüksek antioksidan etki gözlemişlerdir. Hegzan ile alınan oleoresinlerde ise, etanol oleoresinlerinin tersine kurutulmuş nane oleoresinin daha yüksek antioksidan etkiye sahip olduğunu raporlamışlardır (Singh vd., 2015).

Yapılan bir başka çalışmada ise, zerdeçal (*Curcuma domestica Val.*) oleoresininden curcuminoid bileşenini ekstrakte edebilmek için mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniği uygulamışlardır. 0.2 katı/solvent (g/ml) oranında hazırlanan karışım mikrodalga fırınında ekstrakte edilmiştir. Mikrodalga optimum çalışma şartlarını 700 watt, 3 dakika, 0.3-0.60 mm partikül boyutu, 60°C çalışma sıcaklığı olarak belirlemişlerdir. Mikrodalga ekstraksiyonu üzerine sürenin etkili olduğunu, 3 dakikada maksimum verim alındığını, 4 ve 5. dakikalarda ise curcuminoid bileşiklerinin degrade olmasına bağlı olarak azaldığını ifade etmişlerdir. Ekstrakt sıcaklığının 100°C'nin üzerine çıkmasını engellemek için, ekstrakt karışımını 1dk radyasyon uygulamasından sonra 2 dk kapalı olacak şekilde düzenli aralıklarla mikrodalga fırında ısınlamışlardır. Ekstrakt sıcaklığını 98°C olarak not etmişlerdir. Ekstraksiyon etkisi üzerine partikül boyutunun önemli bir parametre olduğunu, partikül çapı azaldıkça yüzey alanın artmasına ve böylece solventin örnek içerisine daha iyi nüfuz etmesine bağlı olarak ekstraksiyon veriminin artmasına sebep olduğunu ifade etmişlerdir. Solvent hacmindeki artışın ise, 10ml'e kadar ekstraksiyon verimi üzerine olumlu etki gösterdiğini, daha yüksek solvent hacminde ise azalma meydana geldiğini belirtmişlerdir (Hadi vd., 2015).

Huang vd. (2022) gerçekleştirdikleri çalışmada yanıt olarak kullandığı Amerikan baharat ticaret derneği (ASTA) renk değerleri ile yüksek kalitede paprika (kırmızı biber) oleoresini sağlamak için hızlandırılmış basınçlı solvent ekstraksiyon tekniğini yanıt-yüzey (Box-Benhken) metodu ile optimize etmişlerdir. Sonuçları, ultrasonik ve maserasyon tekniği ile sağladıkları oleoresinlere ait sonuçlar ile karşılaştırmışlardır.

Hızlandırılmış basınçlı solvent ekstraksiyonu için optimum şartları, 78°C, 28 dakika ve 2 döngü şeklinde belirlemişlerdir. Hızlandırılmış basınçlı solvent ve ultrasonik ekstraksiyon teknikleri ile alınan oleoresinlerin kalite kriteri olarak temel alınan renk değerlerinin maserasyon tekniğine kıyasla daha yüksek olduğunu ve renk değerlerinin aynı zamanda oleoresinlerin toplam karotenoid ve kapsaisinoid içeriği ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir (Huang vd., 2022).

1.10 Biyoaktivite Özellikleri

1.10.1. Antitrombotik Aktivite

Ateroskleroz ve tromboz, kardiyovasküler hastalıkların gelişiminde rol oynayan temel süreçlerdir. Yüksek kolesterol ve aterojenik lipoproteinlerin vücutta yüksek seviyede bulunması, çeşitli kardiyovasküler hastalıkların temel risk faktörüdür. Bu hastalıkları azaltmak için tedavi yöntemi olarak birçok farklı yaklaşım kullanılmakla birlikte en yaygın kullanılan tedaviler arasında antitrombotik ve kolesterol düşürücü ajanların kullanılması bulunmaktadır. Tıbbi ilaçların, karaciğer hasarı, iç kanama ve yoğun alerjik tepkiler gibi birçok yan etkilerinden dolayı hastalar, bazı farmakolojik olmayan alternatiflere yönelmektedirler. Özellikle son zamanlarda yapılan çalışmalar kardiyovasküler hastalıklara karşı bazı biyoaktif gıda bileşiklerinin koruyucu rol üstlendiği bilgisini desteklemektedir (Rendon-Rosales vd., 2019).

Çeşitli serbest radikaller, vücutta kontrolsüz bir şekilde fazlaca oluştuğunda kanser, diyabet, ateroskleroz gibi birçok hastalığa öncülük eden hücresel zarar meydana getirebilmektedir. Bu serbest radikaller daha ileri aşamada koroner arterlere yerleşirse trombin adı verilen kan pıhtılarının kalbe zarar vereceği bilinmektedir. Kan pıhtılaşmasındaki temel mekanizma trombin ve fibrinojen arasındaki reaksiyon sonucu fibrin pıhtı formunun oluşmasıdır (Bing vd., 2008).

Trombin, arjininin karboksil tarafında bulunan proteinlerdeki bağları parçalayan aktif bir pıhtılaşma koagulatörü (faktör 2) olarak işlev gören bir serin proteaz enzimidir. α ve β zincirleri ile birbirine bağlanan aminoasitlerden oluşan trombin enzimi 37 kilodalton ağırlığındadır. Zincirler, tek bir disülfid bağı ile kovalent olarak birbirine bağlanmış durumdadır. Trombin enzimi, sodyum(Na^+) ile aktive olan allosterik bir enzimdir. Aktif enzim molekülünün 4 adet bağlanma bölgesi mevcuttur ve bunlardan bir tanesi de

sodyum bağlanma bölgesidir. Bir diğeri de fibrinojenin trombine bağlandığı anyon bölgesidir. Sodyum bağlanması, düşük aktiviteli trombin enziminin yüksek aktiviteli hızlı form kazanmasını sağlamaktadır.

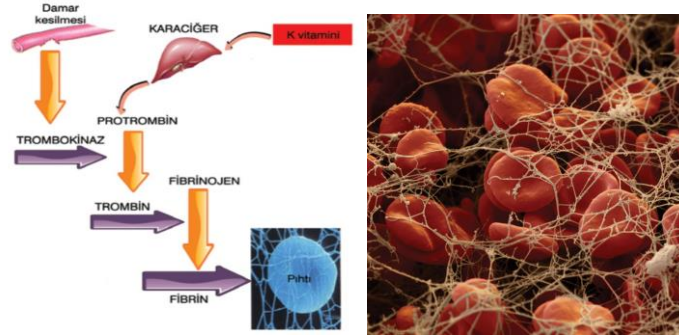
Trombin enzimi, birçok ölüme yol açan tromboembolik hastalıklarda başrol oynamaktadır. Trombin inhibisyonu, bu tarz hastalıkların iyileştirilmesi ve önlenmesinde koagülasyonu önleyici tedavi olarak önemlidir (Bijak vd., 2013).

Gıdalarda bulunan birçok biyoaktif bileşiklerin de trombin enzim inhibisyonunu sağladığı ve böylece bu gıdaların tüketiminin artırılması ile pıhtılaşmaya bağlı hastalıkların tedavi edilmesinde faydalı olabileceği yapılan birçok çalışma ile desteklenmektedir.

Fibrinojen konsantrasyonu, pıhtı (lif) oluşum mekanizmasında son derece etkili bir faktördür. Fibrinojen konsantrasyonunun artırılması durumunda trombin - fibrinojen oranları azalacağından, daha uzun pıhtılaşma sürelerinde, daha kalın liflerin oluşması beklenmektedir. Ryan vd. (1999) farklı şartlarda elde ettikleri pıhtıları inceledikleri bir çalışmada artan fibrinojen konsantrasyonlarında, oluşan pıhtıların sertliğinin artmasına bağlı olarak daha sağlam pıhtı oluşumuna sebep olabileceğini açıklamışlardır.

Pıhtı oluşum mekanizması üzerinde etkili olan bir diğer faktör de trombin konsantrasyonudur. Trombin enzim konsantrasyonunun azaltılması ile fibrinopeptit bölünmesi olayları da azalmaktadır ve bunun sonucunda fibrin monomer oluşumu yavaşlamaktadır. Monomer oluşumu yavaş bir şekilde meydana geldikçe, daha uzun ve kalın liflerden oluşan bir pıhtı oluşumunun meydana gelmesi ile reaksiyon sonuçlanmaktadır (Şekil 1.3). Trombin enzim konsantrasyonu yüksek olduğunda ise, uzunlamasına oluşan lif gelişim hızları yavaşlamaktadır. Böylece kısa oligomerler oluşmaktadır ki bu da kısa ve zayıf pıhtıların oluşumu ile sonuçlanmaktadır (Ryan vd., 1999).

Kalsiyumun fibrin pıhtılaşma mekanizması üzerine hızlandırıcı bir etkisi olduğu bilinmektedir. Ryan vd. (1999) yaptıkları bir çalışmada, düşük kalsiyum seviyesinde olan ortamlarda oluşan pıhtıların daha yumuşak, belirgin olmayan zayıf pıhtı şeklinde oluştuğunu belirtmişlerdir.



Şekil 1.3. Fibrin pıhtı oluşumu ve kan hücrelerini saran ağ görüntüsü

1.10.2. Antikanser Aktivite

Kanser, yenilenemeyen eski hücrelerin yok olmayıp, vücutta kontrolsüz bir şekilde birikmesi sonucu meydana gelen bir hastalıktır. Bu kontrolsüz şekilde çoğalan hücre bölünmeleri bir doku kitlesi oluşturmak üzere birleşmektedirler. Bu oluşan doku kitlesine ise ‘tümör’ adı verilmektedir. Kansere sebep olan birçok fizyolojik ve biyokimyasal faktör bulunmaktadır. Radyasyon, virüs kaynaklı enfeksiyonlar (HPV, hepatit B vb.), sigara, hareketsiz yaşam, sağlıksız beslenme, (fazla miktarda basit şeker ve et tüketimi gibi) parazitler, yemek veya içeceklerde kontaminasyon (örneğin karaciğer kanserine aflatoksinler neden olabilir) ve karaciğer kanserine neden olabilen fazla alkol tüketimi bu faktörlerden bazılarıdır (Alia ve Faleeha, 2014). Özellikle son yıllarda kanserden kaynaklı fazlaca ölümler meydana gelmektedir. Akciğer, kolon, mide, meme, prostat ve rahim ağzı kanserinden 2020 yılında yaklaşık 10 milyon kişi hayatını kaybetmiştir. Ayrıca kanser için etkili ilaç tedavileri sınırlı düzeydedir. Bu nedenle kanseri önleyici ve tedavi edici çalışmalara fazlaca ihtiyaç duyulmaktadır. Özellikle meyve ve sebzeler, kanser engelleyici özellikleri ile yapısında farklı fitokimyasal maddeleri içermektedirler. Bunlar, fenolik bileşikler, vitaminler, karotenoidler, organosülfür bileşikler, alkaloidler gibi geniş bir grubu içermektedir. Özellikle polifenolik maddelerce zengin diyetlerin, antikanser, antidiyabetik, antiinflamatuvar, antioksidan ve kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyucu etki gösterdiği yapılan çalışmalar ile açıklanmaktadır (Alia ve Faleeha, 2014). Sumak bitkisinin, alternatif tıp olarak bilinen birtakım hastalıkların (diyare, kanser, diyabet, ağız ve diş hastalıkları, hipertansiyon, ateroskleroz, ishal ve karaciğer hastalıkları vb.) tedavisinde yaygın şekilde kullanıldığı bilinmektedir. Ulusal kanser enstitüsü 1960

yılından bu yana, antitümör aktivite çalışmaları için çeşitli bitkileri araştırmaya başlamıştır. Zamanla antikanser özellikleri araştırılıp bilindikçe, şifalı bitkilerden elde edilen doğal bileşiklere olan ilgi de artmıştır. Gelişmiş modern teknikler ile elde edilen bu doğal bileşiklerin in vitro ve in vivo şekilde antikanser özellikleri üzerine çalışmalar gerçekleştirilmektedir. Yine bu çalışmaların birinde, HT-29 kolon kanser hücresi ve MCF-7 meme kanser hücresini yok etme üzerinde sumak ekstraktlarının etkili olduğunu belirtmişlerdir (Tohma vd., 2019).

Tüm bitki matriksleri ikincil metabolilerden (polifenolik bileşikler, steroller, terpenler ve karotenoidler gibi) oluşan geniş bir spektrum içermektedir. Bu bileşikler kardiyovasküler hastalıklar, oksidatif stres, obezite, kanser tipleri, virüsler ve bakteriyel aktiviteden kaynaklı birçok hastalıklara karşı önemli biyolojik aktivite göstermektedir (Tsiaka vd., 2023).

1.10.3. Antidiyabetik Aktivite

Şeker hastalığı olarak bilinen ve tıptaki ismi ile ‘Diabetes mellitus’ kronik hiperglisemia hastalığı olarak karakterize edilen metabolik bir bozukluktur. Vücutta insülin eksikliği veya yokluğu, insüline karşı doku duyarsızlığı, insülinin etkinliğini kaybetmesi gibi durumlardan ötürü oluşan bir rahatsızlıktır. Dünya çapında artan bir hastalık olarak görülmeye başlanmıştır. Uluslararası Diyabet Federasyonuna (IDF) 2022 raporlarına göre 537 milyon kişi diyabet hastası ve 316 milyon insan da glukoz toleransının azalması ile birlikte artan diyabet riski ile karşı karşıyadır. 2030 yılına kadar sayının 643 milyonun üzerine çıkacağı ve eğer doğru önlemler alınmaz ise birçok insanın bu hastalıktan muzdarip olacağı tahmin edilmektedir (Abo-shady vd., 2023).

İnsülin, pankreatik β - hücreleri tarafından sentezlenen ve kan glukozunun kontrolünde kilit rol alan bir hormondur. İnsülin hormonu, glukozu kullanarak vücut için gereken enerjinin sağlanmasında rol oynamaktadır. Eğer insülin olmazsa ya da doku duyarsızlığı nedeniyle etkisi azalırsa doku ve hücreler glukozu alamazlar ve bunun sonucunda da kanda aşırı glukoz birikimi meydana gelir. Bunun sonucunda kişide çeşitli diyabet semptomları oluşmaya başlar (Rituve Nandini, 2016). Aşırı susama, yorgunluk hissi, görme sorunları, sık idrara çıkma, kilo kaybı gibi semptomlar kişide oluşabilir. Fakat oluşan semptomlar farklı hastalıklara da atfedilebileceğinden, direkt diyabet ile ilişkilendirilemeyebilir. Uzun dönem, akut veya kronik komplikasyonların hepsinde

hipergliseminin kontrolü çok önemlidir. Tip1 ve Tip 2 diyabet, hamilelik diyabeti gibi çeşitleri bulunmaktadır. Tip 1 diyabeti, insüline bağlı diabetes mellitus (IDDM) olarak tanımlanmaktadır. Genellikle genç bireylerde görülen ve diyabet hastalarının %10'luk dilimini oluşturan türüdür. Bu tip hastalarda pankreatik hücrelerin aktivitesinin bozulmasının bir sonucu olarak insülin salgılanamaz. İnsülin olmadığından dolayı vücut enerji elde edebilmek için glukoz yerine yağları yakmaya başlayacaktır. Şiddetli hiperglisemi neticesinde vücutta toksik etki gösteren ketonlar yan ürün olarak oluşmaya başlar. Oluşan ketoasidoz olayının önlenmesi ve hastaların yaşamlarına devam edebilmesi için günlük insülin almaları gerekmektedir (Abo-shady vd., 2023).

Diyabet hastalarının birçoğunda görülen tür ise tip-2 diyabettir. Bu hastalarda, insülin salgılayan hücrelerin kaybı sonucu, insülin, aktivitesini yeterince yerine getirememektedir. İnsülin direncinden dolayı kaslar yeterince glukozu kullanamamaktadır. Bundan dolayı bu hastalarda komplikasyonlar yavaş ortaya çıkmaktadır (Abo-shady vd., 2023). Özellikle tip 2 hastalarında oluşan diyabet hastalığı, yüksek kan basıncını ifade eden hipertansiyon, hiperlipidemi ve yüksek kolesterol gibi hastalıklar ile de ilişkilidir (Sørensen vd., 2019).

Tip 2 diyabet hastalığının önlenmesinde anahtar enzim olarak rol alan α -amilaz ve α -glukozidaz enzimlerinin aktivitesinin engellenmesi ile gerçekleştirilen ilaç tedavisi uygulanmaktadır (Abo-shady vd., 2023).

1.10.4. Antihipertansif Aktivite

Yüksek kan basıncı klinik olarak sistolik (≥ 140 mmHg) ya da diyastolik kan basıncı (≥ 90 mmHg) değerlerinde tekrarlandığında 'hipertansiyon' olarak tanımlanmaktadır. Hipertansiyon, kalp kasılması sırasında damar içerisindeki kanın arterlerin duvarlarına uyguladığı yüksek basınç ile ilişkili olarak oluşan, uzun süreli bir rahatsızlık olarak ifade edilmektedir. Hipertansiyon hastalığı tedavi edilmediğinde ölümlere sebep olan son derece önemli, dünya çapında görülen bir hastalıktır. Kalp ve damar hastalıkları, beyin ve böbrek hastalığı oluşma riskini tetikleyebilen ciddi bir tıbbi durumdur. Vücutta kan basıncının artması ile oluşan hipertansiyon hastalığının birincil ve ikincil olmak üzere 2 tipi (sistolik ve diyastolik) mevcuttur. Tansiyon hastalarının % 90-95'inde görülen tip birincil hipertansiyondur. Kalp debisi, kan hacmi gibi birçok parametre kardiyovasküler sistemdeki dengeyi bozarak kan basıncının değişimine sebep

olmaktadır. Fizyolojik olarak kan basıncı seviyelerinin dengede tutulması rennin-anjiyotensin sistemi, sinir ve bağışıklık sistemi gibi birçok sistem ve aralarındaki ilişkiye bağlıdır (Li vd., 2022; Verma vd., 2021).

Rennin enziminin öncelikli görevi karaciğerden sentezlenen anjiotensinojen proteinini işlemektir. Anjiotensinojenin, rennin enzimi tarafından parçalanması ile anjiyotensin-1 enzimi (ADE-1) açığa çıkmaktadır. Bir dikarboksipeptidaz olan anjiyotensin-1 dönüştürücü enzimi, anjiyotensin 2 (ADE-2)'nin oluşmasından sorumlu temel enzimdir. ADE-1 VE ADE-2 enzimleri, %40 aminoasit dizilimi özdeşliği ile birbirinin homoloğu olan metalloproteinazlardır (Calista vd., 2023).

Hipertansiyon hastaları üzerinde yapılan araştırmalarda, hastaların birçoğunda obezite, diyabet, aşırı kilo ve yüksek kolesterol gibi kardiyovasküler rahatsızlıklar ile ilişkili faktörlerin var olduğu görülmüştür. Hareketsiz yaşam tarzı, obezite, yüksek tuzlu (Na^+) diyet, fazla alkol alımı gibi birçok faktör ile beraber genetik faktörler de hipertansiyon hastalığının daha erken ortaya çıkmasına sebep olmaktadır.

Hipertansiyon dünya çapında görülen bir hastalık olduğundan, birçok engelleyici ve düzeltici potansiyel çözümler araştırılmaktadır. Bunun için de hastalara farmakolojik yaklaşımlar ile etkili çözümler uygulanmaktadır. Fakat ilaçlar bazı hastalarda olası yan etkiler oluşturabilmekte veya tedavi pre-tansiyon hastaları (80-90 mmHg kan basıncı değerlerine sahip olanlar) için uygun olmayabilmektedir. Bu anlamda çeşitli gıdalardan ve bitki vb. doğal kaynaklardan elde edilen biyoaktif maddeler hipertansiyon engelleyici veya önleyici alternatif olarak kullanılmaktadır. Etki mekanizmaları tam açıklanamamakla birlikte bu doğal bileşikler arasında fenolik bileşikler, peptitler, karotenoidler, çeşitli vitaminler ve alkaloidler yer almaktadır. Bu doğal maddeler, ADE aktivitesini inhibe etme ve ya azaltma konusunda önemli bir yetenek sergilemektedirler. Çeşitli meyveler, baklagiller, tahıllar ve baharatlardan hazırlanan bitkisel ürünlerin in vitro ve in vivo olarak ACE inhibitör aktivitesi yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (Verma vd., 2021; Ibarz-blanch vd., 2022; Soslagere vd., 2022).

1.10.5. Antiobezite Aktivitesi

Obezite, alınan ve harcanan enerji arasındaki dengesizlik sonucu oluşan aşırı vücut yağından kaynaklı bir rahatsızlıktır. Son zamanlarda yapılan araştırmalar göstermektedir

ki, özellikle Birleşik Krallık ve Amerika’da yetişkinlerde görülen obezite son 20 yılda 2-3’e katlanmış durumdadır. 1.5 milyardan fazla birey, olması gereken vücut kitle indeksinin üzerinde değerlere sahip olarak, aşırı kilolu ($BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$) ve obez ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$) olarak sınıflandırılmaktadır. Ayrıca yapılan çalışmalar diyabet, bazı kanser çeşitleri, hipertansiyon ve kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi birçok metabolik sendrom için obezitenin büyük bir risk faktörü olduğunu göstermiştir. Dünya çapında halen de bireyler arasında obezite artmaya devam ederek, küresel bir sağlık sorunu haline gelmektedir (Cai vd., 2012; Sergent vd., 2012).

Obeziteyi engellemek adına farklı mekanizmalar üzerinde çalışılarak tedbirler alınmaktadır. Her ne kadar yaşam tarzındaki değişiklikler ile tedavi amaçlı yaklaşımlarda bulunulsa da, antiobezite ajanları ve cerrahi operasyon da uygulanan terapötik stratejilerdendir. Obezite tedavisinde en önemli stratejilerden birisi, yoğun enerjili yağ alımını azaltmaktır. İlaçlar ile pankreatik lipaz enziminin aktivitesi baskılanmaya çalışılmaktadır. İnsanlarda pankreatik lipaz enzimi, gastrointestinal sistemde trigliseritin biyolojik olarak kullanılabilen gliserol ve yağ asitlerine parçalanmasını gerçekleştiren anahtar enzimdir. Bu nedenle, pankreatik lipaz enziminin inhibisyonu yağ absorblanmasının azalması ile sonuçlanmaktadır. Uzun süreçte obezite tedavisinde kullanımına izin verilen sadece 2 inhibitör ilaç bulunmaktadır. Bu ilaçlar subitramin ve orlistatdır. Bu anlamda obeziteyi önlemek adına FDA tarafından onaylı bir ilaç olan orlistat, obezite tedavisinde en sık kullanılan ilaçtır. Bu amaç doğrultusunda gıda bilimcileri ve beslenme uzmanları tarafından gıdadan elde edilen daha güvenilir ve etkili pankreatik lipaz inhibitörleri araştırılarak, bunun üzerinde çalışmalar yürütülmektedir. Fitokimyasallar arasında ‘genel olarak güvenli kabul edilen’ hiçbir dozlarında yan etkileri olmayan fenolik bileşiklerin, obezite ile mücadelede ve önlenmesinde çok fazla yararlı etkileri olduğu her geçen gün artarak bilimsel çalışmalarda rapor edilmektedir. Özellikle polifenol maddelerce zengin ekstraktların pankreatik lipaz inhibörü olarak işlev gösterdiği bilinmektedir. Etki mekanizmaları tam olarak bilinmemekle birlikte, çay ve çeşitli bitki ve meyve kaynaklarından elde edilen polifenol bileşiklerin pankreatik lipaz enzimini inhibe etme özellikleri, yapılan bilimsel çalışmalar neticesinde gösterilmektedir (Cai vd., 2012; Mcdougall vd., 2009; Sergent vd., 2012).

1.10.6. Antioksidan Aktivite

Oksidasyon, antioksidan maddeden alınan elektron ya da bir protonun, oksitleyici bir maddeye aktarılarak, yapıdaki oksijen miktarının artışı ya da hidrojen miktarının azalması ile ilişkili olarak yükseltgenme işleminin gerçekleştiği kimyasal bir olaydır. Oksidasyon reaksiyonları sonucunda, zincir reaksiyonlarını başlatan serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller, aerobik yaşamın ve metabolizmanın çok önemli bir parçasıdır. Serbest radikaller, birçok kronik ve kardiyovasküler hastalıklara sebep olan kilit faktör olarak bilinmektedir. İnsan vücudu serbest radikallerin oluşumunu engelleme ve zararlarını sınırlandırma yeteneğine sahip maddeler açısından zengin bir sistemdir (Nwozo vd., 2023). Fakat vücutta aşırı serbest radikal üretimi, oksidasyon sonucu oluşan oksidatif strese ve hatta ilerisi durumlarda nörodejeneratif hastalıklara sebep olmaktadır. Bu nedenle vücutta oluşan oksidatif hasarı önlemek için antioksidan maddelere ihtiyaç duyulmaktadır (Zhang vd., 2023). Antioksidanlar, serbest radikallerin yapısına bağlanarak, zincir reaksiyonlarının gerçekleşmesini engelleyen, oksidasyon reaksiyonunu inhibe eden moleküllerdir (Dokki, 2014).

Antioksidanlar iç ve dış kaynaklı olabilir. Vücut enzimlerinin (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi) aktivitesi yoluyla üretilen antioksidanlar enzimatik dâhili antioksidan maddelerdir. Ayrıca bir kısım antioksidanlar ise genellikle gıda kaynaklı olup dışarıdan temin edilen antioksidanlardır. Bitkilerden elde edilen polifenoller, vitaminler (vitamin E (tokoferol), vitamin A), bazı mineraller gibi bileşikler ise dış kaynaklı antioksidan maddeler sınıfındandır (Nwozo vd., 2023). Antioksidan maddeler enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere 2 grup altında da sınıflandırılabilir. Enzimatik olmayan antioksidanların çoğu diyet kaynağından sağlanmakla birlikte, temel grubunu polifenoller oluşturur. Enzimatik antioksidan maddeler, işlevlerine göre kendi içinde birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılır. Birincil antioksidanlar lipit radikalleri ile reaksiyona girerek onları daha stabil ürünlere dönüştüren, zincir kırıcı antioksidan maddelerdir. Bu gruptaki temel antioksidan maddeler fenolik bileşenlerdir. Kateşin, β -karoten, likopen, diterpen gibi fitokimyasallar ile çeşitli vitamin ve mineraller de bu gruba dâhildir. İkincil antioksidanlar ise serbest radikalleri yakalayarak zincir reaksiyonunu durduran maddelerdir. Bunlara örnek olarak bütillenmiş hidroksi tolüen, bütillenmiş hidroksi anisol ve propil gallat verilebilir. Çeşitli bitkilerin antioksidan aktivite özelliklerinin

belirlenmesinde kullanılan farklı yöntemler bulunmaktadır. Bu metotlar temelde *in vivo* ve *in vitro* olmak üzere ikiye ayrılır. Canlı organizma dışında gerçekleştirilen tüm analizler, *in vitro* metotlardır. Bu teknikler ile spektrofotometrik olarak kromojenik radikaller üzerinden antioksidanların reaksiyon kapasitesi ölçülmektedir. Farklı mekanizmalara sahip antioksidan kapasite belirleme yöntemlerinin bir kısmı hidrojen atom transferine bir kısmı da tekli elektron transferine dayalı yöntemlerdir. DPPH [(1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) bakır (II) indirgeme kapasitesi], TEAC (troloks eşdeğeri antioksidan kapasite), FRAP (ferrik iyon indirgeyici antioksidan parametre) yöntemleri literatürde en fazla kullanılan elektron transferine dayalı *in vitro* antioksidan kapasite belirleme metotlarıdır (D. Huang vd., 2005; Zhang vd., 2023; Dokki, 2014; Nwozo vd., 2023). Elektron transferine dayalı antioksidan kapasite metotlarının temel mekanizması antioksidan maddeden oksidana elektron transferi ile oksidan maddede meydana gelen renk değişimine dayanmaktadır. Antioksidan madde derişimi ne kadar yüksek ise renk değişiminin derecesi de o kadar yüksektir (Büyüktuncel, 2013).

Bitkilerden elde edilen fenolik bileşikler tıpkı bir antioksidan gibi davranarak oksidatif hasarı önlemektedirler. Polifenoller, serbest radikallerin inaktive edilmesi ve serbest radikalın hidroperoksite ayrışmasının önlenmesi ile antioksidan potansiyellerini sergiler. Fenolik bileşiklerin önemli bir grubunu oluşturan flavonoidler, hidroksil iyonları, peroksinitroz asidi, süperoksit, peroksil radikaller ve reaktif oksijen gibi oksijen ve nitrojen radikal türleri kovucu etki gösterirler. Oksidatif stres ile alakalı hastalıkların engellenmesinde önemli rol oynarlar. Elektoronların serbest radikallere taşınması ile oksidasyon inhibisyonu, antioksidan enzimlerin aktive olması ve metal şelatlama kapasitesi ile görevlerini yerine getirirler. Kan basıncının artmasında rol oynayan anjiotensin dönüştürücü enzimi bloke etmeye yardımcı olurlar (Nwozo vd., 2023). Ayrıca fenolik bileşiklerin hipertansiyon, diyabet ve ateroskleroz hastalıkları ile ilişkili patojen bakteriler ile savaşarak yararlı bakterilerin artmasını sağlayabildiği bilinmektedir (Zhang vd., 2023).

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

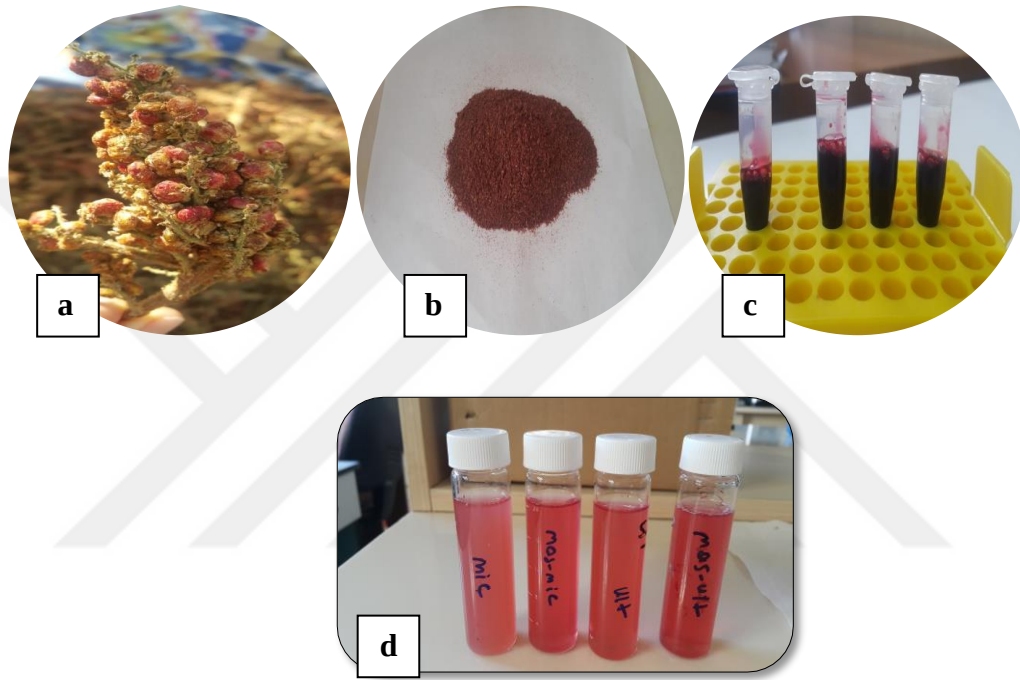
Tez çalışması kapsamında, hasat döneminde toplanan sumak (*Rhus coriaria* L.) meyveleri kullanılmıştır. Sumak bitkisi, Türkiye'nin güneyindeki Kahramanmaraş ilinden ağustos ayında olgunlaşma döneminde hasat edilmiştir. Sumak meyveleri dallarıyla birlikte toplanarak depolama sırasında mikrobiyolojik bozulmayı önlemek için meyvelerin su aktivite değeri (a_w) cihazda (AquaLab Series 3, ABD) ölçülmüştür ve kurutulmuş meyvelerin nihai su aktivite değeri (a_w) 0.222 olarak kaydedilmiştir. Kurutulmuş sumak meyveleri çekirdeklerinden ayrılarak öğütülmüştür. 1000 μm gözenek büyüklüğündeki elekten elenmiştir. Sumak meyveleri analiz boyunca vakumlu ambalajlarda 4°C'de muhafaza edilmiştir. Çözücü olarak saf etanol ve distile su kullanılmıştır.

2.2. Kullanılan Sarf Malzemeler ve Kimyasallar

Kullanılan kimyasallar ve markaları şu şekildedir:

%99 saf etanol (Merck), hegzan (Merck), aseton (Merck), metanol (Merck), kalsiyum klorür (Merck), sodyum klorür (Merck), sodyum karbonat (Sigma-Aldrich), p-Nitrofenil α -D-glukopiranozid (Sigma), α -glukozidaz enzimi-750 Units [α -glucosidase (EC3.2.1.20) from *Sac.cerevisiae* (Sigma)], α -amilaz enzimi-500 KU [α -amylase (EC: 3.2.1.1) from porcine pancreas (Sigma)], ADE enzimi [Angiotensin converting enzyme from rabbit lung-0.25 Unit (Sigma)], human trombin enzimi (≥ 2000 NIH units/mg protein-Sigma), human fibrinojen (Sigma), lipase (EC 3.1.1.3) from porcine pancreas type2 (Sigma), akarboz (Sigma), glutatyon (Sigma), potasyum fosfat monobazik (Sigma), potasyum fosfat dibazik (Sigma), hippuryl-histidyl-leucine reaktifi (Sigma),

hipurik asit (Sigma), potasyum persülfat (Merck), hidroklorik asit (Merck), heparin (Sigma), p-nitrofenil laurat (Sigma), sodyum asetat (Merck), triton-X 100 solüsyonu (Sigma), trizma hidroklorid (Tris-HCl) (Sigma), potasyum sodyum tartarat tetrahidrat (Merck), 3-5 dinitrosalisilik asit (Sigma), sodyum borat (Sigma), anjiotensin-1 dönüştürücü enzim (Sigma), DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), troloks (Sigma), Folin-Ciocalteau reaktifi (Sigma), sodyum kolat (Sigma).



Şekil 2.1. Sumak (*Rhus coriaria* L.) bitkisi b) Öğütülmüş sumak meyvesi c) Sumak oleoresin ekstraktları d) Sumak oleoresini stok çözeltileri (10mg/ml)

2.3. Yöntem

2.3.1. Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi, 22 mm çapında titanyum proba sahip, 400 watt gücünde, 24 kHz frekanslı ultrasonik cihaz (UP400S Hielscher, Germany) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Proben genliği 120 µm ve maksimum enerji yoğunluğu 85Watt/cm²'dir. Öğütülen sumaklar belirlenen katı/sıvı oranlarına (4-10 gr/100 ml) göre her bir ekstraksiyon işlemi için ayrı ayrı tartılmıştır. Design-Expert programında belirlenen parametrelere göre ekstraksiyon işlemi için öğütülmüş sumak ve farklı oranlarda hazırlanan etanol-su karışımı 100 ml'lik beher içerisine eklenmiştir. Ultrason işlemi sırasında oluşabilecek aşırı sıcaklık artışının önlenmesi için beher, buz dolu bir

kap içerisine oturtulmuştur. Ultrasonik ekstraksiyon işlemleri boyunca ekstrakt sıcaklığının 45-50°C'yi geçmeyecek şekilde sabit kalması sağlanmıştır. Prob, her seferinde ekstraktın içine eşit daldırılacak şekilde işaretlenmiştir. Ekstraksiyon işleminden sonra ekstraktlar 5000 rpm'de santrifüj cihazında (Hettich Zentrifugen-Universal, Almanya) 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatantlar filtre kâğıdından süzölmüştür. Ekstraktlardaki çözücüler vakum altında 40 °C, 80 rpm'de döner buharlaştırıcı (Heidolph Hei-Vap ValueG1, Almanya) kullanılarak tamamen buharlaştırılmıştır. Oleoresin ekstraktları sabit ağırlığa ulaşana kadar 75°C'de etüvde (GEMO DT-104, Türkiye) bekletilmiştir. Desikatörde soğutulduktan sonra sumak oleoresini kütlece tartılmıştır ve aşağıdaki formüle göre oleoresin verimi hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Oleoresin Verimi} = \frac{\text{ekstrakte edilen oleoresin ağırlığı (g)}}{\text{ekstrakte edilen sumak miktarı (g)}} \times 100$$

Verimleri not edilen sumak oleoresinleri 2 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine bölünmüş ve analizlere kadar -18°C'de saklanmıştır. Tüm analizlerde stok çözelti olarak 10 mg/ml konsantrasyona sahip sulu oleoresin ekstraktı kullanılmıştır (Şekil 2.1).

2.3.2. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Yöntemi

Sumak meyvelerinden oleoresin elde etmek için mikrodalga ekstraksiyon sistemi (Mars 6 Extraction, CEM, ABD) kullanılmıştır. Mikrodalga ekstraksiyon bağımsız parametreleri olarak; süre, mikrodalga gücü (watt), etanol-su konsantrasyonu ve katı/solvent oranı seçilmiştir. Sumak meyvelerinden belirlenen farklı parametrelerde ekstraktlar alınmıştır. Alınan ekstraktlar 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatantlar toplanmıştır ve filtre kâğıdından süzölmüştür. Ekstraktlardaki çözücüler vakum altında 40°C ve 80 rpm'de döner evaporatör kullanılarak tamamen buharlaştırılmıştır. Oleoresin ekstraktları, nemi uçup sabit ağırlığa gelene kadar 75°C'de etüvde bekletilmiştir. Sumak oleoresinleri tartılmıştır ve aşağıdaki formüle göre oleoresin verimleri hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Oleoresin Verimi} = \frac{\text{ekstrakte edilen oleoresin ağırlığı (g)}}{\text{ekstrakte edilen sumak miktarı (g)}} \times 100$$

Ultrasonik destekli ekstraksiyon işleminde olduğu gibi verimleri not edilen sumak oleoresinleri 2 ml'lik mikrosantrifüj tüplerine bölünerek analizler boyunca -18°C'de

saklanmıştır. Aynı şekilde tüm analizlerde stok çözelti olarak oleoresinin 10 mg/ml konsantrasyonlu sulu çözeltisi kullanılmıştır (Şekil 2.1).

2.3.3. Klasik Ekstraksiyon Yöntemi

Klasik ekstraksiyon yöntemi olarak maserasyon tekniği seçilmiştir. Mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon için belirlenen optimum noktanın katı/solvent oranı ve % etanol-su konsantrasyonu parametreleri maserasyon tekniği için de kullanılmıştır. Maserasyon işlem süresinin belirlenmesi için farklı zamanlarda (3, 6, 18, 24, 48 saat) soğuk plaka (IKA RCT) üzerinde 500 rpm’de ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Yaptığımız çalışmaların sonuçları ve literatür bilgileri göz önüne alınarak sumaktan (*Rhus coriaria L.*) maksimum oleoresin verimi elde etmek için maserasyon süresi 18 saat olarak belirlenmiştir. Daha sonraki adımlar ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleriyle aynı şekilde ilerlemiştir. Elde edilen sumak oleoresinleri -18°C’de analizler boyunca mikrosantrifüj tüpleri içerisinde saklanmıştır.

Tez çalışmasında yukarıda belirtilen ekstraksiyon metotları uygulanarak, 4 farklı grup oluşturulmuştur. Bunlar;

- 1.SO_{Mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini
- 2.SO_{M-Mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini
- 3.SO_{Ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini
- 4.SO_{M-Ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

Tez çalışmaları boyunca 4 farklı sumak oleoresin örneği ile çalışılmıştır.

2.3.4. Yanıt Yüzey (Response Surface Methodology) Deney Tasarımı ile Sumak Oleoresinlerinin Optimizasyonu

Farklı ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen sumak oleoresin ekstraktlarında maksimum verim elde etmek için gerekli optimum çalışma koşullarının belirlenmesi için Design Expert 8.0 yanıt yüzeyi (Response Surface Methodology) deney tasarım programı ile Box-Benhken metodu kullanılarak deney tasarımı oluşturulmuştur (Tablo 2.1, Tablo 2.2). Sıcaklık (°C), zaman (dakika), etanol konsantrasyonu (%) ve katı/solvent oranı (g/ml) olmak üzere 4 farklı bağımsız değişken seçilmiştir (Tablo 2.3,

Tablo 2.4). Oleoresin verimi (%) ise yanıt olarak belirlenmiştir. Deney tasarımı oluşturulan her bir koşul 3 tekerrürlü çalışılmıştır. Verim sonuçları deney tasarımı yazıldığında tasarım %95 güven aralığında polinomiyal (Quadratic) etkileşim modelini önermiştir ($\alpha=0.05$). Önerilen model için uyum eksikliği (lack of fit $>0,1$), ANOVA ile belirlenen model regresyon katsayısı (R^2), düzeltilen regresyon katsayısı (Adj- R^2), tahminlenen çoklu regresyon katsayısı (Pre- $R^2>0.7$) ve F değeri gibi istatistiksel parametreler değerlendirilerek deney tasarımının önerdiği polinomiyal (Quadratic) etkileşim model ile uyumuna karar verilmiştir. Optimize çalışma koşulları % maksimum verime göre belirlenmiştir. Bağımsız değişken parametreleri arasındaki etkileşim Anova tablosu ve 3D grafikleri kullanılarak yorumlanmıştır. Bağımsız değişkenlerin modele göre anlamlılık düzeyi ise p (prob $>F$) değerine göre yorumlanmıştır.

Tablo 2.1. Ultrasonik ekstraksiyon şartlarının optimizasyonu için Box-Benhken deney tasarımı çalışılan noktalar

Deneme	Parametre 1 Genlik (%)	Parametre 2 Zaman (dk)	Parametre 3 Katı/solvent (g/ml)	Parametre 4 Etanol Kons. (%)	Cevap Verim (%)
1	50	10.00	0.06	40.00	
2	80	15.00	0.06	40.00	
3	50	15.00	0.02	40.00	
4	50	10.00	0.02	60.00	
5	20	10.00	0.06	20.00	
6	80	10.00	0.10	40.00	
7	20	5.00	0.06	40.00	
8	20	10.00	0.10	40.00	
9	50	5.00	0.06	60.00	
10	50	5.00	0.02	40.00	
11	20	10.00	0.02	40.00	
12	50	10.00	0.02	20.00	
13	50	10.00	0.10	20.00	
14	80	5.00	0.06	40.00	
15	50	5.00	0.10	40.00	
16	50	10.00	0.06	40.00	
17	50	10.00	0.10	60.00	
18	80	10.00	0.06	60.00	
19	50	15.00	0.06	20.00	
20	50	10.00	0.06	60.00	
21	50	15.00	0.06	60.00	
22	80	10.00	0.06	20.00	
23	50	15.00	0.10	40.00	
24	50	5.00	0.06	20.00	
25	20	15.00	0.06	40.00	
26	80	10.00	0.02	40.00	
27	50	10.00	0.06	40.00	

Tablo 2.2. Mikrodalga ekstraksiyon şartlarının optimizasyonu için Box-Benhken deney tasarımında çalışılan noktalar

Deneme	Parametre 1 Güç (watt)	Parametre 2 Zaman (sn)	Parametre 3 Katı/solvent oranı(g/ml)	Parametre 4 Etanol Konsantrasyonu(%)	Cevap Verim (%)
1	600.00	150.00	0.25	70.00	
2	200.00	150.00	0.14	40.00	
3	200.00	240.00	0.14	70.00	
4	400.00	240.00	0.14	40.00	
5	400.00	60.00	0.14	40.00	
6	600.00	150.00	0.04	70.00	
7	600.00	240.00	0.14	70.00	
8	400.00	240.00	0.14	100.0	
9	600.00	150.00	0.14	40.00	
10	600.00	150.00	0.14	100.0	
11	200.00	150.00	0.04	70.00	
12	400.00	150.00	0.14	70.00	
13	400.00	60.00	0.04	70.00	
14	400.00	150.00	0.14	70.00	
15	400.00	150.00	0.14	70.00	
16	200.00	60.00	0.14	70.00	
17	400.00	240.00	0.04	70.00	
18	400.00	150.00	0.04	100.0	
19	400.00	240.00	0.25	70.00	
20	400.00	60.00	0.14	100.0	
21	400.00	150.00	0.25	40.00	
22	200.00	150.00	0.25	70.00	
23	400.00	150.00	0.25	100.0	
24	400.00	60.00	0.25	70.00	
25	400.00	150.00	0.04	40.00	
26	200.00	150.00	0.14	100.0	
27	600.00	60.00	0.14	70.00	

Tablo 2.3. Ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği için seçilen ve yanıt-yüzey yönteminde kullanılan bağımsız değişken aralıkları

Bağımsız Değişkenler	Bağımsız Değişkenler için Belirlenen Aralıklar		
	-1	0	+1
Genlik (%)	20	50	80
Süre (dakika)	5	10	15
Katı/solvent oranı (g/ml)	0.02	0.06	0.1
Etanol konsantrasyonu (%)	20	40	60

Tablo 2.4. Mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniği için seçilen ve yanıt-yüzey yönteminde kullanılan bağımsız değişken aralıkları

Bağımsız Değişkenler	Bağımsız Değişkenler için Belirlenen Aralıklar		
	-1	0	+1
Güç (watt)	200	400	600
Süre (saniye)	60	150	240
Katı/solvent oranı (g/ml)	0.04	0.14	0.25
Etanol konsantrasyonu (%)	40	70	100

2.3.5. % Kuru Madde Tayini

Tez çalışması boyunca kullanılan oleoresinlerin elde edildiği sumak meyvesinin % kuru madde miktarı çalışmaların öncesinde belirlenmiştir. Sabit tartıma getirilerek daraları not edilen petri kaplarına 3-5 gram öğütülen sumaktan tartılmıştır ve 105°C sıcaklıktaki etüvde sabit ağırlığa ulaşana kadar bekletilmiştir. Desikatöre alınarak soğuması sağlanan sumak materyalinin işlem sonrası yeniden ağırlığı not edilmiştir. Aşağıdaki formüle göre sumak bitkisinin % kuru madde miktarı hesaplanmıştır (Cemeroğlu B., 2007).

$$\% \text{ Kuru madde} = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

M₁: İlk ağırlık (g) (örnek+ petri kabının darası)

M₂: Son ağırlık (g)

M: Petri kabının darası (g)

2.3.6. % Yağ Miktarı Tayini

Sumak bitkisinin % yağ içeriği AOCS metoduna göre klasik Soxhlet yöntemi (Gerhardt Type: EV 16, Almanya) ile belirlenmiştir (AOCS, 1993). Öğütülen sumak bitkisinden 5gr alınarak kartuş içerisine yerleştirilmiştir. Kartuş, Soxhlet ekstraktörünün içerisine yerleştirilmiştir. Balon ve ekstraktör gövdesine yeterli düzeyde sifon yapacak kadar (yaklaşık 150-200 ml) hegzan ile doldurulmuştur. Balon, ekstraktör ve geri soğutucu düzenekleri birbirine bağlanarak ısıtıcı tabla üzerine yerleştirilmiştir. Çözgen yavaş kaynayacak şekilde ayarlanmıştır. Yağın tamamının alındığından emin olana dek

ekstraksiyon devam ettirilmiştir (yaklaşık 6-8 saat). İşlem tamamlandıktan sonra balon içerisindeki çözününün tamamı damıtılarak alınmıştır. Balon içerisinde geriye kalan nem ve çözününün tamamen uzaklaştırılması amacı ile balon 105°C’de sabit tartıma gelene kadar etüvde bekletilmiştir. Soğuyan balonların ağırlıkları not edilerek aşağıdaki formüle göre % yağ içeriği hesaplanmıştır:

$$\% \text{ yağ miktarı (kütlece)} = \frac{M_2 - M_1}{M_0} \times 100$$

M_2 =Ekstraksiyon sonrası yağ ve balonun toplam kütlesi(g)

M_1 = cam balonun darası(g)

M_0 = kullanılan sumak örneğinin kütlesi(g)

2.3.7. % Protein Miktarı Tayini

Materyal olarak kullanılan sumak meyvesinin % protein içeriği bazı modifikasyonlar ile Kjeldahl yöntemine göre belirlenmiştir (Lolli vd., 2023). Bunun için öncelikle öğütülmüş sumak örneğinden 0.5 g tartılarak Kjeldahl balonuna konulmuş ve üzerine bir adet Kjeldahl tableti ile 15 ml (%98’lik) H_2SO_4 ilave edilerek yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kjeldahl yakma ünitesinde örnek mavimsi yeşil bir renk alıp, hiç siyahlık kalmayana kadar yakma işlemi gerçekleştirilmiştir. Yanma işlemi sonrası soğutulan örneklerin üzerine 50 mL saf su ilave edilerek destilasyon cihazına bağlanmıştır. Cihazın otomatik olarak NaOH’ı (%30’luk) alması ile destilasyon işlemi gerçekleşmiştir. Destilasyon aşamasında amonyak gazının uçarak, zayıf bir asit olan borik asit (%3’lük) içinde tutunması sağlanmıştır. Destile edilen örnekler 0.1 N HCl ile titre edilmiştir. Hesaplanan % N sonucu, azot değerlerinin proteine çevrilmesinde kullanılan genel faktör, 6.25 katsayısı ile çarpılarak sumak bitkisinin % protein değeri belirlenmiştir.

2.3.8. % Kül Miktarı Tayini

Tez çalışması kapsamında kullanılan sumak bitkisinin % kül miktarı AOAC 940.26 No’lu metota göre belirlenmiştir (William Horwitz, 2002). Porselen krezeler öncelikle 600°C sıcaklıkta sabit tartıma getirilmiştir. Sabit tartıma gelen krezelerin içerisine 1-2 gram örnek tartılarak 100°C sıcaklıkta 3 saat tutularak içerisinde var olan nem tamamen uzaklaştırılmıştır. Daha sonra 600°C sıcaklıkta örnek tamamen gri-beyaz renk alana kadar (hiç siyah kalıntı kalmayınca kadar) yakılmaya devam edilmiştir. Yakma işlemi

tamamlandıktan sonra krozeler desikatöre alınarak soğutulmuştur. Soğuyan krozelerin tartımı gerçekleştirilmiştir. Aşağıdaki formül ile % kül miktarı hesaplanmıştır.

$$\% \text{Kül miktarı} = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

M₁: örnek+ krozenin darası (g)

M₂: Yakma işlemi sonrası kül+ krozenin darası (g)

M: Porselen krozenin darası (g)

2.3.9. % Asitlik Tayini

Stok çözelti olarak 10mg/ml konsantrasyonda hazırlanan sumak oleoresin sulu çözeltilerinin asitlik değerleri, sumak bitkisinin baskın organik asidi olan malik asit eşdeğeri cinsinden belirtilmiştir. Oleoresinler, ayarlı 0.1 N NaOH ile pH 8.1'i görene kadar titre edilmiştir (Cemeroğlu, 1992). Aşağıdaki formüle göre de sumak oleoresinlerinin asitlik değerleri hesaplanmıştır:

$$\text{Asitlik (\%)} = \frac{V * N * E * 1000}{M}$$

V: Titrasyonda harcanan alkali miktarı (ml)

N: Alkalinin normalitesi

E: Meyvedeki hakim organik asidin miliekvalen ağırlığı

M: Örnek miktarı(g)

2.3.10. pH Tayini

Sumak oleoresin stok çözeltilerinin (10 mg/ml) pH değerleri, kalibrasyonu gerçekleştirilmiş pH metre (Inolab, Almanya) cihazı ile belirlenmiştir.

2.3.11. Renk Değeri Tayini

Minolta renk ölçme cihazı (Konica Minolta Chroma Meter CR-5, Japonya-CR-300) ile sumak bitki ve oleoresinlerinin Hunter renk ölçme sistemine göre L*, a* ve b* renk değerleri ölçülmüştür. L* değeri parlaklığı (0:siyah-100:beyaz), a* değeri yeşilden kırmızıya doğru olan gösterge çizelgesini (-80 ile 0 arası yeşil, 0 ile +50 arası gri, 50 ile

100 arası kırmızılık), b* değeri ise maviden sarılığa doğru olan renk skalasını (-50 ile 0 arası mavi, 0 ile +50 arası sarı) ifade etmektedir.

2.3.12. Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Sumak oleoresinlerinin toplam fenolik madde içerikleri, (Olalere vd., 2021) tarafından bazı modifikasyonlarla açıklanan bir spektrofotometrik yöntem olan Folin-Ciocalteu metodu ile ölçülmüştür. Tüplere ilk olarak 400 µl seyreltilmiş oleoresin ekstraktları eklenmiştir. Oleoresin ekstraktlarının üzerine 2 ml on kat seyreltilmiş Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. 1.6 ml %7.5 sodyum karbonat solüsyonu da tüplere ilave edilerek karışımın homojen olması için tüm tüpler vortekslenmiştir. Daha sonra tüpler karanlıkta ve oda sıcaklığında 1 saat inkübe edilmiştir. Oleoresin ekstraktlarının absorbansları, UV-spektrofotometre (Shimadzu UV-1800 spektrometre) ile kör çözeltiye karşı 756nm’de okunmuştur. Hesaplamada kullanılacak olan denklem için gerekli olan gallik asit kalibrasyon eğrisi 25-125 ppm aralığında çizilmiştir. Oleoresinlerin toplam fenolik içerikleri, g sumak oleoresin ağırlığı başına mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g oleoresin) olarak ifade edilmiştir. Analiz 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar arasındaki istatistiksel farklılıklar SPSS istatistik programında independent t-testi ile belirlenmiş ve sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

2.3.13. Antioksidan Aktivite Tayini (DPPH radikal kovucu metodu ile)

Sumak oleoresinlerinin DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal yakalama kapasitesi, bazı ufak değişiklikler ile (Olalere vd., 2021) tarafından belirlenen metoda göre gerçekleştirilmiştir. Öncelikle, tüplere 0.1 ml oleoresin ekstraktı eklenmiştir. Daha sonra her bir tüpe 3.9 ml 0.1 Mm DPPH solüsyonu eklenmiştir ve karanlıkta 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Örneklerin absorbansları saf metanole karşı 517 nanometre dalga boyunda okunmuştur. Ekstraktların antioksidan kapasitesinin bir ölçüsü olan DPPH radikal kovucu aktivite değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır ve hidroalkolik sumak oleoresin ekstraktlarının antioksidan kapasite değerleri (mg troloks /g oleoresin) olarak ifade edilmiştir.

$$\% \text{ DPPH süpürücü aktivite: } \frac{\text{Kontrol abs} - \text{Örnek abs}}{\text{Kontrol abs}} \times 100$$

2.3.14. Troloks Eşdeğeri Antioksidan Aktivite Tayini (TEAC metodu ile)

Bir antioksidan aktivite tayin yöntemi olan TEAC analizi, (Wong ve Tan, 2019) tarafından belirlenen yöntem temel alınarak gerçekleştirilmiştir. ABTS solüsyonu ($ABTS^+$), 7 mM ABTS çözeltisi ile 2.45 mM potasyum persülfat çözeltisi (1/1, v/v) ile hazırlanmıştır. Hazırlanan karışım, karanlıkta ve oda sıcaklığında 6 saat bekletilmiştir. Analiz öncesi $ABTS^+$ +stok solüsyonu metanol solventi ile seyreltilerek 734 nanometre dalga boyunda absorbansı 0.700 ± 0.020 'e ayarlanmıştır. 734 nm dalga boyunda sumak oleoresin ekstraktlarının absorbansları ölçülerek kaydedilmiştir. Oleoresinlerin troloks eşdeğeri antioksidan kapasiteleri oluşturulan troloks kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar mg troloks/g oleoresin olarak ifade edilmiştir.

2.3.15. Enzim İnhibisyon Analizleri

2.3.15.1. In vitro α -Glukozidaz Aktivite Tayini

Sumak oleoresinlerinin α -glukozidaz enzim inhibisyonu, (Gazali vd., 2023) tarafından belirtilen yöntemin ufak modifikasyonları ile gerçekleştirilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* mayasından (Sigma G-0660) elde edilen α -glukosidaz enzimi (0.4 U/ml), pH 6'daki 67 mM fosfat tamponu içinde hazırlanmıştır. Kontrol solüsyonuna örnek yerine distile su eklenmiştir. Antidiyabetik özellikte etkili bir ilaç olan akarboz, referans olarak kullanılmıştır. Analizlerde 0.02-1 mg/ml konsantrasyon aralığında hazırlanan sumak oleoresin çözeltileri ile çalışılmıştır. Reaksiyondan sonra oluşan p-nitrofenollerin absorbansı 400 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sumak oleoresinlerinin enzim inhibisyonları IC_{50} (mg/ml) değeri olarak ifade edilmiştir.

Oleoresinlerin yüzde inhibisyonları aşağıdaki denkleme göre belirlenmiştir:

$$\alpha\text{-Glukozidaz enzim inhibisyonu (\%)} = \frac{\text{Kontrol abs} - \text{Örnek abs}}{\text{Kontrol abs}} \times 100$$

2.3.15.2. In vitro Pankreatik Lipaz Aktivite Tayini

Sumak oleoresinlerinin lipaz enzim inhibitör aktiviteleri bazı değişikliklerle beraber (Tan vd., 2017; Isikli vd., 2023) yöntemleri temel alınarak gerçekleştirilmiştir. p-Nitrofenol palmitat (Sigma), lipaz enzimi (domuz pankreasından alınan Tip 2-lipazı) tarafından hidrolize edilen p-nitrofenil oluşumu için substrat olarak kullanılmıştır.

Kapsül şeklinde bir ilaç olan orlistat pankreatik lipaz enzim inhibitörü referans olarak kullanılmıştır. Analizlerde 2-10 mg/ml konsantrasyon aralığında hazırlanan sumak oleoresin çözeltileri kullanılmıştır. pH'sı 7.6 olan 0.05 M sodyum fosfat tamponu, sodyum fosfat dibazik, sodyum fosfat monobazik, sodyum kolat ve arap zamkının karıştırılması ile taze olarak hazırlanmıştır. Tüplere sırasıyla tampon solüsyonu (1.8 ml), enzim solüsyonu (100 µl), oleoresin ekstraktı (100 µl) ve substrat solüsyonu (200 µl) eklenmiştir. Karışım, 37°C'de 20 dakika inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası örnek ve kontrol solüsyonlarının absorbansları 410 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Sumak oleoresinlerinin lipaz inhibitör aktiviteleri %50 inhibisyonun görüldüğü konsantrasyonun bir ifade şekli olan IC₅₀ (mg/ml) değerleri ile ifade edilmiştir.

2.3.15.3. In vitro α-Amilaz Aktivite Tayini

α-amilaz enzim inhibisyon testi bazı modifikasyonlar ile (Gök vd., 2020) tarafından kullanılan metota göre gerçekleştirilmiştir. 6.7 mM NaCl içeren 20 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6.9) hazırlanmıştır. Domuz pankreasından elde edilen α-amilaz enzimi (1U/mL) ve substrat (patates nişastası) birbirinden bağımsız olarak fosfat tampon solüsyonu içerisinde çözündürülmüştür. Analizlerde 2-10 mg/ml konsantrasyon aralığında hazırlanan sumak oleoresin çözeltileri kullanılmıştır. Enzim reaksiyonu reaktif E ile sonlandırıldıktan sonra örneklerin absorbansları 540 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Akarboz, antidiyabetik referans ilaç olarak kullanılmıştır. Sonuç, enzimin %50 inhibe olduğu konsantrasyon değerini ifade eden IC₅₀ (mg/ml) değeri ile belirtilmiştir. Oleoresin ekstraktlarının yüzde enzim inhibisyonları aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır. Sonuçlar IC₅₀ değeri olarak (mg/ml) ifade edilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{\text{Kontrol abs} - \text{Örnek abs}}{\text{Kontrol abs}} \times 100$$

Solüsyonlar taze olacak şekilde ayrı ayrı aşağıda belirtildiği şekilde hazırlanmıştır.

Solüsyon A:

6.7 mM NaCl içeren 20 mM sodyum fosfat tamponu (pH 6.9) ultra saf su ile hazırlanmıştır. Çözeltinin nihai pH' s 6.9'a 1M' lık NaOH ile ayarlanmıştır.

Solüsyon B

Reaktif B olarak hazırlanan bu çözelti subtrat olarak kullanılmıştır. %1'lik (w/v) patates nişastası 25 ml Reaktif A içerisinde çözündürülerek hazırlanmıştır. Çözelti ısıtıcı plaka (hot-plate) üzerinde 15 dakika boyunca çözünene kadar kaynatılmıştır. Kaynadıkça hacminde meydana gelen azalmayı telafi etmek için son hacmi 25 ml'e saf su ile tamamlamıştır.

Solüsyon C

$\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ çözeltisini hazırlamak için 12 g sodyum potasyum tartarat üzerine 2M'lık NaOH'den 8 ml eklenmiştir.

Solüsyon D

96 mM'lık 3,5-dinitrosalisilik asit çözeltisi saf su ile hazırlanmıştır.

Solüsyon E

Hazırlanan reaktif C üzerine reaktif D çözeltisi yavaş yavaş karıştırılarak eklenmiştir ve karışımın son hacmi 40 ml'e tamamlanmıştır.

2.3.15.4. In vitro Antitrombotik Aktivite Tayini

Sumak oleoresinlerinin fibrinojen pıhtılaşmasını önleme yeteneği, literatürdeki bazı metotlar temel alınarak, modifikasyonlarla spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir (Bing vd., 2008; Hui ve Seung, 2019; Abou-saleh vd., 2017; Rendon-Rosales vd., 2019). Trombin, fibrinojen ve oleoresin ekstraktları 0.12 mM NaCl ve 5 mM CaCl_2 içeren pH 7.2'lik 0.05 M Tris-HCl tamponunda çözündürülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan %0.1 (w/v) fibrinojen solüsyonu ve sumak oleoresini vorteksenerek 37 °C'de inkübe edilmiştir. Kuvars küvetlerde hazırlanan karışımların 10 dakika sonunda 360 nm'deki köre ait absorbans değerleri kaydedilmiştir. Fibrinojen pıhtılaşmasını başlatmak için küvetlere trombin karışımı (0.75 U/mL) eklenmiştir. Oleoresinlerin absorbonsları yeniden 20 dakikalık inkübasyon sonrasında spektrofotometrik olarak 360 nm'de ölçülmüştür ve fibrin görüntüleri alınmıştır. Kontrol çözeltilerine numune yerine tris-HCl tamponu eklenmiştir. Referans ilaç olarak ise heparin kullanılmıştır. Oleoresin

ekstraktlarının % fibrin polimerizasyon inhibisyonları aşağıdaki denkleme göre belirlenmiştir;

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(C-Cb)-(S-Sb)}{C-Cb}$$

C: Kontrolün absorbans değeri

Cb: Kontrole ait körün (blank) absorbans değeri

S: Örneğin absorbans değeri

Sb: Örneğe ait körün (blank) absorbans değeri

2.3.15.5. In vitro Anjiotensin Dönüştürücü Enzim (ADE-2) Aktivite Tayini

Sumak oleoresinlerinin anjiotensin dönüştürücü enzim (ADE-2) inhibisyon analizleri bazı değişiklikler ile (Sorourian vd., 2022) tarafından kullanılan metota göre in vitro olarak gerçekleştirilmiştir. Analizde 0.2 M borik asit, 0.05 M disodyum tetraborat ve 0.3 M NaOH ile taze olarak hazırlanan 0.1 M sodyum borat tamponu kullanılmıştır. pH 8.3'e ayarlanan tampon çözeltiye 0.3 M NaCl eklenmiştir. Substrat olarak kullanılan HHL çözeltisi (N- Hippuryl-His-Leu hydrate) tampon içerisinde çözündürülmüştür. Öncelikle örneğin olmadığı küvetlere 60 µl tampon çözeltiden eklenmiştir. Daha sonra çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanan sumak oleoresinlerinden 80 µl küvetler içerisine ilave edilmiştir. 100 µl HHL substratından eklenerek küvetler 37°C'de 5 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra küvetlere 20 µl ADE (25 mU) enzimi eklenerek küvetler yeniden 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 150 µl 1 M HCl çözeltisinden eklenerek enzim reaksiyonu durdurulmuştur. 1.5 ml etil asetat eklenerek reaksiyon sonrası oluşan hippurik asitin etil asetat fazına geçmesi sağlanmıştır. 95°C'de etil asetat tamamen uçana kadar (yaklaşık 15 dakika) etüvde küvetler bekletilmiştir. Tüplere 2 ml distile su eklenip vorteksenerek hipürik asitin tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Örneklerin 228 nm'de spektrofotometrik okuması gerçekleştirilmiştir. Kaydedilen absorbans değerleri ile aşağıdaki denkleme göre sumak oleoresinlerinin % ADE inhibisyon değerleri hesaplanmıştır. İnhibisyon değerleri ile ADE enzimini % 50 inhibe eden sumak oleoresin konsantrasyonları (IC50) belirlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kaptopril ilacı kullanılmıştır.

$$\% \text{ ADE inhibisyonu} = \frac{B-A}{B-C} \times 100$$

A: Örnek içeren -ADE inhibitörü olan solüsyon

B: ADE inhibitörü eklenmeyen kontrol solüsyonu

C: ADE enzimi içermeyen kör solüsyonu

2.3.16. In vitro Antikanser Aktivite Tayini

Sumak oleoresinlerinin in vitro antikanser aktiviteleri, bazı ufak değişiklikler ile (Jayarambabu vd., 2023) tarafından kullanılan metota göre belirlenmiştir. Colo-205 kanser hücre hattı kullanılmıştır. Hücreler, % 5 karbon dioksit içeren 37°C sıcaklıktaki inkübatörde %10 fetal dana serumu (FCS) içeren DMEM F-12 ortamında geliştirilmiştir. 10^5 hücre/mL konsantrasyondaki Colo-205 hücreleri, 96 kuyucuklu plakalara pipetlenmiştir ve bir gece boyunca inkübe edilmiştir. Sumak oleoresin ekstraktları 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 mg/ml olmak üzere 7 farklı dilüsyonda hazırlanmıştır ve örnekler kuyucuklara ayrı ayrı pipetlenmiştir. Hazırlanan karışımlar 24 ve 48 saat olmak üzere iki ayrı saat diliminde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası, yeniden 10 µl MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) solüsyonu içeren 100 µl taze ortam hücrelere eklenmiştir. Kuyucuklar üzerinde oluşan ortam uzaklaştırıldıktan sonra kuyucuklara 0.08 M HCl içeren 100 µl saf izopropanol eklenmiştir. 96 kuyucuklu plaka karanlıkta 15 dakika inkübe edilmiştir ve inkübasyon sonrası 570 nm’de spektrofotometrik ölçümleri yapılmıştır. Daha sonra ölçülen absorbans değerleri kaydedilmiştir. Pozitif kontrol olarak %10 dimetil sülfoksit (DMSO) içeren besiyeri, negatif kontrol olarak ise standart besiyeri kullanılmıştır. Negatif kontrolün absorbans değerinin %100 doğru olduğu varsayılmıştır. Kuyucuklardan alınan numunelerin absorbans değerleri kullanılarak % hücre canlılığı hesaplanmıştır. Örneklerin Colo 205 kanser hücreleri üzerinde 24 ve 48. saatlerde sitotoksik etkileri hazırlanan logaritmik dozlarda değerlendirilmiştir. Çalışmalar 3 tekerrürlü ve 7 seri dilüsyon (20-10- 5- 2.5-1.25-0.625- 0.312 mg/ml) şeklinde gerçekleştirilmiştir. Farklı dilüsyonlardaki numunelerin % hücre canlılığı hesaplanmıştır ve kolon kanseri hücreleri üzerindeki etkileri, kanser hücrelerinin %50’sinin öldüğü konsantrasyon (mg/ml) olan IC50 değeri olarak ifade edilmiştir.

2.3.17. Toplam Monomerik Antosiyanin Tayini

Sumak oleoresinlerinin toplam monomerik antosiyanin içerikleri (Jesús vd., 2023) tarafından belirlenen ve modifiye edilen yöntemle göre belirlenmiştir. Analiz için potasyum klorür (pH 1) ve sodyum asetat (pH 4.5) olmak üzere iki ayrı tampon hazırlanmıştır. Yöntemde belirtilen oran korunarak 600 µl oleoresin ekstraktı mikro küvetlere pipetlenmiştir. Mikroküvetlerdeki oleoresin ekstraktları üzerine her bir tampondan 2.5 ml ilave edilmiştir. Daha sonra hazırlanan karışım 30 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. Süre sonunda her bir karışımın absorbansı hem 520 nm’de hem de 700 nm’de ayrı ayrı okunmuştur. Oleoresinlerin antosiyanin miktarları okunan absorbans değerleri kullanılarak aşağıdaki eşitliğe göre hesaplanmıştır ve sonuçlar mg siyanidin-3-glukozid eşdeğeri/g oleoresin olarak ifade edilmiştir.

$$\text{Toplam Antosiyanin Miktarı(mg/L)} = \frac{A \cdot Mw \cdot Df \cdot 1000}{\epsilon \cdot l}$$

$$A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH 1} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH 4.5}$$

$$MW \text{ (moleküler ağırlık)} = 449.2 \text{ g/mol (siyanidin 3-glukozid)}$$

$$DF = \text{dilüsyon faktörü}$$

$$\epsilon \text{ (molar absorbans)} = 26.900 \text{ (siyanidin 3-glukozid için)}$$

$$l = \text{ışık yolu uzunluğu (cm)}$$

2.3.18. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Sumak oleoresinlerinin antimikrobiyal aktivitesi agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Z. Liu vd., 2018). Bulunan sonuçlar doğrultusunda sumak oleoresinlerinin *Escherichia coli* (gram negatif) ve *Staphylococcus aureus* (gram pozitif) patojen bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkisi açıklanmıştır. Bakteri stok kültürleri Erciyes Üniversitesi biyoteknoloji laboratuvarından temin edilmiştir. Bakteri kültürleri, 37°C sıcaklıkta 1 gün boyunca LB (lizojen broth) agar ortamında geliştirilmiştir. İnkübasyon sonrası hazırlanan bakteriyel süspansiyon konsantrasyonları, ilk McFarland ölçümü baz alınarak (1×10^8 CFU/mL) ölçümde %0.5 artış sağlanacak şekilde peptonlu su ile ayarlanmıştır. %1 test bakterisinin eklendiği agar besiyeri içeren petri kaplarına 5 mm’lik kuyucuklar açılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda (40 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 2 mg/ml, 1 mg/ml) hazırlanan 30 µL sumak oleoresin ekstraktı kuyucuklara

eklenmiştir. Petri kapları 37°C’de 18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası oluşan inhibisyon bölgelerinin çapı (mm) dijital kumpas ile ölçülerek not edilmiştir.

2.3.19. Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrofotometre (FT-IR) Tayini

Sumak oleoresin ekstraktlarının FT-IR spektroskopisi analizlerini gerçekleştirmek için Elmas/ZnSe kristal ile zayıflatılmış ve orta IR modundaki Spectrum-400 spektrometre (Perkin Elmer 400, ABD) cihazı kullanılmıştır. Sumak oleoresinlerinin FTIR spektrumları, 400 ve 4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında ölçülmüştür.

2.3.20. AFM (Atomik Güç Mikroskopisi) ile pıhtı yapısını görüntüleme

Atomik kuvvet mikroskobu (AFM), sıvı veya gaz halindeki yüksek moleküler çözünürlüğe sahip biyolojik numunelerin yüzeylerinin incelenmesine olanak sağlayan mekanik bir tarama tekniğidir. Bu çalışmada, Nanoscope MultiMode-8 AFM (Veeco Instruments, Santa Barbara, CA) cihazı ile görüntüler sağlanmıştır. Yüksek çözünürlüklü görüntüler alınmaya çalışılırken numunenin biyolojik yapısına zarar vermemek için dokunma modu (tapping mode) kullanılmıştır. Temiz ve kuru bir mika disk üzerine 9 μl fibrinojen enjekte edilmiştir. Daha sonra üzerine 1 μl trombin solüsyonu eklenmiştir. Sıvı kısım nitrojen gazı ile uzaklaştırıldıktan sonra nihai AFM görüntüleri hava içerisinde alınmıştır (Abou-saleh vd., 2017).

2.3.21. İstatistiksel Analizler

Örneklerin inhibisyonları ve referans ilaçların kalibrasyon eğrileri Microsoft Excel ile oluşturulmuştur. İstatistiksel analiz sonuçlarının ikili karşılaştırmaları SPSS Statistic-22 programında independent-t testi ile gerçekleştirilmiştir. Çoklu karşılaştırmalar için Anova-Tukey testi kullanılmıştır. Sonuçlar %95 güven düzeyinde test edilmiştir ($p < 0.05$).

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Sumak Bitki Materyalinin Fizikokimyasal Özellikleri

Tez çalışması boyunca kullanılan sumak (*Rhus coriaria*) bitki materyaline ait toplam yağ, protein, kül ve nem değerleri aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Sumak meyvesinin fizikokimyasal özellikleri (%)

Sumak Meyvesi (<i>Rhus coriaria</i>)	Yağ	Protein	Kül	Kuru madde
	12.628±0.339	4.001±0.248	3.978±0.071	92.998±0.209

Bu tez çalışması boyunca kullanılacak olan, hasat zamanında (ağustos) Kahramanmaraş'tan temin edilmiş sumak meyvesinin genel bileşimi ve bazı fizikokimyasal özellikleri incelenerek Tablo 3.1'de verilmiştir. Sumak meyvesinin fizikokimyasal özelliklerinin bilinmesi taşınması, depolanması, işlenmesi ve ekstraksiyonu gibi birçok durum için önem arz etmektedir.

Sumak (*Rhus coriaria*) meyvesinin bazı fizikokimyasal özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada kuru madde içeriği %96.17 olarak rapor edilmiştir (Karadaş Ö., Yılmaz İ., 2020). Sumak bitkisinin fizikokimyasal özelliklerini incelemek üzere yapılan çalışmalarda sırası ile %97.57 ve %90.4 kuru madde içeriği bildirmişlerdir (Alia ve Faleeha, 2014; Musa vd., 2004). Yapılan bir başka çalışmada ise sumak meyvesinin kül, yağ ve protein değerlerini sırasıyla %1.8±0, %7.4±0 ve %2.6±0 olarak belirtmişlerdir (Musa ve Haciseferogullari, 2004). Alia vd. (2014) ise çalışmalarında sumak meyvesinin kül, yağ ve protein değerlerinin sırasıyla %2.93±0, %18.74±0 ve %4.69±0 olduğunu açıklamışlardır. Bu tez çalışması kapsamında kullanılacak olan sumak meyvesinin fizikokimyasal özellikleri literatür sonuçları ile kıyaslandığında, bulunan

değerlerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür. Sonuçlardaki ufak farklılıkların ise sumağın hasat zamanı, farklı iklim ve koşullarda yetiştirilmesi gibi durumlardan kaynaklı oluşabileceği düşünülmektedir.

3.2. Ekstraksiyonların Optimizasyonu

Tez çalışması kapsamında sumak oleoresinleri için 4 farklı grup oluşturulmuştur (SO_{mik} , SO_{M-mik} , SO_{ult} , SO_{M-ult}). Sumak oleoresinin yüksek verimli yeşil ekstraksiyonları için koşullar optimize edilmiştir. Yanıt Yüzeyi (Response Surface Methodology) düzeneğinde ekstraksiyon optimizasyonu için Box-Benhken yöntemi ile deney tasarımı oluşturulmuştur. Tasarımın gerçekleştirilmesi için Design Expert deney tasarım programı (Design Expert Software, Version 8.0) kullanılmıştır. Literatür araştırmasına göre ekstraksiyon üzerine en etkili parametrelerin; sıcaklık, süre, güç, solvent tipi ve örnek/solvent oranı olduğu belirlenmiştir. Seçilen bağımsız değişkenler ile gerçekleştirilen ön denemeler neticesinde, çalışılacak parametre aralıklarına karar verilmiştir (Tablo 2.3 ve Tablo 2.4). Sıcaklık önemli bir parametre olmasına karşın çalışmalar boyunca kullanılan cihazların sıcaklık ölçer kısmı bulunmadığından, sıcaklık faktörü bağımsız değişken olarak tasarıma dâhil edilememiştir. Ancak çalışmalar boyunca ekstraktın aşırı sıcaklık artışına maruz kalmaması için buz dolu bir kap yardımı ile sıcaklık kontrol altında tutulmaya çalışılmıştır. Ani sıcaklık artışı olmaması için ekstraktın sıcaklık değerleri termometre ile ölçülerek sürekli kontrol edilmiştir. Özellikle güç ve süre parametrelerinin alt ve üst sınırları da ekstrakt sıcaklığı göz önüne alınarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon çalışmalarında kullanılacak olan parametreler ile alt ve üst sınırları literatür araştırmaları ve ön denemeler sonucu belirlenmiştir. Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi için bağımsız değişkenler olarak; % genlik, süre (dakika), % etanol konsantrasyonu ve katı/solvent (g/ml) oranı seçilmiştir. Mikrodalga ekstraksiyonu için ise, numerik faktörler olarak; güç (watt), süre (saniye), etanol konsantrasyonu ve katı/solvent oranı (g/ml) ile çalışılmaya karar verilmiştir. Yanıt (response) olarak her iki ekstraksiyon için de sumak oleoresin verimi (%) kullanılmıştır. Belirlenen şartlarda ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği ile sumak meyvesinden elde edilen oleoresin verimi Tablo 3.2’de verilmiştir.

Tablo 3.2. Farklı ultrason parametreleri ile yapılan ekstraksiyonda elde edilen oleoresin verimleri

Deneme	Parametre 1 Genlik (%)	Parametre 2 Zaman (dk)	Parametre 3 Katı/solvent (g/ml)	Parametre 4 Etanol Kons. (%)	Cevap Verim (%)
1	50	10.00	0.06	40.00	35.972
2	80	15.00	0.06	40.00	35.936
3	50	15.00	0.02	40.00	32.681
4	50	10.00	0.02	60.00	33.789
5	20	10.00	0.06	20.00	34.474
6	80	10.00	0.10	40.00	35.208
7	20	5.00	0.06	40.00	33.551
8	20	10.00	0.10	40.00	31.753
9	50	5.00	0.06	60.00	34.239
10	50	5.00	0.02	40.00	29.854
11	20	10.00	0.02	40.00	33.338
12	50	10.00	0.02	20.00	30.739
13	50	10.00	0.10	20.00	34.643
14	80	5.00	0.06	40.00	33.787
15	50	5.00	0.10	40.00	32.973
16	50	10.00	0.06	40.00	36.071
17	50	10.00	0.10	60.00	32.627
18	80	10.00	0.06	60.00	36.918
19	50	15.00	0.06	20.00	34.289
20	50	10.00	0.06	60.00	35.642
21	50	15.00	0.06	60.00	36.275
22	80	10.00	0.06	20.00	34.828
23	50	15.00	0.10	40.00	32.045
24	50	5.00	0.06	20.00	33.185
25	20	15.00	0.06	40.00	34.278
26	80	10.00	0.02	40.00	31.155
27	50	10.00	0.06	40.00	36.142

Yine aynı şekilde, farklı bağımsız parametrelerde mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniği ile sumak meyvesinden sağlanan oleoresin verimleri ise Tablo 3.3'te verilmiştir.

Tablo 3.3. Farklı mikrodalga parametreleri uygulanarak yapılan ekstraksiyonda elde edilen oleoresin verimleri

Deneme	Parametre 1 Güç (Watt)	Parametre 2 Zaman (sn)	Parametre 3 Katı/solvent oranı (g/ml)	Parametre 4 Etanol Konsantrasyonu(%)	Cevap Verim (%)
1	600.00	150.00	0.25	70.00	28.614
2	200.00	150.00	0.14	40.00	31.767
3	200.00	240.00	0.14	70.00	29.981
4	400.00	240.00	0.14	40.00	33.564
5	400.00	60.00	0.14	40.00	31.258
6	600.00	150.00	0.04	70.00	38.654
7	600.00	240.00	0.14	70.00	34.247
8	400.00	240.00	0.14	100.0	30.174
9	600.00	150.00	0.14	40.00	33.515
10	600.00	150.00	0.14	100.0	28.265
11	200.00	150.00	0.04	70.00	37.274
12	400.00	150.00	0.14	70.00	32.522
13	400.00	60.00	0.04	70.00	36.226
14	400.00	150.00	0.14	70.00	33.423
15	400.00	150.00	0.14	70.00	32.898
16	200.00	60.00	0.14	70.00	28.904
17	400.00	240.00	0.04	70.00	38.909
18	400.00	150.00	0.04	100.0	34.977
19	400.00	240.00	0.25	70.00	28.709
20	400.00	60.00	0.14	100.0	29.417
21	400.00	150.00	0.25	40.00	29.931
22	200.00	150.00	0.25	70.00	26.691
23	400.00	150.00	0.25	100.0	20.271
24	400.00	60.00	0.25	70.00	25.921
25	400.00	150.00	0.04	40.00	38.961
26	200.00	150.00	0.14	100.0	26.381
27	600.00	60.00	0.14	70.00	32.723

Deney tasarımı bize, girilen veriler ışığında her iki ekstraksiyon tekniği için de kuadratik modeli önermiştir. Modelin p değerinin (<0.0001) 0.05'ten küçük olması istatistiksel olarak oluşturulan modelin anlamlı olduğunu ifade etmektedir. Ultrasonik ekstraksiyonu için yanıtın R-squared (R^2) değeri 0.988 olarak bulunmuştur ve bu modelin yüksek doğruluk gösterdiğini onaylamaktadır. Düzeltilmiş ve tahmini regresyon katsayıları sırasıyla 0.974 (Adj- R^2) ve 0.931 (Pre- R^2) olarak bulunmuştur. Uyum eksikliği değeri 0.0681 olarak ($p>0.05$) çıkmıştır ve bu uyum eksikliğinin istatistiksel olarak önemsiz olduğunu göstermektedir.

Modelin bu değerlerine ek olarak yeterli kesinlik değeri (32.151) de göz önüne alınarak model tasarımının verilerle ne derecede örtüştüğünü görerek optimizasyon tasarımına karar verilmiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon için ise, tasarlanan model ile girilen verilerin uygunluğunu belirleyen uyum eksikliği değeri 0.1046 ($p>0.05$) olarak bulunmuştur. Tablo 3.2 ve Tablo 3.3'deki verilere göre, bağımsız parametrelerin her birinin yanıtı olan etkisini açıklayan p değerleri 0.05'ten küçük bulunmuştur ve bu tüm değişkenlerin yanıtı olan etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade etmektedir. Bağımsız parametrelerin birlikte sumak oleoresin verimi (%) üzerine olan etkisi incelendiğinde ise sadece etanol konsantrasyonu ve katı/solvent oranının birlikte olan etkisi önemli derecede ($p<0.05$) anlamlı bulunmuştur. Tasarımda girilen veriler sonucunda yanıtın R^2 değeri 0.9628, düzeltilmiş ve tahmini regresyon katsayıları ise sırasıyla 0.9194 ($Adj-R^2$) ve 0.7886 ($Pre-R^2$) olarak bulunmuştur. Tahminlenen hata kareler toplamını ifade eden PRESS değeri ve yeterli kesinlik (Adeq. Precision) değerleri sırası ile 106.51 ve 18.288 olarak belirlenmiştir. Yeterli kesinlik değeri, sinyalin gürültüye olan oranını ifade etmekle birlikte, 4'ten büyük olması tasarlanan modelin verilerle yeterli derecede uyumlu olduğunu, bu oranın optimizasyon tasarımı için yeterli sinyali verdiğini göstermektedir.

Bulunan bütün bu değerler göz önüne alındığında oluşturulan bu model deneysel verileri büyük ölçüde karşılamakta olup, öngörülen ve elde edilen deneysel veriler arasında yüksek derecede korelasyon bulunduğu sonucuna varılmıştır. Regresyon analizi sonrasında ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sumak oleoresin verimi, programda aşağıda verilen polinomiyal kuadratik denklem ile hesaplanmıştır. X_1 faktörü=%genlik, X_2 =süre, X_3 =katı/solvent oranı, X_4 = etanol konsantrasyonu parametrelerini temsil etmektedir.

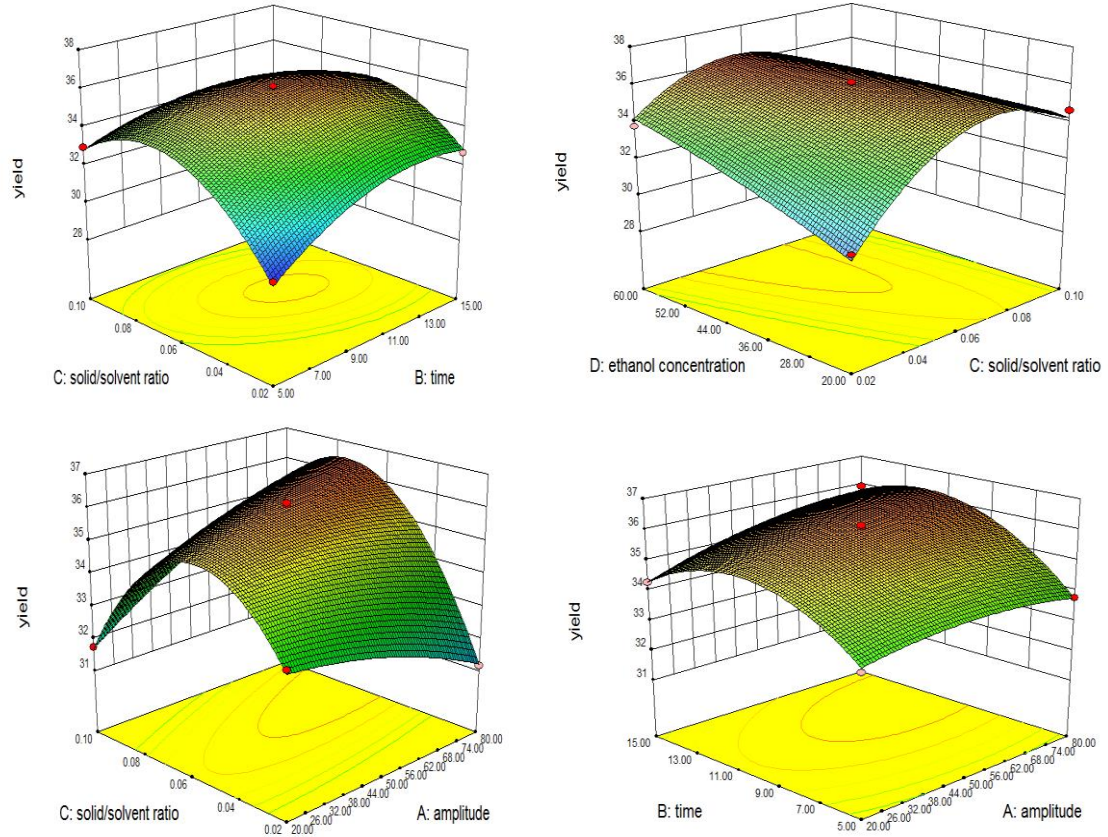
$$Y=18.017-0.058*X_1+1.257*X_2+281.723*X_3+0.133*X_4+2.37*X_1*X_2+1.175*X_1*X_3+3.842*X_1*X_4-4.694*X_2*X_3+2.33*X_2*X_4-1.583*X_3*X_4-3.863X_1^2-0.053*X_2^2-1784.688*X_3^2-6.253*X_4^2$$

Regresyon analizi neticesinde mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sumak oleoresin veriminin hesaplanmasında ise aşağıda verilen polinomiyal kuadratik denklem kullanılmıştır. X_1 faktörü=güç, X_2 =süre, X_3 =katı/solvent oranı, X_4 =etanol konsantrasyonu parametrelerini temsil etmektedir.

$$Y=22.591+0.024*X_1+0.034*X_2+228.108*X_3+29.596*X_4+6.208*X_1*X_2+6.464*X_1*X_3+5.667*X_1*X_4+2.778*X_2*X_3-0.014*X_2*X_4-45.048*X_3*X_4-2.048*X_1^2-5.456*X_2^2+17.793*X_3^2-20.956*X_4^2$$

Box-Benhken yanıt- yüzey tasarım düzeneğindeki her bir noktada ekstraksiyon işlemleri ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir (Tablo 2.1, Tablo 2.2). Oluşturulan model tasarımlarında optimum nokta olarak, sumak oleoresin veriminin maksimum olduğu nokta seçilerek en uygun ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Her bir bağımsız parametrenin p değerinin 0.05'ten küçük bulunması, ekstraksiyon şartlarının her birinin yanıt olan ekstraksiyon verimine olan etkisinin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermektedir. Ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği için optimum noktadaki ekstraksiyon parametreleri sırasıyla %75.62 genlik, 11.31 dakika süre, 0.06 g/ml katı/solvent, %59 etanol konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Optimum noktada sağlanan sumak oleoresin verimi ise %36.924 (w/w-kuru materyalde ağırlıkça) olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon için ise seçilen optimum noktadaki ekstraksiyon parametreleri 513 watt güç, 185 saniye (3.1 dakika) süre, 0.04 g/ml kat/solvent oranı, %73-27 etanol-su konsantrasyonu olarak belirlenmiştir. Mikrodalga sumak oleoresin ekstraksiyonunda belirlenen bu optimum koşullarda modelleme sonucunda tahmin edilen sumak oleoresin verimi %39.057 bulunmuştur.

Ultrasonik ekstraksiyon uygulama şartları olan genlik, süre, etanol konsantrasyonu ve katı/solvent oranının ekstraksiyon verimi ile ilişkisini gösteren grafikler Şekil 3.1'de verilmiştir.

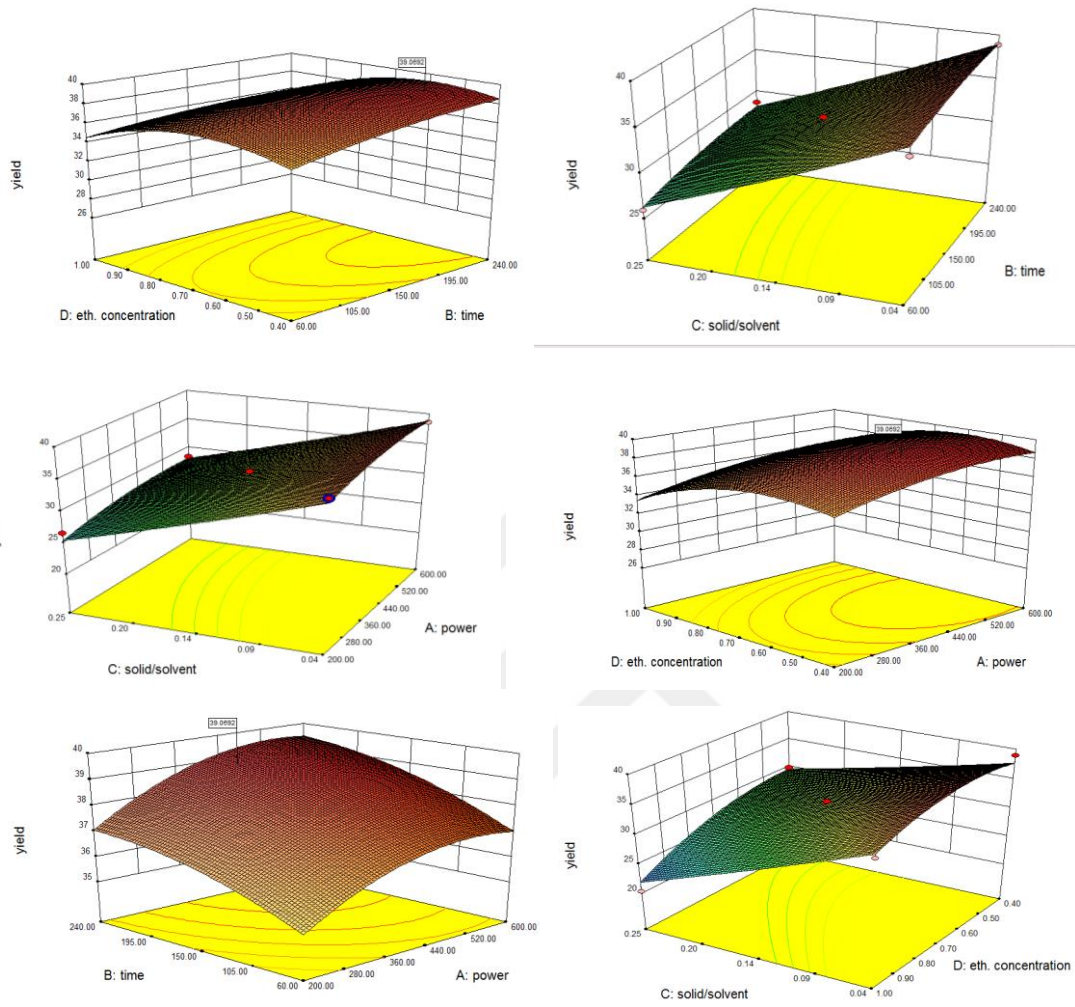


[A: Genlik(%) B: Zaman(dakika) C:Katı/solvent oranı (g/ml) D: Etanol konsantrasyonu (%)]

Şekil 3.1. Ultrasonik ekstraksiyon için modele göre elde edilen 3 boyutlu grafikler

%20'den %60 etanol konsantrasyonuna doğru olan artış ile sumak oleoresin veriminin doğrusal olarak arttığı gözlenmiştir. Katı/solvent oranının oleoresin verimi üzerine olan etkisi incelendiğinde ise 0.06-0.08 (g/ml) aralığına kadar olan artış ile verimin arttığı, bu değerlerin üstünde ise verimin tersi şekilde azalış eğilimi gösterdiği görülmüştür. 13. dakikaya kadar olan sürelerde verim artar iken, 13.dakikadan daha uzun sürelerde azalış eğilimi sergilemiştir. %20'den %60 genliğe doğru olan artış ile oleoresin veriminin artış gösterdiği, daha yüksek değerlerde ise azalış eğiliminde bulunduğu görülmüştür (Şekil 3.1).

Mikrodalga ekstraksiyon uygulama şartları olan güç, süre, etanol konsantrasyonu ve katı/solvent oranının ekstraksiyon verimi ile olan ilişkisini gösteren grafikler ise Şekil 3.2.'de verilmiştir.



[A: Güç (Watt) B: Zaman (saniye) C: Katı/solvent oranı (g/ml) D: Etanol konsantrasyonu (%)]

Şekil 3.2. Mikrodalga ekstraksiyon için modele göre elde edilen 3 boyutlu grafikler

Mikrodalga ekstraksiyon işlemlerinde yüksek katı/solvent değerlerinde daha yüksek oleoresin verimi sağlanmıştır. 195.saniyeye kadar verimin artış gösterdiği daha uzun sürelerdeki ekstraksiyon sonucunda verimin azalma eğilimi göstermeye başladığı görülmüştür. 200 watt'tan yaklaşık 520 watt'a doğru uygulanan güç arttırıldıkça oleoresin veriminin arttığı, daha fazla güç uygulamalarında ise verim azalma eğilimi göstermiştir.

Yanıt yüzey metodu Box-Benhken tasarımına göre sumak oleoresin verimi için gerçekleştirilen varyans analiz sonuç tabloları Tablo 3.4 ve Tablo 3.5'de listelenmiştir.

Tablo 3.4. Mikrodalga ekstraksiyon optimizasyonu için Box-Benhken tasarım-kuadratik modelde sumak oleoresin verimine ait varyans analiz tablosu

Kaynak	kt	sd	kto	F değeri	p değeri	
Model	485.19	14	34.66	22.19	<0.0001*	Önemli
					**	
A-Güç	18.80	1	18.80	12.04	0.0046	
B-Zaman	10.33	1	10.33	6.62	0.0244	
C-Katı/solvent	350.61	1	350.61	224.51	<0.0001	
D-Etanol kons.	72.57	1	72.57	46.47	<0.0001	
AB	0.050	1	0.050	0.032	0.8610	
AC	0.074	1	0.074	0.047	0.8317	
AD	4.624E-003	1	4.624E-003	2.961E-003	0.9575	
BC	2.756E-003	1	2.756E-003	1.765E-003	0.9672	
BD	0.60	1	0.60	0.38	0.5470	
CD	8.05	1	8.05	5.16	0.0424	
A²	3.58	1	3.58	2.29	0.1560	
B²	1.04	1	1.04	0.67	0.4300	
C²	0.21	1	0.21	0.13	0.7233	
D²	18.97	1	18.97	12.15	0.0045	
Atık	18.74	12	1.56			
Uyum eksikliği	18.33	10	1.83	8.95	0.1046	Önemsiz
Saf hata	0.41	2	0.20			
Toplam	503.93	26				

kt: kareler toplamı, sd: serbestlik derecesi, kto: kareler toplamının ortalaması

Tablo 3.5. Ultrasonik ekstraksiyon optimizasyonu için Box-Benhken tasarım-kuadratik modelde sumak oleoresin verimine ait varyans analiz tablosu

Kaynak	kt	sd	kto	F değeri	p değeri	
Model	85.63	14	6.12	70.51	< 0.0001	Önemli
A-Genlik	1.92	1	1.92	22.10	0.0005	
B-Zaman	5.22	1	5.22	60.19	< 0.0001	
C-Katı/solvent	4.93	1	4.93	56.86	< 0.0001	
D-Etanol kons.	4.48	1	4.48	51.65	< 0.0001	
AB	0.51	1	0.51	5.83	0.0327	
AC	7.95	1	7.95	91.61	< 0.0001	
AD	0.21	1	0.21	2.45	0.1435	
BC	3.53	1	3.53	40.64	< 0.0001	
BD	0.22	1	0.22	2.50	0.1396	
CD	6.42	1	6.42	73.97	< 0.0001	
A²	0.64	1	0.64	7.43	0.0184	
B²	9.29	1	9.29	107.05	< 0.0001	
C²	43.49	1	43.49	501.34	< 0.0001	
D²	0.33	1	0.33	3.85	0.0735	
Atık	1.04	12	0.087			
Uyum Eksikliği	1.03	10	0.10	14.08	0.0681	Önemsiz
Saf hata	0.015	2	7.290E-003			
Toplam	86.67	26				

kt: kareler toplamı, sd: serbestlik derecesi, kto: kareler toplamının ortalaması

Optimum noktada deneysel olarak sağlanan sumak oleoresin verimi ve tahmini oleresin verimi sonuçları aşağıdaki tablolarda (Tablo 3.6 ve Tablo 3.7) verilmiştir.

Tablo 3.6. Deneysel olarak sağlanan sonuçlar ile tahmini değerlerin karşılaştırılması

Yanıt	Tahmin	SE Mean	%95 CI Düşük	% 95CI Yüksek	SE Tahmini	%95 PI Düşük	%95 PI Yüksek
SO _{mik}	39.0566	0.766	37.387	40.753	1.465	35.863	42.250
SO _{ult}	36.924	0.198	36.492	37.356	0.355	36.151	37.698

Tablo 3.7. Deneysel sağlanan sonuçlar ile tasarıma ait tahmini değerlerin karşılaştırılması

Yanıt	Tahmini değer	Deneysel değer	% Hata
SO _{mik}	%39.057	%37.758	3.32
SO _{ult}	%36.924	%36.162	2.06

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

Fernández-ronco vd. (2013) gerçekleştirdikleri bir optimizasyon çalışmasında deneysel tasarım kullanarak ultrasonik destekli ve maserasyon ekstraksiyon teknikleri ile topladıkları kırmızıbiber (*Capsicum annuum*) oleoresinlerinin verimi üzerine bağımsız parametrelerin etkisini incelemişlerdir. İşlem değişkenleri olarak toz örnek/solvent, sıcaklık ve ekstraksiyon tekniği seçmişlerdir. Ayrıca solvent tipinin de ekstraksiyon işleminde önemli bir parametre olduğunu vurgulamışlardır. Öneminden dolayı, polarlık seviyesi farklı olan iki tip solvent (hegzan ve etanol) kullanmayı tercih ettiklerini açıklamışlardır. Bu tez çalışmamızda ön denemeler sonucunda, solvent olarak etanol tercih etmemizi doğrular şekilde, çalışmalarında etanol ile elde edilen kırmızıbiber oleoresin verimini hegzana kıyasla 6 kat daha fazla bulduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca solvent olarak etanol kullanıldığında, artan sıcaklık ile birlikte oleoresin veriminin de arttığını, ancak hegzan kullanıldığında tersi durum oluştuğunu belirtmişlerdir.

Farklı ekstraksiyon metotları ile çeşitli bileşiklerin ekstraksiyon işleminde su, solvent olarak kullanılmaktadır. Su normalde apolar veya polaritesi düşük organik bileşiklerin ekstraksiyonu için iyi bir solvent tercihi değildir. Fakat yüksek basınç ve sıcaklık değerlerinde suyun dielektrik sabiti değeri azalmaktadır. Bu durum suyun sıcaklık ve basınç artışının meydana geldiği ekstraksiyon tekniklerinde çeşitli organik bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanımını mümkün kılmaktadır (Smith, 2003). Çalışmamızda suyun bu özelliğinden kaynaklı olarak sumanın yapısındaki apolar bileşikler de alarak oleoresin veriminin artmasına sebep olabileceği düşünülmektedir.

Maserasyon ekstraksiyonunu ise sıcaklık kontrol donanımlı termostatik su banyosunda gerçekleştirmişlerdir. Sıcaklık artışının meydana geldiği her iki ekstraksiyon tekniğinin kırmızıbiber oleoresin verimi üzerine olan etkisi arasındaki farklılığı istatistiksel olarak anlamsız bulduklarını belirtmişlerdir. Farklı ekstraksiyon tekniklerinin verim üzerine olan etkisi her ne kadar farklı olmasa da, ultrasonik destekli ekstraksiyon işleminde sıcaklığa daha kısa süre maruz kalmasından dolayı alınan oleoresinlerin daha kaliteli olduğunu ifade etmişlerdir (Fernández-ronco vd., 2013). Çalışmamızda, bütün yöntemler ısısı olmayan ekstraksiyon tekniği olarak ele alınmıştır. In vitro biyoaktivite özellikleri araştırılan sumak oleoresinlerinden, sağlık üzerine olumlu özellikler sergileyen sonuçlar elde edilmiştir. Biyoaktivitesi yüksek, daha kaliteli sumak oleoresinleri elde edilmesindeki önemli sebeplerden birisinin, ısısı olmayan ekstraksiyon tekniklerinin tercih edilmesi olduğu düşünülmektedir.

Yüksek sıcaklığa örneklerin uzun süre maruz kalmasının, ekstraksiyon verimini azalttığı gibi, alınan ekstraktların kalitesini de düşürdüğü, ancak bitki ekstraktında meydana gelen belli orandaki sıcaklık artışının ise ekstraksiyon verimini artırıcı özellik sergilediği düşünülmektedir. Ekstraksiyon sıcaklığındaki artış, kullanılan solventin viskozitesini düşürmektedir böylece örnek içerisine daha iyi nüfuz ederek alınacak oleoresin verimini arttırmaktadır. Bizim çalışmamızda her ne kadar cihazın sıcaklık kontrolünü sağlayan bir aparatı bulunmasa da, ekstraksiyon sırasında alınan oleoresinlerin termometre ile sıcaklık ölçümleri daima kontrol edilmiştir. Ön denemeler ile parametre sınırları, sıcaklık artışı temel alınarak belirlenmiştir. Maserasyon işlemi soğuk plaka üzerinde çalkalamalı gerçekleştirilmiştir. Her ne kadar ısısı olmayan teknikler olarak uygulansa da, ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniklerinde, işlem sırasında moleküllerin titreşiminin ekstraktta meydana getirdiği belli

bir seviyedeki sıcaklık artışının, ekstraksiyon veriminin artmasında etkili olduğu düşünülmektedir.

Ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği, hidrasyon olayını hızlandırarak bitkinin hücre duvarlarındaki porların genişlemesine sebep olmaktadır. Böylece solventin bitki içerisine daha iyi nüfuz ederek ekstraksiyon olayının daha kısa sürede, etkin bir şekilde gerçekleşmesini sağlamaktadır (Fernández-ronco vd., 2013). Daha kısa sürede ve daha yüksek verimde sumak oleoresini elde edilmesi bakımından yenilikçi ekstraksiyon teknikleri önerilmektedir.

Yapılan bir çalışmada kişniş bitkisinden fenolik-antioksidan maddelerin yanıt-yüzey metodu ile mikrodalga destekli ekstraksiyon optimizasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Yanıt olarak polifenol verimi ve antioksidan aktivite değerlerini kullanmışlardır. Optimize ettikleri mikrodalga ekstraksiyon şartlarını 570 watt, 19 dakika ve %63 olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Maksimum toplam fenolik ve flavonoid miktarını yanıt olarak seçtiklerinde ise optimum noktadaki ekstraksiyon parametrelerini 468 Watt, %52 etanol konsantrasyonu ve 35 dakika olarak bulmuşlardır. Oleoresinlerin antioksidan aktivite değerleri ile toplam fenolik ve flavonoid sonuçlarını ilişkili bulduklarını, ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinden flavonoid bileşiklerinin sorumlu olduklarını ifade etmişlerdir. Ayrıca kıyaslama için soğuk maserasyon tekniği kullanmışlardır. Maserasyon işlemini, numune ve solventin bulunduğu cam şişeleri oda sıcaklığında 5 gün boyunca çalkalamalı olarak bekleterek gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak, bizim çalışma sonuçlarımızla uyumlu şekilde mikrodalga ekstraksiyon tekniği ile maserasyon yöntemine kıyasla daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip, yüksek oleoresin verimi sağladıklarını açıklamışlardır (Zekovi ve Vladi, 2016).

Farklı ekstraksiyon tekniklerinin kıyaslandığı bir başka çalışmada, diken kabağı bitkisinden (*Sechium edule*) etanollü su ile ekstrakte edilen fenolik ve karetenoid bileşiklerinin bazı biyoaktif özellikleri üzerine ekstraksiyon tekniklerinin etkisi değerlendirilmiştir. Ultrasonik, mikrodalga ve maserasyon teknikleri ile elde edilen ekstraksiyon verimlerini sırası ile %11.8, %9.01, %7.18 olarak bulduklarını ifade etmişlerdir. Yine aynı şekilde ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniği ile elde edilen ekstraktın en yüksek toplam fenolik madde, toplam karotenoid ve antioksidan aktivite değerlerine sahip olduğunu açıklamışlardır. Bizim çalışmamızın sonuçlarını doğrular

şekilde maserasyon tekniğine kıyasla mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon teknikleri ile hem daha yüksek verimde hem de daha yüksek biyoaktivite değerlerine sahip ekstaktlar elde edildiğini belirtmişlerdir (Swartz vd., 2022).

Bir başka literatür çalışmasında ise *Rhus typhina* L. tipi sumak bitkisinden ultrasonik yöntemle antioksidan madde ekstraksiyonu için şartları optimize etmişlerdir. Bağımsız parametreler olarak; etanol konsantrasyonu, sıcaklık, süre, pH ve katı/solvent oranını seçmişlerdir. Maksimum DPPH antioksidan aktivite değerine sahip optimum nokta parametrelerini %40.51 etanol, 16.86 dakika, pH 2, 1/13.03 g/ml katı/çözücü olarak belirlemişlerdir. 20°C'den 70°C'ye kadar olan sıcaklık artışı ile antioksidan kapasitenin önemli derecede bir değişkenlik göstermediğini açıklamışlardır. pH 1 ve 2'de en yüksek antioksidan aktivite değerleri elde ederken daha bazik şartlarda antioksidan kapasitenin azaldığını belirtmişlerdir. %40 etanol konsantrasyonu değerine kadar antioksidan aktivitenin arttığını, daha yüksek etanol konsantrasyonu değerlerinde ise azalışa geçtiğini ifade etmişlerdir (Lai vd., 2014).

Bu tez çalışmasında bulunan sonuçlar doğrultusunda etanol konsantrasyonunun sumak oleoresin verimleri üzerine olan etkisi incelendiğinde, mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniğinde %40'dan %70 etanol konsantrasyonlarına kadar olan artışta sumak oleoresin veriminin arttığı, %80 etanol konsantrasyondan daha yüksek değerlere çıkıldığında ise tam tersi şekilde oleoresin veriminin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 3.2). Ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniğinde ise; %20'den %60 etanol konsantrasyonuna doğru olan artışta, sumak oleoresin veriminin arttığı görülmektedir.

Literatürde kurutulmuş zerdeçaldan kurkumin bileşiğinin mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon teknikleri ile ekstrakte edildiği bir çalışmada, seçtikleri bağımsız parametrelerin kurkumin ekstraksiyon verimi üzerine olan etkisini incelemişlerdir. Bizim bulduğumuz sonuçları destekler şekilde, mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniği kullanıldığında %82-84 etanol konsantrasyon değerlerine kadar olan artışın ekstraksiyon verimini arttırdığı, daha yüksek etanol konsantrasyonu değerlerinde ise verimin azaldığını ifade etmişlerdir (M. Li vd., 2014).

Farklı ekstraksiyon metotları ile elde ettikleri hint tıbbi ve aromatik bitki ekstraktlarının bazı biyoaktif özellikleri ve ekstraksiyon veriminin araştırıldığı bir literatür araştırmasında ise çalışma sonuçlarımızı doğrular şekilde, mikrodalga ve ultrasonik

ekstraksiyon verimlerini, maserasyona kıyasla daha yüksek bulduklarını açıklamışlardır. Çözücü olarak yüksek polariteye sahip etanol kullanılmasının ve gelişmiş ekstraksiyon tekniklerindeki belli bir oranda sabitlenen sıcaklığın (60°C), yüksek verim alınmasında etkili olduğunu ifade etmişlerdir (Nile vd., 2017).

3.3. Maserasyon (SO_{M-mik}) Tekniği için Süre Optimizasyonu

Mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi ile karşılaştırma yapılabilmesi amacıyla, belirlenen optimum noktaya ait etanol konsantrasyonu (%73) ve katı/solvent oranı (0.04 g/ml) değerlerinde farklı sürelerde maserasyon çalışmaları yapılmıştır. Farklı sürelerde elde edilen sumak oleoresin verimleri Tablo 3.8’de verilmiştir.

Tablo 3.8. SO_{mik} örneğinden maksimum verim elde etmek için süre optimizasyonu

Süre (saat)	Sumak oleoresin verimi (%)
3	24.891 ^a ±0.934
6	27.058 ^b ±0.447
18	31.539 ^c ±0.241
24	33.783 ^c ±0.067
48	33.419 ^c ±0.972

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

SO_{M-mik} verimleri SPSS istatistik programı kullanılarak One Way ANOVA-Tukey testi ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. 18 saatten daha uzun süre bekletilmesinin oleoresin verimini istatistiksel anlamda önemli ölçüde değiştirmediği görülmüştür (p<0.05). Bu yüzden en uygun ısı olmayan maserasyon tekniğinin 0.04 katı/solvent oranı (g/ml), %73 etanol konsantrasyonu ve 18 saat süre şartlarında uygulanmasına karar verilmiştir.

3.4. Maserasyon (SO_{M-ult}) Tekniği için Süre Optimizasyonu

Ultrason uygulaması ile karşılaştırma yapılabilmesi için belirlenen optimum noktaya ait etanol konsantrasyonu (%59) ve katı/solvent oranı (0.06 g/ml) değerlerinde farklı sürelerde maserasyon çalışmaları yapılmıştır. Farklı zamanlarda sağlanan sumak oleoresin verimleri Tablo 3.9’da verilmiştir.

Tablo 3.9. SO_{ult} örneğinden maksimum verim elde etmek için süre optimizasyonu

Süre (saat)	Sumak oleoresin verimi (%)
3	26.955 ^a ±1.177
6	30.933 ^b ±0.974
18	33.832 ^c ±0.528
24	34.258 ^c ±0.237
48	35.782 ^c ±0.211

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

Farklı sürelerde alınan SO_{M-ult} verimleri One Way ANOVA-Tukey testi ile istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. 18 saatten daha uzun süre bekletilmesinin, oleoresin verimini istatistiksel anlamda önemli ölçüde değiştirmedeği görülmüştür (p<0.05). Bu yüzden en uygun ısı olmayan maserasyon tekniğinin, 0.06 katı/solvent oranı (g/ml), %59 etanol konsantrasyonu ve 18 saat süre şartlarında uygulanmasına karar verilmiştir.

Klasik maserasyon tekniği ile mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon tekniklerinin karşılaştırılabilmesi amacıyla, her iki ekstraksiyon tekniği için belirlenen optimum şartlarda, iki ayrı maserasyon uygulaması yapılmıştır. Mikrodalga uygulaması ile karşılaştırma yapılabilmesi için, mikrodalga uygulaması için belirlenen şartlarda yapılan maserasyon ile ultrason uygulaması ile karşılaştırma yapılabilmesi için, ultrason için belirlenen optimum şartlarda yapılan maserasyon ile sumak oleoresinleri ayrı ayrı toplanarak ekstraksiyon verimi hesaplanmıştır.

Yapılan bir çalışmada soğuk maserasyon tekniğiyle 24 saatte %80 etanol ile alınan sumak meyvesi ekstraktının ekstraksiyon verimi (kuru bitkide kütlege) %30.3 olarak bildirilmiştir (Gök vd., 2020).

Kosar vd. (2007) ise yaptıkları çalışmada maserasyon tekniğiyle %70 metanol ile sağladıkları sumak ekstraksiyon verimini %29.77 (kuru bitkide kütlege) olarak bulduklarını belirtmişlerdir. Bu tez çalışmasında ise %73 etanol ve 0.04 g/ml katı/solvent şartlarında 18 saat soğuk maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresin verimi %31.539 (kuru bitkide, kütlege) olarak bulunmuştur. %59 ve 0.06g/ml katı/solvent şartlarında 18 saat soğuk maserasyon tekniği ile elde edilen sumak

oleoresin verimi ise %33.842 (kuru bitkide kütlege) olarak bulunmuştur. Literatürde klasik ekstraksiyon tekniği ile sağlanan ekstraksiyon verimleri ile uyumlu sonuçlar elde edilmiştir. Farklılıkların ise kullanılan solvent tipi ve oranı ile ekstraksiyon süresi gibi değişkenlerin farklı olmasından ileri geldiği düşünülmektedir.

3.5. Sumak Oleoresinlerinin pH Değerleri

Sumak oleoresinlerinin stok çözeltilerinin (10 mg/ml) pH değerleri Tablo 3. 10'da verilmiştir. Klasik ve yeşil ekstraksiyon tekniklerinin sumak oleoresinlerinin asitliğin bir göstergesi olan pH değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Fakat farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen bütün sumak oleoresinlerinin de asidik karakterde olduğu görülmüştür.

Fereidoonfar vd. (2019) çalışmalarında farklı habitatlardan topladıkları sumak bitkisinden klasik teknikle elde ettikleri ekstraktların pH değerinin 2.66 ile 3.90 aralığında olduğunu açıklamışlardır. Diğer bir çalışmada ise sumak bitkisinin pH değerleri 2.68-2.76 aralığında bulunmuştur (Mazaheri vd., 2017).

Sumak bitkisinin fizikokimyasal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada sumak meyvesinin pH değerini 3.7 ± 0.3 olarak bulduklarını belirtmişlerdir. *Rhus coriaria* L. meyvesinin kendisine benzer pH'ya sahip oleoresinler elde edilmiştir (Musa ve Haciseferogullari, 2004). Çalışmamızda elde edilen sumak oleoresinlerinin meyvesine benzer şekilde asidik karakterde olmasının avantajlı olduğu düşünülmektedir.

Tablo 3.10. Sumak Oleoresinlerinin pH Değerleri

Oleoresin	pH değerleri
SO _{mik}	2.735 ^a ±0.021
SO _{M-mik}	2.695 ^a ±0.007
SO _{ult}	2.685 ^a ±0.007
SO _{M-ult}	2.660 ^a ±0.014

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

3.6. Sumak Oleoresinlerinin Titrasyon Asitliği (%)

Sumak oleoresinlerinin titrasyon asitliği sonuçları malik asit eşdeğeri olarak ifade edilmiştir. Farklı ekstraksiyon tekniği uygulamasının sumak oleoresinlerinin titrasyon asitliği üzerine olan etkisi istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (Tablo 3.11).

Sumak bitkisinin fizikokimyasal özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada sumak meyvesinin % toplam asitlik değerini 4.6 ± 0.2 olarak bulduklarını açıklamışlardır (Musa ve Haciseferogullari, 2004). Diğer bir çalışmada ise sumak bitkisinin titrasyon asitliği değerini, 2.01-7.84 aralığında bulmuşlardır (Fereidoonfar vd., 2019). Çalışmamızda elde ettiğimiz sumak oleoresinlerin % titrasyon asitlik değerleri ile literatür verileri kıyaslandığında benzer sonuçlar bulunmuştur. Sumak meyvesinden, kendisine benzer asitlik değerine sahip, asiditesi yüksek oleoresinler elde edilmesi avantaj oluşturmaktadır. Yapılan bir çalışmada farklı taşıyıcılar kullanarak sumak ekstraktını püskürtmeli kurutma tekniği ile toz haline getirmişlerdir. Toz hali ile solüsyonların asitlik değerlerini kıyasladıklarında püskürtmeli kurutma boyunca asitliğin azalmasına bağlı olarak solüsyonların daha yüksek asitlik değerlerine (%2.82) sahip olduğunu bulmuştur (Bayram, 2005). Yine sumak ekstraktının püskürtmeli kurutma tekniği ile kurutulduğu bir başka çalışmada ise, toz sumakların pH değerlerini, sumak ekstraktının pH değerine (3.01) yakın şekilde 3.13-3.23 pH aralığında bulmuşlardır (Caliskan ve Dirim, 2013). Bu tez çalışmasında sağlanan sumak oleoresinlerinin literatürdeki toz formuna kıyasla asitlik değerleri daha yüksek, yoğun kıvamlı ekstraktlar şeklinde olmasının, kullanım ve dayanıklılık açısından avantaj oluşturacağı düşünülmektedir.

Tablo 3.11. Sumak Oleoresinlerinin Titrasyon Asitliği (%) Değerleri

Örnekler	% Titrasyon Asitliği
SO _{mik}	$4.52^a \pm 0.02$
SO _{M-mik}	$4.49^a \pm 0.01$
SO _{ult}	$4.42^a \pm 0.04$
SO _{M-ult}	$4.45^a \pm 0.01$

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

3.7. Sumak Oleoresinlerinin Renk Değerleri

Hunter skalasına göre L^* renk değeri, -karanlık/+aydınlığı, a^* renk değeri -mavilik/+kırmızılık, b^* renk değeri ise – yeşillik/+ sarılık ifade etmektedir. Renk değeri, işleme sürecinden etkilenen önemli bir kalite parametresidir. Yapıdaki renklendirici bileşikler ve fenolik maddeler, büyük ölçüde renk niteliklerinden sorumludur. Yapılan bir literatür çalışmasında siyah havuç posasından mikrodalga, ultrason ve konvansiyonel ısıtma teknikleri kullanılarak elde edilen pektinin renk değerleri incelenmiştir. Ultrasonik ısıtma uygulanan pektinin diğerlerine kıyasla daha açık kırmızı renkte olduğu görülmüştür. Daha koyu renkte aldıkları örneklerin aynı zamanda daha yüksek fenolik konsantrasyonuna sahip örnekler olduğunu ifade etmişlerdir (Misra ve Kumar, 2020). Ekstrakte ettiğimiz sumak oleoresinlerinin renk değerleri incelendiğinde, literatürdeki bu veriler ile uyumlu olarak, daha düşük fenolik madde konsantrasyonuna sahip mikrodalga destekli ekstraksiyon ile sağlanan sumak oleoresinin daha açık kırmızı renkte olduğu görülmüştür (Şekil 2.1).

Mikrodalga (SO_{mik}) ve maserasyon (SO_{M-mik}) oleoresinlerinin L^* parlaklık değerleri kıyaslandığında SO_{M-mik} örneğinin parlaklığının daha yüksek olduğu görülmüştür. a^* ve b^* renk değerleri kıyaslandığında ise mikrodalga oleoresinin (SO_{mik}) maserasyona (SO_{M-mik}) kıyasla daha yüksek b^* ve daha düşük a^* değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Mikrodalga oleoresinin (SO_{mik}) diğerlerine kıyasla gözle görülen daha açık renk ve bulanık bir görüntüye sahip olması bulunan bu sonucu destekler niteliktedir. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin L^* parlaklık, a^* kırmızılık değerleri arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur. SO_{ult} örneğinin, b^* sarılık değeri, SO_{M-ult} örneğine kıyasla daha yüksek bulunmuştur (Tablo 3.12). Sumak oleoresinlerin renk değerlerinin ekstrakte edilen antosiyanin ve fenolik madde miktarları ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma kapsamında elde edilen sumak oleoresin örneklerinin renk değerleri literatürde püskürtmeli kurutma tekniği ile elde edilen sumak toz örneklerinin L^* ve a^* renk değerlerine yakın bulunmuştur. Farklı şartlarda elde ettikleri toz örneklerin L^* parlaklık değerlerini 59.15 ile 72.60, a^* kırmızılık/mavilik değerlerini ise 24.13 ile 30.93 aralıklarında bulduklarını açıklamışlardır (Caliskan ve Dirim, 2013).

Tablo 3.12. Sumak oleoresinlerinin renk değerleri

Örnekler	L*	a*	b*
SO _{mik}	63.727 ^a ±0.04	27.483 ^a ±0.01	20.350 ^b ±0.01
SO _{M-mik}	66.356 ^b ±0.05	30.220 ^b ±0.01	17.353 ^a ±0.01
SO _{ult}	68.360 ^a ±0.04	29.627 ^a ±0.05	19.487 ^b ±0.02
SO _{M-ult}	68.287 ^a ±0.02	29.960 ^a ±0.01	16.250 ^a ±0

*Deneyler 3 tekerrürlü gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. Aynı harflerle ifade edilen değerler arasındaki farklılık p<0.05 seviyesinde istatistiksel anlamda önemsizdir.

**SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

3.8. Sumak Oleoresinlerinin Toplam Fenolik Madde Miktarları

Çalışmamızda uygulanan ekstraksiyon teknikleri (SO_{ult}, SO_{M-ult}, SO_{mik}, SO_{M-mik}) ile sağlanan sumak oleoresinlerinin toplam fenolik madde miktarları sırası ile 195.985±3.136, 177.887±4.327, 174.725±3.453, 163.769±1.496 mg GAE/g olarak bulunmuştur (Şekil 3.3). Maserasyon tekniğine kıyasla, her iki yenilikçi ekstraksiyon tekniğinin oleoresinin toplam fenolik madde içeriği üzerine olan etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (p<0.05). Ultrason ve mikrodalga uygulamaları ile elde edilen oleoresinlerin maserasyona kıyasla, daha yüksek fenolik madde içeriğine sahip olmasının, kavitasyon yoluyla oluşan enerji dağılımı sayesinde solventin, bitkisel dokulara daha iyi nüfuz ederek fitokimyasalların kütle transferini arttırması olduğu düşünülmektedir. Ayrıca mikrodalga ekstraksiyon sisteminde, moleküllerin dipol rotasyonu neticesinde yapıda oluşan ısınma, hidrojen bağlarının parçalanmasını tetikleyerek solvent içerisinde moleküllerin çözünmesini hızlandırmaktadır. Bu sayede daha fazla fenolik madde ekstrakte edilebilmektedir (Boukerche vd., 2023).

Sumak bitkisinin (*Rhus coriaria* L.) toplam fenolik madde içeriği yapılan farklı çalışmalar ile literatürde rapor edilmiştir. Yapılan bir başka literatür çalışmasında, İran'a ait farklı lokasyonlardan sağladıkları sumak bitkisinin toplam fenolik madde miktarlarının 77.54 ile 389.30 mg gallik asit eşdeğeri/g (kuru ağırlıkça) aralığında olduğunu rapor etmişlerdir (Fereidoonfar vd., 2019). Arslan ve Akbulut, (2009)

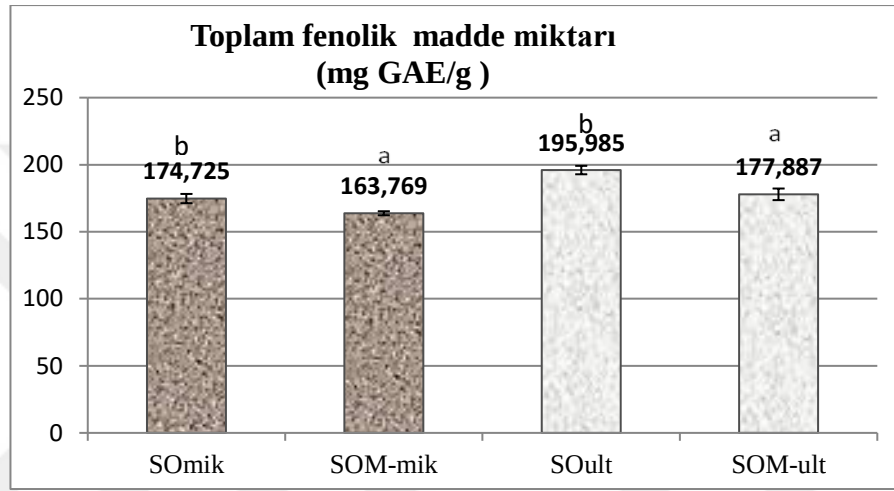
çalışmalarında %90 metanol, %9 su ve %1 asetik asit solvent karışımı ile 24 saat ekstraksiyon ile elde ettikleri sumak ekstraktının toplam fenolik madde içeriğini 497.87 mg GAE/g olarak açıklamışlardır.

İran ve Türkiye'den hasat ettikleri sumak bitkileri üzerinde yapılan bir çalışmada, 24 saat maserasyon tekniği ile %96 etanol kullanarak aldıkları ekstraktların toplam fenolik madde içeriğini 47.8-101.70 mg GAE/g aralığında bulmuşlardır (Mazahari vd., 2017). Yapılan bir başka çalışmada, farklı çözücülerle hazırlanan sumak fraksiyonlarının toplam fenolik madde içerikleri, 142.9-546.9 mg gallik asit/g değerleri arasında bulunmuştur (Kosar vd., 2007). Ekstrakte edilen fenolik madde miktarının çözücü tipi ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bilinmektedir ve yapılan literatür çalışmalarının sonuçları da bu hipotezi destekler niteliktedir. Aydogdu vd. (2023), gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucuna dayanarak etanolün fenolik ekstraksiyonunda suya kıyasla daha başarılı bir solvent olduğunu ifade etmişlerdir. Bu yorumu destekler şekilde, çalışmamızda %59-41 etanol-su çözücü karışımı ile yüksek verimde sumak oleoresini sağlanmıştır. Farklı derin ötektik ve konvansiyonel çözücüler ile ultrasonik ekstraksiyon tekniğinin birleştirildiği başka bir çalışmada ise sumak ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriklerini karşılaştırmışlardır. Ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerinin 44.52-124.96 mg GAE/g aralığında olduğunu ifade etmişlerdir (Zannou vd., 2022). Bir başka literatür çalışmasında ise farklı çözücü (metanol, etil asetat ve su) ve karışım oranlarında elde edilen sumak ekstraktlarının fenolik içerikleri araştırılmıştır. 151.71 mg/g gallik asit sonucu ile toplam fenolik içeriği en yüksek olan ekstraktın, %70 metanol ile alınan sumak ekstraktı olduğunu açıklamışlardır (Alia ve Faleeha, 2014).

Ekstraksiyon işleminde seçilen solventin polarite farklılıklarından ötürü bütün biyoaktif bileşikler tek başına ekstrakte edebilen bir solvent bilinmemektedir. Buna dayanarak Swartz vd. (2022) çalışmalarında *Sechium edule* yapraklarından maksimum oranda fenolik ve karotenoid madde ekstrakte edebilmek için farklı polarite özelliğine sahip çözücüler (etanol+su ile aseton+su) karışım şeklinde kullanmayı tercih ettiklerini ifade etmişlerdir. Solventin polaritesi arttıkça fenolik ekstraksiyon etkinliği azalmaktadır. Bunun sebebi olarak, sulu ekstraktların genellikle suda çözünen organik asitler, şeker ve protein gibi yapıları bünyesinde bulundurmasından dolayı toplam fenolik madde içeriğinin belirlenmesini ve ayırt edilmesini engellediği ileri sürülmektedir. Ayrıca bitkinin genetiği, yetiştirme koşulları (toprak, iklim vb.), hasat zamanı ve hasat sonrası

işleme ve depolama koşulları gibi daha birçok faktör toplam fenolik madde içeriğini etkilemektedir (Swartz vd., 2022; Tsao ve Deng, 2004; Chirinos vd., 2007).

Bu tez çalışması kapsamında elde ettiğimiz toplam fenolik madde sonuçları literatür ile karşılaştırıldığında uyumlu bulunmuştur. Sumak bitkisine ait fenolik bileşenleri yüksek ölçüde yapısında bulunduran oleoresinler elde edilmesi, bu tez çalışmasının öncelikli amaçlarındandır.



Şekil 3.3. Sumak oleoresinlerinin toplam fenolik madde miktarları (mg GAE/g)

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

**SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri ile SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri ayrı ayrı independent t-testi ile ikili karşılaştırılmıştır.

3.9. Sumak Oleoresinlerinin DPPH Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite Değerleri

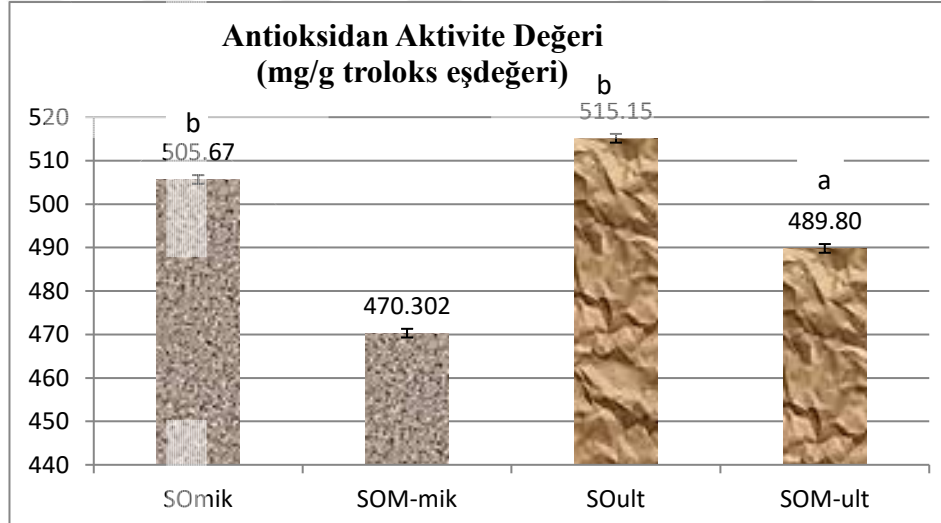
Çalışmamızda uygulanan ekstraksiyon teknikleri (SO_{ult}, SO_{M-ult}, SO_{mik}, SO_{M-mik}) ile sağlanan sumak oleoresinlerinin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri sırasıyla $515.146^b \pm 2.407$, $489.802^a \pm 1.793$, $505.668^b \pm 2.136$, $470.302^a \pm 0.978$ mg/g troluks eşdeğeri) olarak bulunmuştur. Maserasyon tekniği ile kıyaslandığında her iki yenilikçi ekstraksiyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresinin antioksidan aktivite değerleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde ($p < 0.05$) yüksek bulunmuştur (Şekil 3.4).

Yapılan bir araştırmada *Rhus typhina* L. tipi sumak meyvesinden ultrasonik ekstraksiyon ile sağlanan antioksidan maddelerin ekstraksiyonu için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla farklı ekstraksiyon parametrelerinin (pH, sıcaklık, etanol konsantrasyonu, katı/solvent oranı) antioksidan kapasite miktarına olan etkisini araştırmışlardır. Araştırma sonucunda, 20°C'den 70°C'e kadarki sıcaklık uygulamalarının sumak ekstraktının antioksidan kapasite değerleri üzerinde istatistiksel manada önemli bir farklılık oluşturmadığı açıklanmıştır (Lai vd., 2014). Bizim çalışmalarımızda, sumaktan oleoresin elde edilmesi sırasında ultrasonik destekli ekstraksiyon uygulaması aşamasında, ekstrakt sıcaklığının 45-50°C'yi aşmamasına dikkat edilmiştir. pH'nın etkisi incelendiğinde ise düşük pH (1-2) değerlerinde daha yüksek antioksidan kapasite değerleri elde edildiği rapor edilmiştir. Literatürle uyumlu şekilde, çalışmalarımızda elde ettiğimiz düşük pH değerlerine sahip sumak oleoresinlerinin yüksek antioksidan aktivite sergilediği görülmektedir. Yüksek antioksidan aktivite değerlerinin sağlanmasında ekstraktın bileşiğinde yer alan önemli antosiyanin ve fenolik bileşiklerin etkili olduğunu vurgulamışlardır (Lai vd., 2014).

Fereidoonfar vd. (2019) yaptıkları bir çalışmada, farklı solventler ile elde ettikleri sumak meyve ekstraktlarının antioksidan aktivite değerini 1.55-11.09 mg/g askorbik asit eşdeğeri olarak belirlemişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada ise sumak meyve ekstraktının antioksidan aktivitelerinin hidrolize olabilen tanen içeriği ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir (Kosar vd., 2007). Ayrıca, ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin, antioksidan aktivite değeri ile de ilişkili olduğu açıklanmaktadır (Aydogdu vd., 2023). Ultrason uygulamasının oluşturduğu kavitasyon sayesinde, örneğin yapısındaki önemli biyoaktif bileşikler, hücre duvarından daha kolay geçiş sağlamaktadır. Bu sayede ultrason uygulaması ile sağlanan ekstraksiyon işlemi önemli biyoaktif maddeleri yapıda toplaması açısından daha verimlidir. Yapılan çalışmada, ekstraktların antioksidan aktivitelerinin yüksek olması, epikateşin, epikateşin gallat, kafein, gallik asit, kamferol ve mirisetin gibi biyoaktif özellik gösteren fenolik bileşiklerin varlığı ile ilişkilendirilmiştir (Leangnim vd., 2023). Çalışmamızdaki sumak oleoresinlerinin toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizi sonuçları incelendiğinde bu hipotezleri doğrular nitelikte olduğu görülmektedir.

Zannou vd. (2022) yaptıkları bir çalışmada, derin ötektik ve klasik solventler gibi farklı solventleri, klasik teknik homojen karıştırma ve yeşil bir teknik olan ultrasonik

ekstraksiyonu ile kombine ederek sumak fenolik ekstraktları elde etmişlerdir. DPPH analiz yöntemi kullanarak metanol, distile su ve etanol klasik solventleri ile ultrasonik banyoda aldıkları sumak fenolik ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini sırası ile 1692.78 ± 36.73 , 1561.56 ± 46.82 ve 1349.46 ± 41.45 mmol/g troloks eşdeğeri olarak bulmuşlardır. Bir homojenleştirici cihaz kullanarak metanol, distile su ve etanol ile aldıkları sumak fenolik ekstraktlarının antioksidan değerlerini ise sırası ile 1510.99 ± 24.49 , 1433.26 ± 5.75 ve 863.70 ± 29.61 mmol/g troloks eşdeğeri olarak bulduklarını açıklamışlardır. Çalışmalarında farklı solventler ile aldıkları ekstraktların kendi içinde fenolik madde miktarı ve antioksidan kapasite sonuçlarını kıyasladıklarında diğerlerine göre daha yüksek fenolik madde içeriğine sahip olan ekstraktın daha yüksek antioksidan kapasite sergilediğini belirtmişlerdir. Sumak ekstraktlarının antioksidan aktivite değerlerini etkileyen en önemli parametrelerden birisinin solvent tipi olduğunu ve ultrasonik ekstraksiyon tekniği ile yüksek performans alındığını vurgulamışlardır (Zannou vd., 2022). Yapılan bu tespitler bizim çalışma sonuçlarını da destekler niteliktedir.



Şekil 3.4. Sumak oleoresinlerinin DPPH yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri (mg/g troloks eşdeğeri)

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

**SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri ile SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri ayrı ayrı independent t-testi ile ikili karşılaştırılmıştır.

3.10. Sumak Oleoresinlerinin TEAC Yöntemi ile Belirlenen Antioksidan Aktivite Değerleri

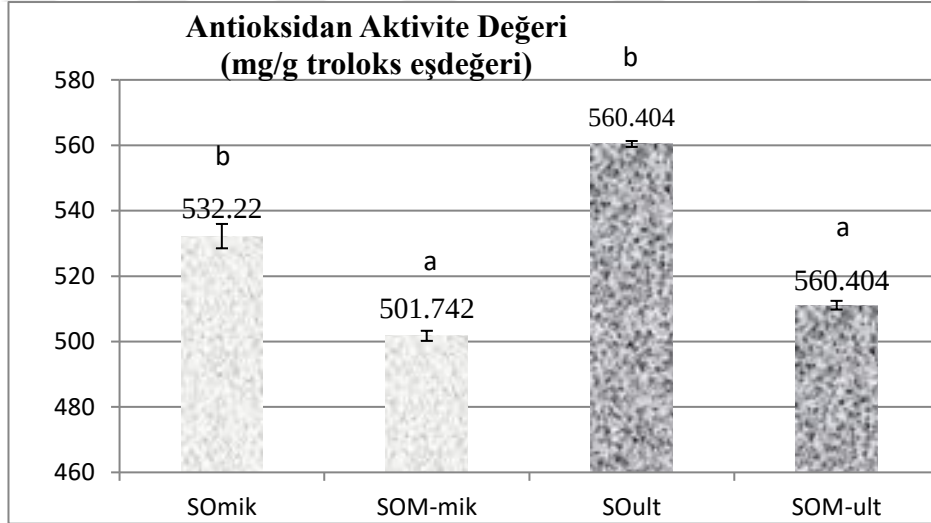
SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin antioksidan aktivite değerleri sırasıyla; 532.224±3.720 ve 501.742^a±1.539 mg/g troloks eşdeğeri, SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin antioksidan aktivite değerleri ise sırasıyla; 560.404±0.911 ve 511.109±1.330 mg/g troloks eşdeğeri olarak bulunmuştur. Mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yönteminin her ikisinin de, maserasyon tekniğine kıyasla, oleoresinlerin antioksidan kapasiteleri üzerinde daha etkili olduğu görülmüştür (p<0.05) (Şekil 3.5).

Ali ve Samia (2010) yaptıkları bir çalışmada, *Rhus tripartitum* (Anacardiaceae) bitkisini farklı solventler (metanol, etil asetat, kloroform) içerisinde bekleterek 4 döngü sonunda elde ettikleri ekstraktların, TEAC yöntemi ile antioksidan aktivitelerini ölçmüşlerdir. Çalışmalarının sonucunda, etil asetat, kloroform ve metanolik ekstraktlarının 20 dakika sonundaki troloks eşdeğeri antioksidan kapasite değerlerini sırası ile 1.92 mM troloks/mg, 1.39 mM troloks/mg, ve 1.20 mM troloks/mg ekstrakt olarak açıklamışlardır (Birim çevirme işlemi yapıldığında 1.39 mM troloks/mg 347.90 mg troloks/g değerine, 1.20 mM troloks/mg 300.35 mg troloks/g değerine, 1.92 mM troloks/mg ise 480.56 mg troloks/g'a eşdeğer bulunmuştur). *Rhus tripartitum* ekstraktlarının toplam fenolik madde sonuçları ile antioksidan davranışları arasında pozitif, yüksek korelasyon bulduklarını (r=0.666) buna dayanarak ekstraktların antioksidan aktivitelerinden sorumlu ana bileşenlerden birisinin fenolik bileşenler olduğunu ifade etmişlerdir (Ali ve Samia, 2010). Bu çıkarım bizim tez çalışma sonuçlarını da doğrular niteliktedir. *Rhus tripartitum* (Anacardiaceae) bitkisinin troloks eşdeğeri antioksidan kapasite sonuçlarının bu tez kapsamında çalışılan *Rhus coriaria* bitkisinin antioksidan aktivite değerlerinden düşük olduğu görülmüştür. Sonuçlardaki farklılıkların oluşmasında en büyük etkenlerden birinin solvent tipi olduğu ve sumak cinsi, ekstraksiyon tekniği ve koşulları gibi daha birçok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterdiği düşünülmektedir.

Gerçekleştirilen bir başka literatür çalışmasında ise, sumak (*Rhus coriaria* L.) bitkisinden etanol ve su ile ayrı ayrı hazırladıkları karışımdan manyetik karıştırıcı kullanarak 10 saat süre sonunda elde ettikleri ekstraktların farklı radikal kovucu aktivite metotları (CUPRAC, FRAP) ile antioksidan kapasite özelliklerini belirlemişlerdir. Su ile aldıkları ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan kapasite değerlerini

etanole kıyasla daha yüksek bulduklarını açıklamışlardır (Bursal ve Köksal, 2011). Bizim çalışmalarımızda, etanol ve su karışımı ile daha yüksek antioksidan kapasite sonuçları elde edilmiştir. Bu durumun metot farklılığından veya bitkinin yapısındaki fenolik madde profilinin farklılık göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Bitkiler aromatik zincir üzerinde hidroksil grup olan çok sayıda fenolik bileşikler yapısında bulundurur. Bu fenolik bileşikler bir H^+ atomu vererek zincir oksidasyon reaksiyonlarını kesintiye uğratar ve böylece tıpkı bir antioksidan gibi işlev görür. Birçok çalışma yüksek fenolik bileşen içeren bitkilerin yüksek antioksidan yetenek sergilediğini açıklamaktadır (Bursal ve Köksal, 2011; Fereidoonfar vd., 2019; Mondal, vd., 2023). Ultrasonik ekstraksiyon tekniğinin, klasik tekniğe kıyasla biyoaktif maddeleri toplamada daha başarılı bir yöntem olduğu bilinmektedir (Mondal vd., 2023). Bizim tez çalışması sonuçları da bu çıkarımları destekler özellikte olup, ultrasonik ekstraksiyon tekniğinin, sumak bitkisinin yapısında var olan fenolik bileşikler toplamada başarılı olduğu, buna bağlı olarak ta SO_{ult} örneğinin yüksek antioksidan aktivite sergilediği düşünülmektedir.



Şekil 3.5. Sumak oleoresinlerinin TEAC yöntemi ile belirlenen antioksidan aktivite değerleri (mg /g troloks eşdeğeri)

* SO_{mik} : Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik} : Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult} : Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult} : Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

** SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri ile SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri ayrı ayrı independent t-testi ile ikili karşılaştırılmıştır.

3.11. Sumak Oleoresinlerinin Toplam Monomerik Antosiyanin İçerikleri

Antosiyanin bileşikler ortam pH'sına bağlı olarak renk değiştirme özelliğine sahiptirler. Asidik ortamda renkleri kırmızı ve tonlarına dönüşmektedir (Castañeda-Ovando vd., 2009). Elde ettiğimiz sumak oleoresinlerinin asidik yapıda ve kırmızı renkte olması bu özellik ile açıklanabilir. Antosiyanin bileşiklerin diyabet engelleyici, trombosit kümeleşmesini önleyici, damar koruyucu ve tümör gelişimini baskılayıcı gibi çok fazla sağlık ile ilişkili olarak olumlu özelliklerinin olduğu bilinmektedir (Castañeda-Ovando vd., 2009). Bu yoruma dayanarak elde ettiğimiz sumak oleoresinlerinin içerdiği antosiyanin bileşiklerin üstün biyoaktif özellikler sergilemesinde etkili olduğu düşünülmektedir.

Bu tez çalışmasında uygulanan farklı ekstraksiyon teknikleri (SO_{ult} , SO_{M-ult} , SO_{mik} ve SO_{M-mik}) ile elde edilen sumak oleoresinlerinin toplam monomerik antosiyanin miktarları sırasıyla; $0.897^a \pm 0.024$, $1.151^a \pm 0.108$, $0.760^a \pm 0.067$ ve $1.148^b \pm 0.097$ mg siyanidin-3 glukozid/ gr ekstrakt olarak bulunmuştur (Tablo 3.13). Ultrasonik uygulama ile yüksek performans alınmasına rağmen maserasyon tekniği ile kıyaslandığında oleoresinlerin toplam monomerik antosiyanin madde içeriği üzerine olan etkisi arasındaki farklılık istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. Bulduğumuz sonuçları destekler şekilde Boukerche vd. yaptıkları bir çalışmada *Hibiscus Sabdariffa* bitki ekstraktının toplam antosiyanin madde içeriklerini karşılaştırdıklarında ultrasonik (13.47^b mg gallik asit/g ± 0.22) ve klasik ekstraksiyon (14.46^b mg gallik asit/g ± 0.47) tekniklerinin istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yaratmadığını belirtmişlerdir (Boukerche vd., 2023).

Yine benzer sonuçların elde edildiği bir çalışmada ultrasonik ve klasik ekstraksiyon tekniğiyle su ve %0.1 asitlendirilmiş etanol-su (1:1) ile aldıkları üzüm kabuğu ekstraktlarının toplama antosiyanin miktarlarını (mg siyanidin-3-glukozid/g) belirlemişlerdir. Su ile alınan ekstraktların siyanin madde miktarı üzerinde ultrasonik ve klasik ekstraksiyon tekniğinin önemli bir farklılık oluşturmadığını ifade etmişlerdir (Ekici, 2011).

Mikrodalga ekstraksiyonu ile elde ettiğimiz oleoresin sulu stok çözeltisinin diğer çözeltilere kıyasla daha açık kırmızı renkte olduğu gözlenmiştir. Mikrodalga oleoresinin toplam antosiyanin miktarının diğer oleoresinlere kıyasla düşük değerde bulunması bu

gözlemi doğrular niteliktedir. Ekstraktların renk yoğunluğu antosiyanin miktarı ile ilişkilidir. Antosiyanin miktarının artması örneklerin renk stabilitesini arttırmaktadır (Aşkın ve Küçüköner, 2019). Mikrodalga ekstraksiyon tekniği ile toplam fenolik madde ekstraksiyonu her ne kadar başarılı olsa da antosiyanin toplama yönünden yetersiz kaldığı görülmektedir. Bu durumun oluşmasında en büyük etken olarak, mikrodalga ekstraksiyonu esnasında yapıda meydana gelen sıcaklık artışının antosiyaninlere zarar vermiş olabileceği düşünülmektedir. Çünkü biyoaktif maddelerce zengin gıdaların ekstraksiyonunda sıcaklık önemli bir parametredir. Antosiyanin gibi sıcaklığa karşı çok kararlı olmayan bileşikler için yüksek sıcaklık artışı yapıyı olumsuz etkileyebilmektedir (Jesús vd., 2023).

Kosar vd. (2007) çalışmalarında sumak (*Rhus coriaria* L.) ekstraktlarından sağladıkları fenolik fraksiyonlarının antosiyanin miktarlarını 0.20-2.30 mg siyanidin/gr ekstrakt aralığında bulduklarını belirtmişlerdir. Başka bir çalışmada ise farklı lokasyonlardan toplanan sumaklardan (*Rhus coriaria* L.) klasik ekstraksiyon tekniği ile sağlanan ekstraktların toplam monomerik antosiyanin miktarlarının 3.57-66.14 mg siyanidin /100 g ekstrakt aralığında olduğunu rapor etmişlerdir (Fereidoonfar vd., 2019). Bu tez kapsamında literatür çalışmaları ile benzer sonuçlar elde edilmiştir (Tablo 3.13).

Tablo 3.13. Sumak oleoresinlerinin toplam antosiyanin miktarları (mg siyanidin/g)

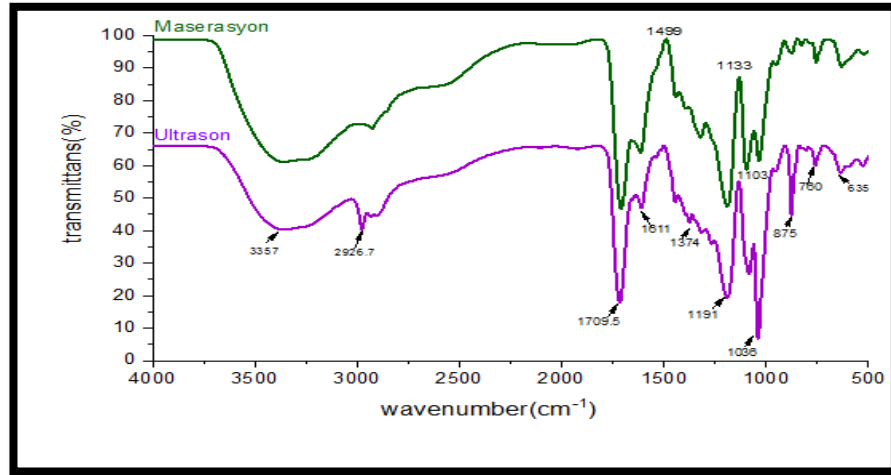
Örnekler	Toplam antosiyanin (mg siyanidin 3- glukozid/g)
SO _{ult}	0.897 ^a ±0.024
SO _{M-ult}	1.151 ^a ±0.108
SO _{mik}	0.760 ^a ±0.067
SO _{M-mik}	1.148 ^b ±0.097

SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

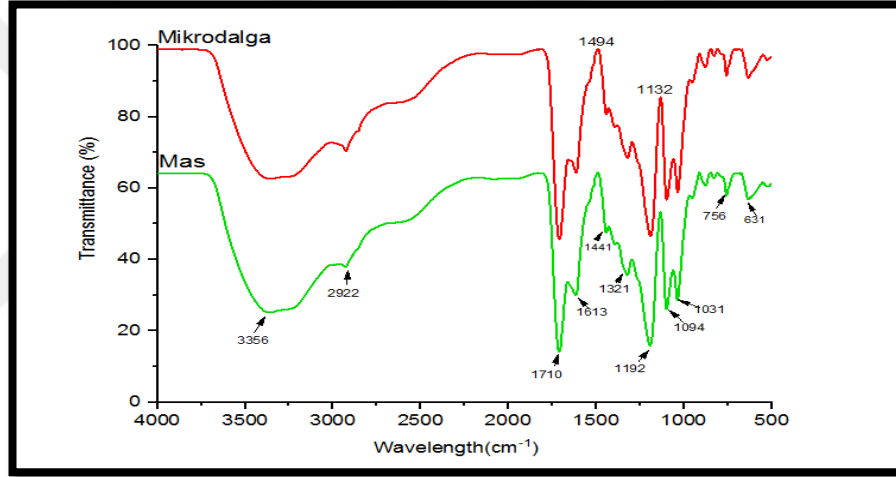
3.12. Sumak Oleoresinlerinin FT-IR Spektrumları ve Yorumlanması

SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerine ait FT-IR spektrumları Şekil 3.6'da verilmiştir. FT-IR spektrumunda 3300 cm⁻¹ dalga sayısında oluşan pikler çoğunlukla O-H bağının gerilme

titreşimiyle ilişkilendirilirken, 2800-3000 cm^{-1} dalga sayısında oluşan pikler C-H bağının gerilmesiyle ilişkilendirilmektedir (Aydogdu vd., 2023). 3000-3500 cm^{-1} arasında oluşan geniş bant, yapıda alkol fonksiyonel grubun olabileceğini göstermektedir. Yapıda $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$ ve $-\text{CH}$ bağlarının varlığı 2750-3000 cm^{-1} aralığında zayıf bir bant olarak gözlenmiştir. 3000 cm^{-1} 'in hemen altında gözlenen 2926.7 cm^{-1} dalga sayısındaki gerilme bandı, maserasyon oleoresinine kıyasla ultrasonik oleoresinde daha belirgin görülmüştür. Yapılan bir çalışmada hidrolize tanenler ve antosiyaninler gibi bileşikler içeren ekstraktların yapılarındaki karboksilik asitlere ait O-H gruplarının varlığından dolayı 2916-2918 cm^{-1} bantlarında gerilme titreşimleri oluşabileceğini ifade etmişlerdir (Nabih vd., 2023). Oleoresinlerin FT-IR spektrumları incelendiğinde 1200 ile 1500 cm^{-1} dalga sayıları arasında bağ deformasyonu gözlenmiştir. -OH ve -CH bağlarına ait olduğu düşünülen deforme titreşimlerin fenolik maddelerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. En keskin gerilme bandı 1709 cm^{-1} dalga sayısında oluşmuştur. Bu dalga sayısında SO_{ult} örneğine ait bantın $\text{SO}_{\text{M-ult}}$ örneğine kıyasla daha keskin şekilde olduğu gözlenirken, SO_{mik} ve $\text{SO}_{\text{M-mik}}$ arasında önemli bir farklılık gözlenmemektedir (Şekil 3.7). C=O (eter oksit) gerilme bantları genellikle 1700-1800 cm^{-1} aralığında keskin bir şekilde oluşmaktadır ve bunlar keton, karboksilik asit ve ester bağları ile ilişkili olabilmektedir. Bu bantlar, toplam yağların göstergesi olan yağ asitleri ve lipidlerden kaynaklanan ester bağları ile ilişkilendirilmiştir (Arachis vd., 2023). 1036 cm^{-1} dalga sayısında oluşan gerilme bandı fonksiyonel grupların C=N (amin) grubuna ait olup flavonoid gruplarından kaynaklı oluşabileceği ifade edilmiştir (Nabih vd., 2023). Bu dalga sayısında oluşan bant, ultrasonik oleoresinde, maserasyon oleoresinine kıyasla daha keskin bir şekilde gözlenmiştir (Şekil 3.6). 3000 cm^{-1} dalga sayısından daha yüksek dalga boylarında pikler giderek zayıflamıştır veya hiç görülmemiştir. Benzer sonuç zerdeçal oleoresini üzerine yapılan bir literatür çalışmasında gözlenmiştir ve bu durum karbonil grubuna ait güçlü hidrojen bağlarının parçalanması ve daha az yoğun bir bölgeye transferi ile açıklanmıştır. Ayrıca bu durumun oleoresinin yapısındaki konjugasyon azalmasından kaynaklı olabileceğini ifade etmişlerdir (Abdul vd., 2009).



Şekil 3.6. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin FT-IR spektrumları



Şekil 3.7. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin FT-IR spektrumları

* SO_{mik} : Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik} : Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult} : Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult} : Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

3.13. Sumak Oleoresinlerinin α - Glukozidaz Enzim İnhibisyon Sonuçları

Farklı gelişmiş ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen sumak oleoresinlerinin antidiyabetik aktivitesini belirleyebilmek için α -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesi in vitro olarak ölçülmüştür. Spektrofotometrik ölçümde, α -glukozidaz enzimi ve substratın (p-nitrofenil α -D-glukozid) 37 °C'deki reaksiyonu sonrası oluşan p-nitrofenil miktarı temel alınmıştır. Sonuçlar örneklerin %50 inhibisyon sergilediği konsantrasyon olan IC_{50} değeri ile ifade edilmiştir. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin sırasıyla enzim

inhibisyon aktivitelerini belirleyen IC50 değerleri $0.1398^a \pm 0.0044$ ve $0.1506^b \pm 0.0039$ mg/ml olarak bulunmuştur. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin enzim inhibisyonları ise sırası ile $0.1339^a \pm 0.0067$ ve $0.1646^b \pm 0.0058$ mg/ml IC50 değeri olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.14). Yenilikçi ekstraksiyon tekniklerinin, klasik ekstraksiyon tekniğine kıyasla sumak oleoresinin α -glukozidaz enzim inhibisyonu üzerinde olan etkisinin istatistiksel olarak daha önemli olduğu görülmüştür (Tablo 3.14). Ayrıca sumak oleoresin konsantrasyonu arttırıldıkça enzim inhibisyon oranında artış gözlenmiştir (Şekil 3.8 ve 3.9). Pozitif kontrol olarak akarboz kullanılmıştır ve akarboz inhibitörünün IC50 değeri 0.0983 mg/ml olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.14).

Tablo 3.14. Sumak oleoresinlerinin α -glukozidaz enzim inhibisyonu değerleri

Örnekler	α -glukozidaz inhibisyonu IC50 değeri (mg/ml)
SO_{ult}	$0.1398^a \pm 0.0044$
SO_{M-ult}	$0.1506^b \pm 0.0039$
SO_{mik}	$0.1339^a \pm 0.0067$
SO_{M-mik}	$0.1646^b \pm 0.0058$
Akarboz	0.0983 ± 0

SO_{mik} : Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik} : Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult} : Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult} : Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

Sumak oleoresinlerinin inhibisyon aktivitesi, güçlü bir glukozidaz enzim inhibitörü olan akarboza yakın değerlerde bulunmuştur. İnsanlarda ilaçların yan etkileri sebebi ile kullanımının endişe yaratması düşünüldüğünde sumak oleoresinlerinin, diyabet tedavisinde kullanılan glukozidaz inhibitör maddesi, akarboz bileşiğine güçlü bir alternatif olabileceğini göstermektedir.

Çin sumak ekstraktları üzerine yapılan bir çalışmada, etanolik ekstraktın enzim inhibisyonunu $0.68 \mu\text{g/ml}$ IC50 ve klinik α -glukozidaz enzim inhibitörü olan akarbozun inhibisyonunu $0.16 \mu\text{g/ml}$ IC50 değeri olarak bulmuşlardır. Ekstraktların çok yüksek enzim inhibisyonu sergilediğini belirtmişlerdir. Pozitif kontrol olarak kuersitrin kullanmışlardır ve enzim inhibisyonunu $146.30 \pm 8.78 \mu\text{g/ml}$ IC50 değeri olarak bulmuşlardır (Fu vd., 2022). Etanol ve sulu sumak ekstraktlarının α -glukozidaz üzerine

inhibiyon etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise ekstraktların IC50 değerini sırasıyla 14.7 µg/mL ve 15.7 µg/mL olarak hesaplamışlardır. Pozitif kontrol olarak kullandıkları akarboz enzim inhibitörünün IC50 değerini ise 22.80 µg/mL olarak bulmuşlardır (Tohma vd., 2019). Sumak meyveleri ve yapraklarından maserasyon tekniği ile %80 etanolde alınan ekstraktların andiyabetik aktivitesinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise meyve ekstraktlarının α-glukozidaz (*Bacillus stercophilous*'den elde edilen enzim kullanmışlardır) inhibisyon aktivitesini 56.480±1.342 IC50 (µg/ml) olarak belirtmişlerdir. Standart olarak kullandıkları akarbozun enzim aktivitesini ise 0.082±0.007 µg/ml IC50 olarak hesaplamışlardır (Gök vd., 2020). *Rhus chinensis* bitkisinden elde edilen etanol ekstraktı ve fenolik fraksiyonlarının α-glukozidaz enzimi üzerine etkisini araştırarak antidiyabetik aktivitesini incelemişlerdir. 1:10 katı/solvent oranında hazırlanan sumak karışımını %80 etanol ile ultrasonikle ekstrakte etmişlerdir. Daha sonra sırasıyla filtre ve konsantre edilen karışımı dondurarak kurutmuşlardır. Bu etanol ekstraktının glukozidaz enzimi üzerine inhibitör etkisini IC50 değeri 1.36±0.04 µg/mL ile farklı fenolik fraksiyonların inhibisyonlarını ise 27.65±1.38 ve 230.36±5.39 µg/mL IC50 değerleri ile belirtmişlerdir. Pozitif kontrol olarak kullandıkları akarbozun IC50 değerini ise 0.16±0.02 µg/mL olarak bulmuşlardır (Liu vd., 2021).

Bir başka yapılan çalışmada ise *Rhus mysorensis* bitkisinden izole edilen bazı önemli bileşiklerin (2-(3,4-dihydroxyphenyl)-hydroxy-4H-chromen-4-one ve 5, 6, 7-trihydroxy-2-phenyl-4Hchromen-4-one) glukozidaz ve amilaz gibi sindirim enzimleri üzerine inhibitör etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak çalıştıkları en yüksek konsantrasyon olan 150 µg/ml'de bileşiklerin enzim üzerine inhibisyonunu %60-70 arasında bulmuşlardır (Renuka vd., 2021). Bu tez çalışmasında, glukozidaz enzimi üzerine 170 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan sumak oleoresinlerinin inhibisyon değerleri %60 civarı bulunmuştur. Literatür sonuçları tez sonuçlarını destekler niteliktedir.

Myrcia spp. bitkisinden elde edilen glukozidaz ve amilaz enzim inhibitörlerinin andiyabetik ilaç olan akarboza bir alternatif olup olamayacağının araştırıldığı bir çalışmada ekstraktların ve akarboz inhibitörünün amilaz ve glukozidaz enzimlerini inhibe etme sonuçlarını IC50 değeri ile açıklamışlardır. Glukozidaz enzimi üzerine akarbozun inhibitör etkisini açıklayan IC50 değerini 356 µg/ml, farklı solventler ile

topladıkları ekstraktların IC50 değerlerini ise 5.8-142 µg/ml aralığında bulmuşlardır. Buldukları sonuçlar ile bitki ekstraktlarının akarboza karşı güçlü bir alternatif olabileceğini savunmuşlardır (Figueiredo-gonzález vd., 2016). Bizim çalışmamız da benzer şekilde sumak oleoresininin hiperglisemi de yaygın olarak kullanılan akarboza alternatif olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışmamız ayrıca, sumak oleoresini elde edilirken ultrason uygulamasının, elde edilen oleoresinin antidiyabetik etkisini arttırdığını ortaya koymaktadır. Bu durum, ultrason uygulamasının, sumak bitkisinden oleoresin elde edilirken, bitkide bulunan enzim inhibitörü etkisi gösteren bileşiklerin daha çok oleoresinin yapısına geçmesine neden olduğunu düşündürmektedir. Nitekim literatürde bulunan çalışmalarda sumak bitkisinin antidiyabetik etkisi daha önce belirlenmesine rağmen yaptığımız çalışma, sumak bitkisinden oleoresin üretimi sırasında, ultrason ve mikrodalga uygulamalarının kullanılmasının, elde edilen oleoresinin antidiyabetik etkisini arttırdığını ortaya koymaktadır.

Ultrason uygulaması neticesinde oluşan akustik kavitasyon sayesinde biyoaktif bileşiklerin, hücre duvarından geçişi artmaktadır (Leangnim vd., 2023). Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresinlerinin enzim inhibisyon aktivitelerinin yüksek olmasının, bu durum ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Nile vd. (2017) yaptıkları çalışmada *Hyssopus officinalis* L., *Origanum vulgare* L., ve *Portulaca oleracea* L. bitkilerinden gelişmiş ekstraksiyon teknikleri ile elde ettikleri ekstraktların antioksidan, antitümör ve enzim inhibisyon aktiviteleri gibi bazı biyoaktif özelliklerinin, klasik teknikle elde edilen ekstrakta kıyasla daha üstün olduğunu belirtmişlerdir.

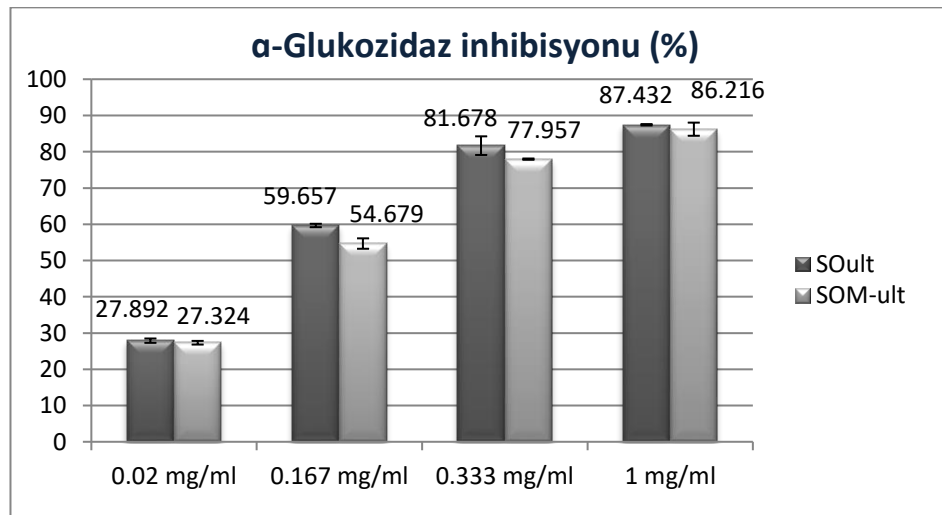
Yapılan bir başka çalışmada ise, mikrodalga uygulama ile ekstraksiyon işleminin, bazı biyoaktif maddeleri ekstrakte etmede, klasik tekniğe göre daha üstün olduğu belirtilmiştir. Bu durum üzerinde, O-H bağlarından oksijenin serbest kalmasını kolaylaştıran konfigürasyon değişiklikleri, daha yüksek çözünürlük, düşük molekül ağırlığı ve hücre membranlarından geçişin daha kolay olması gibi birçok faktörün etkili olabileceği açıklanmıştır (Mirzadeh vd., 2020).

Gazali vd. (2023) yaptıkları çalışmada yeşil deniz su yosunlarından elde ettikleri metanolik ekstraktların in vitro α-glukozidaz enzimi inhibitör aktivitesini 0.05±0.01

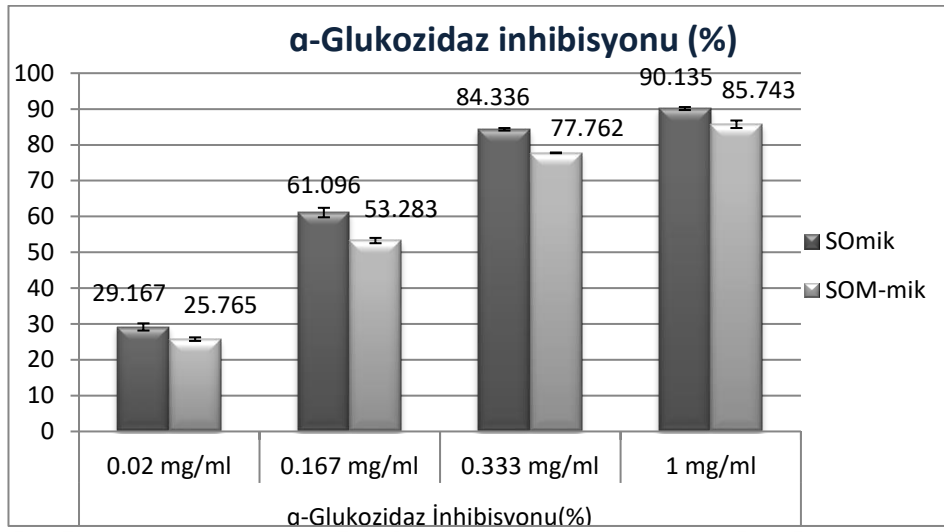
IC₅₀ (mg/ml), pozitif kontrol olarak kullandıkları akarbozun inhibitör aktivite değerini ise 0.27 ± 0.13 IC₅₀ (mg/ml) olarak bulmuşlardır. Buldukları sonuçlara dayanarak, ekstraktın içerisinde bulunan bileşiklerin (alkaloid, steroid ve flavonoidler gibi sekonder metabolitler) enzim inhibitör aktivite değerleri üzerinde çok önemli bir rol oynadığını vurgulamışlardır.

Yapılan bir başka literatür araştırmasında sumak bitkisinin atık materyali olan çekirdeklerin mikrodalga ve soğuk maserasyon teknikleri ile toplanan etanolik sulu ekstraktlarının α -glukozidaz enzim inhibisyonu değerleri sırası ile 108.49 ve 106.64 (mg akarboz eşdeğeri/g) olarak bulunmuştur. Mikrodalga ve klasik ekstraksiyon tekniklerinin çekirdek ekstraktının α -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesi üzerindeki etkisinin istatistiksel manada anlamsız olduğunu açıklamışlardır (Isikli vd., 2023). Bu tez çalışması kapsamında elde edilen sonuçlar göstermektedir ki sumağın kendi meyvesi, çekirdeğine kıyasla daha yüksek oranda α -glukozidaz enzim inhibisyon aktivitesine sahiptir.

Sumak bitkisinin metanolik ekstraktlarının glukoz intoleransı ve insülin duyarlılığı üzerine olan etkisinin in vivo olarak araştırıldığı bir çalışmada, sumak ekstraktı ile beslenen ratlarda glukoz toleransının gelişmesinde önemli bir gelişme kaydedildiğini belirtmişlerdir. İnsüline bağlı olmayan diyabet sorunu olan farelerde ise *Rhus coriaria* uygulamasının kayda değer şekilde insülin duyarlılık indeksini geliştirdiği açıklanmıştır. In vivo gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunda sumak (*Rhus coriaria*) bitkisinin andiyabetik özellikte olduğunu belirtmişlerdir (Hamdard, 2013).



Şekil 3.8. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin α -glukozidaz % enzim inhibisyonları



Şekil 3.9. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin α- glukozidaz % enzim inhibisyonları

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

**SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri ile SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri ayrı ayrı independent t-testi ile ikili karşılaştırılmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan sumak oleoresinlerinin amilaz ve glukozidaz inhibisyonlarının ortalama ve standart sapmaları grafikte verilmiştir. Her bir konsantrasyon serisinden elde edilen veriler grafik denkleminde yararlanılarak IC₅₀ değeri olarak ifade edilmiştir.

3.14. Sumak Oleoresinlerinin α-Amilaz Enzim İnhibisyon Sonuçları

Nişasta, su ve α-amilaz enzimi varlığında ingirgen gruplara (maltoz gibi) parçalanmaktadır. 3,5 dinitrosalisilik asitin, 3-amino-5 nitrosalisilik asite indirgenmesi ile turuncu-sarı renkten kırmızıya doğru renk değişimi meydana gelmektedir. Bu temele dayanarak spektrofotometrik okuma gerçekleştirilmiştir. α-amilaz enzim inhibitörü varlığında daha az maltozun oluşmasına bağlı olarak, okunan absorbans değerlerinde düşüş sergilenmiştir. Yaptığımız analizler neticesinde sumak (*Rhus coriaria* L.) oleoresinlerinin 10 mg/ml konsantrasyonu ile α-amilaz enzime karşı %80 civarı inhibisyon sağladığı gözlenmiştir. Pozitif kontrol olarak kullanılan akarboz inhibitörünün α-amilaz enzime karşı inhibisyonu 1.674 ± 0.672 IC₅₀ (mg/ml) olarak

hesaplanmıştır. SO_{M-mik} ve SO_{mik} örneklerinin IC_{50} (mg/ml) değerleri sırasıyla $3.738^b \pm 0.01$ ve $3.318^a \pm 0.074$ olarak bulunmuştur. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin α -amilaz inhibisyonu ise sırası ile $3.294^a \pm 0.013$ ve $3.433^b \pm 0.001$ IC_{50} değeri olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.15).

Oleoresinlerin sindirim mekanizması üzerinde etkili olan amilaz enzimi üzerine olan inhibisyon etkisi karşılaştırıldığında yakın değerler elde edilmesine rağmen ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniklerinin etkisi istatistiksel anlamda daha yüksek bulunmuştur. Pozitif kontrol olarak kullanılan akarboz inhibitörünün α -amilaz enzimi üzerine olan inhibisyon etkisi, sumak oleoresinlerinden yaklaşık 2 kat daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca tüm ekstraksiyon oleoresinlerinde konsantrasyon arttırıldıkça enzim inhibisyonunun da arttığı görülmüştür (Şekil 3.10 ve 3.11). Oleoresin konsantrasyonunun enzim inhibisyonu üzerinde etkili bir parametre olduğu görülmektedir.

Yapılan bir literatür çalışmasında 2 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan *Rhus coriaria* metanol ekstraktının amilaz enzimi üzerine $\%81.75 \pm 0.51$ inhibisyon gösterdiğini açıklanmıştır (Bashkin vd., 2021).

Tohma vd. (2019) çalışmalarında, maserasyon tekniği kullanarak 0.05 g/ml katı/solvent oranında etanol ve su ile aldıkları sumak (*Rhus coriaria* L.) ekstraktlarının antidiyabetik özelliklerini incelemişlerdir. Etanolik ve sulu ekstraktların α -amilaz enzim inhibisyon sonuçlarını sırası ile 7.14 ve 9.11 IC_{50} (mg/ml) değeri ile açıklamışlardır. Standart olarak kullandıkları akarboz kontrolünün α -amilaz enzim inhibisyon değerini ise 10.01 IC_{50} (mg/ml) olarak bulduklarını belirtmişlerdir.

Bitkilerin hipoglisemik etkisinin araştırıldığı bir çalışmada sumak (*Rhus coriaria*) bitkisinden 48 saat maserasyon tekniği ile elde ettikleri 250 μ g/ml ve 100 μ g/ml konsantrasyondaki metanolik ekstraktlarının α -amilaz enzim inhibisyon değerlerini sırasıyla $\%78.5$ ve $\%48.3$, aynı şekilde etil asetat ile aldıkları sumak ekstraktının 250 μ g/ml ve 100 μ g/ml konsantrasyonlarına ait amilaz enzim inhibisyonlarını ise $\%93.8$ ve $\%91.9$ olarak bulduklarını açıklamışlardır. Farklı konsantrasyonlara ait enzim inhibisyon değerlerinden hesapladıkları IC_{50} değerlerini ise metanolik ekstrakt için 105.6 μ g/ml, etil asetat ile alınan ekstarkt için 28.7 μ g/ml olarak belirtmişlerdir. Yapısındaki ana bileşenler olan hidrolize gallotanenler ile kuersitin, mirisitin ve

kamferol gibi flavonoid bileşiklerinin amilaz enzim inhibisyonundan sorumlu olduğunu belirtmişlerdir (Giancarlo vd., 2006).

Farklı türden bitkilerin antidiyabetik özelliklerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise *Rhus coriaria* bitkisinin metanolik ekstraktının amilaz enzimi üzerine inhibisyon değerini 1.78 IC₅₀ (mg/ml) değeri olarak bulmuşlardır (Bashkin vd., 2021).

IC₅₀ değeri ne kadar düşükse inhibisyon aktivitesi örneğin o kadar yüksek olmaktadır. Yeşil deniz su yosunu metanolik ekstraktlarının in vitro amilaz inhibisyon aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, amilaz inhibisyon aktivitesini 11.58±0.38 IC₅₀ değeri ile belirtirken, pozitif kontrol olarak kullandıkları akarbozun inhibisyon değerini ise 0.76 ±0.04 IC 50 (mg/ml) olarak ifade etmişlerdir. Ne kadar yüksek ekstrakt konsantrasyonu kullanılırsa α-amilaz enzimine karşı o kadar yüksek inhibitör aktivite sağlandığını ifade etmişlerdir. α-Amilaz enzimi üzerine en yüksek inhibitör aktivite değerini (%46.42±1) 10 mg/ml ekstrakt konsantrasyonu ile sağlarken, hazırladıkları 0.625 mg/ml konsantrasyondaki metanolik ekstraktın en düşük inhibitör aktivite (%17.10±1.51) sergilediğini belirtmişlerdir (Gazali vd., 2023). Benzer şekilde çalışmamızda sumak oleoresinlerinin stok solüsyonunda antidiyabetik etki daha yüksek gözlenirken, seyreltik solüsyonlara doğru antidiyabetik etkinin azaldığı görülmüştür (Şekil 3.10 ve 3. 11).

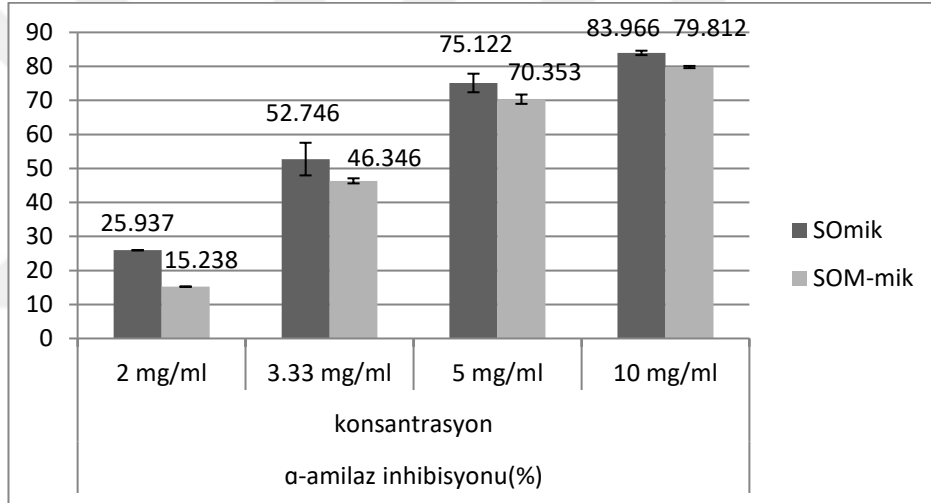
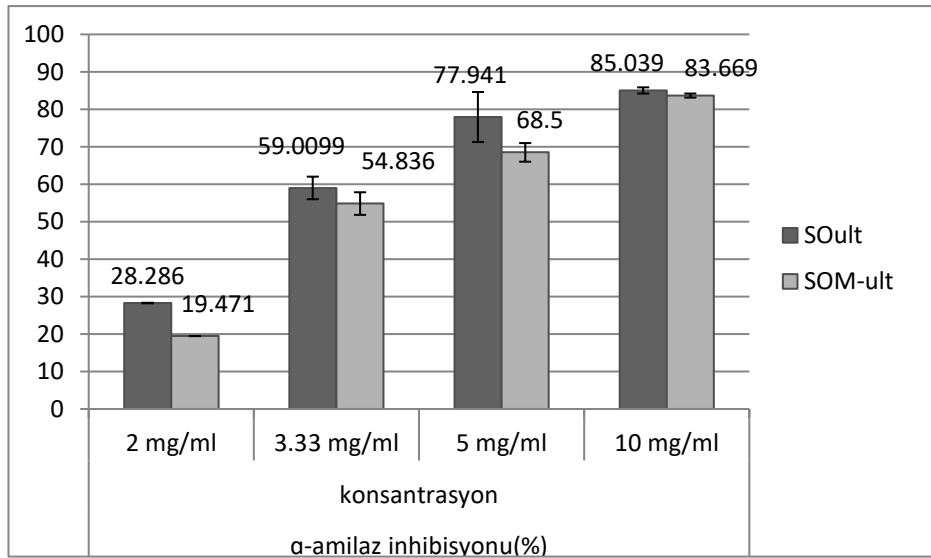
Sumak çekirdek ekstraktlarının α-amilaz enzim inhibisyon aktivitesinin araştırıldığı bir başka çalışmamızda ekstraktların amilaz enzimi üzerinde inhibe edici etkisi gözlenememiştir (Isikli vd., 2023). Bu tez çalışması kapsamında, sumağın kendi meyvesinden elde edilen oleoresinlerin ise amilaz enzimi üzerinde yüksek oranda inhibe edici etki gösterdiği görülmüştür.

Literatürde sumak oleoresinin α-amilaz enzim inhibisyonu gösterdiğine dair çalışmalar olmasına rağmen, yapılan bu tez çalışması, sumak oleoresini elde edilirken uygulanan mikrodalga ve ultrason uygulamalarının, oleoresinin α-amilaz enzim inhibisyonunu arttırdığını ortaya koymaktadır. Bu durumun, sumağın yapısında çokca bulunan ve α-amilaz enzim inhibisyonundan sorumlu olan hidrolize gallotanninler ile kuersitin, mirisitin ve kamferol gibi flavonoid bileşiklerin (Giancarlo vd., 2006) ekstraksiyonunun, söz konusu uygulamalar sayesinde artmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Tablo 3.15. Sumak oleroesin örneklerinin α -amilaz enzim inhibisyonu değerleri

Örnekler	α -amilaz inhibisyonu IC50 değeri (mg/ml)
SO _{ult}	3.294 ^a ±0.013
SO _{M-ult}	3.433 ^b ±0.001
SO _{mik}	3.318 ^a ±0.074
SO _{M-mik}	3.738 ^b ±0.01
Akarboz	1.674±0.672

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

Şekil 3.10. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin % α -amilaz enzim inhibisyonlarıŞekil 3.11. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin % α -amilaz enzim inhibisyonları

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

**SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri ile SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri ayrı ayrı independent t-testi ile ikili karşılaştırılmıştır.

3.15. Sumak Oleoresinlerinin Pankreatik Lipaz Enzim inhibisyon Sonuçları

Substrat olarak kullanılan p-nitrofenol palmitat, pankreatik lipaz enzimi tarafından p-nitrofenole hidrolize edilmiştir. Enzim inhibitörü varlığında, azalan p-nitrofenil miktarı temel alınarak sumak oleoresinlerinin enzim inhibisyon değerleri hesaplanmıştır.

Çalışmamız sonucunda, SO_{ult} örneğinin pankreatik lipaz enzimi üzerine inhibisyonu $5.953^a \pm 0.029$ IC₅₀ (mg/ml), SO_{M-ult} örneğinin pankreatik lipaz enzimine karşı inhibisyonu ise $7.036^b \pm 0.098$ IC₅₀ (mg/ml) değeri olarak bulunmuştur (Tablo 3. 16). İki tekniğin pankreatik lipaz enzimi üzerine olan inhibisyon etkisi arasındaki farklılık istatistiksel seviyede anlamlı ($p < 0.05$) bulunmuştur. Yenilikçi ekstraksiyon tekniği olan ultrason yönteminin maserasyona kıyasla pankreatik enzim inhibisyonuna karşı daha etkili olduğu görülmüştür. SO_{mik} örneğinin pankreatik lipaz enzimi üzerine olan inhibitör aktivitesi $6.0587^a \pm 0.168$ IC₅₀ (mg/ml) değeri olarak hesaplanmıştır. SO_{M-mik} örneğinin pankreatik lipaz inhibisyonunu açıklayan IC₅₀ (mg/ml) değeri ise $7.503^b \pm 0.164$ olarak bulunmuştur (Tablo 3.16). Mikrodalga ve maserasyon teknikleri kıyaslandığında ise mikrodalga ekstraksiyon yönteminin pankreatik lipaz enzimi üzerine inhibisyon etkisinin istatistiksel anlamda daha yüksek olduğu görülmüştür. Pozitif kontrol olarak kullanılan orlistat ilacının inhibisyon aktivitesi 0.6381 IC₅₀ (µg/ml) değeri olarak hesaplanmıştır. Obezite kontrolünde kullanılan, orlistat ilacının çok güçlü inhibitör etki sergilediği, sumak oleoresinlerinin ise pankreatik lipaz enzimi üzerinde etkisi belirlenmesine rağmen orlistat ilacı kadar etkili olmadığı görülmüştür.

Tablo 3.16. Sumak oleoresinlerinin pankreatik lipaz enzim inhibisyonu değerleri

Örnekler	Pankreatik lipaz inhibisyonu IC 50 değeri (mg/ml)
SO _{ult}	5.953 ^a ±0.029
SO _{M-ult}	7.036 ^b ±0.098
SO _{mik}	6.0587 ^a ±0.168
SO _{M-mik}	7.503 ^b ± 0.164
Orlistat	0.6381±0 (µg/ml)

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

Yapılan bir çalışmada sumak (*Rhus coriaria*) bitkisinin meyve ve yapraklarından maserasyon ekstraksiyonu (%80 etanol) ile izole ettikleri bazı bileşenlerin pankreatik lipaz inhibisyon etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak sırasıyla meyve ve yaprak ekstraktlarının inhibisyonlarını 157.50±5.46 ve 107.93±3.04 µg/ml IC50 değeri ile belirtmişlerdir (Gök vd., 2020).

Sumak bitkisinin obezite üzerindeki etkisinin araştırıldığı klinik bir çalışmada depresyonlu obezite kadınlara sumak (*Rhus coriaria*) takviyesi ile birlikte azaltılmış kalorili diyet uygulanmıştır ve ölçümleri kaydedilmiştir. Çalışmanın sonunda sumak takviyesi alan kadınlar, plasebo grubu ile karşılaştırıldığında vücut kitle indeksleri, vücut yağ ve malondialdehit seviyelerinin önemli seviyede azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca sumak bitkisinin, ölçümler üzerindeki olumlu sonuçlarını göz önüne alarak içerdiği fenolik maddeler sayesinde sumak meyvesinin antiobezite yetenek sergiyebileceğini hatta bu polifenolik bileşiklerin oksidatif stresi engelleme üzerinde de etkili olarak depresyonun önlenmesinde kullanılabileceğini açıklamışlardır. Yaptıkları analizler neticesinde, sumak bitkisinin en yüksek orana sahip major polifenol bileşiğinin gallik asit (49.94 mg/g) olduğunu belirtmişlerdir (Hariri vd., 2020).

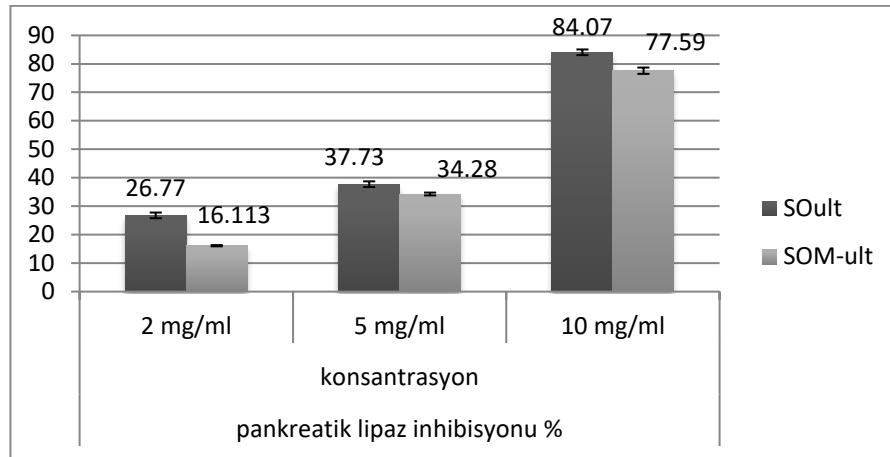
Gerçekleştirilen bir tez çalışmasında *Rhus coriaria* bitkisinin meyve ve yapraklarından elde ettikleri farklı konsantrasyonda hazırlanan %80 etanolik ekstraktların pankreatik lipaz enzim inhibisyon değerlerini açıklamışlardır. 200 µg/ml ve 100 µg/ml

konsantrasyonlarda hazırladıkları meyve ekstraktlarının lipaz enzim inhibisyonu değerlerini sırası ile %61.56 ve %28.72 olarak belirlemişlerdir. 50 µg/ml konsantrasyonda ise inhibisyon etkisi gözlenemediğini ifade etmişlerdir (Ekin H. N., 2018).

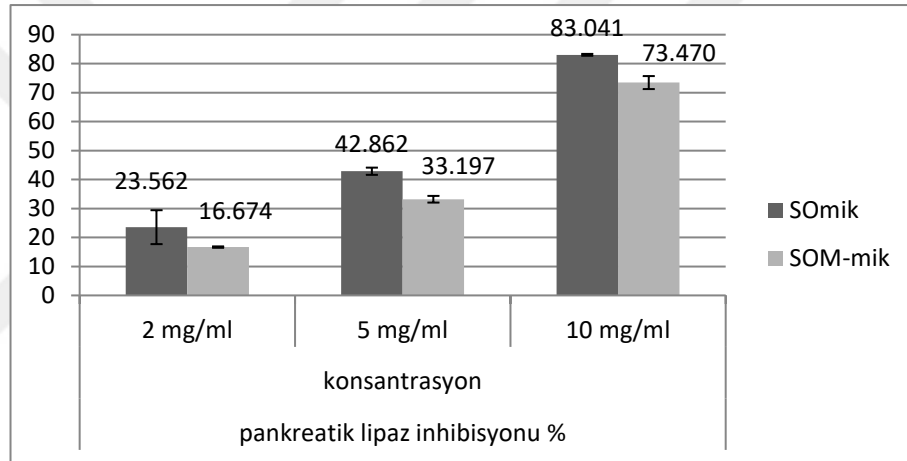
Çalışmamızdaki sonuçlar göz önüne alındığında, sumak oleoresinlerinin pankreatik lipaz enzimi inhibisyonu üzerinde konsantrasyonun çok önemli bir parametre olduğu, sumak oleoresin konsantrasyonunun artması ile pankreatik lipaz inhibitör etkinin de arttığı gözlenmiştir (Şekil 3.12 ve 3.13). Belli bir noktadan sonra düşük konsantrasyonlarda denemeler gerçekleştirildiğinde, inhibisyon etkisi gözlenmemiştir. Literatür çalışmalarında belli konsantrasyonlarda hazırlanan sumak ekstraktlarının farklı inhibisyon etkisi göstermesinin, ekstraksiyon şartlarından, sumak materyali ile ilgili farklılıklardan ve analiz aşamasından (farklı bir metot ya da substrat kullanılması vb.) kaynaklı oluşabileceği sonucuna varılmıştır.

Sumak bitkisinin atık materyali olan çekirdeklerinde yapılan bir araştırmada ise sumak çekirdeklerinin etanolik sulu ekstraktında pankreatik lipaz inhibisyon aktivitesinin belirlenemediği ifade edilmiştir (Isikli vd., 2023). Çekirdeklerinde bu etki gözlenmemişken, yaptığımız bu tez çalışmasındaki analizler neticesinde, sumak meyvesinde pankreatik lipaz inhibe edici etki saptanmıştır. Sumak oleoresinlerinin pankreatik lipaz inhibisyon özelliği göstermesinin, içerdiği polifenolik maddeler ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Sumak bitkisinden maserasyon tekniği ile elde edilen ekstraktların pankreatik lipaz inhibisyonuna dair araştırmalar literatürde mevcut olmasına rağmen *Rhus coriaria* cinsinden, mikrodalga ve ultrason gibi yenilikçi ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen oleoresinlerin lipaz inhibe edici etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya daha önce rastlanmamıştır.



Şekil 3.12. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin pankreatik lipaz % enzim inhibisyonları



Şekil 3.13. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin pankreatik lipaz % enzim inhibisyonları

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

**SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri ile SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri ayrı ayrı independent t-testi ile ikili karşılaştırılmıştır.

3.16. Sumak Oleoresinlerinin In vitro Antitrombotik Aktivite Sonuçları

37°C'de kalsiyum içeren ortamda trombin enzimi ve fibrinojen reaksiyonu ile fibrin polimerizasyonu gerçekleşmiştir ve buna bağlı olarak fibrin (pıhtı) oluşumu gözlenmiştir. Enzim inhibitörü içeren solüsyonlarda inhibitör miktarına bağlı olarak pıhtı oluşumu zayıflamış ya da hiç gözlenmemiştir. 2000 µg/ml ve 1000 µg/ml konsantrasyonlarda hazırlanan sumak oleoresinlerinin pıhtı oluşumunu katalizleyen

trombin enzim inhibisyonları spektrofotometrik olarak ölçülerek hesaplanmıştır. Daha düşük oleoresin konsantrasyonlarında çalışmalar gerçekleştirilmiştir fakat sumak oleoresinlerinin düşük dozlarında antitrombotik etkisi gözlenmemiştir. Sonuç alınan konsantrasyonlardan daha yüksek dozlardaki sumak oleoresin ekstraktları ile çalışıldığında ise sumak oleoresinin baskın kırmızı renginden ötürü spektrofotometrik çalışma gerçekleştirilememiştir. 1000 ve 2000 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda hazırlanan sumak oleoresinlerinin pıhtı oluşumunu önleme üzerine olan etkisi hem spektrofotometrik okuma ile hesaplanmış hem de gözlemlenerek pıhtı oluşumları fotoğraflanmıştır. Öncelikle analizlere trombin ve fibrinojen solüsyonları içeren karışımda, fibrin pıhtı oluşumunun elde edilmesi ile başlanmıştır (Şekil 3.14). Daha sonra sumak oleoresinlerinin bu fibrin pıhtılarının oluşumunu önleme yetenekleri ölçülmüştür. Tam bir fibrin pıhtı oluşumu için gerekli olan minimum süreden (20 dakika) daha az sürelerde pıhtı oluşumunun gerçekleştiği fakat fibrin koagülasyon olayı tamamlanmadığı için ağ yapısının oluşmadığı gözlenmiştir (Şekil 3.15). En yüksek konsantrasyonda (2000 $\mu\text{g/ml}$) hazırlanan SO_{ult} örneğinin fibrin koagülasyon inhibisyonu %55.261 olarak belirlenmiştir. $\text{SO}_{\text{M-ult}}$ örneğinin inhibisyon etkisi ise %48.511 bulunmuştur (Tablo 3.17). Aynı konsantrasyonlarda (2000 $\mu\text{g/ml}$) hazırlanan SO_{mik} ve $\text{SO}_{\text{M-mik}}$ örneklerinin fibrin pıhtı inhibisyon değerleri ise sırasıyla %52.928 ve %47.744 olarak bulunmuştur (Tablo 3.17).

Tüm ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen oleoresinlerde, antitrombotik etki elde edilse de fibrin pıhtı yapısının oluşumunun engellenmesi üzerinde yenilikçi ekstraksiyon teknikleri olan ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemlerinin maserasyon tekniğine kıyasla istatistiksel olarak daha etkili oldukları görülmüştür. Farklı ekstraksiyon koşulları ile alınan sumak oleoresinlerinin hepsinde konsantrasyon artışına bağlı olarak fibrin koagülasyonuna engel olduğu, antitrombotik etki sergilediği gözlenmiştir (Şekil 3.14, Şekil 3.15, Şekil 3.17, Şekil 3.18, Şekil 3.19). Sumak oleoresinlerinin, farmasötik olarak kullanılan, kan pıhtılaşmasını engelleyici bir ilaç olan heparin ilacına kıyasla, trombin enzimi üzerinde daha düşük inhibisyon etki gösterdiği saptanmıştır. Heparin ilacı eklenen karışımlarda pıhtı oluşumu gözlenmemiştir. Bu durum heparin ilacının fibrin pıhtı koagülasyonunu % 100 engellediğini göstermektedir (Şekil 3.20).

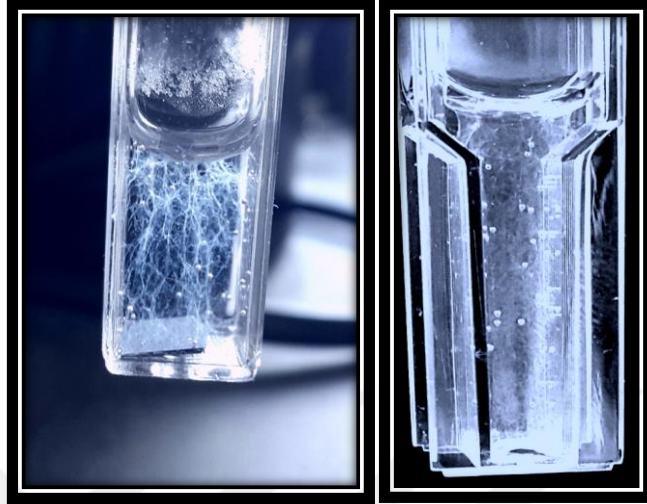
Örnek içermeyen negatif kontrolde sağlanan pıhtı görüntüsünün atomik güç mikroskopisinde 50 µm yakınlştırılmış dijital görüntüsü alınmıştır (Şekil 3.21). Elde edilen pıhtı görüntüsü literatür (Abou-saleh vd., 2017) ile benzerlik göstermektedir. Bu sonuçlar fibrinojen ve trombin enzimi içeren solüsyonda, fibrin koagülasyonunun gerçekleşmesini başardığımızı kanıtlamaktadır.

Farklı materyal gruplarında çalışmalar yapılsa da daha önce sumak (*Rhus coriaria*) bitki ekstraktının antitrombotik etkisinin araştırıldığı bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

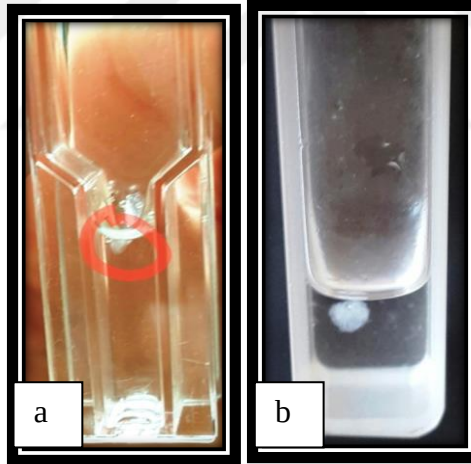
Literatürde yapılan bir çalışmada spirulina ekstraktlarının antitrombotik özellikleri araştırılmış ve spirulina ekstraktının pıhtı kümeleşmesini katalizleyen trombin enzimi üzerine güçlü inhibitör etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Farklı konsantrasyonlardaki ekstraktların trombin enzim inhibisyonlarını %20-80 aralığında bulmuşlar ve sonuçları pıhtı kümeleşmesinin %50'sine engel olan konsantrasyonu ifade eden IC50 değeri olarak ifade etmişlerdir. Trombin enzim inhibisyon sonuçlarını 126-137 µg/250 ml aralığında bulmuşlardır (Koukouraki vd., 2020).

Antitrombotik aktivite üzerine gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise bilimsel adı *Aronia Melonacarpa* olan aronya meyvesi (Black Chokeberry) ve üzüm çekirdeklerinden elde ettikleri polifenol ekstraktlarının antitrombin etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri ekstraktların trombin kaynaklı fibrin polimerizasyonunu hesaplamışlardır. Trombin enzimini farklı konsantrasyonlarda (0.5, 5, and 50 mg/mL) hazırlanan ekstraktlar ile ön inkübasyona (37°C-10 dakika) bırakmışlardır. Fibrin polimerizasyonunu spektrofotometrik olarak gözlemlemişlerdir. Sonuçları trombin kaynaklı fibrin polimerizasyon oranı (Vmax %) olarak ifade etmişlerdir. Aronya meyve ekstraktlarının farklı dozlara ait (0.5, 5, and 50 mg/mL) sonuçlarını sırası ile %82.26-%13.34-%1.46 olarak bulmuşlardır. Üzüm çekirdeği ekstraktlarının antitrombin aktivite sonuçlarını ise örnek konsantrasyonuna (0.5, 5, and 50 mg/mL) bağlı olarak sırası ile %71.71-%10.31-%1.24 olarak belirtmişlerdir. Trombin kaynaklı fibrin polimerizasyon hızının örnek doz artışına bağlı bir şekilde azaldığını ve ekstraktların trombinin proteolitik aktivitesi üzerine inhibitör etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ayrıca bütün ekstraktların yüksek konsantrasyonlarında tam bir trombin inhibisyonu sergilediğini belirtmişlerdir (Bijak vd., 2013). Bizim çalışma sonuçlarımız da göstermektedir ki;

oleoresinlerin fibrin koagülasyonunu inhibe etme özelliği konsantrasyona bağlı olarak artmıştır.



Şekil 3.14. 20 dakika sonunda örnek içermeyen solüsyonda oluşan pıhtı görüntüleri (Negatif Kontrol)



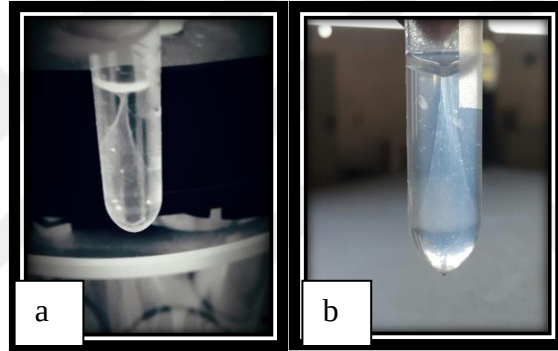
Şekil 3.15. Fibrinojen polimerizasyon işleminin tam olarak tamamlanamadığı zamanda oluşan pıhtı görüntüleri

* örnek ve ya heparin ilacı içermeyen solüsyonlar

**a) 5 dakika sonrasında oluşan pıhtı b)10 dakika sonrasında oluşan pıhtı

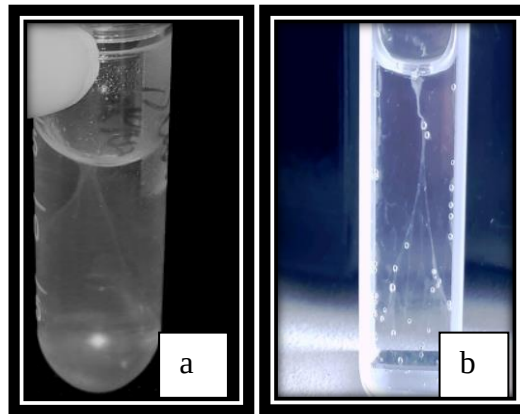


Şekil 3.16. Oluşan fibrin yapısının tampon çözeltisi döküldükten sonraki görüntüsü



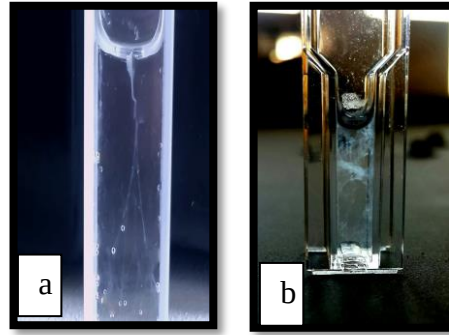
Şekil 3.17. SO_{M-ult} örneğini içeren solüsyonlarda oluşan pıhtı görüntüleri

*a) 2000 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda sumak oleoresini b) 1000 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda sumak oleoresini



Şekil 3.18. SO_{ult} örneğini içeren solüsyonlarda oluşan pıhtı görüntüleri

*a) 2000 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda sumak oleoresini b) 1000 $\mu\text{g/ml}$ konsantrasyonda sumak oleoresini



Şekil 3.19. SO_{mik} içeren solüsyonlarda 20 dakika sonunda oluşan pıhtı görüntüleri

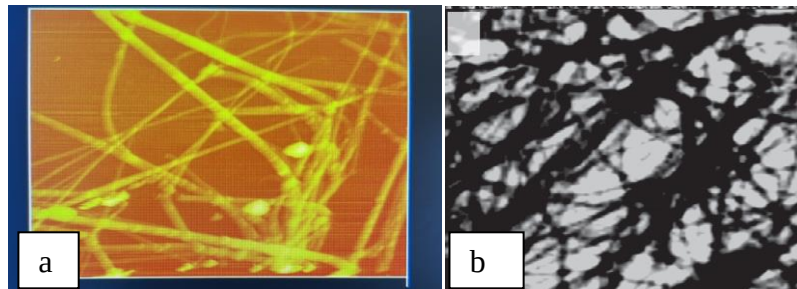
*a) 2000 µg/ml konsantrasyonda sumak oleoresini b) 1000 µg/ml konsantrasyonda sumak oleoresini



Şekil 3.20. 2000 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan heparin ilacının eklendiği solüsyonun 20 dakika sonundaki görüntüsü

* pıhtı oluşumu gözlenmedi

**pozitif kontrol solüsyonu



Şekil 3.21. 20 dakika sonunda sağlanan pıhtının AFM görüntüsü

*a) Çalışmamızda 20 dakika sonunda sağlanan fibrin pıhtısının AFM görüntüsü (50 µm görüntüden dijital yakınlaştırma)

b) Literatürde 20 dakika sonunda sağlanan fibrin pıhtısının AFM görüntüsü (50 µm görüntüden dijital yakınlaştırma) (Abou-saleh vd., 2017)

Tablo 3.17. Sumak oleoresin örneklerinin fibrin polimerizasyon inhibisyon değerleri (%)

Fibrin polimerizasyon inhibisyonu (%)		
Sumak oleoresin	2000 µg/ml konsantrasyon	1000 µg/ml konsantrasyon
SO _{mik}	52.928 ^b ±2.420	16.642 ^b ±0.966
SO _{M-mik}	47.744 ^a ±1.733	13.342 ^a ±1.380
SO _{ult}	55.261 ^b ±2.318	18.742 ^b ±0.780
SO _{M-ult}	48.511 ^a ±1.659	16.676 ^a ±0.654
Heparin	100±0	99.98±1.225

*Örneklerin trombin enziminin katalizlediği fibrin polimerizasyonunu inhibe etme kapasiteleri % olarak belirtilmiştir. Kan pıhtılaşmasını engelleyici ilaç olarak kullanılan heparin ise pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Örneklerin kan pıhtılaşma mekanizmasını engelleyici faaliyetlerinin oranı heparin ilacıyla kıyaslanmıştır. Veriler 3 tekerrürlü gerçekleştirilmiş olup sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak belirtilmiştir.

**SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

Pıhtılaşma mekanizmasını önlemede kullanılan konsantrasyonun etkili bir faktör olduğu görülmüştür. Sumak oleoresinlerinin doza bağlı olarak fibrin pıhtı oluşumunu önleme yeteneklerinin arttığı gözlenmiştir. Yenilikçi ve klasik ekstraksiyon tekniğinin kan pıhtılaşma mekanizması üzerindeki etkisi incelendiğinde kullanılan farklı ekstraksiyon yöntemlerinin oleoresinlerin pıhtı oluşumunu önleme üzerindeki etkisi independent t-testine göre istatistiksek olarak anlamlı ($p<0.05$) bulunmuştur (Tablo 3.17).

Epidemiyolojik çalışmalar göstermektedir ki flavonoid tüketimine dayalı beslenme stili ile Covid-19 ve trombotik hastalık risklerinin düşük olması ilişkilidir. Flavonoid bileşiklerinin in vivo ve in vitro antitrombotik etkileri yapılan literatür çalışmaları ile desteklenmektedir (Pablo ve Martínez, 2023). Bu çıkarımlara dayanarak çeşitli flavonoid bileşikleri yapısında çokca bulundurmasından dolayı (%30.89) (Ardalani, vd., (2015), sumak oleoresininin antitrombotik etki sergilediği düşünülmektedir.

Ultrason ve mikrodalga uygulamalarının, sumak oleoresinlerinin fenolik miktarlarını artıran yöntemler olduğu dikkate alındığında, bu yöntemlerle elde edilen sumak oleoresinlerinin daha yüksek antitrombotik etki göstermesi beklenen bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır.

3.17. Sumak Oleoresinlerinin Antikanser Aktivite Sonuçları

Sumak oleoresinlerinin 24 ve 48 saatlerdeki Colo 205 kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri, öncelikle hazırlanan logaritmik dozlarda değerlendirilmiştir. Çalışmalar 3 tekrarlı ve 7 seri dilüsyon (20-10-5-2.5-1.25-0.625- 0.312 mg/ml) şeklinde gerçekleştirilmiştir. Farklı dilüsyonlardaki ekstraktların % hücre canlılığı sonuçları grafiğe aktararak hesaplanmıştır ve kolon kanser hücresi üzerine olan etkileri, kanser hücrelerinin %50'sinin öldüğü konsantrasyon (mg/ml) olan IC50 değeri olarak belirtilmiştir (Tablo 3.18).

Sonuçlar incelendiğinde SO_{M-ult} örneğinin, Colo-205 kanser hücresine olan öldürücü etkisi ilk 24 saatte belirlenememiş iken 48 saatin sonunda öldürücü etkisinin var olduğu görülmüştür. SO_{ult} örneğine ait sonuçlarda ise ilk 24 saatte kolon kanser hücresine olan öldürücü etki yüksek olmamakla birlikte, 48 saatin sonunda hücre canlılığı üzerine olan etkisi artmıştır. 48 saat sonunda iki oleoresin ekstraktının da kolon kanser hücre canlılığı üzerine olan etkisi eşitlenmiştir. 48 saat dilimi sonunda iki oleoresinin kolon kanser hücresi üzerine olan sitotoksik etkisi değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür ($p < 0.05$). SO_{M-ult} örneğinin kolon kanser hücre hattında 48 saat sonundaki etkisi incelendiğinde, 1.25 mg/ml konsantrasyonda en yüksek öldürücü etki gösterdiği görülmüştür. Sumak oleoresini yüksek dozlarında apoptosis etki yerine zıt etki göstererek, hücrelerin gelişimini teşvik etmiştir (Şekil 3.22). Polifenolik maddelerden birisi olan ve birçok bitkide bulunan kuersetin bileşiğinin, düşük dozlarda antikanser aktivite sergilediği, ancak yüksek dozlarda pro-oksidan gibi davranarak kemoterapötik etki göstererek negatif etkiye sebep olabileceği belirtilmiştir (Bhosale vd., 2020). Bulduğumuz analiz sonuçları da bu hipotez ile uyumlu şekilde olup destekler özelliktedir. Bu nedenle bitki materyalinin kullanılan dozu kanser hücrelerinin inhibisyon oranında önemli rol oynamaktadır. Ultrasonik sumak oleoresini (SO_{ult}) incelendiğinde ise, maserasyonda (SO_{M-ult}) olduğu gibi konsantrasyona bağlı hücre canlılığı (%) doğrusal bir değişiklik oluşturmamıştır. 48 saat sonundaki sitotoksikolojik etkisi incelendiğinde, en düşük hücre canlılığı 1.25 mg/ml konsantrasyonda gözlenmiştir. 10 ve 20 mg/ml konsantrasyonlarda ise % hücre ölümü hesaplanamamıştır.

SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin Colo-205 kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksikolojik etkileri incelendiğinde; yine aynı şekilde 48 saat sonrasında kanserli hücre ölümü

üzerindeki etkinin arttığı gözlenmiştir. Mikrodalga (SO_{mik}) ve maserasyon (SO_{M-mik}) yoluyla ekstraksiyon teknikleri karşılaştırıldığında 48 saat sonunda kanser hücresi üzerindeki etkilerinin istatistiksel manada farklılık oluşturmadığı görülmüştür ($p<0.05$). SO_{M-mik} örneğinin inkübasyon süresi 24 saatten 48 saate arttırıldığında, hücre canlılığı sabit kalmıştır. SO_{mik} örneğinde ise 24 saat sonundaki hücre ölümü ile 48 saat sonundaki hücre ölümü kıyaslandığında, etkinin artmış olduğu görülmektedir. 48 saat sonunda SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin kanserli hücrelerin yarısının yok olmasını sağlayan konsantrasyon değerini ifade eden IC 50 değerleri sırasıyla 5.93 ve 5.19 mg/ml olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.18). 24 saat sonrasında SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin her ikisinde de 1.25 mg/ml konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı gözlenmiştir. Yine aynı şekilde 48 saat dilimi sonunda, 1.25 mg/ml konsantrasyonda en düşük hücre canlılığı gözlenirken daha yüksek konsantrasyonlarda zıt etki gözlenmiştir. 2.5 mg/ml konsantrasyonun üzerine çıkıldığında, sumak oleoresinlerinin kanser hücreleri üzerinde öldürücü etki göstermek yerine, tersi etki göstererek kanserli hücrelerin gelişimini teşvik ettiği görülmüştür (Şekil 3.23). IC50 hesaplamalarında R^2 değerini düşürdüğü (denklemin doğruluğunu azalttığı) için 2.5 mg/ml konsantrasyon üzerindeki değerler hesaplamaya dahil edilmemiştir. Tüm bulunan sonuçlar değerlendirildiğinde ortak varılan nokta şudur ki sumak oleoresin ekstraktının kanserli hücre üzerindeki apoptozis etkisi, oleoresin dozuna bağlı olarak farklılık sergilemektedir.

Literatürde, sumak ekstraktının kolon kanser hücresi üzerine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, kolon kanser hücre hattı olarak HT-29 kullanılmıştır. Tohma vd. (2019), klasik ekstraksiyon yöntemiyle ayrı ayrı su ve etanol ile alınan sumak ekstraktlarının kolon kanser hücresi üzerine olan sitotoksik etkisini, IC50 değeri ile belirtmişlerdir. 24 saat sonunda sulu ekstraktın IC50 (mg/ml) değerini 2.050, etanol ekstraktının IC50 (mg/ml) değerini ise 11.310 olarak bulmuşlardır. Bizim bu tez kapsamındaki araştırmamızda ise, Colo 205 kolon kanser hücresi üzerine sulu etanolik sumak oleoresinlerin apoptozis etkisi literatürdeki etanol ekstraktlarına ait sonuçlara kıyasla daha yüksek bulunmuştur. MCF-7, PC-3 ve SKOV3 sırasıyla meme, prostat ve yumurtalık kanser hücre hatlarında çalışılan bir başka çalışmada ise, sumak etanol ekstraktlarının bu kanser hücrelerine olan apoptozis etkisi araştırılmıştır. 10, 25, 50 ve 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında hazırladıkları sumak ekstraktlarının 3 kanser hücresi üzerinde de öldürücü etkisinin doza bağlı olarak arttığını ifade etmişlerdir. 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda MCF-7 ve PC-3 kanser hücrelerinin yaklaşık yarısının, SKOV3 kanser

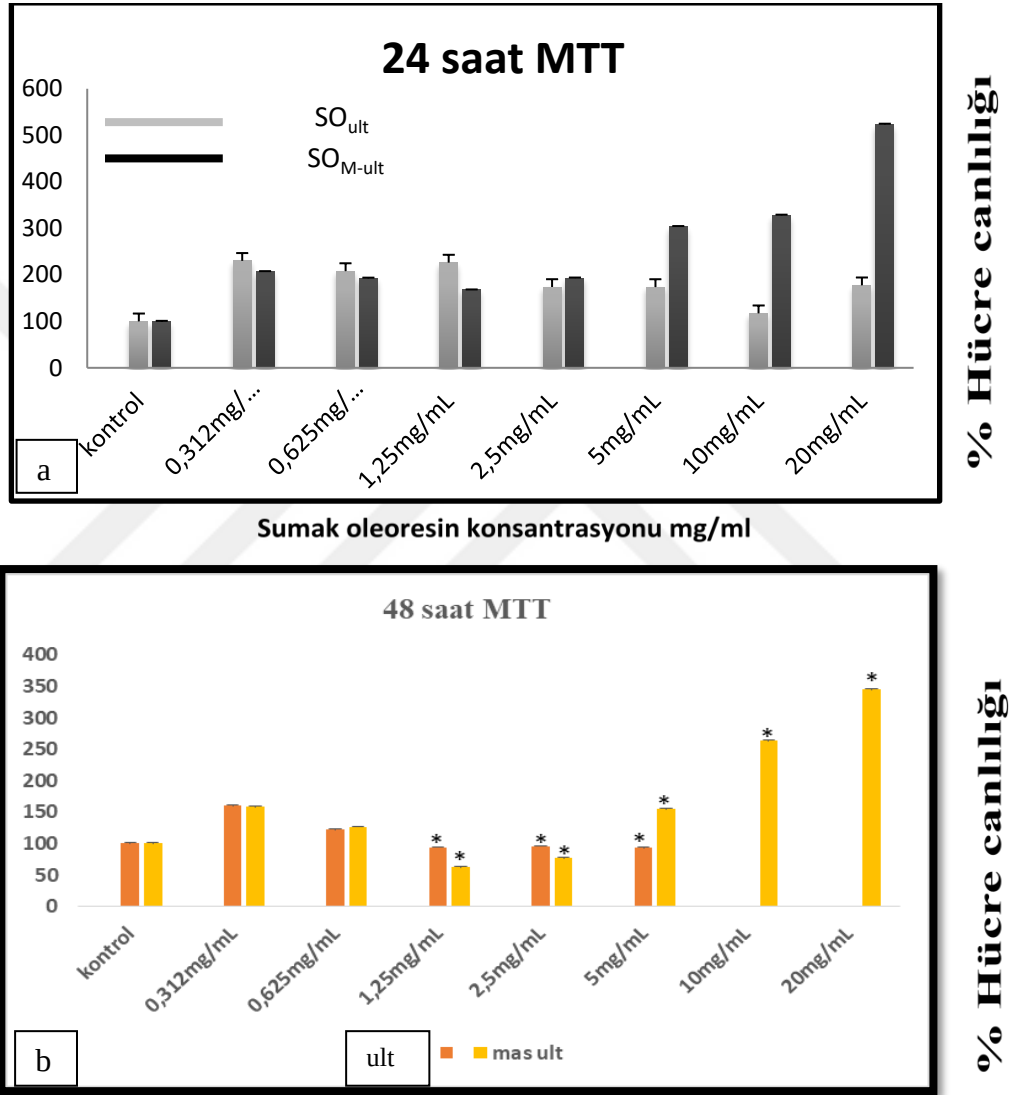
hücrelerinin ise yarısından daha fazlasının 24 saat sonunda canlılığını kaybettiğini raporlamışlardır (Gabr ve Alghadir, 2021).

Yapılan bir başka çalışmada ise *Rhus coriaria*, *Pistacia vera* ve *Pistacia khinjuk* bitkilerinden elde edilen metanolik ekstraktlarının antianjiojenik etkilerini in vitro olarak araştırmışlardır. Yeni kan damarlarının oluşumu ve ya büyümesi olarak bilinen anjiogenez, kanser gibi bazı hastalıklarda önemli rol oynamaktadır. Bu nedenle kanser tedavisinde antianjiojenik uygulamalar önemlidir. İnsan endotel normal hücre hattı (HUVEC) ile kanserli hücre hattı (Y79) üzerinde MTT sitotoksikite metodu ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında, hücreleri farklı dozlarda bitki oleoresin ekstraktları ile 24 saat inkübe etmişlerdir. *Rhus coriaria* ekstraktının diğer bitki ekstraktlarına kıyasla daha yüksek antianjiojenik ve sitotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. *Rhus coriaria* ekstraktının antikanser analiz sonucunu HUVEC hücre hattı için 43 ± 3.4 , Y79 retinoblastom (göz içi tümörü) hücre hattı için ise 9.1 ± 1.6 IC₅₀ ($\mu\text{g/ml}$) değerleri ile açıklamışlardır. Buldukları analiz sonuçları neticesinde, bitki ekstraktı konsantrasyonu artırıldıkça, yaşayan kanserli hücre sayısının azaldığını belirtmişlerdir. *Rhus coriaria* oleoresin ekstraktının antianjiojenik ve sitotoksik etkisinden major esansiyel yağ bileşeni olarak belirttikleri α -pinen ve β -pinen bileşenlerinin sorumlu olabileceğini ifade etmişlerdir (Mirian vd., 2015).

Sumak bitkisinin kanser üzerine olan etkisi; kanser tipi ve kanser tiplerine ait çalışılan hücre hatlarına göre farklılık gösterebilmektedir. Ayrıca kullanılan ekstraksiyon tekniği, ekstraksiyon solventi, sumağın cinsi, yetiştirme koşulları ve hasat zamanı gibi birçok faktöre bağlı olarak ekstraktların antikanser sonuçlarının değişiklik gösterebileceği düşünülmektedir.

Sumak bitkisinde bulunan polifenolik maddeler gibi doğal biyoaktif bileşenlerin kanser hücrelerini öldürme üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Biyoaktif bileşiklerin birçoğunun antikanser özellik sergilediği yapılan çalışmalar ile kanıtlanmıştır (Kaefer ve Milner, 2008). Polifenoller gibi biyoaktif bileşiklerin fizyolojik aktivitesi, direkt insan diyetinde alınma miktarına bağlı değildir. Asıl önemli olan bu bileşiklerin biyoyararlanımlarıdır. Bu bileşikler kolondan yavaş emilerek metabolize olurlar ve vücuttan hızlıca atılırlar. Bileşikler, ince bağırsağa geçerek orada metabolize olur ve böylece sindirimi gerçekleşir. İnce bağırsakta sindirilmiş besinlerden arta kalan kısım kolona ulaşmaktadır ve sindirimi tamamlanmayan besinler burada tamamen metabolize

olmaktadır (Kara vd., 2017). Fenolik bileşiklerin sadece çok az bir kısmı ince bağırsaktan emilebilir. Bu bileşiklerin yaklaşık %90'ı kolonda kalmaktadır ve daha sonra bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize olmaktadır (Zhang vd., 2023). Bu nedenle polifenollerce zengin sumak oleoresinin kolon kanser hücre hattına ait sitotoksikolojik etkisinin incelenmesi önem arz etmektedir.

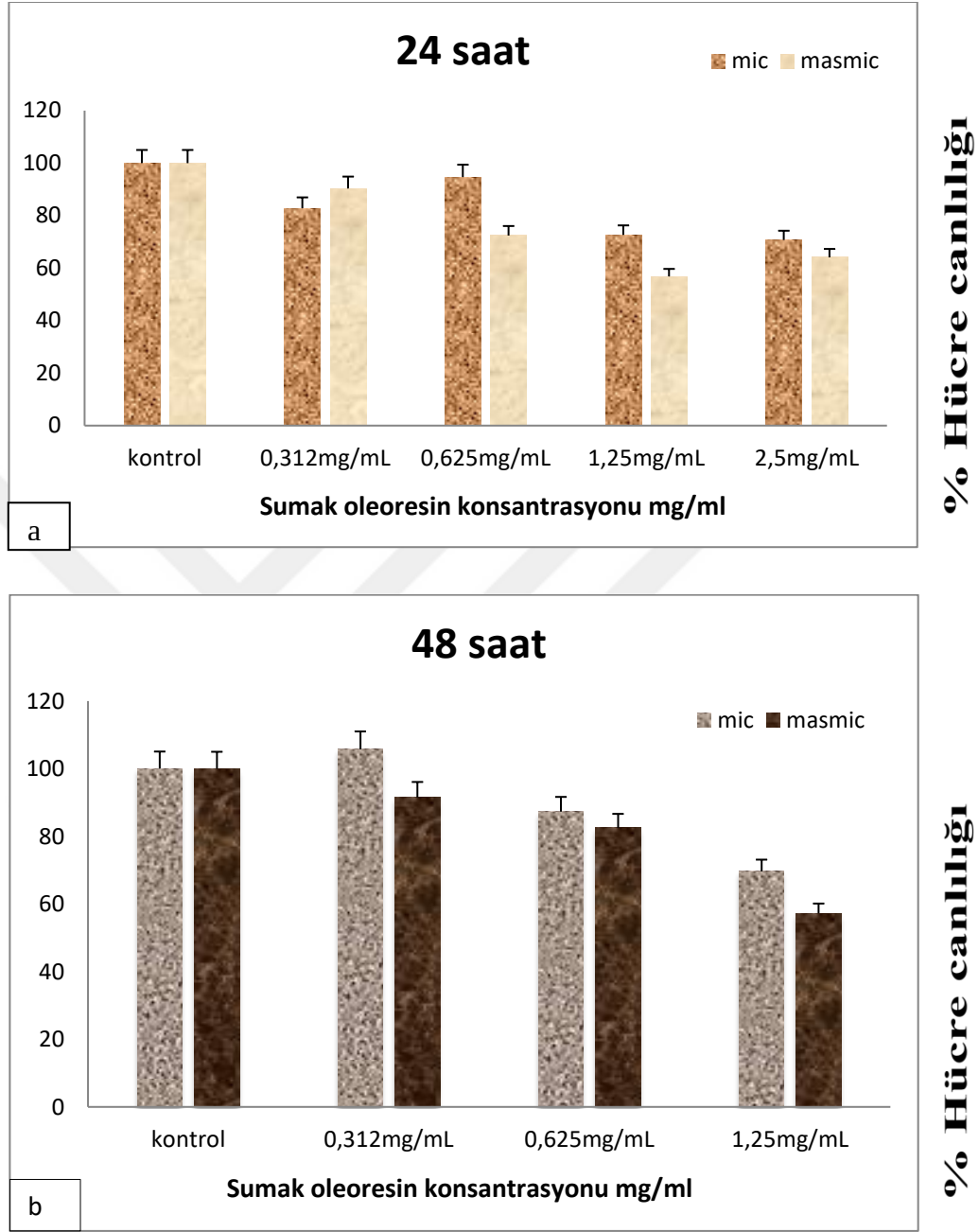


Şekil 3.22. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin in vitro sitotoksikolojik analiz sonuçları

*a) 24 saat b) 48 saat

**SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini
SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

**SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri ile SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri ayrı ayrı independent t-testi ile ikili karşılaştırılmıştır.



Şekil 3.23. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin in vitro sitotoksikolojik analiz sonuçları

*a) 24 saat b) 48 saat

**SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini
 SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

**SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri ile SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri ayrı ayrı independent t-testi ile ikili karşılaştırılmıştır.

Tablo 3.18. Sumak oleoresin örneklerinin antikanser aktivite sonuçları

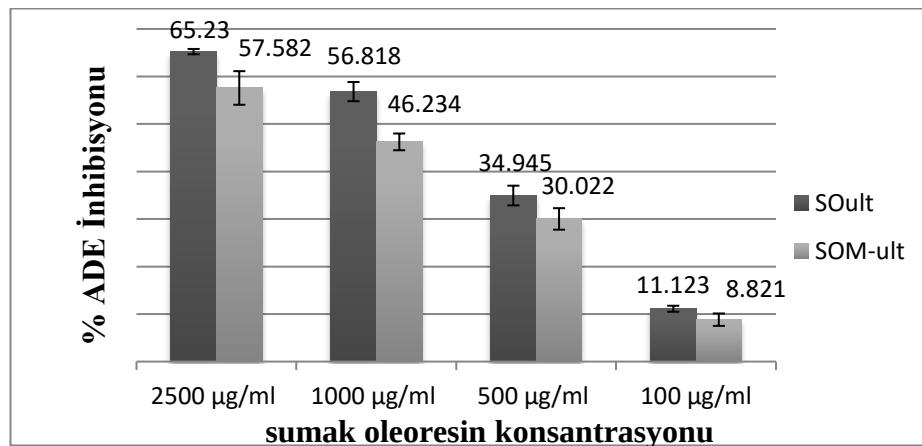
Örnekler	24 saatteki IC50 değerleri (mg/ml)	48 saatteki IC50 değerleri (mg/ml)
SO _{mik}	7.97 ^b ±0	5.93 ^a ±0
SO _{M-mik}	5.54 ^a ±0	5.19 ^a ±0
SO _{ult}	64.41 ^b ±0	0.504 ^a ±0
SO _{M-ult}	nd	0.505 ^a ±0

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

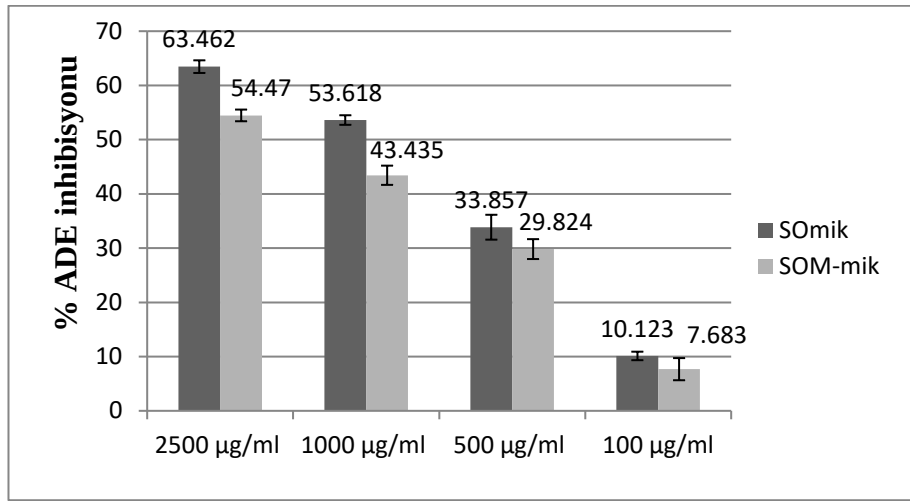
**nd: not determined (belirlenemedi)

3.18. Sumak Oleoresinlerinin Antihipertansif Aktivite Sonuçları

ADE enzimi ve hippuryl-L-histidyl-L-leucine (HHL) substratının reaksiyonu sonrası oluşan hippurik asit miktarı temel alınarak sumak oleoresinlerinin enzim inhibisyonları hesaplanmıştır. İnhibitör madde varlığında, oluşan hippurik asit miktarındaki azalmaya bağlı olarak okunan absorbans değerlerinde düşüş gözlenmiştir. Farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen sumak oleoresinlerinin farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerinin ADE enzim inhibisyon değerleri (%) Şekil 3.24 ve Şekil 3.25'te verilmiştir. ADE enzim aktivitesinin yarısını inhibe eden oleoresin konsantrasyon değeri olan IC50 (mg/ml) yeteneklerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması ise Tablo 3.19'da verilmiştir.



Şekil 3.24. SO_{ult} ve SOM-_{ult} örneklerinin Anjiotensin-1 dönüştürücü enzim inhibisyonları



Şekil 3.25. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin Anjiotensin-1 dönüştürücü enzim inhibisyonları (%)

Tablo 3.19. Sumak oleoresinlerinin Anjiotensin-1 dönüştürücü enzim inhibisyonları

Sumak oleoresinleri	ADE enzim inhibisyon değerleri IC50 (mg/ml)
SO _{ult}	0.843 ^a ±0.04
SO _{M-ult}	1.051 ^b ±0.07
SO _{mik}	0.891 ^a ±0.007
SO _{M-mik}	1.097 ^b ±0.03

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

İnsanlarda yüksek tansiyona bağlı oluşan sağlık sorunları son zamanlarda yanlış beslenme tarzı da dâhil olmak üzere birçok farklı nedenden dolayı artış göstermiştir. Yüksek tansiyonu önlemek için çeşitli farmakolojik ilaçlar kullanılmaktadır. Sağlık problemlerini önlemek adına kullanılan ilaçların olası yan etkileri nedeniyle doğal bileşiklere yönelim giderek önem kazanmıştır. Bu tez çalışmasında farklı ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen sumak oleoresinlerinin antihipertansif özellikleri üzerinde etkili olan anjio tensin dönüştürücü enzim inhibisyon yetenekleri kıyaslanmıştır. Bulunan analiz sonuçları doğrultusunda, sumak oleoresininin antihipertansif etkili olması ve oleoresinlerin yapıları gereği bitkisel ilaç formülasyonlarında rahatlıkla kullanılabilir yapıda olması, ilaca kıyasla önemli avantajlar sağlamaktadır.

Aynı konsantrasyonda (2500 µg/ml) hazırlanan SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin ADE inhibisyon aktiviteleri sırasıyla %65.230-%57.582 olarak bulunmuştur. Yine aynı şekilde 2500 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin anjiotensin dönüştürücü enzimi inhibisyon değerleri ise sırasıyla %63.462-%54.470 olarak bulunmuştur. Farklı konsantrasyonlarda (1000, 500, 100 µg/ml) hazırlanan oleoresinlerin % ADE inhibisyon değerleri grafiğe aktararak, elde edilen denklemden %50 inhibisyon yeteneğinin gerçekleştiği konsantrasyonu ifade eden IC₅₀ (µg/mL) değerleri hesaplanmıştır. 2500 µg/ml konsantrasyon değerine ait sonuçlar grafiğin doğruluğunu azalttığı için denkleme dahil edilmemiştir. Diğer üç konsantrasyon değerinden IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örnekleri için sırasıyla IC₅₀ (mg/ml) değerleri 0.891^a±0.007 ve 1.097^b±0.03 olarak bulunmuştur. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örnekleri için ise IC₅₀ değerleri sırasıyla 0.843^a±0.04 ve 1.051^b±0.07 olarak hesaplanmıştır (Tablo 3.19). Aralarındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.05). IC₅₀ değeri ne kadar düşük olursa, inhibisyon yeteneği o kadar yüksek olmaktadır. Dolayısı ile ekstraktların antihipertansif etkisinin de o derece yüksek olduğunu ifade etmektedir.

Hazırlanan belli bir konsantrasyonda iki farklı teknik karşılaştırıldığında ultrasonik ekstraksiyonu ile daha yüksek performans elde edildiği görülmüştür. Ancak yine de bütün ekstraksiyon tekniklerinde sumak oleoresinlerinin anjiyotensin dönüştürücü enzimi inhibe etme kabiliyetine sahip olduğu gözlenmiştir. Tüm oleoresinlerde konsantrasyon dozundaki artışa bağlı olarak enzim inhibisyonunda artış meydana gelmiştir. Pozitif kontrol olarak kaptopril ilacı kullanılmıştır. Örneklerle aynı konsantrasyonda hazırlanan (2500 µg/ml) kaptopril ilacının enzim inhibisyonu ise %95.511±0.880 olarak bulunmuştur. Reddy vd. (2023) Güney Afrika geleneksel tıbbi bitkileri üzerinde yaptıkları çalışmalarında, *Rhus Chirendensis* bitkisinin 250 µg/ml konsantrasyonda hazırlanan ekstraktının ADE inhibisyon aktivitesini %79, aynı konsantrasyonda hazırladıkları kaptopril ilacının inhibitör aktivitesini ise %92 civarında bulduklarını belirtmişlerdir.

Wang vd. (2016) ise çin sumağı (*Rhus typina* L.) ekstraktlarının ratlarda, anjiotensin-2 kaynaklı hipertansiyon üzerindeki koruyucu etkisini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışma sonunda, sumak ekstraktlarının hipertansiyon üzerinde koruyucu etkisi olduğunu belirtmişlerdir. Bu durumun, oksidatif stresin azalması ve vücutta nitrit oksit (NO) miktarının artması ile ilişkili olabileceğini ifade etmişlerdir.

Sumak (*Rhus coriaria*) bitkisinin antihipertansif etkisinin araştırıldığı bir başka çalışmada, her gün düzenli şekilde (25 mg/gün) kaptopril ilacı kullanan yüksek tansiyon hastası 80 kişi üzerinde 8 hafta boyunca klinik uygulamalar gerçekleştirilmiştir. Bu hastaların bir kısmına günde 2 defa olmak üzere sadece sumak (*Rhus coriaria*) meyve kapsülleri (500 mg), bir kısmına günde 25 mg kaptopril ilacı ve diğerlerine de plasebo etkisini görmek için günde 2 defa 500 mg nişasta vermişlerdir. Hastaların her hafta kan basıncını ölçmüşlerdir. 8 hafta sonunda inhibitör ilaç ve nişasta alan hastalar ile kıyaslandığında sumak kapsülü alan hastalarda önemli ölçüde kan basıncının düştüğünü ve buna bağlı olarak hipertansiyonun azaldığını belirtmişlerdir (Ardalani vd., 2016).

Bilimsel literatür çalışmaları da göstermektedir ki hem in vitro hem de in vivo araştırmalar ışığında sumak meyvesi kan basıncını düşürücü etkisi ile antihipertansif özellik sergilemektedir. Bu tez çalışması kapsamında bulduğumuz veriler de literatürü destekler nitelikte olup tıpkı meyvesi gibi belli dozlarda kullanılan sumak oleoresinlerinin de antihipertansif etki potansiyeli olduğunu göstermektedir.

3.19. Sumak Oleoresinlerinin Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

Sumak oleoresinlerinin antimikrobiyal aktivitesi agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Gram negatif bakteri olarak *E. coli*, gram pozitif bakteri olarak da *S. aureus* patojen bakterileri seçilmiştir. Oluşan inhibisyon bölgelerinin çapı (mm) dijital kumpas cihazı ile ölçülmüştür. Ölçülen zonların çapları aşağıdaki tablolarda (Tablo 3.20 ve Tablo 3.21) verilmiştir.

Tablo 3.20. SO_{ult} ve SO_{M-ult} örneklerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerine etkili inhibisyon zon çapları (mm)

	Sumak oleoresin konsantrasyonu (mg/ml)	Ultrasonik	Maserasyon
<i>E.coli</i>	1	nd	nd
	2	nd	nd
	10	12.375 ^a ±0.487	11.625 ^a ±0.249
	20	14.676 ^a ±0.191	14.498 ^a ±0.435
	40	18.655 ^b ±0.413	17.723 ^a ±0.285
<i>S. aureus</i>	1	nd	nd
	2	8.720 ^a ±0.014	7.81 ^a ±0.452
	10	13.038 ^a ±0.889	12.031 ^a ±1.559
	20	14.596 ^a ±0.814	14.096 ^a ±0.335
	40	17.665 ^b ± 0.278	16.723 ^a ±0.092

*nd= belirlenemedi

*Sumak oleoresinlerin farklı konsantrasyonlarına ait inhibisyon zon çapları independent t-testi ile kıyaslanmıştır ($p<0.05$). Sonuçlar 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

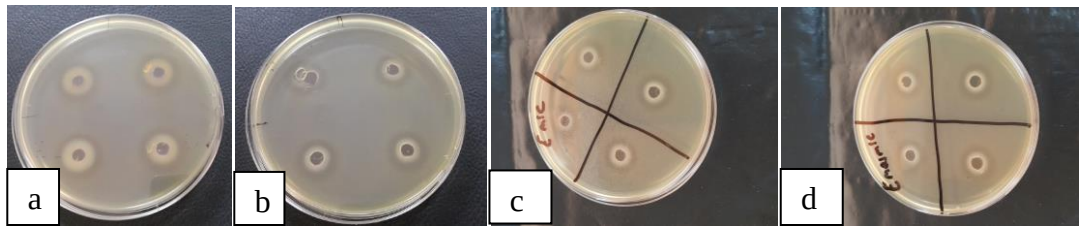
Tablo 3.21. SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerine etkili inhibisyon zon çapları(mm)

	Sumak oleoresin konsantrasyonu (mg/ml)	Mikrodalga	Maserasyon
<i>E.coli</i>	1	nd	nd
	2	nd	nd
	10	12.00 ^a $\pm$ 0.157	11.488 ^a $\pm$ 0.329
	20	14.771 ^a $\pm$ 0.312	14.585 ^a $\pm$ 0.257
	40	17.938 ^a $\pm$ 0.433	18.163 ^a $\pm$ 0.264
<i>S. aureus</i>	1	nd	nd
	2	7.445 ^a $\pm$ 0.021	7.175 ^a $\pm$ 0.219
	10	12.263 ^a $\pm$ 0.759	11.780 ^a $\pm$ 0.941
	20	13.962 ^a $\pm$ 0.958	13.323 ^a $\pm$ 0.693
	40	18.070 ^b $\pm$ 0.057	16.533 ^a $\pm$ 0.311

*nd= belirlenemedi

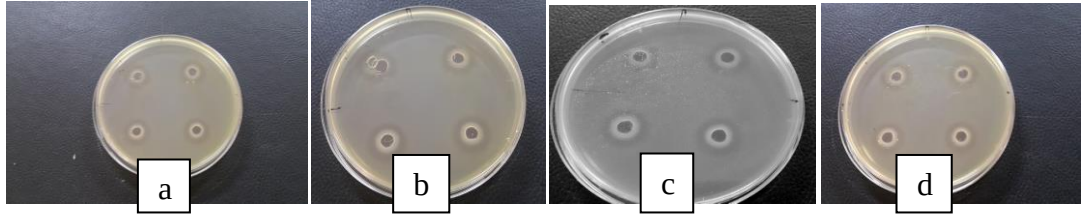
**Sumak oleoresinlerin farklı konsantrasyonlarına ait inhibisyon zon çapları independent t-testi ile kıyaslanmıştır ($p<0,05$). Sonuçlar 3 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

***SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini



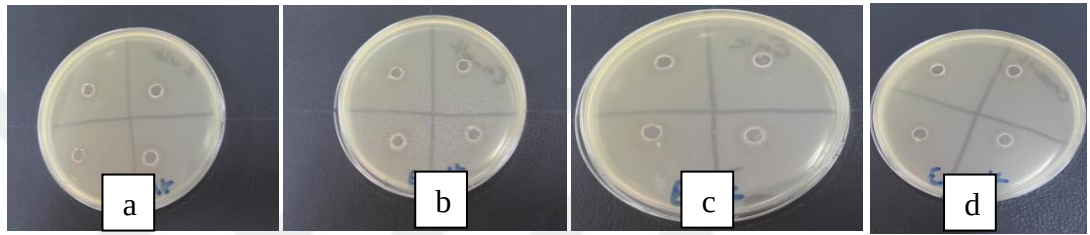
Şekil 3.26. *E.coli* bakterileri ekili petrilerde sumak oleoresinlerinin (40 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri

*a) SO_{ult} b)SO_{M-ult} c)SO_{mik} d)SO_{M-mik}



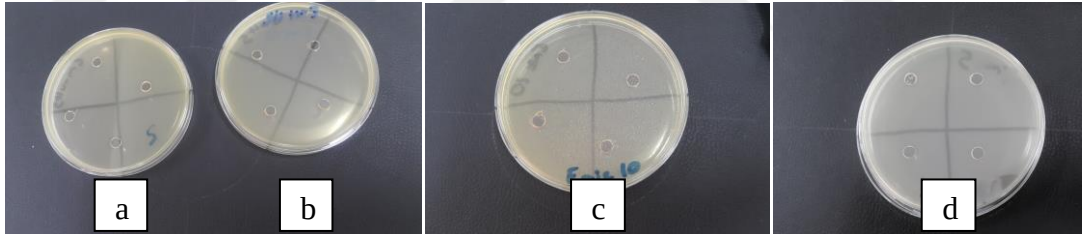
Şekil 3.27. *E. coli* bakterisi ekili petrilerde sumak oleoresinlerinin (20 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri

*a) SO_{ult} b)SO_{M-ult} c)SO_{mik} d)SO_{M-mik}



Şekil 3.28. *E. coli* bakterileri ekili petrilerde sumak oleoresinlerinin (10 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri

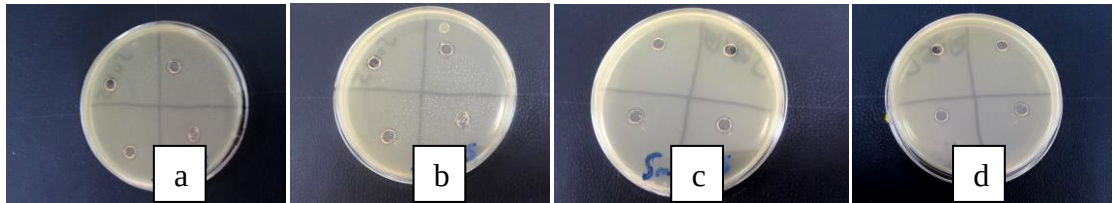
*a) SO_{ult} b)SO_{M-ult} c)SO_{mik} d)SO_{M-mik}



Şekil 3.29. *E. coli* bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (2 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri

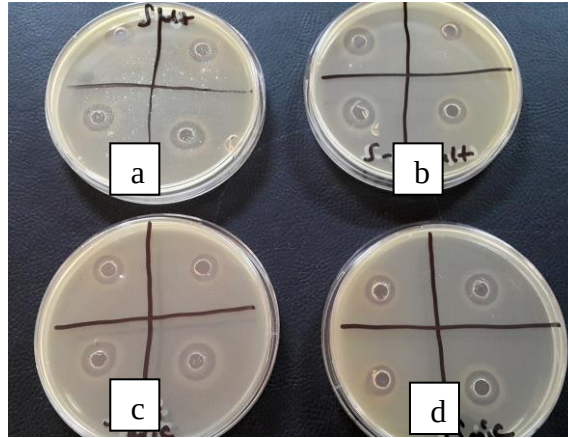
*a) SO_{ult} b)SO_{M-ult} c)SO_{mik} d)SO_{M-mik}

** Petrilerde inhibisyon zon çapı oluşmadı



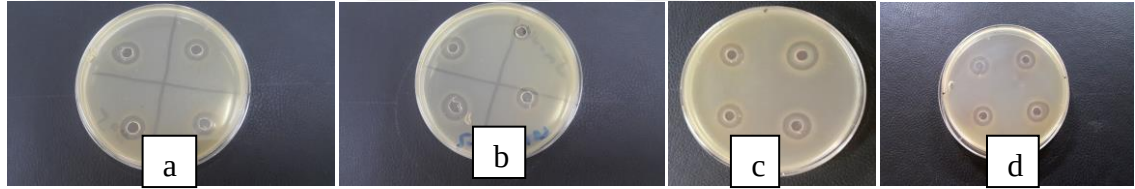
Şekil 3.30. *S. aureus* bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (2 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri

*a) SO_{ult} b)SO_{M-ult} c)SO_{mik} d)SO_{M-mik}

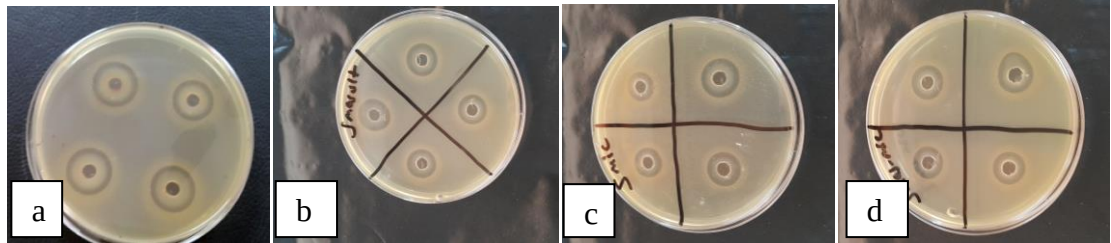


Şekil 3.31. *S. aureus* bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (10 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri

*a) SO_{ult} b) SO_{M-ult} c) SO_{M-mik} d) SO_{mik}



Şekil 3.32. *S. aureus* bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (20 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri



Şekil 3.33. *S. aureus* bakterisi ekilen petrilerde sumak oleoresinlerinin (40 mg/ml) oluşturduğu zon görüntüleri

*a) SO_{ult} b) SO_{M-ult} c) SO_{mik} d) SO_{M-mik}

*SO_{mik}: Mikrodalga uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-mik}: Mikrodalga ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini SO_{ult}: Ultrason uygulaması ile elde edilen sumak oleoresini, SO_{M-ult}: Ultrason ekstraksiyonunun optimum şartlarında uygulanan maserasyon tekniği ile elde edilen sumak oleoresini

Farklı konsantrasyonlarda ve farklı ekstraksiyon teknikleri ile hazırlanan sumak oleoresinlerine ait petride oluşan inhibisyon zonlarının görüntüleri yukarıdaki şekillerde karşılaştırmalı olarak verilmiştir (Şekil 3.26, 3.27, 3.28, 3.29, 3.30, 3.31, 3.32, 3.33). Sumak oleoresin ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda *E. coli* ve *S. aureus*

bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkisi araştırılmış ve ekstraksiyon yöntemlerinin antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkisi karşılaştırılmıştır. Oleoresinlerin 2 mg/ml konsantrasyonda *E. coli* bakterisi üzerinde herhangi bir inhibisyon etkisi görülmemiştir (Şekil 3.29). Oleoresin ekstrakt konsantrasyonu arttırıldığında gram pozitif ve negatif bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisinin arttığı gözlenmiştir. 40 mg/ml üzerindeki konsantrasyonlarda çalışıldığında, ekstraktın kırmızı rengi, besin agarına geçmiştir ve bunun sonucunda inhibisyon bölgeleri petri kabında net olarak görülemedi. 2 mg/ml konsantrasyonda oleoresin ekstraktlarının *S. aureus* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi çok az gözlenirken, 1 mg/ml konsantrasyonda herhangi bir etki gözlenmemiştir. SO_{ult} ve SO_{M-ult} ile SO_{mik} ve SO_{M-mik} örneklerinin, *S. aureus* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi arasındaki farklılık düşük dozlarda istatistiksel olarak ($p>0.05$) anlamsız bulunurken konsantrasyon 40 mg/ml'ye çıkarıldığında anlamlılık kazandığı ($p<0.05$) görülmüştür. Ultrasonik ekstraksiyon uygulaması, yüksek konsantrasyonda (40 mg/ml) hazırlanan sumak oleoresininin her iki bakteri üzerinde antibakteriyel etkisini artırır iken, mikrodalga uygulaması, yalnızca *S. aureus* bakterisi üzerinde etkiyi arttırmıştır (Tablo 3.20, Tablo 3.21). Sonuç olarak sumak ekstraktlarının her iki patojen bakteri türü üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi konsantrasyona bağlı olarak artmakla birlikte, gram negatif bakteriler gram pozitif bakterilere göre daha fazla direnç göstermiştir. Sumak oleoresinlerinin antimikrobiyal etkisi üzerinde oleoresinlerin yüksek asitliğinin de etkili olduğu düşünülmektedir.

Bulduğumuz sonuçları destekler şekilde zerdeçal ve zencefil ekstraktlarının bazı patojenik bakteriler üzerindeki inhibitör etkisini araştıran bir çalışmada patojen inhibisyon bölgelerinin konsantrasyona bağlı olarak değiştiğini belirtmişlerdir (Žlabur vd., 2021).

Sumak baharatının seçilmiş çeşitli Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler üzerindeki güçlü inhibisyon etkisi, literatürde bizim çalışmamıza benzer sonuçlar ile açıklanmıştır (Nasar-Abbas ve Halkman, 2004; Yılmaz vd., 2020).

Nasar-Abbas ve Halkman, (2004) araştırmalarında olgunlaşmış ve henüz olgunlaşmamış sumaktan (*Rhus coriaria*) %90 etanol ile 24 saat oda sıcaklığında aldıkları ekstrelerin antibakteriyel etkisini 2 ayrı metot (minimal inhibitory concentration ve the cup method) ile test etmişlerdir. Diğer literatür çalışmaları ve bizim

çalışmamızı destekler şekilde konsantrasyona bağlı olarak etkinin arttığını (zon çapları daha yüksek) ifade etmişlerdir. Olgunlaşmış sumaktan sağlanan ekstraktların olgunlaşmamış sumak ekstraktlarına kıyasla antibakteriyel etkisinin önemli derecede daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Gram pozitif bakteriler arasında en yüksek duyarlılığı *Bacillus türlerinin*, en çok direnci *L. monocytogenes* ve *S. aureus* bakterilerinin gösterdiğini, gram negatif bakteriler arasından ise en dirençli bakterinin *E. coli* tip1 olduğunu açıklamışlardır.

Sumak çekirdeklerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkisinin incelendiği çalışmada çekirdek ekstraktlarının *E. coli* bakterisi üzerinde öldürücü etkisi gözlenmezken, *S. aureus* bakterisi üzerinde etki gözlenmiştir. İnhibisyon çaplarına göre değerlendirildiğinde mikrodalga ekstraksiyon tekniğinin (12.06 mm) maserasyona (10.72 mm) kıyasla *S. aureus* bakterisi üzerinde daha etkili olduğu ifade edilmiştir (Isikli vd., 2023).

Sumak esansiyel yağının agar difüzyon metodu ile belirlenen antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Actinomyces viscosus* bakterilerine ait inhibisyon zonlarını sırası ile 19.0, 13.6 ve 16.3 mm olarak bulduklarını açıklamışlardır. Yaptıkları çalışma neticesinde aşırı antibiyotik ajan kullanımının antibiyotik direncinin oluşmasına ve patojen mikroorganizmalar arasında dirençli olanların artışına sebep olduğunu, bu nedenle de antibakteriyel etkiye sahip doğal kaynaklardan elde edilen bileşiklerin önem kazandığını vurgulamışlardır. (Moghadam vd., 2020).

4. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1. Sonuç

Bu tez çalışması kapsamında sağlık üzerine olumlu etkileri literatürde sıkça vurgulanan sumak meyvesinden farklı ekstraksiyon teknikleri kullanılarak oleoresin elde edilmiştir. Sumak meyvesinin sağlık ile ilişkili niteliklerinin araştırıldığı çalışmalar literatürde mevcut olmakla birlikte, gelişmiş ekstraksiyon teknikleri (mikrodalga ve ultrasonik destekli ekstraksiyon) ile elde edilen sumak oleoresinin biyoaktivitesinin incelenmesi hususunda bir araştırmaya rastlanmamıştır. Ayrıca sumak oleoresinin antitrombotik etkisi üzerine bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu özelliği ilk kez bu tez çalışması kapsamında ele alınmıştır. Tez çalışmasının amaçlarından birisi olan, sumak meyvesinin sağlık ile ilişkili önemli özelliklerinin ortaya konması, yaptığımız çalışmalar neticesinde başarılmıştır. Yeşil ekstraksiyon yöntemi olarak çalışmada ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon teknikleri kullanılmıştır. Karşılaştırmak için geleneksel bir yöntem olan, termal olmayan maserasyon tekniği seçilmiştir. Elde edilen sumak oleoresinlerinin sağlık üzerine olumlu etkilerinin belirlenmesi için in vitro laboratuvar çalışmaları gerçekleştirilmiştir. In vitro analizlerin gerçekleştirilmesi için ise sağlık üzerinde önemli rolleri olan bir takım enzimler ile çalışılmıştır. Gerekli laboratuvar koşulları sağlanarak enzimlerin aktive edilmesi ve enzim inhibisyon çalışmaları başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.

Tez çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen ön denemelerde, en yüksek sumak oleoresin verimleri etanollü ve metanollü su ile alınmıştır. Bu iki çözücünden, etanolün metanole kıyasla hem daha yeşil bir solvent olması, hem de nispeten daha iyi oleoresin verimi sağlaması bakımından nihai çözücü olarak ekstraksiyon çalışmalarımızda etanollü suyun kullanılmasına karar verilmiştir. Ayrıca etanol diğer organik solventler ile benzer

dielektiriğe sahip olmasına karşın, yüksek polariteye sahiptir (Nile vd., 2017). Sumak meyvesinden oleoresin elde etmek için bağımsız ekstraksiyon parametreleri olarak güç, zaman, katı/çözücü oranı ve etanol konsantrasyonu seçilmiştir.

Tez çalışmamızın ikinci aşamasında ise Design-Expert 8.0.7.1 istatistik tasarım programı kullanılarak maksimum oleoresin veriminin sağlandığı optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. En az 3 parametre ile çalışılan Box-Benhken deney tasarımı ile dizayn oluşturulmuştur. Oluşturulan dizayna göre farklı ekstraksiyon parametrelerinde sumak oleoresinleri ekstrakte edilmiştir ve elde edilen sumak oleoresinlerinin verimleri hesaplanarak programda girilmiştir. Maksimum sumak oleoesin veriminin alındığı optimum ekstraksiyon koşullarında sumak oleresinleri toplanmıştır.

Tezin diğer aşamasında ise sağlık üzerine olumlu etkilerinin literatürde sıkça vurgulandığı sumak meyvesinden elde edilen oleoresinler üzerinde gerçekleştirilen in vitro analizler neticesinde, antidiyabetik, antiobezite, antikanser ve antitrombotik etki üzerinde faydalı olabileceği görülmüştür. Gerçekleştirilen in vitro sitotoksikolojik analizler neticesinde sumak oleoresinlerinin belli dozlarının Colo-205 kolon kanser hücreleri üzerinde öldürücü etkisi saptanmıştır. Sumak oleoresinin belli dozlarda ve sürekli kullanımının kolon kanserini önleme üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Yine aynı şekilde belli bir doz oranında kullanımı ile sumak oleoresinlerinin çok yüksek olmasa da kan pıhtı oluşumunu engelleyici özelliği olduğu bu tez çalışması neticesinde ortaya çıkarılmıştır. Ayrıca sumak oleoresinin pankreatik lipaz enzimini yüksek oranda inhibe edici özelliği sayesinde kilo kontrolü amacıyla anti-obezite ajan olarak kullanım potansiyeli olduğu saptanmıştır.

Sindirim sistemi enzimleri olan α -glukozidaz ve α -amilaz enzimlerinin inhibisyonları üzerine gelişmiş ekstraksiyon teknikleri ile sağlanan sumak oleoresinlerinin etkisi yüksek bulunmuştur. Bu enzimler, polisakkaritleri glukoza parçalayarak glukozun kana karışması ve böylece vücuda enerji sağlamasında rol oynamaktadır. Sumak oleoresinleri sindirim enzimlerinin aktivitesini inhibe ederek kana fazla glukoz gitmesini engellemektedir ve böylece şeker hastaları için önemli olan antidiyabetik aktivite sergilemektedir.

Tez çalışması kapsamında, ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniklerine ait analiz sonuçları klasik bir ekstraksiyon tekniği olan maserasyon tekniği ile

kıyaslanmıştır. Ultrasonik (%36.924) ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (%39.057) teknikleri ile maserasyona [%33.832 (SO_{M-ult})- %31.539 (SO_{M-mik})] kıyasla daha yüksek sumak oleoresin verimi elde edilmiştir. Ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon teknikleri ile biyoaktivitesi yüksek sumak oleoresinleri elde edilmesi başarılmıştır.

Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen sumak oleoresinlerinin antidiyabetik, antiobezite, antikanser, antitrombotik ve antihipertansif etkilerinin daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca yeşil ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen sumak oleoresinlerinin toplam fenolik madde miktarları daha yüksek bulunmuştur. DPPH ve TEAC olmak üzere iki farklı antioksidan kapasite analiz tekniğinde de gelişmiş ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen sumak oleoresinlerinin değerleri yüksek bulunmuştur. Oleoresinlerin antioksidan aktivite değerlerinin yüksek olması, toplam fenolik madde miktarlarının yüksek olması ile ilişkilendirilebilir.

Farklı ekstraksiyon tekniği uygulanmasının, sumak oleoresinlerinin asitlik değerleri üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturmadığı görülmüştür. Genel olarak bütün sumak oleoresinlerinin asitlik oranı yüksek bulunmuştur.

Tez çalışması kapsamında sonuçlar göz önüne alındığında ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon teknikleri ile elde edilen sumak oleoresinlerinin yüksek biyoaktiviteye sahip bileşenleri yapısında bulundurması ve bununla ilişkili olarak sağlık üzerine olumlu etkiler sergilemesi bakımından tavsiye edilmektedir.

Yenilikçi ekstraksiyon teknikleri ile hem zamandan ve kullanılan solventten tasarruf edilmesi hem de elde edilen ekstraktların maserasyona kıyasla sağlık üzerine daha olumlu etkiler göstermesi büyük avantaj oluşturmaktadır. Bulunan sonuçların, bu tez çalışmasında kullanılanların dışında farklı bir yenilikçi ekstraksiyon tekniği ile sumak oleoresini elde edilmesinde sürecin değerlendirilebilmesi açısından yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir. Ayrıca bu tez çalışması kapsamında bulunan sonuçlar, farklı bitkilerden oleoresin eldesinde kullanılacak olan yenilikçi ekstraksiyon tekniklerine de ışık tutmaktadır.

4.2. Öneriler

- ✓ Sumak meyvesinden oleoresin elde etmek için farklı gelişmiş ekstraksiyon teknikleri ya da kombinleri uygulanabilir.
- ✓ Sumaktan oleoresin eldesinde olumlu sonuçlar alındığı için çalışmamızda kullanılan bu teknikler, farklı bitkiler için de kullanılabilir.
- ✓ *R. coriaria* meyvelerinden elde edilen sumak oleoresinin *in vivo* biyoaktivite özellikleri araştırılabilir.
- ✓ Sumak oleoresinleri biyoaktivitesi yüksek fonksiyonel gıda girdisi olarak düşünülebilir ve bu alanda çalışmalar gerçekleştirilebilir. Ya da antosiyanin içeriğinden kaynaklı baskın kırmızı renginden ötürü gıda renk maddesi olarak düşünülerek bunun üzerine çalışmalar yapılabilir.
- ✓ Ülkemizde oleoresin üretimi yapılmamaktadır. Pilot ölçekli çalışmalar gerçekleştirilerek oleoresin üretiminin yaygınlaştırılması ile ticari üretimi gerçekleştirilebilir.
- ✓ Bu çalışmada sitotoksik *in vitro* analiz sonuçları ile Colo-205 kolon kanser hücre hattı üzerinde sumak oleoresinin etkisi incelenmiş ve kanser hücrelerini yok etme üzerinde etkili olabileceği gösterilmiştir. Farklı kanser hücre hatları üzerinde sumak oleoresinin etkisi incelenebilir ya da bu konuda *in vivo* çalışmalar gerçekleştirilebilir.
- ✓ *R. coriaria* meyvelerinden sağlanan oleoresinlerin fonksiyonel gıda bileşeni olarak düşünülerek model gıda çalışmaları gerçekleştirilebilir ve bu noktada etkileri incelenebilir.
- ✓ Sumak oleoresin ekstraktının mikroenkapsülasyon işlemi araştırılabilir.
- ✓ Bu tez çalışması kapsamında sumak oleoresinin antikanser, antiobezite, antidiyabet ve antitrombotik ve antihipertansif etkileri araştırılmıştır. Nihai sonuç olarak ise sumak meyvesinin son derece biyoaktif bir materyal olduğu görülmüştür. Sumak oleoresinin daha farklı biyoaktivite özellikleri araştırılabilir.

- ✓ *R. coriaria* meyvelerinden sağlanan oleoresinlerin in vitro ya da in vivo sindirim özellikleri incelenebilir.
- ✓ Sumak oleoresinin sağlığa yararlı biyoaktivite özelliklerinden ötürü ilaç endüstrisinde ilaçların içeriğinde kullanılması düşünölebilir ve bu alanda multidisipliner çalışmalar gerçekleştirilebilir.



KAYNAKÇA

1. Abdul, Z., Saim, N., Said, M., Illias, R., Aida, W., Mustapha, W., Hassan, O., 2009. Characterization of cyclodextrin complexes with turmeric oleoresin, **Food Chemistry**, **114**(2): 459–465, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.072>.
2. Abo-shady, A. M., Gheda, S. F., Ismail, G. A., Pereira, L., 2023. Antioxidant and antidiabetic activity of algae, **Life**, 1-26.
3. Abou-saleh, R. H., Connell, S. D., Harrand, R., Ajjan, R. A., Mosesson, M. W., 2017. Nanoscale probing reveals that reduced stiffness of clots from fibrinogen lacking 42 N-terminal β -chain residues is due to the formation of abnormal oligomers, **Biophysical Journal**, <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2008.12.3913>.
4. Abu-reidah, I. M., Ali-shtayeh, M. S., Jamous, R. M., Arráez-román, D., Segura-carretero, A., 2015. HPLC-DAD-ESI-MS / MS screening of bioactive components from *Rhus coriaria* L. (Sumac) fruits, **Jordan Journal of Biological Sciences**, **166**:179-191, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.-06.011>.
5. Abu-Reidah, I. M., Jamous, R. M., Ali-Shtayeh, M. S., 2014. Phytochemistry, pharmacological properties and industrial applications of *Rhus coriaria* L. (sumac), **Jordan Journal of Biological Sciences**, **7**(4): 233-244.
6. Adisakwattana, S., Charoenlertkul, P., Yibchok-anun, S., 2009. α -Glucosidase inhibitory activity of cyanidin-3-galactoside and synergistic effect with acarbose, **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, ISSN:6366, <https://doi.org/10.1080/14756360801906947>.
7. Ali, M., Samia, M., 2010. Anti-inflammatory and antioxidant activities of some extracts and pure natural products isolated from *Rhus tripartitum* (Ucria), **Medicinal Chemistry**, 271-282, <https://doi.org/10.1007/s00044-009-9190-z>.
8. Alia, M. A., Faleeha, Z. H., 2014. The Antioxidant and antimicrobial of syrian sumac (*Rhus coriaria*) fruit extracts, **Journal of Natural Sciences Research**, **4**(11):36-41.
9. Almeida, M., Erthal, R., Padua, E., Silveira, L., Luciane, A., 2008. Response

surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry, **Talanta**, **76**: 965-977, <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>.

10. AOCS, 1993. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, In The American Oil Chemists Society (4th Edition), vol.76, Washington.
11. Arachis, L., Plukenetia, L., Thummajitsakul, S., Piyaphan, P., Khamthong, S., Unkam, M., Silprasit, K., 2023. Comparison of FTIR fingerprint, phenolic content, antioxidant and anti-glucosidase activities among *Phaseolus vulgaris* L., **Electronic Journal of Biotechnology**, **61**:14-23, <https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2022.10.003>.
12. Ardalani, H., Genetics, S., Moghadam, M. H., Hadipanah, A., 2015. Identification and characterization of chemical composition of *Rhus coriaria* L. fruit from Hamadan, Western Iran, **Journal of Herbal Drug**, **6**:195-198.
13. Ardalani, H., Moghadam, M. H., Rahimi, R., Soltani, J., Mozayanimonfared, A., Moradi, M., Azizi, A., 2016. Sumac as a novel adjunctive treatment in hypertension: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, **RSC Advances**, 11507-11512, <https://doi.org/10.1039/C5RA22840A>.
14. Arslan, D., Akbulut, M., 2009. Phenolic content and antioxidant activity of some spices, **World Applied Sciences Journal**, **6** (3): 373-377.
15. Asgarpanah, J., 2014. An overview on phytochemical and pharmacological properties of *Rhus coriaria* An overview on phytochemical and pharmacological properties of *Rhus coriaria* L., **Research Journal of Pharmacognosy**, **1**(3):47-54.
16. Aşkın, B., Küçüköner, E., 2019. Factors Affecting the Stability of Anthocyanins, **Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology**, **7**(11), 1759-1765.
17. Aydogdu, A., Eda, E., Yildirim, Y., Gulum, A., 2023. Active films based on faba bean (*Vicia faba* L.) flour incorporated with sumac (*Rhus coriaria*): Assessment of antioxidant and antimicrobial performances of packaging for shelf life of chicken breast, **Food and Bioprocess Technology**, **16**: 327-341, <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02940-y>.

18. Bashkin, A., Ghanim, M., Abu-farich, B., Rayan, M., Miari, R., 2021. Forty-one plant extracts screened for dual antidiabetic and antioxidant functions: evaluating the types of correlation between α -amylase inhibition and free radical scavenging, **Molecules**, **26**: 1-16.
19. Bayram, M., 2005. Spray drying of sumac flavour using sodium chloride, sucrose, glucose and starch as carriers, **Journal of Food Engineering**, **69**:253-260, <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.08.012>.
20. Bhosale, P. B., Ha, S. E., Vetrivel, P., Kim, H. H., Kim, S. M., 2020. Functions of polyphenols and its anticancer properties in biomedical research :a narrative review. **Translational Cancer Research**, **2**:7619-7631, <https://doi.org/10.-21037/tcr-20-2359>.
21. Bijak, M., Saluk, J., Nowak, P., 2013. Antithrombin effect of polyphenol-rich extracts from black chokeberry and grape seeds, **Phytotherapy Research**, **76**:71-76.
22. Bing, S., Zhang, W., Shi, Y. X., 2008. Antioxidant and Antithrombotic Activities of Rapeseed Peptides, **Journal of the American Oil Chemists'Society**, **85**:521-527, <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1217-y>.
23. Bitwell, C., Sen, S., Luke, C., 2023. A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants, **Scientific African**, **19**, <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>.
24. Borrelli, G. M., Trono, D., 2015. Recombinant lipases and phospholipases and their use as biocatalysts for industrial applications, **International Journal of Moleculer Sciences**, **16**: 20774–20840, <https://doi.org/10.3390/ijms160920774>.
25. Boukerche, H., Malki, F., Saidji, N., Ghaliaoui, N., Bensalem, A., Mokrane, H., 2023. Combination of ultrasound, microwave and conventional extraction techniques for roselle (*Hibiscus Sabdariffa. L.*) total anthocyanins and phenolics recovery: effect on antioxidant and structural properties, **Biomass Conversion and Biorefinery**, <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04029-8>.
26. Brunke, E., Hammerschmidt, F., Schmaus, G., 1993. The Essential oil of *Rhus coriaria L.* fruits, **Flavour and Fragrance Journal**, **8**:209-214.

27. Budiastra, I. W., Damanik, A. P., Akbar, M. T. F., 2020. Effect of particle size of white pepper to yield and quality of oleoresin produced by using an ultrasonic-assisted extraction method Effect of particle size of white pepper to yield and quality of oleoresin produced by using an ultrasonic-assisted extract, **Earth and Environmental Science**, **542**, <https://doi.org/10.1088/1755-1315/542/1/012023>.
28. Bueno, V., Frasca, D., 2023. Mini-review : Angiotensin- converting enzyme 1 (ACE1) and the impact for diseases such as Alzheimer's disease, sarcopenia, cancer, and COVID-19, **Journal Frontiers in Aging**, 1-8, <https://doi.org/10.3389/fragi.2023.1117502>.
29. Bursal, E., Köksal, E., 2011. Evaluation of reducing power and radical scavengingactivities of water and ethanol extracts from sumac (*Rhus coriaria* L.), **Food Research International**, **44**(7), 2217-2221, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.001>.
30. Büyüktuncel, E., 2013. Main spectrophotometric methods for the determination of total phenolic content and antioxidant capacity, **Marmara Pharmaceutical Journal**, **17**(2): 93-103, <https://doi.org/10.12991/201317377>.
31. Cai, S., Wang, O., Wang, Y., 2012. In vitro inhibitory effect on pancreatic lipase activity of subfractions from ethanol extracts of fermented oats (*Avena sativa* L.) and synergistic effect of three phenolic acids, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **60**: 7245-7251, <https://doi.org/10.1021/jf3009958>.
32. Caliskan, G., Dirim, S. N., 2013. Food and bioproducts processing the effects of the different drying conditions and the amounts of maltodextrin addition during spray drying of sumac extract, **Food and Bioproducts Processing**, **91**(4): 539-548, <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2013.06.004>.
33. Calista, T., Larissa, S., João, P., Thiago, V. N., Bradshaw, N. J., Hayashi, M. A. F., 2023. Converting enzymes as druggable features of psychiatric and neurodegenerative disorders, **Journal of Neurochemistry**, 1-18, <https://doi.org/10.1111/jnc.15806>.
34. Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., Galán-Vidal, C. A., 2009. Chemical studies of anthocyanins: A

- review, **Food Chemistry**, **113**: 859-871, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.-2008.09.001>.
35. Cemeroğlu Bekir., 1992. Meyve ve Sebze İşleme Endüstrisinde Temel Analiz Metotları, Biltav yayınları, Ankara.
 36. Cemeroğlu Bekir., 2007. Gıda Analizleri, Gıda Analizleri Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, yayın no:34, Ankara.
 37. Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Abert-vian, M., 2017. Review of green food processing techniques . Preservation, transformation, and extraction, **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, **41**: 357-377, <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>.
 38. Chirinos, R., Campos, D., Pedreschi, R., Larondelle, Y., 2007. Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon) tubers, **Separation and Purification Technology**, **55**:217-225, <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2006.12.005>.
 39. Christen, P., 2002. Recent extraction techniques for natural products : microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction, **Phytochemical Analysis**, **113**:105-113.
 40. Colodel, C., Lúcia, C., Petkowicz, D. O., 2019. Food hydrocolloids acid extraction and physicochemical characterization of pectin from cubiu (*Solanum sessili fl orum* D.) fruit peel, **Food Hydrocolloids**, **86**: 193-200, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2018.06.013>.
 41. Dabas, D., 2016. Polyphenols as colorants, **Advances in Food Technology and Nutritional Sciences**, 1-6, <https://doi.org/10.17140/AFTNSOJ-SE-2-101>.
 42. Dirir, A. M., Daou, M., Yousef, A. F., Yousef, L. F., 2022. A review of alpha-glucosidase inhibitors from plants as potential candidates for the treatment of type-2 diabetes, **Phytochemistry Reviews**, **21**:1049-1079, <https://doi.org/10.-1007/s11101-021-09773-1>.
 43. Dokki, C., 2014. Methods for determining the antioxidant activity: A review. **Alexandria Journal of Food Science and Technology**, **1**: 31-42, <https://doi.org/10.12816/0025348>.

44. Ekici, L., 2011. Üzüm Kabuğundan Ekstrakte Edilen Antosiyanin Bazlı Renk Maddelerinin Biyolojik Özelliklerinin Belirlenmesi ve Bazı Gıda Maddelerinde Renklendirici Olarak Kullanımı, Erciyes Üniversitesi, Doktora Tezi, KAYSERİ.
45. Ekin H. N., 2018. *Rhus coriaria* L. Bitkisinin Diyabet ve Obezite Üzerindeki Etkisinin Araştırılması, Gazi üniversitesi, Doktora Tezi, ANKARA.
46. Fereidoonfar, H., Salehi-arjmand, H., Khadivi, A., Safdari, L., 2019. Chemical variation and antioxidant capacity of sumac (*Rhus coriaria* L.), **Industrial Crops and Products**, **139**: 111518, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111518>.
47. Fernández-ronco, M. P., Gracia, I., Lucas, A. De, Rodríguez, J. F., 2013, Extraction of capsicum annuum oleoresin by maceration and ultrasound-assisted extraction : influence of parameters and process modeling, **Journal of Food Process Engineering**, **36**: 343-352, <https://doi.org/10.1111/j.1745-4530.2012.00702.x>.
48. Figueiredo-gonzález, M., Grosso, C., Valentão, P., Andrade, P. B., 2016. α -Glucosidase and α -amylase inhibitors from Myrcia spp.: a stronger alternative to acarbose?, **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, **118**:322-327, <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.10.042>.
49. Fu, Y., Liu, X., Ma, Q., Yi, J., 2022. Phytochemical bioaccessibility and in vitro antidiabetic effects of chinese sumac (*Rhus chinensis* Mill.) fruits after a simulated digestion : insights into the mechanisms with molecular docking analysis, **International Food Science and Technology**, **57**:2656-2669, <https://doi.org/10.1111/ijfs.15238>.
50. Gabr, S. A., Alghadir, A. H., 2021. Potential anticancer activities of *Rhus coriaria* (sumac) extract against human cancer cell lines, **Bioscience Reports**, **41**: 1-12.
51. Gazali, M., Jolanda, O., Husni, A., Adibah, F., Majid, A., 2023. Green seaweed halimeda tuna extract from the coast of lhok, **Plants**, **12**:393, <https://doi.org/10.3390/plants12020393>.
52. Giancarlo, S., Rosa, L. M., Nadjafi, F., Francesco, M., 2006. Hypoglycaemic activity of two spices extracts: *Rhus coriaria* L. and *Bunium persicum* Boiss,

- Natural Product Research**, 20(9): 882-886, <https://doi.org/10.1080-/14786410500520186>.
53. Gök, H. N., Deliorman Orhan, D., Gürbüz, İ., Aslan, M., 2020. Activity-guided isolation of α -amylase, α -glucosidase, and pancreatic lipase inhibitory compounds from *Rhus coriaria* L. **Journal of Food Science**, 85(10): 3220-3228.
 54. Hadi, B. J., Sanagi, M. M., Aboul-enein, H. Y., Aini, W., Ibrahim, W., Jamil, S., Abdullahi, M., 2015. Microwave-assisted extraction of methyl β -cyclodextrin-complexed curcumin from turmeric rhizome oleoresin, **Food Analytical Methods**, 8: 2447-2456, <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0137-3>.
 55. Hamdard, J., 2013. *Rhus coriaria* ameliorates insulin resistance in non-insulin-dependent diabetes mellitus (niddm) rats, **Drug Research**, 70(5): 861-867.
 56. Hariri, N., Darafshi, S., Siroos, G., Borumandnia, N., Narmaki, E., Saidpour, A., 2020. The beneficial effects of sumac (*Rhus coriaria* L.) supplementation along with restricted calorie diet on anthropometric indices, oxidative stress, and inflammation in overweight or obese women with depression :A randomized clinical trial, **Phytotherapy Research**, 3041-3051, <https://doi.org/10.1002/-ptr.6737>.
 57. Heath, H.B., Reineccius, G., 1986. Flavor Chemistry and Technology, In Flavor Chemistry and Technology. Newyork.
 58. Huang, D., Boxin, O. U., Prior, R. L., 2005. The chemistry behind antioxidant capacity assays, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 53(6):1841-1856, <https://doi.org/10.1021/jf030723c>.
 59. Huang, P., Yu, Q., Feng, X., Ma, C., Kan, J., 2022. Optimization of accelerated solvent extraction of paprika oleoresin and its effect on capsaicinoid and carotenoid composition, **Journal of Food Composition and Analysis**, 110:104589, <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104589>.
 60. Hui, J., Seung, C., 2019. Antioxidant and antithrombotic properties of *Dendropanax morbifera* Léveille (Araliaceae) and its ferments produced by fermentation processing, **Food Biochemistry**, 1-11, <https://doi.org/10.11-11/jfbc.13056>.

61. Ibarz-blanch, N., Morales, D., Calvo, E., Ros-medina, L., Muguerza, B., Bravo, F. I., Su, M., 2022. Role of chrononutrition in the antihypertensive effects of natural bioactive compounds, **Nutrients**, **14**: 1920, <https://doi.org/10.3390/nu14091920>.
62. Isikli, M., Berktaş, S., Mohammed, A., Tugba, N., Capar, D., Yalcin, H., 2023. Antioxidant, antimicrobial, antiobesity and antidiabetic activities of sumac seed extracts affected by microwave-assisted extraction, **Journal of Food Measurement and Characterization**, <https://doi.org/10.1007/s11694-023-02010-7>.
63. Jayarambabu, N., Velupla, S., Akshaykranth, A., Anitha, N., Rao, T. V., 2023. Bambusa arundinacea leaves extract-derived Ag NPs: evaluation of the photocatalytic, antioxidant, antibacterial, and anticancer activities. **Applied Physics A: Materials Science and Processing**, **129**(1), 1-10, <https://doi.org/10.1007/s00339-022-06279-1>.
64. Jesús, D. D. De, Norma, S. S. G., Javier, Q. A. P., 2023. Optimization of anthocyanin extraction from Oxalis tuberosa peel by ultrasound, enzymatic treatment and their combination, **Journal of Food Measurement and Characterization**, **7**:1775-1782, <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01721-7>.
65. Jong-anurakkun, N., Bhandari, M. R., Kawabata, J., 2007. α -Glucosidase inhibitors from Devil tree (*Alstonia scholaris*), **Food Chemistry**, **103**:1319-1323, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.10.043>.
66. Kaefer, C. M., Milner, J. A., 2008. The role of herbs and spices in cancer prevention, **Journal of Nutritional Biochemistry**, **19**:347-361, <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2007.11.003>.
67. Kara, M., Jakubczyk, A., Szymanowska, U., Zlotek, U., Zieli, E., 2017. Review Digestion and bioavailability of bioactive phytochemicals, **Food Science and Technology**, **52**: 291-305, <https://doi.org/10.1111/ijfs.13323>.
68. Karadaş Ö., Yılmaz İ., Geçgel Ü., 2020. Sumak (*Rhus coriaria* L.) meyvesinin fizikokimyasal özellikleri, **Trakya University Journal of Engineering Sciences**, **21**(2): 87-94.

69. Kilara, A., Business, F., Hill, C., 2011. Lipases, **In Enzymes Exogenous to Milk in Dairy Technology**, 284-288.
70. Kosar, M., Bozan, B., Temelli, F., Baser, K. H. C., 2007. Antioxidant activity and phenolic composition of sumac (*Rhus coriaria L.*) extracts, **Food Chemistry**, **103**: 952-959, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.049>.
71. Kumar, S., Narwal, S., Kumar, V., Prakash, O., 2011. α -glucosidase inhibitors from plants: A natural approach to treat diabetes., **5**(9), 19-29, <https://doi.org/10.4103/0973-7847.79096>
72. Koukouraki, P., Tsoupras, A., Sotiroidis, G., Demopoulos, C. A., Sotiroidis, T. G., 2020. Antithrombotic properties of Spirulina extracts against platelet-activating factor and thrombin, **Food Bioscience**, **37**: 100686, <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100686>.
73. L.U Khasanah., Kawiji, P. Prasetyawan, R. Utami, W. Atmaka, G. J. M., Sanjaya, A. P., 2017. Optimization and characterization of cinnamon leaves (*Cinnamomum burmannii*) oleoresin, **Materials Science and Engineering**, **193**:012021, doi:10.1088/1757-899X/193/1/012021<https://doi.org/10.1088/17-57-899X/193/1/012021>.
74. Lai, J., Wang, H., Wang, D., Fang, F., Wang, F., Wu, T., 2014. Ultrasonic extraction of antioxidants from chinese sumac (*Rhus typhina L.*) fruit using response surface methodology and their characterization, **Molecules**, **19**:9019-9032, <https://doi.org/10.3390/molecules19079019>.
75. Lasunon, P., Sengkhampan, N., 2022. Ultrasound-microwave-assisted extraction on pectin extraction, **Molecules**, **27**:1157, <https://doi.org/10.3390/molecules27041157>.
76. Leangnim, N., Unban, K., Thangsunan, P., Tateing, S., Khanongnuch, C., Kanpiengjai, A., 2023. Ultrasonic-assisted enzymatic improvement of polyphenol content, antioxidant potential, and in vitro inhibitory effect on digestive enzymes of Miang extracts, **Ultrasonics Sonochemistry**, **94**, 106351, <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106351>.
77. Li, M., Ngadi, M. O., Ma, Y., 2014. Optimisation of pulsed ultrasonic and microwave-assisted extraction for curcuminoids by response surface

- methodology and kinetic study, **Food Chemistry**, **165**: 29-34, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.03.115>.
78. Li, T., Zhang, X., Ren, Y., Zeng, Y., Huang, Q., Wang, C., 2022. Antihypertensive effect of soybean bioactive peptides: A review, **Current Opinion in Pharmacology**, **62**: 74–81, <https://doi.org/10.1016/j.coph.2021.11.005>.
 79. Liu, D., Gao, H., Tang, W., Nie, S., 2017. Plant non-starch polysaccharides that inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes mellitus, **Annals of the New York Academy of Sciences**, **1401**: 28–36, <https://doi.org/10.1111/nyas.13430>.
 80. Liu, X., Fu, Y., Ma, Q., Yi, J., Cai, S., 2021. Anti-Diabetic effects of different phenolic-rich fractions from *Rhus Chinensis Mill.* fruits in vitro, **eFood**, **2**:37-46, <https://doi.org/10.2991/efood.k.210222.002>.
 81. Liu, Z., Zhu, M., Chen, X., Yang, G., Yang, T., Yu, L., Wang, X., 2018. Expression and antibacterial activity of hybrid antimicrobial peptide cecropinA-thanatin in *Pichia pastoris*. **Frontiers in Laboratory Medicine**, **2**(1), 23-29, <https://doi.org/10.1016/j.flm.2018.04.001>.
 82. Lolli, V., Viscusi, P., Bonzanini, F., Conte, A., Fuso, A., Larocca, S., Caligiani, A., 2023. Oil and protein extraction from fruit seed and kernel by-products using a one pot enzymatic-assisted mild extraction, **Food Chemistry: X**, **19**, 100819, <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100819>.
 83. M, M. T., Ma, H., Razavi, M. A., Mohammadian, R., Poorkian, S., 2017. Comparing physicochemical properties and antioxidant potential of sumac from Iran and Turkey, **Food Processing and Techonology**, **5**(2):288-294, <https://doi.org/10.15406/mojfpt.2017.05.00125>.
 84. Maarel, M. J. E. C., Veen, B., Van Der., Uitdehaag, J.C.M, Leemhuis, H., Dijkhuizen, L., 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family, **Journal of Biotechnology**, **94**: 137-155.
 85. Mcdougall, G. J., Stewart, D., 2009. Berry polyphenols inhibit pancreatic lipase in vitro, **Food Chemistry**, **115**(1):193-199, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.-2008.11.093>.

86. Melani, N. B., Tambourgi, E. B., Silveira, E., Melani, N. B., Tambourgi, E. B., Silveira, E., 2020. Lipases : From Production to Applications, **Separation & Purification Reviews**, **49**: 143-158, <https://doi.org/10.1080/15422119-2018.1564328>.
87. Mirian, M., Ghanadian, M., Dana, N., Sadeghi-aliabadi, H., 2015. Pistacia khinjuk oleoresin metanol extracts and Pistacia khinjuk oleoresin metanol extracts, **Research in Pharmaceutical Sciences**, **10**(3): 233-240.
88. Mirzadeh, M., Arianejad, M. R., Khedmat, L., 2020. Antioxidant, antiradical, and antimicrobial activities of polysaccharides obtained by microwave-assisted extraction method: A review, **Carbohydrate Polymers**, **229**, 115421, <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.115421>.
89. Misra, N. N., Kumar, S., 2020. Extraction of pectin from black carrot pomace using intermittent microwave, ultrasound and conventional heating: kinetics, characterization and process economics, **Food Hydrocolloids**, **102**:105592, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105592>.
90. Moghadam, P., Dadelahi, S., Hajizadeh, Y. S., Matin, M. G., Amini, M., Hajazimian, S., 2020. Chemical composition and antibacterial activities of sumac fruit (*Rhus coriaria*) essential oil on dental caries pathogens, **The Royal Society of Chemistry**, **14**(1): 142-146, <https://doi.org/10.2174/1874285802-014010142>.
91. Mohit, M., Nouri, M., Samadi, M., Nouri, Y., Heidarzadeh-Esfahani, N., Venkatakrishnan, K., Jalili, C., 2021. The effect of sumac (*Rhus coriaria* L.) supplementation on glycemic indices: A systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials, **Complementary Therapies in Medicine**, **61**:102766, <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2021.102766>.
92. Mondal, S. C., Lee, W. H., Eun, J. B., 2023. Ultrasonic extraction of reducing sugar and polyphenols from burdock (*Arctium lappa* L.) root waste and evaluation of antioxidants and α -glucosidase inhibition activity, **Biomass Conversion and Biorefinery**, <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04004-3>.
93. Morsy, N. F. S., 2016. A comparative study of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) oleoresins obtained by conventional and green extraction techniques,

- Journal of Food Science and Technology**, 53(10):3770-3777, <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2363-0>.
94. Musa, Ö., Haciseferogullari, H., 2004. A Condiment [Sumac (*Rhus Coriaria L.*) fruits]:some physico-chemical properties, **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, 30: 74-84.
 95. Nabih, M. H., Bouluka, H., Hajam, M. El, Alghonaim, M. I., Kandri, N. I., Alsalamah, S. A., Boufahja, F., 2023. Antioxidant activities of cardoon waste (leaves and stems) extracts :comparative study, **Molecules**, 28:1129, <https://doi.org/10.3390/molecules28031129>.
 96. Naik, S. R., Kokil, G. R., 2013. Development and discovery avenues in bioactive natural products for glycemic novel therapeutics, **Studies in Natural Products Chemistry**, 39: 431-466, <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-62615-8.00012-6>.
 97. Nasar-Abbas S.M., Halkman, A. K., 2004. Inhibition of some foodborne bacteria by alcohol extract of sumac (*Rhus coriaria L.*), **Journal of Food Safety**, 24:257–267.
 98. Nile, S. H., Nile, A. S., Keum, Y., 2017. Total phenolics, antioxidant, antitumor, and enzyme inhibitory activity of Indian medicinal and aromatic plants extracted with different extraction methods, **3 Biotech**, 7: 76, <https://doi.org/10.1007/s13205-017-0706-9>.
 99. Nurcan, K., 2021. Microwave and ultrasound assisted extraction of pectin from various fruits peel, **Journal of Food Science and Technology**, 58(127):641-650, <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04578-0>.
 100. Nwozo, O. S., Effiong, E. M., Aja, P. M., Awuchi, C. G., 2023. Antioxidant, phytochemical, and therapeutic properties of medicinal plants: a review. **International Journal of Food Properties**, 26(1): 359-388, <https://doi.org/10.1080/10942912.2022.2157425>.
 101. Okpara, M. O., 2022. Microbial enzymes and their applications in food industry: a mini-review, **Advances in Enzyme Research**, 10 (1): 23-47, <https://doi.org/10.4236/aer.2022.101002>.

102. Olalere, O. A., Gan, C., Adeyi, O., Adeyi, A., 2021. Optimisation of microwave-assisted extraction and functional elucidation of bioactive compounds from *Cola nitida* pod., **Phytochemical Analysis**, **32**:850-858, <https://doi.org/10.1002/pca.3030>.
103. Pablo, J., Martínez, Q., 2023. Flavonoids as a therapeutical option for the treatment of thrombotic complications associated with COVID-19, **Phytotherapy Research**, **37**:1092-1114, <https://doi.org/10.1002/ptr.7700>.
104. Patel, A. K., Singhanian, R. R., Pandey, A., 2017. Production, Purification, and Application of Microbial Enzymes, **Biotechnology of Microbial Enzymes**, 13-40, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803725-6.00002-9>.
105. Rashid, R., Mohd, S., Manzoor, S., Masoodi, F. A., Masarat, M., 2023. Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction :Optimisation, comparison and bioactivity, **Food Chemistry**, **398**, 133871, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133871>.
106. Reddy, R., Baijnath, S., Moodley, R., Dwarka, D., Naicker, T., Mellem, J., Govender, N., 2023. Antioxidant and angiotensin-converting enzyme inhibitory potential of South African traditional medicinal plants and plant-derived compounds, **South African Journal of Botany**, **152**:85-91, <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.11.042>.
107. Rendon-Rosales, M. Á., Torres-Llanez, M. J., González-Córdova, A. F., Hernández-Mendoza, A., Mazorra-Manzano, M. A., Vallejo-Cordoba, B., 2019. In vitro antithrombotic and hypocholesterolemic activities of milk fermented with specific strains of *Lactococcus lactis*., **Nutrients**, **11**(9): 2150, <https://doi.org/10.3390/nu11092150>.
108. Renuka, G., Ma, S. C., Viswanadham, M., Thupurani, M. K., 2021. Antidiabetic activity of the compounds isolated from *Rhus mysorensis* plant extract, **Journal of Biotechnology and Biochemistry**, **3**(3):37-42, <https://doi.org/10.9790/264X-03033742>.
109. Ritu, M., Nandini, J., 2016. Nutritional composition of *Stevia rebaudiana* , a sweet herb, and its hypoglycaemic and hypolipidaemic effect on patients with

- non-insulin dependent diabetes mellitus., **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **96**: 4231-4234, <https://doi.org/10.1002/jsfa.7627>.
110. Ryan, E. A., Mockros, L. F., Weisel, J. W., Lorand, L., 1999. Structural origins of fibrin clot rheology. **Biophysical Journal**, **77**(5):2813-2826, [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(99\)77113-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(99)77113-4).
 111. Sakhr, K., El Khatib, S., 2020. Physiochemical properties and medicinal, nutritional and industrial applications of Lebanese Sumac (Syrian Sumac-*Rhus coriaria*): A review. **Heliyon**, **6**(1): e03207, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03207>.
 112. Sergent, T., Vanderstraeten, J., Winand, J., Beguin, P., Schneider, Y., 2012. Phenolic compounds and plant extracts as potential natural anti-obesity substances, **Food Chemistry**, **135**(1): 68-73, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.074>.
 113. Singh, S., Das, S. S., Singh, G., Perotti, M., Schuff, C., César, A. N., 2015. In vitro antioxidant potentials and chemistry of essential oils and oleoresins from fresh and sun- dried *Mentha longifolia* L., **Journal of Essential Oil Research**, **27**(1): 61-69, <https://doi.org/10.1080/10412905.2014.977455>.
 114. Smith, R. M., 2003. Before the injection-modern methods of sample preparation for separation techniques, **Journal of Chromatography A**, **1000**:3-27, doi:10.1016/S0021-9673(03)00511-9.
 115. Sørensen, L. E., Jeppesen, P. B., Christiansen, C. B., Hermansen, K., 2019. Nordic seaweed and diabetes prevention : exploratory studies in KK-Ay Mice, **Nutrients**, **11**:1435, doi:10.3390/nu11061435.
 116. Sorourian, R., Eghbal, A., Mehrnoosh, K., Mohammad, T., Azizi, H., 2022. Structural characterization and cytotoxic, ACE-inhibitory and antioxidant activities of polysaccharide from Bitter vetch (*Vicia ervilia*) seeds. **Journal of Food Measurement and Characterization**, <https://doi.org/10.1007/s11694-022-01512-0>.
 117. Soslagere, C., Adesegun, B., Sharma, P., 2022. Isolation and functionalities of bioactive peptides from fruits and vegetables : A reviews. **Food Chemistry**,

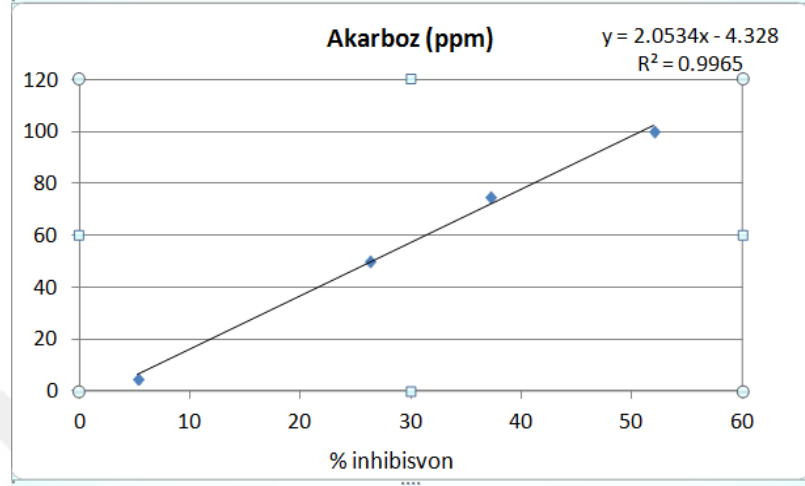
- 366: 130494, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130494>.
118. Sunagar, R. R., Sreerama, Y. N., 2023. Implication of solvent polarities on browntop millet (*Urochloa ramosa*) phenolic antioxidants and their ability to protect oxidative DNA damage and inhibit α -amylase and α -glucosidase enzymes, **Food Chemistry**, **411**: 135474, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135474>.
 119. Swartz, J., Comparison, L., Vieira, E. F., Souza, S., Moreira, M. M., Cruz, R., Delerue-matos, C., 2022. Valorization of phenolic and carotenoid compounds of extraction approaches, **Molecules**, **27**(21): 7193, <https://doi.org/10.3390/molecules27217193>.
 120. Tan, Y., Chang, S. K. C., Zhang, Y., 2017. Comparison of α -amylase, α -glucosidase and lipase inhibitory activity of the phenolic substances in two black legumes of different genera, **Food Chemistry**, **214**: 259-268, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.100>.
 121. Tiwari, B. K., 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology, **Trends in Analytical Chemistry**, **71**: 100-109, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>.
 122. Tohma, H., Altay, A., Köksal, E., Ceyhan, A., İlhami, G., 2019. Measurement of anticancer, antidiabetic and anticholinergic properties of sumac (*Rhus coriaria*): analysis of its phenolic compounds by LC–MS/MS, **Journal of Food Measurement and Characterization**, **13**(2): 1607-1619, <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00077-9>.
 123. Tsao, R., Deng, Z., 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals, **Journal of Chromatography**, **812**: 85-99, <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.09.028>.
 124. Tsiaka, T., Lantzouraki, D. Z., Polychronaki, G., Sotiroidis, G., Kritsi, E., Sinanoglou, V. J., Zoumpoulakis, P., 2023. Extraction for the determination of phenolic compounds in peach by products using experimental design and liquid chromatography-Tandem Mass Spectrometry, **Molecules**, **28**:518, <https://doi.org/10.3390/molecules28020518>.
 125. Upadhyay, J., Polyzos, S. A., Perakakis, N., Thakkar, B., Paschou, S. A.,

- Katsiki, N., Mantzoros, C. S., 2017. Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update, **Metabolism**, **78**: 13-42, <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.08.010>.
126. Ünver, A., 2006. Sumak (*Rhus coriaria L.*) Meyvelerinden Oleorezin Üretimi Üzerine Araştırma, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Konya, s. 119.
127. Verma, T., Sinha, M., Bansal, N., Raj, S., Kamal, Y., Nagendra, S., Chauhan, S., 2021. Plants used as antihypertensive, **Natural Products and Bioprospecting**, **11**(2):155-184, <https://doi.org/10.1007/s13659-020-00281-x>.
128. V₁, R., Zamora-gasga, M., 2018. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from *Justicia spicigera* leaves, **Food Science Biotechnology**, **27**:1093-1102, <https://doi.org/10.1007/s10068-018-0350-0>.
129. Wang, G., Cui, C., Guo, Y., Jin, F., Liu, P., Zhang, B., Zhao, Y., 2016. Protective effect of Chinese sumac (*Rhus typhina L.*) fruit extract on angiotensin II-induced hypertension, **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, **9**(2): 3160-3166.
130. Weremfo, A., Abassah-oppong, S., Adulley, F., Dabie, K., Seidu-larry, S., 2022. Response surface methodology as a tool to optimize the extraction of bioactive compounds from plant sources, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **103**: 26-36, <https://doi.org/10.1002/jsfa.12121>.
131. William Horwitz, A. I., 2002. Official methods of analysis of AOAC International (17. ed.). AOAC International, Gaithersburg.
132. Wong, P. Y., Tan, S. T., 2019. Comparison of total phenolic content and antioxidant activities in selected coloured plants, **British Food Journal**, <https://doi.org/10.1108/BFJ-12-2019-0927>.
133. Yilmaz, G., Ekşi, G., Demirci, B., Demirci, F., 2020. Chemical characterization of the fatty acid compositions and antimicrobial activity of sumac (*Rhus coriaria L.*) fruits, growing naturally in Turkey and sold in herbalist markets, **Journal of the Faculty of Pharmacy of Ankara University**, **44**(1):61-69, <https://doi.org/10.33483/jfpau.645467>.
134. Zannou, O., Pashazadeh, H., Galanakis, C. M., Alamri, A. S., Koca, I., 2022.

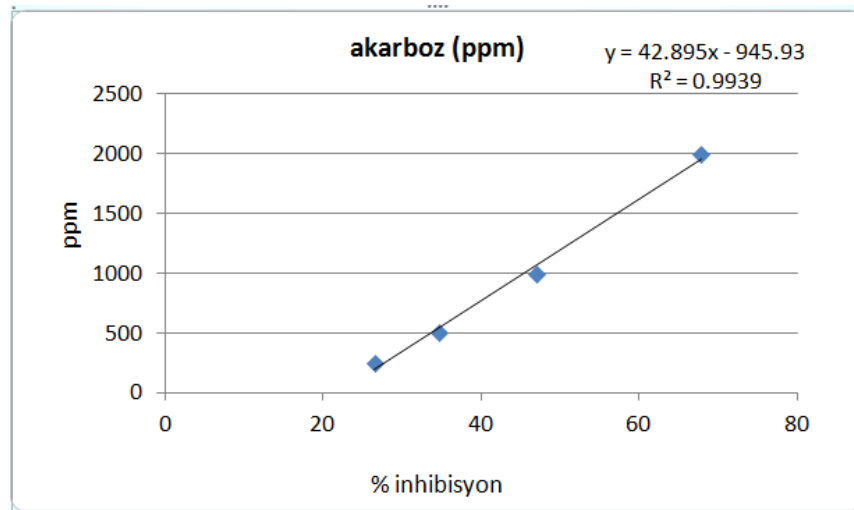
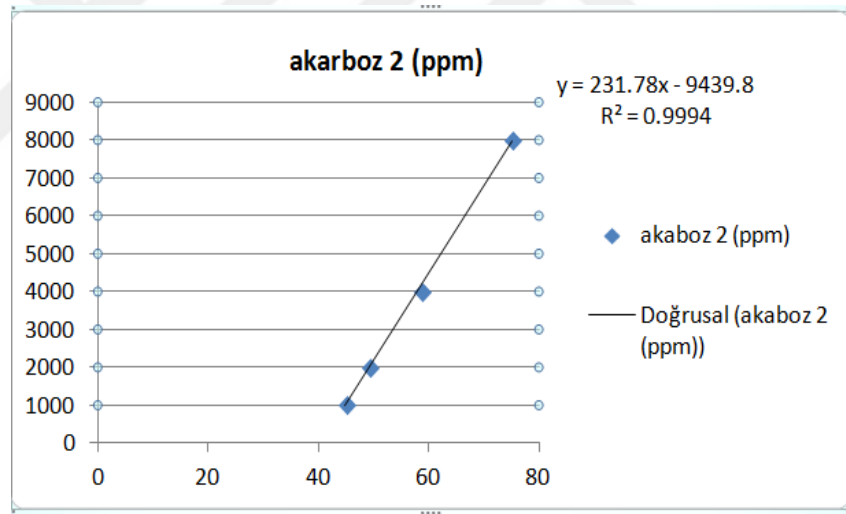
- Carboxylic acid-based deep eutectic solvents combined with innovative extraction techniques for greener extraction of phenolic compounds from sumac (*Rhus coriaria* L.), **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, **30**:100380, <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100380>.
135. Zekovi, Z., Vladi, J., 2016. Optimization of microwave-assisted extraction (MAE) of coriander phenolic antioxidants- response surface methodology approach, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, **96**:4613-4622, <https://doi.org/10.1002/jsfa.7679>.
 136. Zeytünlüoğlu, A., Üniversitesi, P., Teknik, D., Meslek, B., 2019. *Morchella esculanta* protein hidrolizatlarında anjiotensin dönüştürücü enzim 1' in peptid inhibitörlerinin araştırılması, **Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi**, **6**(4): 859-869.
 137. Zhang, Y., Li, Y., Ren, X., Zhang, X., Wu, Z., Liu, L., 2023. The positive correlation of antioxidant activity and prebiotic effect about oat phenolic compounds, **Food Chemistry**, **402**:134231, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134231>.
 138. Žlabur, J. Š., Brajer, M., Vo, S., 2021. Ultrasound as a promising tool for the green extraction of specialized metabolites from some culinary spices, **Molecules**, **26**:1866, <https://doi.org/10.3390/molecules26071866>.

EKLER

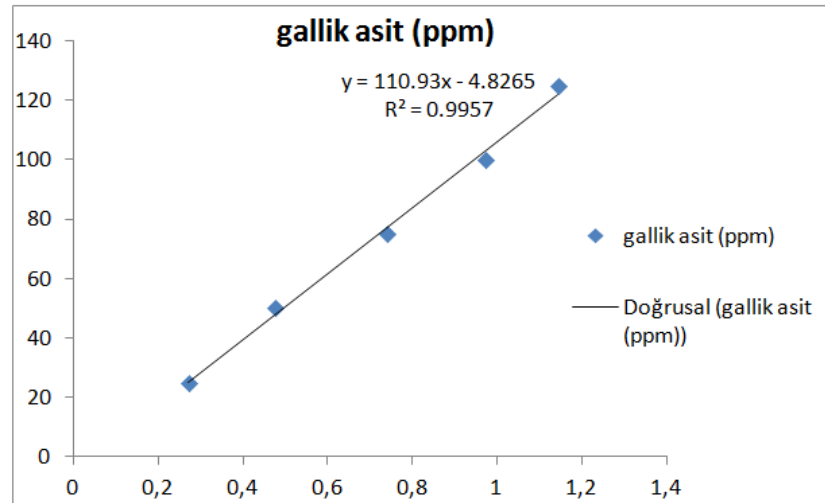
EK 1. Glukozidaz İnhibisyonu Hesaplamaları İçin Elde Edilen Akarboz Denklemi



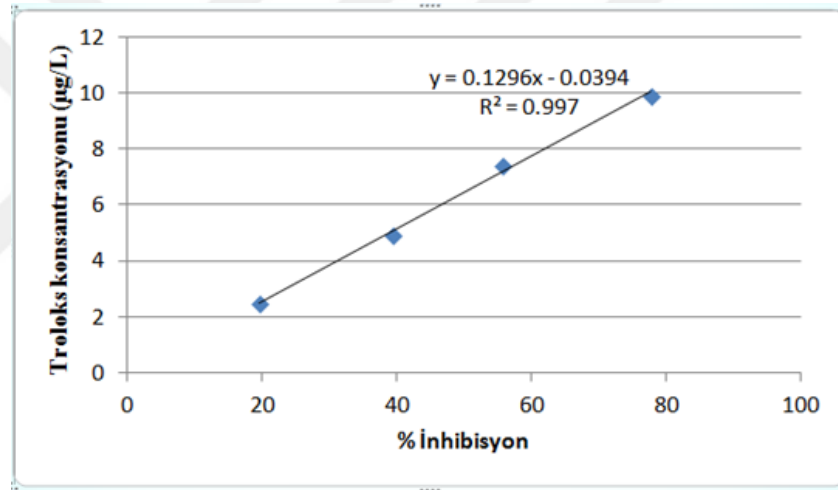
EK 2. Amilaz Enzim İnhibisyonu Hesaplamaları İçin Elde Edilen Akarboz Denklemleri



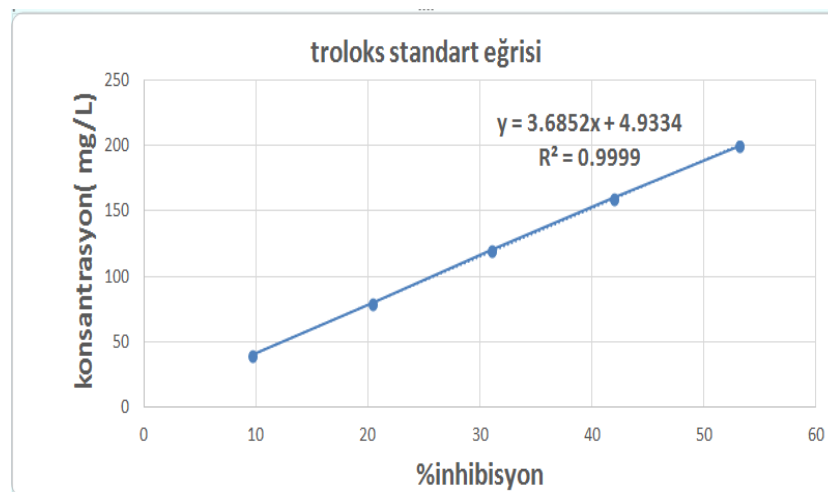
EK 3. Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisi

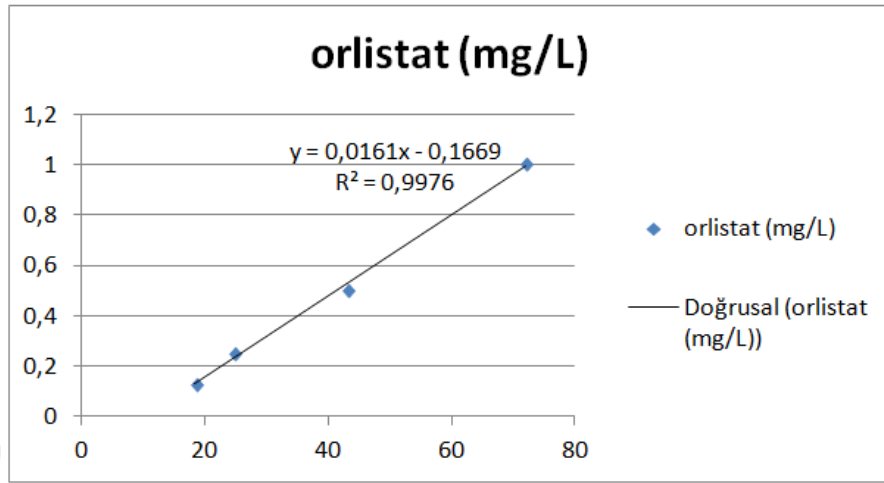


EK 4. Troloks Kalibrasyon Eğrisi (Teac Metodu İçin)



EK 5. Troloks Kalibrasyon Eğrisi (Dpph Metodu İçin)



EK 6. Orlistat İçin Kalibrasyon Eğrisi

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Merve IŞIKLI

Uyruğu: Türkiye (T.C)

E-mail:

Doğum Tarihi:

Doğum Yeri:

Medeni Durum:

Ehliyeti:

EĞİTİM

2019-devam ediyor Erciyes Üniversitesi, Kayseri

Doktora, Gıda Mühendisliği

2012 -2015 Erciyes Üniversitesi, Kayseri

Yüksek Lisans, Gıda Mühendisliği

2010 -2012 Erciyes Üniversitesi, Kayseri

Lisans, Gıda Mühendisliği

2008 -2010 Selçuk Üniversitesi, Konya

Lisans, Gıda Mühendisliği

2004 -2008 Nuh Mehmet Küçükçalık Anadolu Lisesi, Kayseri

(Yabancı Dil Ağırlıklı)

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görev
2019-2023	Erciyes Üniversitesi (YÖK bursiyeri- araştırma görevlisi)	4 yıl
2013-2014	TÜBİTAK-Tovag destekli projede araştırmacı-bursiyer (İstant Nane Çayı, Buzlu Nane Çayı ve Mikroenkapsüle Nane Esansiyel Yağı Üretimi) Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Araştırma Laboratuvarı – TÜBİTAK Proje Asistanı-bursiyer	2 yıl
2013	LENER GIDA A.Ş/EVMAN unlu mamüller firması (Mühendis-Yönetim temsilcisi) • Firma TSE Belgelerinin Alımı	6 ay
2012	ARAR Gıda A.Ş. Stajer, Gıda Mühendisi	
2011	KAYSERİ Gıda İl Kontrol Laboratuvarı Stajer, Gıda Mühendisi	

YABANCI DİL

* İngilizce (B2)

YAYINLAR

Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler:

Isıklı M., Berktaş S., Naji A. M., Dursun Capar T., Yalcın H., “Antioxidant, antimicrobial, antiobesity and antidiabetic activities of sumac seed extracts affected by microwave-assisted extraction”, *Journal of Food Measurement and Characterization*, cilt 18, ss 1-12, 2023.

Çam M., Isıklı M. D., Yuksel E., Alasalvar H., Basyigit B., “Application of pressurized water extraction and spray drying techniques to produce soluble spearmint tea”, *Journal of Food Measurement and Characterization*, cilt 12, sa 3, ss.1927-1934, 2018.

Çam M., Erdoğan F., Aslan D., Dinç M., "Enrichment of Functional Properties of Ice Cream with Pomegranate By-Products", *Journal of Food Science*, sa.78, ss.1543-1550, 2013.

Hakemli Kongre ile Sempozyumlarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

Dinç M., Aslan D., İçyer N.C., Çam M., 'Gilaburu Suyunun Mikroenkapsülasyonu', *Elektronik Gıda Teknolojileri Dergisi*, 2012.

Çam M., Erdoğan F., Aslan D., Dinç M., Karaman S., Toker Ö.S., Yalçın H., "Pomegranate Seed Oil: Shelf Life Prediction, Microencapsulation and Utilization In Ice-Cream Production", *Novel Approaches in Food Industry*, Aydın, Turkey, 2014, pp.76-76.

Erdoğan F., Dinç M., Aslan D., Toker Ö.S., Karaman S., Çam M., "Effects of Incorporation of Pomegranate Peel Phenolics into Ice-Cream", *Novel Approaches in Food Industry 2014*, Aydın, Turkey, 2014, pp.109-109.

Dinç M., Aslan D., İçyer N.C., Çam M., "Gilaburu Suyunun Mikroenkapsülasyonu", *Türkiye 11. Gıda Kongresi*, Hatay, Turkey, 2012.

Çam M. , Başığit B., Güvendioğlu E., Alaşalvar H., Dinç M., Yılmaztekin M., vd., "Instant peppermint and spearmint teas: antioxidant capacity and alpha glucosidase inhibition potentials", *The 6th International Conference on Food Factors*, Seul, Güney Kore, 22 - 25 November 2015, ss.139.

Çam M. , Güvendioğlu E., Yılmaztekin M., Dinç M., Başığit B., Alaşalvar H., vd., "Production of Instant Spearmint-Lemon Tea", *ISNFF 2014 Annual Conference & Exhibition*, İstanbul, Türkiye, 14 - 17 October 2014, cilt.1, no.1, ss.95.

Çam M. , Dinç M., Bilgin S., Yılmaztekin M., Mrghnı Ahhmed A. , Öztürk I., vd., "Pressurized water extraction of polyphenols from spearmint", *ISNFF 2014 Annual Conference & Exhibition*, İstanbul, Türkiye, 14 - 17 October 2014, cilt.1, no.1, ss.95.

Erdoğan F., Dinç M., Aslan D. , Toker Ö. S. , Karaman S., Çam M.”Effects of Incorporation of Pomegranate Peel Phenolics into Ice-cream”, Novel Approaches in Food Industry 2014, Aydın, Türkiye, 26 - 29 May 2014, ss.109.

Çam M. , Erdoğan F., Aslan D. , Dinç M., Karaman S., Toker Ö. S. , vd., “Pomegranate Seed Oil:Shelf Life Prediction, Microencapsulation and Utilization in Ice-cream Production”, Novel Approaches in Food Industry, Aydın, Türkiye, 26 - 29 May 2014, ss.76.

KONGRE, SEMİNER vb. KATILIMLAR VE BELGELER

TSE-FSSC 22000 Gıda Güvenliği Yönetim Sistemi-Eğitim Katılım Belgesi, 2023, Kayseri.

7th International Conference and Exhibition on Nutraceuticals and Functional Foods, 2014, İstanbul, Türkiye.

The First Turkish-International Circle’s Workshop on Food Science and Technology, 2013, Kayseri, Türkiye

İş Sağlığı ve Güvenliği Katılım Belgesi, 2013, Kayseri

Gıda AR-GE Proje Pazarı, 2012, İzmir.

Öğrenci Gıda Kongresi, 2011, Erciyes Üniversitesi, Kayseri

BAŞARI-KAZANILAN BURSLAR

2211-A Genel Yurtiçi Doktora Bursu, TÜBİTAK, 2019- 2023.

YÖK 100-2000 Doktora Bursu, 2019-2023.

TÜBİTAK 1001 Destekli Proje- Bursiyer (İnstant Nane Çayı, Buzlu Nane Çayı ve Mikroenkapsüle Nane Esansiyel Yağı Üretimi), 2013-2015.