

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**GIDA MÜHENDİSLİĞİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

**TOROS SEDİRİ, SIĞLA AĞACI ve KESTANE KABUKLARI**  
**İÇİN OPTİMUM EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ**  
**BELİRLENMESİ ve ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN**  
**BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ**

**ÖZLEM ERDOĞDU**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Mehmet KOÇ**

Bu tez TÜBİTAK tarafından 119O334 proje numarası ile desteklenmiştir.

**AYDIN-2021**

## TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Mehmet KOÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımnda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, ilgi ve desteğini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Hilal ŞAHİN NADEEM'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince yardımlarını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, hiçbir sorumu cevapsız bırakmayan, desteğini her zaman hissettiğim Semra BOZKURT' a teşekkür ederim.

Bana her koşulda destek olan eşim Caner ERDOĞDU' ya çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, her zaman yanımda olan canım annem Ayşe CİBA, babam Ali CİBA ve kardeşlerim Nur CİBA ve Sümeyra KAZEZ'e çok teşekkür ederim.

Son olarak canım oğlum Rüzgar'a zorluklar karşısında pes etmemeyi, tekrar tekrar denemeyi bana bir kez daha öğrettiği için ve en önemlisi varlığı için teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

KABUL VE ONAY .....	i
TEŞEKKÜRLER.....	ii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xvii
ÖZET .....	xxii
ABSTRACT .....	xxiv
1. GİRİŞ .....	26
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	28
2.1 Odun dışı orman ürünleri (ODOÜ).....	28
2.1.1 Toros Sediri .....	29
2.1.2 Sığla Ağacı .....	30
2.1.3 Kestane .....	31
2.2 Odun Dışı Orman Ürünlerinin Gıda ve Gıda Bileşeni Olarak Kullanımı.....	32
2.3 Fenolik Bileşikler.....	33
2.4 Antioksidan Maddeler.....	35
2.5 Ekstraksiyon.....	36
2.5.1 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon .....	37
2.5.2 Ultrasonik Ekstraksiyon .....	38
2.6 Optimizasyon .....	40
2.7 Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM).....	40
2.8. Odun Dışı Orman Ürünlerinin Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar .....	41
3. MATERYAL VE YÖNTEM .....	51
3.1 Materyal .....	51
3.2 Yöntem.....	53
3.2.1 Hammaddelerin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi .....	53
3.2.2 Ekstraksiyon Yöntemleri .....	53
3.2.3 Ekstraksiyon İşleminde Proses Değişkenlerinin Sınır Koşullarının Belirlenmesi	54
3.2.4 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyonu ve Ultrasonik Ekstraksiyon Yöntemleri için Deneme Desenlerinin Oluşturulması .....	55
3.2.5 Evaporasyon İşlemi .....	63
3.2.6 Optimizasyon.....	63

3.2.7	İstatistiksel Analiz .....	64
3.2.8	Analiz Yöntemleri .....	64
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA .....	68
4.1	Hammaddelerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri .....	68
4.2	Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Proses Değişkenlerinin Sınır Koşullarının Belirlenmesi .....	68
4.3	Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Proses Değişkenlerinin Sınır Koşullarının Belirlenmesi .....	72
4.4	Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi .....	78
4.4.1	Modelin Oluşturulması .....	79
4.4.2	Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	81
4.4.3	Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	86
4.4.4	Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	90
4.4.5	Antimikrobiyal Aktivite .....	95
4.4.6	Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması .....	97
4.5	Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi .....	100
4.5.1	Modelin Oluşturulması .....	101
4.5.2	Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	102
4.5.3	Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	106
4.5.4	Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	111
4.5.5	Antimikrobiyal Aktivite .....	115
4.5.6	Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması .....	118
4.6	Kestane Kabuğu için Uygun Ekstraksiyon Yönteminin Seçilmesi .....	120
4.7	Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Sedir Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi .....	123
4.7.1	Modelin Oluşturulması .....	124
4.7.2	Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	126
4.7.3	Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	131
4.7.4	Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	136
4.7.5	Antimikrobiyal Aktivite .....	141
4.7.6	Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması .....	144
4.8	Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Sedir Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi .....	146
4.8.1	Modelin Oluşturulması .....	147
4.8.2	Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	148

4.8.3	Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	152
4.8.4	Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi.....	156
4.8.5	Antimikrobiyal Aktivite .....	161
4.8.6	Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması.....	163
4.9	Sedir Kabuğu için Uygun Ekstraksiyon Yönteminin Seçilmesi.....	166
4.10	Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Sığla Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi.....	169
4.10.1	Modelin Oluşturulması.....	170
4.10.2	Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi.....	172
4.10.3	Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	176
4.10.4	Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi.....	180
4.10.5	Antimikrobiyal Aktivite .....	185
4.10.6	Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması.....	185
4.11	Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Sığla Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi .....	188
4.11.1	Modelin Oluşturulması.....	189
4.11.2	Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi.....	190
4.11.3	Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi .....	194
4.11.4	Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi.....	200
4.11.5	Antimikrobiyal Aktivite .....	204
4.11.6	Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması.....	205
4.12	Sığla Kabuğu için Uygun Ekstraksiyon Yönteminin Seçilmesi .....	207
4.13	Optimum Şartlarda Üretilen Sedir, Sığla ve Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Ekstraksiyon Koşulları ve Biyoaktif Bileşenler Açısından Karşılaştırılması .....	211
4.14	Optimum Şartlarda Üretilen Sedir, Sığla ve Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Fenolik Profillerinin Belirlenmesi .....	213
4.15	Optimum Şartlarda Üretilen Sedir, Sığla ve Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Uçucu Bileşen Profillerinin Belirlenmesi.....	216
5.	SONUÇ VE ÖNERİLER .....	222
	KAYNAKLAR.....	224
	BİLİMSEL ETİK BEYANI .....	238
	ÖZ GEÇMİŞ.....	239

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AA:</b>	Antioksidan aktivite
<b>AAE:</b>	Askorbik asit eşdeğeri
<b>ANOVA:</b>	Varyans analizi
<b>BHT:</b>	Butil hidroksitoluen
<b>BHA:</b>	Butil hidroksianisol
<b>CAC :</b>	Uluslararası gıda kodeksi komisyonu
<b>CCD:</b>	Merkezi kompozit tasarım
<b>C.V.:</b>	Varyasyon katsayısı
<b>dk:</b>	Dakika
<b>DPPH:</b>	2,2-difenil 1-pikrilhidrazil
<b>EtOH:</b>	Etanol
<b>MeOH:</b>	Metanol
<b>FFD:</b>	Tam faktöriyel tasarım
<b>FRAP:</b>	Demir iyonu indirgeyici antioksidan güç
<b>GRAS:</b>	Genel olarak güvenli olduğu kabul edilen
<b>GAE:</b>	Gallik asit eşdeğeri
<b>GC-MS:</b>	Gaz kromatografisi kütle spektroskopisi
<b>HPLC:</b>	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
<b>M:</b>	Molarite
<b>MAE:</b>	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
<b>OD:</b>	D-optimal tasarım
<b>ODBÜ:</b>	Odun dışı bitkisel ürünler
<b>ODOÜ:</b>	Odun dışı orman ürünleri
<b>OGM:</b>	Orman Genel Müdürlüğü
<b>rpm:</b>	Dakikadaki devir sayısı
<b>PG:</b>	Propil galat
<b>r:</b>	Pearson korelasyon katsayısı
<b>RSM:</b>	Yanıt yüzey yöntemi
<b>R<sup>2</sup>:</b>	Regresyon katsayısı
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub>:</b>	Düzeltilmiş regresyon katsayısı
<b>SH:</b>	Ortalama standart hata

<b>TBHQ:</b>	Tersiyer butil hidroksikinon
<b>TEAC:</b>	Troloks eşiti antioksidan kapasite
<b>TFM:</b>	Toplam fenolik madde
<b>TRE:</b>	Ekstraktların trolox eşdeğeri
<b>UAE:</b>	Ultrason destekli ekstraksiyon
<b>%:</b>	Yüzde oran
<b>°C :</b>	Santigrat derece
<b>w/v:</b>	Kütle/hacim
<b>v/v:</b>	Hacim/hacim

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b> Genç çağında bir Toros Sediri (Dutkuner ve Akten, 2000) .....	29
<b>Şekil 2.2.</b> Anadolu sığla ağacının Türkiye’de yayılışı (Çengel vd., 2008) .....	30
<b>Şekil 2.3.</b> Sığla ormanından genel bir görünüm (Arslan ve Şahin, 2016).....	31
<b>Şekil 3.1.</b> Kurutulmuş ve öğütülmüş kestane kabukları .....	52
<b>Şekil 3.2.</b> Kurutulmuş ve öğütülmüş sedir kabukları .....	52
<b>Şekil 3.3.</b> Kurutulmuş ve öğütülmüş sığla kabukları .....	52
<b>Şekil 4.1.</b> Kestane kabuğu kullanılarak sabit sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, ekstraktların kuru madde içeriklerinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimi .....	69
<b>Şekil 4.2.</b> Sedir kullanılarak sabit sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, ekstraktların kuru madde içeriklerinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	70
<b>Şekil 4.3.</b> Sığla kullanılarak sabit sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, ekstraktların kuru madde içeriklerinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimi.....	71
<b>Şekil 4.4.</b> Kestane kabuğu kullanılarak sabit katı oranında gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, amplitüd değeri ve ekstraksiyon süresinin çözeltinin sıcaklığı üzerine etkisi .....	72
<b>Şekil 4.5.</b> Kestane kabuğu kullanılarak sabit katı oranında (%15) gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, amplitüd değeri ve ekstraksiyon süresinin, çözeltinin Briks değeri üzerine etkisi .	73
<b>Şekil 4.6.</b> Kestane kabuğu kullanılarak sabit katı oranı (%15) ve sabit amplitüd (%80) değerinde gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, çözücü tipinin çözelti sıcaklığı üzerine etkisi .....	74
<b>Şekil 4.7.</b> Çözücü su iken ve amplitüd değeri (%80) sabit tutularak kestane kabuğu ile gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, katı oranının sıcaklık üzerine etkisi .....	75
<b>Şekil 4.8.</b> Çözücü su iken, katı oranı (%25) ve amplitüd değeri (%80) sabit tutularak gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, kullanılan materyal/hammadde tipinin sıcaklık üzerine etkisi.....	76
<b>Şekil 4.9.</b> Çözücü su iken amplitüd değeri (%80) sabit tutularak kestane kabuğunda gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, katı oranının Briks değeri üzerine etkisi .....	76
<b>Şekil 4.10.</b> Sabit katı oranı (%25) ve sabit amplitüd değerlerinde (%80), kestane, sedir ve sığla olmak üzere üç farklı materyal kullanılarak su ile gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde materyal tipinin sıcaklık üzerine etkisi .....	77



<b>Şekil 4.11.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	83
<b>Şekil 4.12.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	84
<b>Şekil 4.13.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	84
<b>Şekil 4.14.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	85
<b>Şekil 4.15.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	87
<b>Şekil 4.16.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	88
<b>Şekil 4.17.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	89
<b>Şekil 4.18.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	89
<b>Şekil 4.19.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	92
<b>Şekil 4.20.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	93
<b>Şekil 4.21.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	93

<b>Şekil 4.22.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	94
<b>Şekil 4.23.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	104
<b>Şekil 4.24.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	105
<b>Şekil 4.25.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	105
<b>Şekil 4.26.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	106
<b>Şekil 4.27.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	108
<b>Şekil 4.28.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	109
<b>Şekil 4.29.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	110
<b>Şekil 4.30.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	110
<b>Şekil 4.31.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	113
<b>Şekil 4.32.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	114

<b>Şekil 4.33.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	114
<b>Şekil 4.34.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	115
<b>Şekil 4.35.</b> Kestane kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın <i>Escherichia coli</i> (a), <i>Listeria monocytogenes</i> (b) ve <i>Staphylococcus aureus</i> (c) suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon çapları.....	122
<b>Şekil 4.36.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	127
<b>Şekil 4.37.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	128
<b>Şekil 4.38.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	129
<b>Şekil 4.39.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	130
<b>Şekil 4.40.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	132
<b>Şekil 4.41.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	133
<b>Şekil 4.42.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45°C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	134
<b>Şekil 4.43.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	134

<b>Şekil 4.44.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	138
<b>Şekil 4.45.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	139
<b>Şekil 4.46.</b> İşlem değişkenleri erkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	139
<b>Şekil 4.47.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45°C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	140
<b>Şekil 4.48.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	148
<b>Şekil 4.49.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	150
<b>Şekil 4.50.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	151
<b>Şekil 4.51.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	151
<b>Şekil 4.52.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	154
<b>Şekil 4.53.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	155
<b>Şekil 4.54.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	155

<b>Şekil 4.55.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	156
<b>Şekil 4.56.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	158
<b>Şekil 4.57.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	159
<b>Şekil 4.58.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	160
<b>Şekil 4.59.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	160
<b>Şekil 4.60.</b> Sedir kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın <i>Escherichia coli</i> (a), <i>Listeria monocytogenes</i> (b) ve <i>Staphylococcus aureus</i> (c) suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon çapları.....	168
<b>Şekil 4.61.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	173
<b>Şekil 4.62.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	174
<b>Şekil 4.63.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	175
<b>Şekil 4.64.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	175
<b>Şekil 4.65.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	178

<b>Şekil 4.66.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	179
<b>Şekil 4.67.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	179
<b>Şekil 4.68.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	180
<b>Şekil 4.69.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	182
<b>Şekil 4.70.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	183
<b>Şekil 4.71.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	183
<b>Şekil 4.72.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	184
<b>Şekil 4.73.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sığla kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	192
<b>Şekil 4.74.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	193
<b>Şekil 4.75.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	193
<b>Şekil 4.76.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	194

<b>Şekil 4.77.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	196
<b>Şekil 4.78.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	197
<b>Şekil 4.79.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	198
<b>Şekil 4.80.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	199
<b>Şekil 4.81.</b> Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği .....	202
<b>Şekil 4.82.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	202
<b>Şekil 4.83.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	203
<b>Şekil 4.84.</b> İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği.....	203
<b>Şekil 4.85.</b> Sığla kabuğundan ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın <i>Escherichia coli</i> (a), <i>Listeria monocytogenes</i> (b) ve <i>Staphylococcus aureus</i> (c) suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon çapları.....	210
<b>Şekil 4.86.</b> Optimum koşullarda üretilen kestane kabuğu ekstraktı için sırasıyla 280 nm (a), 320 nm (b), ve 360 nm'de (c) elde edilen kromatogramlar.....	214
<b>Şekil 4.87.</b> Optimum koşullarda üretilen sedir kabuğu ekstraktı için sırasıyla 280 nm (a), 320 nm (b), ve 360 nm'de (c) elde edilen kromatogramlar.....	215
<b>Şekil 4.88.</b> Optimum koşullarda üretilen sığla kabuğu ekstraktı için sırasıyla 280 nm (a), 320 nm (b), ve 360 nm'de (c) elde edilen kromatogramlar.....	216

<b>Şekil 4.89.</b> Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen kestane ekstraktının uçucu bileşenlerine ait kromatogram .....	217
<b>Şekil 4.90.</b> Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sedir ekstraktının uçucu bileşenlerine ait kromatogram.....	219
<b>Şekil 4.91.</b> Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sığla ekstraktının uçucu bileşenlerine ait kromatogram.....	221



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Gıda olarak kullanılan odun dışı bitkisel ürünler (Bağcı vd., 2016; Büyükgebiz vd., 2008).....	33
<b>Çizelge 2.2.</b> Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Balasundram vd., 2006).....	34
<b>Çizelge 3.1.</b> D-optimal birleşik dizayn deneme deseni için değişkenler ve seviyeleri .....	56
<b>Çizelge 3.2.</b> Kestane kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı .....	57
<b>Çizelge 3.3.</b> Kestane kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı .....	58
<b>Çizelge 3.4.</b> Sedir kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı .....	59
<b>Çizelge 3.5.</b> Sedir kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı .....	60
<b>Çizelge 3.6.</b> Sığla kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı .....	61
<b>Çizelge 3.7.</b> Sığla kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı .....	62
<b>Çizelge 4.1.</b> Kestane, sedir ve sığla kabuklarının fiziksel ve kimyasal özellikleri .....	68
<b>Çizelge 4.2.</b> Kestane kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar.....	79
<b>Çizelge 4.3.</b> Kestane kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda modelin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler.....	81
<b>Çizelge 4.4.</b> Geleneksel yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	82
<b>Çizelge 4.5.</b> Geleneksel yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	86
<b>Çizelge 4.6.</b> Geleneksel yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	91
<b>Çizelge 4.7.</b> Geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve evaporasyon işlemine tabi tutulan kestane kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi .....	96
<b>Çizelge 4.8.</b> Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar.....	98

<b>Çizelge 4.9.</b> Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları .....	99
<b>Çizelge 4.10.</b> Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	99
<b>Çizelge 4.11.</b> Kestane kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar.....	101
<b>Çizelge 4.12.</b> Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde modellerin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler .....	102
<b>Çizelge 4.13.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu .....	103
<b>Çizelge 4.14.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu .....	108
<b>Çizelge 4.15.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen keestane kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	112
<b>Çizelge 4.16.</b> Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve evaporasyon işlemine tabi tutulan kestane kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi .....	117
<b>Çizelge 4.17.</b> Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar.....	118
<b>Çizelge 4.18.</b> Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları .....	119
<b>Çizelge 4.19.</b> Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	120
<b>Çizelge 4.20.</b> Kestane kabuğundan farklı ekstraksiyon yöntemleri ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troloks /g kuru madde) değerleri .....	121
<b>Çizelge 4.21.</b> Kestane kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın kuru madde içeriği (%), TFM içeriği (mg GAE/g kuru ağırlık), AA (mg troloks /g kuru ağırlık) değeri ve antimikrobiyal aktivitesi.....	121
<b>Çizelge 4.22.</b> Sedir kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar.....	124
<b>Çizelge 4.23.</b> Sedir kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda modelin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler .....	126
<b>Çizelge 4.24.</b> Geleneksel yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu .....	127
<b>Çizelge 4.25.</b> Geleneksel yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	131

<b>Çizelge 4.26.</b> Geleneksel yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının AA üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	137
<b>Çizelge 4.27.</b> Geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve evaporasyon işlemine tabi tutulan sedir ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi .....	143
<b>Çizelge 4.28.</b> Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar.....	144
<b>Çizelge 4.29.</b> Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları .....	145
<b>Çizelge 4.30.</b> Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	145
<b>Çizelge 4.31.</b> Sedir kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar.....	146
<b>Çizelge 4.32.</b> Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde modellerin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler .....	147
<b>Çizelge 4.33.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu .....	149
<b>Çizelge 4.34.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	153
<b>Çizelge 4.35.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	157
<b>Çizelge 4.36.</b> Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi .....	163
<b>Çizelge 4.37.</b> Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar.....	164
<b>Çizelge 4.38.</b> Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları .....	165
<b>Çizelge 4.39.</b> Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	165
<b>Çizelge 4.40.</b> Sedir kabuğundan farklı ekstraksiyon yöntemleri ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troluks /g kuru madde) değerleri .....	166
<b>Çizelge 4.41.</b> Sedir kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın kuru madde içeriği (%), TFM içeriği (mg GAE/g kuru ağırlık), AA (mg troluks /g kuru ağırlık) değeri ve antimikrobiyal aktivitesi.....	167
<b>Çizelge 4.42.</b> Sığla kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar.....	170
<b>Çizelge 4.43.</b> Sığla kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda modelin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler .....	172

<b>Çizelge 4.44.</b> Geleneksel yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu .....	173
<b>Çizelge 4.45.</b> Geleneksel yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	177
<b>Çizelge 4.46.</b> Geleneksel yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	182
<b>Çizelge 4.47.</b> Geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi .....	185
<b>Çizelge 4.48.</b> Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar.....	186
<b>Çizelge 4.49.</b> Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları .....	187
<b>Çizelge 4.50.</b> Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	188
<b>Çizelge 4.51.</b> Sığla kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar.....	189
<b>Çizelge 4.52.</b> Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde modellerin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler .....	190
<b>Çizelge 4.53.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu .....	191
<b>Çizelge 4.54.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	196
<b>Çizelge 4.55.</b> Ultrasonik yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu.....	201
<b>Çizelge 4.56.</b> Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi .....	204
<b>Çizelge 4.57.</b> Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar.....	206
<b>Çizelge 4.58.</b> Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları .....	206
<b>Çizelge 4.59.</b> Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması.....	207
<b>Çizelge 4.60.</b> Sığla kabuğundan farklı ekstraksiyon yöntemleri ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troloks /g kuru madde) değerleri.....	208
<b>Çizelge 4.61.</b> Sığla kabuğundan ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın kuru madde içeriği (%), TFM içeriği (mg GAE/g kuru ağırlık), AA (mg troloks /g kuru ağırlık) değeri ve antimikrobiyal aktivitesi.....	209

<b>Çizelge 4.62.</b> Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sedir, sığla ve kestane kabuğu ekstraktlarının üretim koşulları ve TFM ve AA değerleri.....	211
<b>Çizelge 4.63.</b> Kestane kabuğu ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler ve alanları.....	217
<b>Çizelge 4.64.</b> Sedir kabuğu ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler ve alanları .....	219
<b>Çizelge 4.65.</b> Sığla kabuğu ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler ve alanları .....	221

## ÖZET

### TOROS SEDİRİ, SIĞLA AĞACI VE KESTANE KABUKLARI İÇİN OPTİMUM EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ BELİRLENMESİ VE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

**Erdoğdu Ö. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Programı, Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2021.**

**Amaç:** Toros sediri (*Cedrus Libani* A. Richard), sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Miller) ve kestane (*Castanea sativa* Mill) kabukları için optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi ve elde edilen ekstraktların biyoaktif özelliklerinin incelenmesi.

**Materyal ve Yöntem:** Tez çalışması kapsamında hammadde olarak odun dışı orman ürünlerinden olan Toros sediri, sığla ağacı ve kestane kabukları kullanılmıştır. Ekstraktların üretimi geleneksel katı sıvı ekstraksiyon ve ultrasonik ekstraksiyon olmak üzere iki farklı yöntem ile farklı karışım (su, etanol ve propanol oranı) ve proses değişkenleri (katı oranı, sıcaklık, süre ve amplitüd) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar ince film evaporatör kullanılarak konsantre hale getirildikten sonra ekstraktlara, kuru madde, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite, antimikrobiyal aktivite analizleri yapılmıştır. Ekstraksiyon koşulları maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir. Ayrıca, optimum koşullarda üretilen ekstraktların fenolik madde bileşimi ve uçucu bileşen profili de belirlenmiştir.

**Bulgular:** Kabuklardan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda optimum ekstraksiyon yöntem ve koşulları, ekstratların daha yüksek TFM içeriğine ve AA değerine sahip olması gibi avantajları açısından belirlenmiştir. Toros sediri kabuğu için optimum ekstraksiyon koşullarının, çözücü olarak etanol-propanol (1:9) karışımının kullanıldığı, %25 katı oranı, 57.3 °C sıcaklık ve 30 dk süre koşullarında gerçekleştirilen geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi olduğu tespit edilmiştir. Sığla ağacı kabuğu için optimum ekstraksiyon koşullarının, çözücü olarak suyun kullanıldığı %25 katı oranı %50 amplitüd ve 23 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyon yöntemi olduğu tespit edilmiştir. Kestane kabuğu için optimum ekstraksiyon koşullarının, çözücü olarak suyun kullanıldığı %15 katı oranı, 60 °C

sıcaklık ve 60 dk süre koşullarında gerçekleştirilen geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca en iyi antimikrobiyal etki gösteren materyal kestane kabuğu olarak belirlenmiştir.

**Sonuç:** Toros sediri, sığla ağacı ve kestane kabuklarından biyoaktif bileşenlerin ekstrakte edilmesinde, kullanılan ekstraksiyon yönteminin yanı sıra ekstraksiyon işleminde uygulanan karışım ve proses değişkenlerinin de oldukça etkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle pek çok faktörden etkilenen ekstraksiyon işleminin optimize edilmesinin oldukça önemli olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca bu çalışma atık durumunda odun dışı orman ürünlerinden olan Toros sediri, sığla ağacı ve kestane kabuklarının içerdiği biyoaktif bileşenler sayesinde ekonomiye katkı sağlayabilecek şekilde kullanılabilme potansiyeline işaret etmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Toros Sediri, Sığla Ağacı, Kestane Kabuğu, Bitkisel Ekstrakt, Ekstraksiyon

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF OPTIMUM EXTRACTION CONDITIONS FOR TOROS CEDAR, STYRAX TREE AND CHESTNUT SHELLS AND INVESTIGATION OF BIOACTIVE PROPERTIES OF EXTRACT

Erdoğdu Ö. Aydın Adnan Menderes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Food Engineer Program, Master Thesis, Aydın, 2021.

**Objective:** Determination of optimum extraction conditions for Taurus cedar (*Cedrus Libani* A. Richard), sweet gum tree (*Liquidambar orientalis* Miller) and chestnut (*Castanea sativa* Mill) bark and investigation of bioactive properties of extracted extracts.

**Material and Methods:** Within the scope of the thesis, Taurus cedar, sweet gum tree and chestnut barks, which are non-wood forest products, were used as raw materials. The extracts were produced using two different methods, traditional solid-liquid extraction and ultrasonic extraction, using a different mixture (water, ethanol and propanol ratio) and process variables (solid ratio, temperature, time and amplitude). After the extracts were concentrated using a thin film evaporator, dry matter, total phenolic substance, antioxidant activity, antimicrobial activity analyzes were performed on the extracts. Extraction conditions were optimized using the Desirability function approach to provide maximum total phenolic content and maximum antioxidant activity values. In addition, the phenolic composition and volatile component profile of the extracts produced under optimum conditions were determined. In addition, the material with the best antimicrobial effect was determined as chestnut bark.

**Results:** Optimum extraction methods and conditions for extracting bioactive compounds from barks with the highest TFM content and AA value were determined. It has been determined that the optimum extraction conditions for Taurus cedar bark are the traditional solid-liquid extraction method, using a mixture of ethanol-propanol (1:9) as a solvent, 25% solids ratio, 57.3 °C temperature and 30 min. It has been determined that the optimum extraction conditions for sweet gum bark are the ultrasonic extraction method using water as solvent, 25% solids ratio, 50% amplitude and 23 min time conditions. It has been determined that the optimum extraction conditions for chestnut bark are the traditional solid-liquid extraction method using water as solvent, 15% solids ratio, 60 °C temperature and 60 min time conditions.



**Conclusion:** It has been concluded that, in addition to the extraction method used, the mixture and process variables applied in the extraction process are very effective in the extraction of bioactive components from the bark of Taurus cedar, sweetgum tree and chestnut. Therefore, it was concluded that optimizing the extraction process, which is affected by many factors, is very important. In addition, this study indicates that Taurus cedar, sweetgum and chestnut shells, which are non-wood forest products in the case of waste, contain important bioactive components and these components can be used in a way that can contribute to the economy.

**Keywords:** Taurus Cedar, Sweet Gum Tree, Chestnut Bark, Herbal Extract, Extraction

# 1. GİRİŞ

Gıda maddelerinin raf ömrünün uzatılmasında ve depolanmasında; oksidatif bozulmaya karşı ticari antioksidanlar, mikrobiyel bozulmalara karşı antimikrobiyel maddeler gıda katkı maddeleri olarak kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde genellikle kullanılan sentetik antioksidanlar butil hidroksitoluen (BHT), tersiyer butil hidroksikinon (TBHQ), butil hidroksianisol (BHA) ve propil galatlardır (PG). Bu sentetik antioksidanlar etkin, stabil ve ucuz olmalarına karşın, bunların yan etkilerinin olduğunun tespit edilmesiyle birlikte çeşitli bitkilerin antioksidan aktiviteleri etkileri pek çok kez çalışılmıştır ve ilgi uyandırmaktadır (Deveci vd. 2016; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu 2013).

Aromatik bitkiler başta olmak üzere bitkilerin çoğu, antioksidan ve antimikrobiyal özelliklere ek olarak anti-kanser, anti-diyabetik, anti-enflamatuar, antidepresan ve antiülserojenik gibi insan sağlığına olan yararları ile bilinmektedir. Aromatik bitkilerden çeşitli şekillerde elde edilen bitkisel ekstraktlar sadece doğal bir antioksidan ve antimikrobiyal kaynağı olmakla kalmayıp, aynı zamanda gıda ve insan sağlığına da yarar sağladıkları için bitkilerin doğal antioksidan kaynakları olarak kullanılmalarını araştıran çalışmaların sayısı artmaktadır (Dorman vd., 1995, Tomaino vd., 2005). Günümüzde doğal kaynaklardan elde edilen birçok antimikrobiyal madde, kimyasal maddelere alternatif doğal koruma yöntemleri olarak kullanılmaktadır. Antimikrobiyal özelliklerinin yanı sıra antioksidan maddeler yönünden de zengin olan bitkisel ekstraktlar, gıdaların mikrobiyolojik kalitesinin yanında kimyasal kalitesi açısından da raf ömrünün arttırılmasında rol oynamaktadır (Nostro vd, 2000; Sartoratto vd, 2004; El-Shazly vd, 2002).

Tarıma dayalı endüstri dalları arasında gıda sanayinin pek çok dalında önemli miktarlarda katı atık ortaya çıkmaktadır. Bunların bir kısmına hayvan yeminde olduğu gibi bir talep olurken, bir kısmı yakıt olarak kullanılmakta, önemli bir kısmı katı atık olarak doğaya bırakılmaktadır. Ekonomik nedenler ve çevresel faktörler göz önünde bulundurulduğunda, son yıllarda bu atıkların değerlendirilmesi yönündeki çalışmalar giderek artmakta; hammaddenin ve enerjinin korunması açısından yeni uygulamalara gereksinim duyulmaktadır (Tavman vd., 2009; Zoral ve Turgay, 2014).

Ekstraksiyon işlemi, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrileri açısından oldukça önemli bir işlemdir.. Bitki materyallerinden farklı biyoaktif bileşiklerin, verimli bir şekilde ekstrakte edilmesi oldukça güç bir işlemdir. Şimdiye kadar, bir kaynaktan, hedef biyoaktif bileşik ekstraksiyonu için benimsenebilecek tek bir ekstraksiyon yöntemi mevcut değildir (Zia vd., 2020). Bir materyalden, istenen bir bileşiğin ekstraksiyonunu gerçekleştirmek amacıyla

kullanılacak tekniğin seçiminde; ekstraksiyon etkinliği (ekstrakt kalitesi ve verim) ve işlemin tekrarlanabilirliği, uygulanan prosedürün kolaylığı, süre, işleme maliyeti, tüketici ve çevrenin korunması gibi faktörler oldukça önemlidir (Rombaut vd., 2014). Uzun ekstraksiyon süresi, nispeten büyük miktarda solvent ve enerji gereksinimi gibi geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde karşılaşılan olumsuzlukların giderilmesinden yola çıkılarak, yeni ekstraksiyon tekniklerinin geliştirilmesini sağlamıştır (Azmir vd., 2013) Bununla birlikte biyoaktif bileşiklerin kazanımında kullanılan ekstraksiyon işlemi pek çok faktörden etkilenmektedir. Bu nedenle ekstraksiyonun en verimli şekilde gerçekleşmesi için bu işlemin optimize edilmesi oldukça önemlidir.

Toros sediri (*Cedrus libani* A. Rich.) ve sığla (*Liquidambar orientalis* Miller) ağaçları ülkemizde doğal olarak yetişir. Ormanda üretim kesimleri sonucu ortaya çıkan atık durumundaki Toros sediri kabukları, sığla yağı pres atığı olan günlük kabuklarından elde edilen ekstraktlarının fonksiyonel özelliklerinin araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmaktadır (Derwich vd. 2010; Gönültaş ve Sarıalan 2017; Okmen vd. 2014; onaran 2018; Yapıcı vd. 2015) Benzer şekilde, kestane ağacı (*Castanea sativa* Mill.) meyvelerinin işlenmesinde açığa çıkan bir atık olan kestane kabuğunun fonksiyonel özellikleri de araştırılmıştır (Günel vd., 2016; Monica Vella vd., 2018; Squillaci vd., 2018). Ancak, literatürde farklı çözücü tipi, katı/çözücü oranı, süre ve ekstraksiyon koşulları kullanılarak, farklı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstraktların biyoaktif özelliklerine bağlı olarak karışım ve proses değişkenlerinin optimizasyonuna yönelik bir çalışma mevcut değildir. Bu nedenle biyoaktif ekstraktların elde edilmesi amacıyla, Toros sediri, sığla ve kestane kabukları düşük maliyetli ve fonksiyonel doğal kaynaklar olarak seçilmiştir.

Bu tez çalışmasının amacı, ormanda üretim kesimleri sonucu ortaya çıkan atık durumundaki Toros sediri kabukları, sığla yağı pres atığı olan günlük kabukları ve kestane işlemede açığa çıkan meyve kabuklarından iki farklı yöntemle (geleneksel katı sıvı ekstraksiyon ve ultrasonik ekstraksiyon) farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak ekstrakt elde edilmesi ve elde edilen ekstraktların biyoaktif özelliklerinin analizlerle (toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve antimikrobiyal aktivite) belirlenerek her bir materyal için en iyi ekstraksiyon yöntemi ve optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesidir.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Odun Dışı Orman Ürünleri (ODOÜ)

İnsanlık tarihi boyunca orman ürünlerinden sadece odun hammaddesi elde etmek için yararlanılmamıştır. Ormanlardan odun hammaddesi olarak yararlanma biçimi ormanlardan yararlanmanın sadece bir boyutudur. İlaç, gıda, barınma ve farklı diğer nedenlerle her türlü bitki ve bitkisel materyallerin toplanması ve farklı amaçlarla kullanılması yararlanmanın başka bir boyutunu oluşturmaktadır (Altunel, 2012).

1995 yılında yayınlanan Orman Genel Müdürlüğü'nün (OGM) tebliğinde ODOÜ tanımı “bazı orman ağaç ve ağaççıklarının gövdelerine tekniğine uygun metotla yara açmak suretiyle elde olunan reçine, sığla yağı gibi balzamik yağlar, defne, okaliptus gibi ağaç ve ağaççıkların yaprakları, mazi, palamut, sumak, mahlep, menengiç, çamfıstığı gibi meyvelerle bazı ağaç ve ağaççıkların gövde kabukları, ince dal ve sürgünleri ile, gerek orman altı florayı teşkil eden gerekse orman rejimine giren sahalarda yayılış gösteren kekik, adaçayı, eğrelti otu, nane, pelin otu, hardal gibi ağaççık, çalı, çalimsı görünüşteki bitkiler ile, otsu, rizomlu yumrulu ve soğanlı bitkiler” şeklinde yapılmıştır (OGM, 1995).

OGM odun dışı orman ürünlerini, 2016 yılında yayınladığı tebliğde ise, “ormanlardan ve ağaçlardan elde edilen odun dışındaki biyolojik ve mineral kökenli ürünler ile kabuk, yonga, çalı, kök, kütük, kozalak gibi odun üretimi sırasında açığa çıkan diğer ürünleri, mantarlar, orman humusu ve örtüsü” şeklinde tanımlanmıştır (Ok ve Tengiz, 2018).

Meyve, sebze, baharat, mantar, bal, çay gibi gıda ürünleri; yapışkanlar, mum, dolgu materyalleri, reçine, ip gibi malzeme ve imalat ürünleri; aromatik yağlar, ilaçlar, bitkisel sağlık ürünleri, temel yağlar, parfümler gibi sağlık ve kişisel bakım ürünleri; ahşap el ürünleri, yılbaşı ağaçları, kozalak, kabuk ürünler, çiçek aranjmanları, doğal boyalar gibi dekoratif ve estetik ürünler; çeşitli ağaçlar, yabani çiçekler, çalılar, otlar gibi peyzaj ve bahçe ürünleri ODOÜ kapsamında değerlendirilir (Chamberlain, 2004; Davidson-Hunt vd., 2001; Mohammed, 2001; Ok ve Tengiz, 2018).

Odun dışı orman ürünleri birçok amaç için kullanılmasının yanı sıra kültürü muhafaza etme kırsal ekonomiyi kalkındırma ve biyolojik çeşitliliği sağlama gibi çeşitli fırsatlar da sunmaktadır. Yüzyıllar boyunca orman alanlarına yakın yaşayan insanlar odun dışı orman ürünlerinden yararlanmıştır (Kar ve Jacobson, 2012).

Odun dışı orman ürünlerinin önemli kısmını Odun Dışı Bitkisel Ürünler (ODBÜ) oluşturmaktadır. Bununla birlikte genel olarak ODOÜ denildiğinde ODBÜ akla gelmektedir.

Türkiye’de odun dışı bitkisel ürünler değerlendirildiğinde OGM’nin üretim miktarı ve elde edilen gelir bakımından, fıstık çamı, defne, kekik ve adaçayı gibi türler ön plana çıkmaktadır (Türker ve Berker, 2017).

### 2.1.1 Toros Sediri

Cedrus cinsinin ve *C.libani*, *C.atlantica*, *C. Brevisfolia* ve *C.deodora* olmak üzere dört türü vardır. Bu ağaç türlerinin odunları birbirine benzer karakterlere sahip olduğu için pratik bakımdan ayrılmaları zordur (Bozkurt ve Erdin, 1997).

*Cedrus Libani* A. Richard sedir türü, Türkçe Toros sediri, Lübnan sediri veya katran ağacı; İngilizce Cedar of Lebanon olarak adlandırılmaktadır ve adını “kozalaklı ağaç” anlamına gelen “Kedros” kelimesinden almıştır (Dutkuner ve Akten, 2000; Bal vd., 2011). Lübnan sediri, Coniferae sınıfının, Pinaceae familyasının Cedrus cinsindedir. Kırk metre yüksekliğe ulaşabilen, yaprak dökmeyen bu tür esas yayılışını Toros dağlarında yapmasına ve Lübnan’da sınırlı bir yayılış göstermesine rağmen dünya literatürüne Lübnan Sediri olarak girmiştir ve bununla birlikte Lübnan bayrağında sembol olarak yerini almıştır (Berkel, 1951; Dutkuner ve Akten, 2000). Türkiye’de önemli miktarda yayılış gösteren bu tür, yarı nemliden, stepe kadar farklı iklim tiplerinde, takriben 500 ile 2400 m yükseklikler arasında değişik yetiştirme ortamlarına uyum sağlamış durumdadır (Ayan vd. Gülseven 2017).

Genç yaşlarda ağaç gövdesi piramidal bir şekle sahiptir (Şekil 2.1). Tepe kısmı ileri yaşlarda şemsiye gibi açılır (Dutkuner ve Akten, 2000).

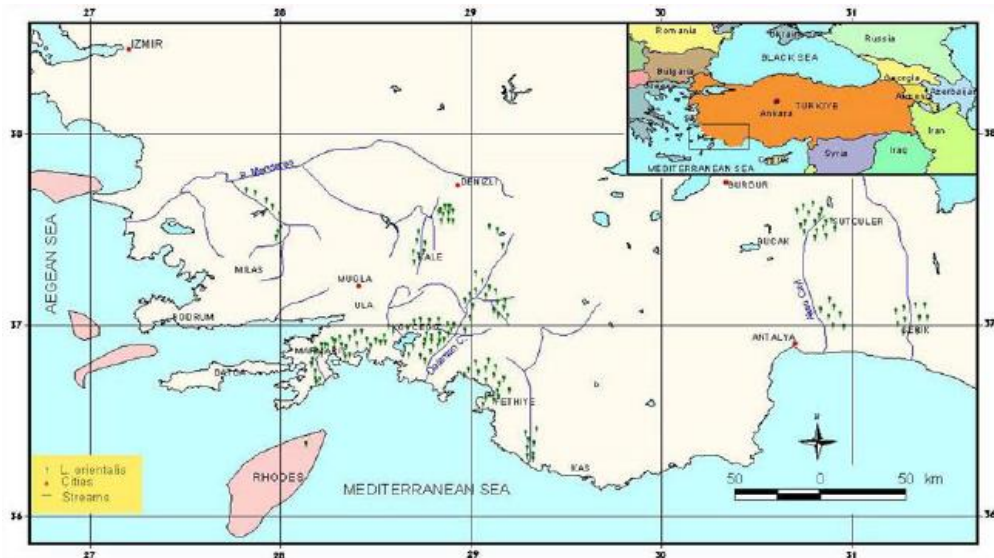


Şekil 2.1. Genç çağında bir Toros Sediri (Dutkuner ve Akten, 2000)

Türkiye’de genetik çeşitliğin korunması amacıyla Toros sediri için; 21 adet 2709 hektar gen koruma ormanı, 22 adet 3437.8 hektar tohum meşçeresi ve 9 adet 60.55 hektar tohum bahçesi tesis edilmiştir (Ayan vd., 2017).

### 2.1.2 Sığla Ağacı

Amber ağacı, Mia pelesengi, Miai sail, buhur ağacı, Revgani suğla olarak da adlandırılan Anadolu sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Miller) *Hamamelidaceae* familyasından, *Bucklandioidae* alt familyasının, *Liquidambar* cinsi olarak Türkiye’de yayılış gösteren ve geleneksel olarak “günlük ağacı” olarak tanımlanan bir türdür (Arslan ve Şahin, 2016; Aydingöz ve Bulut, 2014). Sığla ağacının Dünya genelinde Kuzey yarım kürede Amerika’da (*L. styraciflua* ve *L. macrophylla*) ve Asya’da (*L. formosana* ve *L. edentata*) ikişer adet olmak üzere toplam dört türü daha bulunmaktadır. Ülkemizde kapladığı alan 1950’li yıllardan sonra hızla azalan Anadolu sığla ağacının esas yayılış gösterdiği yer Türkiye’nin güneybatısıdır. Yoğun yayılış gösterdiği yöreler Muğla’nın Marmaris, Dalaman, Fethiye, Köyceğiz ve Ula ilçeleridir. Ayrıca Aydın, Burdur, Denizli ve Antalya illerinin bazı bölgelerinde az miktarda yayılış göstermektedir. *Liquidambar orientalis* Miller’in ülkemiz için endemik olup olmadığına dair araştırmacılar arasında fikir birliği olmasa da yaygın görüş endemik olduğudur. Anadolu sığla ağacının Türkiye’deki yayılışı Şekil 2.2’de gösterilmektedir (Arslan ve Şahin, 2016).



Şekil 2.2. Anadolu sığla ağacının Türkiye’de yayılışı (Çengel vd., 2008)

Kentleşme ve tarım politikaları gibi insan müdahalelerinden ve doğal nedenlerden dolayı yaklaşık elli yıllık bir süre içerisinde ülkemizde Anadolu sığla varlığında önemli bir azalma olmuştur (Ürker, 2014).

Subtropikal iklim özellikleri görülen sıcak, nemli ve suyu bol yerlerde yetişen Anadolu sığıla ağacı, ortalama çapı 100 cm ye kadar ulaşabilen, 30-35 m boya sahip ve 200-300 yıl yaşayabilen uzun ömürlü bir türdür. Kalın dallı, yuvarlak tepeli bir ağaç olup, gençken grimsi ve çatlaksız, yaşlandıkça grimsi kahverengi ve düzensiz çatlaklı kabuk yapısına sahiptir (Arslan ve Şahin, 2016; Onaran, 2018). Şekil 2.3'te sığıla ormanından bir görünüm verilmiştir.



**Şekil 2.3.** Sığıla ormanından genel bir görünüm (Arslan ve Şahin, 2016)

*L. orientalis*, ekolojik ve biyocoğrafik öneme sahip olmasının yanı sıra bu ağacın odunundan daha ziyade odun dışı orman ürünü olarak değerlendiren balsamı önem kazanmıştır. Kahverengimsi sarı renkte olan Sığıla yağı (Styrax storax, Styrax liquids, Orientalis sweet gum, Levant styrax) adı verilen bir balzamin elde edilmesi nedeniyle ekonomik açıdan da çok önemli bir odun dışı orman ürünüdür. Sığıla yağı ülkemizde bulunan *L. orientalis*'in dışında sadece Orta Amerika'da bulunan *L. styraciflua*'dan elde edilmektedir (Arslan ve Şahin 2016; Aydingöz vd. 2014).

### 2.1.3 Kestane

Yüzyıllardır insanoğlu bitkileri başta besin kaynağı olmak üzere ilaç, yakacak, barınma, sanayi hammaddesi gibi farklı amaçlarla kullanmaktadır. Bitkilerden elde edilen meyve, kabuk, kök, yaprak, tohum, reçine ve benzeri ürünler genellikle orman veya orman içi açıklıklardan elde edilmektedir. Ülkemiz ormanlarında doğal olarak yetişen ve Fagaceae'nin anjiyosperm familyasına ait bir tür olan Anadolu kestanesi (*Castanea sativa* Mill), meyvesinin gıda olarak kullanılmasıyla öne çıkmakta ve uzun yıllardır yetiştirilmektedir. Ülkemiz kestanenin gen merkezlerindedir ve aynı zamanda kestanenin ilk kültüre alındığı alanlardandır (Squillaci vd. 2018; Tuttu vd. 2021).

Kestane, fenolik bileşiklerdeki zenginliği ve antioksidan aktivitesi ile dikkat çeken bir meyvedir. Dünya çapında üretilen kestanenin büyük bir kısmı taze olarak tüketilirken, bir kısmı

da işlenmiş ürün olarak özellikle glütensiz diyetlerde kullanılmaktadır (Günel vd. 2016; Squillaci vd. 2018). Bununla birlikte yaprak, iç kabuk, dış kabuk kestanenin yan ürünleridir. Araştırmacılara göre, kestane yan ürünleri antioksidan ve fenolik bileşikler için iyi bir kaynaktır. Kestane kabuğu, kestane ağırlığının %10'unu oluşturur ve kestane kabuğu bakımından da ilgi çekmektedir. Kestane kabuğu sahip olduğu yüksek fenolik içeriği ve antioksidan özellikleri ile değerli bir gıda yan ürünüdür. Kestane kabuğundaki pigmentlerinin renklendirme etkisinin altını çizen araştırmalar olmasının yanı sıra kestane kabuğu gıda endüstrisinde neredeyse hiç kullanılmaz (Barreira vd. 2008; Günel vd. 2016; Ribeiro vd. 2007).

Gıda endüstrisinde kestane şekeri, kestane püresi, kestane unu gibi ürünlerin üretiminde kullanılan 7000 ton kestane olduğu düşünüldüğünde kestane yan ürünlerinden biri olan kestane kabuğunun daha pratik uygulamalar için kullanılması önem kazanmaktadır (Seo vd., 2016; Squillaci vd., 2018).

## **2.2 Odun Dışı Orman Ürünlerinin Gıda ve Gıda Bileşeni Olarak Kullanımı**

Doğal nitelikte olan odun dışı bitkisel ürünler ilave bir yetiştirme ve bakım maliyeti gerektirmemesinin yanı sıra ve gıda endüstrisinden tıp alanına varıncaya kadar, geniş bir yelpazede kullanım alanına sahiptir (Türker vd., 2006). Çizelge 2.1'de gıda olarak kullanılan odun dışı bitkisel ürünlere örnekler verilmiştir.



**Çizelge 2.1.** Gıda olarak kullanılan odun dışı bitkisel ürünler (Bağcı vd., 2016; Büyükgebiz vd., 2008)

Yöresel adı	Bilimsel adı	Kullanımı
Salep	<i>Orchis anatolica</i> L.	Gıda, dondurma yapımı
Ceviz	<i>Juglans regia</i> L.	Gıda
Sumak	<i>Rhus coriaria</i> L.	Baharat
Nane	<i>Mentha piperita</i> L.	Baharat
Ebe gümeçi	<i>Malva sylvestris</i> L.	Gıda
Kekik	<i>Thymus sipyleus</i> Boiss. subsp. <i>sipyleus</i> var. <i>Sipyleus</i>	Baharat
Semiz otu	<i>Portulaca oleracea</i> L.	Gıda
Taş nanesi	<i>Micromeria fruticosa</i> (L.)	Baharat
Çıtlık	<i>Pistacia terebinthus</i> L. subsp. <i>palaestina</i> (Boiss.) Engler	Gıda
Mersin	<i>Myrtus communis</i> L. subsp. <i>communis</i>	Gıda
Eşek marulu	<i>Sonchus asper</i> (L.) Hill.	Gıda
Köpek marulu	<i>Taraxacum officinalis</i> Web.	Gıda
Karamuk	<i>Berberis crataegina</i> DC.	Gıda, reçel yapımı
Kuşkuş otu	<i>Capsella bursa-pastoris</i> (L.) Medik	Gıda
Yabani ıspanak	<i>Chenopodium album</i> L.	Gıda
Dereotu	<i>Anethum graveolens</i> L.	Gıda
Turp otu	<i>Raphanus raphanistrum</i> L.	Gıda

Bazı odun dışı bitkisel ürünler doğrudan gıda olarak tüketilebilir. Bunun yanı sıra bitkisel ürünlerden çeşitli yöntemlerle elde edilen ekstraktlar; biyoaktif bileşikler, yağlar, aromatik maddeler, fitokimyasallar ve renk maddeleri içerirler ve bu ekstraktlardan gıda, eczacılık ve kozmetik endüstrisinde yararlanılmaktadır (Tavman vd., 2009).

### 2.3 Fenolik Bileşikler

Bitkilerdeki sekonder metabolitlerden olan fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları bir veya daha fazla hidroksil içeren aromatik halkalardan oluşur. Basit fenolik molekülden kompleks polimerlere kadar geniş bir aralığı kapsayan bu bileşikler polifenoller olarak da anılmaktadır (Bravo, 1998). Çizelge 2.2’de görüldüğü gibi polifenoller içerdikleri fenol halkalarına ve bu

halkaları birbirine bağlanmasına göre çeşitli gruplara ayrılmaktadır. Polifenollerin başlıca beş grupta incelenirler. Bunlar, fenolik asitler, flavonoidler, fenolik alkoller, stilbenler ve lignanlardır (Bisla vd. 2012; D Archivio vd. 2007). Fenolik bileşiklerin bir alt grubu olan flavonoidler merkezdeki piran halkasının oksidasyon durumuna göre; antosiyanidinler, flavonoller, flavanonlar, flavonlar, isoflavonlar, ve flavanoller olmak üzere kendi içinde altı alt gruba ayrılırlar (D Archivio vd. 2007).

**Çizelge 2.2.** Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması (Balasundram vd., 2006)

Sınıf	Kimyasal Yapı
Basit fenolikler, benzokuinonlar	C <sub>6</sub>
Hidroksibenzoik asitler	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>
Asetofenonlar, fenilasetik asitler	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub>
Hidroksisiamik asitler, fenilpropanoidler (kumarinler, izokumarinler)	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>
Naftokuinonlar	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>
Ksantonlar	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>
Stilbenler, antrakuinonlar	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>
Flavonoidler, izoflavonoidler	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>
Lignanlar, neolignanlar	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>
Biflavonoidler	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>2</sub>
Ligninler	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> ) <sub>n</sub>
Kondense tanninler (proantosiyanidinler veya flavolanlar)	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>

Fenolik bileşikler, değerli gıda bileşenleri arasında yer alır. Antioksidan, antimikrobiyal, antibakteriyal, antiviral ve antienflamatuvar, antikanser, antialerjenik etkilere sahip olan fenolik bileşikler bitkilerde farklı miktar ve nitelikte bulunur ve sağlığa olumlu etkileri nedeniyle insan diyetinde önemli bir yere sahip biyoaktif bileşiklerdir (Benavente-García ve Castillo, 2008; Puupponen-Pimia vd., 2001; Stevenson ve Hurst, y.y.; Zhao vd., 2004) .

Son yıllarda hızla artan gıda üretimine paralel olarak, gıda endüstrisinde oluşan endüstriyel atık miktarında da büyük ölçüde artış olmuştur. Dünyada üretilen tüm gıdaların üçte birinin tüketilmediği ve bundan dolayı her yıl yaklaşık 1,3 milyar ton atık üretildiği tahmin edilmektedir. Bunun sonucunda meydana gelen çevre kirliliği ve ekonomik kayıplar, gıda atıklarının değerlendirilmesi ile ilgili araştırmaların hız kazanmasını sağlamıştır. Bu atıkların ekonomiye kazandırılması yapılacak olan araştırmalarla mümkündür. Endüstriyel işlemler sırasında büyük miktarlarda oluşan gıda atıkları çevreye etkilerinden dolayı ciddi bir problem

olup, iyi bir şekilde yönetilmesi veya kullanılması gerekir. Açığa çıkan atıklar sağlık üzerine yararlı etkili olduğu düşünülen biyoaktif bileşikler bakımından da çok zengindir (Halkman, Atamer ve Ertaş 2000; Lucarini vd. 2018).

## 2.4 Antioksidan Maddeler

Uluslararası gıda kodeksi komisyonu (CAC) antioksidanları, “gıdada yağın acılaşması ve renk değişimleri gibi oksidasyon reaksiyonları sonucunda oluşan bozulmaları önleyerek raf ömrünü uzatan maddeler” olarak ifade etmektedir. Gıda maddelerinde lipid oksidasyonunun azaltılmasında veya engellenmesinde antioksidanların kullanımı, toksik oksidasyon ürünlerinin oluşumunu geciktirmek, besin değerini korumak ve gıdaların raf ömrünü uzatmak gibi amaçlarla uygulanan en etkili yollardan bir tanesidir (Boyd vd., 1993; Frankel, 1996).

Yaşam standartlarının yükselmesi, tüketicilerin gıda satın alırken özelliklerini ve sağlığa etkilerini sorgulamaya başlamaları, kanser ve kronik kalp rahatsızlıkları gibi hastalıklar nedeniyle ölüm oranlarının artması, araştırmacıların sigara, alkol stres gibi risk faktörleri ile beraber, tüketilen gıdaları ve biyolojik sistemleri de incelemelerini gerekli kılmıştır (Okan vd. 2013; Raciye vd. 2012). Bitkilerle vücuda alınan antioksidan maddelerin hücrelerin deforme olmasına neden olan oksijene ve vücuda giren diğer zararlı maddelerin etkisine karşı koruyucu etkisinin olması, doğal antioksidanlara olan ilgiyi arttırmaktadır Antioksidanlar, okside olabilen bileşiklerin oksidasyonunu önleyerek vücutta antibakteriyel, antikanserojen ve kalp-damar hastalıkları riskini azaltıcı rol oynar (Kris-Etherton vd., 2002).

Antioksidan maddeler elde edildiği kaynağa göre doğal antioksidanlar ve sentetik antioksidanlar şeklinde iki temel gruba ayrılırlar. Sentetik antioksidanlara örnek olarak butillendirilmiş hidroksianisol (BHA), tersiyerbutil hidrokinon (TBHQ), propil gallat (PG) ve butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) verilebilir. Doğal antioksidanlar ise hayvansal ve bitkisel dokularda doğal olarak bulunan ve gıdanın işlenmesi ile açığa çıkan veya ekstraksiyon işlemi ile elde edilmesi mümkün olan bileşenlerdir. Doğal antioksidan maddelere polifenoller, flavonoidler, vitamin C, karotenoidler, tokoferoller, fenolik asitler ve selenyum örnek verilebilir. Sentetik antioksidanların (BHA, BHT, PG ve TBHQ gibi) kanserojen etkilerinin ortaya çıkması ile doğal antioksidanlara karşı ilgi artmaktadır (Bomser vd., 1996). Antioksidan özellikteki diyet bileşenleri fenolik bileşikler, karotenoidler, organosülfür bileşenleri, vitaminler, mineraller ve benzeri bileşiklerdir. Gıdalarda en yaygın bulunan antioksidan grubu polifenol bileşenlerdir (Koca ve Karadeniz, 2005; Okan vd., 2013; Ratnam vd., 2006).

## 2.5 Ekstraksiyon

Ekstraksiyon işlemi, gıda, kozmetik ve ilaç endüstrileri açısından önem teşkil eden ve biyoaktif bileşiklerin kazanımında kullanılan bir ayırma tekniğidir. Bitki materyallerinden farklı biyoaktif bileşiklerin, eksiksiz ve verimli bir şekilde ekstrakte edilmesi çok güç bir işlemdir. Şimdiye kadar, her bir farklı kaynaktan, hedef biyoaktif bileşik ekstraksiyonu için benimsenebilecek tek bir ekstraksiyon yöntemi mevcut değildir (Zia vd., 2020). Bir materyalden, istenen bir bileşiğin ekstraksiyonunu gerçekleştirmek amacıyla kullanılacak tekniğin seçiminde; ekstraksiyon etkinliği (ekstrakt kalitesi ve verim) ve işlemin tekrarlanabilirliği, uygulanan prosedürün kolaylığı, süre, işleme maliyeti, tüketici ve çevrenin korunması gibi faktörler oldukça önemlidir (Rombaut vd., 2014). Uzun ekstraksiyon süresi, nispeten büyük miktarda solvent ve enerji gereksinimi gibi geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinde (solvent ekstraksiyonu, maserasyon, hidro veya buharla damıtma, sokslet ekstraksiyonu, sıkma veya soğuk işleme) karşılaşılan olumsuzlukların giderilmesinden yola çıkılarak, yeni ekstraksiyon tekniklerinin geliştirilmesini sağlamıştır (Azmir vd., 2013). Bu nedenle, daha az solvent tüketimi, daha kısa süre ve daha yüksek ekstraksiyon verimi ile yeni ekstraksiyon yöntemlerine yönelik sürekli artan bir talep vardır (Manzoor vd. 2019; Roobab vd. 2018; Wijngaard vd. 2012). Yoğun bir şekilde araştırılan, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve basınçlı sıvı ekstraksiyon gibi termal ve ultrason destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alan destekli ekstraksiyon ve süper kritik sıvı ekstraksiyonu gibi termal olmayan çeşitli ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiş ve bu tekniklerden bazıları, ABD Çevre Koruma Kurumu tarafından belirlenen standartlara uyduğu için “yeşil teknikler” olarak adlandırılmaktadır (Zia vd. 2020; EPA, 2017). Gelişmiş teknikler, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla daha kısa ekstraksiyon süresi, daha az enerji, daha düşük maliyet ve daha az organik solvent tüketimi gibi avantajlara sahip olabilmektedir (Chemat vd., 2017; Liu vd., 2018; Waheed vd., 2020). Bu ekstraksiyon yöntemlerinin etkinliği çözücünün tipi, çözücü özellikleri (polarite, akışkanlık vb.), çözücü miktarı, ekstraksiyon süresi, kullanılan materyalin partikül boyutu, proses parametreleri ve ekstrakte edilmesi hedeflenen biyoaktif bileşiklere bağlıdır Bu değişkenler elde edilen ekstrakt miktarını ve kalitesini etkilemektedir (Fellows, 2000; Monica Vella vd., 2018).

Bitkilerin yaprak, meyve, gövde ve çiçekleri gibi çeşitli kısımlarında bulunan biyoaktif bileşikler arasındaki çeşitlilik göz önünde bulundurulduğunda, insan sağlığı için yararlı etkiler taşıyan bu biyoaktif bileşiklerin ortaya çıkarılması için standart ve entegre bir yaklaşım gereklidir. Bu bağlamda bitki materyallerinde bulunan bu değerli bileşiklerin nicel ve nitel

analizinde ekstraksiyon işlemi çok önemlidir (Benthin vd. 1999; Farnsworth vd. 1985). Ekstraksiyon işlemi çoğu laboratuvar çalışmasının temel adımlarından bir tanesidir. Biyoaktif bileşiklerin tanımlanması ve en iyi ayırma işleminin yapılabilmesi numuneye en uygun ayırma tekniğinin uygulanması gerekir. Bitkisel ürünlerde bulunan biyoaktif bileşikler, kullanılan materyalin uygun bir çözücü içerisinde yeterli bir süre bekletilmesi suretiyle geleneksel ekstraksiyon yöntemleri uygulanarak ekstrakte edilebilir. Ekstraksiyon işlemi sırasında, farklı çözücüler kullanılarak farklı sıcaklık ve karıştırma uygulamaları sayesinde biyoaktif bileşiklerin kazanımı artırılmaktadır (Azmir vd., 2013; Büyüktuncel, 2012; Yağcıoğlu, 2015).

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda geleneksel yöntemlerin yanı sıra güncel yöntemler de kullanılmaktadır. Bu güncel tekniklerin öne çıkanları ultrasonik ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve süper kritik akışkan ekstraksiyonu işlemleridir. Bu güncel teknikleri geleneksel yöntemlerden ayıran en önemli özellikler solvent kullanımını azaltmaları, ekstraksiyon veriminde artış sağlamaları, ekstraksiyon süresini kısaltmaları ve ekstrakt kalitesini arttırmalarıdır (Wang ve Weller, 2006).

Hedeflenen biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edileceği örneğin özelliğine bağlı olarak farklı yöntemler kullanılarak farklı cihazlarda ekstraksiyon yapılabilmektedir (Büyüktuncel, 2012). Bu bağlamda hedef bileşiklerin en iyi şekilde ekstraksiyonu için en iyi ekstraksiyon yönteminin ve ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi oldukça önemlidir.

### **2.5.1 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon**

Ekstraksiyon işlemi, gıda proseslerinde, hammaddeden bir veya birden fazla değerli bileşenin ayrılması olarak tanımlanmaktadır (Kutlu vd., 2017; Lebovka ve Vorobiev 2012). Özellikle gıda, kozmetik, bitkisel kaynaklı ilaç endüstrileri için bitkisel materyallerden biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu oldukça önemlidir (Vinatoru vd., 2017).

Katı materyallerden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda, materyal uygun çözücü kullanılarak belirli şartlarda muamele edilir. Bu yöntem ile bitkilerin çeşitli kısımlarından bir sıvı aracılığıyla etken maddelerin izolasyonu sağlanır. Bitkisel materyal, çözücü içine bırakıldığında bir süre sonra hücre çözücü etkisiyle hemolize uğrar. Hücre çeperi parçalanmadan önce çözücünün hücre içerisine girmesi yavaş bir şekilde gerçekleşir. Dolayısıyla, bu olayın hızlanması için hücre çeperinin parçalanması gerekir. Bitkilerin çeşitli kısımlarından bileşenlerin ekstraksiyonu, ekstraksiyonun uygulama biçimlerine göre; infüzyon, sokslet, maserasyon, dekoksiyon, dijestiyon ve perkolasyon yöntemleriyle gerçekleştirilebilir (Kalın, 2018; Özden, 2004).

Katı bir materyalin bileşimindeki maddelerin birinin veya bir kısmının uygun bir çözücü kullanarak elde edilmesine dayalı katı sıvı ekstraksiyon işleminde ekstraksiyonun verimi; katı sıvı oranları, çözücü tipi, partikül boyutu, sıcaklık, pH, ve süre gibi faktörlerden etkilenmektedir (Topdaş ve Şengül 2019; İlbay, 2016)

Literatürde, bitki materyallerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu farklı çözücüler kullanılarak gerçekleştirilmiş ve yaygın olarak su, metanol, etanol veya bunların sulu çözeltileri kullanılmıştır. Çözücülerin polaritesi, bitki materyallerinden biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edilmesinde önemli rol oynar çünkü bu özellik, doğrudan solventin çözündürme kapasitesini etkilemektedir (Kutlu vd., 2021). Ekstraksiyon süresi, bitki materyallerinden, hedef çözünen maddelerin tamamen ekstraksiyonunu etkileyen önemli bir faktördür. Bununla birlikte ekstraksiyon süresi, enerji ve ekstraksiyon işleminin maliyetinden tasarruf sağlamak için önemli bir parametredir. Ekstraksiyon sıcaklığının artması, hem çözünebilirliği hem de difüzyon katsayısını artırdığından genellikle ekstraksiyon verimindeki artışla ilişkilidir. Bununla birlikte, yüksek sıcaklıkların ve yüksek ekstraksiyon sürelerinin kombinasyonu, ekstraktın antioksidan özelliklerini azaltarak fenoliklerin oksidasyonunu artırabilir ve arzu edilmeyen bileşiklerin de çözünmesine yol açabilir (Dai ve Mumper, 2010). Bu nedenle, süreci optimize etmek amacıyla bu değişkenlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

### **2.5.2 Ultrasonik Ekstraksiyon**

Ekstraksiyon, gaz giderme, köpük kırma, karıştırma, temizleme, kesme, enzim aktivitesinin inhibisyonu, mikrobiyal inaktivasyon, nemlendirme ultrasonun gıdalardaki mevcut ve potansiyel uygulamalarındandır (Fiocchi vd. 2010; Brennan, 2006).

Gıdalardan fenolik bileşiklerin izole edilmesi, tanımlanması ve nihayetinde kullanımında ekstraksiyon işlemi oldukça önemlidir. Fenolik bileşiklerin ekstrakte edilmesi için kullanılan yöntemler arasında en yaygın kullanılan yöntem genellikle çözücü ekstraksiyonudur. Ancak organik çözücülerin fazla miktarlarda kullanılması, çözücünün ekstrakt içinde kalması, atık sorunu, ekstraksiyon süresinin uzun olması ve en önemlisi buna bağlı olarak fenolik bileşiklerin kaybı gibi dezavantajları söz konusudur (Cavuldak vd., 2016; Ignat vd., 2011)

Ultrasonik dalgalar bir ortamda ilerlerken kütle transferine olan dirence etki eden bir dizi etkide bulunarak kütle transferini de kolaylaştırır (Tavman vd. 2009; Liang, 1993). Ultrasonik dalgaların yarattığı titreşim hareketi bir yandan sıvının karışmasını sağlarken diğer yandan materyalde seri şekilde gerçekleşen sıkışma ve genleşme meydana getirir. Bu olay katılarda “sünger etkisi” denilen, katının sürekli sıkılıp bırakılması gibi bir etki yapar. Bu etki katıdan

içindeki sıvının çıkmasına ve dış ortamdaki sıvının katının içine girmesini sağlar (Tavman vd. 2009; Floros ve Liang, 1994).

Bitkisel dokular ultrasona maruz kaldığında fiziksel değişiklikler meydana gelir. Ultrason etkisiyle bitkisel materyalin hücre duvarları hasar görür ve doku içindeki bileşenlerin ortaya çıkması ve ekstrakte edilmesi kolaylaşır. Aynı zamanda çözücüye bu bileşenlerin kütle transferi ile aktarımı artar. Bu nedenle ultrason destekli ekstraksiyon önemli bir potansiyele sahiptir (Li, Pordesimo ve Weiss 2004; Povey ve Mason, 1998; Vinatoru vd. 2017; Wu, Lin, ve Chau, 2000).

Ultrasonik ekstraksiyonu etkileyen parametreler ortam parametreleri ve fiziksel parametreler olarak başlıca iki grupta incelenebilir. Frekans, genlik, dalga boyu, reaktör tasarımı, prob şekli ekstraksiyon işlemini etkileyen fiziksel parametrelerdir. Çözücü özellikleri (buhar basıncı, yüzey gerilimi, viskozitesi) ve sıcaklık ortam parametrelerine örnek olarak verilebilir (Dedebaş vd., 2021; Koubaa vd., 2016).

Son yıllarda, ultrasonik ekstraksiyon, birçok matrsten hedeflenen bileşiklerin ekstraksiyonu için yaygın olarak kullanılmaktadır. Ultrasonik ekstraksiyonun, geleneksel ekstraksiyon tekniklerine etkili bir alternatif olduğu belirtilmektedir. Ultrasonik banyo veya ultrasonik prob üniteleri, ultrasonik ekstraksiyon uygulamalarında kullanılan iki farklı ekipmandır. Yapılan bir çok çalışmada, bitkilerden etkili bileşenleri çıkarmak için ultrasonik ekstraksiyonun kullanımı geleneksel ultrasonik banyoda gerçekleştirilmiştir (Wang vd., 2008a). Ultrasonik ekstraksiyonda, geleneksel ekstraksiyondan farklı olarak hedef maddeyi matrisinden ayırmak için yüksek güç ve düşük frekanslı ses dalgaları kullanılmaktadır. Solvent ortamına yayılan ses dalgaları, kavitasyonel kabarcıklar üreten alternatif yüksek/düşük basınç döngüleri ile sonuçlanmaktadır. Çöken kavitasyon kabarcıklarından üretilen enerji, çözücünün hücrel materyale daha fazla nüfuz etmesini sağlamak ve arayüzlere kütle transferini iyileştirmektedir. Bu teknikle, geleneksel işlemlere göre daha kısa sürede ve daha düşük miktarda solvent kullanılarak kaliteli ve yüksek ekstraksiyon verimleri elde edilmiştir (Vázquez vd., 2015).

Hedef bileşiklerin uygun bir çözücü kullanarak yüksek güç ve düşük frekanslı ses dalgaları ile elde edilmesi prensibine dayanan ultrasonik ekstraksiyonda, ekstraksiyon verimi, çözücü tipi, katı/çözücü oranı, uygulanan güç seviyesi ve süre gibi faktörlerden etkilenmektedir. Uygulanan güç ve süreye bağlı olarak artan çözücü sıcaklığı bir noktaya kadar ekstraksiyon verimini arttırabilirken, belli noktanın üzerinde çözücü buharlaşmasına ve hedef bileşiklerin yüksek sıcaklıktan zarar görmesine yol açabilir. Bu nedenle, ultasonik ekstraksiyonu optimize etmek için bu değişkenlerin göz önünde bulundurulması gerekmektedir.

## 2.6 Optimizasyon

Optimizasyon, bir prosesin belirlenen hedefler doğrultusunda, bağımsız değişkenlerin birbirleriyle olan etkileşimleri ve bu bağımsız değişkenlerin belirlenen hedefe olan etkileri de göz önünde bulundurularak bir araya getirilip uygulanması işlemi olarak tanımlanır. Optimizasyon işleminin, prosesin normalden daha kısa sürede gerçekleşmesini sağlamak, enerji tasarrufu sağlayarak prosesin ekonomik boyutuna katkı sağlamak ve istenen kalitede ürün elde edilmesini sağlamak ve daha kısa sürede ve daha etkin çalışmayı sağlamak gibi pek çok avantajı vardır. Bir prosesi optimize etmenin temel amacı, proses için en uygun ve en iyi yanıtı sağlayan koşulları belirlemektir (Baş ve Boyacı, 2007; Koç, 2015; Yolmeh ve Jafari, 2017).

Yapılan değişikliğin yanıt üzerindeki etkisi araştırmak amacıyla, optimizasyon işlemi tek bir parametre dışında diğer tüm parametreler sabit tutularak gerçekleştirildiğinde değişkenler arasındaki etkileşim açıklanamamaktadır ve tüm parametrelerin proses üzerindeki toplam etkisi belirlenememektedir. Ayrıca çok sayıda deneme gerçekleştirilirken buna bağlı olarak çalışma süresi ve maliyet de artmaktadır. Karşılaşılan bu gibi sorunları çözmek için optimizasyon çalışmaları yanıt yüzey yöntemi gibi istatistiksel yöntemler kullanılarak yürütülmektedir. Araştırmacılar yanıt yüzey yöntemini kullanılarak bağımsız değişkenler arasındaki etkileşimi belirleyebilir ve sistemi matematiksel olarak modelleyebilir. Buna ilave olarak deneme sayısı azaltılarak zaman ve maliyet tasarrufu sağlanabilir (Baş ve Boyacı, 2007; Yolmeh ve Jafari, 2017).

Oldukça geniş bir polarite aralığında olan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonları oldukça karmaşık bir işlemdir. Buna bağlı olarak çözücü tipi, katı-çözücü oranı, ekstraksiyon süresi, sıcaklık, basınç ve materyalin partikül boyutu gibi faktörlerin ekstraksiyon verimi üzerine etkileri incelenmesi ve ekstraksiyon işleminin optimize edilmesi tekrarlanabilir sonuçlar almayı sağlayabilir (Luthria vd. 2006).

## 2.7 Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM)

Optimizasyon, bir ürün, sistem veya süreçten maksimum faydayı elde etmek için sistem performansının iyileştirilmesini ifade eder. Analitik kimya alanında optimizasyon terimi, yaygın olarak “bir prosedürün olası en iyi yanıtı üretecek şekilde uygulanacağı koşulları keşfetme aracı” şeklinde kullanılmaktadır (Bezerra vd., 2008).

Hem maliyet hem de zaman açısından geleneksel optimizasyon yöntemleri olumsuz özelliklere sahiptir. Öne çıkan en büyük dezavantajı, incelenen değişkenler arasındaki etkileşimli etkilerin tespit edilememesidir. Yanıt yüzey yöntemi, geleneksel optimizasyon



yöntemleri gibi, sadece bir parametrenin zamana bağlı olarak değiştirildiği, diğer tüm parametrelerin sabit tutulduğu bir optimizasyon yöntemi değildir. RSM, sistemin yanıtını etkileyen çok sayıda değişkeni bir arada ve aynı anda incelemeye olanak verir. Bu sayede, araştırmacılar prosesin işlem parametrelerindeki değişime verdiği yanıtı en az sayıda deneme yaparak ve en iyi şekilde belirleyebilmektedir (Bezerra vd., 2008; Lundstedt vd., 1998).

Yanıt yüzey yöntemi bir diğer adıyla tepki yüzeyi metodolojisi programıyla gerçekleştirilen optimum noktayı belirleme ve modelleme işlemi temel olarak beş aşamada gerçekleştirilmektedir. Bunlar sırasıyla bağımsız değişkenlerin belirlenmesi, deney tasarımının yapılması ve yanıtlardaki deneylerin gerçekleştirilmesi, analiz sonuçlarına göre matematiksel bir modelleme yapılması, elde edilen modelin güvenilirliğinin kontrol edilmesi ve son olarak her bir değişken için optimum noktaların tespit edilerek üç boyutlu grafiğin oluşturulmasıdır (Demirkesen Mert, 2013).

Yanıt yüzey yönteminde üç temel tasarım metodu vardır. Bunlar, merkezi kompozit tasarım (CCD), tam faktöriyel tasarım (FFD) ve D-optimal tasarımıdır (OD) (Ergül vd., 2019; Mao vd., 2018).

Literatürde çeşitli gıda materyalleri ile gerçekleştirilen araştırmalarda, yanıt yüzey çalışmalarında karışım ve proses dizaynlarının bir arada incelenmesine imkan sağlayan D-optimal dizayn sıklıkla tercih edilmektedir (Bretag vd., 2009; Frias vd., 1998; Geerkens vd., 2015; Koç, 2015).

## **2.8. Odun Dışı Orman Ürünlerinin Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar**

Çalışma kapsamında sedir, sığla ve kestane kabukları kullanıldığından, literatürde, özellikle, kabuk veya kabuk gibi sert materyallerden, biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılan ekstraksiyon yöntemleri, bu ekstraksiyon yöntemlerinde seçilen proses parametreleri, belirlenen yanıtlar (ekstrakt özellikleri) ve optimizasyon işlemini içeren çeşitli çalışmalar incelenmiş olup bu çalışmaların bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Kestane (*Castanea sativa*) kabuğu ve okaliptüs (*Okaliptüs globulus*) kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin ve fenolik içeriğinin incelendiği bir araştırmada ekstraktlar, su ve farklı polariteye sahip organik çözücüler kullanılarak elde edilmiştir. Her iki materyalden elde edilen ekstraktlar, antioksidan kapasite (FRAP) ve toplam fenol açısından karşılaştırılmıştır. Denenen ekstraksiyon koşullarının büyük çoğunluğunda, ekstraksiyon verimi, antioksidan etkinliği ve toplam fenol içeriğinin, okaliptüs kabuğuna kıyasla kestane kabuğunda daha yüksek olduğu saptanmıştır. Çözücünün polaritesi arttıkça, ekstraksiyon

verimi artmıştır. En yüksek ekstraksiyon verimi, her iki materyal için de % 2.5 sodyum sülfite sulu çözeltisi ile ardından da su ile ekstraksiyon sonucunda elde edilmiştir. Kestane kabuğunun % 2.5 Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> sulu solüsyonu ile ekstraksiyonu sadece en yüksek ekstraksiyon verimine (% 25.6) değil, aynı zamanda hammaddeye göre en yüksek toplam fenol içeriğine ve FRAP antioksidan aktivite değerlerine (13.4 g GAE/100 g kurutulmuş kabuk ve 80.7 mmol AAE/100 g kurutulmuş kabuk) sahip olduğu bulunmuştur. Okaliptüs kabuğunda ise metanol:su (50:50) ekstraksiyonun, en iyi sonuçları sağladığı bulgulanmıştır (Vázquez vd., 2008).

Tepki yüzey metodolojisi ile gıda endüstrisinde bir atık ürün olan kestane kabuğundan polifenol ekstraksiyonunun optimizasyonunu konu alan bir çalışmada, sıcaklık (90-100 °C) ile Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> (% 1.5-4.5) ve NaOH (% 0.0-3.0) konsantrasyonlarının ekstraksiyon verimi ve farklı ekstrakt özellikleri (Stiasny sayısı, toplam fenoller, tanenler ve tanen olmayan içerikler, tanen/çözünür katı oranı, proantosiyanidin içeriği, antioksidan aktivitesi, ortalama moleküler ağırlıkları, yüzey gerilimi ve reolojik parametreler) üzerindeki etkileri incelenmiştir. Analiz edilen bağımlı değişkenlerin çoğunda, en önemli bağımsız değişkenin NaOH konsantrasyonu, daha az önemli değişkenin ise sıcaklık olduğu belirtilmiştir. Ekstraksiyon verimi, artan Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> ve NaOH konsantrasyonları ve sıcaklık ile yükselmiştir. Analiz edilen bağımsız değişkenler, kestane kabuğu ekstraktlarının toplam fenol içeriğini önemli ölçüde etkilememiştir. Ekstraktların antioksidan aktivitesi için ise önemli bir model bulunamamıştır, ancak genel olarak NaOH konsantrasyonundaki artışın antioksidan aktivitede azalmaya yol açtığı belirtilmiştir. Ekstraksiyon veriminin %26.1-56.4 aralığında, Stiasny sayılarının 84'ten yüksek ve 10.86-33.33 g GAE/100 g kabuk ve 92.05-166.32 mmol AAE/100 g kabuk aralığındaki toplam fenol içeriği ve FRAP antioksidan aktivitelerine sahip olmaları, kestane kabuğu ekstraktlarının potansiyel antioksidan bileşiklerin kaynağı olarak kullanılabilmesini göstermiştir (Vázquez vd., 2010).

Ekstraksiyon tekniği ve proses koşullarının, kestane kozalağı ve kabuklarından elde edilen biyoaktif bileşiklerin özellikleri üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada ekstraksiyon yöntemi olarak, geleneksel (25, 50 ve 75°C, 60-120 dk ve katı:çözücü oranı 1:10) ve mikrodalga destekli (50, 75°C, 15 dk, katı:çözücü oranı 1:10, 150 W güç, 250 psi ekstraksiyon basıncı) ekstraksiyon teknikleri kullanılmıştır. Proses değişkenleri olarak seçilen çözücü tipi (su, %50 metanol ve %50 etanol) ve sıcaklığın (25, 50, 75 °C), ekstraksiyon verimi, ekstraktın toplam fenol içeriği ve FRAP, DPPH ve ABTS antioksidan aktiviteleri üzerindeki etkileri incelenmiştir. Geleneksel ekstraksiyonda, ekstraksiyon veriminin (kozalak ve kabuk için sırasıyla % 8.54–19.58 ve % 2.91–13.27) kozalak için daha yüksek olduğu fakat kestane kabuğu

ekstraktlarının, kozalak ekstraktlarına kıyasla önemli ölçüde daha yüksek ekstrakt özelliği gösterdiği bulgulanmıştır. Kullanılan sıcaklık ve çözücü tipinin, ekstraksiyon kapasitesi üzerinde önemli faktörler olduğu ve her iki materyal için de en düşük ekstraksiyon veriminin 25 °C'de su ile elde edildiği gözlenmiştir. En iyi ekstrakt özellikleri, kozalak için % 50 MeOH kullanılarak 75 °C'de elde edilirken (27.69 g GAE/100 g ekstrakt, 1906 nmol AAE/mg ekstrakt, 3.06 mmol TRE/g ekstrakt, 2.58 mmol TRE/g ekstrakt), kabuk için su (56.23g GAE/100 g ekstrakt, 3891 nmol AAE/mg extract, 5.84 mmol TRE/g extract, 4.88 mmol TRE/g extract) kullanılarak elde edilmiştir. Her iki materyal için de kullanılan çözücü tipinin, ekstrakt özellikleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu ancak, metanolik ve etanolik kestane kabuğu ekstraksiyonları durumunda sıcaklık etkisinin önemli olmadığı tespit edilmiştir. Kestane kozalağının, toplam fenol içeriği ve antioksidan aktivitesi, sıcaklığın yükselmesi ile birlikte artış göstermiştir. Bununla birlikte, kestane kabuğu için bu davranış yalnızca sulu ekstraksiyonlarda gözlenmiştir. Geleneksel ekstraksiyonda olduğu gibi, mikrodalga destekli ekstraksiyonda da en yüksek ekstraksiyon verimleri kestane kozalağından elde edilmiştir (kozalak ve kabuk için sırasıyla 11.20–20.12% ve 3.17–10.75%), en yüksek ekstrakt özellikleri ise benzer şekilde kestane kabuğu ekstraktlarında (33.39–49.86 g GAE/100 g ekstrakt ve 1781–3281 nmol AAE/mg ekstrakt ile 21.47–32.22 g GAE/100 g ekstrakt ve 1384–2273 nmol AAE/mg ekstrakt) gözlenmiştir. Kestane kabuğu için, en yüksek ekstraksiyon verimi 75 °C'de %50 MeOH ve %50 EtOH kullanılarak elde edilmiştir. Antioksidan özelliklere göre, en yüksek toplam fenol içeriğine sahip ekstraktlar %50 MeOH kullanılarak elde edilirken, FRAP antioksidan aktivitesi %50 MeOH ve %50 EtOH için benzerlik göstermiştir. Kestane kozalağında ise en yüksek ekstraksiyon verimi 75 °C'de su ve en yüksek ekstrakt özellikleri en yüksek sıcaklıkta % 50 EtOH kullanılarak elde edilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile geleneksel ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırıldığında, kestane kabuğu için mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde ekstraksiyon veriminin daha düşük olduğu gözlenmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların özellikleri kıyaslandığında, ekstrakt özelliklerinin %50 MeOH kullanılması durumunda iki yöntem için de aynı düzeyde olduğu, ancak %50 EtOH ve su kullanılması durumunda mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde önemli ölçüde daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların özelliklerinin iyileştirilmesinde partikül boyutu, çözücü konsantrasyonu ve katı-sıvı oranı gibi prosesi etkileyebilecek diğer faktörlerin dikkate alınması gerektiğini vurgulamışlardır (Fernández-Agulló vd., 2014).

Biyoaktif bileşiklerin, okaliptüs ağacı (*Okaliptüs globulus*) endüstriyel atıklarından geri kazanılması üzerine ekstraksiyon tekniğinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, okaliptüs kabukları biyoaktif bileşiklerin kaynağı olarak incelenmiştir. Çalışmada, maserasyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) olmak üzere iki farklı ekstraksiyon tekniği kullanılmış ve bu teknikler karşılaştırılmıştır. Geleneksel yöntemde, çözücü (su, MeOH, EtOH, %50 MeOH ve %50 EtOH), sıcaklık (50 ve 75°C) ve parçacık boyutunun (öğütülmüş veya öğütülmemiş materyal) ekstraksiyon verimi ve ekstrakt özellikleri (toplam fenol içeriği ve FRAP, DPPH ve ABTS antioksidan aktiviteleri) üzerindeki etkisi analiz edilmiştir. Ekstraksiyon verimi, sıcaklığın yükselmesi ve partikül boyutunun düşmesi ile artış göstermiştir. Ancak, sıcaklık arttıkça ekstrakt özelliklerinde azalma gözlenmiştir. 50 °C'de EtOH kullanılarak elde edilen ekstraktların, en yüksek antioksidan özelliğe sahip olduğu bulunmuştur. MAE ekstraksiyon yönteminde, sıcaklığın (50-70°C), sıvı-katı oranının (5:1–10:1 mL/g) ve sürenin (5-15 dk) ekstraksiyon verimi ve ekstrakt özellikleri üzerine etkisini incelemek için deneme deseni 3<sup>3</sup> faktöriyel tasarıma göre planlanmıştır. Seçilen optimum koşullar sıcaklık, sıvı-katı oranı ve süre için sırasıyla 65°C, 8.8:1 (mL/g) ve 10 dk olarak belirlenmiştir. İki ekstraksiyon tekniği karşılaştırıldığında, maserasyon yöntemi ile en iyi antioksidan özelliklere sahip ekstraktlar sağlandığı, ancak mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin ise ekstraksiyon süresini önemli ölçüde azaltmaya olanak tanıdığı görülmüştür. Geleneksel ekstraksiyon altında elde edilen sulu ekstraktların, hem bakteri hem de mantarların büyümesini engelleyebilme potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur. Sulu ve etanolik ekstraktlarda glukoz, gallik asit, elajik asit ve küçük oranlarda kuersetin-3-o-ramnositin gallik asit esterleri saptanmıştır. (Fernández-Agulló vd., 2015).

Farklı çözücülerle hazırlanan, kestane iç kabuk ekstraktlarının, antioksidan ve antikanser aktivitelerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada kestane kabuğu ekstraktlarının antioksidan ve antikanser etkileri, çeşitli yöntemler ve kanser hücre hatları kullanılarak araştırılmıştır. Etanol, metanol, bütanol, etil asetat ve su ile ekstrakte edilen (60 °C'de 24 saat, 100g/1L) kestane kabuğu ekstraktlarının toplam polifenol içeriği sırasıyla 53.30, 43.98, 32.16, 26.79 ve 11.53 mg GAE g<sup>-1</sup> dir. Etanol ekstraktının en yüksek toplam polifenol içeriğine sahip olduğu saptanmıştır. Su ekstraktı haricinde, ekstraksiyon verimi ile toplam polifenol içeriği arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, toplam fenol içeriği ile polarite arasındaki korelasyonun anlamlı olmadığı tespit edilmiştir. Ekstraksiyon verimlerinin azalan sırayla su (% 25), etanol (% 22), metanol (% 20), bütanol (% 3.5) ve etil asetat (% 1.2) şeklinde olduğu gözlenmiştir. Kestane kabuğunda ekstraksiyon verimi, ekstraksiyon solventinin polaritesi ile artırılmıştır. Antioksidan aktivite, antioksidan mekanizmalardaki farklılıklardan dolayı, farklı

yöntemler kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu nedenle, radikal süpürücü etki, lipid peroksidasyonu ve ferrik indirgeme gücü, sırasıyla DPPH serbest radikal,  $\beta$ -karoten ve linoleik asit ve FRAP yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir. Etanol ve metanol kullanılarak elde edilen ekstraktlar, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil radikal süpürme aktivitesinde,  $\beta$  karoten ağartmada ve plazma deneylerinin demir indirgeme kabiliyetinde yüksek antioksidan aktivite göstermiş ve etkilerinin bütillenmiş hidroksitoluenin etkilerine eşdeğer olduğu tespit edilmiştir. 2.5 mgml<sup>-1</sup>'deki tüm ekstraktların %50'nin üzerinde bir sitotoksik etkiye sahip olduğu gösterilmiş ve 0.6 mgml<sup>-1</sup>'de etil asetat kullanılarak ekstrakte edilen özütün, test edilen kanser hücrelerine karşı %90 sitotoksik etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır. Etanol ve metanol ekstraktlarının güçlü antioksidan etkiye ve etil asetat ekstraktının en yüksek sitotoksositeye sahip olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar, kestane kabuğu ekstraktlarının, gıdalardaki antioksidan ve antikanser etkilerinden dolayı fonksiyonel bileşenler olarak kullanılabileceğini göstermektedir. (Jung vd. 2015).

Biyoaktif moleküllerin, kestane yan ürünlerinden, farklı çözücülerle ekstraksiyonu üzerine yapılan bir çalışmada, araştırmacılar elde ettikleri ekstraktların potansiyel antioksidan aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Kestane yan ürünü olarak farklı kuru madde içeriklerine sahip yaprak kozalak ve kabuk materyalleri seçilmiştir. Farklı çözücü tipi (metanol, etanol ve su), sıcaklık (oda sıcaklığı ve 100 °C) ve katı/çözücü oranının (1/10 ve 1/40 ağırlık/hacim) ekstraktların özellikleri üzerine etkisi test edilmiştir. Su (1/40 ağırlık/hacim, 100 °C), kestane kabukları ve kozalaklarından (1/40 ağırlık/hacim, 100 °C) polifenollerin ekstraksiyonunda en iyi ekstraksiyon çözücüsü iken, yapraklar için en verimli çözücünün oda sıcaklığında bulunan % 60 etanol (1/40 ağırlık/hacim) olduğu sonucuna varılmıştır. En yüksek polifenol içerikleri yapraklarda, kozalaklarda ve kabuklarda sırasıyla 90.35, 60.01 ve 17.68 mg GAE g<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. Etanol kullanılarak elde edilen kestane yaprağı ekstraktının radikal süpürücü aktivitesinin diğer ekstraktların antioksidan aktivitesine göre daha yüksek olduğu bulgulanmıştır. Bu farklılıkların, karmaşık matrislerin, farklı kimyasal bileşimlerinden ve çözücülerin doğası ve polaritelerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. FRAP testi ile belirlenen antioksidan aktivite, yaprak ekstraktlarının 60.47 mg AAE g<sup>-1</sup>, kozalakların 58.47 mg AAE g<sup>-1</sup> ve kabukların 13.62 mg AAE g<sup>-1</sup> içerdiğini göstermiştir. Bu sonuçlara dayanarak, en yüksek miktarda biyoaktif bileşiğin yapraklardan, ardından da kozalaklar ve kabuklardan geri kazanılmasının mümkün olduğu sonucuna varan araştırmacılar, çalışmada kullanılan kabukların, yüksek sıcaklıkta pişirme işlemine tabi tutulan kestanenin endüstriyel yan ürünlerinden olduğu düşünüldüğünde, kestane kabukları için elde edilen değerlerin de oldukça iyi olduğuna dikkat çekmişlerdir (Vella vd. 2018).

Kestane kabuklarından fenolik ve antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonunda, yeşil-sürdürülebilir bir yöntem olan ultrason destekli ekstraksiyon tekniğinin (5 g/100 ml, %50 amplitüd) kullanıldığı bir çalışmada ekstraksiyon süresi (4-46 dakika) ve sıcaklığının (34-76 °C), antioksidan aktivite (ABTS, DPPH ve FRAP) ve toplam fenolik madde içeriği üzerine etkisini belirlemek amacıyla CCD gerçekleştirilmiştir. Ultrason destekli ekstraksiyonun etkinliği, ekstraksiyon değişkenlerinden güçlü bir şekilde etkilenmiştir. Her bir ekstraksiyonda verim, %7.3-16.1 arasında değişim göstermiştir. Ekstraktların değerlendirilen aktiviteleri ile ilgili olarak, TFM 255.8-418.0 mg GAE/g kuru ağırlık; FRAP, 28.7-45.3 µg/mL; DPPH, 43.7-63.7 µg/mL; ABTS 50.5-88.0 µg /mL arasında değişmiştir. Yanıt olarak seçilen, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarını aynı anda maksimize etmek için optimum ultrasonik ekstraksiyon koşulları 70 °C ve 40 dakika olarak belirlenmiştir. Optimum koşullar altında, ekstraksiyon veriminin %16 olduğu ve optimum ekstraktın, yüksek bir fenolik bileşik içeriği (393.1 mg GAE/g kuru ağırlık) ve yüksek bir antioksidan aktiviteye (DPPH, IC<sub>50</sub>=44.1 µg/mL; FRAP, IC<sub>50</sub>=32.0 µg/mL; ABTS, IC<sub>50</sub>=65,4 µg/mL) sahip olduğu saptanmıştır. Optimum koşullarda üretilen ekstraktın, yüksek miktarda elajik asit (40.4 µg/mg kuru ağırlık), ardından kafeik asit türevi (15.4 µg/mg kuru ağırlık) ve epigallokateşin (15.3 µg/mg kuru ağırlık) içerdiği bulgulanmıştır (Lameirão vd., 2020).

Genç ve olgun sedir kabuklarından biyoaktif fenolik elde etmek amacıyla yapılan bir çalışmada, araştırmacılar elde ettikleri etanolik ve su ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. %70 etanol (50g/300 ml; 24 saat) ve %100 su (çözelti oranı 3:1, 50 g, 15 dakika kaynar su) kullanarak elde ettikleri ekstraktlarda, genç ağaç kabuklarının ekstraktları, olgun ağaç kabuklarından elde edilen ekstraktlara göre daha yüksek fenolik içerik (etanol için genç ve olgun ağaç kabuklarında sırasıyla 476.5, 262.75 mg GAE/g ekstrakt, su için genç ve olgun ağaç kabuklarında sırasıyla 418.00, 172.38 mg GAE/g ekstrakt) ve daha iyi süpürme etkinliği (DPPH ve ABTS; etanol için genç ve olgun ağaç kabuklarında sırasıyla 29.38, 17.24 100µg /ml ; 66.86, 46.94 100µg /ml; ekstrakt, su için genç ve olgun ağaç kabuklarında sırasıyla 22.79, 7.77 100µg /ml; 48.33, 24.01 100 µg /ml) göstermiştir. Yapılan araştırmada polifenol içeriği ile süpürme aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Sonuçlar, sedir kabuğunun olgunlaştıkça, fenolik içeriğini ve antiradikal aktivitesini kaybettiğini göstermektedir. Bununla birlikte, etanolik ekstraktların, sulu ekstraktlardan daha üstün olduğu biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda su ekstraksiyonlarının etanolik olanlar kadar seçici olmadığı belirtilmiştir. Ayrıca, gallik asit, kateşin, epikateşin ve kateşin gallat gibi biyoaktif fenolikler de tanımlanmıştır (Rosales-Castro vd., 2015).

Toros Sediri (*Cedrus libani*) ve *Cedrus atlantica* türleri üzerine yapılan bir çalışmada kabukları ayrıldıktan sonra öğütülerek küçük parçalar haline getirilen sedir türlerinden hidrodestilasyon yöntemi ile esansiyel yağ elde edilerek GC / MS ile bileşimleri incelenmiştir. On dört bileşenin tespit edildiği çalışmada %75 oranında  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -himachalene ve himachalol'un baskın halde bulunduğu ayrıca daha az miktarda  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -atlanton'un (E) ve (Z) izomerlerinin de bulunduğu belirlenmiştir (Saab vd., 2005).

Toros Sediri'nin (*Cedrus libani* A. Rich.) atık kabuklarından tanen bileşiklerinin ekstrakte edilerek fenolik bileşiminin incelenmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmada Adana'dan temin edilen sedir kabuğu örnekleri kullanılmıştır. Ahşap, dal parçaları ve yaprak gibi safsızlıklardan arındırıldıktan sonra laboratuvar şartlarında birkaç hafta bekletilerek % 10-12 rutubet değerine kadar kurutulan örnekler öğütme için uygun boyutlara parçalandıktan sonra ve laboratuvar tipi Frisch değirmende 1 mm boyuta öğüterek cam kavanozlara konulmuştur. 1:8 kabuk:çözücü oranında, 70 °C sıcaklıkta 1 saat su banyosunda bekletilerek gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminden sonra ekstrakt çözeltilerinde verim, pH ve stiasny sayısı değerleri belirlenmiştir. Ardından elde edilen tanenin fenolik bileşimi, toplam fenol tayini, bütanol:HCl yöntemi, DNS indirgen şeker tayini ve FTIR analizi ile incelenmiştir. Analizler sonucunda verim değeri % 8.99, Folin-Ciocalteu metoduna göre belirlenen toplam fenol değeri ise eter fazında 15.02 mg/g ve su fazında 27.77 mg/g olarak tespit edilmiştir. Bütanol HCl yöntemi ile belirlenen tanen çözeltisindeki antosiyanidin miktarı ise 7.61 mg/g proantosiyanidin olarak bulgulanmıştır (Gönültaş ve Sarıalan, 2017).

Sedir ağacı (*Cedrus atlantica*) esansiyel yağının kimyasal kompozisyonu ve in vitro antibakteriyel aktivitesinin incelendiği çalışmada sedir yapraklarına oda sıcaklığında ve gölgede kurutulduktan sonra hekzan ile 2.5 saat süresince Hidro-destilasyon yöntemi ile ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Verim değerinin %1.82 olarak belirlendiği çalışmada yaprakların kimyasal kompozisyonu GC-FID ve GC-MS kullanılarak belirlenmiş ve toplam yağın % 92.40'ını temsil eden otuzbir bileşen tanımlanmıştır. En fazla bulunan bileşenler  $\alpha$ -pinene  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\sigma$ - himachalene, cis- $\alpha$ -atlantone, himachalol, germacrene D,  $\beta$ -caryophyllene, cadinene,  $\beta$ -pinene, humulene ve copaene olarak tespit edilmiştir. Ayrıca test edilen bakteri suşlarının incelenen esansiyel yağa duyarlı olduğu ve esansiyel yağın Gram-negatif ve Gram-pozitif bakteriler için etkili bakterisidal aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Derwich vd., 2010).

Muğla ili Köyceğiz ilçesinden temin edilen sığla ağacının (*Liquidambar orientalis* var. *orientalis*,) antioksidan, mutajenik, antimutajenik aktivitelerinin ve fenolik kompozisyonunun belirlendiği çalışmada oda sıcaklığında kurutulduktan sonra öğütülerek toz haline getirilen sığla ağacı yaprakları etanol ile muamele edilerek soxhlet cihazı ile ekstraksiyon işlemine tabi

tutulmuştur. Ekstrakt buharlaştırıldıktan sonra etanol/su (1: 1, v/v) içerisine konulmuştur. HPLC cihazından alınan sonuçlara göre ekstraktın bileşimindeki temel fenolik asitler protocatechuic asit, epikateşin ve gallik asit olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde miktarı Folin–Ciocalteu reaktifi kullanılarak 333.14 mg gallik asit eşdeğeri/g ekstrakt olarak belirlenmiştir. (Saraç ve Şen, 2014).

Sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* mill.) yaprak ekstraktının gıda patojenlerine karşı antimikrobiyel aktivitesi ve antioksidan kapasitesinin incelendiği bir çalışmada Muğla ili Köyceğiz ilçesinden temin edilen sığla ağacının yaprakları 2-3 kez akan su ile ve ardından bir kez de steril damıtılmış su ile yıkandıktan sonra oda koşullarında kurutulmuş ve blender ile toz haline getirilmiştir. Aseton, etanol ve metanolün çözücü olarak kullanıldığı çalışmada 40 mg/mL konsantrasyonda hazırlanan yaprak-çözücü karışımlarında ekstraksiyon işlemi sokslet cihazında 4 saat olarak belirlenmiştir. Evaporasyon işleminden sonra kendi çözücüsü içine konularak buzdolabı koşullarında (4 °C) steril opak şişelerde tutulan ekstraktların antioksidan aktivite değerleri DPPH yöntemine göre belirlenmiş ve metanol ekstraktının güçlü antioksidan aktivite değerine (trolox eşdeğeri= 2.23 mM/g) sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sığla ağacı yapraklarının aseton, etanol ve metanol ekstraktları *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyel etkisi olduğu belirlenmiştir (Okmen vd., 2014).

Sığla Ağacı (*Liquidambar Orientalis*) yapraklarından elde edilen ekstraktın kültür levreğinin (*Dicentrarchus Labrax*) raf ömrü ve et kalitesi üzerine etkisinin araştırdığı araştırmada sığla ağacı yaprakları laboratuvar ortamında serilerek ve zaman zaman ters yüz edilerek 7-10 gün süre ile kuruyulmuş ve ardından kuruyan yaprakları parçalanmıştır. 1:1 oranında hazırlanan yaprak:etanol karışımı üç gün süresince bekletilerek ekstraksiyon sağlanmıştır. Ardından karışım evapore edilmiş ve sonrasında %0.1, %0.5 ve %1 konsantrasyonunda sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Soğutulan solüsyonların içerisine levrek balıkları iki dakika süre ile daldırıldıktan sonra balıklar solüsyondan çıkartılmış ve üzeri buz ile kaplanarak buzdolabı koşullarında (4°C) depolanmıştır. Sığla yaprağı ekstraktının levrek balıklarının kalite ve raf ömrüne etkisini belirlemek için 2 tekerrürlü olacak şekilde taze 0, 2, 6, 9, 12, 15, 17, 18, 20 ve 22'inci günlerde kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu analizler yapılmıştır. Kalite analizleri sonucunda kontrol grubu örneklerinin 15. günde, günlük ağacı yaprak ekstraktı içeren bütün grupların ise 18. günden sonra bozulduğu belirlenmiştir. Özellikle TBA açısından ekstraksiyon grupları ile kontrol grubu arasında önemli bir fark tespit edilmiş ve her ne kadar mikrobiyolojik açıdan önemli bir fark yakalanamasa da %1 günlük ağacı yaprak ekstraktının özellikle toplam Enterobacteriaceae açısından diğer çalışma gruplarına oranla daha



etkili olduğu görülmüştür. Araştırma sonunda sıgla ekstraktı uygulanan levrek balıklarının raf öm-rünün duyuşal olarak kontrol grubuna oranla 3 gün daha fazla olduğu görülmüştür (Yapıcı vd., 2015).

Anadolu sıgla ağacından elde edilen (*Liquidambar Orientalis* Mill.) reçine ve yaprak ekstraktının bazı bitki patojeni funguslara karşı antifungal etkilerinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada yaprak ekstraktı hazırlamak için sıgla yaprakları steril saf suyla yıkandıktan sonra oda sıcaklığında ve gölgede kurutulmuş ve sonrasında öğütücüden geçirilerek küçük parçalara ayrılmıştır. İnkübatörlü orbital çalkalayıcı kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi için öğütülmüş bitki materyalinden 100 gr tartılarak 1 L cam kaplara konulmuş ve bitki örneğinin üzerini kapatacak kadar metanol (g/mL) ilave edilmiştir. Üç gün süresince oda sıcaklığında gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminin ardından elde edilen ekstraktlar kaba filtre kağıdından geçirilerek, organik çözücü ratory evaporator ile 40 °C'de buharlaştırılarak uzaklaştırılmıştır. Ardından elde edilen kuru ekstrakt %50 sulu aseton ile muamele edilmiştir. Araştırmada bitki ekstraktlarının 0, 5, 10 ve 20 mg/ml konsantrasyonları kullanılmış ve kullanılan her konsantrasyonunda ekstraktların antifungal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Araştırma sonuçlara göre, test organizmalarına karşı reçine ekstraktı, yaprak ekstraktından daha etkili bulunmuştur (Onaran, 2018).

Bitkisel materyallerden fenolik bileşiklerin ekstrakte edilmesi ile ilgili yapılan bir başka araştırmada kakao çekirdeği kabuğundan polifenollerin geri kazanımını iyileştirmek için yenilikçi bir ön işlem tekniği olarak darbeli elektrik alan (PEF) uygulaması kullanılmıştır. Farklı proses parametrelerinin (PEF işlem süresi 5-20 µs, darbe sayısı, PEF gücü kV cm<sup>-1</sup>, etanol konsantrasyonu %30-70 ve ekstraksiyon süresi 30-120 dk) polifenollerin ekstraksiyonu üzerindeki etkisi, yanıt yüzey metodolojisi istatistiksel yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir. Değerlendirilen beş değişken için, kakao çekirdeği kabuğundan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için optimum koşullar, PEF ön işlem süresi 11.99 µs, darbe sayısı 991.28, PEF gücü 1.74 kV cm<sup>-1</sup>, etanol konsantrasyonu % 39.15 ve katı sıvı ekstraksiyon süresi 118.54 dakika olarak belirlenmiştir. Ekstrakte edilen polifenol içeriği 24.93 ile 32.30 mg GAE g<sup>-1</sup> kuru ağırlık arasında değişmiştir. Optimize edilmiş metodoloji, geleneksel ekstraksiyon ile karşılaştırılmış ve örnekleri menşe, çeşit ve endüstriyel işleme göre sınıflandırmak için çeşitli kakao çekirdeği kabuğu numunelerine uygulanmıştır. PEF destekli ekstraksiyonun, geleneksel ekstraksiyondan daha yüksek (yaklaşık %20) polifenol ve metilksantin geri kazanımı verimine sahip olduğu bulgulanmıştır. Ayrıca, farklı kakao çekirdeği kabuklarından elde edilen biyoaktif

bileşiklerin, bileşiminin ve bunların antioksidan özelliklerinin, hammaddenin kökenine, çeşidine ve endüstriyel işlenmesine bağlı olduğu belirtilmiştir (Barbosa-Pereira vd., 2018).

Belçika elma ağacının polifenolik profili ve antioksidan aktivitesi üzerine ön işlem ve ekstraksiyon koşullarının etkisinin değerlendirildiği bir araştırmada, elma ağacından (*Malus domestica*) elde edilen ekstraktların indirgeme kapasitesi ve fenolik profilini tanımlayarak, elma ağacından kaynaklanan atık akışını değerlendirme olasılıkları incelenmiştir. Bu çalışmada, elma ağacının kabuğundan ve odunundan antioksidan fenolik ekstrakte etmek için sıcak/ılık çözücü ekstraksiyonu (WSE) (1 g örnek/100 ml, 60°C ve 30 dk) ve ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) (0.5 g örnek/50 ml çözücü, 800W, 60±3 °C'de 30 dk ve karıştırma) tekniklerinin etkinliği değerlendirilmiştir. Ayrıca, sırasıyla taze, fırında kurutulmuş (60 °C) ve dondurularak kurutulmuş numunelerde bu ön işlem tekniklerinin, polifenollerin verimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Öğütülmüş materyalden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için metanol, etanol, aseton ve su gibi farklı çözücüler kullanılmıştır. Çözücüler saf formda ve ayrıca su ile karışım (%20, % 40, %60 ve %80) halinde kullanılmıştır. %60 aseton kullanılarak UAE yöntemi ile elde edilen taze ağaç kabuğu ekstraktının, en yüksek fenolik madde içeriği ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ağaç kabuğu ve çekirdek odun ekstraktlarında bulunan tanımlanmış polifenol belirteçlerinin ana bileşeninin floridzinin olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlara dayanarak, elma ağacından endüstriyel ölçekte polifenolik ekstraktın, kapsamlı maliyetler olmadan veya antioksidan özellikleri değiştirmeden üretilmesinin mümkün olabileceği belirtilmiştir. Bu çalışma, gıda, ilaç ve kozmetik uygulamalar için fenolik bileşiklerin geri kazanılması yoluyla elma ağacı odun kalıntılarının değerlendirme potansiyelini ortaya koymaktadır (Withouck vd., 2019).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1 Materyal

Kestane (*Castanea sativa* Mill) kabukları, Aydın ilinde kestane ürünlerini işleyen yerel bir işletmeden (Nazilli, Aydın), Toros Sediri (*Cedrus Libani* A. Richard) gövde kabukları Antalya Orman Genel Müdürlüğü'ne bağlı Elmalı Orman İşletme Müdürlüğü'nden (Elmalı, Antalya), sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Miller) kabukları ise Muğla Orman Bölge Müdürlüğü'ne bağlı Köyceğiz Orman İşletme Müdürlüğü'nden (Köyceğiz, Muğla) temin edilmiştir. Hammaddelerden hedef bileşiklerin ekstraksiyonu amacıyla organik çözücüler ve su kullanılmıştır. Çözücü seçiminde hedef bileşikleri çözebilecek özellikte uygun polaritede ve gıdalarda kullanıma uygun olan GRAS statüde çözücülerin seçimi önemlidir. Bu kapsamda suyun yanı sıra GRAS statüde (Food and Drug Administration, 2012) olan etanol ve 2-propanol çözücü ortam olarak kullanılmıştır.

Ekstraksiyon işleminden önce hammaddeye ön işlemler uygulanmıştır. Toros sediri, sığla ağacı ve kestane kabuğu laboratuvar tipi tepsili kurutma kabininde kurutulmuştur (Şekil 3.1, 3.2 ve 3.3). Partikül boyutunun, ekstraksiyon verimi üzerine önemli bir etkisi olduğundan homojen dağılıma sahip örnekler ile ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilmesi daha uygundur. Bu amaçla kurutulan kestane kabukları (Şekil 3.1) ve Toros sediri kabuklarının (Şekil 3.2) boyutları küçültülmüştür. Sığla ise öğütüldükten sonra 0.5 mm elek açıklığına sahip olacak şekilde elenmiştir (Şekil 3.3). Ön işlemlerden geçen örnekler geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon olmak üzere iki farklı ekstraksiyon yöntemi için hazır hale getirilmiştir. Örnekler hava almayacak şekilde paketlenerek ekstraksiyon işlemine kadar oda koşullarında depolanmıştır.



**Şekil 3.1.** Kurutulmuş ve öğütülmüş kestane kabukları



**Şekil 3.2.** Kurutulmuş ve öğütülmüş sedir kabukları



**Şekil 3.3.** Kurutulmuş ve öğütülmüş sığla kabukları

## 3.2 Yöntem

### 3.2.1 Hammaddelerin Fiziksel ve Kimyasal Özelliklerinin Belirlenmesi

Kestane, sedir ve sığla kabuklarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin tez çalışması kapsamında elde edilecek olan ekstraktların özelliklerini etkileyebileceği bilinmektedir. Bu kapsamda kestane, sedir ve sığla kabuklarının nem içeriği, kuru madde içeriği ve ortalama partikül boyutu belirlenmiştir.

### 3.2.2 Ekstraksiyon Yöntemleri

Kestane, sedir ve sığla kabuklarına belirlenen deneme planlarına göre iki farklı yöntemle (geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon) ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Ekstraksiyon işlemlerinde proses değişkenlerinin sınır koşullarının belirlenmesine ilişkin detaylar aşağıda bulgular ve tartışma kısmında verilmiştir.

#### 3.2.2.1 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon

Kurutulduktan sonra öğütülen kestane, sedir ve sığla kabukları, deneme planına göre su, etanol ve propanol olmak üzere üç farklı çözücü kullanılarak %15-25 katı oranı (kuru bazda) kullanılarak, 30-60 dk süre ile 30-60 °C sıcaklık aralığında geleneksel katı sıvı ekstraksiyonu işlemine tabi tutulmuştur. D-optimal birleşik dizayn ile belirlenen deneme planına göre belirli katı oranı, sıcaklık ve sürede, 100 rpm karıştırma hızında su banyosunda (Daihan, Kore) gerçekleştirilen geleneksel katı sıvı ekstraksiyon işleminden sonra materyal kaba filtre kağıdından geçirilmiştir.

Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon işlemlerinde proses değişkenlerinden biri olarak belirlenen katı oranı %15, %20 ve %25 tir. Bu katı oranlarına karşılık gelen materyal (kestane, sedir ve sığla kabukları) ve çözücü miktarları aşağıda verilmiştir.

- %15 katı oranı: 72 gram materyal, 408 mL çözücü
- %20 katı oranı: 100 gram materyal, 400 mL çözücü
- %25 katı oranı: 135 gram materyal, 405 mL çözücü

### **3.2.2.2 Ultrasonik Ekstraksiyon**

Kurutulduktan sonra öğütülen kestane, sedir ve sığla kabukları, deneme planına göre su, etanol ve propanol olmak üzere üç farklı çözücü kullanılarak %15-25 katı oranı (kuru bazda) olacak şekilde, 15-45 dk süre ile %50-80 amplitüd aralığında ultrasonik ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu amaçla ultrasonik ekstraksiyon cihazının (Hielscher UP400St, Almanya) kabinine sabit bir şekilde yerleştirilmiş titanyumdan yapılmış S24d22D tip prob kullanılmıştır. Probun ucu sıvı yüksekliğinin yarısına gelecek şekilde, prob beherin içine daldırılmış ve beher duvarı ortalanacak şekilde merkeze yerleştirilmiştir. Sıcaklığın fazla artmasının engellenmesi amacıyla içinde örneğin bulunduğu beher, içinde buzlu su bulunan bir başka beherin içine yerleştirilmiştir. D-optimal birleşik dizayn ile belirlenen deneme planına göre belirli katı oranı, amplitüd ve sürede gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyon işleminden sonra materyal kaba filtre kağıdından geçirilmiştir.

### **3.2.3 Ekstraksiyon İşleminde Proses Değişkenlerinin Sınır Koşullarının Belirlenmesi**

Kestane kabuğu, sığla kabuğu ve sedir kabuğu birbirinden farklı fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olduğundan, ekstraksiyon işlemi koşullarının ön denemelerle belirlenmesi gerekmiştir. Çalışmada karışım değişkenleri olarak su, etanol ve propanol oranları; proses değişkenleri olarak geleneksel katı sıvı ekstraksiyonda katı oranı, sıcaklık ve süre; ultrasonik ekstraksiyonda ise katı oranı, amplitüd ve süre seçilmiştir. Katı oranı örneklerin yapısındaki farklılıklara bağlı olarak ekstraksiyonu etkilemiştir. Örneğin; kestane kabuklarında, tüylü kabuk yapısından dolayı yüksek oranda çözelti kaybı ile karşılaşmıştır. Katı oranında olduğu gibi ekstraksiyon süresinde de örneklerin bileşimindeki farklılıklara bağlı olarak ekstraksiyon etkinlikleri değişim göstermiştir. Yapılan ön denemelerle üç farklı materyal için de uygun olacak şekilde sınır koşulları belirlenmiştir.

#### **3.2.3.1 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Proses Değişkenlerinin Sınır Koşullarının Belirlenmesi**

Tez çalışması kapsamında kullanılacak olan kestane, sedir ve sığla kabuğu materyalleri kullanılarak, su banyosunda (Daihan, Kore) sabit sıcaklıkta (25 °C), 100 rpm karıştırma hızında, minimum ve maksimum katı oranlarında çözücünün su olduğu geleneksel katı sıvı ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktların kuru madde içeriği belirlenmiştir.

### **3.2.3.2 Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Proses Değişkenlerinin Sınır Koşullarının Belirlenmesi**

Tez çalışmasında yer alan farklı hammaddeler (kestane, sedir, sığla kabukları), farklı amplitüd değeri (%50, 80, 100), farklı katı oranları (%15-25), farklı çözücü tipi (su ve propanol) ve farklı ekstraksiyon süresi (0-120 dk) kullanılarak ultrasonik ekstraksiyon cihazında (Hielscher UP400St, Almanya) denemeler gerçekleştirilmiştir. Denemeler sırasında, katı oranı sabit tutularak, amplitüd değeri ve süreye bağlı olarak sıcaklık ve briks değerlerindeki değişim incelenmiştir. Ayrıca ekstraksiyon işlemi sırasında çözücü tipinin, sıcaklık üzerine etkisi de irdelenmiş ve çözücü tipi ve amplitüd değeri sabit tutularak gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, farklı katı oranlarının çözümlerin sıcaklık ve briks değerleri üzerine etkisi araştırılmıştır.

### **3.2.4 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyonu ve Ultrasonik Ekstraksiyon Yöntemleri için Deneme Desenlerinin Oluşturulması**

Kestane, Toros sediri ve sığla kabukları ekstraktlarının eldesinde kullanılacak optimum ekstraksiyon koşullarını belirlemek amacıyla karışım ve proses değişkenlerini içeren D-optimal birleşik dizayn ile deneme deseni oluşturulmuştur. D-optimal birleşik dizayn deneme desenine göre ekstraksiyon işleminde su, etanol ve propanol oranı karışım değişkenleri olarak ve katı oranı, süre ve sıcaklık/amplitüd değeri ise proses değişkenleri olarak seçilirken, toplam fenolik madde miktarı ve toplam antioksidan aktivite sistemin yanıtları olarak seçilmiştir. Kestane, Toros sediri ve sığla kabuklarından biyoaktif bileşiklerin geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri ile ekstraksiyonuna özgü D-optimal birleşik dizayn deneme planı için değişkenler ve seviyeleri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Çizelge 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 ve 3.7’de verilen D-optimal birleşik dizayn deneme desenlerine göre her bir materyal ve her bir yöntem için 22 deneme belirlenmiştir.

**Çizelge 3.1.** D-optimal birleşik dizayn deneme deseni için değişkenler ve seviyeleri

Yöntem	Bağımsız değişkenler	Kodlanmış değerler/Gerçek değerler			
		-1	0	1	
Geleneksel katı sıvı ekstraksiyon	Karışım değişkenleri	A, Etanol (%)	0	50	100
		B, Propanol (%)	0	50	100
		C, Su (%)	0	50	100
	Proses değişkenleri	D, Katı oranı (%)	15	20	25
		E <sub>g</sub> , Sıcaklık (°C)	30	45	60
		F, Süre (dk)	30	45	60
Ultrasonik ekstraksiyon	Karışım değişkenleri	A, Etanol (%)	0	50	100
		B, Propanol (%)	0	50	100
		C, Su (%)	0	50	100
	Proses değişkenleri	D, Katı oranı (%)	15	20	25
		E <sub>u</sub> , Amplitüd (%)	50	65	80
		F, Süre (dk)	15	30	45

Design Expert paket programı ile ekstraktların toplam fenolik madde miktarı ve toplam antioksidan aktivitelerinin maksimum olması hedeflenerek bağımsız karışım ve proses değişkenlerinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, farklı karışım ve proses koşullarında elde edilen ekstraktlarda evaporasyon öncesi ve evaporasyon sonrasında kuru madde analizi gerçekleştirilmiştir.



**Çizelge 3.2.** Kestane kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı

Deneme No	Karışım Değişkenleri			Proses Değişkenleri		
	A	B	C	D	E <sub>g</sub>	F
1	0	0	100	25	30	60
2	0	0	100	15	30	30
3	0	100	0	25	30	60
4	0	100	0	15	60	60
5	0	100	0	25	60	30
6	0	0	100	25	60	30
7	0	0	100	15	60	60
8	100	0	0	15	30	30
9	100	0	0	25	60	30
10	100	0	0	25	30	60
11	100	0	0	15	60	60
12	0	100	0	15	30	30
13	33.3	33.3	33.3	25	30	30
14	33.3	33.3	33.3	15	60	30
15	33.3	33.3	33.3	15	30	60
16	33.3	33.3	33.3	25	60	60
17	66.7	16.7	16.7	20	45	45
18	0	0	100	25	30	60
19	0	0	100	15	30	30
20	0	100	0	15	60	60
21	0	100	0	25	60	30
22	0	100	0	25	30	60

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre

**Çizelge 3.3.** Kestane kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı

Deneme No	Karışım Değişkenleri			Proses değişkenleri		
	A	B	C	D	E <sub>u</sub>	F
1	0	100	0	25	80	15
2	0	0	100	25	50	15
3	0	0	100	25	80	45
4	0	100	0	25	50	45
5	0	100	0	15	80	45
6	0	0	100	15	80	15
7	0	0	100	15	50	45
8	100	0	0	15	50	15
9	100	0	0	25	80	15
10	100	0	0	25	50	45
11	100	0	0	15	80	45
12	0	100	0	15	50	15
13	33.3	33.3	33.3	20	65	30
14	100	0	0	25	50	15
15	100	0	0	15	80	15
16	100	0	0	15	50	45
17	100	0	0	25	80	45
18	0	100	0	25	80	15
19	0	0	100	25	50	15
20	0	0	100	25	80	45
21	0	100	0	25	50	45
22	0	100	0	15	80	45

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Sıcaklık, F:Süre

**Çizelge 3.4.** Sedir kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı

Deneme No	Karışım Değişkenleri			Proses değişkenleri		
	A	B	C	D	E <sub>g</sub>	F
1	0	0	100	25	60	60
2	0	100	0	15	60	60
3	0	0	100	15	30	60
4	0	0	100	15	60	30
5	0	100	0	25	30	60
6	0	0	100	25	30	30
7	0	100	0	25	60	30
8	100	0	0	15	30	30
9	100	0	0	25	60	30
10	100	0	0	25	30	60
11	100	0	0	15	60	60
12	0	100	0	15	30	30
13	33.3	33.3	33.3	20	45	45
14	100.0	0.0	0.0	25	30	30
15	100.0	0.0	0.0	15	60	30
16	100.0	0.0	0.0	15	30	60
17	100.0	0.0	0.0	25	60	60
18	0	0	100	25	60	60
19	0	100	0	15	60	60
20	0	0	100	15	30	60
21	0	0	100	15	60	30
22	0	100	0	25	30	60

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre

**Çizelge 3.5.** Sedir kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı

Deneme No	Karışım Değişkenleri			Proses değişkenleri		
	A	B	C	D	E <sub>u</sub>	F
1	0	100	0	25	50	45
2	0	0	100	15	80	45
3	0	0	100	25	50	45
4	0	0	100	25	80	15
5	0	100	0	15	80	45
6	0	0	100	15	50	15
7	0	100	0	25	80	15
8	100	0	0	15	50	15
9	100	0	0	25	80	15
10	100	0	0	25	50	45
11	100	0	0	15	80	45
12	0	100	0	15	50	15
13	33.3	33.3	33.3	25	50	15
14	33.3	33.3	33.3	15	80	15
15	33.3	33.3	33.3	15	50	45
16	33.3	33.3	33.3	25	80	45
17	66.7	16.7	16.7	20	65	30
18	0	100	0	25	50	45
19	0	0	100	15	80	45
20	0	0	100	25	80	15
21	0	0	100	15	50	15
22	0	0	100	25	50	45

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Sıcaklık, F:Süre

**Çizelge 3.6.** Sığla kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı

Deneme No	Karışım Değişkenleri			İşlem Değişkenleri		
	A	B	C	D	E <sub>g</sub>	F
1	0	0	100	25	30	60
2	0	0	100	25	60	30
3	0	0	100	15	60	60
4	0	100	0	15	60	60
5	0	100	0	25	30	60
6	0	100	0	25	60	30
7	0	0	100	15	30	30
8	100	0	0	15	30	30
9	100	0	0	25	60	30
10	100	0	0	25	30	60
11	100	0	0	15	60	60
12	0	100	0	15	30	30
13	33.3	33.3	33.3	25	30	30
14	33.3	33.3	33.3	15	60	30
15	33.3	33.3	33.3	15	30	60
16	33.3	33.3	33.3	25	60	60
17	66.7	16.7	16.7	20	45	45
18	0	0	100	25	30	60
19	0	0	100	25	60	30
20	0	0	100	15	60	60
21	0	0	100	15	30	30
22	0	100	0	15	60	60

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre

**Çizelge 3.7.** Sıgla kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı

Deneme No	Karışım Değişkenleri			İşlem değişkenleri		
	A	B	C	D	E <sub>u</sub>	F
1	0	0	100	25	80	15
2	0	0	100	15	80	45
3	0	0	100	25	50	45
4	0	100	0	25	80	15
5	0	100	0	15	80	45
6	0	100	0	25	50	45
7	0	0	100	15	50	15
8	100	0	0	15	50	15
9	100	0	0	25	80	15
10	100	0	0	25	50	45
11	100	0	0	15	80	45
12	0	100	0	15	50	15
13	33.3	33.3	33.3	25	50	15
14	33.3	33.3	33.3	15	80	15
15	33.3	33.3	33.3	15	50	45
16	33.3	33.3	33.3	25	80	45
17	66.7	16.7	16.7	20	65	30
18	0	0	100	25	80	15
19	0	0	100	15	80	45
20	0	0	100	25	50	45
21	0	0	100	15	50	15
22	0	100	0	25	80	15

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Sıcaklık, F:Süre

### 3.2.5 Evaporasyon İşlemi

Kestane, sedir ve sığla kabukları belirlenen deneme planlarına göre iki farklı yöntemle (geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon) elde edildikten sonra ince film evaporatör ile çözücünün uzaklaşması ve ekstraktın konsantrasyon hâle gelmesi sağlanmıştır. Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon işleminden sonra kaba filtre kağıdından geçirilerek elde edilen ekstraktlar evaporasyon işleminden önce 1:5 oranında saf su ile seyreltilmiştir. Ekstraktların içerdiği su, etanol ve propanol çözücülerin uzaklaştırılması, ince film evaporatör ile vakum altında (65°C, 650 mmHg) gerçekleştirilmiştir. Böylece evaporasyon işlemi daha hızlı bir şekilde ve daha düşük sıcaklıkta gerçekleştirilebilmiştir.

### 3.2.6 Optimizasyon

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakt üretiminde karışım değişkenleri olarak belirlenen su, etanol ve propanol oranı ile işlem koşulları olarak seçilen katı oranı, sıcaklık ve süre, maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakt üretiminde ise, karışım değişkenleri olarak belirlenen su, etanol ve propanol oranı ile işlem koşulları olarak seçilen katı oranı, amplitüd ve süre, maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir.

Kestane, Toros sediri ve sığla kabuklarından biyoaktif bileşiklerin geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri ile ekstraksiyonuna özgü D-optimal birleşik dizayn deneme planı için değişkenler ve seviyeleri Çizelge 3.1’de verilmiştir. Çizelge 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 ve 3.7’de verilen D-optimal birleşik dizayn deneme desenlerine göre her bir materyal ve her bir yöntem için 22 deneme belirlenmiştir. Farklı proses koşullarında ve farklı karışım değişkenleri ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemleri ile elde edilen ekstraktlara, kuru madde, toplam fenolik madde miktarı, antioksidan aktivite ve antimikrobiyal aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Design Expert paket programı ile ekstraktlar toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivitesi maksimum olması hedeflenerek bağımsız karışım ve proses değişkenlerinin optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Regresyon analizi, yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyon Design Expert Version 10.0 (Statease Inc.) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

### 3.2.7 İstatistiksel Analiz

Optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesinde bağımsız değişken olarak seçilen çözücü tipi, katı oranı ve ekstraksiyon koşulları parametrelerinin etkisini incelemek için Design Expert paket programı ile oluşturulan D-optimal birleşik dizayn kullanılarak değerlendirme yapılmıştır. Yanıtlar ile bağımsız proses ve karışım değişkenleri arasındaki ilişki bilinmediğinden ikinci dereceden polinomial bir modelle gerçek yanıt fonksiyonuna yaklaşılabileceği varsayılır. Böyle bir modelin fit edilebilmesi için gerekli deneysel veriler D-optimal birleşik dizayn deneme planı izlenerek elde edilmiştir. Bir matematik model oluşturulduktan sonra her bir yanıt için model çoklu lineer regresyon analizi ile değerlendirilmiştir. Her bir yanıt için modeldeki önemli terimler ANOVA ile bulunarak ve polinomların maksimize ve minimize edilmesi yani optimum noktanın aranmasına geçilmiştir. Optimizasyon için sayısal (desirability function) yöntemler (Derringer ve Suich, 1980) kullanılmıştır.

Geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakt eldesi için optimum noktanın deneysel doğrulanması aşamasında matematiksel olarak belirlenen proses ve karışım değişkenlerinde 5 doğrulama denemesi gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek t-testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek t-testi SPSS (21.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Regresyon analizi, istatistiksel analizler, pertürbasyon grafikleri ve optimizasyon Design Expert Version 10.0 (Statease Inc.) paket programı kullanılarak yapılmıştır.

### 3.2.8 Analiz Yöntemleri

Hammaddeler ve evaporasyon işlemi sonrası elde edilen ekstraktlara uygulanan analizler aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

#### 3.2.8.1 Nem İçeriği

Kestane, sedir ve sığla kabuklarının nem içerikleri halojen kurutmalı nem tayin cihazında (RADWAG MAC 50) belirlenmiştir.



### 3.2.8.2 Kuru Madde Tayini

Hammaddelerin ve bu hammaddeler kullanılarak üretilen ve evaporasyon işlemi sonrasında elde edilen ekstraktların kuru madde içerikleri, sabit tartıma getirilen nem kaplarına tartılan 3 g hammadde ve ekstrakt örneklerinin etüvde 105 °C'de 3 saat kurutulması sonucunda ağırlık kaybından hesaplanmıştır.

### 3.2.8.3 Parçacık Boyutu

Kestane ve sedir kabuklarının boyutu kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Yaklaşık 40-50 tane kabukta ölçüm yapılarak değerlerin ortalaması alınmıştır.

### 3.2.8.4 Toplam Fenolik Madde Miktarı Tayini

Toplam fenolik madde miktarı, spektrofotometrik olarak De La Rosa vd. (2010) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraktlardan 100µL alınarak üzerine 1.25 mL %10 Folin-Ciocalteu'nun reaktifi ve 1 mL %7.5'lik sodyum karbonat eklenerek karışım oda sıcaklığında 2 saat süreyle karanlıkta bekletilmiştir. Ardından spektrofotometrede (ShimadzuUV-1800, Japonya) 760 nm'de absorbans değerleri okunmuştur. Standart olarak gallik asit kullanılarak kalibrasyon eğrisi elde edilmiştir. Toplam fenolik madde (TFM) içeriği kuru bazda g numune başına miligram gallik asit eşdeğeri (mg GAE/g kuru ağırlık) olarak ifade edilmiştir.

### 3.2.8.5 Antioksidan Aktivite Tayini

Ekstraktların toplam antioksidan aktivitelerinin belirlenmesinde DPPH (2,2 difenil-1-pikrilhidrazin hidrat) ile % radikal yakalama yöntemi kullanılmıştır (Sangsrichan ve Wanson, 2008). Ekstraktan 100 µl alınarak 1.5 mL  $6 \times 10^{-5}$  M DPPH çözeltisi içerisine aktarılmıştır. Karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra UV spektrofotometrede (Shimadzu UV1800, Japonya) 515 nm'de absorbans değeri ( $A_{\text{örnek}}$ ) ölçülmüştür. Kontrol olarak ekstrakt içermeyen DPPH çözeltisi de aynı işlemlere tabi tutulmuştur ve absorbans değeri ( $A_{\text{kontrol}}$ ) kaydedilmiştir. Antioksidan özelliklere sahip olan maddeler indirgenme tepkimesi sonucu DPPH çözeltisinin menekşe/mor renginin kaybolmasına neden olur ve bu yöntemle renk değişikliği spektrofotometrik olarak belirlenir. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanmasında, standart olarak farklı konsantrasyonlarda Troloks çözeltileri kullanılmıştır. Serbest radikalın inhibisyon yüzdesi aşağıdaki denklemle (1) hesaplanmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivitesi (AA), kuru bazda g numune başına miligram troloks eşdeğeri (mg troloks/g kuru ağırlık) olarak ifade edilmiştir.

$$\% \text{ inhibisyon} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}})}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (1)$$

### 3.2.8.6 Antimikrobiyal Aktivite Tayini

Kestane kabuğu ekstraktların antimikrobiyal potansiyeli, yaygın olarak gıda zehirlenmesine neden olan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, ve *Listeria monocytogenes* olmak üzere 3 farklı bakteri suşu kullanılarak değerlendirilmiştir. *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes* bakteri suşları İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Gıda Mühendisliği bölümünden, *Staphylococcus aureus* ise Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. Besiyerlerine inoküle edilmeden önce McFarland 0,5 standart değerine ulaşmaya kadar, Nutrient Broth besiyerinde 37 °C'de inkübasyona bırakılmış ve antimikrobiyal aktivite disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (Mostafa vd., 2018). Bu yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. İlk olarak steril petri kaplarına 10-15 mL Nutrient Agar besiyeri dökülür. Steril besiyerine ilgili mikroorganizmanın canlandırılan suşlarından 100 µL inoküle edilir ve yayılır. Petri kaplarına ayrı noktalara ikişer adet yerleştirilen 5 mm çaplı steril disklerin üzerine her ekstraktan 20 µL yüklenir. 37 °C'de 24 saat inkübe edilen petrilere oluşan inhibisyon alanları kumpas ile ölçülerek belirlenir.

### 3.2.8.7 Fenolik Madde Profilin Belirlenmesi

Optimum koşullarda elde edilen kestane, sedir ve sığla kabuğu ekstraktlarının fenolik bileşiklerin analizi için Busch vd. (2017) tarafından belirtilen HPLC analiz metodu modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla ekstraktlar 1:10 oranında %80 etanol ile karıştırıldıktan sonra karışım 60°C su banyosunda 1 saat tutulmuştur. Ede edilen ekstraktlar 0.45 µm'lik filtrelerden geçirildikten sonra fenolik madde kompozisyonunun belirlenmesi yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile gerçekleştirilmiştir.

Örneklerin HPLC (Shimadzu 10A, Japan) ile analizinde zıt faz C18 kolon ve DAD dedektör kullanılmıştır. Analizler 0.8 mL/saniye mobil faz akış hızı ve 30 °C kolon fırın sıcaklığında su içinde %0.1 glasiyel asetik asit ve su içinde %70 asetonitril mobil fazları ile yürütülmüştür. Her bir fenolik madde DAD dedektörde yüksek absorbans verdiği dalga boylarında (280 nm, 320 nm ve 360 nm dalga boylarında) analiz edilmiştir. HPLC analizi ile elde edilen örnek kromatogramları standart fenolik maddelerin kromatogramları ile karşılaştırılmıştır.

### 3.2.8.8 Uçucu Bileşen Profilinin Belirlenmesi

Optimize edilen en uygun yöntem ve koşullar ile en iyi özellikleri gösteren sedir, sığla ve kestane kabukları ekstraktlarında uçucu bileşen profili D'auria vd. (2004)'de belirtilen yöntem kısmen modifiye edilerek, katı faz mikro ekstraksiyon tekniği (SPME) ile gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC-MS) (Shimadzu, GC-2010 Plus, Kyoto, Japonya) kullanılarak belirlenmiştir. Bu amaçla öncelikle 20 mL'lik viallere 2 mL örnek aktarılmış, sızdırmaz şekilde kapatılarak 10 dakika 45 °C'de bekletilmiştir. Daha sonra örneklerin tepe boşluğuna PDMS/DVB fiber (65 µm, Supelco, Bellefonte PA/USA) yerleştirilerek, uçucu bileşenlerin fibere absorpsiyonu için 45 °C'de 30 dk beklenmiştir. Katı faz mikroekstraksiyonu sonrasında uçucu bileşenleri absorbe eden fiber, GC-MS örnekleme portuna transfer edilerek aşağıdaki şartlarda kapiler kolon (Restek Rxi-5ms, USA; 30 mx 0.25 mmID x 0.25µm) kullanılarak uçucu bileşenlerin analizi gerçekleştirilmiştir.

GC-MS analiz koşulları:

Enjeksiyon bloğu sıcaklığı: 250 °C

Desorpsiyon süresi: 3 dk, splitless mod

GC-Kolon sıcaklık programı: 50 °C'de 1 dk. bekletme; 3 °C/dk. artışla 200 °C'ye çıkış; 8 °C/dk. artışla 250 °C'ye çıkış; 250 °C'de 5 dk. bekletme.

MS-tarama modu: 35-450 m/z

İyonlaşma enerjisi: 70 eV

Arayüzey sıcaklığı: 250 °C

Mobil Faz: Helyum

Akış hızı: 44,4 cm/sec

Analiz edilen uçucu bileşenler GC-MS üzerinde kayıtlı kütüphaneler (Wiley9N11.lib. ve Nist11.lib.) ve online Webbook Nist kütüphanesi kullanılarak tanımlanarak, uçucu bileşenlerin kromatogram üzerindeki % alanları belirlenmiştir.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 Hammaddelerin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Tez çalışması kapsamında hammadde olarak kullanılan kestane, sedir ve sığla kabuklarının fiziksel ve kimyasal özelliklerinin, ekstraksiyon sonucunda elde edilecek olan ekstraktların fiziksel ve kimyasal özellikleri üzerinde doğrudan etkisi vardır. Bu nedenle çalışma kapsamında materyal olarak kullanılan kestane, sedir ve sığla kabuklarında nem ve kuru madde tayini gerçekleştirilmiş ve ortalama partikül boyutları belirlenmiştir (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Kestane, sedir ve sığla kabuklarının fiziksel ve kimyasal özellikleri

Materyal	Kimyasal özellikler		Fiziksel özellikler
	Nem içeriği (%)	Kuru madde içeriği (%)	Partikül boyutu (mm)
<b>Kestane kabuğu</b>	9.195±0.006	91.940±0.063	6.626±0.086
<b>Sedir</b>	9.764±0.160	91.702±0.014	11.31±0.073
<b>Sığla</b>	4.040±0.026	97.432±0.073	0.500±0.000

Kestane, sedir ve sığla kabukları, nem içerikleri açısından karşılaştırıldıklarında kestane ve sedir kabuklarının nem içeriklerinin birbirine oldukça yakın olduğu ve sığla kabuklarından daha yüksek nem içeriklerine sahip olduğu görülmüştür. Nem içeriği ile paralel olarak kestane ve sedir kabuklarının benzer kuru madde içeriğine sahip olduğu ve sığla kabuklarının en yüksek kuru madde içeriğine sahip olduğu gözlenmiştir. Partikül boyutu açısından karşılaştırıldığında, partikül boyutunun küçükten büyüğe doğru sıralanışı sığla<kestane<sedir kabukları şeklindedir.

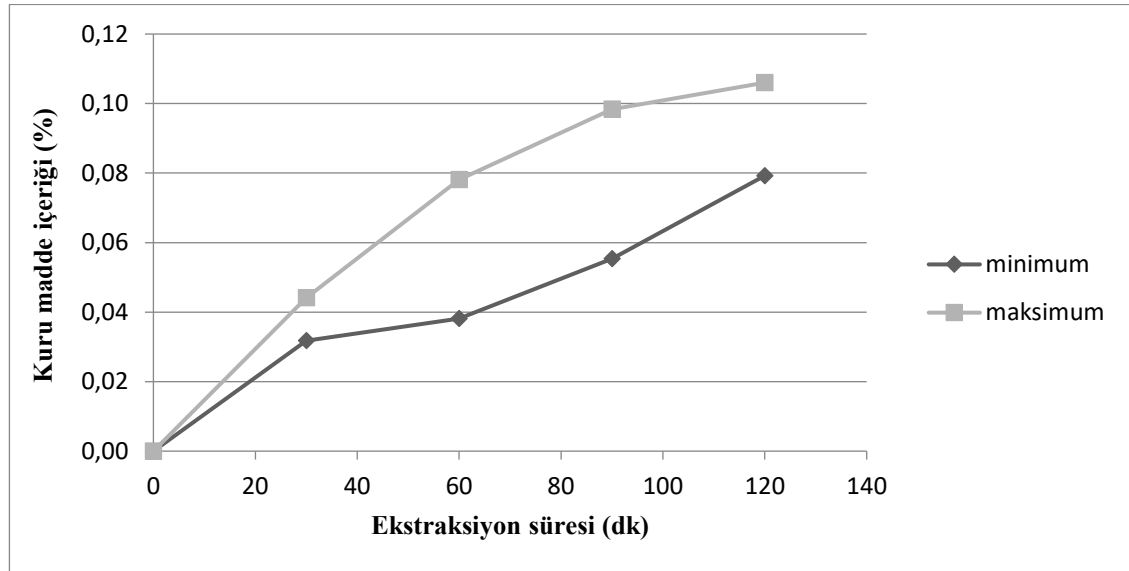
### 4.2 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Proses Değişkenlerinin Sınır Koşullarının Belirlenmesi

Geleneksel katı sıvı ekstraksiyonda verim; çözücü tipi, katı/çözücü oranı, partikül boyutu, sıcaklık ve süre gibi birçok faktörlerden etkilenmektedir. Bu nedenle, süreci optimize etmek amacıyla bu değişkenlerin dikkate alınması gerekmektedir.

Tez çalışması kapsamında kullanılacak olan kestane kabuğu, sedir ve sığla materyalleri kullanılarak, su banyosunda sabit sıcaklıkta (25 °C), 100 rpm karıştırma hızında, minimum ve

maksimum katı oranlarında çözücünün su olduğu geleneksel katı sıvı ekstraksiyonu gerçekleştirilerek proses değişkenleri olarak seçilen katı oranı ve ekstraksiyon süresinin sınır değerleri belirlenmeye çalışılmıştır. Yüksek sıcaklıklar, ekstraktın antioksidan özelliklerini azaltarak fenoliklerin oksidasyonunu artırabilmekte ve arzu edilmeyen bileşiklerin de çözünmesine yol açabilmektedir. Bu nedenle ekstraksiyon sıcaklığı için maksimum sınır değeri 60°C olarak belirlenmiş ve dolayısıyla denemeler sabit sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

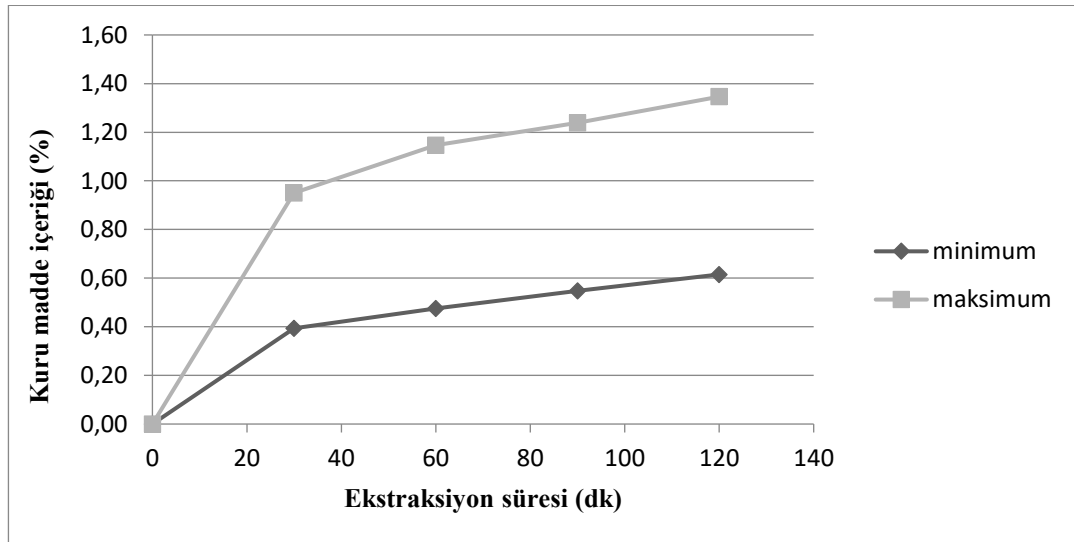
Kestane kabuğu için, minimum %10 ve maksimum %20 katı oranlarında 120 dakika boyunca ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi boyunca 30 dakika aralıklarla örnek alınmış ve kuru madde analizi gerçekleştirilmiştir. Sabit sıcaklıkta, ekstraktın kuru madde içeriğinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimini gösteren grafik Şekil 4.1'de verilmiştir. Ekstraksiyon süresi ve katı oranı arttıkça kuru madde içeriğinde yükselme gözlenmiştir. Şekil 4.1'de görüldüğü üzere 30 dakikalık ekstraksiyon işlemi sonunda minimum katı oranında kuru madde içeriği %0.031 ve maksimum katı oranında ise %0.044'tür. Dolayısıyla kestane kabuğu için ekstraksiyon süresinin 30 dakikanın altında olması yapısındaki bileşenlerin tam olarak ekstrakte edilememesine neden olur. Bu nedenle kestane kabuğu için minimum ekstraksiyon süresinin 30 dakika olması daha uygundur.



**Şekil 4.1.** Kestane kabuğu kullanılarak sabit sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, ekstraktların kuru madde içeriklerinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimi

Sedir için, minimum %15 ve maksimum %25 katı oranlarında 120 dakika boyunca ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi boyunca 30 dakika aralıklarla örnek alınmış ve kuru madde analizi gerçekleştirilmiştir. Sabit sıcaklıkta ekstraktın kuru madde

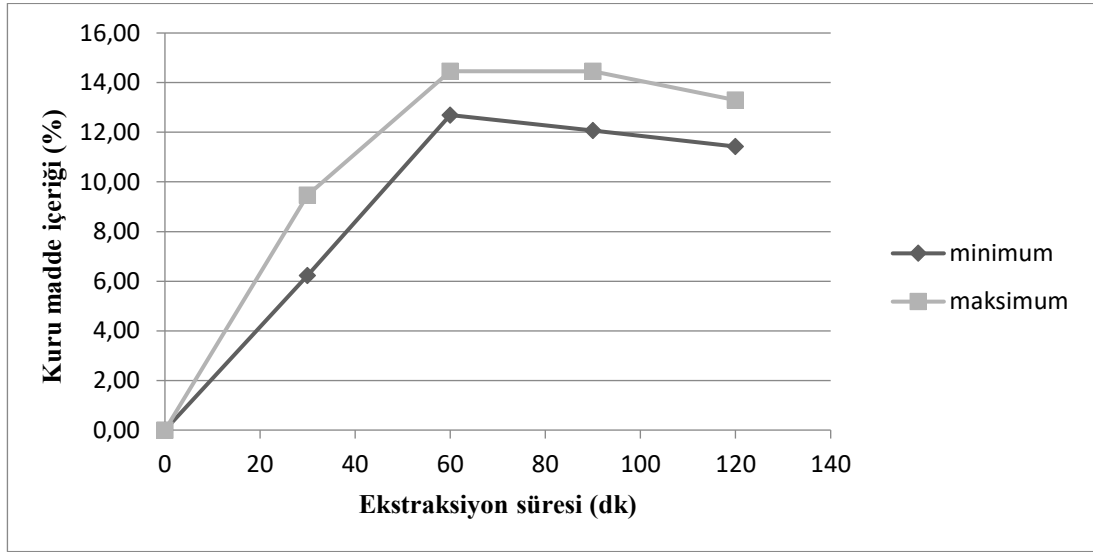
içeriğinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimini gösteren grafik Şekil 4.2'de verilmiştir. Ekstraksiyon süresi ve katı oranındaki yükselme kuru madde içeriğini artırmıştır. Şekil 4.2'de görüldüğü üzere sedir materyalinde ekstraksiyon işlemi, kestane kabuğuna göre çok daha hızlı gerçekleşmektedir. 30 dakikalık ekstraksiyon işlemi sonunda, minimum katı oranında kuru madde içeriği %0.40 ve maksimum katı oranında ise %0.95'tir. Kestane kabuğu ile kıyaslandığında 30 dakikalık ekstraksiyon işlemi sonucunda minimum ve maksimum katı oranlarındaki sedir ekstraktlarının kuru madde içeriklerinin yaklaşık 20-25 kat daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısıyla sedir çözücü ile temas ettiği anda ekstraksiyon başlarken kestane de böyle bir durum söz konusu değildir. Ekstraksiyon süresinin ilk 60 dakikasında kuru madde içeriğinde hızlı bir artış gözlemlenirken 60. dakikadan sonra kuru madde içeriğinde daha yavaş bir artış gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.2.** Sedir kullanılarak sabit sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, ekstraktların kuru madde içeriklerinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimi

Sıgla için ise, minimum %20 ve maksimum %30 katı oranlarında 120 dakika boyunca ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş ve 30 dakika aralıklarla örnek alınarak kuru madde analizi gerçekleştirilmiştir. Sabit sıcaklıkta ekstraktın kuru madde içeriğinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimini gösteren grafik Şekil 4.3'te verilmiştir. Şekilde de görüldüğü üzere 30 dakikalık ekstraksiyon işlemi sonunda minimum katı oranında kuru madde içeriği %6.23 ve maksimum katı oranında ise %9.46'dır. Dolayısıyla kestane kabuğu ve sedire kıyasla ekstraksiyon işlemi sıgla da çok daha hızlı gerçekleşmektedir. Sedirde olduğu gibi sıgla da çözücü ile temas ettiği anda ekstraksiyon işlemi başlamaktadır. Ekstraksiyon süresinin ilk 60

dakikasında kuru madde içeriğinde hızlı bir artış gözlemlenirken 60. dakikadan sonra ise kuru madde içeriğinde artış olmamış ve bu durum ekstraksiyon işleminin bittiğini göstermektedir.



**Şekil 4.3.** Sıgla kullanılarak sabit sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, ekstraktların kuru madde içeriklerinin, katı oranı ve ekstraksiyon süresine bağlı değişimi

Yapılan denemeler dikkate alındığında kestane kabuğu için asıl ekstraksiyonun 30. dakikada başladığı, sıgla ve sedir için ise 60. dakikadan sonra kuru madde içeriğinde çok büyük bir değişimin olmadığı gözlemlenmiştir. Kestane kabuğu, sedir ve sıgla için proses koşullarının sabit tutulması, bu materyallerden elde edilen ekstraktların yanıt olarak seçilen toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan aktivite değerlerinin karşılaştırılmasında daha doğru bir yaklaşım olur. Ekstraksiyon süresi, bitki materyallerinden hedef çözünen maddelerin tamamen ekstraksiyonunu etkileyen önemli bir parametre olmakla birlikte enerji ve ekstraksiyon işleminin maliyetinden tasarruf sağlamak için de önemli bir parametredir. Dolayısıyla her üç materyal için ekstraksiyon sıcaklığının sınır koşulları 30-60 °C ve ekstraksiyon süresinin sınır koşulları ise 30-60 dk olarak belirlenmiştir.

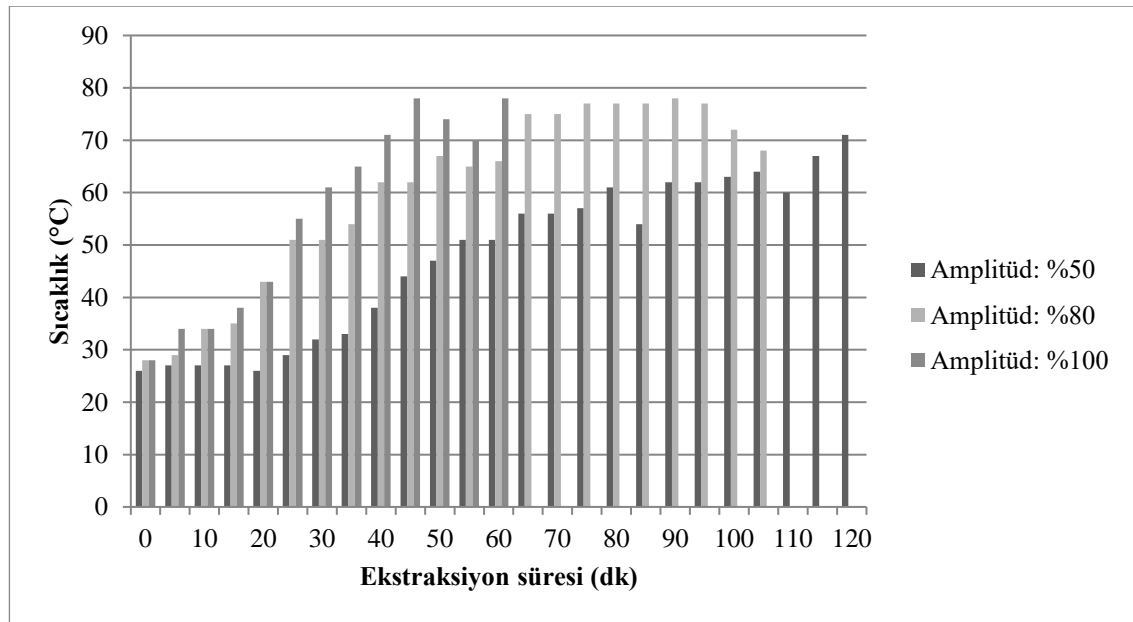
Ekstraksiyon verimini etkileyen bir diğer parametre de katı oranıdır. Katı oranının belirlenmesi aşamasında, ultrasonik ekstraksiyon yöntemi de dikkate alınmıştır. İki farklı ekstraksiyon yöntemini karşılaştırabilmek amacıyla kullanılacak olan katı oranlarının her iki yöntem için de sabit tutulmasına karar verilmiştir. Ultrasonik ekstraksiyonda suyun daha rahat hareket edebilmesi ve kavitasyon yaratabilmesi için katı oranının uygun düzeyde olması gerekmektedir. Kestane kabuğunda maksimum katı oranı %25'in üstüne çıkarıldığında suyun hareket edebileceği alan kısıtlandığından bu değer maksimum sınır olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresinde olduğu gibi her üç materyal için de katı oranı

sabit tutulacağından maksimum limit %25 olarak belirlenmiştir. Katı oranının çok düşük olması verimi de düşürecektir. Hem üç farklı materyal için hem de her iki yöntemin etkili bir şekilde gerçekleştirilebilmesi için uygun olduğundan minimum katı oranı %15 olarak belirlenmiştir.

Sonuç olarak, geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yönteminde proses değişkenleri olarak seçilen katı oranı, sıcaklık ve süre için sınır koşulları sırasıyla %15-25, 30-60 °C ve 30-60 dk olarak belirlenmiştir.

#### 4.3 Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Proses Değişkenlerinin Sınır Koşullarının Belirlenmesi

Farklı materyal (kestane kabuğu, sedir, sığıla), farklı amplitüd değeri (%50, 80, 100), farklı katı oranı (%15, %25), farklı çözücü tipi (su, propanol) ve farklı ekstraksiyon süresi (0-120 dk) kullanılarak gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyon denemelerine ait veriler aşağıdaki şekillerde özetlenmiştir.

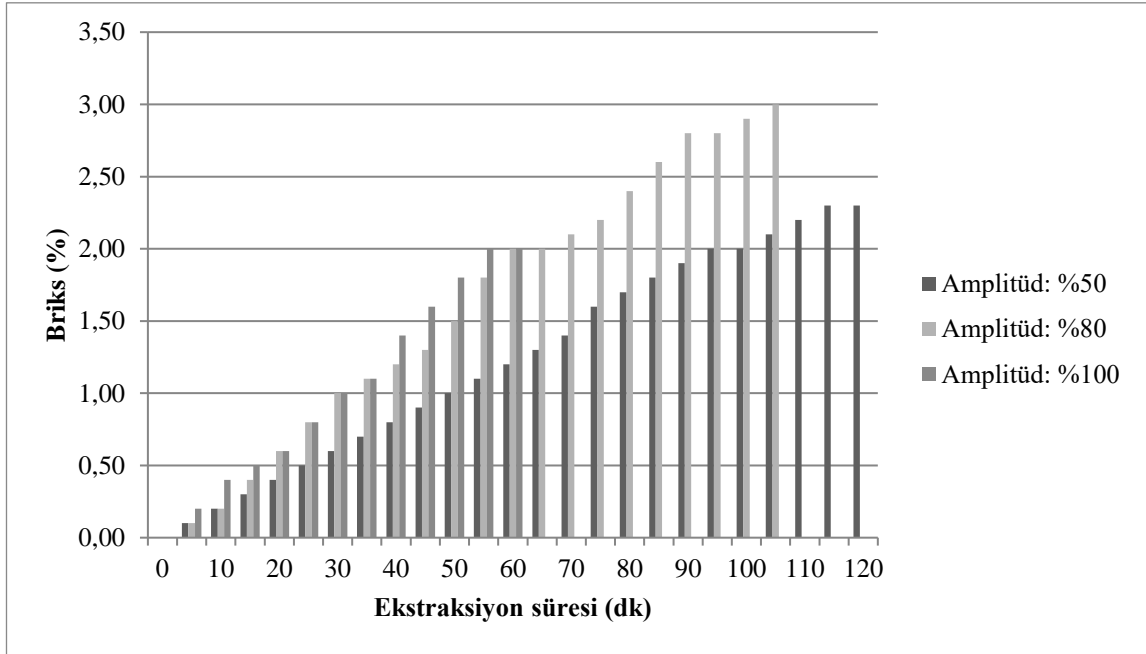


**Şekil 4.4.** Kestane kabuğu kullanılarak sabit katı oranında gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, amplitüd değeri ve ekstraksiyon süresinin çözeltilinin sıcaklığı üzerine etkisi

Katı oranı minimum değerinde (%15) sabit tutularak farklı amplitüd değerleri ile gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, sıcaklığın amplitüd değerine bağlı değişimi Şekil 4.4'te verilmiştir. Amplitüd değeri %50 iken, sıcaklığın minimum olduğu ve daha yavaş artış gösterdiği gözlenmiştir. Amplitüd değeri %100 olduğunda ise sıcaklığın maksimum olduğu ve hızlı bir şekilde yükseldiği tespit edilmiştir. 60.dk sonunda %50, %80 ve %100 amplitüd



değerleri ile ulaşılan sıcaklıkların sırasıyla 51 °C, 66 °C ve 78 °C olduğu gözlenmiştir. 45. dk sonunda ise amplitüd değerindeki artışa bağlı olarak sıcaklıkların sırasıyla 44, 62 ve 78 °C'ye ulaştığı görülmüştür. Maksimum sıcaklık değeri olan 78 °C'ye, %50, %80 ve %100 amplitüd değerlerinde sırasıyla 120, 90 ve 45-60 dk sonunda ulaşıldığı gözlenmiştir.

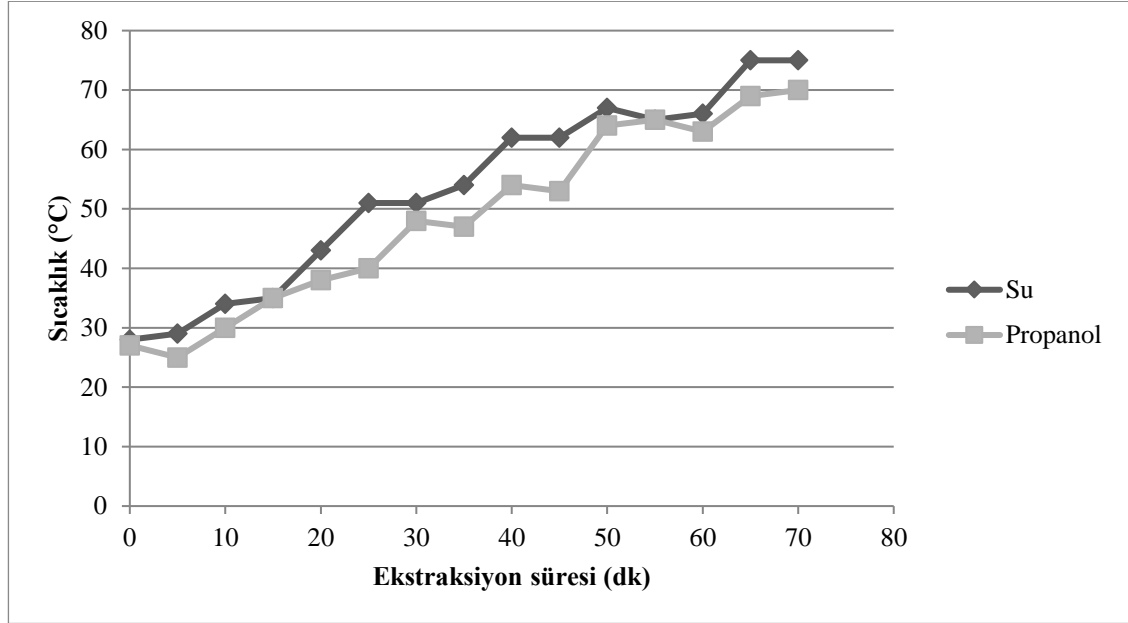


**Şekil 4.5.** Kestane kabuğu kullanılarak sabit katı oranında (%15) gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, amplitüd değeri ve ekstraksiyon süresinin, çözeltinin Briks değeri üzerine etkisi

Üç farklı amplitüd değeri kullanılarak sabit katı oranı ile gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, amplitüd değerinin Briks değeri üzerine etkisi Şekil 4.5'te verilmiştir. Amplitüd değerinin yükselmesi ile birlikte çözeltilerin Briks değeri artmıştır. Amplitüd değeri %50 olduğunda, belirli süre sonunda ölçülen Briks değerlerinin minimum olduğu gözlenmiştir. Şekil 4.5'te de görüldüğü üzere %80 ile %100 amplitüd değerlerinde ölçülen Briks değerlerinin genel olarak birbirine yakın oldukları ve amplitüd değeri %50 iken ölçülen Briks değerlerine kıyasla çok daha yüksek oldukları tespit edilmiştir. 60. dk sonunda %50, %80 ve %100 amplitüd değerlerinde ölçülen Briks değerlerinin sırasıyla %1.2, 2.0 ve 2.0 olduğu gözlenmiştir. 45. dk sonunda ise amplitüd değerindeki artışa bağlı olarak Briks değerlerinin sırasıyla %0.9, 1.2 ve 1.6 olduğu tespit edilmiştir.

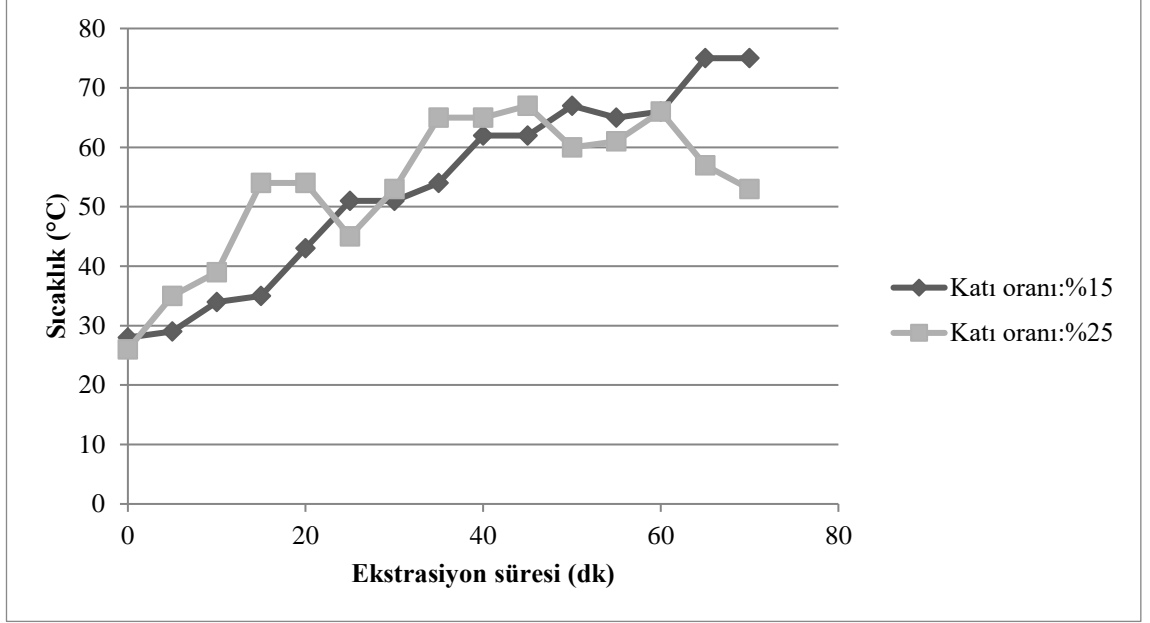
Şekil 4.4 ve Şekil 4.5 incelendiğinde, maksimum amplitüd değerinde (%100) sıcaklık ve Briks değerlerinin hızlı bir şekilde yükseldiği gözlenmiştir. Sıcaklığın artması, çözücü olarak kullanılan suyun buharlaşmasına, etanol ve propanolün ise uçmasına neden olmaktadır. Bu nedenle %100 amplitüd değerinde, Briks değeri en yüksek olmasına rağmen sıcaklığın istenilen

düzeyde tutulamaması dolayısıyla bu değerin uygun olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca %80 amplitüd değeri kullanılarak gerçekleştirilen denemelerde, sıcaklığın daha yavaş yükselmesi, 70 °C'yi aşmaması ve bu değerde ölçülen Briks değerlerinin %100 amplitüd değerinde ölçülen Briks değerlerine yakın olması ekstraksiyon işlemi için %80 amplitüd değerinin daha uygun olduğunu göstermiştir. Bu durumda ekstraksiyon işlemi sırasında kullanılacak minimum amplitüd değeri %50 ve maksimum amplitüd değeri %80 olarak belirlenmiştir.



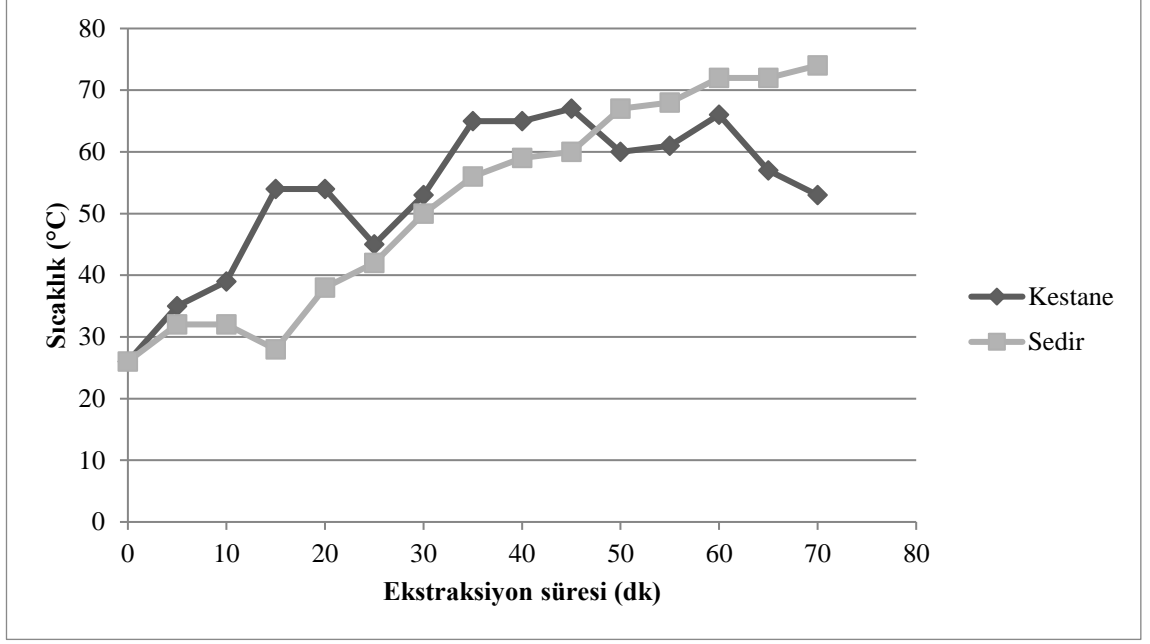
**Şekil 4.6.** Kestane kabuğu kullanılarak sabit katı oranı (%15) ve sabit amplitüd (%80) değerinde gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, çözücü tipinin çözelti sıcaklığı üzerine etkisi

Şekil 4.6'da sabit katı oranı ve sabit amplitüd değeri ile iki farklı çözücü tipi kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu aşamada, proses koşulları sabit tutularak, ekstraksiyon işlemi sırasında çözücü tipinin, sıcaklık üzerine etkisi incelenmiş ve suyun çözücü olarak kullanıldığı denemelerde sıcaklığın, alkol ile gerçekleştirilen denemelere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu sebeple, ekstraksiyon süresinin belirlenmesi aşamasında suyun ulaştığı sıcaklıklar dikkate alınmıştır.

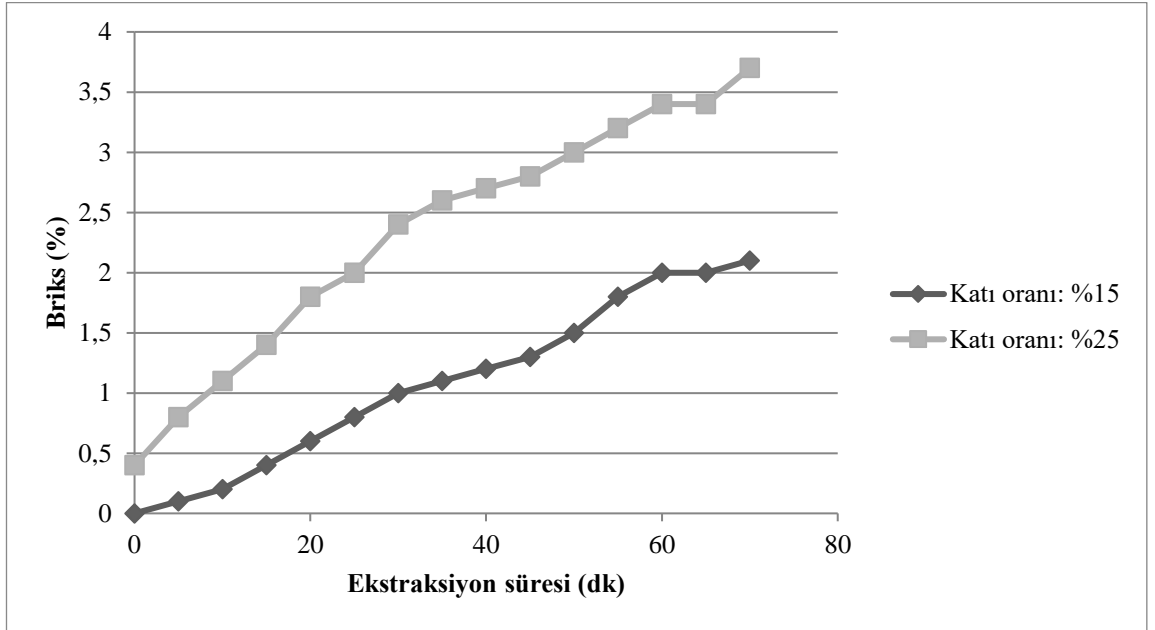


**Şekil 4.7.** Çözücü su iken ve amplitüd değeri (%80) sabit tutularak kestane kabuğu ile gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, katı oranının sıcaklık üzerine etkisi

Çözücü tipi ve amplitüd değeri sabit tutularak gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, katı oranının sıcaklık üzerine etkisi araştırılmıştır (Şekil 4.7). Katı oranı minimum olduğunda, sıcaklık genel olarak lineer bir artış göstermiştir. Katı oranı maksimum olduğunda ise sıcaklık ile ekstraksiyon süresi arasında doğrusal bir ilişki olmadığı gözlenmiştir. 60. dk sonunda sıcaklık değerinin her iki katı oranı için de eşit ve 66 °C olduğu gözlenmiştir. 45. dk sonunda ise %15 katı oranında sıcaklığın 62 °C, %25 katı oranında ise 67 °C olduğu görülmüştür. Özellikle ilk 20 dk içerisinde, maksimum katı oranında sıcaklığın, minimum katı oranına kıyasla daha hızlı bir artış gösterdiği gözlenmiştir. Maksimum katı oranında, zamanla çözücü olarak kullanılan suyun kestane tarafından daha fazla emilmesi ve dolayısıyla su seviyesinin düşmesi ve bu duruma bağlı olarak suyun hareket alanının kısıtlanması ve ultrasonik probun zamanla su seviyesine ulaşamaması ve su emen kestane kabukları arasında denk gelmesi sıcaklık ölçümünün etkin bir şekilde gerçekleştirilememesine neden olmuştur. Ayrıca artan sıcaklık zamanla suyun buharlaşmasına sebebiyet verdiği için Briks değerlerinde hızlı bir artış gözlenmiştir. Bu durum kestane için söz konusu olup Şekil 4.8’de görüldüğü üzere aynı proses koşullarında sedir ile gerçekleştirilen denemede sıcaklık ile süre arasında pozitif yönlü bir eğilim söz konusudur. Bununla birlikte, kestane kabuğunun, sedire kıyasla daha kısa sürede yüksek sıcaklıklara ulaştığı gözlenmiştir.



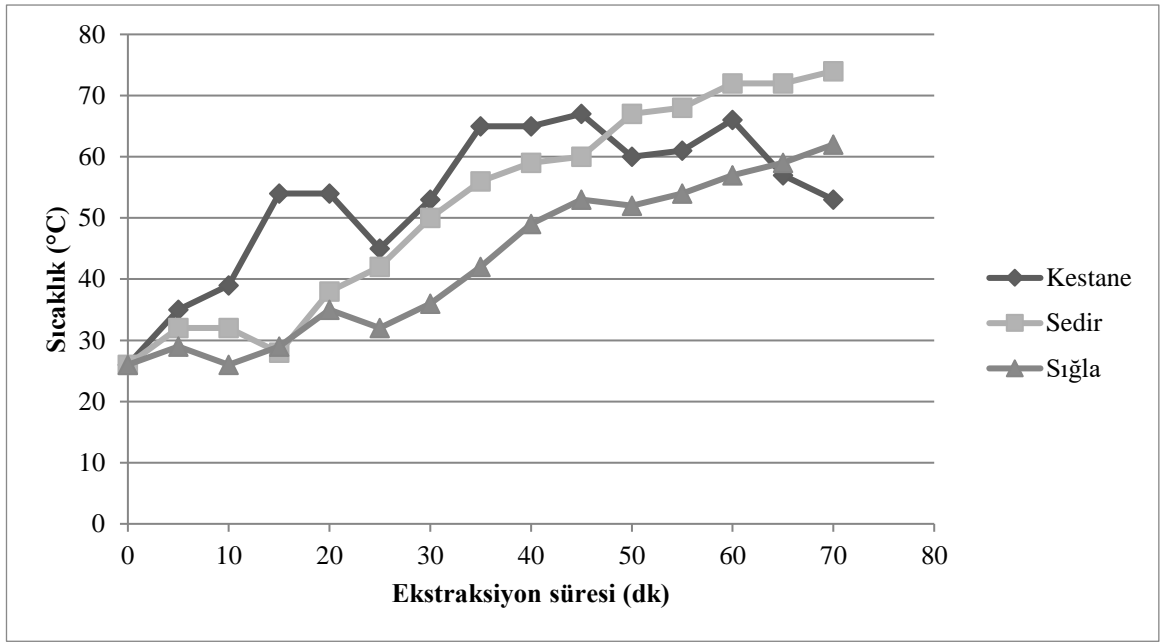
**Şekil 4.8.** Çözücü su iken, katı oranı (%25) ve amplitüd değeri (%80) sabit tutularak gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, kullanılan materyal/hammadde tipinin sıcaklık üzerine etkisi



**Şekil 4.9.** Çözücü su iken amplitüd değeri (%80) sabit tutularak kestane kabuğunda gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, katı oranının Briks değeri üzerine etkisi

Ekstraksiyon işlemi sırasında kullanılan katı oranının Briks değeri üzerine etkisi Şekil 4.9'da gösterilmiştir. İki farklı katı oranı için de, Briks değeri ile ekstraksiyon süresi arasında doğrusal bir artış vardır. Ayrıca artan sıcaklık zamanla suyun buharlaşmasına sebebiyet verdiği için Briks değerlerinde hızlı bir artış gözlenmiştir. Bu durumda ekstraksiyon süresi için belirleyici faktör, proses sırasında ulaşılan sıcaklık değeridir. 45. dakika sonunda minimum ve

maksimum katı oranlarında, sıcaklık ve Briks değerlerinin sırasıyla 62 °C ve 67 °C ile %1.3 ve %2.8 ve 60. dakika sonunda ise sırasıyla 66 °C ve 66 °C ile %2.0 ve %3.4 olduğu gözlenmiştir. Bu aşamada 45. ve 60. dakikalardaki sıcaklık değerlerinin birbirine oldukça yakın olması ve 60. dk'daki Briks değerlerinin daha yüksek olması ekstraksiyon süresi için 60 dakikanın daha uygun olduğunu göstermektedir.



**Şekil 4.10.** Sabit katı oranı (%25) ve sabit amplitüd değerlerinde (%80), kestane, sedir ve sığla olmak üzere üç farklı materyal kullanılarak su ile gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde materyal tipinin sıcaklık üzerine etkisi

Sabit katı oranı ve sabit amplitüd değerlerinde, kestane, sedir ve sığla olmak üzere üç farklı materyal kullanılarak su ile gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerine ait veriler Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Üç farklı materyal karşılaştırıldığında sığla ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, sıcaklık artışının en düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca kestane kabuğunun, sedir ve sığlaya göre çok daha kısa sürelerde ısındığı tespit edilmiştir. Sedir ve sığlada sıcaklık ile ekstraksiyon süresi arasında genel olarak lineer bir artış gözlemlenirken, kestane kabuğunda sıcaklık ile süre arasında doğrusal bir artış veya azalışın olmadığı saptanmıştır. Bu durum daha önce açıklanan sebeplerden kaynaklanmaktadır. Kestane, sedir ve sığla kullanılarak hazırlanan çözeltilerin 45. ve 60. dk sonunda ulaştıkları sıcaklık değerleri sırasıyla 67, 60, 53 °C ve 66, 72 ve 57 °C'dir. Bir önceki aşamada kestane kabuğu kullanılarak gerçekleştirilen denemelerde, ekstraksiyon süresi olarak 60 dakikanın daha uygun olduğu bulgulanmışken bu aşamada, sedirin materyal olarak kullanılması durumunda sıcaklığın 60. dk sonunda 70 °C'nin üzerine çıktığı ve dolayısıyla suyun buharlaşmasına neden olduğu

gözlenmiştir. Ayrıca 70 °C gibi bir sıcaklıkta, alkolün de uçması söz konusudur. Bununla birlikte üç farklı materyal için de 45-60 dk aralıklarındaki sıcaklık değişiminin oldukça dar ve birbirine yakındır. Bu aralıklarda sıcaklık değişimi az olmasına rağmen, 60. dk sonunda çözeltilerin, bu sıcaklıklara daha fazla maruz kalması suyun buharlaşmasına yol açmakta ve Briks değerlerini arttırmaktadır. Bu nedenlerden dolayı kestane, sedir ve sığla için ortak ekstraksiyon süresinin belirlenmesi aşamasında 45 dakikanın maksimum ekstraksiyon süresi olarak daha uygun olduğu sonucuna varılmıştır.

Katı oranı (%15) sabit tutulup, %50 ve %80 olmak üzere iki farklı amplitüd değeri kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde, %50 ve %80 amplitüd değerleri için 15. dk sonunda ölçülen Briks değerlerinin sırasıyla %0.3 ve %0.4 olduğu görülmüştür. Bu durum, 15 dakikalık bir ekstraksiyon süresi için amplitüd değerinin ekstraksiyon işlemi üzerine etkisinin çok düşük düzeyde kaldığını göstermektedir. Aynı koşullarda 30. dk sonunda ölçülen Briks değerleri ise sırasıyla %0.6 ve %1.0'dir. 45. dk sonunda ise sırasıyla %0.9 ve %1.3 olarak ölçülmüştür.

%50 amplitüd değerinde 15., 30. ve 45. dk sonunda ölçülen Briks değerlerinin sırasıyla %0.3, 0.6 ve 0.9 olduğu gözlenmiştir. %80 amplitüd değerinde ise 15., 30. ve 45. dk sonunda ölçülen Briks değerlerinin sırasıyla %0.4, 1.0 ve 1.3 olduğu tespit edilmiştir. Bu durum aynı amplitüd değerinde 15. ve 45. dk sonunda ölçülen Briks değerleri arasında önemli ölçüde fark olduğunu göstermektedir. Amplitüd değeri (%80) sabit tutulup, katı oranı %25'e çekildiğinde, Briks değerinin 15. dk sonunda %1.4 ve 30. dk sonunda %2.4 ve 45. dk sonunda ise %2.8 olduğu görülmüştür.

Bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda, ekstraksiyon süresinin 15-45 aralığında değişim göstermesi daha uygundur.

Sonuç olarak ultrasonik ekstraksiyon yönteminde, proses değişkenleri olarak seçilen katı oranı, amplitüd değeri ve ekstraksiyon süresi için sınır koşulları sırasıyla %15-25, %50-80 ve 15-45 dakika olarak belirlenmiştir.

#### **4.4 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi**

Karışım (su, etanol ve propanol oranı) ve proses (katı oranı, sıcaklık ve süre) değişkenlerinin geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite üzerine etkileri

incelenmiştir. Hazırlanan karışımlardaki su, etanol ve propanol oranları %0 ile %100 arasında değişmektedir. D-Optimal Birleşik Dizayn deneme desenine göre hazırlanan ve proses koşullarını oluşturan katı oranı, sıcaklık ve süre ise sırası ile %15-25, 30-60 °C ve 30-60 dk arasında değişmektedir. Bağımsız işlem ve karışım değişkenlerinin yanıtlar üzerine etkisi regresyon analizi ile Design-Expert paket programı kullanılarak modellenmiş, ekstraktın kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi dikkate alınarak işlem optimize edilmiştir.

Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planı ve elde edilen deneysel yanıtlar sırası ile Çizelge 3.2 ve Çizelge 4.2’de verilmiştir.

**Çizelge 4.2.** Kestane kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	2.98±0.02	661.51±0.34	73.91±0.59
2	3.32±0.02	745.42±2.74	72.20±0.06
3	0.41±0.00	542.22±0.00	47.75±0.00
4	0.42±0.03	610.68±0.24	50.68±0.00
5	0.32±0.01	545.15±1.90	50.80±0.06
6	3.88±0.01	738.02±0.52	71.91±0.00
7	4.06±0.00	736.58±0.17	99.06±0.05
8	0.72±0.02	586.39±0.00	115.4±0.17
9	1.12±0.00	626.66±0.90	74.50±0.26
10	1.51±0.01	668.64±1.11	66.11±0.00
11	1.82±0.01	567.20±0.37	61.69±0.11
12	0.04±0.01	331.74±0.78	41.85±0.05
13	3.49±0.00	605.41±0.29	55.02±0.06
14	4.48±0.01	663.01±2.71	68.56±0.17
15	3.53±0.00	600.70±1.14	74.60±0.10
16	5.05±0.11	690.13±0.00	63.65±0.19
17	4.98±0.01	648.60±0.81	64.14±0.12
18	3.33±0.02	662.22±0.81	72.72±0.03
19	2.74±0.01	783.54±0.74	69.67±0.14
20	0.37±0.01	606.09±0.55	56.44±0.08
21	0.75±0.01	559.12±0.90	54.49±0.08
22	0.29±0.00	562.71±0.00	40.63±0.00

#### 4.4.1 Modelin Oluşturulması

Optimizasyon çalışmasında yer alan işlem ve proses değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel model lineer/modifiye regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere her bir değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha

sonra interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir.

Kuru madde içeriği, TFM içeriği ve AA değerinin tahminlenmesi için en uygun model tipi, sırasıyla modifiye, lineer ve modifiye olmak üzere birinci dereceden modellerdir. Deneysel verilerin birinci dereceden modele fit ettirilmesine ilişkin varyans analizi Çizelge 4.4, 4.5 ve 4.6'da verilmiştir. Burada, elde edilen tüm regresyon modellerinin %99 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Her bir bağımsız değişkenin yanıtlar üzerindeki lineer ve interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği de Çizelge 4.4, 4.5 ve 4.6'da gösterilmiştir. Etkilerin istatistiksel olarak model açısından önemliliği *p*-değerlerinden bulunmuştur. *p*-değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiştir. Ayrıca, kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu (lack of fit) olarak ayrılmıştır. İdeal olarak modelin, matematiksel formunun uygunsuzluğu (lack of fit) için önemsiz ve regresyon modeli için önemli olması gerekmektedir (Myers and Montgomery, 1995). Her üç yanıt için birinci dereceden model, %99 güven seviyesinde önemli ve model uygunsuzluğu (lack of fit) %95 güven seviyesinde önemsiz çıkmıştır (Çizelge 4.4, 4.5 ve 4.6).

Modellerin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı regresyon katsayısı  $R^2$ , düzeltilmiş regresyon katsayısı ve varyasyon katsayısı (C.V.) hesaplanarak belirlenmiştir. Modellerin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler ve değerleri Çizelge 4.3'te özetlenmiştir. Regresyon katsayısı  $R^2$ , deneysel verideki model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmıştır (Myers and Montgomery, 1995; Khuri and Cornell, 1996). Elde edilen modellerin tümünde varyasyonun büyük bir kısmı ( $R^2 > 0.974$ ) modeller tarafından açıklanabilmektedir (Çizelge 4.3).

Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da  $R^2$ 'yi her zaman arttırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (Myers and Montgomery, 1995). Tüm modeller için düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değeri; kuru madde içeriği için 0.966, TFM için 0.946 ve AA için 0.972 olarak hesaplanmış ve kabul edilebilir sınırlar içerisinde çıkmıştır.  $R^2$  ve  $R^2_{adj}$  değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamayla aynı değere sahip olduğunu



göstermektedir (Lazić, 2004). Tüm modeller için varyasyon katsayısı (C.V.) değeri; kuru madde içeriği için 14.10, TFM için 3.52 ve AA için 4.40 olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3).

Bir regresyon modelinin daha sonra yapılacak gözlemler için bir tahminleme modeli olarak kullanılabilmesi için ise Adequate Precision (yeterli tahminleme) ve PRESS istatistikleri kullanılmaktadır. Yeterli tahminleme değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir (Myers and Montgomery, 1995). Tüm modeller için yeterli tahminleme değeri 4 den büyüktür (Çizelge 4.3).

**Çizelge 4.3.** Kestane kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda modelin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler

	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg ağırlık)	GAE/g kuru AA (mg troloks/g kuru ağırlık)
<b>R<sup>2</sup></b>	0.987	0.974	0.991
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>	0.966	0.946	0.972
<b>C.V. %</b>	14.10	3.52	4.40
<b>Yeterli tahminleme</b>	19.95	26.37	30.81

#### 4.4.2 Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ekstrakte edilen kestane kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların kuru madde içerikleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Ekstraktların kuru madde içerikleri, ekstraksiyon çözeltisi içerisinde yer alan su, etanol ve propanol oranlarından istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) seviyede etkilenmektedir (Çizelge 4.4). Ekstraktların kuru madde içerikleri %0.04-%5.05 arasında değişmektedir.

Maksimum kuru madde içeriği, proses koşullarının (%25 katı oranı, 60 °C sıcaklık, ve 60 dk süre) ve karışım değişkenlerinin (etanol: %33.3, propanol: %33.3, su: %33.3) orta noktada sabit olduğu koşullarda elde edilmiştir. Buna karşın en düşük kuru madde içeriği, propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının en düşük seviyelerde (%15 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 30 dk süre) olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir.

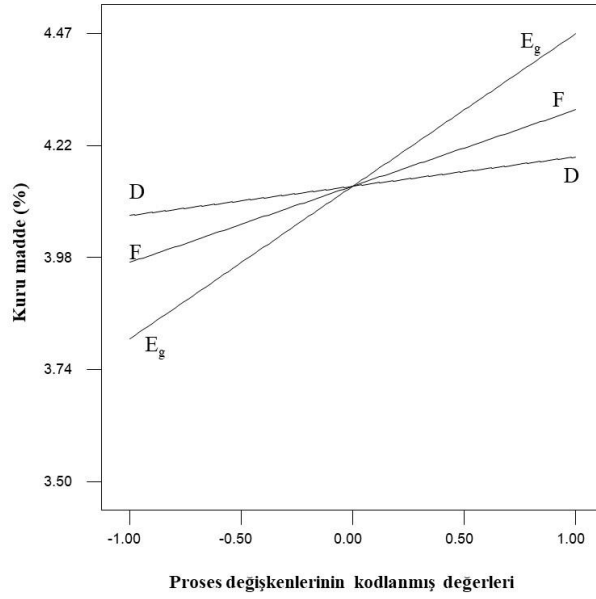
Karışım ve proses değişkenlerinin, kestane kabuğu ekstraktının kuru madde içeriği üzerine etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen model kullanılarak pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bu grafikler, karışım değişkenlerinden herhangi birinin deneysel dizaynının merkez, maksimum ve minimum noktasında sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını vermektedir.

Karışım değişkenlerinin merkez noktasında olduğu durum (%33 su+%33 etanol+%33 propanol) için, katı oranı, sıcaklık ve sürenin bir fonksiyonu olarak kuru madde içeriklerinin değişimini veren pertürbasyon grafiği Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Katı oranının, kuru madde içeriği üzerine önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin artmasıyla birlikte kuru madde içerikleri yükselmektedir. Karışım değişkenleri orta noktada iken üç proses faktörü kıyaslandığında, kuru madde içeriği üzerine sıcaklık etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığının artması, materyalin dokusunu zayıflattığından hem çözünebilirliği hem de difüzyon katsayısını artırarak ekstraksiyon verimini artırmıştır.

**Çizelge 4.4.** Geleneksel yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	Kuru madde içeriği (%)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	13	4.69	< 0.0001
Lineer Karışım	2	15.39	< 0.0001
AB	1	7.48	< 0.0001
AD	1	0.01	0.7644
AE <sub>g</sub>	1	0.33	0.1062
AF	1	0.60	0.0408
BC	1	0.87	0.0187
BD	1	0.13	0.2914
BE <sub>g</sub>	1	0.27	0.1428
BF	1	0.02	0.6590
CD	1	0.00	0.9737
CE <sub>g</sub>	1	1.50	0.0049
CF	1	0.03	0.6222
Kalıntı	8	0.10	
Model uygunsuzluğu	3	0.16	0.1863
Saf hata	5	0.07	
Toplam	21		

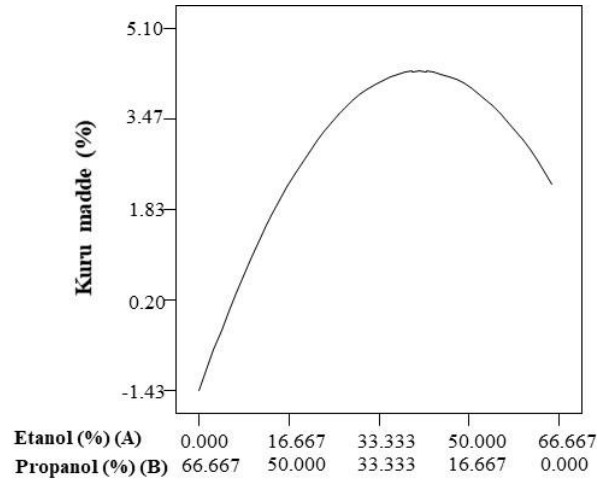
A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli



**Şekil 4.11.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

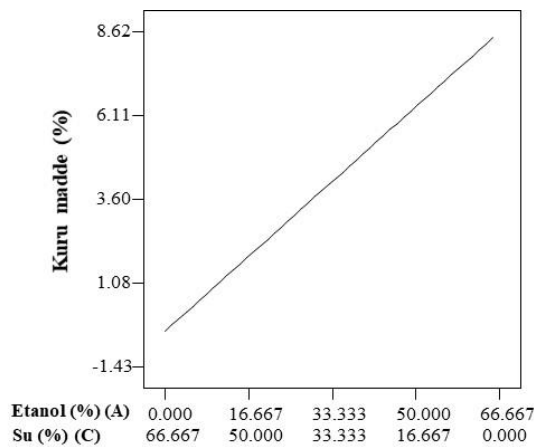
Karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların kuru madde içeriğini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği görülmektedir (Şekil 4.12). Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde su oranının %33.3 olduğu durumda belirli bir değere kadar etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte kuru madde içeriğinde artış gözlemlenirken, belirli bir değerden sonra ortamda etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte kuru madde içeriği azalmaktadır. Su oranı merkez noktada iken, etanol oranı minimum (%0) ve propanol oranı maksimum olduğunda (%66.67), kuru madde içeriğinin minimum olduğu görülmektedir. Etanol oranı %33.3-%50 ve propanol oranı %16.7-%33.3 arasında olduğunda, ekstraktların kuru madde içeriklerinin maksimum olduğu tespit edilmiştir. Su oranı merkez noktada iken, etanol oranı %50-66.7 ve propanol oranı % 0-16.7 arasında olduğunda, kuru madde içeriğinde düşüş gözlenmiştir. Su oranı minimum noktada iken, etanol:propanol oranı %50:%50 olduğunda kuru madde içeriğinin maksimum olduğu saptanmıştır. Çözücü olarak %100 etanol veya %100 propanol kullanımının kuru madde içeriği üzerine etkisi negatiftir. Bu nedenle tek başına etanol ve propanolün çözücü olarak kullanılması yeterli değildir çünkü etanolün çözdüğü bileşenler ile propanolün çözdüğü maddeler birbirinden farklıdır ve dolayısıyla tek bir çözücü kullanılarak tüm maddelerin çözünmesi sağlanamamaktadır. Etanol ve propanolün birlikte kullanılması durumunda ise kuru madde içeriğinde artış gözlenmektedir. Su oranı maksimum noktada iken, etanol oranı arttıkça kuru madde içeriği yükselirken, propanol oranının artmasıyla birlikte kuru madde içeriği

azalmaktadır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak, ortamda su oranının yükselmesiyle birlikte kuru madde içeriğinde belirgin bir şekilde düşüş gözlenmiştir.



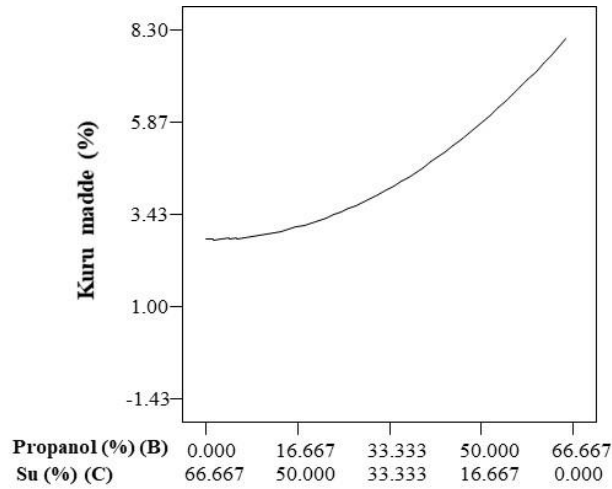
**Şekil 4.12.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde propanol oranının %33.3 olduğu durumda (Şekil 4.13), ekstraktların kuru madde içeriği, etanol oranının yükselmesiyle birlikte artarken, su oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır. Propanol oranı minimum (%0) noktada olduğunda ise durum tersine dönmektedir ve ekstraktların kuru madde içeriği, su oranının artmasıyla birlikte yükselirken, etanol oranının artmasıyla birlikte azalmaktadır. Propanol oranı maksimum olduğunda, etanol oranındaki artış kuru madde içeriğini arttırırken, su oranındaki artış ise kuru madde içeriğini düşürmüştür.



**Şekil 4.13.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözültisi içerisinde etanol oranının %33 olduğu durumda, ekstraktların kuru madde içeriği, su oranının yükselmesiyle birlikte azalırken, propanol oranının yükselmesiyle birlikte artmaktadır (Şekil 4.14). Etanol oranı minimum (%0) noktada olduğunda ise ekstraktların kuru madde içeriği, propanol oranının artması ve su oranının düşmesi ile birlikte belirli bir değere kadar azalmış ve belirli bir değerden sonra (su:propanol %50:%50) su oranının azalması ve propanol oranının artması ile birlikte yükselmiştir. Etanol oranı maksimum olduğunda, propanol oranındaki artış kuru madde içeriğini arttırırken, su oranındaki artış ise kuru madde içeriğini düşürmüştür.



**Şekil 4.14.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içerikleri üzerine en etkili bağımsız değişkenin, karışım değişkenlerini oluşturan su, etanol ve propanol oranı olduğu ve proses değişkenlerinin kuru madde içeriği üzerine genel olarak etkisiz kaldığı bulgulanmıştır. Su, etanol ve propanolün kuru madde içeriği üzerine etkisi incelendiğinde, her üç çözücünün de tek başına kullanımının uygun olmadığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak ortamda alkol bulunmadığında, kuru madde içeriği su oranının artmasıyla birlikte yükselirken, ortamda etanol veya propanolün bulunması halinde durum tersine dönmekte ve kuru madde içeriği, su oranının artmasına bağlı olarak düşmektedir. Ortamda su bulunmadığı takdirde ise tek başına etanol veya tek başına propanolün çözücü olarak kullanılması yetersiz kalmaktadır. Maksimum kuru madde içeriğinin sağlanabilmesi için etanol, propanol ve suyun birlikte kullanılması gerekmektedir.

#### 4.4.3 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

D-optimal birleşik deneme dizaynı izlenerek elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine karışım ve proses değişkenlerinin etkili olduğu bulgulanmıştır (Çizelge 4.5). Evaporasyon işleminden sonra elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri 331.7-783.5 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişim göstermiştir. Maksimum TFM içeriği, proses koşullarının (%15 katı oranı, 30 °C sıcaklık, ve 30 dk süre) ve olduğu çözücü olarak su kullanıldığı koşullarda elde edilmiştir. Buna karşın en düşük TFM içeriği, propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının en düşük seviyelerde (%15 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 30 dk süre) olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. En düşük KM ve TFM içeriğine sahip ekstraktların üretim koşullarındaki proses ve karışım değişkenleri birebir aynı olduğu görülmektedir.

**Çizelge 4.5.** Geleneksel yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

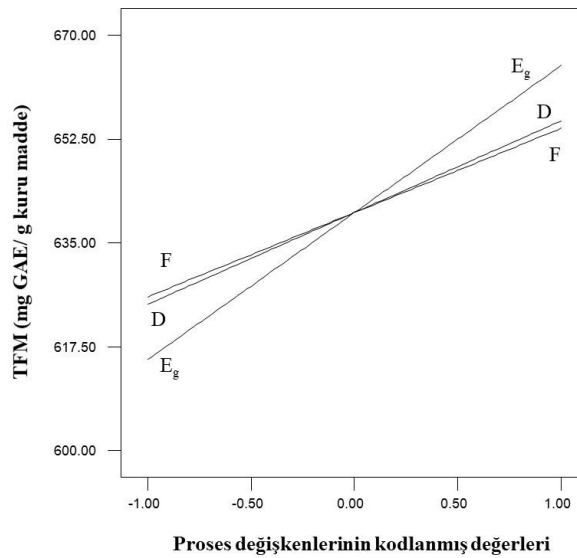
Varyasyon kaynağı	SD	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	13	16790.77	< 0.0001
Lineer Karışım	2	55271.93	< 0.0001
AD	1	4781.87	0.0105
AE <sub>g</sub>	1	570.11	0.3035
AF	1	36.36	0.7897
BD	1	10322.60	0.0010
BE <sub>g</sub>	1	33425.98	< 0.0001
BF	1	30450.45	< 0.0001
CD	1	4006.99	0.0165
CE <sub>g</sub>	1	1595.64	0.0996
CF	1	4359.05	0.0134
Kalıntı	1	484.55	
Model uygunsuzluğu	1	760.10	0.0914
Saf hata	8	209.00	
Toplam	3		

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre

*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Karışım ve proses değişkenlerinin ekstraktların TFM içeriği üzerindeki etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen modeller kullanılarak pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bu grafikler, karışım veya proses değişkenlerinden herhangi birinin deneysel dizaynının merkez, maksimum ve minimum noktasında sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını vermektedir.

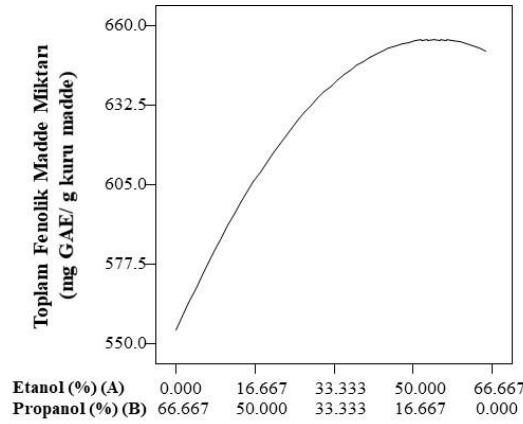
Karışım değişkenlerinin orta noktadaki (%33.3) sabit değerleri için, proses değişkenlerinin fonksiyonu olarak, ekstraktların TFM içeriklerindeki değişim Şekil 4.15'teki pertürbasyon grafiği ile gösterilmiştir. Karışım değişkenleri orta noktada iken proses faktörleri ile ekstraktların TFM içeriği arasında pozitif yönlü bir ilişki söz konusu olup katı oranı, sıcaklık ve sürenin artmasıyla birlikte TFM içeriğinde artış gözlenmiştir.



**Şekil 4.15.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların TFM içeriğini, istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği görülmektedir (Şekil 4.16). Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde su oranının %33.3 olduğu durumda, ekstraktların TFM içeriği, etanol oranının yükselmesiyle birlikte artarken, propanol oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır. Su oranı minimum noktada iken çözücü olarak etanol kullanıldığında, TFM içeriği arttığı, propanol kullanılması durumunda azaldığı bulgulanmıştır. Dolayısıyla tek başına propanolün çözücü olarak kullanılması, fenolik bileşiklerin verimli bir şekilde ekstrakte edilebilmesi için yeterli değildir. Su oranı maksimum noktada iken, etanol oranı artttıkça TFM içeriği yükselirken, propanol oranının artmasıyla birlikte TFM içeriği azalmaktadır. Etanol ve

propanol oranından bağımsız olarak, ortamda su oranının yükselmesiyle birlikte TFM içeriğinde artış sağlanmıştır.

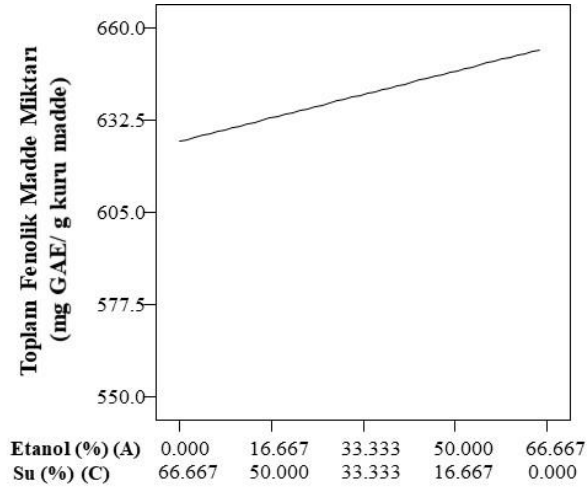


**Şekil 4.16.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

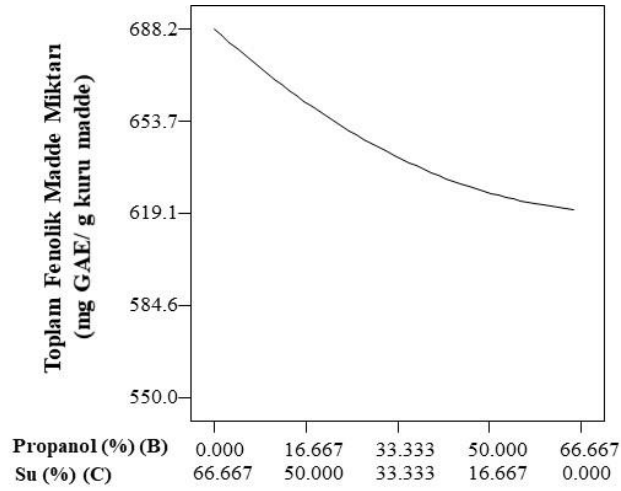
Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde propanol oranının %33 olduğu durumda, ekstraktların TFM içeriği su oranının yükselmesiyle birlikte azalırken etanol oranının yükselmesiyle birlikte artmaktadır (Şekil 4.17). Propanol oranı minimum (%0) noktada olduğunda, su oranının maksimum (%100) ve etanol oranının minimum (%0) olduğu koşullarda en yüksek TFM içeriği elde edilmiştir. Dolayısıyla tek başına etanolün çözücü olarak kullanılması, fenolik bileşiklerin verimli bir şekilde ekstrakte edilebilmesi için yeterli değildir. Propanol oranı maksimum olduğunda ise etanol oranındaki artış TFM içeriğini arttırırken, su oranındaki artış ise TFM içeriğini düşürmüştür. Su ve etanol oranından bağımsız olarak ortamda propanol oranının artmasıyla birlikte TFM içeriğinde düşüş gözlenmiştir.

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde etanol oranının %33 olduğu durumda ekstraktların TFM içeriği, su oranının yükselmesiyle birlikte artarken, propanol oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.18). Benzer şekilde, etanol oranı minimum (%0) olduğunda, ekstraktların TFM içeriği su oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte yükselmiştir. Etanol oranı maksimum (%100) olduğunda ise ekstraktların TFM içeriği su oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte azalmıştır. Su ve propanol oranından bağımsız olarak, ortamda etanol oranının artmasıyla birlikte TFM içeriğinde düşüş gözlenmiştir.





**Şekil 4.17.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.18.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım ve proses değişkenlerinin kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine etkisi karşılaştırıldığında, karışım değişkenlerinin daha önemli bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Su, etanol ve propanolün TFM içeriği üzerine etkisi incelendiğinde suyun, etanol ve propanole kıyasla daha etkili bir çözücü olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla kestane kabuğunda bulunan fenolik maddelerin ekstraksiyonunda, çözücü ortamında mutlaka suyun bulunması gerekmektedir. TFM içeriği açısından, çözücü olarak tek başına suyun kullanılması yeterli olurken yalnız etanol, yalnız propanol veya etanol ve propanol kombinasyonunun kullanımının uygun olmadığı bulgulanmıştır.

Karışım değişkenlerinin TFM içeriği üzerine etkileri incelendiğinde, çözücü olarak su kullanımı daha uygundur. Genel olarak, ekstraksiyon veriminin, pH, ekstraksiyon süresi ve sıcaklık gibi faktörlerin yanında, esas olarak çözücülerin polaritesine bağlı olduğu bilinmektedir (Xu ve Chang., 2007). Su, etanol ve propanolün polarite indeksleri karşılaştırıldığında sıralama su (PI: 10.2)>etanol (PI: 5.4)>propanol (PI: 3.9) şeklindedir. Su, sadece kestane kabuğunda bulunan polar bileşenleri çözerken, etanol ve propanol kullanıldığında ise bir kısım polar bileşenlerin yanında apolar bileşenler de çözünmektedir. Dolayısıyla çözücü olarak alkol kullanıldığında, suya kıyasla kuru madde içeriği daha yüksektir. Fakat kuru madde içeriği ile TFM içeriği arasında her zaman doğrusal bir ilişki yoktur çünkü bu aşamada suyun, etanolün ve propanolün çözdüğü fenolik bileşikler birbirinden farklıdır. Bu nedenle çözücü olarak su kullanılması durumunda, kuru madde içeriği düşük olsa da suyun çözdüğü bileşiklerin fenol içeriğinin yüksek olması ve muhtemelen proses koşullarına karşı bu fenolik bileşiklerin daha yüksek stabiliteye sahip olması dolayısıyla, elde edilen ekstraktların TFM içeriği daha yüksektir.

#### **4.4.4 Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi**

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile farklı karışım ve işlem koşullarında üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Elde edilen ekstraktların AA değerleri 40.63-115.42 mg troloks/g kuru ağırlık arasında değişmiştir. Maksimum AA içeriği, proses koşullarının (%15 katı oranı, 30 °C sıcaklık, ve 30 dk süre) ve olduğu çözücü olarak etanol kullanıldığı koşullarda elde edilmiştir. Bu proses koşulları, maksimum TFM içeriğine sahip ekstraktın proses koşulları ile aynıdır. Ancak maksimum TFM miktarına sahip ekstraktın üretimi %100 su kullanılarak yapılırken, maksimum AA değerine sahip ekstraktın üretiminde %100 etanol kullanılmıştır. Geleneksel yöntemle elde edilen kestane kabuğu ekstraktları incelendiğinde, en düşük AA içeriği, propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının en düşük seviyelerde (%25 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 60 dk süre) olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Kestane kabuğu ekstraktlarının AA içerikleri üzerine karışım ve proses değişkenlerinin etkili olduğu bulgulanmıştır (Çizelge 4.6).

Kestane kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda en düşük KM, TFM ve AA değerlerine sahip ekstraktların ekstraksiyon koşulları incelendiğinde çözücü olarak propanolün kullanıldığı görülmektedir. Fenolik bileşiklerin ve antioksidan aktivite gösteren maddelerin kestane kabuğundan geleneksel yöntemle ekstraksiyonunda su ve etanolün etkinliği propanole göre daha fazladır.

Karışım ve proses değişkenlerinin ekstraktların AA değeri üzerindeki etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen modeller kullanılarak pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21 ve Şekil 4.22).

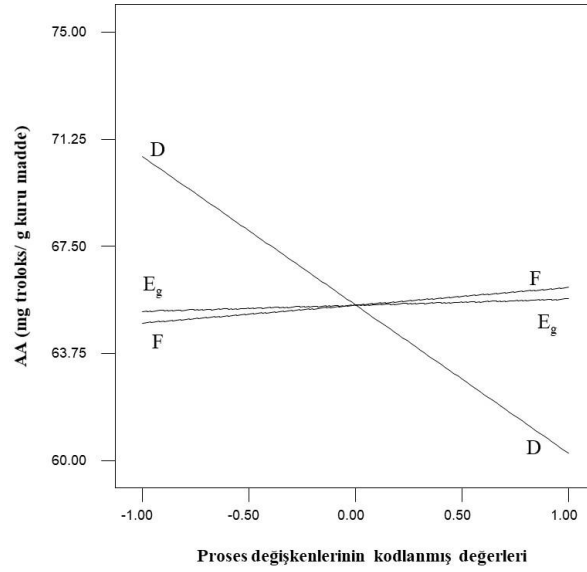
Karışım değişkenlerinin orta noktadaki (%33.3) sabit değerleri için, proses değişkenlerinin fonksiyonu olarak, ekstraktların AA değerlerindeki değişim Şekil 4.19'da verilen pertürbasyon grafiği ile gösterilmiştir. Karışım değişkenleri orta noktada iken, proses faktörlerinden sıcaklık ve sürenin AA değeri üzerine etkili olmadığı, katı oranının ise AA değeri üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu ve katı oranının artmasıyla birlikte AA değerinin azaldığı bulgulanmıştır.

**Çizelge 4.6.** Geleneksel yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	p-değeri
Model	14	444.84	< 0.0001
Lineer Karışım	2	1670.42	< 0.0001
AB	1	75.63	0.0197
AD	1	389.64	0.0002
AE <sub>g</sub>	1	548.81	< 0.0001
AF	1	58.51	0.0332
BC	1	33.96	0.0837
BD	1	0.24	0.8709
BE <sub>g</sub>	1	176.34	0.0025
BF	1	4.05	0.5089
CD	1	230.66	0.0012
CE <sub>g</sub>	1	258.74	0.0008
CF	1	304.04	0.0005
ADE <sub>g</sub>	1	115.99	0.0074
Kalıntı	7	8.36	
Model uygunsuzluğu	2	2.57	0.7948
Saf hata	5	10.68	
<b>Toplam</b>	<b>21</b>		

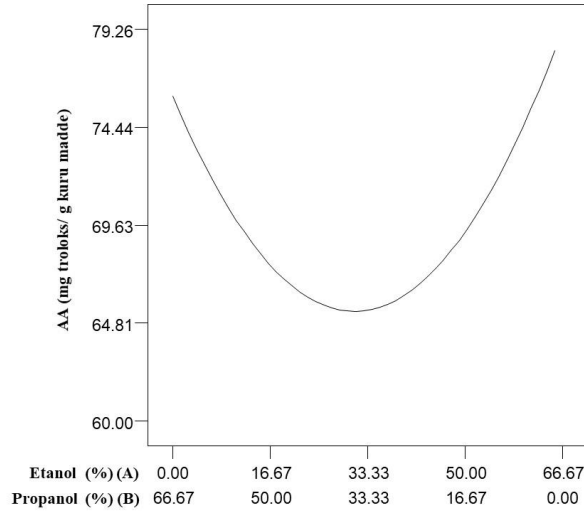
A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre  

$p < 0.05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli



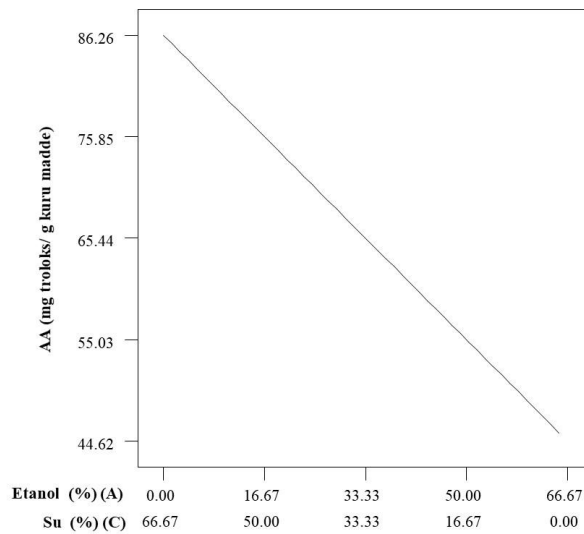
**Şekil 4.19.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların AA değerini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği görülmektedir (Şekil 4.20). Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde su oranının %33.3 olduğu durumda, etanol oranı arttıkça (%0-33.3) ve propanol oranı azaldıkça (%66.7-33.3) AA değerinde belli bir değere kadar düşüş gözlenmiştir. Etanol ve propanol oranının eşit ve %33.3 olduğu ve dolayısıyla karışım değişkenlerinin orta noktada (%33.3 su+ %33.3 etanol+ %33.3 propanol) olduğu durumda ise AA değerinin minimum olduğu gözlenmiştir. Bu noktadan sonra etanol oranının artması (%33.3-66.7) ve propanol oranının azalması (%33.3-0) ile birlikte AA değeri yükselmiştir. Su oranı minimum noktada iken, benzer şekilde, etanol oranının artmasıyla AA değeri belli bir değere kadar azalmış ve daha sonra artış göstermiştir. Su oranı maksimum noktada iken, propanol oranı arttıkça AA değeri yükselirken, etanol oranının artmasıyla birlikte AA değeri azalmaktadır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak, ortamda su oranının yükselmesiyle birlikte AA değeri belirli bir değere kadar (~%70) artmış ve bu noktada en yüksek AA değerine ulaşılmıştır. Su oranının daha fazla artırılması AA değerinin düşmesine neden olmuştur.



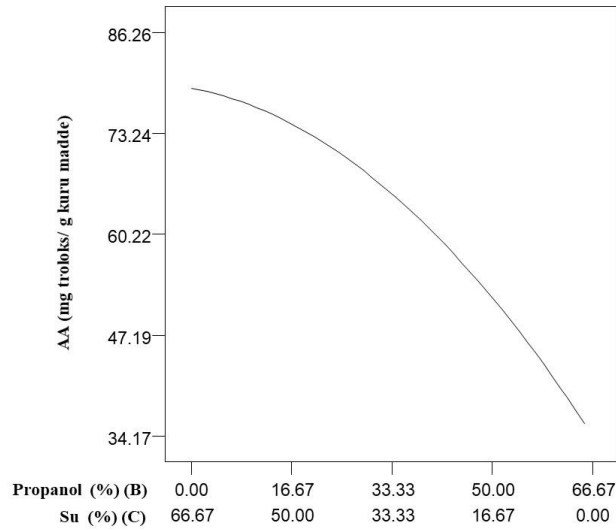
**Şekil 4.20.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde propanol oranının %33 olduğu durumda, ekstraktların AA değeri su oranının yükselmesiyle birlikte artarken, etanol oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.21). Propanol oranı minimum (%0) noktada olduğunda ise durum tersine dönmektedir ve ekstraktların AA değeri etanol oranının artmasıyla birlikte yükselirken, su oranının artmasıyla birlikte azalmaktadır. Propanol oranı maksimum olduğunda ise su oranındaki artış AA değerini arttırırken, etanol oranındaki artış ise AA değerini düşürmüştür. Su ve etanol oranından bağımsız olarak, ortamda propanol oranının %33.3 olması durumunda daha yüksek AA değeri gözlenmiştir.



**Şekil 4.21.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde etanol oranının %33 olduğu durumda, ekstraktların AA değeri, kuru madde ve TFM içeriği ile tutarlı olup, su oranının yükselmesiyle birlikte artarken propanol oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.22). Etanol oranı minimum (%0) noktada olduğunda ekstraktların AA değeri, su oranının artması (%0-75) ve propanol oranının düşmesi (%100-25) ile birlikte yükselmiştir. Bu noktadan sonra su oranındaki artış (%75-100) ve propanol oranındaki düşüş (%0-25) AA değerini negatif yönde etkilemiştir. Etanol oranı maksimum olduğunda ise su oranındaki artış AA değerini arttırırken, propanol oranındaki artış ise AA değerini düşürmüştür. Su ve propanol oranından bağımsız olarak, ortamda etanol oranının artmasıyla birlikte AA değerinde belirgin bir değişiklik gözlenmemiştir.



**Şekil 4.22.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım ve proses değişkenlerinin kestane kabuğu ekstraktlarının AA değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, karışım değişkenlerinin daha önemli bir etkiye sahip olduğu bulgulanmıştır. Su, etanol ve propanolün AA değeri üzerine etkisi incelendiğinde, su ve etanol kullanılarak elde edilen ekstraktların, propanol kullanılarak elde edilen ekstraktlara kıyasla daha etkili bir çözücü olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte büyük oranı su oluşturacak şekilde ortamda bir miktar propanolün de bulunması, AA değerini artırmıştır. Dolayısıyla kestane kabuğundan antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilebilmesi için çözücü ortamında mutlaka suyun bulunması gerekmektedir. Ortamda propanolün bulunmaması durumunda ise etanol oranının artması ile birlikte AA değerinde artış

gözlenmiştir. AA değeri açısından, çözücü olarak tek başına suyun ve etanolün kullanılması yeterli olurken yalnızca propanol kullanımının uygun olmadığı bulgulanmıştır.

#### 4.4.5 Antimikrobiyal Aktivite

Tez çalışması kapsamında, geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak elde edilen kestane kabuğu ekstraktları, ince film evaporatör kullanılarak konsantre hale getirilmiş ve bu ekstraktların antimikrobiyal potansiyelleri, yaygın olarak gıda zehirlenmesine neden olan *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* olmak üzere üç farklı bakteri suşu kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada elde edilen ekstraktlar, farklı mikroorganizmalar üzerinde değişen oranlarda antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde elde edilen zon çapı değerleri Çizelge 4.7’de verilmiştir. Oluşan zon çapları 0.0 ile 7.8 mm arasında değişmektedir. Farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen 22 kestane kabuğu ekstraktının *Escherichia coli* suşuna karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde 14 ekstraktın antimikrobiyal etkisinin olduğu; 8 ekstraktın ise antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ekstraktlarının *Escherichia coli* suşuna karşı oluşturdukları zon çapları 0.0 ile 7.3 mm arasında değişmektedir. *Escherichia coli* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt çözücü olarak % propanolün kullanıldığı ve %15 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 30 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir.

Benzer şekilde bu ekstraktların *Listeria monocytogenes* suşuna karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde 11 ekstraktın antimikrobiyal etkisinin olduğu; 11 ekstraktın ise antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ekstraktlarının *Listeria monocytogenes* suşuna karşı oluşturdukları zon çapları 0.0 ile 7.8 mm arasında değişmektedir. *Listeria monocytogenes* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt çözücü olarak %100 suyun kullanıldığı ve %25 katı oranı, 60 °C sıcaklık, 30 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir.

Bu ekstraktların *Staphylococcus aureus* suşuna karşı diğer iki bakteri suşuna kıyasla sayıca daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu ekstraktların 19 tanesi *Staphylococcus aureus* suşuna karşı antimikrobiyal etki göstermesine karşın sadece 3 tanesi antimikrobiyal etki göstermemiştir. Ekstraktlarının *Staphylococcus aureus* suşuna karşı oluşturdukları zon çapları 0.0 ile 4.8 mm arasında değişmektedir. *Staphylococcus aureus*

suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren iki ekstraktın üretim koşulları şu şekildedir. Çözücü olarak % propanolün kullanıldığı ve %15 katı oranı, 60 °C sıcaklık, 60 dk süre ve 1:1:1 etanol-propanol-su karışımının kullanıldığı ve %25 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 30 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstraktlar *Staphylococcus aureus* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstraktlardır. Elde edilen ekstraktlar değerlendirildiğinde, *Staphylococcus aureus* suşuna karşı zon oluşumunun gözlemlendiği ekstrakt sayısı diğer iki bakteri suşuna kıyasla daha fazla olmasına rağmen, oluşan zon çapları daha küçüktür.

**Çizelge 4.7.** Geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve evaporasyon işlemine tabi tutulan kestane kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi

Deneme No	İnhibisyon çapı (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	4.00±0.00	0.00±0.00	3.50±0.71
2	4.50±0.71	4.38±0.53	4.50±0.71
3	5.50±1.77	3.63±0.53	3.88±0.53
4	0.00±0.00	5.00±0.35	4.75±1.77
5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
6	4.50±0.71	7.75±0.71	4.00±0.71
7	6.38±0.53	7.13±0.53	4.38±0.53
8	6.00±0.35	0.00±0.00	4.50±0.00
9	6.50±1.77	0.00±0.00	4.25±0.00
10	5.13±0.53	3.00±0.00	4.25±0.35
11	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
12	7.25±0.35	0.00±0.00	4.50±0.35
13	4.50±0.35	2.63±0.53	4.75±0.71
14	0.00±0.00	3.00±0.00	4.38±0.18
15	0.00±0.00	0.00±0.00	2.00±0.00
16	0.00±0.00	3.00±0.00	3.75±0.35
17	0.00±0.00	4.38±0.53	4.25±0.00
18	4.13±1.24	5.60±0.85	3.50±0.00
19	0.00±0.00	0.00±0.00	3.00±0.71
20	4.13±0.18	0.00±0.00	2.50±0.00
21	3.75±0.35	0.00±0.00	0.00±0.00
22	4.88±0.18	0.00±0.00	2.38±0.18

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkisi, karışım değişkenleri olan su, etanol ve propanol açısından değerlendirildiğinde, sulu ekstraktların daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği gözlenmiştir. Kullanılan çözücüler



antimikrobiyal etkileri bakımından kıyaslandığında en fazla antimikrobiyal etki gösteren çözücü su, en az antimikrobiyal etki gösteren çözücü ise etanol olarak belirlenmiştir. Geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların genel olarak en azından bir bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulgulanmıştır. Ayrıca her üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etki gösteren ekstraktlar olduğu da belirlenmiştir.

Kestane kabuğu ekstraktları kullanılarak gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite analizi sonuçları, optimizasyon aşamasında incelenmiş fakat bu yanıt için uygun bir model bulunamamıştır. Dolayısıyla optimizasyon işleminde, antimikrobiyal aktivite yanıt olarak değerlendirilmemiştir.

#### **4.4.6 Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması**

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile kestane kabuğu ekstraktı üretiminde karışım değişkenleri olarak belirlenen su, etanol ve propanol oranı ile işlem koşulları olarak seçilen katı oranı, sıcaklık ve süre, maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir.

Optimizasyon çalışmasında geleneksel ekstraksiyon proses değişkenleri olan katı oranı %15-25, ekstraksiyon sıcaklığı 30-60 °C ve ekstraksiyon süresi 30-60 dk aralığında ve karışım değişkenleri olarak seçilen su oranı %0-100, etanol oranı %0-100 ve propanol oranı %0-100 aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesinde her bir yanıt için elde edilen lineer ve modifiye modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum nokta için birbirine yakın üç çözüm bulunmuştur (Çizelge 4.8). Optimum nokta olarak, programın belirlediği bu çözümlerden, birinci çözümde elde edilen faktör seviyeleri seçilmiştir. Bu noktada faktör seviyeleri su oranı %100, katı oranı %15, sıcaklık 60 °C ve süre 60 dk olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.8.** Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar

No	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/ g kuru ağırlık)	AA (mg troloks / g kuru ağırlık)	Desirability
1	0	0	100	15.00	60.00	60.00	739.88	99.52	0.843
2	0	0	100	15.00	60.00	59.66	740.50	99.35	0.843
3	0	0	100	15.05	60.00	60.00	739.61	99.45	0.843

Kestane kabuğunun geleneksel yöntemle ekstraksiyonunda karışım değişkenlerinin etkisi proses değişkenlerine kıyasla daha belirgindir. Belirlenen optimum nokta incelendiğinde, kestane kabuğunun geleneksel yöntemle ekstraksiyonunda en iyi çözücünün su olduğu görülmektedir. Vella ve ark. (2018), biyoaktif moleküllerin, kestane yan ürünlerinden, farklı çözücülerle ekstraksiyonu üzerine yaptıkları çalışmada, elde ettikleri ekstraktların potansiyel antioksidan aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Kestane yan ürünü olarak yaprak, kozalak ve kabuk materyalleri seçilmiştir. Farklı çözücü tipi (metanol, etanol ve su), sıcaklık (oda sıcaklığı ve 100°C) ve katı/çözücü oranının (1/10 ve 1/40 w/v) ekstraktların özellikleri üzerine etkisi test edilmiştir. Yapılan çalışmada, suyun kestane kabukları ve kozalaklarından polifenollerin ekstraksiyonunda en iyi özütleme çözücüsü olduğu belirlenirken, yapraklar için en iyi çözücünün oda sıcaklığında bulunan % 60 etanol olduğu sonucuna varılmıştır. Bu farklılıkların, karmaşık matrislerin, farklı kimyasal bileşimlerinden ve çözücülerin doğası ve polaritelerinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Kestane kabuklarında en yüksek polifenol içeriği 17.68 mg GAE g<sup>-1</sup> olarak bulunmuştur. FRAP testi ile belirlenen antioksidan aktivite, kestane kabuklarında 13.62 mg AAE g<sup>-1</sup> olarak tespit edilmiştir. Çalışmada, kullanılan kabukların yüksek sıcaklıkta pişirme işlemine tabi tutulan kestanenin endüstriyel yan ürünlerinden olduğu düşünüldüğünde, kestane kabukları için elde edilen değerlerin oldukça iyi olduğuna dikkat çekilmiştir.

Tez çalışmasında optimum nokta sonuçlarının doğrulanması, belirlenen matematiksel optimum noktada; etanol oranı %0, propanol oranı %0, su oranı %100, katı oranı %15, sıcaklık 60 °C ve süre 60 dk su banyosunda ekstraksiyon işlemi ve ardından evaporasyon işlemi ile ekstrakt üretimi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 5 doğrulama denemesi sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahminlenen değerler Çizelge 4.9’da verilmiştir.

**Çizelge 4.9.** Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	4.06	744.98	92.07
2	4.05	757.52	94.19
3	4.28	752.53	96.58
4	4.35	737.02	92.72
5	4.21	754.25	91.09
<b>Ortalama</b>	4.19	749.26	93.33
<b>Modelden Tahminlenen</b>	4.13	739.88	99.52

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t*-testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *t*-testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *t*-testi sonuçları Çizelge 4.10'de verilmiştir.

**Çizelge 4.10.** Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer <sup>a</sup>	SH <sup>b</sup>	Fark	% Hata <sup>c</sup>	<i>p</i> -değeri
<b>Kuru madde içeriği (%)</b>	4.13	4.19±0.01	0.60	0.06	1.36	0.393
<b>TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)</b>	739.88	756.23±0.24	4.42	16.35	2.16	0.021
<b>AA (mg troloks /g kuru ağırlık)</b>	99.52	93.14±0.05	1.03	-6.38	6.85	0.004

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir

b Ortalama standart hata

c % Hata = (|yden - ytah|/yden) × 100

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen kestane kabuğu ekstaktı analiz sonuçlarına göre kuru madde içeriği, modelden tahminlenen değerlere oldukça yakın olup, istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsizdir ( $p > 0.05$ ). TFM miktarı ve AA değerinde ise sırasıyla optimum noktada üretilen örneklerde pozitif yönde bir TFM artışı ve negatif yönde bir AA azalışı gözlenmektedir. Fakat TFM miktarı ( $701.535 < \text{TFM} < 778.229$  mg GAE/g kuru ağırlık) ve AA değeri ( $92.834 < \text{AA} < 106.201$  mg troloks/g kuru ağırlık) için elde edilen ortalama deneysel sonuçlar modelin belirlediği sınırlar içerisindedir.

#### **4.5 Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi**

Çalışmanın bu bölümünde karışım değişkenleri olarak farklı çözücü oranları (su, etanol ve propanol oranı) ve proses değişkenleri olarak katı oranı, amplitüd ve süre değişkenlerinin ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının, kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite üzerine etkileri incelenmiştir. Hazırlanan karışımlardaki su, etanol ve propanol oranı sırasıyla %0 ile %100 arasında değişmektedir. D-Optimal Birleşik Dizayn deneme desenine göre hazırlanan ve proses koşullarını oluşturan katı oranı, amplitüd ve süre ise sırası ile %15-25, %50-80 ve 15-45 dk arasında değişmektedir. Bağımsız işlem ve karışım değişkenlerinin yanıtlar üzerine etkisi regresyon analizi ile Design-Expert paket programı kullanılarak modellenmiş, ekstraktın kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi dikkate alınarak ekstraksiyon koşulları optimize edilmiştir. Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planına (Çizelge 3.3) göre elde edilen deneysel yanıtlar Çizelge 4.11’de verilmiştir.

**Çizelge 4.11.** Kestane kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	0.25±0.00	547.69±0.82	64.27±0.14
2	3.44±0.01	624.53±0.30	68.73±0.44
3	3.53±0.01	646.21±0.00	64.81±0.04
4	0.59±0.01	564.28±0.21	62.30±0.07
5	0.35±0.00	268.20±0.00	58.18±0.08
6	2.22±0.00	647.54±0.30	65.48±0.22
7	1.45±0.00	535.90±1.40	77.31±0.07
8	1.45±0.00	684.22±0.40	74.32±0.20
9	1.48±0.01	694.39±1.36	77.59±0.00
10	2.19±0.00	667.30±0.00	71.40±1.23
11	2.14±0.00	663.57±2.84	68.84±0.19
12	0.10±0.01	336.62±0.99	72.67±0.43
13	4.29±0.01	558.06±1.88	73.28±0.13
14	2.41±0.01	697.87±0.00	77.02±0.24
15	1.26±0.00	683.64±0.02	73.67±0.00
16	2.52±0.01	655.17±0.12	68.73±0.04
17	2.46±0.01	671.47±0.82	73.82±0.23
18	0.21±0.00	546.73±1.88	64.14±0.08
19	3.86±0.01	625.53±1.05	68.95±0.03
20	2.93±0.00	642.13±0.00	66.64±0.41
21	0.64±0.00	568.54±1.58	63.62±0.00
22	0.34±0.00	265.83±0.99	57.00±0.11

#### 4.5.1 Modelin Oluşturulması

Modellerin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı regresyon katsayısı  $R^2$ , düzeltilmiş regresyon katsayısı ve varyasyon katsayısı ile açıklanmaktadır. Modellerin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler ve değerleri, Çizelge 4.12’de verilmiştir. Modellerin regresyon katsayısı ( $R^2 > 0.976$ ) 1.0 değerine oldukça yakın olup, varyansın büyük bir kısmının modeldeki bağımsız değişkenler ile açıklandığı görülmektedir. Bununla birlikte, düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değerleri incelendiğinde kuru madde içeriği için 0.945, TFM için 0.999 ve AA için 0.981 olarak belirlenmiştir.  $R^2$  ve  $R^2_{adj}$  değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Modeller için varyasyon katsayısı (C.V.) değeri; kuru madde içeriği için 16.60, TFM için 0.36 ve AA için

1.18 olarak bulgulanmıştır ve düşük varyasyon katsayısı değerleri kabul edilebilir olduğunu göstermiştir. Son olarak, yeterli tahminleme değerleri tüm yanıtlar için 4'ten büyük olduğu görülmektedir.

**Çizelge 4.12.** Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde modellerin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler

	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks/g kuru ağırlık)
<b>R<sup>2</sup></b>	0.976	0.999	0.992
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>	0.945	0.999	0.981
<b>C.V. %</b>	16.60	0.360	1.180
<b>Yeterli tahminleme</b>	18.01	270.3	32.21

Elde edilen sonuçların model uyumluluğu, Design Expert programında ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon için de geleneksel ekstraksiyona benzer şekilde regresyon analizi yapılarak işlem ve proses değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden model oluşturulmuştur. Kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite tahminlenmesi için en uygun model tipi, üç yanıt için de modifiye model olmak üzere birinci dereceden modellerdir. Ekstraktların kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerlerine ait ANOVA analizi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.13, 4.14 ve 4.15'te verilmiştir. Her üç yanıt için *p*-değeri modelin önemli olduğunu göstermektedir.

#### 4.5.2 Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların, kuru madde içerikleri Çizelge 4.11'de verilmiştir. Ekstraktların kuru madde içerikleri, %0.10 ile %4.29 arasında değişmektedir. Maksimum kuru madde içeriği, proses koşullarının (%20 katı oranı, %65 amplitüd ve 30dk süre) ve karışım değişkenlerinin (etanol: %33.3, propanol: %33.3, su: %33.3) orta noktada sabit olduğu koşullarda elde edilmiştir. Buna karşın en düşük kuru madde içeriği, propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının en düşük seviyelerde (%15 katı oranı, %50 amplitüd, 15dk süre) olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir.

Farklı koşulların kestane kabuğu ekstraktlarının KM içeriği üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.13'te verilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin

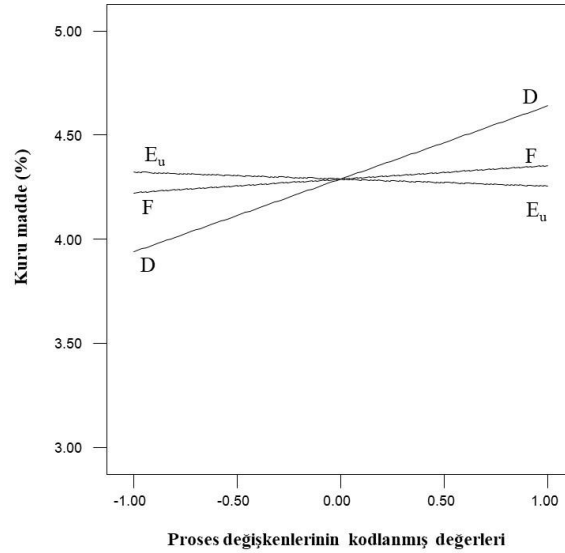
interaksiyonlarının, kestane kabuğu ekstraktlarının KM içerikleri üzerine önemli ölçüde ( $p<0.05$ ) etkili olduğu görülmüştür.

**Çizelge 4.13.** Ultrasonik yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	Kuru madde içeriği (%)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	12	2.82	< 0.0001
Lineer Karışım	2	11.14	< 0.0001
AB	1	6.63	< 0.0001
AD	1	0.17	0.2012
AE <sub>u</sub>	1	0.19	0.1884
AF	1	0.91	0.0117
BD	1	0.06	0.4252
BE <sub>u</sub>	1	0.01	0.7733
BF	1	0.16	0.2243
CD	1	3.45	0.0002
CE <sub>u</sub>	1	0.04	0.5229
CF	1	0.48	0.0488
Kalıntı	9	0.09	
Model uygunsuzluğu	4	0.14	0.1721
Saf hata	5	0.06	
<b>Toplam</b>	<b>21</b>	<b>26.34</b>	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre  
 $p<0.05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Karışım ve proses değişkenlerinin, kestane kabuğu ekstraktının, kuru madde içeriği üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur. Karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.23). Proses değişkenleri arasından katı oranının, kestane kabuğu ekstraktlarının, kuru madde içeriği (%) üzerine etkisinin diğer değişkenlere kıyasla daha önemli olduğu görülmektedir. Katı oranı arttıkça, kestane ekstraktı kuru madde içeriği artmıştır. Amplitüd değerinin artması, ekstraktların kuru madde değerini etkilememiştir.



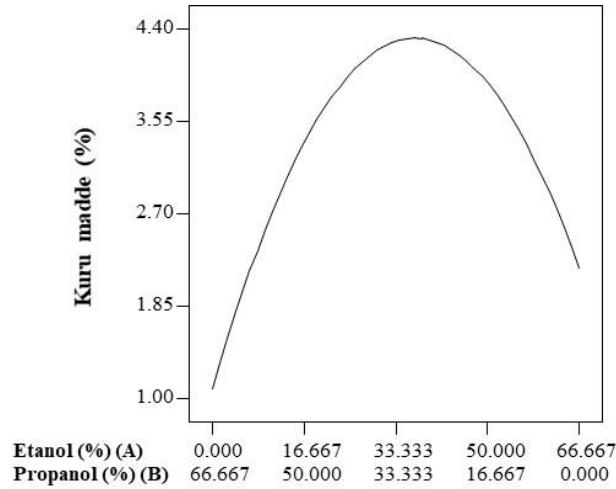
**Şekil 4.23.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Proses değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafikleri Şekil 4.24, 4.25 ve 4.26'da sunulmuştur. Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde, kuru madde üzerine karışım değişkenlerinin etkisi, geleneksel ekstraksiyon ile benzerlik göstermiştir. İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden, etanol-propanol interaksiyonu incelendiğinde (Şekil 4.24), etanol oranının %0'dan yaklaşık %33.3 oranına kadar artan oranlarda kullanılması, kuru madde miktarında artış sağlamasına karşın; %33.3'den %66.6 oranına kadar artması kuru madde miktarında azalmaya neden olmuştur. Su oranının orta noktada (%33.3) olduğu bu koşullarda, ekstraksiyon çözeltilisinde etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi, belirli bir noktaya kadar kuru madde içeriğini arttırmıştır. Ancak, bir noktadan sonra ortamda etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte kuru madde içeriği azalmaktadır. Maksimum etanol ve propanol oranlarında, kuru madde içeriğinin minimum olduğu görülmektedir. Karışım değişkenlerinin tümünün orta seviyede olduğu koşullarda (su oranı %33.3, etanol oranı %33.3, propanol oranı %33.3), ekstraktların kuru madde içeriklerinin maksimum olduğu tespit edilmiştir. Geleneksel ekstraksiyonda olduğu gibi etanol veya propanol çözümlerinin tek başına kullanılmasının yeterli olmadığı görülmüştür.

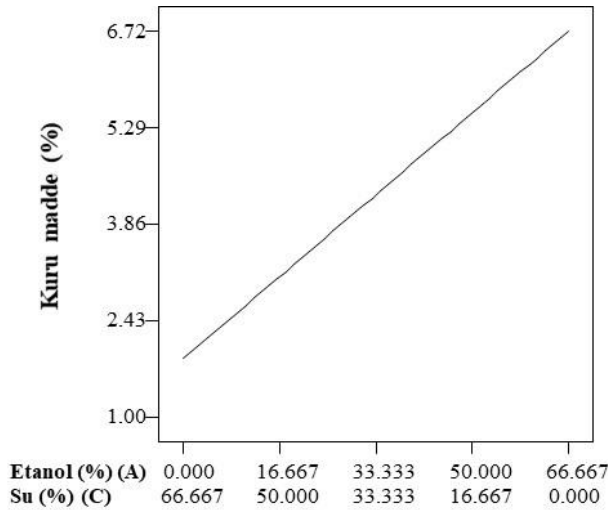
Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksiyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işleminde, etanol oranının artması, ekstraktların KM değerini arttırmaktadır (Şekil 4.25). Etanol oranı artarken, su oranının da azalması sonucu kuru madde



miktarı artmaktadır. Ancak, ortamda propanol çözüneni yer almadığında etanol etkili bir ekstraksiyon sağlayamamaktadır. Etanol oranının azalmasına karşın su oranının artmasıyla, ekstraktların kuru madde içeriği artmaktadır ve maksimum kuru madde içeriği, etanol (%0) ve propanol (%0) içermeyen çözünen olarak sadece su (%100) kullanıldığında elde edilmektedir.

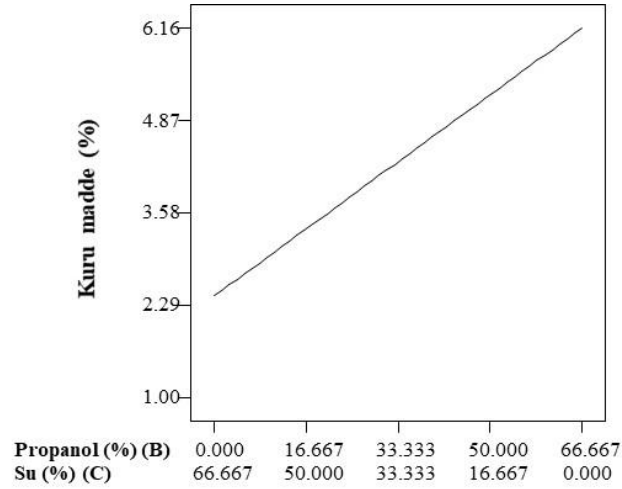


**Şekil 4.24.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.25.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Pertürbasyon grafiklerinden propanol-su interaksyonunu incelendiğinde, propanol oranının artması ile birlikte ekstraktların kuru madde içeriği artarken, su oranının azalması ile birlikte kuru madde içeriği azalmaktadır (Şekil 4.26). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum etanolün bulunmaması durumunda (%0) tam tersi davranış göstermektedir.



**Şekil 4.26.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ultrasonik yöntemle elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının kuru madde içerikleri üzerine en etkili bağımsız değişkenin, karışım değişkenlerini oluşturan su, etanol ve propanol oranı olduğu ve proses değişkenlerinin kuru madde içeriği üzerine genel olarak etkisiz kaldığı bulgulanmıştır. Su, etanol ve propanolün kuru madde içeriği üzerine etkisi incelendiğinde, her üç çözücünün de tek başına kullanımının uygun olmadığı tespit edilmiştir. Maksimum kuru madde içeriğinin sağlanabilmesi için etanol, propanol ve suyun birlikte kullanılması gerekmektedir. Benzer durum kestane kabuğunun geleneksel yöntemle ekstraksiyonunda da geçerlidir. Kestane kabuğunun geleneksel ve ultrasonik yöntemle ekstraksiyonunda maksimum kuru madde değerleri, çözücü olarak 1:1:1 oranında etanol-propanol-su kullanılığında gözlenmiştir.

#### 4.5.3 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 4.11’de verilmiştir. Ekstraktların TFM içerikleri 265.83 ile 697.87 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişmektedir. TFM içeriğindeki değişim aralığının oldukça geniş olması farklı karışım oranlarının ve proses koşullarının, kestane kabuğundan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu etkilediğini açıkça göstermektedir. Maksimum TFM miktarı, proses koşullarının (%25 katı oranı, %50 amplitüd ve 15 dk süre) ve çözücü olarak etanol kullanıldığı koşullarda elde edilmiştir. Bu noktada uygulanan amplitüd değerinin ve sürenin minimum seviyelerde olduğu görülmektedir. Buna karşın en düşük TFM

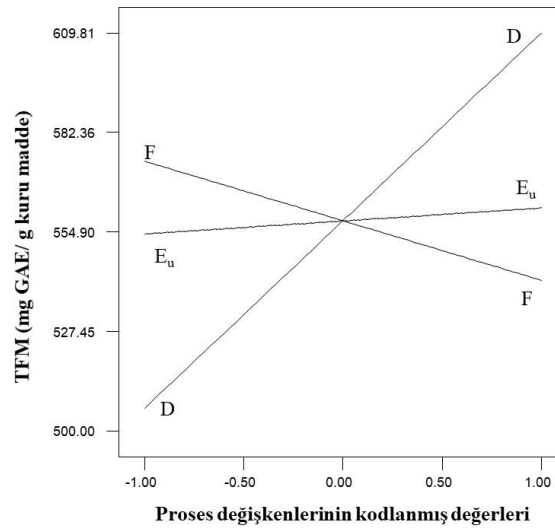
içeriği, propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %15 katı oranı, %80 amplitüd, 45 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Amplitüd değeri ve sürenin maksimum seviyelerde olduğu bu ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilemediği görülmektedir. Bu durum artan amplitüd seviyesi ve süreye bağlı olarak artan sıcaklığın fenolik bileşikler üzerine etkisi ile açıklanabileceği gibi, kullanılan çözücünün propanol olmasının fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlayamaması ile de açıklanabilir. Bununla birlikte, istatistiksel olarak incelendiğinde, koşulların kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.14'te verilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin interaksiyonlarının, kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine önemli ölçüde ( $p<0.05$ ) etkili olduğu görülmüştür. TFM yanıtı üzerine sadece etanol ile gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyonda amplitüd değerinin anlamlı bir etkisi bulunmamıştır.

Karışım ve proses değişkenlerinin, kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur. Karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.27). Kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine proses değişkenleri arasından en fazla katı oranının etkisinin olduğu görülmektedir. Katı oranı arttıkça, ekstraktların TFM içeriği artmıştır. Proses değişkenlerinden amplitüd seviyesi, fenolik maddelerin ekstraksiyonu açısından ekstraksiyon verimini etkilememiştir. Ekstraksiyon süresinin ise fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine negatif etkisi olduğu görülmektedir. Ekstraksiyon süresinin artması, TFM miktarının azalmasına neden olmuştur. Bu da yine artan süreye bağlı olarak, uygulanan ultrasonik ses dalgaları ile sıcaklığın da artması sonucu fenolik bileşiklerin olumsuz yönde etkilenmesinden kaynaklanabilir.

**Çizelge 4.14.** Ultrasonik yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

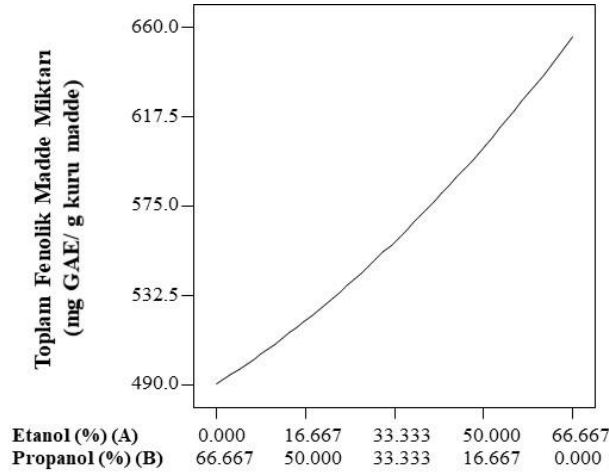
Varyasyon kaynağı	SD	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	12	29427.25	< 0.0001
Lineer Karışım	2	108199.23	< 0.0001
AB	1	211.43	< 0.0001
AD	1	318.16	< 0.0001
AE <sub>u</sub>	1	0.78	0.6798
AF	1	1474.75	< 0.0001
BD	1	104034.25	< 0.0001
BE <sub>u</sub>	1	3154.48	< 0.0001
BF	1	1016.32	< 0.0001
CD	1	2451.48	< 0.0001
CE <sub>u</sub>	1	5700.06	< 0.0001
CF	1	2851.94	< 0.0001
Kalıntı	9	4.27	
Model uygunsuzluğu	4	4.33	0.4767
Saf hata	5	4.23	
<b>Toplam</b>	<b>21</b>	<b>258852.96</b>	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli



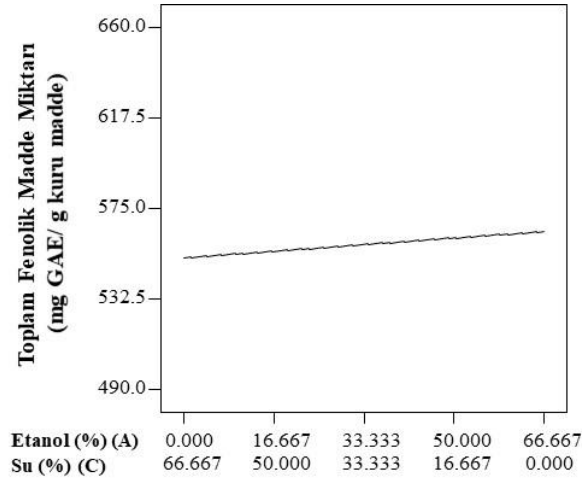
**Şekil 4.27.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Proses değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların TFM içerikleri üzerine etkisini gösteren ikili karışım pertürbasyon grafikleri aşağıda sunulmuştur (Şekil 4.28, 4.29 ve 4.30). Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde, karışım değişkenlerinin TFM içeriği üzerine etkisi incelendiğinde propanolün iyi bir çözücü olmadığı ve kestane kabuğunda bulunan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu yeterli ölçüde sağlayamadığı görülmektedir. Buna karşın etanol ve su çözücüleri fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda etkili oldukları gözlenmiştir. İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden etanol-propanol interaksiyonu incelendiğinde, suyun merkez noktada olduğu durumda etanol oranının %0'dan %66.6 oranına kadar artması TFM içeriğinde belirgin artış sağlanmıştır (Şekil 4.28).

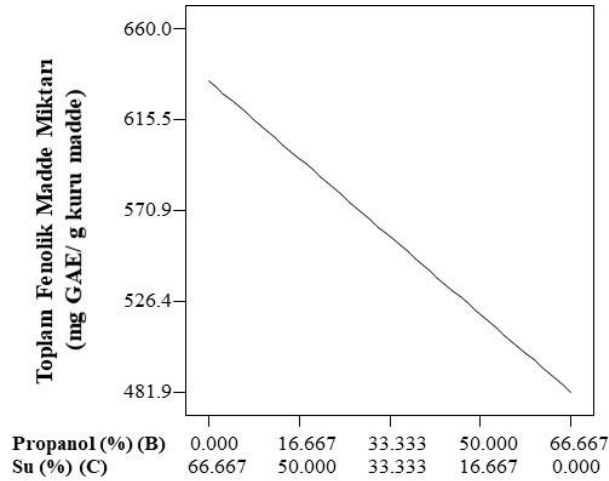


**Şekil 4.28.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden etanol-su interaksiyonu incelendiğinde (Şekil 4.29), etanol oranının artması ve su oranının azalması, TFM içeriğinde düşük bir artış sağlamasına karşın; propanol-su interaksiyonu incelendiğinde (Şekil 4.30), ekstraksiyon çözeltisinde su oranının artması ve propanol oranının azalmasının, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu belirgin bir şekilde sağladığı görülmektedir. Karışım değişkenlerinden etanol maksimum oranda kullanıldığında TFM içeriğinin de maksimum olduğu görülmektedir. Propanol çözücünün, fenolik maddelerin ekstraksiyonunda etkili olmadığı görülmüştür. Bu durum ekstraktların TFM içerikleri incelendiğinde de görülmektedir ki maksimum TFM içeriği etanol ile gerçekleştirilen denemede elde edilirken, minimum TFM propanol ile gerçekleştirilen denemede elde edilmiştir.



**Şekil 4.29.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.30.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine hem karışım hem de proses değişkenlerinin önemli bir etkiye sahip olduğu bulgulanmıştır. Karışım ve proses faktörlerinin etkisi bir arada değerlendirildiğinde, ekstraktların TFM miktarı üzerine karışım değişkenlerinin daha etkili olduğu belirlenmiştir. Amplitüd değerinin ve katı oranının merkez noktada olduğu ve ekstraksiyon süresinin minimum olduğu durumda etanol oranının artmasıyla birlikte TFM içeriği en yüksek değerine ulaşmıştır. Bu koşullarda katı oranı ve amplitüd değerinin değiştirilmesinin TFM içeriği üzerine önemli bir etkisi olmamıştır.

#### 4.5.4 Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.11’de verilmiştir. Ekstraktların antioksidan aktivite değerleri 57.00 ile 77.59 mg troloks/g kuru ağırlık arasında değişmektedir. Ekstraktların TFM içeriğine kıyasla antioksidan aktiviteleri birbirine daha yakın değerlerde bulgulanmıştır. Karışım ve proses değişkenlerinin kestane kabuğu ekstraktlarının AA değerleri üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.15’te verilmiştir. Değişkenlerin etkisi istatistiksel olarak incelendiğinde, etanol ve propanol çözücülerinin sıcaklık ile etkileşimi önemsiz olarak belirlenirken, katı oranı ve süre ile etkileşimleri antioksidan aktivitelerini önemli ölçüde etkilemektedir. Ekstraksiyon çözeltisinde çözücü olarak su yer aldığına, karışım ve proses değişkenlerinin birbirleriyle olan etkileşimlerinin ekstraktların antioksidan aktiviteleri üzerine önemli ( $p<0.05$ ) etkisi olduğu belirlenmiştir.

Maksimum antioksidan aktiviteye sahip olan ekstraktlar, ekstraksiyon çözeltisinin etanol ve proses değişkenlerini oluşturan katı oranı, amplitüd değeri ve ekstraksiyon süresinin ise sırasıyla %25, %80 ve 15 dk olduğu koşullarda gerçekleştirilen denemelerde elde edilmiştir. Gerçekleştirilen bu denemede elde edilen ekstraktların fenolik madde içeriğinin oldukça yüksek olduğu ve maksimum fenolik madde içeriğini takip eden ikinci ekstrakt olduğu belirlenmiştir. TFM içeriği ile AA sonuçları birbiri ile uyumlu bulunmuştur. En düşük AA değeri, TFM içeriğinde olduğu gibi propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %15 katı oranı, %80 amplitüd, 45dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Bu noktada çözücü olarak kullanılan propanolün fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlayamaması AA değerlerinin de düşük olması ile sonuçlanmıştır.

**Çizelge 4.15.** Ultrasonik yöntemle üretilen keestane kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	p-değeri
Model	12	60.60	< 0.0001
Lineer Karışım	2	185.88	< 0.0001
AB	1	17.76	0.0006
AD	1	25.44	0.0002
AE <sub>u</sub>	1	0.75	0.3136
AF	1	48.98	< 0.0001
BD	1	3.83	0.0395
BE <sub>u</sub>	1	76.55	< 0.0001
BF	1	106.61	< 0.0001
CD	1	22.56	0.0002
CE <sub>u</sub>	1	74.43	< 0.0001
CF	1	25.30	0.0002
Kalıntı	9	0.66	
Model uygunsuzluğu	4	0.67	0.4760
Saf hata	5	0.65	
Toplam	21	650.70	

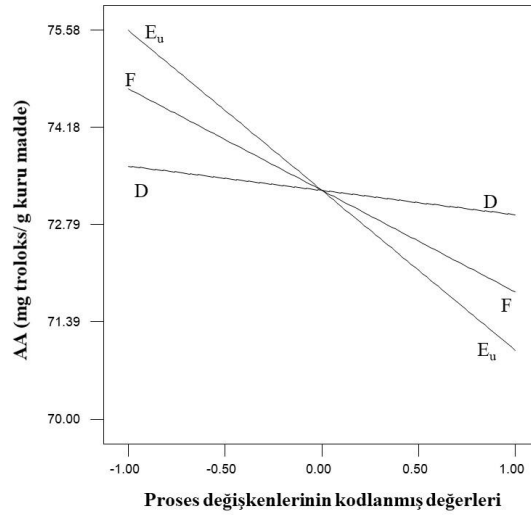
A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre  
p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Kestane kabuğunun geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyonunda, en düşük KM, TFM ve AA değerlerine sahip ekstraktların ekstraksiyon koşulları incelendiğinde, çözücü olarak propanolün kullanıldığı görülmektedir. Buna bağlı olarak kestane kabuğundan fenolik bileşiklerin ve antioksidan özellik gösteren maddelerin ekstraksiyonunda su ve etanolün, propanole kıyasla daha iyi çözücüler olduğu sonucuna varılmıştır.

Karışım ve proses değişkenlerinin, kestane kabuğu ekstraktlarının AA değerleri üzerine etkilerini gösteren pertürbasyon grafikleri elde edilmiştir. Karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.31). Kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine proses değişkenlerinden katı oranının belirgin bir etkisi olmadığı görülmektedir. Amplitüd ve süre değişkenleri ise AA üzerine negatif etki göstermiştir. Benzer şekilde ekstraksiyon süresinin artması fenolik maddelerin ekstraksiyonunun azalmasına neden olduğu belirtilmiştir. AA değerleri de buna bağlı olarak paralel sonuçlar göstermiştir. Uygulanan amplitüd seviyesinin ve sürenin artması sonucu ekstraktların AA değerlerinde gözlenen azalma, uygulanan ultrasonik ses dalgaları ile çözelti

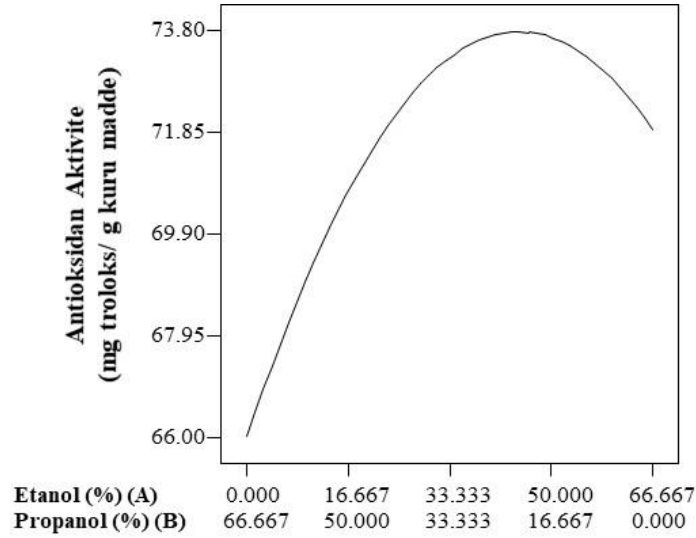


sıcaklığının artması sonucu bileşiklerin aktif özelliklerinde kayıp olması ile açıklanabilir. Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde yüksek güç ve uzun sürede gerçekleştirilen ekstraksiyon uygulamalarında her zaman etkili ekstraktlar elde edilemeyebilir. Bu nedenle optimum ekstraksiyon koşullarının belirlenmesi önem taşımaktadır.



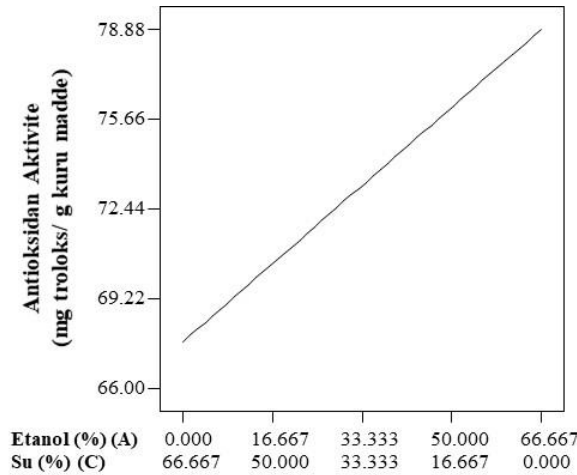
**Şekil 4.31.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Proses değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun ekstraktların AA değerleri üzerine etkisini gösteren ikili karışım pertürbasyon grafikleri sunulmuştur (Şekil 4.32, 4.33 ve 4.34). Ekstraksiyon çözeltilinde etanol-propanol karışımı kullanılması durumunda, artan etanol oranı ile ekstraktların AA değerleri artış gösterirken, %50'nin üzerine çıktığında AA değerleri azalmıştır (Şekil 4.32). Etanol-propanol interaksiyon grafiği, suyun Merkez noktada olduğu koşulda ekstraksiyon çözeltilisinin düşük oranda (%16.66) propanol içermesinin ekstraktların AA değerlerinin en yüksek değerlere ulaşmasını sağladığını göstermektedir. Bu sınırlı da olsa antioksidan aktivite gösteren bazı bileşiklerin propanol ile ekstrakte edilebildiğini göstermektedir.

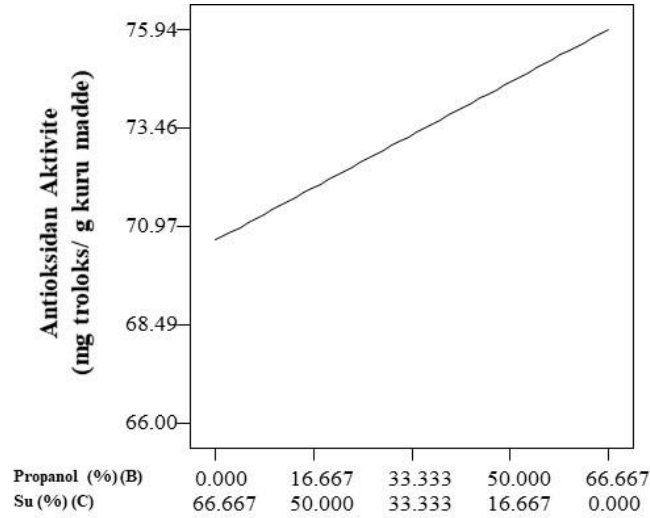


**Şekil 4.32.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden etanol-su interaksyonu incelendiğinde, etanol oranının artması AA değerlerinde artış sağlamıştır (Şekil 4.33). Ekstraksiyon çözeltisinde yüksek veya düşük oranda propanol bulunması, AA üzerine etanol-su interaksyonunun etkisini değiştirmemiştir. Propanol-su incelendiğinde, etanolün %33.33 oranında kullanıldığı koşulda propanol oranının artması ile AA miktarında artış olmuştur (Şekil 4.34). Etanol içermeyen veya düşük oranda içeren ekstraksiyon çözeltisinde propanol oranının maksimuma çıkarılması ve su oranının azalması AA değerinde azalma ile sonuçlanmaktadır. Bu durum antioksidan bileşiklerin etanol ve su çözümleri ile daha verimli bir şekilde ekstrakte edildiğini ortaya koymaktadır.



**Şekil 4.33.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.34.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının kestane kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen kestane kabuğu ekstraktlarının AA miktarı üzerine karışım değişkenlerinin etkisi, proses değişkenlerine kıyasla daha fazladır. Proses değişkenleri AA miktarı üzerine sınırlı etki etmiştir. Proses değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde, AA miktarı üzerine en önemli etki eden değişken amplitüd değeri olarak belirlenmiştir. Amplitüd değerinin, ekstraksiyon süresinin ve katı oranının azalması AA miktarında artış sağlamıştır. İşlem değişkenleri değerlendirildiğinde propanol kullanımının AA gösteren bileşiklerin ekstrakte edilmesinde yeterli olmadığı belirlenmiştir. AA gösteren bileşiklerin en iyi şekilde ekstraksiyonu için ortamda mutlaka etanol bulunması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemlerinin her ikisinde de en fazla AA gösteren ekstraktların üretiminde %100 etanol kullanıldığı tespit edilmiştir.

#### 4.5.5 Antimikrobiyal Aktivite

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve konsante edilen kestane kabuğu ekstraktlarının test edilen üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etkileri Çizelge 4.16'da verilmiştir. Çalışmada ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edilen ekstraktlar, farklı mikroorganizmalar üzerinde değişen oranlarda antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Elde edilen zon çapları 0.0 ile 10.5 mm arasında değişmektedir. Farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen 22 kestane kabuğu ekstraktının *Escherichia coli* suşuna karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde 6 ekstraktın antimikrobiyal etkisinin olduğu; 16 ekstraktın ise antimikrobiyal etkisi olmadığı

belirlenmiştir. Kestane kabuğu ekstraktlarının *Escherichia coli* suşuna karşı oluşturdukları zon çapları 0.0 ile 4.3 mm arasında değişmektedir. *Escherichia coli* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt çözücü olarak % propanolün kullanıldığı ve %25 katı oranı, %50 amplitüd, 45 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir.

Benzer şekilde bu ekstraktların *Listeria monocytogenes* suşuna karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde 6 ekstraktın antimikrobiyal etkisinin olduğu; 16 ekstraktın ise antimikrobiyal etkisi olmadığı belirlenmiştir. Ekstraktlarının *Listeria monocytogenes* suşuna karşı oluşturdukları zon çapları 0.00 ile 10.5 mm arasında değişmektedir. *Listeria monocytogenes* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt çözücü olarak % suyun kullanıldığı ve %15 katı oranı, %80 amplitüd, 15 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir.

Diğer yandan ultrasonik ekstraksiyonla elde edilen ekstraktlara benzer şekilde ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen 22 kestane kabuğu ekstraktında da *Staphylococcus aureus* suşuna karşı diğer iki bakteri suşuna kıyasla sayıca daha fazla antimikrobiyal etki gözlemlenmiştir. Bu ekstraktların 16 tanesi *Staphylococcus aureus* suşuna karşı antimikrobiyal etki gösterirken sadece 6 tanesi antimikrobiyal etki göstermemiştir. Ekstraktların *Staphylococcus aureus* suşuna karşı oluşturdukları zon çapları 0.00 ile 4.3 mm arasında değişmektedir. *Staphylococcus aureus* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren iki ekstraktın üretim koşulları şu şekildedir. Çözücü olarak % suyun kullanıldığı ve %25 katı oranı, %80 amplitüd, 45 dk süre ve % etanolün kullanıldığı ve %15 katı oranı, %80 amplitüd, 15 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstraktlar *Staphylococcus aureus* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstraktlardır. Ultrasonik yöntemle elde edilen ekstraktların farklı bakteri suşuna etkisi kıyaslandığında, *Staphylococcus aureus* suşuna karşı zon oluşumunun gözlemlendiği ekstrakt sayısı daha fazla olmasına rağmen, oluşan zon çapları farklı bakteri suşlarında birbirine yakın değerdedir.

**Çizelge 4.16.** Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve evaporasyon işlemine tabi tutulan kestane kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi

Deneme No	İnhibisyon çapı (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	0.00±0.00	0.00±0.00	3.25±0.35
2	0.00±0.00	0.00±0.00	3.50±0.71
3	0.00±0.00	0.00±0.00	4.00±0.00
4	4.25±0.35	0.00±0.00	0.00±0.00
5	0.00±0.00	2.75±0.35	2.75±0.35
6	0.00±0.00	10.50±0.71	2.50±0.35
7	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
8	0.00±0.00	0.00±0.00	2.38±0.18
9	0.00±0.00	4.38±0.53	0.00±0.00
10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
11	0.00±0.00	4.38±1.59	3.13±0.18
12	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
13	0.00±0.00	8.25±0.35	0.00±0.00
14	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
15	0.00±0.00	8.38±0.18	4.25±0.35
16	3.00±0.00	0.00±0.00	3.88±0.53
17	3.00±0.00	0.00±0.00	3.75±0.35
18	0.00±0.00	0.00±0.00	2.00±0.00
19	4.00±0.00	0.00±0.00	4.00±0.00
20	0.00±0.00	0.00±0.00	4.25±0.35
21	2.75±0.35	0.00±0.00	2.88±0.18
22	2.00±0.00	0.00±0.00	3.00±0.00

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkisi, karışım değişkenleri olan su, etanol ve propanol açısından değerlendirildiğinde kullanılan çözücüler arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkisi geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlara kıyasla oldukça düşüktür. Ayrıca bu yöntemde, kullanılan üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt tespit edilmemiştir.

*Castanea sativa* yapraklarından elde edilen ekstraktın antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, sülfirik asit (pH:3) kullanılarak elde edilen ekstraktın aralarında *S. Aureus* ve *E. coli* suşlarının da bulunduğu sekiz farklı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri suşundan yedisine karşı belirgin antibakteriyel etkileri olduğu gösterilmiştir (Basile vd., 2020).

Kestane kabuğu ekstraktları kullanılarak gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite analizi sonuçları, optimizasyon aşamasında incelenmiş fakat bu yanıt için uygun bir model bulunamamıştır. Dolayısıyla optimizasyon işleminde, antimikrobiyal aktivite yanıt olarak değerlendirilememiştir.

#### 4.5.6 Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile kestane kabuğu ekstraktı üretiminde, karışım değişkenleri olarak belirlenen su, etanol ve propanol oranı ile işlem koşulları olarak seçilen katı oranı, amplitüd ve süre, maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir.

Optimizasyon çalışmasında ultrasonik ekstraksiyon proses değişkenleri olan katı oranı %15-25, amplitüd değeri %50-80 ve ekstraksiyon süresi 15-45 dk aralığında ve karışım değişkenleri olarak seçilen su oranı %0-100, etanol oranı %0-100 ve propanol oranı %0-100 aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesinde her bir yanıt için elde edilen lineer ve modifiye modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum nokta için birbirine yakın 3 çözüm bulunmuştur (Çizelge 4.17). Optimum nokta olarak, programın belirlediği bu çözümlerden, birinci çözümde elde edilen faktör seviyeleri seçilmiştir. Bu noktada faktör seviyeleri, etanol oranı %100, katı oranı %25, amplitüd değeri %80 ve süre 15 dakika olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.17.** Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar

No	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Amplitüd (%)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	Desirability
1	100.00	0.00	0.00	25.00	79.98	15.00	696.65	77.74	0.999
2	100.00	0.00	0.00	25.00	79.81	15.00	696.64	77.73	0.999
3	100.00	0.00	0.00	25.00	79.19	15.00	696.63	77.72	0.999

Tez çalışması kapsamında ultrasonik yöntemle üretilen kestane kabuğu ekstraktlarında en önemli değişkenlerin karışım değişkenleri olduğu belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek TFM ve AA değerlerine sahip ekstraktın üretilmesi açısından en iyi çözücü etanol olarak belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon işleminde hedeflenen bileşiklerin çözünürlüğü ekstraksiyon verimi üzerine etki eder. Bunun dışında, akustik kavitasyon üzerine etkili olan, çözücünün viskozite, yüzey gerilimi ve buhar basıncı gibi fiziksel parametreler de ekstraksiyon verimini etkiler

(Mason and Lorimer, 2002). Jung vd. (2015), farklı çözücüler (etanol, bütanol, metanol, etil asetat ve su) kullanarak kestane iç kabuğu ekstraktları elde ettikleri çalışmalarında, kestane kabuğu etanol ekstraktlarının en yüksek toplam fenol içeriğine sahip ekstraktlar olduğunu belirlemişlerdir. Wang ve ark. (2008b), tahıl endüstrisinin yan ürünü olan buğday kepeğindeki fenolik bileşiklerin ultrasonik destekli ekstraksiyonun optimize edilmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada en iyi ekstraksiyon koşulların %64 etanol kullanılarak, 25 dakika süresince 60 °C sıcaklıkta gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Metanol ve aseton ile karşılaştırıldığında, etanol ile hazırlanan ekstraktların daha yüksek TFM içeriğine sahip olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca çözücü olarak etanolün daha az toksik olduğu ve düşük basınçlı damıtma ile kolayca geri kazanılabileceği vurgulanmıştır.

Tez çalışmasında optimum nokta sonuçlarının doğrulanması, belirlenen matematiksel optimum noktada; etanol oranı %100, propanol oranı %0, su oranı %0, katı oranı %25, amplitüd %80 ve süre 15 dakika ultrasonik ekstraksiyon işlemi ve ardından evaporasyon işlemi ile ekstrakt üretimi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 5 doğrulama denemesi sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahminlenen değerler Çizelge 4.18’de verilmiştir.

**Çizelge 4.18.** Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	1.28	696.11	77.32
2	1.39	678.35	77.89
3	1.93	674.03	79.12
4	1.37	677.83	76.21
5	1.47	694.28	76.66
<b>Ortalama</b>	1.49	684.12	77.44
<b>Modelden Tahminlenen</b>	1.65	696.65	77.74

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t*-testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *t*-testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *t*-testi sonuçları Çizelge 4.19’da verilmiştir.

**Çizelge 4.19.** Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer <sup>a</sup>	SH <sup>b</sup>	Fark	% Hata <sup>c</sup>	<i>p</i> -değeri
Kuru madde içeriği (%)	1.65	1.49±0.01	0.11	-0.16	-10.54	0.237
TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	696.65	684.12±0.93	4.59	-12.53	-1.83	0.053
AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	77.74	77.44±0.20	0.51	-0.30	-0.39	0.588

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir

b Ortalama standart hata

c % Hata = (yden – ytah/yden) × 100

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen kestane kabuğu ekstaktı analiz sonuçlarına göre kuru madde içeriği, TFM miktarı ve AA değeri modelden tahminlenen değerlere oldukça yakın olup, istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ ).

#### 4.6 Kestane Kabuğu için Uygun Ekstraksiyon Yönteminin Seçilmesi

Kestane kabuğunda, geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen denemelerin optimizasyonu sonucunda, her bir yöntem için belirlenen optimum koşullar ile bu optimum koşullarda üretilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troloks /g kuru ağırlık) değerleri Çizelge 4.20'de verilmiştir. Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların TFM içeriklerinin sırasıyla 739.88 ve 696.65 (mg GAE/g kuru ağırlık) olduğu ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstrakta kıyasla daha yüksek TFM içeriğine sahip olduğu bulgulanmıştır. Benzer şekilde geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın AA değerinin (99.52 mg troloks /g kuru ağırlık) ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen AA değerinden (77.74 mg troloks /g kuru ağırlık) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yönteminde optimum katı oranı ve çözücü oranı/tipi sırasıyla %15 ve %100 su iken ultrasonik ekstraksiyon yönteminde ise optimum katı oranı ve çözücü oranı/tipi sırasıyla %25 ve %100 etanoldür. İki farklı ekstraksiyon yöntemi seçilen yanıtlara ek olarak maliyet açısından da karşılaştırıldığında, ultrasonik ekstraksiyona göre geleneksel ekstraksiyon yönteminde, hem katı oranının daha düşük olması hem de çözücünün %100 su olması nedeniyle daha uygundur. Dolayısıyla kestane kabuğundan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda, daha yüksek TFM içeriği ve AA değeri ile daha düşük maliyet sağlama avantajlarına sahip olan geleneksel ekstraksiyon yöntemi seçilmiştir.



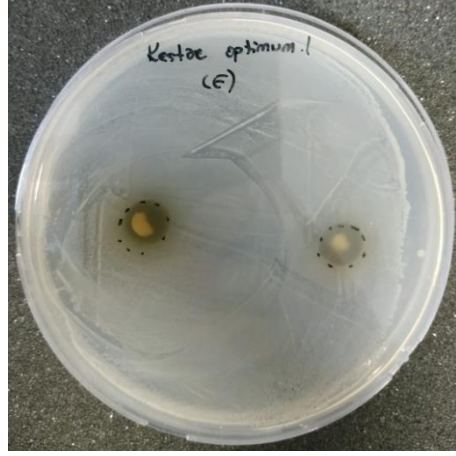
**Çizelge 4.20.** Kestane kabuğundan farklı ekstraksiyon yöntemleri ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troloks /g kuru madde) değerleri

Ekstraksiyon Yöntemi	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Sıcaklık (°C)/ Amplitüd (%)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
Geleneksel	0	0	100	15	60.00	60	739.88	99.52
Ultrasonik	100	0	0	25	79.98	15	696.65	77.74

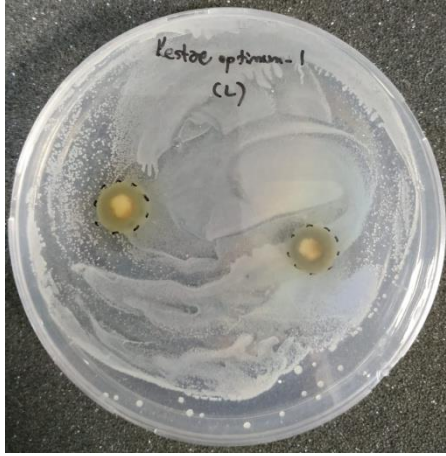
Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen kestane kabuğu ekstraktında, kuru madde içeriği, TFM (mg GAE/g kuru madde), AA (mg troloks /g kuru madde) ve antimikrobiyal aktivite analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.21'de verilmiştir. Ekstraktın kuru madde içeriği, TFM içeriği ve AA değeri deneysel ve modelden tahminlenen değerlere yakın olup sırasıyla %4.16, 858.14 mg GAE/g kuru ağırlık ve 96.89 mg troloks /g kuru ağırlık'dır. Ekstraktın antimikrobiyal aktivitesinin değerlendirilmesinde kullanılan inhibisyon çapları 4.75-7.75mm arasında değişim göstermiştir. Ekstraktın, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde, ekstraktın üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etkisinin olduğu ve ekstraktların oluşturduğu zon çaplarının sırasıyla ortalama 6.13, 7.75 ve 4.75 mm olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.35). Ekstraktın en fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği bakteri suşu *Listeria monocytogenes* olarak belirlenirken, en az antimikrobiyal aktivite gösterdiği bakteri suşu *Staphylococcus aureus* olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 4.21.** Kestane kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın kuru madde içeriği (%), TFM içeriği (mg GAE/g kuru ağırlık), AA (mg troloks /g kuru ağırlık) değeri ve antimikrobiyal aktivitesi

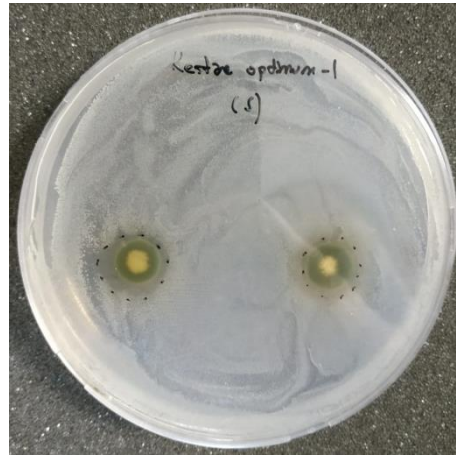
Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	Antimikrobiyal aktivite (İnhibisyon çapı (mm))		
			<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
4.16±0.01	858.14±0.00	96.89±0.00	6.13±0.18	7.75±0.35	4.75±0.35



(a)



(b)



(c)

**Şekil 4.35.** Kestane kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın *Escherichia coli* (a), *Listeria monocytogenes* (b) ve *Staphylococcus aureus* (c) suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon çapları

#### **4.7 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Sedir Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi**

Karışım (su, etanol ve propanol oranı) ve proses (katı oranı, sıcaklık ve süre) değişkenlerinin geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite üzerine etkileri incelenmiştir. Hazırlanan karışımlardaki su, etanol ve propanol oranı sırasıyla %0 ile %100 arasında değişmektedir. D-Optimal Birleşik Dizayn deneme desenine göre hazırlanan ve proses koşullarını oluşturan katı oranı, sıcaklık ve süre ise sırası ile %15-25, 30-60 °C ve 30-60 dk arasında değişmektedir. Bağımsız işlem ve karışım değişkenlerinin yanıtlar üzerine etkisi regresyon analizi ile Design-Expert paket programı kullanılarak modellenmiş, ekstraktın kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi dikkate alınarak işlem optimize edilmiştir.

Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planı ve elde edilen deneysel yanıtlar sırası ile Çizelge 3.4 ve Çizelge 4.22'de verilmiştir.

**Çizelge 4.22.** Sedir kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks/g kuru ağırlık)
1	6.25±0.07	145.96±0.00	15.22±0.00
2	1.44±0.00	245.89±0.00	16.63±0.04
3	5.09±0.00	132.08±0.00	15.14±0.00
4	3.82±0.01	153.71±0.46	15.39±0.00
5	0.57±0.01	227.69±0.00	23.40±0.00
6	4.28±0.02	150.36±0.10	15.87±0.00
7	2.17±0.01	347.92±0.00	42.95±0.00
8	0.59±0.01	278.44±0.00	25.73±0.03
9	1.44±0.01	324.75±0.30	26.89±0.12
10	1.14±0.00	303.34±0.19	40.13±0.00
11	1.49±0.02	296.17±0.00	25.61±0.00
12	0.65±0.04	312.95±0.13	27.54±0.02
13	3.69±0.01	244.97±0.12	26.31±0.00
14	3.03±0.01	326.73±0.00	34.44±0.03
15	1.43±0.00	300.63±0.00	18.83±0.02
16	2.55±0.01	264.78±0.00	32.16±0.00
17	2.85±0.02	304.48±0.00	31.23±0.02
18	8.10±0.04	147.37±0.22	17.23±0.02
19	1.26±0.01	256.42±1.04	18.21±0.00
20	4.14±0.01	144.17±0.00	14.22±0.00
21	2.84±0.00	151.02±0.00	16.71±0.02
22	1.16±0.02	234.09±0.00	26.84±0.17

#### 4.7.1 Modelin Oluşturulması

Optimizasyon çalışmasında yer alan işlem ve proses değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel model lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere her bir değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir.

Kuru madde içeriği, TFM ve AA tahminlenmesi için en uygun model tipi, birinci dereceden lineer modeldir. Deneysel verilerin birinci dereceden modele fit ettirilmesine ilişkin varyans analizi Çizelge 4.24, 4.25 ve 4.26'da verilmiştir. Burada, elde edilen tüm regresyon modellerinin %99 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Her bir bağımsız

değişkenin yanıtlar üzerindeki lineer ve interaksiyon etkilerinin istatistiksel olarak önemliliği de Çizelge 4.24, 4.25 ve 4.26'da gösterilmiştir.  $p$ -değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiştir. Ayrıca, kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu (lack of fit) olarak ayrılmıştır. İdeal olarak modelin, matematiksel formunun uygunsuzluğu (lack of fit) için önemsiz ve regresyon modeli için önemli olması gerekmektedir (Myers and Montgomery,1995). Her üç yanıt için birinci dereceden model, %99 güven seviyesinde önemli ve model uygunsuzluğu (lack of fit) %95 güven seviyesinde önemsiz çıkmıştır (Çizelge 4.24, 4.25 ve 4.26).

Modellerin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı regresyon katsayısı  $R^2$ , düzeltilmiş regresyon katsayısı ve varyasyon katsayısı (C.V.) hesaplanarak belirlenmiştir. Modellerin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler ve değerleri Çizelge 4.23'te özetlenmiştir. Elde edilen modellerin tümünde varyasyonun büyük bir kısmı ( $R^2 > 0.898$ ) modeller tarafından açıklanabilmektedir (Çizelge 4.23).

Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da  $R^2$ 'yi her zaman artırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (Myers and Montgomery, 1995). Tüm modeller için düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değeri; kuru madde içeriği için 0.785, TFM için 0.988 ve AA için 0.977 olarak hesaplanmış ve kabul edilebilir sınırlar içerisinde çıkmıştır.  $R^2$  ve  $R^2_{adj}$  değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamayla aynı değere sahip olduğunu göstermektedir (Lazić, 2004). Tüm modeller için varyasyon katsayısı (C.V.) değeri; kuru madde içeriği için 33.41, TFM için 3.30 ve AA için 5.39 olarak hesaplanmıştır.

Bir regresyon modelinin daha sonra yapılacak gözlemler için bir tahminleme modeli olarak kullanılabilmesi için ise yeterli tahminleme istatistiği kullanılmaktadır. Yeterli tahminleme değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir (Myers and Montgomery, 1995). Tüm modeller için yeterli tahminleme değeri 4 den büyüktür (Çizelge 4.23).

**Çizelge 4.23.** Sedir kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda modelin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler

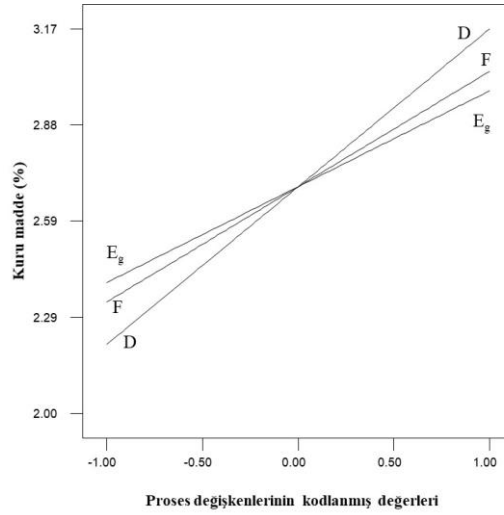
	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks/g kuru ağırlık)
<b>R<sup>2</sup></b>	0.898	0.994	0.989
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>	0.785	0.988	0.977
<b>C.V. %</b>	33.41	3.300	5.390
<b>Yeterli tahminleme</b>	9.634	35.81	29.73

#### 4.7.2 Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ekstrakte edilen sedir kabuğu ekstraktlarının evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların kuru madde içerikleri Çizelge 4.22’de verilmiştir. Ekstraktların kuru madde içerikleri, ekstraksiyon çözeltisi içerisinde yer alan su, etanol ve propanol oranlarından istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) seviyede etkilenmektedir (Çizelge 4.24). Kuru madde içeriği %0.57-%8.10 arasında olup geniş bir değişim aralığı göstermektedir. Maksimum kuru madde içeriği, proses koşullarının (%25 katı oranı, 60 °C sıcaklık, ve 60 dk süre) ve çözücü olarak su kullanıldığı koşullarda elde edilmiştir. Buna karşın en düşük kuru madde içeriği, propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %25 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 60 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir.

Karışım ve proses değişkenlerinin, sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen model kullanılarak pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bu grafikler, karışım veya proses değişkenlerinden herhangi birinin deneysel dizaynının merkez, maksimum ve minimum noktasında sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını vermektedir.

Karışım değişkenlerinin merkez noktasında olduğu durum (%33 su+%33 etanol+%33 propanol) için, katı oranı, sıcaklık ve sürenin bir fonksiyonu olarak kuru madde içeriklerinin değişimini veren pertürbasyon grafiği Şekil 4.36’da gösterilmiştir. Katı oranı, sıcaklık ve sürenin, ekstraktların kuru madde içerikleri üzerine sınırlı düzeyde bir etkiye sahip oldukları gözlenmiştir. Katı oranı, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon süresinin artmasıyla birlikte kuru madde içerikleri yükselmektedir. Karışım değişkenleri orta noktada iken üç proses faktörü kıyaslandığında, kuru madde içeriği üzerine katı oranı etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin artması materyalin dokusunu zayıflattığından hem çözünebilirliği hem de difüzyon katsayısını artırarak ekstraksiyon verimini artırmıştır.



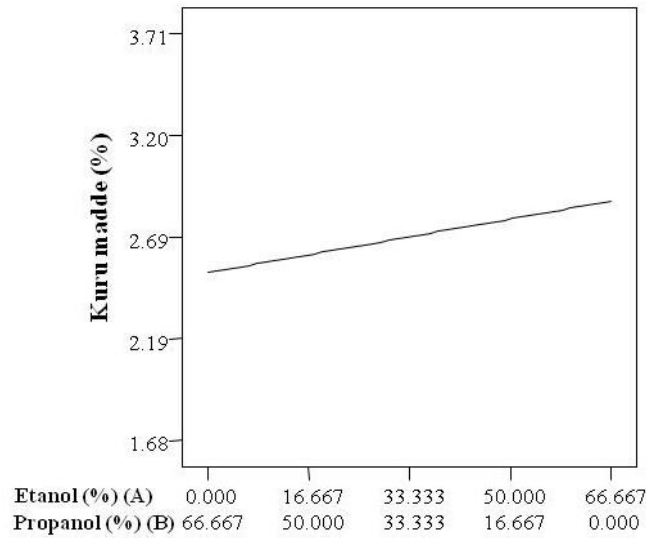
**Şekil 4.36.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

**Çizelge 4.24.** Geleneksel yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	Kuru madde içeriği (%)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	72.78	0.0014
Lineer Karışım	2	54.45	< 0.0001
AD	1	0.72	0.3745
AE <sub>g</sub>	1	0.00	0.9695
AF	1	0.30	0.5625
BD	1	0.35	0.5285
BE <sub>g</sub>	1	1.33	0.2349
BF	1	0.16	0.6710
CD	1	5.05	0.0333
CE <sub>g</sub>	1	0.99	0.3014
CF	1	6.87	0.0165
Kalıntı	10	8.30	
Model uygunsuzluğu	5	5.46	0.2443
Saf hata	5	2.83	
Toplam	21	81.07	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların kuru madde içeriğini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği görülmektedir (Şekil 4.37). Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde su oranının %33.3 olduğu durumda, etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte kuru madde içeriğinde bir artış gözlenmiştir. Su oranı merkez noktada iken (%50), etanol konsantrasyonunun artması ve propanol oranının azalması ile birlikte kuru madde içeriğinde artış gözlenmiştir. Etanol oranı minimum (%0) ve propanol oranı maksimum olduğunda (%100), kuru madde içeriğinin minimum olduğu görülmektedir. Su oranı minimum noktada iken (%0), etanol oranı %100 ve propanol oranı %0 olduğunda kuru madde içeriğinin maksimum olduğu saptanmıştır. Su oranının maksimum noktada olduğu durumda ise etanol oranı arttıkça kuru madde içeriği yükselirken, propanol oranının artmasıyla birlikte kuru madde içeriği azalmaktadır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle birlikte kuru madde içeriğinde artış gözlenmiştir. En yüksek kuru madde içeriğine ortamda su oranının maksimum ve etanol ve propanol oranlarının ise minimum olduğu koşullarda ulaşılmıştır.

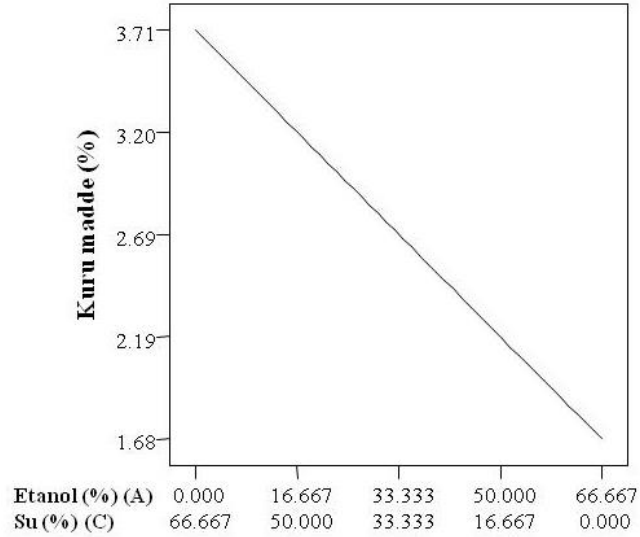


**Şekil 4.37.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde propanol oranının %33.3 olduğu durumda (Şekil 4.38), ekstraktların kuru madde içeriği, su oranının yükselmesiyle birlikte artarken, etanol oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır. Propanol oranı minimum (%0) noktada olduğunda da benzer şekilde ekstraktların kuru madde içeriği, su oranının artmasıyla birlikte yükselirken, etanol oranının artmasıyla birlikte azalmaktadır. Propanol oranı maksimum olduğunda, su

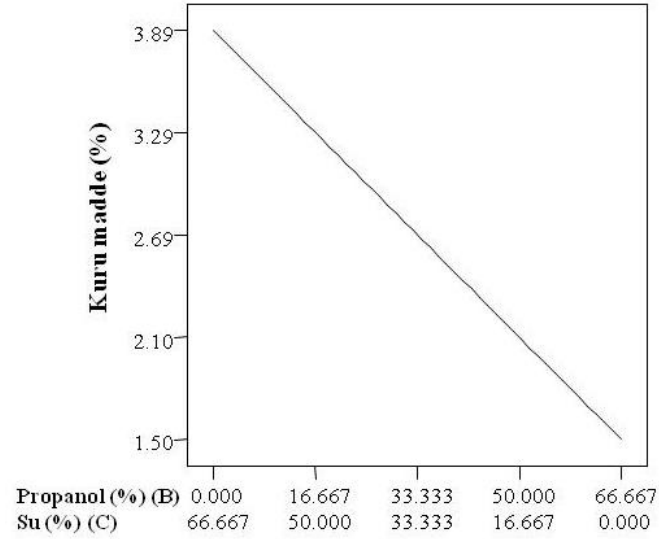


oranındaki artış kuru madde içeriğini arttırırken, etanol oranındaki artış ise kuru madde içeriğini düşürmüştür. Etanol ve su oranından bağımsız olarak ortamda propanol oranının yükselmesiyle birlikte kuru madde içeriğinde azalma gözlenmiştir. En yüksek kuru madde içeriği, ortamda %100 su ve dolayısıyla etanol ve propanol oranlarının %0 olduğu koşulda elde edilmiştir.



**Şekil 4.38.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde etanol oranının %33 olduğu durumda, ekstraktların kuru madde içeriği, su oranının yükselmesiyle birlikte artarken, propanol oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.39). Etanol oranı minimum (%0) ve maksimum noktalarda olduğunda ise benzer şekilde su oranındaki artış kuru madde içeriğini arttırırken propanol oranındaki artış ise kuru madde içeriğini düşürmüştür. Su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının yükselmesiyle birlikte kuru madde içeriğinde düşüş gözlenmiştir. En yüksek kuru madde içeriğine ortamda su oranının maksimum (%100) ve etanol ve propanol oranlarının ise minimum olduğu (%0) koşullarda ulaşılmıştır.



**Şekil 4.39.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Sedir kabuğu ekstraktlarının, kuru madde içerikleri üzerine en etkili bağımsız değişkenlerin karışım değişkenlerini oluşturan su, etanol ve propanol oranları olduğu ve proses değişkenlerinin kuru madde içeriği üzerine etkilerinin genel olarak sınırlı düzeyde kaldığı bulgulanmıştır. Su, etanol ve propanolün kuru madde içeriği üzerine etkisi incelendiğinde, özellikle suyun etkisinin ön plana çıktığı görülmektedir. Çözücü olarak ortamda alkol bulunmadığında, kuru madde içeriği, su oranının artmasıyla birlikte yükselmiş ve maksimum değere ulaşmıştır. Bununla birlikte ortamda etanol veya propanolün bulunması halinde, kuru madde içeriğinin, etanol oranının yükselmesi ve propanol oranının düşmesi ile birlikte arttığı gözlemlenmiştir. Ortamda su bulunmadığı takdirde ise kuru madde içeriği açısından tek başına etanol veya tek başına propanolün çözücü olarak kullanımı yetersiz kalmaktadır. Maksimum kuru madde içeriğinin sağlanabilmesi için ortamda mutlaka suyun bulunması gerekmektedir. Proses koşullarından bağımsız olarak kuru madde içeriği, suyun çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde %2.838-8.1, etanolün çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde %0.591-3.028 ve propanolün çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde ise %0.572-2.166 değerleri arasında değişim göstermiştir.

### 4.7.3 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

D-optimal birleşik deneme dizaynı izlenerek elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 4.22’de verilmiştir. Sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine karışım ve proses değişkenlerinin etkili olduğu bulgulanmıştır (Çizelge 4.25). Evaporasyon işleminden sonra elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri 132.077-347.921 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişim göstermiştir. Maksimum TFM içeriği, proses koşullarının %25 katı oranı, 60 °C sıcaklık, ve 30 dk süre olduğu ve çözücü olarak propanol kullanıldığı koşullarda elde edilmiştir. Buna karşın en düşük TFM içeriği, su ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %15 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 60 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir.

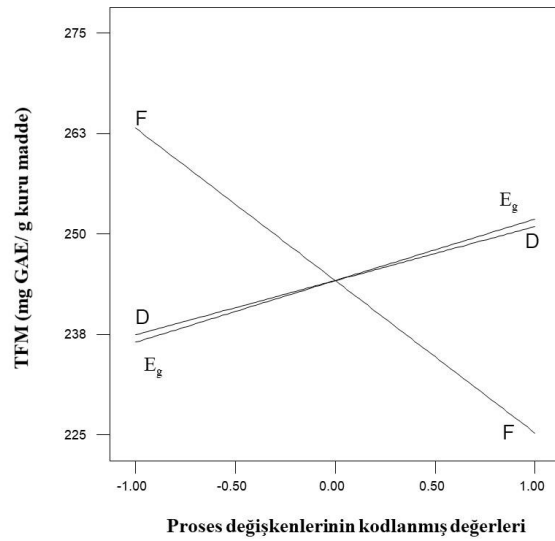
**Çizelge 4.25.** Geleneksel yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	p-değeri
Model	11	110300.00	< 0.0001
Lineer Karışım	2	95756.87	< 0.0001
AD	1	1778.33	0.0003
AE <sub>g</sub>	1	347.85	0.0406
AF	1	477.31	0.0204
BD	1	72.10	0.3097
BE <sub>g</sub>	1	1016.78	0.0024
BF	1	10691.11	< 0.0001
CD	1	17.25	0.6121
CE <sub>g</sub>	1	44.28	0.4212
CF	1	129.25	0.1824
Kalıntı	10	629.54	
Model uygunsuzluğu	5	475.92	0.1201
Saf hata	5	153.63	
Toplam	21	110900.00	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre  
p<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Karışım ve proses değişkenlerinin, ekstraktların TFM içeriği üzerindeki etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen modeller kullanılarak pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bu grafikler, proses veya karışım değişkenlerinden herhangi birinin deneysel dizaynın merkez, maksimum ve minimum noktasında sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını vermektedir.

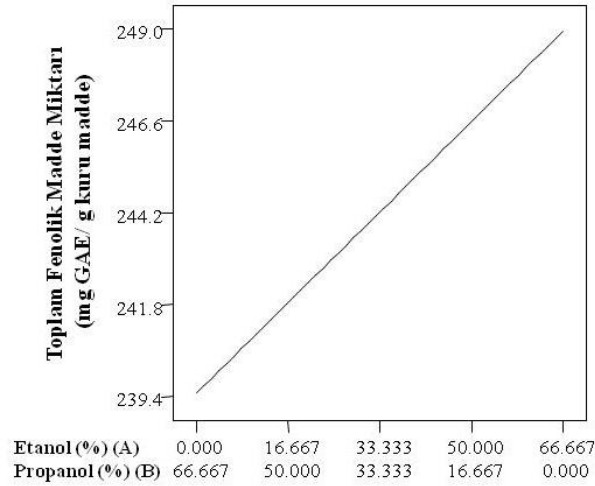
Karışım değişkenlerinin orta noktadaki (%33.3) sabit değerleri için, proses değişkenlerinin bir fonksiyonu olarak, ekstraktların TFM içeriklerindeki değişim Şekil 4.40'daki pertürbasyon grafiği ile gösterilmiştir. Karışım değişkenleri orta noktada iken, katı oranı ve ekstraksiyon sıcaklığının artmasıyla birlikte TFM içeriğinde artış gözlenmiştir. Bunun aksine, ekstraksiyon süresi ile ekstraktların TFM içeriği arasında negatif yönlü bir ilişkinin söz konusu olduğu ve ekstraksiyon süresindeki artışın, TFM içeriğini düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu durum yüksek ekstraksiyon sürelerinin, ekstraktın antioksidan özelliklerini azaltarak fenoliklerin oksidasyonunu artırmasından kaynaklanabilir.



**Şekil 4.40.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

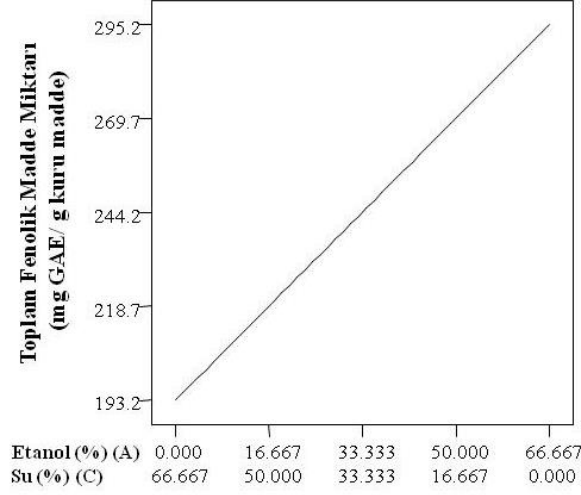
Karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksyonunun, ekstraktların TFM içeriğini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği saptanmıştır (Şekil 4.41). Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde su oranının %33.3 olduğu durumda, ekstraktların TFM içeriği, etanol oranının yükselmesiyle birlikte artarken, propanol oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır. Su oranı minimum noktada iken (%0), çözücü olarak %100 etanol kullanıldığında, TFM içeriğinin maksimum ve %100 propanol kullanılması durumunda ise

minimum olduğu bulgulanmıştır. Dolayısıyla proses değişkenleri orta noktada iken, tek başına propanolün (%100) çözücü olarak kullanılması fenolik bileşiklerin verimli bir şekilde ekstrakte edilebilmesi için yeterli değildir ve dolayısıyla propanol kullanılması durumunda sistemde belirli bir oranda etanole de ihtiyaç duyulmaktadır. Su oranının maksimum noktada olduğu koşulda ise etanol oranı arttıkça TFM içeriği yükselirken, propanol oranının artmasıyla birlikte TFM içeriği azalmaktadır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesi, TFM içeriğinin düşmesine neden olmuştur.



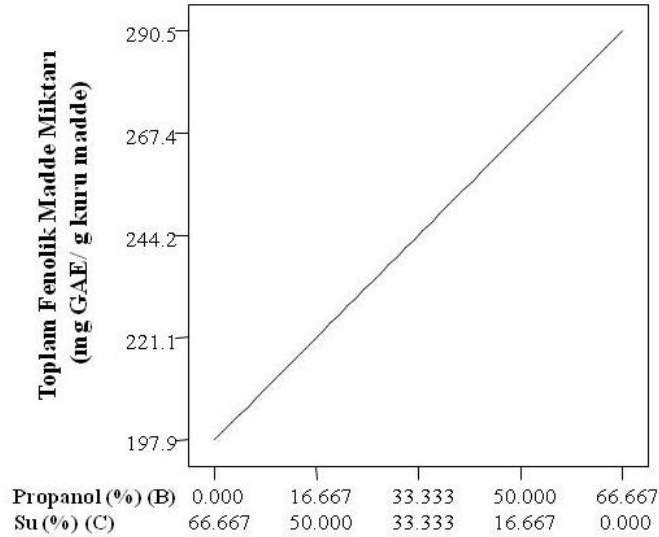
**Şekil 4.41.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde propanol oranının %33 olduğu durumda, ekstraktların TFM içeriği, etanol oranının yükselmesiyle birlikte artarken, su oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.42). Propanol oranı minimum (%0) noktada olduğunda, etanol oranının maksimum (%100) ve su oranının minimum (%0) olduğu koşullarda en yüksek TFM içeriği elde edilmiştir. Propanol oranı maksimum olduğunda ise etanol oranındaki artış TFM içeriğini artırırken, su oranındaki artış ise TFM içeriğini düşürmüştür. Su ve etanol oranından bağımsız olarak ortamda propanol oranının artmasıyla birlikte TFM içeriğinde düşüş gözlenmiştir.



**Şekil 4.42.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45°C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde etanol oranının %33 olduğu durumda, ekstraktların TFM içeriği, propanol oranının yükselmesiyle birlikte artarken, su oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.43). Benzer şekilde, etanol oranı minimum (%0) noktada ve maksimum noktada olduğunda, ekstraktların TFM içeriği, propanol oranının artması ve su oranının düşmesi ile birlikte yükselmiştir. Su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artmasıyla birlikte TFM içeriğinde artış gözlenmiştir.



**Şekil 4.43.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine hem karışım hem de proses değişkenlerinin önemli bir etkiye sahip olduğu bulgulanmıştır. Proses koşullarından bağımsız olarak TFM içeriği, suyun çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde %132.08-153.71 mg GAE/g kuru ağırlık, etanolün çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde %264.78-326.73 mg GAE/g kuru ağırlık ve propanolün çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde ise %227.69-347.92 mg GAE/g kuru ağırlık değerleri arasında değişim göstermiştir. Su, etanol ve propanolün TFM içeriği üzerine etkisi incelendiğinde, etanol ve propanolün, suya kıyasla daha etkili çözücüler olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla sedir kabuklarında bulunan fenolik maddelerin ekstraksiyonunda, çözücü ortamında mutlaka etanol ve propanolün bulunması gerekmektedir. TFM içeriği açısından, çözücü olarak yalnız etanol veya yalnız propanol kullanılması yeterli olurken, tek başına suyun kullanımının uygun olmadığı bulgulanmıştır. Ortamda suyun minimum olduğu durumda, etanol ve propanol oranlarının ekstraktların TFM içerikleri üzerine etkisi incelendiğinde, etanol konsantrasyonu arttıkça ve propanol konsantrasyonu azaldıkça, TFM içeriğinin yükseldiği gözlenmiştir. Çözücü ortamı olarak yalnız etanol, yalnız propanol veya etanol ve propanol kombinasyonlarından hangisinin daha uygun olduğunu belirleme aşamasında karışım ve proses faktörlerinin etkisi bir arada incelenmiştir. Proses faktörlerinden, ekstraksiyon süresi ve sıcaklığının merkez noktada olduğu koşullarda, katı oranının artmasıyla birlikte TFM içeriği artış göstermiş ve ortamda etanol oranının maksimum olduğu durumda en yüksek değerine ulaşmıştır. Fakat ekstraktların TFM içeriği üzerine en önemli etkiye sahip olan ekstraksiyon süresinin yükselmesi ile birlikte %100 etanol kullanılması durumunda ekstraktların TFM içeriğinin azaldığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte ekstraksiyon süresinin düşürülmesi (katı oranı ve sıcaklık merkez noktada iken) ile birlikte tam tersi bir durum gözlenmiş ve çözücü olarak %100 etanol kullanıldığında TFM içeriğinin minimum ve %100 propanol kullanılması durumunda ise maksimum olduğu tespit edilmiştir. Ekstraksiyon süresinin minimum, katı oranı ve sıcaklığın maksimum; su ve etanol oranlarının minimum ve propanol konsantrasyonunun maksimum olduğu durumda maksimum TFM içeriği elde edilmiştir.

Karışım değişkenlerinin, kuru madde içeriği ile TFM içeriği üzerine olan etkileri birbirinden farklılık göstermiştir. Çözücü olarak, kuru madde açısından su kullanılması daha uygunken, TFM içeriği açısından alkol kullanımı daha uygundur. Genel olarak, ekstraktların TFM içerikleri proses faktörlerinden çok çözücülerin polaritesinden etkilenmiştir. Ekstrakte edilen fenolik bileşikler çözücü polaritesine oldukça duyarlıdır. Su, etanol ve propanolün polarite indeksleri karşılaştırıldığında sıralama su (PI 10.2)>etanol (PI 5.4)>propanol (PI 3.9) şeklindedir. Çözücü olarak etanol ve propanol kullanıldığında, apolar bileşenlerin yanında bir kısım polar bileşenler de çözünürken, suyun kullanılması durumunda ise sadece polar bileşenler

çözünmektedir. Yüksek alkol konsantrasyonları daha fazla lipofilik bileşiği çözerken, düşük alkol konsantrasyonlarında ekstraktta daha yüksek oranlarda hidrofilik bileşikler bulunmaktadır. Çözücü ortamında saf su, proteinler ve polisakkaritler gibi diğer molekülleri, özellikle yüksek sıcaklıklarda çözünür hale getirmekte ve bu durum ekstraksiyon seçiciliğinin azalmasına yol açmaktadır. Dolayısıyla suyun çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde, kuru madde içeriğinin yüksek olması, suyun fenolik bileşenler dışında başka bileşenleri de çözdüğünü ve sedir kabuklarındaki fenolik bileşenlerin suda yeterince çözünmediğini göstermektedir. Bununla birlikte etanol ve propanol çözücü olarak kullanıldığında, ekstraktların kuru madde içerikleri daha düşük olsa da TFM içeriklerinin sulu ekstraktlara kıyasla daha yüksek olmaları, sedir kabuklarında bulunan fenolik bileşenlerin apolar yapıda olduğunu göstermektedir. Ancak bu durum çözücünün kabuk içerisine penetrasyonu ile de ilişkili olabilir. Suyun penetrasyonu ile alkolün penetrasyonu birbirinden farklıdır. Sedir kabukları sert materyaller olduğundan penetrasyon çok yavaş olursa kütle transferi daha zor gerçekleşebilir.

#### **4.7.4 Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi**

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile farklı karışım ve işlem koşullarında üretilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.22’de verilmiştir. Sedir kabuğu ekstraktlarının AA içerikleri üzerine karışım ve proses değişkenlerinin etkili olduğu bulgulanmıştır (Çizelge 4.26). Elde edilen ekstraktların AA değerleri 14.217-42.950 mg troloks/g kuru ağırlık arasında değişmiştir. Maksimum AA içeriği, proses koşullarının %25 katı oranı, 60 °C sıcaklık, ve 30 dk süre olduğu ve çözücü olarak propanol kullanıldığı koşullarda elde edilmiştir. Buna karşın en düşük AA içeriği, su ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %15 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 60 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Bu ekstraksiyon koşulları en düşük TFM içeriğine sahip ekstraktın üretim koşulları ile aynıdır.

Karışım ve proses değişkenlerinin ekstraktların AA değeri üzerindeki etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen modeller kullanılarak pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.44, Şekil 4.45, Şekil 4.46, Şekil 4.47).

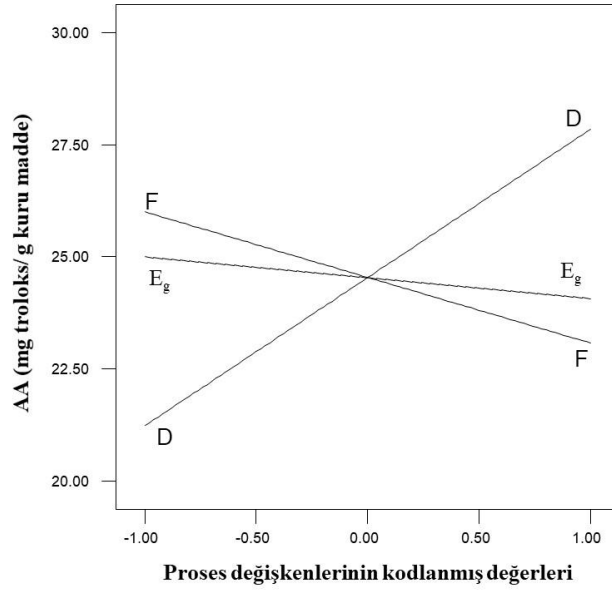


**Çizelge 4.26.** Geleneksel yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının AA üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	1475.74	< 0.0001
Lineer Karışım	2	736.55	< 0.0001
AD	1	115.28	< 0.0001
AE <sub>g</sub>	1	111.78	< 0.0001
AF	1	67.51	< 0.0001
BD	1	177.91	< 0.0001
BE <sub>g</sub>	1	19.81	0.0063
BF	1	263.75	< 0.0001
CD	1	0.83	0.4953
CE <sub>g</sub>	1	1.10	0.4360
CF	1	0.47	0.6052
Kalıntı	10	16.66	
Model uygunsuzluğu	5	6.18	0.7120
Saf hata	5	10.48	
Toplam	21	1492.41	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

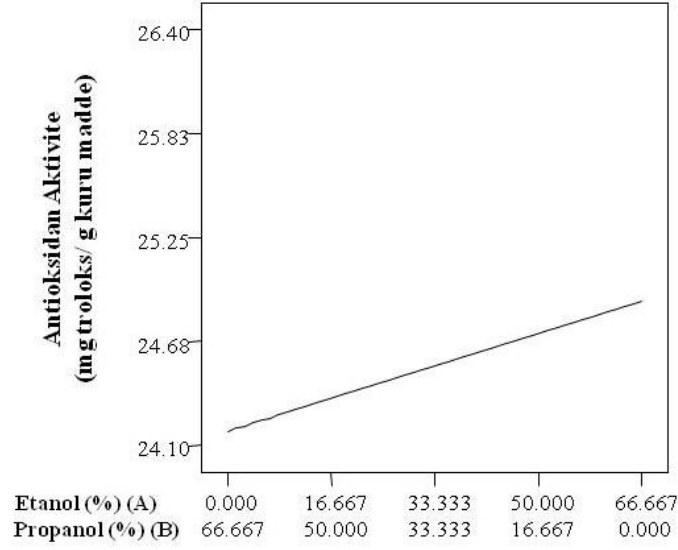
Karışım değişkenlerinin orta noktadaki (%33.3) sabit değerleri için, proses değişkenlerinin bir fonksiyonu olarak, ekstraktların AA değerlerindeki değişim Şekil 4.44'te verilen pertürbasyon grafiği ile gösterilmiştir. Karışım değişkenleri orta noktada iken, proses faktörlerinden özellikle katı oranı ve ekstraksiyon süresinin AA değeri üzerine etkili olduğu, sıcaklık etkisinin ise sınırlı düzeyde kaldığı bulgulanmıştır. Ekstraktların AA değerleri ile katı oranı arasında pozitif yönlü bir ilişki olup katı oranının artması ile birlikte ekstraktların AA değerleri yükselmiştir. Ekstraksiyon süresi ile AA değeri arasında ise tam tersi bir durum söz konudur ve ekstraksiyon süresindeki artış ekstraktların AA değerlerinin düşmesine sebep olmuştur. Benzer şekilde ekstraksiyon sıcaklığının artması da, az da olsa ekstraktların AA değerini düşürmüştür. Bu durum yüksek sıcaklıklar ile birlikte yüksek ekstraksiyon sürelerinin, ekstraktın antioksidan özelliklerini azaltarak fenoliklerin oksidasyonunu teşvik etmesinden kaynaklanmaktadır.



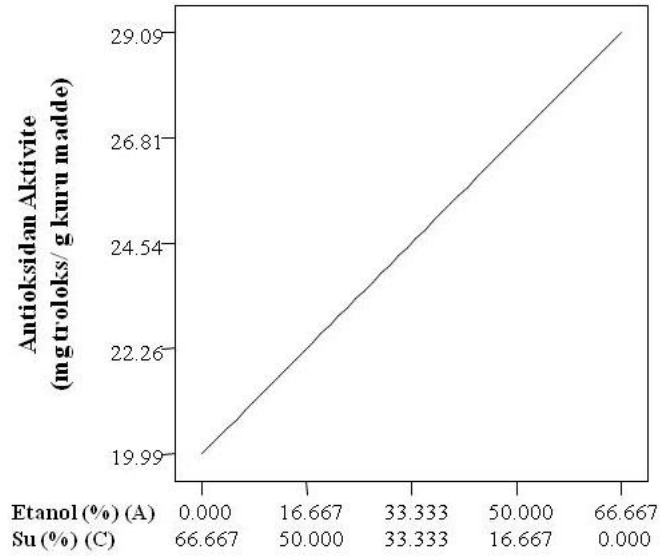
**Şekil 4.44.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksyonunun, ekstraktların AA değerini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği görülmektedir (Şekil 4.45). Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde su oranının %33.3 olduğu durumda, etanol oranındaki artış ve propanol oranındaki azalış (%66.7-33.3) AA değerini yükseltmiştir. Su oranı minimum noktada iken ekstraktların AA değeri, etanol oranının artmasıyla birlikte yükselirken propanol oranının artmasıyla birlikte azalmaktadır. Çözücü olarak %100 etanol kullanıldığında, AA değerinin maksimum olduğu bulgulanmıştır. Su oranı maksimum noktada iken benzer şekilde etanol oranı arttıkça AA değeri yükselirken, propanol oranının artmasıyla birlikte AA değeri azalmaktadır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle birlikte AA değerinde önemli ölçüde bir düşüş gözlenmiştir.

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde propanol oranının %33 olduğu durumda ekstraktların AA değeri etanol oranının yükselmesiyle birlikte artarken su oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.46). Propanol oranı minimum ve maksimum noktada olduğunda ise benzer şekilde, ekstraktların AA değeri, etanol oranının artmasıyla birlikte yükselirken su oranının artmasıyla birlikte azalmaktadır. Su ve etanol oranından bağımsız olarak ortamda propanol oranının değişimi AA değerinde oldukça sınırlı bir değişime neden olmuştur.



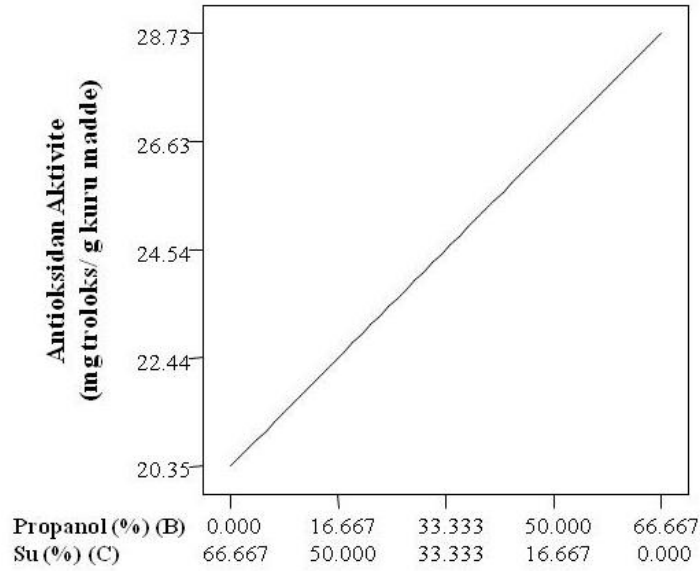
**Şekil 4.45.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.46.** İşlem değişkenleri 139erkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde etanol oranının %33 olduğu durumda, propanol oranının yükselmesiyle birlikte artarken su oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.47). Etanol oranı minimum (%)0 noktada olduğunda ekstraktların AA değeri propanol oranının artması ve su oranının düşmesi ile birlikte yükselmiş ve ortamda %100 propanol bulunduğu maksimum değerine ulaşmıştır. Etanol oranı maksimum olduğunda ise benzer şekilde propanol

oranındaki artış AA değerini arttırırken su oranındaki artış ise AA içeriğini düşürmüştür. Su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının değişimi AA değerinde önemli bir değişiklik yaratmamıştır.



**Şekil 4.47.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45°C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Geleneksel yöntemle elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının AA değerleri üzerine etkisi incelendiğinde, hem karışım hem de proses değişkenlerinin etkilerinin önemli bir etkiye sahip olduğu bulgulanmıştır. Su, etanol ve propanolün AA değeri üzerine etkisi incelendiğinde, propanol ve etanolün suya kıyasla daha etkili bir çözücü olduğu saptanmıştır. Proses koşullarından bağımsız olarak AA değeri, suyun çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde %14.22-17.23, etanolün çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde %18.83-40.13 ve propanolün çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde ise %16.63-42.95 değerleri arasında değişim göstermiştir. Dolayısıyla sedir kabuğunda antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilebilmesi için çözücü ortamında mutlaka alkolün bulunması gerekmektedir. AA değeri açısından, çözücü olarak tek başına propanol ve etanolün kullanılması yeterli olurken yalnızca su kullanımının uygun olmadığı bulgulanmıştır. Çözücü ortamı olarak yalnız etanol, yalnız propanol veya etanol ve propanol kombinasyonlarından hangisinin daha uygun olduğunu belirleme aşamasında karışım ve proses faktörlerinin etkisi bir arada incelenmiştir.

Proses faktörlerinden sıcaklık ve ekstraksiyon süresi merkez noktada iken, katı oranının artmasıyla birlikte AA değerinin yükseldiği gözlenmiş, fakat katı oranı minimum ve orta

noktada iken ortamda %100 etanol bulunduğunda AA değeri en yüksekken, katı oranının maksimize edilmesi durumunda, ortamda çözücü olarak %100 propanolün olduğu koşullarda en yüksek AA değerine ulaşılmıştır. Ekstraksiyon süresi ve katı oranı merkez noktada iken, sıcaklığın minimum ve orta noktada olduğu koşullarda, etanol konsantrasyonu arttıkça AA değerinde artış gözlenmiş ve bu aralıkta sıcaklığın artmasıyla birlikte AA değerinde azalma gözlenmiştir. Sıcaklığın, merkez noktadan sonraki belirli bir değerden itibaren artmasıyla birlikte AA'nın hafif bir artış gösterdiği ve bu aşamada ise etanol yerine propanol konsantrasyonunun artmasıyla birlikte yükseldiği gözlenmiştir. Ekstraktların AA içeriği üzerine önemli bir etkiye sahip olan ve diğer bir proses faktörünü oluşturan ekstraksiyon süresinin etkisi, katı oranı ve sıcaklık merkez noktada iken incelendiğinde, ekstraksiyon süresinin minimum olduğu ve ortamda çözücü olarak %100 propanolün bulunması koşullarında AA değerinin maksimum olduğu saptanmıştır. Merkez noktasına doğru gidildikçe, benzer şekilde ortamda propanol konsantrasyonu arttığında AA değerinin daha yüksek olduğu fakat ekstraksiyon süresinin artmasıyla birlikte azalmaya başladığı görülmüştür. Merkez noktasında ise tam tersi bir durum söz konusu olup etanol konsantrasyonunun artması ile birlikte AA değerinde artış gözlenmiştir. Merkez noktadan maksimum noktaya doğru gidildikçe ortamda etanol konsantrasyonunun artması ve ekstraksiyon süresinin yükselmesi ile birlikte AA değeri de artış göstermiştir. Ekstraksiyon süresinin minimum, katı oranı ve sıcaklığın maksimum ve su ve etanol konsantrasyonunun minimum ve propanol konsantrasyonunun maksimum olduğu durumda maksimum AA değeri elde edilmiştir.

Farklı karışım ve işlem koşullarında elde edilen ekstraktların TFM içerikleri ile AA değerleri arasında pozitif yönlü bir ilişki vardır. Ekstraktın AA değeri, ekstraktın TFM içeriği arttıkça yükselmiştir. Ekstraktların TFM içeriği ile AA sonuçları arasındaki Pearson korelasyon katsayısı (r) 0.802 olarak belirlenmiştir.

#### **4.7.5 Antimikrobiyal Aktivite**

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak elde edilen sedir kabuğu ekstraktları ince film evaporatör kullanılarak konsantre hale getirilmiş ve bu ekstraktların antimikrobiyal potansiyelleri, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* olmak üzere üç farklı bakteri suşu kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada elde edilen ekstraktlar, farklı mikroorganizmalar üzerinde değişen oranlarda antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin

belirlenmesinde elde edilen inhibisyon çapı değerleri Çizelge 4.27’de verilmiştir. Oluşan zon çapları 0.0 ile 5.3 mm arasında değişmektedir. Farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen 22 sedir kabuğu ekstraktının *Escherichia coli* suşuna karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde 17 ekstraktın antimikrobiyal etkisinin olduğu; 5 ekstraktın ise antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ekstraktlarının *Escherichia coli* suşuna karşı oluşturdukları zon çapları 0.0 ile 5.3 mm arasında değişmektedir. Çözücü olarak %100 etanolün kullanıldığı ve %25 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 30 dk süre ve çözücü olarak %100 suyun kullanıldığı ve %15 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 60 dk süre koşullarında gerçekleştirilen iki ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstraktların *Escherichia coli* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki (inhibisyon çapı: 5.3 mm) gösteren ekstraktlar olduğu belirlenmiştir.

Benzer şekilde bu ekstraktların, *Listeria monocytogenes* suşuna karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde, ekstraktların büyük çoğunluğunun antimikrobiyal etkisinin olduğu; sadece 2 ekstraktın antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ekstraktlarının *Listeria monocytogenes* suşuna karşı oluşturdukları zon çapları 0.0 ile 4.5 mm arasında değişmektedir. Çözücü olarak 1:1:1 oranında etanol-propanol-su karışımının kullanıldığı ve %20 katı oranı, 45 °C sıcaklık, 45 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstraktın *Listeria monocytogenes* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki (inhibisyon çapı: 4.5 mm) gösteren ekstrakt olduğu belirlenmiştir.

Diğer yandan bu ekstraktların, *Staphylococcus aureus* suşuna karşı diğer iki bakteri suşuna kıyasla daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Ekstraktların tamamı *Staphylococcus aureus* suşuna karşı antimikrobiyal etki göstermiş ve ekstraktların bu suşa karşı oluşturdukları zon çapları 2.5 ile 5.0 mm arasında değişmiştir. Çözücü olarak %100 suyun kullanıldığı ve %25 katı oranı, 60 °C sıcaklık, 60 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstrakt *Staphylococcus aureus* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki (inhibisyon çapı: 5.0 mm) gösteren ekstrakt olduğu belirlenmiştir.

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir ekstraktlarının üç bakteri suşu üzerine antimikrobiyal etkisi kıyaslandığında, en fazla antimikrobiyal etkiyi *Staphylococcus aureus* suşu üzerine, en az antimikrobiyal etkiyi ise *Escherichia coli* suşu üzerine gösterdiği belirlenmiştir.

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktların antimikrobiyal etkisi, karışım değişkenleri olan su, etanol ve propanol açısından değerlendirildiğinde, etanol kullanılarak elde edilen ekstraktların tamamının her üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal

aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Ekstraksiyon aşamasında kullanılan çözücüler antimikrobiyal etkileri bakımından kıyaslandığında en fazla antimikrobiyal etki gösteren çözücü etanol, en az antimikrobiyal etki gösteren çözücü ise propanol olarak belirlenmiştir.

Geleneksel ekstraksiyon ile elde edilen sedir ekstraktlarının tamamının en azından bir bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bulgulanmıştır. Elde edilen 22 ekstraktın 17 tanesi her üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etki göstermiştir.

Sedir kabuğu ekstraktları kullanılarak gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite analizi sonuçları, optimizasyon aşamasında incelenmiş fakat bu yanıt için uygun bir model bulunamamıştır. Dolayısıyla optimizasyon işleminde, antimikrobiyal aktivite yanıt olarak değerlendirilememiştir.

**Çizelge 4.27.** Geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ve evaporasyon işlemine tabi tutulan sedir ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi

Deneme No	İnhibisyon çapı (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	2.75±0.35	1.75±0.35	5.00±0.71
2	0.00±0.00	2.00±0.00	3.25±0.35
3	0.00±0.00	1.50±0.00	4.75±0.35
4	0.00±0.00	0.00±0.00	3.50±0.00
5	0.00±0.00	1.75±0.35	3.25±1.06
6	2.50±0.00	1.50±0.00	3.75±0.35
7	0.00±0.00	0.00±0.00	3.25±0.35
8	2.75±0.35	2.00±0.00	2.50±0.00
9	2.00±0.71	1.75±0.35	3.50±0.71
10	1.50±0.00	1.75±0.35	3.00±0.71
11	2.50±0.00	1.50±0.00	2.50±0.00
12	2.25±0.35	2.00±0.71	3.50±0.71
13	3.75±0.35	4.50±0.00	3.25±0.35
14	5.25±0.35	3.00±0.71	2.50±0.71
15	2.25±3.18	2.00±0.71	4.50±0.00
16	4.75±1.06	2.75±0.35	3.50±0.00
17	3.25±0.35	2.75±0.35	3.00±0.00
18	3.00±0.71	3.00±0.00	3.25±0.35
19	4.25±1.06	3.25±0.35	3.50±0.00
20	5.25±0.35	3.25±0.35	3.50±0.00
21	3.75±0.35	3.50±0.71	2.25±0.35
22	3.25±1.06	3.25±0.35	3.75±0.35

#### 4.7.6 Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile sedir kabuğu ekstraktı üretiminde karışım değişkenleri olarak belirlenen su, etanol ve propanol oranı ile işlem koşulları olarak seçilen katı oranı, sıcaklık ve süre, maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir.

Optimizasyon çalışmasında geleneksel ekstraksiyon proses değişkenleri olan katı oranı %15-25, ekstraksiyon sıcaklığı 30-60°C ve ekstraksiyon süresi 30-60 dk aralığında ve karışım değişkenleri olarak seçilen su oranı %0-100, etanol oranı %0-100 ve propanol oranı %0-100 aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesinde her bir yanıt için elde edilen lineer modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum nokta için birbirine yakın 3 çözüm bulunmuştur (Çizelge 4.28). Optimum nokta olarak, programın belirlediği bu çözümlerden, birinci çözümde elde edilen faktör seviyeleri seçilmiştir. Bu noktada faktör seviyeleri, etanol oranı %9.524, propanol oranı %90.476, su oranı %0, katı oranı %25, sıcaklık 57.33°C ve süre 30 dakika olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.28.** Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar

No	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	Desirability
1	9.52	90.48	0.00	25.00	57.33	30	343.86	41.28	0.961
2	4.07	95.93	0.00	25.00	52.90	30	340.82	41.62	0.960
3	22.52	77.48	0.00	24.99	60.00	30	343.74	39.38	0.927

Optimum nokta sonuçlarının doğrulanması, belirlenen matematiksel optimum noktada; etanol oranı %9.524, propanol oranı %90.476, katı oranı %25, sıcaklık 57.33 °C ve süre 30 dakika su banyosunda ekstraksiyon işlemi ve ardından evaporasyon işlemi ile ekstrakt üretimi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 5 doğrulama denemesi sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahminlenen değerler Çizelge 4.29’da verilmiştir.



**Çizelge 4.29.** Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	1.62	360.99	45.20
2	0.40	333.30	44.36
3	1.07	333.91	45.56
4	0.86	334.77	42.43
5	0.89	357.05	45.73
<b>Ortalama</b>	0.97	343.51	42.97
<b>Modelden Tahminlenen</b>	2.25	347.94	43.06

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t*-testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *t*-testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *t*-testi sonuçları Çizelge 4.30'da görülmektedir.

**Çizelge 4.30.** Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer <sup>a</sup>	SH <sup>b</sup>	Fark	% Hata <sup>c</sup>	<i>p</i> -değeri
<b>Kuru madde içeriği (%)</b>	2.25	0.97±0.01	0.20	1.28	131.75	0.003
<b>TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)</b>	347.94	343.51±0.51	6.40	0.35	1.29	0.959
<b>AA (mg troloks /g kuru ağırlık)</b>	43.06	42.97±0.04	0.67	1.69	0.22	0.065

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir

b Ortalama standart hata

c % Hata = (|yden - ytah|/yden) × 100

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen sedir kabuğu ekstaktı analiz sonuçlarına göre TFM miktarı ve AA değeri modelden tahminlenen değerlere oldukça yakın olup, istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsizdir ( $p > 0.05$ ). KM miktarı için ise elde edilen ortalama deneysel sonuçlar modelin belirlediği sınırlar içerisindedir ( $0.23 < KM < 4.27$ ).

#### 4.8 Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Sedir Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi

Karışım (su, etanol ve propanol oranı) ve proses (katı oranı, amplitüd ve süre) değişkenlerinin ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerleri üzerine etkileri incelenmiştir. Hazırlanan karışımlardaki su, etanol ve propanol oranı sırasıyla %0 ile %100 arasında değişmektedir. D-Optimal Birleşik Dizayn deneme desenine göre hazırlanan ve proses koşullarını oluşturan katı oranı, amplitüd ve süre ise sırası ile %15-25, %50-80 ve 15-45 dk arasında değişmektedir. Tasarlanan deneme planı ve elde edilen deneysel yanıtlar sırası ile Çizelge 3.5 ve Çizelge 4.31’de verilmiştir.

**Çizelge 4.31.** Sedir kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	0.86±0.01	228.54±0.02	29.29±0.00
2	1.55±0.04	165.55±0.05	18.94±0.00
3	2.00±0.06	139.23±0.00	19.21±0.00
4	1.50±0.03	168.64±0.02	15.08±0.01
5	1.40±0.02	259.66±0.00	29.33±0.00
6	1.00±0.01	158.99±0.08	23.94±0.01
7	0.59±0.05	198.73±0.00	23.11±0.00
8	1.03±0.00	293.90±0.01	24.12±0.00
9	1.39±0.00	307.93±0.05	24.47±0.00
10	1.67±0.01	264.80±0.00	28.31±0.00
11	0.92±0.01	309.08±0.00	22.88±0.01
12	0.49±0.01	146.07±0.05	15.43±0.00
13	1.15±0.01	211.92±0.00	22.00±0.00
14	1.31±0.01	233.32±0.00	20.78±0.00
15	1.17±0.00	226.50±0.00	25.18±0.01
16	1.14±0.01	243.46±0.01	24.89±0.00
17	0.70±0.00	256.64±0.00	24.28±0.00
18	0.85±0.00	217.22±0.02	26.42±0.00
19	1.11±0.01	167.61±0.05	18.92±0.01
20	1.44±0.00	153.42±0.00	15.15±0.00
21	1.03±0.00	181.23±0.00	24.08±0.02
22	1.90±0.00	136.50±0.03	19.34±0.00

#### 4.8.1 Modelin Oluşturulması

Modellerin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı regresyon katsayısı  $R^2$ , düzeltilmiş regresyon katsayısı ve varyasyon katsayısı ile açıklanmaktadır. Modellerin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler ve değerleri, Çizelge 4.32’de verilmiştir. Modellerin regresyon katsayısı, KM, TFM ve AA için sırasıyla 0.809, 0.987 ve 0.986 olarak belirlenmiştir. Bu değerler 1.0 değerine oldukça yakın olup, varyansın büyük bir kısmının modeldeki bağımsız değişkenler ile açıklandığı görülmektedir. Bununla birlikte, düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değerleri incelendiğinde kuru madde içeriği için 0.600, TFM için 0.973 ve AA için 0.972 olarak belirlenmiştir.  $R^2$  ve  $R^2_{adj}$  değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Modeller için varyasyon katsayısı (C.V.) değeri; kuru madde içeriği için 20.95, TFM için 4.19 ve AA için 3.15 olarak bulgulanmıştır ve düşük varyasyon katsayısı değerleri kabul edilebilir olduğunu göstermiştir. Son olarak, yeterli tahminleme değerlerinin tüm yanıtlar için 4’ten büyük olduğu görülmektedir.

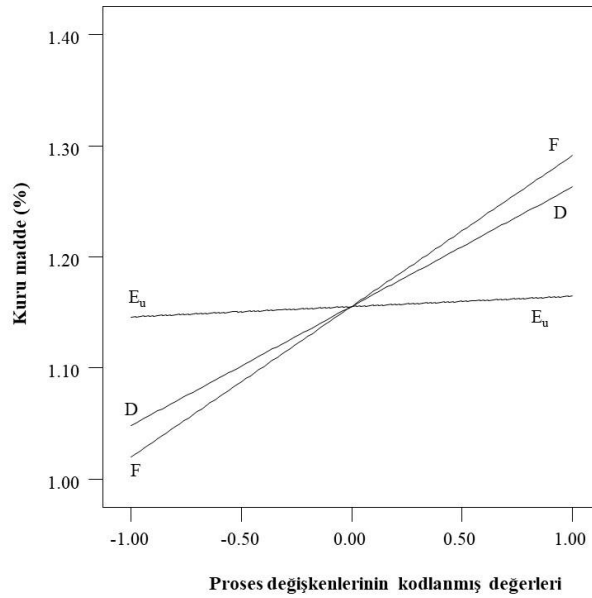
**Çizelge 4.32.** Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde modellerin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler

	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks/g kuru ağırlık)
$R^2$	0.809	0.987	0.986
$R^2_{adj}$	0.600	0.973	0.972
C.V. %	20.95	4.190	3.150
Yeterli tahminleme	7.108	25.88	27.38

Elde edilen sonuçların model uyumluluğu, Design Expert programında ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon için de geleneksel ekstraksiyona benzer şekilde regresyon analizi yapılarak işlem ve proses değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden model oluşturulmuştur. Kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite tahminlenmesi için en uygun model tipi, üç yanıt için de lineer model olmak üzere birinci dereceden modellerdir. Ekstraktların kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerlerine ait ANOVA analizi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.33, 4.34 ve 4.35’te verilmiştir. Her üç yanıt için  $p$ -değeri modelin önemli olduğunu göstermektedir.

#### 4.8.2 Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların, kuru madde içerikleri Çizelge 4.31’de verilmiştir. Ekstraktların kuru madde içerikleri, %0.49 ile %2.00 arasında değişmektedir. Maksimum kuru madde içeriği, proses koşullarının %25 katı oranı, %50 amplitüd ve 45 dk süre ve karışım değişkeninin %100 su olduğu koşullarda elde edilmiştir. Buna karşın en düşük kuru madde içeriği, %100 propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının en düşük seviyelerde (%15 katı oranı, %50 amplitüd, 15dk süre) olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin sedir kabuğu ekstraktlarının KM değerleri üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.33’te verilmiştir.



**Şekil 4.48.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım ve proses değişkenlerinin, sedir ekstraktının, kuru madde içeriği üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur. Karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.48). Proses değişkenleri arasından ekstraksiyon süresinin, sedir kabuğu ekstraktlarının, kuru madde içeriği (%) üzerine etkisinin diğer proses değişkenlerine kıyasla daha önemli olduğu

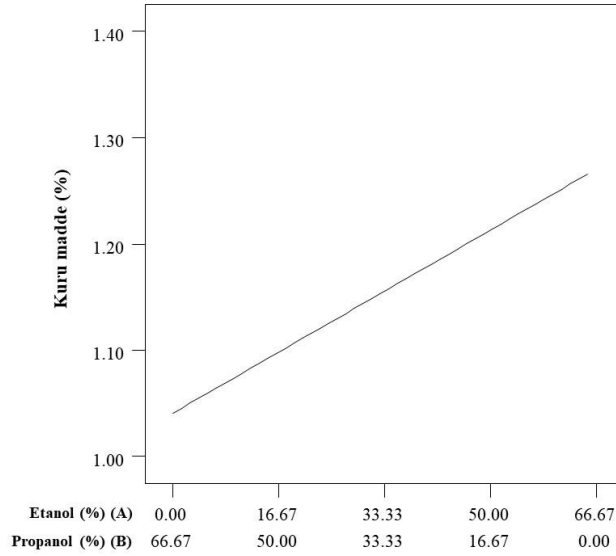
görülmektedir. Ekstraksiyon süresi ve katı oranı arttıkça, sedir ekstraktı kuru madde içeriği artmıştır. Amplitüd değerinin artması ise ekstraktların kuru madde değerini etkilememiştir.

**Çizelge 4.33.** Ultrasonik yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	Kuru madde içeriği (%)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	2.65	0.0209
Lineer Karışım	2	1.14	0.0055
AD	1	0.22	0.0882
AE <sub>u</sub>	1	0.04	0.4663
AF	1	0.00	0.8985
BD	1	0.11	0.2225
BE <sub>u</sub>	1	0.12	0.1945
BF	1	0.32	0.0477
CD	1	0.49	0.0184
CE <sub>u</sub>	1	0.01	0.6739
CF	1	0.24	0.0765
Kalıntı	10	0.62	
Model uygunsuzluğu	5	0.52	0.0533
Saf hata	5	0.11	
Toplam	21	3.27	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

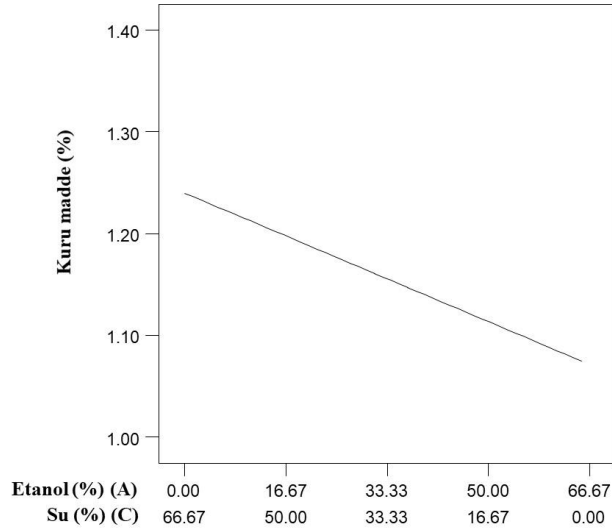
İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden, etanol-propanol interaksyonu incelenmiştir (Şekil 4.49). Su oranının orta noktada (%33.3) olduğu koşulda, ekstraksiyon çözeltisinde etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi kuru madde içeriğini artırmıştır. Etanol oranının maksimum (%66.6), propanol oranının minimum (%0) olduğu durumda kuru madde miktarı en fazladır. Su oranı minimum noktada iken (%0), etanol oranı %100 ve propanol oranı %0 olduğunda kuru madde miktarının maksimum olduğu saptanmıştır. Su oranı maksimum noktada iken (%95), etanol oranının artması ve propanol oranının azalması kuru madde miktarını artırmıştır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle kuru madde değeri artmıştır.



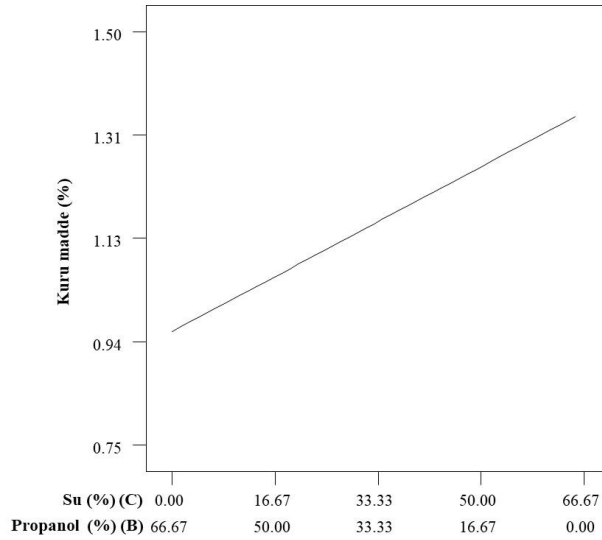
**Şekil 4.49.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işlemi, etanol oranının artması ve su oranının azalması elde edilen ekstraktların kuru madde değerinin azaltmaktadır (Şekil 4.50). Bununla birlikte, ortamda propanol çözücü yer almadığında etanol etkili bir ekstraksiyon sağlayamamaktadır. Maksimum kuru madde içeriği, etanol (%0) ve propanol (%0) içermeden çözücü olarak sadece su (%100) kullanıldığında elde edilmektedir.

Pertürbasyon grafiklerinden propanol-su interaksyonu incelendiğinde, propanol oranının artması ile birlikte ekstraktların kuru madde içeriği azalırken, su oranının artması ile birlikte kuru madde içeriği artmaktadır (Şekil 4.51). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum ortamda etanolün bulunmaması (%0) durumunda da geçerlidir. Su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artması ekstraktların kuru madde miktarında düşüşe neden olmaktadır.



**Şekil 4.50.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.51.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Sedir kabuğu ekstraktlarının kuru madde içerikleri üzerine karışım ve proses değişkenlerinin her ikisinin de etkili olduğu belirlenmiştir. Ancak proses değişkenlerinin etkisi daha sınırlıdır. Proses değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde en etkili değişkenin ekstraksiyon süresi olduğu belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresinin artması ekstraktların kuru madde değerinde artış sağlamıştır. Bununla birlikte su, etanol ve propanolün kuru madde içeriği üzerine etkisi incelendiğinde, etanol ve propanol çözücülerinin tek başına kullanımının uygun olmadığı, çözücü ortamında mutlaka suyun bulunması gerektiği tespit edilmiştir.

### 4.8.3 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 4.31’de verilmiştir. Ekstraktların TFM içerikleri 136.50 ile 309.08 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişmektedir. TFM içeriğindeki değişim aralığının oldukça geniş olması farklı karışım oranlarının ve proses koşullarının, sedir kabuğundan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu etkilediğini açıkça göstermektedir. Bununla birlikte, istatistiksel olarak incelendiğinde, koşulların sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.34’te verilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin interaksiyonlarının, sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine önemli ölçüde ( $p<0.05$ ) etkili olduğu görülmüştür.

Maksimum TFM içeriği etanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, proses değişkenlerinden katı oranının %15, amplitüd değerinin %80 ve ekstraksiyon süresinin 45 dk olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu noktada katı oranının minimum, amplitüd değerinin ve sürenin maksimum seviyelerde olduğu görülmektedir. Buna karşın en düşük TFM içeriği su ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %25 katı oranı, %50 amplitüd, 45 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Katı oranı ve sürenin maksimum seviyelerde olduğu bu ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilemediği görülmektedir. Bu durum kullanılan çözücünün su olmasının fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlayamaması ile açıklanabilir.



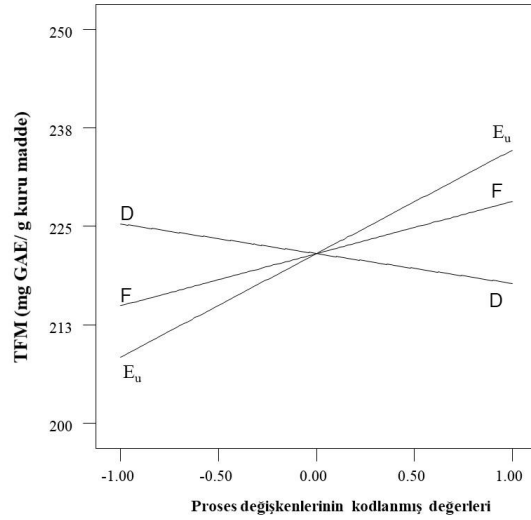
**Çizelge 4.34.** Ultrasonik yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	62265.36	< 0.0001
Lineer Karışım	2	52345.40	< 0.0001
AD	1	195.13	0.1470
AE <sub>u</sub>	1	786.75	0.0102
AF	1	223.29	0.1235
BD	1	93.32	0.3024
BE <sub>u</sub>	1	2344.27	0.0003
BF	1	5667.69	< 0.0001
CD	1	678.36	0.0150
CE <sub>u</sub>	1	155.98	0.1901
CF	1	380.89	0.0527
Kalıntı	10	789.36	
Model uygunsuzluğu	5	356.35	0.5820
Saf hata	5	433.01	
Toplam	21	63054.72	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Karışım ve proses değişkenlerinin, sedir kabuğu ekstraktının, toplam fenolik madde içeriği üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.52, Şekil 4.53, Şekil 4.54 ve Şekil 4.55). İlk olarak karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.52). Amplitüd değerinin ve ekstraksiyon süresinin artmasıyla sedir ekstraktı TFM içeriği artmıştır. Proses değişkenleri arasından katı oranının artmasıyla sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği azalmıştır.

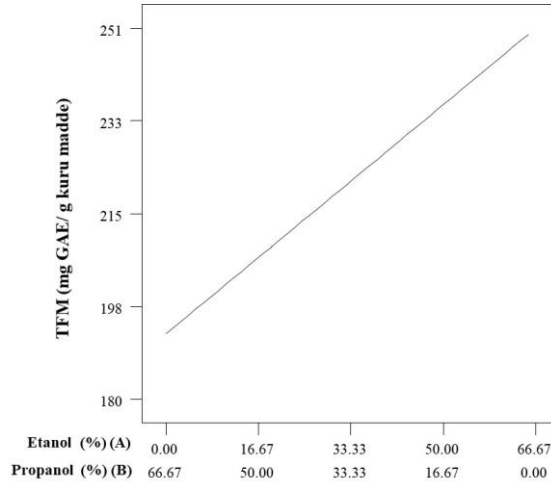
Proses değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafikleri Şekil 4.53, 4.55 ve 4.55'te sunulmuştur.



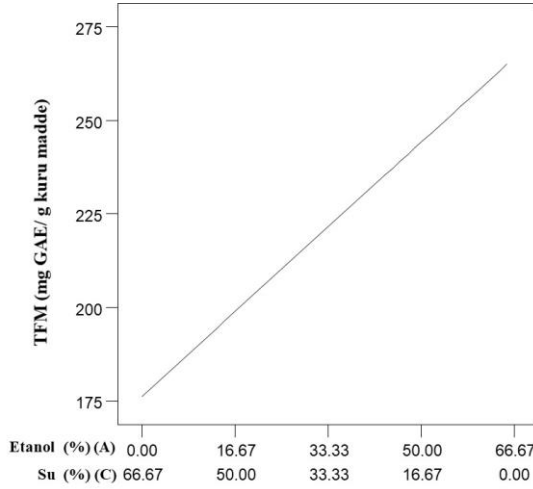
**Şekil 4.52.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden, etanol-propanol interaksyonu incelenmiştir (Şekil 4.53). Su oranının orta noktada (%33.3) olduğu bu koşullarda, ekstraksiyon çözeltisinde etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi TFM miktarını arttırmıştır. Etanol oranının maksimum (%66.6), propanol oranının minimum (%0) olduğu durumda TFM miktarı en fazladır. Su oranı minimum noktada iken (%0), etanol oranı %100 ve propanol oranı %0 olduğunda TFM miktarının maksimum olduğu saptanmıştır. Su oranı maksimum noktada iken (%95) de aynı durum söz konusudur. Etanol oranının artması ve propanol oranının azalması TFM miktarını arttırmıştır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle TFM değeri belirgin şekilde azalmıştır.

Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işlemi, etanol oranının artması ve su oranının azalması elde edilen ekstraktların TFM değeri artmaktadır (Şekil 4.54). Bununla birlikte, ortamda propanol çözgeni yer almadığında su etkili bir ekstraksiyon sağlayamamaktadır. Propanol oranının maksimum olduğu durumda ise etanol oranının artması ve su oranının azalması ile TFM miktarı artmaktadır. Su ve etanolden bağımsız olarak ortamda propanol miktarının artması TFM miktarının azalmasına neden olmaktadır.

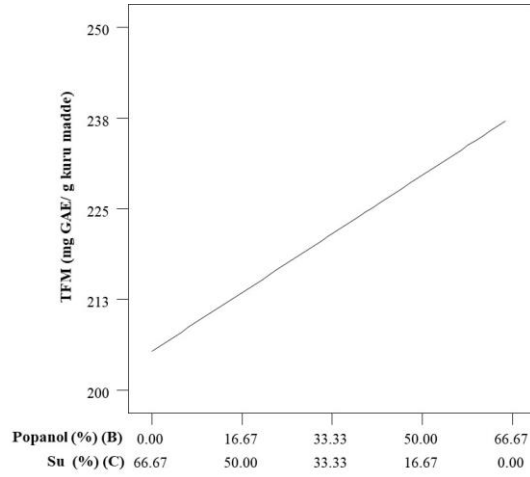


**Şekil 4.53.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.54.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Pertürbasyon grafiklerinden propanol-su interaksyonu incelendiğinde, propanol oranının artması ile birlikte ekstraktların TFM içeriği artarken, su oranının artması ile birlikte TFM içeriği azalmaktadır (Şekil 4.55). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum ortamda etanolün bulunmaması (%0) ve maksimum oranda bulunması (%95) durumunda da geçerlidir. Su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artması ekstratların toplam fenolik made miktarında artışa neden olmaktadır.



**Şekil 4.55.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine hem karışım hem de proses değişkenlerinin önemli bir etkiye sahip olduğu bulgulanmıştır. Ancak karışım değişkenlerinin TFM miktarı üzerine etkisi daha belirgindir. Amplitüd değerinin ve ekstraksiyon süresinin artmasıyla sedir ekstraktı TFM içeriği artmıştır. Proses değişkenleri arasından katı oranının artmasıyla sedir kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği azalmıştır. Proses faktörlerinden ekstraksiyon süresi ve amplitüd değerinin maksimum olduğu ve katı oranının minimum olduğu koşullarda, etanol oranının artmasıyla birlikte TFM içeriği artış göstermiş ve ortamda etanol oranının maksimum olduğu durumda en yüksek değerine ulaşmıştır. Bununla birlikte katı oranının değiştirilmesinin TFM içeriği üzerindeki etkisi sınırlı düzeydedir.

#### 4.8.4 Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların AA değerleri Çizelge 4.31’de verilmiştir. Ekstraktların AA içerikleri 15.08 ile 29.33 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişmektedir. Maksimum AA içeriği propanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, proses değişkenlerinden katı oranının %15, amplitüd değerinin %80 ve ekstraksiyon süresinin 45 dk olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu noktada katı oranının minimum, amplitüd değerinin ve sürenin maksimum seviyelerde olduğu görülmektedir. Buna karşın en düşük AA içeriği su ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %25 katı oranı, %80 amplitüd, 15 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Katı oranı ve amplitüd

değerlerinin maksimum; diğer proses değişkeni olan ekstraksiyon süresinin minimum seviyelerde olduğu bu ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilemediği görülmektedir. Bu durum kısa ekstraksiyon süresine bağlı olarak antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin yeterince ekstrakte edilemediği ile açıklanabileceği gibi, kullanılan çözücünün su olmasının fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlayamaması ile de açıklanabilir.

Karışım ve proses koşullarının sedir kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine etkisinin istatistiksel olarak incelendiği ANOVA tablosu Çizelge 4.35'te verilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin interaksiyonlarının, sedir kabuğu ekstraktlarının AA içerikleri üzerine önemli ölçüde ( $p<0.05$ ) etkili olduğu görülmüştür.

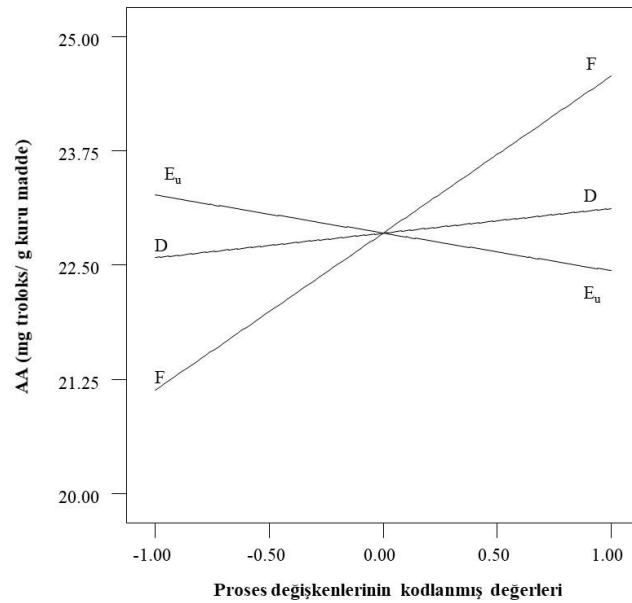
**Çizelge 4.35.** Ultrasonik yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	373.05	< 0.0001
Lineer Karışım	2	133.63	< 0.0001
AD	1	8.97	0.0018
AE <sub>u</sub>	1	6.93	0.0041
AF	1	2.06	0.0709
BD	1	11.49	0.0008
BE <sub>u</sub>	1	26.79	< 0.0001
BF	1	108.99	< 0.0001
CD	1	38.40	< 0.0001
CE <sub>u</sub>	1	44.47	< 0.0001
CF	1	0.38	0.4037
Kalıntı	10	5.04	
Model uygunsuzluğu	5	0.89	0.9412
Saf hata	5	4.15	
Toplam	21	378.09	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Kati oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre

$p<0.05$  seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Karışım ve proses değişkenlerinin, sedir kabuğu ekstraktının, AA miktarı üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.56, Şekil 4.57, Şekil 4.58 ve Şekil 4.59). İlk olarak karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.56). Ekstraksiyon süresinin artmasıyla sedir ekstraktı AA miktarı artmıştır. Benzer biçimde, katı oranının artmasıyla sedir ekstraktı AA miktarı bir miktar artmıştır ancak bu artış daha sınırlı düzeydedir. Proses değişkenleri arasından amplitüd değerinin artmasının, sedir kabuğu ekstraktlarının AA miktarının azalmasına neden olduğu görülmektedir.

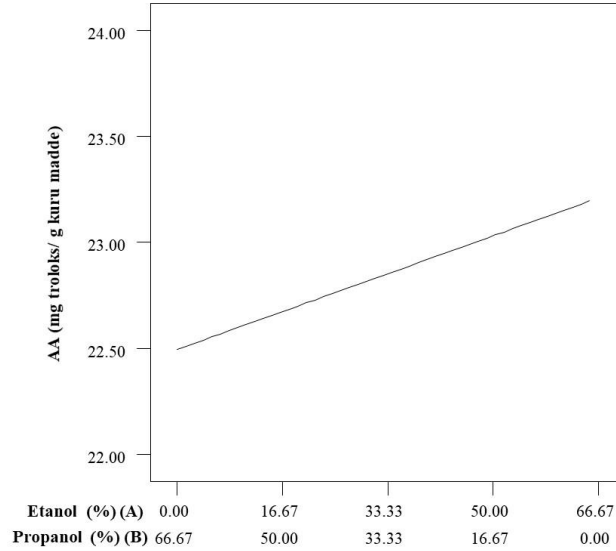


**Şekil 4.56.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Proses değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların AA içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafikleri Şekil 4.57, 4.58 ve 4.59'da sunulmuştur.

İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden, etanol-propanol interaksiyonu incelenmiştir (Şekil 4.57). Su oranının orta noktada (%33.3) olduğu bu koşulda, ekstraksiyon çözeltisinde etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi AA miktarını arttırmıştır. Etanol oranının maksimum (%66.6), propanol oranının minimum (%0) olduğu durumda AA değeri en fazladır. Su oranı minimum noktada iken (%0), etanol oranı %100 ve propanol oranı %0 olduğunda AA değerinin maksimum olduğu saptanmıştır. Su oranı maksimum noktada iken

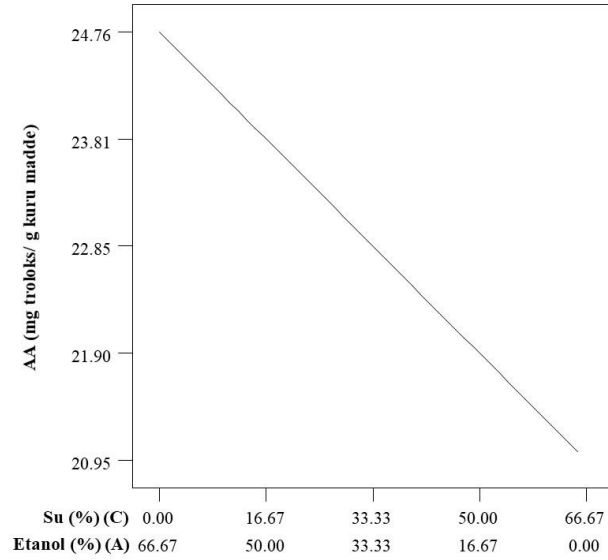
(%95) de benzer durum söz konusudur ve etanol oranının artması ve propanol oranının azalması AA miktarını artırmıştır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle AA değeri azalmıştır.



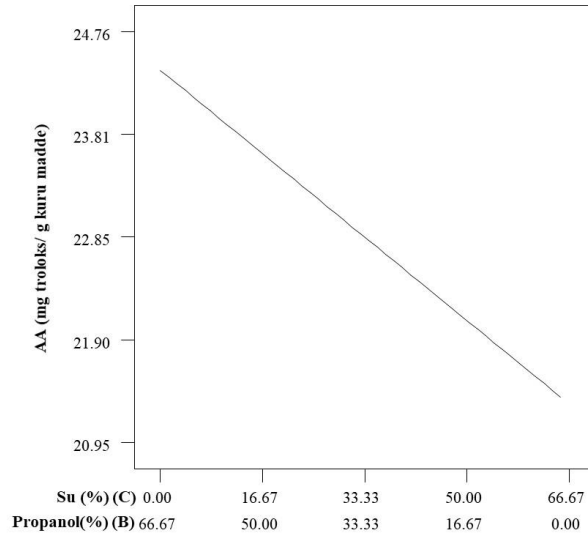
**Şekil 4.57.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işlemi, etanol oranının artması ve su oranının azalması elde edilen ekstraktların AA değeri artmaktadır (Şekil 4.58). Bununla birlikte, propanol çözgeninin hem ortamda yer almadığı durumda hem de maksimum oranda yer aldığı su etkili bir ekstraksiyon sağlayamamaktadır.

Pertürbasyon grafiklerinden propanol-su interaksyonu incelendiğinde, propanol oranının artması ile birlikte ekstraktların AA içeriği artarken, su oranının artması ile birlikte AA miktarı azalmaktadır (Şekil 4.59). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum ortamda etanolün bulunmaması (%0) ve maksimum oranda bulunması (%95) durumunda da geçerlidir. Bununla birlikte su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artması ekstraktların toplam AA miktarında artış sağlamaktadır.



**Şekil 4.58.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.59.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sedir kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının AA miktarı üzerine karışım değişkenlerinin etkisi, proses değişkenlerine kıyasla daha fazladır. Proses değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde, AA miktarı üzerine en önemli etki eden değişken ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon süresinin artması ve katı oranı ve amplitüd değerlerinin azalması AA miktarında artış sağlamıştır. Karışım değişkenleri değerlendirildiğinde su kullanımının AA gösteren bileşiklerin ekstrakte edilmesinde yeterli olmadığı belirlenmiştir. AA gösteren bileşiklerin en iyi şekilde ekstraksiyonu için ortamda



mutlaka alkol bulunması ve ekstraksiyon işleminin uzun sürede gerçekleşmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Sedir kabuğundan antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin ekstraksiyonunda, geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemlerinin her ikisinde de en fazla AA gösteren ekstraktların üretiminde %100 propanol; en az AA gösteren ekstraktların üretiminde %100 su kullanıldığı tespit edilmiştir.

#### 4.8.5 Antimikrobiyal Aktivite

Tez çalışması kapsamında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak elde edilen sedir kabuğu ekstraktları, ince film evaporatör kullanılarak konsantre hale getirilmiş ve bu ekstraktların antimikrobiyal potansiyelleri, yaygın olarak gıda zehirlenmesine neden olan *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* olmak üzere 3 farklı bakteri suşu kullanılarak değerlendirilmiştir. Çalışmada elde edilen ekstraktlar, farklı mikroorganizmalar üzerinde değişen oranlarda antimikrobiyal aktivite göstermişlerdir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde elde edilen zon çapı değerleri Çizelge 4.36'da verilmiştir.

Farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının tamamının *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* suşlarının tamamına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir. Oluşan zon çapları 1.0 ile 5.0 mm arasında değişmektedir. Ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı oluşturdukları zon çapları sırasıyla 1.5-3.0 mm, 1.0-5.0 mm, 2.0-3.5 mm arasında değişmektedir.

*Escherichia coli* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt çözücü olarak % 100 suyun kullanıldığı ve %25 katı oranı, %80 amplitüd, 15 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir. *Escherichia coli* suşuna karşı en az antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt ise çözücü olarak % 100 propanolün kullanıldığı ve %25 katı oranı, %50 amplitüd, 45 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir.

*Listeria monocytogenes* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt çözücü olarak % 100 etanolün kullanıldığı ve %15 katı oranı, %80 amplitüd, 45 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir. En az antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt ise çözücü olarak % 100 propanolün kullanıldığı ve %25 katı oranı, %80 amplitüd, 15 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir.

*Staphylococcus aureus* suşuna karşı en fazla antimikrobiyal etki gösteren ekstrakt çözücü olarak % 100 suyun kullanıldığı ve %25 katı oranı, %80 amplitüd, 15 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi ile elde edilmiştir. Üç farklı ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ve *Staphylococcus aureus* suşuna karşı en az antimikrobiyal etki gösteren ekstraktların üretim koşulları ise şu şekildedir. Çözücü olarak % 100 propanolün kullanıldığı ve %25 katı oranı, %80 amplitüd, 15 dk süre koşullarında gerçekleştirilen, çözücü olarak 1:1:1 oranında etanol-propanol-su karışımının kullanıldığı; %25 katı oranı, %80 amplitüd, 45 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ve çözücü olarak 4:1:1 oranında etanol-propanol-su karışımının kullanıldığı ve %20 katı oranı, %65 amplitüd, 30 dk süre ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstraktlar *Staphylococcus aureus* suşuna karşı en az antimikrobiyal etki gösteren ekstraktlardır.

Sedir kabuğu ekstraktları kullanılarak gerçekleştirilen antimikrobiyal aktivite analizi sonuçları, optimizasyon aşamasında incelenmiş fakat bu yanıt için uygun bir model bulunamamıştır. Dolayısıyla optimizasyon işleminde, antimikrobiyal aktivite yanıt olarak değerlendirilememiştir.

Ultrasonik yöntemle elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal aktivite analizi sonuçları, optimizasyon aşamasında incelenmiş fakat bu yanıt için uygun bir model bulunamamıştır. Dolayısıyla optimizasyon işleminde, antimikrobiyal aktivite yanıt olarak değerlendirilememiştir.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi, karışım değişkenleri olan su, etanol ve propanol açısından değerlendirildiğinde kullanılan çözücüler arasında önemli bir fark olmadığı belirlenmiştir.

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen tüm ekstraktlar her üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Bu nedenle ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antimikrobiyal etkisinin geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlara kıyasla daha iyi olduğu sonucuna varılmıştır.

**Çizelge 4.36.** Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi

Deneme No	İnhibisyon çapı (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	1.50±0.00	3.25±0.35	2.25±0.35
2	2.00±0.00	3.75±0.35	3.00±0.71
3	1.75±0.35	3.50±0.00	2.25±0.35
4	2.75±0.35	3.25±0.35	3.50±0.71
5	2.25±0.35	2.00±0.00	3.00±0.00
6	2.00±0.71	1.25±0.35	2.50±0.71
7	2.50±0.00	1.00±0.00	2.00±0.71
8	2.00±0.00	1.50±0.00	2.25±0.35
9	2.25±0.35	1.25±0.35	2.75±0.35
10	1.75±0.35	2.25±0.35	2.75±0.35
11	2.25±0.35	5.00±0.00	3.25±0.35
12	2.50±0.00	4.50±0.71	2.75±0.35
13	2.25±0.35	2.25±0.35	2.75±0.35
14	1.75±0.35	1.75±0.35	2.75±0.35
15	2.00±0.00	2.25±0.35	2.75±0.35
16	2.25±0.35	2.00±0.00	2.00±0.00
17	1.75±0.35	2.00±0.00	2.00±0.00
18	1.50±0.00	3.25±0.35	2.50±0.00
19	2.00±0.00	3.75±0.35	3.25±0.35
20	3.00±0.00	3.25±0.35	3.50±0.71
21	1.75±0.35	1.25±0.35	2.50±0.71
22	1.75±0.35	3.5±0.00	2.25±0.35

Derwich vd. (2010), sedir ağacı yapraklarından hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen esansiyel yağların çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etkisini disk difüzyon yöntemine göre araştırdıkları çalışmada, sedir ağacı yaprak ekstraktlarının *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Enterococcus faecalis* ve *Bacillus sphericus* mikroorganizmalarının gelişimini önlediği belirlenmiştir.

#### 4.8.6 Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile sedir kabuğu ekstraktı üretiminde, karışım değişkenleri olarak belirlenen su, etanol ve propanol oranı ile işlem koşulları olarak seçilen katı oranı, amplitüd ve süre, maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir.

Optimizasyon çalışmasında ultrasonik ekstraksiyon proses değişkenleri olan katı oranı %15-25, amplitüd değeri %50-80 ve ekstraksiyon süresi 15-45 dk aralığında ve karışım değişkenleri olarak seçilen su oranı %0-100, etanol oranı %0-100 ve propanol oranı %0-100 aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesinde her bir yanıt için elde edilen lineer modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum nokta için birbirine yakın 3 çözüm bulunmuştur (Çizelge 4.37). Optimum nokta olarak, programın belirlediği bu çözümlerden, birinci çözümde elde edilen faktör seviyeleri seçilmiştir. Bu noktada faktör seviyeleri, etanol oranı %45.09, propanol oranı %54.91, su oranı %0, katı oranı %25, amplitüd değeri %80 ve süre 45 dakika olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.37.** Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar

No	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Amplitüd (%)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	Desirability
1	45.09	54.91	0.00	25.00	80.00	45.00	280.296	29.33	0.910
2	44.45	55.55	0.00	24.96	79.96	45.00	280.089	29.36	0.910
3	44.64	55.36	0.00	25.00	80.00	45.00	279.987	29.33	0.909

Tez kapsamında sedir kabuğu için oluşturulan ultrasonik ekstraksiyon modeli incelendiğinde, TFM ve AA miktarı üzerine karışım değişkenlerinin etkisi, proses değişkenlerine kıyasla daha belirgindir. Sedir kabuğunun ultrasonik yöntemle ekstraksiyonunu için yapılan optimizasyon sonucunda en yüksek TFM miktarı ve AA değerine ulaşabilmek için en iyi çözücünün, sedir kabuğunun geleneksel yöntemle ekstraksiyonunda olduğu gibi, propanol-etanol karışımı olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte deneme deseni takip edilerek üretilen ekstraktlarda en düşük TFM (136.50 mg GAE/g kuru ağırlık) ve AA (15.08 mg troloks /g kuru ağırlık) değerlerine sahip ekstraktlar çözücü olarak %100 suyun kullanıldığı ekstraktlardır. Rosales-Castro vd. (2015), sedir kabuklarından su ve etanol kullanarak elde ettikleri ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerini ve antioksidan aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında, çözücü olarak etanol kullandıklarında biyoaktif bileşiklerin daha iyi ekstrakte olduklarını ve suyun seçiciliğinin etanol kadar iyi olmadığı sonucuna varmışlardır.

Tez çalışması kapsamında optimum nokta sonuçlarının doğrulanması, belirlenen matematiksel optimum noktada; etanol oranı %45, propanol oranı %55, katı oranı %25, amplitüd %80 ve süre 45 dakika ultrasonik ekstraksiyon işlemi ve ardından evaporasyon işlemi

ile ekstrakt üretimi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 5 doğrulama denemesi sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahminlenen değerler Çizelge 4.38’de verilmiştir.

**Çizelge 4.38.** Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	0.76	302.46	28.35
2	0.86	286.67	28.90
3	0.73	292.91	28.69
4	0.89	281.87	28.90
5	1.04	277.72	29.14
<b>Ortalama</b>	0.86	288.33	29.17
<b>Modelden Tahminlenen</b>	1.19	280.00	29.00

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t*-testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *t*-testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *t*-testi sonuçları Çizelge 4.39’da verilmiştir.

**Çizelge 4.39.** Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer <sup>a</sup>	SH <sup>b</sup>	Fark	% Hata <sup>c</sup>	<i>p</i> -değeri
<b>Kuru madde içeriği (%)</b>	1.19	0.86±0.01	0.05	0.33	37.79	0.004
<b>TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)</b>	280.00	288.33±0.43	4.35	8.03	2.89	0.138
<b>AA (mg troloks /g kuru ağırlık)</b>	29.00	29.17±0.02	0.47	0.16	0.58	0.747

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir

b Ortalama standart hata

c % Hata = (|yden - ytah|/yden) × 100

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen sedir kabuğu ekstaktı analiz sonuçlarına göre TFM miktarı ve AA değeri modelden tahminlenen değerlere oldukça yakın olup,

istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ ). KM miktarı için ise elde edilen ortalama deneysel sonuçlar modelin belirlediği sınırlar içerisindedir ( $0.49<KM<2.09$ ).

#### 4.9 Sedir Kabuğu için Uygun Ekstraksiyon Yönteminin Seçilmesi

Sedir kabuğunda, geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen denemelerin optimizasyonu sonucunda, her bir yöntem için belirlenen optimum koşullar ile bu optimum koşullarda üretilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troloks /g kuru ağırlık) değerleri Çizelge 4.40'ta verilmiştir. Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların TFM içeriklerinin sırasıyla 343.86 ve 280.30 (mg GAE/g kuru ağırlık) olduğu ve geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstrakta kıyasla daha yüksek TFM içeriğine sahip olduğu bulgulanmıştır. Benzer şekilde geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın AA değerinin (41.28 mg troloks /g kuru ağırlık) ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen AA değerinden (29.33 mg troloks /g kuru ağırlık) daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemlerinin her ikisinde de optimum katı oranı %25 olarak belirlenmiştir. Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemlerinde çözücü tipi her iki ekstraksiyon yönteminde de etanol-propanol karışımı olarak belirlenmiştir. İki farklı ekstraksiyon yöntemi seçilen yanıtlara ek olarak maliyet açısından da karşılaştırıldığında, hem geleneksel yöntemle ekstraksiyon işleminin yatırım maliyetinin düşük olması nedeniyle hem de her iki yöntemde de etanol-propanol karışımının kullanılması söz konusu olduğu için, geleneksel ekstraksiyon yönteminin ultrasonik ekstraksiyona göre daha uygun olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla sedir kabuğundan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda, daha yüksek TFM içeriği ve AA değeri ile daha düşük maliyet sağlama avantajlarına sahip olan geleneksel ekstraksiyon yöntemi seçilmiştir.

**Çizelge 4.40.** Sedir kabuğundan farklı ekstraksiyon yöntemleri ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troloks /g kuru madde) değerleri

Ekstraksiyon Yöntemi	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Sıcaklık (°C)/ Amplitüd (%)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
Geleneksel	9.52	90.48	0.00	25.00	57.33	30	343.86	41.28
Ultrasonik	45.09	54.91	0.00	25.00	80.00	45	280.30	29.33

Tez çalışması kapsamında geleneksel yöntemle üretilen sedir kabuğu ekstraktlarında en düşük TFM (132.08 mg GAE/g kuru ağırlık) ve AA (14.22 mg troloks /g kuru ağırlık) değerine sahip ekstraktların üretiminde çözücü olarak su kullanılmıştır. Kestane kabuğunun geleneksel ve ultrasonik yöntemle ekstraksiyonunda, yüksek TFM ve AA değerleri sağlama açısından, su en iyi çözücü durumundayken, sedir kabuğunun optimum koşullarda ekstraksiyonunda çözücü olarak yer almamaktadır. Rosales-Castro ve ark. (2015), genç ve olgun sedir kabuklarından su ve etanol kullanarak elde ettikleri ekstraktların toplam fenolik madde içeriklerini ve antioksidan aktivitelerini değerlendirdikleri çalışmalarında, çözücü olarak etanol kullandıklarında biyoaktif bileşiklerin daha iyi ekstrakte olduklarını ve suyun seçiciliğinin etanol kadar olmadığını belirlemişlerdir.

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen sedir kabuğu ekstraktında, kuru madde içeriği, TFM (mg GAE/g kuru madde), AA (mg troloks /g kuru madde) ve antimikrobiyal aktivite analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.41'de verilmiştir. Ekstraktın kuru madde içeriği, TFM içeriği ve AA değeri deneysel ve modelden tahminlenen değerlere yakın olup sırasıyla %0.89, 339.69 mg GAE/g kuru ağırlık ve 40.80 mg troloks /g kuru ağırlık'dır. Ekstraktın antimikrobiyal aktivitesinin değerlendirilmesinde kullanılan inhibisyon çapları 2.50-3.25 mm arasında değişim göstermiştir. Ekstraktın, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal etkisi değerlendirildiğinde, üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal etkisinin olduğu ve ekstraktların oluşturduğu zon çaplarının sırasıyla ortalama 2.50, 3.25 ve 3.00 mm olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.35). Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir ekstraktlarının üç bakteri suşu üzerine antimikrobiyal etkisi kıyaslandığında, en fazla antimikrobiyal etkiyi *Staphylococcus aureus* suşu üzerine, en az antimikrobiyal etkiyi ise *Escherichia coli* suşu üzerine gösterdiği belirlenmiştir.

**Çizelge 4.41.** Sedir kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın kuru madde içeriği (%), TFM içeriği (mg GAE/g kuru ağırlık), AA (mg troloks /g kuru ağırlık) değeri ve antimikrobiyal aktivitesi

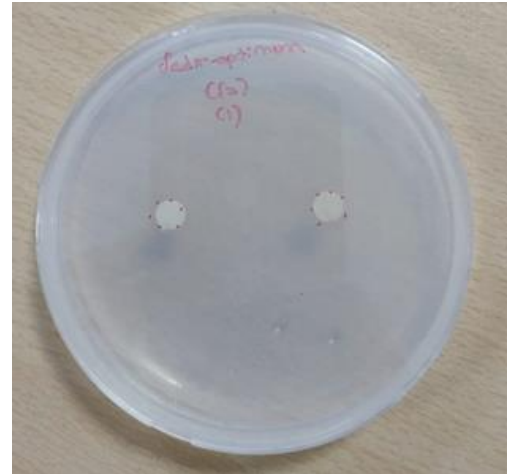
Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	Antimikrobiyal aktivite (İnhibisyon çapı (mm))		
			<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
0.89±0.01	339.69±0.52	40.80±0.03	2.50±0.00	3.25±0.00	3.00±0.00



(a)



(b)



(c)

**Şekil 4.60.** Sedir kabuğundan geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın *Escherichia coli* (a), *Listeria monocytogenes* (b) ve *Staphylococcus aureus* (c) suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon çapları



#### **4.10 Geleneksel Katı Sıvı Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Sığla Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi**

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerleri üzerine, karışım (su, etanol ve propanol oranı) ve proses (katı oranı, sıcaklık ve süre) değişkenlerinin etkileri incelenmiştir. Ekstraksiyon işleminde kullanılan çözücü (su, etanol ve propanol) oranı %0 ile %100 arasında değişmektedir. D-Optimal Birleşik Dizayn deneme desenine göre hazırlanan ve proses koşullarını oluşturan katı oranı, sıcaklık ve süre ise sırası ile %15-25, 30-60 °C ve 30-60 dk arasında değişmektedir. Bağımsız proses ve karışım değişkenlerinin yanıtlar üzerine etkisi regresyon analizi ile Design-Expert paket programı kullanılarak modellenmiş, ekstraktın kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivitesi dikkate alınarak işlem optimize edilmiştir.

Model eşitliğindeki katsayıların belirlenmesi ve modelin oluşturulması için tasarlanan deneme planı ve elde edilen deneysel yanıtlar sırası ile Çizelge 3.6 ve Çizelge 4.42'de verilmiştir.

**Çizelge 4.42.** Sığla kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	1.23±0.01	155.30±0.00	18.97±0.00
2	1.05±0.01	160.48±0.22	21.43±0.01
3	0.68±0.01	167.19±0.34	22.26±0.00
4	0.10±0.01	28.62±0.00	1.51±0.00
5	1.21±0.01	10.85±0.04	0.33±0.00
6	1.06±0.00	4.34±0.00	0.12±0.00
7	0.41±0.01	163.16±0.15	20.67±0.00
8	0.84±0.00	7.37±0.00	0.23±0.00
9	0.92±0.01	20.39±0.02	1.75±0.00
10	1.30±0.06	3.08±0.00	0.57±0.00
11	0.58±0.01	14.79±0.01	0.67±0.00
12	0.85±0.01	39.83±0.02	0.31±0.00
13	1.15±0.02	56.33±0.00	6.02±0.00
14	0.43±0.01	73.90±0.00	7.91±0.00
15	0.65±0.02	64.74±0.04	6.73±0.00
16	1.12±0.00	57.15±0.17	7.36±0.00
17	0.94±0.01	37.14±0.01	3.32±0.00
18	1.25±0.00	153.26±0.00	18.88±0.01
19	0.88±0.01	157.16±0.00	20.55±0.03
20	0.66±0.01	167.61±0.00	22.03±0.03
21	0.44±0.01	161.49±0.14	21.15±0.01
22	0.10±0.01	26.00±0.03	2.24±0.00

#### 4.10.1 Modelin Oluşturulması

Optimizasyon çalışmasında yer alan karışım ve proses değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden matematiksel model lineer regresyon analizi yapılarak oluşturulmuştur. Bunun için modellere her bir değişkenin öncelikle lineer etki terimleri, daha sonra interaksiyon etki terimleri sırası ile toplu halde eklenmiş ve kareler toplamındaki artış ve model uygunsuzluğu testi (lack of fit) değerleri analiz edilmiştir.

Kuru madde içeriği, TFM içeriği ve AA değerinin tahminlenmesi için en uygun model tipi lineer olmak üzere birinci dereceden modellerdir. Deneysel verilerin birinci dereceden modele fit ettirilmesine ilişkin varyans analizi Çizelge 4.44, 4.45 ve 4.46'da verilmiştir. Burada, elde edilen tüm regresyon modellerinin %99 güven seviyesinde önemli olduğu görülmektedir. Her bir bağımsız değişkenin yanıtlar üzerindeki lineer ve interaksiyon etkilerinin istatistiksel

olarak önemliliği de Çizelge 4.44, 4.45 ve 4.46'da gösterilmiştir. Etkilerin istatistiksel olarak model açısından önemliliği  $p$ -değerlerinden bulunmuştur.  $p$ -değeri 0.05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiştir. Ayrıca, kalıntı hata, deneysel dizaynın merkez noktasında yapılan gözlemlerin tekrarlanmasıyla saf deneysel hata ve model uygunsuzluğu olarak ayrılmıştır. İdeal olarak modelin, matematiksel formunun uygunsuzluğu için önemsiz ve regresyon modeli için önemli olması gerekmektedir (Myers and Montgomery, 1995). Her üç yanıt için birinci dereceden model, %99 güven seviyesinde önemli ve model uygunsuzluğu (lack of fit) %95 güven seviyesinde önemsiz çıkmıştır (Çizelge 4.44, 4.45 ve 4.46).

Modellerin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı regresyon katsayısı  $R^2$ , düzeltilmiş regresyon katsayısı ve varyasyon katsayısı (C.V.) hesaplanarak belirlenmiştir. Modellerin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler ve değerleri Çizelge 4.43'te özetlenmiştir. Regresyon katsayısı  $R^2$ , deneysel verideki model tarafından açıklanabilen varyasyonun toplam varyasyona oranı olarak tanımlanmıştır (Myers and Montgomery, 1995; Khuri and Cornell, 1996). Elde edilen modellerin tümünde varyasyonun büyük bir kısmı ( $R^2 > 0.984$ ) modeller tarafından açıklanabilmektedir (Çizelge 4.43).

Ancak modele yeni terimlerin eklenmesi, bu terimler istatistiksel olarak önemsiz olsa da  $R^2$ 'yi her zaman arttırmaktadır. Bu nedenle düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değerlerinin modelin uygunluğunun değerlendirilmesinde kullanılması önerilmektedir (Myers and Montgomery, 1995). Tüm modeller için düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değeri; kuru madde içeriği için 0.966, TFM için 0.999 ve AA için 0.997 olarak hesaplanmış ve kabul edilebilir sınırlar içerisinde çıkmıştır.  $R^2$  ve  $R^2_{adj}$  değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Varyasyon katsayısı deneysel verilerdeki kalıntı varyasyonun ortalamaya bağlı bir ölçüsüdür. Büyük varyasyon katsayısı değerleri, verilerin ortalamadan çok fazla saptıklarını, küçük varyasyon katsayısı değerleri ise verilerin hemen hemen ortalamayla aynı değere sahip olduğunu göstermektedir (Lazić, 2004). Tüm modeller için varyasyon katsayısı (C.V.) değeri; kuru madde içeriği için 8.10, TFM için 2.02 ve AA için 4.50 olarak hesaplanmıştır.

Bir regresyon modelinin daha sonra yapılacak gözlemler için bir tahminleme modeli olarak kullanılabilmesi için ise yeterli tahminleme istatistiği kullanılmaktadır. Yeterli tahminleme değerinin 4'ten büyük olması gerekmektedir (Myers and Montgomery, 1995). Tüm modeller için bu değer 4'ten büyüktür (Çizelge 4.43).

**Çizelge 4.43.** Sığıla kabuğunun geleneksel ekstraksiyonunda modelin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler

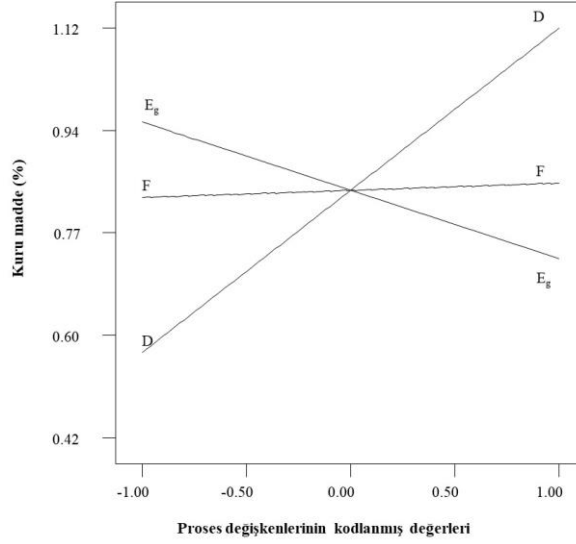
	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg ağırlık)	GAE/g kuru AA (mg troloks/g kuru ağırlık)
<b>R<sup>2</sup></b>	0.984	0.999	0.999
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>	0.966	0.999	0.997
<b>C.V. %</b>	8.100	2.020	4.500
<b>Yeterli tahminleme</b>	24.63	140.7	71.31

#### 4.10.2 Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ekstrakte edilen sığıla kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların kuru madde içerikleri Çizelge 4.42’de verilmiştir. Ekstraktların kuru madde içerikleri, ekstraksiyon çözeltisi içerisinde yer alan su, etanol ve propanol oranlarından istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) seviyede etkilenmektedir (Çizelge 4.44). Ekstraktların kuru madde içerikleri %0.10-%1.30 arasında değişmektedir. En yüksek kuru madde içeriği, etanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %25 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 60 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Buna karşın en düşük kuru madde içeriği, propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %15 katı oranı, 60 °C sıcaklık, 60 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir.

Karışım ve proses değişkenlerinin, sığıla kabuğu ekstraktının kuru madde içeriği üzerine etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen model kullanılarak pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur. Bu grafikler, karışım veya proses değişkenlerinden herhangi birinin deneysel dizaynın merkez, maksimum ve minimum noktasında sabit tutulup, diğer iki değişkenin sonsuz sayıdaki kombinasyonlarını vermektedir.

Karışım değişkenlerinin merkez noktasında olduğu durum (%33 su+%33 etanol+%33 propanol) için, katı oranı, sıcaklık ve sürenin bir fonksiyonu olarak kuru madde içeriklerinin değişimini veren pertürbasyon grafiği Şekil 4.61’de gösterilmiştir. Katı oranının artmasıyla ve sıcaklık değerinin azalması ile birlikte ekstraktların kuru madde içerikleri yükselmektedir. Ekstraksiyon süresinin kuru madde içeriği üzerine önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Karışım değişkenleri orta noktada iken üç proses faktörü kıyaslandığında, kuru madde içeriği üzerine katı oranının etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir.



**Şekil 4.61.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

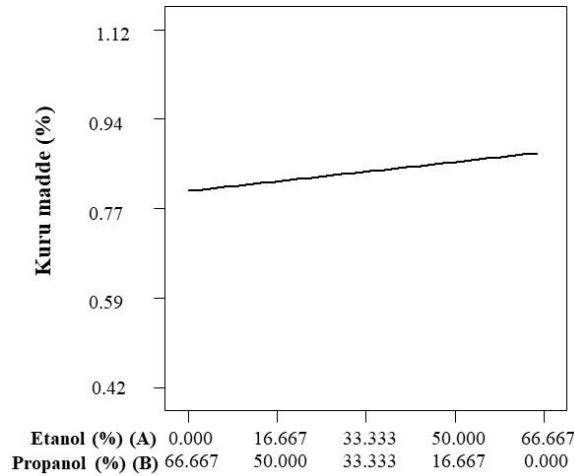
**Çizelge 4.44.** Geleneksel yöntemle üretilen sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	Kuru madde içeriği (%)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	2.66	< 0.0001
Lineer Karışım	2	0.16	0.0005
AD	1	0.19	< 0.0001
AE <sub>g</sub>	1	0.09	0.0011
AF	1	0.01	0.2211
BD	1	0.58	< 0.0001
BE <sub>g</sub>	1	0.22	< 0.0001
BF	1	0.10	0.0008
CD	1	0.66	< 0.0001
CE <sub>g</sub>	1	0.00	0.9374
CF	1	0.15	0.0001
Kalıntı	10	0.04	
Model uygunsuzluğu	5	0.03	0.2837
Saf hata	5	0.02	
Toplam	21	2.71	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre

*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

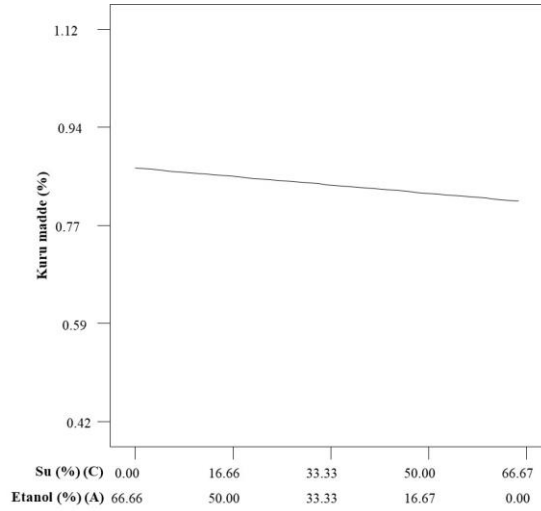
Karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların kuru madde içeriğini etkilediği görülmektedir (Şekil 4.62). Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde su oranının %33.3 olduğu durumda etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte kuru madde içeriğinde artış gözlemlenmiştir. Su oranı merkez noktada iken, etanol oranı maksimum (%66.67) ve propanol oranı minimum olduğunda (%0), kuru madde içeriğinin maksimum olduğu görülmektedir. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak, ortamda su oranının yükselmesiyle birlikte kuru madde içeriğinde düşüş gözlenmiştir.



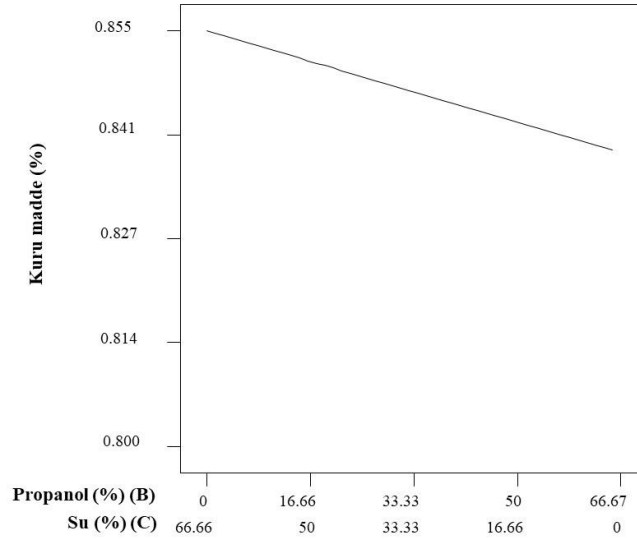
**Şekil 4.62.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde propanol oranının %33.3 olduğu durumda (Şekil 4.63), ekstraktların kuru madde içeriği, etanol oranının yükselmesiyle birlikte artarken, su oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır. Propanol oranı minimum (%0) ve maksimum olduğu noktalarda da benzer durum söz konusudur. Etanol ve su oranından bağımsız olarak, ortamda propanol oranının artması kuru madde içeriğinde azalmaya neden olmuştur.

Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde etanol oranının %33 olduğu durumda, ekstraktların kuru madde içeriği, su oranının yükselmesiyle birlikte artarken, propanol oranının yükselmesiyle birlikte azalmaktadır (Şekil 4.64). Etanol oranı minimum (%0) noktada olduğunda ekstraktların kuru madde içeriği, su oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte yükselmiştir. Bu durum çözücü olarak %100 propanolün kullanılmasının uygun olmadığını göstermektedir. Etanol oranı maksimum olduğunda da aynı durum söz konusudur. Propanol ve su oranından bağımsız olarak etanol oranının artması ekstraktların kuru madde değerinde artış sağlamaktadır.



**Şekil 4.63.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.64.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içerikleri üzerine karışım ve proses değişkenlerinin her ikisinin de etkili olduğu belirlenmiştir. Proses değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde en etkili değişkenin katı oranı olduğu belirlenmiştir. Katı oranının artması ve ekstraksiyon sıcaklığının azalması ekstraktların kuru madde değerinde artış sağlamıştır. Bununla birlikte su, etanol ve propanolün kuru madde içeriği üzerine etkisi incelendiğinde, su ve propanol çözücülerinin tek başına kullanımının uygun olmadığı tespit edilmiştir. Çözücü olarak ortamda etanol bulunduğu durumda, kuru madde içeriği su oranının artmasıyla birlikte yükselirken, propanol oranının artmasına bağlı olarak düşmektedir. Maksimum KM değerine

ulaşmak için çözücü olarak ortamda mutlaka etanol olması gerektiği ve ekstraksiyon işleminin yüksek katı oranı ve düşük sıcaklık değerlerinde gerçekleşmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

#### **4.10.3 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi**

Farklı karışım ve proses koşullarında, D-optimal birleşik deneme dizaynı izlenerek geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 4.42’de verilmiştir. Evaporasyon işleminden sonra elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri 3.08 ile 167.61 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişim göstermiştir. TFM içeriğindeki değişim aralığının oldukça geniş olması farklı karışım oranlarının ve proses koşullarının, sığla kabuğundan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu etkilediğini açıkça göstermektedir. Bununla birlikte, istatistiksel olarak incelendiğinde, ekstraksiyon koşullarının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.45’te verilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin interaksiyonlarının, sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine önemli ölçüde ( $p<0.05$ ) etkili olduğu görülmüştür.

Maksimum TFM içeriği, su ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, proses değişkenlerinden katı oranının %15, ekstraksiyon sıcaklığın 60 °C ve ekstraksiyon süresinin 60 dk olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu noktada katı oranının minimum, sıcaklığın ve sürenin maksimum seviyelerde olduğu görülmektedir. Buna karşın en düşük TFM içeriği etanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %25 katı oranı, 30 °C sıcaklık, 60 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Katı oranı ve sürenin maksimum seviyelerde olduğu bu ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilemediği görülmektedir. Bu durum düşük ekstraksiyon sıcaklığına bağlı olarak açıklanabileceği gibi, kullanılan çözücünün etanol olmasının fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlayamaması ile de açıklanabilir.



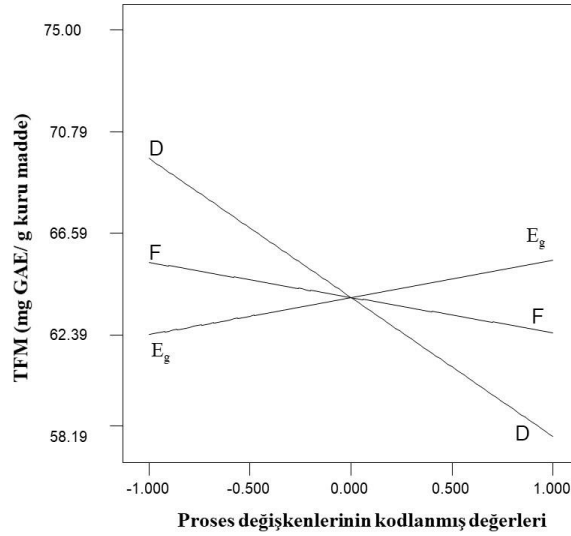
**Çizelge 4.45.** Geleneksel yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	92100.23	< 0.0001
Lineer Karışım	2	90731.05	< 0.0001
AD	1	0.10	0.8488
AE <sub>g</sub>	1	185.17	< 0.0001
AF	1	31.58	0.0054
BD	1	862.70	< 0.0001
BE <sub>g</sub>	1	97.76	< 0.0001
BF	1	14.50	0.0377
CD	1	150.81	< 0.0001
CE <sub>g</sub>	1	54.99	0.0009
CF	1	0.01	0.9610
Kalıntı	10	25.31	
Model uygunsuzluğu	5	12.81	0.4896
Saf hata	5	12.50	
Toplam	21	92125.53	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre

*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Karışım ve proses değişkenlerinin, sığla kabuğu ekstraktının, toplam fenolik madde içeriği üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.65, Şekil 4.66, Şekil 4.67 ve Şekil 4.68). Karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.65). Katı oranı ve ekstraksiyon süresinin azalması ve ekstraksiyon sıcaklığının artmasıyla sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği artmıştır. Proses değişkenleri arasından katı oranının, sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisinin diğer değişkenlere kıyasla daha önemli olduğu görülmektedir.

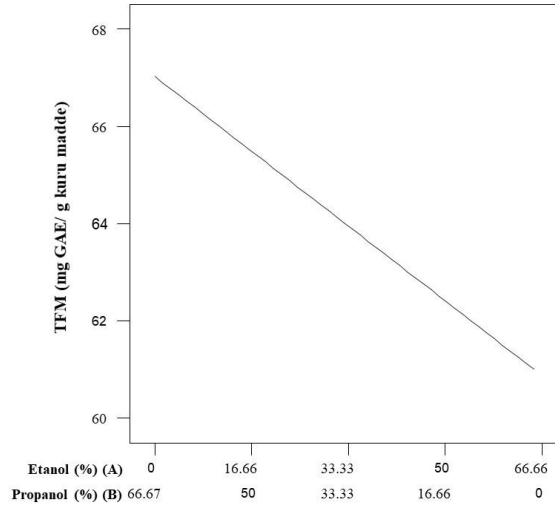


**Şekil 4.65.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

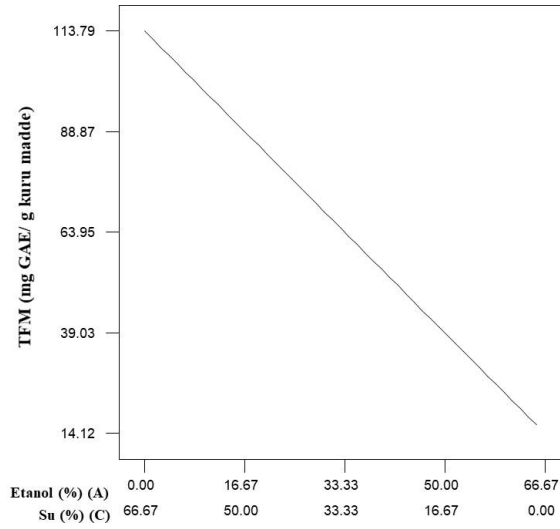
Proses değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafikleri Şekil 4.66, 4.67 ve 4.68’de sunulmuştur.

İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden, etanol-propanol interaksiyonu incelenmiştir (Şekil 4.66). Su oranının orta noktada (%33.3) olduğu bu koşullarda, ekstraksiyon çözeltisinde propanol oranının artması ve etanol oranının düşmesi TFM içeriğini arttırmıştır. Propanol oranının maksimum (%66.6), etanol oranının minimum (%0) olduğu durumda TFM miktarı en fazladır. Su oranı minimum noktada iken (%0) ve maksimum noktada iken (%95) de benzer durum söz konusudur. Ortamda propanol oranının artmasıyla TFM miktarının arttığı saptanmıştır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle TFM değeri belirgin şekilde artmıştır. TFM miktarının maksimum olması için çözücü olarak tek başına etanol veya propanolün yeterli olmadığı, ortamda mutlaka suyun bulunması gerektiği saptanmıştır.

Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksiyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işleminde, su oranının artması ve etanol oranının azalması elde edilen ekstraktların TFM değeri artmaktadır (Şekil 4.67). Bununla birlikte, ortamda propanol çözgeni yer almadığında etanol etkili bir ekstraksiyon sağlayamamaktadır. Propanol oranının maksimum olduğu durumda da benzer şekilde etanol oranının azalması ve su oranının artması ile TFM miktarı artmaktadır. Su ve etanolden bağımsız olarak ortamda propanol miktarının artması TFM miktarının belirgin şekilde azalmasına neden olmaktadır.

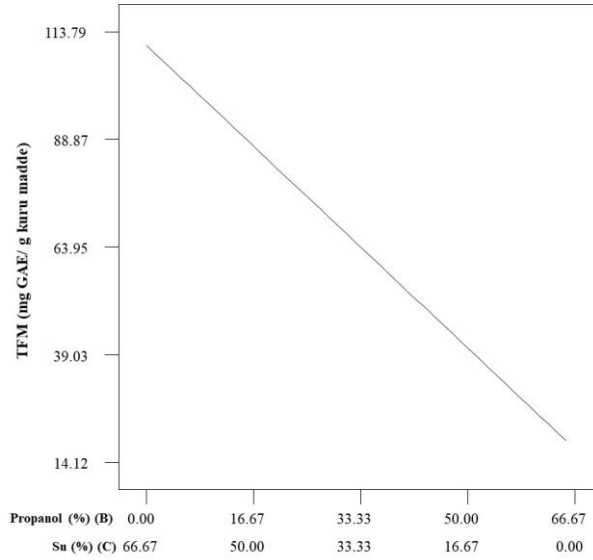


**Şekil 4.66.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.67.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Propanol-su interaksyonu incelendiğinde, su oranının artması ile birlikte ekstraktların TFM içeriği artarken, propanol oranının artması ile birlikte TFM içeriği azalmaktadır (Şekil 4.68). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum ortamda etanolün bulunmaması (%0) ve maksimum oranda bulunması (%95) durumunda da geçerlidir. Su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artması ekstraktların toplam fenolik madde miktarında belirgin bir düşüşe neden olmaktadır.



**Şekil 4.68.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım ve proses değişkenlerinin geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemiye elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine etkisi karşılaştırıldığında, karışım ve proses değişkenlerinin önemli bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Su, etanol ve propanolün TFM içeriği üzerine etkisi incelendiğinde suyun, etanol ve propanole kıyasla daha etkili bir çözücü olduğu saptanmıştır. Dolayısıyla sığla kabuğunda bulunan fenolik maddelerin ekstraksiyonunda, çözücü ortamında mutlaka suyun bulunması gerekmektedir. TFM içeriği açısından, çözücü olarak tek başına suyun kullanılması yeterli olurken yalnız etanol, yalnız propanol veya etanol ve propanol kombinasyonunun kullanımının uygun olmadığı bulgulanmıştır. Karışım değişkenleri incelendiğinde katı oranı ve sürenin azalması ve sıcaklığın artması TFM miktarını artırmaktadır. Bu durumda TFM miktarının en üst seviyede olması için ekstraksiyon işleminin düşük katı oranı ve yüksek sıcaklıkta gerçekleşmesi ve çözücü olarak su kullanılması gerektiği saptanmıştır. Bu şartlarda ekstraksiyon süresinin TFM üzerine önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır.

#### 4.10.4 Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların AA değerleri Çizelge 4.42’de verilmiştir. Ekstraktların AA içerikleri 0.12 ile 22.26 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişmektedir. AA içeriğindeki değişim aralığının oldukça

geniş olması farklı karışım oranlarının ve proses koşullarının, sığla kabuğundan antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin ekstraksiyonunu etkilediğini açıkça göstermektedir. Bununla birlikte, istatistiksel olarak incelendiğinde, koşulların sığla kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.46'da verilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin interaksiyonlarının, sığla kabuğu ekstraktlarının AA içerikleri üzerine önemli ölçüde ( $p < 0.05$ ) etkili olduğu görülmüştür.

Maksimum AA içeriği su ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, proses değişkenlerinden katı oranının %15, sıcaklık değerinin 60 °C ve ekstraksiyon süresinin 60 dk olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu noktada katı oranının minimum, sıcaklık ve sürenin maksimum seviyelerde olduğu görülmektedir. Buna karşın en düşük AA içeriği propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %25 katı oranı, 60 °C sıcaklık, 30 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Katı oranı ve sıcaklık değerlerinin maksimum; diğer proses değişkeni olan ekstraksiyon süresinin minimum seviyelerde olduğu bu ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilemediği görülmektedir. Bu durum kısa ekstraksiyon süresine bağlı olarak antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin yeterince ekstrakte edilemediği ile açıklanabileceği gibi, kullanılan çözücünün propanol olmasının fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlayamaması ile de açıklanabilir.

Karışım ve proses değişkenlerinin, sığla kabuğu ekstraktının, AA miktarı üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.69, Şekil 4.70, Şekil 4.71 ve Şekil 4.72). İlk olarak karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.69). Ekstraksiyon sıcaklığının artmasıyla sığla ekstraktı AA miktarı artmıştır. Buna karşın katı oranının artmasıyla sığla ekstraktı AA miktarı azalmıştır. Ekstraksiyon süresinin ise AA miktarı üzerine önemli bir etkisi olmamıştır.

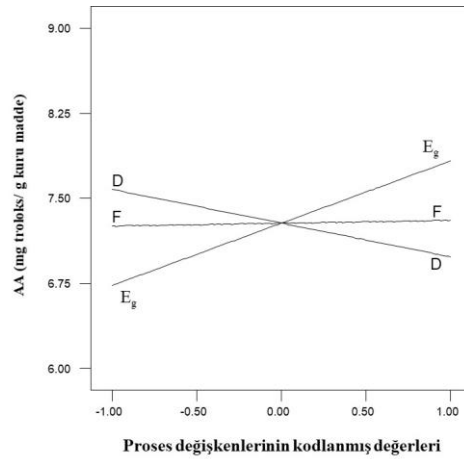
Proses değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların AA içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafikleri Şekil 4.70, 4.71 ve 4.72'de sunulmuştur.

İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden, etanol-propanol interaksiyonu incelenmiştir (Şekil 4.70). Su oranının orta noktada (%33.3) olduğu bu koşulda, ekstraksiyon çözeltilisinde etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi AA miktarını sınırlı düzeyde arttırmıştır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle AA değeri önemli oranda artmıştır.

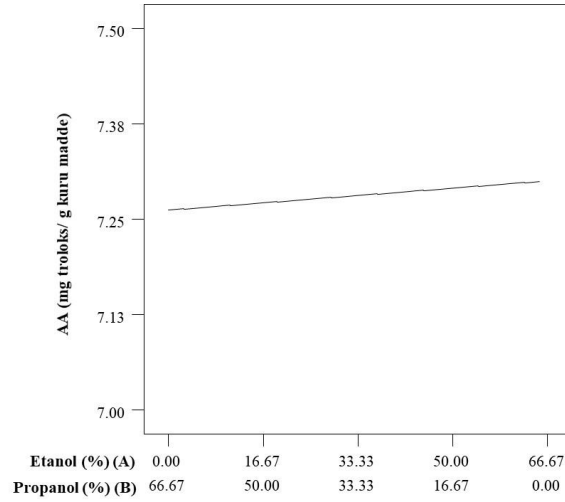
**Çizelge 4.46.** Geleneksel yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

Varyasyon kaynağı	SD	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	1762.19	< 0.0001
Lineer Karışım	2	1744.78	< 0.0001
AD	1	0.53	0.1145
AE <sub>g</sub>	1	0.82	0.0568
AF	1	0.14	0.3920
BD	1	1.01	0.0379
BE <sub>g</sub>	1	0.71	0.0728
BF	1	1.04	0.0351
CD	1	5.19	0.0003
CE <sub>g</sub>	1	5.89	0.0002
CF	1	0.35	0.1887
Kalıntı	10	1.76	
Model uygunsuzluğu	5	0.97	0.4184
Saf hata	5	0.80	
Toplam	21	1763.95	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>g</sub>:Sıcaklık, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

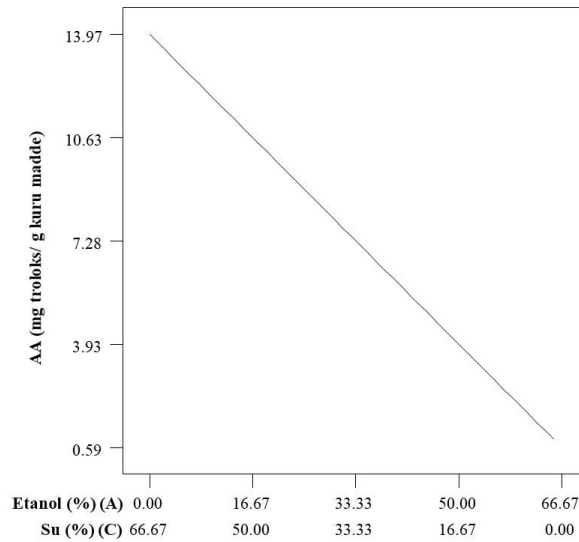


**Şekil 4.69.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, sıcaklık ve sürenin, sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



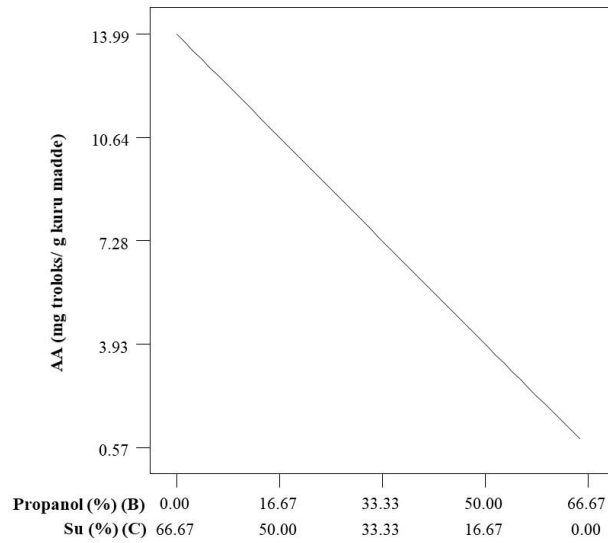
**Şekil 4.70.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sıgla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksiyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işlemi, su oranının artması ve etanol oranının azalması elde edilen ekstraktların AA değeri artmaktadır (Şekil 4.71). Bununla birlikte, propanol çözgeninin hem ortamda yer almadığı durumda (%0) hem de maksimum oranda yer aldığı durumda (%95) benzer durum söz konusudur. Su oranının artması ve etanol oranının azalması elde edilen ekstraktların AA değeri artmaktadır. Ortamdaki su ve etanol oranından bağımsız olarak propanol oranının artışı AA miktarı üzerine olumsuz etki etmiştir.



**Şekil 4.71.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sıgla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Pertürbasyon grafiklerinden propanol-su interaksyonu incelendiğinde, su oranının artması ile birlikte ekstraktların AA içeriği artarken, propanol oranının artması ile birlikte AA miktarı azalmaktadır (Şekil 4.72). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum ortamda etanolün bulunmaması (%0) ve maksimum oranda bulunması (%95) durumunda da geçerlidir. Ayrıca çözücü ortamında yalnız propanolün bulunması antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin ekstraksiyonunda yeterli değildir. Bununla birlikte su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artması ekstraktların toplam AA miktarında önemli miktarda düşüşe neden olmaktadır.



**Şekil 4.72.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, sıcaklık 45 °C ve süre 45 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının AA miktarı üzerine karışım değişkenlerinin etkisi, proses değişkenlerine kıyasla daha fazladır. Proses değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde, AA miktarı üzerine en önemli etki eden değişken sıcaklık olarak belirlenmiştir. Sıcaklığın artması ve katı oranının azalması AA miktarında artış sağlamıştır. İşlem değişkenleri değerlendirildiğinde propanol veya etanol kullanımının AA gösteren bileşiklerin ekstrakte edilmesinde yeterli olmadığı belirlenmiştir. AA gösteren bileşiklerin en iyi şekilde ekstraksiyonu için ortamda mutlaka su bulunması ve ekstraksiyon işleminin düşük katı oranı ve yüksek sıcaklık şartlarında gerçekleşmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu koşullarda ekstraksiyon süresinin AA miktarı üzerine etkisi sınırlıdır.



#### 4.10.5 Antimikrobiyal Aktivite

Tez çalışması kapsamında geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak elde edilen sığla kabuğu ekstraktları, ince film evaporatör kullanılarak konsantre hale getirilmiş ve bu ekstraktların antimikrobiyal potansiyelleri, yaygın olarak gıda zehirlenmesine neden olan *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* olmak üzere üç bakteri suşu kullanılarak değerlendirilmiştir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen bu ekstraktlarının test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde elde edilen zon çapı değerleri Çizelge 4.47’de verilmiştir. Geleneksel yöntemle elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının üç bakteri suşu üzerine de antimikrobiyal etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Kestane ve sedir kabuğu ekstraktlarında antimikrobiyal aktivite gözlemlenirken, sığla kabuğu ekstraktlarında gözlenmemesinin nedeninin sığla kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarının, antioksidan aktivitesinin ve kuru madde miktarının diğer materyallere göre çok daha düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

**Çizelge 4.47.** Geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi

Deneme No	İnhibisyon çapı (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1-22	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

#### 4.10.6 Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile sığla kabuğu ekstraktı üretiminde karışım değişkenleri olarak belirlenen su, etanol ve propanol oranı ile işlem koşulları olarak seçilen katı oranı, sıcaklık ve süre, maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir.

Optimizasyon çalışmasında geleneksel ekstraksiyon proses değişkenleri olan katı oranı %15-25, ekstraksiyon sıcaklığı 30-60 °C ve ekstraksiyon süresi 30-60 dk aralığında ve karışım değişkenleri olarak seçilen su oranı %0-100, etanol oranı %0-100 ve propanol oranı %0-100 aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesinde her bir yanıt için elde edilen lineer modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum nokta için

birbirine yakın 3 çözüm bulunmuştur (Çizelge 4.48). Optimum nokta olarak, programın belirlediği bu çözümlerden, birinci çözümde elde edilen faktör seviyeleri seçilmiştir. Bu noktada faktör seviyeleri, su oranı %100, katı oranı %15, sıcaklık 60 °C ve süre 48.7 dakika olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.48.** Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar

No	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	Desirability
1	0.00	0.00	100	15.00	60	48.7	167.36	22.26	0.999
2	0.00	0.00	100	15.00	60	45.6	167.35	22.30	0.999
3	0.00	0.00	100	24.99	60	42.3	167.35	22.35	0.999

Yapılan tez çalışmasında geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen kestane, sedir ve sığla kabuğu ekstraktlarının ekstraksiyon koşulları incelendiğinde yüksek sıcaklığın ön plana çıktığı görülmektedir. Geleneksel ekstraksiyon yönteminde, optimum ekstraksiyon koşulları incelendiğinde, sıcaklık değerinin kestane ve sığla için 60 °C, sedir için ise 57 °C olduğu görülmektedir. 30-60 °C olarak belirlenen sıcaklık sınır koşulu değerlendirildiğinde, bu sıcaklıkların sıcaklık üst sınırına eşit veya yakın olduğu görülmektedir.

Fernández-Agulló vd. (2015), biyoaktif bileşiklerin, okaliptüs ağacı endüstriyel atıklarından geri kazanılması üzerine yaptıkları çalışmada, ekstraksiyon tekniğinin etkisini araştırmışlardır. Maserasyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) olmak üzere iki farklı ekstraksiyon tekniğinin kullanıldığı çalışmada, geleneksel yöntemde, çözücü (su, MeOH, EtOH, %50 MeOH ve %50 EtOH), sıcaklık (50 ve 70°C) ve parçacık boyutunun (öğütülmüş veya öğütülmemiş materyal) ekstraksiyon verimi ve ekstrakt özellikleri (toplam fenol içeriği (TFM) ve FRAP, DPPH ve ABTS antioksidan aktiviteleri) üzerindeki etkisi analiz edilmiştir. Ekstraksiyon verimi, sıcaklığın yükselmesi artış göstermiştir. MAE ekstraksiyon yönteminde, sıcaklığın (50-70°C), sıvı-katı oranının (5:1-10:1 mL/g) ve sürenin (5-15 dk) ekstraksiyon verimi ve ekstrakt özellikleri üzerine etkisini incelemek için deneme deseni 33 faktöriyel tasarıma göre planlanmıştır. Seçilen optimum koşullar sıcaklık, sıvı-katı oranı ve süre için sırasıyla 65 °C, 8.8:1 (mL/g) ve 10 dk olarak belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada belirlenen

optimum koşullar değerlendirildiğinde sıcaklık değerinin (65 °C), tez çalışmasında optimum koşullarda belirlenen sıcaklık değerlerine (57 ve 60 °C) yakın olduğu belirlenmiştir.

Katı sıvı ekstraksiyon, katı bir maddenin bileşenlerinden birinin veya bir kısmının uygun bir çözücü kullanarak elde edilmesi prensibine dayanır. Katı sıvı ekstraksiyon işleminde verim; çözücü türü, katı sıvı oranları, partikül boyutu, sıcaklık, pH, ve süre gibi faktörlerden etkilenmektedir (İlbay, 2016). Kestane ve sığla kabuğunun geleneksel yöntemle optimum ekstraksiyon koşullarda üretiminde çözücü olarak su ön plana çıkarken, sedir kabuğunda propanol-etanol karışımı ön plana çıkmıştır.

Tez çalışmasında optimum nokta sonuçlarının doğrulanması, belirlenen matematiksel optimum noktada; etanol oranı su oranı %100, katı oranı %15, sıcaklık 60 °C ve süre 49 dakika su banyosunda ekstraksiyon işlemi ve ardından evaporasyon işlemi ile ekstrakt üretimi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 5 doğrulama denemesi sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahminlenen değerler Çizelge 4.49'da verilmiştir.

**Çizelge 4.49.** Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	0.46	168.68	21.93
2	0.47	169.03	22.08
3	0.57	167.80	22.29
4	0.60	167.90	22.66
5	0.65	164.24	22.16
<b>Ortalama</b>	0.55	167.53	22.22
<b>Modelden Tahminlenen</b>	0.58	167.36	22.26

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t*-testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *t*-testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *t*-testi sonuçları Çizelge 4.50'de görülmektedir.

**Çizelge 4.50.** Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer <sup>a</sup>	SH <sup>b</sup>	Fark	% Hata <sup>c</sup>	<i>p</i> -değeri
Kuru madde içeriği (%)	0.58	0.55±0.07	0.04	0.03	5.27	0.491
TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	167.36	167.53±1.71	0.85	0.17	0.10	0.852
AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	22.26	22.22±0.25	0.12	0.04	0.16	0.785

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir

b Ortalama standart hata

c % Hata =  $(|yden - ytah|/yden) \times 100$

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen sığla kabuğu ekstaktı analiz sonuçlarına göre KM miktarı, TFM miktarı ve AA değeri modelden tahminlenen değerlere oldukça yakın olup, istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ ).

#### **4.11 Ultrasonik Ekstraksiyon Yönteminde Karışım ve İşlem Değişkenlerinin Sığla Kabuğu Ekstraktlarının Özellikleri Üzerine Etkisi**

Karışım (su, etanol ve propanol oranı) ve proses (katı oranı, amplitüd ve süre) değişkenlerinin ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerleri üzerine etkileri incelenmiştir. Hazırlanan karışımlardaki su, etanol ve propanol oranı sırasıyla %0 ile %100 arasında değişmektedir. D-Optimal Birleşik Dizayn deneme desenine göre hazırlanan ve proses koşullarını oluşturan katı oranı, amplitüd ve süre ise sırası ile %15-25, %50-80 ve 15-45 dk arasında değişmektedir. Tasarlanan deneme planı ve elde edilen deneysel yanıtlar sırası ile Çizelge 3.7 ve Çizelge 4.51’de verilmiştir.

**Çizelge 4.51.** Sığla kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan D-Optimal Birleşik Dizayn deneme planı izlenerek elde edilen deneysel sonuçlar

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	0.28±0.01	233.68±0.00	11.50±0.01
2	0.17±0.00	101.22±0.18	14.34±0.01
3	0.05±0.00	247.42±0.00	37.49±0.19
4	0.91±0.04	6.27±0.00	0.21±0.00
5	1.03±0.02	27.56±0.06	0.21±0.00
6	0.89±0.00	6.60±0.00	0.32±0.00
7	0.03±0.01	291.42±1.16	23.84±0.00
8	0.83±0.00	6.52±0.00	0.56±0.00
9	1.54±0.08	29.84±0.00	0.45±0.00
10	1.38±0.04	17.17±0.03	0.90±0.00
11	1.25±0.00	6.59±0.01	0.25±0.00
12	0.44±0.01	23.19±0.03	0.39±0.00
13	0.72±0.01	99.23±0.00	9.71±0.03
14	0.80±0.01	63.22±0.23	4.79±0.01
15	0.55±0.00	75.56±0.42	13.82±0.00
16	1.13±0.03	69.75±0.00	8.14±0.00
17	1.04±0.01	56.55±0.08	3.47±0.00
18	0.42±0.02	200.73±0.00	8.44±0.03
19	0.21±0.00	113.66±0.14	11.25±0.01
20	0.07±0.01	217.33±0.46	36.54±0.02
21	0.04±0.00	276.63±0.00	27.17±0.00
22	1.08±0.03	7.74±0.00	0.21±0.00

#### 4.11.1 Modelin Oluşturulması

Modellerin deneysel veriyi ne ölçüde karşıladığı regresyon katsayısı  $R^2$ , düzeltilmiş regresyon katsayısı ve varyasyon katsayısı ile açıklanmaktadır. Modellerin uygunluğunun test edilmesi için kullanılan istatistikler ve değerleri, Çizelge 4.52’de verilmiştir. Modellerin regresyon katsayısı, KM, TFM ve AA için sırasıyla 0.992, 0.991 ve 0.989 olarak belirlenmiştir. Bu değerler 1.0 değerine oldukça yakın olup, varyansın büyük bir kısmının modeldeki bağımsız değişkenler ile açıklandığı görülmektedir. Bununla birlikte, düzeltilmiş regresyon katsayısı  $R^2_{adj}$  değerleri incelendiğinde kuru madde içeriği için 0.983, TFM için 0.982 ve AA için 0.977 olarak belirlenmiştir.  $R^2$  ve  $R^2_{adj}$  değerlerinin birbirlerine yakın olması modellerin istatistiksel olarak önemsiz terimleri içermediğini göstermektedir. Modeller için varyasyon katsayısı (C.V.) değeri; kuru madde içeriği için 8.99, TFM için 13.03 ve AA için 18.29 olarak bulgulanmıştır ve düşük varyasyon katsayısı değerleri kabul edilebilir olduğunu göstermiştir. Son olarak, yeterli tahminleme değerleri tüm yanıtlar için 4’ten büyük olduğu görülmektedir (Çizelge 4.52).

**Çizelge 4.52.** Ultrasonik ekstraksiyon yönteminde modellerin uygunluğunun test edilmesinde değerlendirilen istatistikler

	<b>Kuru madde içeriği (%)</b>	<b>TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)</b>	<b>AA (mg troloks/g kuru ağırlık)</b>
<b>R<sup>2</sup></b>	0.992	0.991	0.989
<b>R<sup>2</sup><sub>adj</sub></b>	0.983	0.982	0.977
<b>C.V. %</b>	8.990	13.03	18.29
<b>Yeterli tahminleme</b>	34.08	29.40	27.98

Elde edilen sonuçların model uyumluluğu, Design Expert programında ANOVA analizi ile belirlenmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon için de geleneksel ekstraksiyona benzer şekilde regresyon analizi yapılarak işlem ve proses değişkenleri ile her bir yanıt arasındaki ilişkiyi ifade eden model oluşturulmuştur. Kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite tahminlenmesi için en uygun model tipi, üç yanıt için de lineer model olmak üzere birinci dereceden modellerdir. Ekstraktların kuru madde içeriği, toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite değerlerine ait ANOVA analizi sonuçları sırasıyla Çizelge 4.53, 4.54 ve 4.55'te verilmiştir. Her üç yanıt için birinci dereceden model, %99 güven seviyesinde önemli ve model uygunsuzluğu (lack of fit) %95 güven seviyesinde önemsiz bulunmuştur.

#### **4.11.2 Kuru Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi**

Farklı karışım ve proses koşullarında ekstrakte edilen sıgla kabuğu ekstraktlarının evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların kuru madde içerikleri Çizelge 4.51'de verilmiştir. Ekstraktların kuru madde içerikleri, ekstraksiyon çözeltisi içerisinde yer alan su, etanol ve propanol oranlarından istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) seviyede etkilenmektedir (Çizelge 4.53). Kuru madde içeriği %0.03-%1.54 arasında olup geniş bir değişim aralığı göstermektedir.

Maksimum kuru madde içeriği, etanol ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, proses değişkenlerinden katı oranının %25, amplitüd değerinin %80, ekstraksiyon süresinin 15 dk olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu noktada katı oranı ve amplitüd değerlerinin maksimum, sürenin ise minimum seviyelerde olduğu görülmektedir. Buna karşın en düşük kuru madde miktarı su ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %15 katı oranı, %50 amplitüd, 15 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Katı oranı, amplitüd ve sürenin minimum seviyelerde olduğu bu ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilemediği görülmektedir. Bu durum düşük seviyelerdeki proses koşullarına bağlı olarak

açıklanabileceği gibi, kullanılan çözücünün su olmasının kuru maddeye etki eden çeşitli bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlayamaması ile de açıklanabilir.

**Çizelge 4.53.** Ultrasonik yöntemle üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

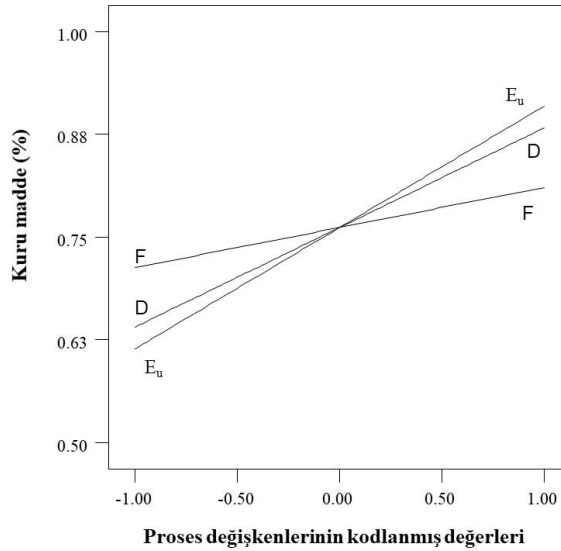
Varyasyon kaynağı	SD	Kuru madde içeriği (%)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	4.66	< 0.0001
Lineer Karışım	2	3.84	< 0.0001
AD	1	0.20	< 0.0001
AE <sub>u</sub>	1	0.10	0.0004
AF	1	0.02	0.0624
BD	1	0.05	0.0033
BE <sub>u</sub>	1	0.16	< 0.0001
BF	1	0.07	0,0013
CD	1	0.02	0.0490
CE <sub>u</sub>	1	0.11	0.0003
CF	1	0.01	0.1248
Kalıntı	10	0.04	
Model uygunsuzluğu	5	0.01	0.8094
Saf hata	5	0.03	
Toplam	21	4.70	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

Karışım ve proses değişkenlerinin, ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkilerinin görsel olarak kolayca belirlenebilmesi için, elde edilen model kullanılarak pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.73, Şekil 4.74, Şekil 4.75 ve Şekil 4.76).

Karışım değişkenlerinin merkez noktasında olduğu durum (%33 su+%33 etanol+%33 propanol) için, katı oranı, amplitüd ve sürenin bir fonksiyonu olarak kuru madde içeriklerinin değişimini veren pertürbasyon grafiği Şekil 4.73'te gösterilmiştir. Katı oranı, amplitüd ve süre artışının ekstraktların kuru madde içerikleri üzerine olumlu etkiye sahip oldukları gözlenmiştir. Katı oranı, amplitüd ve ekstraksiyon süresinin artmasıyla birlikte kuru madde içerikleri

yükselmektedir. Karışım değişkenleri orta noktada iken üç proses faktörü kıyaslandığında, kuru madde içeriği üzerine amplitüd değerinin etkisinin daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

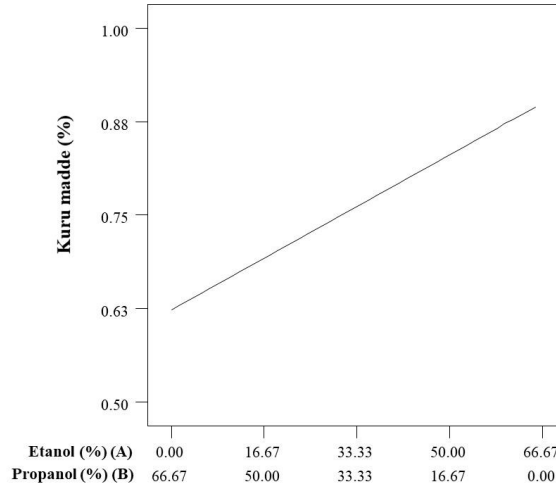


**Şekil 4.73.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sığla kabuğunun ultrasonik ekstraksiyonunda kullanılan kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

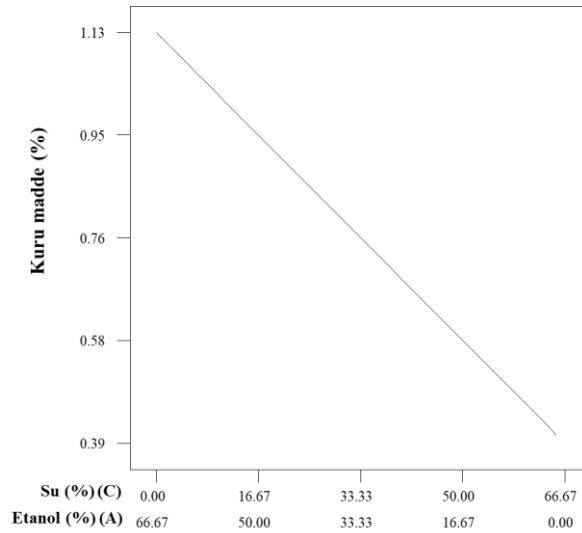
Karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların kuru madde içeriğini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilediği görülmektedir (Şekil 4.74). Ekstraksiyon çözeltisi içerisinde su oranının %33.3 olduğu durumda etanol oranının artması ve propanol oranının düşmesi ile birlikte kuru madde içeriğinde artış gözlemlenmiştir. Su oranı merkez noktada iken, etanol oranı maksimum (%66.67) ve propanol oranı minimum olduğunda (%0), kuru madde içeriğinin maksimum olduğu görülmektedir. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak, ortamda su oranının yükselmesiyle birlikte kuru madde içeriğinde düşüş gözlemlenmiştir.

Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksiyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işleminde, etanol oranının artması ve su oranının azalması elde edilen ekstraktların kuru madde değerinin artırmaktadır (Şekil 4.75). Bununla birlikte, ortamda propanol çözgeni yer almadığında su etkili bir ekstraksiyon sağlayamamaktadır. Etanol ve su oranından bağımsız olarak, ortamda propanol oranının yükselmesiyle birlikte kuru madde içeriğinde düşüş gözlemlenmiştir.



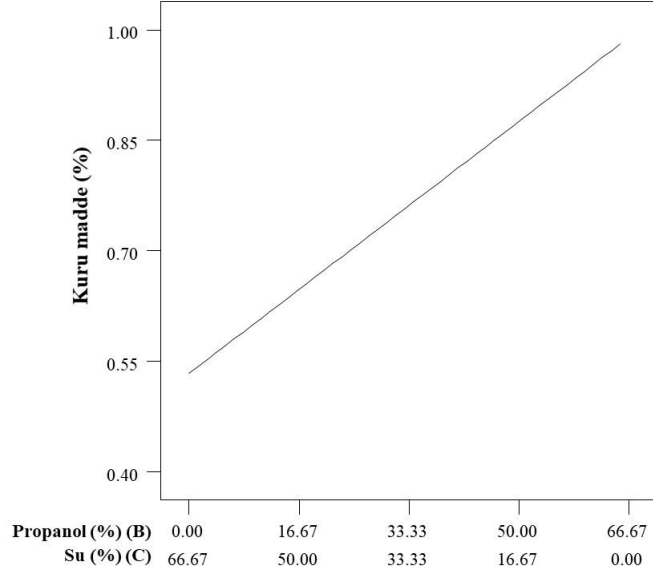


**Şekil 4.74.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



**Şekil 4.75.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Pertürbasyon grafiklerinden propanol-su interaksiyonu incelendiğinde, su oranının artması ile birlikte ekstraktların kuru madde içeriği azalırken, propanol oranının artması ile birlikte kuru madde içeriği artmaktadır (Şekil 4.76). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum ortamda etanolün bulunmaması (%0) ve maksimum oranda bulunması (%95) durumunda da geçerlidir. Su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artması ekstratların kuru madde miktarında artış sağlamaktadır.



**Şekil 4.76.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile üretilen sıgla kabuğu ekstraktlarının kuru madde değerleri üzerine karışım ve proses değişkenlerinin etkisi vardır. Proses değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde, katı oranı, amplitüd ve sürenin artması ile ekstraktın kuru madde içeriğinin arttığı belirlenmiştir. Karışım değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde ekstraksiyon işleminde suyun ve propanolün çözücü olarak tek başına kullanımının yeterli olmadığı belirlenmiştir. Kuru madde miktarının maksimum olması için katı oranı ve amplitüd değerlerinin yüksek olduğu, çözücü olarak etanolün kullanıldığı ekstraksiyon işleminin uygun olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda ekstraksiyon süresinin değişmesinin KM miktarı üzerine önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.

Sıgla kabuğu ekstraktlarının geleneksel ve ultrasonik yöntemle ekstraksiyonunda, her iki ekstraksiyon yönteminde de maksimum kuru madde değerleri, çözücü olarak %100 etanol kullanılığında gözlenmiştir.

#### 4.11.3 Toplam Fenolik Madde İçeriğinin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sıgla kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri Çizelge 4.51’de verilmiştir. Ekstraktların TFM içerikleri 6.27 ile 291.42 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişmektedir. TFM içeriğindeki değişim aralığının oldukça geniş olması farklı karışım oranlarının ve proses koşullarının, sıgla kabuğundan fenolik

bileşiklerin ekstraksiyonunu etkilediğini açıkça göstermektedir. Bununla birlikte, istatistiksel olarak incelendiğinde, koşulların sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.54'te verilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin interaksiyonlarının, sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine önemli ölçüde ( $p<0.05$ ) etkili olduğu görülmüştür.

Maksimum TFM içeriği su ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, proses değişkenlerinden katı oranının %15, amplitüd değerinin %50 ve ekstraksiyon süresinin 15 dk olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu noktada katı oranının, amplitüd değerinin ve sürenin minimum seviyelerde olduğu görülmektedir. Buna karşın en düşük TFM içeriği propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %25 katı oranı, %80 amplitüd, 15 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Katı oranı ve amplitüd değerinin maksimum, sürenin minimum seviyelerde olduğu bu ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilemediği görülmektedir. Bu durum yüksek katı oranı ve amplitüd değerine bağlı olarak artan sıcaklığın fenolik bileşikler üzerine etkisi ile açıklanabileceği gibi, kullanılan çözücünün propanol olmasının fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlayamaması ile de açıklanabilir.

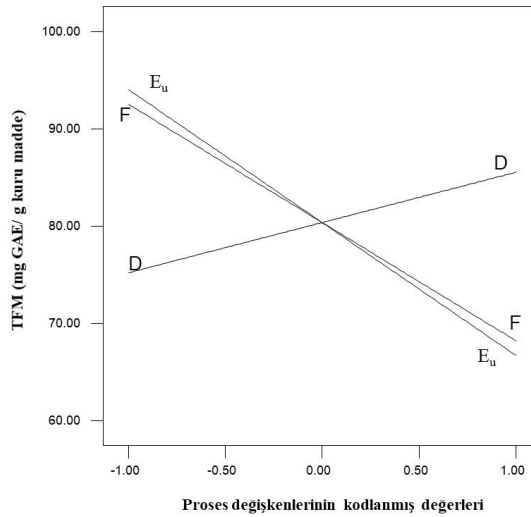
Karışım ve proses değişkenlerinin, sığla kabuğu ekstraktının, toplam fenolik madde içeriği üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.77, Şekil 4.78, Şekil 4.79 ve Şekil 4.80). Karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.77). Amplitüd değerinin ve ekstraksiyon süresinin azalmasıyla sığla kabuğu ekstraktı TFM içeriği artmıştır. Proses değişkenleri arasından katı oranının artmasıyla sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği artmıştır.

Proses değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, karışım değişkenlerinden su, etanol ve propanol oranı interaksiyonunun, ekstraktların TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafikleri Şekil 4.78, 4.79 ve 4.80'de sunulmuştur.

**Çizelge 4.54.** Ultrasonik yöntemle üretilen sığıla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

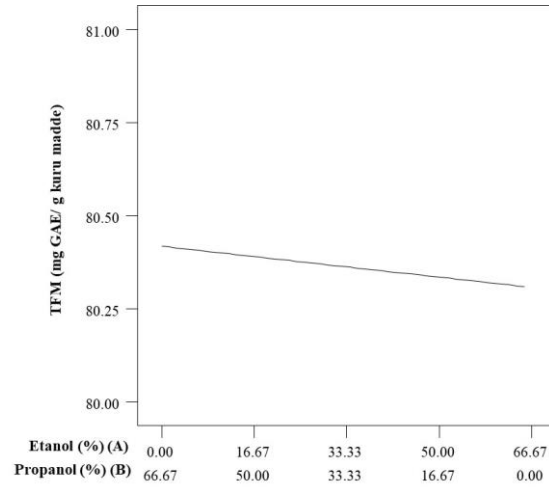
Varyasyon kaynağı	SD	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	202100.00	< 0.0001
Lineer Karışım	2	167400.00	< 0.0001
AD	1	376.73	0.1638
AE <sub>u</sub>	1	79.68	0.5053
AF	1	1.19	0.9344
BD	1	342.70	0.1823
BE <sub>u</sub>	1	30.14	0.6798
BF	1	58.46	0.5670
CD	1	1771.60	0.0086
CE <sub>u</sub>	1	19100.55	< 0.0001
CF	1	12999.14	< 0.0001
Kalıntı	10	1668.58	
Model uygunsuzluğu	5	525.14	0.7934
Saf hata	5	1143.44	
Toplam	21	203800.00	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre  
*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli



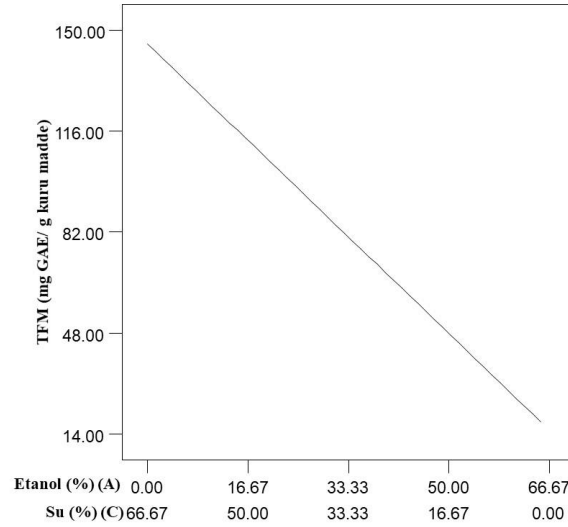
**Şekil 4.77.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sığıla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden, etanol-propanol interaksyonu incelenmiştir (Şekil 4.78). Su oranının orta noktada (%33.3) olduğu bu koşullarda, ekstraksiyon çözeltisinde propanol oranının artması ve etanol oranının düşmesi TFM miktarını sınırlı düzeyde arttırmıştır. Propanol oranının maksimum (%66.6), etanol oranının minimum (%0) olduğu durumda TFM miktarı en fazladır. Su oranının minimum (%0) ve maksimum (%95) oranda iken, etanol ve propanol oranının değişmesi TFM içeriğinde önemli bir değişiklik meydana getirmemiştir. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle TFM değeri oldukça belirgin şekilde artmıştır.



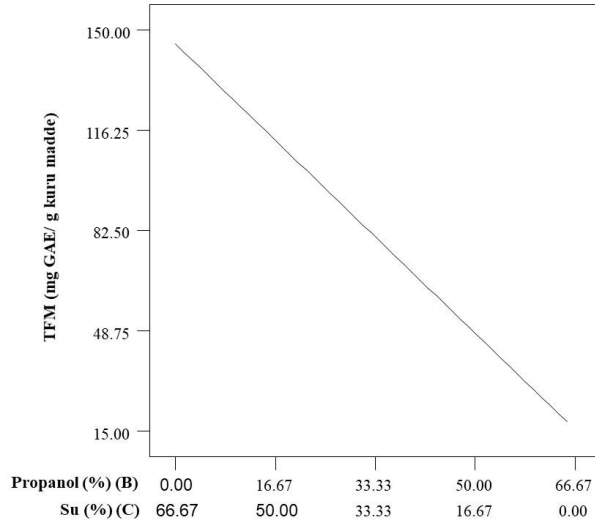
**Şekil 4.78.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işleminde, su oranının artması ve etanol oranının azalması elde edilen ekstraktların TFM değeri artmaktadır (Şekil 4.79). Bununla birlikte, ortamda propanol çözgeni yer almadığında etanol etkili bir ekstraksiyon sağlayamamaktadır. Propanol oranının maksimum olduğu durumda ise su oranının artması ve etanol oranının azalması ile TFM miktarı artmaktadır. Su ve etanolden bağımsız olarak ortamda propanol miktarının artması TFM miktarının belirgin şekilde azalmasına neden olmaktadır.



**Şekil 4.79.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Pertürbasyon grafiklerinden propanol-su interaksyonu incelendiğinde, su oranının artması ile birlikte ekstraktların TFM miktarı artarken, propanol oranının artması ile birlikte TFM miktarı azalmaktadır (Şekil 4.80). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum ortamda etanolün bulunmaması (%0) ve maksimum oranda bulunması (%95) durumunda da geçerlidir. Ayrıca çözücü olarak etanolün bulunmadığı durumda, fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda propanol tek başına etkili değildir. Su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artması ekstratların toplam fenolik made miktarında belirgin bir düşüşe neden olmaktadır.



**Şekil 4.80.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sıgla kabuğu ekstraktlarının TFM içeriği üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sıgla kabuğu ekstraktlarının TFM içerikleri üzerine hem karışım hem de proses değişkenlerinin önemli bir etkiye sahip olduğu bulgulanmıştır. Proses koşullarından bağımsız olarak TFM içeriği, suyun çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde %101.22-291.41 mg GAE/g kuru ağırlık, etanolün çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde %6.51-29.84 mg GAE/g kuru ağırlık ve propanolün çözücü olarak kullanıldığı sistemlerde ise %6.26-27.56 mg GAE/g kuru ağırlık değerleri arasında değişim göstermiştir. Su, etanol ve propanolün TFM içeriği üzerine etkisi incelendiğinde suyun çok daha etkili olduğu saptanmıştır. Su olmadan etanol ve propanol tek başına ya da karışım halinde kullanıldıklarında TFM miktarı düşüktür. Dolayısıyla sıgla kabuklarında bulunan fenolik maddelerin ekstraksiyonunda, çözücü ortamında mutlaka suyun bulunması gerekmektedir. Karışım ve proses faktörlerinin etkisi bir arada değerlendirildiğinde, ekstraktların TFM miktarı üzerine karışım değişkenlerinin daha etkili olduğu belirlenmiştir. Proses faktörlerinden ekstraksiyon süresi ve amplitüd değerinin minimum olduğu ve katı oranının merkez noktada olduğu koşullarda, su oranının artmasıyla birlikte TFM içeriği artış göstermiş ve ortamda su oranının maksimum olduğu durumda en yüksek değerine ulaşmıştır. Bununla birlikte katı oranının değiştirilmesinin TFM içeriği üzerindeki etkisi sınırlı düzeydedir. Ekstraksiyon süresi ve amplitüd değerlerinin minimum ve çözücü olarak su kullanıldığı koşullarda maksimum TFM içeriği elde edilmiştir.

Sıgla kabuğu ekstraktlarının geleneksel ve ultrasonik yöntemle ekstraksiyonunda, her iki ekstraksiyon yönteminde de maksimum TFM miktarına sahip ekstraktların, çözücü olarak %100 su kullanılığında elde edildiği gözlenmiştir.

#### 4.11.4 Antioksidan Aktivitenin Modelin Yanıtı Olarak İncelenmesi

Farklı karışım ve proses koşullarında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sıgla kabuğu ekstraktlarının, evaporasyon işlemine tabi tutulmasıyla elde edilen ekstraktların AA değerleri Çizelge 4.51’de verilmiştir. Ekstraktların AA içerikleri 0.21 ile 37.49 mg GAE/g kuru ağırlık arasında değişmektedir. AA içeriğindeki değişim aralığının geniş olması farklı karışım oranlarının ve proses koşullarının, sıgla kabuğundan antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin ekstraksiyonunu etkilediğini açıkça göstermektedir. Bununla birlikte, istatistiksel olarak incelendiğinde, koşulların sıgla kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine etkisini gösteren ANOVA tablosu Çizelge 4.55’te verilmiştir. Karışım ve proses değişkenlerinin interaksiyonlarının, sıgla kabuğu ekstraktlarının AA içerikleri üzerine önemli ölçüde ( $p<0.05$ ) etkili olduğu görülmüştür.

Maksimum AA içeriği su ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde, proses değişkenlerinden katı oranının %25, amplitüd değerinin %50 ve ekstraksiyon süresinin 45 dk olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu noktada amplitüd değeri minimum, katı oranı ve sürenin maksimum seviyelerde olduğu görülmektedir. Buna karşın en düşük AA içeriği propanol ile gerçekleştirilen ve proses koşullarının %15 katı oranı, %80 amplitüd, 45 dk süre olduğu ekstraksiyon denemesinde elde edilmiştir. Ekstraksiyon süresi ve amplitüd değerlerinin maksimum; diğer proses değişkeni olan katı oranının minimum seviyelerde olduğu bu ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin etkili bir şekilde ekstrakte edilemediği görülmektedir. Bu durum uzun ekstraksiyon süresi ve yüksek amplitüd değerine bağlı olarak artan sıcaklığın antioksidan aktivite gösteren bileşikler üzerine olumsuz etkisi ile açıklanabileceği gibi, kullanılan çözücünün propanol olmasının antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin ekstraksiyonunu yeterince sağlayamaması ile de açıklanabilir.

Karışım ve proses değişkenlerinin, sıgla kabuğu ekstraktının, AA miktarı üzerine etkilerinin belirlenebilmesi için pertürbasyon grafikleri oluşturulmuştur (Şekil 4.81, Şekil 4.82, Şekil 4.83 ve Şekil 4.84).

İlk olarak karışım değişkenlerinin orta noktada olduğu koşullarda, proses koşullarının etkisi incelenmiştir (Şekil 4.81). Ekstraksiyon süresinin ve katı oranının artmasıyla sıgla ekstraktı AA miktarı artmıştır. Buna karşın amplitüd değerinin artması AA değerinde azalmaya



neden olmuştur. Proses değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde amplitüd değerinin AA değeri üzerine etkisi, katı oranı ve ekstraksiyon süresine kıyasla daha belirgindir.

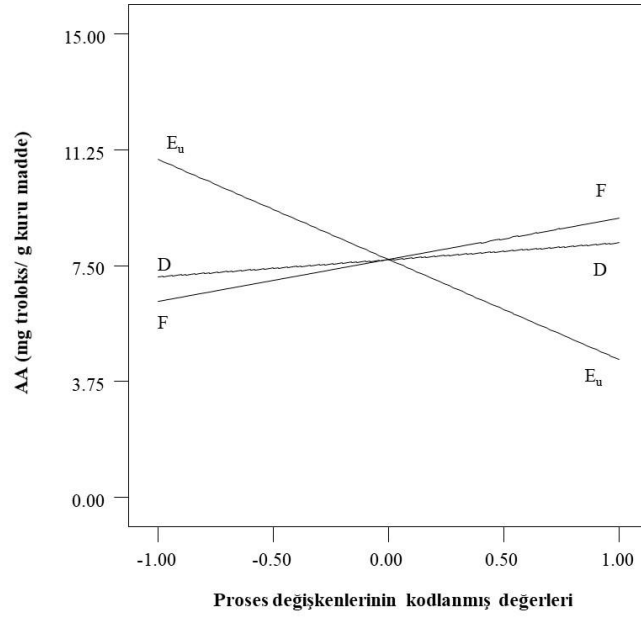
İki bileşenli karışım pertürbasyon grafiklerinden, etanol-propanol interaksiyonu incelenmiştir (Şekil 4.82). Su oranının orta noktada (%33.3) olduğu bu koşullarda, ekstraksiyon çözeltisinde etanol-propanol oranlarının değişmesinin AA değeri üzerine önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Etanol oranının maksimum (%66.6), propanol oranının minimum (%0) olduğu durumda AA değeri daha fazladır. Etanol ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda su oranının yükselmesiyle AA değeri belirgin şekilde artmıştır.

**Çizelge 4.55.** Ultrasonik yöntemle üretilen sıgla kabuğu ekstraktlarının AA içeriği üzerine karışım ve proses koşullarının etkisini gösteren ANOVA tablosu

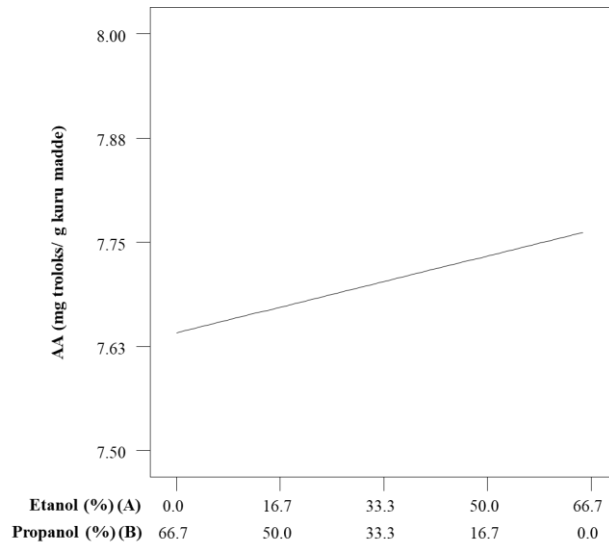
Varyasyon kaynağı	SD	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	
		Hata kareler toplamı	<i>p</i> -değeri
Model	11	2857.50	< 0.0001
Lineer Karışım	2	1890.61	< 0.0001
AD	1	0.05	0.8996
AE <sub>u</sub>	1	0.00	0.9921
AF	1	0.19	0.8135
BD	1	0.41	0.7264
BE <sub>u</sub>	1	0.05	0.9038
BF	1	0.16	0.8250
CD	1	35.12	0.0076
CE <sub>u</sub>	1	809.85	< 0.0001
CF	1	112.59	0.0001
Kalıntı	10	31.66	
Model uygunsuzluğu	5	16.17	0.4818
Saf hata	5	15.49	
Toplam	21	2889.16	

A:Etanol, B:Propanol, C:Su, D:Katı oranı, E<sub>u</sub>:Amplitüd, F:Süre

*p*<0.05 seviyesinde istatistiksel olarak önemli

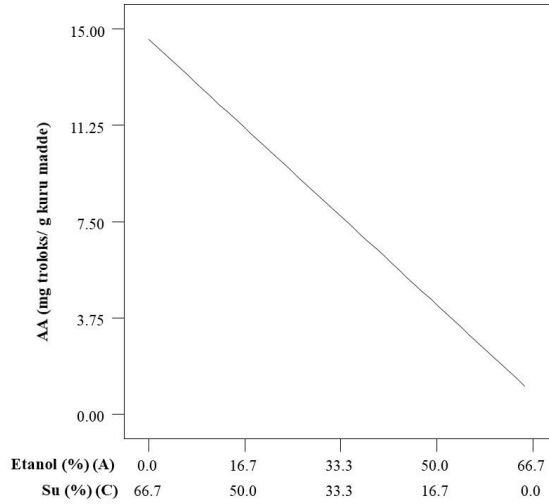


**Şekil 4.81.** Karışım değişkenleri orta noktada iken (%33.3 su + %33.3 etanol + %33.3 propanol) katı oranı, amplitüd ve sürenin, sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine lineer etkisini gösteren pertürbasyon grafiği



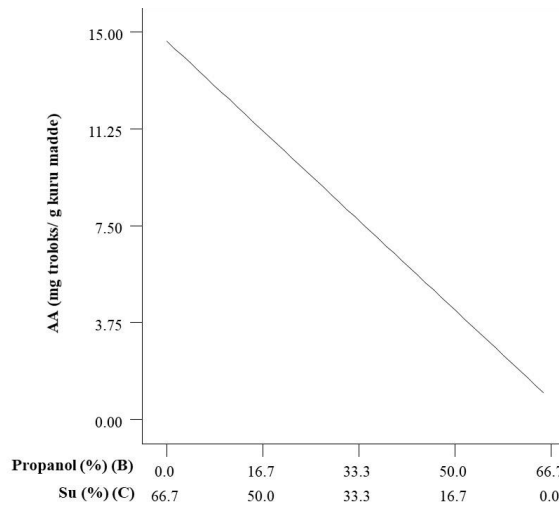
**Şekil 4.82.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve su oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Karışım değişkenlerinden su-etanol interaksiyonu incelendiğinde ise ortamda propanol varlığında (%33.3), ekstraksiyon işleminde, su oranının artması ve etanol oranının azalması elde edilen ekstraktların AA değeri artmaktadır (Şekil 4.83). Bununla birlikte, propanol çözgeninin hem ortamda yer almadığı durumda hem de maksimum oranda yer aldığı durumda aynı durum söz konusudur. Etanol ve su oranından bağımsız olarak, ortamda propanol oranının artışı AA miktarı üzerine önemli miktarda düşüşe neden olmaktadır.



**Şekil 4.83.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve propanol oranı orta noktada (%33.3) iken etanol ve su oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Pertürbasyon grafiklerinden propanol-su interaksiyonu incelendiğinde, su oranının artması ile birlikte ekstraktların AA değeri artarken, propanol oranının artması ile birlikte AA değeri azalmaktadır (Şekil 4.84). Etanol varlığında (%33.3) geçerli olan bu durum ortamda etanolün bulunmaması (%0) ve maksimum oranda bulunması (%95) durumunda da geçerlidir. Bununla birlikte su ve propanol oranından bağımsız olarak ortamda etanol oranının artması ekstraktların toplam AA miktarında önemli miktarda düşüşe neden olmaktadır.



**Şekil 4.84.** İşlem değişkenleri merkez noktada (katı oranı %20, amplitüd %65 ve süre 30 dk) ve etanol oranı orta noktada (%33.3) iken su ve propanol oranının sığla kabuğu ekstraktlarının AA değeri üzerine etkisini gösteren pertürbasyon grafiği

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının AA miktarı üzerine karışım değişkenlerinin etkisi, proses değişkenlerine kıyasla daha fazladır. Proses

değişkenleri kendi içinde değerlendirildiğinde, AA miktarı üzerine en önemli etki eden değişken amplitüd olarak belirlenmiştir. Amplitüd değerinin azalması ve ekstraksiyon süresi ve katı oranının artması AA miktarında artış sağlamıştır. Karışım değişkenleri değerlendirildiğinde propanol veya etanol kullanımının AA gösteren bileşiklerin ekstrakte edilmesinde yeterli olmadığı belirlenmiştir. AA gösteren bileşiklerin en iyi şekilde ekstraksiyonu için ortamda mutlaka su bulunması ve ekstraksiyon işleminin yüksek ekstraksiyon süresi şartlarında gerçekleşmesi gerektiği sonucuna varılmıştır. Bu koşullarda katı oranının AA üzerine etkisi sınırlıdır.

Sığla kabuğu ekstraktlarının geleneksel ve ultrasonik yöntemle ekstraksiyonunda, her iki ekstraksiyon yönteminde de maksimum TFM ve AA değerine sahip ekstraktların, çözücü olarak %100 su kullanılığında elde edildiği gözlenmiştir.

#### 4.11.5 Antimikrobiyal Aktivite

Tez çalışması kapsamında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak elde edilen sığla kabuğu ekstraktları, ince film evaporatör kullanılarak konsantre hale getirilmiş ve bu ekstraktların antimikrobiyal potansiyelleri, yaygın olarak gıda zehirlenmesine neden olan *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* olmak üzere üç bakteri suşu kullanılarak değerlendirilmiştir. Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen bu ekstraktlarının test edilen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesinde elde edilen zon çapı değerleri Çizelge 4.56'da verilmiştir. Geleneksel yöntemde olduğu gibi ultrasonik yöntemle elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının da, üç bakteri suşu üzerine antimikrobiyal etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Kestane ve sedir kabuğu ekstraktlarında antimikrobiyal aktivite gözlemlenirken, sığla kabuğu ekstraktlarında gözlenmemesinin nedeninin sığla kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarının, antioksidan aktivitesinin ve kuru madde miktarının diğer materyallere göre çok daha düşük olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

**Çizelge 4.56.** Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sığla kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etkisi

Deneme No	İnhibisyon çapı (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
1-22	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

Okmen vd. (2014), sığla ağacı yapraklarından aseton, etanol ve metanol ile elde edilen ekstraktların *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* ve *Candida albicans* mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal etki gösterdiği bildirmişlerdir. Yapılan çalışmalarda, sığla yağının birçok bakteriye karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu (Sağdıç vd., 2005; Bayramoğlu, 2010) ve sığla balsamının antifungal etki gösterdiği (Lee vd., 2009) rapor edilmiştir.

Tez çalışmasında kestane, sedir ve sığla kabuklarından optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktlar karşılaştırıldığında, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı en iyi antimikrobiyal aktivite gösteren materyalin kestane kabuğu olduğu belirlenmiştir.

#### **4.11.6 Optimizasyon ve Sonuçlarının Deneysel Doğrulanması**

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile sığla kabuğu ekstraktı üretiminde, karışım değişkenleri olarak belirlenen su, etanol ve propanol oranı ile işlem koşulları olarak seçilen katı oranı, amplitüd ve süre, maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir.

Optimizasyon çalışmasında ultrasonik ekstraksiyon proses değişkenleri olan katı oranı %15-25, amplitüd değeri %50-80 ve ekstraksiyon süresi 15-45 dk aralığında ve karışım değişkenleri olarak seçilen su oranı %0-100, etanol oranı %0-100 ve propanol oranı %0-100 aralığında seçilmiştir. Optimum noktanın belirlenmesinde her bir yanıt için elde edilen lineer modeller kullanılmıştır. Desirability fonksiyonu yaklaşımı uygulandığında optimum nokta için birbirine yakın 3 çözüm bulunmuştur (Çizelge 4.57). Optimum nokta olarak, programın belirlediği bu çözümlerden, birinci çözümde elde edilen faktör seviyeleri seçilmiştir. Bu noktada faktör seviyeleri, etanol oranı %0, propanol oranı %0, su oranı %100, katı oranı %25, amplitüd değeri %50 ve süre 22.83 dakika olarak bulunmuştur.

**Çizelge 4.57.** Desirability fonksiyonu yaklaşımı ile belirlenen optimum noktalar

No	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Amplitüd (%)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	Desirability
1	0.00	0.00	100	25.00	50.00	22.83	291.42	31.67	0.919
2	0.00	0.00	100	25.00	50.00	23.48	289.71	31.83	0.918
3	0.00	0.00	100	24.95	50.03	22.74	291.41	31.61	0.918

Tez çalışması kapsamında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile üretilen kestane ve sedir kabuğu ekstraktlarının modellenmesinde çözücü olarak etanol ve propanol ön plana çıkarken, siğla kabuğu ekstraktının modellenmesinde su ön plana çıkmıştır.

Tez çalışmasında optimum ekstraksiyon süresi 23 dk olarak belirlenmiştir. Wang vd. (2008b), buğday kepeğindeki fenolik bileşiklerin ultrasonik destekli ekstraksiyonun optimize edilmesi ile ilgili yaptıkları çalışmada en iyi ekstraksiyon koşulların %64 etanol kullanılarak, 25 dakika süresince 60 °C sıcaklıkta gerçekleştiğini belirlemişlerdir. Çalışmalarında ekstraksiyon süresinin önemli bir parametre olduğunu ve 10-50 dk aralığında gerçekleştirdikleri ekstraksiyon işleminde ideal sürenin 25 dakika olduğunu belirtmişlerdir.

Optimum nokta sonuçlarının doğrulanması, belirlenen matematiksel optimum noktada; su oranı %100, katı oranı %25, amplitüd %50 ve süre 23 dakika ultrasonik ekstraksiyon işlemi ve ardından evaporasyon işlemi ile ekstrakt üretimi yapılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen 5 doğrulama denemesi sonuçları, sonuçların ortalaması ve modelden tahminlenen değerler Çizelge 4.58’de verilmiştir.

**Çizelge 4.58.** Optimum nokta doğrulama denemeleri sonuçları

Deneme No	Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
1	0.11	284.17	29.66
2	0.14	275.53	29.38
3	0.12	274.38	29.43
4	0.11	282.49	30.84
5	0.16	275.23	29.31
<b>Ortalama</b>	0.13	278.36	29.72
<b>Modelden Tahminlenen</b>	0.11	291.41	31.67

Her bir yanıt için, optimum nokta doğrulama denemelerinden elde edilen ortalama sonuçlar ile modelden tahminlenen değerler arasında istatistiksel olarak önemli bir fark olup olmadığı tek örnek *t*-testi uygulanarak belirlenmiştir. Tek örnek *t*-testi SPSS, 2006 (15.0 for Windows) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her bir yanıt için tek örnek *t*-testi sonuçları Çizelge 4.59'da verilmiştir.

**Çizelge 4.59.** Optimum noktada ortalama deneysel değerlerin modelden tahminlenen değerler ile karşılaştırılması

Yanıtlar	Tahminlenen değer	Deneysel değer <sup>a</sup>	SH <sup>b</sup>	Fark	% Hata <sup>c</sup>	<i>p</i> -değeri
<b>Kuru madde içeriği (%)</b>	0.11	0.13±0.02	0.01	0.01	10.55	0.222
<b>TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)</b>	291.41	278.36±4.11	2.06	13.05	4.69	0.003
<b>AA (mg troloks /g kuru ağırlık)</b>	31.67	29.72±0.57	0.29	1.95	6.55	0.002

a Deneysel sonuçlar standart sapma ile birlikte verilmiştir

b Ortalama standart hata

c % Hata =  $(\text{yden} - \text{ytah})/\text{yden} \times 100$

Doğrulama denemeleri sonucunda elde edilen sığla kabuğu ekstaktı analiz sonuçlarına göre KM miktarı, modelden tahminlenen değerlere oldukça yakın olup, istatistiksel olarak da aralarındaki fark önemsizdir ( $p>0.05$ ). TFM miktarı ( $273.54<TFM<309.29$  mg GAE/g kuru ağırlık) ve AA değeri ( $29.21<AA<34.14$  mg troloks/g kuru ağırlık) için elde edilen ortalama deneysel sonuçlar modelin belirlediği sınırlar içerisindedir.

#### 4.12 Sığla Kabuğu için Uygun Ekstraksiyon Yönteminin Seçilmesi

Sığla kabuğunda, geleneksel katı sıvı ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak gerçekleştirilen denemelerin optimizasyonu sonucunda, her bir yöntem için belirlenen optimum koşullar ile bu optimum koşullarda üretilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troloks /g kuru ağırlık) değerleri Çizelge 4.60'da verilmiştir. Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktların TFM içeriklerinin sırasıyla 167.36 ve 291.42 (mg GAE/g kuru ağırlık) olduğu ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstrakta kıyasla daha yüksek TFM içeriğine sahip olduğu bulgulanmıştır. Benzer şekilde geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın AA değerinin (22.26 mg troloks /g kuru ağırlık) ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen AA değerinden (31.61 mg troloks /g kuru ağırlık) daha düşük olduğu

tespit edilmiştir. Geleneksel ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemlerinin her ikisinde de önerilen çözücü %100 sudur. İki farklı ekstraksiyon yöntemi seçilen yanıtlara göre karşılaştırıldığında, sığla kabuğundan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda, daha yüksek TFM içeriğine ve AA değerine sahip olan ultrasonik ekstraksiyon yöntemi seçilmiştir.

**Çizelge 4.60.** Sığla kabuğundan farklı ekstraksiyon yöntemleri ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktların TFM (mg GAE/g kuru madde) ve AA (mg troloks /g kuru madde) değerleri

Ekstraksiyon Yöntemi	Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Sıcaklık (°C)/ Amplitüd (%)	Süre (dk)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
Geleneksel	0	0	100	15	60.00	49	167.36	22.26
Ultrasonik	0	0	100	25	50.03	23	291.42	31.61

Kestane ve sedir kabuğu materyallerinde en iyi ekstraksiyon yöntemi geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi olarak belirlenirken, sığla kabuğu ekstraktında en iyi ekstraksiyon yöntemi ultrasonik ekstraksiyon olarak belirlenmiştir.

Ultrasonik ekstraksiyon, biyoaktif bileşiklerin bitkisel materyallerden ekstraksiyonunda, klasik tekniklere kıyasla daha kısa sürede gerçekleşen ve biyoaktif bileşiklerin daha yüksek verimle elde edilmesini sağlayan bir yöntemdir. Ultrasonik ekstraksiyonda yayılan ultrasonik dalgalar, bitki hücre duvarında bozunmayı sağlar ve kütle transferini hızlandırır (Şengül ve Topdaş 2019). Ayrıca, özellikle 2010 yılından bu yana pek çok araştırmaya konu olan ultrasonik ekstraksiyon, düşük enerji sarfıyatı ve daha az çözgen kullanımı ile çevreci bir teknoloji olarak karşımıza çıkmaktadır (Jadhav vd., 2009; Poongothai vd., 2010; MárquezSillero vd., 2013; Gliszczynska-Swiglo vd., 2015; Benkerrou vd., 2018; Vilku vd., 2008).

Withouck vd. (2019), yaptıkları çalışmada Belçika elma ağacı odununun ve kabuğunun polifenolik profili ve antioksidan aktivitesi üzerine ön işlem ve ekstraksiyon koşullarının etkisini değerlendirmişlerdir. Elma ağacından elde edilen ekstraktların indirgeme kapasitesini ve fenolik profilini tanımlayarak, elma ağacından kaynaklanan atığı değerlendirme olasılıklarını incelemişlerdir. Bu çalışmada, elma ağacının kabuğundan ve odunundan antioksidan fenolik ekstrakte etmek için ılık çözücü ekstraksiyonu (WSE) (1 g örnek/100 ml, 60°C ve 30 dk) ve ultrason destekli ekstraksiyon (UAE) (0.5 g örnek/50 ml çözücü, 800 W, 60±3°C'de 30 dk ve karıştırma, 30 saniye boyunca her 5 dakikada bir) tekniklerinin etkinliği



değerlendirilmiştir. Öğütülmüş materyalden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için metanol, etanol, aseton ve su gibi farklı çözücüler kullanılmıştır. Çözücüler saf formda ve ayrıca su ile karışım (%20, %40, %60 ve %80, v/v) halinde kullanılmıştır. Araştırma sonucunda, %60 aseton kullanılarak UAE yöntemi ile elde edilen taze ağaç kabuğu ekstraktının, en yüksek fenolik madde içeriği ve en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur.

Tez çalışması kapsamında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen sığla kabuğu ekstraktında, kuru madde içeriği, TFM (mg GAE/g kuru madde), AA (mg troloks /g kuru madde) ve antimikrobiyal aktivite analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.61'de verilmiştir. Ekstraktın kuru madde içeriği, TFM içeriği ve AA değeri deneysel ve modelden tahminlenen değerlere yakın olup sırasıyla %0.17, 274.07 mg GAE/g kuru ağırlık ve 29.64 mg troloks /g kuru ağırlık'dır. Optimum koşullarda üretilen ekstraktların *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal etkisinin olmadığı belirlenmiştir (Şekil 4.85).

**Çizelge 4.61.** Sığla kabuğundan ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın kuru madde içeriği (%), TFM içeriği (mg GAE/g kuru ağırlık), AA (mg troloks /g kuru ağırlık) değeri ve antimikrobiyal aktivitesi

Kuru madde içeriği (%)	TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)	Antimikrobiyal aktivite (İnhibisyon çapı (mm))		
			<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
0.17±0.01	274.07±1.08	29.64±0.04	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00



(a)



(b)



(c)

**Şekil 4.85.** Sığla kabuğundan ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın *Escherichia coli* (a), *Listeria monocytogenes* (b) ve *Staphylococcus aureus* (c) suşlarına karşı oluşturduğu inhibisyon çapları

#### 4.13 Optimum Şartlarda Üretilen Sedir, Sıgla ve Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Ekstraksiyon Koşulları ve Biyoaktif Bileşenler Açısından Karşılaştırılması

Tez çalışması kapsamında odun dışı orman ürünlerinden olan Toros sediri, sıgla ağacı ve kestane kabuğu materyallerindeki biyoaktif bileşenler farklı proses ve karışım değişkenleri kullanılarak iki farklı ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktların biyoaktif özellikleri toplam fenolik madde ve antioksidan aktivite analizleri yapılarak belirlenmiştir. Her material için ekstraksiyon koşulları maksimum TFM ve AA değerleri sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir. En iyi ekstraksiyon yöntemi sedir kabuğu ve kestane kabuğu materyalleri için geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi olarak belirlenirken, sıgla kabuğu için ultrasonik ekstraksiyon yöntemi olarak belirlenmiştir. Materyaller için en iyi ekstraksiyon yöntemi, bu ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan bağımsız değişkenler (karışım ve proses değişkenleri) ve elde edilen yanıtlar (TFM ve AA değerleri) Çizelge 4.62’de sunulmuştur.

**Çizelge 4.62.** Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sedir, sıgla ve kestane kabuğu ekstraktlarının üretim koşulları ve TFM ve AA değerleri

Materyal	Ekstraksiyon yöntemi	Bağımsız değişkenler						Yanıtlar	
		Proses değişkenleri			Karışım değişkenleri			TFM (mg GAE/g kuru ağırlık)	AA (mg troloks /g kuru ağırlık)
		Etanol (%)	Propanol (%)	Su (%)	Katı oranı (%)	Sıcaklık (°C)/ Amplitüd (%)	Süre (dk)		
<b>Kestane kabuğu</b>	Geleneksel katı sıvı	0.00	0.00	100	15	60.00	60	739.88	99.52
<b>Sedir kabuğu</b>	Geleneksel katı sıvı	9.52	90.48	0.00	25	57.33	30	343.86	41.28
<b>Sıgla kabuğu</b>	Ultrasonik	0.00	0.00	100	25	50.03	23	291.42	31.61

Ekstraksiyon yöntemleri arasından ideal olanın belirlenmesinde, ekstraksiyon yönteminin basit, ucuz, hızlı ve çevreci olmasının yanı sıra istenen bileşenin yüksek verimde elde edilmesinin sağlanması da önemlidir (Chemat vd., 2011). Kullanılan çözücünün tipi açısından değerlendirildiğinde, optimum ekstraksiyon şartlarında, kestane ve sıgla kabuklarının ekstraksiyonunda suyun kullanılması maliyeti azaltmaktadır. Buna karşın sedir kabuğunun ekstraksiyonunda çözücü olarak propanol-etanol karışımının kullanılması maliyeti artırsa da en yüksek TFM ve AA değerleri alkol ile sağlandığı için optimum koşullarda sedir kabuğu ekstraksiyonunda çözücü olarak alkol karışımı kullanılmıştır.

Biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunda kestane kabuğu ve sığla kabuğu için en iyi çözücü %100 su olarak belirlenirken; sedir kabuğu için 1:9 oranında etanol-propanol karışımı olarak belirlenmiştir. Su sadece materyallerde bulunan polar bileşenleri çözerken, alkol kullanıldığında bir kısım polar bileşenlerin yanı sıra apolar bileşenler de çözünmektedir. Ayrıca suyun ve alkolün çözdüğü fenolik bileşenler birbirinden farklıdır. Kestane ve sığla kabuğunda bulunan fenolik bileşenler su ile daha fazla ekstrakte edilirken, sedir kabuğundaki fenolik bileşenler alkol karışımı ile daha iyi ekstrakte edilmiştir. Sedir kabuğunda alkolün ön plana çıkması sedir kabuklarının diğer materyallere kıyasla daha sert olmasından da kaynaklanabilir. Çünkü materyale suyun penetrasyonu ve alkolün penetrasyonu birbirinden farklıdır.

En iyi katı oranı sedir kabuğu ve sığla kabuğunda maksimum katı oranı (%25) olarak belirlenirken, kestane kabuğunda minimum katı oranı (%15) olarak belirlenmiştir. Kestane kabuğunda optimum katı oranının daha düşük olması kestane kabuğunun tüylü yapısından dolayı olabileceği düşünülmektedir.

Fernández-Agulló vd. (2014) tarafından kestane kabuğundan biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonunun araştırıldığı çalışmada kullanılan sıcaklık ve çözücü tipinin ekstraksiyon verimi üzerine oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kestane kabuğundan geleneksel yöntemle biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda düşük sıcaklık değerinin (25 °C) düşük ekstraksiyon verimine neden olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde yapılan tez çalışmasında da yüksek sıcaklık değerinin (60 °C) biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda daha iyi sonuç verdiği bulgulanmıştır.

Çizelge 4.62 incelendiğinde bitkisel materyallerden biyoaktif bileşenlerin ekstrakte edilmesinde, ekstraksiyon yöntemi seçiminin yanı sıra ekstraksiyon işleminin optimize edilmesinin de ne kadar önemli olduğu görülmektedir.

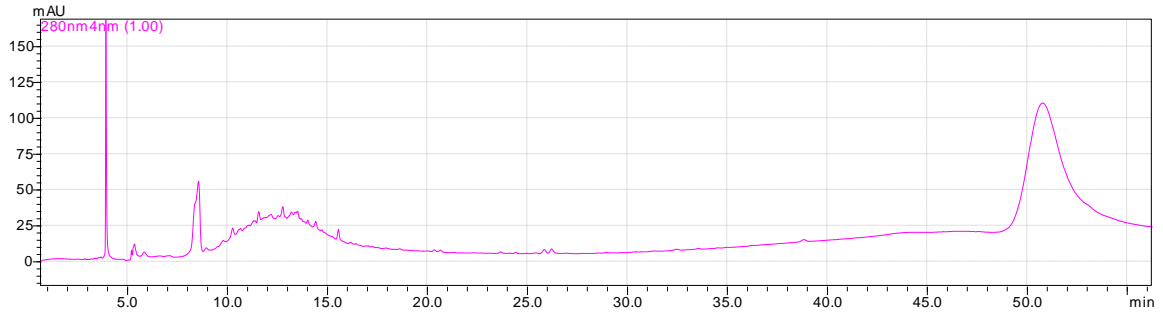
Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen sedir, sığla ve kestane kabuklarının *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal etkisi karşılaştırıldığında, sedir ve kestane kabuklarının antimikrobiyal etki gösterdiği ancak sığla kabuğu ekstraktlarının antimikrobiyal etki göstermediği sonucuna ulaşılmıştır. Bu üç bakteri suşuna karşı en iyi antimikrobiyal etki gösteren kestane kabuğu ekstraktıdır.

#### 4.14 Optimum Şartlarda Üretilen Sedir, Sıgla ve Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Fenolik Profillerinin Belirlenmesi

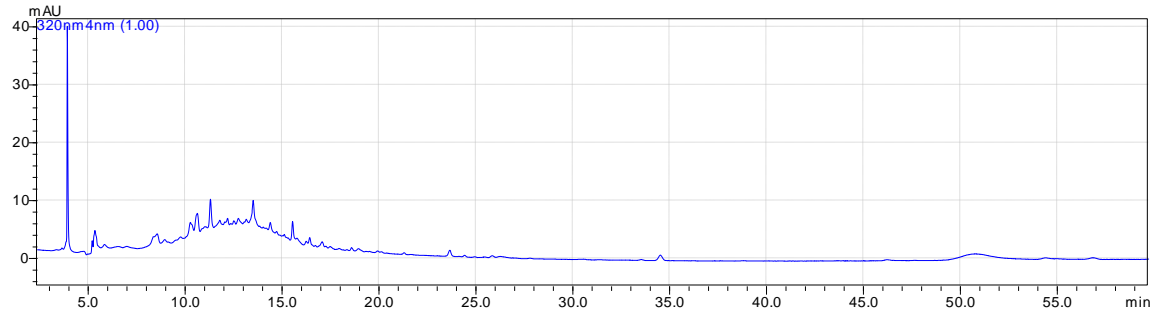
Optimum ekstraksiyon koşullarda, en iyi ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen sedir, sıgla ve kestane kabuklarının fenolik profilinin belirlenmesi amacıyla aşağıda sıralanan mevcut standart maddeler kullanılmıştır.

- Gallik asit
- Elajik asit
- Epikateşin
- Kateşin hidrat
- 4-hidroksibenzoik asit
- 2.5-dihidroksibenzoik asit
- p-kumarik asit
- Krisin
- Kuersetin
- trans-4-hidroksi-3-metoksisinnamik asit
- Pinocebrin
- Apigenin
- Kafeik asit
- Galangin

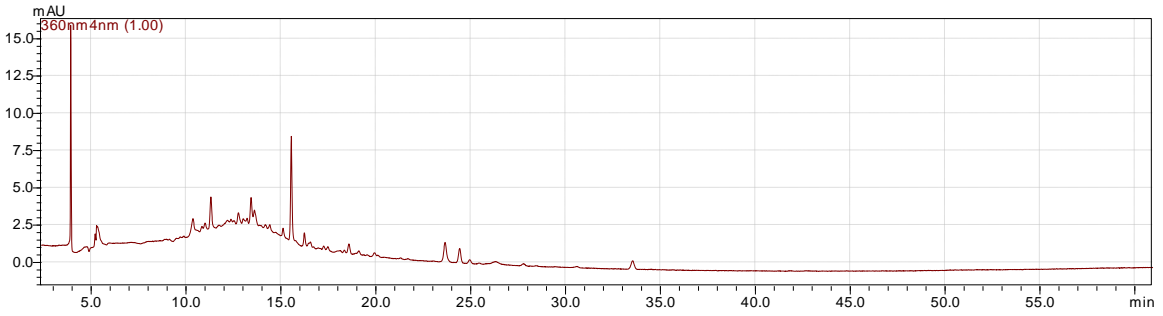
Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının fenolik profilinin belirlenmesinde elde edilen kromatogramlar Şekil 4.86'da verilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalar incelendiğinde elajik asidin kestane kabuğunda belirlenen fenolik bileşikler arasında yer aldığı görülmektedir. Bulgulanan fenolik bileşikler arasında elajik asidin yanı sıra gallik asit, kateşin, gallokateşin, epigallokateşin, kafeik asit türevleri de yer almaktadır (Fernández-Agulló vd., 2014; Squillaci vd. 2018; Lameirão vd. 2020; Pinto vd. 2021). Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen kestane kabuğu ekstraktlarının fenolik profilinin belirlenmesi amacıyla HPLC'ye gallik asit ve elajik asit standartları verilmiştir. Kromatogramda görünen iki pikin bu standartlara ait olduğu belirlenmiştir. Tespit edilen gallik asit ve elajik asit piklerini doğrulamak amacıyla ekstrakta 250µl, 200ppm gallik asit ve 250µl, 200ppm elajik asit ilave edilerek örnekler tekrar analiz edilmiştir. Gallik asit ve elajik asit olarak tespit edilen piklerde meydana gelen artış, bu piklerin doğruluğunu kanıtlamıştır.



(a)



(b)

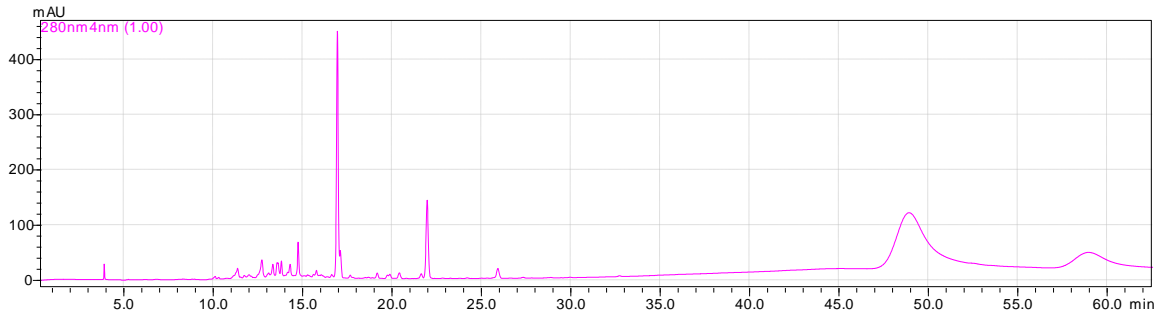


(c)

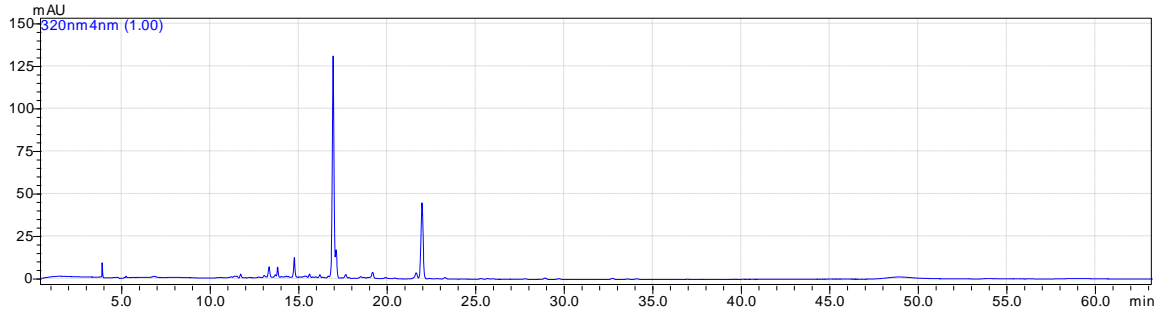
**Şekil 4.86.** Optimum koşullarda üretilen kestane kabuğu ekstraktı için sırasıyla 280 nm (a), 320 nm (b), ve 360 nm'de (c) elde edilen kromatogramlar

Lameirão vd. (2020), endüstriyel kestane kabuklarından fenolik ve antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonunda, ultrason destekli ekstraksiyon tekniğini (UAE) (5 g/100 ml, %50 amplitüd) kullanmışlardır. Yanıt olarak seçilen, antioksidan aktivite ve toplam fenolik madde miktarını aynı anda maksimize etmek için optimum ultrasonik ekstraksiyon koşulları 70°C ve 40 dakika olarak belirlenmiştir. Optimum koşullar altında üretilen ekstraktın yüksek bir fenolik bileşik içeriğe (393.1 mg GAE/g kuru ağırlık) ve yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Optimum koşullarda üretilen ekstraktın, yüksek miktarda elajik asit (40.4 µg/mg kuru ağırlık), ardından kafeik asit türevi (15.4 µg/mg kuru ağırlık) ve epigallocateşin (15.3 µg/mg kuru ağırlık) içerdiği bulgulanmıştır.

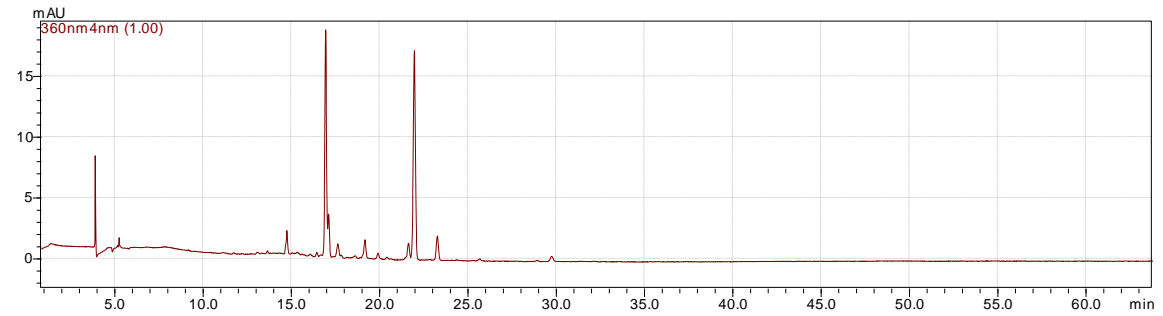
Geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının fenolik profilinin belirlenmesinde elde edilen kromatogramlar Şekil 4.87’de verilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sedir kabuğu ekstraktlarının fenolik profilinin belirlenmesi amacıyla epikateşin ve kateşin standartları verilmiştir. Ancak kromatogramda görünen piklerin bu standartlara ait olmadığı belirlenmiştir. Kromatogramlardaki piklerin tanımlanması mevcut standartlarla denenmiş ancak, piklerin yukarıda verilen standart madelere ait olmadığı belirlenmiştir.



(a)



(b)

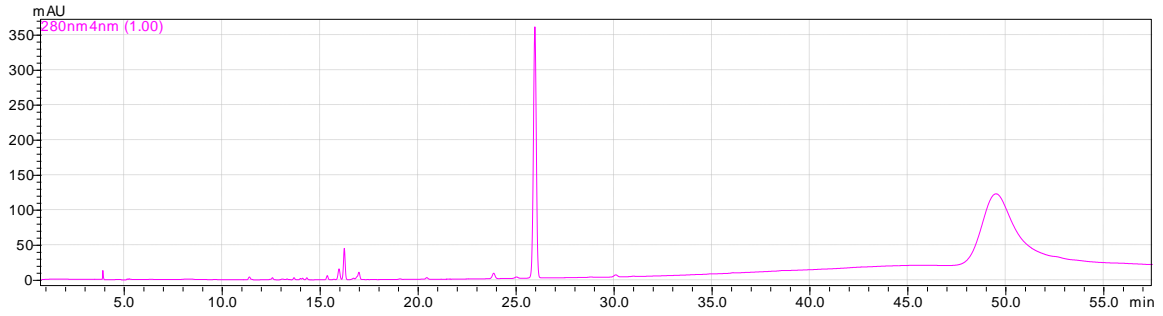


(c)

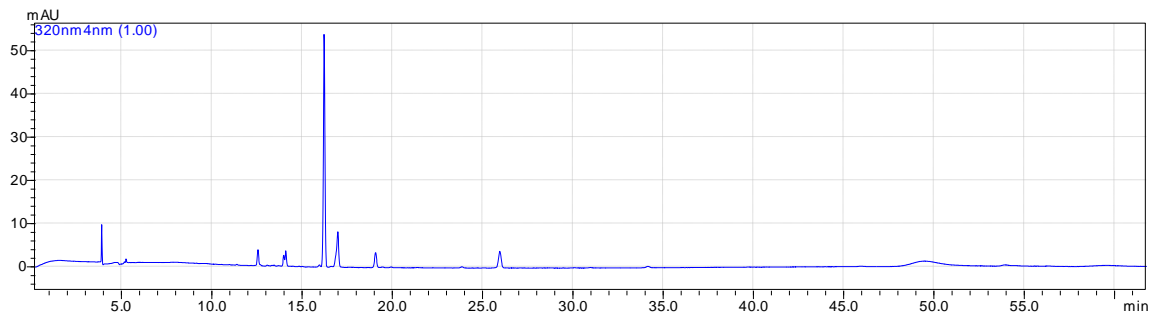
**Şekil 4.87.** Optimum koşullarda üretilen sedir kabuğu ekstraktı için sırasıyla 280 nm (a), 320 nm (b), ve 360 nm’de (c) elde edilen kromatogramlar

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sığla kabuğu ekstraktlarının fenolik profilinin belirlenmesinde elde edilen kromatogramlar Şekil

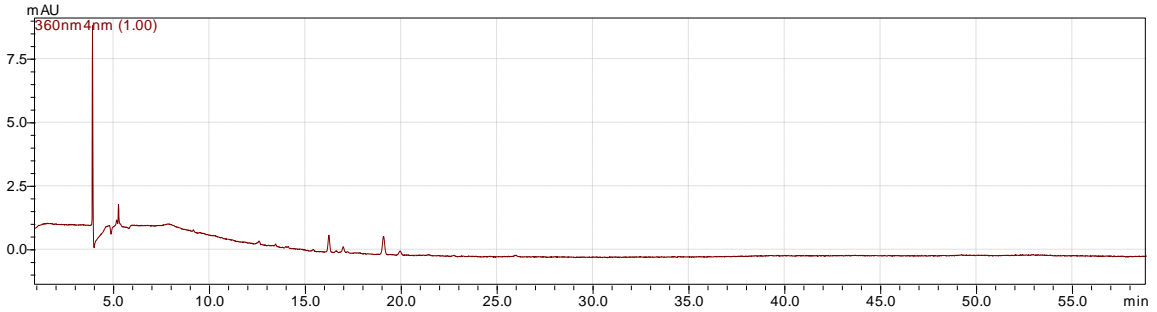
4.87’de verilmiştir. Kromatogramlardaki piklerin tanımlanması mevcut standartlarla denenmiş ancak, piklerin yukarıda verilen standart madelere ait olmadığı belirlenmiştir.



(a)



(b)



(c)

**Şekil 4.88.** Optimum koşullarda üretilen sığla kabuğu ekstraktı için sırasıyla 280 nm (a), 320 nm (b), ve 360 nm’de (c) elde edilen kromatogramlar

#### 4.15 Optimum Şartlarda Üretilen Sedir, Sığla ve Kestane Kabuğu Ekstraktlarının Uçucu Bileşen Profillerinin Belirlenmesi

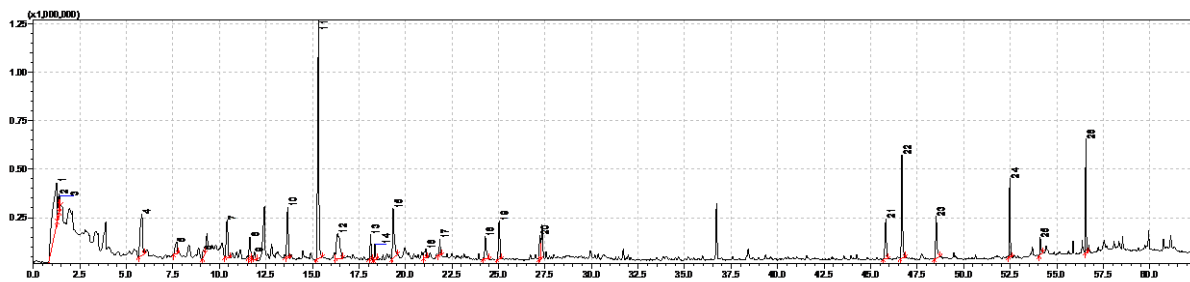
Kestane, sedir ve sığla kabuklarının optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen ekstraktlarının uçucu bileşen profili, katı faz mikro ekstraksiyon tekniği (SPME) kullanılarak, gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC-MS) ile belirlenmiştir. Kestane kabuğu



ekstraktında toplam 26 adet farklı uçucu bileşen tespit edilmiş olup bu bileşenler ve yüzde alanları Çizelge 4.63'te, bileşenlere ait kromatogram ise Şekil 4.89'da verilmiştir.

**Çizelge 4.63.** Kestane kabuğu ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler ve alanları

	Uçucu bileşen	Alan (%)
1	Acetic acid	12.6
2	Carbamic acid, ethyl ester	1.5
3	Diglycolamine	0.7
4	Oxime-, methoxy-phenyl-	6.0
5	Benzaldehyde	1.5
6	2(5H)-Furanone, 5-ethyl-	0.8
7	1-Hexanol, 2-ethyl-	3.9
8	Tetradecane	1.9
9	1-Iodo-2-methylnonane	0.8
10	Nonanal	4.2
11	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-	18.6
12	Cyclopentasiloxane, decamethyl-	5.2
13	Dodecane	1.5
14	Decanal	1.0
15	5-Hydroxymethylfurfural	5.1
16	Sulfurous acid, 2-propyl undecyl ester	1.1
17	1-Undecene, 4-methyl- \$\$ 4-Methyl-1-undecene	1.0
18	Cyclohexasiloxane, dodecamethyl-	2.1
19	Benzene, 1,3-diisocyanatomethyl-	3.2
20	(2S,3S)-(-)-3-Propyloxiranemethanol	2.1
21	6-Aminoundecane	3.5
22	1-Pentadecanamine, N,N-dimethyl-	7.8
23	n-Hexadecanoic acid	3.5
24	4-Octadecylmorpholine	4.2
25	Octadecanoic acid	1.2
26	2-Oxazolidinone, 3-amino-5-(4-morpholinylmethyl)-	5.0



**Şekil 4.89.** Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen kestane ekstraktının uçucu bileşenlerine ait kromatogram

Krist vd. (2004), kavrulmuş kestanedeki (*Castanea sativa*, Mill) uçucu bileşenleri tanımlamak için SPME tekniğini kullandıkları çalışmada, monoterenler ve bütan, pentan,

heksan ve heptan türevlerini önemli aroma bileşikleri olarak tanımlamışlardır. Ayrıca  $\gamma$ -butyrolactone (%12,8),  $\gamma$ -terpinen (%9,2), furfural (%6,3), benzaldehit (%7,2) ve 4-metil-2-pentanon (%5,3) uçucu bileşikleri %5.0'dan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu bildirilmiştir.

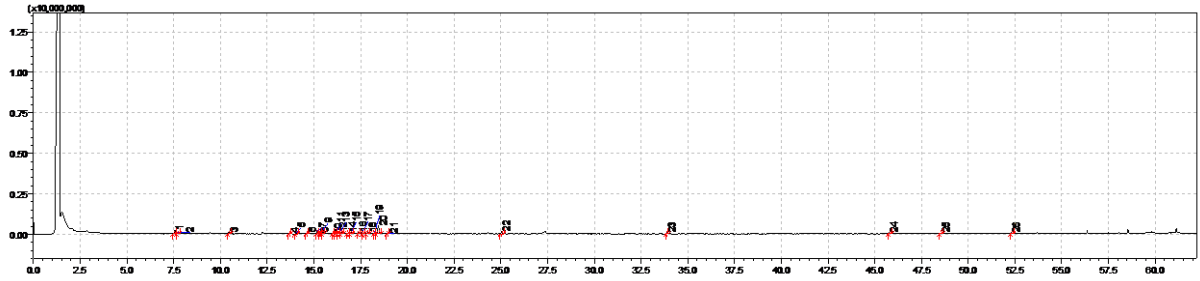
Özgenç vd. (2017), Türkiyede yetişen kestane ağaçlarının kabuk kısmının uçucu bileşiklerini SPME-GC-FID/MS kullanarak belirledikleri çalışmalarında, kestane kabuğunda öne çıkan uçucu bileşenlerin heksanal (%39.4), aromadendrene (%15.3), longifolen (%15.1), 2-amilfuran (%8.2) ve heksanoik asit etil ester (%5.1) olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca 2-ethyl-hexanol, tetradecane, nonanal, 2-amylfuran, tetradecane ve nonanoic asit etil esterlerinin de bulunduğunu bildirmişlerdir. Cirlini vd. (2012), kestane meyvesi ve kestane ununun uçucu bileşenlerini SPME tekniği ile belirledikleri çalışmalarında, kestane ununda en fazla bulunan uçucu bileşiğin heksanal olduğu; kestane meyvesinde ise başlıca terpenler (toplam alanın %49.2'si), doymuş ve doymamış alkoller (%24.3), aldehitler (%18.3) ve ketonlar (%6.7) olduğu sonucuna varmışlardır. Ayrıca kestane ununda 2-heptanol, nonanal, furfural, benzofuran ve benzaldehyde uçucu bileşiklerini de tespit etmişlerdir.

Tez çalışması kapsamında optimum koşullarda üretilen kestane kabuğu ekstraktında tespit edilen uçucu bileşiklerin bir kısmı daha önce yapılan ve materyal olarak kestanenin kullanıldığı çalışmalar ile uyumludur (Krist vd., 2004; Özgenç vd., 2017; Cirlini vd., 2012). Yapılan çalışmalardan farklı olarak tez çalışmasında tespit edilen bileşiklerin, hammadde olarak kullanılan gıda işletmelerinin üretim atığı durumundaki kestane kabuğuna uygulanan ısıtma işlem ve benzeri işlemlerden de kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Sedir kabuğunun optimum ekstraksiyon koşullarında çözücü olarak propanol-etanol karışımı kullanılarak üretilen ekstraktının uçucu bileşen profili, katı faz mikro ekstraksiyon tekniği (SPME) kullanılarak, gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC-MS) ile belirlenmiştir. Sedir kabuğu ekstraktında toplam 24 adet farklı uçucu bileşen tespit edilmiş olup Çizelge 4.64'te, bileşenlere ait kromatogram ise Şekil 4.90'da verilmiştir. Elde edilen piklerden en büyük alana sahip olan pik, kromatogramda ilk sırada görünen ve ekstraksiyon sırasında çözücü olarak kullanılan 2-propanole aittir (Şekil 4.90).

**Çizelge 4.64.** Sedir kabuğu ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler ve alanları

	<b>Uçucu bileşen</b>	<b>Alan (%)</b>
1	Verbenene	6.9
2	Benzaldehyde	3.2
3	2-Ethyl-1-hexanol	3.0
4	Nonanal	1.3
5	Exo-Fenchol	2.4
6	Camphenol	1.7
7	2(10)-Pinen-3-ol	4.1
8	Limonene oxide	2.0
9	Verbenol	7.6
10	Pinocarvone	1.1
11	Isoborneol	1.3
12	Isocamphopinone	3.6
13	Terpinen-4-ol	9.3
14	p-Cymen-8-ol	1.5
15	Alfa-Terpineol	3.1
16	2-Pinen-10-ol	3.3
17	Nopol	4.3
18	2-pinen-4-one	2.6
19	trans-carveol	0.9
20	Benzene, 1,3-diisocyanatomethyl-	18.1
21	1,2-Longidione	1.1
22	3-Heptafluorobutyroxypentadecane	6.3
23	9-Octadecenoic acid (Z)-	2.5
24	1-Hexadecanol	2.7



**Şekil 4.90.** Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sedir ekstraktının uçucu bileşenlerine ait kromatogram

Türkiyede yetişen Toros sediri ağaçlarından elde edilen ağaç kabuklarının SPME tekniği ile uçucu bileşen profilinin beirlendiği bir çalışmada ana bileşenlerin  $\alpha$ -pinene (%17.8),  $\beta$ -pinene (%4.0), limonene (%4.7), o-cymene (%5.3) olduğu belirlenmiştir. Ayrıca tespit edilen uçucu bileşenler arasında, tez çalışmasında da tespit edilen verbenene, benzaldehit, nonanal, pinocarvone, 4-terpinenol ve  $\alpha$ - terpinenol bileşikleri de bulunmaktadır (Özgenç vd. 2017).

Bitkisel materyallerde uçucu bileşenler, çoğunlukla bitkinin çiçek, tomurcuk, yaprak, meyve, kök ve odunsu kısımlarında bulunmaktadır (Demirci vd. 2020; Mohammed vd. 2018).

Demirci vd. (2020), Toros sedirinin iğne yapraklarından su destilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağların GC-MS analizi ile kimyasal kompozisyonunu inceledikleri çalışmada, uçucu yağdaki ana bileşenlerin  $\alpha$ -pinene ve  $\beta$ -pinene başta olmak üzere myrcene, limonene,  $\alpha$ -terpineol, caryophyllene-E ve germacrene-D olduğunu tespit etmiştir.

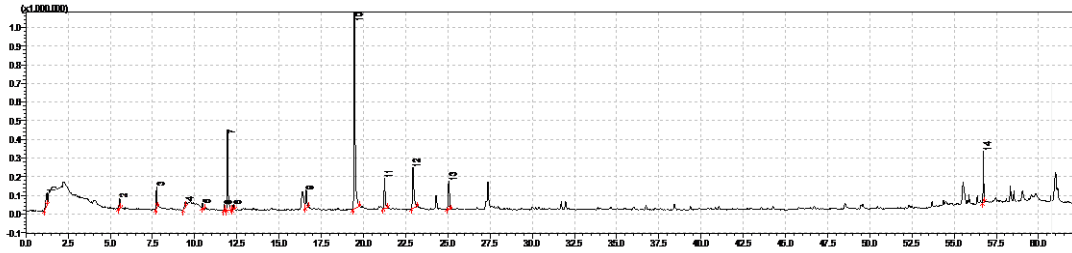
Yapılan bir başka çalışmada Saab vd. (2005), Lübnan'da yetişen Toros sediri ağacının odun kısmından hidro-destilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağlarının kimyasal içeriklerini incelemiştir ve sedir odununda ana bileşenlerin himachalene ve himachalol'ün  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  izomerleri olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde, Toros sedirinin odun, kök ve yaprak gibi farklı kısımlarının uçucu yağ içeriklerinde büyük farklılıklar olabileceği belirlenmiştir.

Sığla kabuğunun optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen ekstraktının uçucu bileşen profili, katı faz mikro ekstraksiyon tekniği (SPME) kullanılarak, gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC-MS) ile belirlenmiştir. Sığla kabuğu ekstraktında toplam 10 adet farklı uçucu bileşen tespit edilmiş olup Çizelge 4.65'te , bileşenlere ait kromatogram ise Şekil 4.91'de verilmiştir.

Gurbuz vd. (2013), sığla ağacından elde edilen balsamın uçucu bileşenlerini GC-MS kullanarak belirledikleri çalışmalarında, ana bileşenler olarak stiren (%81,9), sinnamil alkol (%6,9) ve  $\alpha$ -pinen (%3,5) bileşenlerini belirlemiştir. Ayrıca çalışmada, tez çalışmasında da tespit edilen benzaldehit, 2-ethyl hexanol, acetophenone, phenyl ethyl alcohol ve cinnamaldehyde uçucu bileşikleri de belirlenmiştir.

**Çizelge 4.65.** Sığla kabuğu ekstraktında belirlenen uçucu bileşenler ve alanları

	<b>Uçucu bileşen</b>	<b>Alan (%)</b>
1	1-Cyclohexylethanamine	5.6
2	Cyclooctatetraene	2.7
3	Benzaldehide	5.0
4	Octamethylcyclotetrasiloxane,	2.6
5	2-Ethylhexanol	1.2
6	1-Phenylethanol	1.7
7	Acetophenone	23.2
8	2,6-Dimethyl-7-octen-2-ol	1.3
9	m-Ethylphenol	6.6
10	(E)-Cinnamaldehyde	10.2
11	Cinnamyl alcohol	18.5
12	Benzene, 1,3-diisocyanatomethyl-	11.1
13	$\alpha$ -Methylstyrene	10.3



**Şekil 4.91.** Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sığla ekstraktının uçucu bileşenlerine ait kromatogram

## 5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, atık durumundaki odun dışı orman ürünlerinden olan Toros sediri, sığla ağacı ve kestane kabukları için optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Ekstraktların üretimi geleneksel katı sıvı ekstraksiyon ve ultrasonik ekstraksiyon olmak üzere iki farklı yöntem ile farklı karışım (su, etanol ve propanol oranı) ve proses değişkenleri (katı oranı, sıcaklık, süre ve amplitüd) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar ince film evaporatör kullanılarak konsantre hale getirildikten sonra ekstraktlara, kuru madde, toplam fenolik madde, antioksidan aktivite ve antimikrobiyal aktivite analizleri yapılmıştır. Ekstraksiyon koşulları maksimum toplam fenolik madde miktarı ve maksimum antioksidan aktivite değerlerini sağlayacak şekilde Desirability fonksiyonu yaklaşımı kullanılarak optimize edilmiştir. Sedir, sığla ve kestane kabuğu için optimum ekstraksiyon yöntem ve koşulları aşağıda verilmiştir.

Toros sediri kabuğu için optimum ekstraksiyon koşullarının, çözücü olarak etanol-propanol (1:9) karışımının kullanıldığı, %25 katı oranı, 57.3 °C sıcaklık ve 30 dk süre koşullarında gerçekleştirilen geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi olduğu tespit edilmiştir. Sığla ağacı kabuğu için optimum ekstraksiyon koşullarının, çözücü olarak suyun kullanıldığı %25 katı oranı %50 amplitüd ve 23 dk süre koşullarında gerçekleştirilen ultrasonik ekstraksiyon yöntemi olduğu tespit edilmiştir. Kestane kabuğu için optimum ekstraksiyon koşullarının, çözücü olarak suyun kullanıldığı %15 katı oranı, 60 °C sıcaklık ve 60 dk süre koşullarında gerçekleştirilen geleneksel katı sıvı ekstraksiyon yöntemi olduğu tespit edilmiştir.

Kestane, sedir ve sığla kabuğu materyallerinin maksimum TFM ve AA miktarına sahip olacak şekilde ekstrakte edilmesi işleminde, karışım değişkenlerinin (etanol, propanol, su) etkisi proses değişkenlerine kıyasla daha belirgindir. Çözücü olarak kestane ve sığla kabuğu ekstraktlarında suyun, sedir kabuğunda ise propanol-etanol karışımının en iyi sonuç verdiği belirlenmiştir.

Optimum ekstraksiyon koşullarında üretilen sedir, sığla ve kestane kabuğu ekstraktları *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal etkileri bakımından karşılaştırıldığında, en iyi antimikrobiyal etki gösteren materyalin kestane kabuğu ekstraktı olduğu belirlenmiştir. Sığla kabuğunun bu üç bakteri suşuna karşı antimikrobiyal özellik göstermediği belirlenmiştir. Ayrıca, optimum koşullarda üretilen ekstraktların fenolik madde bileşimi ve uçucu bileşen profili de belirlenmiştir.

Ekstraksiyon işleminde seçilen ekstraksiyon yönteminin ve ekstraksiyon işleminde uygulanan karışım ve proses değişkenlerinin elde edilen ekstraktın biyoaktif özellikleri üzerine oldukça etkili olduğu anlaşılmıştır. Bu nedenle bitkisel materyallerden biyoaktif özellik gösteren bileşiklerin ekstraksiyonu işleminin optimize edilmesi oldukça önemlidir. Ayrıca bu çalışma atık durumunda odun dışı orman ürünlerinden olan Toros sediri, sığla ağacı ve kestane kabuklarının ekonomiye katkı sağlayabilecek şekilde kullanılabilceğini göstermektedir.

## KAYNAKLAR

- Altunel, T. A. (2012). Odun dışı orman ürünlerinin toplayıcı / üretici açısından sosyoekonomik önemi. *Journal of the Faculty of Forestry*, 62(1), 85-99.
- Arslan, M. B., & Şahin, H. T. (2016). Unutulan bir orman ürünü kaynağı: anadolu sığla ağacı (*Liquidambar orientalis* Miller). *Journal of Bartın Faculty of Forestry*, 18(1), 103–117.
- Ayan, S., Yer, E. N., & Gülseven, O. (2017). Türkiye’deki Toros sediri (*Cedrus libani* A. Rich.) ağaçlandırma sahalarının iklim tipi açısından değerlendirilmesi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 18, 1–10. <https://doi.org/10.17474/artvinofd.305038>
- Aydingöz, M., & Bulut, S. (2014). Hidden healing potion of the aegean: Sığla. *Afyon Kocatepe University Journal of Sciences and Engineering*, 14(1), 1–6. <https://doi.org/10.5578/fmbd.7084>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Bağcı, Y., Erdoğan, R., & Doğu, S. (2016). Sarıveliler (Karaman) ve çevresinde yetişen bitkilerin etnobotanik özellikleri (Ethnobotanical features of growing plants in Sarıveliler (Karaman) and its environment). *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 42(1), 84–107.
- Balasundram, N., Sundram, K., & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.07.042>
- Barbosa-Pereira, L., Guglielmetti, A., & Zeppa, G. (2018). Pulsed electric field assisted extraction of bioactive compounds from cocoa bean shell and coffee silverskin. *Food and Bioprocess Technology*, 11(4), 818–835. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-2045-6>.
- Basile, A., Sorbo, S., Giordano, S., Ricciardi, L., Ferrara, S., Montesano, D., ... & Ferrara, L. (2000). Antibacterial and allelopathic activity of extract from *Castanea sativa* leaves. *Fitoterapia*, 71, S110-S116.
- Bal, B. C., Bektaş, İ., & Kaymakçı, A. (2011). Sedir (*Cedrus Libani* A. Richard) odununun bazı önemli mekanik özellikleri ve bu özelliklerin tam kuru yoğunlukla ilişkisi. I. Ulusal Akdeniz Orman ve Çevre Sempozyumu, Kahramanmaraş.



- Barreira, J. C. M., Ferreira, I. C. F. R., Oliveira, M. B. P. P., & Pereira, J. A. (2008). Antioxidant activities of the extracts from chestnut flower, leaf, skins and fruit. *Food Chemistry*, 107(3), 1106–1113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.09.030>
- Baş, D., ve Boyacı, I. H. (2007). Modeling and optimization i: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 836–845. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.11.024>
- Bayramoğlu, E. (2010). “Soaking with storax- possibility of using sığla tree (*Liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis*) storax as bactericide in the soaking float”, *Jalca*, 105, 62-68.
- Benavente-Garcia, O., ve Castillo, J. (2008). Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(15), 6185-6205. <https://doi.org/10.1021/jf8006568>
- Benthin, B., Danz, H. ve Hamburger, M. (1999). Pressurized liquid extraction of medicinal plants. *Journal of Chromatography A* (C. 837).
- Benkerrou, F., Bey, M.B., Amrane, M., Louaileche, H., 2018. Ultrasonic-Assisted Extraction of Total Phenolic Contents from *Phoenix dactylifera* and Evaluation of Antioxidant Activity: Statistical Optimization of Extraction Process Parameters. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12 (3): 1910-1916.
- Berkel, A. (1951). Lübnan sedirinde teknolojik araştırmalar, İÜ, *Orman fakültesi dergisi* (A), S:182-211.
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S. ve Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
- Bisla, G., Archana, ve Singh, R. (2012). Development of nutritious ice creams from soy milk and pumpkin seeds milk and evaluation of their acceptability and nourishing potential. *Journal of Functional And Environmental Botany*, 3(1), 1. <https://doi.org/10.5958/j.2231-1750.3.1.001>
- Bomser, J., Madhavi, D., Singletary, K., Smith, M., (1996). In vitro anticancer activity of fruit extracts from *Vaccinium* species. *Planta Medica*, 62(03), 212-216.
- Boyd, L. C., Green, D. P., Giesbrecht, F. B., ve King, M. F. (1993). Inhibition of oxidative rancidity in frozen cooked fish flakes by tert-butylhydroquinone and rosemary extract. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 61(1), 87-93.
- Bozkurt, Y., Erdin, N. (1997). Ağaç Teknolojisi, İstanbul Üniversitesi, *Orman fakültesi yayınları*, Fakülte Yayın No: 445. İstanbul.

- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. <https://academic.oup.com/nutritionreviews/article/56/11/317/1901722>
- Brennan J G. (2006). Food Processing Handbook. Wiley VCH Germany, 582 p.
- Bretag, J., Kammerer, D. R., Jensen, U., Carle, R. (2009). Evaluation of the adsorption behavior of flavonoids and phenolic acids onto a food-grade resin using a D-optimal design. *European Food Research and Technology*, 228(6), 985–999. <https://doi.org/10.1007/s00217-009-1017-0>
- Busch, V. M., Pereyra-Gonzalez, A., Šegatin, N., Santagapita, P. R., Ulrih, N. P., Buera, M. P. 2017. “Propolis encapsulation by spray drying: Characterization and stability”, *LWT*, 75, 227-235.
- Büyükgebiz, T., Fakir, H., Negiz, M. (2008). Sütçüler (Isparta) yöresinde doğal odun dışı bitkisel orman ürünleri ve geleneksel kullanımları. *Turkish Journal of Forestry*, 9(1), 109-120.
- Büyükuncel, E. (2012). *Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I*.
- Cavuldak, A., Özge, Vural, N., Anlı, R. E. (2016). Ultrasound assisted extraction of plant-derived phenolic compounds. *gıda / the journal of food*. <https://doi.org/10.15237/gida.gd15059>
- Chamberlain, J. L. (2004). A strategy for nontimber forest products research and technology transfer for Southern United States. *General Technical Reports of the US Department of Agriculture, Forest Service*, 604, 91–92.
- Chemat, F., Zill-e-Huma, Khan, M.K., 2011. Applications of Ultrasound in Food Technology: Processing, Preservation and Extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18 (4): 813-835.
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano-Tixier, A. S., Abert-Vian, M. (2017). Review of green food processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 41, 357-377. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>
- Krist, S., Unterweger, H., Bandion, F., & Buchbauer, G. (2004). Volatile compound analysis of SPME headspace and extract samples from roasted Italian chestnuts (*Castanea sativa* Mill.) using GC-MS. *European Food Research and Technology*, 219(5), 470-473.
- Cirlini, M., Dall’Asta, C., Silvanini, A., Beghè, D., Fabbri, A., Galaverna, G., Ganino, T. (2012). Volatile fingerprinting of chestnut flours from traditional Emilia Romagna (Italy) cultivars. *Food chemistry*, 134(2), 662-668.
- Çengel, B., İçgen, Y., Kandemir, G., Özdilek, A., Velioglu, E. Kaya, Z. (2008). Anadolu sığlasının (*Liquidambar orientalis* Miller) populasyon düzeyinde genetik yapısı ve

koruma stratejileri. 1. Uluslararası Sığla Çalıştayı, Dalaman.

- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- D'auria, M., Mauriello, G., Rana, G.L. (2004). "Volatile organic compounds from saffron", *Flavour and Fragrance Journal*, 19, 17-23.
- Dai J, Mumper RJ (2010) Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules* 15:7313–7352.
- Davidson-Hunt, I., Duchesne, L. C., Zasada, J. C. (2001). Non-timber forest products: local livelihoods and integrated forest management. *NTFP Conference Proceedings*, 1–12. [http://www.ncrs.fs.fed.us/pubs/gtr/other/gtr-nc217/gtr\\_nc217page001.pdf](http://www.ncrs.fs.fed.us/pubs/gtr/other/gtr-nc217/gtr_nc217page001.pdf)
- Dedebaş, T., Dursun Capar, T., Ekici, L., Yalçın, H. (2021). Yağlı tohumlarda ultrasonik-destekli ekstraksiyon yöntemi ve avantajları. *European Journal of Science and Technology*. <https://doi.org/10.31590/ejosat.759702>
- De la Rosa, L. A., Alvarez-Parrilla, E., Shahidi, F. (2010). Phenolic compounds and antioxidant activity of kernels and shells of Mexican pecan (*Carya illinoensis*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(1), 152-162.
- Derringer, G., and Suich, R. (1980). Simultaneous Optimization of Several Response Variables, *Journal of Quality Technology*, 12(4):214-219.
- Demirci, A. N., Çömlekçiöğlü, N., Aygan, A. (2020). Determination of the Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Flavonoid Content of the Essential Oils of *Cedrus libani* and *Pinus nigra* subsp. *pallasiana*. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 8(8), 1747-1754.
- Demirkapı Kalın, D. (2018). *Ekstraksiyon yöntemlerinin bitkilerin antimikrobiyal aktivitesine etkisinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Kastamonu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Demirkesen Mert, İ. (2013). *Development of gluten-free bread formulations for baking in infrared-microwave combination oven*. Doktora Tezi. Orta Doğu Teknik Üniversitesi, Ankara
- Derwich, E., Benziane, Z., Boukir, A. (2010). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12(3), 381–385.
- Deveci, H. A., Nur, G., Kırpık, M.A., Harmankaya, A., Yıldız, Y. (2016). Fenolik bileşik içeren bitkisel antioksidanlar. *Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(1), 26-32.

- Dorman, H.J.D., Deans, S.G. and Noble, R.C. (1995). Evaluation in vitro plant essential oils as natural antioxidants, *Journal of Essential Oil Research*, 71, 645-651.
- Dutkuner, İ., ve Akten, M. (2000). Kahramanmaraş'da kentiçi park ve ağaçlandırmalarda kullanılabilir ağaç taksonları. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 3(1-2), 28-35.
- El-Shazly, A., Dorai, G., Wink, M. (2002). Composition and antimicrobial activity of essential oil and hexane ether extract of *Tanacetum santolinoides* (DC.) Feinbr. and Fertig. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(7-8), 620-623.
- EPA (2017). [http://www.epa.gov/greenchemistry/pubs/about\\_gc.html](http://www.epa.gov/greenchemistry/pubs/about_gc.html). (Erişim Tarihi: 21 Aralık 2017).
- Ergül, E. U., Gezegin, C., Yıldız, A. (2019). Yanıt yüzey yöntemi ve genetik algoritma kullanılarak transformatör sargı en sıcak nokta sıcaklığının modellenmesi ve optimizasyonu. *DÜMF Mühendislik Dergisi*, 10(2), 467-480. <https://doi.org/10.24012/dumf.422182>
- Faisal Manzoor, M., Ahmad, N., Ahmed, Z., Siddique, R., Zeng, X.-A., Rahaman, A., Muhammad Aadil, R., Wahab, A., Xin-An Zeng, C. (2019). Novel extraction techniques and pharmaceutical activities of luteolin and its derivatives. *J Food Biochem*, 43. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12974>
- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D., Guo, Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the world health organization*, 63(6), 965.
- Faydaoğlu, E., ve Sürücüoğlu, M. (2013). Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 233-265.
- Fellows, P. (2000). Principles and practice. *Food Processing Technology*, 2nd ed., ed. Ellis Horwood, Chichester, UK, 369-380.
- Fernández-Agulló, A., Freire, M. S., Antorrena, G., Pereira, J. A., González-Álvarez, J. (2014). Effect of the extraction technique and operational conditions on the recovery of bioactive compounds from Chestnut (*Castanea sativa*) bur and shell. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 49(2), 267-277. <https://doi.org/10.1080/01496395.2013.838264>
- Fernández-Agulló, A., Freire, M. S., González-Álvarez, J. (2015). Effect of the extraction technique on the recovery of bioactive compounds from eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) wood industrial wastes. *Industrial Crops and Products*, 64, 105-113. <https://doi.org/10.1016/J.indcrop.2014.11.031>

- Fiocchi, A., Schünemann, H. J., Brozek, J., Restani, P., Beyer, K., Troncone, R., Martelli, A., Terracciano, L., Bahna, S. L., Rancé, F., Ebisawa, M., Heine, R. G., Assa'ad, A., Sampson, H., Verduci, E., Bouygue, G. R., Baena-Cagnani, C., Canonica, W., Lockey, R. F. (2010). Diagnosis and rationale for action against Cow's milk allergy (DRACMA): A summary report. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 126(6). <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2010.10.011>
- Floros JD, Liang H. (1994). Acoustically assisted diffusion through membranes and biomaterials. *Food Technology*, December: 79–84.
- Frankel, E. N. (1996). Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. *Food chemistry*, 57(1), 51-55.
- Frías, J. M., Oliveira, J. C., Cunha, L. M., Oliveira, F. A. (1998). Application of D-optimal design for determination of the influence of water content on the thermal degradation kinetics of ascorbic acid at low water contents. *Journal of Food Engineering*, 38(1), 69-85.
- Geerkens, C. H., Matejka, A. E., Schweiggert, R. M., Kammerer, D. R., Carle, R. (2015). Optimization of polyphenol recovery from mango peel extracts by assessing food-grade adsorbent and ion exchange resins and adsorption parameters using a D-optimal design. *European Food Research and Technology*, 241(5), 627–636. <https://doi.org/10.1007/s00217-015-2489-8>
- Gliszczyńska-Swigło, A., Rybicka, I., 2015. Simultaneous Determination of Caffeine and Water-Soluble Vitamins ' In Energy Drinks by HPLC With Photodiode Array and Fluorescence Detection. *Food Anal. Methods*, 8: 139-146.
- Gönültaş, O., ve Sarıalan, N. (2017). Phenolic composition of bark tannin from Taurus Cedar (*Cedrus libani*). *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 17(4), 594–602. <https://doi.org/10.17475/kastorman.369041>
- Gurbuz, I., Yesilada, E., Demirci, B., Sezik, E., Demirci, F., Baser, K. H. (2013). Characterization of volatiles and anti-ulcerogenic effect of Turkish sweetgum balsam (*Styrax liquidus*). *Journal of ethnopharmacology*, 148(1), 332-336.
- Günel Kasımoğlu, Z., Yıldırım, A., Alkan, S., Topuz, A., Nadeem, H. Ş. (2016). Microencapsulation of Chestnut Seedcoat's Water Extract by Spray Drying. *Journal of ongoing Chemical Research*, 2(2), 34-44.
- Halkman, A. K., Atamer, M., Ertaş, A. H. (2000). Endüstri ve çevre ilişkileri. *Türkiye Ziraat Mühendisliği Kongresi (2 Cilt)*, 1029–1047.
- Ignat I, Volf I, Popa VI. (2011). A critical review of methods for characterisation of

- polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem*, 126, 1821-1835.
- İlbay, Z., 2016. *Turunçgil meyve ve yapraklarının farklı ekstraksiyon yöntemleriyle ekstraksiyonu ve matematik modellenmesi*. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Jadhav, D., Rekha, B.N., Parag, R.G., Virendra, K.R., (2009). Extraction of Vanillin From Vanilla Pods:A Comparison Study of Conventional Soxhlet and Ultrasound Assisted Extraction. *Journal of Food Engineering*, 93: 421-426.
- Kar, S. P., ve Jacobson, M. G. (2012). NTFP income contribution to household economy and related socio-economic factors: Lessons from Bangladesh. *Forest Policy and Economics*, 14(1), 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.forpol.2011.08.003>
- Khuri, A.I., and Cornell, J.A. (1996). *Response Surfaces: Designs and Analyses*, 2nd edition, Marcel Dekker Inc., New York, 190p.
- Koç, M. (2015). *Farklı kurutma yöntemleri ile bal tozu üretim koşullarının optimize edilmesi ve depolama stabilitesinin belirlenmesi* (Doktora tezi, Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir).
- Koca, N., ve Karadeniz, F. (2005). Natural antioxidant compounds in foods. *The Journal of Food*, 30 (4), 229–236.
- Koubaa, M., Mhemdi, H., Barba, F. J., Roohinejad, S., Greiner, R., Vorobiev, E. (2016). Oilseed treatment by ultrasounds and microwaves to improve oil yield and quality: An overview. *Food Research International*, 85, 59-66. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.04.007>
- Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Griel, A. E., Etherton, T. D. (2002). Bioactive compounds in foods: Their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer. *American Journal of Medicine*, 113(9 SUPPL. 2), 71–88. [https://doi.org/10.1016/s0002-9343\(01\)00995-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9343(01)00995-0)
- Kutlu, N., Yeşilören, G., İşci, A., Şakıyan, Ö. (2017). Konvansiyonel ekstraksiyona alternatif: yeşil teknolojiler. *The Journal of Food*, 42(5), 514–526. <https://doi.org/10.15237/gida.gd17016>
- Kutlu, N., Yılmaz, M. S., İşci Yakan, A., Şakıyan Demirkol, Ö. (2021). Gıdalardan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda derin ötektik çözücülerin kullanımı. *Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 10(2), 591–597. <https://doi.org/10.28948/ngumuh.740817>
- Lameirão, F., Pinto, D., Vieira, E. F., Peixoto, A. F., Freire, C., Sut, S., Dall’acqua, S., Costa, P., Delerue-Matos, C., Rodrigues, F. (2020). Green-sustainable recovery of phenolic and

- antioxidant compounds from industrial chestnut shells using ultrasound-assisted extraction: optimization and evaluation of biological activities in vitro. *Antioxidants*, 267. <https://doi.org/10.3390/antiox9030267>
- Lazić, Ž.R. (2004). *Design of Experiments in Chemical Engineering*. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Lebovka, N., Vorobiev, E., Chemat, F. (Eds.). (2012). *Enhancing extraction processes in the food industry*. Boca Raton: CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b11241>
- Lee, Y. S., Kim, J., Lee, S. G., Oh, E., Shin, S. C., Park, I. K. (2009). “Effects of plant essential oils and components from Oriental sweetgum (*Liquidambar orientalis*) on growth and morphogenesis of three phytopathogenic fungi”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93(3), 138-143.
- Li, H., Pordesimo, L., Weiss, J. (2004). High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. *Food Research International*, 37(7), 731–738. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.02.016>
- Liang H. (1993). Modeling of ultrasound assisted and osmotically induced diffusion in plant tissue. PhD Dissertation, Purdue University, Indiana, US.
- Liu, Z. W., Zeng, X. A., Cheng, J. H., Liu, D. B., Aadil, R. M. (2018). The efficiency and comparison of novel techniques for cell wall disruption in astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis*. *International Journal of Food Science and Technology*, 53(9), 2212–2219. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13810>
- Lucarini, M., Durazzo, A., Romani, A., Campo, M., Lombardi-Boccia, G., Cecchini, F. (2018). Molecules bio-based compounds from grape seeds: a biorefinery approach. <https://doi.org/10.3390/molecules23081888>
- Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, Å., Pettersen, J., Bergman, R. (1998). Experimental design and optimization. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 42(1-2), 3-40.
- Luthria, D. L., Mukhopadhyay, S., Kwansa, A. L. (2006). A systematic approach for extraction of phenolic compounds using parsley (*Petroselinum crispum*) flakes as a model substrate †. *Journal of the Science of Food and Agriculture J Sci Food Agric*, 86, 1350–1358. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2521>
- Márquez-Sillero, I., Cárdenas, S., Valcárcel, M. (2013). Determination of Water-Soluble Vitamins in Infant Milk and Dietary Supplement Using a Liquid Chromatography On-Line Coupled to A Corona-Charged Aerosol Detector. *J. Chromatogr. A*, 1313: 253-258.
- Mao, N., Song, M., Pan, D., Deng, S. (2018). Comparative studies on using RSM and TOPSIS

- methods to optimize residential air conditioning systems. *Energy*, 144, 98–109. <https://doi.org/10.1016/j.energy.2017.11.160>
- Mason, T.J., Lorimer, J.P. (2002). General principles, In *Applied Sonochemistry: Uses of Power Ultrasound in Chemistry and Processing*, Mason, T.J., Lorimer J.P. (eds), Wiley-Vch Verlag, Germany, pp. 25-74.
- Mohammed, G. H. (2001). Recommendations for sustainable development of non-timber forest products. 116–119.
- Mohammed FS, Akgul H, Sevindik M, Khaled BMT. (2018). Phenolic content and biological activities of *Rhus coriaria* var. *zebaria*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 27(8): 5694-5702.
- Monica Vella, F., Laratta, B., La Cara, F., Morana, A. (2018). Natural product research formerly natural product letters recovery of bioactive molecules from chestnut (*castanea sativa* mill.) by-products through extraction by different solvents. *Natural Product research*, 32(9), 1022–1032. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1378199>
- Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N., Bakri, M. M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361-366.
- Myers, R.H. and Montgomery, D.C. (1995). *Response Surface Methodology, Process and Product Optimization Using Designed Experiments* 2nd ed. John Wiley and Sons, New York, NY.
- Nostro, A., Germano, M.P., D'angelo, V., Marino, A., Cannatelli, M.A. (2000). Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. *Lett. Appl. Microbiol.* 30(5): 79-84.
- OGM (1995). Orman Bakanlığı, Orman Genel Müdürlüğü, İşletme ve Pazarlama Dairesi Başkanlığı, Orman Tali Ürünlerinin Üretim ve Satış Esasları. Tebliğ No 283, Ankara
- OK, K., ve Tengiz, Y. Z. (2018). Türkiye’de Odun Dışı Orman Ürünlerinin Yönetimi. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 21(3), 457–471. <https://doi.org/10.18016/ksudobil.342303>
- Okan, O. T., Varlıbaş, H., Mehmet, Ö. Z., Deniz, İ. (2013). Antioksidan analiz yöntemleri ve doğu Karadeniz bölgesinde antioksidan kaynağı olarak kullanılabilir odun dışı bazı bitkisel ürünler. *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 13(1), 48-59.
- Okmen, G., Turkcan, O., Ceylan, O., Gork, G. (2014). The antimicrobial activity of *Liquidambar orientalis* mill. Against food pathogens and antioxidant capacity of leaf extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*,



11(5), 28–33. <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v11i5.4>

- Onaran, A. (2018). Endemik Anadolu Sığıla Ağacı (*Liquidambar orientalis* Mill. ) Bitki Ekstraktlarının Bazı Bitki Patojeni Funguslara Karşı Antifungal Etkilerinin Belirlenmesi. *Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8, 202–208. <https://doi.org/10.17714/gumusfenbil.318796>
- Özden, S., Ertan, R., Akı-Şener, E., Yalçın, İ. (2004). Ayırma ve Saflaştırma Yöntemleri, İsmail Yalçın, Farmasötik Kimya Pratikleri, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi
- Özgenç, Ö., Durmaz, S., Çelik, G., Korkmaz, B., Yaylı, N. (2017). Comparative phytochemical analysis of volatile organic compounds by SPME-GC-FID/MS from six coniferous and nine deciduous tree bark species grown in Turkey. *South African Journal of Botany*, 113, 23-28.
- Pinto, D., Vieira, E. F., Peixoto, A. F., Freire, C., Freitas, V., Costa, P., ... Rodrigues, F. (2021). Optimizing the extraction of phenolic antioxidants from chestnut shells by subcritical water extraction using response surface methodology. *Food Chemistry*, 334, 127521.
- Poongothai, S., Ilavarasan, R., Karrunakaran, C.M., 2010. Simultaneous and Accurate Determination of Vitamins B1, B6, B12 and Alpha-Lipoic Acid in Multivitamin Capsule by Reverse-Phase High Performance Liquid Chromatographic Method. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 2: 133-139
- Povey, M. J., ve Mason, T. J. (1998). *Ultrasound in food processing*. Springer Science & Business Media, pp.105-126, Chapman & Hall, London
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., & Oksman-Caldentey, K. M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of applied microbiology*, 90(4), 494-507.
- Raciye, M., Doğan, İ. S., Kanberoğlu, G. S. (2012) Fonksiyonel gıda bileşeni olarak antioksidanlar. *Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.* 2(2), 45-50.
- Ratnam, D. V., Ankola, D. D., Bhardwaj, V., Sahana, D. K., Kumar, M. R. (2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of controlled release*, 113(3), 189-207. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.04.015>
- Ribeiro, B., Rangel, J., Valentão, P., Andrade, P. B., Pereira, J. A., Bölke, H., Seabra, R. M. (2007). Organic acids in two Portuguese chestnut (*castanea sativa* miller) varieties. *Food Chemistry*, 100(2), 504–508. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.09.073>
- Rombaut, N., Tixier, A. S., Bily, A., & Chemat, F. (2014). Green extraction processes of natural products as tools for biorefinery. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 8(4), 530-544. <https://doi.org/10.1002/bbb.1486>

- Roobab, U., Aadil, R. M., Madni, G. M., Bekhit, A. E. D. (2018). The impact of nonthermal technologies on the microbiological quality of juices: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 437–457. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12336>
- Rosales-Castro, M., Honorato-Salazar, J. A., Reyes-Navarrete, M. G., González-Laredo, R. F. (2015). Antioxidant phenolic compounds of ethanolic and aqueous extracts from pink cedar (*Acrocarpus fraxinifolius* Whight & Arn.) bark at two tree ages. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 35(4), 270-279. <https://doi.org/10.1080/02773813.2014.946619>
- Saab, A. M., Harb, F. Y., Koenig, W. A. (2005). “Essential oil components in heart wood of *Cedrus libani* and *Cedrus atlantica* from Lebanon”, *Minerva Biotechnologica*, 17(3), 159.
- Sangsrichan, S. ve Wanson, W. (2008). The antioxidant capacity of honey samples collected in the north part of Thailand in relationship with its total polyphenol. *KMITL Sci. J*, 8(2), 68-73.
- Sağdıç, O., Özkan, G., Özcan, M., Özçelik, S. (2005). “A Study on Inhibitory Effects of Sığla Tree (*Liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis*) Storax Against Several Bacteria”, *Phytotherapy Research*, 19, 549-551.
- Saraç, N., Şen, B. (2014). “Antioxidant, mutagenic, antimutagenic activities, and phenolic compounds of *Liquidambar orientalis* Mill. var. *orientalis*”, *Industrial Crops and Products*, 53, 60-64.
- Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueria, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(4): 275-280.
- Seo, K. H., Lee, J. Y., Debnath, T., Kim, Y. M., Park, J. Y., Kim, Y. O., Park, S. J., & Lim, B. O. (2016). DNA Protection and Antioxidant Potential of Chestnut Shell Extracts. *Journal of Food Biochemistry*, 40(1), 20–30. <https://doi.org/10.1111/JFBC.12179>
- Squillaci, G., Apone, F., Sena, L. M., Carola, A., Tito, A., Bimonte, M., Lucia, A. De, Colucci, G., Cara, F. La, & Morana, A. (2018). Chestnut (*castanea sativa* mill.) industrial wastes as a valued bioresource for the production of active ingredients. *Process Biochemistry*, 64, 228–236. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2017.09.017>
- Stevenson, D. E. ve Hurst, R. D. (y.y.). Review polyphenolic phytochemicals-just antioxidants or much more? <https://doi.org/10.1007/s00018-007-7237-1>
- Jung, B., Lee, N.-K., Som Na, D., Hee Yu, H., Paik, H.-D. (2015). Comparative analysis of the antioxidant and anticancer activities of chestnut inner shell extracts prepared with various

solvents. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7324>

- Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., Akkaya, Z. (2009). Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *Gıda*, 34(3), 175-182.
- Tomaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Sulfaro, V., De Pasquale, A. and Saija, A. (2005). Influence of heating on antioxidant activity and the chemical comparison of some spice essential oils. *Food Chemistry*, 89, 549-554.
- Topdaş, E. F., Şengül, M. (2019). Katı-sıvı ekstraksiyonunda kullanılan modern teknikler ve bu teknikler arasında ultrason yardımcı ekstraksiyonun yeri. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 201–216. <https://doi.org/10.17097/ataunizfd.466649>
- Tuttu, G., Ursavaş, S., Söyler, R. (2021). Anadolu kestanesi (*Castanea sativa* Mill.)'nin etnobotanik kullanımı ve Türkiye'deki hasat miktarlarının trend analizi. *Anadolu Orman Araştırmaları Dergisi*. <https://doi.org/10.53516/ajfr.949214>
- Türker, M. F., Genç, C., Aydın Yeni, F. (2006). Beş yıllık kalkınma planları yardımı ile ülkemiz ormancılığının sosyo-ekonomik kapsamlı sorunları ve bu sorunları doğuran kök sorunların irdelenmesi. *Ormancılıkta Sosyo-Ekonomik Sorunlar Kongresi*, Çankırı, Türkiye, ss.279-284.
- Türker, M. F. ve Berker, E., (2017). Examination on the basis of marketing distribution channels of the revenue obtained from non-wood herbal products in Turkey, *International Forestry and Environment Symposium*, Trabzon.
- Ürker, O., (2014). *Çevre etiği bağlamında Anadolu sığla ormanları*. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Ankara.
- Xu, B. J., ve Chang, S. K. C. (2007). A comparative study on phenolic profiles and antioxidant activities of legumes as affected by extraction solvents. *Journal of food science*, 72(2), S159-S166.
- Vázquez, M. B., Comini, L. R., Martini, R. E., Montoya, S. N., Bottini, S., Cabrera, J. L. (2015). Ultrasonic-assisted extraction of anthraquinones from *Heterophyllaea pustulata* Hook f. (Rubiaceae) using ethanol–water mixtures. *Industrial Crops and Products*, 69, 278-283.
- Vázquez, G., Fontenla, E., Santos, J., Freire, M. S., González-Álvarez, J., Antorrena, G. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial Crops and Products*, 28(3), 279–285. <https://doi.org/10.1016/J.indcrop.2008.03.003>
- Vázquez, G., Freire, M. S., Santos, J., Antorrena, G., González-Álvarez, J. (2010). Optimisation of polyphenols extraction from chestnut shell by response surface methodology. *Waste and Biomass Valorization*, 1(2), 219–225. <https://doi.org/10.1007/s12649-010-9012-z>

- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., Bates, D., 2008. Applications and Opportunities for Ultrasound Assisted Extraction in the Food Industry-A Review. *Innovative Food Science Emerging Technology*, 9: 161-169.
- Vinatoru, M., Mason, T. J., Calinescu, I. (2017). Ultrasonically assisted extraction (UAE) and microwave assisted extraction (MAE) of functional compounds from plant materials. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 97, 159-178.
- Waheed, M., Yousaf, M., Shehzad, A., Inam-Ur-Raheem, M., Khan, M. K. I., Khan, M. R., ... Aadil, R. M. (2020). Channelling eggshell waste to valuable and utilizable products: a comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.10.009>
- Wang, L. ve Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.12.004>
- Wang, L., Li, D., Bao, C., You, J., Wang, Z., Shi, Y., Zhang, H. (2008a). Ultrasonic extraction and separation of anthraquinones from *Rheum palmatum* L. *Ultrasonics sonochemistry*, 15(5), 738-746.
- Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y., Li, X. (2008b). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food chemistry*, 106(2), 804-810.
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. (2012). Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin. *Food Research International*, 46(2), 505–513. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.09.027>
- Withouck, H., Annick Boeykens, ·, Machteld, ·, Broucke, V., Moreira, M. M., Delerue-Matos, C., Luc, ·, Cooman, D. (2019). Evaluation of the impact of pre-treatment and extraction conditions on the polyphenolic profile and antioxidant activity of Belgium apple wood. *European Food Research and Technology*, 245, 2565–2578. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03373-2>
- Wu, J., Lin, L. ve Chau, F. T. (2001). Ultrasound-assisted extraction of ginseng saponins from ginseng roots and cultured ginseng cells. *Ultrasonics sonochemistry*, 8(4), 347-352.
- Yağcıoğlu, P. (2015). *Farklı ekstraksiyon metotları ile adaçayı (Salvia officinalis L.) bitkisinden antioksidan ekstraksiyonunun optimizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yapıcı, H., Metin, C. ve Alparslan, Y. (2015). Determination of the effects of sweetgum extract obtained from incense tree (liquidambar orientalis) on the shelf life and quality of cultured sea bass (dicentrarchus labrax). *Journal of Food and Health Science*, 1(4), 166–177.

<https://doi.org/10.3153/jfhs15016>

- Yolmeh, M., ve Jafari, S. M. (2017). Applications of response surface methodology in the food industry processes. *Food and Bioprocess Technology*, 10(3), 413–433. <https://doi.org/10.1007/s11947-016-1855-2>
- Zhao, C., Giusti, M. M., Malik, M., Moyer, M. P., Magnuson, B. A. (2004). *Effects of Commercial Anthocyanin-Rich Extracts on Colonic Cancer and Nontumorigenic Colonic Cell Growth*. <https://doi.org/10.1021/jf049517a>
- Zia, S., Khan, M. R., Shabbir, M. A., Aslam Maan, A., Khan, M. K. I., Nadeem, M., Khalil, A. A., Din, A., Aadil, R. M. (2020). An inclusive overview of advanced thermal and nonthermal extraction techniques for bioactive compounds in food and food-related matrices. *Food Reviews International*, 1-31. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1772283>
- Zoral, B., ve Turgay, Ö. (2014). Çeşitli gıda atıklarının toplam fenolik madde içeriğinin, antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin araştırılması. *KSÜ Doğa Bil. Derg.*, 172(), 24–33.

**T.C.**  
**AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİLİMSEL ETİK BEYANI**

“TOROS SEDİRİ, SIĞLA AĞACI ve KESTANE KABUKLARI İÇİN OPTİMUM EKSTRAKSİYON KOŞULLARININ BELİRLENMESİ ve ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİYOAKTİF ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ” başlıklı Yüksek Lisans tezindeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Özlem ERDOĞDU  
04 / 10 / 2021