T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çeşitli Yöntemlerle Elde Edilen Limon Meyvesi ve Yaprak Ekstraktlarının İncelenmesi

Hikmet Burcu GENCER

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik Programı

İSTANBUL-2019

Bu çalışma 26.08.2019 Tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Temel İşlemler ve Termodinamik Programı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

TEZ JÜRİSİ

Prof. Dr. Şah İsmail Kırbaşlar
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. İsmail İnci
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Doç. Dr. Sena Beyazit
Beykent Üniversitesi
Mühendislik-Mimarlık Fakültesi

..... Metin girmek için burayı tıklatın.
Üniversite
Fakülte

..... Metin girmek için burayı tıklatın.
Üniversite
Fakülte

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa'nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

Bu tez, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin ..... numaralı projesi ile desteklenmiştir.
Bu tez, ... numaralı ..... projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca yardım ve desteğini esirgemeyen, her koşulda arkamda olan saygıdeğer hocam Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR' a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca sabırla ve şefkatle, her zaman yeni şeyler öğretmeye uğraşan çok sevdiğim kıymetli hocam Doç. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ' ye yardımları ve emekleri için teşekkür ederim.

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum ve bu yolda bana çok şey öğreten Dr. Pınar ÇAKIR HATIR' a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca attığım her adımda beni yalnız bırakmayan anneme, babama, dedeme ve kardeşlerime, her zaman destek ve ilgisini yanımda bulduğum sevgili eşim Üstün Emre GÜNESER'e ve arkadaşlarım Tuba UZEL ve Tuğba HAYRİ'ye teşekkürlerimi borç bilirim.

Ağustos 2019 Hikmet Burcu GENCER

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **vii**
TABLO LİSTESİ ..... **x**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **xii**
ÖZET ..... **xiii**
SUMMARY ..... **xv**
1 GİRİŞ **1**
2 GENEL KISIMLAR **2**
2.1 LİMON 2
2.2 LİMON ÇEŞİTLERİ 2
2.2.1 Kütdiken Limonu 2
2.3 LAMAS LİMONU 2
2.3.1 İtalyan Memeli Limonu 3
2.3.2 Enterdonat Limonu 3
2.3.3 Kıbrıs Limonu 3
2.3.4 Misket Limonu 3
2.3.5 Mayer Limonu 3
2.4 ANTİOKSİDANLAR 4
2.5 FENOLİK BİLEŞİKLER 5
2.6 BİTKİSEL KAYNAKLARDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN VE ANTİOKSİDANLARIN EKSTRAKSİYONU 6
2.6.1 Ultrason destekli ekstraksiyon 6
2.6.2 Mikrodalga destekli ekstraksiyon 6
2.6.3 Yanıt yüzey metodolojisi 7
3 MALZEME VE YÖNTEM **8**
3.1 MALZEMELER 8
3.1.1 Bitki Materyali 8
3.1.2 Kimyasallar ve Reaktifler 8
3.1.3 Ekipman ve Cihazlar 8

3.2 YÖNTEMLER....9
3.2.1 Örneklerin Hazırlanması....9
3.2.2 Deneysel Tasarım....9
3.2.3 Örneklerin Farklı Yöntemlerle Ekstraksiyonu....10
3.2.3.1 Ultrason Destekli Ekstraksiyon....10
3.2.3.2 Mikrodalga Destekli Ekstaksiyon....11
3.2.4 Biyoaktif Maddelerin Tayini....12
3.2.4.1 Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini....12
1. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini....12
3.2.5 Antioksidan Aktivitesinin Tayini....12
3.2.6 İstatistiksel Analizler....13
4 BULGULAR....14
4.1.1 Farklı Konsantrasyonlarda Gallik Asit Çözeltisinin Hazırlanması ve Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi....14
4.1.2 Farklı Konsantrasyonlarda Kateşin Çözeltisinin Hazırlanması ve Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi....15
4.2 ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE EKSTRAKT ELDESİ VE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ....16
4.3 MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE EKSTRAKT ELDESİ VE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ....45
5 TARTIŞMA VE SONUÇ....76
Kaynakça....78
EKLER....81
ÖZGEÇMİŞ....82

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Antioksidanların serbest radikalleri temizleme mekanizması.....4

Şekil 3.1: Ultrasonik parçalayıcı 10

Şekil 3.2: Mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı 11

Şekil 4.1: Gallik asidin farklı konsantrasyonlardaki absorban değerleri. 15

Şekil 4.2: Kateşinin farklı konsantrasyonlardaki absorban değerleri. 16

Şekil 4.3: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi 27

Şekil 4.4: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde, titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi 28

Şekil 4.5: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi 29

Şekil 4.6: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi 30

Şekil 4.7: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde, titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi 31

Şekil 4.8: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi 32

Şekil 4.9: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen yüzde AA üzerine etkisi.....33

Şekil 4.10: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen yüzde AA üzerine etkisi 34

Şekil 4.11: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen AA yüzdesine etkisi 35

Şekil 4.12: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi 36

Şekil 4.13: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde, titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi 37

Şekil 4.14: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi 38

Şekil 4.15: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi 39

Şekil 4.16: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi. 40

Şekil 4.17: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi. 41

Şekil 4.18: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında, titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen AA yüzdesine etkisi. 42

Şekil 4.19: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde, titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen AA yüzdesine etkisi. 43

Şekil 4.20: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi. 44

Şekil 4.21: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi. 57

Şekil 4.22: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TPM miktarına etkisi. 58

Şekil 4.23: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda zamana bağlı olarak çözücü miktarının TPM üzerine etkisi. 59

Şekil 4.24: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi. 60

Şekil 4.25: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TFM miktarına etkisi. 61

Şekil 4.26: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TFM miktarına etkisi. 62

Şekil 4.27: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen yüzde AA miktarına etkisi. 63

Şekil 4.28: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının AA yüzdesine etkisi. 64

Şekil 4.29: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda, zamana bağlı olarak çözücü miktarının yüzde AA miktarına etkisi. 65

Şekil 4.30: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücümiktarında, zaman parametresine bağlı olarak, uygulanan güç miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi. 66

Şekil 4.31: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TPM miktarına etkisi. 67

Şekil 4.32: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda zamana bağlı olarak çözücü miktarının TPM üzerine etkisi. 68

Şekil 4.33: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi. 69

Şekil 4.34: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TFM miktarına etkisi. 70

Şekil 4.35: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda, zamana bağlı olarak çözücü miktarının TFM miktarına etkisi. 71

Şekil 4.36: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen yüzde AA miktarına etkisi. 72

Şekil 4.37: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının yüzde AA üzerine etkisi. 73

Şekil 4.38: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda, zamana bağlı olarak çözücü miktarının yüzde AA miktarına etkisi. 74

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 4.1: Gallik asidin farklı konsantrasyonlardaki absorban değerleri. 14

Tablo 4.2: Kateşinin farklı konsantrasyonlardaki absorban değerleri. 15

Tablo 4.3: Titreşim süresi, titreşim genliği ve madde miktarı için seçilen alt ve üst limitler ve YYM'nda kodlanan değerler 16

Tablo 4.4: Limon yapraklarına uygulanan UDE için YMMK ile tasarlanan deney planı ve TPM, TFM ve AA sonuçları 17

Tablo 4.5: Limon kabuklarına uygulanan UDE için YMMK ile tasarlanan deney planı ve TPM, TFM ve AA sonuçları 18

Tablo 4.6: Limon yapraklarına uygulanan UDE için TPM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 19

Tablo 4.7: Limon yapraklarına uygulanan UDE için TFM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 20

Tablo 4.8: Limon yapraklarına uygulanan UDE için AA üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 21

Tablo 4.9: Limon yapraklarının UDE ile ekstraksiyonunda her bir sistem için (TPM, TFM ve AA) için çeşitli istatistiksel parametrelerin özeti 22

Tablo 4.10: Limon kabuklarına uygulanan UDE için TPM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu 23

Tablo 4.11: Limon kabuklarına uygulanan UDE için TFM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu 24

Tablo 4.12: Limon kabuklarına uygulanan UDE için AA üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu 25

Tablo 4.13: Limon kabuklarının UDE ile ekstraksiyonunda her bir sistem için (TPM, TFM ve AA) için çeşitli istatistiksel parametrelerin özeti. 26

Tablo 4.14: UDE ekstraksiyonda limon yaprakları için optimum noktayı gösteren tablo. 45

Tablo 4.15: UDE ekstraksiyonda limon kabukları için optimum noktayı gösteren tablo. 45

Tablo 4.16: Titreşim süresi, titreşim genliği ve madde miktarı için seçilen alt ve üst limitler ve YYM'nde kodlanan değerler. 46

Tablo 4.17: Limon yapraklarına uygulanan MDE için YMMK ile tasarlanan deney planı ve TPM, TFM ve yüzde AA sonuçları. 46

Tablo 4.18: Limon kabuklarına uygulanan MDE için YMMK ile tasarlanan deney planı ve TPM, TFM ve yüzde AA sonuçları 47

Tablo 4.19: Limon yapraklarına uygulanan MDE için TPM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 49

Tablo 4.20: Limon yapraklarına uygulanan MDE için TFM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 49

Tablo 4.21: Limon yapraklarına uygulanan MDE için yüzde AA üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 50

Tablo 4.22: Limon yapraklarının MDE ile ekstraksiyonunda her bir sistem için (TPM, TFM ve AA) için çeşitli istatistiksel parametrelerin özeti. 51

Tablo 4.23: Limon kabuklarına uygulanan MDE için TPM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 52

Tablo 4.24: Limon kabuklarına uygulanan MDE için TFM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 53

Tablo 4.25: Limon kabuklarına uygulanan MDE için AA üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu. 54

Tablo 4.26: Limon kabuklarının MDE ile ekstraksiyonunda her bir sistem için (TPM, TFM ve AA) için çeşitli istatistiksel parametrelerin özeti. 55

Tablo 4.27: MDE ekstraksiyonunda limon yaprakları için optimum noktayı gösteren tablo. 75

Tablo 4.28: MDE ekstraksiyonunda limon kabukları için uygun değer noktayı gösteren tablo 75

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
$\mathbf{R^2}$	: Korelasyon katsayısı
$\mathbf{R_a^2}$	: Ayarlanmış korelasyon katsayısı
W	: Güç
X	: Bağımsız değişken
Y	: Yanıt

Kısaltmalar	Açıklama
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
AP	: Uygun hassasiyet
ANOVA	: Varyans analizi
CV	: Varyans katsayısı
CE	: Kateşin eşdeğeri
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
MDE	: Mikrodalga destekli ekstraksiyon
UDE	: Ultrason destekli ekstraksiyon
SD	: Standart sapma
UV-Vis	: Ultraviyole ve görünür ışık
TFM	: Toplam flavonoid madde
TPM	: Toplam fenolik madde
AA	: Antioksidan aktivitesi

ÖZET

Çeşitli Yöntemlerle Elde Edilen Limon Meyvesi ve Yaprak Ekstraktlarının İncelenmesi

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hikmet Burcu GENCER

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR

İnsan vücudunda bulunan serbest radikaller(ROS) insan sağlığı açısından olumsuz etkilere sahiptir. Havadan, sudan, beslenme biçiminden ya da stres kaynaklı olarak vücutta oluşabilen serbest radikal gruplar hücre çeperiyle hızlıca reaksiyona girerek önce hücre deformasyonuna ardından da hücre ölümüne yol açar. Antioksidanlar bu serbest radikallerle reaksiyona girerek, serbest radikal grupların tahrip edici etkisini azaltmakta ve yok etmekte etkilidir. Antioksidanların bu şekilde kalp ve damar rahatsızlıklarından, kanser, yaşlanma ve nörolojik rahatsızlıklardan koruduğu ve aynı zamanda immuniteyi güçlendirdiği bilinmektedir.

Son yıllarda, sentetik olarak elde edilebilen antioksidanlar yerine doğal antioksidan içerikleri üzerine çalışmalar artmıştır. Antioksidanlar narenciye ürünleri, yeşil yapraklı sebzeler, çilek, üzüm, kayısı, zeytin gibi birçok meyve ve sebzede bulunurlar.

Narenciye ürünleri, antioksidanlar açısından önemli bir kaynaktır. Birçok çeşidi bulunan Narenciye ürünleri, yani turunçgillerin en çok bilinenleri; portakal, mandalina, limon ve greyfurttur. Turunçgillerin anavatanı Güneydoğu Asya olarak bilinir. Burunla birlikte bu meyveler bol yağış alan subtropikal iklimlerde yetişmeye de oldukça yatkındır. Ülkemizde de yetiştirilen bu meyveler; Ege, Akdeniz, Doğu Karadeniz ve Marmara bölgelerinde bol miktarda üretilmektedir.

Bu çalışmada Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Narenciye Bahçesinde yetiştirilmiş hastalıksız Mayer limonlarının kullanılması, bu Mayer limonlarının kabuğunun ve yapraklarının incelenmesi, antioksidan içeriği ve antioksidan aktivitesi bakımından değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

Bu Tez kapsamında Mayer limonunun kabuklarının ve yapraklarının ekstraktlarının antioksidan içerikleri incelenmiştir. Ultrason Destekli Ekstraksiyon (UDE) ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE) yöntemleri kullanılmıştır. Ekstraksiyson işlemi sırasında Yanıt Yüzey Metodolojisi (YYM) kullanılarak; sıcaklık, zaman, genlik, mikrodalga gücü ve çözücü miktarı gibi parametreler optimize edilmiştir. Burada elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde, toplam flavonoid miktarları incelenmiş ve DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal giderme yöntemi kullanılarak antioksidan aktiviteleri belirlenmiştir.

Yapılan denemeler sonucunda limon kabuk ve yaprakları için ayrı ayrı MDE ve UDE ile toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve antioksidan aktivitesi miktarları tayin edilmiş ve kıyaslamıştır. Limon yapraklarının her iki ekstraksiyon metoduyla da daha yüksek toplam fenolik flavonoid ve antioksidan aktivitesi değerlerine sahip olduğu görülmüştür. UDE yönteminin ise hem yapraklar hem kabuklar için daha verimli olduğu belirlenmiştir.

Ağustos 2019, 82. sayfa.

Anahtar kelimeler: Limon(*Citrus Meyeri* Tan.), yaprak, kabuk, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrason destekli ekstraksiyon. optimizasyon, yanıt yüzey metodolojisi, antioksidan aktivitesi, toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde

SUMMARY

Investigation of Lemon Fruit and Leaf Extracts Obtained by Various Methods

M.Sc. THESIS

Hikmet Burcu GENCER

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Supervisor : Prof. Dr. Şah İsmail KIRBAŞLAR

Free radicals (ROS) in the human body have negative effects on human health. Free radical groups that can form in the body due to air, water, nutritional form or stress can react rapidly with the cell wall, leading to cell deformation and then cell death. Antioxidants are effective in reacting with these free radicals, reducing and destroying the destructive effect of free radical groups. Antioxidants are known to protect against cardiovascular disorders, cancer, aging, and neurological disorders as well as to enhance immunity.

In recent years, studies on natural antioxidant contents have increased, instead of synthetically available antioxidants. Antioxidants are found in many fruits and vegetables such as citrus fruits, green leafy vegetables, strawberries, grapes, apricots, olives.

Citrus products are an important source of antioxidants. Citrus products, which are available in many varieties, are the most well-known citrus fruits; orange, tangerine, lemon and grapefruit. The homeland of citrus fruits is known as Southeast Asia. However, these fruits are also very prone to grow in subtropical climates receiving abundant rainfall. These fruits

are grown in our country; It is produced abundantly in Aegean, Mediterranean, East Black Sea and Marmara regions.

In this study, it is aimed to use disease-free Mayer lemons grown in Citrus Garden of West Mediterranean Agricultural Research Institute, to investigate the peel and leaves of these Mayer lemons, to evaluate antioxidant content and antioxidant activity.

In this thesis, antioxidant content of extracts of peels and leaves of Mayer lemon were investigated. Ultrasound Assisted Extraction (UAE) and Microwave Assisted Extraction (MAE) methods were used. During the this process, using the Response Surface Methodology (RSM); parameters such as temperature, time, amplitude, microwave power and amount of solvent were optimized. The total phenolic contents and total flavonoid contents of the extracts obtained were examined and antioxidant activities were determined using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrilhydrazil) radical scavening method.

As a result of the experiments, total phenolic matter, total flavonoid and antioxidant activity amounts of MAE and UAE were determined and compared for lemon peel and leaves separately. Lemon leaves have higher total phenolic matter, flavonoid and antioxidant activity levels by both extraction methods. UAE method was found to be more efficient for both leaves and peels.

August 2019, 82. pages.

Keywords: Lemon (Citrus Meyeri Tan.), leaves, peel, microwave assisted extraction, ultrasound assisted extraction. optimization, response surface methodology, antioxidant activity, total phenolic substance, total flavonoid substance

1 GİRİŞ

Fonksiyonel gıdalar birden fazla fonksiyona sahip olan özel bir fonksiyona yönelik iyileştirme ya da destek sağlayan gıda katkı maddeleridir. Fonksiyonel gıdalar tedavi, hastalık riskini azaltmak, hayat kalitesini yükseltmek gibi amaçlarla kullanılabilir. Fonksiyonel gıdalar takviye gıda olarak kullanılabildiği gibi geleneksel gıdaların fonksiyonel gıdalarca zenginleştirilmesiyle kullanılabilir. Fonksiyonel özellik kazandırmak için geleneksel gıdalara eklenen katkı maddeleri doğal yollarla elde edilebildiği gibi sentetik yollarla da elde edilebilmektedir. Ancak son yıllarda bitkisel kaynaklardan elde edilen doğal katkı maddelerine ilgi artmıştır. Fonksiyonel gıdalardan ise antioksidanlar günümüzde birçok geleneksel gıdada kullanılan gıda katkı maddeleridir(Özel and Birdane, 2014).

Yapılan araştırmalarda bitkilerdeki fenolik antioksidanların farklı hastalıkları önlemede büyük önemi olduğu görülmüştür. Bu sebeple gıdaların fenolik antioksidanlarca zenginleştirilmesi konusu oldukça önemlidir(ÇİFTÇİ, 2017).

Bitkiler doğada mikroplara ve ışımaya karşı savunma mekanizması geliştirmek için doğalarında fenolik bileşenleri bulundururlar ve bu fenolik maddeler güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Antioksidan maddeler anti oksidatif özellikleri sayesinde serbest radikallerin boşta kalan elektronlarını nötrlemeye ve zararlı etkilerini yok etmeye yardımcı olurlar. Doğal antioksidan maddeler bu şekilde serbest radikallerin zararlı etkilerini engelleyip hücre hasarını engellerler. Aynı zamanda fenolik maddelerin anti bakteriyel, antiseptik gibi özellikleri de bulunmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı doğal antioksidanlar hem gıda hem de kozmetik sektöründe sıklıkla kullanılmaktadır.

Antioksidanların turunçgiller ve kırmızı meyvelerde oldukça yoğun bulunduğu bilinmektedir. Bu çalışmada fenolik maddelerin tüketimi çok yüksek olan limonun atıkları olan kabuk ve yapraklarının antioksidan aktiviteleri, toplam fenolik madde ve toplam flavonoid madde miktarları tayin edilmiştir. Miktar tayinleri için önce kabuk ve yapraklar mikrodalga destekli ekstraksiyonla (MDE) ve ultrason destekli ekstraksiyonla (UDE) ayrı ayrı ekstrakte edilmiştir. Tüm koşullar yanıt yüzey metodolojisi kullanılarak optimize edilmiştir.

2 GENEL KISIMLAR

2.1 LİMON

Citrus türündeki turunçgillerin en bilinenleri mandalina, portakal, greyfurt, altıntop, limon, kamkat gibi türlerdir. Turunçgiller C vitamini açısından zengin bir türdür ve sağlık açısından faydaları bilinmektedir(Zou *et al.*, 2016)(Sevim, Tuncay and Koseoglu, 2013). Turunçgiller taze olarak tüketilebildiği gibi aynı zamanda işlenmiş maddeler olarak içeceklerde, yiyeceklerde veya gıda katkı maddelerinde de kullanılabilirler.

Turunçgiller üretimi ülkemizde ve dünyada giderek artmaktadır. Turunçgiller üretiminde Çin birinci sıradayken Türkiye dokuzuncu sırada yer almaktadır. Turunçgillerin en bilinenlerinden olan limon da turunçgiller üretiminde büyük bir paya sahiptir.

Limon kuzey ve güney yarımkürede subtropikal iklim koşullarında yetişen bir bitkidir. Limon yaklaşık 3-7 m büyüklüğe kadar ulaşmaktadır. Ülkemizde Akdeniz ve Ege bölgelerinde yoğun olarak yetiştirilir.

2.2 LİMON ÇEŞİTLERİ

2.2.1 Kütdiken Limonu

Eureka grubunun Feminello alt grubunda yer alır. Ülkemizin en eski limon çeşidi Kütdiken'dir. İç kalitesi, su ve koku özellikleri bakımından değerlendirildiğinde dünyanın en üstün ve en kaliteli çeşididir. Ülkemizde geniş çapta yetiştirilmektedir. Yüksek kaliteli ve yüksek verimli bir çeşittir. Kütdiken limonu süresi 11-12 ay kadar depolama süresine sahiptir. Meyvenin kabuk rengi açık yeşil-sarı veya limon sarısıdır.

2.3 LAMAS LİMONU

Bu limon çeşidi, Türkiye'nin Akdeniz Bölgesinde Erdemli-Silifke'de yetiştirilebilmektedir. Bu limonun meyvesi orta büyüklükte, silindirik, boyun halkalı ve belirgin memelidir. Meyve kabuğu sarı renkli üstün tat ve kokuya sahip sulu bir limon cinsidir, düzgün ve parlaktır. Lamas, uygun koşullarda dokuz ay süreyle depolanabilmektedir. Türkiye'de üretilen en kaliteli limon çeşitlerinden biridir.

2.3.1 İtalyan Memeli Limonu

Adından anlaşıldığı gibi İtalyan kökenli olduğu sanılmaktadır. Çok eski zamanlardan beri Türkiye'de yetiştiriciliği yapılmaktadır. Türkiye'de en çok üretilen limon çeşitlerinden biridir. Bu limon türü yüksek verimlidir ve yıl boyunca düzenli olarak ürün verir.

2.3.2 Enterdonat Limonu

Çok erkenci bir tür olan Enterdonat, dünyada en çok Türkiye'nin Doğu Akdeniz Bölgesi'nde yetiştirilmektedir. Dünyanın en fazla Enterdonat üreten ülkesi Türkiye'dir. Meyvesi uzun ve büyüktür. Meyvenin en belirgin özelliği, limonun meme başının yana yatık olmasıdır. Çekirdek sayısı azdır ve meyvesi yeşilimsi sarı renktedir. Erkenci bir tür olduğu için depolamaya elverişli değildir.

2.3.3 Kıbrıs Limonu

Bu limon çeşidi daha çok Alanya, Anamur yöresinde yaygındır. Meyveleri oval-silindirik şekillidir. Kalitesi yüksektir ve bir yerli limon çeşididir. Çok erken ürüne yatan bu çeşidin ağaçları oldukça verimlidir. Meyveler kasım ayı ortalarından itibaren olgunlaşır; ancak, depolamaya fazla elverişli değildir.

2.3.4 Misket Limonu

Bu tür ülkemizde yeşil limon olarak bilinir. Daha yüksek antioksidan içeriğine sahiptir. Gıda ve içeceklerde tatlandırıcı olarak kullanılır.

2.3.5 Mayer Limonu

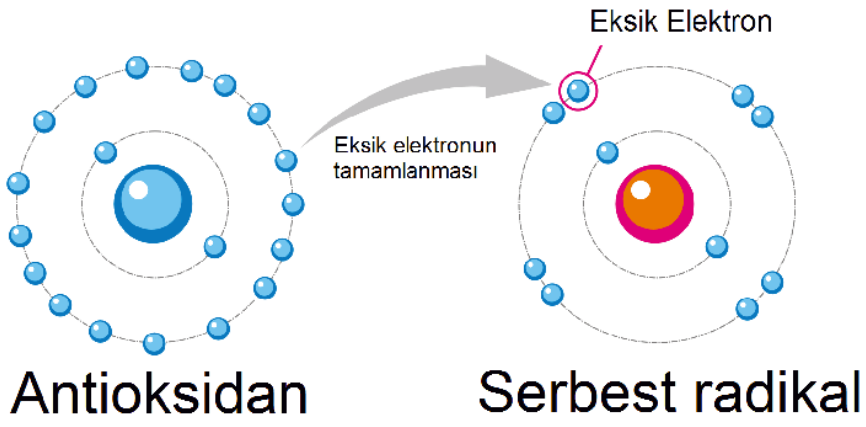
Mayer limonu boyu yaklaşık 2,5-3 m ye ulaşabilir. Diğer limonlardan daha bodur haldedir. Yüksek verimi, yüksek don dayanımı ve yediveren olması Mayer limonunun büyük avantajıdır. Diğer limon çeşitlerine göre çok daha dayanıklıdır.

2.4 ANTİOKSİDANLAR

Oksidatif stres, çok sayıda kronik hastalığın patolojik oluşumunda önemli bir risk faktörüdür. Serbest radikaller ve diğer reaktif oksijen türleri, astım, enflamatuar, diyabet, parkinson ve alzheimer hastalıkları ve kanserler gibi hastalıkların oluşumunda rol oynayan ajanlar olarak kabul edilmektedir. Reaktif oksijen türlerinin de insan yaşlanmasından sorumlu olduğu söylenir(Mahdi-Pour *et al.*, 2012).

Bir antioksidan, geniş bir hedef moleküle oksidatif hasarı geciktiren veya engelleyen herhangi bir madde olarak tanımlanabilir.(Sies, 1997) Bir antioksidanın temel özelliği serbest radikalleri yakalayabilmesidir. Fenolik asitler, polifenoller ve flavonoidler gibi antioksidan bileşikler, peroksit, hidroperoksit veya lipit peroksil gibi serbest radikalleri temizler ve böylece dejeneratif hastalıklara yol açan oksidatif mekanizmaları inhibe eder. Bitkisel kaynaklar eski zamanlardan beri iyi antioksidan olarak kabul edilir(Sreelatha and Padma, 2009)(ÇİFTÇİ, 2017)

Antioksidanların, serbest radikal oluşumunun önlenme ve serbest radikal temizleme mekanizması aşağıdaki gibi açıklanabilir(Miliauskas, Venskutonis and Van Beek, 2004):



Şekil 2.1: Antioksidanların serbest radikalleri temizleme mekanizması.

Antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için birçok yöntem vardır. 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal giderme yöntemi (DPPH), Cu (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) ,2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit) yöntemi (ABTS), Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan gücü (FRAP), oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC) ve troloks eşdeğer antioksidan kapasitesi (TEAK) en sık kullanılan yöntemlerdir(Antolovich *et al.*, 2002)(Özel and Birdane, 2014).

2.5 FENOLİK BİLEŞİKLER

Fenolik bileşikler, bitkilerde ana sekonder metabolit sınıfıdır ve fenolik asitlere ve polifenollere ayrılır. Bu bileşikler, bir veya daha fazla fenolik gruba bağlı mono- ve polisakaritler ile birlikte bulunur veya ester veya metil esterler gibi türevler halinde oluşabilir(Waterman, 1993). Birkaç fenolik bileşik sınıfı arasında fenolik asitler, flavonoidler ve tanenler ana fenolik bileşikler olarak kabul edilirler. Birçok çalışma, fenolik bileşik içerikleri ile meyve ve sebzelerin antioksidan potansiyeli arasında güçlü ve pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir.(Sarawong *et al.*, 2014). Bitkilerde bulunan bu antioksidan mekanizma, (bitki ve hayvan) dokularındaki oksidasyonun azaltılmasında önemli bir role sahiptir, çünkü insan beslenmesine dahil edildiğinde sadece gıda kalitesini korumakla kalmaz, aynı zamanda bazı hastalıklar gelişme riskini azaltır. Araştırmalar meyve ve sebzelerden zengin bir beslenmenin yaşlanma sürecinin gecikmesine ve kronik hastalıklarla (örneğin, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, katarakt, hastalıklar ile ilgili iltihaplanma ve oksidatif stres riskinin azalmasına katkıda bulunduğunu göstermiştir)(Minatel *et al.*, 2017).

Fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi, serbest radikalleri temizleme kapasitesine bağlanır. Moleküler yapılar, özellikle hidroksil gruplarının sayısı ve konumları ve aromatik halkalar üzerindeki yapısı, fenolik bileşiklere, yapı-aktivite ilişkisi olarak adlandırılan serbest radikallerin etkisiz hale getirme kapasitesini verir. A, B ve C halkalarının çeşitli pozisyonlarında, benzen halkasının çift bağları ve okso fonksiyonel grubunun (-C = O) çift bağı bulunan bitişik hidroksil gruplarının hidrojen atomları bazı flavonoidlerden, bu bileşiklere yüksek antioksidan aktiviteleri sağlar. Bu özellik kuersetin ve kateşin'de gözlenebilir(Minatel *et al.*, 2017). Flavonoidler fenolik maddelerin en geniş grubudur.

2.6 BİTKİSEL KAYNAKLARDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN VE ANTİOKSİDANLARIN EKSTRAKSİYONU

2.6.1 Ultrason destekli ekstraksiyon

Ultrason, insan kulağının işitemeyeceği kadar yüksek frekanslı ses dalgalarına verilen addır. Ultrason dalgaları saniyede 20.000'den fazla titreşim gerçekleştiren ses dalgalarıdır. Ultrason hücreleri parçalamada ve ekstrakt eldesinde kullanılabilen bir yöntemdir. Bu yöntem yüksek sıcaklıklarda bozulabilen maddeler için ekstraksiyon tekniği olarak kullanılabilir. Ultrason destekli ekstraksiyon ucuz, basit ve verimli olması nedeniyle geleneksel ekstraksiyon tekniklerine iyi bir alternatiftir. Ultrasonun katı-sıvı ekstraksiyonunda kullanılmasının başlıca nedeni, ekstraksiyon kinetiği ve verim artışıdır. Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre daha kısa süreler ve daha düşük çözücü miktarlarına ihtiyaç duyulması ultrason destekli ekstraksiyonun avantajlarıdır(Wang and Weller, 2006)(Şahin and Şamli, 2013).

Ultrason destekli ekstraksiyon metoduyla hücre duvarlarını mekanik olarak parçalanması ve madde aktarımı sağlanması amaçlanır. Ultrason dalgaları ile hücre duvarı ortadan kalktığından, bu yöntemle yapılan ekstraksiyon işlemi diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre daha hızlıdır(KIM and ZAYAS, 1989).

UDE'de ultrasonik banyolu ve problu olmak üzere iki tür sistem kullanılır. Problu sistemde enerji direk olarak çözücü ve örnekle temas halindedir ve ultrasonik banyoda bir kap içerisinde olduğu için dalgaların bir kısmı kap tarafından da absorblanır, bu sebeple problu ekstraksiyon yöntemi daha avantajlıdır(Rostagno, Palma and Barroso, 2003).

2.6.2 Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Mikrodalgalar, dalga boyları 1.0 m ile 1.0 mm arasında olup, frekansı 300 MHz ve 300 GHz arasında değişen elektromanyetik ışımalardır. Elektromanyetik spektrumda radyo frekansı ile kızılötesi bölgenin arasında yer almaktadır.

Mikrodalga ışınları geleneksel ısıtmadan farklı olarak ışıma yöntemiyle numunenin her yerine eşit olarak etki eder. Bu yöntemle klasik ısıtmadan daha hızlı bir ısıtma yapabilmek mümkündür. MDE metodu ile çözücü içerisinde ısı hızlı, etkili ve homojen bir şekilde iletilir. Bitkisel materyaldeki su mikrodalga enerjisini absorblar ve hücre hızlı ısınma ile parçalanır ve

hücre içerisinden istenilen maddenin çıkarılması kolaylaştırılır. MDE'de mikrodalga ışıması, ekstraksiyon çözücüsünü ve böylece de örneği ısıtmak için kullanılır. Uygun çözücü secimi çok önemlidir. Seçilen çözücünün mikrodalga ışımasını absorblaması, çözücünün matriksle etkileşimi ve analitin çözücüdeki çözünürlüğü göz önüne alınmalıdır(Wang and Weller, 2006)(Routray and Orsat, 2012)(Şahin, 2015).

2.6.3 Yanıt yüzey metodolojisi

Tepki yüzey metodolojisi Box ve ortak çalışanlar tarafından 1950'li yıllarda geliştirilmiştir. (Bezerra, 2008)Yanıt Yüzey Metodu, yanıt ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkileri tanımlamak için kullanılabilecek bir grup matematiksel ve istatistiksel teknikten oluşur. YYM, bağımsız değişkenlerin tek başına veya bir arada işlemlere olan etkisini tanımlar. Bağımsız değişkenlerin etkilerini analiz etmenin yanı sıra, bu deneysel metot matematiksel bir model oluşturur. Matematiksel modelin grafiksel yorumu, Yanıt Yüzey Metodu kavramına yol açmıştır(Alberti *et al.*, 2014)(Madhujith and Shahidi, 2006).

YYM metodolojisini uygulamadan önce, ilk önce çalışılan deney bölgesinde hangi deneylerin yapılması gerektiğini tanımlayacak deneysel bir tasarım seçmek gerekir. Bunun için bazı deneysel matrisler vardır. Veri seti eğrilik göstermediğinde, birinci dereceden modeller için deneysel tasarımlar kullanılabilir. Bununla birlikte, doğrusal fonksiyonlarla tanımlanamayan deneysel verilere bir cevap fonksiyonunu yaklaştırmak için, üç seviyeli faktoring, Box-Behnken, merkezi kompozit ve Doehlert tasarımları gibi kuadratik yanıt yüzeyleri için deneysel tasarımlar kullanılmalıdır(Said, Yakub and Amin, 2015).

3 MALZEME VE YÖNTEM

3.1 MALZEMELER

3.1.1 Bitki Materyali

Ekstraksiyon yöntemleri için kullanılacak limon meyvesi ve yaprakları için Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü Narenciye Bahçesinde yetiştirilmiş hastalıksız Mayer limonları seçilmiştir. Mayer limonunun türü 'Citrus Meyeri' (*Citrus Meyeri* Tan.)dir. Elde edilen kabuklar ve yapraklar oda koşullarında nemsiz ve güneş ışığından korunan bir ortamda 3 gün bekletilerek kurutulmuştur. Kurutulan yaprak ve kabuklar nemsiz ve karanlık ortamda muhafaza edilmiştir.

3.1.2 Kimyasallar ve Reaktifler

2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH•), 2,2′-azino-bis-(3-etilbenzotiazolin-6sülfonik asit) diamonyum tuzu (ABTS), Folin-Ciocalteu reaktifi, (+)- kateşin, sodyum karbonat, gallik asit, hidroklorik asit ve sodyum hidroksit Sigma Aldrich firmasından sağlanmıştır. Potasyum persülfat, sodyum nitrit ve aluminyum klorür de Merck firmasından sağlanmıştır. Millipore Milli-Q su saflaştırma sisteminden 8 mΩ destile su analizler için kullanılmıştır.

3.1.3 Ekipman ve Cihazlar

- Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Cihazı (Milestone, Neos-GR)
- Ultrases Destekli Ekstraksiyon Cihazı (Vibra Cell, Model VCX 750, CT, USA, 20 kHz ve 125 Watt)
- UV-Vis Spektrofotometresi (UV-Visible Spectrophotometer T-60 U)
- Hassas terazi (Mettler Toledo, MS204S)

3.2 YÖNTEMLER

3.2.1 Örneklerin Hazırlanması

Kurutulan Citrus Meyer türü limon kabuk ve yaprakları ev tipi öğütme robotu ile 0,9-2,0 mm boyutlarında öğütülmüş (Arçelik lal blender K8020) ve elekten geçirilmiştir. Öğütülmüş örnekler kullanıma kadar laboratuvarda ışıktan ve nemden muhafaza edilerek oda sıcaklığında saklanmıştır.

3.2.2 Deneysel Tasarım

YYM; deney tasarımı, model denklerimin oluşturulması ve optimizasyon olmak üzere temelde 3 aşamadan oluşur.

Optimizasyon için UDE ve MDE da daha önce yapılan çalışmalardan faydalanılarak bağımsız değişkenler seçilmiş ve her bir ekstraksiyon yöntemi için deney tasarımları oluşturulmuştur. Deneysel yanıtları maksimize etmek için, üç değişkenli ve üç seviyeli YYM yöntemlerinden Yüzey Merkezli Merkezi Kompozit (YMMK) tasarımı uygulanmıştır.

3.2.3 Örneklerin Farklı Yöntemlerle Ekstraksiyonu

3.2.3.1 Ultrason Destekli Ekstraksiyon



Şekil 3.1: Ultrasonik parçalayıcı

Araştırma metaryeli olarak seçilmiş olan örneklerin UDE ile ekstraksiyonu ultrasonik bir parçalayıcı (Vibra Cell, Model VCX 750, CT, USA, 20 kHz ve 125 Watt) ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.1). Hazırlanan 0,5 gram öğütülmüş örnek, içerisinde 30 mL çözücü (su) bulunan 50 mL hacminde ceketli bir hücreye konulmuştur. Ceket içerisinden 13 L/dk akış hızında 10ºC glikol sirküle edilirken 13 mm çapında 125 Watt ultrasonik işlemcili prob ile 60 dakika ekstraksiyon yapılmıştır. Örnekler 20 kHz titreşim modunda sabit frekansta ekstrakte edilmiştir. Titreşim süresi ve titreşim aralığında sonikatörün "açık" ve "kapalı" zamanından yararlanılır. Madde miktarı, titreşim genliği ve titreşim süresi olmak üzere bağımsız değişken olarak seçilmiştir. Madde miktarı 0,3 mg, 0,5 mg ve 0,7 mg, titreşim genlikleri % 20, 25 ve 30, titreşim süreleri (açık/kapalı) 3:3, 3:5 ve 3:7 saniye olmak üzere 20 ayrı deney noktasında ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemleri limon kabuk ve yaprakları için çözücü olarak su kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktlar 0,45 µm şırınga filtresi ile filtrelenmiş ve ölçümler için analiz edilene kadar +4°Cde saklanmıştır.

3.2.3.2 Mikrodalga Destekli Ekstaksiyon



Şekil 3.2: Mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı

Limon yaprakları ve kabuklarından fenolik maddelerin eldesinde Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon cihazı (NEOS-GR, Milestone Srl, İtalya) kullanılmıştır.

Ekstraksiyon işlemi atmosferik basınç altında gerçekleştirilmiştir. Öğütülmüş limon yapraklarından 2,5 mg tartılarak, 500 mililitre hacminde balon joje içine yerleştirilmiş ve üzerine farklı miktarlarda su eklenerek mikrodalga fırın içerisine yerleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi çeşitli mikrodalga gücü, çözücü miktarı ve süreler ayarlanarak uygulanmıştır. Mikrodalga gücü olarak 100 W, 175 W ve 250W, çözücü miktarı olarak 50 mL, 75 mL ve 100 mL ve süre olarak 1 dk, 1,5 dk ve 1,75 dk seçilmiştir. Elde edilen ekstraktlar 0.45 µm şırınga filtresi ile filtrelenmiş ve kimyasal ölçümler için analiz edilene kadar +4°C'de saklanmıştır.

3.2.4 Biyoaktif Maddelerin Tayini

3.2.4.1 Toplam Fenolik Madde Miktar Tayini

Limon kabuk ve yaprak ekstraktlarının Toplam Fenolik Madde (TPM) miktarı, fenolik bileşiklerin alkali ortamda Folin-Ciocalteu çözeltisi ile verdiği rengin UV-spektrofotometrede (UV-Vis Lambda 35) ölçümü ile saptanmıştır.

TPM içeriği Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlenmiştir(Sreelatha and Padma, 2009). Bunun için 20 µL ekstrakt polipropilen bir tüp içine alınarak üzerine sırasıyla 380 µL destile su, 2 mL Folin-Ciocalteu çözeltisi ve 1600 µL Na_2CO_3 çözeltisi eklenmiş ve 30 dakika bekletildikten sonra 765 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Ölçümler 2 kez tekrarlanarak hesaplamalar yapılmıştır. Gallik asitle çizilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplama yapılmış ve sonuçlar gram kuru malzeme (KM) başına gallik asit eşdeğeri (GAE) cinsinden mg-GAE/g-KM olarak verilmiştir.

1. Toplam Flavonoid Madde Miktarı Tayini

Limon kabuk ve kuru yapraklarından elde edilen ekstraktlardaki toplam flavonoid madde (TFM) içeriği, Sakanaka ve arkadaşları (Sakanaka, Tachibana and Okada, 2005) tarafından tanımlanan kalorimetik yöntem biraz değiştirilerek belirlenmiştir. Bunun için polipropilen bir tüp içerisinde 25 µL ekstrakt üzerine 2225 µL destile su eklenmiş olup üzerine 113 µL % 5 $NaNO_2$ çözeltisi eklenerek karıştırılmış ve 6 dk beklenmiştir. Ardından 225 µL %10 $AlCl_3$ çözeltisi eklenerek karıştırılmış ve 5 dk beklenmiştir. Sonra sırasıyla 750 µL 1 M NaOH çözeltisi ve 412 µL destile su eklenmiş ve 510 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Ölçümler 3 kez tekrarlanarak hesaplamalar yapılmıştır. Kateşin çözeltisi ile çizilen kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak hesaplama yapılmış ve sonuçlar mg kateşin eşdeğeri/g kuru malzeme (mg KE/g-KM) türünden verilmiştir.

3.2.5 Antioksidan Aktivitesinin Tayini

Limon kabuk ve yapraklarından çeşitli yöntemlerle elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesinin (AA) belirlenmesi için, ekstraktların DPPH serbest radikalini süpürme etkisi kullanılmıştır. Bu yöntemde Yu ve arkadaşlarının yönteminden faydalanılmıştır. Bu yönteme göre polipropilen bir tüp içerisine 100 µL ekstrakt konulmuş ve üzerine sırasıyla 600 µL % 80

MeOH ve 3 mL DPPH çözeltisi eklenmiş ve karıştırılmıştır. 30 dk bekletildikten sonra 517 nm'de içerisinde 3 mL DPPH çözeltisi ve 700 µL % 80 MeOH çözeltisi bulunan kuvars bir tüpe karşı ölçüm yapılmıştır. Ölçümler 3 kez tekrarlanarak hesaplamalar yapılmıştır (Djeridane *et al.*, 2006)(Sakanaka, Tachibana and Okada, 2005)(Koleva *et al.*, 2002). Serbest radikalleri inhibasyon yeteneği aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır:

$$AA(\%inhibisyon)=(Akontrol-Aörnek)/Akontrol\times100 \quad (3.1)$$

A kontrol, seyreltik DPPH çözeltisinin absorbansını verirken, A örnek ise örneğin absorbansını ifade etmektedir.

3.2.6 İstatistiksel Analizler

Ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon sonuçlarının, yanıt yüzey grafikleri ve optimizasyonu Design Expert Version 12 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Yüzey yanıt metodunda genel olarak amaç; proses için önemli olan faktörlerin belirlendikten sonra bu faktörlere göre deney tasarımının oluşturulması, deneylerin yapılması ve denemeler sonucunda elde edilen verilerle yüzey yanıt grafiklerinin çizilmesi ve yorumlanmasıdır. Lineer regresyon analizi bağımlı değişkenler ve bağımsız değişkenler arasındaki bağıntının fonksiyonel olarak incelenmesi için istatistiksel bir tekniktir. Modeller tahminlendikten sonra bu modellerin ilişkiyi açıklamada ne kadar önemli parametreler olduğuna ve hassasiyet derecelerine bakılır.

Yapılan modellemelerin tahminlemesi sırasında; varyasyon katsayısının (C.V) hesaplanması, regresyon katsayısının (R^2) hesaplanması, düzeltilmiş regresyon katsayısının (R_a^2) belirlenmesi ve model uygunsuzluğunun test edilmesi (lack of fit testi) gibi farklı testler yapılır (Bezerra, 2008).

Yanıt yüzey metodunda uygulanan kuadratik denklem, Denklem 3.2 de verilmiştir.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^{k} \beta_i x_i + \sum_{i=1}^{k} \beta_i {x_i}^2 + \sum_{1 \le i \le j}^{k} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (3.2)$$

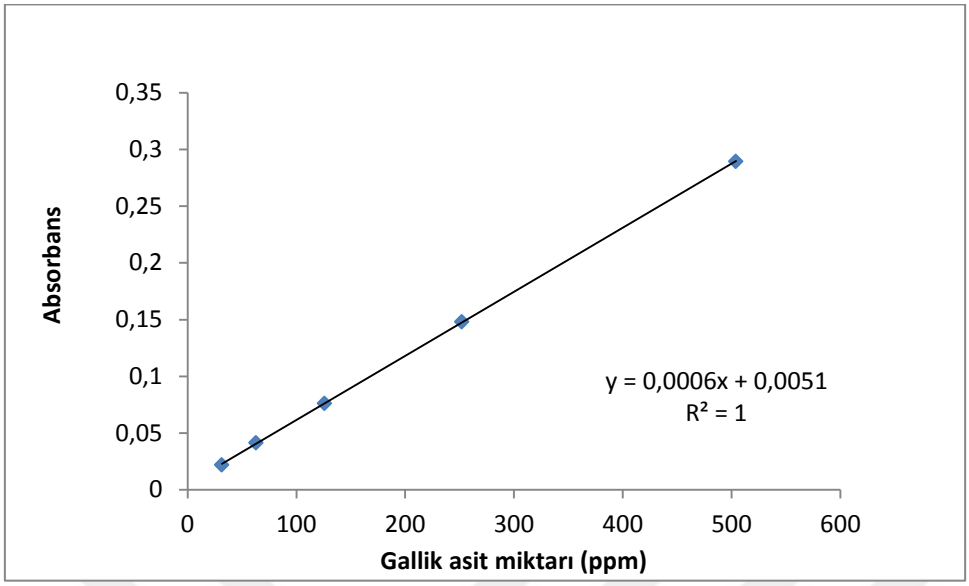
4 BULGULAR

4.1.1 Farklı Konsantrasyonlarda Gallik Asit Çözeltisinin Hazırlanması ve Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi

Gallik asitten 0,0504 g tartılarak üzerine 100 mL su ilave edilip 504 ppm sulu gallik asit solüsyonu hazırlanmıştır. Örnekler 5 farklı konsantrasyonda hazırlanmıştır. Hazırlanan 5 örnek için kalibrasyon eğrisi çizilip eğrinin denklemi ve R^2 değeri hesaplanmıştır. Eğrinin denkleminden fenolik madde miktarı gallik asit cinsinden hesaplanmıştır. Tablo 4.1 ve Şekil 4.1 söz konusu sisteme ait verileri sergilemektedir.

Tablo 4.1: Gallik asidin farklı konsantrasyonlardaki absorban değerleri.

Gallik asit (ppm)	Absorbans
504	0,2895
252	0,148
126	0,076
63	0,0415
31,5	0,022



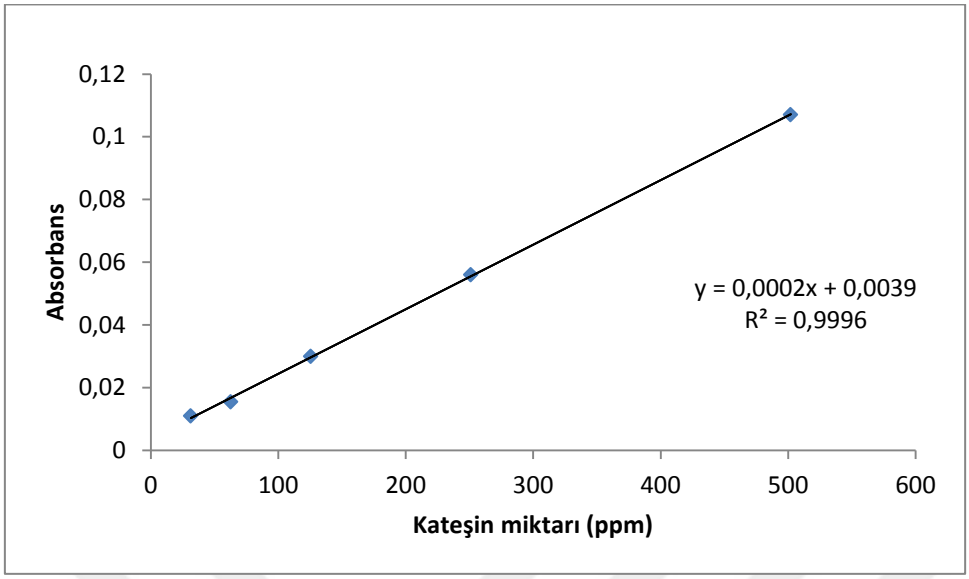
Şekil 4.1: Gallik asidin farklı konsantrasyonlardaki absorban değerleri.

4.1.2 Farklı Konsantrasyonlarda Kateşin Çözeltisinin Hazırlanması ve Kalibrasyon Eğrisinin Çizilmesi

Kateşin 0,05 g tartılıp üzerine 100 mL su eklenir. Farklı beş konsantrasyonda çözeltiler hazırlanır. Hazırlanan beş örnek için kalibrasyon eğrisi çizilip eğrinin denklemi ve R^2 değeri bulunur. Eğrinin denkleminden fenolik madde miktarı mg kateşin eşdeğerinden hesaplanır. Tablo 4.2 ve Şekil 4.2 söz konusu sisteme ait verileri sergilemektedir.

Tablo 4.2: Kateşinin farklı konsantrasyonlardaki absorban değerleri.

Kateşin (ppm)	Absorbans
502	0,107
251	0,056
125,5	0,03
62,75	0,0155
31,375	0,011



Şekil 4.2: Kateşinin farklı konsantrasyonlardaki absorban değerleri.

4.2 ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE EKSTRAKT ELDESİ VE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

UDE metodu kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon denemelerinde kullanılmış olan bağımsız değişkenler, sembolleri ve seviyeleri Tablo 4.3' de verilmiştir. Optimizasyon için gerekli deney düzeni Design Expert (8.0.7.1) paket programı kullanılarak YMMK tasarım planına göre yapılmış ve Tablo 4.4 (yaprak) ve 4.5 (kabuk)' te gösterilmiştir. Yine aynı tablolar ile deneysel sonuçlar da sunulmuştur.

Tablo 4.3: Titreşim süresi, titreşim genliği ve madde miktarı için seçilen alt ve üst limitler ve YYM'nda kodlanan değerler

Bağımsız değişkenler	Birim	Sembol	Kod ve seviye değerleri		
			-1	0	1
Titreşim süresi	sn	X_1	0,3	0,5	0,7
Titreşim genliği	%	X_2	3	5	7
Madde miktarı	mg	X_3	20	25	30

Tablo 4.4: Limon yapraklarına uygulanan UDE için YMMK ile tasarlanan deney planı ve TPM, TFM ve AA sonuçları

Bağımsız Değişkenler				**Deneysel Sonuçlar**		
	X_1	X_2	X_3	**Limon Yaprağı**		
Deney No	**sn**	**%**	**g**	**TPM(mg-GAE/g-KM)**	**TFM(mg KE/g-KM)**	**AA(%inhibasyon)**
1	5	25	0,7	17,49	3,77	42,93
2	3	30	0,7	16,24	4,09	44,04
3	5	25	0,3	17,06	4,55	60,54
4	7	25	0,5	14,78	4,23	49,61
5	5	25	0,5	18,07	4,38	19,96
6	3	20	0,3	16,49	4,3	39,99
7	5	25	0,5	16,54	4,38	37,43
8	5	25	0,5	17,69	4,23	44,37
9	7	30	0,3	19,98	5,05	38,68
10	3	30	0,3	17,82	4,05	30,63
11	5	25	0,5	18,90	4,08	27,75
12	7	20	0,7	15,71	3,99	60,08
13	7	30	0,7	18,82	4,09	28,60
14	3	25	0,5	16,49	4,38	37,37
15	5	25	0,5	14,99	4,08	57,85
16	5	30	0,5	16,44	4,98	37,37
17	5	25	0,5	16,39	4,23	37,37
18	7	20	0,3	16,39	4,8	37,04
19	5	20	0,5	15,60	4,53	60,67
20	3	20	0,7	16,29	4,20	37,83

Tablo 4.5: Limon kabuklarına uygulanan UDE için YMMK ile tasarlanan deney planı ve TPM, TFM ve AA sonuçları

Bağımsız Değişkenler				Deneysel Sonuçlar		
	X_1	X_2	X_3	Limon Kabuğu		
Deney No	sn	%	g	TPM(mg-GAE/g-KM)	TFM(mg KE/g-KM)	AA(%inhibasyon)
1	5	25	0,7	9,44	1,83	39,21
2	3	30	0,7	9,59	1,68	38,09
3	5	25	0,3	9,53	1,74	44,25
4	7	25	0,5	9,56	1,31	43,57
5	5	25	0,5	9,73	2,05	33,29
6	3	20	0,3	9,24	1,98	39,35
7	5	25	0,5	9,64	1,83	38,29
8	5	25	0,5	9,49	2,43	39,26
9	7	30	0,3	10,23	3,05	33,83
10	3	30	0,3	9,40	2,55	33,00
11	5	25	0,5	9,9	1,8	34,79
12	7	20	0,7	9,35	1,09	43,91
13	7	30	0,7	9,57	2,05	33,88
14	3	25	0,5	9,49	2,43	39,26
15	5	25	0,5	9,24	1,84	44,78
16	5	30	0,5	9,54	1,83	38,14
17	5	25	0,5	9,59	1,83	38,38
18	7	20	0,3	9,54	1,68	38,53
19	5	20	0,5	9,35	2,06	44,49
20	3	20	0,7	9,54	1,98	38,87

Verilen şartlarda elde edilen TPM, TFM ve yüzde AA için ANOVA analizleri sırasıyla Tablo 4.6, Tablo 4.7 ve Tablo 4.8' de verilmiştir. Anlamlılık için p değeri 0,05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiştir. Regresyon (bağlantı) analizleri % 95 güven aralığındadır. Bir diğer önemli parametre ise varyasyon katsayısıdır (CV). Standart sapmanın (SD) ortalamaya oranını ifade etmektedir (Beg, 2003). Tahmin edilen korelasyon katsayısının negatif çıkması ve varyans katsayısının da % 10'dan büyük çıkması modelden hesaplanan değerlerle deneysel değerlerin uyum sağlamadığı görülmektedir. Yeterli hassasiyet (Adequate precision-AP) değeri ise sinyalin gürültüye oranının ölçümüdür ve bu değerin 4'ten büyük olması beklenir. (Simpson, 2001)

Tablo 4.6: Limon yapraklarına uygulanan UDE için TPM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	Kareler toplamı	Dağılma faktörü	Kareler ortalaması	F değeri	p-değeri
Model (TPM)	33,48	9	3,72	232,01	< 0,0001
X_1-Titreşim süresi	0,0032	1	0,0032	0,1989	0,6651
X_2-Titreşim genliği	0,0218	1	0,0218	1,36	0,2709
X_3-Madde miktarı	23,84	1	23,84	1487,11	< 0,0001
X_1X_2	2,05	1	2,05	127,74	< 0,0001
X_1X_3	2,45	1	2,45	152,92	< 0,0001
X_2X_3	0,0868	1	0,0868	5,41	0,0423
X_1^2	0,0399	1	0,0399	2,49	0,1457
X_2^2	3,36	1	3,36	209,28	< 0,0001
X_3^2	0,0109	1	0,0109	0,6773	0,4297
Kalıntı	0,1603	10	0,016		
Model Uygunsuzluğu	0,122	5	0,0244	3,18	0,1148
Saf Hata	0,0383	5	0,0077		
Toplam	33,64	19			

Tablo 4.7: Limon yapraklarına uygulanan UDE için TFM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (TFM)	1,65	9	0,1838	4,65	0,0125
X_1-Titreşim süresi	0,129	1	0,129	3,26	0,1011
X_2-Titreşim genliği	0,0202	1	0,0202	0,5118	0,4907
X_3-Madde miktarı	0,6797	1	0,6797	17,18	0,002
X_1X_2	0,0638	1	0,0638	1,61	0,233
X_1X_3	0,3673	1	0,3673	9,29	0,0123
X_2X_3	2,22E-16	1	2,22E-16	5,61E-15	1
X_1^2	0,0197	1	0,0197	0,4991	0,496
X_2^2	0,3669	1	0,3669	9,27	0,0124
X_3^2	0,1442	1	0,1442	3,65	0,0853
Kalıntı	0,3956	10	0,0396		
Model Uygunsuzluğu	0,3056	5	0,0611	3,4	0,1029
Saf Hata	0,09	5	0,018		
Toplam	2,05	19			

Tablo 4.8: Limon yapraklarına uygulanan UDE için AA üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu**.**

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (AA)	3527,6	9	391,96	200,91	< 0,0001
X_1-Titreşim süresi	12,09	1	12,09	6,2	0,032
X_2-Titreşim genliği	40,42	1	40,42	20,72	0,0011
X_3-Madde miktarı	2949,94	1	2949,94	1512,11	< 0,0001
X_1X_2	26,67	1	26,67	13,67	0,0041
X_1X_3	15,55	1	15,55	7,97	0,0181
X_2X_3	20,23	1	20,23	10,37	0,0092
X_1^2	80,84	1	80,84	41,44	< 0,0001
X_2^2	149,98	1	149,98	76,88	< 0,0001
X_3^2	29,16	1	29,16	14,95	0,0031
Kalıntı	19,51	10	1,95		
Model Uygunsuzluğu	14,55	5	2,91	2,94	0,131
Saf Hata	4,95	5	0,9909		
Toplam	3547,11	19			

Tablo 4.4'e göre, yanıt ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi göstermek için TPM, TFM ve AA için türetilen modellerin tamamı önemli ((p<0,0001) ve (p<0,05))bulunmuştur. ANOVA sonuçları aynı zamanda, deneysel veriler ile hesaplanan modellerin 0,9952, 0,807 ve 0,9945 korelasyon katsayılarına (R^2) sahip olduğunu göstermiştir(Tablo 4.9). Ayrıca limon yapraklarından elde edilen TPM için X_3, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_2^2 anlamlı (p<0,05) parametreler iken X_1, X_2, X_1^2, X_3^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur(Tablo 4.6). TFM için X_3, X_1X_3 ve X_2^2 anlamlı (p<0,05) parametreler iken, X_1, X_2, X_1X_2, X_2X_3, X_1^2 ve X_3^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur (Tablo 4.7). AA için ise X_1, X_2, X_3, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_2^2, X_1^2 ,X_3^2 anlamlı (p<0.05) parametreler olarak bulunmuştur (Tablo 4.8).

Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan YYM yaklaşımı mandalina yapraklarından UDE vasıtasıyla elde edilen AA, TPM ve TFM için uygun olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.9: Limon yapraklarının UDE ile ekstraksiyonunda her bir sistem için (TPM, TFM ve AA) için çeşitli istatistiksel parametrelerin özeti

Bağımlı Değişkenler	R^2	R_a^2	S.D.	%C.V.	A.P.
TPM	0,9952	0,9909	0,1266	0,7488	57,7604
TFM	0,807	0,6333	0,1989	4,6	8,9877
AA	0,9945	0,9896	1,4	2,8	49,7235

Tablo 4.7'da korelasyon katsayıları (R^2 ve R_a^2), standart sapma, varyans ve yeterli hassasiyet gösterilmektedir. Bu durumda, yeterli hassasiyet oranı bütün modeller için uygun olduğunu göstermektedir. YYM kullanılarak, limon yapraklarından elde edilen AA, TPM ve TFM için kuadratik modeller sırasıyla verilmiştir. Limon yapraklarından AA, TPM ve TFM için bulunan kuadratik denklemler Denklem 4.1, Denklem 4.2 ve Denklem 4.3 te verilmiştir.

$$TPM = +16{,}45 - 0{,}0179X_1 - 0{,}0467X_2 - 1{,}54X_3 + 0{,}5060X_1X_2 - 0{,}5536X_1X_3 - 0{,}1042X_2X_3 - 0{,}1205X_1^2 + 1{,}10X_2^2 - 0{,}0628X_3^2 \quad (4.1)$$

$$TFM = +4{,}29 + 0{,}1136X_1 + 0{,}0450X_2 - 0{,}2607X_3 + 0{,}0893X_1X_2 - 0{,}2143X_1X_3 + 0{,}0000X_2X_3 - 0{,}0847X_1^2 + 0{,}3653X_2^2 - 0{,}2290X_3^2 \quad (4.2)$$

$$AA = +45{,}13 + 1{,}10X_1 + 2{,}01X_2 + 17{,}18X_3 + 1{,}83X_1X_2 - 1{,}39X_1X_3 - 1{,}59X_2X_3 + 5{,}42X_1^2 + 7{,}39X_2^2 - 3{,}26X_3^2 \quad (4.3)$$

Tablo 4.10: Limon kabuklarına uygulanan UDE için TPM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (TPM)	0,8884	9	0,0987	16,63	< 0,0001
X_1-Titreşim süresi	0,1515	1	0,1515	25,52	0,0005
X_2-Titreşim genliği	0,0021	1	0,0021	0,3553	0,5644
X_3-Madde miktarı	0,3231	1	0,3231	54,43	< 0,0001
X_1X_2	0,0772	1	0,0772	13	0,0048
X_1X_3	0,2637	1	0,2637	44,41	< 0,0001
X_2X_3	0,0071	1	0,0071	1,19	0,3002
X_1^2	0,0198	1	0,0198	3,34	0,0974
X_2^2	0,0034	1	0,0034	0,566	0,4692
X_3^2	0,0609	1	0,0609	10,26	0,0094
Kalıntı	0,0594	10	0,0059		
Model Uygunsuzluğu	0,046	5	0,0092	3,45	0,1
Saf Hata	0,0133	5	0,0027		
Toplam	0,9478	19			

Tablo 4.11: Limon kabuklarına uygulanan UDE için TFM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (TFM)	0,8884	9	0,0987	16,63	< 0,0001
X_1-Titreşim süresi	0,1515	1	0,1515	25,52	0,0005
X_2-Titreşim genliği	0,0021	1	0,0021	0,3553	0,5644
X_3-Madde miktarı	0,3231	1	0,3231	54,43	< 0,0001
X_1X_2	0,0772	1	0,0772	13	0,0048
X_1X_3	0,2637	1	0,2637	44,41	< 0,0001
X_2X_3	0,0071	1	0,0071	1,19	0,3002
X_1^2	0,0198	1	0,0198	3,34	0,0974
X_2^2	0,0034	1	0,0034	0,566	0,4692
X_3^2	0,0609	1	0,0609	10,26	0,0094
Kalıntı	0,0594	10	0,0059		
Model Uygunsuzluğu	0,046	5	0,0092	3,45	0,1
Saf Hata	0,0133	5	0,0027		
Toplam	0,9478	19			

Tablo 4.12: Limon kabuklarına uygulanan UDE için AA üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (AA)	275,77	9	30,64	117,85	< 0,0001
X_1-Titreşim süresi	0,2406	1	0,2406	0,9256	0,3587
X_2-Titreşim genliği	0,5643	1	0,5643	2,17	0,1715
X_3-Madde miktarı	273,1	1	273,1	1050,4	< 0,0001
X_1X_2	0	1	0	0	10,000
X_1X_3	0,0423	1	0,0423	0,1627	0,6952
X_2X_3	0,1692	1	0,1692	0,6508	0,4386
X_1^2	0,0283	1	0,0283	0,1087	0,7485
X_2^2	1,02	1	1,02	3,94	0,0752
X_3^2	0,0988	1	0,0988	0,3798	0,5515
Kalıntı	2,6	10	0,26		
Model Uygunsuzluğu	1,74	5	0,348	2,02	0,229
Saf Hata	0,8601	5	0,172		
Toplam	278,37	19			

Tablo 4.5'e göre, yanıt ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi göstermek için AA, TPM ve TFM için türetilen modellerin tamamı anlamlı ($p<0,0001$) bulunmuştur. ANOVA sonuçları aynı zamanda, deneysel veriler ile hesaplanan modellerin 0,9345, 0,9274 ve 0,9907 korelasyon katsayılarına (R^2) sahip olduğunu göstermiştir.(Tablo 4.13) Ayrıca limon kabuklarından elde edilen TPM için X_1, X_3, X_1X_2, X_2^2 anlamlı ($p<0,05$) parametreler iken X_1, X_2, X_1^2 X_3^2 X_1^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur (Tablo 4.10). TFM için X_2, X_3, X_1X_2 X_2X_3 ve X_2^2 anlamlı ($p<0,05$) parametreler iken, X_1, X_1X_3, X_3^2 anlamsız parametreler

olarak bulunmuştur (Tablo 4.11). AA için ise X_3 anlamlı ($p<0,05$) parametre iken X_1, X_2, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_1^2 X_2^2 ve X_3^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur (Tablo 4.12).

Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan YYM yaklaşımı limon kabuklarından UDE vasıtasıyla elde edilen TPM, TFM ve AA için uygun olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.13: Limon kabuklarının UDE ile ekstraksiyonunda her bir sistem için (TPM, TFM ve AA) için çeşitli istatistiksel parametrelerin özeti.

Bağımlı Değişkenler	R^2	R_a^2	S.D.	%C.V	A.P.
TPM	0,9345	0,8756	0,0789	0,8256	17,004
TFM	0,9274	0,8621	0,1539	8,01	16,9408
AA	0,9907	0,9823	0,5099	1,31	31,4463

Tablo 4.13'de korelasyon katsayıları (R^2 ve R_a^2), standart sapma, varyans ve yeterli hassasiyet gösterilmektedir. Bu durumda, yeterli hassasiyet (A.P.) oranı bütün modeller için uygun olduğunu göstermektedir. YYM kullanılarak, limon yapraklarından elde edilen AA, TPM ve TFM için kuadratik modeller sırasıyla verilmiştir. Limon kabuklarından AA, TPM ve TFM için bulunan kuadratik denklemler Denklem 4.4, Denklem 4.5 ve Denklem 4.6' da verilmiştir.

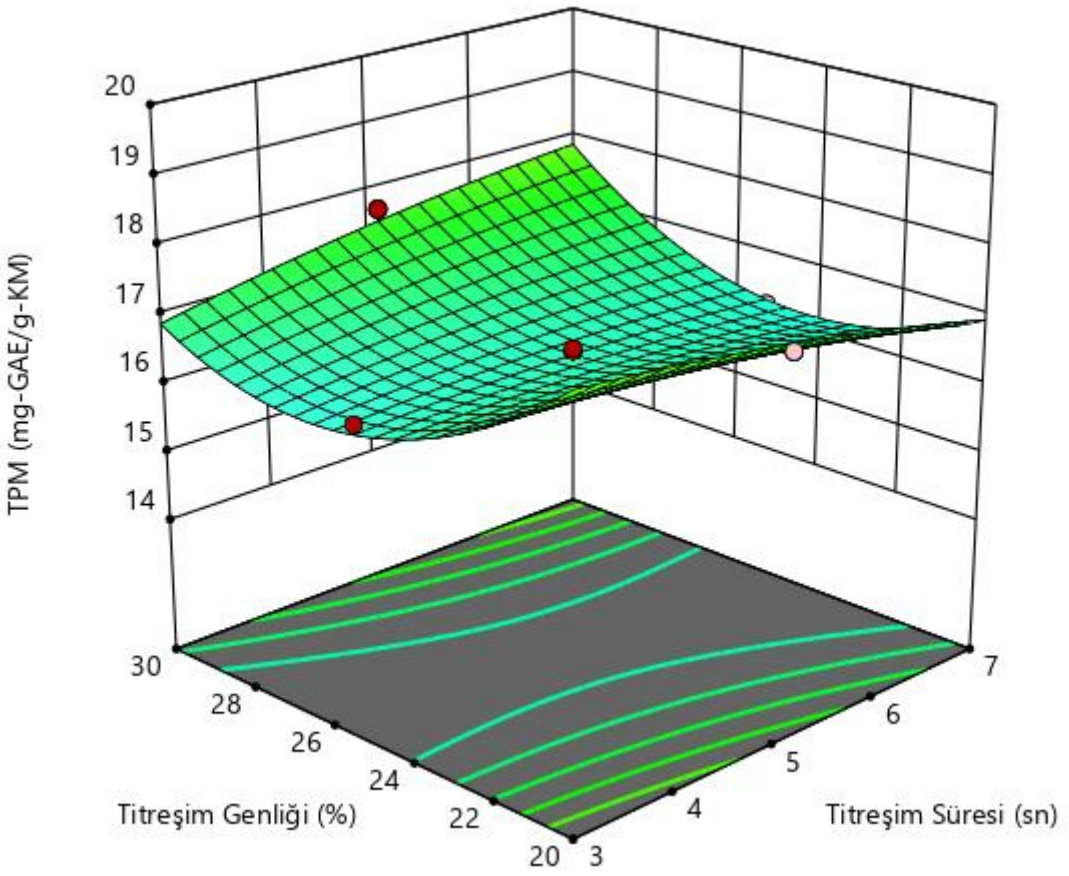
$$TPM = +9,54 + 0,1231X_1 + 0,0145X_2 - 0,1798X_3 + 0,0982X_1X_2 - 0,1815X_1X_3 - 0,0298X_2X_3 - 0,0872X_1^2 - 0,0372X_2^2 + 0,1466X_3^2 \quad (4.4)$$

$$TFM = +1,82 + 0,1021X_1 + 0,1921X_2 - 0,3436X_3 + 0,2009X_1X_2 + 0,1027X_1X_3 - 0,2723X_2X_3 + 0,0159X_1^2 + 0,3159X_2^2 - 0,1355X_3^2 \quad (4.5)$$

$$AA = +16,90 + 0,2094X_1 - 0,3207X_2 + 7,05X_3 + 0,0000X_1X_2 - 0,0727X_1X_3 + 0,1454X_3 + 0,1014X_1^2 + 0,6104X_2^2 - 0,1895X_3^2 \quad (4.6)$$

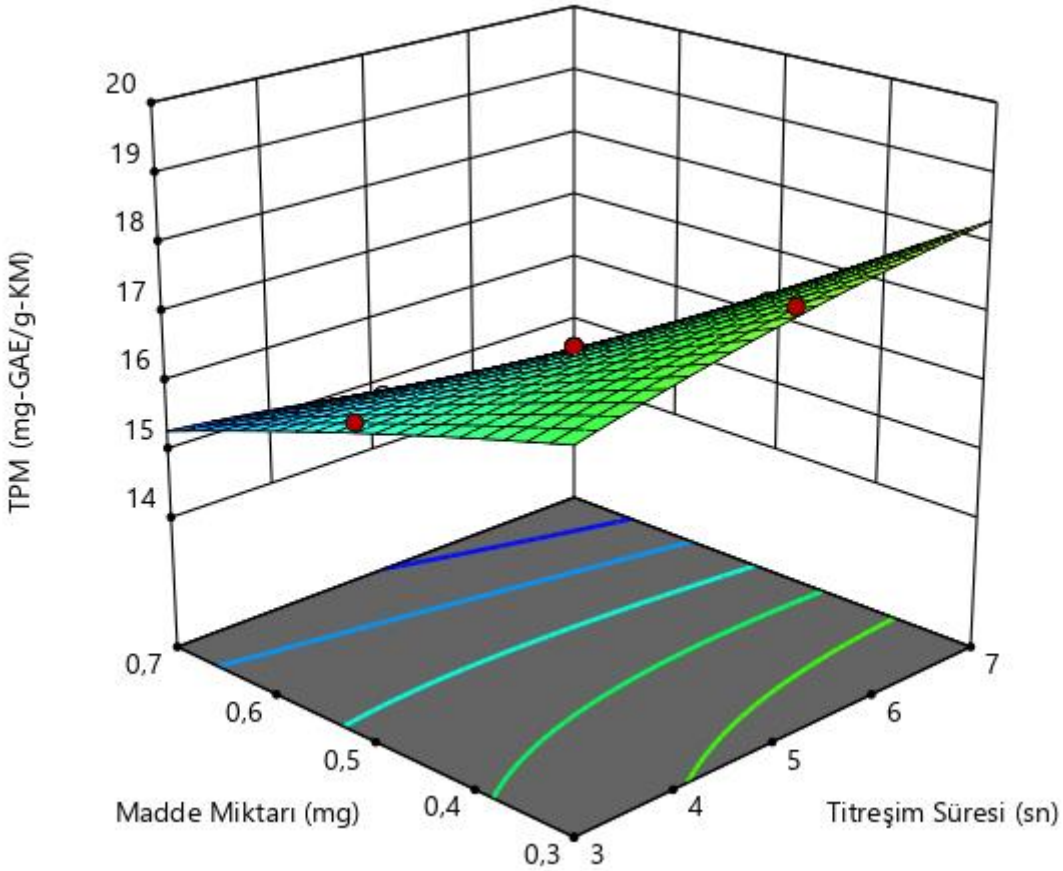
UDE de Limon yaprakları için yanıt yüzey eğrileri onların yanıt üzerine etkisi arasındaki etkileşimi tahmin etmek için, üç boyutlu yanıt yüzey eğrileri Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5 sırasıyla Denklem 4.1, Denklem 4.2, Denklem 4.3'e göre çizilmiştir.

Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5, limon yapraklarından su ile yapılan UDE de TPM için Yanıt Yüzey Metodu grafiklerini göstermektedir.



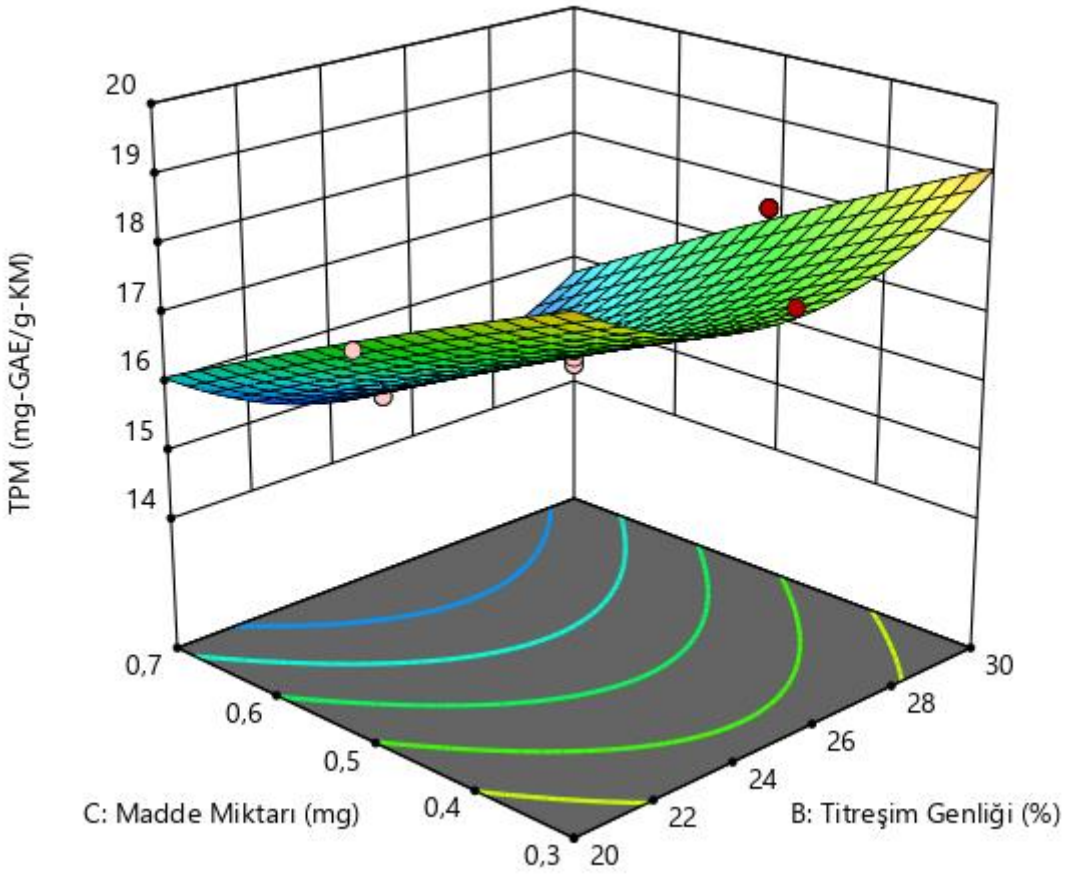
Şekil 4.3: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi

Şekil 4.3'e göre madde miktarı sabit tutulduğunda TPM miktarının titreşim süresiyle arttığı görülmüştür. Aynı grafikten titreşim genliğinin artmasıyla TPM miktarında önce hafif bir azalma genlik % 25 olduğu noktalarda minimum değeri aldıktan sonra yine arttığı görülmektedir.



Şekil 4.4: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde, titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi

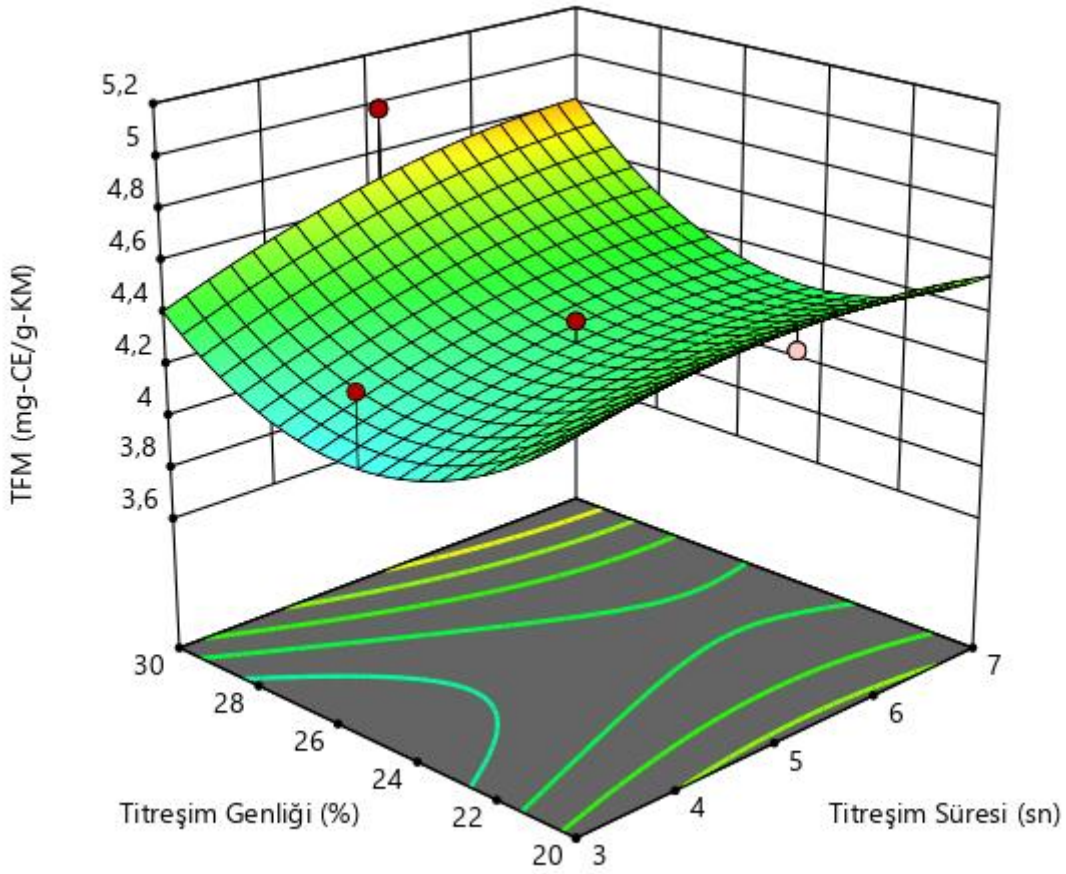
Şekil 4.4'de ekstrakte edilen TPM miktarının titreşim süresiyle arttığı görülmüştür. Aynı grafikten madde miktarının artmasıyla TPM miktarında azalma görülmektedir.



Şekil 4.5: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi

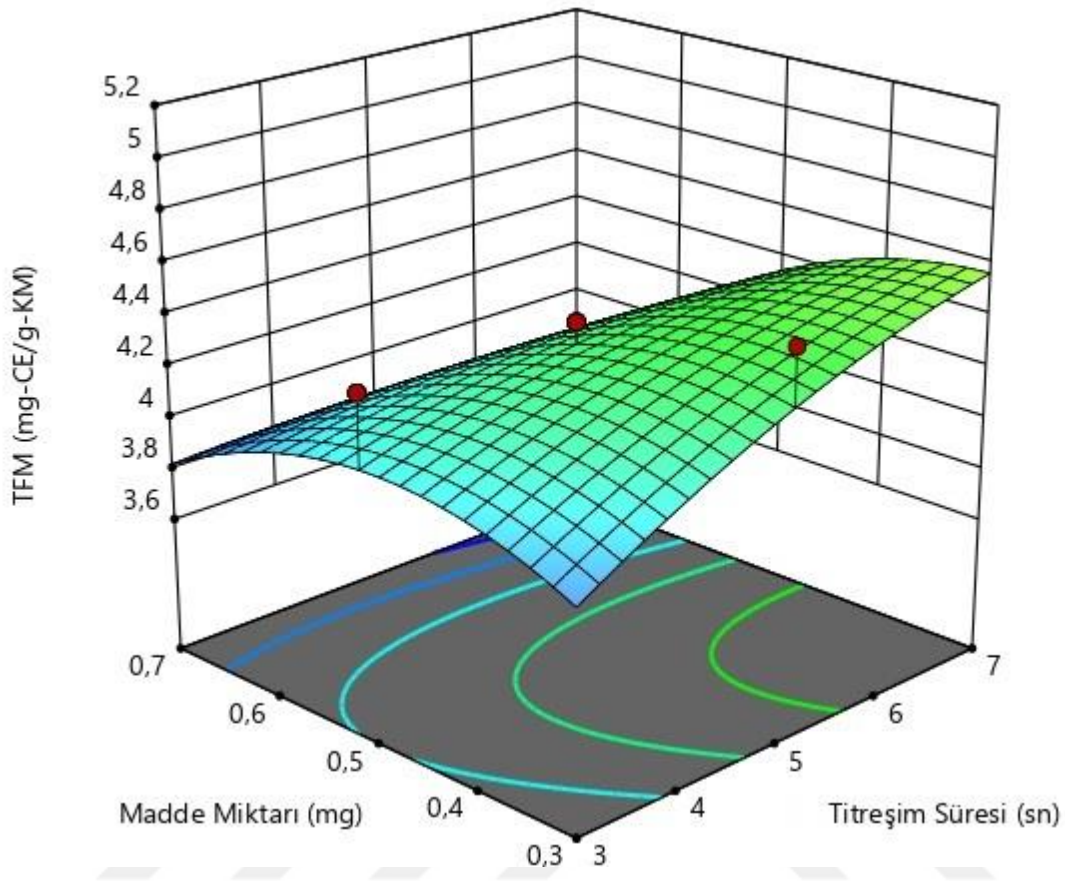
Şekil 4.5' e göre titreşim süresi sabit tutulduğunda madde miktarının artması TPM miktarının azalmasına sebep olmuştur. Aynı grafikten görüldüğü gibi titreşim genliğinin artmasıyla önce TPM azalmış genlik % 25 olduğunda minimum değere ulaştıktan sonra artmaya devam etmiştir.

Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8, limon yapraklarından su ile yapılan UDE de TFM için Yanıt Yüzey Metodu grafiklerini göstermektedir.



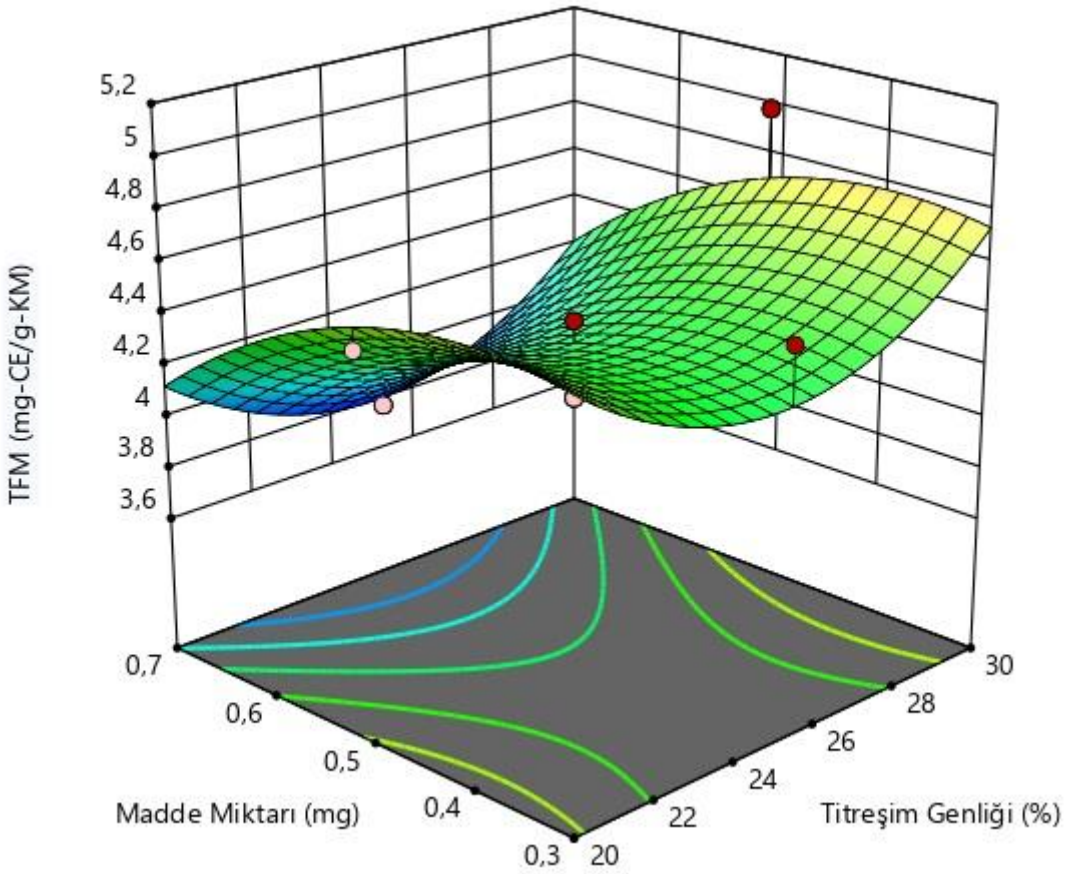
Şekil 4.6: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi

Şekil 4.6' da madde miktarı sabit tutulduğunda titreşim süresinin artmasıyla TFM miktarı artmıştır. Aynı grafikten görüldüğü gibi titreşim genliğinin artmasıyla önce TFM azalmış, genlik % 25 olduğunda minimum değere ulaştıktan sonra artmaya devam etmiştir.



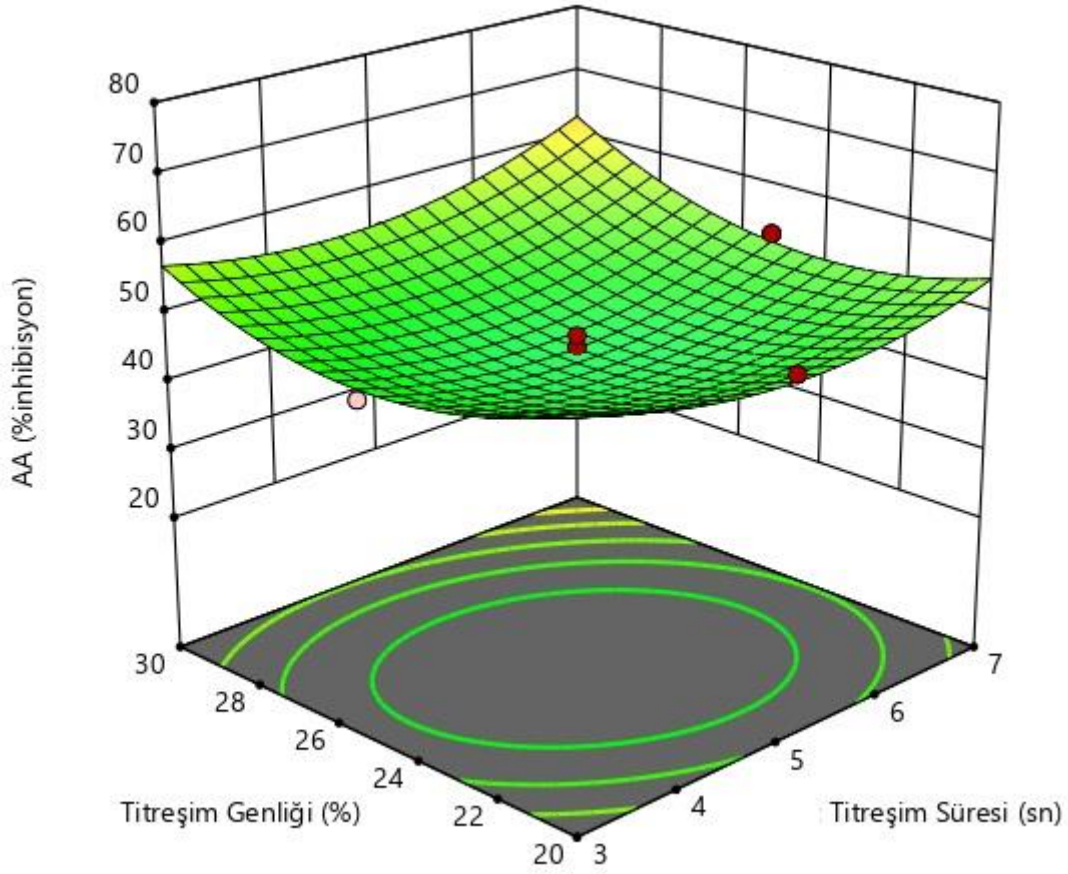
Şekil 4.7: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde, titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi

Şekil 4.7' de titreşim genliği sabit tutulduğunda titreşim süresinin artmasıyla TFM miktarı artmıştır. Aynı grafikten görüldüğü gibi madde miktarının 0,58 mg kadar artmasıyla TFM artmış daha sonra hafif bir azalma göstermiştir.



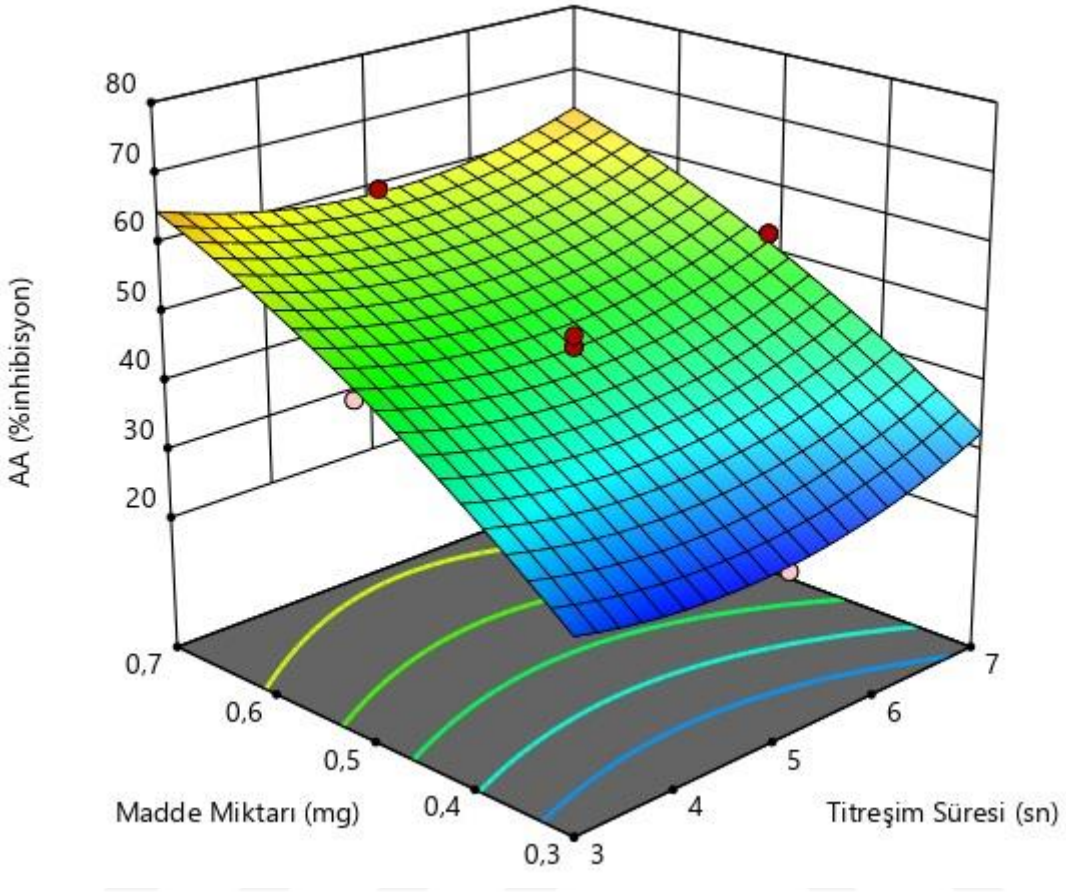
Şekil 4.8: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi

Şekil 4.8' de titreşim süresi sabit tutulduğunda titreşim genliğinin artmasıyla TFM miktarı önce azalmış % 25 genlikte minimum değere ulaştıktan sonra tekrar artmaya başlamıştır. Aynı grafikten görüldüğü gibi madde miktarının 0,52 mg kadar artmasıyla TFM artmış daha sonra hafif bir azalma göstermiştir.



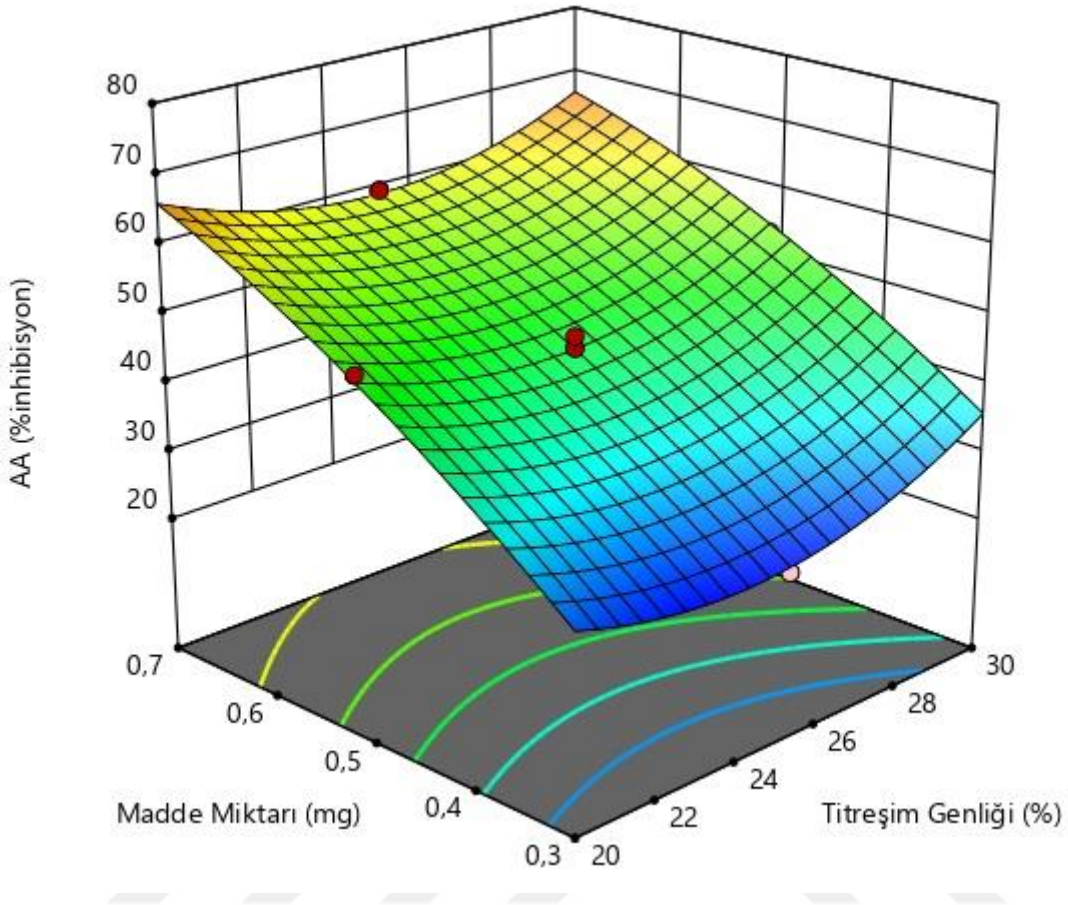
Şekil 4.9: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen yüzde AA üzerine etkisi

Şekil 4.9' da madde miktarı sabit tutulduğunda titreşim genliğinin artmasıyla yüzde AA miktarı artmıştır. Aynı grafikten görüldüğü gibi titreşim süresinin artmasıyla yüzde AA miktarı artış göstermiştir



Şekil 4.10: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen yüzde AA üzerine etkisi

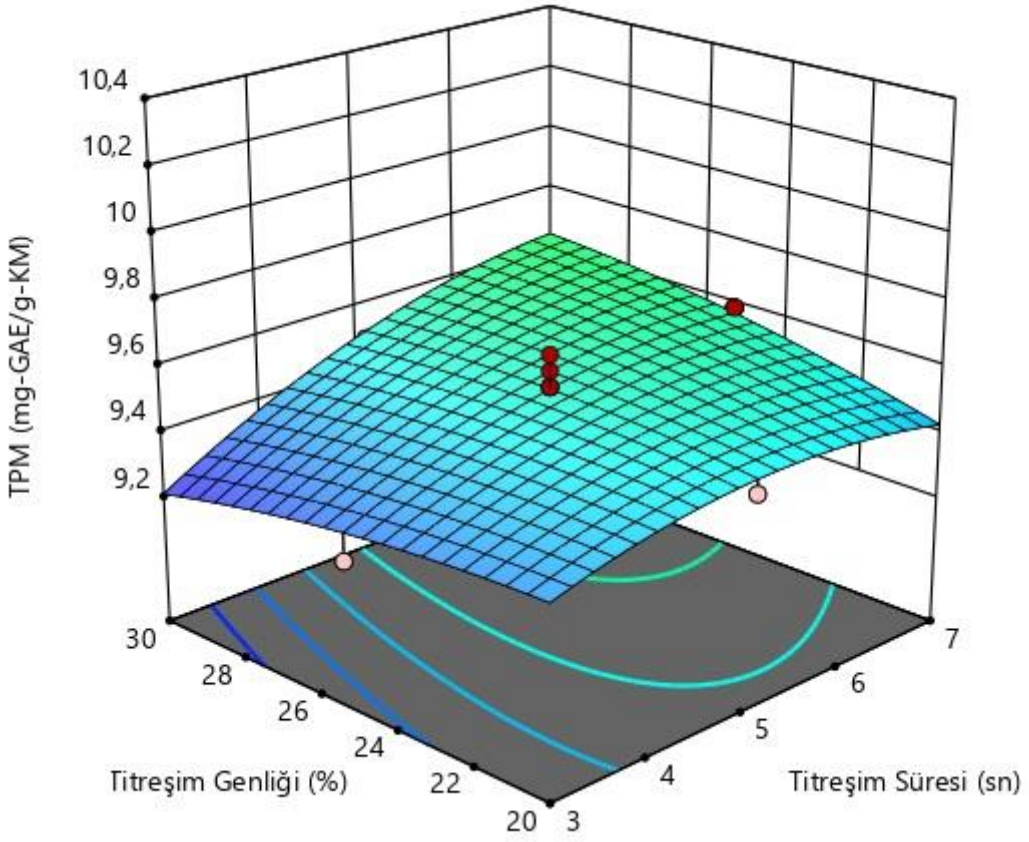
Şekil 4.10' da titreşim genliği sabit tutulduğunda titreşim süresinin artmasıyla yüzde AA miktarı artmıştır. Aynı grafikten görüldüğü gibi madde miktarının artmasıyla yüzde AA miktarı artış göstermiştir.



Şekil 4.11: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen AA yüzdesine etkisi

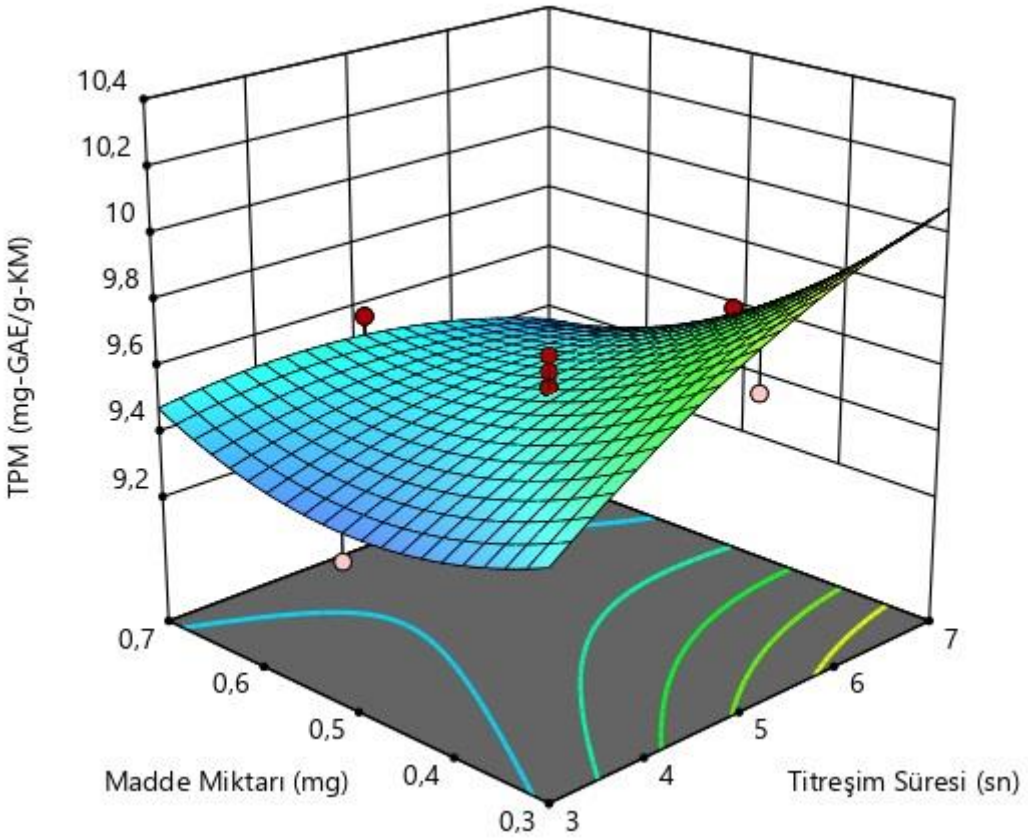
Şekil 4.11'den de görüldüğü gibi madde miktarının ve titreşim genliğinin artması ile yüzde antioksidan aktivitesi artış göstermiştir.

UDE de limon kabukları için Denklem 4.4, Denklem 4.5 ve Denklem 4.6 kullanılarak limon kabukları için yanıt yüzey grafikleri çizilmiştir.



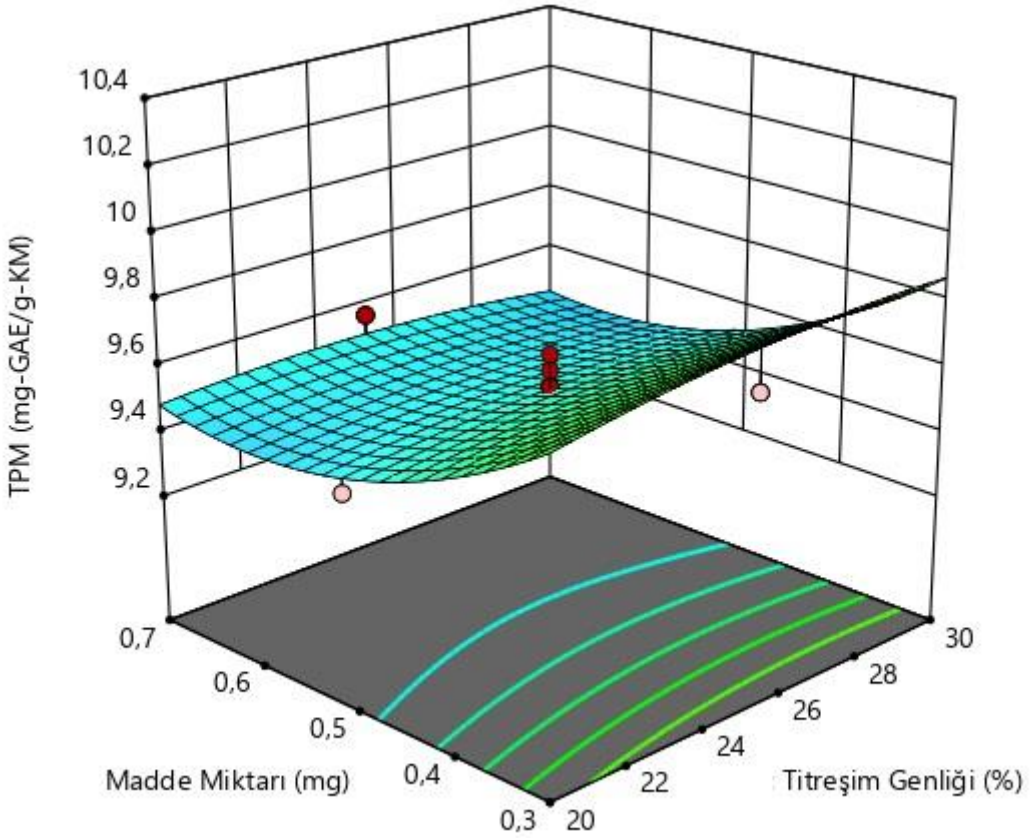
Şekil 4.12: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi

Şekil 4.12'de limon kabuklarından UDE ile TPM ekstraksiyonunda titreşim genliği veya titreşim süresinin artması TPM miktarını arttırmıştır.



Şekil 4.13: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde, titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi

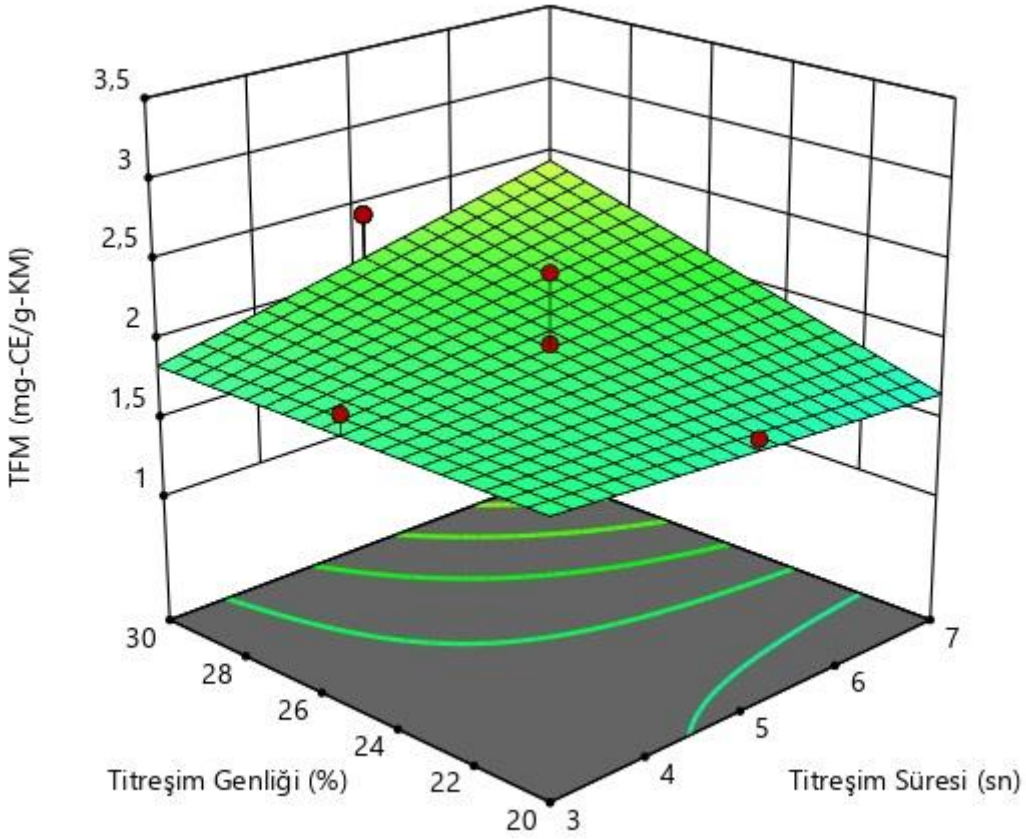
Şekil 4.13'de madde miktarının 0,45 mg kadar artması TPM miktarında çok az azalma göstermiş olup daha sonra TPM miktarında artış gözlenmiştir. Aynı şekilden titreşim süresinin artmasıyla da TPM miktarı arttığı gözlenmiştir.



Şekil 4.14: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi

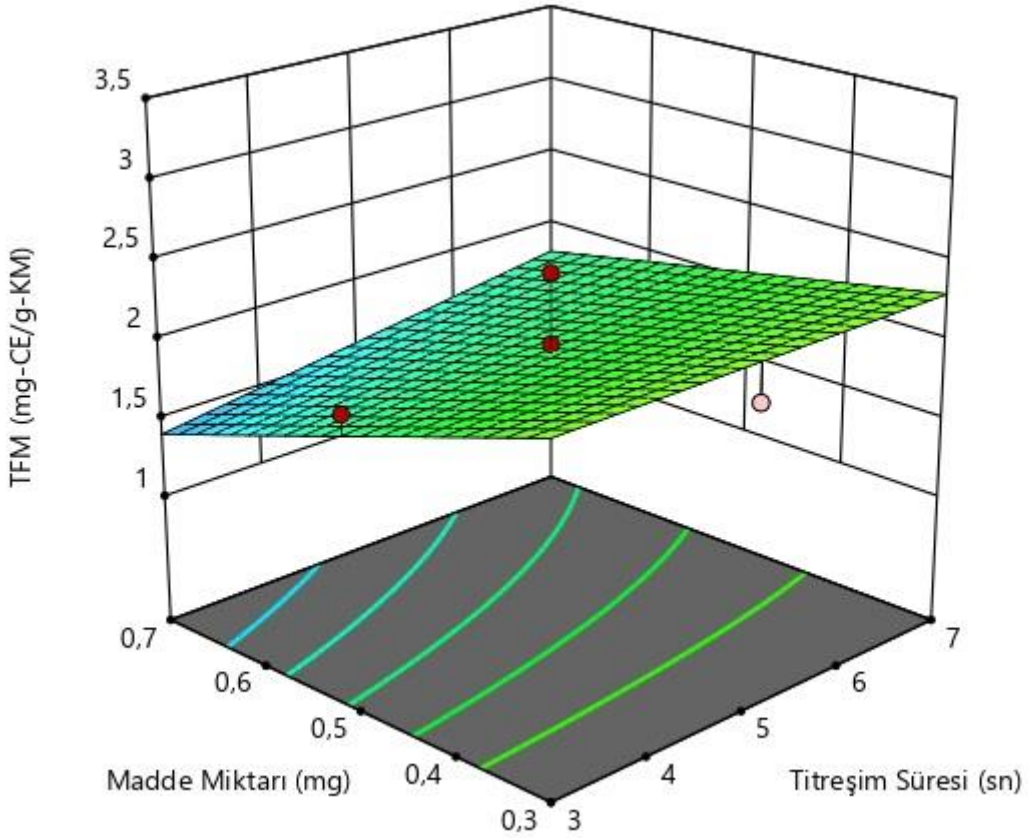
Şekil 4.14'de madde miktarının 0,45 mg kadar artmasıyla TPM miktarında önce azalma daha sonra artış göstermiştir. Aynı şekilden titreşim süresinin artmasıyla TPM miktarında artış gözlenmiştir.

Şekil 4.15, Şekil 4.16 ve Şekil 4.17 ultrason destekli ekstraksiyonla limon kabuklarından ekstrakte edilen TFM miktarlarının yanıt yüzey grafikleri görülmektedir.



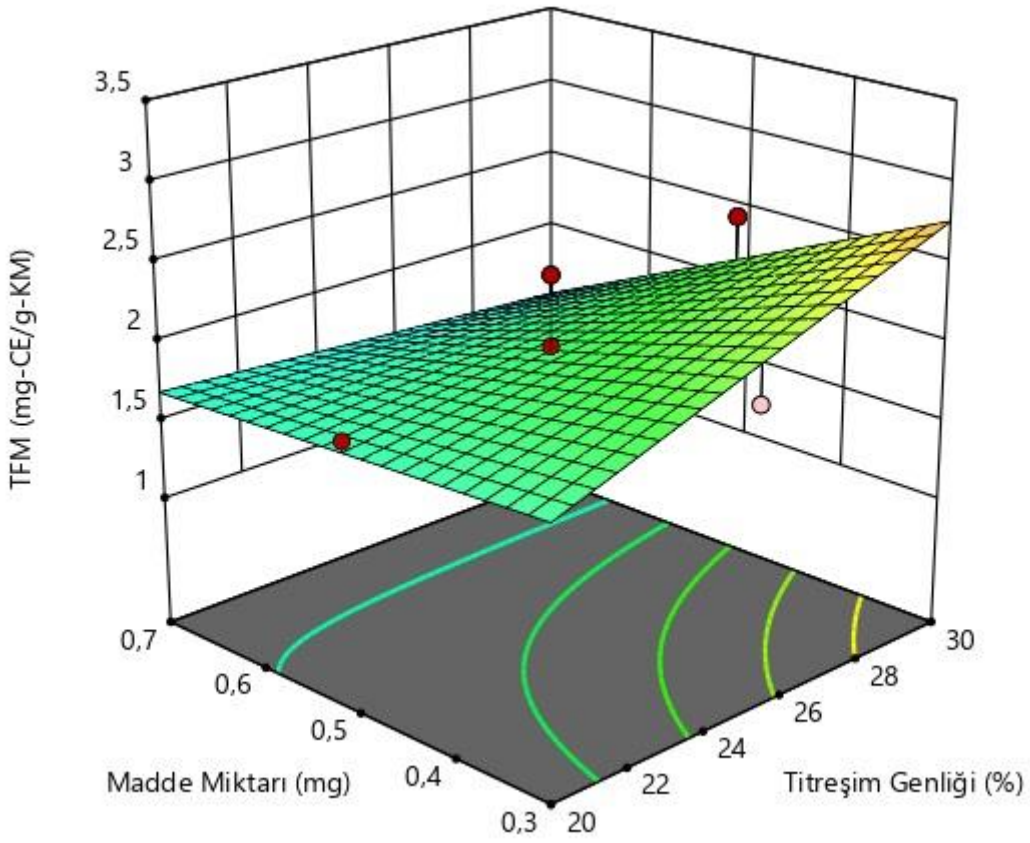
Şekil 4.15: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi

Şekil 4.15'de titreşim süresinin artmasıyla TFM miktarında artış gözlenmiştir. Aynı şekilden titreşim genliğinin de artmasıyla TFM miktarında artış gözlenmiştir.



Şekil 4.16: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi.

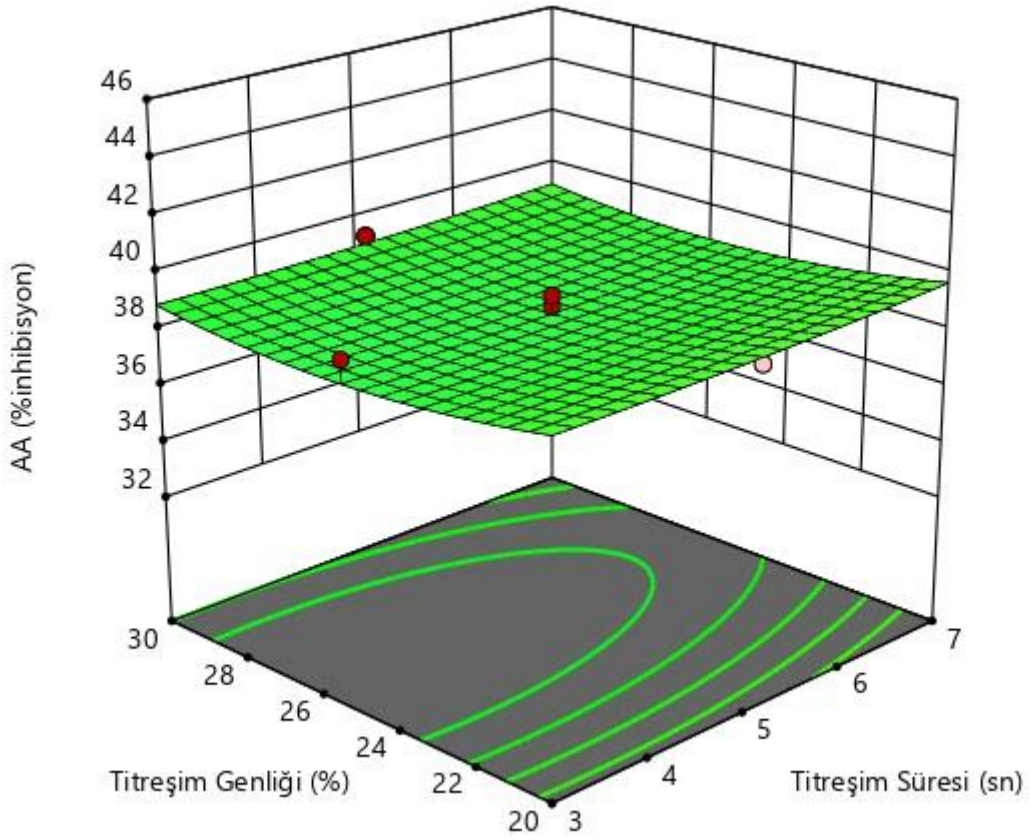
Şekil 4.16 da titreşim süresi artarken TFM miktarının arttığı fakat madde miktarı artarken TFM miktarının azaldığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.17: Limon yapraklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi.

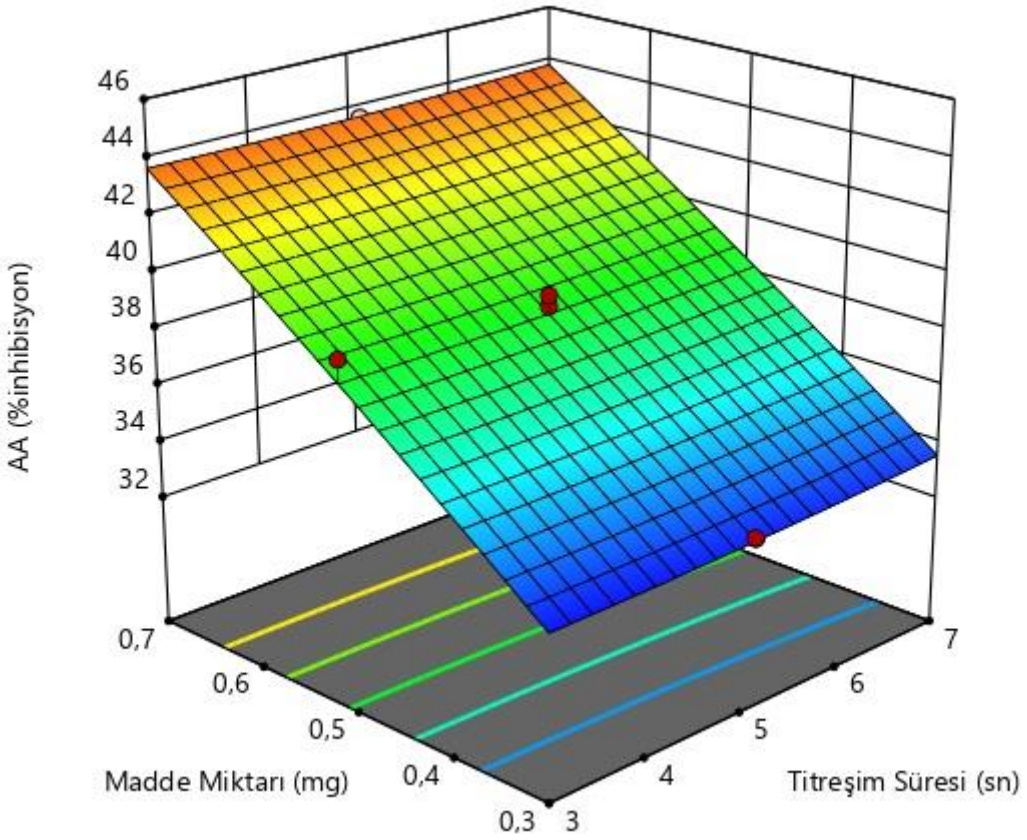
Şekil 4.17 de madde miktarının ve titreşim genliğinin arttırılması ekstrakte edilen TFM miktarını arttırmıştır.

Şekil 4.18, Şekil 4.19 ve Şekil 4.20 ultrason destekli ekstraksiyonla limon kabuklarından ekstrakte edilen yüzde AA (%inhibisyon) miktarlarının yanıt yüzey grafikleri görülmektedir.



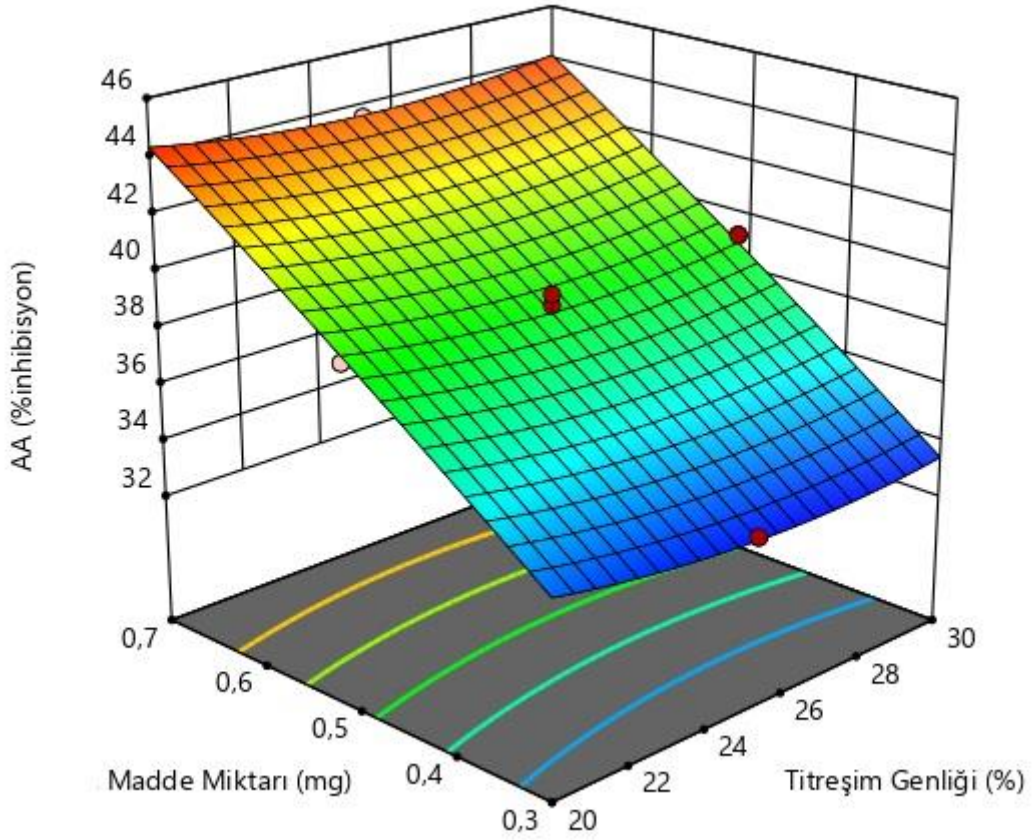
Şekil 4.18: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit madde miktarında, titreşim süresine bağlı olarak titreşim genliğinin ekstrakte edilen AA yüzdesine etkisi.

Şekil 4.18'de madde miktarı sabit tutulduğunda titreşim süresi veya titreşim genliğinin artırılması ile yüzde antioksidan aktivitesinin (AA) arttığı görülmüştür.



Şekil 4.19: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim genliğinde, titreşim süresine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen AA yüzdesine etkisi.

Şekil 4.19'da madde miktarının artmasıyla yüzde antioksidan aktivitesi yüksek oranda arttığı görülmüştür. Aynı şekilden titreşim süresinin artışı yüzde antioksidan aktivitesini daha düşük miktarda artırdığı görülmüştür.



Şekil 4.20: Limon kabuklarından UDE ile ekstraksiyonunda sabit titreşim süresinde, titreşim genliğine bağlı olarak madde miktarının ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi.

Şekil 4.20'de madde miktarının artmasıyla yüzde antioksidan aktivitesinin yüksek oranda arttığı görülmüştür. Bunun yanında titreşim genliğinin artışı ile yüzde antioksidan aktivitesinin daha düşük miktarda arttığı görülmüştür.

Ayrıca limon kabuk ve yaprakları için YYM yapılan optimizasyonda en yüksek TPM, TFM ve AA değerleri optimum nokta olarak seçilmiş ve optimum nokta bulunmuştur.

Tablo 4.14: UDE ekstraksiyonda limon yaprakları için optimum noktayı gösteren tablo.

Titreşim süresi	Titreşim genliği	Madde miktarı	TPM	TFM	AA
sn	%	mg	mg-GAE/g-KM	mg-CE/g-KM	%
7	30	0,376	19,215	5,029	52,824

Tablo 4.15: UDE ekstraksiyonda limon kabukları için optimum noktayı gösteren tablo.

Titreşim süresi	Titreşim genliği	Madde miktarı	TPM	TFM	AA
sn	%	mg	mg-GAE/g-KM	mg-CE/g-KM	%
7	30	0,434	9,796	2,618	37,452

4.3 MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYON İLE EKSTRAKT ELDESİ VE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN İÇERİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Mikrodalga destekli esktraksiyon için bağımsız değişken olarak seçilen 3 faktör ve YYM ile belirlenmiş seviyeleri (alt, orta ve üst) ve kodlanmış değerleri Tablo 4.16'da verilmiştir. Optimizasyon için gerekli deney düzeni Design Expert 12 paket programı (Deneme Sürümü)

kullanılarak YMMK deneme planı ile Tablo 4.17(yaprak) ve Tablo 4.18(kabuk) de gösterilmiştir. Design Expert programı kullanılarak, AA, TPM ve TFM için ANOVA analizleri sırasıyla Tablo 4.3, Tablo 4.4 ve Tablo 5.5 de verilmiştir.

Tablo 4.16: Titreşim süresi, titreşim genliği ve madde miktarı için seçilen alt ve üst limitler ve YYM'nde kodlanan değerler.

Bağımsız değişkenler	**Birim**	**Sembol**	**Kod ve seviye değerleri**		
			-1	0	1
Güç	Watt	X_1	100	175	250
Zaman	dk	X_2	1	1,75	2,5
Çözücü miktarı	mL	X_3	50	75	100

Tablo 4.17: Limon yapraklarına uygulanan MDE için YMMK ile tasarlanan deney planı ve TPM, TFM ve yüzde AA sonuçları.

Bağımsız Değişkenler			**Deneysel Sonuçlar**
X_1	**X_2**	**X_3**	**Limon Yaprağı**
Deney			

No	Watt	dk	mL	TPM(mg-GAE/g-KM)	TFM(mg KE/g-KM)	AA(%inhibasyon)
1	175	1,75	75	13,47	4,44	36,65
2	250	2,5	100	14,13	3,62	25,29
3	175	1	75	12,92	3,7	42,45
4	100	1	100	12,06	3,52	37,77
5	100	1,75	75	12,35	4,14	37,77
6	250	1,75	75	13,95	4,44	35,94
7	175	1,75	75	13,45	4,52	38,07
8	175	1,75	75	13,30	4,37	37,89
9	100	2,5	100	12,06	2,62	26,42
10	175	1,75	100	12,66	3,52	29,43
11	175	1,75	75	12,90	4,07	37,77
12	250	2,5	50	9,30	3,06	48,42
13	100	1	50	9,83	3,71	48,13
14	175	1,75	75	13,495	4,37	36,65
15	175	2,5	75	12,92	3,17	38,66
16	250	1	100	14,13	4,22	32,98
17	250	1	50	9,30	2,71	43,10
18	175	1,75	50	8,76	3,11	48,07
19	100	2,5	50	9,83	2,71	49,25
20	175	1,75	75	13,32	4,37	36,88

Tablo 4.18: Limon kabuklarına uygulanan MDE için YMMK ile tasarlanan deney planı ve TPM, TFM ve yüzde AA sonuçları

Bağımsız Değişkenler				Deneysel Sonuçlar		
	X_1	X_2	X_3	Limon Kabuğu		
Deney No	Watt	dk	mL	TPM(mg-	TFM(mg KE/g-	AA(%inhibasy

				GAE/g-KM)	KM)	on)
1	175	1,75	75	8,10	0,77	26,99
2	250	2,5	100	9,66	0,92	24,39
3	175	1	75	5,05	0,47	20,56
4	100	1	100	4,56	0,42	14,89
5	100	1,75	75	6,77	0,62	25,29
6	250	1,75	75	8,97	0,84	35,94
7	175	1,75	75	9,15	0,92	38,07
8	175	1,75	75	8,20	0,77	37,89
9	100	2,5	100	5,56	0,62	26,42
10	175	1,75	100	8,23	0,82	29,43
11	175	1,75	75	8,17	0,77	37,77
12	250	2,5	50	8,56	0,81	48,42
13	100	1	50	4,06	0,46	48,13
14	175	1,75	75	8,17	0,765	36,65
15	175	2,5	75	8,67	0,84	38,66
16	250	1	100	8,06	0,82	32,98
17	250	1	50	4,91	0,51	43,10
18	175	1,75	50	7,51	0,76	48,07
19	100	2,5	50	4,83	0,31	49,25
20	175	1,75	75	8,45	0,84	36,88

Yapılan analizlerle bağımsız değişken olarak güç, zaman ve çözücü miktarı TPM, TFM ve AA üzerine etkisi ANOVA ile belirlenmiştir.

Yapılan deneylerin analiz sonuçlarından yararlanılarak bağımsız değişkenlerin ekstraktların yüzde AA, TPM ve TFM değerleri üzerine etkisi varyans analizi (ANOVA) ile belirlenmiştir. Anlamlılık için p değeri 0,05'ten büyük olan etkiler önemsiz kabul edilmiştir. Regresyon analizleri % 95 güven aralığında yapılmıştır. Bir diğer önemli parametre ise varyasyon katsayısıdır (CV). Standart sapmanın (SD) ortalamaya oranını ifade etmektedir. Tahmin edilen korelasyon katsayısının negatif çıkması ve varyans katsayısının da % 10'dan büyük çıkması modelden hesaplanan değerlerle deneysel değerlerin uyum sağlamadığını

göstermektedir. Yeterli hassasiyet (Adequate precision-AP) değeri ise sinyalin gürültüye oranını ölçer ve bu değerin 4'ten büyük olması istenir.

Tablo 4.19: Limon yapraklarına uygulanan MDE için TPM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (TPM)	58,26	9	6,47	53,89	< 0,0001
X_1-Güç	2,18	1	2,18	18,13	0,0017
X_2-Zaman	7,11E-15	1	7,11E-15	5,92E-14	1
X_3-Çözücü miktarı	32,46	1	32,46	270,23	< 0,0001
X_1X_2	0	1	0	0	10,000
X_1X_3	3,38	1	3,38	28,14	0,0003
X_2X_3	0	1	0	0	10,000
X_1^2	0,1835	1	0,1835	1,53	0,2447
X_2^2	0,0031	1	0,0031	0,0254	0,8765
X_3^2	13,01	1	13,01	108,3	< 0,0001
Kalıntı	1,2	10	0,1201		
Model Uygunsuzluğu	0,9512	5	0,1902	3,8	0,0844
Saf Hata	0,25	5	0,05		
Toplam	59,46	19			

Tablo 4.20: Limon yapraklarına uygulanan MDE için TFM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (TFM)	7,28	9	0,8087	12,62	0,0002
X1-Güç	0,1823	1	0,1823	2,84	0,1226

X2-Zaman	0,7209	1	0,7209	11,25	0,0073
X3-Çözücü miktarı	0,484	1	0,484	7,55	0,0205
X_1X_2	0,3403	1	0,3403	5,31	0,0439
X_1X_3	0,6903	1	0,6903	10,77	0,0083
X_2X_3	0,0903	1	0,0903	1,41	0,2626
X_1^2	0,2139	1	0,2139	3,34	0,0977
X_2^2	0,9208	1	0,9208	14,37	0,0035
X_3^2	1,33	1	1,33	20,8	0,001
Kalıntı	0,6407	10	0,0641		
Model Uygunsuzluğu	0,5235	5	0,1047	4,47	0,0631
Saf Hata	0,1172	5	0,0234		
Toplam	7,92	19			

Tablo 4.21: Limon yapraklarına uygulanan MDE için yüzde AA üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (AA)	877,49	9	97,5	129,93	< 0,0001
X1-Güç	18,68	1	18,68	24,9	0,0005
X2-Zaman	26,67	1	26,67	35,54	0,0001
X3-Çözücü	723	1	723	963,52	< 0,0001

miktarı					
X_1X_2	7,63	1	7,63	10,16	0,0097
X_1X_3	0,0018	1	0,0018	0,0023	0,9624
X_2X_3	80,92	1	80,92	107,84	< 0,0001
X_1^2	5,44	1	5,44	7,25	0,0226
X_2^2	14,44	1	14,44	19,24	0,0014
X_3^2	0,6517	1	0,6517	0,8685	0,3733
Kalıntı	7,5	10	0,7504		
Model Uygunsuzluğu	5,32	5	1,06	2,44	0,1752
Saf Hata	2,18	5	0,4365		
Toplam	884,99	19			

Tablo 4.19, Tablo 4.20 ve Tablo 4.21'e göre, yanıt ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi göstermek için TPM, TFM ve AA için türetilen modellerin tamamı anlamlı ((p<0,0001) ve (p<0,05))bulunmuştur. ANOVA sonuçları aynı zamanda, deneysel veriler ile hesaplanan modellerin 0,9798, 0,9191 ve 0,9915 korelasyon katsayılarına (R^2) sahip olduğunu göstermiştir.(Tablo 4.20) Ayrıca limon yapraklarından elde edilen TPM için X_1, X_3, X_2X_3 anlamlı (p<0,05) parametreler iken X_2, X_1X_2, X_1X_3, X_1^2, X_2^2, X_3^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur (Tablo 4.19) TFM için X_2, X_3, X_1X_2, X_2X_3, X_1X_3, X_1^2,X_2^2 ve X_3^2 anlamlı (p<0,05) parametreler iken, X_1 anlamsız parametre olarak bulunmuştur (Tablo 4.20). AA için ise X_1, X_2, X_3, X_1X_2, X_2X_3, X_1^2,X_2^2 anlamlı (p<0,05) parametreler iken X_1X_3, X_3^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur(Tablo 4.21).

Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan YYM yaklaşımı limon yapraklarından MDE vasıtasıyla elde edilen AA, TPM ve TFM için uygun olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.22: Limon yapraklarının MDE ile ekstraksiyonunda her bir sistem için (TPM, TFM ve AA) için çeşitli istatistiksel parametrelerin özeti.

Bağımlı Değişkenler	**R^2**	**R_a^2**	**S.D.**	**%C.V.**	**A.P.**
TPM	0,9798	0,9616	0,3466	2,84	20,4496

TFM	0,9191	0,8463	0,2531	6,81	12,2892
AA	0,9915	0,9839	0,8662	2,26	39,4236

Tablo 4.22'de korelasyon katsayıları (R^2 ve R_a^2), standart sapma, varyans ve yeterli hassasiyet gösterilmektedir. Bu durumda, yeterli hassasiyet oranı bütün modeller için uygun olduğunu göstermektedir. YYM kullanılarak, limon yapraklarından elde edilen AA, TPM ve TFM için kuadratik modeller sırasıyla verilmiştir. Limon yapraklarından TPM, TFM ve AA için bulunan kuadratik denklemler Denklem 4.7, Denklem 4.8 ve Denklem 4.9 da verilmiştir.

$$TPM = +9{,}54 + 0{,}1231X_1 + 0{,}0145X_2 - 0{,}1798X_3 + 0{,}0982X_1X_2 - 0{,}1815X_1X_3 - 0{,}0298X_2X_3 - 0{,}0872X_1^2 - 0{,}0372X_2^2 + 0{,}1466X_3^2 \quad (4.7)$$

$$TFM = +1{,}82 + 0{,}1021X_1 + 0{,}1921X_2 - 0{,}3436X_3 + 0{,}2009X_1X_2 + 0{,}1027X_1X_3 - 0{,}2723X_2X_3 + 0{,}0159X_1^2 + 0{,}3159X_2^2 - 0{,}1355X_3^2 \quad (4.8)$$

$$AA = +37{,}69 - 1{,}37X_1 - 1{,}63X_2 - 8{,}50X_3 + 0{,}9763X_1X_2 - 0{,}0148X_1X_3 - 3{,}18X_2X_3 - 1{,}41X_1^2 + 2{,}29X_2^2 + 0{,}4868X_3^2 \quad (4.9)$$

Tablo 4.23: Limon kabuklarına uygulanan MDE için TPM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (TPM)	55,76	9	6,2	18,34	< 0,0001
X1-Güç	20,69	1	20,69	61,24	< 0,0001
X2-Zaman	11,32	1	11,32	33,52	0,0002
X3-Çözücü miktarı	3,82	1	3,82	11,32	0,0072
X_1X_2	1,52	1	1,52	4,49	0,0601

X_1X_3	1,14	1	1,14	3,37	0,0964
X_2X_3	0,4125	1	0,4125	1,22	0,295
X_1^2	0,3325	1	0,3325	0,9843	0,3445
X_2^2	5,09	1	5,09	15,06	0,0031
X_3^2	0,3325	1	0,3325	0,9843	0,3445
Kalıntı	3,38	10	0,3378		
Model Uygunsuzluğu	2,59	5	0,5171	3,26	0,1101
Saf Hata	0,7925	5	0,1585		
Toplam	59,14	19			

Tablo 4.24: Limon kabuklarına uygulanan MDE için TFM üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (TFM)	0,5138	9	0,0571	6,07	0,0047
X1-Güç	0,2176	1	0,2176	23,14	0,0007
X2-Zaman	0,0681	1	0,0681	7,24	0,0227
X3-Çözücü miktarı	0,0563	1	0,0563	5,98	0,0345
X_1X_2	0,0153	1	0,0153	1,63	0,2307
X_1X_3	0,0028	1	0,0028	0,2991	0,5964
X_2X_3	0,0028	1	2,80E-03	2,99E-01	0,5964

X_1^2	0,0096	1	0,0096	1,02	0,336
X_2^2	0,0494	1	0,0494	5,26	0,0448
X_3^2	0	1	0	0,0034	0,9547
Kalıntı	0,094	10	0,0094		
Model Uygunsuzluğu	0,0743	5	0,0149	3,78	0,0856
Saf Hata	0,0197	5	0,0039		
Toplam	0,6078	19			

Tablo 4.25: Limon kabuklarına uygulanan MDE için AA üzerine uygulanan lineer, kuadratik ve interaksiyon terimlerin etkisini gösteren ANOVA tablosu.

Kaynak	**Kareler toplamı**	**Dağılma faktörü**	**Kareler ortalaması**	**F değeri**	**p-değeri**
Model (AA)	564,1	9	62,68	17,1	< 0,0001
X1-Güç	76,58	1	76,58	20,9	0,001
X2-Zaman	100,35	1	100,35	27,38	0,0004
X3-Çözücü miktarı	294,96	1	294,96	80,5	< 0,0001
X_1X_2	8,29	1	8,29	2,26	0,1634
X_1X_3	2	1	2	0,5471	0,4765

X_2X_3	9,62	1	9,62	2,63	0,1362
X_1^2	10,04	1	10,04	2,74	0,1289
X_2^2	30,45	1	30,45	8,31	0,0163
X_3^2	8,27	1	8,27	2,26	0,1639
Kalıntı	36,64	10	3,66		
Model Uygunsuzluğu	24,23	5	4,85	1,95	0,2404
Saf Hata	12,42	5	2,48		
Toplam	600,74	19			

Tablo 4.23, Tablo 4.24, Tablo 4.25'e göre, yanıt ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi göstermek için AA, TPM ve TFM için türetilen modellerin tamamı önemli ($p<0,0001$) ve ($p<0,05$)) bulunmuştur. ANOVA sonuçları aynı zamanda, deneysel veriler ile hesaplanan modellerin 0,9429, 0,8453 ve 0,9390 korelasyon katsayılarına (R^2) sahip olduğunu göstermiştir(Tablo 4.26). Ayrıca limon kabuklarından elde edilen TPM için X_1, X_2, X_3, X_2^2 anlamlı ($p<0,05$) parametreler iken X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_1^2 ve X_3^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur (Tablo 4.23). TFM içinX_1, X_2, X_3, X_2^2 anlamlı ($p<0,05$) parametreler iken, X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_1^2 ve X_3^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur (Tablo 4.24). AA için ise için X_1, X_2, X_3, X_2^2 anlamlı ($p<0,05$) parametreler iken X_1X_2, X_1X_3, X_2X_3, X_1^2 ve X_3^2 anlamsız parametreler olarak bulunmuştur (Tablo 4.25).

Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan YYM yaklaşımı limon kabuklarından MDE vasıtasıyla elde edilen AA, TPM ve TFM için uygun olduğunu göstermiştir.

Tablo 4.26: Limon kabuklarının MDE ile ekstraksiyonunda her bir sistem için (TPM, TFM ve AA) için çeşitli istatistiksel parametrelerin özeti.

Bağımlı Değişkenler	**R^2**	**R_a^2**	**S.D.**	**% C.V.**	**A.P.**
TPM	0,9429	0,8915	0,5812	7,98	15,1873
TFM	0,8453	0,7061	0,097	13,83	8,8967
AA	0,9390	0,8841	1,91	7,36	16,7941

Tablo 4.24'de korelasyon katsayıları (R^2 ve R_a^2), standart katsayılar, varyans ve yeterli hassasiyet gösterilmektedir. Bu durumda, yeterli hassasiyet oranı bütün modeller için uygun olduğunu göstermektedir. YYM kullanılarak, limon kabuklarından elde edilen AA, TPM ve TFM için kuadratik modeller sırasıyla verilmiştir. Limon kabuklarından TPM, TFM ve AA için bulunan kuadratik denklemler Denklem 4.10, Denklem 4.11 ve Denklem 4.12 verilmiştir.

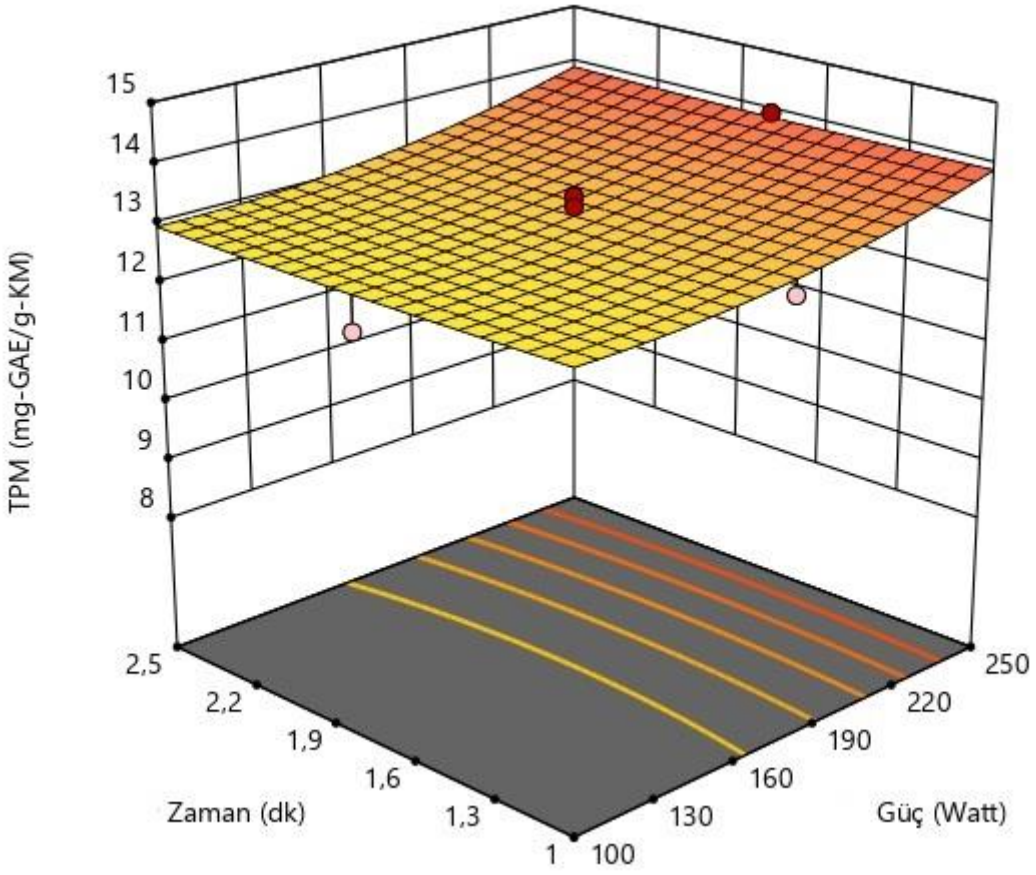
$$TPM = +8{,}31 + 1{,}44X_1 + 1{,}06X_2 + 0{,}6183X_3 + 0{,}4354X_1X_2 - 0{,}3771X_1X_3 - 0{,}2271X_2X_3 - 0{,}3477X_1^2 - 1{,}36X_2^2 - 0{,}3477X_3^2 \quad (4.10)$$

$$TFM = +0{,}7961 + 0{,}1475X_1 + 0{,}0825X_2 + 0{,}0750X_3 + 0{,}0437X_1X_2 + 0{,}0187X_1X_3 + 0{,}0187X_2X_3 - 0{,}0591X_1^2 - 0{,}1341X_2^2 + 0{,}0034X_3^2 \quad (4.11)$$

$$AA = +27{,}76 + 2{,}77X_1 + 3{,}17X_2 - 5{,}43X_3 + 1{,}02X_1X_2 - 0{,}5006X_1X_3 - 1{,}10X_2X_3 - 1{,}91X_1^2 - 3{,}33X_2^2 + 1{,}73X_3^2 \quad (4.12)$$

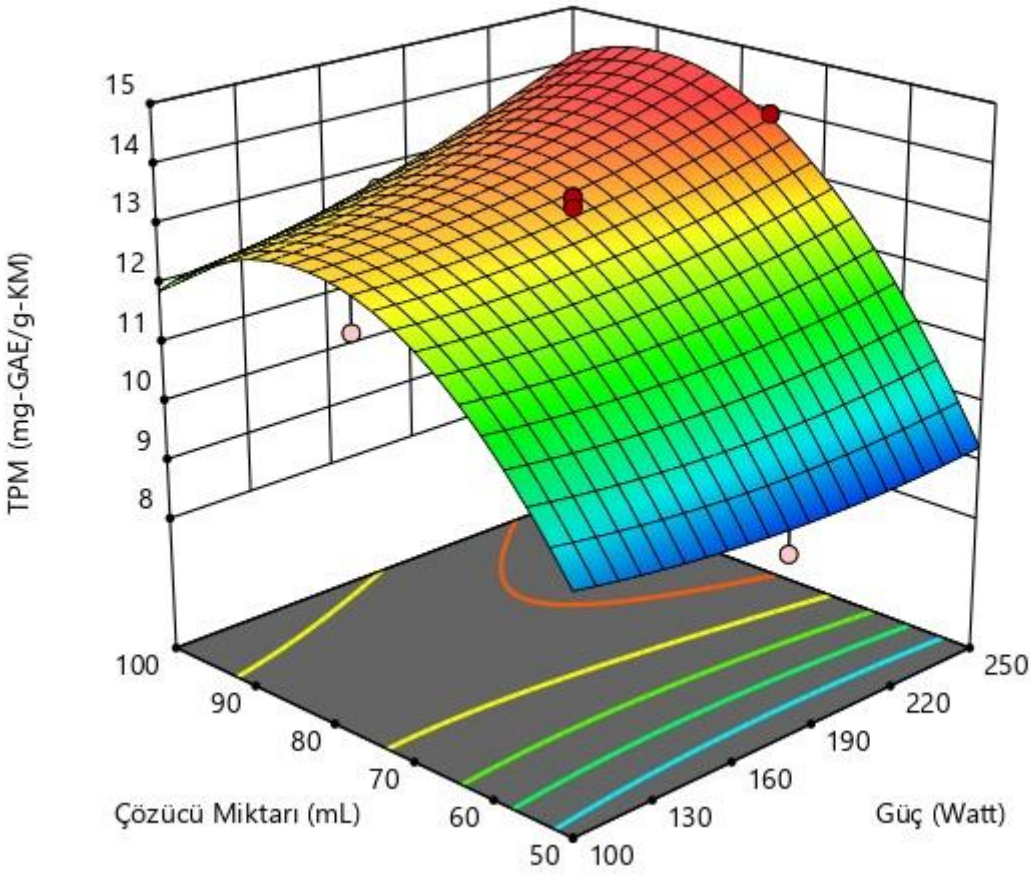
MDE de limon yaprakları için yanıt yüzey eğrileri farklı bağımsız değişkenler ve onların yanıt üzerine etkisi arasındaki etkileşimi tahmin etmek için, üç boyutlu yanıt yüzey eğrileri sırasıyla Denklem 4.7, Denklem 4.8, Denklem 4.9'a göre çizilmiştir.

Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23, limon yapraklarından su ile yapılan MDE de TPM için yanıt yüzey grafiklerini göstermektedir.



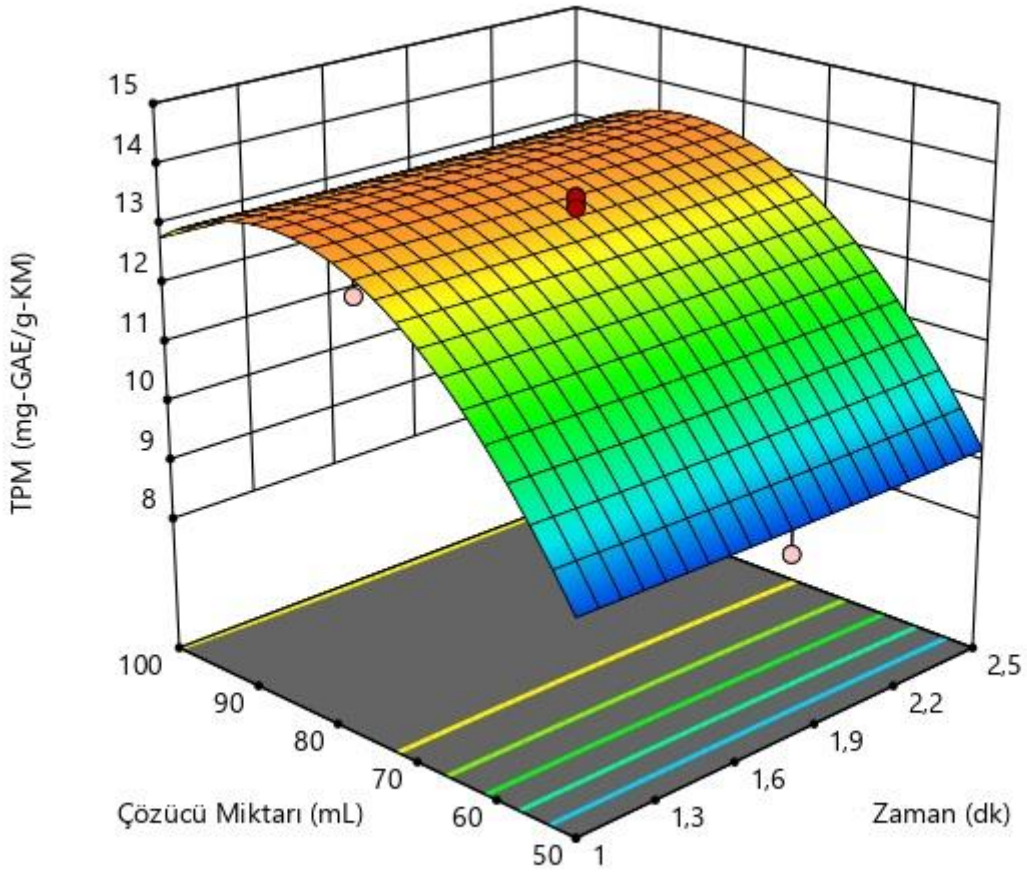
Şekil 4.21: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi.

Şekil 4.21 ye göre çözücü miktarı sabit tutulduğunda güç ve süre arttırıldıkça TPM miktarı artmıştır.



Şekil 4.22: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TPM miktarına etkisi.

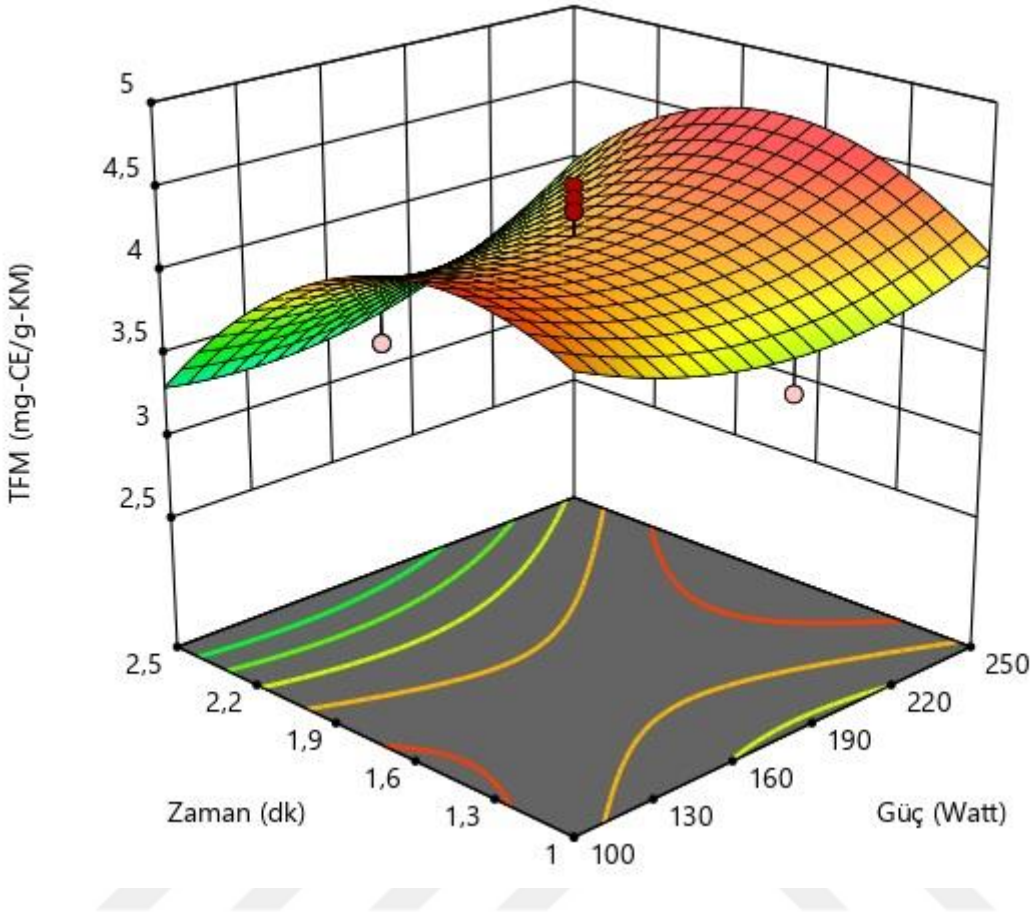
Şekil 4.22'de ekstrakte edilen TPM miktarının çözücü miktarı yaklaşık 85 mL de maksimum değeri verdiği görülmüştür. Aynı grafikte güç (Watt) parametresi arttırıldığında ekstrakte edilen TPM miktarının arttığı görülmüştür.



Şekil 4.23: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda zamana bağlı olarak çözücü miktarının TPM üzerine etkisi.

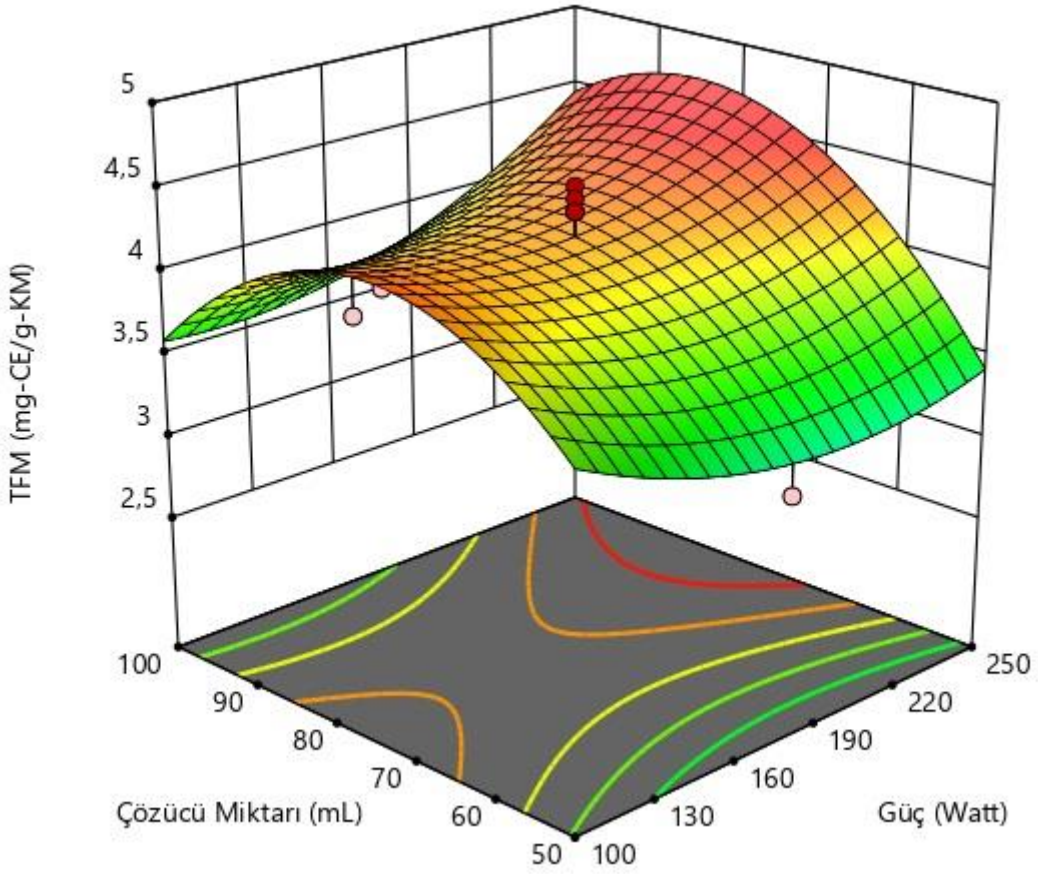
Şekil 4.23 de ekstrakte edilen TPM miktarının çözücü miktarı yaklaşık 85 mL de maksimum değeri verdiği görülmüştür. Aynı grafikte süre (dk) parametresi arttırıldığında ekstrakte edilen TPM miktarının arttığı görülmüştür.

Şekil 4.24, Şekil 4.25 ve Şekil 4.26 limon yapraklarından mikrodalga destekli ekstraksiyonda TFM miktarlarının yanıt yüzey grafiklerini göstermektedir.



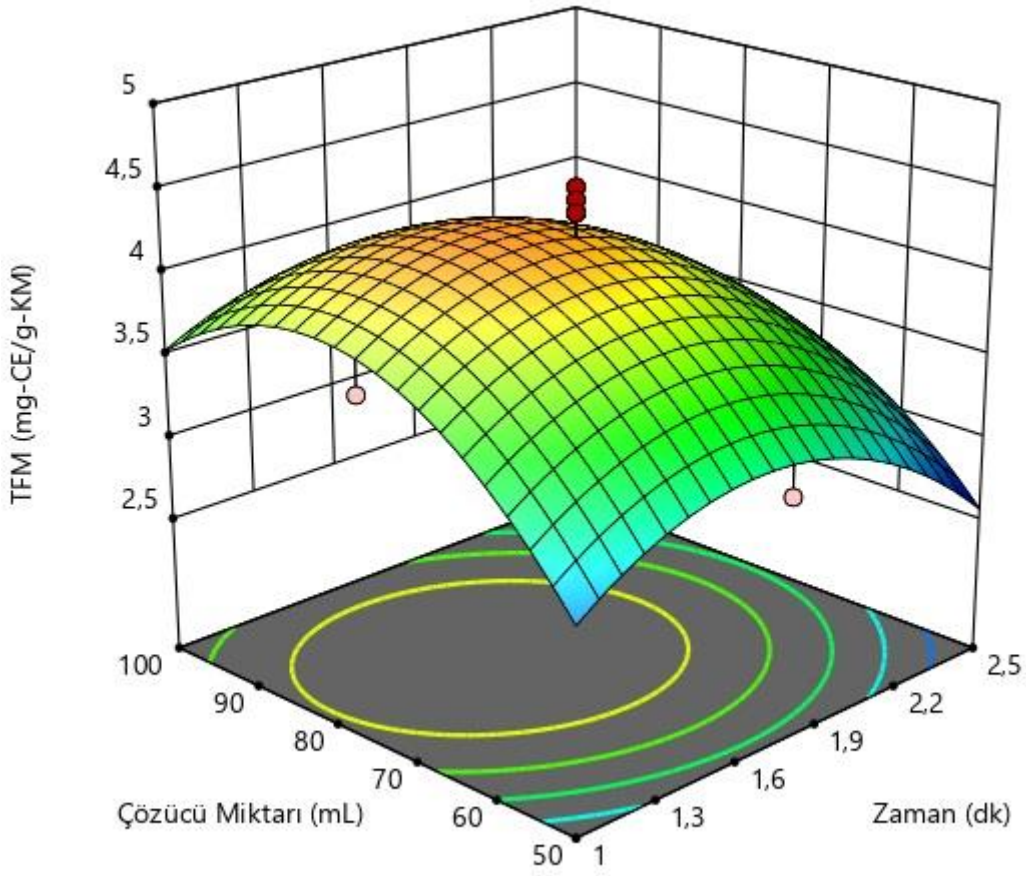
Şekil 4.24: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi.

Şekil 4.24 te ekstrakte edilen TFM miktarı için en iyi ekstraksiyon süresi değerin yaklaşık 1,8 dk olduğu ve uygulanan gücün 140 Watt değerine kadar artırılmasıyla TFM miktarında hafif bir azalma görülmüş daha yüksek değerlerinde ise TFM miktarının arttığı görülmüştür.



Şekil 4.25: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TFM miktarına etkisi.

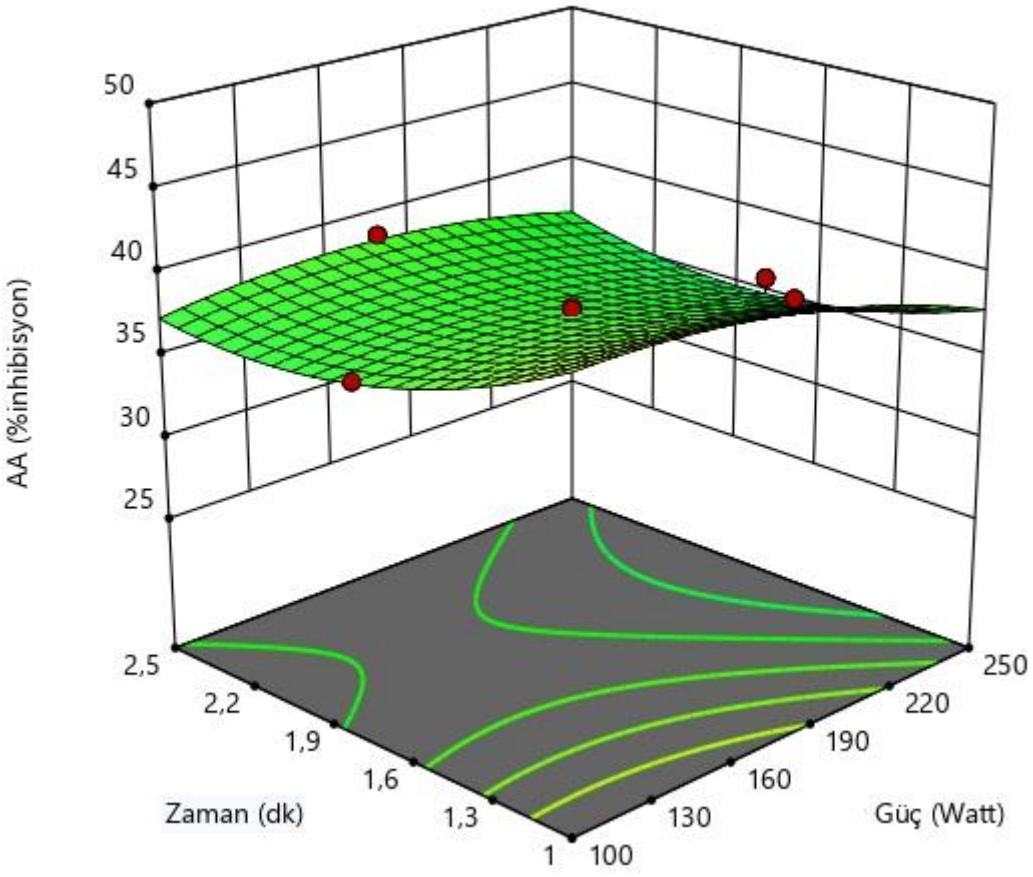
Şekil 4.25'te çözücü miktarının yaklaşık 90 mL olduğu durumda ekstrakte edilen TPM miktarının maksimum değere ulaştığı daha yüksek çözücü miktarlarında azaldığı görülmektedir. Aynı zamanda uygulanan gücün 170 Watt değerine kadar artırılmasıyla TFM miktarında hafif bir azalma görülmüş daha yüksek değerlerinde ise TFM miktarının arttığı görülmüştür.



Şekil 4.26: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TFM miktarına etkisi.

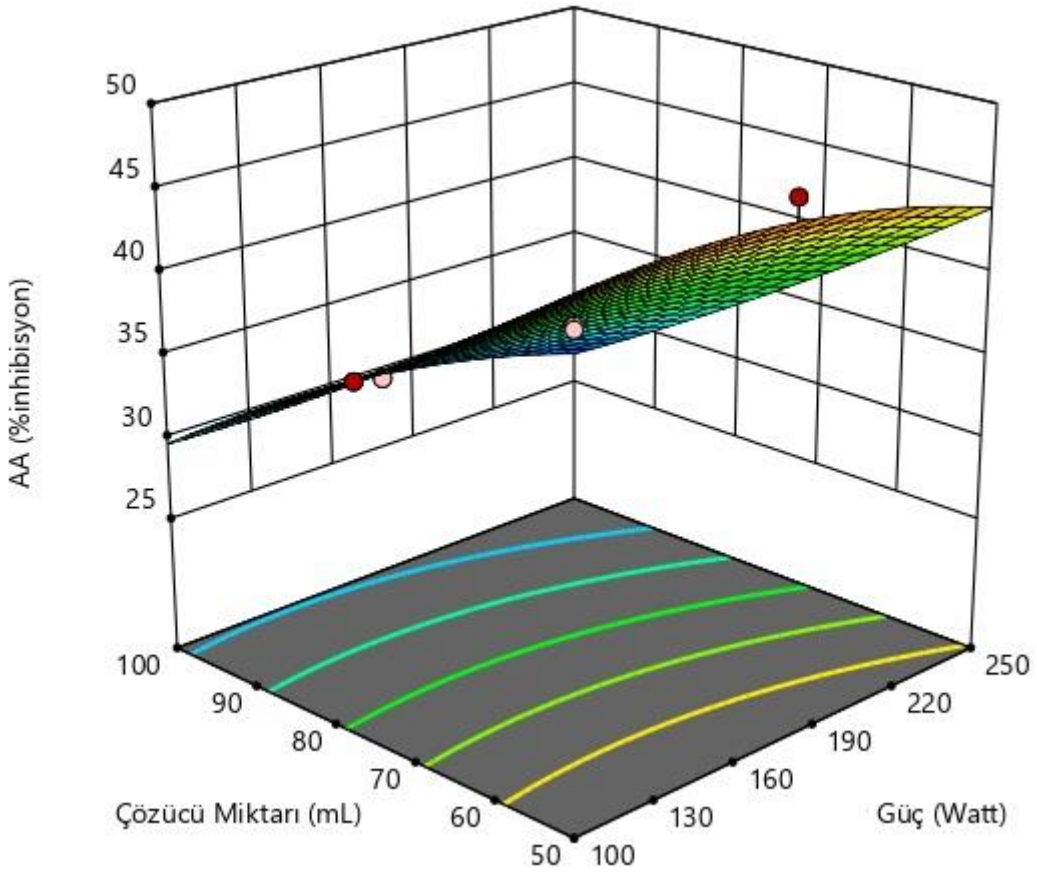
Şekil 4.26 da çözücü miktarının 90 mL ye kadar artmasıyla ekstrakte edilen TFM değeri artmış olup daha yüksek çözücü miktarlarında ise azalmıştır. Aynı şekilden ekstrakte edilen TFM 2,0 dk süreye kadar artmış daha uzun sürelerde ise azalmıştır.

Şekil 4.27, Şekil 4.28 ve Şekil 4.29'da limon yapraklarından mikrodalga destekli ekstraksiyonda yüzde AA miktarının yüzey yanıt grafikleri gösterilmektedir.



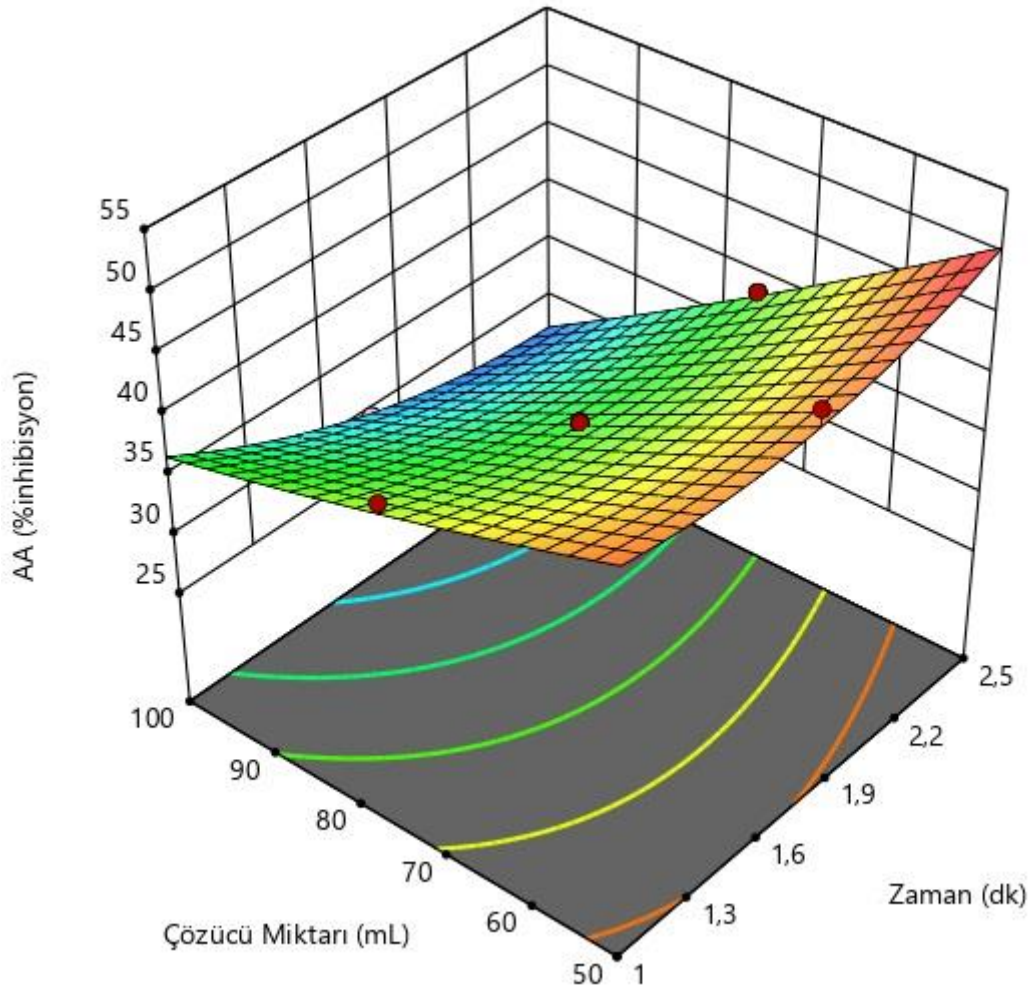
Şekil 4.27: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen yüzde AA miktarına etkisi.

Şekil 4.27'de ekstraksiyon süresinin artmasıyla yüzde AA miktarının azaldığı 1,6 dk da minimum değere ulaştıktan sonra tekrar arttığı görülmektedir. Aynı grafikten uygulanan güç miktarının 190 Watt'a kadar artırılmasıyla yüzde AA miktarının arttığı görülmektedir.



Şekil 4.28: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının AA yüzdesine etkisi.

Şekil 4.28'de çözücü miktarının artmasıyla yüzde AA azaldığı arttığı görülmektedir. Aynı grafikten uygulanan güç miktarının artmasıyla yüzde AA miktarının arttığı görülmektedir.

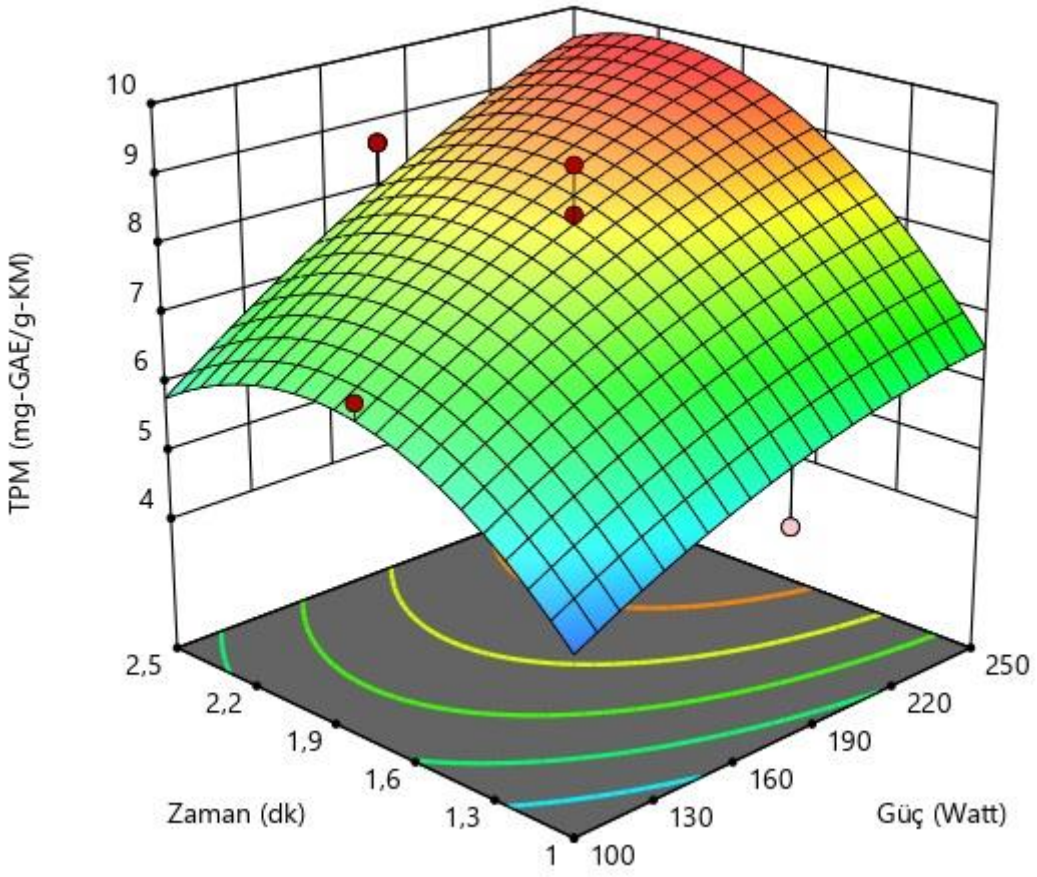


Şekil 4.29: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda, zamana bağlı olarak çözücü miktarının yüzde AA miktarına etkisi.

Şekil 4.29'da çözücü miktarının artmasıyla yüzde AA azaldığı arttığı görülmektedir. Aynı grafikten uygulanan süre miktarının artmasıyla yüzde AA miktarının arttığı görülmektedir.

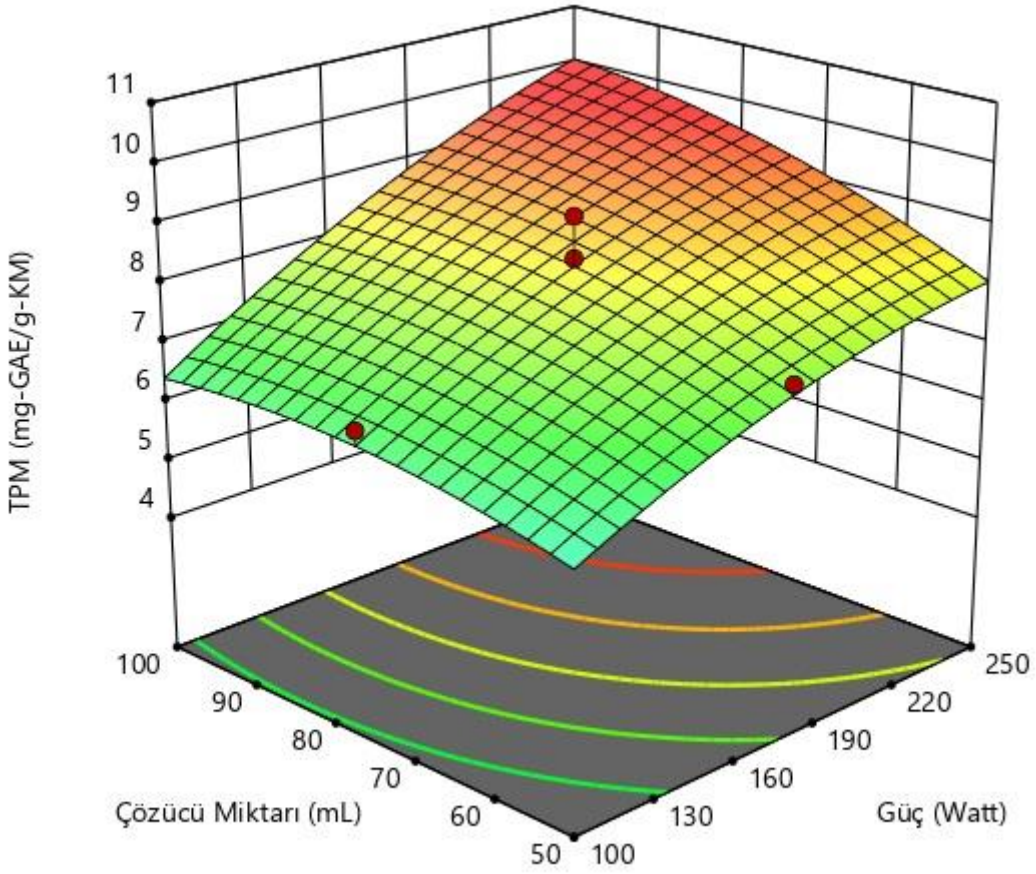
MDE de limon kabukları için yanıt yüzey eğrileri için farklı bağımsız değişkenler ve onların yanıt üzerine etkisi arasındaki etkileşimi tahmin etmek için, üç boyutlu yanıt yüzey eğrileri sırasıyla Denklem 4.10, Denklem 4.11 ve Denklem 4.12'ye göre çizilmiştir.

Şekil 4.30, Şekil 4.31 ve Şekil 4.32, limon kabuklarından su ile yapılan MDE de TPM için yanıt yüzey grafiklerini göstermektedir.



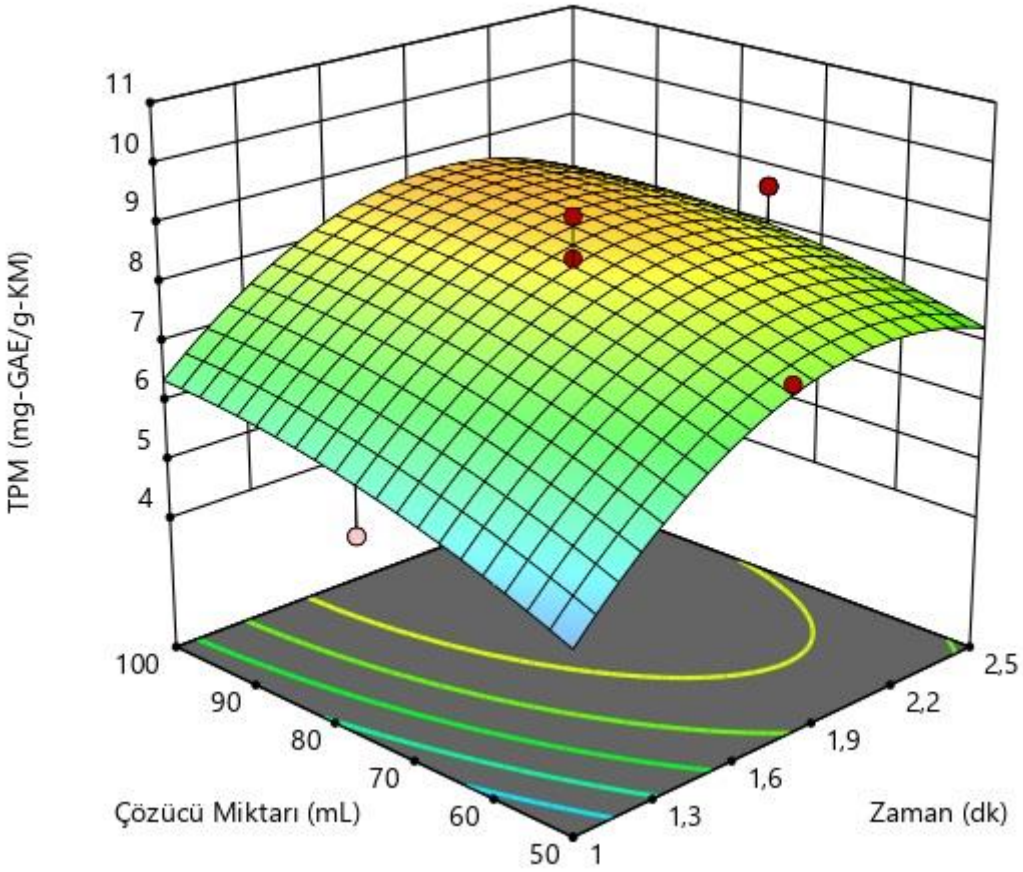
Şekil 4.30: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücümiktarında, zaman parametresine bağlı olarak, uygulanan güç miktarının ekstrakte edilen TPM miktarına etkisi. .

Şekil 4.30'a göre çözücü miktarı sabit tutulduğunda güç arttırıldıkça TPM miktarı artmıştır. Zamanın 2,2 dk ya kadar artan değerlerinde TPM miktarı artmıştır. Daha yüksek zaman değerlerinde az TPM miktarı azalmıştır.



Şekil 4.31: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TPM miktarına etkisi.

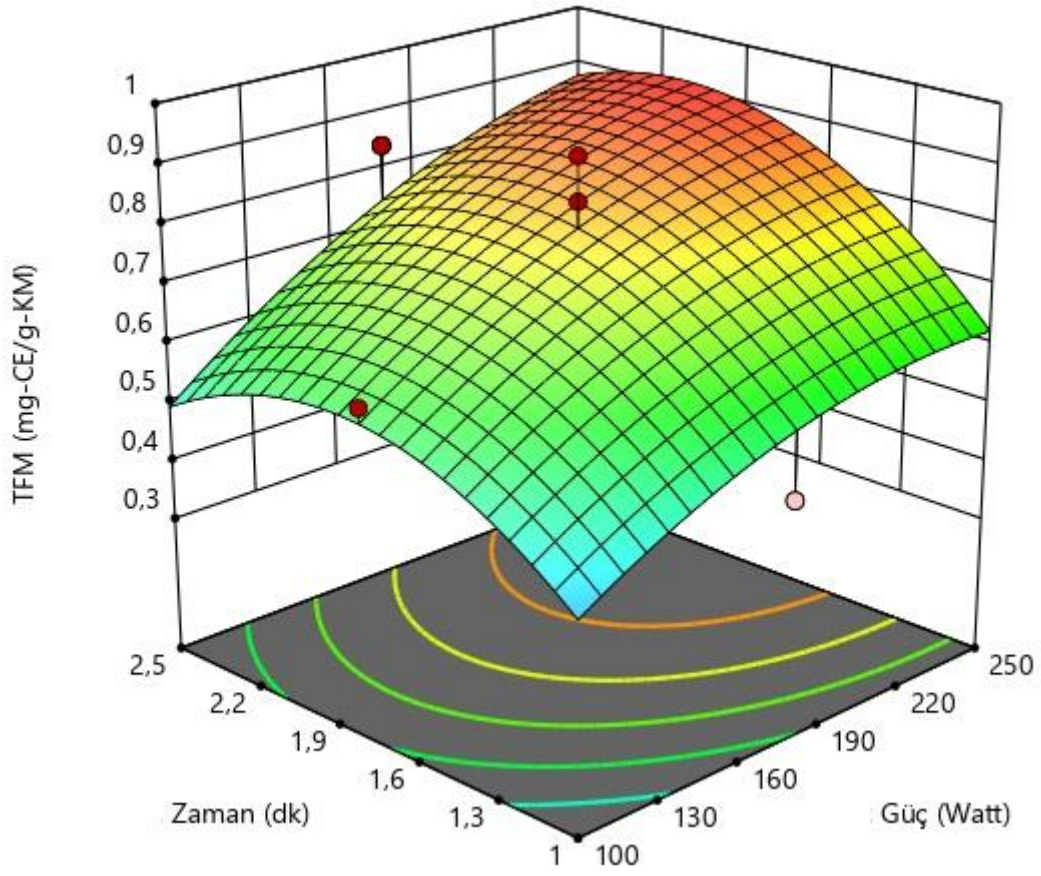
Şekil 4.31 de çözücü miktarının artmasıyla ekstrakte edilen TPM miktarı da artmıştır. Aynı grafikte uygulanan gücün artmasıyla ekstrakte edilen TPM miktarı da artmıştır.



Şekil 4.32: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda zamana bağlı olarak çözücü miktarının TPM üzerine etkisi.

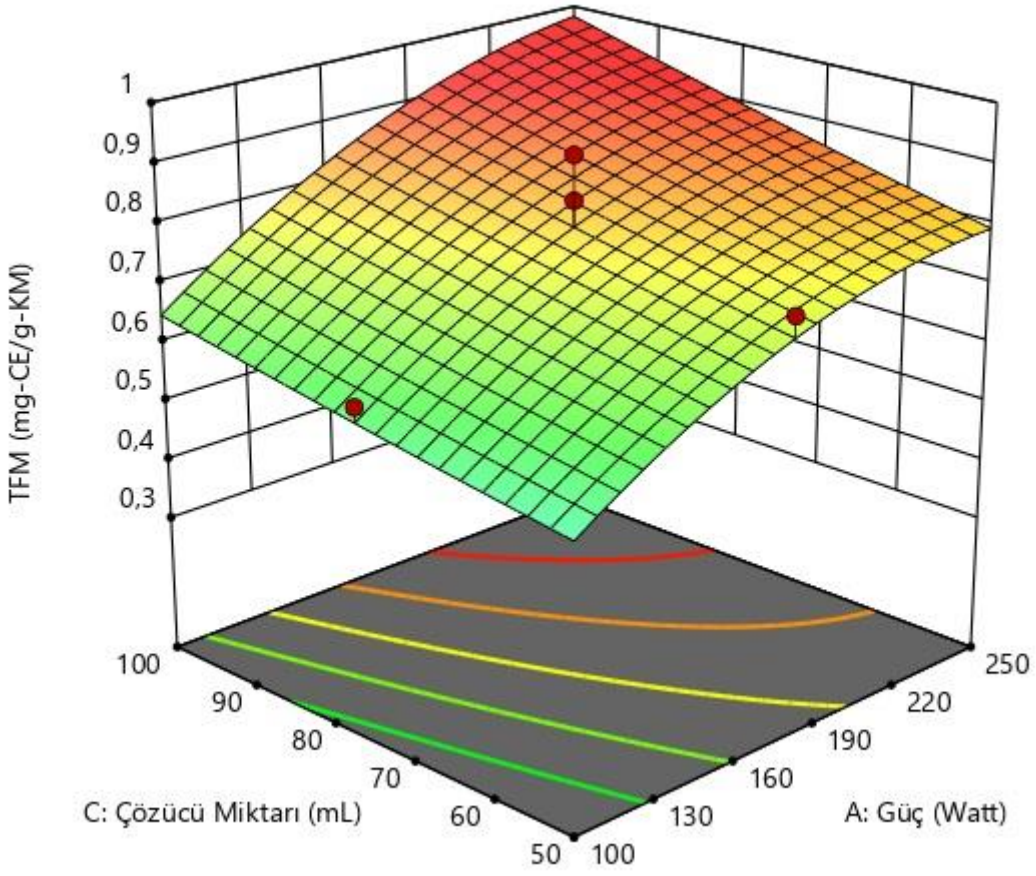
Şekil.4.32'de çözücü miktarı arttıkça ekstrakte edilen TPM'nin arttığı görülmüştür. Aynı şekilden ekstraksiyon süresinin 2,2 dk kadar artmasıyla TPM nin arttığı görülmüş olup daha uzun zaman değerlerinde azalma görülmüştür.

Şekil 4.33, Şekil 4.34 ve Şekil 4.35 limon kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyonda TFM miktarlarının yanıt yüzey grafiklerini göstermektedir.



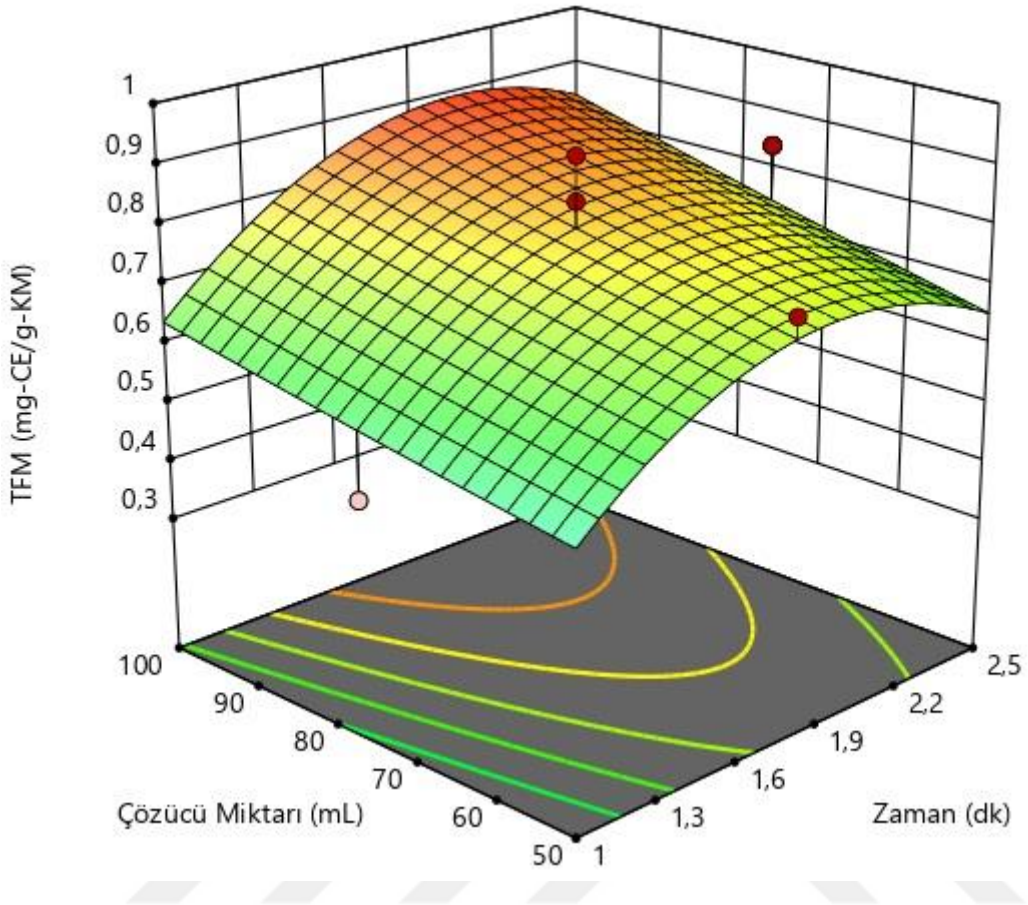
Şekil 4.33: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen TFM miktarına etkisi.

Şekil 4.33'de ekstraksiyon süresinin artmasıyla ekstrakte edilen TFM miktarı artmakta 2,1 dk değerinde maksimuma ulaştıktan sonra azalmaktadır. Aynı grafikten uygulanan güç miktarının artmasıyla ekstrakte edilen TFM miktarının arttığı görülmektedir.



Şekil 4.34: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının TFM miktarına etkisi.

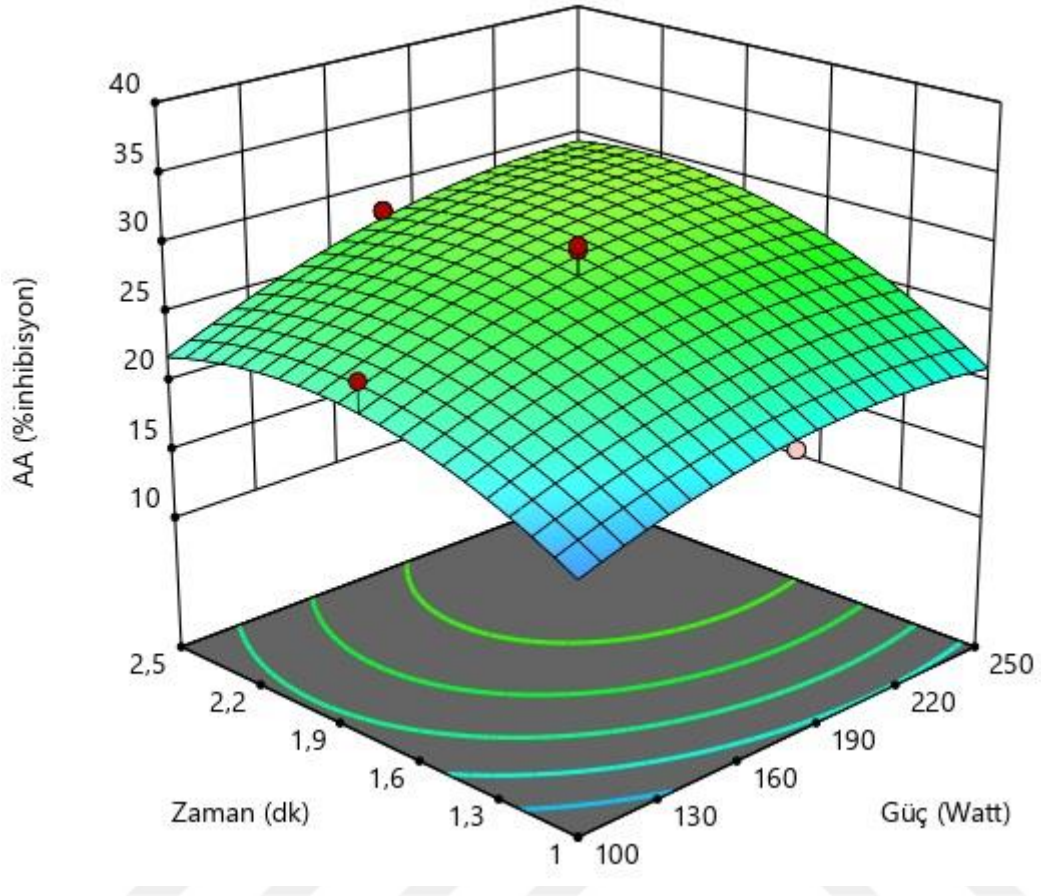
Şekil 4.34'de çözücü miktarının artmasıyla ekstrakte edilen TFM miktarı artmaktadır. Aynı grafikten uygulanan güç miktarının artmasıyla ekstrakte edilen TFM miktarının arttığı görülmektedir.



Şekil 4.35: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda, zamana bağlı olarak çözücü miktarının TFM miktarına etkisi.

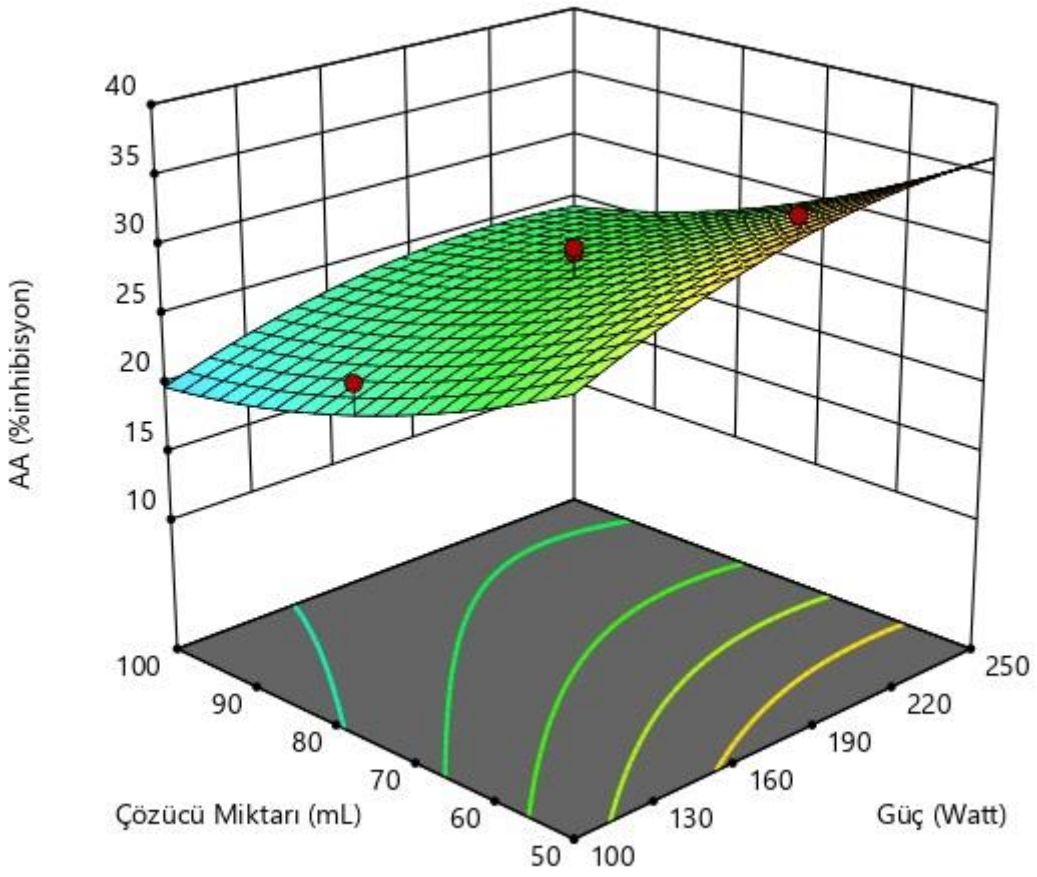
Şekil 4.35'de ekstraksiyon çözücü miktarının artmasıyla ekstrakte edilen TFM miktarı arttığı görülmektedir. Aynı grafikten ekstraksiyon süresinin 2,2 dk kadar artmasıyla ekstrakte edilen TFM miktarının arttığı daha sonraki zaman değerlerinde azaldığı görülmektedir.

Şekil 4.36, Şekil 4.37 ve Şekil 4.38 de limon kabuklarından mikrodalga destekli ekstraksiyonunda (MDE) yüzde AA miktarının yüzey yanıt grafikleri gösterilmektedir.



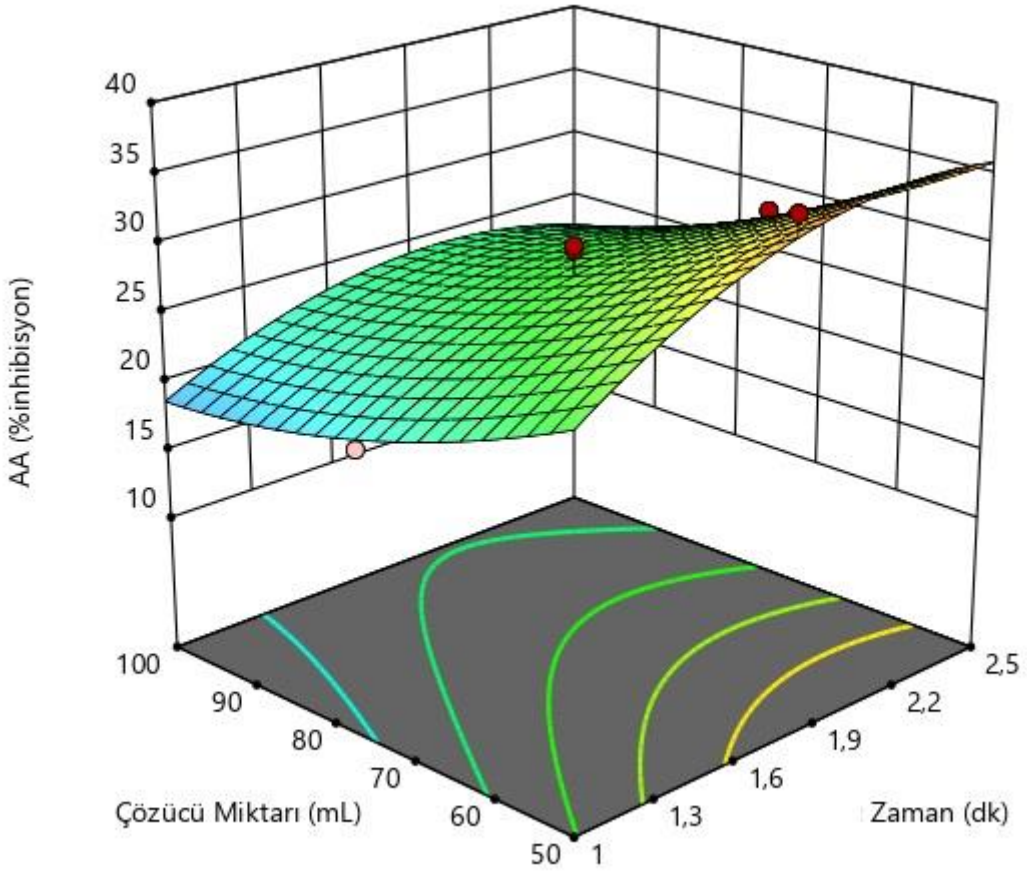
Şekil 4.36: Limon yapraklarından MDE ile ekstraksiyonunda sabit çözücü miktarında güç parametresine bağlı olarak, zamanın ekstrakte edilen yüzde AA miktarına etkisi.

Şekil 4.36'de ekstraksiyon süresinin artmasıyla ekstrakte edilen yüzde AA miktarı artmaktadır. Aynı grafikten uygulanan gücün artmasıyla yüzde AA miktarının arttığı görülmektedir.



Şekil 4.37: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda süre parametresi sabit tutulduğunda, güce bağlı olarak çözücü miktarının yüzde AA üzerine etkisi.

Şekil 4.37'de çözücü miktarının 80 mL ye kadar artmasıyla ekstrakte edilen yüzde AA miktarında azalma görülmektedir. Çözücü miktarının 80 mL'den büyük değerlerinde ise az miktarda bir artış görülmektedir. Aynı grafikten uygulanan gücün artmasıyla yüzde AA miktarının arttığı görülmektedir.



Şekil 4.38: Limon kabuklarından MDE ile ekstraksiyonunda güç parametresi sabit tutulduğunda, zamana bağlı olarak çözücü miktarının yüzde AA miktarına etkisi.

Şekil 4.38'de çözücü miktarının 70 mL ye kadar artmasıyla ekstrakte edilen yüzde AA miktarında azalma görülmektedir. Çözücü miktarının 70 mL'den büyük değerlerinde ise az miktarda bir artış görülmektedir. Aynı grafikten ekstraksiyon süresinin artmasıyla yüzde AA miktarının arttığı görülmektedir

Bunlara ilave olarak limon kabuk ve yaprakları için YYM ile yapılan optimizasyonda en yüksek TPM, TFM ve yüzde AA değerleri optimum nokta olarak seçilmiş ve optimum nokta bulunmuştur.

Tablo 4.27: MDE ekstraksiyonunda limon yaprakları için optimum noktayı gösteren tablo.

Güç	**Zaman**	**Çözücü miktarı**	**TPM**	**TFM**	**AA**
Watt	dk	mL	mg-GAE/g-KM	mg-CE/g-KM	%
100	1	74,822	12,963	4,256	42,594

Tablo 4.28: MDE ekstraksiyonunda limon kabukları için uygun değer noktayı gösteren tablo

Güç	**Zaman**	**Çözücü miktarı**	**TPM**	**TFM**	**AA**
Watt	dk	mL	mg-GAE/g-KM	mg-CE/g-KM	%
250	2,179	59,539	9,144	0,850	34,639

5 TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, UDE ve MDE ile limon kabuk ve yapraklarından antioksidan maddelerin ekstraksiyonu yapılmıştır. Modern ekstraksiyon yöntemleri olarak adlandırılan UDE ve MDE ile limon kabuk ve yapraklarından antioksidan maddelerin ekstraksiyonu YYM kullanılarak deneysel bir çalışma tasarlanmış ve optimize edilmiştir.

- Limon yapraklarından su ile yapılan ultrasonik destekli ekstraksiyon yönteminde, 7 sn titreşim süresinde % 30 titreşim genliğinde ve 0,434 g madde miktarı şartlarında en iyi fenolik madde verimi 19,215 mg-GAE/g-KM, flavonid madde verimi 5,029 mg-KE/g-KM ve DPPH serbest radikalini süpürme etkisi ise % 52,824 olarak bulunmuştur.
- Limon kabuklarından su ile yapılan ultrasonik destekli ekstraksiyon yönteminde 7 sn titreşim süresinde % 30 titreşim genliğinde ve 0,376 g madde miktarı şartlarında en iyi fenolik madde verimi 9,796 mg-GAE/g-KM, flavonid madde verimi 2,618 mg-KE/g-KM ve DPPH serbest radikalini süpürme etkisi ise % 37,452 olarak bulunmuştur.
- Limon yapraklarından su ile yapılan mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde 100 Watt güç, 1 dk süre ve 74,822 mL çözücü miktarı şartlarında en iyi fenolik madde verimi 12,963 mg-GAE/g-KM, flavonid madde verimi 4,256 mg-KE/g-KM ve DPPH serbest radikalini süpürme etkisi ise % 42,594 olarak bulunmuştur.
- Limon kabuklarından su ile yapılan mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde 250 Watt güç, 2,179 dk süre ve 59,539 mL çözücü miktarı şartlarında en iyi fenolik madde verimi 9,144 mg-GAE/g-KM, flavonid madde verimi 0,850 mg-KE/g-KM ve DPPH serbest radikalini süpürme etkisi ise % 34,639 olarak bulunmuştur.
- Modern istatistiksel bir yöntem olan yanıt yüzey yöntemi kullanılarak elde edilen ikinci derecen model denklemlerinden elde edilen veriler değerlendirildiğinde, genel olarak deneysel sonuçların model denklemler ile uyumlu olduğu görülmüştür (R^2>0,80 ve R_a^2>0,80).

Sonuç olarak;

Limon yapraklarını ve kabuklarını kıyasladığımızda toplam fenolik madde, toplam flavonoid madde ve antioksidan aktivitesi açısından yaprakların çok daha verimli olduğu belirlenmiştir.

Yapraklarla yapılan UDE ve MDE ile ekstraksiyonda UDE'nin daha üstün olduğu görülmüştür. Toplam fenolik madde, toplam flavonid madde ve antioksidan aktivite miktarları açısından her iki ekstraksiyon yöntemi içerisinde UDE yönteminin daha iyi sonuçlar verdiği belirlenmiştir.

KAYNAKÇA

Alberti, A. *et al.* (2014) 'Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology', *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.10.086.

Antolovich, M. *et al.* (2002) 'Methods for testing antioxidant activity', *Analyst*. doi: 10.1039/b009171p.

ÇİFTÇİ, N. (2017) 'Oksidatif Stresin Kanserdeki Rolü: Antioksidanlar Kanser Progresyonunun Yakıtı Olabilir mi?', *Ahi Evran Tıp Dergisi*.

Djeridane, A. *et al.* (2006) 'Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds', *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2005.04.028.

KIM, S. M. and ZAYAS, J. F. (1989) 'Processing Parameters of Chymosin Extraction by Ultrasound', *Journal of Food Science*. doi: 10.1111/j.1365-2621.1989.tb04685.x.

Koleva, I. I. *et al.* (2002) 'Screening of plant extracts for antioxidant activity: A comparative study on three testing methods', *Phytochemical Analysis*. doi: 10.1002/pca.611.

Madhujith, T. and Shahidi, F. (2006) 'Optimization of the extraction of antioxidative constituents of six barley cultivars and their antioxidant properties', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. doi: 10.1021/jf061558e.

Mahdi-Pour, B. *et al.* (2012) 'Antioxidant activity of methanol extracts of different parts of Lantana camara', *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. doi: 10.1016/S2221-1691(13)60007-6.

Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. and Van Beek, T. A. (2004) 'Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts', *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2003.05.007.

Minatel, I. O. *et al.* (2017) 'Phenolic Compounds: Functional Properties, Impact of Processing and Bioavailability', in *Phenolic Compounds - Biological Activity*. doi: 10.5772/66368.

Özel, G. S. and Birdane, Y. O. (2014) 'Antioksidanlar', *Kocatepe Veterinary Journal*. doi: 10.5578/kvj.8486.

Rostagno, M. A., Palma, M. and Barroso, C. G. (2003) 'Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones', in *Journal of Chromatography A*. doi: 10.1016/S0021-9673(03)01184-1.

Routray, W. and Orsat, V. (2012) 'Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids: A Review', *Food and Bioprocess Technology*. doi: 10.1007/s11947-011-0573-z.

Şahin, S. (2015) 'A novel technology for extraction of phenolic antioxidants from mandarin (Citrus deliciosa Tenore) leaves: Solvent-free microwave extraction', *Korean Journal of Chemical Engineering*. doi: 10.1007/s11814-014-0293-y.

Şahin, S. and Şamli, R. (2013) 'Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology', *Ultrasonics Sonochemistry*. doi: 10.1016/j.ultsonch.2012.07.029.

Said, K. A. M., Yakub, I. and Amin, M. A. M. (2015) 'Overview of Response Surface Methodology (RSM) in Extraction Process', in. doi: 10.3850/978-981-09-4587-9_p38.

Sakanaka, S., Tachibana, Y. and Okada, Y. (2005) 'Preparation and antioxidant properties of extracts of Japanese persimmon leaf tea (kakinoha-cha)', *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2004.03.013.

Sarawong, C. *et al.* (2014) 'Effect of extrusion cooking on the physicochemical properties, resistant starch, phenolic content and antioxidant capacities of green banana flour', *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.081.

Sevim, D., Tuncay, O. and Koseoglu, O. (2013) 'The effect of olive leaf addition on antioxidant content and antioxidant activity of "memecik" olive oils at two maturity stages', *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*. doi: 10.1007/s11746-013-2282-4.

Sies, H. (1997) 'Oxidative stress: Oxidants and antioxidants', *Experimental Physiology*. doi: 10.1113/expphysiol.1997.sp004024.

Sreelatha, S. and Padma, P. R. (2009) 'Antioxidant activity and total phenolic content of Moringa oleifera leaves in two stages of maturity', *Plant Foods for Human Nutrition*. doi:

10.1007/s11130-009-0141-0.

Wang, L. and Weller, C. L. (2006) ‘Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants’, *Trends in Food Science and Technology*. doi: 10.1016/j.tifs.2005.12.004.

Waterman, P. G. (1993) ‘Phytochemical Dictionary. A Handbook of Bioactive Compounds from Plants’, *Biochemical Systematics and Ecology*. doi: 10.1016/0305-1978(93)90098-c.

Zou, Z. *et al.* (2016) ‘Antioxidant activity of Citrus fruits’, *Food Chemistry*. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.09.072.

EKLER

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Hikmet Burcu Gencer
Doğum Yeri	İstanbul
Doğum Tarihi	14.02.1993
Uyruğu	☑ T.C. ❒ Diğer:
Telefon	05349497664
E-Posta Adresi	hikmetburcugencer@gmail.com
Web Adresi	



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Kimya Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	2016

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Programı	Temel İşlemler ve Termodinamik

Çalıştığı Projeler
4NanoEARDRM- EURONANOMED III