ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

KIZILCIK MEYVESİNDEN (*Cornus mas*) OHMİK DESTEKLİ MİKRODALGA VE ULTRASONİK YÖNTEMLERİ İLE FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONU

Naciye KUTLU KANTAR

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2019

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Naciye KUTLU KANTAR tarafından hazırlanan "**Kızılcık Meyvesinden (*Cornus mas*) Ohmik Destekli Mikrodalga ve Ultrasonik Yöntemler ile Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu**" adlı tez çalışması 02/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Aslı İŞCİ YAKAN
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Jüri Üyeleri:

Başkan: Prof. Dr. Serpil ŞAHİN
Orta Doğu Teknik Üniveristesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Aslı İŞCİ YAKAN
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Ferruh ERDOĞDU
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Prof. Dr. Gülüm ŞUMNU
Orta Doğu Teknik Üniveristesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Üye : Doç. Dr. Özge ŞAKIYAN DEMİRKOL
Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Özlem YILDIRIM
Enstitü Müdür Vekili

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

02/07/2019

Naciye KUTLU KANTAR

ÖZET

Doktora Tezi

KIZILCIK MEYVESİNDEN (*Cornus mas*) OHMİK DESTEKLİ MİKRODALGA VE ULTRASONİK YÖNTEMLER İLE FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONU

Naciye KUTLU KANTAR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Aslı İŞCİ YAKAN

Bu çalışmada, geleneksel yöntemlere alternatif olarak çevre dostu ekstraksiyon yöntemlerle (ultrasonik (UDE), ohmik ısıtma destekli ultrasonik (OH-US), mikrodalga (MD) ve ohmik ısıtma destekli mikrodalga (OH-MD)), kızılcık meyvesinden fenolik bileşikler (TFB) ekstrakte edilmiştir. Çözücü olarak, toksik etkisi olmayan su tercih edilmiştir. Maserasyon (MS) kontrol grubu olarak uygulanmıştır. En yüksek TFB miktarı (29 mg GAE/g kuru madde) OH-MD yöntemi ile bulunmuştur. Bu değer, MS, UDE, OH-US ve MDE yöntemleriyle elde edilen miktarlardan sırasıyla 5.4, 4.4, 3.9 ve 1.1 kat daha fazladır. Çalışmada, mikrodalga enerjisinin, TFB ekstraksiyonunda çok etkili olduğu ve bu yöntemin ohmik ısıtma ile desteklendiğinde etkinin daha da arttığı gözlenmiştir. Ayrıca, OH-MD yöntemi ekstraksiyon süresini, MS yöntemine kıyasla % 95 oranında kısaltmıştır. En yüksek toplam monomerik antosiyanin miktarı (0.83 mg cya-3-Glu/g kuru madde) OH-US yönteminden elde edilen ekstraktta tespit edilmiştir. Sıcaklık yükseldikçe antosiyanin degradasyonu artmaktadır. OH-US yönteminde kullanılan sıcaklık (50 °C) mikrodalgaya göre daha düşüktür. Bu nedenle, toplam monomerik antosiyanin miktarı OH-US yöntemle elde edilen örneklerde, daha yüksek değerde bulunmuştur. OH-US ve MDE yöntemleri ile elde edilen ekstraktlar en yüksek antioksidan aktivite değerine sahiptirler. MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktlar en düşük pH ve en yüksek suda çözünür katı madde oranına sahiptirler. a* (kırmızılık) değeri açısından yöntemler arası farklılık gözlenmemiştir. Fakat L* (açıklık/koyuluk) ve b* (sarılık) değerleri en yüksek değerini MS yöntemi ile almıştır. Tüm bu sonuçlar ışığında, ohmik ısıtma desteği hem TFB veriminin artırılmasında hem de ekstraksiyon süresinin azalmasında etkin rol oynamış ve fenolik bileşiklerin başarılı bir şekilde kızılcık meyvesinden ekstraksiyonu sağlanmıştır.

Temmuz 2019, 155 sayfa

Anahtar Kelimeler: Kızılcık, ekstraksiyon, ultrasonik, mikrodalga, ohmik ısıtma

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM CORNELIAN CHERRY (*Cornus mas*) BY OHMIC ASSISTED MICROWAVE AND ULTRASOUND METHODS

Naciye KUTLU KANTAR

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Aslı İŞCİ YAKAN

In this study, phenolic compounds from cornelian cherry were extracted by using environmentally friendly extraction methods (ultrasonic (UAE), ohmic heating assisted ultrasonic (OHAUE), microwave (MAE) and ohmic heating assisted microwave (OHAME)). Water which was non-toxic was used in the experiments as a solvent. Maceration (MS) was performed as a control group. The phenolic content of the extracts obtained by OHAME (29 mg GAE/g dry matter) was found to be the highest among the five methods. This value is 5.4, 4.4, 3.9 and 1.1 times higher than that of MS, UAE, OHAUE and MAE methods, respectively. In this study, it was observed that the microwave energy was very effective in total phenolic compound extraction and the effect was increased when this method was supported with ohmic heating. In addition, OHAME reduced the extraction time by 95% compared to the maceration method. The highest total amount of monomeric anthocyanin (0.83 mg cya-3-Glu/g dry matter) was determined in the extracts obtained from the OHAUE method. This may be due to lower temperatures employed in this method. It is a known fact that anthocyanin degradation may occur as the temperature increases especially for the methods that include microwave irradiation. Moreover, the extracts obtained by OHAUE and MAE methods showed the highest antioxidant activity. The extracts obtained with MAE have the lowest pH and the highest water-soluble solid matter ratio. No difference was observed between a* (redness) values among the different methods studied. However, the MS samples had the highest L* (lightness/darkness) and b* (yellowness) values. In the light of all these results, the ohmic heating application prior to extraction played an active role in both increasing the total phenolic compound yield and decreasing the extraction time. The phenolic compounds were successfully extracted from the cornelian cherry by using the proposed novel methods.

July 2019, 155 pages

Key Words: Cornelian cherry, extraction, ultrasound, microwave, ohmic heating

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde, değerli bilgilerini benimle paylaşan, kendisine ne zaman danışsam bana kıymetli zamanını ayırıp, sabırla ve büyük bir ilgiyle bana yardımcı olabilmek için elinden geleni sunan, her sorun yaşadığımda yanına çekinmeden gidebildiğim, güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve gelecekteki mesleki hayatımda kendisini örnek alacağım değerli hocam, danışmanım Doç. Dr. Aslı İŞCİ YAKAN'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı),

Tez çalışmamın her aşamasında bilgi, deneyim ve görüşlerini benden esirgemeyen, zorlandığım her aşamada bir çıkış yolu bulmamı sağlayan, tecrübelerini benle paylaşıp, birçok alanda farkındalığımı artıran değerli hocam Doç. Dr. Özge ŞAKIYAN DEMİRKOL'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı),

Değerli görüşleri ile tez çalışmama yön veren, tez izleme komitesi üyeleri Sayın Prof. Dr. Serpil ŞAHİN (Orta Doğu Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı) ve Sayın Prof. Dr. Ferruh ERDOĞDU'ya (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı),

Tezimde kullandığım cihazlar ile ilgili, bana kendi laboratuvarını açan Sayın Prof. Dr. Nevzat ARTIK'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı), manevi olarak desteğini hep hissettiğim Sayın Prof. Dr. Kamuran AYHAN'a (Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı),

Ankara'da aile sıcaklığında bir çalışma ortamının olabileceğini bana gösteren, Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünün değerli tüm öğretim üyelerine,

Tez çalışmam boyunca beni motive ederek hep yanımda olan ve 8 yıldır birlikte gülüp birlikte ağladığım can arkadaşlarım Dr. Necla ÖZDEMİR, Arş. Gör. İrem SAKA, Dr. Burcu BAUMGARTNER, Dr. Cansu Ekin GÜMÜŞ, Arş. Gör. Meryem Nur KANTEKİN ERDOĞAN'a, Arş. Grv. Esin ORHAN YANIKAN, Dr. Emine OLUM, Dr. Gizem ÖZLÜK ÇİLAK ve Hilal SELAMOĞLU ATA'ya,

Tüm sıkıntılı dönemlerimde, güzel konuşmalarıyla, beni kendime getiren, bana enerji veren Dr. Gülen YEŞİLÖREN AKAL'a, iyi niyeti ve yardımseverliğiyle zor anlarımda hep yanımda olan Arş. Gör. Merve Sılanur YILMAZ'a, geç tanıdığım ama iyi ki tanıdım dediğim Hicran ARSLAN ile Gizem Melissa ERDEM'e ve diğer tüm laboratuvar grubumuzdaki arkadaşlarıma,

Bu tezin oluşumunda ve bu günlere gelmemde en büyük etkiye sahip olan, doğduğum günden itibaren maddi ve manevi anlamda yanımda olarak, bana güvenen annem Hüsniye KUTLU, babam Hilmi KUTLU ve canım kardeşim Gamze KUTLU'ya,

En bunaldığım ve çevremdekileri bunalttığım dönemlerde dahi, soğukkanlılığını koruyarak beni güzel sözleri ile motive eden, yoğun çalışmalarım sırasında sonsuz sabır gösteren, en büyük destekçim can eşim Harun KANTAR'a

Son olarak, *"Eğer bir gün sözlerim bilim ile ters düşerse, bilimi seçin."* sözü ile yolumu aydınlatan ulu önder Mustafa Kemal ATATÜRK'e,

Sonsuz teşekkürler...

Bu tez çalışması 17L0443005 proje kodu ile Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklenmiştir.

Naciye KUTLU KANTAR
Ankara, Temmuz 2019

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI
ETİK ..... **i**
ÖZET ..... **ii**
ABSTRACT ..... **iii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iv**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **xi**
1. GİRİŞ **1**
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ **5**
2.1 Kuramsal Temeller **5**
2.1.1 Kızılcık meyvesi (*Cornus mas*) **5**
2.1.2 Fenolik bileşikler (Polifenoller) **6**
2.1.3 Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) **12**
2.1.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) **14**
2.1.5 Ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon (ODE) **17**
2.2 Kaynak Özetleri **19**
2.2.1 Kızılcık (*Cornus mas*) ile yapılan çalışmalar **19**
2.2.2 UDE yöntemi ile yapılan çalışmalar **22**
2.2.3 MDE yöntemi ile yapılan çalışmalar **26**
2.2.4 ODE yöntemi ile yapılan çalışmalar **32**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **38**
3.1 Materyal **38**
3.2 Yöntem **38**
3.2.1 Ekstraksiyon işlemleri **38**
3.2.1.1 Maserasyon (MS) **38**
3.2.1.2 Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) **39**
3.2.1.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) **40**
3.2.1.4 Ohmik ısıtma destekli ekstraksiyonlar **41**
3.2.1.4.1 Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon (OH-US) **42**
3.2.1.4.2 Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon (OH-MD) **42**
3.2.2 Analizler **43**
3.2.2.1 Nem içeriği **43**
3.2.2.2 Suda çözünür katı madde tayini **44**
3.2.2.3 pH tayini **45**
3.2.2.4 Renk analizi **45**
3.2.2.5 Toplam fenolik bileşik miktarı (TFB) **46**
3.2.2.6 DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite **46**
3.2.2.7 Toplam monomerik antosiyanin (TMA) miktarı **47**
3.2.2.8 Ekstraksiyon kinetiği **48**
3.2.2.9 Ekstraksiyon verimi **49**
3.2.2.10 İstatistiksel analizler **49**
4. BULGULAR VE TARTIŞMA **50**
4.1 Maserasyon (MS) **50**
4.1.1 Katı:çözücü oranın TFB üzerine etkisi **51**

4.1.3 Katı:çözücü oranının renk üzerine etkisi.....54
4.1.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları.....55
4.2 Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE).....57
4.2.1 Katı:çözücü oranı ve sonikasyon süresinin TFB üzerine etkisi.....58
4.2.2 Katı:çözücü oranı ve sonikasyon süresinin suda çözünür katı madde üzerine etkisi.....61
4.2.3 Katı:çözücü oranı ve sonikasyon süresinin renk üzerine etkisi.....63
4.2.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları.....66
4.3 Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon (OH-US).....69
4.3.1 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve sonikasyon süresinin TFB üzerine etkisi.....70
4.3.2 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve sonikasyon süresinin suda çözünür katı madde üzerine etkisi.....74
4.3.3 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve sonikasyon süresinin renk üzerine etkisi.....76
4.3.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları.....79
4.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE).....81
4.4.1 Mikrodalga gücü, katı:çözücü oranı ve ekstraksiyon süresinin TFB üzerine etkisi.....82
4.4.2 Mikrodalga gücü, katı:çözücü oranı ve ekstraksiyon süresinin suda çözünür katı madde üzerine etkisi.....87
4.4.3 Mikrodalga gücü, katı:çözücü oranı ve ekstraksiyon süresinin renk üzerine etkisi.....89
4.4.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları.....91
4.5 Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon (OH-MD).....93
4.5.1 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve ekstraksiyon süresinin TFB üzerine etkisi.....94
4.5.2 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve ekstraksiyon süresinin suda çözünür katı madde üzerine etkisi.....97
4.5.3 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve ekstraksiyon süresinin renk üzerine etkisi.....99
4.5.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları.....101
4.6 Tüm yöntemlerin karşılaştırılması.....102
4.7 Kinetik modelleme.....105
5. SONUÇ.....107
KAYNAKLAR.....110
EKLER.....127
EK 1 Maserasyon Varyans Analizi Çizelgeleri.....128
EK 2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri.....130
EK 3 Ohmik Isıtma Destekli Ultrasonik Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri.....132
EK 4 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri.....135
EK 5 Ohmik Isıtma Destekli Mikrodalga Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri.....142
EK 6 Tüm Ekstraksiyon Yöntemlerinin Karşılaştırmalı Varyans Analizi Çizelgeleri.....150
ÖZGEÇMİŞ.....152

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	Santigrat
g	Gram
GHz	Gigahertz
mg	Miligram
MHz	Megahertz
kg	Kilogram
kHz	Kilohertz
µg	Mikrogram

Kısaltmalar

GAE	Gallik asit eşdeğeri
MS	Maserasyon
UDE	Ultrases destekli ekstraksiyon
OH-US	Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon
MDE	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
OH-MD	Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon
TE	Troloks eşdeğeri
TFB	Toplam fenolik bileşik
AA	Antioksidan aktivite
TMA	Toplam monomerik antosiyanin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Kızılcık meyvesinin yıllara göre üretim miktarı……..… 6
Şekil 2.2 Ultrasonik prob destekli ekstraksiyon düzeneği şematik gösterimi ……... 12
Şekil 2.3 Ultrasonik banyo destekli ekstraksiyon düzeneği şematik gösterimi ……. 13
Şekil 2.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon düzeneği şematik gösterimi ……..… 15
Şekil 2.5 Ohmik ısıtma düzeneği şematik gösterimi ……..… 17
Şekil 2.6 2002-2019 yılları arasında kızılcık ile ilgili yapılan SCI yayın sayıları …. 19
Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan kızılcık meyvesi…… 38
Şekil 3.2 Maserasyon işlemi için kullanılan su banyosu…… 39
Şekil 3.3 Ultrasonik destekli ekstraksiyon için kullanılan ultrasonik banyo……..… 39
Şekil 3.4 Mikrodalga ekstraksiyon için kullanılan sistem……..… 40
Şekil 3.5 Ohmik ısıtma sisteminin şematik gösterimi……...…. 41
Şekil 3.6 Ohmik ısıtma sistemi……... 42
Şekil 3.7 Kızılötesi nemölçer cihazı……...… 44
Şekil 3.8 Refraktometre ……..... 44
Şekil 3.9 pH metre……..... 45
Şekil 3.10 Renk ölçüm cihazı……..... 45
Şekil 3.11 Gallik asit eğrisi……. 46
Şekil 3.12 Troloks eğrisi……. 47
Şekil 4.1 Farklı katı:çözücü oranlarında elde edilen ekstraktların TFB miktarı…..… 50
Şekil 4.2 Farklı katı:çözücü oranlarında MS ile elde edilen ekstraktların TFB miktarı…… 52
Şekil 4.3 Farklı katı:çözücü oranlarında MS ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde miktarı……..…… 53
Şekil 4.4 Farklı katı:çözücü oranlarında MS ile elde edilen ekstraktların L*, a* ve b* değerleri ……...……... 55
Şekil 4.5 Farklı sonikasyon sürelerinde UDE ile elde edilen ekstraktların TFB Miktarı……. 57
Şekil 4.6 Farklı katı:çözücü oranlarında UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarlarının sonikasyon süresi ile değişimi……...…… 58
Şekil 4.7 Farklı katı:çözücü oranlarında UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde miktarlarının sonikasyon süresi ile değişimi…... 61
Şekil 4.8 Farklı katı:çözücü oranlarında UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde miktarlarının toplam fenolik bileşik miktarıyla değişimi……...…... 63
Şekil 4.9 Sabit katı:çözücü oranı ve sonikasyon süresinde elektrik alan şiddeti ve bekletme süresi ile değişen TFB miktarları……..… 70
Şekil 4.10 Farklı elektrik alan şiddetlerinde OH-US yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarlarının artan sonikasyon süresi ile değişimi a) 1 dk. BS, b) 10 dk. BS, c) 20 dk. BS……. 71
Şekil 4.11 Farklı elektrik alan şiddetlerinde OH-US yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde oranlarının artan sonikasyon süresi ile değişimi a) 1 dk. BS, b) 10 dk. BS, c) 20 dk. BS ……... 75
Şekil 4.12 Farklı mikrodalga güçlerinde MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarının ekstraksiyon süresi ile değişimi ……...…… 82

Şekil 4.13 Farklı mikrodalga güçlerinde MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarlarının ekstraksiyon süresi ile değişimi a) 1:5 g/mL, b) 1:10 g/mL, c) 1:15 g/mL ……...…… 83
Şekil 4.14 Farklı mikrodalga güçleri ve katı:çözücü oranlarında MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde oranlarının ekstraksiyon süresi ile değişimi ……...…….. 88
Şekil 4.15 Ohmik ısıtma hazne sıcaklığı ön deneme sonuçları……..…… 94
Şekil 4.16 Farklı elektrik alan şiddetlerinde OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarlarının ekstraksiyon süresi ile değişimi a) 1 dk. BS, b) 10 dk. BS, c) 20 dk. BS ……..…… 95
Şekil 4.17 Farklı elektrik alan şiddetlerinde OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde oranlarının ekstraksiyon süresi ile değişimi a) 1 dk. BS, b) 10 dk. BS, c) 20 dk. BS ……..… 98

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Meyvelerde bulunan başlıca polifenol kaynakları…….. 7
Çizelge 3.1 Maserasyon deneylerine ait bağımsız değişken seviyeleri……..…….. 39
Çizelge 3.2 UDE yönteminde kullanılan bağımsız değişken seviyeleri……...…. 40
Çizelge 3.3 MDE yönteminde kullanılan bağımsız değişken seviyeleri……...… 41
Çizelge 3.4 OH-US denemelerine ait bağımsız değişken seviyeleri……..... 42
Çizelge 3.5 OH-MD denemelerine ait bağımsız değişken seviyeleri……..... 43
Çizelge 4.1 Optimum MS koşulunda elde edilen ekstraktların analiz sonuçları…... 55
Çizelge 4.2 UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların katı:çözücü oranları ve sonikasyon süresi ile değişen L*, a* ve b* değerleri…….. 64
Çizelge 4.3 Optimum koşullarda UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların analiz sonuçları ……..... 67
Çizelge 4.4 OH-US yöntemi ile elde edilen ekstraktların renk değerleri……...…... 77
Çizelge 4.5 Optimum OH-US koşulunda elde edilen ekstraktların analiz sonuçları…….. 79
Çizelge 4.6 MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların renk değerleri…….. 89
Çizelge 4.7 Optimum MDE koşulunda elde edilen ekstraktların analiz sonuçları. 91
Çizelge 4.8 OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktların renk değerleri …… 100
Çizelge 4.9 Optimum OH-MD koşulunda elde edilen ekstraktların analiz sonuçları……..... 101
Çizelge 4.10 Farklı ekstraksiyon yöntemleri için optimum proses koşulları……. 103
Çizelge 4.11 Farklı yöntemler ile maksimum toplam fenolik bileşik ekstraksiyonunu sağlayan koşullarda elde edilen örneklerin analiz sonuçları……..... 103
Çizelge 4.12 Peleg modeline ait parametreler……...…… 105

1. GİRİŞ

Ekstraksiyon, çözünürlük farkına dayalı bir ayırma prosesidir. Bir çözücü aracılığı ile materyal içerisinden, çözünen fazı ayırmak için kullanılır. Katı-sıvı ekstraksiyon ve sıvı-sıvı ekstraksiyon olarak iki gruba ayrılmaktadır. Sıvı-sıvı ekstraksiyon, bir çözelti içerisinden çözüneni ekstrakte etme işlemidir ve daha çok kimya mühendisliği, farmakoloji ve biyoteknoloji alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Katı-sıvı ekstraksiyon ise, katı bir faz içerinden çözücü yardımıyla, istenilen bileşikleri ekstrakte etme işlemidir ve özellikle gıda endüstrisinde kullanımı çok yaygındır (Sahin vd. 2016).

Katı materyal ile çözücü arasındaki etkileşim 6 adımda tanımlanmaktadır: (1) çözücünün katı matrise nüfuz etmesi; (2) katı materyal içindeki bileşenlerin çözünmesi ve/veya parçalanması; (3) çözünen bileşenlerin katı matrisin dışına taşınması; (4) çözünen bileşenlerin katı maddenin dış yüzeyinden çözücü içerisine transferi; (5) ekstraktın yer değişimi; ve (6) ekstraktın ve katı maddenin birbirinde ayrılmasıdır (Aguilera 2003).

Katı-sıvı ekstraksiyon, yağlı tohumlardan yağ/protein eldesinde, şeker pancarı ya da kamışından şeker eldesinde, alglerden fonksiyonel hidrokolloid eldesinde ve/veya farklı sebze/meyvelerden biyoaktif bileşiklerin (fenolik bileşik, antosiyanin, betasiyanin, antioksidan vb.) eldesinde kullanılmaktadır (Sahin vd. 2016; Tzia ve Liadakis 2003). Biyoaktif makromoleküllerin etkili bir şekilde ekstrakte olabilmesi, sıcaklık, basınç, ekstraksiyon süresi, partikül büyüklüğü, pH farklılığı ve çözücü seçimi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (Azmir vd. 2013). Teknolojinin gelişmesiyle, yeni ekstraksiyon yöntemlerinin kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır. Geleneksel yöntemlere alternatif olarak, ultrasonik, mikrodalga ve ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon, kullanılan yeni yöntemler arasındadır.

Ekstraksiyon için kullanılan ultrasonik cihazlar, 20 kHz ila 2 MHz aralığında çalışmaktadır. Ses dalgaları, bitki parçalarının yumuşak dokusu gibi elastik bir ortam üzerinde önemli etkiye sahiptir. Ortam, ses dalgaları geçerken, şekil değiştirir ve ses dalgalarının yokluğunda, orijinal şekline geri dönmektedir. Bu nedenle, yüksek

frekanslı ultrasonik dalgalar, ortam üzerinde bir piston işlevi görmektedir. İşlem sırasında, ortamın içinde kavitasyon kabarcıkları oluşmaktadır. Bu kabarcıkların çökmesi (patlaması), milyonlarca mikroskobik kabarcık içindeki enerjinin serbest kalmasına ve yüksek basınç ve sıcaklık bölgelerinin oluşmasına sebep olmaktadır. Bu mekanizma, kavitasyon etkisi olarak bilinmektedir (Chemat vd. 2011). Ultrasonikasyon, kavitasyon etkisiyle hücre duvarlarının bozulmasını sağlayarak, ısı ve kütle transferini geliştirmekte ve son zamanlarda tek başına bir proses olarak ya da değerli bileşiklerin ekstraksiyonu için, kademeli prosedürün bir parçası olarak kullanılmaktadır. Ultrasonik destekli ekstraksiyon, çözücünün materyal içerisine daha fazla penetrasyonun sağlanması, yüksek ürün verimi, yüksek tekrarlanabilirlik, düşük çözücü tüketimi ve özellikle sıcaklığa hassas bileşiklerin ekstraksiyonunu sağlaması gibi avantajlara sahiptir. Ayrıca, kolaylıkla diğer cihazlarla entegre bir şekilde kullanılabilmektedir (Barba vd. 2016). Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında, ultrasonik destekli ekstraksiyonun, değerli bileşiklerin eldesinde (Corbin vd. 2015; Celli vd. 2015; Mane vd. 2015; Kazemi vd. 2016; Bonfigli vd. 2017; Lopez vd. 2018; Baria vd. 2019), farklı materyallerden pektin eldesinde (Banerjee vd. 2016; Moorthy vd. 2017; Velyamov vd. 2019), doğal pigmentlerin ekstraksiyonunda (Maran ve Priya 2015) ve farklı tohumlu materyallerden yağ eldesinde (Li vd. 2015; Gayas vd. 2017) yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir.

Mikrodalga, polar bileşikler üzerine doğrudan etki eden ekstraksiyon yöntemidir. 300 MHz-300 GHz frekans ve 1 mm-1 m dalga boyu aralığında elektromanyetik enerji, iyonik iletim ve/veya dipol rotasyon etkileşim yolları ile ısıya dönüşmektedir. İyonik iletim, ortamdaki çözünmüş iyonların mikrodalga enerjisini iletmeleri ile oluşmakta, dipol rotasyon ise, polar bileşiklerin rotasyonu sonucu oluşan sürtünmeden kaynaklanmaktadır (Barba vd. 2016). Mikrodalga destekli ekstraksiyon, yüksek sıcaklık ve kontrollü basınç koşulları altında, çözücü olarak su veya alkol kullanımına uygun bir yeşil çözücü ekstraksiyon yöntemidir (Alupului vd. 2012). Materyallerden biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda, oldukça hızlı ısıtması ve buna bağlı olarak, ekstraksiyon süresini azaltması, yüksek verim eldesi, düşük ekipman boyutları gibi özellikler, mikrodalga destekli ekstraksiyonun en önemli avantajlarındandır (Chemat ve Cravotto 2013). Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında, mikrodalga destekli

ekstraksiyonun, farklı mateyallerden pektin eldesinde (Maran ve Prakash 2015; Hosseini vd. 2016; Koštálová vd. 2016; Swamy ve Muthukumarappan 2017; Colodel vd. 2018), fenolik bileşik, flavonoid, antosiyanin, likopen, esansiyel yağ gibi biyoaktif bileşiklerin eldesinde (M'hiri vd. 2015; Durmaz vd. 2015; Ho vd. 2015; Jeyaratnam vd. 2016; Varadharajan vd. 2016; Carniel vd. 2017; Maeng vd. 2017; Kusuma ve Mahfud 2017; Radojkovic vd. 2018; Wei vd. 2019) yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir.

Ohmik ısıtma, geleneksel ısıl işlemde görülen heterojen materyallerin iyi ısınamaması veya son üründe kalite kaybı gibi olumsuzlukları gidermek için kullanılan, alternatif ısıtma yöntemlerinden birisidir. Bu yöntem, gıda materyali ile temas halinde olan elektrotlardan, elektrik akımı geçirilmesi ve gıda maddesinin bir direnç görevi görerek ısınması prensibine dayanır. Ohmik ısıtma, hızlı ve homojen ısıtma sağlamaktadır. Ayrıca ohmik ısıtma sistemlerinde, sıcak yüzeyler bulunmadığından ısıya duyarlı materyaller için uygundur (İçier 2012; Ramaswamy vd. 2014). Ohmik ısıtma çalışmaları, genellikle mevcut ekstraksiyon yöntemlerini desteklemek için uygulanmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında, ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon, ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile, yer elmasından inulin ekstraksiyonunda (Khuenpet vd. 2017) ve farklı materyallerden antosiyanin ve polifenol eldesinde kullanılmıştır (El-Darra vd. 2013a; Loypimai vd. 2015; Piyapanrungrueang vd. 2016; Gavahian vd. 2019). Ayrıca, ohmik ısıtma destekli hidrodistilasyon yöntemiyle, farklı materyallerden yağ eldesinde (Gavahian vd. 2013; Gavahian vd. 2015; Damyeh vd. 2016; Aamir ve Jittanit 2017) kullanım alanı bulmuştur.

Kızılcık (*Cornus mas*), *Cornaceae* familyasına ait, yüksek yerlerde yetişen, çalı veya küçük ağaç şeklinde, çok yıllık bir bitkidir. Avrupa'da özellikle Çek Cumhuriyeti, Polonya ve Slovakya olmak üzere, birçok ülkede yetiştirilmektedir (Rop vd. 2010). Son yıllarda, Türkiye'de de üretimi oldukça gelişmiştir. Ülkemizde üretim miktarı, TÜİK 2018 verilerine göre 11 ton/yıllık civarındadır (Anonim 2018). Olgunlaşmış meyveler, genellikle koyu veya kiraz kırmızısıdır, fakat pembe ve sarı renklerde olan türleri de mevcuttur. Ortalama meyve ağırlığı 5 ila 8 g arasındadır. Çekirdek, toplam meyve ağırlığının yaklaşık % 7.5-11'ini oluşturmaktadır (Klimenko 2004). Kızılcık meyvesinde yapılan kimyasal analizler sonucu, önemli miktarda fenolik bileşik olduğu

görülmüştür. Kimyasal grupları incelendiğinde bileşiminde farklı antosiyaninler (siyanidin 3-O-galaktosid, siyanidin 3-O-robinobiosid, pelargonidin 3-O-galaktosid, pelargonidin 3-O-robinobiosid (=pelargonidin 3-O-ramnosilgalaktosid), delfinidin -3-O-galaktosid, siyanidin 3-O-glukosid, c siyanidin 3-O-rutinosid, pelargonidin 3-O-glukosid), flavonoidler (kuersetin 3-O-ksilosid, kuersetin 3-O-ramnosid, kuersetin 3-O-galaktosid, kemferol 3-O-galaktosid, aromadendrin 7-O-glukosid, trans-Aromadendrin, mirisetin, naringenin 3-O-metil ester, 7,3′-dihidroksi-5,4′ dimetoksi flavanon, 4-asetoksi-5,2′,4′,6′-β-pentahidroksi-3-metoksikalkon, kuersetin 3-O-robinobiosid, Kuersetin, Kuersetin 3-O-rutinosid), flovonoller ((+) -kateşin, (−) -epikateşin) ve fenolik asitler (Prosanidin B1, prosanidin B2, Gallik asid, ellagik asid) olduğu görülmüştür (Dinda vd. 2016). Meyvesi taze olarak (çiğ) tüketilebildiği gibi, reçel, marmelat veya meyve suyu yapılarak da tüketilebilmektedir. Literatürde kızılcık meyvesinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine çalışmalar bulunmasına rağmen (Agourram vd. 2013; Milenkovic-Andjelkovic vd. 2015; Topdaş vd. 2017; De Biaggi vd. 2018; Cosmulescu vd. 2019), ultrasonik, mikrodalga ve ohmik destekli ekstraksiyon yöntemlerinin kullanıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu çalışmada, 5 farklı ekstraksiyon yönteminin (maserasyon, ultrasonik, ohmik ısıtma destekli ultrasonik, mikrodalga ve ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon), kızılcık meyvesinden toplam fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu kapsamda, ekstraksiyon süresi, elektrik alan şiddeti, katı:çözücü oranı, ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi gibi değişkenlerin etkisi incelenmiştir. Farklı koşullarda elde edilen ekstraktların, toplam fenolik bileşik miktarları, renk değerleri ve suda çözünür katı madde oranları belirlenmiştir. Her bir ekstraksiyon yönteminde, toplam fenolik bileşik miktarının, en yüksek değeri aldığı optimum noktada ise toplam monomerik antosiyanin miktarı, aktioksidan aktivite ve pH değerleri rapor edilmiştir. Ayrıca, ohmik ısıtma ön işleminin, değerli bileşik ekstraksiyonu üzerine etkisi incelenmiştir. Son olarak, elde edilen deneysel verilerin (süre ile değişen toplam fenolik bileşik miktarı), ekstraksiyon işlemlerinde yaygın olarak kullanılan Peleg modeline uygunluğu değerlendirilmiştir.

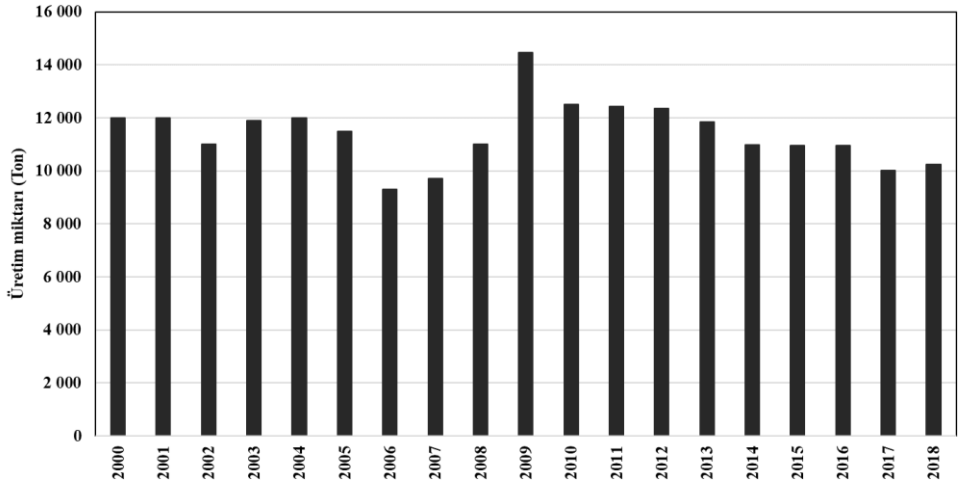
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Kuramsal Temeller

2.1.1 Kızılcık meyvesi (*Cornus mas*)

Kızılcık meyvesi (*Cornus mas*), Dünya'da çeşitli bölgelerde çok değişik türlerde bulunan çalı şeklinde küçük ağaçlarda yetişmektedir (Kucharska vd. 2015). Kızılcık üretimi, yüksek kullanım değeri, açık tozlaşma özelliği ve kendi doğal ortamında yetişebilmesi nedeniyle, son zamanlarda üretimi oldukça artmış bir meyvedir. Genellikle Orta ve Güneydoğu Avrupa'da (Ukrayna, Gürcistan, Ermenistan, Çek Cumhuriyeti, Slovakya, Türkiye, Sırbistan, Avusturya ve Polonya vb.) doğal olarak yetişebilmektedir. Olgun meyveleri çoğunlukla kırmızı renkte olup, az da olsa sarı renkli meyve bulunmaktadır. Tek adet sert çekirdeği olan kızılcık, ekşi bir tada sahiptir. Kızılcık meyvesinin ticari olarak üretiminin artırılması, bölgedeki tarımın çeşitliliği, yeni tarım ürünlerinin gelişmesi, yerel pazarlarda değerlendirilmesi ve gıda endüstrisi açısından yeni bir gelir kaynağı elde edilmesi gibi nedenlerden dolayı oldukça önemlidir (Moradi vd. 2019).

Kızılcık meyvesinin, Türkiye'de yıllara göre üretim miktarı şekil 2.1'de verilmiştir. Üretimde dönemsel olarak artış ve azalışlar gözlenmekle birlikte, 18 yılda ortalama üretim miktarı 10-11 bin ton/yıl aralığında olduğu görülmektedir (Anonim 2018). Kızılcık meyvesi, reçel, marmelat, komposto şeklinde işlenerek tüketilebildiği gibi, taze (çiğ) olarak da tüketimi oldukça yaygındır (Kucharska vd. 2015). Ayrıca bazı Doğu Avrupa ülkelerinde, küçük ölçekli olarak kızılcık meyvesinden, sirke, bira, şarap üretimi olduğu da bilinmektedir (Moradi vd. 2019).



Şekil 2.1 Kızılcık meyvesinin yıllara göre üretim miktarı

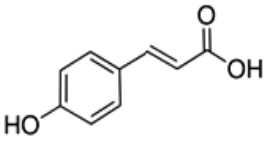
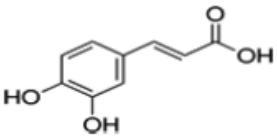
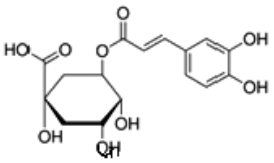
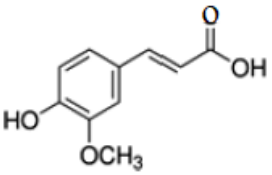
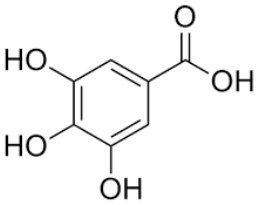
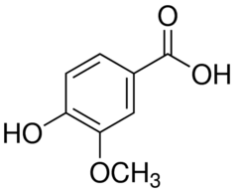
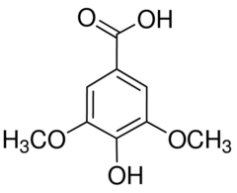
Kızılcık meyvesi ile ilgili yapılan çalışmalar, gıda endüstrisinden sağlık endüstrisine, kozmetik endüstrisinden, ilaç endüstrisine kadar hemen hemen her alanda çeşitlilik göstermektedir. Yapılan çalışmalar, kızılcık meyvesinin, C vitamini, organik asit, fenolik asit, flavonol, antosiyanin, triterpenoid gibi çok sayıda biyolojik aktif bileşik içerdiğini göstermiştir. Aktif bileşiklerin, yüksek antioksidan ve antienflamatuar özelliklere sahip olduğu belirtilmiştir (Kucharska 2012; West vd. 2012; Deng vd. 2013). Bu nedenle, biyoaktif bileşiklerce zengin kızılcık meyvelerinin veya türev ürünlerinin tüketilmesi, obezitenin, özellikle kanserin ve kardiyovasküler hastalıkların önlenebilmesi gibi özelliklerinden dolayı, insan sağlığı üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabilmektedir (Jayaprakasam vd. 2006; West vd. 2012; Deng vd. 2013; Mikaili vd., 2013; Kucharska vd. 2015).

2.1.2 Fenolik bileşikler (Polifenoller)

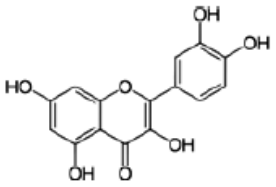
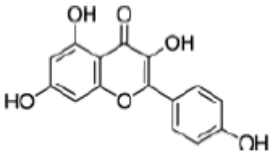
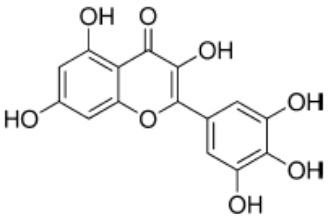
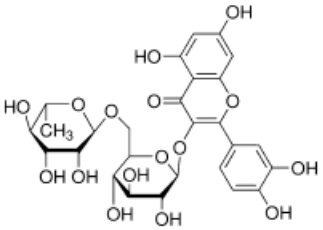
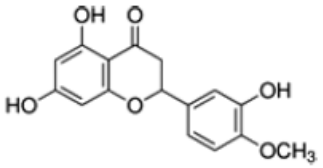
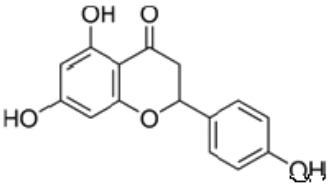
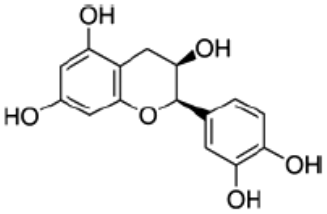
Fenolik bileşikler, özellikle meyve sebzelerde yüksek miktarda bulunan, biyoaktif bileşiklerdendir. En önemli fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları ve bulundukları meyveler (Haminiuk vd. 2012) çizelge 2.1'de verilmiştir. Yüksek miktarda biyoaktif bileşik içeren meyve ve sebze ürünlerinin tüketilmesi, çeşitli dejeneratif hastalıkların riskini önemli ölçüde azaltabilmektedir. Farklı fitokimyasalların içeriği ve bunların sağlık üzerindeki olumlu etkileri üzerine güncel araştırmalar yapılmaktadır. Bu

çalışmalarla, meyve ve sebze ile desteklenen zengin bir diyetin polifenol kaynağı olduğu gösterilmiştir (Torres vd. 2011).

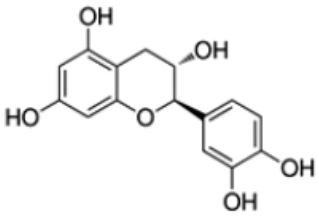
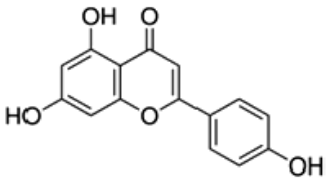
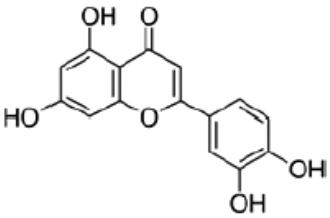
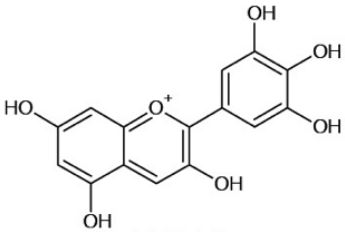
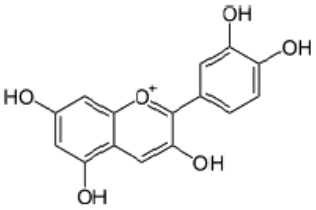
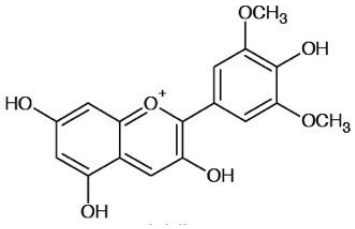
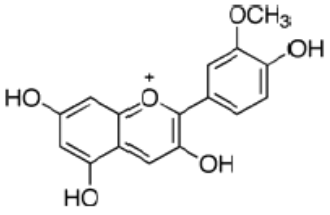
Çizelge 2.1 Meyvelerde bulunan başlıca polifenol kaynakları

Ana grup	Alt grup	İsmi	Kimyasal yapısı	Bulunduğu meyve
Fenolik asitler	**Hidroksisimanik asitler**	*p*-kumaric asit		Portakal, siyah frenk üzümü
		Kafeik asit		Papaya, kayısı, avakado
		Klorojenik asit		Yaban mersini, armut, kivi, kayısı
		Ferulik asit		Mango, portakal, papaya, ananas
	Hidroksibenzoik asitler	Gallik asit		Muz, pitaya, avakado
		Vanilik asit		Avakado, çilek
		Siringik asit		Çilek, siyah üzüm

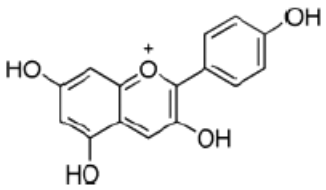
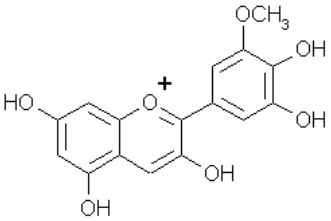
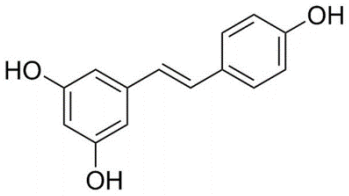
Çizelge 2.1 Meyvelerde bulunan başlıca polifenol kaynakları (devam)

Flavonoidler	**Flavonoller**	Kuarsetin		Çarkıfelek meyvesi, nar,
		Kemferol		İncir, kambuci meyvesi
		Mirisetin		Elma, papaya
		Rutin		Kırmızı üzüm, yaban mersini
	Flavononler	Hesperetin		Greyfurt, portakal
		Naringenin		Greyfurt, portakal
	Flavan-3-oller	Epikateşin		Avakado

Çizelge 2.1 Meyvelerde bulunan başlıca polifenol kaynakları (devam)

	Kateşin		Kırmızı üzüm, kiraz
Flavonenler	Apigenin		Mango, duryan, bilimbi meyvesi
	Luteolin		Limon, ananas, erik, kavun, portakal
Antosiyaninler	Delfinidin		Greyfurt, siyah frenk üzümü, yaban mersini
	Siyanidin		Ahududu, nar, Barbados kirazı
	Malvidin		Yaban mersini, kırmızı üzüm
	Penoidin		Yaban mersini, siyah frenk üzümü

Çizelge 2.1 Meyvelerde bulunan başlıca polifenol kaynakları (devam)

	Pelargonidin		Çilek, ahududu, mangostan
	Petunidin		Elma, yaban mersini
Stilbenler	Resveratrol		Kırmızı üzüm, çilek

Fenolik bileşikler, meyve ve sebzelerin duyusal ve besin kalitelerini önemli derecede belirleyen sekonder metabolitlerdir (Lapornik vd. 2005). Bu bileşikler, bir veya daha fazla hidroksil grubunu taşıyan bir aromatik halkaya sahiptirler (Balasundram vd. 2006). Fenolik bileşikler, özellikle antioksidan etkisinden dolayı, fitokimyasallar içinde en yaygın olan gruplardan biridir. En büyük biyoaktif kimyasal grubu olarak, farklı biyolojik fonksiyonlara sahiptirler. Bu yüksek antioksidan kapasiteleri yanında antimikrobiyal, antiviral ve anti-inflamatuar özelliklere sahiptirler. Fenolik bileşikler, aynı zamanda bitki büyümesi ve üremesinde patojenlere karşı etkili bir koruma sağlamakta, meyve ve sebzelerin renk ve duyusal özelliklerine katkıda bulunmaktadırlar (Popa vd. 2008; Ignat vd. 2011).

Polifenoller, flavonoidler, fenolik asitler, tanenler, stilbenler ve lignanlar olarak 5 ana gruba ayrılmaktadır. Flavonoidler, C6-C3-C6 konfigürasyonunda düzenlenmiş on beş karbon atomundan oluşan, düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir (Merken ve Beecher 2000). Flavonoidler kendi içerisinde antosiyaninler, flavonlar, isoflavonlar, flavanonlar, flavonoller ve flavanoller olarak ayrılmaktadır (Ignat vd. 2011).

Flavonoidler, bitkilerde en çok bulunan fitokimyasallardan olup, bitkiyi UV ışığa, fungal parazitlere, patojenlere ve oksidatif hücre hasarına karşı korumaya yardımcı olmaktadırlar (Cook ve Samman 1996). Flavonoidler, insanlar tarafından düzenli olarak tüketildiğinde ise, kanser ve kalp hastalığı gibi hastalıkların görülme sıklığının azalması ile ilişkilendirilmişlerdir (Liu vd. 2008). Flavonoidler arasında önem teşkil eden antosiyaninler, pH'ya bağlı olarak kırmızı, mor veya mavi renkte olabilen suda çözünür pigmentlerdir. Antosiyaninler yaprak, kök, çiçek ve meyve de dâhil olmak üzere tüm bitki dokularında bulunabilmektedirler (Ignat vd. 2011).

Fenolik asitler, kendi içerisinde hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asit olmak üzere iki alt gruptan oluşmaktadır. Hidroksibenzoik asitler, ortak olarak C6-C1 yapısına sahip olan gallik, p-hidroksibenzoik, protokateşik, vanilik ve siringik asitleri içermektedir. Hidroksinnamik asitler ise üç-karbonlu yan zincir (C6-C3) yapısına sahiptir ve kafeik, ferulik, p-kumarik ve sinapik asitler en yaygın olanlarıdır (Bravo 1998).

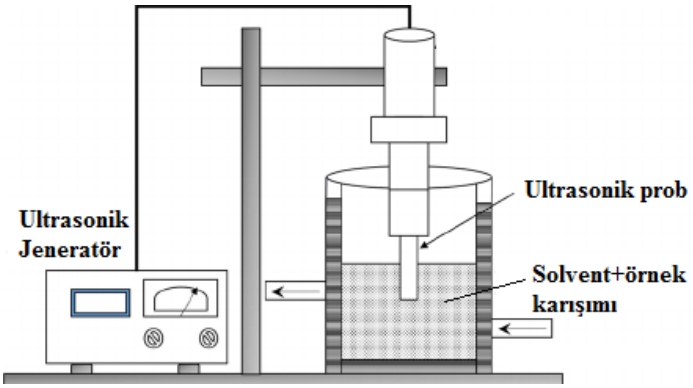
Tanenler, şelat, protein tetikleyici ajan ve biyolojik antioksidan oldukları için, biyolojik sistem üzerine etkili polifenollerdir (Hagerman 2002). Stilbenler, düşük miktarda insan diyetinde bulunabilirler ve ana temsilci resveratroldür (Delmas vd. 2006). Lignanların ise, kemoterapide ve diğer çeşitli farmakolojik uygulamalarda kullanımı mevcuttur (Saleem vd. 2005).

Polifenoller, yağlı asitlerin oksidatif bozulmalarını önleme, oksitleyici ajanların ve serbest radikallerin oksidatif stresine karşı koruyucu olma özelliği de bulunmaktadır (Ignat vd. 2011). Polifenoller, antioksidan kaynakları olarak, günümüzde büyük önem taşımaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, flavonoidler ve fenolik asitler dâhil olmak üzere birçok fitokimyasal bileşiğin, gıda materyalinin antioksidan aktivitesini artırmada önemli katkıda bulunduğunu vurgulamaktadır (Rice-Evans vd. 1997). Antioksidan aktiviteleri yanı sıra polifenoller, birçok endüstriyel uygulamada da kullanılmaktadır. Örneğin, doğal renk vericiler ve gıdalar için koruyucular olarak, boya, kâğıt ve kozmetik üretiminde kullanılabilmektedirler (Ignat vd. 2011).

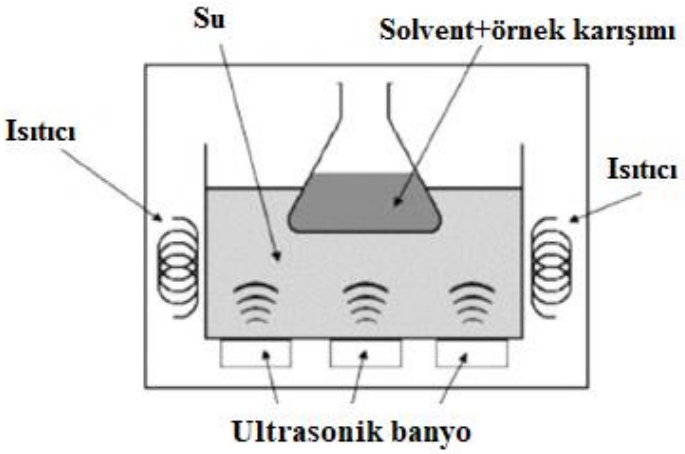
2.1.3 Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE)

Ses ve ultrases arasındaki temel fark, dalga frekansıdır. Ses dalgaları 3 grup altında toplanmaktadır. İlk grup, insan kulağı tarafından duyulabilen frekansta (10 Hz-20 kHz) bulunan, duyulabilir ses dalgalarıdır. İkincisi, duyulabilen seslerin altındaki frekanslardır (<16 Hz). Üçüncü grup ise, ultrases dalgalardır. Ultrases dalgaların frekansı, duyulabilir ses dalgalarının üstünde (>20 kHz) fakat mikrodalga frekanslarının altındadır (10 MHz'e kadar) (Tiwari 2015).

Ultrasonikasyon, sürdürülebilir "yeşil" kimya ve ekstraksiyon işlemlerinde yaygın olarak kullanılan bir teknolojidir (Chemat vd. 2017). Ultrasonikasyon işlemi, ultrasonik banyo ya da problar ile yapılabilmektedir. Ultrasonik banyo ve prob destekli ekstraksiyon düzenekleri, şekil 2.2 ve 2.3'de verilmiştir (Kadam vd. 2013; Samaram vd. 2014). Spektrumun ultrasonik bölgesi, uygulama ve ticari kullanımda oldukça önemlidir. Ultrasonikasyon, düşük yoğunluklu sonikasyon (<1 W/cm^2) ve yüksek yoğunluklu sonikasyon (10-1000 W/cm^2) olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır (Tiwari 2015). Düşük yoğunluklu (yüksek frekanslı) ultrasonikasyon, üründe tahribat yaratmadan, gıdanın işleme ve depolama aşamalarında, kalite kontrol amaçlı kullanılmaktadır. Diğer taraftan, yüksek yoğunluklu (düşük frekanslı) ultrasonikasyon, kavitasyon yoluyla mekanik, fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal değişikliklere neden olmakta ve gıda ile temas eden yüzeylerde patojen bakterilerin inaktivasyonu, ekstraksiyon, dondurma, kurutma ve emülsifikasyon gibi birçok gıda işleme prosesinde kullanılmaktadır (Awad vd. 2012).



Şekil 2.2 Ultrasonik prob destekli ekstraksiyon düzeneği şematik gösterimi



Şekil 2.3 Ultrasonik banyo destekli ekstraksiyon düzeneği şematik gösterimi

Ekstraksiyon prosesindeki ultrasonik etki için, ana itici güç akustik kavitasyondur. Ultrasonik etki, herhangi bir ortamda yayıldığında, ortamdaki moleküllerde bir dizi sıkışma ve gevşeme görülmektedir. Bu şekilde değişen basınç değişimleri, sıvı ortamdaki kabarcıkların oluşumuna ve en sonunda da bu kabarcıkların çökmesine (patlamasına) neden olmaktadır. Ultrasonikasyon etkisindeki sıvılarda, mikro kabarcıkların oluşması, genleşmesi ve patlaması sonucu ortaya çıkan bu olaya "akustik kavitasyon" adı verilmektedir (Piyasena vd. 2003). Patlama ile kabarcığın etrafında, 5500 °C'ye ve 50 MPa ulaşan çok yüksek sıcaklık ve basınç bölgeleri oluşmaktadır (Pico 2013). Ultrasonikasyon teknolojisi ile oluşan mekanik etkiler (akustik kavitasyon) nedeniyle, bitki hücresinin duvarları parçalanmakta, çözücünün ürüne penetrasyonu artmakta ve böylece kütle transferi olumlu yönde etkilenmektedir (Awad vd. 2012).

Ultrasonikasyonun kavitasyon yapma kabiliyeti, onun karakteristik özelliklerine (frekans ve yoğunluk), ortamın özelliklerine (viskozite ve yüzey gerilimi) ve dış etkenlere (sıcaklık ve basınç) göre değişebilmektedir. Ekstraksiyon uygulamaları için, kavitasyon kabarcıklarının oluşması ve çökmesi çözücü özelliklerine bağlıdır. Çözücünün kimyasal reaktivitesi, birincil ve ikincil sonokimyasal reaksiyonları (ultrasonikasyonun kimyasal tepkimelere ve proseslere uygulanması) etkilemektedir (Tiwari 2015).

Ultrasonikasyon teknolojisi yardımıyla yapılan ekstraksiyon işleminin, birçok avantajı olduğu belirtilmektedir. En önemlisi ekstraksiyon süresini kısaltma özelliğidir. Konvansiyonel (maserasyon, sokselet ekstraksiyonu, Klevenger distilasyonu) yöntemlerle karşılaştırıldığında, çözücü tüketimi azalmakta, son ürün kalitesi ve verimi daha yüksek olmakta, enerji sarfiyatı daha az olmaktadır (Chemat vd. 2017). Ultrasonik banyolarda, enerji dağılımının düzensizliği ya da banyonun her tarafının aktif kullanılamaması, bu yöntemin dezavantajları arasında yer almaktadır (Adetunji vd. 2017). Bu durumu önlemek için, ultrasonik banyo yerine, ultrasonik probların kullanımı önerilmektedir.

2.1.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE)

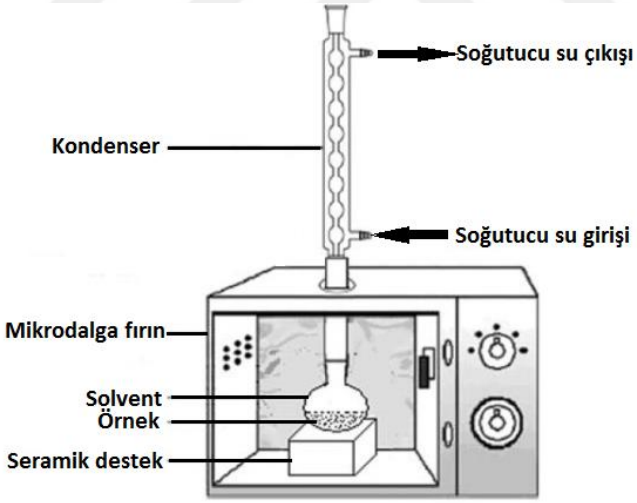
Mikrodalga, dalga boyunun 1mm ila 1 m aralığında, frekansın ise 300 MHz ila 300 GHz aralığında değiştiği, elektromanyetik ışıma formudur. Endüstriyel ölçekli kullanılan mikrodalgalar, genellikle 915 MHz frekansta, ev tipi kullanılanlar ise 2450 MHz frekanstadır. Mikrodalga, elektromanyetik spektrumda, radyo frekans dalgalar ile kızılötesi dalgalar arasında yer almaktadır (Datta ve Anantheswaran 2001). Mikrodalga, magnetron, dalga ayarlayıcı ve uygulayıcı kısım olmak üzere 3 temel kısımdan oluşmaktadır (Alifakı 2013).

Mikrodalgalar, iyonik parçacıkların göçü ya da dipolar parçacıkların rotasyonu ile moleküler bir harekete sebep olurlar. İyonik iletim, uygulanan elektromanyetik alandaki çözünen veya titreşen iyonların göç etmesini, dipol rotasyon ise polarize olmuş moleküllerin, bir hizaya sokulması anlamına gelmektedir. Gıdalarda en önemli polar molekül sudur. Su molekülleri, mikrodalga etkisiyle yön değiştirirler ve oluşan kinetik enerji ısıya dönüşmektedir. Gıdada bulunan diğer yüklü parçacıklar, mikrodalganın frekans hızında salınıma neden olan bir kuvvet oluşturmakta ve bu kuvvetle dönmeye başlamaktadırlar. Hareketli parçacıklarla diğerleri çarpışmakta ve ısı ortaya çıkmaktadır (Sumnu 2001).

Biyolojik materyal üzerinde, mikrodalga işlemi uygulanması durumunda, elektromanyetik dalgalar, yüksek dielektrik sabite sahip ortamlar tarafından, seçici bir

şekilde absorbe edilmektedir. Absorbsiyon esnasında, mikrodalga enerjisi kinetik enerjiye dönüştürülmekte, böylece bitki materyalinin, mikrodalga enerjisini absorbe eden kısımlarının seçici olarak ısıtılması sağlanmaktadır. Prosesin devam etmesiyle, hücreler patlamakta ve içeriği çözücüye geçmektedir. Çözücü, mikrodalga enerjisini absorbe ettiğinde, moleküllerinin kinetik enerjisi artmakta ve bunun sonucunda difüzyon hızı artmaktadır. Dolayısı ile daha hızlı kütle aktarımı görülmektedir (Gallo vd. 2010).

Konvansiyonel ekstraksiyonda, kütle transferi içten dışa doğru gerçekleşirken, ısı transferi dıştan içe doğru gerçekleşmektedir. MDE yönteminde ise prosesin hızlı ve ekstraksiyon veriminin yüksek olması, aynı yönde gelişen ısı ve kütle transferinin bir sonucu olduğu söylenebilir. Yine konvansiyonel yöntemlerde, dış ortamdan materyalin içine ısı transferi ile heterojen bir ısınma sağlanırken, MDE yönteminde ise ısı hacimsel olarak (homojen) dağılmaktadır (Chemat ve Cravotto 2013).



Şekil 2.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon düzeneği şematik gösterimi

Gıdalarda mikrodalga destekli ekstraksiyonu (Şekil 2.4) etkileyen birçok faktör vardır. MDE yönteminin etkinliği, seçilen çalışma koşullarıyla ilişkilidir. Çözücü bileşimi, çözücü:katı oranı, ekstraksiyon süresi, mikrodalga gücü ve materyalin su içeriği gibi özellikler, MDE performansını etkileyebilecek parametrelerdendir (Chemat ve Cravotto 2013). Ayrıca, gıdaların dielektrik özellikleri (dielektrik sabiti ve dielektrik kayıp

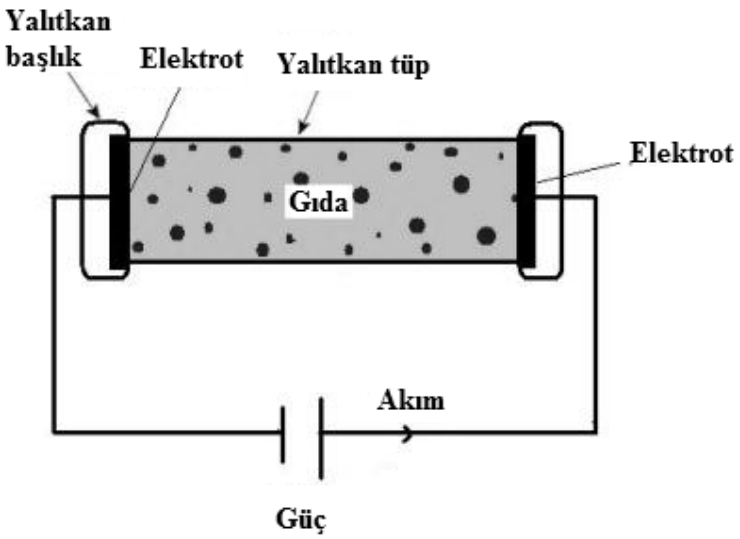
faktörü) ve penetrasyon derinliği, elektromanyetik enerji ile materyal arasındaki etkileşim üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, işlemi kontrol etmek için, materyalin dielektrik özellikleri hakkında bilgi sahibi olmak önemlidir. Dielektrik sabiti, gıdanın mikrodalga enerjiyi depolama yeterliliğinin göstergesidir. Dielektrik kayıp faktörü ise gıdanın mikrodalga enerjisini ısı enerjisine dönüştürme yeteneğinin göstergesidir (Alifakı ve Şakıyan 2017). Gıdaların dielektrik özellikleri, frekansa, materyalin bileşimine, nem içeriğine, yığın yoğunluğuna ve sıcaklığına bağlıdır (Calay vd. 1995). Penetrasyon derinliği, bir gıda maddesinin mikrodalgayı ne kadar iyi absorbe ettiğini gösteren bir terimdir. Penetrasyon derinliği ne kadar kısa ise, gıda, mikrodalgaları o kadar çok absorbe etmektedir. Penetrasyon derinliği materyalin bileşimi, frekans ve sıcaklığa bağlıdır (Hui 2006).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon çalışmalarında, çözücü olarak kullanılan su, geniş hidrojen bağlı yapıların varlığından dolayı, oda sıcaklığında ve atmosferik basınçta, yüksek dielektrik sabiti (ε) olan polar bir çözücüdür. Bu nedenle, genellikle su, apolar veya organik bileşikler için uygun bir ekstraksiyon çözücüsü olarak kabul edilmez. Fakat, yapılan çalışmalar, belirli bir sıcaklık ve basınçta, suyun polaritesinin alkollerin çoğuna yakın olarak değişebileceğini göstermiştir. Suyun sıcaklığı yükseldiğinde, geçirgenliği, viskozitesi ve yüzey geriliminde sabit bir düşüş, fakat difüzyon özelliklerinde bir artış görülmektedir (Alupului vd. 2012).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, hızlı ve çoklu ekstraksiyona uygun olması, ekstraksiyon süresinin kısa olması, düşük çözücü gereksinimi, sıcak yüzey temasının olmaması, ekipman boyutunun küçük olması, yüksek kalitede son ürün eldesi, proses kontrolünde hızlı cevap alımı, yüksek sıcaklıklara erişimi gibi avantajlara sahiptir (Eskilsson ve Björklund 2000; Chemat ve Strube 2015). Diğer taraftan, ek filtreleme veya santrifüj işlemi gerektirebilmesi, ekstrakte edilecek bileşiklerin apolar veya uçucu olduklarında mikrodalga ekstraksiyonunun veriminin düşük olabilmesi, ısıya duyarlı biyoaktif bileşiklerin bozunmasına yol açabilecek yüksek sıcaklıklara maruz kalınması gibi dezavantajları da mevcuttur (Wang 2010).

2.1.5 Ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon (ODE)

Ohmik ısıtma adını, akım, gerilim ve direnç arasındaki ilişkiyi gösteren Ohm kanunundan almaktadır (Sastry ve Li 1996). Literatürde Joule ısıtma, elektro-iletken ısıtma, elektriksel direnç ısıtma, doğrudan elektriksel direnç ısıtma veya elektro-ısıtma olarak da bilinmektedir. Ohmik ısıtma, elektrik akımının gıda materleyiden geçişine dayanan bir elektro-ısıtma tekniğidir. Bu sistem, özellikle yarı katı gıda ya da parçacıklı gıda kullanıma uygundur (Cullen vd. 2012). Isı, gıdanın içinde oluşur ve oluşan ısı miktarı, voltaj değişimi ve elektriksel iletkenlik ile doğrudan ilişkilidir. Ohmik ısıtma düzeneğinin şematik gösterimi, şekil 2.5'de verilmiştir (Rahman 2007). Şekilde görüldüğü gibi, sistemin her iki ucunda bulunan elektrotlara AC (alternatif akım) voltaj uygulanmaktadır. Isıtma oranı, elektrik alan kuvvetinin karesi ve örneğin elektrik iletkenliği ile doğru orantılı olarak değişmektedir. Elektrik alan şiddeti, elektrotlar arası boşluk veya uygulanan gerilim ayarlanarak değiştirilebilmektedir. Ayrıca, ohmik ısıtma performansı, ürünün elektriksel iletkenliği ve ortam sıcaklığına bağlıdır (Richardson 2001).



Şekil 2.5 Ohmik ısıtma düzeneği şematik gösterimi

Üründe sıvı ve katı gibi birden fazla faz varsa, tüm fazların elektriksel iletkenliği dikkate alınmalıdır. Elektriksel iletkenlik, sıcaklık arttıkça artmaktadır. Bu nedenle,

ohmik ısıtmanın, sıcaklık arttıkça daha etkili hale geldiği bilinmektedir. İki faz arasındaki elektriksel direnç ve sıcaklıklardaki fark, sistemin ısıtma özelliklerini çok karmaşık hale getirebilmektedir. Elektriksel iletkenlik, materyalin iyonik içeriğinden etkilenebilmektedir. Bu nedenle, etkili ohmik ısıtma elde etmek için, materyalin elektriksel iletkenliğini (hem sıvı hem de katı faz için), iyon (örneğin tuzlar) konsantrasyonu ile ayarlamak mümkün olabilmektedir (Richardson 2001).

Ohmik ısıtma sisteminin başarılı olabilmesi için, önemli faktörler bulunmaktadır. Bu faktörler, gıda maddesinin elektriksel iletkenliği, ohmik ısıtma sistemin tasarımı, gıdanın ısıtmaya maruz kalma süresi, termo-fiziksel özellikler, elektrik alan kuvveti, elektriksel iletkenliklerin sıcaklık ile değişimi ve gıda boyunca dokular arası madde geçiş hareketidir (Ramaswamy vd. 2014).

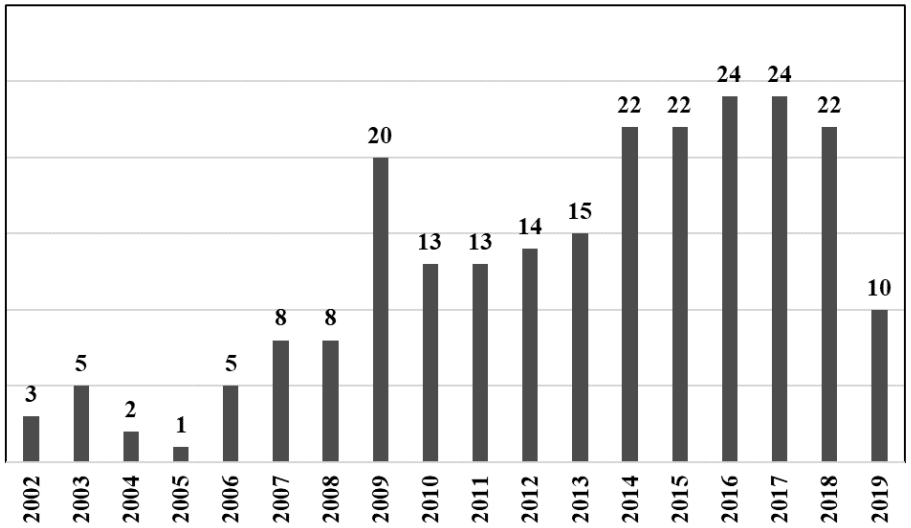
Ohmik ısıtma işleminin geleneksel yöntemlere göre avantajı, yüksek yüzey sıcaklıklarının olmaması ve ısı aktarım katsayılarının sınırlandırılabilmesidir. Aynı zamanda, gıdanın renginin ve besin değerinin korunması, kısa işlem süresi ve yüksek verim gibi avantajları da mevcuttur (Cullen vd. 2012). Ohmik ısıtma sisteminin, bakım maliyetleri de oldukça düşüktür. Gıdanın en soğuk noktasını dahi hızlı bir şekilde ısıttığı için, sıcaklığa hassas ürünler için elverişlidir (Parrott 1992). Fakat ohmik ısıtma sistemlerinin, endüstri uygulamaları için ilk yatırım maliyeti oldukça yüksektir. Diğer bir dezavantajı ise yağ globülleri içeren gıdalarda görülmektedir. Yağ globülleri, iletken olmadığı için, ohmik ısıtma ile etkili bir şekilde ısıtmak oldukça zor olmaktadır (Rahman 1999). Bir başka dezavantaj ise, gıdanın elektriksel iletkenliğiyle ilgilidir. Bir sistemin sıcaklığı arttıkça, elektronların daha hızlı hareket etmesi nedeniyle elektriksel iletkenliği de artar. Yüksek sıcaklıklara çıkıldıkça da sistemin kirlenmesi daha hızlı olmaktadır. Temizliği iyi yapılmamış ohmik ısıtma sistemi, elektrotlar üzerindeki protein birikintilerine bağlı olarak arızaya neden olabilmektedir (FDA-CFSAN 2000). Fakat sistem kurulduktan sonra, doğru kontrol mekanizmaları ile bu dezavantajların önüne geçilebilmektedir.

2.2 Kaynak Özetleri

Bu bölümde, son yıllarda yapılan kızılcık meyvesi (*Cornus mas*), ultrasonik destekli (UDE), mikrodalga destekli (MDE) ve ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon (ODE) çalışmaları detaylı olarak incelenmiştir.

2.2.1 Kızılcık (*Cornus mas*) ile yapılan çalışmalar

Kızılcık meyvesi ile ilgili çalışmalar 60'lı yılların başına dayanmaktadır. 2002-2019 yılları arasında kızılcık meyvesi ile ilgili yapılan çalışmalar şekil 2.6'da verilmiştir. Özellikle 2009 yılından sonra çalışma sayısı önemli bir artış göstermiştir (Anonim 2019).



Şekil 2.6 2002-2019 yılları arasında kızılcık ile ilgili yapılan SCI yayın sayıları

Tural ve Koca (2008), Türkiye'de yetişen kızılcık meyvelerinin fiziko-kimyasal ve antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada kullanılan meyvelerin ağırlıkları 0.39-1.03 g, uzunlukları 14.24-22.20 mm, genişlikleri 9.59-13.21 mm ve etli kısım/çekirdek oranları 1.34-6.72 aralığında değişmektedir. Ayrıca meyvelerin renk değerlerine bakıldığında, L değerinin 10.82-19.69, a değerinin 6.25-15.59 ve b değerinin 3.46-6.64 aralığında olduğu belirtilmiştir. Sonuç olarak, kuru madde miktarı, çözünmüş katı madde miktarı, pH, toplam asitlik, toplam şeker miktarı, indirgen şeker

miktarı, askorbik asit miktarı, toplam fenolik bileşik ve toplam antosiyanin miktarları sırasıyla, % 18.71, % 15.12, 3.30, % 1.50, 93.42 g/kg, 81.80 g/kg, 0.53 mg/g, 4.37 mg/g ve 1.97 mg/g olarak bulunmuştur. Antioksidan miktarı ise, ferrik iyon indirgeyici antioksidan gücü yöntemi (FRAP) ile belirlenmiş ve ortalama 53.92 mmol/g olarak bulunmuştur. Ek olarak, kızılcık meyvesinin, yüksek derecede doğal antioksidan özelliğe sahip olduğunu ve tüketiminin sağlığa yararlı etkisinin olacağını belirtmişlerdir.

Hamid vd. (2011), İran'da yetişen 6 farklı genotipteki kızılcık meyvelerinin antioksidan ve fitokimyasal özelliklerini incelemişlerdir. Toplam fenolik bileşik tayini için Folin-Ciocalteu metodu, antioksidan aktivite için DPPH metodu ve toplam antosiyanin için ise pH diferansiyel metodu kullanılmıştır. Farklı genotipteki kızılcık meyvelerinin toplam fenolik bileşik miktarlarının, 1097.19-2695.75 mg GAE/100 g taze örnek aralığında değiştiği belirtilmiştir. Farklı genotipteki meyvelerin antioksidan aktivite değerlerinin, % 38.98-82.37 aralığında, toplam antosiyanin miktarlarının ise 106.89-442.11 mg siyanidin-3-glukosid/100 g taze örnek aralığında değiştiği görülmüştür. Kızılcığın iyi bir doğal antioksidan kaynağı olarak görülebileceği belirtilmiş ve gıda takviyesi formülasyonlarında da kullanılabileceği vurgulanmıştır. Aynı zamanda, elde edilen sonuçların, gelecekteki ıslah veya ileri biyoteknoloji çalışmalarında, öncü olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Radovanovic vd. (2013), Sırbistan'da yetişen kızılcık meyvelerinden fenolik bileşik ekstrakte etmiş ve ayrıca bu bileşiklerin antioksidan ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Ekstraksiyon işleminde, çözücü olarak formik asit/metanol/su (% 0.1/70/29.9 v/v/v) karışımı kullanmışlar ve 24 saat boyunca, manyetik karıştırıcıda bekletmişlerdir. Santrifüjden geçirdikleri örnekleri, tekrar filtre ederek ekstraktlarını elde etmişlerdir. Sonuç olarak, toplam fenolik bileşik miktarı 8625.89 mg GAE/kg, toplam flavonol miktarı, 600.88 mg Kuarsetin eşdeğeri/kg ve radikal süpürücü aktivite (EC_{50}) 22.19 mL/g olarak bulunmuştur. Gram(-) ve Gram(+) bakteriler ile yapılan, antimikrobiyal aktivite analizlerinin sonucunda, ekstraktların oldukça yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, çalışma sonunda kızılcık meyvesinin, tıbbi ürünlerin üretiminde kullanılabilir olduğu sonucuna varılmıştır.

Kawa-Rygielska vd. (2018), kızılcığın üç farklı renkteki (sarı, mercan rengi ve kırmızı) meyveleri kullanılarak elde edilen sirkede bulunan biyoaktif bileşikler üzerine araştırma yapmışlardır. Çalışmada sirke yapımı gerçekleştirilmiştir. Biyolojik olarak aktif bileşiklerin (toplam fenolik bileşik, antioksidan aktivite, iridoid vb.) en yüksek konsantrasyonu, kırmızı meyve ile yapılan sirkede elde edilmiştir. *Saccharomyces bayanus-SafSpirit*'in meyve mayalarının fermantasyonunda kullanılması, son üründe biyolojik olarak aktif bileşiklerin içeriğini önemli ölçüde arttırmıştır. Kısacası, doğal bir gıda ürünü olan kızılcık sirkesinin, insan beslenmesinde iyi bir antioksidan kaynağı olabileceği belirtilmiştir.

Ergezer vd. (2018), kızılcık ekstraktını, sucuk yapımında kullanmış ve sucuğun kalite karakteristikleri üzerine etkisini incelemişlerdir. Kızılcık meyve ekstraktı eldesi için öncelikle meyveler, 1:2 katı:çözücü oranında (w/v) su ile karıştırılarak, 5 dakika boyunca kaynatılmış ve daha sonra 40 °C'de 24 saat süresince çalkalamalı su banyosunda bekletilmiştir. Elde edilen ekstraktlar, sucuk hamuru içerisine 3 farklı konsantrasyonda (200, 500 ve 1000 ppm) eklenmiştir. Çalışma sonucunda, kızılcık ekstraktının eklendiği sucuk örneklerinde, lipit oksidasyonunun engellendiği ve istenen kırmızı rengin raf ömrü boyunca korunduğu belirtilmiştir. Bu nedenle, kızılcık ekstraktının et ürünlerinde doğal antioksidan madde olarak kullanılabileceğini rapor etmişlerdir.

De Biaggi vd. (2018), anti-enflamatuar ve antioksidan bileşik ile ilgili çalışmaların, son zamanlarda önemli bir araştırma konusu haline geldiğini belirtmişlerdir. Bu bağlamda, kızılcık meyvesinin, çok çeşitli biyolojik ve farmakolojik özellikler sergilediğini, önemli miktarlarda fenolik bileşik ve vitamin içerdiğini, potansiyel sağlığı teşvik edici (nutrasötik) bir gıda olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmalarında kızılcık meyvesinin yüksek nutrasötik özellik göstermesini, esas olarak yüksek oranda fenolik sekonder metabolit ve C vitamini içermesine bağlamışlardır. Sonuç olarak ise, az bilinen bu meyvenin kullanımının daha fazla popülerleşmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Lietava vd. (2019), kızılcık meyvesinin, ateroskleroz (damar sertliği) üzerine etkisini araştırmışlardır. Kızılcık meyvesinin, aterosklerozu etkileyen polifenoller içerdiği

betirtilmiştir. Deneysel çalışmalarla doğrulanan, yüksek antioksidan potansiyeli nedeniyle, iltihap olasılığında belirgin bir azalma sergilediği belirtilmiştir. Kızılcık bileşiminde bulunan tanin, organik asit, antosiyanin, yağ asitleri, flavonoid gibi bileşiklerin, aterosklerozu oluşturan riskleri önlemede oldukça etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca kızılcık, düşük glisemik indekse sahip olduğu için, sağlığa olumlu bir etkisinin olduğu belirtilmiştir. Bununla birlikte, klinik testler kızılcık meyvesinin kolestrol düşürücü etkisinin de olduğunu göstermiştir.

2.2.2 UDE yöntemi ile yapılan çalışmalar

Abdullah ve Koc (2013), sıcaklık ve çözücü:katı oranının, çörek otundan UDE yöntemi ile yağ ekstraksiyonu üzerine etkisini belirlemişler ve yanıt yüzey yöntemi kullanarak proses parametrelerini optimize etmişlerdir. Ayrıca, yağ ekstraksiyonunun kinetiğinin belirlenmesi için, bir matematiksel model geliştirmişlerdir. Kütle aktarım katsayısı, deneysel verilerin iki terimli eksponansiyel modele uygulanmasıyla hesaplanmıştır. Maksimum yağ verimi (% 67.94), ekstraksiyon süresinin 30 dakika, sıcaklığın 32 °C ve çözücü:katı oranının 20:1 mL/g olduğu koşullarda elde edilmiştir. Artan ekstraksiyon sıcaklığının, yıkama aşamasında yağ ekstraksiyonunu artırdığı görülmüş ve ek olarak, çözücü:katı oranı artırılarak, difüzyon aşamasında yağ ekstraksiyonu daha da geliştirilmiştir. Ekstraksiyon üzerine ultrasonikasyonun etkisi, difüzyon aşamasında, yıkama aşamasına göre daha fazla olmuştur. UDE yöntemi ile elde edilen yağın, genel yağ asidi kompozisyonu değişmemiştir. Ekstraksiyon işlemlerinde, yüksek yoğunluklu ultrasonikasyon kullanımının difüzyon aşamasında yağ ekstraksiyon hızını artırdığı ve aynı zamanda ekstraksiyon süresini azalttığı rapor edilmiştir.

Tabaraki ve Rastgoo (2014), yeşil ceviz kabuğundan, UDE yöntemi ile doğal antioksidanların ekstraksiyonu üzerine çalışmışlar ve konvansiyonel yöntemlerle karşılaştırma yapmışlardır. Çözücü olarak etanol kullanılmıştır. Deney koşulları, yanıt yüzey yöntemi ile optimize edilmiştir. Bağımsız değişkenler, etanol konsantrasyonu (% 45, % 55 ve % 65), sıcaklık (30, 45 ve 60 °C) ve ekstraksiyon süresi (30, 50, 70 dakika) olarak verilmiştir. Bağımlı değişken olarak ise, toplam fenolik bileşik miktarı, radikal inhibisyon aktivitesi (DPPH), ferrik indirgeme yeteneği (FRAP) ve verim incelenmiştir.

Sonuçlara bakıldığında, toplam fenolik bileşik miktarının 6.28-7.23 mg GAE/g kuru madde, FRAP değerlerinin 0.33-0.46 mmol Fe^{+2}/g kuru madde, DPPH değerlerinin % 33.98-56.31 ve ekstraksiyon veriminin % 33.04-38.72 aralığında değiştiği belirtilmiştir. Optimum ekstraksiyon koşullarında, etanol konsantrasyonunun % 60, sıcaklığın 60 °C ve ekstraksiyon süresinin 30 dakika olduğu bulunmuştur. UDE yöntemi ile elde edilen örneklerdeki toplam fenolik bileşik, FRAP, DPPH değerlerinin, konvansiyonel ekstraksiyona kıyasla daha yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Celli vd. (2015), haskap meyvesinden, antosiyanin ekstraksiyonu için yanıt yüzey yöntemi ile optimize ettikleri UDE yöntemini kullanmışlardır. Farklı çözücü:katı oranı (5:1, 15:1 ve 25:1 mL/g), etanol konsantrasyonu (% 70, % 80 ve % 100), formik asit konsantrasyonu (% 0 ve % 0.5), banyo sıcaklığı (25, 35 ve 45 °C) ve sonikasyon süresi (10, 20 ve 30 dakika) bağımsız değişken olarak seçilmiştir. Değişkenler, Plackett-Burman (PB) ve Box-Behnken (BB) tasarımları kullanılarak optimize edilmiştir. Antosiyanin analizleri pH diferansiyel metoduna göre yapılmıştır. Optimum koşullar, 25:1 mL/g çözücü:katı oranı, % 80 etanol konsantrasoyonu, % 0.5 formik asit konsantrasyonu, 35 °C banyo sıcaklığı ve 20 dakika ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında ekstrakte edilen örneklerin antosiyanin içeriği, 22.73 mg cya-3-glu/g kuru madde olarak bulunmuştur. Aynı zamanda, ekstraktlarda 5 adet antosiyanin (siyanidin 3,5 diglukozid, siyanidin-3-glukosid, siyanidin-3-rutinosid, pelargonidin-3-glukozid ve peonidin-3-glukosid) olduğu belirlenmiştir.

Garcia-Castello vd. (2015), greyfurtun katı atıklarından, UDE yöntemi ile flavonoid ekstraksiyonu gerçekleştirmiş ve sonuçlar konvansiyonel ekstraksiyon yöntemiyle karşılaştırılmıştır. İki yöntem ile elde edilen sonuçlara bakıldığında, flavonoid kompozisyonları benzer olsa da naringin (greyfurtta en çok bulunan flavonid) miktarı UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda daha çok olduğu bulunmuştur. Yanıt yüzey yöntemi ile, toplam fenolik bileşik ve toplam antosiyanin miktarı, etanol konsantrasyonu (% 0-100), sıcaklık (25-70 °C) ve ekstraksiyon süresi (UDE yöntemi için, 3-60 dakika; konvansiyonel ekstraksiyon yöntemi için, 30-510 dakika) gibi proses değişkenlerinin bir fonksiyonu olarak optimize edilmiştir. Toplam fenolik bileşik ve toplam antosiyanin miktarlarının, UDE yöntemi ile sırasıyla, 29.4-80 mg GAE/g kuru

madde ve 12.5-28.3 mmol TE/g kuru madde aralığında değiştiği, konvansiyonel ekstraksiyon yöntemi ile ise sırasıyla, 25.3-55.8 mg GAE/g kuru madde ve 4-23 mmol TE/g kuru madde aralığında değiştiği rapor edilmiştir. Sonuç olarak, UDE yöntemi ile daha düşük ekstraksiyon sürelerinde (en yüksek toplam fenolik bileşik: 32 dakika), toplam fenolik bileşik miktarı, konvansiyonel ekstraksiyon yöntemine göre (en yüksek toplam fenolik bileşik: 413 dakika), % 50 oranında daha yüksek bulunmuştur. Toplam antosiyanin miktarları karşılaştırıldığında ise UDE yöntemi ile (en yüksek antosiyanin: 15 dakika), konvansiyonel ekstraksiyon yöntemine göre (en yüksek antosiyanin: 270 dakika), % 66 oranında daha yüksek bulunmuştur.

Kazemi vd. (2016), nar kabuğundan, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için vurgulu UDE yöntemini kullanmışlardır. Nar kabuğunun, punikalajin ve hidroksibenzoik asit gibi fenolik bileşiklerce zengin olduğu bilinmektedir. Çözücü olarak, % 70 etanol-su karışımı kullanılmıştır. Ekstraksiyon süresinin 10 dakika, güç yoğunluğunun 105 W/cm^2 ve döngünün % 50 olduğu koşullarda, nar kabuğundan, maksimum fenolik bileşik verimi (% 41.10) elde etmişlerdir. Ekstraksiyon süresinin çok kısa olması nedeniyle, enerji ve maliyetin azaldığını, aynı zamanda bu metodun güvenli bir yöntem olduğunu bildirmişlerdir. Ek olarak, optimum koşullar altında elde edilen nar kabuğu ekstraktında, önemli miktarda punikajin (146.55 mg/g) ve elajik asit (20.65 mg/g) olduğunu tespit etmişlerdir.

Pradal vd. (2016), hindiba atıklarının değerlendirilmesi için, UDE yöntemi ile polifenol ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. Optimizasyon işlemi için, bağımsız değişken olarak farklı sıcaklıklar (20, 40 ve 60 °C), etanol konsantrasyonları (% 0, % 30 ve % 60) ve ultrasonik güçler (0, 50 ve 100 W) seçilmiştir. Etanol konsantrasyonu % 0'dan % 60'a arttırıldığında, ekstraksiyon veriminde ve antioksidan aktivitede bir artış gözlenmiştir. Fakat, etanol konsantrasyonu % 60'ın üzerinde olduğu zaman, ekstraksiyon verimi ve örneklerin antioksidan aktivitesi hızlı bir şekilde azalmış ve saf etanol kullanımının (% 100) polifenollerin ekstraksiyonunda tamamen yetersiz kaldığı görülmüştür. Sıcaklığın artması, polifenollerin çözünürlüklerini artırmış ve verime olumlu etki göstermiştir. En yüksek toplam fenolik bileşik miktarı (yaklaşık 1600 mg GAE/100 g kuru madde) 120 dakika ekstraksiyon süresi sonunda, % 60 etanol konsantrasyonu, 60 °C sıcaklık ve 100

W ultrasonik güç koşullarında elde edilmiştir. Ultrasonikasyon uygulamasının hem ekstraksiyon süresinin hem de enerji tüketiminin azalması üzerine etkisinin çok yüksek olduğu rapor edilmiştir.

Bir diğer çalışmada, Jak meyvesinden (*Artocarpus heterophyllus*) UDE yöntemi ile pektin ekstraksiyonu çalışılmış ve proses koşulları yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiştir (Moorthy vd., 2017). Optimizasyonda, farklı çözücü:katı oranı (10:1-20:1 mL/g), pH (1-2), ekstraksiyon sıcaklığı (50-70 °C) ve ekstraksiyon süresi (15-30 dakika) bağımsız değişken olarak kullanılmıştır. Çalışmada, optimum ekstraksiyon koşulları, 15:1 mL/g çözücü:katı oranı, pH 1.6, 60 °C ekstraksiyon sıcaklığı ve 24 dakika ekstraksiyon süresidir. Bu koşullarda, pektin verimi % 14.5 olarak bulunmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, yüksek asidik ortamın (pH 1-1.7) çözünmeyen pektini direkt olarak etkilediği, pektinin molekül ağırlığını düşürdüğü, herhangi bir bozunma olmadan, çözülebilir pektin haline getirdiği ve pektin ekstraksiyon verimini artırdığı belirtilmiştir. Ayrıca, sıcaklığın çok artmasının (65 °C üstü), çözücünün yüzey gerilimi ve viskozitesini azaltarak ultrasonik kavitasyon özelliklerini ve kütle aktarım hızının yoğunluğunu değiştirdiği ve dolayısı ile ekstraksiyon verimini düşürdüğü belirtilmiştir.

Kumari vd. (2017), krem ve pembe renkli iki türdeki patates kabuklarından, polifenol ekstraksiyonu için 33 ve 42 kHz'de UDE yöntemini kullanmışlar ve polifenol profilini inceleyerek, kinetik model üzerine çalışmışlardır. Kontrol olarak, konvansiyonel ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı ve antioksidan kapasiteleri (DPPH ve FRAP) araştırılmıştır. UDE yöntemi, konvansiyonel ekstraksiyon yöntemine göre, toplam fenolik bileşik verimini önemli ölçüde artırmıştır. Polifenollerin ekstraksiyonunda düşük ultrasonik frekansın (33 kHz), yüksek ultrasonik frekansa göre daha etkili olduğu bulunmuştur. Pembe renkli patates kabuklardan, UDE yöntemi ile (42 kHz) elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı, DPPH ve FRAP aktiviteleri sırasıyla 7.67 mg GAE/g kuru madde, 5.86 mg TE/g kuru madde ve 22.21 mg TE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Buna karşın aynı materyalden, konvansiyonel ekstraksiyon ile elde edilen örneklerin bu değerleri sırasıyla 3.28 mg GAE/g kuru madde, 3.51 mg TE/g kuru madde ve 6.27 mg TE/g kuru madde olarak

bulunmuştur. Yapılan profil analizleri sonucu, en yaygın fenolik bileşiğin kafeik asit olduğu belirtilmiştir. Ekstraksiyon kinetiği incelendiğinde, Peleg difüzyon modelinin (R^2>0.92), UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların polifenol verimini tahmin etmek için kullanılabileceği belirtilmiştir.

Lopez vd. (2018), dağ çileğinden, antosiyanin ekstraksiyonu için UDE yönteminden yararlanmışlardır. Dağ çilekleri, öncelikle dondurularak kurutulmuştur. Daha sonra 3:100 g/mL katı:çözücü oranında, etanol:su karışımı (% 0-100) ile karıştırılmış ve 35 °C sıcaklıkta ultrasonik prob kullanılarak (100-500 W) farklı sürelerde (3-45 dakika) antosiyanin ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon sonucunda, optimum proses koşulu olarak 27.4 dakika ekstraksiyon süresi, 243.7 W ultrasonik güç ve % 59.9 etanol konsantrasyonu bulunmuştur. Bu koşulda elde edilen ekstraktın antosiyanin miktarı, 240.6 µg cya-3-glu/g kuru madde bulunmuştur. Dağ çileğinden antosiyanin ekstraksiyonunda, ultrasonik prob yönteminin oldukça etkili olduğu vurgulanmıştır.

Baria vd. (2019), mango posasından, karetenoid ekstraksiyonu için yeşil teknoloji olarak UDE yöntemini kullanmışlardır. Ultrasonik banyoda, 100 W güç ile 4 farklı sürede (2, 4, 6 ve 8 dakika) ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak, 1:2, 1:3 ve 1:4 g/mL oranlarında yer fıstığı, ayçiçeği ve keten tohumu yağı kullanılmıştır. En yüksek karetenoid verimi, 1:2 g/mL oranında keten tohumu yağı ile en düşük verim ise aynı oranda yer fıstığı yağı ile elde edilmiştir. Ayrıca her çözücü çeşitinde, süre arttıkça elde edilen karetenoid miktarı da artmıştır. Fakat çalışma sonunda elde edilen veriler, literatürde diğer ekstraksiyon yöntemleri ile (mikrodalga, yüksek basınç vb.) karşılaştırılmış ve UDE yönteminin çok etkili olmadığı belirtilmiştir. Bunun nedeni olarak, ultrasonik banyonun gücünün düşük olmasından ve çözücünün yağ olmasından kaynaklı olabileceği rapor edilmiştir.

2.2.3 MDE yöntemi ile yapılan çalışmalar

Simsek vd. (2012), vişne posasında, farklı çözücü (% 100 su, % 100 etanol ve % 50 su-% 50 etanol), çözücü:katı oranı (10, 20 ve 30 mL/g), mikrodalga gücü (400 ve 700 W) ve ekstraksiyon sürelerinin (10, 12, 14, 16 dakika), fenolik bileşik ve antioksidan

aktivite üzerine etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak, 400 W mikrodalga gücünde işlem gören örneklerde, toplam fenolik bileşik miktarının ilk 14 dakika arttığı, daha sonra azaldığı görülmüştür. 700 W mikrodalga gücünde işlem gören örneklerde ise 12. dakikadan sonra düşüş gözlenmiştir. Hem toplam fenolik bileşik miktarı hem de antioksidan aktivite için, en etkili çözücü tipi % 50 etanol-% 50 su, çözücü:katı oranı ise 20 mL/g olarak bulunmuştur.

Garofulic vd. (2013), vişneden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile antosiyanin ve fenolik bileşik eldesi üzerine çalışmışlardır. 1:8 g/mL katı:çözücü (% 0.1 HCl+% 80 metanol) oranı sabit tutulmuştur. Sıcaklık (43-70 °C), ekstraksiyon süresi (3-14 dakika) ve mikrodalga gücü (350-500 W) değişkenlerini optimize ederek, ekstraksiyon üzerine etkisini incelemişlerdir. Konvansiyonel ekstraksiyonda, vişne örnekleri 1:4 g/mL katı:çözücü (% 0.1 HCl+% 80 metanol) oranında 20 dakika boyunca bekletilmiş ve buhner hunisinden süzülerek, ekstrakt elde edilmiştir. Antosiyanin olarak, siyanidin-3-soforosid, siyanidin-3-glukosilrutinosid, siyanidin-3-glukosid ve siyanidin-3-rutinosid, toplam fenolik asit olarak, kafeik, *p*-kumarik ve klorojenik asit konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, optimum toplam antosiyanin verimi (1.77 mg/g taze örnek) 63.71 °C sıcaklık, 9.19 dakika ekstraksiyon süresi ve 403.22 W mikrodalga gücü koşullarında elde edilmiştir. Optimum toplam fenolik asit verimi ise (1.31 mg/g taze örnek) 70.07 °C sıcaklık, 10.11 dakika ekstraksiyon süresi ve 400.67 W mikrodalga gücü koşullarında elde edilmiştir. Konvansiyonel ekstraksiyondan elde edilen örneklerin toplam antosiyanin ve toplam fenolik asit verimi, MDE yöntemine kıyasla sırasıyla, % 11 ve % 12 oranında daha düşük bulunmuştur.

Pap vd. (2013), asitli çözücüler (sitrik veya hidroklorik asit, 50 ppm konsantrasyona sahip sülfür-su karışımı) kullanarak, siyah kuşüzümü posasından antosiyanin elde etmek için, farklı proses koşullarında MDE yöntemini kullanmışlardır. Maksimum antosiyanin miktarı (24.6 mg/g), pH 2'de, 0.05 g/mL katı:çözücü oranı, 700 W mikrodalga gücü ve 10 dakika ekstraksiyon süresi ile elde edilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen antosiyanin verimleri, konvansiyonel ekstraksiyon yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Ekstraksiyon süresinin, MDE yöntemi kullanımıyla önemli ölçüde azaldığı görülmüştür. Maksimum antosiyanin verimi, konvansiyonel ekstraksiyon

yöntemi ile 300 dakikada elde edilirken, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile 10 dakikada elde edilmiştir. Ayrıca, mikrodalga destekli ekstraksiyonda kullanılan çözücü miktarı (1:20), konvansiyonel ekstraksiyon yönteminde kullanılan miktarın (1:40) yarısı kadar olduğu görülmüştür.

Pavlovic vd. (2013), filtre kahve posasından doğal antioksidanların ekstraksiyonu için MDE yönteminden yararlanmışlardır. Bağımlı değişken olarak, ekstraksiyon verimi, toplam fenolik bileşik miktarı, radikal inhibisyon aktivitesi (DPPH) ve ferrik indirgeme yeteneği (FRAP), bağımsız değişken olarak ise farklı etanol konsantrasyonu (% 20, % 35, % 50, % 65 ve % 80) ve ekstraksiyon süresi (40, 200 ve 360 saniye) seçilmiştir. En yüksek toplam fenolik bileşik miktarının (398.95 mg GAE/g kuru madde) 80 W mikrodalga gücünde, % 20 etanol-su karışımı ile 40 saniye ekstraksiyon süresi sonunda elde edilen ekstraktlarda bulunmuştur. MDE yönteminin oldukça etkili olduğu, zamandan ve kimyasal kullanımından tasarruf edildiği belirtilmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarının maksimum olduğu koşullarda, antioksidan aktivite değerinin de en yüksek (DPPH: % 90.96; FRAP: 3.02 mmol/L) olduğu bulunmuştur. Bu bulgu ile antioksidan aktivite değerleri ile toplam fenolik bileşik miktarları değişiminin birbirleri ile korelasyonunun yüksek olduğu vurgulanmıştır.

Ranic vd. (2014), espresso posasından antioksidan madde ve polifenol ekstraksiyonu için MDE yöntemini kullanmışlardır. Optimizasyon, yanıt yüzey yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Farklı ekstraksiyon süresi (40, 110 ve 180 saniye), çözücü:katı oranı (6, 9 ve 12 mL/g) ve mikrodalga gücü (240, 400, 560 W) bağımsız değişken olarak seçilmiş ve ekstraksiyon verimine etkileri incelenmiştir. Bu yöntemle, düşük ekstraksiyon süresi, düşük güç ve düşük çözücü:katı oranı ile az miktarda etanol kullanıldığında dahi, yüksek antioksidan aktiviteye sahip polifenol ekstraktları elde edilebilmiştir. Maksimum verim (% 79.83) için optimum koşullar, 40 saniye ekstraksiyon süresi, 240 W mikrodalga gücü ve 6 mL/g çözücü:katı oranı olarak belirlenmiştir. DPPH ve FRAP yöntemleriyle bulunan antioksidan sonuçları ile toplam fenolik bileşik miktarı arasında güçlü bir korelasyon olduğu bulunmuştur.

Ho vd. (2015), domates kabuklarından, likopen ekstraksiyonu için MDE yöntemini kullanmışlardır. Optimum MDE koşullarının, 400 W mikrodalga gücü ve 0:10 mL hekzan:mL etil asetat çözücü oranı olduğu tespit edilmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstraktın likopen miktarı, 13.592 mg/100g olarak rapor edilmiştir. Etil asetatın likopen ekstraksiyonunda, hekzana kıyasla daha iyi bir çözücü olduğu belirtilmiştir. Optimizasyon verileri, likopen veriminin, çözücü oranı ve mikrodalga gücü ile önemli ölçüde değiştiğini göstermiştir. Buna karşın, MDE yönteminin kullanımı, domates kabukları üzerinde fiziksel tahribata neden olmuştur.

Durmaz vd. (2015), kapariden, fenolik bileşik ekstraksiyonu için, MDE yöntemini kullanmışlar ve sonuçları konvansiyonel ekstraksiyon yöntemiyle karşılaştırmışlardır. Farklı mikrodalga gücü (400 ve 700 W), ekstraksiyon süresi (5, 10 ve 15 dakika) ve katı:çözücü oranı (1:10, 1:20 ve 1:30 g/mL) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarı ve antioksidan aktivite ise bağımlı değişkenler olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon için, çözücü olarak, yüksek dielektrik özelliklerinden dolayı, su, etanol ve etanol-su karışımı (25:75, 50:50 ve 75:25 (v/v)) kullanılmıştır. Çözücü miktarı arttıkça, toplam fenolik bileşik miktarının arttığını ve en yüksek miktara (50:50 etanol-su karışımında) 400 W mikrodalga gücü, 5 dakika ekstraksiyon süresi ve 1:30 g/mL katı:çözücü oranı ile ulaşıldığını belirtmişlerdir. Konvansiyonel ekstraksiyon yönteminde ise maksimum verime, 1:30 g/mL katı:çözücü oranı ile 4 saat süre sonucunda ulaşılmıştır. Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarları ve antioksidan aktiviteleri açısından MDE ve konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleri arasında anlamlı bir fark görülmemesine karşın, MDE yöntemi ile ekstraksiyon süresinin önemli ölçüde azaldığı rapor edilmiştir.

Maran ve Prakash (2015), papaya meyvesinin kabuklarını materyal olarak kullanarak, MDE yöntemi ile pektin ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Papaya kabuklarına yöntem öncesinde ön işlem uygulanmış ve 5 dakika kaynatma işleminden sonra, 50 °C'de sabit ağırlığa gelinceye kadar kurutulmuştur. Kurutulmuş kabuklar, öğütülerek toz hale getirilmiştir. Maksimum pektin ekstraksiyonu için, farklı mikrodalga gücü (320, 480 ve 640 W), ekstraksiyon süresi (20, 100 ve 180 saniye), pH (1, 2 ve 3) ve katı:çözücü oranı (5, 15 ve 25 g/mL) Box-Behnken yöntemi ile optimize edilerek,

ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, tüm proses parametrelerinin pektin ekstraksiyonu üzerine önemli bir etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Maksimum pektin verimi (% 25.41), mikrodalga gücünün 512 W, pH değerinin 1.8, ekstraksiyon süresinin 140 saniye ve katı:çözücü oranının 1:15 g/mL olduğu koşullarda elde edilmiştir. Optimum koşuldaki analizlerin, öngörülen değerlerle iyi bir korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir.

Hosseini vd. (2016), ekşi portakal kabuğundan, pektin ekstraksiyonunu MDE yöntemi ile gerçekleştirmişler ve ekstraktların fizikokimyasal özelliklerini belirlemişlerdir. Ekstraksiyon süresinin (1, 2 ve 3 dakika), mikrodalga gücünün (300, 500 ve 700 W) ve pH değerinin (1.5, 2.25 ve 3), elde edilen pektinin esterifikasyon derecesi ve ekstraktların verimi üzerine etkisini araştırmışlardır. Çözücü:katı oranı 15 mL/g olarak sabit tutulmuştur. Sonuçlar incelendiğinde, en yüksek verim (% 29.1) için optimum koşullar, pH 1.5, mikrodalga gücü 700 W ve ekstraksiyon süresi 3 dakika olarak belirlenmiştir. Ek olarak, optimum ekstraksiyon şartları altında ekstrakte edilen pektin, uygun bir saflığa sahip olup (galaktronik asit içeriği % 71), düşük metoksilli pektin olarak sınıflandırılmıştır.

Ferreres vd. (2017), sarı ve kırmızı pitaya meyvesinin kabuklarını materyal olarak kullanmış ve MDE yöntemi kullanarak, fenolik bileşik ve betasiyanin ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Mikrodalga gücü 600 W değerinde sabit tutulmuş ve farklı sıcaklık (25, 50 ve 75 °C), katı:çözücü oranı (1:50, 1:100 ve 1:150 g/mL) ve ekstraksiyon sürelerinin (5, 30 ve 65 dakika) ekstraksiyon verimine etkisi incelenmiştir. Bu üç faktör, Box-Behnken yöntemi ile optimize edilmiştir. Optimum ekstraksiyon verimi için koşullar kırmızı pitaya için, katı:çözücü oranı 1:149.95 g/mL, sıcaklık 72.27 °C ve ekstraksiyon süresi 39.39 dakika; sarı pitaya için ise, katı:çözücü oranı 1:148.96 g/mL, sıcaklık 72.56 °C ve ekstraksiyon süresi 5.02 dakika olarak belirlenmiştir. Yapılan HPLC analizleri ile fenolik bileşik profili elde edilmiştir. Bu analizle 18 adet sinnamoil türevi, 17 adet flavonoid türevi ve 4 adet betasiyanin türevi tanımlanmıştır. Ayrıca sarı pitaya da 23 adet, kırmızı pitaya da 17 adet ilk kez tanımlanan fenolik bileşik bulunmuştur. Kırmızı pitaya kabukları, betasiyanin bakımından da zengin

bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara göre, gıda ve ilaç endüstrisinde, bu yan ürünlerin değerlendirilmesinin mümkün olduğu rapor edilmiştir.

Maeng vd. (2017), mantardan MDE yöntemi ile fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. Koşullar optimize edilmiş ve konvansiyonel ekstraksiyon yöntemi ile karşılaştırılmıştır. Optimizasyon için, ekstraksiyon süresi (1, 2, 3, 4 ve 5 dakika), etanol konsantrasyonu (% 0, % 25, % 50, % 75 ve % 99) ve mikrodalga gücü (0, 50, 100, 150 ve 200 W) bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. En yüksek toplam fenolik bileşik miktarı (470 mg GAE/100 g kuru madde), ekstraksiyon süresinin 3.8 dakika, etanol konsantrasyonunun % 40 ve mikrodalga gücünün 125 W olduğu koşulda elde edilen ekstraktta tespit edilmiştir. Bu koşullar altında, örneklerin antioksidan aktivite değerleri DPPH yöntemi ile 773 mM TE/g kuru madde, ABTS yöntemi ile 2930 mM TE/g kuru madde ve FRAP yöntemi ile 1710 mM TE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırıldığında, mikrodalga destekli ekstraksiyonun daha etkili olduğu rapor edilmiştir.

Xue vd. (2018), yaban mersini tozundan, antosiyanin eldesinde mikrodalga kullanımının, ekstraksiyon kinetiği üzerine etkisini incelemişlerdir. Yaban mersini tozunu, dondurarak kurutma tekniği ile elde etmişlerdir. Çözücü olarak, yüksek dielektrik özelliğe sahip olan etanol seçilmiştir. Etanol konsantrasyonu % 60 ve katı:çözücü oranı 1:30 g/mL olarak belirlenmiştir. Mikrodalga gücü olarak 100, 200, 300 ve 400 W kullanılmıştır. Sıcaklık ölçümü yaparak, mikrodalga gücünün ve sıcaklığın emiliminin, homojen olmayan bir dağılımının olduğunu göstermişlerdir. Sonuçlara göre, homojen sıcaklık dağılımının, mikrodalganın orta kısmından ziyade, alt ve üst tabana daha yakın olan kısımlarda olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, mikrodalga gücünün homojen sıcaklık dağılımı üzerine önemli bir etkisi olmadığını bildirmişlerdir. Yaban mersini tozlarının hücre duvarının mikro yapısı incelendiğinde, yüksek mikrodalga gücünün, sıcaklık artışına neden olduğu için, hücre duvarına daha yoğun şekilde etki ettiğini göstermişlerdir. Dolayısı ile de kontrollü mikrodalga gücünün, antosiyanin verimini ve mikrodalga enerjisinin etkinliğinin artmasında katkı sağladığı vurgulanmıştır. Fakat mikrodalga gücünün kontrolsüz bir şekilde arttırılması, belli

noktalarda aşırı sıcaklık artışına neden olmakta ve antosiyanin degradasyonuna neden olabilmektedir. Yüksek mikrodalga gücünde (400 W) toplam antosiyanin degradasyon oranı maksimum (≈ % 22) bulunmuştur. Çalışmada, antosiyanin degradasyonunun farklı mikrodalga güçlerindeki kinetiği incelenmiştir. Delfinidin, siyanidin ve pelargonidin antosiyaninlerinin değişimi için Lorenz eşitliğini kullanmışlardır. Modele en iyi uyum sağlayan antosiyaninin, pelargonidin (R^2>0.95) olduğu görülmüştür.

Han vd. (2019), kividen MDE yöntemi ile polisakkarit ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen ekstraktların, fiziko-kimyasal özelliklerini ve antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Çözücü olarak su kullanılmıştır. Ekstraksiyon işlemi, farklı mikrodalga gücünde (240, 320, 400, 480 ve 560 W), çözücü:katı oranında (20, 30, 40, 50 ve 60 mL/g) ve ekstraksiyon süresinde (2, 4, 6, 8 ve 10 dakika) gerçekleştirilmiştir. MDE yöntemi ile en yüksek polisakkarit verimi (≈ % 3), 480 W mikrodalga gücü, 50 mL/g çözücü:katı oranı ve 8 dakika ekstraksiyon süresinde elde edilmiştir. Sonuç olarak, kividen MDE yöntemiyle, yüksek antioksidan aktiviteye sahip polisakkarit ekstrakte edilebileceği vurgulanmıştır.

2.2.4 ODE yöntemi ile yapılan çalışmalar

Lakkakula vd. (2004) tarafından, ekonomik potansiyele sahip bir yan ürün olan pirinç kepeğinde bazı stabilizasyon çalışmaları yapılmıştır. Stabilizasyon metotlarını uyguladıktan sonra, 6 hafta boyunca depolanan pirinç kepeklerinin serbest yağ asitlerine bakılarak en iyi yönteme karar verilmiştir. Stabilizasyon için hem mikrodalga hem de ohmik ısıtma yöntemi kullanılmıştır. Mikrodalga ile yapılan stabilizasyon, % 21 nem içeriğine ayarlanan örneklerin, sıcaklık 109 °C oluncaya kadar bekletilmesiyle yapılmıştır. Ohmik ısıtma ile stabilizasyon ise, hem hammadde de (nem içeriği % 10.5) hemde % 21 nem içeriğine ayarlanmış örneklerde, alternatif akımın 1 ve 60 Hz olduğu durumda, 100 V/cm elektrik alan şiddetinde bekletilerek uygulanmıştır. Herhangi bir işlem görmemiş grup ise stabilizasyon çalışmalarında kontrol olarak kullanılmıştır. Serbest yağ asidi miktarının % 10'dan daha fazla olması olumsuz bir durum oluşturmaktadır. Sonuçlara bakıldığında, 6 hafta sonunda, en düşük değere (% 3.86) mikrodalga ile yöntemde (% 21 nem içeriğinde) ulaşılmıştır. Bu yöntemi, % 21 nem

içeriğinde ohmik ısıtma ile işlem görmiş örnekler (1 Hz frekansta % 5.54; 60 Hz frekansta % 5.47) takip etmektedir. Kontrolde ve nem içeriğinin % 10.5 olduğu ohmik ısıtma koşullarında, serbest yağ asidi değeri, her iki frekansta da (1 ve 60 Hz) oldukça yüksek bulunmuş (% 10 üzerinde) ve uygun olmadığı belirtilmiştir. Aynı çalışmada, farklı elektrik alan şiddeti, farklı nem içeriği ve farklı frekansın, pirinç kepeğinden yağ ekstrakiyonu üzerine etkileri de incelenmiştir. Ohmik ısıtma ön işleminde, 1 ve 60 Hz frekansta, farklı elektrik alan şiddeti (60, 100 ve 140 V/cm) ve farklı nem içeriğinde (% 10.5, % 21 ve % 30), 105 °C sıcaklığa ulaşıncaya kadar bekletilmiştir. Ön işlem sonrası örneklere hekzan ekstraksiyonu uygulanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, en yüksek yağ verimi (% 92), 1 Hz frekansta, 100 V/cm elektrik alan şiddetinde, % 30 nem içeriğine sahip örnekte elde edilmiştir. Tüm nem içeriklerinde, 1 Hz frekansta, 60 Hz frekansa göre daha yüksek verim elde edilmiştir. Ekstraksiyon parametrelerinden, elektrik alan şiddetinin 60 V/cm değerinden, 100 V/cm değerine artırılması, tüm nem içeriklerinde, ekstraksiyon verimini artırmıştır. Fakat elekrik alan şiddetinin 140 V/cm'e çıkarılmasının, yağ verimi üzerine istatistiksel olarak önemli bir etkisi görülmemiştir.

El-Darra vd. (2013a), vurgulu ohmik ısıtma ön işlemi ile kırmızı üzüm posasından, polifenol ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Vurgulu ohmik ısıtma ön işlemi, farklı elektrik alan şiddeti (100-800 V/cm) ve farklı etanol konsantrasyonunda (% 0-50) uygulanmıştır. Ön işlem görmemiş ve vurgulu ohmik ısıtma ile işlem görmüş örnekler, daha sonra çözücü:katı oranı 5 mL/g olacak şekilde farklı etanol konsantrasyonlarında (% 10-50) karıştırılarak, 50 °C sıcaklıktaki su banyosunda 1 saat bekletilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, vurgulu ohmik ısıtma ön işleminin, hücre geçirgenliğini artırdığı ve yüksek polifenol verimi sağladığı görülmüştür. En yüksek ekstraksiyon verimi (yaklaşık 600 mg GAE/100 g kuru madde), elektrik alan şiddetinin 400 V/cm ve etanol konsantrasyonunun % 30 olduğu koşullarda sağlanmıştır. Bu koşullarda elde edilen verimin, ön işlem görmemiş örneklerin verimine göre % 36 daha fazla olduğu görülmüştür. Elde edilen veriler, vurgulu ohmik ısıtma uygulamasının, düşük enerji tüketimi (38 kJ/kg) ile kırmızı üzüm posasında, yüksek hücre zarı geçirgenliği sağladığını belirtmişlerdir. Ayrıca, Peleg modelinin, fenolik bileşiklerin ekstraksiyon kinetiklerini tanımlamak için uygun bir model olduğu rapor edilmiştir.

Tavakolpour vd. (2015), kekik bitkisinden, esansiyel yağ eldesi için farklı ekstraksiyon yöntemleri (hidrodistilasyon (HD), ultrasonik destekli hidrodistilasyon (UDH), ohmik ekstraksiyon (OE) ve ultrasonik destekli ohmik ekstraksiyon (UDOE)) uygulamışlardır. HD ile esansiyel yağ eldesi için, % 5 katı örnek içeren sulu çözelti 3-3.5 mL/dk distilasyon hızında 2.5 saat boyunca işlem görmüştür. UDH için örnek, öncelikle 100 W güç ve 30 kHz frekansta işlem görmüş ve daha sonra elde edilen örnekler, HD ile aynı koşullarda 80 dakika boyunca ekstraksiyona tabi tutulmuştur. OE için, 250 V gerilimde 5 dakika boyunca kaynatılan çözelti (% 5 katı-tuzlu su çözeltisi) daha sonra 120 V gerilimde, 25 dakika boyunca bekletilmiştir. UDOE de ise % 5 katı-tuzlu su çözeltisi, öncelikle 100 W güç ile 5 dakika işlem görmüş, daha sonra OE için geçerli koşullar modifiye edilerek (250 V gerilimde 5 dakika kaynadıktan sonra, 150 V gerilimde 25 dakika) uygulanmıştır. Farklı yöntemler ile elde edilen esansiyel yağların, antioksidan, antimikrobiyal ve duyusal özellikleri araştırılmıştır. UDH yöntemi ile ekstrakte edilen esansiyel yağ, diğer yöntemlerden daha iyi bir antioksidan aktivite göstermiş ve *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı, yüksek bir antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, esktrakte edilen esansiyel yağın eklenmiş olduğu yoğurt ve ayranın, kontrol numunelerinden daha iyi duyusal özellik taşıdığı görülmüştür.

Loypimai vd. (2015), doğal bir boya eldesi için siyah pirinç kepeğinden, antosiyanin (koyu mor antosiyanin pigmentler) ekstraksiyonunda ODE yöntemini kullanmışlardır. Kepek nem içeriği % 30 ve % 40 olacak şekilde ayarlanmıştır. Dört farklı elektrik alanı şiddeti (50, 100, 150 ve 200 V/cm) belirlenmiştir. Ohmik ısıtma uygulaması örneklerin sıcaklığının 105 °C'ye erişmesiyle sonlandırılmıştır. Ohmik ısıtma ön işlemi gören örnekler, sonrasında konvansiyonel ekstraksiyona (1:5 g/ml katı:çözücü (pH 2.5'ta, 0.1 M HCl ile asitlendirilmiş 1:1 su-etanol karışımı) oranı, 90 dakika, karıştırmalı inkübatörde) tabi tutulmuşlardır. Sonuçlar incelendiğinde, ohmik ısıtma destekli ekstraksiyonla elde edilen örneklerdeki toplam anyosiyanin miktarı (% 30 nem içeriği ve 150 V/cm ohmik ısıtma ön işlemi koşulunda), kontol örneğine göre yaklaşık % 40 daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Aynı şekilde, biyoaktif bileşik konsantrasyonunun, kontrole kıyasla oldukça yüksek (α-tokoferol için yaklaşık % 50) olduğu bildirilmiştir. Ohmik ısıtma ile yapılan ön işlemin, son ürün olarak elde edilen boyanın çözünürlük, su

aktivitesi, yığın yoğunluğu ve renk değerlerini (L*, C* ve h) etkilemediği ve kontrol örneği ile benzer değerlerde olduğu belirtilmiştir.

Piyapanrungrueang vd. (2016), farklı ekstraksiyon yöntemleri ile mor mısır koçanından doğal boya eldesi sağlamak için, antosiyanin ekstraksiyonu üzerine çalışma yapmışlardır. Konvansiyonel, ultrasonik, mikrodalga ve ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların antosiyanin verimleri karşılaştırtırılmıştır. UDE yöntemi, 37 kHz frekansta, üç farklı sıcaklık (60, 70, 80 °C) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (5, 10, 15 dakika) yapılmıştır. MDE yöntemi, 2.45 GHz frekansta, 700 W mikrodalga gücünde ve dört farklı ekstraksiyon süresinde (1, 1.5, 2, 2.5 dakika) uygulanmıştır. ODE yöntemi, 50 Hz frekansta, üç farklı sıcaklık (70, 80, 90 °C) ve üç farklı gerilimde (100, 200, 300 V) uygulanmıştır. Konvansiyonel ekstraksiyon ise üç farklı sıcaklık (70, 80, 90 °C) ve üç farklı ekstraksiyon süresinde (5, 10, 15 dakika) çalkalamalı su banyosunda yapılmıştır. Tüm işlemlerde, katı:çözücü oranı 1:20 g/mL olarak sabit tutulmuştur. ODE yönteminde, 200 veya 300 V gibi yüksek gerilim kullanıldığında, son ürün sıcaklığında hızlı bir artış, ekstraksiyon süresinde kısalma ve termal bozunmada azalma olduğu gözlenmiştir. ODE yöntemi için en uygun koşullar, 80 °C son ürün sıcaklığı ve 200 V gerilim olarak belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, antosiyanin ekstraksiyonu için en uygun yöntemin, en yüksek antosiyanin içeriğine (397.1 mg/100 g mısır koçanı tozu) sahip ekstraktları elde etmeyi sağlayan yöntemin MDE olduğu tespit edilmiştir.

Loypimai vd. (2016), siyah pirinç kepeğinden, ODE yöntemi ile toplam fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine araştırma yapmışlardır. Farklı nem içeriği (% 30 ve % 40) ve elektrik alan şiddetinde (50, 100, 150 ve 200 V/cm) ohmik ısıtma uygulanan örnekler sonrasında konvansiyonel ekstraksiyona (1:5 g/ml katı:çözücü (pH 2.5'ta, 0.1 M HCl ile asitlendirilmiş 1:1 su-etanol karışımı) oranı, 90 dakika boyunca karıştırmalı inkübatörde ekstraksiyona tabi tutulmuşlardır. Ekstraktların antosiyanin, antioksidan aktivite ve fenolik bileşik profili incelenmiştir. En yüksek antosiyanin konsantrasyonu (800-850 mg/100g aralığında), % 30 nem içeriğine sahip, 100, 150 ve 200 V/cm elektrik alan şiddetinde işlem görmüş örnekler ile % 40 nem içeriğine sahip, 50, 100, 150 ve 200 V/cm elektrik alan şiddetinde işlem görmüş örneklerde görülmüştür. Aynı koşullarda

elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik verimi (187-201µg GAE/g aralığında), DPPH (1.18-1.24 IC_{50} mg/mL aralığında) ve FRAP (7.31-7.39 µmol $FeSO_4$/g aralığında) yöntemleri ile yapılan antioksidan aktivite değerleri de yüksek bulunmuştur. SEM görüntülerinde de ohmik ısıtma ile ön işlem görmüş örneklerin daha pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğu görülmüştür.

Pereira vd. (2016), mor patatesten (*Solanum tuberosum L. var. Vitelotte*), ODE yöntemi ile antosiyanin eldesi üzerine çalışmışlardır. Çalışmada, farklı elektrik alan şiddetinin (0, 15 ve 30 V/cm), farklı sıcaklığın (30, 60 ve 90 °C) ve farklı ekstraksiyon süresinin (0, 5 ve 10 dakika) antosiyanin ve toplam fenolik bileşik verimi üzerine etkileri incelenmiştir. Proses parametrelerinin optimizasyonunda Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır. Ohmik ısıtma ile ön işlem yapılmış ve ön işlem görmemiş örnekler, 1:5 katı:çözücü oranında konvansiyonel ekstraksiyon işlemine (20 °C sıcaklık 90 rpm hız ile çalkalamalı inkübatörde) tabi tutulmuş ve sonuçlar karşılaştırılmıştır. Maksimum antosiyanin ve toplam fenolik bileşik verimi (sırasıyla, % 53.1 ve % 63.8), 15 V/cm elektrik alan şiddetinde, 90 °C sıcaklıkta 10 dakika boyunca işlem gören örneklerden elde edilen ekstraktlarda tespit edilmiştir. Enerji tüketim miktarları karşılaştırıldığında, 15 V/cm elektrik alan şiddeti, 90 °C sıcaklık ve 5 dakika işlem süresinde yaklaşık 100 kJ/kg iken, konvansiyonel ekstraksiyon ile bu değerin 3 katı daha fazla bulunmuştur.

Aamir ve Jittanit (2017), Asya kavunu (gac) çekirdeğinden ohmik ısıtma desteği ile yağ ekstraksiyonu yapmışlar ve geleneksel yöntem olan sokselet ekstraksiyonu ile karşılaştırmışlardır. Örneklerin, ekstraksiyon verimi, renk karakteristikleri, β-karoten ve likopen miktarları belirlenmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon verimi, geleneksel yönteme göre yaklaşık % 40 daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda, ohmik ısıtma destekli ekstraksiyondan elde edilen ekstraktlarda, β-karoten ve likopen miktarları sırasıyla, 58.22 ve 16.68 mg/100 g olarak bulunmuştur. Buna karşın, geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların β-karoten miktarı 3.96 mg/100 g olarak bulunmuştur. Likopen miktarı ise geleneksel ekstraksiyon yöntemi ile tespit edilememiştir (0 mg/100 g). ODE yöntemi ile, kırmızı renkli bileşiklerin daha iyi ekstrakte edildiği de belirtilmiştir.

Literatürde ultrasonik ekstraksiyon yöntemlerinden, 1 adet ultrasonik prob ile (Taktak ve İlbay 2016), 2 adet de ultrasonik banyo ile (Agourram vd. 2013; Cosmulescu vd. 2019), kızılcık meyvesinden fenolik bileşik eldesiyle ilgili yayın bulunmaktadır. Buna karşın, mikrodalga ve ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon konusunda oldukça yoğun araştırma olmasına rağmen, kızılcık meyvesinden fenolik bileşiklerin bu yöntemlerle ekstraksiyonuna yönelik çalışma bulunmamaktadır. Yapılan detaylı literatür incelemesinde, kızılcık meyvesinden yeşil teknolojilerle (ultrasonik, mikrodalga ve ohmik ısıtma destekli) fenolik bileşiklerin ekstrakte edildiği ve bu yöntemlerin aynı anda karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Ekstraksiyon işlemleri, 2016 yılı hasadında (Eylül ayı) tedarik edilen kızılcık meyveleri ile yapılmıştır. Meyveler 0.5 kg'lık poşetlere bölünerek, analiz gününe kadar dondurucuda bekletilmiştir. Analiz öncesi dondurucudan çıkarılmış, çekirdekleri ayıklanmış ve eziciden geçirilerek ekstraksiyon işlemine alınmıştır (Şekil 3.1). Kızılcık meyvesinin, başlangıç nem değeri, kızılötesi nem tayin cihazı (MA 150, Sartorius, Almanya) ile ölçülmüş ve % 70±2 (yaş bazda) olarak bulunmuştur.



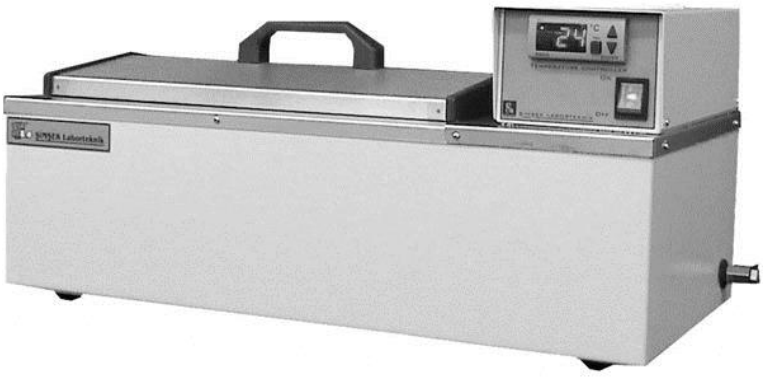
Şekil 3.1 Çalışmada kullanılan kızılcık meyvesi

3.2 Yöntem

3.2.1 Ekstraksiyon işlemleri

3.2.1.1 Maserasyon (MS)

Kontrol grubu olarak geleneksel yöntem (maserasyon) ile ekstrakte edilmiş örnekler kullanılmıştır. Maserasyon işlemi, farklı katı:çözücü oranlarında, 25 °C'lik su banyosu (SBD-313, Şimşek Laborteknik, Türkiye) (Şekil 3.2) içinde, 24 saat boyunca uygulanmıştır (Xu vd. 2017). Literatür bulguları ve ön denemeler dikkate alınarak, maserasyona ait bağımsız değişken seviyeleri belirlenmiştir (Çizelge 3.1).



Şekil 3.2 Maserasyon işlemi için kullanılan su banyosu

Çizelge 3.1 Maserasyon deneylerine ait bağımsız değişken seviyeleri

Bağımsız değişken	**Seviye**
Katı:çözücü oranı	1:5, 1:10, 1:15 g/mL
Süre	24 saat
Su banyosu sıcaklık	25 °C

3.2.1.2 Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE)

Ultrasonik destekli ekstraksiyon işlemi, 50 °C ultrasonik banyo (RK 100 H, Bandelin Sonorex, Almanya) (Şekil 3.3) sıcaklığında, farklı katı:çözücü oranlarında ve farklı sonikasyon sürelerinde gerçekleştirilmiştir. Literatür bulguları ve ön denemeler dikkate alınarak, ultrasonik destekli ekstraksiyon için kullanılan bağımsız değişken seviyeleri, çizelge 3.2'de belirtilmiştir.



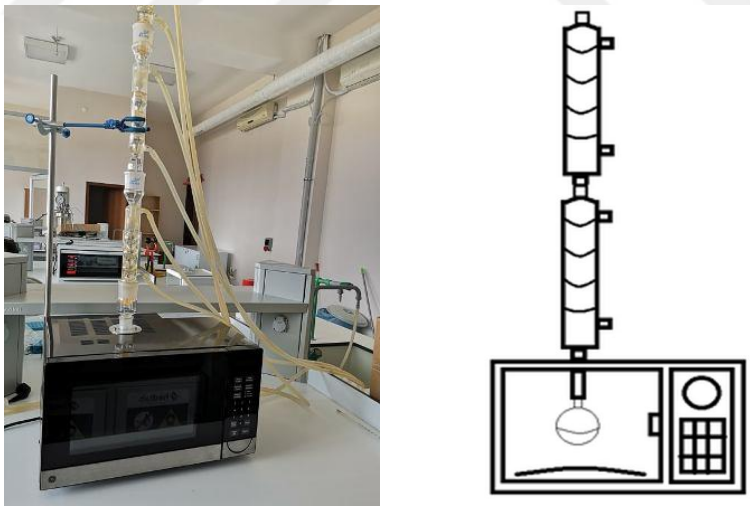
Şekil 3.3 Ultrasonik destekli ekstraksiyon için kullanılan ultrasonik banyo

Çizelge 3.2 UDE yönteminde kullanılan bağımsız değişken seviyeleri

Bağımsız değişken	Seviye
Katı:çözücü oranı	1:5, 1:10, 1:15 g/mL
Sonikasyon süresi	1, 20, 40, 60, 80 dk
Ultrasonik banyo sıcaklık	50 °C

3.2.1.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE)

Mikrodalga (GMOM 25, General Electric, ABD) destekli ekstraksiyon sistemi şekil 3.4'de görülmektedir. Kullanılan mikrodalga fırının, maksimum mikrodalga gücünün hesaplanması için IMPI 2-litre testi yapılmıştır (Buffler 1993). Test sonrası fırının gücü 700 W olarak tespit edilmiştir. Ekstraksiyon, farklı katı:çözücü oranlarında, farklı mikrodalga güçlerinde ve farklı ekstraksiyon sürelerinde gerçekleştirilmiştir. Literatür bulguları ve ön denemeler dikkate alınarak, mikrodalga destekli ekstraksiyon için kullanılan bağımsız değişken seviyeleri, çizelge 3.3'de verilmiştir.



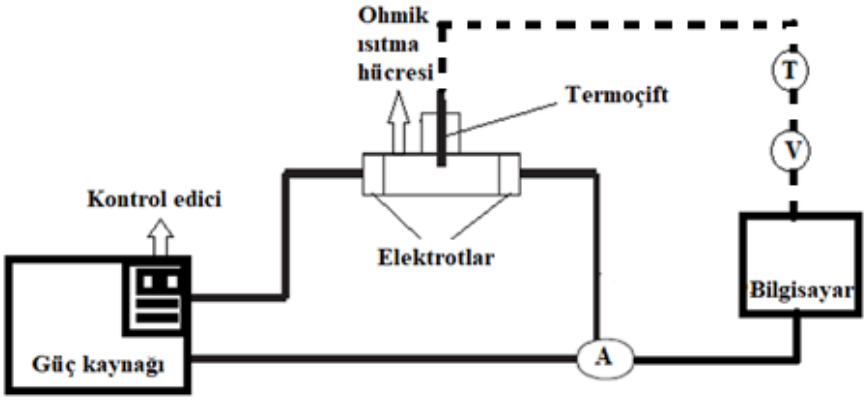
Şekil 3.4 Mikrodalga ekstraksiyon için kullanılan sistem

Çizelge 3.3 MDE yönteminde kullanılan bağımsız değişken seviyeleri

Bağımsız değişken	Seviye
Katı:çözücü oranı	1:5, 1:10, 1:15 g/mL
Mikrodalga gücü	180, 360 W
Ekstraksiyon süresi	10, 60, 120, 150 ve 180 dakika

3.2.1.4 Ohmik ısıtma destekli ekstraksiyonlar

Ohmik ısıtma sistemi, laboratuvar ölçekli olarak ekibimizce tasarlanmıştır. Ohmik ısıtma sistemi, güç kaynağı ve ona bağlı kontrol edici, yüksek sıcaklığa dayanıklı camdan yapılmış ohmik ısıtma hücresi ve verilerin (sıcaklık, gerilim ve akım) kaydedildiği (1 saniye aralıklarla kayıt) bilgisayardan oluşmaktadır. Sistemin şematik gösterimi şekil 3.5'te verilmiştir. Ohmik ısıtma hücresinde, paslanmaz çelik iki adet silindirik elektrot bulunmaktadır. Elektrotlar arası uzaklık 15 cm, elektrotların çapı ise 5 cm'dir. Güç kaynağı, 50 Hz frekansta, maksimum 1000 V gerilim sağlayacak şekilde tasarlanmıştır. Cihazda çalışma sıcaklığı ve gerilim parametrelerinde değişiklik yapılabilmektedir. Isıtma hücresinin sıcaklığı, teflon kaplama termoçift ile kontrol edilmektedir. Tasarlanan ohmik ısıtma sistemi (CLOH-1000, CLS, Türkiye) şekil 3.6'da görülmektedir.



Şekil 3.5 Ohmik ısıtma sisteminin şematik gösterimi





Şekil 3.6 Ohmik ısıtma sistemi

3.2.1.4.1 Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon (OH-US)

Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyonda (OH-US), kızılcık örnekleri ohmik sistemde ön işleme tabi tutulmuş, sonrasında ultrasonik banyoda ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Ön işlem, sabit katı:çözücü oranında (1:15 g/mL), 50 °C'de, farklı elektrik alan şiddetlerinde ve ohmik ısıtma haznesi içinde farklı bekletme sürelerinde (BS) uygulanmıştır. Ön işlem sonrası elde edilen örnekler, farklı sonikasyon sürelerinde ultrasonik banyoda (Şekil 3.3) ekstrakte edilmiştir. Literatür bulguları ve ön denemeler dikkate alınarak, ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon için kullanılan bağımsız değişken seviyeleri, çizelge 3.4'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.4 OH-US denemelerine ait bağımsız değişken seviyeleri

Bağımsız değişken	Seviye
Katı:çözücü oranı	1:15 g/mL
Ohmik ısıtma hazne sıcaklığı	50 °C
Elektrik alan şiddeti	20, 30, 40 V/cm
Bekletme süresi (BS)	1, 10, 20 dakika
Sonikasyon süresi	1, 20, 40, 60, 80 dakika
Ultrasonik banyo sıcaklık	50 °C

3.2.1.4.2 Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon (OH-MD)

Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyonunda (OH-MD), örneklere sabit katı:çözücü oranında (1:15 g/mL) ve sıcaklıkta (60 °C), farklı elektrik alan şiddetlerinde

ve ohmik ısıtma haznesi içinde farklı bekletme sürelerinde (BS) ön işlem uygulanmıştır. Ön işlem sonrası elde edilen örnekler, 180 W mikrodalga gücünde farklı ekstraksiyon sürelerinde, mikrodalga ile (Şekil 3.4) ekstrakte edilmiştir. Literatür bulguları ve ön denemeler dikkate alınarak, ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyona ait bağımsız değişken seviyeleri, çizelge 3.5'de belirtilmiştir.

Çizelge 3.5 OH-MD denemelerine ait bağımsız değişken seviyeleri

Bağımsız değişken	**Seviye**
Katı:çözücü oranı	1:15 g/mL
Ohmik ısıtma hazne sıcaklık	60 °C
Elektrik alan şiddeti	20, 30, 40 V/cm
Bekletme süresi (BS)	1, 10, 20 dk
Mikrodalga gücü	180 W
Ekstraksiyon süresi	10, 60, 120 dk

Tüm yöntemler için, çözücü olarak su kullanılmıştır ve ekstraksiyon işlemi bittikten sonra ekstraktlar filtreden geçirilip, renkli cam şişelere konularak, analiz yapılıncaya kadar -18 °C'de bekletilmişlerdir. Bütün ekstraksiyon işlemleri ve analizler 2 tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.2 Analizler

Toplam fenolik bileşik miktarı, suda çözünür katı madde oranları ve renk değerleri ölçümleri tüm ekstraksiyon sürelerinde yapılmış olup, pH, toplam monomerik antosiyanin konsantrasyonu ve antioksidan aktivite, toplam fenolik bileşik miktarının, maksimum olduğu koşullarda (optimum) elde edilen ekstraktlarda gerçekleştirilmiştir.

3.2.2.1 Nem içeriği

Ürünlerin nem içeriği, her bir ekstraksiyon işleminden önce, kızılötesi nem ölçer cihazı (MA 150, Sartorius, Almanya) ile belirlenmiştir (Şekil 3.7). Yaş ürün nem miktarı ortalama % 70±2 olarak ölçülmüştür.



Şekil 3.7 Kızılötesi nemölçer cihazı

3.2.2.2 Suda çözünür katı madde tayini

Suda çözünür katı madde tayini, refraktometre (NR, Atago, Japonya) ile yapılmıştır (Şekil 3.8). Bu değer, her bir ekstraksiyon işleminden sonra, filtre kâğıdından geçirilerek elde edilmiş berrak sıvıdan, refraktometrik olarak belirlenmiştir. Refraktometrenin çalışma prensibi; optik yoğunluğu birbirinden farklı ortamlarda, ışığın bir ortamdan diğerine geçerken kırılması ve bununla ilgili kırılma yasasına dayanmaktadır. Suda çözünür katı madde oranı, aşağıdaki eşitlik 3.1 ile hesaplanmıştır (Cemeroğlu 2010). Burada; B_x, örnekte saptanmış briks derecesi, V, örneğin seyreltildiği hacim (mL) ve M, örnek ağırlığıdır (g).

$$\text{Suda çözünür katı madde (\%)} = \frac{B_x V}{M} \qquad (3.1)$$



Şekil 3.8 Refraktometre

3.2.2.3 pH tayini

Ekstraksiyon işlemlerinden sonra elde edilen ekstraktların pH ölçümleri, berrak sıvıya doğrudan pH metre (AD8000, Adwa, Macaristan) probu daldırılarak belirlenmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9 pH metre

3.2.2.4 Renk analizi

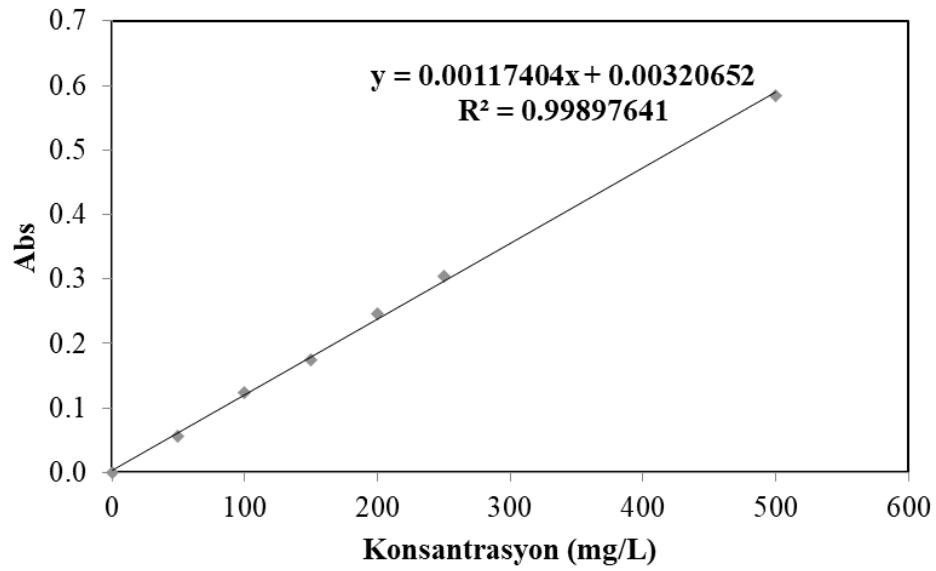
Renk analizi, renk ölçer cihazı (C-400, Konica Minolta, Japonya) ile yapılmıştır (Şekil 3.10). Ekstraksiyon işlemi sonrasında elde edilen ekstraktların, L*, a* ve b* değerleri ölçülmüştür. CIE L*, a* ve b* renk skala sisteminde L* aydınlık (parlaklık) değeridir. L* maksimum 100 (beyaz), minimum 0 (siyah) olacak şekilde değişmektedir. Pozitif a*, b* sırası ile kırmızı ve sarı, negatif a*, b* ise sırası ile yeşil ve mavi rengi göstermektedir (Hunterlab 2008).



Şekil 3.10 Renk ölçüm cihazı

3.2.2.5 Toplam fenolik bileşik miktarı (TFB)

Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı, Slinkard ve Singleton (1977) tarafından geliştirilen metodun, modifiye edilmiş haline göre yapılmıştır (Bobinaite vd. 2012). Fenolik bileşiklerin, bazik ortamda Folin-Ciocalteu ayracını indirgediği bir redoks reaksiyonuna dayanan, spektrofotometrik yöntem ile belirlenmiştir. 1 mL ekstrak, 5 mL 2N Folin-Ciocalteu ayracı (1:10 v/v) ile bir tüpte karıştırılmış ve 3-4 dakika sonra üzerine 4 mL sodyum karbonat çözeltisi (Na_2CO_3 - % 7.5'luk) eklenmiştir. Tüp vorteks ile karıştırıldıktan sonra oda sıcaklığında, karanlık bir ortamda 1 saat bekletilmiştir. Süre sonunda örneklerin spektrofotometre ile 765 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Gallik asit referans madde olarak kullanılmıştır ve sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g kuru madde şeklinde verilmiştir. Gallik asit standardına ait konsantrasyon eğrisi şekil 3.11'de verilmiştir.

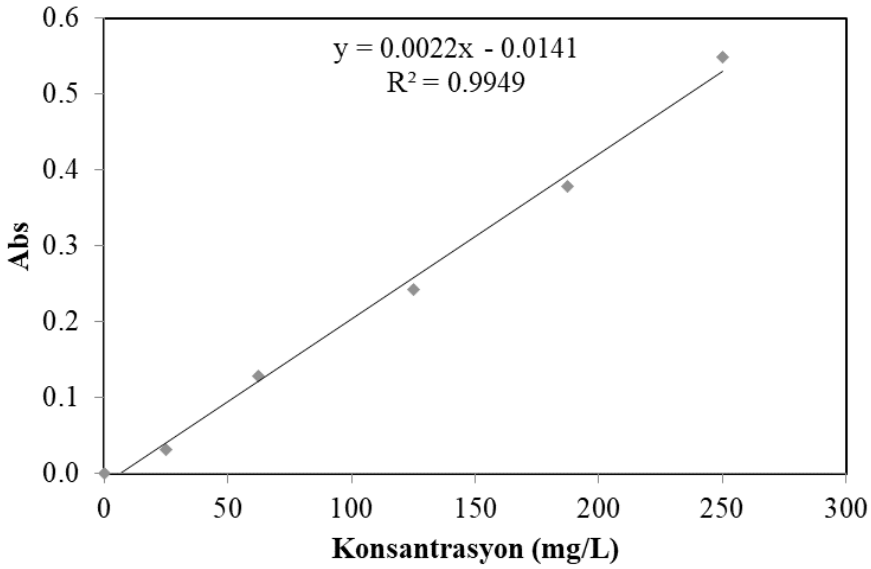


Şekil 3.11 Gallik asit eğrisi

3.2.2.6 DPPH yöntemi ile antioksidan aktivite

Ekstraktların DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radikalini süpürücü etkisi, DPPH ile oluşturdukları rengin ölçümüne ve standart madde ile karşılaştırılması esasına dayanmaktadır. Bao vd. (2005) tarafından tanımlanan yöntemin modifiye edilmiş hali

kullanılmıştır (Zhou vd. 2009). 0.1 mL ekstrakt 3.9 mL DPPH (6×10^{-5} M) solüsyonu ile karıştırılarak, 30 dakika karanlık bir ortamda oda sıcaklığında bekletilmiştir. Ekstraktların absorbansları spektrofotometre'de 515 nm dalga boyunda metanole karşı ölçülmüştür. Kontrol olarak 0.1 mL metanol ve 3.9 mL DPPH (6×10^{-5} M) solüsyonu hazırlanarak, aynı koşullarda absorbans değeri okunmuştur. Farklı konsantrasyonlarda (250, 187.5, 125, 62.5 ve 25 mg/L) Troloks ((±)-6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) çözeltileri, referans olarak kullanılmıştır. Sonuçlar mg Troloks Eşdeğeri (TE)/g kuru madde şeklinde verilmiştir. Troloks standartına ait konsantrasyon eğrisi şekil 3.12'de verilmiştir.



Şekil 3.12 Troloks eğrisi

3.2.2.7 Toplam monomerik antosiyanin (TMA) miktarı

Giusti ve Wrolstad (2001) tarafından tanımlanan pH diferansiyel yönteminin, modifiye edilmiş hali kullanılarak toplam manomerik antosiyanin miktarı belirlenmiştir (Lee vd. 2005). pH 1.0'de antosiyaninler oksonium ya da flavilium formu adı verilen renkli karaktere sahip olurken, pH 4.5'de renksiz karbinol formunda bulunurlar.

Örneklerin, pH'ları 1.0 ve 4.5'a ayarlanarak spektrofotometrik olarak ölçülen absorbans değerleri arasındaki fark ile antosiyanin miktarı arasında doğru orantı bulunmaktadır.

pH 1.0 tamponu hazırlamak için, 0.025 M Potasyumklorit (KCl), pH 4.5 tamponu hazırlamak için, 0.4 M Sodyum asetat ($CH_3CO_2Na.3H_2O$) kullanılmıştır. Ekstraktlar, pH 1.0 ve pH 4.5 tamponlar ile belli oranlarda seyreltilmiştir. Tampon-ekstrakt karışımı 15 dakika bekletildikten sonra örneklerin maksimum pik verdiği 510 nm ve nötr olduğu 700 nm dalga boyunda absorbansları ölçülmüştür. Her bir örneğe ait absorbans değeri, aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır (Eşitlik 3.2). Siyanidin-3-glukosid referans olarak kullanılmıştır ve örneklerdeki TMA miktarı eşitlik 3.3 ile hesaplanmıştır.

$$\text{Absorbans(A)} = (A_{510} - A_{700})\ \text{pH1.0} - (A_{510} - A_{700})\ \text{pH4.5} \quad (3.2)$$

$$\text{Siyanidin-3-glukosid eşdeğeri, mg/L} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\varepsilon \times D} \quad (3.3)$$

Burada; A, eşitlik 3.2'de hesaplanan değer, MW, siyanidin-3-glukosid bileşiğinin molekül ağırlığı (449.2 g/mol), DF, seyreltme faktörü, 10^3, g birimini mg birimine çevirmek için gerekli katsayı, ε, siyanidin-3-glukosid bileşiğinin molar sönüm katsayısı (26900 L/(mol.cm)) ve D, küvet yol uzunluğudur (1 cm). Sonuçlar mg siyanidin-3-glukosid (cya-3-glu) /g kuru madde olarak verilmiştir.

3.2.2.8 Ekstraksiyon kinetiği

Peleg modeli (Peleg 1988), farklı bitki materyallerinin ekstraksiyon kinetiğini tanımlamak için başarılı bir şekilde kullanılabilmektedir (Bucic-Kojic vd. 2007). Ekstraksiyonlar sonunda elde edilen toplam fenolik bileşik miktarları, aşağıda verilen ampirik denkleme (Eşitlik 3.4) uyarlanmıştır. Denklemdeki model katsayıları, doğrusal olmayan regresyon analizi ile SigmaPlot 12.0 (Systat Software Inc., USA) programı yardımıyla belirlenmiştir.

$$TPC(t) = TPC_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 t} \quad (3.4)$$

Burada, TPC(t); t anındaki toplam fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g km), TPC_0; başlangıçtaki (t=0) toplam fenolik bileşik miktarı (mg GAE/g km), K_1; Peleg hız sabiti (dk.g km/mg GAE), K_2; Peleg kapasite sabitidir (g km/mg GAE) (El-Darra vd. 2013b).

3.2.2.9 Ekstraksiyon verimi

Tüm ekstraksiyon işlemleri için verim, aşağıdaki eşitlik 3.5 kullanılarak hesaplanmıştır. Bu eşitlikte; Y, verim, TPC_i, ekstrakte edilen fenolik bileşik miktarı, TPC_0, örneğin maksimum toplam fenolik bileşik miktarıdır**.**

$$Y = \frac{TPC_i}{TPC_0} \times 100 \tag{3.5}$$

3.2.2.10 İstatistiksel analizler

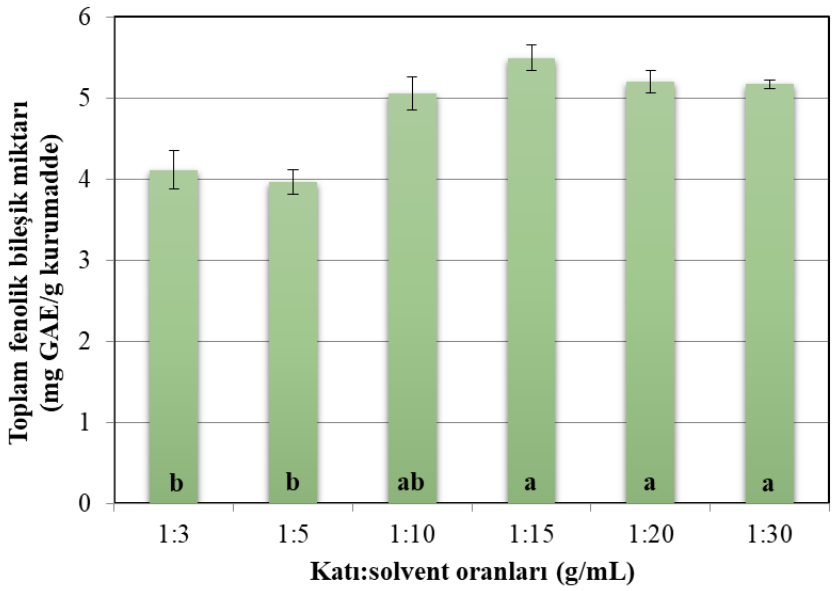
Bulgularla yönelik istatistiksel analizler MINITAB 15.1.1.0 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bağımlı değişkenler arasındaki farklılık, ANOVA testi ile % 95 güven aralığında belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Toplam fenolik bileşik miktarı, suda çözünür katı madde ve renk değerleri, tüm ekstraksiyon sürelerinde belirlenmiştir. Toplam monomerik antosiyanin konsantrasyonu, antioksidan aktivite ve pH analizleri, maksimum toplam fenolik bileşik içeren koşullarda yapılmıştır.

4.1 Maserasyon (MS)

Çalışmada kullanılacak olan katı:çözücü oranlarının belirlenebilmesi için, öncelikli olarak kızılcık meyvesi, 6 farklı katı:çözücü oranında (1:3, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30 g/mL), maserasyon koşullarında (25 °C ve 24 saat süre boyunca su banyosunda) işleme alınmıştır. Süre sonunda elde edilen ekstraktlarda, toplam fenolik bileşik miktarı belirlenmiştir. Katı:çözücü oranlarına göre değişen, toplam fenolik bileşik miktarı şekil 4.1'de verilmiştir.



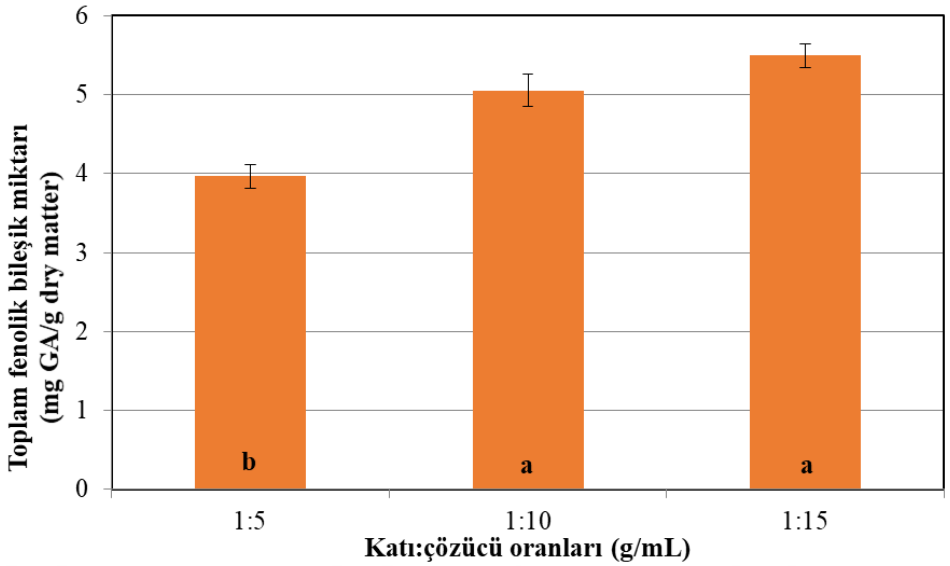
Şekil 4.1 Farklı katı:çözücü oranlarında elde edilen ekstraktların TFB miktarı

Grafik incelendiğinde, birim katı başına düşen çözücü miktarının artırılması ile toplam fenolik bileşik miktarının, belirli bir noktaya kadar arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Katı:çözücü oranının 1:15 g/mL olduğu koşuldan sonra, çözücü miktarındaki artış

toplam fenolik bileşik miktarında, istatistiksel açıdan bir değişime neden olmamıştır. Kısaca, 1:15 g/mL katı:çözücü oranının, en yüksek toplam fenolik bileşik eldesi için yeterli çözücüye sahip olduğu görülmüştür. Başka bir ifade ile belirli bir noktaya kadar çözücü miktarındaki yükselme, konsantrasyon gradyanının artışına neden olmuş ve ekstrakte edilen toplam fenolik bileşik miktarını artırmıştır (Simsek vd. 2012; Durmaz vd. 2015). Bu nedenle, çalışmanın geri kalan kısmında katı:çözücü oranının, toplam fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine etkisi incelenirken, 1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL katı:çözücü oranları kullanılmıştır.

4.1.1 Katı:çözücü oranın TFB üzerine etkisi

Katı:çözücü oranı, ön denemeler ile belirlendikten sonra, maserasyon işlemi 1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL oranlarında gerçekleştirilmiştir. Maserasyon yöntemi, diğer ekstraksiyon yöntemleri için kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Elde edilen ekstraktlarda, katı:çözücü oranına göre, toplam fenolik bileşik değişimi şekil 4.2'de verilmiştir. 1:10 ve 1:15 g/mL katı:çözücü oranındaki örneklerin toplam fenolik bileşik miktarında, istatistiksel olarak fark olmamasına rağmen, 1:15 g/mL katı:çözücü oranında daha yüksek miktarda (5.5 mg GAE/g kuru madde) toplam fenolik bileşik elde edilmiştir. Katı:çözücü oranı 1:5 g/mL olduğunda, elde edilen toplam fenolik bileşik miktarının (3.97 mg GAE/g kuru madde), en yüksek değere göre, yaklaşık 1.2 kat daha düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Bu bulgu, düşük çözücü miktarının, fenolik bileşiklerin tümünü ekstrakte edebilmek için, yeterli olmadığını göstermektedir. Yukarıda da bahsedildiği gibi, çözücü miktarındaki artış, konsantrasyon gradyanının artışına neden olmuş ve en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı artırmıştır. Benzer sonuçlar farklı çalışmalarda da rapor edilmiştir (Simsek vd. 2012; Durmaz vd. 2015; Alifakı 2019).



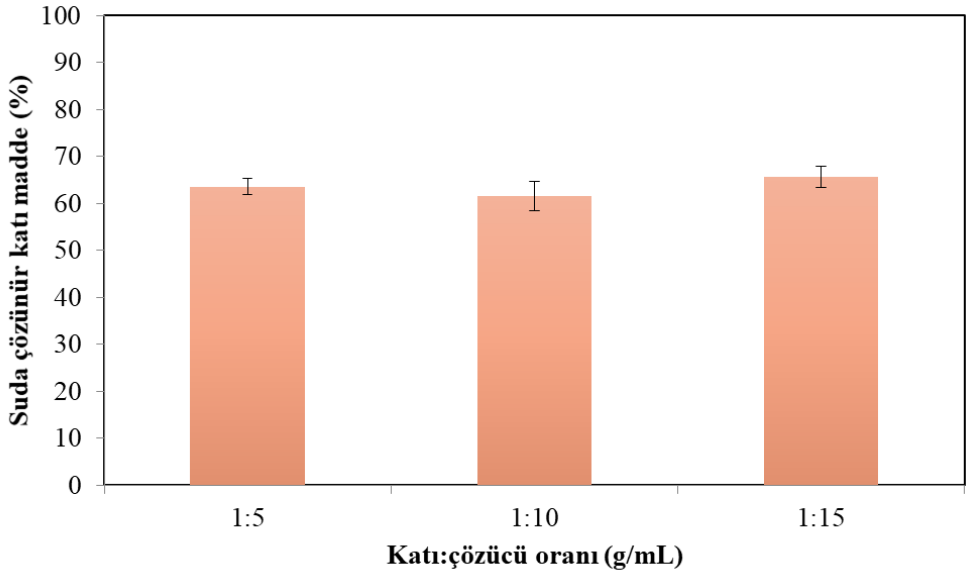
Şekil 4.2 Farklı katı:çözücü oranlarında MS ile elde edilen ekstraktların TFB miktarı

Maserasyon yöntemi ile elde edilen toplam fenolik bileşik miktarları, literatürdeki bazı çalışma bulgularıyla örtüşmektedir. Popovic vd. (2012), 10 farklı genotipe sahip kızılcık meyvesini önce kurutmuş, daha sonra 20 g örnek üzerine 300 mL % 80 oranında etanol-su karışımı ekleyerek, 70 saat süre ile 10 °C'de bekletmiştir. Elde edilen ekstraktların, toplam fenolik bileşik miktarı 4.94-7.04 mg GAE/g kuru madde aralığında bulunmuştur. Kullanılan çözücünün etanol-su karışımı olması, bazı genotiplerde daha yüksek toplam fenolik bileşik eldesini sağlamıştır. Fakat, uyguladıkları sıcaklık düşük olduğundan dolayı, ekstraksiyon süresi oldukça uzun tutulmuştur. Benzer değerler bizim çalışmamızda 24 saatlik bir sürede elde edilmiştir. Celep vd. (2012), 200 g kızılcık meyvesini, 500 mL % 80 metanol-su karışımı ile 45 °C'de 4 saat boyunca ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen ekstraktta, toplam fenolik bileşik miktarı, 31.25 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Bu sonuç, bizim çalışmamızda elde edilen sonuca göre oldukça yüksektir. Bunun nedeni olarak, metanol-su karışımının kullanılması ve sıcaklığın yüksek olması gösterilebilir. Maserasyon yönteminde, çözücü olarak metanol kullanımının, toplam fenolik bileşik verimine olumlu etkisi, Mukhtar vd. (2018) tarafından yapılan siyah çaydan polifenol ekstraksiyonunda da gözlemlenmiştir. Kızılcık meyvesi ile yapılan bir başka çalışmada da (Milenkovic-Andjelkovic vd., 2015), 0.5 g meyve, 40 mL çözücü içerisinde (metanol/aseton/su/formik asit; % 30/42/27.5/0.5), 30 dakika boyunca, oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda, sürekli karıştırılarak ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktlarda, toplam fenolik

bileşik miktarı, gallik asit eşdeğeri cinsinden, Folin-ciocalteu metodu ile belirlenmiştir. Toplam fenolik bileşik miktarı yaklaşık 90 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Sonuçta, toplam fenolik bileşik miktarının bizim sonuçlarımıza kıyasla çok daha yüksek bulunmasının sebebinin çözücü farklılığı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca bu farklılığa, genotip ve/veya ekstraksiyon koşullarındaki değişiklik de neden olabilmektedir.

4.1.2 Katı:çözücü oranının suda çözünür katı madde üzerine etkisi

Maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların, suda çözünür katı madde oranları şekil 4.3'te verilmiştir. Grafik incelendiğinde, suda çözünür katı madde oranları, ortalama % 61-65 aralığında değişmiş ve istatistiksel olarak, katı:çözücü oranları arasında bir farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p<0.05$).



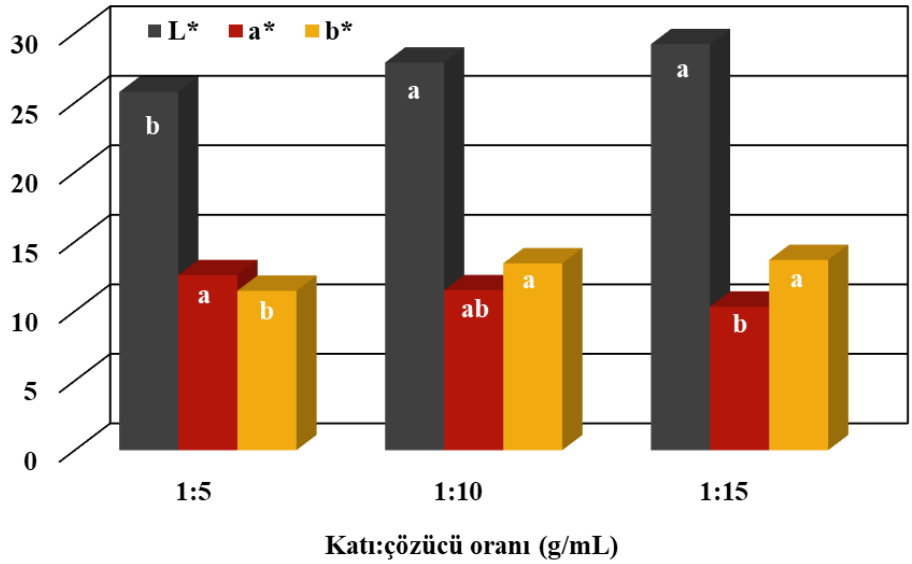
Şekil 4.3 Farklı katı:çözücü oranlarında MS ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde miktarı

Her ne kadar katı:çözücü oranının suda çözünür katı madde miktarına etkisi, bizim çalışmamızda tespit edilmemiş olsa da literatürde etkisini gösteren çalışmalar mevcuttur. Pinelo vd. (2005), üzüm posasını, farklı çözücüler (etanol, metanol ve su), çözücü:katı oranları (1, 3 ve 5 mL/g), farklı sıcaklıklar (25, 37.5 ve 50 °C) ve farklı sürelerde (30, 60 ve 90 dakika) çalkalamalı inkübatörde bekletmişlerdir. En uygun

proses koşullarını optimizasyon yaparak belirlemişlerdir. En yüksek suda çözünür katı madde miktarı, tüm çözücü tiplerinde de 50 °C sıcaklıkta, en yüksek çözücü:katı oranında (5 mL/g), ve en uzun sürede (90 dakika) elde edilmiştir. Çözücü oranındaki artış, suda çözünür madde miktarını artırmıştır. Benzer şekilde, Pavela (2017), sabun otu bitkisini farklı katı:çözücü oranlarında (0.15:10, 0.3:10, 0.6:10, 0.8:10 ve 1:10 g/mL) su ile karıştırmış ve 24 saat boyunca oda sıcaklığında bekletmiştir. Katı:çözücü oranı arttıkça, elde edilen ekstraktlarda çözünmüş madde miktarının da arttığı gözlemlenmiştir. Bu bulguların bizim sonuçlarımızdan farklı olmasının sebebinin, başta materyal farklılığına bağlı olarak, sıcaklık ve/veya katı:çözücü oranlarındaki farklılıklar olduğu düşünülmektedir.

4.1.3 Katı:çözücü oranının renk üzerine etkisi

Maserasyon ile elde edilen ekstraktların, L*, a* ve b* değerleri şekil 4.4'de verilmiştir. Grafik incelendiğinde, birim örnek başına düşen çözücü miktarının artması ile L* (koyuluk/açıklık) değerinin arttığı ve ekstraktların renginin açıldığı görülmüştür. En yüksek değer, 29.21 olarak 1:15 g/mL katı:çözücü oranında ölçülmüştür. Maksimum toplam fenolik bileşik miktarı, en açık renkli ekstraktta elde edilmiş olması çelişkili gibi görünse de bu durum toplam fenolik bileşik miktarı sonuçlarının, kuru madde üzerinden hesaplanmasından kaynaklanmaktadır. a* değeri (kırmızılık), ortamdaki çözücü miktarının artması ile düşmüş ve en düşük değeri (10.33), 1:15 g/mL katı:çözücü oranında elde edilmiştir. Bunun nedeni ise, çözücü miktarındaki artış, ekstrakt renginin açılmasına (L* değerinde artışa) sebep olmuştur. b* değeri (sarılık) ise tam tersi bir eğilim ile en düşük (11.47) 1:5 g/mL katı:çözücü oranında görülmüştür ve çözücü miktarının artması ile yükselmiştir. Bu bulgu çözücü miktarının artması ile sarılık rengini sağlayan pigmentlerin daha çok ekstrakte edilebildiğini göstermektedir.



Şekil 4.4 Farklı katı:çözücü oranlarında MS ile elde edilen ekstraktların L*, a* ve b* değerleri (a ve b harfleri farklı katı:çözücü oranları arasındaki istatistiksel farkı göstermektedir ($p<0.05$)).

4.1.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları

Toplam fenolik bileşik miktarının maksimum olduğu proses koşulunda (1:15 g/mL) elde edilen ekstraktta, toplam monomerik antosiyanin, antioksidan aktivite ve pH analizleri yapılmıştır ve sonuçlar çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1 Optimum MS koşulunda elde edilen ekstraktların analiz sonuçları

Analizler	Sonuçlar
TMA (mg cya-3-glu/g kuru madde)	0.36±0.005
AA (mg TE/g kuru madde)	4.09±0.04
pH	3.05±0.06

Toplam monomerik antosiyanin miktarı, 0.36 mg cya-3-glu/g kuru madde olarak bulunmuştur. Popovic vd. (2012), 10 farklı genotipe sahip kızılcık meyvesini önce kurutmuş, daha sonra 20 g örnek üzerine 300 mL % 80 oranında etanol-su karışımı ekleyerek 70 saat süre ile 10 °C'de bekletmiştir ve toplam monomerik antosiyanin miktarını incelemişlerdir. Sonuç olarak, 10 farklı genotipte antosiyanin miktarı 0.058-3.03 mg cya-3-glu/g kuru madde aralığında bulunmuştur. Toplam monomerik

antosiyanin miktarının çalışmamızdaki değerden daha düşük olduğu, 4 genotip olduğu görülmüştür. Çözücünün ve ekstraksiyon koşullarının farklı olması örneklerin toplam monomerik antosiyanin miktarlarını etkilemektedir. Gunduz vd. (2013), kızılcık meyvesini aseton-su-asetik asit karışımı ile (70:29.5:0.5 v/v) 1 saat boyunca, karanlık bir ortamda bekletmiş ve toplam monomerik antosiyanin miktarını, ortalama olarak 38 µg cya-3-glu/g taze örnek olarak bulmuşlardır. Elde edilen sonuç, bizim bulgularımıza kıyasla, yaklaşık 3 kat daha düşüktür. Bunun nedeninin, ekstraksiyon süresinin daha kısa olması ve/veya farklı çözücü karışımı kullanımından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

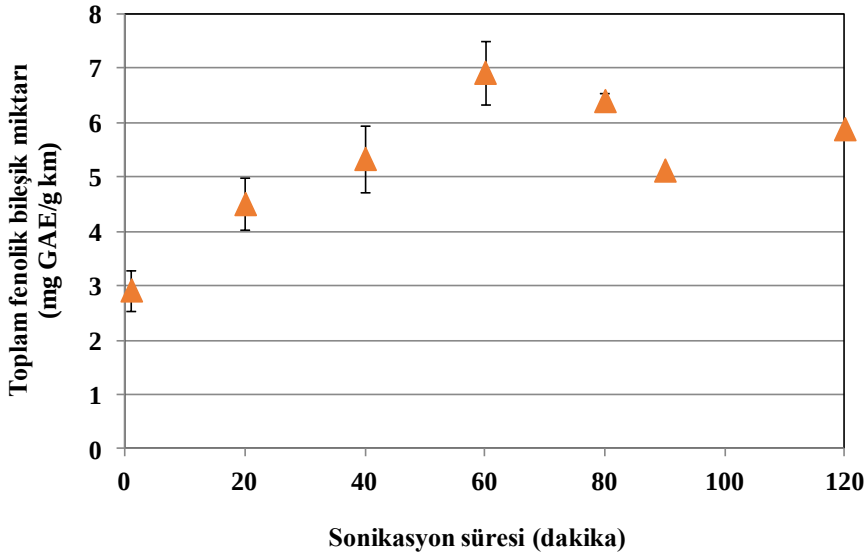
Kızılcık meyvesinden maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değeri, 4.09 mg TE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Gunduz vd. (2013), yaptığı çalışmada kızılcık meyvesi ekstraktlarının antioksidan değerini ortalama 36.3 µmol TE/g taze örnek olarak bulmuşturlar. Proses koşullarının ve çözücünün farklılığı antioksidan aktivite değerlerinde de farklılığa sebep olmuştur. Ayrıca Gunduz vd. (2013)'nin kullanmış oldukları antioksidan aktivite tayin yöntemi de bizim kullandığımız yöntemden değişiktir. Bu durumun da sonuçları etkileyebileceği düşünülmektedir.

Literatürde farklı hammaddelerden elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri çok farklılık göstermektedir. Teng vd. (2013), ahududu meyvesini, 1:25 g/mL oranında % 50'lik etanol-su karışımı ile karıştırarak 1 saat bekletmiş ve ardından 50 °C sıcaklıktaki su banyosunda, 7 saat boyunca bekletmişlerdir. Antioksidan aktivite değerini DPPH yöntemiyle % 78.64 olarak rapor etmişlerdir. Radojkovic vd. (2018), karadut yapraklarını 2:100 g/mL oranında etanol-su karışımı (1:1 v/v) ile karıştırmışlar ve oda sıcaklığında 24 saat boyunca karanlık bir ortamda bekletmişlerdir. Antioksidan aktivite analizi, DPPH yöntemi ile yapılmıştır. Örneğin antioksidan aktivitesi 11.1 mg TE/g kuru örnek olarak bulunmuştur. Zhao vd. (2018), 0.5 g *Melastoma sanguineum* meyvesini, 16.11 mL % 31.33'lük etanol-su karışımında, 24 saat boyunca, 24 °C sıcaklıkta bekletmişlerdir. Çalışmada, ekstraktların antioksidan kapsitesi, TEAC yöntemi ile 380.66 µmol TE/g kuru madde olarak belirlenmiştir.

Maserasyon yöntemi ile elde edilen ekstraktın pH değeri 3.05 olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.2). Farklı genotiplere ait kızılcık meyvelerinin pH değerlerinin, Tural ve Koca (2008)'nın yaptıkları çalışmada 3.11-3.53, Yilmaz vd. (2009)'nin yaptıkları çalışmada 2.92-3.37 ve Gunduz vd. (2013)'nin yaptıkları çalışmada 2.7-3.0 arasında olduğu belirtilmiştir. Kendi çalışmamızda elde ettiğimiz pH değerimizde bu aralıklar içerisinde bulunmaktadır.

4.2 Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE)

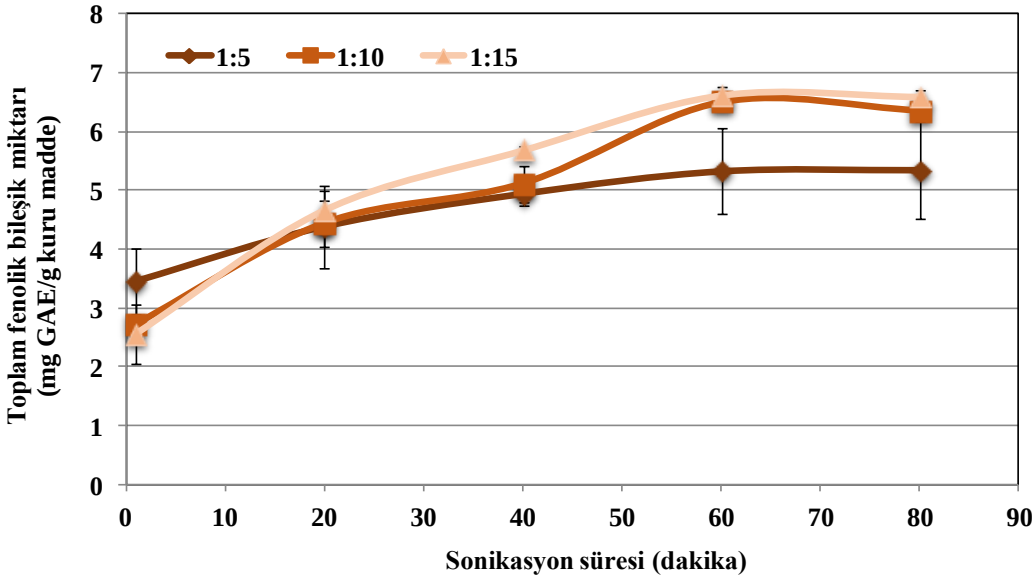
Ultrasonik destekli ekstraksiyonda, öncelikle sonikasyon sürelerini belirlemek için, ön denemeler yapılmıştır. Ön deneylerde, sıcaklığı 50 °C olan ultrasonik banyoda, 1:10 g/mL katı:çözücü oranında, farklı sonikasyon süreleri denenmiş ve ekstraktlar elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların, sonikasyon süresi ile toplam fenolik bileşik miktarlarındaki değişim, şekil 4.5'de verilmiştir. Grafik incelendiğinde, en yüksek TFB miktarı 60. dakika elde edilmektedir (80. dakika ile arasında istatistiksel fark yoktur). 80. dakikadan sonra ise, sonikasyon süresindeki artış fenolik bileşiklerde bozunmaya neden olmuş ve miktarında bir azalma meydana gelmiştir. Bu nedenle, asıl deneyler için, 80 dakikadan sonraki azalma baz alınarak, sonikasyon süreleri 1, 20, 40, 60 ve 80 dakika olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.5 Farklı sonikasyon sürelerinde UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarı

4.2.1 Katı:çözücü oranı ve sonikasyon süresinin TFB üzerine etkisi

Ultrasonik destekli ekstraksiyon, 50 °C sıcaklıktaki ultrasonik banyoda, 1, 20, 40, 60 ve 80 dakika olmak üzere 5 farklı sonikasyon süresinde ve 1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL olmak üzere 3 farklı katı:çözücü oranı ile gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların, sonikasyon süresi ile toplam fenolik bileşik miktarlarındaki değişim şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6 Farklı katı:çözücü oranlarında UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarlarının sonikasyon süresi ile değişimi

Grafik incelendiğinde, sonikasyon süresinin artmasıyla, tüm katı:çözücü oranlarında, toplam fenolik bileşik miktarında artış görülmektedir ($p<0.05$). Tüm katı:çözücü oranlarında, en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı 60. dakikada saptanmıştır (1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL katı:çözücü oranları için, toplam fenolik bileşik miktarları sırasıyla, 5.32, 6.49 ve 6.62 mg GAE/g kuru maddedir). Ayrıca katı:çözücü oranındaki değişimin, ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı üzerine etkisi de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). 1:5 g/mL katı:çözücü oranında, toplam fenolik bileşik miktarının daha düşük bulunmasının nedeni, çözücü miktarındaki azalışa paralel olarak, konsantrasyon gradyanının azalmasından kaynaklı olabilir.

Literatürde, kızılcık meyvesinden ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile toplam fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ile ilgili çok az çalışma bulunmaktadır. Agourram vd. (2013), kızılcık meyvesini liyofilize ettikten sonra, 1:50 g/mL katı:çözücü oranında 3 farklı çözücü ile (metanol/su/asetik asit (90:9.5:0.5 v/v/v), etanol/su (80:20 v/v) ve aseton/su (70:30 v/v)), ultrasonik banyoda (20 °C) 15 dakika boyunca ekstrakte etmiştir. Sonuçlara bakıldığında, metanol/su/asetik asit, etanol/su ve aseton/su ile elde edilen ekstraktların, toplam fenolik miktarı sırasıyla, 32.6, 26.8 ve 50.1 mg GAE/g olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, bizim çalışmamızdaki değerlerden oldukça fazladır. Bu farklılığın, kullanılan kızılcık meyvesinin genotipinden ve farklı çözücü kullanımından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir. Cosmulescu vd. (2019), 6 farklı genotipteki kızılcık meyvesini, hidroklorik asitli (% 2) metanol ile 1:10 g/mL oranında karıştırmış ve 60 dakika boyunca, 30 °C sıcaklıkta ultrasonikasyona tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktlardaki toplam fenolik bileşik miktarı, 5.43-11.96 mg GAE/100 g taze örnek aralığında değiştiği görülmüştür. Yüksek fenolik madde içeriğinden dolayı, kızılcık meyvesinin farklı alanlarda kullanıma uygun olabileceğini belirtmişlerdir. Çalışmada bazı genotipte elde edilen sonuçlar, bizim çalışmamız ile benzerlik göstermektedir. Bazı genotiplerde ise daha yüksek toplam fenolik bileşik miktarı elde edilmiştir. Bu farklılığın nedeni hem genotip farklılığı hem de çözücü farklılığından kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Farklı hammaddeler kullanılarak yapılan ultrasonik destekli ekstraksiyon çalışmalarına örnek olarak, Kumari vd. (2017), krem ve pembe renkteki patates kabuklarını, 1:10 g/mL oranında % 80'lik metanol ile ultrasonik banyoda 30, 60, 180, 360 ve 900 dakika boyunca ekstrakte etmişlerdir. Sonikasyon boyunca örneklerin sıcaklığının 30-45 °C aralığında değiştiğini belirtmişlerdir. En yüksek toplam fenolik bileşik miktarı, pembe renkli patates kabuğunda, 900 dakika sonikasyon sonunda elde edilen ekstraktlarda 7.67 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Espada-Bellido vd. (2017), karadut meyvesinden ultrasonik prob ile fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. Çalışmada, bazı proses parametrelerinin (sıcaklık (10-70 °C), ultrasonik titreşim yoğunluğu (% 30-70), döngü süresi (0.2-0.7 saniye), çözücü:katı oranı (10:1.5-20:1.5 mL/g), çözücü konsantrasyonu (% 50-100 metanol-su karışımı), ekstraksiyon süresi (5-30 dakika) ve çözücünün pH değeri (3-7)) etkisi incelenmiştir ve bu parametreler

optimize edilmiştir. Sonuç olarak, optimum koşullar, % 61 metanol-su karışımı, pH 7.0, sıcaklık 64 °C, ultrasonik titreşim yoğunluğu % 70, döngü süresi 0.7 s, çözücü:katı oranı 11:1.5 mL/g ve ekstraksiyon süresi 10 dakika olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen toplam fenolik bileşik miktarı, 1.214 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Sonuçlarımızın, toplam fenolik bileşik miktarı açısından kırmızı meyve ve sebzeler ile yapılan bu çalışmalara kıyasla daha iyi olduğu görülmüştür. Bu da kızılcık meyvesinin fenolik bileşik içeriği açısından ne kadar zengin olduğunun bir göstergesidir.

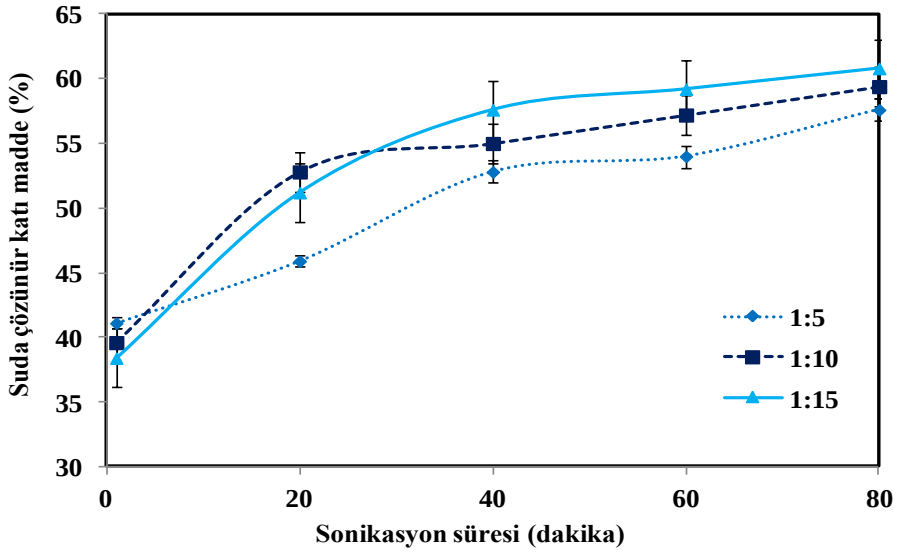
UDE yöntemi ile elde edilen sonuçlar MS yöntemi ile kıyaslandığında, UDE yöntemi ile elde edilen, maksimum toplam fenolik bileşik miktarının, % 21 oranında daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ekstraksiyon süresi ise UDE yöntemi ile yaklaşık % 96 oranında kısalmıştır. Bu nedenle, UDE yönteminin (hem ekstraksiyon süresini kısaltmasından hem de toplam fenolik bileşik miktarının yüksek olmasından dolayı) MS yöntemine göre daha etkili olduğu söylenebilir. Benzer şekilde, literatürde UDE yönteminin konvansiyonel yöntemlere kıyasla daha etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Behrangi vd. (2015), kızılcık meyvesini 1:10 g/mL oranında, % 100 metanol ile karıştırmış ve 80 °C sıcaklıkta, sokselet cihazı ile ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile de aynı katı:çözücü oranında örnek, 40 °C sıcaklıkta ultrasonik banyoda, 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarları, sokselet ve UDE yöntemi için sırasıyla, 2.9 ve 4.7 mg GAE/kg olarak bulunmuştur. UDE yöntemi ile toplam fenolik bileşik veriminde yaklaşık % 62 oranında bir artış sağlanmıştır. Aynı zamanda, ekstraksiyon süresinden de tasarruf edilmiştir.

Bu çalışmalardan farklı olarak, UDE ve konvansiyonel ekstraksiyon sonucu, elde edilen değerli bileşik verimlerinin, birbirine çok yakın olduğu çalışmalar da mevcuttur. Wang vd. (2016), değerli bileşiklerce zengin olan yaban mersini, kiraz ve kırmızı armut kabuğundan hem konvansiyonel hem de ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. Ekstraksiyonda, farklı çözücü (metanol, etanol ve aseton), sıcaklık (60, 70 ve 80 °C) ve farklı ekstraksiyon süreleri uygulanmıştır. Konvansiyonel yöntem ile en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı (3.64

mg GAE/g taze örnek), çözücü olarak asetonun kullanıldığı, sıcaklığın 60 °C ve süreninde 70 dakika olduğu koşullarda, yaban mersini meyvesinden elde edilmiştir. Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile ise, en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı (3.46 mg GAE/g taze örnek), çözücü olarak asetonun kullanıldığı sıcaklığın 60 °C ve süreninde 40 dakika olduğu koşullarda, yaban mersini meyvesinden elde edilmiştir. Yöntemler arasında, toplam fenolik bileşik miktarında çok büyük farklılık olmamasına rağmen, ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile sürenin yaklaşık % 43 oranında kısaltıldığı rapor edilmiştir.

4.2.2 Katı:çözücü oranı ve sonikasyon süresinin suda çözünür katı madde üzerine etkisi

Ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların, suda çözünür katı madde oranları şekil 4.7'de verilmiştir. Katı:çözücü oranının, suda çözünür katı madde oranı üzerine etkisi sadece 20. dakikada önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Bu noktada en yüksek değer, 1:15 g/mL katı:çözücü oranında tespit edilirken, çözücü miktarı azaldıkça, ekstrakttaki suda çözünür katı madde oranı da azalmıştır. Sonikasyon süresi arttıkça, 1:5 katı:çözücü oranında elde edilen bu değer artmış ve diğer sonikasyon sürelerinde, katı:çözücü oranlarının, suda çözünür katı madde oranı üzerine etkisi görülmemiştir.



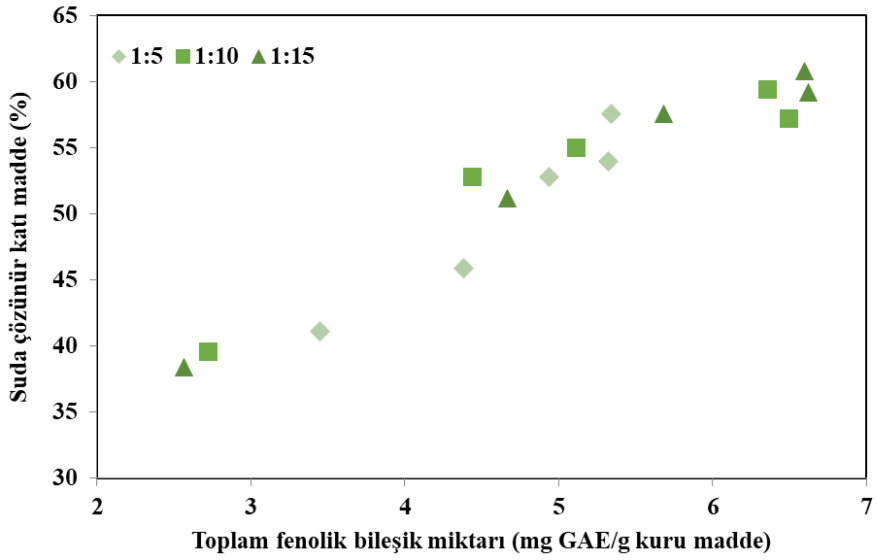
Şekil 4.7 Farklı katı:çözücü oranlarında UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde miktarlarının sonikasyon süresi ile değişimi

Tüm katı:çözücü oranlarında, sonikasyon süresinin artması ile suda çözünür katı madde oranları da arttığı görülmektedir ($p<0.05$). Ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların, suda çözünür katı oranları, ortalama olarak maserasyon yöntemi ile elde edilen değerlere göre düşüktür. Bunun nedeni, maserasyon yönteminde uygulanan ekstraksiyon süresinin uzunluğu olabilir. Uzun süreli ekstraksiyon ile, çözünen katı maddeler suya daha fazla geçmektedir. Benzer sonuçlar literatürde de rapor edilmiştir. Soquetta vd. (2018), kırmızı pancarı konvansiyonel, ultrasonik prob ve ultrasonik banyo ile muamele etmişlerdir. Örneklere sodyum hipoklorit çözeltisi eklenerek, konvansiyonel ekstraksiyon 2 saat, ultrasonik prob ile ekstraksiyon 5, 10 ve 15 dakika, ultrasonik banyo ile ekstraksiyon ise 10, 20 ve 30 dakika süresince gerçekleştirilmiştir. Sonrasında ekstraktların briks değerleri incelenmiştir. En yüksek briks değeri (25.66 °B) konvansiyonel yöntem ile elde edilmiştir. Ultrasonik prob ve ultrasonik banyo yöntemlerinde ise sürenin artmasıyla, briks değeri de sırasıyla, 22.26 °B'den 24.55 °B'ye ve 17.83 °B'den 19.38 °B'e yükselmiştir.

Literatürde bizim sonuçlarımızı desteklemeyen, sonikasyon süresinin etkisinin görülmediği çalışmalar da mevcuttur. El-Darra vd. (2013a), konvansiyonel ve ultrasonik destekli ekstraksiyon ile kırmızı üzümden elde edilen ekstraktların briks değerlerini incelemişlerdir. Konvansiyonel yöntem, 50 °C sıcaklıkta 15 dakika boyunca, ultrasonik destekli ekstraksiyon ise prob (24 kHz) ile 400 W gücünde, 5, 10 ve 15 dakika boyunca uygulanmıştır. Sonuç olarak, konvansiyonel yöntem sonrasında elde edilen ekstraktların briks değeri daha yüksek bulunmuştur. Ek olarak, ultrasonik destekli ekstraksiyonda kullanılan farklı sonikasyon sürelerinin, briks değerine etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Yine benzer olarak, Guerrouj vd. (2016), portakal suyunu farklı sürelerde, ultrasonik muameleye tabi tutarak, briks değişimini incelemişlerdir. Ultrasonik banyoda yapılan deneylerde, 1, 10, 20 ve 30 dakika boyunca sonikasyon işlemi uygulanmıştır. Sıcaklık kontrolü yapılmamıştır. 25 °C ile başlayan sonikasyon işlemi, son işlem sonrasında 46 °C'ye kadar yükselmiştir. Sonuç olarak, sonikasyon süresi ile briks değerinin değişmediği vurgulanmıştır.

Farklı katı:çözücü oranlarında UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde oranlarının, toplam fenolik bileşik miktarı ile değişimi şekil 4.8'de

verilmiştir. 1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL katı:çözücü oranlarında, suda çözünür katı madde oranı ile toplam fenolik bileşik miktarı arasında pozitif ilişki söz konusudur ve Pearson korelasyon katsayıları sırasıyla 0.970, 0.952 ve 0.989 olarak bulunmuştur. Tüm katı:çözücü oranlarında, toplam fenolik bileşik miktarının artmasıyla, suda çözünür katı madde oranlarında da artış görülmüştür ($p<0.05$). Benzer şekilde, Wang vd. (2018), elmadan, konvansiyonel ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile fenolik bileşik eldesi üzerine çalışmışlardır. Fenolik bileşik olarak, çalışmada kateşin miktarı belirlenmiştir. Her iki yöntemde de kateşin miktarının, briks değişimi ile korelasyonunun yüksek olduğu vurgulanmıştır. Başka bir çalışmada, Terki vd. (2018), kaktüs meyvesi suyundaki, toplam fenolik bileşik miktarının, 38.05 mg GAE/100 g taze örnek'ten 67.13 mg GAE/100 g taze örnek'e artmasıyla, suda çözünür katı madde değerinin 16.4 °B'ten 23.4 °B'e arttığını bildirmişlerdir.



Şekil 4.8 Farklı katı:çözücü oranlarında UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde miktarlarının toplam fenolik bileşik miktarıyla değişimi

4.2.3 Katı:çözücü oranı ve sonikasyon süresinin renk üzerine etkisi

Ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların, sonikasyon süresi ve katı:çözücü oranı ile değişen L*, a* ve b* değerleri çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2 UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların katı:çözücü oranları ve sonikasyon süresi ile değişen L*, a* ve b* değerleri

Süre (dakika)	Katı:çözücü oranları (g/mL)		
	1:5	**1:10**	**1:15**
		L*	
1	28.59±0.04^{aC}	31.29±0.01^{aB}	31.63±0.02^{aA}
20	26.26±0.02^{bC}	27.50±0.05^{bB}	29.06±0.01^{bA}
40	25.82±0.24^{bC}	27.74±0.08^{bB}	28.77±0.08^{bA}
60	26.26±0.06^{bC}	27.48±0.17^{bB}	28.81±0.12^{bA}
80	25.70±0.35^{bC}	27.35±0.11^{bB}	28.80±0.13^{bA}
		a*	
1	9.50±0.01^{cA}	6.17±0.04^{dB}	5.59±0.02^{cC}
20	11.85±0.01^{bA}	10.21±0.05^{bB}	8.87±0.09^{bC}
40	12.15±0.02^{aA}	9.36±0.04^{cC}	9.79±0.05^{aB}
60	11.87±0.01^{bA}	11.16±0.01^{aB}	9.82±0.08^{aC}
80	12.03±0.13^{bA}	11.11±0.01^{aB}	9.81±0.01^{aC}
		b*	
1	11.28±0.18^{abA}	8.37±0.02^{bB}	7.50±0.04^{cC}
20	11.86±0.08^{aB}	12.57±0.02^{aA}	11.93±0.09^{bB}
40	11.62±0.16^{abB}	12.42±0.15^{aA}	12.40±0.08^{abA}
60	11.67±0.16^{abB}	12.54±0.10^{aA}	12.24±0.18^{abAB}
80	11.25±0.14^{bB}	12.50±0.10^{aA}	12.67±0.16^{aA}

a, b, c aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).
A, B, C aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

L* değeri üzerine, katı:çözücü oranının etkisi, istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Sabit sonikasyon sürelerinde, L* değerinin birim katı başına düşen çözücü miktarının 3 kat artmasıyla istatistiksel olarak arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Önceki bölümde (Bölüm: 4.1.3, sayfa 54) de açıklandığı gibi, çözücü miktarının fazla olması örneklerin renginin açılmasına sebep olmuştur. Alifaki vd. (2018), gilaburu meyvesinden ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde ettiği ekstraktlarda, renk değişimini incelemiştir. Ekstraksiyon, farklı sonikasyon süresi (1, 10, 20, 30, 60 ve 120

dakika) ve farklı katı:çözücü oranlarında (5:100, 10:100 ve 15:100 g/mL) gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, katı:çözücü oranının etkisi ise bizim çalışmamızda olduğu gibi bulunmuş, çözücü miktarının artmasıyla L* değeri artmıştır.

Sabit katı:çözücü oranında, sonikasyon süresinin etkisi sadece ilk 1. dakikada istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). L* değeri, 1 dakika sonikasyon süresinde, tüm katı:çözücü oranları için en yüksek değerini almış ve 20 dakikalık sonikasyon süresinden sonra istatistiksel olarak değişmemiştir. Sonikasyon süresinin artması ile L* değerinin azalması, örneklerin renginin koyulaştığının göstergesidir. Bu sonuçlar, fenolik bileşik miktarları ile paralellik göstermektedir. Artan sonikasyon süresi ile ekstraktların fenolik bileşik içeriği artmış ve daha koyu örnekler elde etmemizi sağlamıştır. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir. Yeşilören-Akal (2019), siyah havuç posasında UDE yöntemi ile farklı posa:çözücü oranlarında ve farklı sonikasyon sürelerinde su ile ekstraksiyon gerçekleştirmiştir. Sonuçta, bizim çalışmamızla uyumlu olarak, en yüksek L* değerinin 1. dakikada elde edildiği bildirilmiştir.

Kırmızılığı vurgulayan a* değeri üzerine, katı:çözücü oranının etkisi istatistiksel olarak etkili bulunmuştur. Sabit sonikasyon sürelerinde, a* en yüksek değerini 1:5 g/mL kat:çözücü oranlarında almıştır ($p<0.05$). L* ve a* değerleri birbirine uyumlu değişmiştir. L* değerinin en düşük (en koyu) olduğu katı:çözücü oranında (1:5 g/mL), a* değeri en yüksek değerini almıştır. Çözücü miktarının artması ile a* değeri azalmıştır. Bu sonuç, L* sonuçlarına benzer şekilde, çözücü miktarının artması ile kırmızı rengi veren antosiyaninlerin seyrelmesinden ve bu sebeple ekstraktların daha düşük a* değerine sahip olmasından kaynaklıdır.

Sabit katı:çözücü oranlarında ise, a* değeri, sonikasyon süresinin 1 dakika olduğu durumlarda en düşük değerini almıştır. Sonikasyon süresinin artmasıyla, a* değeri de artmıştır. Bu bulgu sonikasyon süresinin artması ile meyvelerde kırmızı rengi sağlayan fenolik bileşiklerin (antosiyaninler) daha fazla ekstrakte edildiğini göstermektedir. En yüksek a* değerleri 1:5 g/mL katı:solvent oranında elde edilen ekstraktlar için 40. dakika, 1:10 ve 1:15 g/mL katı:solvent oranlarında elde edilen ekstraktlar için ise 60. dakikada gözlenmiştir. Ochmian vd. (2012), aronya meyvesinin (*Aronia melanocarpa*)

posasından elde ettiği ekstraktlarda, ekstraksiyon süresi ile değişen renk değerlerini incelemişlerdir. Ekstraksiyon sırasında 1. ve 12. saatte örnek alarak renk değerlerini yorumlamışlardır. Sonuçta, sürenin artması ile L* değerinde azalma ve a* değerinde artış görülmüştür. L* ve a* değerlerindeki süre ile gerçekleşen eğilim, bizim çalışmamızla örtüşmektedir.

Sarılığı vurgulayan b* değeri sonuçları incelendiğinde, sabit sonikasyon sürelerinde, katı:çözücü oranlarının etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Sonikasyon süresinin 1 dakika ve katı:çözücü oranının 1:5 g/mL olduğu koşulda, b* değerinin yüksek olduğu bulunmuştur. Fakat diğer sonikasyon sürelerinde, çözücü miktarının arttırılması b* değerinde artışa neden olmuştur. Çözücü artışının, sarı rengi etkileyen fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu artırmış olduğu söylenebilir.

b* değeri üzerine, sonikasyon süresinin etkisi de istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). 1:5 katı solvent oranında, sonikasyon süresinin artışı, b* değerinde önce bir artışa daha sonra düşüşe neden olmakta ve en yüksek b* değeri 20 dakikalık sonikasyon süresinde gözlemlenmektedir. 1:10 g/mL katı:çözücü oranında, b* değeri 20. dakikaya kadar artmakta bu süreden sonra ise istatistiksel olarak değişmemektedir. 1:15 g/mL katı:çözücü oranında ise, b* değeri 40. dakikaya kadar artmakta bu süreden sonra ise istatistiksel olarak değişmemektedir. Çözücü miktarı azaldıkça, sarılık en yüksek değerine, daha kısa sürede ulaşmaktadır.

4.2.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları

Ultrasonik destekli ekstraksiyon sonrasında, toplam fenolik bileşik miktarının maksimum olduğu proses koşulunda (1:15 g/mL; 60. dakika), toplam monomerik antosiyanin miktarı, antioksidan aktivite ve pH analizleri yapılmıştır ve sonuçlar çizelge 4.3'de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Optimum koşullarda UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların analiz sonuçları

Analizler	Sonuçlar
TMA (mg cya-3-glu/g kuru madde)	0.55±0.001
AA (mg TE/g kuru madde)	4.14±0.03
pH	2.95±0.01

Optimum koşullarda toplam monomerik antosiyanin miktarı, 0.55 mg cya-3-glu/g kuru madde olarak bulunmuştur. Bu değerin, maserasyon yöntemi ile elde edilen değere göre, yaklaşık 1.5 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Ultrasonik etki ile daha kısa sürede daha fazla antosiyanin ekstraksiyonu sağlanmıştır. Ultrasonik ekstraksiyon ile sürenin kısa olması, antosiyaninlerin degredasyonunu engellemiştir.

Literatürde kızılcık meyvesinden UDE yöntemi ile antosiyanin ekstraksiyonuna ait çalışma bulunamamıştır. Farklı materyallerden, UDE yöntemi ile antosiyanin ekstraksiyonu ile ilgili çalışmalar incelenmiştir. Tao vd. (2014), şarap tortusundan antosiyaninleri hem ultrasonik destekli hem de maserasyon yöntemleri ile ekstrakte etmişlerdir. UDE yöntemi için, 36.3 dakika sonikasyon süresi, 60 °C sıcaklık, 60:1 mL/g çözücü:katı oranı ve % 51.3 etanol konsantrasyonu koşullarında elde edilen değerler, optimum olarak alınmıştır. Maserasyon yöntemi ise aynı koşullarda, su banyosunda sonikasyon olmaksızın uygulanmıştır. Sonuçlar karşılaştırıldığında, UDE yöntemi ile elde edilen antosiyanin miktarı, bizim çalışmamızla benzer eğilimde olarak, maserasyon yöntemi ile elde edilen değerden, % 17 daha fazla bulunmuştur. Dibazar vd. (2015), yaban mersininin bir türü olan *Vaccinium angustifolium Aiton* meyvesinden, ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemi ile antosiyanin elde etmişlerdir. Yöntem, farklı sıcaklık (25-65 °C), farklı sonikasyon süresi (3-20 dakika), farklı çözücü konsantrasyonu (etanol-su karışımı: % 20-100) ve farklı çözücü:katı oranlarında (10-50 mL/g) uygulanmıştır. Sonuç olarak, toplam monomerik antosiyanin miktarlarının 5.68-13.22 mg cya-3-glu/g kuru madde aralığında değiştiğini belirtmişlerdir. Özgür ve Çimen (2018), kırmızı gül yapraklarından, sokselet ve ultrasonik banyo ile toplam monomerik antosiyanin ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. Sokselet yönteminde, 1:100 g/mL (çözücü: etanol–0.1 N HCI (80+20, v/v)) oranında hazırlanan örnek, 360

dakika boyunca ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Ultrasonik destekli ekstraksiyonda ise örnek, 25 °C sıcaklıktaki banyoda, 1:40 g/mL oranında, 45 dakika boyunca bekletilmiştir. Sonuçlara bakıldığında, sokselet yöntemi ile ekstraksiyon işleminin, ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemine göre, 8 kat daha uzun sürdüğü belirtilmiştir. Ayrıca sokselet yöntem ile elde edilen ekstraktların, toplam monomerik antosiyanin miktarı da % 7 oranında daha düşük bulunmuştur.

UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktın antioksidan aktivite değerinin 4.14 mg TE/g kuru madde olduğu tespit edilmiştir. Literatürde kızılcık meyvesinden elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri rapor edilmiştir. Agourram vd. (2013), kızılcık meyvesini liyofilize ettikten sonra, 1:50 g/mL katı:çözücü oranında 3 farklı çözücü karışımı ile (metanol:su:asetik asit (90:9.5:0.5 v/v/v), etanol:su (80:20 v/v) ve aseton:su (70:30 v/v)) 20 °C sıcaklıktaki ultrasonik banyoda, 15 dakika boyunca bekletmişlerdir. Sonuçlara bakıldığında, metanol:su:asetik asit, etanol:su ve aseton:su ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri sırasıyla, 0.71, 0.69 ve 0.70 µM TE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Fakat bu çalışmada, kullanılan antioksidan aktivite tayin yöntemi, bizim yöntemimizden farklılık göstermektedir. Başka bir çalışmada, Cosmulescu vd. (2019), 6 farklı genotipteki kızılcık meyvesini, asitlendirilmiş metanol ile (1:10 g/mL katı:çözücü oranında) karıştırmış ve 60 dakika boyunca, 30 °C sıcaklıkta UDE yöntemi ygulamıştır. Elde edilen ekstraktlardaki antioksidan aktivitenin 10.67-22.60 mg TE/ g kuru madde aralığında değiştiği görülmüştür. Bu değer bizim sonuçlarımıza göre oldukça yüksektir. Bu farklılığın başlıca nedeni, çözücünün asitlendirilmiş metanol olmasıdır. Diğer bir neden olarak ise, kızılcık genotipindeki farklılık gösterilebilir.

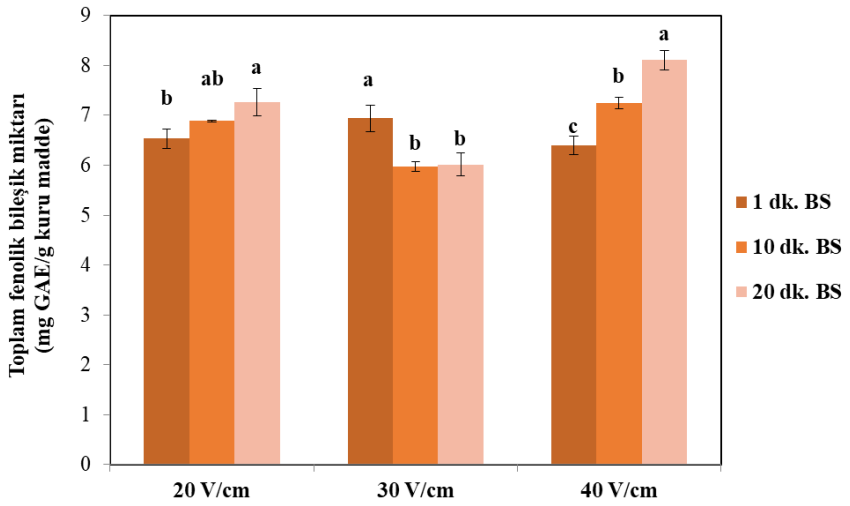
Toplam fenolik bileşik ve toplam monomerik antosiyanin miktarı artmasına karşın, UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değeri, MS yöntemine kıyasla istatiksel açıdan değişmemiştir. Bu bulgu, ekstrakte edilen tüm fenolik bileşik ve antosiyaninlerin, antioksidan aktivite göstermediğini düşündürmektedir. Benzer sonuçlar literatürde de mevcuttur. Dalagnol vd. (2017), üzümden, maserasyon ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlarda, antioksidan

aktivite değerlerini karşılaştırmıştır. Antioksidan aktivite sonuçları incelendiğinde, iki yöntem arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir.

Optimum koşullarda (1:15 g/mL katı:çözücü oranı; 60 dk sonikasyon süresi) UDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların pH değeri 2.95 olarak ölçülmüştür. pH değerleri açısından, UDE yöntemi ile MS arasında istatistiksel olarak fark görülmemiştir. Bu bulgu, her ne kadar UDE yönteminde daha yüksek sıcaklık uygulansada, sürenin MS yöntemine göre çok daha kısa olması, asitliğe neden olan bileşiklerin iki yöntemde de aynı miktarda ekstrakte edildiğini (H^+ iyon konsantrasyonları aynı) göstermektedir.

4.3 Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon (OH-US)

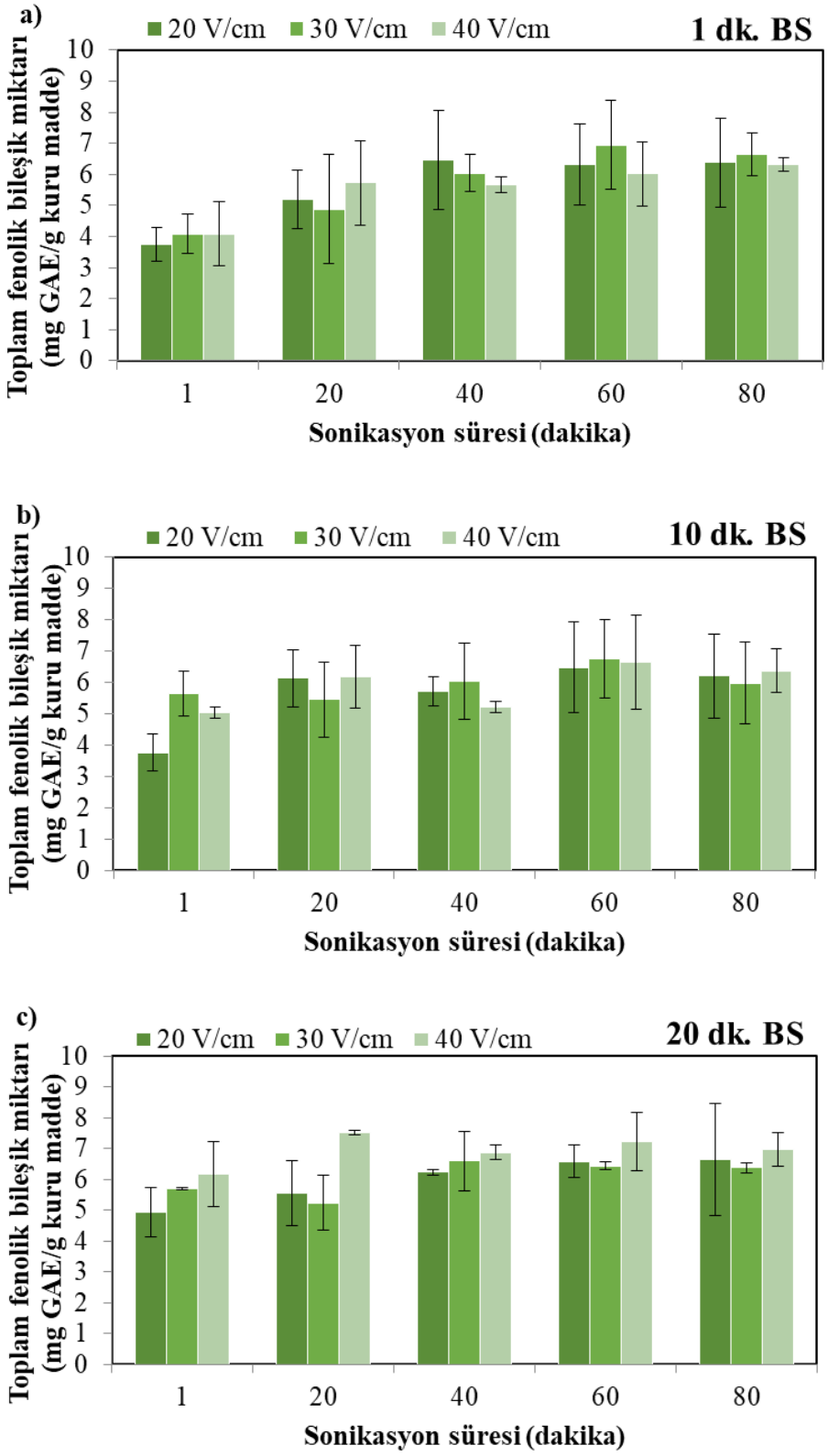
Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon için öncelikli olarak, elektrik alan şiddeti ve ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi (BS) denemeleri yapılmıştır (Şekil 4.9). Ön denemeler, sabit katı:çözücü oranı (1:15 g/mL) ve sabit sonikasyon süresinde (20 dakika) gerçekleştirilmiştir. Ohmik ısıtma hazne sıcaklığı, ultrasonik destekli ekstraksiyonun gerçekleştirildiği sıcaklık olan 50 °C'de sabit tutulmuştur. Grafik incelendiğinde, farklı elektrik alan şiddetlerinin ve bekletme sürelerinin, toplam fenolik bileşik miktarı üzerine etkisi gözlemlenmiştir. Ön denemelerden elde edilen sonuçlara göre, OH-US yöntemi için proses koşulları; 20, 30 ve 40 V/cm elektrik alan şiddeti, 1, 10 ve 20 dakika ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi (BS) ve 1, 20, 40, 60 ve 80 dakika sonikasyon süresi olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.9 Sabit katı:çözücü oranı (1:15 g/mL) ve sonikasyon süresinde (20 dakika) elektrik alan şiddeti ve bekletme süresi ile değişen TFB miktarları

4.3.1 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve sonikasyon süresinin TFB üzerine etkisi

Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon sonucunda elde edilen toplam fenolik bileşik miktarları, şekil 4.10a-c'de verilmiştir.



Şekil 4.10 Farklı elektrik alan şiddetlerinde OH-US yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarlarının artan sonikasyon süresi ile değişimi a) 1 dk. BS, b) 10 dk. BS, c) 20 dk. BS (katı:çözücü oranı 1:15 g/mL olarak sabit tutulmuştur)

Tüm gruplar için genel yapılan istatiktiksel sonuçlara göre, bekletme süresi ve sonikasyon süresinin, toplam fenolik bileşik miktarı üzerine etkisi önemli, elektrik alan şiddetinin etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Şekil 4.10a'da toplam fenolik bileşik miktarının, 1 dakikalık sabit bekletme süresinde, artan elektrik alan şiddeti ve sonikasyon süresi ile değişimi görülmektedir. Toplam fenolik bileşik miktarının, artan sonikasyon süresi ile önemli derecede arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Elektrik alan şiddetinin toplam fenolik bileşik miktarı üzerine etkisi, istatistiksel olarak önemli görülmemiştir ($p>0.05$). Şekil 4.10b'de toplam fenolik bileşik miktarının, 10 dakikalık sabit bekletme süresinde, artan elektrik alan şiddeti ve sonikasyon süresi ile değişimi görülmektedir. Grafik incelendiğinde, toplam fenolik bileşik miktarının üzerine hem sonikasyon süresinin hem de elektrik alan şiddetinin, istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmadığı görülmüştür ($p<0.05$). Şekil 4.10c'de toplam fenolik bileşik miktarının, 20 dakikalık sabit bekletme süresinde, artan elektrik alan şiddeti ve sonikasyon süresi ile değişimi görülmektedir. Grafik incelendiğinde, toplam fenolik bileşik miktarının bu koşullarda artan sonikasyon süresi ile istatistiksel olarak değişmediği fakat elektrik alan şiddetinin etkisinin istatistiksel olarak önemli olduğu görülmüştür ($p<0.05$). Bu bulgu, ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresinin artırılmasıyla, elektrik alan şiddetinin önem kazandığını ve sonikasyon süresinin ise etkisizleştiğini göstermektedir. Materyalin ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi arttıkça, yüksek elektrik alan şiddetinde elektro-geçirgenlik artmakta ve ekstraksiyon verimi yükselmektedir (Gavahian vd. 2018). Böylelikle de uzun ohmik ısıtma sürelerinde ekstraksiyon için ihtiyaç duyulan sonikasyon süresi kısalmaktadır. Bu yöntemde, sıcaklığın etkisi de (50 °C) oldukça önemli bir parametredir. Örneğin, Barba vd. (2016) tarafından, üzümde yapılan bir çalışmada, oda sıcaklığında uygulanan elektrik alan şiddetinin, hücreleri parçalamada çok yeterli olmadığı gözlenmiştir. Sıcaklık artışı ile iyonik hareketlilik sağlanmıştır. Çalışmada sıcaklık kademeli olarak artırılmış ve en yüksek polifenol verimi 50 °C sıcaklık ve 400 V/cm elektrik alan şiddetinin olduğu koşullarda bulunmuştur.

OH-US yöntemi ile elde edilen en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı 7.52 mg GAE/g kuru maddedir. Bu değer, 40 V/cm elektrik alan şiddeti, 20 dakika bekletme süresi ve 20 dakika sonikasyon süresi ile işlem gören örnekte bulunmuştur.

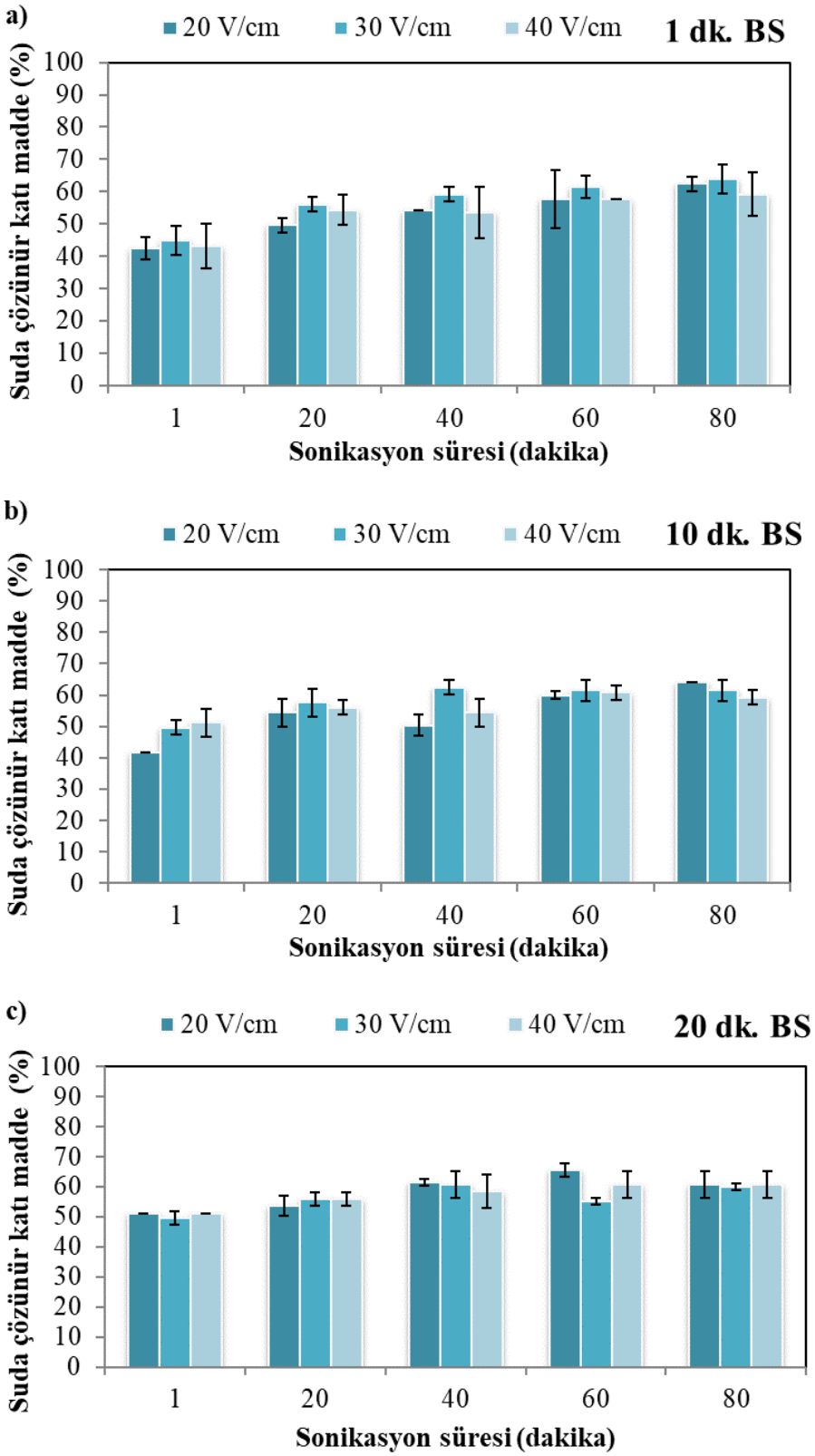
Çalışmamızdaki diğer yöntemlerle (MS ve UDE) karşılaştırıldığında, OH-US yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı sırasıyla, % 37 ve % 14 daha yüksek bulunmuştur. Ek olarak bu yöntem, UDE yöntemine kıyasla ekstraksiyon süresini de 60 dakikadan 40 dakikaya (20 dk. BS+20 dk. sonikasyon) yani yaklaşık % 33 oranında düşürmüştür. Dolayısı ile ohmik ısıtmanın, hem daha yüksek miktarda değerli bileşik eldesi sağladığı, hem de ekstraksiyon süresinin kısalmasına imkân verdiği ve zaman tasarrufu sağladığı için, etkili bir ön işlem metodu olduğu söylenebilir.

Ohmik ısıtma yönteminin, ekstraksiyondaki etkinliğini gösteren benzer sonuçlara literatürde de rastlanmıştır. Loypimai vd. (2016), siyah pirinç kepeğinden ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşik ekstraksiyonunu gerçekleştirmiştir. Farklı nem içeriğine (% 30 ve % 40) sahip pirinç kepekleri, 1:5 g/mL oranında çözücü (su-0.1 M HCl ile asitlendirilmiş % 95'lik etanol, pH 2.5) ile karıştırılmıştır. Farklı elektrik alan şiddetlerinde (50, 100, 150 ve 200 V/cm), ohmik ısıtma ön işlemi uygulanan örnekler, sonrasında 90 dakika boyunca karıştırmalı inkübatörde ekstraksiyona tabi tutulmuşlardır ve ekstraktların fenolik bileşik profili incelenmiştir. Ön işlem yapılmamış grup, kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Sonuç olarak, % 30 nem içeriğinde, 50 V/cm elektrik alan şiddeti ile işlem gören ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı, ön işlem görmemiş olanlara göre yaklaşık % 37 daha yüksek bulunmuştur. 100 V/cm elektrik alan şiddeti ile işlem gören ekstraktlarda ise bu oran, yaklaşık % 84'e yükselmiştir. 100 V/cm'den daha yüksek elektrik alan şiddetlerinde, toplam fenolik bileşik verimi etkilenmemiştir. Nem içeriğinin % 40 olduğu örneklerde ise, 50 V/cm elektrik alan şiddeti ile işlem gören ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı, ön işlem görmemiş olanlara göre yaklaşık % 92 daha yüksek bulunmuştur. % 40 nem içeriğine sahip örnekte, farklı elektrik alan şiddetlerinin, toplam fenolik bileşik verimine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır. Bir diğer çalışmada, El-Darra vd. (2013a), vurgulu ohmik ısıtma sistemini ön işlem olarak kullanarak, kırmızı üzüm posasından polifenol ekstrakte etmişlerdir. Ön işlem görmüş ve görmemiş örnekler, 50 °C sıcaklıkta 60 dakika boyunca su banyosunda bekletilmişlerdir. Çalışmada, elektrik alan şiddetinin (100-800 V/cm) ve etanol konsantrasyonunun (% 0-% 50) polifenol ekstraksiyonu üzerine etkileri de incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında, vurgulu ohmik ısıtma ön işleminin, hücre zarı denatürasyonuna neden olduğu ve bu yöntem ile elde

edilen ekstraktların polifenol veriminin yüksek olduğu görülmüştür. En yüksek ekstraksiyon verimi (yaklaşık 600 mg GAE/100 g kuru madde), elektrik alan şiddetinin 400 V/cm ve etanol konsantrasyonunun % 30 olduğu koşullarda sağlanmıştır. Bu koşullarda elde edilen verimin, ön işlem görmemiş ekstraktlarda elde edilen verime göre % 36 daha fazla olduğu belirtilmiştir. Pereira vd. (2016), mor patatesten (*Solanum tuberosum L. var.* Vitelotte), ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon ile fenolik bileşik eldesi üzerine çalışmışlardır. Çalışma koşulları ayrıntılı olarak sayfa 36'da verilmiştir. Sonuç olarak, ön işlem görmemiş örneklerin ekstraksiyon verimi % 78 iken, ohmik ısıtma ile ön işlem görmüş örneklerde bu değer % 92 olarak bulunmuştur. Khajehei vd. (2017), yacon bitkisinin, kırmızı renkli yapraklarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. Örnekler konvansiyonel yöntemde 10 dakika kaynatılmış, ohmik ısıtma yönteminde ise 150 V'da ısıtılmış ve kaynama noktasına gelince 10 dakika tutulmuştur. Ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarı, konvasiyonel ve ohmik ısıtma yöntemleri için sırasıyla, 59.42 ve 76.67 mg GAE/g kuru madde olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, ohmik ısıtma desteği ile toplam fenolik bileşik veriminde % 30 oranında bir artış olduğunu vurgulanmıştır.

4.3.2 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve sonikasyon süresinin suda çözünür katı madde üzerine etkisi

Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde oranları, şekil 4.11a-c'de verilmiştir.



Şekil 4.11 Farklı elektrik alan şiddetlerinde OH-US yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde oranlarının artan sonikasyon süresi ile değişimi a) 1 dk. BS, b) 10 dk. BS, c) 20 dk. BS (katı:çözücü oranı 1:15 g/mL olarak sabit tutulmuştur)

Tüm gruplar için genel yapılan istatiktiksel sonuçlara göre, bekletme süresi ve sonikasyon süresinin, suda çözünür katı madde üzerine etkisi önemli, elektrik alan şiddetinin etkisi ise önemsiz bulunmuştur. Şekil 4.11a'da suda çözünür katı madde oranının, 1 dakika bekletme süresinde artan elektrik alan şiddeti ve sonikasyon süresi ile değişimi görülmektedir. Grafik incelendiğinde, suda çözünür katı madde oranının, artan sonikasyon süresi ile önemli derecede arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Elektrik alan şiddetinin, suda çözünür katı madde değişimi üzerine etkisi istatistiksel olarak önemli bulunmamıştır ($p>0.05$). Yani, ohmik ısıtma haznesinde kısa süre bekletmek, elektrik alan şiddetlerinin etkisini geçersiz kılmıştır. Şekil 4.11b'de suda çözünür katı madde oranının, 10 dakika bekletme süresinde artan elektrik alan şiddeti ve sonikasyon süresi ile değişimi görülmektedir. Grafik incelendiğinde suda çözünür katı madde oranının hem artan sonikasyon süresi hem de elektrik alan şiddeti ile önemli derecede arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Bekletme süresinin 1 dakikadan 10 dakikaya çıkarılması ile, elektrik alan şiddetlerinin etkisi gözlenmeye başlamıştır. Şekil 4.11c'de suda çözünür katı madde oranının, 20 dakika bekletme süresinde artan elektrik alan şiddeti ve sonikasyon süresi ile değişimi görülmektedir. Burada da 1 dakikalık bekletme süresinde olduğu gibi, suda çözünür katı madde oranlarının artan sonikasyon süresi ile önemli derecede arttığı ($p<0.05$), fakat elektrik alan şiddetinin suda çözünür katı madde değişimi üzerine etkisinin, istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlemlenmiştir ($p>0.05$). Bekletme süresinin 10 dakikadan 20 dakikaya çıkarılması ise, yine elektrik alan şiddetleri etkisiz kalmıştır. Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı oranları, ortalama olarak maserasyon ve ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen değerlere göre düşüktür. Bunun nedeni daha önce de bahsedildiği gibi, daha kısa sürede gerçekleşen ekstraksiyon işleminden dolayı olduğu düşünülmektedir.

4.3.3 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve sonikasyon süresinin renk üzerine etkisi

Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların renk değerleri, (L*, a*, b*) çizelge 4.4'de verilmiştir.

Çizelge 4.4 OH-US yöntemi ile elde edilen ekstraktların renk değerleri

Elektrik Alan Şiddeti (V/cm)	Sonikasyon Süresi (dk.)	1 dk. BS	10 dk. BS	20 dk. BS
			L*	
20	1	26.54±0.58^{aA}	27.68±0.72^{aA}	26.74±0.37^{aA}
20	20	26.72±0.84^{aA}	25.87±0.39^{bA}	26.55±0.42^{aA}
20	40	26.15±0.13^{aA}	26.48±0.32^{abA}	26.26±0.23^{aA}
20	60	25.03±0.24^{aA}	25.21±0.14^{bA}	25.46±0.13^{aA}
20	80	25.66±0.51^{aA}	25.73±0.16^{bA}	25.61±1.17^{aA}
30	1	27.41±0.78^{aA}	26.38±0.21^{aA}	26.90±0.15^{aA}
30	20	26.21±0.01^{abA}	26.06±0.60^{aA}	26.14±0.27^{aA}
30	40	26.35±0.11^{abA}	25.84±0.29^{aA}	25.83±0.78^{aA}
30	60	25.63±0.46^{abA}	25.54±0.52^{aA}	26.16±0.66^{aA}
30	80	24.73±0.74^{bA}	25.71±0.14^{aA}	25.75±0.53^{aA}
40	1	27.60±1.01^{aA}	27.34±0.29^{aA}	26.18±0.39^{aA}
40	20	26.39±1.13^{aA}	26.51±1.01^{aA}	26.89±2.11^{aA}
40	40	26.87±0.50^{aA}	26.45±0.01^{aA}	26.44±0.89^{aA}
40	60	26.54±0.13^{aA}	25.98±0.06^{aA}	26.39±0.48^{aA}
40	80	26.11±0.18^{aA}	26.06±0.24^{aA}	25.55±0.46^{aA}
			a*	
20	1	10.44±0.43^{aA}	10.11±0.79^{aA}	11.17±0.23^{aA}
20	20	11.03±0.82^{aA}	11.73±0.28^{aA}	11.16±0.31^{aA}
20	40	11.64±0.33^{aA}	11.09±0.43^{aA}	11.43±0.21^{aA}
20	60	11.77±0.06^{aA}	11.69±0.18^{aA}	11.75±0.05^{aA}
20	80	12.06±0.26^{aA}	11.49±0.04^{aAB}	11.08±0.22^{aB}
30	1	10.21±0.76^{aA}	11.34±0.43^{aA}	11.05±0.22^{aA}
30	20	11.39±0.27^{aA}	11.60±0.22^{aA}	11.47±0.22^{aA}
30	40	11.32±0.05^{aA}	11.57±0.03^{aA}	11.67±0.42^{aA}
30	60	11.80±0.65^{aA}	11.81±0.70^{aA}	11.23±0.71^{aA}
30	80	12.01±0.24^{aA}	11.97±0.46^{aA}	11.52±0.19^{aA}
40	1	9.76±1.00^{aA}	10.09±0.45^{aA}	11.04±0.69^{aA}
40	20	11.23±1.17^{aA}	11.09±0.87^{aA}	10.46±1.90^{aA}
40	40	10.87±0.62^{aA}	11.27±0.09^{aA}	10.91±0.62^{aA}
40	60	10.85±0.25^{aA}	11.16±0.17^{aA}	10.91±0.09^{aA}
40	80	11.40±0.21^{aA}	11.35±0.49^{aA}	11.44±0.21^{aA}
			b*	
20	1	11.11±0.04^{aA}	10.91±0.35^{abA}	11.74±0.02^{aA}
20	20	11.51±0.01^{aB}	11.62±0.08^{aAB}	11.76±0.03^{aA}
20	40	11.82±0.29^{aA}	11.67±0.18^{aA}	11.77±0.28^{aA}
20	60	10.54±0.43^{aA}	10.69±0.18^{bA}	11.13±0.18^{aA}
20	80	11.52±0.53^{aA}	11.31±0.12^{abA}	10.43±1.47^{aA}
30	1	11.29±0.62^{aA}	11.62±0.12^{aA}	11.67±0.05^{aA}
30	20	11.84±0.21^{aA}	11.92±0.16^{aA}	11.45±0.22^{abA}
30	40	11.69±0.39^{aA}	11.27±0.42^{aA}	11.24±0.23^{abA}
30	60	11.36±0.15^{aA}	11.22±0.09^{aA}	11.27±0.19^{abA}
30	80	10.24±1.00^{aA}	11.38±0.34^{aA}	10.95±0.14^{bA}
40	1	10.98±0.42^{aA}	11.15±0.06^{bA}	11.25±0.29^{aA}
40	20	11.58±0.02^{aA}	11.38±0.14^{abA}	10.63±1.21^{aA}
40	40	11.69±0.10^{aA}	11.68±0.01^{aA}	10.95±0.41^{aA}
40	60	10.98±0.05^{aA}	11.05±0.13^{bA}	10.96±0.59^{aA}
40	80	11.40±0.07^{aA}	11.36±0.09^{abA}	10.86±0.44^{aA}

a ve b, aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (sonikasyon süresi için).

A ve B, aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (bekletme süresi için).

Sonikasyon süresinin L* değeri üzerine etkisi, 1 dk BS ve 30 V/cm elektrik alan şiddetinde elde edilen örnekler ile 10 dk BS ve 20 V/cm elektrik alan şiddetinde elde edilen örneklerde görülmüştür. Bu koşullarda, sonikasyon süresi arttıkça, L* değeri azalmış ve örnekler daha koyu renk almışlardır ($p<0.05$). Fakat diğer proses koşullarında her ne kadar sonikasyon süresi ile bir azalma gözlense de istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. Elektrik alan şiddetinin L* değeri üzerine etkisi, sadece 1 dakika bekletme süresi ve 60 dakika ultrasonikasyon süresi koşulunda görülmüştür. Ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi, L* değeri üzerine istatistiksel olarak önemli bir etki göstermemiştir. Bekletme süresinin TFB üzerine etkisi olduğu halde, bu etki istatistiksel açıdan L* değerlerine yansımamıştır. Fakat, optimum noktada ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktın L* değeri, MS ve UDE yöntemleri ile elde edilen değerlerden daha düşüktür. Başka bir deyişle, bu yöntemle daha koyu renkli ekstrakt elde edilmiştir. Bu veri, toplam fenolik bileşik sonuçlarını destekler niteliktedir.

Sonikasyon süresinin artması, a* değerinde istatistiksel olarak önemli bir farklılık göstermemiştir. Bu da kırmızı pigmenti sağlayan antosiyaninlerin ilk dakikada ekstrakte olduğunu düşündürmektedir. Elektrik alan şiddetinin a* değeri üzerine etkisi, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. a* değeri üzerine bekletme süresinin etkisi, sadece 20 V/cm elektrik alan şiddetinde ve sonikasyon süresi 80 dakika olan örneklerde gözlenmiştir. Bekletme süresi arttıkça, a* değeri yani kırmızılık azalmıştır. Bu bulgu uzun sonikasyon sürelerinde, bekletme süresi arttıkça antosiyaninlerin degrede olabileceğini göstermektedir.

Sonikasyon süresinin b* değeri üzerine etkisi, 10 dk. BS, 20 V/cm ve 40 V/cm elektrik alan şiddetinde elde edilen örnekler ile 20 dk. BS ve 30 V/cm elektrik alan şiddetinde elde edilen örneklerde görülmüştür ($p<0.05$). Elektrik alan şiddetinin b* değeri üzerine etkisi, istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur. b* değeri üzerine bekletme süresinin etkisi, sadece 20 V/cm elektrik alan şiddetinde ve sonikasyon süresi 20 dakika olan örneklerde gözlenmiş olup, b* (sarılık) değeri bekletme süresi ile artmıştır.

4.3.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları

Toplam fenolik bileşik miktarının maksimum olduğu proses koşulunda (1:15 g/mL, 50 °C, 40 V/cm, 20 dk. BS ve 20 dk. sonikasyon), toplam monomerik antosiyanin miktarı, antioksidan aktivite ve pH analizleri yapılmıştır ve sonuçlar çizelge 4.5'de verilmiştir.

Çizelge 4.5 Optimum OH-US koşulunda elde edilen ekstraktların analiz sonuçları

Analizler	Sonuçlar
TMA (mg cya-3-glu/g kuru madde)	0.83±0.14
AA (mg TE/g kuru madde)	4.36±0.07
pH	3.06±0.07

Toplam monomerik antosiyanin miktarı 0.83 mg cya-3-glu/g kuru madde olarak bulunmuştur. Toplam monomerik antosiyanin miktarı MS ile karşılaştırıldığında, yaklaşık 2.3, UDE yöntemi ile karşılaştırıldığında ise 1.5 kat daha fazla bulunmuştur. Antosiyanin miktarındaki artışın, ohmik ısıtma ön işleminin, ekstraksiyon süresini kısaltmasıyla ilgili olduğu düşünülmektedir. Sıcaklıkla beraber uzun ekstraksiyon sürelerinin, antosiyanin degredasyonuna neden neden olduğu bilinmektedir (Piyapanrungrueang vd. 2016).

Çalışmamıza benzer şekilde, ohmik ısıtma ön işleminin, antosiyanin verimi ve son ürün kalitesi üzerine olumlu etkisi olduğu literatürde belirtilmektedir. Loypimai vd. (2015), siyah pirinç kepeğinden antosiyanin ekstraksiyonu için ohmik ısıtma destekli yöntem kullandıkları çalışmalarında (çalışmanın ayrıntısı sayfa 34'de verilmiştir) örneklerdeki (% 30 nem, 50 V/cm) antosiyanin miktarında % 17 oranında bir artış görmüşlerdir. 100 V/cm elektrik alan şiddeti ile işlem gören ekstraktlarda ise bu oran yaklaşık % 36'ya yükselmiştir. Nem içeriğinin % 40 olduğu örneklerde ise, 50 V/cm elektrik alan şiddeti ile işlem gören ekstraktların antosiyanin miktarı, ön işlem görmemiş olanlara göre yaklaşık % 36 daha yüksek bulunmuştur. Bir başka çalışmada, Pereira vd. (2016), mor patatesten (*Solanum tuberosum L. var.* Vitelotte), ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon ile antosiyanin eldesi üzerine çalışmışlardır. Box-Behnken tasarımı, elektrik alan şiddeti (0, 15 ve 30 V/cm), sıcaklık (30, 60 ve 90 °C) ve ekstraksiyon süresinin (0, 5 ve 10 dakika)

antosiyanin verimi üzerindeki etkilerini değerlendirmek için kullanılmıştır. En yüksek antosiyanin verimi, elektrik alan şiddetinin 15 V/cm, sıcaklığın 90 °C ve bekletme süresinin 10 dakika olduğu deney koşullarında % 53 olarak bulunmuştur. En düşük antosiyanin verimi ise, elektrik alan şiddetinin olmadığı (0 V/cm), 30 °C sıcaklık ve 5 dakika ekstraksiyon süresinin uygulandığı örneklerde (% 0.284) tespit edilmiştir. Ohmik ısıtma ön işleminin, antosiyanin verimi üzerine etkisinin çok yüksek olduğu, önemle vurgulanmıştır.

Bizim sonuçlarımızdan farklı olarak, konvansiyonel yöntemle elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarının fazla olduğunu rapor eden bir çalışmada mevcuttur. Piyapanrungrueang vd. (2016), farklı ekstraksiyon yöntemleri (konvansiyonel, ultrasonik ve ohmik ısıtma destekli) ile mor mısır koçanından doğal boya eldesi sağlamak için antosiyanin ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır (çalışmanın ayrıntıları sayfa 35'de verilmiştir). Konvansiyonel, ultrasonik ve ohmik ısıtma destekli yöntemler için optimum antosiyanin değerleri sırasıyla, 366.1 (70 °C, 5 dk.), 382.7 (80 °C, 5 dk.) ve 328.0 (80 °C, 50 V/cm, 3.5 dk.) mg/100 g olarak bulunmuştur. Ohmik ısıtmanın kullanıldığı ekstraksiyon yönteminden elde edilen ekstraktların antosiyanin miktarının daha az bulunmasını, elektrik alan şiddeti ve sıcaklığın kombinasyonu ile açıklamışlardır. Yüksek elektrik alan şiddetinde, sıcaklık 60 °C'yi geçtikçe, antosiyanin degradasyonu meydana gelmiştir. Yüksek elektrik alan şiddetinde, kısa süreli işlemlerin daha az termal bozunmaya neden olduğu tespit edilmiş ve bu sebeple önerilmiştir. Fakat elektrik alan şiddeti artırılsa da diğer yöntemlerden daha yüksek bir verim elde edilememiştir. Diğer bir yandan, her ne kadar bu yöntemle elde edilen antosiyanin miktarı düşük olsada, enerji verimliliği bakımından karşılaştırıldığında hem ultrasonik hem de konvansiyonel yöntemden neredeyse 5 kat daha yüksektir.

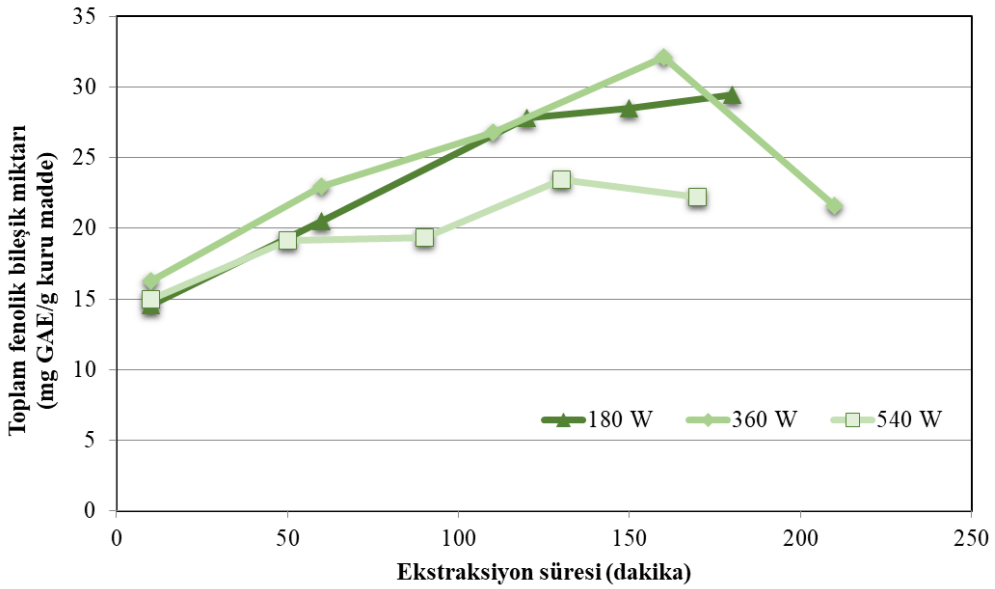
Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon ile optimum noktada elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değeri, 4.36 mg TE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Bu değer, MS ve UDE yöntemleri ile elde edilen değerlerden sırasıyla % 7 ve % 5 oranlarında daha yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). Diğer yöntemlere göre hem toplam fenolik bileşik miktarının hem de toplam monomerik antosiyanin miktarının artması, antioksidan aktivite değerinde de artışa neden olmuştur. Sonuçlarımıza paralel olarak

ohmik ısıtma destekli ekstraksiyonlarda elde edilen örneklerin daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu rapor edilen çalışmalar mevcuttur. Al-Hilphy vd. (2015), buğday kepeğinden hem konvansiyonel hem de ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların, antioksidan aktivite değerlerini karşılaştırmışlardır. Ohmik ısıtma yönteminde, 3 farklı elektrik alan şiddeti (14, 20 ve 44 V/cm) kullanılmış ve 80 °C sıcaklığa gelinceye kadar sırasıyla, 20, 10 ve 6 dakika bekletilmiştir. En yüksek antioksidan aktivite değeri 20 V/cm elektrik alan şiddeti ile işlem gören örnekte elde edilmiştir. Bu değerin, konvansiyonel yöntemle (80 °C-30 dakika) elde edilen örneklerin antioksidan değerinden yaklaşık % 48 daha yüksek olduğu belirtilmiştir.

Optimum OH-US koşulunda elde edilen ekstraktların pH değeri 3.06 olarak ölçülmüştür. UDE ve MS yöntemleri ile karşılaştırıldığında, pH değerleri arasında istatistiksel olarak önemli bir fark görülmemiştir.

4.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE)

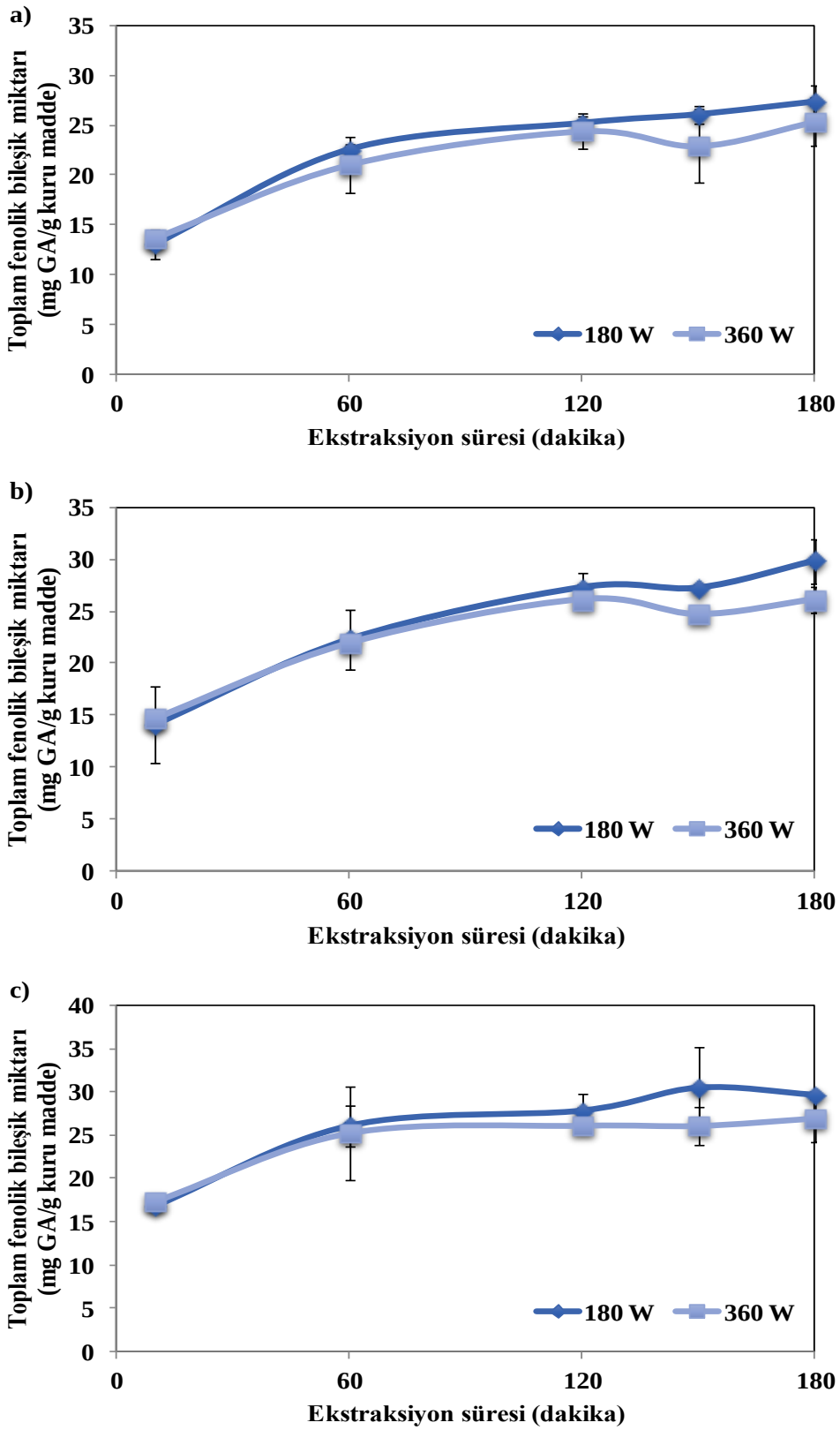
Mikrodalga destekli ekstraksiyonda, öncelikli olarak mikrodalga gücü ve ekstraksiyon sürelerini belirlemek için ön denemeler yapılmıştır. Ön deneme için, 1:10 g/mL katı:çözücü oranındaki örnekler, 180, 360 ve 540 W mikrodalga güçlerinde ve farklı sürelerde ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Bu şekilde elde edilen ekstraktların, toplam fenolik bileşik miktarları şekil 4.12'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, 180 ve 360 W mikrodalga gücünün yüksek oranda fenolik bileşik ekstraksiyonu sağladığı, ancak daha yüksek mikrodalga güçlerinde (540 W) ekstraktların fenolik miktarında bir azalma olduğu gözlenmiştir. Bu durum, fenolik bileşiklerin yüksek mikrodalga gücünden olumsuz etkilendiğinin ve degredasyona uğradığının bir göstergesidir. Ayrıca 150 dakikalık ekstraksiyon süresi sonrasında, toplam fenolik bileşik miktarının değişmediği gözlemlenmiştir. Asıl denemelere geçildiğinde, özellikle 1:5 g/mL katı:çözücü oranına sahip örneklerin, 540 W ile işlem sırasında yandığı görülmüştür. Bu sebeplerden, 540 W mikrodalga gücü uygun bulunmadığı için, mikrodalga destekli ekstraksiyon çalışma koşulları, 3 farklı katı:çözücü oranı (1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL), 2 farklı mikrodalga gücü (180 ve 360 W) ve 5 farklı ekstraksiyon süresi (10, 60, 120, 150 ve 180 dakika) olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.12 Farklı mikrodalga güçlerinde MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarının ekstraksiyon süresi ile değişimi (katı:çözücü oranı 1:10 g/mL) (MDE ön deneme sonuçları)

4.4.1 Mikrodalga gücü, katı:çözücü oranı ve ekstraksiyon süresinin TFB üzerine etkisi

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların, farklı mikrodalga gücü, ekstraksiyon süresi ve katı:çözücü oranları ile değişen toplam fenolik bileşik miktarları şekil 4.13a-c'de verilmiştir.



Şekil 4.13 Farklı mikrodalga güçlerinde MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarlarının ekstraksiyon süresi ile değişimi a) 1:5 g/mL, b) 1:10 g/mL, c) 1:15 g/mL (katı:çözücü oranı)

Tüm gruplar için genel yapılan istatistiksel sonuçlara göre, mikrodalga gücü, ekstraksiyon süresi ve katı:çözücü oranının, toplam fenolik bileşik miktarı üzerine etkisi önemli bulunmuştur. Grafikler incelendiğinde, tüm katı:çözücü oranlarında, toplam fenolik bileşik miktarının, artan ekstraksiyon süresi ile önemli derecede arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Genel olarak fenolik bileşik miktarları, ilk 120 dakikada önemli bir artış göstermiş, sonrasında ise ekstraksiyonun dengelenmesi sebebiyle sabit kalmışlardır. Ayrıca, birim örnek başına düşen çözücü miktarındaki artış ile, ekstraktların fenolik bileşik miktarlarında bir artış tespit edilmiştir (çözücü miktarının 3 kat artması ile 120. dakikada fenolik miktarında, 180 W mikrodalga gücünde yaklaşık % 10, 360 W mikrodalga gücünde ise yaklaşık % 7 oranında bir artış gözlenmiştir). Nispeten yüksek çözücü hacmi, madde transferini hızlandırmakta ve sonrasında ekstraksiyon etkinliğini artırabilmektedir. Zhao vd. (2018), *Melastoma sanguineum* meyvesini MDE yöntemi ile ekstraksiyonu sırasında, 10-60 mL/g aralığında çözücü:katı oranı kullanmış ve TFB miktarının 30 mL/g oranına kadar arttığı, daha sonra madde transferinin dengeye ulaştığını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda, en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı (27.68 mg GAE/g kuru madde), 1:15 g/mL katı:çözücü oranında, 180 W mikrodalga gücünde, 120 dakika boyunca ekstraksiyona tabi tutulmuş örneklerde tespit edilmiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile kızılcık meyvesinden toplam fenolik bileşik eldesi üzerine çalışmaya rastlanmamıştır. Kızılcık gibi kırmızı meyvelerde, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile yapılan çalışmalar incelenmiştir. Garofulic vd. (2013), vişneden mikrodalga destekli ekstraksiyon ile toplam fenolik bileşik eldesi üzerine çalışmışlardır. Sıcaklık (43-70 °C), ekstraksiyon süresi (3-14 dakika) ve mikrodalga gücünün (350-500 W) ekstraksiyon üzerine etkisi incelenmiştir (çalışmanın detayları sayfa 27'de verilmiştir). Optimum toplam fenolik bileşik miktarı, 8.18 mg/g kuru madde olarak, 70.07 °C sıcaklık, 10.11 dakika ekstraksiyon süresi ve 400.67 W mikrodalga gücü ile işlem gören örnekte bulunmuştur. Alifakı (2019), gilaburu meyvesinden farklı mikrodalga gücü (90-450 W), farklı ekstraksiyon süresi (1-120 dakika) ve farklı katı:çözücü oranında (5:100-15:100 g/mL), toplam fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. En yüksek TFB miktarı (yaklaşık 70 mg/g kuru madde), 5:100 g/mL katı:çözücü oranında, 360 W mikrodalga gücünde 15 dakika

ekstraksiyon süresinde işlem görülmüş örnekte tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda elde edilen fenolik bileşik miktarlarının bizim bulgularımızdan farklı olmasının, materyallerin, işlem koşullarının ve çözücülerin farklılığından ileri geldiği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, düşük mikrodalga gücü kullanılarak elde edilen ekstraktların (tüm katı:çözücü oranlarında), toplam fenolik bileşik miktarının daha yüksek (ortalama % 7) olduğu tespit edilmiştir ($p<0.05$). Bu bulgu, toplam fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda, düşük mikrodalga gücü kullanımının, yüksek mikrodalga gücüne nazaran daha etkili olduğunu göstermektedir. Yüksek mikrodalga gücü, ekstraksiyon sırasında sıcaklığın artmasına sebep olarak, kızılcık meyvesinde bulunan fenolik bileşikleri olumsuz etkilemiş ve verimi düşürmüştür. Literatürde bizim bulgularımıza benzer sonuçlar bulunmaktadır. Song vd. (2011), tatlı patates yapraklarından toplam bileşikleri 250, 350 ve 450 W mikrodalga gücünde farklı süre ve etanol oranlarında ekstrakte etmişlerdir. Optimizasyon sonucunda en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı, 302 W gücünde elde edilmiştir. Mikrodalga gücü, bu değerden daha fazla artırıldığında, toplam fenolik bileşik miktarının azaldığı belirtilmiştir. Teng vd. (2013), ahududu meyvesinden farklı mikrodalga gücü (60-300 W), süre (1-9 dakika) ve etanol-su konsantrasyonlarında (% 0-100) mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. En yüksek toplam fenolik bileşik miktarı, mikrodalga gücünün 180 W, ekstraksiyon süresinin 5 dakika ve etanol-su konsantrasyonun % 50 olduğu koşullarda, 38.10 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Aynı süre ve etanol-su konsantrasyonunda, mikrodalga gücü 180 W'tan 300 W'a çıkarıldığında, toplam fenolik bileşik miktarının yaklaşık % 48 oranında azaldığı rapor edilmiştir. Nazeri ve Zain (2018), pitaya meyvesinin kabuklarından, mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşik ekstrakte etmişlerdir. Mikrodalga gücü olarak 200, 400, 600 ve 800 W kullanmışlar ve sonuç olarak toplam fenolik bileşik miktarılarını sırasıyla 3.5, 5.9, 4.9 ve 3.6 mg GAE/g örnek olarak bulunmuştur. Mikrodalga gücünün 400 W'dan sonra daha fazla arttırılması olumsuz bir etkiye sebep olmuştur. Başka bir deyişle, mikrodalga gücünün 2 kat artmasıyla (400W'dan 800W'a çıkarılması), toplam fenolik bileşik miktarının, yaklaşık 1.7 kat azaldığı rapor edilmiştir.

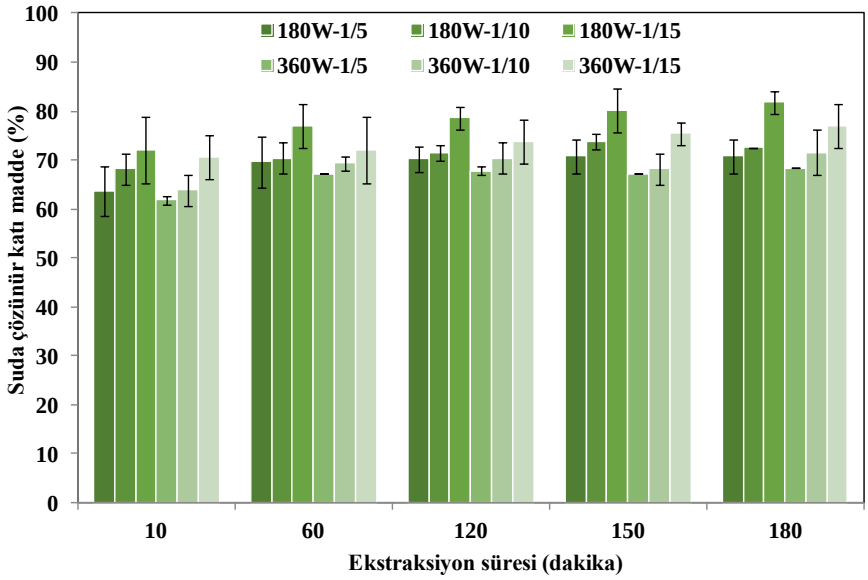
Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) ile elde edilen veriler, maserasyon (MS), ultrasonik (US) ve ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon (OH-US) yöntemleri ile karşılaştırıldığında, ekstraktın toplam fenolik bileşik miktarının sırasıyla, 5, 4 ve 3.6 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Her ne kadar MDE yönteminin süresi (120 dk), OH-US metotuna kıyasla (20 dk BS+20 dk sonikasyon süresi) daha fazla olsada, elde edilen toplam fenolik bileşik miktarları değerlendirildiğinde, yöntemin çok etkili olduğu görülmektedir. Literatürde farklı ekstraksiyon yöntemlerinin kıyaslandığı ve MDE yönteminin etkinliğinin rapor edildiği çalışmalar mevcuttur. Nayak vd. (2015), potakal kabuklarından, 4 farklı yöntem ile (mikrodalga (MDE), ultrasonik (UDE), konvansiyonel (KE) ve hızlandırılmış konvansiyonel ekstraksiyon (HKE)) polifenol ekstrakte etmişlerdir. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik miktarları MDE, UDE, KE ve HKE yöntemleri için sırasıyla, 12.09, 10.35, 10.21 ve 6.26 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuş ve MDE yöntemi ile ekstraksiyonun çok etkili olduğu rapor edilmiştir. Kumar vd. (2019), siyah havuç posasından, mikrodalga, ultrasonik ve konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleri ile fenolik bileşik ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Optimum verim mikrodalga destekli ekstraksiyon ile (348.06 W mikrodalga gücü, 9.86 dakika ekstraksiyon süresi, 19.3 mL/g çözücü:katı oranı ve % 19.8 etanol konsantrasyonu koşullarında) 277.07 mg GAE/100 mL olarak bulunmuştur. Ultrasonik destekli ve konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilen toplam fenolik bileşik verimlerinin, mikrodalga destekli ekstraksiyonuna kıyasla sırasıyla yaklaşık % 30 ve % 61 oranında daha düşük olduğu rapor edilmiştir.

MDE yöntemi ile verimin yüksek olmasının nedenlerinden birisi, sıcaklığın diğer yöntemlere göre daha yüksek olmasıdır. Sıcaklık artışı, toplam fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu kolaylaştırmakta ve verimi artırmaktadır. Sabit mikrodalga gücünde, sıcaklık ile toplam fenolik bileşik verimi arasındaki bu eğilim Esquivel-Hernandez vd. (2017) tarafından da rapor edilmiştir. Çalışmada protein bakımından zengin olan bir alg türünden, farklı sıcaklıklarda mikrodalga destekli ekstraksiyon ile toplam fenolik bileşik elde edilmiştir. Sıcaklığın 40 °C'den 60 °C'ye çıkarılması ile birlikte, toplam fenolik bileşik veriminde yaklaşık % 50 oranında artış olduğu rapor edilmiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen yüksek toplam fenolik bileşik miktarının, sadece yüksek sıcaklığın etkisinden kaynaklanıp kaynaklanmadığını belirlemek için bir deneme yapılmıştır. Denemede, 1:15 g/mL katı:çözücü oranındaki örnek, 10 dakika 180 W gücünde mikrodalgada, daha sonra 110 dakika 80 °C sıcaklığındaki su banyosunda bekletilerek, ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Burada ki amaç, 120 dakika sonunda (en yüksek TFB ekstraksiyonunu sağlayan süre) mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen verimin, konvansiyonel yöntemle (yüksek sıcaklıkta bekletme) sağlanıp sağlanamayacağını belirlemektir. Sonuç olarak, 10 dakika MDE+110 dakika su banyosu (80 °C sıcaklıkta) işlemi sonrasında elde edilen toplam fenolik bileşik miktarı, 18 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Bu değerin MDE yöntemi ile elde edilen değerden (27 mg GAE/g kuru madde) % 33 oranında daha düşük olduğu gözlenmiştir. Sonuçlardan görülebileceği gibi, sıcaklığın yanı sıra mikrodalga enerjisinin de toplam fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine pozitif etkisi olmuştur. Bu etkinin nedeni, mikrodalganın, materyalin tamamının aynı anda hacimsel olarak ısınmasını sağlamasıdır. Mikrodalga etkisi ile bitki hücresi ısındığında, içinde oluşan su buharı, hücrenin şişmesine ve dolayısı ile hücre duvarı üzerinde büyük bir basınç oluşmasına neden olur. Basınç, hücre duvarını içeriden dışarıya doğru itmekte ve parçalamaktadır (Mandal vd. 2007). Bu durum, bizim çalışmamızda olduğu gibi, ekstraksiyon veriminin artmasını sağlamaktadır.

4.4.2 Mikrodalga gücü, katı:çözücü oranı ve ekstraksiyon süresinin suda çözünür katı madde üzerine etkisi

Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların, mikrodalga gücü, katı:çözücü oranı ve ekstraksiyon süresi ile suda çözünür katı madde oranlarındaki değişim şekil 4.14'de verilmiştir.



Şekil 4.14 Farklı mikrodalga güçleri ve katı:çözücü oranlarında MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde oranlarının ekstraksiyon süresi ile değişimi

1:5 g/mL katı:çözücü oranında, mikrodalga gücünün suda çözünür katı madde üzerine istatistiksel etkisi olmadığı, fakat ekstraksiyon süresi ile suda çözünür katı madde oranının değiştiği görülmüştür ($p<0.05$). 1:10 ve 1:15 g/mL katı:çözücü oranlarında ise hem mikrodalga gücünün hem de ekstraksiyon süresinin, suda çözünür katı madde üzerine istatistiksel etkisi olmadığı görülmüştür. Diğer üç yöntem (MS, UDE, OH-US) ile karşılaştırıldığında, mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile daha yüksek, suda çözünür katı madde oranına erişilmiştir. Bunun en önemli nedeni, sıcaklığın diğer yöntemlere göre daha yüksek olmasıdır. Sıcaklık artışı ile birlikte, çözünen madde miktarı da artmıştır. Sıcaklık arttıkça çözünür madde değerindeki artış, Lee vd. (2006) tarafından muz suyunun ekstraksiyonu sırasında gözlenmiştir. 35, 65 ve 95 °C sıcaklıklar için toplam çözünen madde miktarları sırasıyla, 8.3, 8.9 ve 9.2 °B olarak bulunmuştur. Stevenson vd. (2008), yulaf kepeği konsantresine farklı sıcaklıklarda uygulanan mikrodalga işleminin, çözünen katı oranını artırdığını gözlemlemişlerdir. Sıcaklığın 50 °C'den 150 °C'ye çıkarılması ile çözünür katı oranının yaklaşık 4 kat arttığını bildirmişlerdir.

4.4.3 Mikrodalga gücü, katı:çözücü oranı ve ekstraksiyon süresinin renk üzerine etkisi

Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda, mikrodalga gücü, süre ve katı:çözücü oranları ile renk değerlerinin değişimi, çizelge 4.6'da verilmiştir.

Sabit mikrodalga gücünde ve sabit katı:çözücü oranında, L* değerleri, ekstraksiyon süresinin artışıyla istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır. Bu bulgu, ekstraktların renginin süre artışı ile açılması anlamına gelmektedir. TFB miktarı ekstraksiyon süresiyle artarken, ekstraktların renginin açılması çelişkili gibi görünmektedir. Bu sonuç, sıcaklığın etkisiyle, koyuluğa sebep olan bileşiklerin uzun ekstraksiyon sürelerinde degredasyona uğramış olabileceğini düşündürmektedir. Yüksek sıcaklıkta, renksiz formda bulunan fenolik bileşikler daha çok ekstrakte olarak TFB verimini artırmış olabilir. Katı:çözücü oranı sadece 180 W mikrodalga gücü ile 150. dakikada işlem gören örnekleri etkilemiş olup ($p<0.05$), diğer süreler için önemli etki göstermemiştir.

Çizelge 4.6 MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların renk değerleri

MD gücü	Süre (dk.)	Katı:çözücü oranları (g/mL)		
		1:5	1:10	1:15
			L*	
180 W	10	24.38±1.19^{bA}	24.05±1.60^{cA}	24.46±1.22^{bA}
	60	26.10±0.89^{bA}	25.21±1.23^{bcA}	25.14±1.26^{abA}
	120	28.27±0.88^{abA}	27.08±0.92^{abcA}	26.61±1.29^{abA}
	150	31.38±0.04^{aA}	28.98±1.24^{abAB}	27.55±0.70^{abB}
	180	31.73±2.10^{aA}	30.05±0.14^{aA}	28.95±0.51^{aA}
360 W	10	24.25±0.99^{bA}	24.57±0.98^{cA}	24.81±1.51^{bA}
	60	26.10±1.32^{abA}	25.46±1.24^{bcA}	25.13±1.16^{bA}
	120	28.49±1.30^{abA}	28.06±0.52^{abcA}	27.91±0.68^{abA}
	150	30.24±1.59^{aA}	29.30±0.81^{abA}	28.08±1.13^{abA}
	180	31.37±1.99^{aA}	29.79±1.45^{aA}	29.64±1.62^{aA}
			a*	
180 W	10	12.58±1.77^{aA}	10.11±1.61^{aA}	10.50±0.75^{aA}
	60	13.29±0.77^{aA}	10.59±0.88^{aA}	9.83±0.89^{aA}
	120	12.96±0.48^{aA}	10.14±0.26^{aB}	9.31±0.86^{aB}
	150	14.49±0.92^{aA}	9.58±0.41^{aB}	8.48±0.39^{aB}
	180	12.86±0.53^{aA}	9.87±0.25^{aB}	8.30±0.53^{aB}
360 W	10	11.82±0.72^{aA}	10.64±0.82^{aA}	10.45±0.76^{aA}
	60	12.65±1.18^{aA}	10.51±0.86^{aA}	10.17±0.92^{abA}
	120	12.73±1.13^{aA}	9.99±0.08^{aAB}	8.36±0.25^{abcB}
	150	11.97±1.80^{aA}	9.08±0.02^{aA}	8.09±0.15^{bcA}
	180	12.09±1.38^{aA}	8.71±0.17^{aB}	7.30±0.13^{cB}

Çizelge 4.6 MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların renk değerleri (devam)

		b*		
	10	7.73±1.07^{aA}	7.04±2.44^{aA}	7.99±1.73^{aA}
	60	4.77±0.19^{aA}	4.01±0.48^{abA}	4.35±1.08^{abA}
180 W	**120**	4.11±0.10^{aA}	2.81±0.39^{abA}	2.43±0.84^{bA}
	150	3.59±1.87^{aA}	1.92±0.09^{bA}	2.00±1.33^{bA}
	180	4.51±1.05^{aA}	2.04±0.04^{bA}	2.11±0.54^{bA}
	10	7.23±0.36^{aA}	7.13±1.29^{aA}	7.30±1.45^{aA}
	60	5.07±0.58^{abA}	4.07±0.21^{bA}	5.09±1.77^{abA}
360 W	**120**	4.28±0.48^{bA}	2.58±0.59^{bA}	1.88±0.80^{bA}
	150	4.10±0.23^{bA}	1.96±0.42^{bA}	2.00±0.92^{bA}
	180	4.50±0.95^{bA}	1.99±0.83^{bAB}	1.01±0.22^{bB}

a, b ve c, aynı sütunda sabit mikrodalga

a* değeri üzerine sürenin etkisi, sadece 360 W güçte 1:15 g/mL katı:çözücü oranındaki örneklerde görülmüştür. 1:15 g/mL katı:çözücü oranında, a* değerinde zamanla meydana gelen azalma, yüksek çözücü varlığında süre ve sıcaklığın etkisi ile kırmızılık ölçütünü oluşturan bazı antosiyanin türevlerinin, degrade olduğunu düşündürmektedir. Bu durum L* değerindeki artışı da destekler niteliktedir. Katı:çözücü oranı (her iki mikrodalga gücünde de) a* değeri üzerine, 60. dakikadan sonra etkili olmuştur ve 1:5 g/mL katı:çözücü oranında en yüksek değerini almıştır. Başka bir deyişle, 60. dakikadan sonra, çözücü oranı arttıkça, a* değeri (kırmızılık) azalmıştır. Ekstraksiyon süresinin artması ile çözücü miktarı fazla olan örnekler, yüksek sıcaklığa (yüksek mikrodalga gücünde) daha fazla maruz kaldıkça, antosiyanin degredasyonu daha fazla olmuştur. Bu da a* değerinin azalmasına neden olmuştur.

A ve B, aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

b* değeri sabit katı:çözücü oranlarında (180 W, 1:5 g/mL katı:çözücü oranı hariç), sürenin artmasıyla önemli derecede azalmıştır. Sürenin artışı ile örneğin sıcaklığa maruz kalma süresi artmış ve sarı renge neden olan bileşikler bozunmuştur. Ekstrakt renginin süre ile açılmasının, b* değerlerindeki düşüş ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Sarı renk formundaki bileşiklerin degradasyonu, L* değerinde de bir artışa neden olmuş olabilir. Katı:çözücü oranının değişiminin b* değeri üzerine etkisi, sadece 360 W güçte 180. dakikada görülmüş olup, 1:5 g/mL katı:çözücü oranındaki örnek en yüksek b* değerini almıştır.

4.4.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları

Toplam fenolik bileşik miktarının maksimum olduğu proses koşulunda (1:15 g/mL, 180 W, 120 dakika) elde edilen ekstraktda toplam monomerik antosiyanin, antioksidan aktivite ve pH analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçlar çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7 Optimum MDE koşulunda elde edilen ekstraktların analiz sonuçları

Analizler	Sonuçlar
TMA (mg cya-3-glu/g kuru madde)	0.32±0.02
AA (mg TE/g kuru madde)	4.51±0.04
pH	2.30±0.02

Toplam monomerik antosiyanin miktarı, 0.32 mg cya-3-glu/g kuru madde olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktın, toplam monomerik antosiyanin miktarı, maserasyon ile yakın bulunurken ultrasonik ve ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen sonuçlardan sırasıyla yaklaşık % 41 ve % 61 daha düşük bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile örnekteki sıcaklık artışının daha fazla olmasından dolayı, antosiyaninlerin degrade olduğu düşünülmektedir. Sıcaklık artışı ile antosiyaninlerin degradasyonu Assous vd. (2014) tarafından da desteklenmiştir. Çalışmasında mor havuç örneklerinden pH 2.0'de farklı sıcaklıklarda antosiyanin ekstrakte edilmiştir. Sonuç olarak, antosiyanin degradasyonu 60 °C'ye kadar değişmemiş, fakat 60 °C'den sonra 100 °C'ye kadar artarak devam etmiştir. Benzer şekilde, Vazquez-Espinosa vd. (2019), maqui kirazında (*Aristotelia chilensis*), UDE ve MDE yöntemleri ile antosiyanin ekstraksiyonu gerçekleştirmiştir. Sonuç olarak, antosiyanin miktarı UDE yöntemi ile daha yüksek bulunmuştur. MDE yönteminin antosiyanin ekstraksiyonunda etkili olamamasının nedenini, antosiyaninlerin yüksek basınca ve yüksek sıcaklığa maruz kaldıklarında bozulmaları ile açıklamışlardır.

Çalışmamızdan farklı olarak Kumar vd. (2019), siyah havuç posasından, mikrodalga, ultrasonik ve konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleri ile antosiyanin ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. Sonuç olarak, optimum toplam antosiyanin miktarları,

konvansiyonel, ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon için sırasıyla, 323.4, 607 ve 753.40 mg/L olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile en yüksek verim elde edilmesinin nedeni, sürenin ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemine göre 3 kat, konvansiyonel ekstraksiyon yöntemine göre ise 30 kat daha kısa olması ile açıklanmıştır.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile optimum koşullarda, antioksidan aktivite değeri 4.51 mg TE/g kuru madde olarak hesaplanmıştır. Bu değer maserasyon ve ultrasonik destekli ekstraksiyon ile elde edilen değerlerden istatistiksel olarak daha fazladır. Bunun yanı sıra ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon ile elde edilen değer ile arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmemiştir. Diğer yöntemlere göre, çok daha fazla TFB ekstrakte edilmesine rağmen, antioksidan aktive değeri OH-US yöntemi ile yakın çıkmasının nedeninin, ekstrakte edilen tüm fenolik bileşiklerin, antioksidan özellik göstermediğinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Sıcaklığın, antosiyanin üzerine etkisinin daha fazla, antioksidan aktivite üzerine etkisi ise daha az olduğu söylenebilir. Benzer şekilde MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktların daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiğini rapor eden çalışmalar mevcuttur. Dorta vd. (2013), mango kabuklarından, MDE yöntemi ile antioksidan aktivite gösteren bileşiklerin eldesi üzerine çalışmışlardır. Çalışma, 500 W sabit mikrodalga gücünde, farklı etanol-su oranı (% 5-95), farklı kabuk:çözücü oranı (1:10-1:50 g/mL), farklı süre (0-120 dakika) ve farklı pH değerlerinde (3-8) yapılmıştır. Sonuç olarak, antioksidan aktivite en yüksek 30 g TE/100 g kuru madde olarak, etanol-su oranın % 95, kabuk:çözücü oranının 1:10 g/mL, ekstraksiyon süresinin 120 dakika ve pH değerinin 3.0 olduğu koşullarda elde edilmiştir. Bu değer konvansiyonel ekstraksiyon (aynı koşullarda 75 °C su banyosunda) ile elde edilen değerden, yaklaşık 3 kat daha yüksektir. Çalışmada elde edilen miktar, bizim bulduğumuz değere göre oldukça yüksektir. Bunun örnek ve çözücü farklılığından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

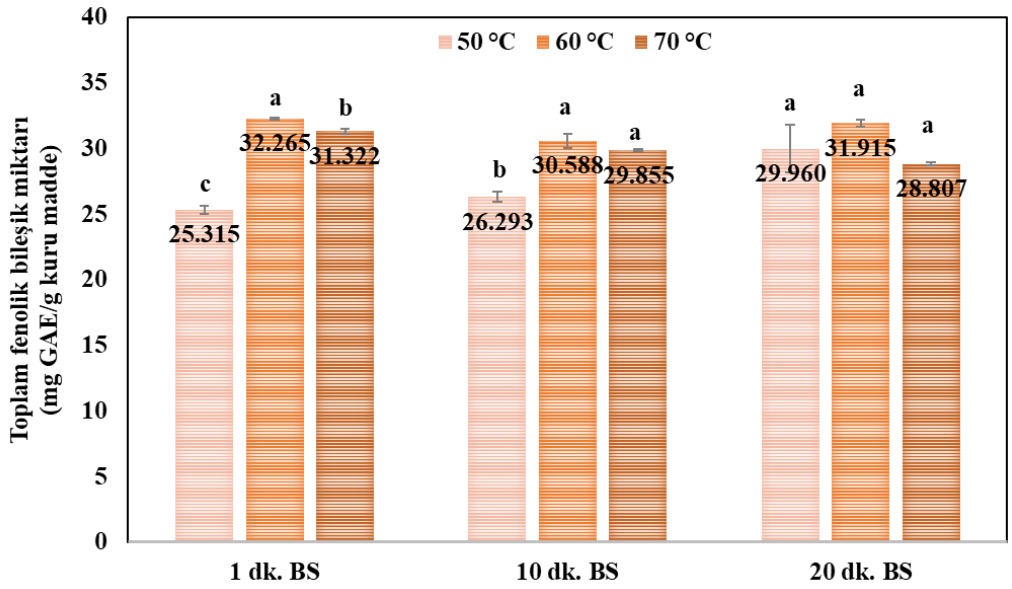
Çalışmamızdan farklı olarak, Hayta ve İşçimen (2018), asma yapraklarına, 3 farklı yöntem (konvansiyonel, ultrasonik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon) ile ekstraksiyon işlemi uygulamış ve antioksidan aktivite üzerine çalışmışlardır. Çözücü olarak tüm yöntemlerde hem su hem de metanol kullanılmıştır. Sonuç olarak, çözücü

olarak metanolün kullanıldığı UDE yönteminde, en yüksek antioksidan aktivite elde edilmiştir (% 61.60). Çözücü olarak su kullanıldığında ise, antioksidan aktivite değerleri, UDE ve MDE yöntemlerinde istatistiksel olarak aynı değeri alırken, konvansiyonel yöntem ile daha düşük değer elde edildiği rapor edilmiştir ($p<0.05$).

Optimum noktada mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktın pH değeri, 2.30 olarak ölçülmüştür. pH değeri diğer yöntemlere göre daha düşük bulunmuştur. Benzer şekilde, Stevenson vd. (2008), yulaf kepeği konsantresini, farklı sıcaklıklarda (50-150 °C) kontrollü olarak uygulanan mikrodalga ışınlama işlemi sonucunda (çözücü: su), sıcaklık artışının, pH değerini azalttığını rapor etmiştir. Bizim çalışmamızda da MDE yöntemi ile örnekler daha yüksek sıcaklıklara çıkmış ve ekstraktların pH değeri daha düşük bulunmuştur.

4.5 Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon (OH-MD)

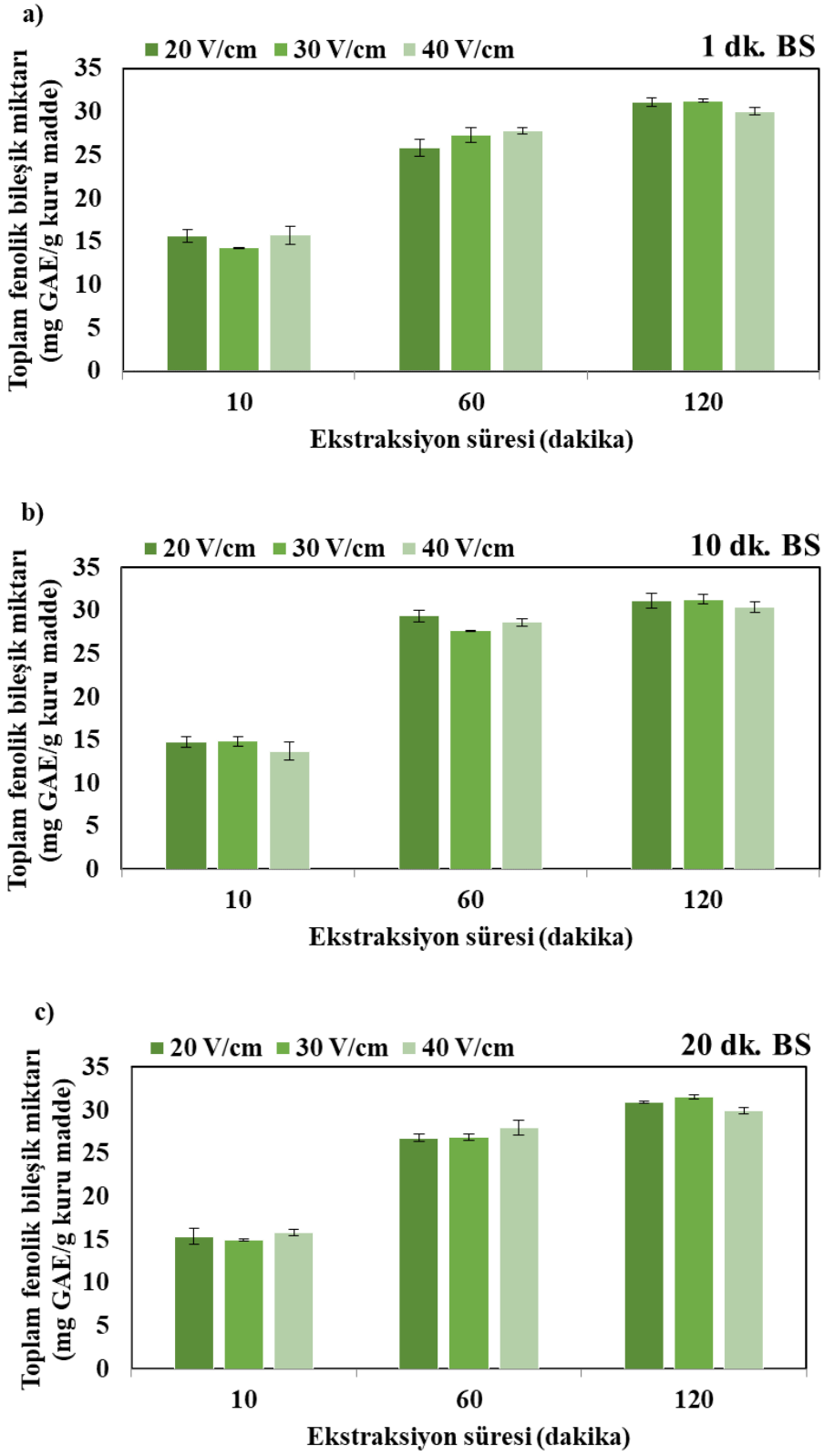
Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon için, öncelikli olarak ohmik ısıtma hazne sıcaklığı denemeleri yapılmıştır. Uygun ohmik ısıtma haznesi sıcaklığını belirlemek için, örnekler 1:15 g/mL katı:çözücü oranında, 50, 60 ve 70 °C sıcaklıklarda, 20 V/cm elektrik alan şiddetinde, 1, 10 ve 20 dakika bekletilmiş ve daha sonra 120 dakika MDE işlemine tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktların, toplam fenolik bileşik miktarları belirlenmiştir. Sonuç olarak 60 °C sıcaklık ile işlem gören örneklerin, tüm bekletme sürelerinde daha yüksek toplam fenolik bileşik miktarına sahip oldukları belirlenmiştir (Şekil 4.15). Ön denemelerden elde edilen sonuçlara göre, ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon için proses koşulları, 60 °C ohmik ısıtma haznesi sıcaklığı, 20, 30 ve 40 V/cm elektrik alan şiddeti, 1, 10 ve 20 dakika ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi (BS) ve 10, 60 ve 120 dakika ekstraksiyon süresi olarak belirlenmiştir. Katı:çözücü oranı ve mikrodalga gücü için, mikrodalga destekli ekstraksiyon ile maksimum verimin elde edildiği, 1:15 g/mL ve 180 W seçilmiştir.



Şekil 4.15 Ohmik ısıtma hazne sıcaklığı ön deneme sonuçları

4.5.1 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve ekstraksiyon süresinin TFB üzerine etkisi

Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyonu sonucunda, elde edilen toplam fenolik bileşik miktarları şekil 4.16a-c'de verilmiştir.



Şekil 4.16 Farklı elektrik alan şiddetlerinde OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktların TFB miktarlarının ekstraksiyon süresi ile değişimi a) 1 dk. BS, b) 10 dk. BS, c) 20 dk. BS (BS: ohmik haznede bekletme süresi) (Katı:çözcü oranı = 1:15 g/mL ve MD gücü=180 W)

Toplam fenolik bileşik miktarının, tüm bekletme sürelerinde, artan ekstraksiyon süresi ile birlikte istatistiksel olarak arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Fakat elektrik alan şiddetinin değişmesi, toplam fenolik bileşik miktarı üzerine istatistiksel olarak bir etki göstermemiştir ($p>0.05$). Loypimai vd. (2015), siyah pirinç kepeğinden renklendirici yapabilmek için ohmik ısıtma destekli çözücü ekstraksiyonu ile değerli bileşik ekstraksiyonu üzerine çalışmışlardır. Çalışmada, 50-200 V/cm aralığında 4 farklı elektrik alan şiddeti uygulanmıştır. Bizim çalışmamıza benzer şekilde, elektrik alan şiddetinin, değerli bileşiklerin ekstraksiyon verimine etkisinin olmadığı rapor edilmiştir. Ancak, ohmik ısıtma destekli ekstraksiyon ile, konvansiyonel ekstraksiyona kıyasla çok daha yüksek verim elde edilmiştir. Elektrik alan şiddeti değişiminin etkisi olmasa da ohmik ısıtma işlemi, kepeğin elektroporasyon özelliğinden dolayı, değerli bileşiklerin daha çok ekstrakte edilmesine yardımcı olmuştur.

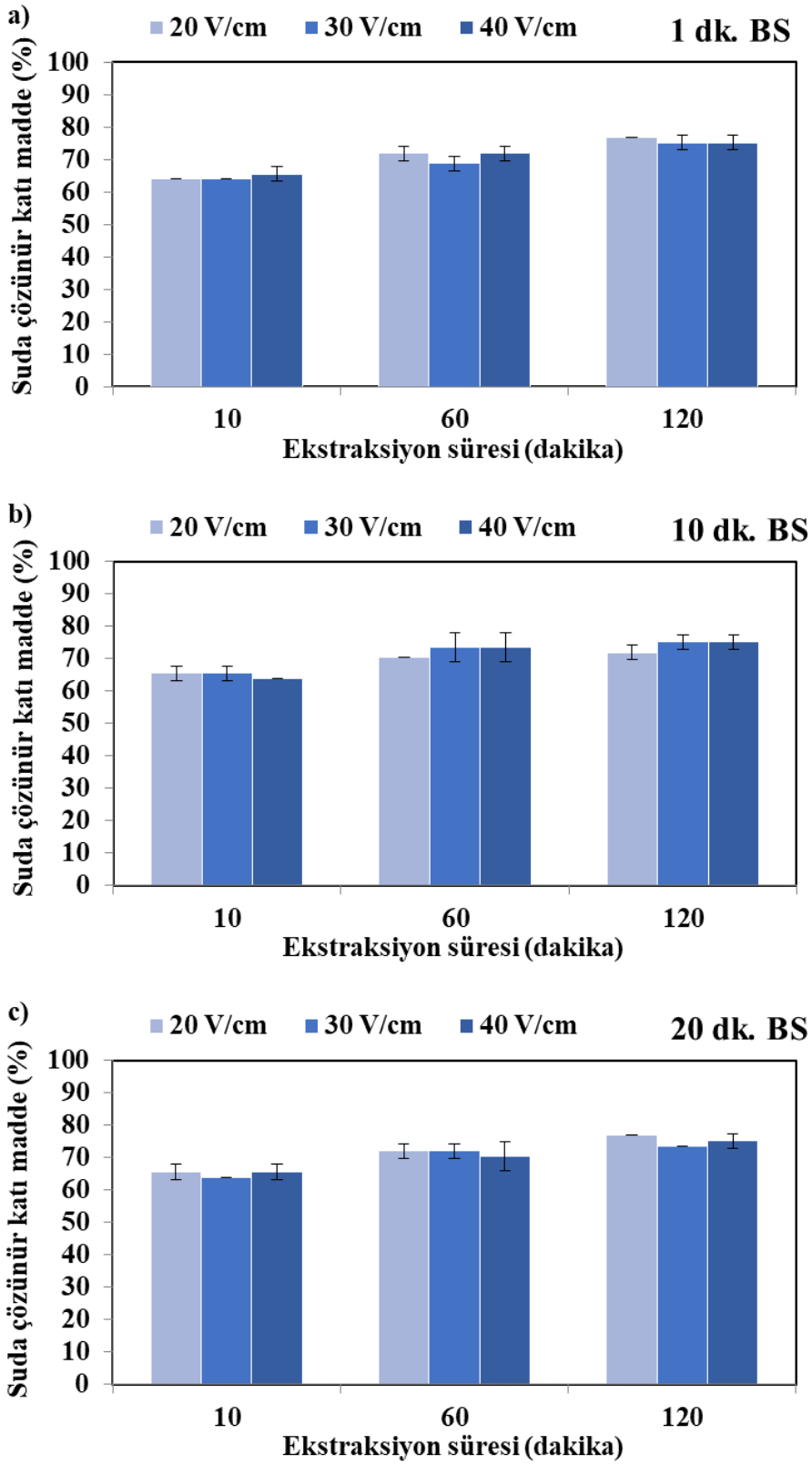
Ekstraksiyon süresi ve elektrik alan şiddeti sabit tutulduğunda, TFB üzerine bekletme süresinin etkisi, elektrik alan şiddetinin 20 V/cm ve ekstraksiyon süresinin 60 dk olduğu koşul ile elektrik alan şiddetinin 40 V/cm ve ekstraksiyon süresinin 10 dk olduğu koşulda görülmüştür. 20 V/cm ve 60 dk koşulunda, en yüksek TFB miktarı, bekletme süresinin 10 dk olduğu durumda bulunmuştur ($p<0.05$). 40 V/cm ve 10 dk koşulunda ise, en yüksek TFB miktarı, bekletme süresinin 20 dk olduğu durumda bulunmuştur ($p<0.05$). Bekletme süresinin etkisi, yüksek elektrik alan şiddetinde, en düşük ekstraksiyon süresinde görülürken, düşük elektrik alan şiddetinde ise nispeten yüksek ekstraksiyon süresinde görülmüştür. Diğer koşullarda, bekletme süresinin etkisi görülmemiştir. Pare vd (2014), soya fasulyesinden yağ ekstraksiyonu işleminde ohmik ısıtma kullanmışlardır. Farklı gerilim (600, 750 ve 900 V), farklı sıcaklık (70, 80 ve 90 °C) ve farklı bekletme sürelerinin (0, 5 ve 10 dakika), serbest yağ asiti (% oleik asit) verimine etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak, ekstrakte edilen yağın serbest yağ asitliği üzerine, gerilim ve sıcaklığın etkisi önemli bulunurken, bekletme süresinin etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlardaki en yüksek toplam fenolik bileşik miktarı, 29.4 mg GAE/g kuru madde olarak bulunmuştur. Bu miktar, 60 °C sıcaklıkta, 20 V/cm elektrik alan şiddeti, 10 dakika

bekleme süresi ve 60 dakika ekstraksiyon süresi ile işlem gören (180 W mikrodalga gücünde) örnekte bulunmuştur. OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktın toplam fenolik bileşik miktarı MS, UDE, OH-US ve MDE yöntemleri ile elde edilen sonuçlardan sırasıyla 5.4, 4.4, 3.9 ve 1.1 kat daha yüksek bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen veriler, ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon ile elde edilen veriler ile karşılaştırıldığında, sonuçların birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Fakat ekstraksiyon süreleri karşılaştırıldığında, ohmik ısıtma ön işleminin etkisi net bir şekilde görülebilmektedir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile 120 dakikada elde edilen değerden daha fazlası, ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon ile 70 dakikada (10 dk. BS+60 dk. ekstraksiyon süresi) elde edilmiştir. Bu sonuçlara göre, ohmik ısıtma desteği ile ekstraksiyon süresinin neredeyse yarı yarıya kısaldığı söylenebilir.

4.5.2 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve ekstraksiyon süresinin suda çözünür katı madde üzerine etkisi

Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların, elektrik alan şiddeti, ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi ve ekstraksiyon süresi ile suda çözünür katı madde oranlarındaki değişim şekil 4.17a-c'de verilmiştir.



Şekil 4.17 Farklı elektrik alan şiddetlerinde OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktların suda çözünür katı madde oranlarının ekstraksiyon süresi ile değişimi a) 1 dk. BS, b) 10 dk. BS, c) 20 dk. BS (BS: ohmik haznede bekletme süresi) (Katı:çözücü oranı= 1:15 g/mL ve MD gücü=180 W)

Suda çözünür katı madde oranlarının, tüm bekletme sürelerinde, artan ekstraksiyon süresi ile birlikte istatistiksel olarak arttığı görülmüştür ($p<0.05$). Fakat elektrik alan şiddetinin değişmesi, suda çözünür katı madde oranları üzerine istatistiksel olarak bir etki göstermemiştir ($p>0.05$). Ortalama olarak OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda ölçülen suda çözünür katı madde oranı, MDE yöntemi ile elde edilen ortalama değere göre düşük, MS, UDE ve OH-US yöntemleri ile elde edilen ortalama değerlere göre ise daha yüksek bulunmuştur. Değerlerin MDE yönteminde elde edilenlerden daha düşük olmasının nedeni sürenin daha kısa olması, diğer yöntemlere göre daha yüksek olmasının nedeni ise sıcaklığın ve/veya sürenin daha fazla olmasıdır. Benzer şekilde, sıcaklığın etkisi Mannozzi vd. (2018) tarafından da belirtilmiştir. Çalışmada havuç ve elmadan püre elde etmek için, ohmik ısıtma ön işlemi uygulamışlar ve elektrik alanın ürün kalitesi üzerine etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada, farklı sıcaklıklarda (40, 60 ve 80 °C) ohmik ısıtma ön işlemi uygulanmıştır. Sonuçta, her iki materyal için de sıcaklık arttıkça toplam çözünmüş madde değerinin arttığı gözlemlenmiştir.

4.5.3 Elektrik alan şiddeti, bekletme süresi ve ekstraksiyon süresinin renk üzerine etkisi

Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda, elektrik alan şiddeti, ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi ve ekstraksiyon süresi ile renk değerlerinin değişimi çizelge 4.8'de verilmiştir.

Sabit elektrik alan şiddetlerinde, ekstraksiyon süresinin artmasıyla, tüm bekletme sürelerinde, L* değeri de istatistiksel olarak önemli derecede artmıştır ($p<0.05$). Yani, ekstrakt rengi açılmıştır. Sabit elektrik alan şiddeti ve ekstraksiyon sürelerinde, ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi, L* değeri üzerine, 30 V/cm ile 60 ve 120 dakika işlem gören örnekler hariç, etkisi gözlenmemiştir. Sabit bekletme süresi ve ekstraksiyon sürelerinde ise, L* değeri üzerine elektrik alan şiddetinin etkisi, istatistiksel olarak sadece 10 dk. bekletme süresi ile 60 dk. işlem gören örnekte olmuştur. Bu koşullarda L* değeri, elektrik alan şiddetinin artmasıyla azalmıştır. Fakat diğer proses koşullarında etkisi görülmemiştir.

Ekstraksiyon süresinin artması ile kırmızılık (a*), yani kırmızılık değerleri azalmıştır (20 ve 40 V/cm-10 dk. BS ile işlem gören örnekler hariç). Sıcaklık ve süre interaksiyonunun, antosiyaninlerin degredasyonuna neden olduğu görülmüştür. a* değeri üzerine bekletme süresinin etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Sarılık (b*) değerinin ise, tüm elektrik alan şiddeti ve bekletme sürelerinde, ekstraksiyon süresi artışı ile azaldığı görülmüştür. Aynı şekilde, sarılığa neden olan bileşiklerinde bozunmaya uğradığı düşünülmektedir. b* değeri üzerine bekletme süresinin etkisi istatistiksel olarak önemsiz bulunmuştur.

Çizelge 4.8 OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktların renk değerleri

EAŞ (V/cm)	Ekstraksiyon süresi (dk.)	1 dk. BS	10 dk. BS	20 dk. BS
			L*	
20	10	24.75 ± 0.40^{bA}	24.45 ± 0.19^{bA}	24.83 ± 0.47^{bA}
20	60	25.36 ± 0.46^{abA}	25.67 ± 0.36^{abA}	25.37 ± 0.41^{bA}
20	120	26.81 ± 0.25^{aA}	26.27 ± 0.44^{aA}	26.13 ± 0.28^{aA}
30	10	24.82 ± 0.08^{cA}	24.44 ± 0.18^{bA}	24.17 ± 0.43^{bA}
30	60	25.84 ± 0.09^{bA}	24.78 ± 0.21^{bB}	25.10 ± 0.22^{abAB}
30	120	26.45 ± 0.03^{aA}	26.72 ± 0.01^{aA}	25.74 ± 0.12^{aB}
40	10	24.71 ± 0.25^{bA}	24.52 ± 0.11^{bA}	24.36 ± 0.28^{bA}
40	60	25.11 ± 0.14^{bA}	25.09 ± 0.16^{abA}	25.35 ± 0.27^{aA}
40	120	26.78 ± 0.29^{aA}	26.01 ± 0.38^{aA}	26.34 ± 0.84^{aA}
			a*	
20	10	10.56 ± 0.45^{aA}	10.35 ± 0.31^{aA}	10.70 ± 0.30^{aA}
20	60	10.44 ± 0.11^{abA}	9.83 ± 0.56^{aA}	9.90 ± 0.14^{bA}
20	120	9.45 ± 0.24^{bA}	9.19 ± 0.30^{aA}	9.44 ± 0.05^{bA}
30	10	10.16 ± 0.09^{aA}	10.39 ± 0.19^{aA}	10.33 ± 0.27^{aA}
30	60	10.34 ± 0.31^{aA}	10.23 ± 0.09^{aA}	9.88 ± 0.30^{aA}
30	120	9.09 ± 0.08^{bA}	9.35 ± 0.10^{bA}	8.94 ± 0.21^{bA}
40	10	10.88 ± 0.20^{aA}	10.51 ± 0.51^{aA}	10.26 ± 0.15^{aA}
40	60	10.39 ± 0.09^{aA}	9.91 ± 0.14^{aA}	9.77 ± 0.34^{abA}
40	120	9.19 ± 0.20^{bA}	9.30 ± 0.23^{aA}	8.87 ± 0.20^{bA}
			b*	
20	10	8.24 ± 0.40^{aA}	8.26 ± 0.48^{aA}	8.42 ± 0.44^{aA}
20	60	5.02 ± 0.16^{bA}	5.17 ± 0.23^{bA}	4.73 ± 0.22^{bA}
20	120	3.09 ± 0.26^{cA}	3.17 ± 0.38^{cA}	2.88 ± 0.10^{cA}
30	10	8.39 ± 0.34^{aA}	8.36 ± 0.39^{aA}	8.09 ± 0.52^{aA}
30	60	4.82 ± 0.10^{bA}	5.05 ± 0.08^{bA}	4.90 ± 0.17^{bA}
30	120	3.03 ± 0.25^{cA}	2.88 ± 0.13^{cA}	3.68 ± 0.13^{bA}
40	10	8.44 ± 0.24^{aA}	7.58 ± 1.39^{aA}	7.86 ± 0.11^{aA}
40	60	5.09 ± 0.40^{bA}	4.80 ± 0.10^{bA}	4.71 ± 0.77^{bA}
40	120	3.13 ± 0.67^{bA}	3.68 ± 0.23^{bA}	2.88 ± 0.44^{bA}

a, b ve c, Aynı sütunda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (ekstraksiyon süresi için)
A ve B, aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$) (bekletme süresi için)

TFB miktarı ekstraksiyon süresi artışı ile orantılı olarak artmaktadır. Renk değerlerinin bu bulgu ile aynı eğilimde olmamasının nedeni, renksiz formdaki fenolik bileşiklerin TFB verimine etkisinin daha fazla olduğundan dolayı olabilir. Renkli bileşiklerin tümü, sadece ekstraksiyon süresinin başlarında ekstrakte olurken, renksiz bileşiklerin diğer sürelerde de ekstrakte olmaya devam ettiği düşünülmektedir. Elektrik alan şiddeti değişiminin, TFB üzerine de etkisinin olmadığı göz önünde bulundurulursa, renk değerlerin de bu şekilde bulunması, bulguyu destekler niteliktedir.

4.5.4 Optimum noktada TMA, AA ve pH sonuçları

Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon ile optimum koşullarda (1:15 g/mL, 20 V/cm, 10 dk. BS, 180 W ve 60 dk. ekstraksiyon süresi) elde edilen ekstraktın toplam monomerik antosiyanin miktarı, antioksidan aktivitesi ve pH değeri çizelge 4.9'da verilmiştir.

Çizelge 4.9 Optimum OH-MD koşulunda elde edilen ekstraktların analiz sonuçları

Analizler	Sonuçlar
TMA (mg cya-3-glu/g kuru madde)	0.65±0.08
AA (mg TE/g kuru madde)	4.12±0.01
pH	3.03±0.02

Toplam monomerik antosiyanin miktarı 0.65 mg cya-3-glu/g kuru madde olarak bulunmuştur. OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktın toplam monomerik antosiyanin miktarı MS, UDE ve MDE yöntemlerine göre sırasıyla % 45, % 15 ve % 51 oranında daha yüksek bulunmuştur. Fakat OH-US yöntemine göre % 22 oranında düşük olduğu görülmüştür. Burada etkili faktörlerin, ekstraksiyon süresi ve sıcaklık olduğu söylenebilir. OH-MD yönteminde örnekler (OH-US yöntemine kıyasla) hem ohmik haznede daha yüksek sıcaklıkta (60 °C) bekletilmiştir, hem de ekstraksiyon sırasında mikrodalgada daha yüksek sıcaklıklara maruz kalmıştır. Bu nedenle, antosiyanin degredasyonu olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, OH-US yönteminde ekstraksiyon süresinin daha kısa olması da antosiyoninleri korumada etkili olmuştur. Sıcaklığın antosiyaninler üzerine olumsuz etkisi literatürde sıkça rapor edilmiştir. Liu vd. (2018), yaban mersinindeki antosiyaninlerin, sıcaklık ve pH ile degradasyonunu incelemişlerdir.

Sonuç olarak, pH 3.0'de, yaban mersinindeki antosiyanin miktarı, 25, 40 ve 50 °C sıcaklıklarda süre ile çok değişim göstermezken, 50 °C sıcaklıktan sonra süre ile azalma görülmüştür. En yüksek degradasyon oranı, sıcaklığın 80 °C olduğu koşulda tespit edilmiştir.

Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon ile optimum koşullarda elde edilen ekstraktın, antioksidan aktivite değeri 4.12 mg TE/g kuru madde olarak hesaplanmıştır. Bu değer MS ve UDE yöntemleri ile elde edilen değerlere göre, istatistiksel olarak farklılık göstermezken, OH-US ve MDE yöntemleri ile elde edilen sonuçlara göre, daha düşüktür. OH-MD yöntemi ile elde edilen ekstraktların, toplam fenolik madde miktarı her ne kadar diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek olsa da ekstrakte edilen tüm bileşikler antioksidan aktivite göstermemiş ve bu değer OH-US ve MDE yöntemlerine göre daha düşük kalmıştır.

Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon işlemi sonrası, optimum noktada elde edilen ekstraktın pH değeri ise 3.03 olarak ölçülmüştür. pH değeri, MDE yöntemi ile elde edilen örnekler hariç, diğer yöntemlerden elde edilen değerlerle istatistiksel olarak benzerlik göstermektedir. Bu yöntemde de sıcaklık her ne kadar yüksek olsa da sürenin MDE yöntemine göre çok daha kısa olması, pH'nın düşmesine engel olduğu düşünülmektedir.

4.6 Tüm yöntemlerin karşılaştırılması

Tüm ekstraksiyon yöntemlerinin optimum noktalarındaki (en yüksek TFB miktarını sağlayan koşul) proses koşulları, çizelge 4.10'da verilmiştir.

Tüm ekstraksiyon yöntemleri için bu noktalarındaki analiz sonuçları ise çizelge 4.11'de verilmiştir. Tablo incelendiğinde, toplam fenolik bileşik miktarı, en yüksek (29.39 mg GAE/g kuru madde) OH-MD yöntemi ile 20 V/cm elektrik alan şiddetinde, 10 dakika bekletme süresinde ve 60 dakika 180 W mikrodalga gücünde işlem gören örnekte bulunmuştur. Bu yöntemle % 100 verim elde edildiği varsayılırsa, diğer yöntemlerle (MS, US, OH-US, MDE) elde edilen verimler sırasıyla, % 19, % 23, % 26 ve % 94

olarak bulunmuştur. Bu bulgu, mikrodalga uygulamasının, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda ne kadar etkin olduğunu açıkça göstermektedir.

Çizelge 4.10 Farklı ekstraksiyon yöntemleri için optimum proses koşulları

Yöntemler	Optimum koşullar
MS	Katı:çözücü oranı: 1:15 g/mL Sıcaklık: 25 °C Süre: 24 h
UDE	Katı:çözücü oranı: 1:15 g/mL US banyo sıcaklık: 50 °C Sonikasyon süresi: 60 dk
OH-US	Katı:çözücü oranı: 1:15 g/mL Elektrik alan şiddeti: 40 V/cm Ohmik ısıtma hazne ve US banyo sıcaklık: 50 °C Bekletme süresi: 20 dk Sonikasyon süresi: 20 dk
MDE	Katı:çözücü oranı: 1:15 g/mL Mikrodalga gücü: 180 W Ekstraksiyon süresi: 120 dk
OH-MD	Katı:çözücü oranı: 1:15 g/mL Elektrik alan şiddeti: 20 V/cm Ohmik ısıtma hazne sıcaklık: 60 °C Bekletme süresi: 10 dk Mikrodalga gücü: 180 W Ekstraksiyon süresi: 60 dk

Çizelge 4.11 Farklı yöntemler ile maksimum toplam fenolik bileşik ekstraksiyonunu sağlayan koşullarda elde edilen örneklerin analiz sonuçları

	MS	UDE	OH-US	MDE	OH-MD
TFB (mg GAE/g kuru madde)	5.49±0.15^{c}	6.62±0.13^{c}	7.52±0.06^{c}	27.03±0.93^{b}	29.39±0.67^{a}
Verim (%)	19	23	26	94	100
TMA (mg cya-3-glu/g kuru madde)	0.36±0.01^{bc}	0.55±0.01^{abc}	0.83±0.14^{a}	0.32±0.02^{c}	0.65±0.08^{ab}
AA (mg TE/g kuru madde)	4.09±0.04^{b}	4.14±0.03^{b}	4.36±0.07^{a}	4.51±0.04^{a}	4.13±0.01^{b}
pH	3.05±0.06^{a}	2.95±0.01^{a}	3.06±0.07^{a}	2.29±0.02^{b}	3.03±0.04^{a}
Suda çözünür katı madde (%)	65.6±2.26^{bc}	59.2±2.26^{cd}	56.0±2.26^{d}	78.6±2.27^{a}	70.4±0.01^{b}
L*	29.21±0.62^{a}	28.81±0.12^{ab}	26.89±0.70^{bc}	26.61±0.87^{bc}	25.67±0.17^{c}
a*	10.33±0.77^{a}	9.82±0.08^{a}	10.46±0.91^{a}	9.31±0.86^{a}	9.83±0.64^{a}
b*	13.68±0.25^{a}	12.24±0.18^{ab}	10.63±0.93^{b}	2.43±0.84^{d}	5.17±0.27^{c}

a, b, c ve d aynı satırda farklı harfler taşıyan değerler arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).
MS: 1:15 g/mL, 25 °C ve 24 h
UDE: 1:15 g/mL, 50 °C ve 60 dk.
OH-US: 1:15 g/mL, 50 °C, 40 V/cm, 20 dk. BS ve 20 dk.
MDE: 1:15 g/mL, 180 W ve 120 dk.
OH-MD: 1:15 g/mL, 60 °C, 20 V/cm, 10 dk. BS, 180 W ve 60 dk.

En yüksek toplam monomerik antosiyanin miktarı, OH-US yöntemi ile işlem gören örneklerde tespit edilmiştir. Bölüm 4.3.4'de de açıklandığı gibi yöntemler içerisinde en kısa ekstraksiyon süresine sahip olan OH-US yöntemi, bu özelliği ile antosiyaninlerin tahrip olmadan eldesini sağlamıştır.

Antioksidan aktivite değerleri, tüm yöntemlerde birbirine yakın olmasına karşılık en yüksek değer MDE ve OH-US yöntemleri ile işlem gören örneklerde tespit edilmiştir. Fenolik bileşik konsantrasyonları açısından bakıldığında, ekstraktlarda TFB miktarının önemli oranda artması, antioksidan aktivitede çok büyük değişikliklere sebep olmamıştır. Bu sonuç, antioksidan aktiviteyi sağlayan bileşiklerin hepsinin, yöntem farklılığı olmaksızın kolaylıkla ekstrakte edilebildiğini düşündürmektedir.

pH değerlerine bakıldığında, MDE yöntemi hariç diğer yöntemler arası istatistiksel fark görülmemiştir. Hem sürenin uzunluğu hem de sıcaklığın yüksekliği, bu yöntemde pH değerinin düşüşüne neden olmuştur. Bilindiği üzere, pH, bir çözeltinin H^+ iyon konsantrasyonunu sayısal olarak gösteren bir parametredir. Dolayısıyla, belirli bir çözeltinin H^+ iyon konsantrasyonunu etkileyen bir durum, bu çözeltinin pH değerini de etkilemektedir. Sıcaklık arttıkça H^+ iyon konsantrasyonu, hidrojen bağı oluşturma eğilimindeki azalma nedeniyle, artmaktadır. Bu durumda, pH değerinde azalmaya neden olmaktadır (Akiya ve Savage, 2002).

Suda çözünür katı madde değeri, en yüksek MDE yöntemi ile daha sonra da OH-MD yöntemi ile işlem gören örneklerde tespit edilmiştir. Mikrodalganın kullanıldığı yöntemlerde sıcaklık yükseldiğinden dolayı, suda çözünür katı madde oranının da arttığı düşünülmektedir.

Renk değerleri kıyaslandığında, en yüksek L* değeri, MS yöntemiyle elde edilen ekstraktta, en düşük değer ise OH-MD yöntemiyle elde edilen örnekte gözlenmiştir. Bu veri, örneklerin toplam fenolik bileşik sonuçlarıyla örtüşmektedir. Örnekteki toplam fenolik bileşik miktarı arttıkça, daha düşük L* değeri elde edilmiştir, yani renk koyulaşmıştır. Yöntem farklılığının, a* değeri üzerine istatistiksel olarak bir etkisi olmamıştır. Fakat en düşük a* değeri MDE, en yükseği ise OH-US yöntemi ile elde

edilmiştir. Bu sonuç, antosiyanin sonuçlarıyla (MDE yöntemi ile en düşük, OH-US yöntemi ile en yüksek antosiyanin ekstraksiyonu sağlanmıştır.) paralellik göstermektedir. Antosiyaninler meyveye kırmızı rengi sağlayan fenoliklerdir ve örnekte antosiyanin miktarının fazla olması, ekstraktların kırmızılık değerini pozitif etkilemektedir. b* değeri ise en yüksek MS yöntemi ile işlem gören örneklerde ölçülmüştür. En düşük MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda gözlemlenmiştir. Bu da mikrodalga destekli ekstraksiyonun sebep olduğu sıcaklık artışı ile sarılık rengi veren bileşiklerin bozunduğunu göstermektedir.

4.7 Kinetik modelleme

UDE, OH-US, MDE ve OH-MD yöntemleri ile en yüksek toplam fenolik bileşik miktarlarının elde edildiği koşullarda, süreye göre değişen toplam fenolik bileşik verileri, ekstraksiyon için yaygın alarak kullanılan Peleg modeline uyarlanmıştır. Modele ait katsayılar ve yöntemlerin R^2 değerleri çizelge 4.12'de verilmiştir. En yüksek uyum gösteren yöntemin OH-MD olduğu görülmüştür (R^2=0.99).

Çizelge 4.12 Peleg modeline ait parametreler

Yöntem	K_1	K_2	R^2
UDE	0.2690	0.16170	0.84
OH-US	0.0227	0.13930	0.74
MDE	0.2809	0.03251	0.97
OH-MD	0.3836	0.02841	0.99

UDE: 1:15 g/mL, 50 °C ve 60 dk.
OH-US: 1:15 g/mL, 50 °C, 40 V/cm, 20 dk. BS ve 20 dk.
MDE: 1:15 g/mL, 180 W ve 120 dk.
OH-MD: 1:15 g/mL, 60 °C, 20 V/cm, 10 dk. BS, 180 W ve 60 dk.

Literatürde fenolik bileşik ekstraksiyon verilerinin, Peleg modeline uyumunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Fernandez-Agullo vd. (2014), kestane kabuğundan toplam fenolik bileşik ekstraksiyonu üzerine çalışmış ve elde edilen verileri Peleg modeline uyarlamışlardır. Ekstraksiyon işleminde, çözücü olarak farklı sıcaklıklarda (25, 50 ve 75 °C) su ve % 50 etanol-su karışımı denemişler ve bunları da karşılaştırmışlardır. Sonuçta, çözücü olarak su kullanıldığı durumda, R^2 değerlerinin 0.87-0.93 aralığında değiştiğini, çözücünün % 50 etanol-su olduğu durumda ise, R^2 değerlerinin 0.94-0.97 aralığında

değiştiğini rapor etmişlerdir. Çözücü olarak etanol-su karışımının kullanımının, Peleg modeline yüksek uyum etkisinin olduğunu vurgulamışlardır. Kumari vd. (2017), krem renkli ve pembe renkli iki tür patatesin kabuklarından polifenol ekstrakte etmiş ve verilerin kinetik modellemesi üzerine çalışmışlardır. Her iki tür materyal içinde, Peleg modeli yüksek bir uyum göstermiştir (R^2<0.95). Krem renkli patates kabuklarının ekstraksiyonu ile elde edilen K_1 ve K_2 katsayıları, kırmızı renkli patates kabuklarından elde edilenlere göre daha yüksek bulunmuştur. Peleg modeli, toplam fenolik madde haricinde diğer farklı değerli bileşiklerin ekstraksiyonunu modellemede de kullanılmıştır. Poojary ve Passamonti (2015), domates posasından, likopen ekstrakte etmiş ve elde ettikleri verileri Peleg modeline uyarlamışlardır. Farklı sıcaklık ve farklı katı:çözücü oranlarında hesaplanan R^2 değerlerinin 0.96-0.99 aralığında değiştiğini ve Peleg modelinin çok iyi uyum gösterdiğini belirtmişlerdir. Colivet vd. (2016), karpuz çekirdeğinden yağ ekstraksiyonunda, yağ veriminin Peleg modeline uygunluğunu incelemişlerdir. Farklı sıcaklıklarda (40, 60 ve 80 °C) elde edilen yağ miktarları modele uyarlanmış ve R^2 değerleri, 0.96-0.99 aralığında bulunmuştur.

5. SONUÇ

Bu çalışmanın amacı, kızılcık meyvesinden *(Cornus mas)*, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak, yeni ve çevre dostu yöntemler (ultrasonik, mikrodalga ve ohmik ısıtma destekli ultrasonik ve mikrodalga ekstraksiyon) ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyonudur. 5 farklı yöntem ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik bileşik verimleri karşılaştırılarak, en uygun yöntemin belirlenmesi amaçlanmıştır. Ekstraktların toplam fenolik bileşik verimlerinin yanı sıra diğer bazı fiziksel (suda çözünür katı madde, renk ve pH) ve kimyasal özellikleri de (toplam monomerik antosiyanin konsantrasyonu ve antioksidan aktivite) belirlenerek, yöntemler değerlendirilmiştir. Çözücü olarak, toksik etkisi olmayan ve çevre dostu olan su tercih edilmiştir.

Maserasyon (MS) yöntemi için çalışma koşulları, 25 °C su banyosu sıcaklığı, 24 h ekstraksiyon süresi ve 3 farklı katı:çözücü oranıdır (1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL). Ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) için çalışma koşulları, 50 °C ultrasonik banyo sıcaklığı, 3 farklı katı:çözücü oranı (1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL) ve 5 farklı sonikasyon süresidir (1, 20, 40, 60 ve 80 dakika). Ohmik ısıtma destekli ultrasonik ekstraksiyon (OH-US) için çalışma koşulları, 1:15 g/mL katı:çözücü oranı, 50 °C ohmik ısıtma haznesi ve ultrasonik banyo sıcaklığı, 3 farklı elektrik alan şiddeti (20, 30 ve 40 V/cm), 3 farklı ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi (1, 10 ve 20 dakika) ve 5 farklı sonikasyon süresidir (1, 20, 40, 60 ve 80 dakika). Mikrodalga destekli ekstaksiyon (MDE) için çalışma koşulları, 2 farklı mikrodalga gücü (180 ve 360 W), 3 farklı katı:çözücü oranı (1:5, 1:10 ve 1:15 g/mL) ve 5 farklı ekstraksiyon süresidir (10, 60, 120, 150 ve 180 dakika). Ohmik ısıtma destekli mikrodalga ekstraksiyon (OH-MD) için çalışma koşulları ise, 1:15 g/mL katı:çözücü oranında 60 °C ohmik ısıtma haznesi sıcaklığı, 3 farklı elektrik alan şiddeti (20, 30 ve 40 V/cm), 3 farklı ohmik ısıtma haznesinde bekletme süresi (1, 10 ve 20 dakika), 180 W mikrodalga gücü ve 3 farklı ekstraksiyon süresidir (10, 60 ve 120 dakika). Sonuç olarak;

1. Maksimum toplam fenolik bileşik miktarı, OH-MD yöntemi ile elde edilmiştir (29 mg GAE/g kuru madde). Bu değer MS, UDE, OH-US ve MDE yöntemlerinde elde edilen değere göre sırasıyla 5.4, 4.4, 3.9 ve 1.1 kat daha fazladır. OH-MD yöntemi ile en

yüksek verimin (% 100) elde edildiği varsayılırsa, MS, UDE, OH-US ve MDE yöntemlerinin verimi sırasıyla % 19, 23, 26 ve 94 olarak hesaplanmıştır.

2. En yüksek toplam fenolik bileşik miktarının elde edildiği ekstraksiyon süreleri MS, UDE, OH-US, MDE ve OH-MD yöntemleri için sırasıyla 24 saat, 60 dakika, 40 dakika, 120 dakika ve 70 dakika olarak bulunmuştur. Ohmik ısıtma sisteminin ekstraksiyon öncesi, yöntemlere ön işlem olarak entegre edilmesiyle ekstraksiyon süresinin kısaltılabildiği tespit edilmiştir. Özellikle MDE yöntemi ile ekstraksiyon süresinin, ohmik ısıtma desteği ile neredeyse yarı yarıya azaltıldığı görülmektedir.

3. Toplam monomerik antosiyanin miktarları karşılaştırıldığında, en yüksek değer 0.83 mg cya-3-Glu/g kuru madde ile OH-US yöntemi ile elde edilmiştir. Toplam monomerik antosiyanin miktarının yüksek olması, ekstraksiyon süresinin en kısa olduğu yöntem olması ile açıklanabilir. Ayrıca mikrodalga destekli ekstraksiyonda, ultrasonik destekli ekstraksiyona kıyasla, örnekler daha yüksek sıcaklıklara maruz kalmaları sebebiyle antosiyanin degradasyonu olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, ohmik ısıtma desteğinin eklenmesiyle mikrodalga ekstraksiyonun süresi kısalmış ve ekstraktların antosiyanin miktarı yaklaşık 2 katına çıkmıştır. Bu da ohmik ısıtma destekli ekstraksiyonların daha avantajlı olduğunun bir kanıtıdır.

4. MS, UDE, OH-US, MDE ve OH-MD yöntemleri ile elde edilen ekstraktların antioksidan değerleri sırasıyla 4.09, 4.14, 4.36, 4.51 ve 4.13 mg TE/g kuru madde olarak tespit edilmiştir. Sonuçlar her ne kadar birbirine yakın gözüksede, istatistiksel olarak en yüksek değerler OH-US ve MDE yöntemleri ile elde edilmiştir.

5. pH değerleri incelendiğinde, en düşük değer MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda görülmüştür. Diğer yöntemler arasında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

6. MDE yöntemi ile elde edilen ekstraktlar ortalama % 77 ile en yüksek suda çözünür katı madde oranına sahiptirler. En düşük değer ise ortalama % 56 ile OH-US yöntemi

ile elde edilen ekstraktlarda bulunmuştur. Burada ki en büyük etkenlerin sıcaklık ve ekstraksiyon süresi olduğu düşünülmektedir.

7. L* değeri en yüksek değerini, MS yöntemi ile almıştır. En düşük değer ise OH-MD yöntemi ile elde etmiştir. Bu değerler, yöntemler arası toplam fenolik bileşik değişimleri ile doğru orantılıdır. a* değeri açısından 5 farklı yöntem arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmemiştir. b* değerinin ise, MS yöntemi ile elde edilen ekstraktlarda en yüksek olduğu bulunmuştur.

8. Ekstraksiyon proseslerinin yorumlanmasında, en çok yararlanılan eşitlik, Peleg modelidir. Farklı ekstraksiyon yöntemlerinde süre ile değişen TFB verileri baz alınarak yapılan çalışmada, en iyi uyum sağlayan metot olarak OH-MD yöntemi (R^2: 0.99) bulunmuştur.

Bu sonuçlar, kızılcık meyvesinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda yenilikçi ekstraksiyon yöntemlerinin, konvansiyonel ekstraksiyon yöntemine göre, daha etkili olduğunu göstermektedir. Ayrıca ohmik ısıtma desteği, yenilikçi ekstraksiyon yöntemlerine başarılı bir şekilde ön işlem olarak entegre edilmiş ve elde edilen ekstraktların fenolik miktarını artırmakla kalmamış, aynı zamanda ekstraksiyon süresini önemli ölçüde azaltmıştır.

KAYNAKLAR

Aamir, M. and Jittanit, W. 2017. Ohmic heating treatment for Gac aril oil extraction: Effects on extractionefficiency, physical properties and some bioactive compounds. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 41, 224–234.

Abdullah, M. and Koc, A. B. 2013. Kinetics of ultrasound-assisted oil extraction from black seed (*Nigella sativa*). Journal of Food Processing and Preservation, 37, 814–823.

Adetunji, L. R., Adekunle, A., Orsat, V. and Raghavan, V. 2017. Advances in the pectin production process using novel extraction techniques: A review. Food Hydrocolloids, 62, 239-250.

Agourram, A., Ghirardello, D., Rantsiou, K., Zeppa, G., Belviso, S., Romane, A., Oufdau, K. and Giordano, M. 2013. Phenolic Content, Antioxidant Potential, and Antimicrobial Activities of Fruit and Vegetable By Product Extracts. International Journal of Food Properties, 16, 1092–1104.

Aguilera, J. M. (2003). Solid–liquid extraction. In: Tzia C, Liadakis G (eds) Extraction optimization in food engineering. Dekker, New York, pp 35–55.

Akiya, N. and Savage, P. E. 2002. Roles of Water for Chemical Reactions in High-Temperature Water. Chemical Reviews, 102(8), 2725-2750.

Al-Hilphy, A. R. S., AlRikabi, A. K. J. and Al-Salim, A. M. 2015. Extraction of Phenolic Compounds from Wheat Bran using Ohmic Heating. Food Science and Quality Management, 43, 21-28.

Alifakı, Y. Ö. 2013. Nohut Unu İlavesinin Kekin Dielektrik Özelikleri ve Kalite Parametreleri Üzerine Etkisi. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 128 s.

Alifakı, Y. Ö. and Şakıyan, Ö. 2017. Dielectric properties, optimum formulation and microwave baking conditions of chickpea cakes. Journal of Food Science and Technology, 54(4), 944–953.

Alifaki, Y. Ö., Şakıyan, Ö. ve İşci, A. 2018. Gilaburu (*Vibirnum opulus* L.) Meyvesinden Fenolik Bileşiklerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu. GIDA, 43(5), 846-855.

Alifakı, Y. Ö. 2019. Gilaburu *(Viburnum opulus L.)* Meyvesinden Yeni Yöntemlerle Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve Gilaburu Tozunun Mikroenkapsülasyonu. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 291 s.

Alupului, A., Călinescu, I. and Lavric, V. 2012. Microwave Extraction of Active Principles from Medicinal Plants. U.P.B. Sci. Bull., Series B, 74(2), 129-142.

Anonim. 2018. Türkiye İstatistik Kurumu, Taş çekirdekli meyveler üretimi. Erişim adresi: http://www.tuik.gov.tr/PreTablo.do?alt_id=1001.

Anonim. 2019. Web of science. http://apps.webofknowledge.com/RAMore.do?product=WOS&search_mode=GeneralSearch&SID=F24AOjBJxTbjXSM327Q&qid=1&ra_mode=more&ra_name=PublicationYear&colName=WOS&viewType=raMore. Erişim tarihi: 25.01.2019.

Assous, M., Abdel-Hady, M. and Medany, G. M. 2014. Evaluation of red pigment extracted from purple carrots and its utilization as antioxidant and natural food colorants. Annals of Agricultural Sciences, 59(1), 1-7.

Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D. and Youssef, M. M. 2012. Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review. Food Research International, 48, 410–427.

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N. and Omar, A. K. M. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. Journal of Food Engineering, 117, 426–436.

Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry, 99, 191–203.

Banerjee, J., Vijayaraghavan, R., Arora, A., MacFarlane, D. R. and Patti, A. F. 2016. Lemon Juice Based Extraction of Pectin from Mango Peels: Waste to Wealth by Sustainable Approaches. ACS Sustainable Chem. Eng., 4, 5915−5920.

Bao, J. S., Cai, Y. Z., Sun, M., Wang, G. and Corke, H. 2005. Anthocyanins, flavonols, and free radical scavenging activity of chinese bayberry (Myrica rubra) extracts and their color properties and stability. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 2327–2332.

Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S. and Orlien, V. 2016. Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. Trends in Food Science and Technology, 49, 96-109.

Baria B., Upadhyay N., Singh A. K.and Malhotra R. K. 2019. Optimization of ‘green’ extraction of carotenoids from mango pulp using split plot design and its characterization. LWT - Food Science and Technology, 104, 186–194.

Behrangi, N., Ghafoori, H., Farahmand, Z., Khani, E. M. and Sanati, M. H. 2015. Comparison among Cornelian Cherry and Prunus cerasus According to Phenolic

Content and Antioxidant Capacity by Three Various Methods of Extraction. Food and Nutrition Sciences, 6, 1166-1173.

Bobinaite, R., Viskelis, P. and Venskutonis, P. R. 2012. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. Food Chemistry, 132, 1495-1501.

Bonfigli, M., Godoy, E., Reinheimer, M. A. and Scenna, N. J. 2017. Comparison between conventional and ultrasound-assisted techniques for extraction of anthocyanins from grape pomace. Experimental results and mathematical modeling. Journal of Food Engineering, 207, 56-72.

Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews, 56317, 333.

Bucic-Kojic, A., Planinic, M., Tomas, S., Bilic, M. and Velic, D. 2007. Study of solid-liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds. Journal of Food Engineering, 81, 236–242.

Buffler, C. 1993. Microwave cooking and processing: Engineering fundamentals for the food scientist. New York. Avi Book.

Calay, R. K., Newborough, M. and Probert, D. 1995. Predictive equations for dielectric properties of foods. International Journal of Food Science and Technology, 29, 699-713.

Carniel, N., Dallago, R. M., Dariva, C., Bender, J. P., Nunes, A. L., Zanella, O., Bilibio, D. and Priamo W. L. 2017. Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Acids and Flavonoids from Physalis Angulata. Journal of Food Process Engineering, 40, 1-11.

Celep, E., Aydın, A. and Yesilada, E. 2012. A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: Cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. Food and Chemical Toxicology, 50(9), 3329-3335.

Celli, G. B., Ghanem, A. and Brooks, M. S. L. 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (*Lonicera caerulea L.)* using Response Surface Methodology. Ultrasonics Sonochemistry, 27, 449–455.

Cemeroğlu, B. 2010. Gıda Analizleri. ISBN 978-975-985578-3-7. Bizim Büro Basımevi, Ankara, s. 535.

Chemat, F, Zill, H. and Khan, M. K. 2011. Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. Ultrasonics Sonochemistry, 18, 813-835.

Chemat, F. and Cravotto, G. 2013. In F. Chemat, & G. Cravotto (Eds.), Microwaveassisted extraction for bioactive compounds: Theory and practice. Springer Science & Business Media.

Chemat, F. and Strube, J. 2015. Green Extraction of Natural Products. ISBN: 978-3-527-67682-8, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Boschstr. 12, 69469 Weinheim, Germany, s 375.

Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S. and Abert-Vian, M. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications - A review. Ultrasonics Sonochemistry, 34, 540–560.

Colivet, J., Oliveira, A. L. and Carvalho, R. A. 2016. Influence of the bed height on the kinetics of watermelon seed oil extraction with pressurized ethanol. Separation and Purification Technology, 169, 187–195.

Colodel, C., Vriesmann, L. C., Teofilo, R. F. and Petkowicz, C. L. D. 2018. Extraction of pectin from ponkan (*Citrus reticulata Blanco cv. Ponkan*) peel: Optimization and structural characterization. International Journal of Biological Macromolecules, 117, 385-391.

Cook, N. C. and Samman, S. 1996. Flavonoids–chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. Nutritional Biochemistry, 7, 66–76.

Corbin, C., Fidel, T., Leclerc, E. A., Barakzoy, E., Sagot, N. Falguiéres, A., Renouard, S., Blondeau, J. P., Ferroud, C., Doussot, J., Laine, E. and Hano, C. 2015. Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (*Linum usitatissimum L.)* seeds. Ultrasonics Sonochemistry, 26, 176–185.

Cosmulescu, S., Trandafir, I. and Cornescu, F. 2019. Antioxidant Capacity, Total Phenols, Total Flavonoids and Colour Component of Cornelian Cherry (*Cornus mas* L.) Wild Genotypes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici, 47(2), 390-394.

Cullen, P.J., Tiwari, B.K. and Valdramidis, V. 2012. Novel Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods. Chapter 11: Ohmic heating of fluid foods. ISBN: 978-0-12-381470-8. Academic Press, Londan UK.

Dalagnol, L. M. G., Magro, L. D., Silveira, V. C. C., Rodrigues, E., Manfroi, V. and Rodrigues, R. C. 2017. Combination of ultrasound, enzymes and mechanical stirring: A new method to improve *Vitis vinifera* Cabernet Sauvignon must yield, quality and bioactive compounds. Food and Bioproducts Processing, 105, 197-204.

Damyeh, M. S., Niakousari, M., Saharkhiz, J. and Golmakani, M. T. 2016. Evaluating the Effect of Essential Oil Extraction Method from *Satureja Macrosıphonıa* on

Its Biological Activities: Ohmic- and Microwave-Assisted Hydrodistillation. Journal of Food Processing and Preservation, 40, 697–706.

Datta, A. K. and Anantheswaran, R. C. 2001. Handbook of Microwave Technology for Food Applications. Part I: Electromagnetics: Fundamental Aspects and Numerical Modelling. ISBN: 0-8247-0490-8, Marcel Dekker, New York, USA, pp. 3.

De Biaggi, M., Donno, D., Mellano, M. G., Riondato, I., Rakotoniaina, E. N. and Beccaro, G. L. 2018. Cornus mas (L.) Fruit as a Potential Source of Natural Health-Promoting Compounds: Physico-Chemical Characterisation of Bioactive Components. Plant Foods for Human Nutrition, 73, 89–94.

Delmas, D., Lancon, A., Colin, D., Jannin, B. and Latruffe, N. 2006. Resveratrol as a chemopreventive agent: A promising molecule for fighting cancer. Current Drug Targets, 7, 423–442.

Deng, S., West, B. J. and Jensen, C. J. 2013. UPLC–TOF-MS characterization and identification of bioactive iridoids in *Cornus mas* fruit. Journal of Analytical Methods in Chemistry, http://dx.doi.org/10.1155/2013/710972, ID 710972.

Dibazar, R., Celli, G. B., Brooks, M. S. L. and Ghanem, A. 2015. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from lowbush blueberries (*Vaccinium Angustifolium Aiton*). Journal of Berry Research 5, 173–181.

Dinda, B., Kyriakopoulos, A. M., Dinda, S., Zoumpourlis, V., Thomaidis, N. S., Velegraki, A., Markopoulos, C. and Dinda M. 2016. *Cornus mas L*. (cornelian cherry), an important European and Asian traditional food and medicine: Ethnomedicine, phytochemistry and pharmacology for its commercial utilization in drug industry. Journal of Ethnopharmacology, 193, 670–690.

Dorta, E., Lobo, M. G., and Gonzalez, M. 2013. Improving the Efficiency of Antioxidant Extraction from Mango Peel by Using Microwave-assisted Extraction. Plant Foods for Human Nutrition, 68, 190–199.

Durmaz, E., Sumnu, G. and Sahin, S. 2015. Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Caper. Separation Science and Technology, 50, 1986–1992.

El-Darra, N., Grimi, N., Vorobiev, E., Louka, N. and Maroun, R. 2013a. Extraction of Polyphenols from Red Grape Pomace Assisted by Pulsed Ohmic Heating. Food and Bioprocess Technology, 6, 1281-1289.

El-Darra, N., Grimi, N., Maroun, R. G., Louka, N. and Vorobiev, E. 2013b. Pulsed electric field, ultrasound, and thermal pretreatments for better phenolic extraction during red fermentation. European Food Research and Technology, 236, 47-56.

Ergezer, H., Gökçe, R., Elgin, Ş. ve Akcan, T. 2018. Kızılcık (*Cornus mas L.*) ekstraktı kullanımının sucuk kalite karakteristikleri üzerine etkisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 24(7), 1376-1381.

Eskilsson, C. S. and Björklund, E. 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. Journal of Chromatography A, 902, 227–250.

Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G. and Barbero, G. F. 2017. Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. Food Chemistry, 219, 23–32.

Esquivel-Hernandez, D. A., Rodriguez-Rodriguez, J., Rostro-Alanis, M., Cuellar-Bermudez, S. P., Mancera-Andrade, E. I., Nunez-Echevarria, J. E., Garcia-Perez, J. S., Chandra, R. and Parra-Saldivar, R. 2017. Advancement of green process through microwave-assisted extraction of bioactive metabolites from Arthrospira Platensis and bioactivity evaluation. Bioresource Technology, 224, 618–629.

Fernandez-Agullo, A., Freire, M. S., Antorrena, G., Pereira, J. A. and Gonzalez-Alvarez, J. 2014. Effect of the Extraction Technique and Operational Conditions on the Recovery of Bioactive Compounds from Chestnut (*Castanea sativa*) Bur and Shell. Separation Science and Technology, 49, 267–277.

Ferreres, F., Grosso, C., Gil-Izquierdo, A., Valentao, P., Mota, A. T. and Andrade, P. B. 2017. Optimization of the recovery of high-value compounds from pitaya fruit by-products using microwave-assisted extraction. Food Chemistry, 230, 463–474.

Food and Drug Administration-Center for Food Safety and Applied Nutrition (FDA-CFSAN). 2000. Kinetics of Microbial Inactivation for Alternative Food Processing Technologies-Ohmic and Inductive Heating. http://www.cfsan.fda. gov/ ~comm/ift-ohm.html.

Gallo, M., Ferracane, R., Graziani, G., Ritieni, A. and Fogliano, V. 2010. Microwave assisted extraction of phenolic compounds from four different spices, Molecules, 15(9), 6365-6374.

Garcia-Castello, E. M., Rodriguez-Lopez, A. D., Mayor, L., Ballesteron, R. and Conidi, C. 2015. Optimization of conventional and ultrasound assisted extraction of flavonoids from grapefruit (*Citrus paradisi L.*) solid wastes. LWT - Food Science and Technology, 64, 1114-1122.

Garofulic, I. E., Dragovic-Uzelac, V., Jambrak, A. R. and Jukic, M. 2013. The effect of microwave assisted extraction on the isolation of anthocyanins and phenolic acids from sour cherry Marasca (*Prunus cerasus* var. Marasca). Journal of Food Engineering, 117, 437–442.

Gavahian, M., Farahnaky, A., Javidnia, K. and Majzoobi, M. 2013. A novel technology for extraction of essential oil from *Myrtus communis*: ohmic-assisted hydrodistillation. The Journal of Essential Oil Research, 25(4), 257–266.

Gavahian, M., Farhoosh, R., Javidnia, K., Shahidi, F. and Farahnaky, A. 2015. Effect of applied voltage and frequency on extraction parameters and extracted essential oils from *Mentha piperita* by ohmic assisted hydrodistillation. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 29, 161–169.

Gavahian, M., Chu, Y. H. and Sastry, S. 2018. Extraction from Food and Natural Products by Moderate Electric Field: Mechanisms, Benefits, and Potential Industrial Applications. ComprehensiveReviewsinFoodScienceandFoodSafety, 17, 1040-1052.

Gavahian, M., Chu, Y. H. and Farahnaky, A. 2019. Effects of ohmic and microwave cooking on textural softening and physical properties of rice. Journal of Food Engineering, 243, 114–124.

Gayas, B., Kaur, G. and Gul, K. 2017. Ultrasound-Assisted Extraction of Apricot Kernel Oil: Effects on Functional and Rheological Properties. Journal of Food Process Engineering, 40, 1-10.

Giusti, M. M. and Wrolstad, E. 2001. Anthocyanins. In: Wrolstad, E. (Ed.), Characterization and Measurement with UV–Visible Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Wiley, New York, pp. F1.2.1–F1.2.13.

Guerrouj, K., Sanchez-Rubio, M., Taboada-Rodriguez, A., Cava-Roda, R. M. and Marin- Iniesta, F. 2016. Sonication at mild temperatures enhancesbioactive compounds and microbiological qualityof orange juice. Food and Bioproducts Processing, 99, 20-28.

Gunduz, K., Saracoglu, O., Özgen, M. and Serce, S. 2013. Antioxidant, Physical and Chemical Characteristics of Cornelian Cherry Fruits (*Cornus mas* L.) at Different Stages of Ripeness. Acta Scientiarum Polonorum Hortorum Cultus, 12(4), 59-66.

Hagerman, A. E. 2002. Tannin Handbook, Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, USA.

Hamid, H., Yousef, H., Jafar, H. and Mohammad, A. 2011. Antioxidant capacity and phytochemical properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) genotypes in Iran. Scientia Horticulturae, 129, 459–463.

Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Plata-Oviedo, M. S. V. and Peralta, R. M. 2012. Phenolic compounds in fruits – an overview. International Journal of Food Science and Technology, 47, 2023–2044.

Han, Q. H., Liu, W., Li, H. Y., He, J. L., Guo, H., Lin, S., Zhao, L., Chen, H., Liu, Y. W., Wu, D. T., Li, S. Q. and Qin, W. 2019. Extraction Optimization, Physicochemical Characteristics, and Antioxidant Activities of Polysaccharides from Kiwifruit (*Actinidia chinensis Planch*.). Molecules, 24, 461, doi:10.3390/molecules 24030461.

Hayta, M. and İşçimen, E. M. 2018. Antidiabetic, Antihypertensive and Antioxidant Properties of Grapevine Leaf Extracts Obtained by Ultrasound, Microwave Assisted, and Classical Solvent Extraction. Erwerbs-Obstbau, 60(1), 79–85.

Ho, K. K. H. Y., Ferruzzi, M. G., Liceaga, A. M. and San Martín-Gonzalez, M. F. 2015. Microwave-assisted extraction of lycopene in tomato peels: Effect of extraction conditions on all-trans and cis-isomer yields. LWT - Food Science and Technology, 62, 160-168.

Hosseini, S. S., Khodaiyan, F. and Yarmand, M. S. 2016. Optimization of microwave assisted extraction of pectin from sour orange peel and its physicochemical properties. Carbohydrate Polymers, 140, 59–65.

Hui, Y. H. 2006. Handbook of Food Science, Technology, and Engineering, Volume 3. Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York, s 2170.

Hunterlab, 2008. Hunter L, a, b Versus CIE 1976 L*, a*, b*. Applications Note. Vol.13(2); 4 pp.

Ignat, I., Volf, I. and Popa, V. I. 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. Food Chemistry, 126, 1821–1835.

İçier, F. 2012. Ohmic Heating of Fluid Foods. Nover Thermal and Non-Thermal Technologies for Fluid Foods-Chapter 11, 305-367.

Jayaprakasam, B., Olson, L. K., Schutzki, R. E., Tai, M. H. and Nair, M. G. 2006. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in cornelian cherry (*Cornus mas*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 243–248.

Jeyaratnam, N., Nour, A. H., Kanthasamy, R., Nour, A. H., Yuvaraj, A. R. and Akindoyo, J. O. 2016. Essential oil from Cinnamomum cassia bark through hydrodistillation and advanced microwave assisted hydrodistillation. Industrial Crops and Products, 92, 57-66.

Kadam, S. U., Tiwari, B. K. and O'Donnell, C. P. 2013. Application of novel extraction technologies for bioactives from Marine algae. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61, 4667-4675.

Kawa-Rygielska, J., Adamenko, K., Kucharska, A. Z. and Piorecki, N. 2018. Bioactive Compounds in Cornelian Cherry Vinegars. Molecules, 23, 379, doi:10.3390/molecules23020379.

Kazemi, M., Karim, R., Mirhosseini, H. and Hamid, A. A. 2016. Optimization of pulsed ultrasound-assisted technique for extraction of phenolics from pomegranate peel of Malas variety: Punicalagin and hydroxybenzoic acids. Food Chemistry, 206, 156–166.

Khajehei, F., Niakousari, M., Damyeh, M. S., Merkt, N., Claupein, W. and Graeff-Hoenninger, S. 2017. Impact of Ohmic-Assisted Decoction on Bioactive Components Extracted from Yacon (*Smallanthus sonchifolius* Poepp.) Leaves: Comparison with Conventional Decoction. Molecules, 22, 2043; doi:10.3390/ molecules22122043.

Khuenpet, K., Fukuoka, M., Jittanit, W. and Sirisansaneeyakul, S. 2017. Spray drying of inulin component extracted from Jerusalem artichoke tuber powder using conventional and ohmic-ultrasonic heating for extraction process. Journal of Food Engineering, 194, 67-78.

Klimenko, S. 2004. The Cornelian cherry (*Cornus mas L.*); collection, preservation and utilization of genetic resources. J. Fruit Ornam. Plant Res. 12, 93–98.

Koštálová, Z., Aguedo, M. and Hromádková, Z. 2016. Microwave-assisted extraction of pectin from unutilized pumpkin biomass. Chemical Engineering and Processing, 102, 9–15.

Kucharska, A. Z. 2012. Active Compounds of Cornelian Cherry Fruit (*Cornus mas L.*) Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego Wrocław.

Kucharska, A. Z., Szumny, A., Soko-Letowska, A., Piorecki, N. and Klymenko, S. V. 2015. Iridoids and anthocyanins in cornelian cherry (*Cornus mas* L.) cultivars. Journal of Food Composition and Analysis, 40, 95–102.

Kumar, M., Dahuja, A., Sachdev, A., Kaur, C., Varghese, E., Saha, S. and Sairan, K. V. S. S. 2019. Valorisation of black carrot pomace: microwave assisted extraction of bioactive phytoceuticals and antioxidant activity using Box–Behnken design. Journal of Food Science and Technology, 56(2), 995–1007.

Kumari, B., Tiwari, B. K., Hossain, M. B., Rai, D. K. and Brunton, N. P. 2017. Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from potato peels: profiling and kinetic modelling. International Journal of Food Science and Technology, 52, 1432–1439.

Kusuma, H. S. and Mahfud, M. 2017. Microwave-assisted Hydrodistillation for Extraction of Essential Oil from Patchouli (*Pogostemon cablin*) Leaves. Periodica Polytechnica Chemical Engineering, 61(2), 82-92.

Lakkakula, N. R., Lima, M. and Walker, T. 2004. Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating. Bioresource Technology, 92, 157–161.

Lapornik, B., Prosek, M. and Wondra, A. G. 2005. Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. Journal of Food Engineering, 71, 214–222.

Lee, J., Durst, R. W. and Wrolstad, R. E. 2005. Determination of Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content nof Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines by the pH Differential Method: Collaborative Study. Journal of AOAC International, 88(5), 1269-1278.

Lee, W. C., Yusof, S., Hamid, N. S. A. and Baharin, B. S. 2006. Optimizing conditions for hot water extraction of banana juice using response surface methodology (RSM). Journal of Food Engineering, 75, 473–479.

Li, H. Z., Zhang, Z. J., Hou, T. Y., Li, X. J. and Chen, T. 2015. Optimization of ultrasound-assisted hexane extraction of perilla oil using response surface methodology. Industrial Crops and Products, 76, 18–24.

Lietava, J., Beerova, N., Klymenko, S. V., Panghyova, E., Varga, I. and Pechanova, O. 2019. Effects of Cornelian Cherry on Atherosclerosis and Its Risk Factors. Hindawi, Oxidative Medicine and Cellular Longevity, Article ID 2515270, https://doi.org/10.1155/2019/2515270, 8 pages.

Liu, Q., Cai, W. and Shao, X. 2008. Determination of seven polyphenols in water by high performance liquid chromatography combined with preconcentration. Talanta, 77, 679–683.

Liu, Y., Liu, Y., Tao, C., Liu, M., Pan, Y. and Lv, Z. 2018. Effect of temperature and pH on stability of anthocyanin obtained from blueberry. Journal of Food Measurement and Characterization, 12, 1744–1753.

Lopez, C. J., Caleja, C., Prieto, M. A., Barreiro, M. F., Barros, L. and Ferreira, I. C. F. R. 2018. Optimization and comparison of heat and ultrasound assisted extraction techniques to obtain anthocyanin compounds from *Arbutus unedo L*. Fruits. Food Chemistry, 264, 81–91.

Loypimai, P., Moongngarm, A., Chottanom, P. and Moontree, T. 2015. Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 27, 102-110.

Loypimai, P., Moongngarm, A. and Chottanom, P. 2016. Phytochemicals and antioxidant capacity of natural food colorant prepared from black waxy rice bran. Food Bioscience, 15, 34–41.

M'hiri, N., Ioannou, I., Boudhrioua, N. M. and Ghoul, M. 2015. Effect of different operating conditions on the extraction of phenolic compounds in orange peel. Food and Bioproducts Processing, 96, 161–170.

Maeng, J. H., Shahbaz, H. M., Ameer, K., Jo, Y. and Kwon, J. H. 2017. Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Bioactive Compounds From Coriolus Versicolor Mushroom Using Response Surface Methodology. Journal of Food Process Engineering, 40, 1-8.

Mandal, V., Mohan, Y. and Hemalatha, S. 2007. Microwave assisted extraction-an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. Pharmacognosy reviews, 1(1), 7-18.

Mane, S., Bremner, D. H., Tziboula-Clarke, A. and Lemos, M. A. 2015. Effect of ultrasound on the extraction of total anthocyanins from *Purple Majesty* potato. Ultrasonics Sonochemistry, 27, 509–514.

Mannozzi, C., Fauster, T., Haas, K., Tylewicz, U., Romani, S., Rosa, M. D. and Jaeger, H. 2018. Role of thermal and electric field effects during the pre-treatment of fruit and vegetable mash by pulsed electric fields (PEF) and ohmic heating (OH). Innovative Food Science and Emerging Technologies, 48, 131–137.

Maran, J. P. and Prakash, K. A. 2015. Process variables influence on microwave assisted extraction ofpectin from waste *Carcia papaya L*. Peel. International Journal of Biological Macromolecules, 73, 202-206.

Maran, J. P. and Priya, B. 2015. Optımization of Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Pigments from *Amaranthus Trıcolor L* Leaves. Journal of Food Processing and Preservation, 39, 2314–2321.

Merken, H. M. and Beecher, G. R. 2000. Measurement of food flavonoids by highperformance liquid chromatography: A review. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 577–599.

Mikaili, P., Koohirostamkolaei, M., Babaeimarzangou, S. S., Aghajanshakeri, S., Moloudizargari, M., Gamchi, N.S. and Toloomoghaddam, S. 2013. Therapeutic uses and pharmacological effects of *Cornus mas*: a review. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, 35, 1732–1738.

Milenkovic-Andjelkovic, A. S., Andjelkovic, M. Z., Radovanovic, A. N., Radovanovic, B. C. and Nikolic, V. 2015. Phenol composition, DPPH radical scavenging and antimicrobial activity of Cornelian cherry (*Cornus mas*) fruit and leaf extracts. Hemijska Industrija, 69(4), 331–337.

Moorthy, I. G., Maran, J. P., Ilakya, S., Anitha, S. L., Sabarima, S. P. and Priya, B. 2017. Ultrasound assisted extraction of pectin from waste *Artocarpus heterophyllus* fruit peel. Ultrasonics Sonochemistry, 34, 525–530.

Moradi, Y., Khadivi, A. and Salehi-Arjmand, H. 2019. Morphological and pomological characterizations of cornelian cherry (*Cornus mas L.*) to select the superior accessions. Scientia Horticulturae, 249, 208–218.

Mukhtar, B., Mushtaq, M., Akram, S. and Adnan, A. 2018. Maceration mediated liquid–liquid extraction of conjugated phenolics from spent black tea leaves extraction of non-extractable phenolics. Analytical Methods, 10, 4310–4319.

Nayak, B., Dahmoune, F., Moussi, K., Remini, H., Dairi, S., Aoun, O. and Khodir, M. 2015. Comparison of microwave, ultrasound and accelerated-assisted solvent extraction for recovery of polyphenols from *Citrus sinensis* peels. Food Chemistry, 187, 507–516.

Nazeri, M. A. and Zain, N. M. 2018. Effect of Different Operating Parameters on Extraction of Active Compounds from Pitaya Peel By Microwave Assisted Extraction (MAE). Jurnal Teknologi, 80(2), 51-58.

Ochmian, I., Grajkowski, J. and Smolik, M. 2012. Comparison of Some Morphological Features, Quality and Chemical Content of Four Cultivars of Chokeberry Fruits (*Aronia melanocarpa*). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici, 40(1), 253-260.

Özgür, M. Ü. and Çimen, E. 2018. Ultrasound-Assisted Extraction of Anthocyanins from Red Rose Petals and New Spectrophotometric Methods for the Determination of Total Monomeric Anthocyanins. Journal of AOAC International, 101(4), 967-980.

Pap, N., Beszedes, S., Pongracz, E., Myllykoski, L., Gabor, M., Gyimes, E., Hodur, C., and Keiski, R. L. 2013. Microwave-Assisted Extraction of Anthocyanins from Black Currant Marc. Food Bioprocess Technol, 6, 2666–2674.

Pare, A., Nema, A., Singh, V. K. and Mandhyan, B. L. 2014. Combined effect of ohmic heating and enzyme assisted aqueous extraction process on soy oil recovery. Journal of Food Science Technology, 51(8), 1606–1611.

Parrott, D. L. 1992. Use of ohmic heating for aseptic processing of food particulates. Food Technology. 68-72.

Pavela, R. 2017. Extract from the roots of *Saponaria officinalis* as a potential acaricide against *Tetranychus urticae*. Journal of Pest Science, 90, 683–692.

Pavlovic, M., Buntic, A., Siler-Marinkovic, S. and Dimitrijevic-Brankovic, S. I. 2013. Ethanol influenced fast microwave-assisted extraction for natural antioxidants obtaining from spent filter coffee. Separation and Purification Technology, 118, 503–510.

Peleg, M. 1988. An empirical model for the description of moisture sorption curves. Journal of Food Science, 53(4), 1216–1219.

Pereira, R. N., Rodrigues, R. M., Genisheva, Z., Oliveira, H., de Freitas, V., Teixeira, J. A. and Vicente, A. A. 2016. Effects of ohmic heating on extraction of food-grade phytochemicals from colored potato. LWT - Food Science and Technology 74, 493-503.

Pico, Y. 2013. Ultrasound-assisted extraction for food and environmental samples. Trends in Analytical Chemistry, Vol. 43, 84-99.

Pinelo, M., Rubilar, M., Jerez, M., Sineiro, J. and Nunez, M. J. 2005. Effect of Solvent, Temperature, and Solvent-to-Solid Ratio on the Total Phenolic Content and Antiradical Activity of Extracts from Different Components of Grape Pomace. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 2111-2117.

Piyapanrungrueang, W., Chantrapornchai, W., Haruthaithanasan, V., Sukatta, U., and Aekatasanawan, C. 2016. Comparison of Anthocyanin Extraction Methods from High Anthocyanin Purple Corn Cob Hybrid: KPSC 901, and Quality of the Extract Powder. Journal of Food Processing and Preservation, 40, 1125-1133.

Piyasena, P., Mohareb, E. and McKellar, R.C. 2003. Inactivation of microbes using ultrasound: A review, Int. J. Food Microbiol. 87(3), 207–216.

Poojary, M. M. and Passamonti, P. 2015. Extraction of lycopene from tomato processing waste: Kinetics and modelling. Food Chemistry, 173, 943-950.

Popa, V. I., Dumitru, M., Volf, I. and Anghel, N. 2008. Lignin and polyphenols as allelochemicals. Industrial Crops and Products, 27, 144–149.

Popovic, B. M., Stajner, D., Slavko, K. and Sandra, B. 2012. Antioxidant capacity of cornelian cherry (*Cornus mas* L.) – Comparison between permanganate reducing antioxidant capacity and other antioxidant methods. Food Chemistry, 134(2), 734-741.

Pradal, D., Vauchel, P., Decossin, S., Dhulster, P. and Dimitrov, K. 2016. Kinetics of ultrasound-assisted extraction of antioxidant polyphenols from food by-products: Extraction and energy consumption optimization. Ultrasonics Sonochemistry, 32, 137–146.

Radojkovic, M., Moreira, M. M., Soares, C., Barroso, M. F., Cvetanovic, A., Svarc-Gajic, J., Morais, S. and Delerue-Matos, C. 2018. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from *Morus nigra* leaves: optimization and characterization of the antioxidant activity and phenolic composition. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 93, 1684–1693.

Radovanovic, B. C., Andelkovic, A. S. M., Radovanovic, A. B. and Andelkovic, M. Z. 2013. Antioxidant and Antimicrobial Activity of Polyphenol Extracts from Wild Berry Fruits Grown in Southeast Serbia. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 12(5), 813-819.

Rahman, M. S. 1999. Handbook of Food Preservation. CRC Press.

Rahman, M. S. 2007. Handbook of food preservation 2nd edition Taylor & Francis Group, LLC, 741-750 p.

Ramaswamy, H. S., Marcotte, M., Sastry, S. and Abdelrahim, K. 2014. Ohmic heating in food engineering. CRC Press, Taylor & Francis Group, 518 p.

Ranic, M., Nikolic, M., Pavlovic, M., Buntic, A., Siler-Marinkovic, S. and Dimitrijevic-Brankovic, S. 2014. Optimization of microwave-assisted extraction of natural antioxidants from spent espresso coffee grounds by response surface methodology. Journal of Cleaner Production, 80, 69-79.

Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. and Paganga, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends in Plant Science, 2(4), 152-159.

Richardson, P. 2001. Thermal technologies in food processing. Chapter 13: Ohmic heating. ISBN 1 85573 558Woodhead Publishing Limited, Abington Hall, Abington, Cambridge CB1 6AH, England.

Rop, O., Mlcek, J., Kramarova, D. and Jurikova, T. 2010. Selected cultivars of cornelian cherry (*Cornus mas L.)* as a new food source for human nutrition. African Journal of Biotechnology, 9(8), 1205-1210.

Sahin, S., Sumnu, S. G., Hamamcı, H., Isci, A. and Sakiyan, O. 2016. Fluid Flow, Heat and Mass Transfer In The Food Systems. Nobel Akademik Yayıncılık, s. 884.

Saleem, M., Kim, H. J., Ali, M. S. and Lee, Y. S. 2005. An update on bioactive plant lignans. Natural Product Reports, 22, 696–716.

Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C. P. and Ghazali, H. M. 2014. Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: Crystallization and thermal behavior, saturation degree, color and oxidative stability. Industrial Crops and Products, 52, 702–708.

Sastry, S.K. and Li, Q. 1996. Modelling the ohmic heating of foods. Food Technol. 50, 246-248.

Simsek, M., Sumnu, G. and Sahin, S. 2012. Microwave Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Sour Cherry Pomace. Separation Science and Technology, 47, 1248–1254.

Slinkard, K. and Singleton, V. L. 1977. Total phenol analysis: Automation and comparison with manual methods. American Journal of Enology and Viticulture, 28, 49–55.

Song, J., Li, D., Liu, C. and Zhang, Y. 2011. Optimized microwave-assisted extraction of total phenolics (TP) from *Ipomoea batatas* leaves and its antioxidant activity. Innovative Food Science and Emerging Technologies, 12, 282-287.

Soquetta, M. B., Schmaltz, S., Righes, F. W., Salvalaggio, R. and Terra, L. de M. 2018. Effects of pretreatment ultrasound bath and ultrasonic probe, in osmotic dehydration, in the kinetics of oven drying and the physicochemical properties of beet snacks. Journal of Food Processing and Preservation, 42, doi.org/10.1111/jfpp.13393.

Stevenson, D. G., Inglett, G. E., Chen, D., Biswas, A., Eller, F. J. and Evangelista, R. L. 2008. Phenolic content and antioxidant capacity of supercritical carbon dioxide-treated and air-classified oat bran concentrate microwave-irradiated in water or ethanol at varying temperatures. Food Chemistry, 108, 23–30.

Sumnu, G. 2001. A review on microwave baking of foods. International Journal of Food Science and Technology, Vol.36; pp. 117-127.

Swamy, G. J. and Muthukumarappan, K. 2017. Optimization of continuous and intermittent microwave extraction of pectin from banana peels. Food Chemistry 220, 108–114.

Tabaraki, R. and Rastgoo, S. 2014. Comparison between conventional and ultrasound-assisted extractions of natural antioxidants from walnut green husk. Korean Journal of Chemical Engineering, 31(4), 676-683.

Taktak, F. and İlbay, Z. 2016. Novel Polymer-Bentonite Sorbent for Recovery of Antioxidant Polyphenols from *Cornus mas* L. through Integrated Process Extraction/Adsorption: Optimization of Extraction Parameters by Response Surface Methodology. Polymer-Plastics Technology and Engineering, 55(13), 1332–1343.

Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q. A. and Sun, D. W. 2014. Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage. Ultrasonics Sonochemistry, 21, 706–715.

Tavakolpour, Y., Moosavi-Nasab, M., Niakousari, M., Haghighi-Manesh, S. 2015. Influence of extraction methods on antioxidant and antimicrobial properties of essential oil from *Thymua danesis subsp. Lancifolius*. Food Science & Nutrition, 4(2), 156–162.

Teng, H., Lee, W. Y. and Choi, Y. H. 2013. Optimization of microwave-assisted extraction for anthocyanins, polyphenols, and antioxidants from raspberry (*Rubus Coreanus* Miq.) using response surface methodology. Journal of Separation Science, 36, 3107–3114.

Terki, L., Kujawski, W., Kujawa, J., Kurzawa, M., Filipiak-Szok, A., Chrzanowska, E., Khaled, S. and Madani, K. 2018. Implementation of osmotic membrane

distillation with various hydrophobic porous membranes for concentration of sugars solutions and preservation of the quality of cactus pear juice. Journal of Food Engineering, 230, 28-38.

Tiwari, B. K. 2015. Ultrasound: A clean, green extraction technology. Trends in Analytical Chemistry, 71, 100–109.

Topdaş, E. F., Çakmakçı, S. and Çakıroğlu, K. 2017. The Antioxidant Activity, Vitamin C Contents, Physical, Chemical and Sensory Properties of Ice Cream Supplemented with Cornelian Cherry (*Cornus mas L.*) Paste. Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 23(5), 691-697.

Torres, B., Tiwari, B.K., Partas, A., Cullen, P.J., Brunton, N. and O'Donnel, C.P. 2011. Stability of anthocyanins and ascorbic acid of high pressure processes blood orange juice during storage. Innov. Food Sci. Emerg., 12, 93–97.

Tural, S. and Koca, I. 2008. Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. Scientia Horticulturae, 116, 362–366.

Tzia, C., Liadakis, G. 2003. Extraction Optimization in Food Engineering. ISBN: 0-8247-4108-0, *Chapter-2: Solid–Liquid Extraction*, Marcel Dekker, Inc., 270 Madison Avenue, New York, NY 10016, U.S.A.

Varadharajan, V., Shanmugam, S. and Ramaswamy, A. 2016. Model generation and process optimization of microwaveassisted aqueous extraction of anthocyanins from grape juice waste. Journal of Food Process Engineering, 40, 1-9.

Vazquez-Espinosa, M., Gonzalez de Peredo, A. V., Ferreiro-Gonzalez, M., Carrera, C., Palma, M., Barbero G. F. and Espada-Bellido, E. 2019. Assessment of Ultrasound Assisted Extraction as an Alternative Method for the Extraction of Anthocyanins and Total Phenolic Compounds from Maqui Berries (*Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz). Agronomy, 9, 148, doi:10.3390/agronomy9030148.

Velyamov, S. M., Jingilbaev, S. S. and Akterian, S. G. 2019. Ultrasound-assisted and agitated enzymatic extraction of pectin from red beet (*Beta vulgaris L. var. conditiva*) roots. Bulgarian Journal ıf Agricultural Science, 25(1), 196-202.

Wang, L. J. 2010. Advances in extraction of plant products in nutraceutical processing. In: Pathak Y (ed) Handbook of nutraceuticals, vol II: Scale up, processing and automation. CRC Press/Taylor & Francis, Boca Raton, pp 15–52.

Wang, W., Jung, J., Tomasino, E. and Zhao, Y. 2016. Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. LWT - Food Science and Technology, 72, 229-238.

Wang, L., Boussetta, N., Lebovka, N. and Vorobiev, E. 2018. Comparison of conventional and ultrasound-assisted aqueous extraction of soluble matter and phenolic compounds from apple flesh. European Food Research and Technology, 244, 1683–1689.

Wei, E. W., Yang, R., Zhao, H. P., Wang, P. H., Zhao, S. Q., Zhai, W. C., Zhang, Y. and Zhou, H. L. 2019. Microwave-assisted extraction releases the antioxidant polysaccharides from seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides L.*) berries. International Journal of Bıological Macromolecules, 123, 280-290.

West, B. J., Deng, S., Jensen, C. J., Palu, A. K. and Berrio, L. F. 2012. Antioxidant, toxicity, and iridoid tests of processed Cornelian cherry fruits. International Journal of Food Science and Technology, 47(7), 1392–1397.

Xu, D. P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S. and Li, H. B. 2017. Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. Food Chemistry, 217, 552-559.

Xue, H., Xu, H., Wang, X., Shen, L., Liu, H., Liu, C., Qin, Q., Zheng, X. and Li, Q. 2018. Effects of Microwave Power on Extraction Kinetic of Anthocyanin from Blueberry Powder considering Absorption of Microwave Energy. Hindawi Journal of Food Quality, Article ID 9680184, https://doi.org/10.1155/2018/9680184, 13 pages.

Yeşilören-Akal, G. 2019. Siyah Havuç Posasından Antosiyanin Ekstraksiyonu. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 217 s.

Yilmaz, K. U., Zengin, Y., Ercisli, S., Orhan, E., Yalcinkaya, E., Taner, O. and Erdogan, A. 2009. Biodiversity, Ex-Situ Conservation and Characterization of Cornelian Cherry (*Cornus mas l.*) Genotypes in Turkey. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 23, 1143-1149.

Zhao, C. N., Zhang, J. J., Li, Y., Meng, X. and Li, H. B. 2018. Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Melastoma sanguineum* Fruit: Optimization and Identification. Molecules, 23, 2498, doi:10.3390/molecules23102498.

Zhou, S., Fang, Z., Lü, Y., Chen, J., Liu, D. and Ye, X. 2009. Phenolics and antioxidant properties of bayberry (Myrica rubra Sieb. et Zucc.) pomace. Food Chemistry, 112, 394-399.

EKLER

EK 1 Maserasyon Varyans Analizi Çizelgeleri

EK 2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri

EK 3 Ohmik Isıtma Destekli Ultrasonik Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri

EK 4 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri

EK 5 Ohmik Isıtma Destekli Mikrodalga Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri

EK 6 Tüm Ekstraksiyon Yöntemleri için Varyans Analizi Çizelgeleri

EK 1 Maserasyon Varyans Analizi Çizelgeleri

Çizelge 1 Katı:çözücü oranı belirleme denemesi ile elde edilen TFB sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Katı:çözücü oranı	Sabit	6	1:3, 1:5, 1:10, 1:15, 1:20, 1:30

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	5	4.0159	0.8032	28.64	0.000
Hata	6	0.1683	0.0280		
Toplam	11	4.1841			

Çizelge 2 MS ile elde edilen TFB sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	2.4715	1.2357	41.05	0.007
Hata	3	0.0903	0.0301		
Toplam	5	2.5618			

Çizelge 3 MS ile elde edilen suda çözünür katı madde sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	16.00	8.00	1.36	0.380
Hata	3	17.68	5.89		
Toplam	5	33.68			

Çizelge 4 MS ile elde edilen L* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	12.079	6.039	26.86	0.012
Hata	3	0.674	0.225		
Toplam	5	12.753			

Çizelge 5 MS ile elde edilen a* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	5.133	2.566	10.40	0.045
Hata	3	0.740	0.247		
Toplam	5	5.873			

Çizelge 6 MS ile elde edilen b* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	5.9039	2.9519	76.33	0.003
Hata	3	0.1160	0.0387		
Toplam	5	6.0199			

EK 2 Ultrasonik Destekli Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri

Çizelge 1 Sonikasyon süresi belirleme denemesi ile elde edilen TFB sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Sonikasyon süresi	Sabit	6	1, 20, 40, 60, 80, 90, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Sonikasyon süresi	6	21.031	3.505	21.70	0.000
Hata	7	1.131	0.162		
Toplam	13	22.162			

Çizelge 2 UDE yöntemi ile elde edilen TFB sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	43.1649	43.1649	10.7912	59.26	0.000
Katı:çözücü oranı	2	1.4977	1.4977	0.7488	4.11	0.038
Sonikasyon süresi*Katı:çözücü oranı	8	3.9192	3.9192	0.4899	2.69	0.047
Hata	15	2.7317	2.7317	0.1821		
Toplam	29	51.3134				

Çizelge 3 UDE yöntemi ile elde edilen suda çözünür katı madde sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	1445.62	1445.62	361.40	134.79	0.000
Katı:çözücü oranı	2	55.82	55.82	27.91	10.41	0.001
Sonikasyon süresi* Katı:çözücü oranı	8	64.58	64.58	8.07	3.01	0.031
Hata	15	40.22	40.22	2.68		
Toplam	29	1606.24				

Çizelge 4 UDE yöntemi ile elde edilen L* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	44.6818	44.6818	11.1704	601.10	0.000
Katı:çözücü oranı	2	42.2490	42.2490	21.1245	1136.74	0.000
Sonikasyon süresi* Katı:çözücü oranı	8	1.7485	1.7485	0.2186	11.76	0.000
Hata	15	0.2788	0.2788	0.0186		
Toplam	29	88.9580				

Çizelge 5 UDE yöntemi ile elde edilen a* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	63.7500	63.7500	15.9375	5691.97	0.000
Katı:çözücü oranı	2	38.4191	38.4191	19.2096	6860.56	0.000
Sonikasyon süresi* Katı:çözücü oranı	8	6.6684	6.6684	0.8335	297.70	0.000
Hata	15	0.0420	0.0420	0.0028		
Toplam	29	108.8795				

Çizelge 6 UDE yöntemi ile elde edilen b* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	45.8840	45.8840	11.4710	755.83	0.000
Katı:çözücü oranı	2	0.5581	0.5581	0.2791	18.39	0.000
Sonikasyon süresi* Katı:çözücü oranı	8	19.7331	19.7331	2.4666	162.53	0.000
Hata	15	0.2276	0.2276	0.0152		
Toplam	29	66.4028				

EK 3 Ohmik Isıtma Destekli Ultrasonik Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri

Çizelge 1 OH-US yöntemi ile elde edilen TFB sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Elektrik alan şiddeti	Sabit	3	20, 30, 40
Bekletme süresi	Sabit	3	1, 10, 20
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Elektrik alan şiddeti	2	2.2117	2.2117	1.1058	1.45	0.242
Bekletme süresi	2	7.8089	7.8089	3.9044	5.13	0.009
Sonikasyon süresi	4	36.8820	36.8820	9.2205	12.10	0.000
Elektrik alan şiddeti*Bekletme süresi	4	4.2067	4.2067	1.0517	1.38	0.251
Elektrik alan şiddeti*Sonikasyon süresi	8	7.3208	7.3208	0.9151	1.20	0.314
Bekletme süresi*Sonikasyon süresi	8	5.9456	5.9456	0.7432	0.98	0.464
Hata	61	46.4711	46.4711	0.7618		
Toplam	89	110.8467				

Çizelge 2 OH-US yöntemi ile elde edilen suda çözünür katı madde sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Elektrik alan şiddeti	Sabit	3	20, 30, 40
Bekletme süresi	Sabit	3	1, 10, 20
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Elektrik alan şiddeti	2	67.30	67.30	33.65	2.56	0.085
Bekletme süresi	2	116.79	116.79	58.40	4.45	0.016
Sonikasyon süresi	4	2256.95	2256.95	564.24	42.98	0.000
Elektrik alan şiddeti*Bekletme süresi	4	148.94	148.94	37.23	2.84	0.032
Elektrik alan şiddeti*Sonikasyon süresi	8	172.49	172.49	21.56	1.64	0.132
Bekletme süresi*Sonikasyon süresi	8	162.25	162.25	20.28	1.54	0.161
Hata	61	800.82	800.82	13.13		
Toplam	89	3725.54				

Çizelge 3 OH-US yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 20 V/cm-10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	7.150	1.788	10.92	0.011
Hata	5	0.818	0.164		
Toplam	9	7.968			

Çizelge 4 OH-US yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 30 V/cm-1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	7.769	1.942	7.02	0.028
Hata	5	1.383	0.277		
Toplam	9	9.152			

Çizelge 5 OH-US yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 20 V/cm-80 dk. sonikasyon süresi)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Bekletme süresi	Sabit	3	1, 10, 20		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Bekletme süresi	2	0.9684	0.4842	12.37	0.036
Hata	3	0.1175	0.0392		
Toplam	5	1.0859			

Çizelge 6 OH-US yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 20 V/cm-20 dk. sonikasyon süresi)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Bekletme süresi	Sabit	3	1, 10, 20		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Bekletme süresi	2	0.05916	0.02958	11.95	0.037
Hata	3	0.00743	0.00248		
Toplam	5	0.06658			

Çizelge 7 OH-US yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 20 V/cm-10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	1.4902	0.3726	9.05	0.016
Hata	5	0.2057	0.0411		
Toplam	9	1.6960			

Çizelge 8 OH-US yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 40 V/cm-10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	0.47044	0.11761	12.69	0.008
Hata	5	0.04634	0.00927		
Toplam	9	0.51677			

Çizelge 9 OH-US yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 30 V/cm-20 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Sonikasyon süresi	Sabit	5	1, 20, 40, 60, 80		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Sonikasyon süresi	4	0.5754	0.1438	4.54	0.064
Hata	5	0.1586	0.0317		
Toplam	9	0.7340			

EK 4 Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri

Çizelge 1 MDE yöntemi ile elde edilen TFB sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Mikrodalga gücü	Sabit	2	180, 360
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Mikrodalga gücü	1	35.330	35.330	35.330	9.40	0.004
Ekstraksiyon süresi	4	1248.795	1248.795	312.199	83.05	0.000
Katı:çözücü oranı	2	96.369	96.369	48.184	12.82	0.000
Mikrodalga gücü*Ekstraksiyon süresi	4	28.752	28.752	7.188	1.91	0.128
Mikrodalga gücü*Katı:çözücü oranı	2	0.443	0.443	0.221	0.06	0.943
Ekstraksiyon süresi*Katı:çözücü oranı	8	18.323	18.323	2.290	0.61	0.764
Hata	38	142.854	142.854	3.759		
Toplam	59	1570.866				

Çizelge 2 MDE yöntemi ile elde edilen suda çözünür katı madde sonuçlarının varyans analizi (1:5 g/mL katı:çözücü oranında sabit)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Mikrodalga gücü	Sabit	2	180, 360
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Mikrodalga gücü	1	31.752	31.752	31.752	3.83	0.079
Ekstraksiyon süresi	4	129.888	129.888	32.472	3.92	0.036
Mikrodalga gücü*Ekstraksiyon süresi	4	1.728	1.728	0.432	0.05	0.994
Hata	10	82.800	82.800	8.280		
Toplam	19	246.168				

Çizelge 3 MDE yöntemi ile elde edilen suda çözünür katı madde sonuçlarının varyans analizi (1:10 g/mL katı:çözücü oranında sabit)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Mikrodalga gücü	Sabit	2	180, 360
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Mikrodalga gücü	1	34.848	34.848	34.848	4.50	0.060
Ekstraksiyon süresi	4	88.088	88.088	22.022	2.84	0.082
Mikrodalga gücü*Ekstraksiyon süresi	4	18.392	18.392	4.598	0.59	0.675
Hata	10	77.440	77.440	7.744		
Toplam	19	218.768				

Çizelge 4 MDE yöntemi ile elde edilen suda çözünür katı madde sonuçlarının varyans analizi (1:15 g/mL katı:çözücü oranında sabit)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Mikrodalga gücü	Sabit	2	180, 360
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Mikrodalga gücü	1	86.94	86.94	86.94	4.12	0.070
Ekstraksiyon süresi	4	152.27	152.27	38.07	1.80	0.205
Mikrodalga gücü*Ekstraksiyon süresi	4	8.23	8.23	2.06	0.10	0.981
Hata	10	210.91	210.91	21.09		
Toplam	19	458.34				

Çizelge 5 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 180 W-150 dk.)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	14.924	7.462	11.09	0.041
Hata	3	2.018	0.673		
Toplam	5	16.941			

Çizelge 6 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 180 W-1:5 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	82.82	20.70	14.03	0.006
Hata	5	7.38	1.48		
Toplam	9	90.19			

Çizelge 7 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 180 W-1:10 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	50.22	12.56	9.72	0.014
Hata	5	6.46	1.29		
Toplam	9	56.68			

Çizelge 8 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 180 W-1:15 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	26.27	6.57	5.99	0.038
Hata	5	5.48	1.10		
Toplam	9	31.75			

Çizelge 9 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 360 W-1:5 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	68.45	17.11	7.84	0.022
Hata	5	10.92	2.18		
Toplam	9	79.37			

Çizelge 10 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 360 W-1:10 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	43.05	10.76	9.73	0.014
Hata	5	5.53	1.11		
Toplam	9	48.58			

Çizelge 11 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 180 W-120 dk.)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	14.656	7.328	21.15	0.017
Hata	3	1.039	0.346		
Toplam	5	15.695			

Çizelge 12 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 180 W-150 dk.)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	40.886	20.443	52.37	0.005
Hata	3	1.171	0.390		
Toplam	5	42.057			

Çizelge 13 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 180 W-180 dk.)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	21.470	10.735	51.34	0.005
Hata	3	0.627	0.209		
Toplam	5	22.098			

Çizelge 14 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 360 W-120 dk.)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	19.460	9.730	21.61	0.017
Hata	3	1.351	0.450		
Toplam	5	20.811			

Çizelge 15 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 360 W-180 dk.)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	24.225	12.112	18.77	0.020
Hata	3	1.936	0.645		
Toplam	5	26.161			

Çizelge 16 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 360 W-1:15 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	15.063	3.766	12.28	0.008
Hata	5	1.533	0.307		
Toplam	9	16.596			

Çizelge 17 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 360 W-180 dk.)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Katı:çözücü oranı	Sabit	3	1:5, 1:10, 1:15		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Katı:çözücü oranı	2	12.916	6.458	11.78	0.038
Hata	3	1.645	0.548		
Toplam	5	14.561			

Çizelge 18 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 180 W-1:10 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	35.77	8.94	7.05	0.027
Hata	5	6.34	1.27		
Toplam	9	42.11			

Çizelge 19 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 180 W-1:15 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	51.67	12.92	9.34	0.015
Hata	5	6.91	1.38		
Toplam	9	58.28			

Çizelge 20 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 360 W-1:5 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	13.131	3.283	9.94	0.013
Hata	5	1.652	0.330		
Toplam	9	14.782			

Çizelge 21 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 360 W-1:10 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	38.031	9.508	16.36	0.004
Hata	5	2.906	0.581		
Toplam	9	40.937			

Çizelge 22 MDE yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 360 W-1:15 g/mL)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	5	10, 60, 120, 150, 180

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	4	55.96	13.99	10.32	0.012
Hata	5	6.78	1.36		
Toplam	9	62.74			

EK 5 Ohmik Isıtma Destekli Mikrodalga Ekstraksiyon Varyans Analizi Çizelgeleri

Çizelge 1 OH-MD yöntemi ile elde edilen TFB sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Elektrik alan şiddeti	Sabit	3	20, 30, 40
Bekletme süresi	Sabit	3	1, 10, 20
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Elektrik alan şiddeti	2	0.11	0.11	0.06	0.11	0.897
Bekletme süresi	2	0.89	0.89	0.44	0.85	0.436
Ekstraksiyon süresi	2	2520.57	2520.57	1260.28	2413.49	0.000
Elektrik alan şiddeti*Bekletme süresi	4	2.45	2.45	0.61	1.17	0.339
Elektrik alan şiddeti*Ekstraksiyon süresi	4	8.48	8.48	2.12	4.06	0.008
Bekletme süresi*Ekstraksiyon süresi	4	11.21	11.21	2.80	5.37	0.002
Hata	35	18.28	18.28	0.52		
Toplam	53	2561.99				

Çizelge 2 OH-MD yöntemi ile elde edilen suda çözünür katı madde sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Elektrik alan şiddeti	Sabit	3	20, 30, 40
Bekletme süresi	Sabit	3	1, 10, 20
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	p
Elektrik alan şiddeti	2	2.655	2.655	1.327	0.26	0.772
Bekletme süresi	2	0.379	0.379	0.190	0.04	0.963
Ekstraksiyon süresi	2	958.388	958.388	479.194	94.29	0.000
Elektrik alan şiddeti*Bekletme süresi	4	30.341	30.341	7.585	1.49	0.226
Elektrik alan şiddeti*Ekstraksiyon süresi	4	0.759	0.759	0.190	0.04	0.997
Bekletme süresi*Ekstraksiyon süresi	4	16.687	16.687	4.172	0.82	0.521
Hata	35	177.873	177.873	5.082		
Toplam	53	1187.081				

Çizelge 3 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 20 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	4.502	2.251	10.77	0.043
Hata	3	0.627	0.209		
Toplam	5	5.129			

Çizelge 4 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 20 V/cm, 10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	3.469	1.734	14.86	0.028
Hata	3	0.350	0.117		
Toplam	5	3.819			

Çizelge 5 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 30 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	2.71773	1.35886	355.65	0.000
Hata	3	0.01146	0.00382		
Toplam	5	2.72919			

Çizelge 6 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 30 V/cm, 10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	6.0183	3.0092	108.75	0.002
Hata	3	0.0830	0.0277		
Toplam	5	6.1013			

Çizelge 7 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 30 V/cm, 20 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	2.488	1.244	11.57	0.039
Hata	3	0.323	0.108		
Toplam	5	2.810			

Çizelge 8 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 40 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	4.8101	2.4050	29.78	0.011
Hata	3	0.2423	0.0808		
Toplam	5	5.0523			

Çizelge 9 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 40 V/cm, 10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	2.2678	1.1339	13.58	0.031
Hata	3	0.2504	0.0835		
Toplam	5	2.5182			

Çizelge 10 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 30 V/cm, 60 dk. Ekst. süresi)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Bekletme süresi	Sabit	3	1, 10, 20		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Bekletme süresi	2	1.1645	0.5822	12.40	0.035
Hata	3	0.1409	0.0470		
Toplam	5	1.3053			

Çizelge 11 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (L*; 30 V/cm, 120 dk. Ekst. süresi)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Bekletme süresi	Sabit	3	1, 10, 20		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Bekletme süresi	2	1.02941	0.51470	84.55	0.002
Hata	3	0.01826	0.00609		
Toplam	5	1.04767			

Çizelge 12 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 20 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	1.4914	0.7457	11.93	0.037
Hata	3	0.1876	0.0625		
Toplam	5	1.6790			

Çizelge 13 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 20 V/cm, 20 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	1.6284	0.8142	31.71	0.010
Hata	3	0.0770	0.0257		
Toplam	5	1.7055			

Çizelge 14 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 30 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	1.8325	0.9162	18.59	0.020
Hata	3	0.1479	0.0493		
Toplam	5	1.9804			

Çizelge 15 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 30 V/cm, 10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	1.2433	0.6216	40.31	0.007
Hata	3	0.0463	0.0154		
Toplam	5	1.2895			

Çizelge 16 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 30 V/cm, 20 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	2.0089	1.0044	24.24	0.014
Hata	3	0.1243	0.0414		
Toplam	5	2.1332			

Çizelge 17 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 40 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	3.0122	1.5061	36.27	0.008
Hata	3	0.1246	0.0415		
Toplam	5	3.1367			

Çizelge 18 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (a*; 40 V/cm, 20 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler		
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120		
Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	2.0034	1.0017	15.63	0.026
Hata	3	0.1923	0.0641		
Toplam	5	2.1957			

Çizelge 19 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 20 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	27.0300	13.5150	140.67	0.001
Hata	3	0.2882	0.0961		
Toplam	5	27.3183			

Çizelge 20 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 20 V/cm, 10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	26.331	13.166	67.06	0.003
Hata	3	0.589	0.196		
Toplam	5	26.920			

Çizelge 21 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 20 V/cm, 20 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	31.9064	15.9532	162.83	0.001
Hata	3	0.2939	0.0980		
Toplam	5	32.2003			

Çizelge 22 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 30 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	29.8155	14.9078	179.31	0.001
Hata	3	0.2494	0.0831		
Toplam	5	30.0649			

Çizelge 23 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 30 V/cm, 10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	30.4967	15.2484	224.72	0.001
Hata	3	0.2036	0.0679		
Toplam	5	30.7003			

Çizelge 24 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 30 V/cm, 20 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	20.767	10.384	97.54	0.002
Hata	3	0.319	0.106		
Toplam	5	21.086			

Çizelge 25 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 40 V/cm, 1 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	28.889	14.444	44.59	0.006
Hata	3	0.972	0.324		
Toplam	5	29.861			

Çizelge 26 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 40 V/cm, 10 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	16.112	8.056	18.80	0.020
Hata	3	1.285	0.428		
Toplam	5	17.397			

Çizelge 27 OH-MD yöntemi ile elde edilen renk değerlerindeki farklılıkların varyans analizi (b*; 40 V/cm, 20 dk. BS)

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Ekstraksiyon süresi	Sabit	3	10, 60, 120

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Ekstraksiyon süresi	2	25.345	12.673	33.11	0.009
Hata	3	1.148	0.383		
Toplam	5	26.494			

EK 6 Tüm Ekstraksiyon Yöntemleri için Varyans Analizi Çizelgeleri

Çizelge 1 TFB sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Yöntemler	Sabit	5	MS, UDE, OH-US, MDE, OH-MD

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Yöntemler	4	1136.416	284.104	1045.20	0.000
Hata	5	1.359	0.272		
Toplam	9	1137.775			

Çizelge 2 TMA sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Yöntemler	Sabit	5	MS, UDE, OH-US, MDE, OH-MD

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Yöntemler	4	0.36259	0.09065	15.82	0.005
Hata	5	0.02865	0.00573		
Toplam	9	0.39124			

Çizelge 3 AA sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Yöntemler	Sabit	5	MS, UDE, OH-US, MDE, OH-MD

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Yöntemler	4	0.26438	0.06610	36.88	0.001
Hata	5	0.00896	0.00179		
Toplam	9	0.27334			

Çizelge 4 pH sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Yöntemler	Sabit	5	MS, UDE, OH-US, MDE, OH-MD

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Yöntemler	4	0.88214	0.22053	111.38	0.000
Hata	5	0.00990	0.00198		
Toplam	9	0.89204			

Çizelge 5 Suda çözünür katı madde sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Yöntemler	Sabit	5	MS, UDE, OH-US, MDE, OH-MD

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Yöntemler	4	648.23	162.06	39.52	0.001
Hata	5	20.50	4.10		
Toplam	9	668.73			

Çizelge 6 L* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Yöntemler	Sabit	5	MS, UDE, OH-US, MDE, OH-MD

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Yöntemler	4	18.233	4.558	13.66	0.007
Hata	5	1.668	0.334		
Toplam	9	19.901			

Çizelge 7 a* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Yöntemler	Sabit	5	MS, UDE, OH-US, MDE, OH-MD

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Yöntemler	4	1.674	0.419	0.81	0.567
Hata	5	2.572	0.514		
Toplam	9	4.247			

Çizelge 8 b* sonuçlarının varyans analizi

Faktör	Tip	Seviye	Değerler
Yöntemler	Sabit	5	MS, UDE, OH-US, MDE, OH-MD

Varyasyon kaynağı	DF	SS	MS	F	p
Yöntemler	4	185.483	46.371	132.94	0.000
Hata	5	1.744	0.349		
Toplam	9	187.227			

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Naciye KUTLU KANTAR

Doğum Yeri : Afyonkarahisar

Doğum Tarihi : 23.09.1987

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise	:	Afyon Kocatepe Anadolu Lisesi (2001-2005)
Lisans	:	Afyon Kocatepe Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü (2005-2009)
Yüksek Lisans	:	Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2011-2013)
Doktora	:	Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı (2013-2019)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl

Araştırma Görevlisi	:	Bayburt Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisligi Bölümü (2018 –)
Araştırma Görevlisi	:	Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisligi Bölümü (2011 - 2018)
Araştırma Görevlisi	:	Bayburt Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisligi Bölümü (Ağustos 2011 – Aralık 2011)
Arge Mühendisi	:	Biskot Bisküvi Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş., Karaman (2009-2011)

Yayınlar (SCI)

Barişik, G., Isci, A., **Kutlu, N.,** Elmaci, S. B., Akay, B. 2016. Optimization of Organic Acid Pretreatment of Wheat Straw. Biotechnology Progress, 32(6), 1487-1493.

Tamer, C., Isci, A., **Kutlu, N.,** Sakiyan, O., Sahin, S., Sumnu, G. 2016. Effect of Drying on Porous Characteristics of Orange Peel. International Journal of Food Engineering, 12(9), 921–928.

Hakemli dergiler

Kutlu, N., İşci, A., Şakıyan-Demirkol, O. 2015. Gıdalarda İnce Tabaka Kurutma Modelleri. Gıda, 40 (1), 39-46.

Kutlu, N., İşci, A. 2016. Kurutma Yöntemlerinin Kiraz Domatesin Kurutma Karakteristikleri Üzerine Etkisi ve Matematiksel Modellemesi. Gıda, 41(4), 197-204.

Kutlu, N., İşci, A. 2016. Farklı Kurutma Yöntemlerinin Patlıcanın Kurutma Karakteristikleri Üzerine Etkisi ve Kurutmanın Matematiksel Modellenmesi. Akademik Gıda, 14(1), 21-46.

Kutlu, N., Yeşilören, G, İşçi, A., Şakıyan, Ö. 2017. Konvansiyonel ekstraksiyona alternatif: Yeşil teknolojiler. Gıda, 42(5), 514- 526.

Kutlu, N., Isci, A. 2017. Drying Characteristics of Zucchini and Empirical Modeling of Its Drying Process. International Journal of Food Studies, 6, 232-244.

Kutlu, N., Bicak, C., Ekinci, D., Kilic, E., Erdem, N., Isci, A., Sakiyan, O. 2018. Application of Response Surface Methodology to Optimize Microwave-Assisted Extraction of Total Phenolic Compounds from Caucasian Whortleberry (*Vaccinium arctostaphylos*).Gıda, 43(2), 264-272.

Ulusal kongre sunum

Kutlu, N., Isci, A. Organik Asitlerin Samanın Enzimatik Hidrolizine Etkisi. Türkiye 11. Gıda Kongresi, 10-12 Ekim 2012, Hatay. (Poster sunum).

Kutlu, N., Isci, A. Mikrodalga ile kurutulan domatesin kurutma karakteristikleri ve matematiksel modellenmesi. TGDF Gıda Kongresi 2013, 12-14 Kasım, Side/Antalya. (Poster sunum).

Kutlu, N., Isci, A. Mikrodalga Ile Kurutulan Patlicanin Bazi Karakteristik Özellikleri ve Modellenmesi. Pamukkale Kurutulmuş Gıdalar Sempozyumu, 13-15 Mayıs 2015, Denizli. (Poster Sunum).

Kutlu, N., Isci, A., Sakiyan O. Kabak Cipsi. Türkiye 12. Gıda Kongresi 05-07 Ekim 2016, Edirne. (Poster sunum).

Uluslararası kongre sunum

Kutlu, N., Isci, A. Drying Behaviour of Zucchini and Eggplant. Euro Food Chem XVII Kongresi, 07-10 Mayıs 2013, İstanbul. (Poster sunum).

Kutlu, N., Özdemir, N. A Traditional Food–The Turkish Delight (Lokum). 2nd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 24-26 Ekim 2013, Struga/Makedonya. (Poster sunum).

Kutlu, N., Isci, A. Drying Characterization of Tomato and Eggplant. 2nd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 24-26 Ekim 2013, Struga/ Makedonya. (Poster sunum).

Kutlu, N., Carkcioglu, E., Sakiyan, O., Isci, A., Ayhan, A., Barbosa-Canovas, G.V., Candogan, K. Microwave Drying: A Novel Processing Step in The Manufacturing of Pastirma. 2nd International Fermented Meat Symposium, 20-23 Ekim 2014, Valencia, İspanya. (Poster sunum).

Kutlu, N., Isci, A., Sakiyan, O. Microwave Applications in Meat Products. 2nd International Fermented Meat Symposium, 20-23 Ekim 2014, Valencia, İspanya. (Poster sunum).

Kutlu, N., Isci, A. Evaluation of Thin-Layer Drying Models For Describing Microwave Drying of Zucchini. 2nd International Congress on Food Technology, 5-7 Kasım 2014, Kuşadası/Aydın. (Sözlü sunum).

Kutlu, N., Demirel, E., Tuncer, G., Taş, P., Pekgöz, F., Yeşilören, G., Sakıyan Demirkol, Ö., İşci, A. Determination and Modelling of Microwave Drying Characteristics of Red Beet. 3rd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 1-4 October 2015, Saraybosna/Bosnahersek (Poster sunum).

Kutlu, N., Demirel, E., Tuncer, G., Taş, P., Pekgöz, F., Yeşilören, G., İşci, A., Sakıyan Demirkol, Ö. Drying Characteristics of Red Beet and Mathematical Modelling. 3rd International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 1-4 October 2015, Saraybosna/Bosnahersek (Poster sunum).

Kutlu, N., Alifaki, O. Y., Isci, A., Sakiyan, O. Microwave Applications in Bakery Products: A Review. 15th International Cereal and Bread Congress (15th ICBC), 18-21 April 2016, İstanbul (Poster sunum).

Alifaki, O. Y., **Kutlu, N.,** Sakiyan, O. Utilization of Response Surface Methodology to Optimize Process Conditions and Formulation of Microwave Baked Rice Cake. 15th International Cereal and Bread Congress (15th ICBC), 18-21 April 2016, İstanbul (Poster sunum).

Tamer, C., Isci, A., **Kutlu, N.,** Sakiyan, O., Sahin, S., Sumnu, G. Effect of Drying on Physical Properties of Orange Peel. 2nd Congress on Food Structure & Design, 26-28 October 2016, Antalya (Poster sunum).

Kutlu, N., Bicak, C., Ekinci, D., Kilic, E., Erdem, N., Isci, A., Sakiyan, O. Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Total Phenolic Compounds From Caucasian Whortleberry (*Vaccinium arctostaphylos*) by Response Surface Methodology. Innovations in Food Science and Technology, 10-12 May 2017, Munich, Germany (Poster sunum).

Kutlu, N., Isci, A., Sakiyan, O. Comparision of Traditional and Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Cornelian Cherry. 4th International Symposium on Traditional Foods from Adriatic to Caucasus, 19-21 April 2018, Girne/K.K.T.C. (Poster sunum).

Barişik, G., Isci, A., **Kutlu, N.,** Elmaci, S. B., Akay, B. Production of bioethanol from organic acid treated wheat straw. 2nd International Conference on Bioresource Technology for Bioenergy, Bioproducts and Environmental Sustainability, 16-19 September 2018, Sitges/İspanya (Poster sunum).

Kutlu, N., Isci, A., Sakiyan, O. Microwave-Assisted Extraction of Total Phenolic Compounds from Cornelian Cherry (*Cornus Mas*). 3rd International Congress on Food Technology, 10-12 October 2018, Nevşehir/Türkiye (Poster sunum).

Demirkol, M., **Kutlu, N.,** Isci, A., Sakiyan, O. Ohmic Heating Applications in Food Engineering: A Review. 3rd International Congress on Food Technology, 10-12 October 2018, Nevşehir/Türkiye (Poster sunum).