T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

YEŞİL EKSTRAKSİYON TEKNİKLERİ KULLANILARAK FINDIK YAN ÜRÜNLERİNDEN DEĞERLİ BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN ELDESİ

Ervanur ELMAS

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

DANIŞMAN
Doç. Dr. Mustafa BENER

II. DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Furkan Burak ŞEN

Haziran, 2025

İSTANBUL

Bu çalışma, [19.06.2025] tarihinde aşağıdaki jüri tarafından [Kimya Anabilim Dalı], [Kimya Programı]nda [Yüksek Lisans tezi] olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

[Doç. Dr.] [Mustafa BENER] (Danışman)
İstanbul Üniversitesi
[Fen Fakültesi]

[Prof. Dr.] [Sema DEMİRCİ ÇEKİÇ]
[İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa]
[Mühendislik Fakültesi]

[Prof. Dr.] [Ayşem ARDA]
[İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa]
[Mühendislik Fakültesi]

İntihal Programı Beyanı

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

Proje Destekleri

Bu tez, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliğinin FYL-2024-40262 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Bu tez, 222O372 numaralı TÜBİTAK projesi ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınların Künye Bilgileri

Elmas, E., Şen, F. B., Kublay, İ. Z., Baş, Y., Tüfekci, F., Derman, H., Bekdeşer, B., Aşçı, Y.S., Capanoglu, E., Bener, M., Apak, R. (2025). Green Extraction of Antioxidants from Hazelnut By-products Using Microwave-Assisted Extraction, Ultrasound-Assisted Extraction, and Pressurized Liquid Extraction. *Food and Bioprocess Technology*, 1-19.

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitim sürecim boyunca bilgisi ve tecrübesiyle yanımda olan Sayın Hocam Doç. Dr. Mustafa BENER'e desteği ve sabrı için teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi Furkan Burak ŞEN'e teşekkür ederim.

Karakterizasyon çalışmalarımda emeği geçen Arş. Gör. İrem Zehra KUBLAY ve manevi desteğini sunan Arş. Gör. Müge YERMEYDAN PEKER'e,

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli aileme ve her daim yanımda olan değerli arkadaşlarım Buket KILIÇ ve İrem ÖZDEMİR'e, desteğini her zaman hissettiren ve yanımda olan sevgili Çağlar SAKLAN'a,

Yüksek lisans eğitimim sırasında ''TÜBİTAK Araştırma Destek Başkanlığı (ARDEB) 1005-Yeni Fikirler ve Ürünler Programı'' kapsamında 222O372 numaralı proje için burs desteği sağlayan Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK)'a,

İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından FYL-2024-40262 numaralı proje kapsamında sağladıkları destek için İstanbul Üniversitesi BAP birimine,

Ve bir kadın olarak akademik ve bilimsel alanlarda var olabilmemizin önünü açan, bu yolda fikirleriyle her daim bizlere ışık olan başöğretmen Ulu Önder Mustafa Kemal ATATÜRK'e Sonsuz teşekkürlerimi sunarım…

Haziran, 2025 Ervanur ELMAS

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **viii**
TABLO LİSTESİ ..... **ix**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **x**
ÖZET ..... **xiii**
SUMMARY ..... **xiv**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **3**
2.1. FINDIK VE YAN ÜRÜNLERİ 3
2.2. BİYOAKTİF BİLEŞENLER 7
2.2.1. Serbest radikaller 9
2.2.2. Flavonoidler 10
2.2.3. Antioksidanlar 15
2.3. FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONUNDA KULLANILAN YÖNTEMLER 16
2.3.1. Soxhlet Ekstraksiyonu 17
2.3.2. Maserasyon 18
2.3.3. İnfüzyon 18
2.3.4. Hidro-destilasyon Yöntemi 19
2.3.5. Ultrases Destekli Ekstraksiyon 19
2.3.6. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon 21
2.3.7. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu 23
2.3.8. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu 24
2.4. DENEYSEL TASARIM 25
2.4.1. Yanıt Yüzey Metodolojisi 25
2.4.1.1. Merkezi Kompozit Dizayn (CCD) *26*
2.4.1.2. Box-behnken Dizaynı *27*
3. MALZEME VE YÖNTEM **28**
3.1. KİMYASALLAR VE CİHAZLAR 28

3.1.1. Kimyasallar....28
3.1.2. Cihazlar....28
3.2. ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI....28
3.2.1. CUPRAC Yöntemi için Çözeltilerin Hazırlanması....28
3.2.2. DPPH Yöntemi için Çözeltilerin Hazırlanması....28
3.2.3. Folin-Ciocalteu Yöntemi İçin Çözeltilerin Hazırlanması....29
3.2.4. ABTS Yöntemi İçin Çözeltilerin Hazırlanması....29
3.2.5. HPLC için Çözeltilerin Hazırlanması....29
3.3. ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI....29
3.3.1. Ekstraksiyon İşlemleri İçin Fındık Örneklerinin Hazırlanması....29
3.4. YÖNTEMLERİN UYGULANMASI....30
3.4.1. MDE İşleminin Uygulanması....30
3.4.2. UDE İşleminin Uygulanması....31
3.4.3. Toplam Antioksidan Kapasitesinin (TAK) Belirlenmesi....32
3.4.4. ABTS Radikali ($ABTS^{\cdot+}$) Süpürme Kapasitesinin (ARSK) Belirlenmesi....33
3.4.5. Serbest Radikal Süpürme Kapasitesinin (SRSK) Belirlenmesi....33
3.4.6. Toplam Fenolik İçerik (TFİ) Belirlenmesi....34
3.4.7. Fenolik Antioksidanların Kromatografik Karakterizasyonu....34
3.4.8. İstatistiksel Analiz....34
4. BULGULAR....36
4.1. EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN MODELLENMESİ VE OPTİMİZASYONU....36
4.1.1. Bağımsız Değişkenlerin Ekstraksiyon Yöntemleri Üzerine Etkisi....38
4.1.2. Varyans Analizi (ANOVA)....40
4.2. FINDIK YAN ÜRÜNLERİNİN ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ....44
4.2.1. Toplam Antioksidan Kapasitesinin İncelenmesi....44
4.2.2. Serbest Radikal Süpürme Kapasitesinin Belirlenmesi....45
4.2.3. Toplam Fenolik İçeriğinin İncelenmesi....45
4.2.4. ABTS Radikali Süpürme Kapasitesinin İncelenmesi....45
4.3. FINDIK YAN ÜRÜNLERİ EKSTRAKTLARININ KROMATOGRAFİK ANALİZİ....46
4.4. EKSTRAKSİYON İŞLEMLERİNİN YEŞİLLİK DEĞERLENDİRMESİ....50
5. TARTIŞMA VE SONUÇ....51
KAYNAKLAR....56

ÖZGEÇMİŞ 67

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Bitkisel sekonder metabolitlerin sınıflandırılması. 8
Şekil 2.2: Temel flavonoid yapısı. 10
Şekil 2.3: Flavonoid çeşitlerinin yapısı. 11
Şekil 2.4: Flavonollerin sübstitüsyon pozisyonları. 11
Şekil 2.5: Flavonların sübstitüsyon pozisyonları. 12
Şekil 2.6: Flavanollerin sübstitüsyon pozisyonları. 12
Şekil 2.7: Flavanonların sübstitüsyon pozisyonları. 13
Şekil 2.8: İsoflavonların sübstitüsyon pozisyonları. 14
Şekil 2.9: Antosiyaninlerin sübstitüsyon pozisyonları. 14
Şekil 2.10: Antioksidanların etkileri. 16
Şekil 2.11: Soxhlet cihazı [77]. 18
Şekil 2.12: Kavitasyon oluşumu. 20
Şekil 2.13: Kapalı ve açık mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi [94]. 22
Şekil 2.14: Farklı tepki yüzeylerinin gösterimi. 26
Şekil 2.15: Box-behnken dizaynı ve merkezi kompozit dizayn modelleri [114]. 27
Şekil 3.1: Fındık yan ürünlerinin hazırlanmasında kullanılan a) öğütücü, b) otomatik elek sistemi. 30
Şekil 3.2: MDE yöntemi aşamaları. 31
Şekil 3.3: UDE yöntemi aşamaları. 32
Şekil 4.1: MDE yöntemiyle bağımsız değişkenlerin bir fonksiyonu olarak a-c) fındık unu ve d-f) fındık iç zarı ekstraktlarının TAK değerlerine ilişkin 3D grafikleri. 39
Şekil 4.2: UDE yöntemiyle bağımsız değişkenlerin bir fonksiyonu olarak g-ı) fındık unu ve j-l) fındık iç zarı ekstraktlarının TAK değerlerine ilişkin 3D grafikleri. 39
Şekil 4.3: MDE tekniği ile a) fındık ununda b) fındık iç zarından ekstraksiyon için önerilen modelde tahmin edilen ve gerçek TAK değerleri arasındaki korelasyon. 42
Şekil 4.4: UDE tekniği ile c) fındık ununda d) fındık iç zarından ekstraksiyon için önerilen modelde tahmin edilen ve gerçek TAK değerleri arasındaki korelasyon. 44
Şekil 4.5: Fenolik bileşiklerin sentetik karışımlarının a) 270 nm b) 320 nm dalga boyundaki kromatogramları. 47
Şekil 4.6: Fındık iç zarı için MDE ekstraktının a) 270 nm b)320 nm dalga boyundaki HPLC-PDA kromatogramları ve fındık ununun UDE ekstraktının c) 270 nm d) 320 nm dalga boyundaki HPLC-PDA kromatogramları. 49
Şekil 4.7: a)MDE ve b) UDE işlemi için AGREE analizi sonuçları (1: numune işleme, 2: numune miktarı, 3: cihaz konumlandırma, 4: numune hazırlama aşamaları, 5: otomasyon, minyatürleştirme, 6: türevlendirme, 7: atık, 8: analiz verimi, 9: enerji tüketimi, 10: reaktiflerin kaynağı, 11: toksisite, 12: operatörün güvenliği). 50

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Dünya fındık üretim alanı (bin ha). 3
Tablo 2.2: Fındık unu içeriğindeki amino asit profili [41]. 6
Tablo 2.3: Flavonollerin sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri. 11
Tablo 2.4: Flavonların sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri. 12
Tablo 2.5: Flavanollerin sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri. 13
Tablo 2.6: Flavanonların sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri. 13
Tablo 2.7: İsoflavonların sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri. 14
Tablo 2.8: Antosiyaninlerin sübstitüsyon pozisyonları ve çeşitleri. 14
Tablo 3.1: Optimizasyon için RSM'de kullanılan bağımsız değişkenler ve değerleri. 35
Tablo 4.1: MDE yöntemi kullanılarak fındık yan ürünleri için bağımsız değişkenlerin FCCD'si ve TAK değerleri. 36
Tablo 4.2: UDE yöntemi kullanılarak fındık yan ürünleri için bağımsız değişkenlerin FCCD'si ve TAK değerleri. 37
Tablo 4.3: FCCD kullanarak elde edilen ikinci derece denklemlerin MDE ile elde edilen ekstraktların TAK değerleri için ANOVA sonuçları. 40
Tablo 4.4: FCCD kullanarak elde edilen ikinci derece denklemlerin UDE ile elde edilen ekstraktların TAK değerleri için ANOVA sonuçları. 42
Tablo 4.5: Fındık yan ürünlerinin TAK değerlerinin troloks eşdeğerleri. 44
Tablo 4.6: Fındık yan ürünlerinin SRSK değerlerinin troloks eşdeğerleri. 45
Tablo 4.7: Fındık yan ürünlerinin TFİ değerlerinin troloks eşdeğerleri. 45
Tablo 4.8: Fındık yan ürünlerinin ARSK değerlerinin troloks eşdeğerleri. 46
Tablo 4.9: Fenolik bileşiklerin alıkonma süreleri, çalışma aralıkları, doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları. 46
Tablo 4.10: Optimum şartlarda hazırlanan fındık yan ürünlerinin ekstraktlarında tespit edilen fenolik bileşiklerin miktarları. 48

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
A	: Absorbans
C	: Karbon
°C	: Derece santigrat
df	: Diferansiyel
dk	: Dakika
g	: Gram
ha	: Hektar
Hz	: Hertz
kHz	: Kilohertz
mg	: Miligram
mg/L	: Miligram/litre
MHz	: Megahertz
mL	: Mililitre
mL/dk	: Mililitre/dakika
nm	: Nanometre
R^2	: Korelasyon katsayısı
t_R	: Alıkonma süresi
V	: Hacim
v/v	: Hacim/hacim
W	: Watt
w/v	: Ağırlık/hacim
W/cm^2	: Watt/santimetre kare
X	: Kodlanmış değişken
%	: Yüzde
α	: Alfa
β	: Beta
β_0	: Model sabiti
γ	: Gama
ε	: Dielektrik sabiti

ε_0 : Deneysel hata

ε_{TR} : molar absorptivite

Δ_A : Absorbans değişimi

µL : Mikrolitre

µm : Mikrometre

Kısaltmalar	**Açıklama**
3D	: Üç boyutlu
ABTS	: 2,2'-Azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sülfonat
AGREE	: Analitik yeşillik hesaplayıcı
ANOVA	: Varyans analizi
ARSK	: ABTS radikali süpürme kapasitesi
BBD	: Box-Behnken dizaynı
BSE	: Basınçlı solvent ekstraksiyonu
BSSE	: Basınçlı sıcak su ekstraksiyonu
CCD	: Merkezi kompozit dizayn
CFA	: Kafeik asit
$CuCl_2$	: Bakır (II) klorür
$CuSO_4$	: Bakır (II) sülfat
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme esaslı antioksidan kapasite
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DPPH	: 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
EPA	: Çevre koruma ajansı
EtOH	: Etanol
FCCD	: Yüz merkezli kompozit dizayn
GA	: Gallik asit
H_2O_2	: Hidrojen peroksit
HNO_2	: Nitröz asit
HOCl	: Hipokloröz asit
HPLC-PDA	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-foto diyot dedektörü
KSE	: Kritik altı su ekstraksiyonu
LOO·	: Lipid peroksil
M	: Molar

MDE : Mikrodalga destekli ekstraksiyon
MeOH : Metanol
mM : Milimolar
mmol : Milimol
N_2O_3 : Dinitrojen trioksit
$NaCO_3$: Sodyum karbonat
NaOH : Sodyum hidroksit
Nc : Neokuproin
NH_4Ac : Amonyum asetat
NO : Azot monoksit
NO_2 : Azot dioksit
$^1O_2$: Singlet oksijen
$O_2\cdot$: Süper oksit
O_3 : Ozon
OCH_3 : Metoksi grubu
OH^- : Hidroksit
$ONOO^-$: Peroksinitrit
PTFE : Politetrafloroetilen
RNS : Reaktif azot türleri
ROO· : Peroksil
ROS : Reaktif oksijen türleri
RSM : Yanıt yüzeyi metodolojisi
RT : Rutin
SRSK : Serbest radikal süpürme kapasitesi
SS : Çözücü-katı oranı
SSE : Sıcak su ekstraksiyonu
TAK : Toplam antioksidan kapasitesi
TFİ : Toplam fenolik içerik
TR : Troloks
TTP : Tokoferol transfer proteini
UDE : Ultrases destekli ekstraksiyon
UV : Ultraviyole
YSSE : Yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEŞİL EKSTRAKSİYON TEKNİKLERİ KULLANILARAK FINDIK YAN ÜRÜNLERİNDEN DEĞERLİ BİYOAKTİF BİLEŞENLERİN ELDESİ

Ervanur ELMAS

İstanbul Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mustafa BENER
II. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Furkan Burak ŞEN

Fındık (*Corylus avellana* L.), Betulaceae ailesinin bir üyesi olup dünya genelinde en çok tüketilen yemiş türlerinden biridir. Ekonomik açıdan bakıldığında kozmetik, gıda ve şekerleme gibi farklı endüstri alanlarında yaygın bir kullanımı vardır. Fındık tüketiminin fazla olması beraberinde atık olarak adlandırılan yan ürünlerin miktarını da arttırmaktadır. Küresel boyutta sürdürülebilirliğin önem kazanmasıyla birlikte gıda atıklarının değerlendirilmesi ve geri dönüştürülmesi için yapılan çalışmalar da önem kazanmıştır. Bu sebeple, fındık tüketimi ile açığa çıkan ve atık olarak nitelendirilen yan ürünlerin değerlendirilmesi ve dönüştürülmesi önemlidir. Kimyasal içerik açısından bakıldığında fındıktan elde edilen yan ürünlerin doymamış yağ, amino asit, protein, fenolik bileşikler, tokoferoller ve fitosteroller gibi biyoaktif bileşenlerce zengin olduğu bilinmektedir.

Bu tez çalışması kapsamında fındık iç zarı ve fındık yağı çıkarma işleminden geriye kalan fındık unu kullanılmıştır. Yan ürünlerden biyoaktif bileşenlerin elde edilebilmesi için uygun ekstraksiyon yöntemleri belirlenerek en fazla verim elde edilebilmesi için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Ekstraksiyon çalışmaları kapsamında literatürde yeşil ekstraksiyon yöntemleri olarak belirtilen mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Yan ürünler için her iki ekstraksiyon yönteminde optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktların toplam antioksidan kapasite (TAK) değerleri hesaplanarak maksimum verimin elde edildiği ekstraksiyon yöntemi ve parametreleri belirlenmiştir. Aynı zamanda antioksidan özelliklerin detaylı olarak analizi için farklı yöntemler uygulanmıştır. HPLC-PDA sistemi kullanılarak optimum koşullarda elde edilen ekstraktların fenolik karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin her birinin yeşilliğinin belirlenmesi için AGREE yazılımı kullanılmıştır.

Tarih girmek için burayı tıklatın., 82 sayfa.

Anahtar kelimeler: Fındık yan ürünleri, Yeşil ekstraksiyon, Antioksidanlar, Endüstriyel atık değerlendirme

SUMMARY

EXTRACTION OF VALUABLE BIOACTIVE COMPOUNDS FROM HAZELNUT BY-PRODUCTS USING GREEN EXTRACTION TECHNIQUES

M.Sc. THESIS

Ervanur ELMAS

İstanbul University
Institute of Graduate Studies in Sciences
Department of Chemistry

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Mustafa BENER
Co-Supervisor : Assist. Prof. Dr. Furkan Burak ŞEN

Hazelnut (*Corylus avellana* L.), a member of the Betulaceae family, is one of the most widely consumed nuts worldwide. From an economic perspective, it is extensively used in various industries such as cosmetics, food and confectionery. The high consumption of hazelnuts also leads to an increase in the quantity of by-products, which are often classified as waste. With the growing global emphasis on sustainability, studies focused on the evaluation and recycling of food waste have gained importance. Therefore, it is crucial to valorize and transform the by-products generated through hazelnut consumption. In terms of chemical composition, it is known that hazelnut by-products are rich in bioactive compounds such as unsaturated fatty acids, amino acids, proteins, phenolic compounds, tocopherols and phytosterols.

In this thesis study, hazelnut meal- leftover materials after oil extraction- were used. To obtain bioactive compounds from these by-products, suitable extraction methods were identified and optimization studies were carried out to achive maximum yield. Within the scope of the extraction studies, two green extraction techniques reported in the literature- microwave assisted extraction and ultrasound assisted extraction were utilized. Optimization processes were conducted for both methods in relation to the by-products. The total antioxidant capacity (TAC) values of the obtained extracts were calculated and the extraction method and parameters providing the highest yield were determined. In addition, various methods were applied for a detailed analysis of antioxidant properties. Phenolic characterization of the extracts obtained under optimal conditions was performed using an HPLC-PDA system. The AGREE software was employed to assess the greenness of each extraction method.

Tarih girmek için burayı tıklatın., 82 pages.

Keywords: hazelnut by-products, Green extraction, Antioxidants, Endustrial waste valorization

1. GİRİŞ

Fındık (*Corylus avellena* L.) tarımsal kaynak olduğu bölgelerde ekonomik ve biyolojik anlamda önemli bir yere sahiptir. Betulaceae familyasının bir üyesi olan bu ağaç yemişi küresel anlamda en yaygın üretilen ve tüketilen türler arasındadır. Ekonomik açıdan bakıldığında gıda, şekerleme ve kozmetik sektörlerindeki önemli kullanım alanı nedeniyle küresel ticaret açısından kıymetlidir [1]. Kimyasal olarak yüksek doymamış yağ asitleri, protein, fenolik bileşikler, tokoferoller ve fitosteroller gibi biyoaktif bileşikler bakımından zengin oldukları için son derece değerlidirler [2]. Bu bileşikler güçlü bir antioksidan ve anti-inflamatuar özellik gösterdiğinden fındığın fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler geliştirmek amacıyla kullanılabilecek değerli bir kaynak haline getirmektedir [3]. Kimyasal bileşimlerinin ve biyoaktivitelerinin incelenmesi, potansiyel sağlık yararlarını ortaya çıkararak fındığı gıda ve ilaç sektörlerinde önemli bir bileşen haline getirmektedir.

Sürdürülebilirlik konusunun giderek daha da fazla vurgulanması sadece çevresel etkileri azaltmak için değil aynı zamanda değerli kaynakları geri kazanmak için de gıda atıklarının değerlendirilmesinin ve geri dönüşümünün önemini arttırmıştır. Genellikle atık olan gıda yan ürünleri, zengin biyoaktif bileşik içerikleri nedeniyle çeşitli endüstrilerde yeniden kullanılabilir. Fındık üretiminin yan ürünü olan fındık atığı, anti inflamatuar ve antimikrobiyal aktiviteler gibi sağlığı destekleyen özellikler gösteren fenolik bileşikler, tokoferoller ve diğer antioksidanların bolluğu açısından özellikle dikkat çekmektedir [4, 5]. Literatürde bulunan çalışmalarda fındık içlerinde ve yan ürünlerinde antioksidan değeri olan fitokimyasallar tespit edilmiştir [6]. Başka bir çalışmada ise fındık kabuğundan elde edilen antioksidan özütlerinin fitokimyasal profili ve biyolojik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar fındık atığının değerli bir doğal antioksidan kaynağı olduğunu vurgulamıştır [7]. Bu biyoaktif bileşenler ekstrakte edilebilir ve farmasötikler, fonksiyonel gıdalar, nutrasötikler ve kozmetikler de dahil olmak üzere çok çeşitli alanlarda uygulanabilir [8]. Ek olarak fındık kalıntılarının yenilikçi ekstraksiyon yöntemleriyle değerlendirilmesi sadece tarımsal uygulamalara ekonomik değer katmakla kalmaz aynı zamanda atıkları azaltarak dönüşümsel ekonomiye de katkı sağlar [9]. Bu durum çeşitli endüstriyel uygulamalar için önemli bir potansiyel oluşturan yüksek değerli bileşiklerin

kaynağı olarak fındık kabuğu, unu (yağ çıkarma işleminden sonra kalan) ve kavurma işlemleri sonrasında açığa çıkan iç zarı gibi tarımsal yan ürünlerin tam olarak kullanılmasına yönelen araştırmaların önemini de arttırmaktadır.

Sıvı-katı ekstraksiyon, biyoaktif bileşiklerin doğal kaynaklardan ayrılması ve saflaştırılması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Maserasyon ve soxhlet ekstraksiyonu gibi yöntemler, bileşenleri ekstrakte etmek için ısı ve zaman parametrelerine dayanır ancak bu da düşük seçicilik ve ısıya karşı duyarlı olan bileşiklerin bozulmasıyla sonuçlanabilmektedir [10]. Ekstraksiyon tekniklerindeki güncel gelişmeler bu yöntemlerle elde edilen ekstraktların verimini arttırmış, çevresel zararı en aza indirmiş ve hedef analitlerin geri kazanımını arttırmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE) ve ultrases destekli ekstraksiyon (UDE) gibi yeşil ekstraksiyon yöntemleri, verimlilik ve sürdürülebilirlik anlamında önemli avantajlar sunmaktadır.

Bu tez çalışmasında iki farklı fındık yan ürününden (fındık iç zarı ve fındık unu) antioksidan bileşiklerinin ekstraksiyonu için MDE ve UDE yöntemleri kullanılarak optimizasyon işlemi gerçekleştirilmiş ve modellemesi yapılmıştır. Bağımsız değişkenlerin ekstraksiyon süreçlerine etkisi tartışılıp her iki yöntem için optimum koşullar belirlenmiştir. Etanol-su karışımı göreceli olarak daha düşük bir toksisiteye sahip olduğundan antioksidanların çözünebilmesi için çözücü olarak seçilmiştir. Optimum koşullarda elde edilen ekstraktların antioksidan özellikleri spektrofotometrik yöntemler kullanılarak değerlendirilip fenolik profilleme için yüksek performanslı sıvı kromatografisi-foto diyot dedektörü (HPLC-PDA) sistemi kullanılmıştır.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. FINDIK VE YAN ÜRÜNLERİ

Fındık, bitkiler aleminin fagel takımı, *betulaceae* familyası, corylus cinsi içinde yer almaktadır. Yapılan arşiv çalışmaları sonucunda fındığın kültürel menşeinin Çin olduğu, daha sonrasında İran'a geçtiği ve oradan da Doğu Karadeniz kıyılarına dikildiği belirlenmiştir [11]. Fındık Dünya'da en çok yetişen kabuklu yemiş türlerinden biridir. Avrupa fındığı olarak isimlendirilen (*Corylus avellana L.)* Avrupa ve Asya'nın büyük bir kısmında yetişmektedir [12]. Dünya'da fındık üretiminde ilk sıralarda yer alan Türkiye, toplam üretimin %71'ini karşılamaktadır [13]. Türkiye'den sonra İtalya ve Azerbaycan üretimde önemli konumdadırlar. Fındık ihracatında %56'lık oranla Türkiye ilk sırada yer alırken ABD, İtalya ve Gürcistan Türkiye'yi takip eden ülkelerdendir (Tablo 2.1) [14].

Tablo 2.1: Dünya fındık üretim alanı (bin ha).

Ülkeler	**2021**	**2020**	**2019**	**2018**	**2017**	**2016**	**2015**	**2014**	**2013**
Türkiye	739	735	734	728	707	705	434	423	423
İtalya	83	80	79	79	74	69	72	72	71
Azerbaycan	49	45	43	39	36	32	27	25	25
İran	26	25	25	26	25	24	31	21	20
Gürcistan	26	18	13	9	12	16	19	19	22
Diğer	118	114	108	93	87	85	79	73	72
Dünya	1039	1017	1002	974	940	931	662	633	633

Türkiye'de ticari olarak fındık üretiminin tamamına yakını Sakarya, Ordu, Samsun, Giresun, Düzce, Trabzon, Zonguldak, Kocaeli, Artvin, Bartın, Kastamonu, Sinop, Gümüşhane, Rize, Bolu ve Tokat illerinde gerçekleşmektedir [15]. Fındık tarımı yapılan bu iller üç bölgeye ayrılmaktadır:

Birinci standart bölge: Artvin, Rize, Trabzon, Giresun ve Ordu illeri birinci standart bölge olarak kabul edilmektedir. Bu bölge eski fındık üretim bölgesi olarak nitelendirilir. Bu bölgede dekar başına verim düşük ve yıllık verim dalgalanmaları fazladır.

İkinci standart bölge: Kocaeli, Sakarya, Bartın, Düzce, Bolu, Zonguldak, Kastamonu, Sinop ve Samsun illeri ikinci standart bölge olarak kabul edilmektedir. Bölgenin coğrafi avantajları sayesinde ekim alanları iç kesimlere kadar ilerlemiştir. Bu bölgede yer alan illerde fındık alanları yeni olup genellikle endüstriyel amaçlı kullanılmaktadır. Verim daha yüksek ve üretim alanları gittikçe genişlemektedir.

Çerezlik bölge: Bursa ve İstanbul başta olmak üzere 25 ili kapsamaktadır. Bu bölgelerde yetişen fındıklar genellikle iç pazarda çerez olarak tüketilmekte olup dış ticaret açısından değeri olmamaktadır [15].

Türkiye'de yetişen fındık türleri acı, cavcava, çakıldak, foşa, kalınkara, kan, karafındık, kargalak, mincane, palaz, tombul, uzunmusa, incekara, kuş, sivri, yuvarlak badem ve yassı badem olarak sıralanabilir [16].

Fındık çeşitlerinde temel olarak üç temel yağ asidi bulunmaktadır. Bu yağ asitlerinden ilki %79,4 oranında bulunan oleik asittir. Sonrasında %14 linolenik asit ve %5,4 oranında palmitik asit bulunmaktadır. Fındık türlerinde niasin, B_2 vitamini, B_6 vitamini, askorbik asit, folik asit, retinol ve tokoferol de oldukça fazla bulunan biyoaktif bileşen türleridir. Esansiyel amino asitlerden arginin, lösin ve esansiyel olmayan amino asitlerden glutamik asit ve aspartik asit en fazla bulunan amino asit türlerindendir. Bunların yanında mineral açısından da oldukça zengin olan fındık türlerinin 100 gramında 863 mg potasyum, 186 mg mangan, 173 mg magnezyum, 5,6 mg kalsiyum, 4,2 mg demir, 2,9 mg çinko, 2,6 mg sodyum ve 2,3 mg bakır bulunmaktadır [16].

Fındık kabuğu, fındığın toplam ağırlığının yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır. Temel bileşen olarak lignin içermektedir. Ligninden hemen sonra hemiselüloz ve selüloz bulunmaktadır [17]. Genel olarak bakıldığında fındık kabukları ağırlıkça %2,1-6,7 arasında protein; %0,20-1,55 yağ ve %0,8-2,0 kül içermektedir [18-21]. Fındık kabuğunun içeriğindeki hemiselüloz, kuru ağırlığının yaklaşık %25 ini oluşturmaktadır [22]. Lignoselüloz karmaşık yapılı ve bozulmalara karşı oldukça dirençli bir molekül olduğundan fındık kabuğunun değerlendirilmesini zorlaştırmaktadır fakat yeni yöntemler ve uygulamalar yardımı ile biyoaktif moleküllerin geri kazanımında ilerleme kaydedilmektedir [23-25]. Lignin, antimikrobiyal ve antioksidan kaynağı

olarak kullanılmasının yanı sıra mikro kapsülasyon malzemesi, UV engelleyici, yüzey aktif madde ve süperkapasitörlerde de karbonize yapı olarak kullanılmaktadır [26].

Kurutulmuş fındık iç zarı, diyet lifleri açısından son derece zengindir. Ağırlıkça %54,28-69,78 oranında bulunur ve bu miktarın yaklaşık %10'u çözünür liftir. Fındık zarında lipitler de oldukça fazla bulunan moleküllerdendir [27-29]. Bu liflerin çoğu lignin ve fibröz polisakkaritlerdir [30]. Fındık içinin toplam ağırlığının %2,5 ini oluşturan fındık zarı, fındıkta total olarak bulunan polifenolik içeriğin büyük bir çoğunluğunu oluşturmaktadır. Literatürde çiğ veya kavrulmuş fındık zarının 168 ila 378 kat fazla fenolik bileşen içerdiği bildirilmiştir [31]. Başka bir çalışmada ise fındık zarının beslenme ile alınan polifenollerin özellikle flavan-3-ol'lerin büyük bir kısmını içerdiği bildirilmiştir [32]. Yapılan çalışmalar, farklı fındık zarlarının farklı içeriklere sahip olduğunu göstermiştir. Fenolik karakteri gallik asit eşdeğeri olarak 51,9-203,1 aralığında değişmektedir. Bu çalışmalar sonucunda fındık zarının polifenol kaynağı olduğu ve geri dönüştürülmesi gerektiği saptanmıştır.

Fındık zarı, tokoferol açısından zengin bir fındık yan ürünüdür. Zarsız iç fındığa göre yaklaşık iki kat daha fazla toplam tokoferol ($\alpha+\beta+\gamma$) içerdiği bildirilmiştir. α-tokoferol ise bu oranın büyük kısmını oluşturmaktadır [33]. Tokoferollerin biyolojik aktiviteleri in-vitro olarak benzerlik göstermesine rağmen hepatik α-tokoferol transfer proteini (α-TTP) seçici olduğu için plazma ve dokularda diğer izomer tokoferollere göre daha yüksek bulunur ve diğer izomerler daha yüksek oranda metabolize edilip hücre ve vücut dışına atılır [34]. Farklı çalışmalarda fındık zarının α-tokoferol içeriği hem sızma hem de rafine zeytinyağına göre oldukça yüksek olduğu belirtilmiştir [35]. Fındık zarı, oleik asit ve linoleik asit gibi tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri açısından zengindir. Oleik asit, toplam yağ asitleri içinde yaklaşık %75 oranında bulunurken; linoleik asit ise yaklaşık %16 oranında bulunmaktadır. Aynı zamanda eser miktarda linolenik asit ve eikosenoik asit de bulunduğu bildirilmiştir [29]. Doymamış yağ asitleri enerji bakımından en yoğun makro besinlerdir ve kardiyovasküler rahatsızlıklar, kanser riskini azaltma, nöronal gelişim ve bilişsel işlevin desteklenmesi gibi sağlık açısından oldukça faydalı etkilere sahiptir [36].

Literatürde fındık unuyla alakalı oldukça az çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalara bakıldığında fındık unu protein açısından %38,7-54,4'lük oranla oldukça zengindir [37,38]. Fındık ununun yüksek protein içeriği son dönemlerde biyoaktif peptitler üretmek için

kullanımının artmasına neden olmuştur [39,40]. Amino asit profiline bakıldığında fındık proteinlerinin oldukça yüksek kalitede olduğu belirtilmiştir. Dallanmış, zincirli ve sınırlayıcı amino asitler de dahil olmak üzere temel aminoasitlerin çoğu fındık proteininde bulunmaktadır (Tablo 2.2) [41].

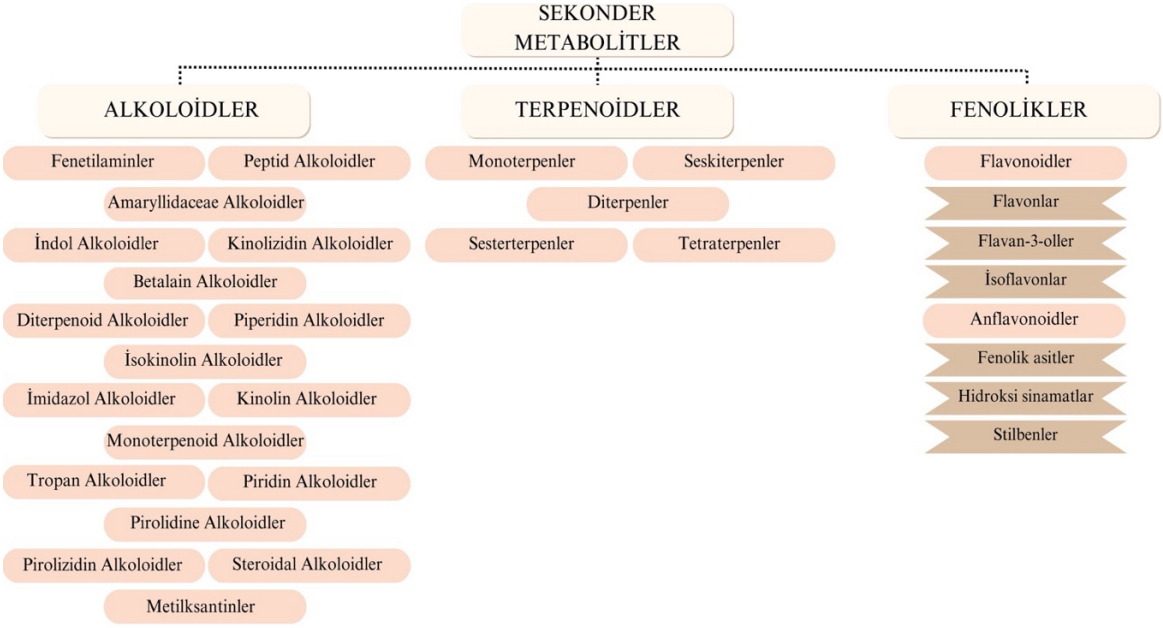
Tablo 2.2: Fındık unu içeriğindeki amino asit profili [41].

Amino asit	**İçerik yüzdesi (%)**
Glutamik asit	23,3
Arginin	14,2
Aspartik asit	10,5
Alanin	4,67
Glisin	4,65
Fenilalanin	4,53
Serin	4,41
Valin	4,37
İzolösin	3,75
Prolin	3,36
Tirozin	2,99
Treonin	2,95
Lisin	2,63
Histidin	2,16
Sistin	1,51
Triptofan	1,42
Methionin	1,07

Fındık ununda şeker içeriği de tespit edilmiştir ve başlıca bulunan şekerler sakkaroz, glikoz, fruktoz ve ksiloz olarak bildirilmiştir [37]. Fındık ununun içerisinde tespit edilen yağ, yağ çıkarma işleminden arta kalan yağdır. Bu sebeple fındık içi içeriğindeki yağ ile fındık unu içeriğindeki yağ literatürdeki ile aynı kabul edilmemektedir. Fındık unu için %80 oleik asit, %9 linoleik asit, %5 palmitik asit, %3 stearik asit, %1 vaksenik asit ve %1 diğer yağ asitlerini içerdiği söylenmektedir [42].

2.2.BİYOAKTİF BİLEŞENLER

Yunanca yaşam anlamına gelen ‘bios’ ve latince eylem yeteneğine sahip olmak anlamındaki ‘activus’ kelimelerinden türeyen biyoaktif tanımı tıp sözlüğüne göre canlı dokuda bir reaksiyona neden olan veya bir cevabı tetikleyen materyal olarak belirtilmektedir [43]. Bitkiler tarafından üretilen sekonder metabolitler biyoaktif kimyasallar olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasallar doğrudan veya dolaylı olarak hayvan ve insanlar üzerinde etkili olabilirler. Bu etkiyi ortaya çıkaran dozaj veya biyoyararlanımdır. Bitkilerin primer metabolizmalarından kaynaklanan sekonder metabolizma, bitkinin çevreyle etkileşimini sağlayıp çevresel strese uyum sağlamasına destek olmaktadır [44]. Bu bileşikler bitkiler için savunma molekülleri olduğundan yokluğundan etkilenmezler. İnsanlar için ise bu moleküller sağlık açısından olumlu etki yaratabilmektedirler. Bitkisel ağırlıklı diyetler ile ilgili yapılan çalışmalar kardiyovasküler hastalıklar, kanser, osteoporoz ve diğer kronik rahatsızlıklar üzerinde önleyici etkiye sahip olduğunu göstermiştir [45-47]. Bitkinin her bir bölümü farklı bir salgı dokusunda biyoaktif kimyasal üretmektedir. Farklı kimyasal özelliklere sahip bu biyoaktif bileşikler farklı organizmalardan alınan hücreler yardımıyla daha yüksek konsantrasyonlarda üretilebilmektedir. Biyoaktif bileşenler sadece belirli koşullar altında üretilebildiklerinden ekstraksiyon ve saflaştırma işlemleri zorlaşmaktadır [48]. Bitkilerdeki sekonder metabolitler kendi aralarında üç temel alt gruba ayrılmaktadırlar; alkoloidler, fenolikler ve terpenoidler. Bu gruplar da kendi aralarında alt gruplara ayrılmaktadırlar (Şekil 2.1) [49].



Şekil 2.1: Bitkisel sekonder metabolitlerin sınıflandırılması.

Biyoaktif bileşenler, doğal ürünlerde ve yağ bakımından zengin maddelerde az miktarda bulunan besin olmayan moleküllerdir. Bu moleküller genellikle bitkisel kaynaklı olup bitkinin büyümesinde ve gelişmesinde faydası olan sekonder metabolittir. Diyetle birlikte alındığında pek çok fayda sağladığı, kardiyovasküler rahatsızlıkları ve kanseri önleme gibi etkileri yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [46]. Literatürde bulunan çalışmalar biyoaktif bileşen olarak adlandırılabilen pek çok bileşik sınıfı olduğunu ortaya çıkarmıştır. Bunlar kimyasal yapı olarak birbirinden farklılık göstermekte ve buna göre ayrılmaktadır. Biyoaktif bileşen olarak adlandırılan gruplardan biri de fenolik bileşiklerdir. Fenolik bileşikler kendi içinde alt kategorilere ayrılabilmektedirler ve bitkiye renk, koku, tat gibi özellikler kazandırmanın yanı sıra bitkinin hastalıklardan korunması ve patojenlere karşı direnç kazandırması gibi önemli fonksiyonları da bulunmaktadır. Bitkilerin tamamında bulunan fenolik bileşikler; tahıllar, baklagiller, zeytinyağı, fındık, sebzeler, meyveler, çay, kırmızı şarap gibi maddelerde çok daha fazla bulunurlar. Fenolikler en fazla çeşidi olan sekonder kimyasallardır. Birçok kimyasal yapı, benzen halkasına bağlanmış tek hidroksil grubu nedeniyle fenolik olarak adlandırılır. Bilinen 25.000'den fazla fenolik çeşidinin büyük çoğunluğu etkili antioksidanlardır [50]. Polifenolik bileşikler doğada bol miktarda bulunur ve farklı fizyolojik ve morfolojik aktivitelere sahip önemli bir sekonder metabolit kategorisidir. Bitkilerde fitoaleksinler, cezbediciler, kovucular, ligandlar ve UV radyasyonundan koruma gibi faktörlerinin hepsi bu kimyasallar sayesinde

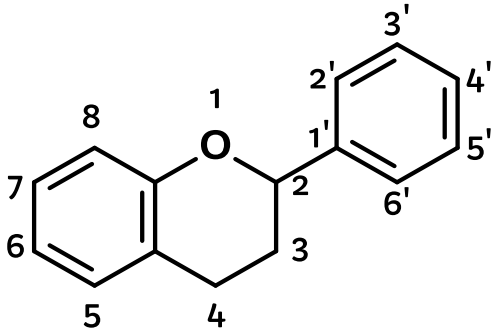
gerçekleşmektedir. Ayrıca bu kimyasallar bitkilerde lezzet ve aroma açısından da önemli bir etkiye sahiptir. İnsanlar, yüksek antioksidan kapasiteleri sayesinde antibakteriyel, anti-inflamatuar ve antiviral etkiler gösteren, ayrıca hastalık riskini azaltmaya yardımcı olan bu polifenolik bileşikleri diyetlerinde kullanmaktadır [51]. Polifenolik içerik bitkilerin yaşam döngüsünün farklı zamanlarında değişiklik gösterebilir ve bu nedenle tutarsızdır [52].

2.2.1. Serbest radikaller

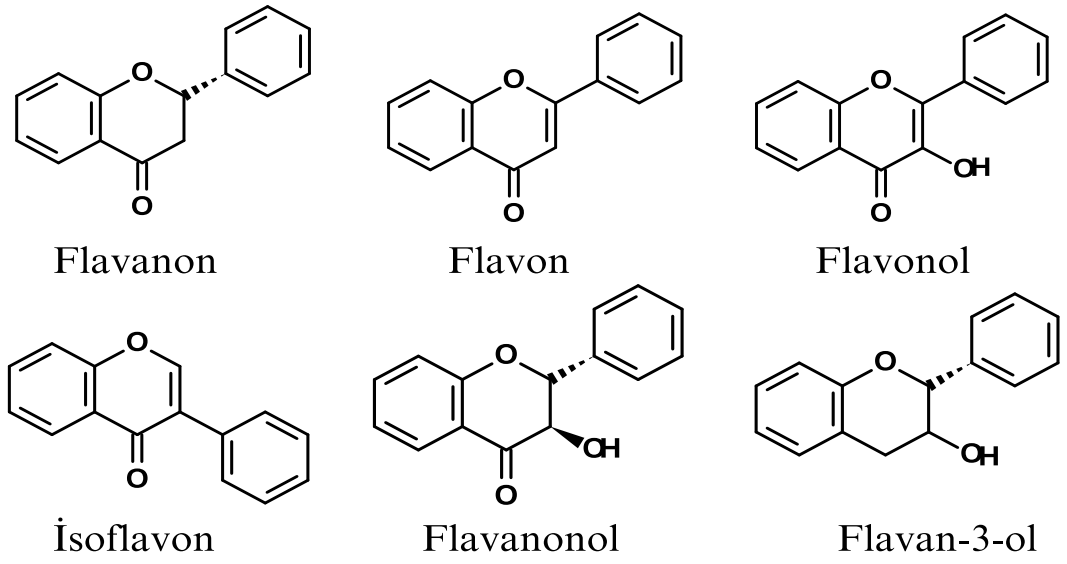
Serbest radikaller, dış kabuklarında bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip olan yüksek enerjili atomlar veya moleküller olarak tanımlanır. Bu eşleşmemiş elektronların varlığı nedeniyle, serbest radikaller diğer maddelerle kolayca reaksiyona girerler. Öte yandan, eşleşmiş elektronlara sahip atomlar veya moleküller genellikle kararlı bir yapıya sahiptir ve bu da serbest radikallere kıyasla reaksiyona girme eğilimlerinin daha düşük olmasına neden olur. Bu nedenle, radikal olmayanlar, eşleşmemiş elektronlardan yoksun kararlı moleküller olarak karakterize edilir ve bu da radikallerin dışındaki maddelerle daha zayıf reaksiyona girmelerine neden olur. Serbest radikaller oksijen ve nitrojen kaynaklı olabilir; oksijen kaynaklı olanlar reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılırken, nitrojen kaynaklı olanlar reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak bilinir [53]. Birincil serbest radikaller hidroksil (OH·), süperoksit ($O_2{\cdot}^-$), nitrik oksit (NO·), azot dioksit ($NO_2{\cdot}$), peroksil (ROO·) ve lipid peroksildir (LOO·). Oksidanlar arasında hidrojen peroksit (H_2O_2), ozon (O_3), singlet oksijen ($^1O_2$), hipokloröz asit (HOCl), nitröz asit (HNO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$) ve dinitrojen trioksit (N_2O_3) bulunur. Bunlar serbest radikal değildir. Serbest radikal reaksiyonlarının canlılarda kolaylıkla üretildiği iddia edilmektedir. Ayrıca, birçok ciddi hastalıkta önemli rol oynayan ve oksijen içeren serbest radikaller arasında deoksiribonükleik asit (DNA), proteinler, karbonhidratlar ve lipidlerde bulunan hidroksil radikali, süperoksit anyon radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen, hipoklorit, nitrik oksit radikali ve peroksinitrit radikali yer almaktadır. Biyolojik olarak temel bileşenleri yok etme yetenekleri nedeniyle çekirdeklerde ve hücre zarlarında son derece reaktif türlerdir [54]. Oksidatif stres, antioksidan eksikliği sonucu hücresel metabolizma sırasında oluşan reaktif oksijen türlerinin artması ve oksidatif dengenin bozulmasından kaynaklanır. Artan oksidatif stres, hücre içi lipid ve protein yapılarındaki çift bağ içeren gruplara ve DNA'ya zarar vererek zincirleme oksidasyon olaylarını katalize eder. Bu da hücre içi lipidler, proteinler ve DNA gibi makromolekülleri bozarak hücre hasarına veya ölümüne neden olur [55].

2.2.2. Flavonoidler

Flavonoidler olarak adlandırılan ve sekonder metabolit olan polifenolik yapılar, meyvelerde, sebzelerde ve bazı içeceklerde bol bulunurlar. Flavonoidler nutrasötik, farmasötik, terapötik ve kozmetik kullanımları oldukça yaygındır [56]. Flavonoidler, bitkilerde antioksidan, antimikrobiyal, fotoreseptör, görsel çekici, beslenme itici ve ışık taraması yapma gibi roller üstlenirler. Literatürde bulunan çalışmalarda bu maddelerin antialerjik, antiviral, anti-inflamatuar ve damar genişletici özellikler gibi biyolojik faaliyetler de gösterdikleri bildirilmiştir. Aynı zamanda flavonoidlerin, serbest radikal oluşumunu azaltma ve serbest radikalleri temizleme özelliklerinden dolayı antioksidan aktiviteleri ortaya konulmuştur [57].

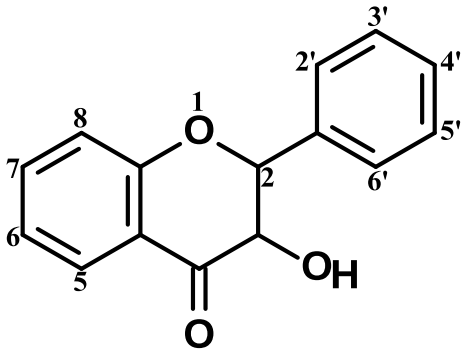


Şekil 2.2: Temel flavonoid yapısı.



Şekil 2.3: Flavonoid çeşitlerinin yapısı.

Flavonoidlerin en yaygın alt sınıfı flavonollerdir. Bu alt sınıfın en bilinen ve önemli bileşikleri ise kuersetin, kamferol, fisetin ve mirisetindir. Kuersetin bitkilerde bulunan en temel flavonollerden biridir. Çay, soğan, elma ve lahanada yüksek oranda flavonoller bulunmaktadır [58].

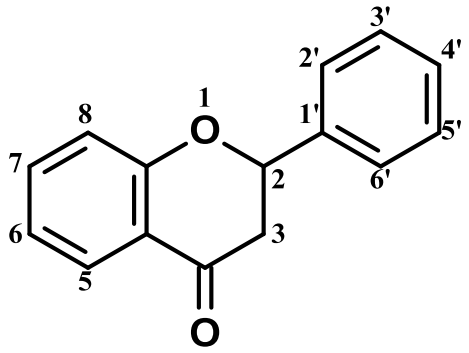


Şekil 2.4: Flavonollerin sübstitüsyon pozisyonları.

Tablo 2.3: Flavonollerin sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri.

Flavonoller	5	7	3’	4’	5’
Kuersetin	OH	OH	OH	OH	-
Kamferol	OH	OH	-	OH	-
Fisetin	-	OH	OH	OH	-
Mirisetin	OH	OH	OH	OH	OH

Bir başka alt sınıf olan flavona ait yaygın bileşikler ise luteolin, krisin ve apigenindir. Maydanoz, kereviz ve zeytin flavonca zengindir [58].

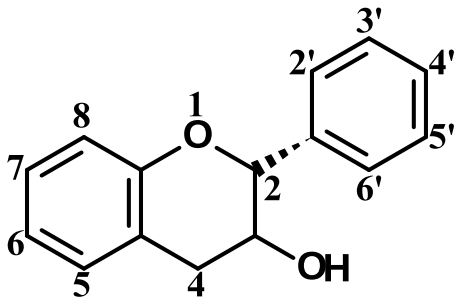


Şekil 2.5: Flavonların sübstitüsyon pozisyonları.

Tablo 2.4: Flavonların sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri.

Flavonlar	5	7	3’	4’
Luteolin	OH	OH	OH	OH
Krisin	OH	OH	-	-
Apigenin	OH	OH	-	OH

Flavanoller, flavonların indirgenmiş halidir ve en önemli üyeleri kateşin ve epikateşindir. Bu moleküllerin gallik asitle reaksiyonunda kateşin gallat ve epikateşin gallat meydana gelir. Flavanoller, yeşil çay, şeftali, kırmızı şarap, beyaz şarap ve elmada bulunurlar [58].

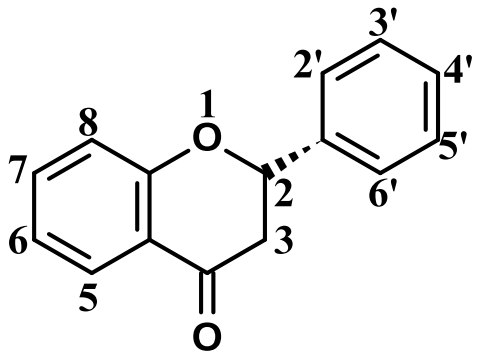


Şekil 2.6: Flavanollerin sübstitüsyon pozisyonları.

Tablo 2.5: Flavanollerin sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri.

Flavanoller	3	5	7	3’	4’	5’
Kateşin	βOH	OH	OH	OH	OH	-
Epikateşin	αOH	OH	OH	OH	OH	-
Epigallokateşin	αOH	OH	OH	OH	OH	OH

Flavanonlar, flavonların türevlendirilmiş halidirler. Sınıfın en önemli yapıları naringenin, naringin, hesperetin ve hesperidin’dir. Flavanonlar, greyfurt ve portakalda bolca bulunmaktadırlar [58].

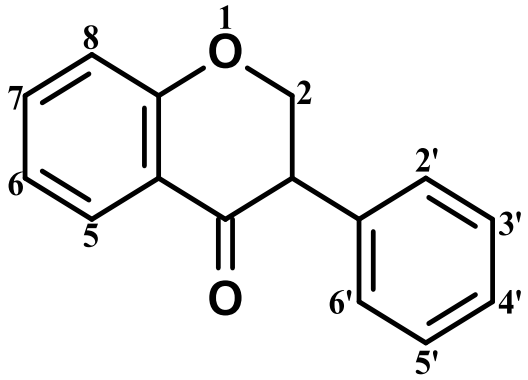


Şekil 2.7: Flavanonların sübstitüsyon pozisyonları.

Tablo 2.6: Flavanonların sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri.

Flavanonlar	5	7	3’	4’
Naringenin	OH	OH	-	OH
Naringin	OH	O-Rha-Glu	-	OH
Hesperetin	OH	OH	OH	OCH_3
Hesperidin	OH	O-Rha-Glu	OH	OCH_3

İsoflavonların en bilinen bileşikleri ise genistein ve daidzein’dir. Baklagillerde ve soya fasülyesinde oldukça bol miktarda isoflavonlar bulunurlar [58].

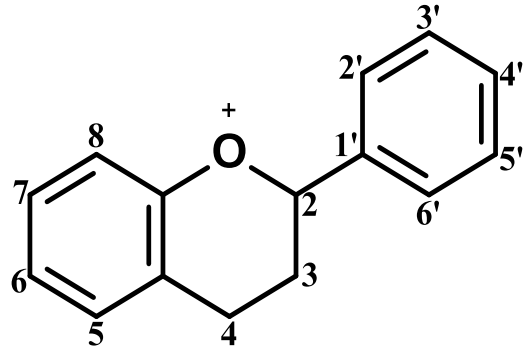


Şekil 2.8: İsoflavonların sübstitüsyon pozisyonları.

Tablo 2.7: İsoflavonların sübstitüsyon pozisyonlarına göre çeşitleri.

İsoflavonlar	5	7	4’
Genistein	OH	OH	OH
Daidzein	-	OH	OH

Antosiyaninler çiçekler ve meyvelerde kırmızı, mavi ve mor rengini veren, suda çözünebilen önemli bir bitki pigmenti sınıfıdır. Siyanidin, malvidin ve delfinidin bu grubun önemli üyelerindendir [58].



Şekil 2.9: Antosiyaninlerin sübstitüsyon pozisyonları.

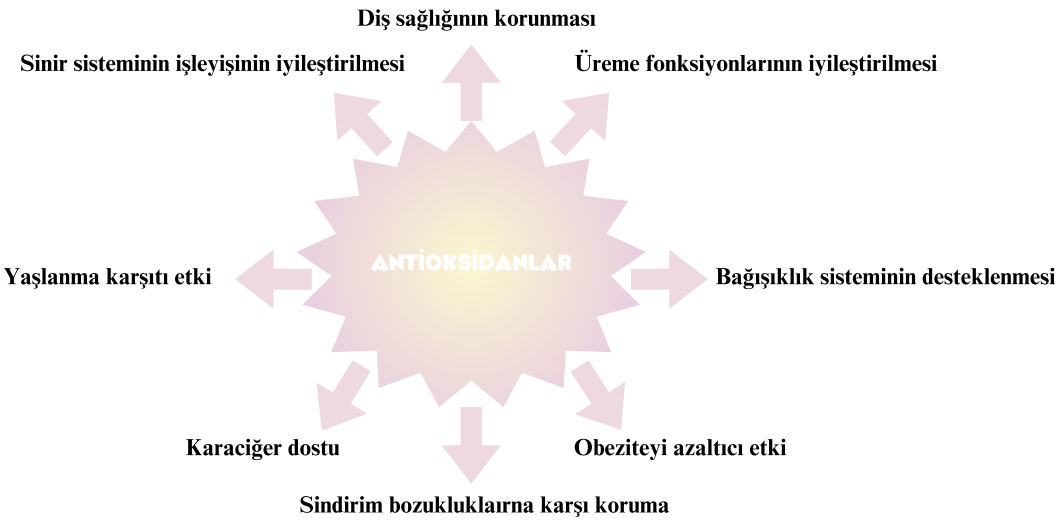
Tablo 2.8: Antosiyaninlerin sübstitüsyon pozisyonları ve çeşitleri.

Antosiyaninler	3	5	7	3’	4’	5’
Siyanidin	OH	OH	OH	OH	OH	-
Malvidin	OH	OH	OH	OCH_3	OH	OCH_3
Delfinidin	-	OH	OH	OH	-	OH

2.2.3. Antioksidanlar

Antioksidanların yaygın tanımı kararlı ve zararsız kimyasalların özellikle düşük konsantrasyonlarda oksidanları güçlü şekilde inhibe etmesi olarak söylenebilir [59]. Antioksidanlar, ROS ve serbest radikalleri nötralize ederek ya da etkilerini minimuma indirerek hücreleri zarardan korur [60]. Oksijen, tüm canlılar için hayatidir ve mitokondri enerji üretmek için oksijen kullandığı için serbest radikaller, özellikle ROS ve RNS, açığa çıkar. Serbest radikal türleri lipitler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler olmak üzere dört moleküle saldırırlar [61]. İnsan vücudu, artan reaktif tür miktarı ile başa çıkabilmek için bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Homeostazın sürdürülebilmesi, serbest radikalleri temizleyebilen ve reaktif türlerin üretim ve eliminasyonunun dengede etkili olmasını sağlayan bir iç mekanizma gerekir. Oksidatif stres, biyolojik sistemlerin redoks durumunu kontrol edebilen antioksidanlar tarafından önlenebilir. Bu engelleyici işlev, hasarı önlemek ve hastalık belirtilerini minimum indirmek açısından önemlidir [62]. Hücre ve dokularda hasara neden olan serbest radikallerin reaksiyonlarını ve bununla birlikte ortaya çıkan oksidatif stresin etkilerini önleyen veya geciktiren maddeler antioksidan olarak tanımlanmıştır. Serbest radikaller, dış kabuklarında bağ kurmamış elektronlara sahip atom veya moleküllerdir ve hücresel metabolizma veya dış etkenlerle açığa çıkarlar. Son derece reaktif olan bu moleküller hücre DNA'sını, protein ve lipitleri oksitleyerek zarar vermektedir. Parkinson hastalığı, hücre deformasyonu, kanser, organlar ve dokularda hasarlar, hemodiyaliz hastalıkları gibi olumsuz sonuçları bulunmaktadır [63]. Antioksidanlar ise bu gibi durumlarda reaktif oksijen ve reaktif azot türlerinin oksidatif hasarını engelleme özelliği göstermektedir [64]. Oksidasyona sebep olan serbest radikaller ve bu durumu engelleyen antioksidanlar arasındaki denge durumu bozulduğunda oksidatif stres adı verilen durum ortaya çıkmaktadır. Biyolojik olarak üretilen katalaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidanların yeterli gelmediği durumlarda dışardan antioksidan takviyesi önemlidir. Gıdalar, besin takviyeleri veya enzimatik olmayan antioksidanlar yardımıyla bu eksiklik giderilebilmektedir [65]. Antioksidanlar endojenik ve ekzojenik olarak ikiye ayrılabilmektedirler. Endojen antioksidanlar; insan vücudu tarafından üretilirken eksojen antioksidanlar ise vücut tarafından üretilmeyen, dolayısıyla dışarıdan gıda yoluyla alınan antioksidanlardır. Bu grubun büyük kısmını ise polifenoller oluşturmaktadır [66]. Antioksidan aktivitesi, oksidatif hasarı önleme, serbest radikalleri süpürme ve lipid peroksidasyon reaksiyonlarını inhibe etme yeteneği olarak tanımlanabilmektedir. Bu özellik

büyük çoğunlukla molekülün kimyasal yapısıyla ilişkilidir [67]. Antioksidan kapasitesi ve antioksidan aktivitesi farklı tanımlardır. Kapasite, serbest radikal süpürülmesinin ölçüsü iken; aktivite ise antioksidanın oksitleyici molekül ile arasında gerçekleşen reaksiyonun hızı ile ilişkilendirilebilir [68].



Şekil 2.10: Antioksidanların etkileri.

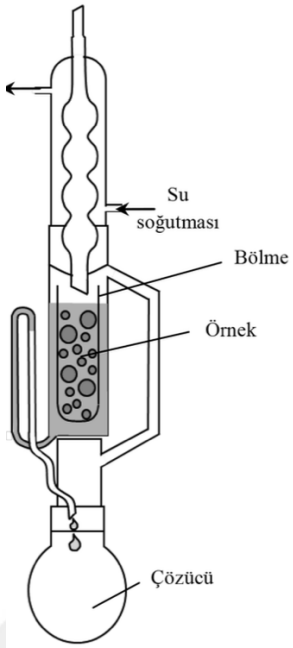
2.3.FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONUNDA KULLANILAN YÖNTEMLER

Biyoaktif bileşenlerin bitkisel kaynaklardan ekstrakte edilmesi, bu maddelerin tanımlanabilmesi ve kullanılabilmesi bakımından önem teşkil etmektedir. Fenolik maddeler bir bitkisel matriks içerisinde serbest veya karbonhidratlar ve yağlar gibi moleküllerle kompleks halde bulunabilirler. Yüksek molekül ağırlığına sahip olan fenolikler ve bunların komplekslerinin suda çözünürlüğü düşük olabilir. Böyle bir yapıya sahip olan fenoliklerin ekstraksiyonu için seçilecek olan çözücü seçimi oldukça önem taşımaktadır. Fenolik maddelerin ekstrakte edilmesinde su, metil alkol, etil alkol, aseton gibi çözücüler ve bunların farklı oranlarda karıştırılmasıyla hazırlanan çözücü karışımları kullanılabilmektedir [69-71]. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon işlemi için ekstraksiyon parametreleri kadar önemli olan bir diğer husus ise ekstraksiyon yöntemi seçimidir. Geleneksel olarak kullanılan ekstraksiyon

yöntemleri zaman, seçicilik, verim, toksisite ve ekstra uygulanması gereken çözücü uzaklaştırma prosesleri gibi istenmeyen unsurlar sebebiyle kullanımları son dönemlerde giderek azalmıştır. Dünyadaki kaynakların hızla tükenmesi, ekonomik sebepler ve çevre kirliliğinin giderek artması araştırmacıları yeşil olarak adlandırılan daha çevreci ekstraksiyon yöntemlerinin kullanılmasına teşvik etmiştir. Çevre dostu, daha az kimyasal kullanılan, uygulama süresi kısa ve yüksek verimli olan süperkritik akışkan ekstraksiyonu, ultrases destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi yöntemler fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır [72-74].

2.3.1. Soxhlet Ekstraksiyonu

Alman araştırmacı Franz Ritter tarafından 1879 yılında yağ ekstraksiyonu için icat edilen soxhlet ekstraksiyonu, daha sonraları biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu için de kullanılmıştır. Ayrıca diğer ekstraksiyon yöntemlerinin etkinliğini değerlendirmek için de kontrol amaçlı kullanılmıştır. Soxhlet cihazının kartuşuna konulan az miktardaki kuru madde ile gerçekleştirilen bu yöntemde çözücü, hedef maddenin (yağ veya biyoaktif bileşen) tamamı ekstrakte edilene kadar kartuş boyunca döngü yapar. Ekstraksiyon işlemi tamamlandıktan sonra santrifüj veya filtreleme gibi işlemlerin uygulanması gerekmez. Ancak ekstraksiyon işlemi çözücünün kaynama sıcaklığında gerçekleştiğinden hedef bileşenlerin bozulma riski yüksektir [75]. Kaynama sıcaklığının üzerine ısıtılan solvent buharları yoğunlaşmanın gerçekleşeceği kondansatöre doğru ilerler ve yoğunlaşarak numunenin üzerine damlar. Bu sayede solvent örneği ıslatır ve daha sonra solvent hacmi sifonun seviyesine ulaşır. Çözücü örnek bölmesini boşaltarak geri damlamaya başlar. Sıcak solvent bu şekilde birkaç kere döner. Ekstrakte edilen analitler solvent şişesine geri döner fakat temiz solvent buharlaşmaya devam eder. Böylece daima temiz solvent ekstraksiyon ortamında dolaşmış olur. Tipik bir solvent ekstraksiyonunda işlem 6 saat ile 24 saat aralığında değişebilmektedir. Solvent hacmi olarak 100 ila 500 mL aralığında değişen büyük hacimlere ihtiyaç duyulabilmektedir. Ekstraksiyon solventi olarak organik çözücüler veya bunların karışımı tercih edilebilir [76].



Şekil 2.11: Soxhlet sistemi [77].

Geleneksel olarak soxhlet yönteminin kullanılmasının bazı avantajları bulunmaktadır. Örneğin sürekli olarak taze solventle temas etmesi, distilasyon balonuna uygulanan sıcaklıkla sistemin sıcaklığının daima sabit kalması ve düşük maliyetli ekipmanlar kullanılması gibi sebepler bu yöntemin kullanımını arttırmaktadır [77]. Dezavantaj olarak ise uzun süreli işlem uygulanması ve kullanılması gereken çözücü miktarının fazla olması örnek verilebilir.

2.3.2. Maserasyon

Maserasyon işlemi eski dönemlerden beri evlerde de kullanılan basit bir ekstraksiyon yöntemidir. Maserasyon işlemini gerçekleştirebilmek için kapalı kaba çözücü ve küçük öğütülmüş numune eklenir. Belli bir süre beklendikten sonra numune içerisinden ekstrakte edilmek istenen bileşen çözücü ortamına geçmiş olur. Çözücü difüzyonunu ve biyoaktiflerin numune yüzeyinden ekstraksiyonunu arttırmak için aralıklarla karıştırma işlemi uygulanabilir. Sıcaklığa karşı hassas olan bileşenlerin ekstraksiyonu için uygun bir yöntemdir. Yöntemin dezavantajı ise uzun süren ekstraksiyon işlemlerine rağmen düşük ekstraksiyon verimidir [75].

2.3.3. İnfüzyon

İnfüzyon yöntemi yaprak ve posa gibi atıklardan uçucu ve çözünebilir biyoaktif bileşenleri çıkarmak için kullanılabilen bir yöntemdir. Numuneler soğuk, sıcak veya her iki tür su veya organik çözücü içinde maserasyon işlemi uygulanmasıdır. Sıvı ekstraktı düşük bir sıcaklıkta

daha da konsantre bir hale getirmek için vakum buharlaştırıcı kullanılabilir. İnfüzyon, atık ve çözücü türüne bağlı olarak değişmekle birlikte, genellikle maserasyona göre daha kısa sürede uygulanır [75].

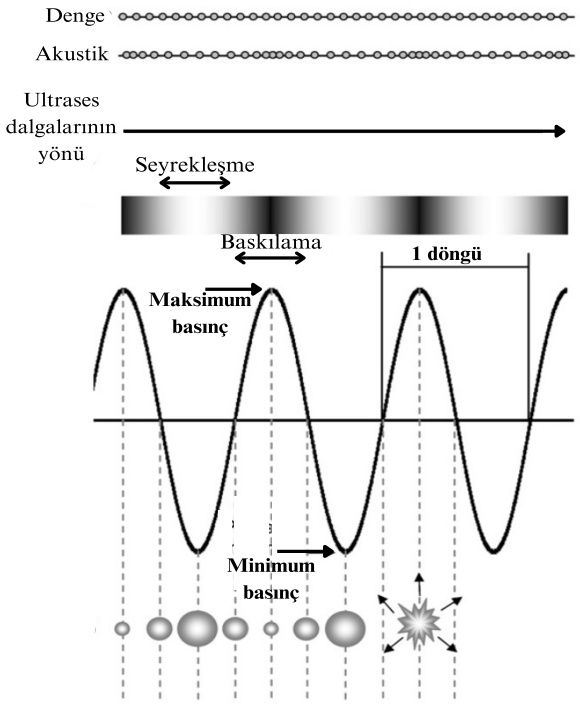
2.3.4. Hidro-destilasyon Yöntemi

Geleneksel olarak kullanılan bu yöntem biyoaktif bileşen ve esansiyel yağ ekstraksiyonu için tek adımlı toplu bir yöntemdir. Bu yöntem genel olarak su destilasyonu, buhar destilasyonu ve su-buhar destilasyonu şeklinde ilerler. Yöntemin prensibi difüzyon, hidroliz ve dekompozisyon işlemidir. Sabit bir kaba yerleştirilen numuneye kaynama sıcaklığındaki su ve doğrudan buhar uygulanır. Sıcak su ve buhar numuneyi yumuşatarak süzme işlemini kolaylaştırır. Uçucu yağlar veya biyoaktif bileşenler, kondansatör yardımıyla seperatöre toplanır. Bu yöntemin avantajı organik çözücülerin kullanılmadan hızlı bir ekstraksiyon gerçekleştirilmesidir [75].

2.3.5. Ultrases Destekli Ekstraksiyon

Gıda endüstrisinde biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu için kullanılan klasik yöntemler ısı ve/veya çalkalama kullanılarak doğru solvent ile kombine etmeye dayanmaktadır. Bitkilerin veya tohumların yapısında bulunan organik bileşenlerin çözücü ekstraksiyonu, ultrasonik güç kullanılarak oldukça verimli hale getirilir. Ultrasesin mekanik etkileri sayesinde hücresel yapılara daha fazla çözücünün etki etmesi sağlanır. Ultrases gücü hücre içeriğini açığa çıkartmak için bitkilerin hücre duvarını parçalaması sayesinde biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyonu verimli şekilde gerçekleşebilir [78]. Bu teknik ile emülsifikasyon, homojenizasyon, ekstraksiyon, kristalizasyon, susuzlaştırma, düşük sıcaklıkta pastörizasyon, gazdan arındırma, köpük giderme, enzimlerin aktivasyonu ve inaktivasyonu, partikül boyutunun küçültülmesi ve viskoziteyi değiştirme gibi uygulamalar gerçekleştirilebilmektedir [79, 80]. Ultrases, esnek bir ortamda yayılabilen mekanik dalgalardan oluşur. İnsanlar 16 Hz-ile 20 kHz frekans aralığındaki sesleri işitebilirken ultrases ise bu aralığın üstünde (20kHz-10MHz) ancak mikrodalga frekansının altındadır. 100 kHz ile 1 MHz arasındaki yüksek frekanslı ultrases, genellikle 1 W/cm^2 ve altında bir güce sahiptir. Bu aralıklardaki ultrases ekstraksiyonu özellikle kalite analizlerinde, gıdanın sertlik, olgunluk, şeker içeriği ve asitlik gibi fizikokimyasal özellikleri hakkında bilgi edinebilmek için analitik bir teknik olarak kullanılmaktadır. 16-100 kHz aralığındaki daha düşük frekansa sahip ultrases, 10-1000 W/cm^2 gibi yüksek bir güçle ekstraksiyon işlemini gerçekleştirir ve bu sayede gıdanın fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirebilir. Düşük frekans aralığındaki uygulamalar sayesinde numune

hazırlama işlemini hızlandırmak ve verimliliği arttırmak da mümkündür [78, 81, 82]. Ultrasonik güç uygulaması kavitasyona neden olmaktadır. Kavitasyon özelliği, ultrasesin frekans ve yoğunluğuna, analitin viskozite ve yüzey gerilimi gibi özelliklerine, ortamın sıcaklık, basınç gibi özelliklerine bağlıdır (Şekil 2.12) [83].



Şekil 2.12: Kavitasyon oluşumu.

Ultrases ekstraksiyonu için manyetik, elektrik veya kinetik enerjiyi akustik enerjiye dönüştürebilecek bir sıvı ortam, enerji kaynağı ve dönüştürücü gerekmektedir [82].

Ultrases destekli ekstraksiyon için kullanılan farklı mekanik düzenekler mevcuttur. Ultrasonik prob doğrudan analit ortamına daldırılarak kullanıldığından diğer ultrases destekli yöntemlere göre avantaj sağlamaktadır. Ayrıca ekstrakte edilebilen ve aynı zamanda kolay bozulabilen analitlerin katı-sıvı ekstraksiyonu için de oldukça güçlü bir yöntemdir. Problarda genlik kontrolü yapılarak prob ucundaki ultrasonik titreşimlerin seviyesi ayarlanabilmektedir. Sıcaklık da bir diğer kontrolü mümkün olan parametrelerdendir. Ultrasonik gücün çözelti ortamına iletilmesi ile çözelti ortamının sıcaklığı yavaş fakat sabit bir şekilde artış gösterir. Bu sıcaklık artışı nedeniyle ortamın fiziksel özellikleri değişebilir ve bu da kavitasyon elde edilmesine engel olabilir. Böyle durumlarda özellikle uzun süreli ekstraksiyon yapılacaksa ‘’pulse’’

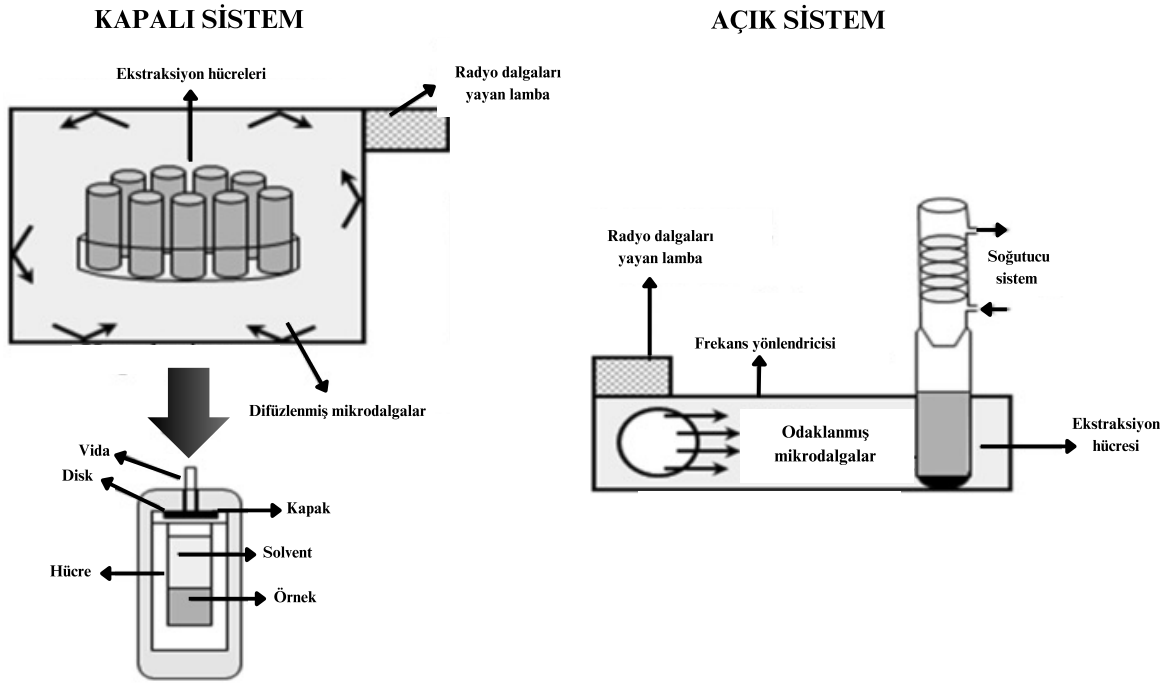
modunda çalışılmasının daha uygun olacağı literatürde belirtilmiştir. Bu modda prob çözelti ortamına gücü belirli aralıklarla uyguladığından sıcaklık artışının önüne geçmede etkili olabilir. Doğru bir ultrasonik prob uygulaması yapabilmek için kullanılan reaksiyon kabının konik şekilli ve çapının olabildiğince küçük olması gerekmektedir. Bu şekilde prob çözeltinin daha derin seviyelerine erişebilir ve kavitasyonu engelleyen köpük oluşumunun önüne geçilir. Bir başka önemli nokta ise probun kabın çeperlerine dokunmasından kaçınmaktır [84].

2.3.6. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Uygun ekstraksiyon yöntemi seçimi ekstrakte edilecek maddenin özelliğine göre değişmektedir. En iyi yöntemi seçim kriteri, bileşenlerin bozulmasının minimum olması ve geri kazanımın maksimum olması yönünde belirlenmektedir [85]. Flavonoid ekstraksiyonu yapılırken yöntemin kalitesi çoğunlukla izolasyonun verimine bağlıdır. Analitteki maddenin konsantrasyonu düştükçe verim daha da önemli hale gelmektedir ki bu durum da kullanılacak yöntemin uygunluğuyla doğrudan ilişkilidir [86]. Son dönemde enerji fiyatlarının artması ve karbon emisyonunu azaltmaya dair yapılan çalışmalar araştırmacıları ekstraksiyon işlemlerinde de daha az enerji ve çözücü kullanmaya yöneltmiştir. Mikrodalga radyasyonunun çözücüler ile olan etkileşimi ekstraksiyon işlemlerinde kullanımın önünü açmakta ve ekstraksiyon verimini de arttırmaktadır. Mikrodalga radyasyonunun frekansı moleküllerin dönme hareketine denk gelir ve yoğunlaştırılmış matriste enerji emilimi moleküller arasında enerjinin yeniden dağılımına ve ortamın eşit bir şekilde ısınmasına neden olur [87].

Mikrodalga ısıtması sırasında çözücünün ilgili matrise tamamen etki etmesini kolaylaştıran ve hedef bileşenlerin elde edilmesini sağlayan iyonların hareketi de mevcuttur [88]. Analit içerisinden kompleks bir maddenin ekstraksiyonu için maddeye ve matrise uygun bir çözücünün kullanılarak hedef yapının serbest bırakılması sağlanmalıdır [89]. Mikrodalga ekstraksiyonu işlemi sırasında matrisin gözenekliliğini arttıran bir basınç oluşur ve bu da çözücünün daha iyi etkileşim kurmasını sağlar [90, 91]. Mikrodalganın oluşturduğu basınç hücrelerde büyümeye yol açar ve bu durum genellikle hücreleri bölünmeye teşvik eder. Bazı durumlarda mikrodalga ekstraksiyonu bitkilerin hücre duvarlarını kırmak için mekanik bir parçalama modülü geliştirebilir ve bu da aktif bileşenlerin çözünme sürecini hızlandırır [92]. Mikrodalga ekstraksiyonu yapılırken organik çözücüler kullanıldığı durumlarda çıkan buharı yoğunlaştırmak amacıyla bir kondansatör kullanılarak aynı çözücünün tekrar kullanılmasına olanak sağlayabilmektedir [93]. Temel olarak iki farklı mikrodalga ekstraksiyon sistemi

kullanılabilmektedir. Bunlardan biri açık kap sistemi diğeri ise kapalı kap sistemi olarak adlandırılmaktadır. Kapalı sistemlerde sıcaklık ve basınç kontrolü sağlanırken açık kap sistemlerinde atmosfer sıcaklığında işlem gerçekleştirilmektedir [94]. Açık kap sisteminde hücreler sıra ile ısıtılır fakat kapalı kap sisteminde eşzamanlı bir ısıtma söz konusudur. Açık kaplardaki sıcaklık değeri çözücünün atmosferik basınç altındaki kaynama noktası ile sınırlıyken kapalı sistemdeki sıcaklık basınç ile değiştirilebilir [95].



Şekil 2.13: Kapalı ve açık mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi [94].

Ekstraksiyon işlemlerinde özellikle de mikrodalga destekli ekstraksiyon işleminde çözücü en önemli faktörlerden birisidir. Genel olarak dielektrik sabiti ve dielektrik kaybı yüksek olan çözücünün mikrodalga enerjisini emme miktarı o kadar yüksek olmaktadır ve bu da çözücünün daha hızlı ısınmasına yol açabilir. Çözücünün bu tip özellikleri farklı çözücü karışımları oluşturularak değiştirilebilir ve farklı bileşikler için seçiciliğinin değiştirilmesine olanak sağlar. Ekstraksiyon işleminin verimli olabilmesi için analit ve çözücünün uyumlu olması gerekmektedir. Polar ve polar olmayan çözücüler mikrodalga destekli ekstraksiyon için kullanılabilir [96-98]. Flavonoidler polarlık bakımından farklılık gösterdikleri için ekstraksiyon işleminde hedef maddenin polaritesine uygun çözücü seçilmelidir. Polarlığı daha az olan maddeler için benzen, kloroform ve eter gibi çözücüler kullanılırken polarlığı daha yüksek olan maddeler için aseton, alkol ve su gibi çözücüler kullanılmaktadır [99]. Literatürde bulunan mevcut çalışmalar ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimini arttırdığını göstermekte fakat

bu artışın orantılı olarak değil küçük atışlar olduğu belirtilmiştir [100]. Yüksek dielektrik özelliklere sahip etanol ve metanol gibi çözücüler daha hızlı ısındıkları için uzun süreli ekstraksiyonlarda çözelti sisteminin aşırı ısınmasıyla hedef bileşiklerin bozulmasına yol açabilmektedir [101]. Yüksek sıcaklık, çözücü molekülleri arasındaki etkileşimi arttırarak çözünürlüğün artmasına yol açar. Sıcaklık artışı aynı zamanda hücresel bir basınç oluşturarak ekstraksiyon işlemini kolaylaştırır. Ayrıca sıcaklık çözücünün viskozitesini azaltacağından ekstraksiyon verimliliği artar [102]. Ekstraksiyon için kullanılacak analitin temas yüzey alanı arttığında ekstraksiyon verimi genelde artmaktadır. Bundan dolayı ekstraksiyon yapılmasından önce öğütme, parçalama, homojenleştirme gibi ön işlemler yapılmaktadır [103].

2.3.7. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu

Basınçlı sıvı ekstraksiyonunda (BSE) ekstraksiyon çözücüsünün su olduğu durumlarda yöntemin çevreciliğini vurgulamak amacıyla literatürde kritik altı su ekstraksiyonu (KSE), sıcak su ekstraksiyonu (SSE), basınçlı sıcak su ekstraksiyonu (BSSE), yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu (YSSE) gibi terimler kullanılmıştır. Yüksek sıcaklık ve basınç değerlerinde suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerinde -özellikle dielektrik sabiti (ε)- meydana gelen önemli değişiklikler suyun ekstraksiyon çözücüsü olarak kullanılmasını kolaylaştırır. Dielektrik sabiti çözünen-çözücü etkileşimlerini belirlemede anahtar bir parametredir ve orta basınç altında sıcaklığın arttırılması bu sabiti önemli ölçüde azaltabilir [104]. Ekstraksiyon sıcaklığı basınçlı sıvı ekstraksiyonu yönteminde verimliliği ve seçiciliği etkileyen önemli bir parametredir. Yüksek sıcaklık, çözücünün, çözünen maddenin ve matrisin yüzey gerilimini azaltarak numunenin ıslanmasını sağlar. Çözücünün yüzey geriliminin azalması, çözücü boşluklarının daha fazla açılmasına ve analitin çözücü içinde daha hızlı çözünmesine olanak sağlar [105]. Ekstraksiyon işleminde basınç uygulanması, çözücünün sıvı formunu korurken kaynama noktası üzerine çıkabilme avantajı sağlamaktadır. Proses sırasında basınç kullanılması matrisi bozarak analitin numune ortamından çözücüye kütle transferini arttırabilmektedir.

Literatürde bulunan çalışmalarda iyonik olmayan sürfaktan çözeltilerinin basınçlı solvent ekstraksiyonu yönteminde alternatif çözücü olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [106].

Bir BSE düzeneğinde 100-150 bar değerlerine kadar ulaşabilen bir sistem kullanılır. Bu sistemde ekstraksiyon gerçekleştirebilmek için birkaç ön işlem uygulamak gerekmektedir. Öncelikle hücre istenen sıcaklık ve basınç değerine ulaşmadan önce sıvı çözücü ile doldurulur. Ardından 5 veya 10 dakika süreyle statik bir ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilir. Basınç

düşürülür ve ekstrakt cam şişelere doldurulur. Ekstraktın tamamının toplandığından emin olmak için hücreler taze çözücüyle durulanır ve hafıza etkisi veya kayıp olmaması için inert bir gaz geçirilir [107]. Böyle bir sistemde basınç faktörünün temel amacı çözücüyü sıvı halde tutmaktır. Ekstraksiyon işleminde önemli bir rolü olmadığından optimize edilmesi gereken parametre sayısını azaltır ve böylece optimizasyon işlemi için harcanan zamanı kısaltır [108]. BSE yöntemi Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemi ile aynı tür matris ve örneklerde uygulanabilmektedir ve bunun yanında soxhlet ve sonikasyon gibi yöntemlerle test edilebilir olduğundan ekstraksiyon metotlarının geliştirilmesine açık bir yöntemdir. Bu sebeple son zamanlarda yönteme olan ilgi giderek artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından resmi olarak kabul edilen bu yöntem yarı uçucu organik kirleticiler için toprağın taranmasını sağlamaktadır [109]. BSE yönteminin dezavantajı genellikle organik çözücüler kullanılmasıdır. Bu çözücüler sınırlı bir seçicilik imkanı sunmaktadır [107].

2.3.8. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Süperkritik akışkan yönteminin ekstraksiyon işlemi için kullanılması Hannay ve Hogarth (1879) tarafından keşfedilmesi ile ortaya çıksa da yöntemin uygulanmış hali olan kahvenin kafeinsizleştirilmesi işlemi ile Zosel (1964) tarafından gerçekleştirilmiştir. O zamandan beri süperkritik akışkan yönteminin uygulamaları bilimsel açıdan ilgi uyandırıcı olmuştur. Başta kafeinsiz kahve üretimi olmak üzere çevresel, farmasötik, polimer ve gıda alanlarında uygulanmıştır [110,111]. Bilindiği üzere maddenin üç temel hali vardır; katı, sıvı ve gaz. Süperkritik durum ise maddenin kritik noktasının üzerindeki sıcaklık ve basınç değerlerinde gözlemlenebilecek bir durumdur [74]. Bir maddenin gaz ve sıvı fazlarının ayırt edici olarak bulunmadığı karakteristik sıcaklık ve basınç değerlerindeki noktaya kritik nokta denmektedir [112]. Süperkritik durumda bulunan bir maddenin spesifik olan gaz veya sıvı özellikleri yok olur ve bu durumda bulunan bir maddenin sıcaklık ve basınç değerleri değiştirilerek sıvı hale getirilemez. Süperkritik akışkan, gaz gibi difüzyon, viskozite ve yüzey gerilimi özellikleri gösterirken sıvı gibi yoğunluk ve çözünme özelliklerini de aynı anda gösterir. Bu gibi özellikler onun ekstraksiyon işleminde kısa sürede yüksek verimli bir sonuç çıkarmasına olanak sağlar [113].

2.4.DENEYSEL TASARIM

Deneysel tasarım, süreç optimizasyonunda en başarılı parametrelerin belirlenmesi ve kontrol edilmesi için popüler bir yaklaşımdır. İstatistiksel yaklaşımlar kullanılarak temel bileşenler belirlenir ve kontrol edilemeyen değişkenler elenir. Farklı faktörlerin yanıt üzerindeki etkisini değerlendirmek için kontrol edilebilen ayarlara sahip bir versiyon içerir. Tasarımın temel amacı, etkili parametreleri bulmak, bu parametrelerin yanıtlar üzerindeki etkisini göstermek, faktörler arasındaki etkileşimleri tespit etmek ve değişkenler ile yanıtlar arasında matematiksel bir bağlantı kurarak optimizasyon ve modelleme yapmaktır [114].

2.4.1. Yanıt Yüzey Metodolojisi

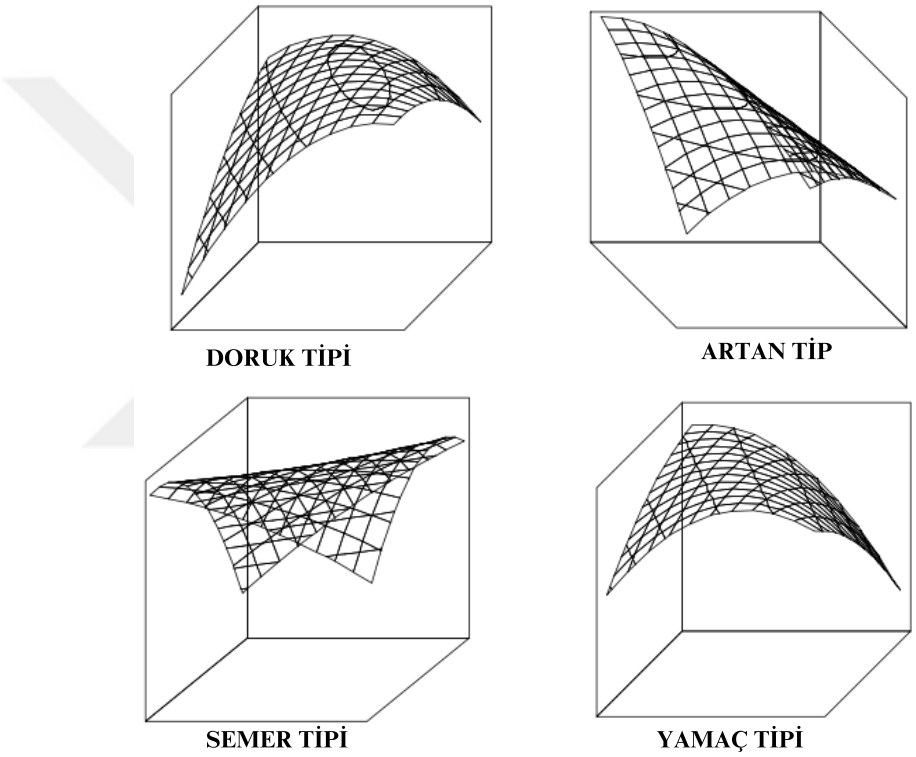
Optimizasyon işlemi, deneysel proseslerin belirlenen amaçlar doğrultusunda değişken parametrelerin birbirleriyle olan ilişkileri ve bunların yanıta olan etkisiyle ilişkilendirilerek ortaya konulan işlemdir [115].

Yanıt yüzeyi metodolojisi (RSM) olarak adlandırılan bir grup istatistiksel ve matematiksel yöntem, süreçlerin oluşturulması, iyileştirilmesi ve optimize edilmesinde yardımcı olmaktadır. Ayrıca, hem yeni ürünlerin tasarımında, geliştirilmesinde ve formülasyonunda hem de önceden var olanların iyileştirilmesinde önemli kullanım alanları vardır [116]. RSM yöntemi seçme, bölge araştırması ve optimizasyon basamaklarından oluşmaktadır. Seçme denilen kısımda daha az ve daha yüksek verimli denemelerin gerçekleştirilebilmesi için uygun olasılıklar belirlenmektedir. Bölge araştırması adımında ise bir önceki basamakta belirlenmiş olan parametrelerin optimal değerlere yakın sonuçlar verip vermediği değerlendirilmektedir. Son olarak optimizasyon adımında ise gerçek değerlerin optimum koşullarda fonksiyonunun eğrileşmesi ile belirlenir. Bu eğriliğin tahmini olarak değerlendirilmesinde lineer olmayan modeller, üstel modeller, eksponansiyel modeller ve ikinci dereceden polinomiyal modeller kullanılmaktadır. Uygun olan modelin belirlenmesinden sonra optimum noktanın araştırılmasında bu modelden faydalanılır [115].

$$\boldsymbol{\gamma = \beta_0 + \sum_{i=1}^{n} \beta_i X_i + \sum_{i=1}^{n} \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{n} \sum_{j=1}^{n} \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon_0} \qquad \textbf{(2.1)}$$

Denklemine göre sistemin tepkisi (γ), model sabiti (β_0), değişkenlerin katsayıları (β_i,β_{ii},β_{ij}), kodlanmış değişkenler (X_i,X_j) ve deneysel hata (ε_0) tanımlanarak buna bağlı olarak model geliştirilir [117].

RSM için öncelikle değişkenler belirlenmelidir. Değişkenlerin belirlenmediği veya yanlış belirlendiği durumda modele önemli bir değişkenin dahil edilmemesi ya da önemsiz bir değişkenin dahil edilmesi durumları oluşabilir. İki durumda da hatalı bir model oluşturularak deneysel süreç olumsuz sonuçlanabilir. Belirlenen değişkenlerin sayısal değerlerine kod verilir ve kodlu değerlere dönüştürülür. Deneme motifleri, 2 farklı tipte olabilmektedir; merkezi kompozit dizayn (central composite design) ve box-behnken dizaynı (box-behnken design). Tepki fonksiyonunun türü ve değişken miktarı, tepki yüzeyinin farklı şekiller almasına sebep olabilir. İkinci dereceden denklemlere bağlı olarak 4 farklı tepki yüzeyi türü elde edilebilmektedir (Şekil 2.14).



Şekil 2.14: Farklı tepki yüzeylerinin gösterimi.

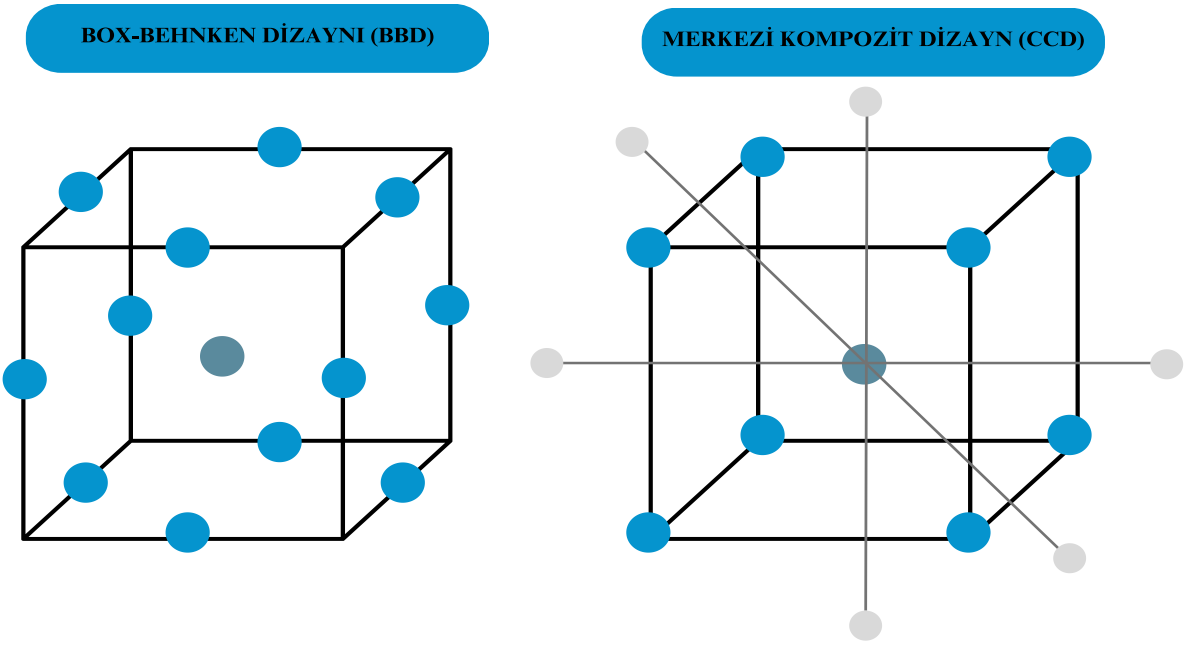
2.4.1.1.Merkezi Kompozit Dizayn (CCD)

En yaygın kullanılan RSM yaklaşımlarından biri, üç unsurdan oluşan ikinci dereceden çok değişkenli bir metodoloji olan merkezi kompozit dizayndır. İki seviyeli faktöriyel tasarım üst ve alt seviyelerdeki mevcut tüm kombinasyonları, $+\alpha$ ve $-\alpha$ seviyelerindeki bir faktör hariç tüm faktörlerin merkezi kodlamaya sahip olduğu noktaları ve merkezi noktayı içerir. Son durumda çıkan model yanıt yüzeyinin eğriliğini ölçerek birincil değişkenler ve etkileşim etkileri için sayısal veriler sağlar [114]. $\alpha=1$ olarak alındığında yüz merkezli bir CCD ve üç seviyeli bir tasarım haline gelmektedir. Yüz merkezli kompozit dizayn'ın (FCCD) eksenel ve faktöriyel

noktaları küpün yüzeyine düşmektedir. FCDD merkez noktalarına ihtiyaç duymaz fakat uyum eksikliği testi yapmak için dahil edilir [118].

2.4.1.2.Box-behnken Dizaynı

Bu dizayn, bir küp modelinin her bir yüzeyindeki orta noktasında bulunan değişkenler ve küpün merkezinde bulunan çoğaltılmış değişkenler ile döndürülebilir ve bağımsız tasarımlardan oluşur. Buradaki her faktör için üç seviye bulunur. Deneysel tasarımın verimliliği, denklemdeki katsayı miktarının deneysel çalışma sayısına bölünmesiyle bulunur. Bağımsız değişkenler ve sonuçlar arasındaki ilişki, bir polinomun karesel ifadesi olarak tanımlanmaktadır [114].



Şekil 2.15: Box-behnken dizaynı ve merkezi kompozit dizayn modelleri [114].

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1.KİMYASALLAR VE CİHAZLAR

3.1.1. Kimyasallar

Tez çalışmasında kullanılan troloks, kuersetin dihidrat, kafeik asit, rutin, gallik asit, 4-hidroksibenzoik asit, p-kumarik asit, 2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil ($DPPH^{\cdot}$), potasyum persülfat, vanilik asit, ferulik asit, salisilik asit, neokuproin ve metanol Sigma-Aldrich'ten; bakır(II) klorür dihidrat, şiringik asit, ve amonyum asetat Merck'ten; 2,2′-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6 sülfonik asit) (ABTS), protokateşeik asit, sinapik asit ve kateşin Fluka'dan; epikateşin gallat Extrasynthese'den; etanol Isolab'dan temin edilmiştir. Fındık örnekleri Türkiye Cumhuriyeti Tarım ve Orman Bakanlığı Fındık Araştırma Enstitüsü'den temin edilmiştir.

3.1.2. Cihazlar

Bu tez çalışmasında Waring marka 8011 EB modeli analitik öğütücü, Shimadzu marka UV-1900i UV-VİS spektrofotometre cihazı ve PDA dedektörlü LC-2050C sıvı kromatografi sistemi, kromatografik ayırma için GL sciences marka InertSustain-C18 (250 mm, 4,6 mm, 5µm) kolon, Ansam Irgat marka Girasun 250 model fındık kırma makinesi, General Makine marka GM1000 soğuk pres yağ makinesi, Retsch marka AS-200 model eleme makinesi, Milestone marka ETHOS EASY mikrodalga ekstraksiyon sistemi, Scientz marka SCIENTZ-IID ultrasonik homojenizatör kullanılmıştır.

3.2.ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

3.2.1. CUPRAC Yöntemi için Çözeltilerin Hazırlanması

Yöntemin uygulanabilmesi için 250 mL'ye konsantrasyonu 10^{-2} M olacak şekilde $CuCl_2$ sulu çözeltisi hazırlandı. 250 mL 7,5 mM konsantrasyonunda Nc çözeltisi EtOH ortamında ve 250 mL hacminde konsantrasyonu 1 M olan NH_4Ac sulu çözeltisi hazırlandı.

3.2.2. DPPH Yöntemi için Çözeltilerin Hazırlanması

Bu yöntem için 100 mL'ye 0,2 mM konsantrasyonunda DPPH çözeltisi MeOH ortamında hazırlandı.

3.2.3. Folin-Ciocalteu Yöntemi için Çözeltilerin Hazırlanması

Yöntemin uygulanabilmesi için 0,1 M NaOH içerisinde $NaCO_3$ %2'lik (w/v) olacak şekilde 50 mL olarak hazırlandı (Lowry A). 10 mL için %0,5 (w/v) $CuSO_4$ tartımı alınıp hacmi %1'lik (w/v) potasyum sodyum tartarat çözeltisi ile tamamlandı (Lowry B). 50 mL Lowry A çözeltisi, 1 mL Lowry B çözeltisi ile karıştırılarak Lowry C çözeltisi elde edildi. Folin-Ciocalteu çözeltisi 1:3 oranında su ile seyreltilerek kullanıldı.

3.2.4. ABTS Yöntemi için Çözeltilerin Hazırlanması

Yöntemin uygulanabilmesi için 7 mM konsantrasyonunda olacak şekilde ABTS çözeltisi ve son konsantrasyonu 2,45 mM olacak şekilde potasyum persülfat çözeltisi aynı ortamda 50 mL hacminde hazırlandı. Hazırlanan bu çözelti 12-16 saat karanlık ortamda ağzı kapalı şekilde bekletildi. ABTS radikal çözeltisi 1:10 oranında su ile seyreltilerek kullanıldı.

3.2.5. HPLC için Çözeltilerin Hazırlanması

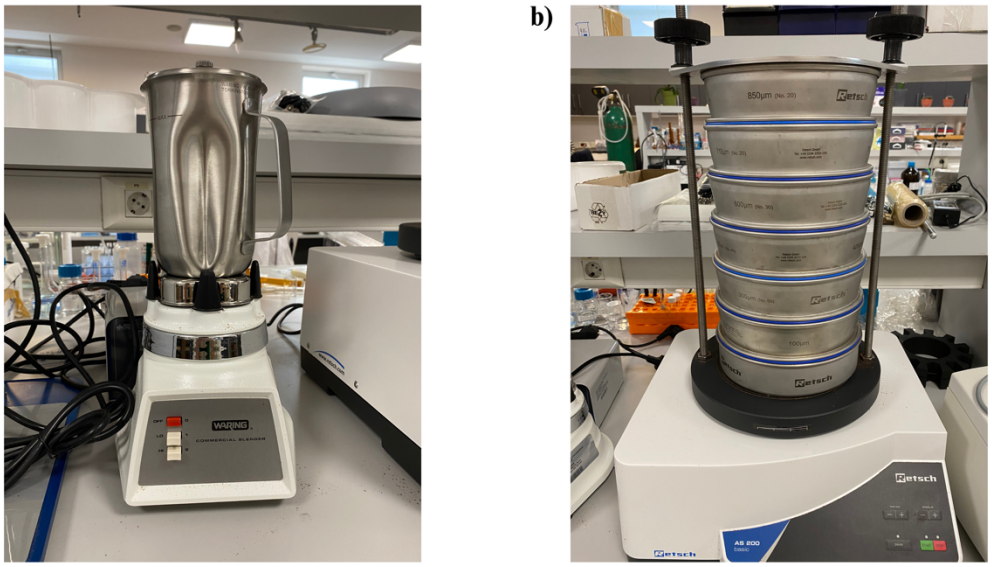
Her bir standart stok çözeltisi EtOH ile çözülerek 10^{-2} M konsantrasyonunda hazırlandı. Kalibrasyon için gereken seyreltmeler %50 EtOH ile yapıldı. Fındık ekstraksiyon örnekleri seyreltilmeden optimum şartlarda elde edildiği şekilde sisteme verildi.

3.3.ÖRNEKLERİN HAZIRLANMASI

3.3.1. Ekstraksiyon İşlemleri için Fındık Örneklerinin Hazırlanması

Fındık Araştırma Enstitüsü'nden alınan kavrulmuş fındık iç zarı 100-300 μm boyutunda örnekler elde edebilmek için öğütüldü ve boyut eleme sisteminden geçirilerek istenen boyutlar ayrıldı. Fındık yağı çıkarma işlemi için kullanılan fındık içleri 90°C'de soğuk pres yöntemiyle yağı alınmıştır. Bu şekilde yağı %75-80 oranında azaltılmış şekilde fındık unu elde edilmiştir. Bu un örneği analiz için elenmiş ve ekstraksiyon işlemi için kullanılmıştır.

a) b)

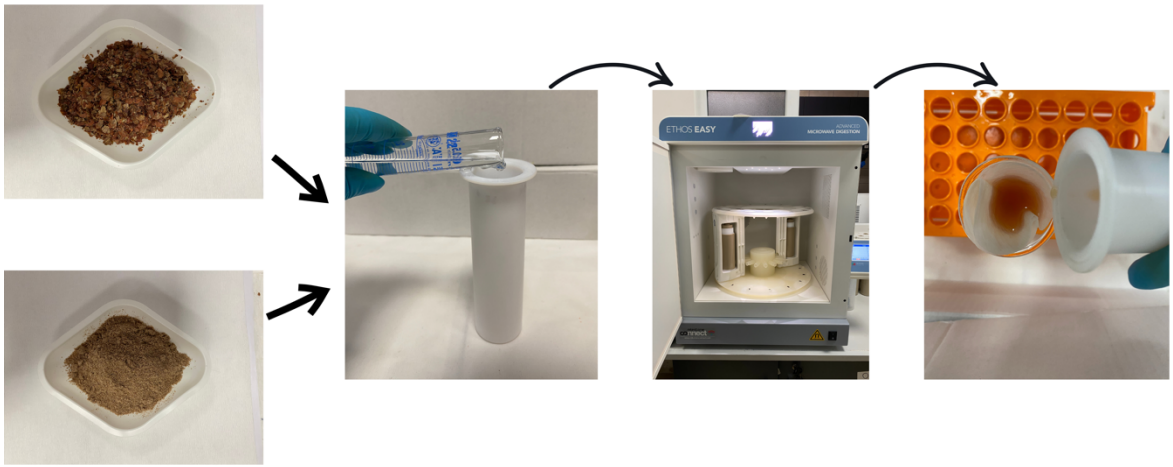


Şekil 3.1: Fındık yan ürünlerinin hazırlanmasında kullanılan a) öğütücü ve b) otomatik elek sistemi.

3.4.YÖNTEMLERİN UYGULANMASI

3.4.1. MDE İşleminin Uygulanması

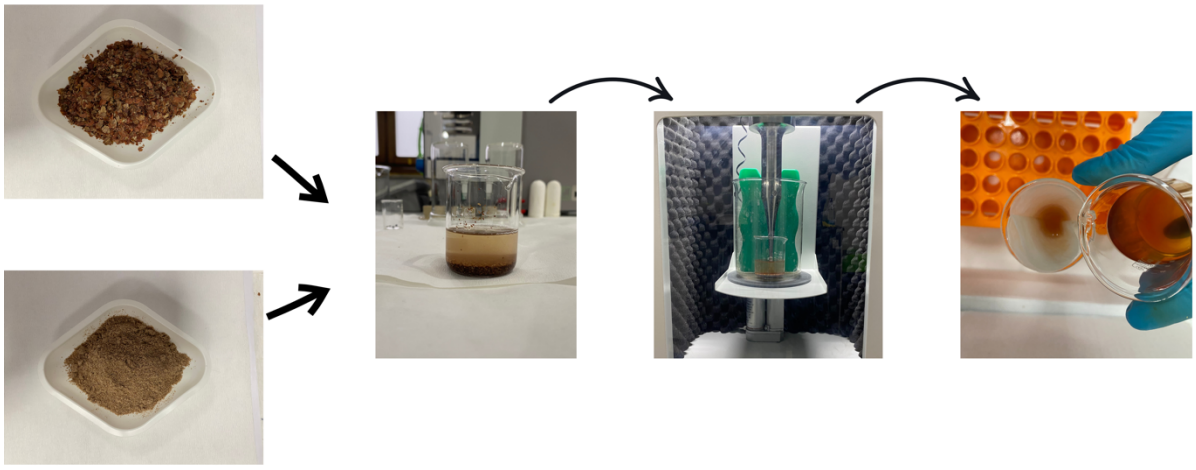
Fındık yan ürünlerine uygulanacak MDE işlemi için ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, çözücü-katı oranı (SS) ve su-EtOH oranı olmak üzere dört parametre optimize edilmiştir. Kapalı kap sistemi kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon işleminde sıcaklık bir kızılötesi sensörle takip edilmiştir. Uygulanan güç 0-1500W aralığında uygulanmıştır ve sistem tarafından sıcaklığa bağlı olarak ayarlanmaktadır. Ekstraksiyon işleminin ardından elde edilen ekstraktlar ilk olarak katısından ayrıştırılabilmek için adi süzgeç kağıdı yardımıyla süzülmüştür. Sonrasında 0,45 µm PTFE şırınga filtreleri kullanılarak süzülmüş ve analizlerde kullanılmak için +4°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.2: MDE yöntemi aşamaları.

3.4.2. UDE İşleminin Uygulanması

Fındık yan ürünlerine uygulanacak UDE işlemi için ekstraksiyon süresi, SS oranı, ultrasonik güç ve su-EtOH oranı olmak üzere dört parametre optimize edilmiştir. Bu çalışmada ultrasonik gücü doğrudan iletmesi ve ekstraksiyon verimini arttırması sebebiyle ultrasonik prob sistemi tercih edilmiştir. Ultrasonik prob doğrudan çözelti ortamına daldırılarak ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktlar ilk olarak adi süzgeç kağıdından süzülüp katısından ayrıştırılmıştır. 0,45 µm PTFE şırınga filtreleri kullanılarak süzülmüş ve sonrasında kullanılmak için +4°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.3: UDE yöntemi aşamaları.

3.4.3. Toplam Antioksidan Kapasitesinin (TAK) Belirlenmesi

Fındık yan ürünlerinden elde edilen ekstraktların toplam antioksidan kapasitesi için bakır(II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite (CUPRAC) yöntemi kullanılmıştır. Yöntemin esası kromajenik Cu(II)-Nc reaktifinin antioksidan varlığında oldukça güçlü bir renge sahip olan Cu(I)-Nc kelatına indirgenmesine dayanır. Bir tüp içerisine 1mL $CuCl_2$, 1 mL Nc, 1 mL NH_4Ac tamponu, x mL örnek ve standart hacim değerine ulaşabilmesi için (1,1-x) mL destile su eklenerek reaksiyon ortamı oluşturulmuştur. Oda sıcaklığında 30 dakikalık inkübasyon sonucunda 450 nm dalga boyunda absorbans değeri blank çözeltiye karşı okunmuştur. TAK değerleri, TR için oluşturulan kalibrasyon eğrisinden elde edilen molar absorptivite (ε_{TR}) değeri kullanılarak aşağıdaki formül ile mmol TR/g-kuru örnek olarak hesaplanmıştır. Formüle göre A, 450 nm'deki aborbans değerini; ε, TR bileşiğinin uygulanan yöntemdeki molar absorplama katsayısını; V_t, toplam çözelti hacmini; $V_ö$, örnek hacmini; V_e, hazırlanan ekstrakt hacmi ve $g_{örnek}$, ekstraksiyon işlemi için kullanılan örnek miktarını ifade etmektedir.

$$TAK\ \left({}^{mmol\ TR}/_{g-kuru\ örnek}\right) = \frac{A}{\varepsilon} \times \frac{V_t}{V_ö} \times sey.faktörü \times \frac{V_e}{g_{örnek}} \qquad \textbf{(3.1)}$$

3.4.4. ABTS Radikali ($ABTS^{\cdot+}$) Süpürme Kapasitesinin (ARSK) Belirlenmesi

Bir deney tüpüne (4-x) mL etanol ve x mL örnek çözeltisinden ilave edilir. Daha sonrasında üzerine hazırlanan ABTS radikal çözeltisinden 1 mL katılır. Çözeltiler karıştırılıp 6 dakika sonunda etanole karşı 734 nm'deki absorbans değerleri ölçülmüştür. Radikal çözeltisinin absorbansından, örnek içeren çözeltinin absorbansı çıkarılarak Δ_A absorbans değeri hesaplanmıştır. ARSK değerleri, TR için oluşturulan kalibrasyon eğirisinden elde edilen molar absorptivite (ε_{TR}) değeri kullanılarak aşağıdaki formül ile mmol TR/g-kuru örnek olarak hesaplanmıştır. Verilen eşitliklerde A_{ABTS}, radikal çözeltisinin 734 nm'deki absorbans değerini; A_E, referans çözeltisinin absorbans değerini; A_0 örnek absorbansını; Δ_A, radikal çözeltisinin absorbansı ile örnek çözeltinin absorbans değerinin farkından elde edilen değerini; ε, TR bileşiğinin uygulanan yöntemdeki molar absorplama katsayısını; V_t, toplam çözelti hacmini; $V_ö$, örnek hacmini; V_e, hazırlanan ekstrakt hacmi ve $g_{örnek}$, ekstraksiyon işlemi için kullanılan örnek miktarını ifade etmektedir.

$$\Delta_A = A_{ABTS} - (A_E - A_0) \quad \textbf{(3.2)}$$

$$ARSK\left({}^{mmol\,TR}/_{g-kuru\,örnek}\right) = \frac{\Delta_A}{\varepsilon} \times \frac{V_t}{V_ö} \times sey.faktörü \times \frac{V_e}{g_{örnek}} \quad \textbf{(3.3)}$$

3.4.5. Serbest Radikal Süpürme Kapasitesinin (SRSK) Belirlenmesi

Bir deney tüpüne x mL örnek, (2-x) mL metanol ve 2 mL DPPH çözeltisi eklendi. 30 dakikalık inkübasyon sonrasında 515 nm dalga boyunda metanole karşı ölçülmüştür. Örnek olmayan DPPH çözeltisinin absorbansından, örnek içeren çözeltinin absorbansı çıkartılarak Δ_A absorbans değerleri hesaplanmıştır. SRSK değerleri TR için oluşturulan kalibrasyon eğrisinden elde edilen molar absorptivite (ε_{TR}) değeri kullanılarak aşağıdaki formül ile mmol TR/ g-kuru örnek olarak hesaplanmıştır. Verilen eşitliklerde A_{DPPH}, radikal çözeltisinin 515 nm'deki absorbans değerini; A_E, referans çözeltisinin absorbans değerini; A_0 örnek absorbansını; Δ_A, radikal çözeltisinin absorbansı ile örnek çözeltinin absorbans değerinin farkından elde edilen değerini; ε, TR bileşiğinin uygulanan yöntemdeki molar absorplama katsayısını; V_t, toplam çözelti hacmini; $V_ö$, örnek hacmini; V_e, hazırlanan ekstrakt hacmi ve $g_{örnek}$, ekstraksiyon işlemi için kullanılan örnek miktarını ifade etmektedir.

$$\Delta_A = A_{DPPH} - (A_E - A_0) \quad \textbf{(3.4)}$$

$$SRSK\ \left({}^{mmol\ TR}/_{g-kuru\ örnek}\right) = \frac{\Delta_A}{\varepsilon} \times \frac{V_t}{V_ö} \times sey.faktörü \times \frac{V_e}{g_{örnek}} \quad \textbf{(3.5)}$$

3.4.6. Toplam Fenolik İçerik (TFİ) Belirlenmesi

Bir deney tüpüne x mL örnek, (2-x) mL destile su ve 2,5 mL Lowry C çözeltisi katılmıştır. 10 dakika sonrasında 1:3 oranında su ile seyreltilmiş 0,25 mL Folin reaktifi eklenerek 30 dakika tüplerin ağızı kapalı bir şekilde oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. 750 nm dalga boyunda absorbans blank çözeltiye karşı okunmuştur. TFİ değerleri TR için oluşturulan kalibrasyon eğrisinden elde edilen molar absorptivite (ε_{TR}) değeri kullanılarak aşağıdaki formül ile mmol TR/ g-kuru örnek olarak hesaplanmıştır. A, 750 nm'deki aborbans değerini; ε, TR bileşiğinin uygulanan yöntemdeki molar absorplama katsayısını; V_t, toplam çözelti hacmini; $V_ö$, örnek hacmini; V_e, hazırlanan ekstrakt hacmi ve $g_{örnek}$, ekstraksiyon işlemi için kullanılan örnek miktarını ifade etmektedir.

$$TFİ\ \left({}^{mmol\ TR}/_{g-kuru\ örnek}\right) = \frac{A}{\varepsilon} \times \frac{V_t}{V_ö} \times sey.faktörü \times \frac{V_e}{g_{örnek}} \quad \textbf{(3.6)}$$

3.4.7. Fenolik Antioksidanların Kromatografik Karakterizasyonu

Fındık yan ürünlerinin ekstraktlarının fenolik antioksidan karakterizasyonu, Bener ve arkadaşlarının [119] yöntemi üzerinde yapılan bazı değişiklerle HPLC-PDA sistemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Asetik asit (2:100, v/v) ve metanol mobil faz olarak belirlenmiştir. Gradient elüsyon programı kullanılarak C-18 kolon ile kromatografik ayırma gerçekleştirilmiştir. Program %5 metanol ile başlayıp 20. dakikada %20 metanole, 30. dakikada %30 metanole, 35. dakikada %40 metanole, 45. dakikada %50 metanole yükselmiş ve 65. dakikada başlangıç koşullarına geri dönmüştür. Kalibrasyon için kullanılan standartlar ve ekstraktlar enjeksiyondan önce 0,45 μm'lik membrandan süzülmüştür. Akış hızı 1 mL/dk belirlenirken enjeksiyon hacmi 10 μL olarak belirlenmiştir. Kalibrasyon eğrileri, konsantrasyona karşı pik alanının denklemi kullanılarak oluşturulmuştur. Standart çözeltiler –20°C'de muhafaza edilmiştir.

3.4.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için yüz merkezli kompozit tasarım (FCCD) yazılımı kullanılmıştır. Bu sayede deney sayısı minimum tutulup deneysel süreç hakkında bilgi edinmeyi en üst düzeye çıkarmak kolaylaştırılmıştır. Optimum koşulları belirlemek ve her bir bağımsız değişenin

numune ekstraktlarının TAK değeri üzerindeki etkisini değerlendirmek amacıyla FCCD tercih edilmiştir.

Tablo 3.1: Optimizasyon için RSM'de kullanılan bağımsız değişkenler ve değerleri.

MDE					
Değişkenler	**Birimler**	**Semboller**	**Seviyeler**		
			-1	**0**	**1**
Ekstraksiyon sıcaklığı	°C	A	50	75	100
Ekstraksiyon süresi	dk	B	5	17,5	30
Çözücü-katı oranı	mL/gr-örnek	C	10	20	30
EtOH oranı	%	D	50	75	100
UDE					
Değişkenler	**Birimler**	**Semboller**	**Seviyeler**		
			-1	**0**	**+1**
Ekstraksiyon süresi	dk	E	10	30	50
Çözücü-katı oranı	mL/gr-örnek	F	10	20	30
Ultrasonik güç	W	G	100	300	500
EtOH oranı	%	H	50	75	100

Tez çalışması kapsamında yeşil analitik kimyanın on iki temel ilkesini baz alan AGREE metrik yazılımı kullanılmıştır [120]. Bu yazılım sayesinde uygulanan ekstraksiyon işlemlerinin yeşilliği ölçülüp sürdürülebilirlik açısından değerlendirilmiştir. Bu metrik sistem, analitik yöntemlerin çevresel sürdürülebilirliğini kapsamlı ve standardize edilmiş olarak değerlendirilmesini sağlar [118]. Bu yazılım kullanılarak elde edilen sonuçların fındık yan ürünlerinin fonksiyonel gıda veya koruyucu olarak potansiyel kullanımına katkıda bulunması ve uygun ekstraksiyon işlemlerinin seçimine dair öngörü sağlaması amaçlanmıştır. Çalışmada incelenen her bir ekstraksiyon yöntemi için solvent türü, enerji tüketimi, atık üretimi, güvenlik ve toksisite gibi parametreler bu yöntemle incelenerek 0-1 aralığında puanlandırılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN MODELLENMESİ VE OPTİMİZASYONU

Fındık yan ürünlerine uygulanan MDE yöntemi için ekstraksiyon şartları ve bunlara karşılık gelen TAK değerleri Tablo 4.1'de verilmiştir. TAK değerlerini belirleyebilmek için öncelikle standart olarak TR çözeltisi hazırlanmış ve kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. TR kalibrasyonundan elde edilen eğim değeri kullanılarak her bir ekstrakt için TAK değeri mmol TR/g-örnek olarak verilmiştir. Buradan elde edilen değerlere göre fındık yan ürünleri ekstraksiyonu için MDE yönteminde optimum koşullar belirlenmiştir.

Tablo 4.1: MDE yöntemi kullanılarak fındık yan ürünleri için bağımsız değişkenlerin FCCD'si ve TAK değerleri.

	Bağımsız Değişkenler				TAK mmol TR/g-örnek	
Sıra	**A**	**B**	**C**	**D**	**Fındık unu**	**Fındık iç zarı**
1	50	5	10	50	0,011	1,295
2	100	5	10	50	0,014	2,985
3	50	30	10	50	0,012	1,715
4	100	30	10	50	0,016	3,103
5	50	5	30	50	0,014	1,222
6	100	5	30	50	0,018	2,678
7	50	30	30	50	0,016	1,522
8	100	30	30	50	0,018	2,909
9	50	5	10	100	0,022	0,624
10	100	5	10	100	0,024	0,959
11	50	30	10	100	0,020	1,534
12	100	30	10	100	0,026	1,788
13	50	5	30	100	0,022	0,561
14	100	5	30	100	0,023	0,821
15	50	30	30	100	0,022	1,391
16	100	30	30	100	0,026	1,417
17	50	17,5	20	75	0,022	1,339
18	100	17,5	20	75	0,030	2,208
19	75	5	20	75	0,019	1,997
20	75	30	20	75	0,020	2,584
21	75	17,5	10	75	0,022	2,152

Tablo 4.1 (devam): MDE yöntemi kullanılarak fındık yan ürünleri için bağımsız değişkenlerin FCCD'si ve TAK değerleri.

22	75	17,5	30	75	0,023	2,013
23	75	17,5	20	50	0,016	2,101
24	75	17,5	20	100	0,023	1,059
25	75	17,5	20	75	0,021	1,988
26	75	17,5	20	75	0,023	1,957
27	75	17,5	20	75	0,022	1,915
28	75	17,5	20	75	0,022	1,948
29	75	17,5	20	75	0,023	1,979
30	75	17,5	20	75	0,023	1,959

Fındık yan ürünlerine uygulanan UDE yöntemi için ekstraksiyon şartları ve bunlara karşılık gelen TAK değerleri tablo 4.2'de verilmiştir. TAK değerlerini belirleyebilmek için öncelikle standart olarak TR çözeltisi hazırlanmış ve kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. TR kalibrasyonundan elde edilen eğim değeri kullanılarak her bir ekstrakt için TAK değeri mmol TR/g-örnek olarak verilmiştir. Buradan elde edilen değerlere göre fındık yan ürünleri ekstraksiyonu için UDE yönteminde optimum koşullar belirlenmiştir.

Tablo 4.2: UDE yöntemi kullanılarak fındık yan ürünleri için bağımsız değişkenlerin FCCD'si ve TAK değerleri.

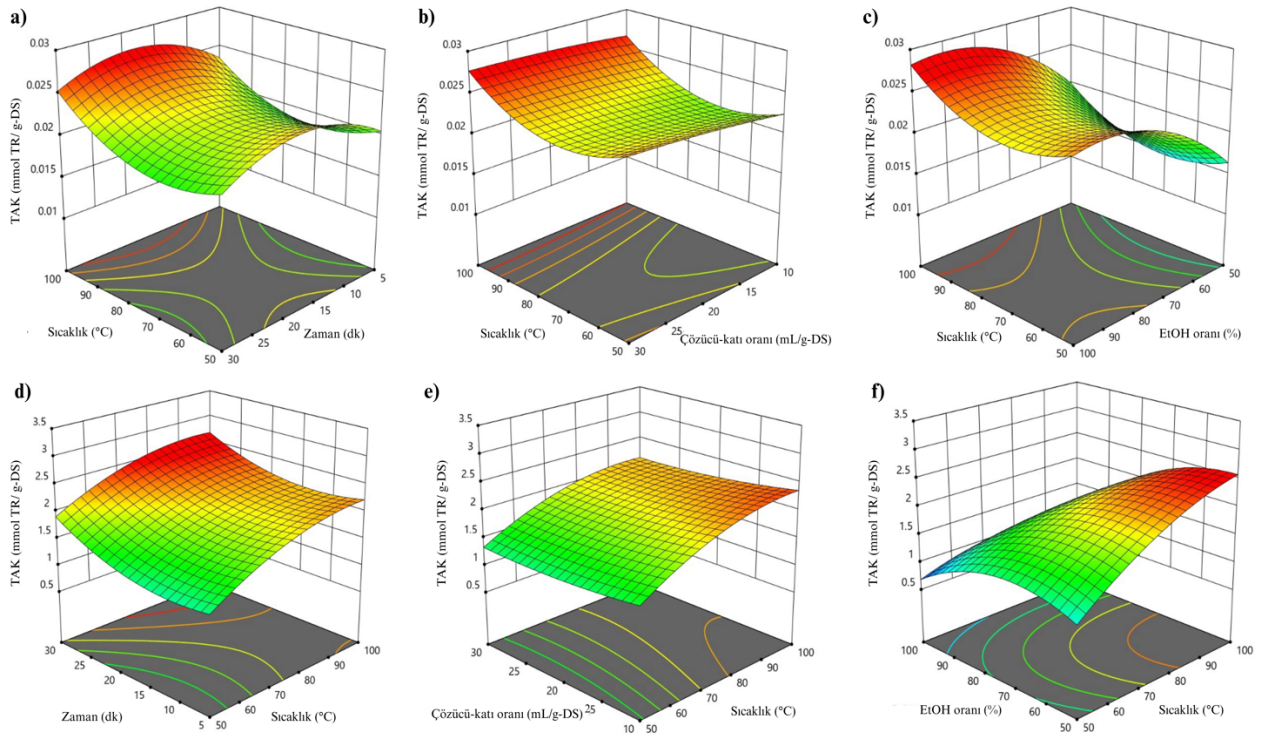
	Bağımsız Değişkenler				**TAK mmol TR/g-örnek**	
Sıra	**E**	**F**	**G**	**H**	**Fındık unu**	**Fındık iç zarı**
1	10	10	100	50	0,014	1,689
2	50	10	100	50	0,017	2,292
3	10	30	100	50	0,014	1,579
4	50	30	100	50	0,019	2,074
5	10	10	500	50	0,015	2,146
6	50	10	500	50	0,012	2,328
7	10	30	500	50	0,023	2,310
8	50	30	500	50	0,028	2,449
9	10	10	100	100	0,050	1,291
10	50	10	100	100	0,053	1,868
11	10	30	100	100	0,042	1,175

Tablo 4.2 (devam): UDE yöntemi kullanılarak fındık yan ürünleri için bağımsız değişkenlerin FCCD'si ve TAK değerleri.

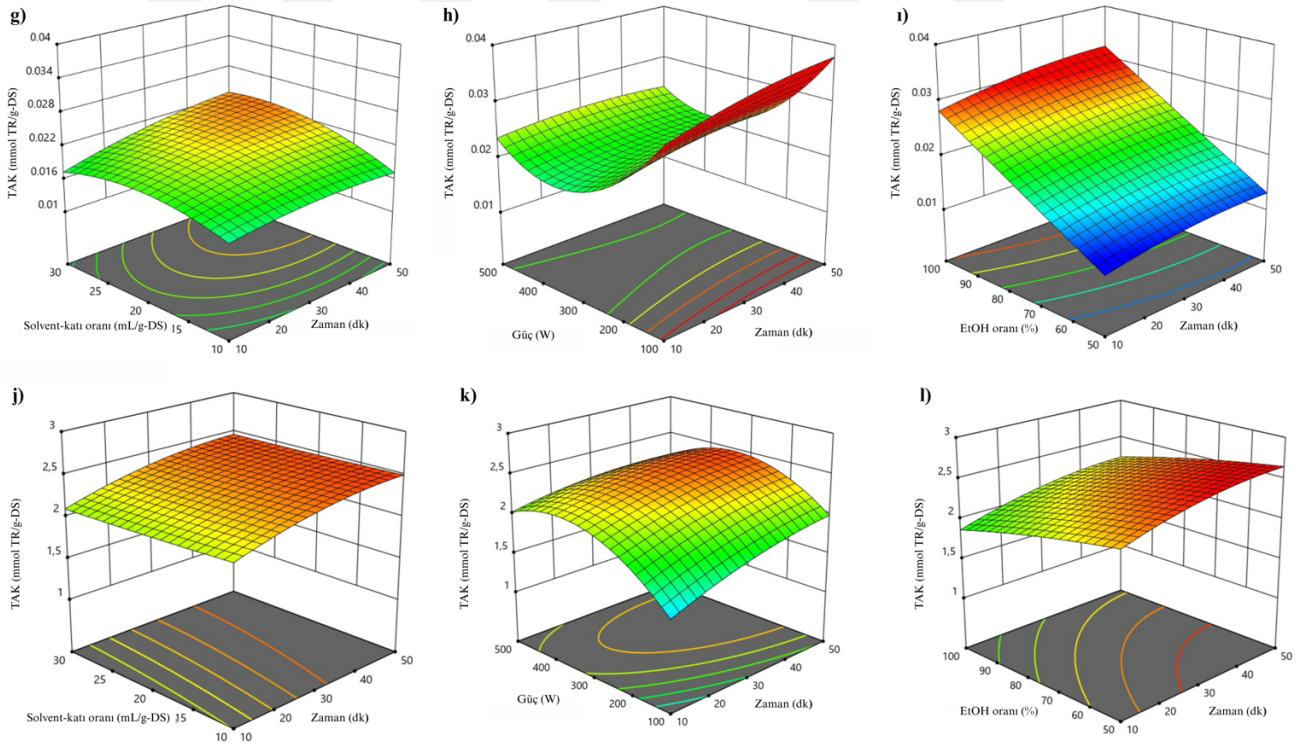
12	50	30	100	100	0,054	1,703
13	10	10	500	100	0,021	1,888
14	50	10	500	100	0,021	1,944
15	10	30	500	100	0,024	1,566
16	50	30	500	100	0,025	1,961
17	10	20	300	75	0,021	2,248
18	50	20	300	75	0,024	2,402
19	30	10	300	75	0,019	2,334
20	30	30	300	75	0,023	2,499
21	30	20	100	75	0,035	1,733
22	30	20	500	75	0,029	2,319
23	30	20	300	50	0,015	2,582
24	30	20	300	100	0,032	2,171
25	30	20	300	75	0,019	2,308
26	30	20	300	75	0,022	2,339
27	30	20	300	75	0,021	2,388
28	30	20	300	75	0,018	2,422
29	30	20	300	75	0,021	2,318
30	30	20	300	75	0,022	2,389

4.1.1. Bağımsız Değişkenlerin Ekstraksiyon Yöntemleri Üzerine Etkisi

Modeller için belirlenen parametrelerin ekstraksiyon yöntemleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır. UDE ve MDE ekstraksiyonlarında değişken olarak belirlenen her bir parametrelerin fındık yan ürünleri ekstraktlarına olan etkisi üç boyutlu (3D) grafikler ile gösterilmiştir. Model tarafından sunulan optimum koşullar iş yükü, solvent sarfiyatı ve çevrecilik gibi farklı açılardan değerlendirilmiştir.



Şekil 4.1: MDE yöntemiyle bağımsız değişkenlerin bir fonksiyonu olarak a-c) fındık unu ve d-f) fındık iç zarı ekstraktlarının TAK değerlerine ilişkin 3D grafikleri.



Şekil 4.2: UDE yöntemiyle bağımsız değişkenlerin bir fonksiyonu olarak g-ı) fındık unu ve j-l) fındık iç zarı ekstraktlarının TAK değerlerine ilişkin 3D grafikleri.

4.1.2. Varyans Analizi (ANOVA)

Bağımsız değişkenler ve yanıtlar arasındaki ilişki, Design-Expert programında varyans analizi (ANOVA) testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Fındık yan ürünlerinden elde edilmiş olan antioksidanların TAK değerleri, ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesinde değerlendirilecek olan parametreler ve bunların etkileri FCCD kullanılarak değerlendirilmiştir. Parametreler ve deneysel sonuçlar incelendiğinde elde edilen sonuçlar ve bağımsız değişkenler arasında bir ilişki olduğu görülmektedir. TAK yanıtlarına karşılık gelen modellerin önemi *p*-değerine göre değerlendirilmektedir. Tablo 4.3'e bakıldığında TAK yanıtlarına karşılık gelen *p*-değerleri oldukça önemlidir ($p<0,0001$). Elde edilen sonuçlara bakıldığında MDE yöntemi için her iki fındık yan ürününde de en etkili olan parametre etanol oranı olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.3: FCCD kullanarak elde edilen ikinci derece denklemlerin MDE ile elde edilen ekstraktların TAK değerleri için ANOVA sonuçları.

	Fındık Unu				
	Kareler toplamı	**df**	**Ortalamaların karesi**	**F-değeri**	***p*-değeri**
Model	0,0005	14	0,0000	25,89	< 0,0001
A	0,0001	1	0,0001	44,94	< 0,0001
B	$4,50x10^{-6}$	1	$4,50x10^{-6}$	3,15	0,0963
C	0,0000	1	0,0000	8,75	0,0098
D	0,0003	1	0,0003	207,16	< 0,0001
AB	$2,25x10^{-6}$	1	$2,25x10^{-6}$	1,57	0,2288
AC	$1,00x10^{-6}$	1	$1,00x10^{-6}$	0,6997	0,4160
AD	0,0000	1	0,0000	0,0000	1,0000
BC	$2,50x10^{-7}$	1	$2,50x10^{-7}$	0,1749	0,6817
BD	$2,50x10^{-7}$	1	$2,50x10^{-7}$	0,1749	0,6817
CD	$9,00x10^{-6}$	1	$9,00x10^{-6}$	6,30	0,0241
A^2	0,0000	1	0,0000	19,10	0,0005
B^2	0,0000	1	0,0000	19,20	0,0005
C^2	$1,68x10^{-7}$	1	$1,68x10^{-7}$	0,1173	0,7367
D^2	0,0000	1	0,0000	19,20	0,0005
Kalıntı	0,0000	15	$1,43x10^{-6}$		
Uyumsuzluk	0,0000	10	$1,81x10^{-6}$	2,72	0,1409
Saf hata	$3,33x10^{-6}$	5	$6,67x10^{-7}$		
Toplam	0,0005	29			

Tablo 4.3 (devam): FCCD kullanarak elde edilen ikinci derece denklemlerin MDE ile elde edilen ekstraktların TAK değerleri için ANOVA sonuçları.

Fındık iç zarı					
Model	**Kareler toplamı**	**df**	**Ortalamaların karesi**	**F-değeri**	***p*-değeri**
	12,70	14	0,9074	416,26	< 0,0001
A	3,26	1	3,26	1497,31	< 0,0001
B	1,29	1	1,29	592,33	< 0,0001
C	0,1460	1	0,1460	66,97	< 0,0001
D	4,88	1	4,88	2240,36	< 0,0001
AB	0,0294	1	0,0294	13,49	0,0023
AC	0,0181	1	0,0181	8,30	0,0114
AD	1,59	1	1,59	730,02	0,0001
BC	0,0064	1	0,0064	2,94	0,1072
BD	0,2746	1	0,2746	125,96	< 0,0001
CD	0,0002	1	0,0002	0,0775	0,7845
A^2	0,1481	1	0,1481	67,96	< 0,0001
B^2	0,2001	1	0,2001	91,78	< 0,0001
C^2	0,0127	1	0,0127	5,80	0,0293
D^2	0,4849	1	0,4849	222,44	< 0,0001
Kalıntı	0,0327	15	0,0022		
Uyumsuzluk	0,0294	10	0,0029	4,47	0,0561
Saf hata	0,0033	5	0,0007		
Toplam	12,74	29			

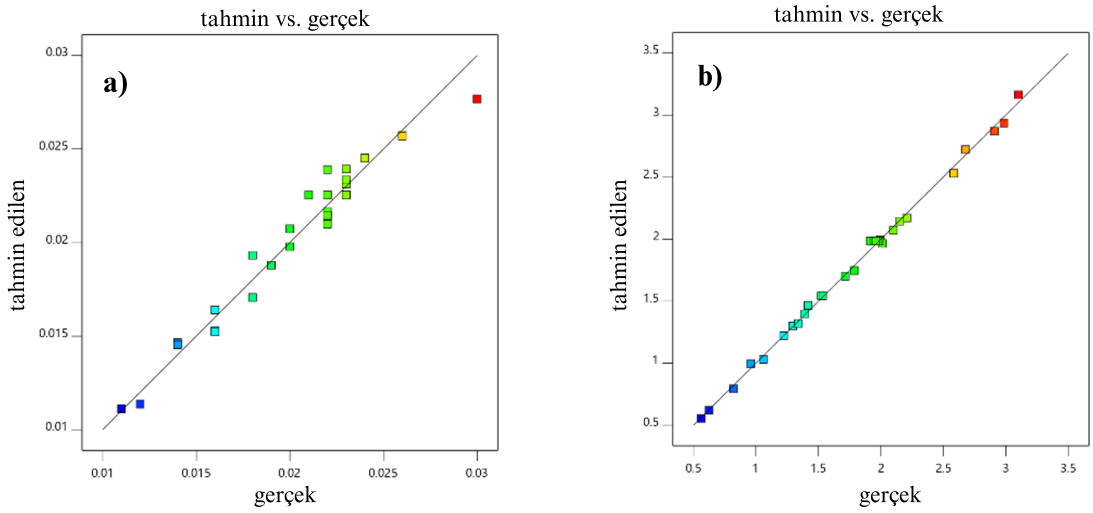
Tahmin edilen TAK değerlerinin hesaplanması için değişken parametrelerin dahil edildiği ikinci dereceden denklemler oluşturulmuştur. Fındık unu ve fındık iç zarı için oluşturulan denklemler sırasıyla verilmiştir.

$$TAK\left(\frac{mmolTR}{g-\text{örnek}}\right) = 0{,}0225 + 0{,}0019A + 0{,}0005B + 0{,}0008C + 0{,}0041D + 0{,}0004AB - 0{,}0002AC + 0{,}0001BC - 0{,}0001BD - 0{,}0007CD + 0{,}0032A^2 + 0{,}0033B^2 - 0{,}0003C^2 - 0{,}0033D^2 \quad \textbf{(4.1)}$$

$$TAK\left(\frac{mmolTR}{g-\text{örnek}}\right) = 1{,}990 + 0{,}4258A + 0{,}2678B - 0{,}0901C - 0{,}5209D - 0{,}0429AB - 0{,}0336AC - 0{,}3154AD - 0{,}0200BC + 0{,}1310BD + 0{,}0033CD - 0{,}2391A^2 + 0{,}2779B^2 + 0{,}0699C^2 - 0{,}4326D^2 \quad \textbf{(4.2)}$$

MDE yöntemiyle fındık unundan antioksidanların ekstraksiyonu için en yüksek TAK verimi 0,0291 mmol TR/g-örnek A=100°C, B=19 dakika, C=23 mL/g-örnek ve D=%90 EtOH koşullarında gerçekleşmiştir. Fındık iç zarı için maksimum TAK değeri 3,125 mmol TR/g-

örnek olup A=100°C, B=30 dakika, C=10 mL/g-örnek, D=%55 EtOH olarak belirlenmiştir. İkinci dereceden denklemler kullanılarak hesaplanan tahmini TAK değerlerinin gerçek TAK değerleriyle ilişkisi şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3: MDE tekniği ile a) fındık ununda b) fındık iç zarından ekstraksiyon için önerilen modelde tahmin edilen ve gerçek TAK değerleri arasındaki korelasyon.

UDE yöntemi için TAK yanıtlarına karşılık gelen modeller ve ilgili *p*-değerleri tablo 4.4'te verilmiştir. Buradan elde edilen sonuçlara bakıldığında da bu ekstraksiyon yönteminde de en etkili olan parametre etanol oranı olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.4: FCCD kullanarak elde edilen ikinci derece denklemlerin UDE ile elde edilen ekstraktların TAK değerleri için ANOVA sonuçları.

Fındık Unu					
Model	**Kareler toplamı**	**df**	**Ortalamaların karesi**	**F-değeri**	***p*-değeri**
	0,0036	14	0,0003	42,61	< 0,0001
E	0,0000	1	0,0000	7,81	0,0143
F	0,0001	1	0,0001	8,36	0,0119
G	0,0006	1	0,0006	92,86	< 0,0001
H	0,0015	1	0,0015	252,82	< 0,0001
EF	0,0000	1	0,0000	4,18	0,0602
EG	0,0000	1	0,0000	4,18	0,0602
EH	$2{,}25\text{x}10^{-6}$	1	$2{,}25\text{x}10^{-6}$	0,3761	0,5495
FG	0,0001	1	0,0001	13,54	0,0025
FH	0,0000	1	0,0000	7,06	0,0188
GH	0,0009	1	0,0009	155,50	< 0,0001
E^2	$2{,}18\text{x}10^{-6}$	1	$2{,}18\text{x}10^{-6}$	0,3638	0,5560
F^2	0,0000	1	0,0000	2,53	0,1343

Tablo 4.4 (devam): FCCD kullanarak elde edilen ikinci derece denklemlerin UDE ile elde edilen ekstraktların TAK değerleri için ANOVA sonuçları.

G^2	0,0002	1	0,0002	31,84	< 0,0001
H^2	$1{,}76 \times 10^{-8}$	1	$1{,}76 \times 10^{-8}$	0,0029	0,9575
Kalıntı	0,0001	14	$5{,}98 \times 10^{-6}$		
uyumsuzluk	0,0001	10	$7{,}38 \times 10^{-6}$	2,95	0,1543
Saf hata	0,0000	4	$2{,}50 \times 10^{-6}$		
Toplam	0,0037	28			

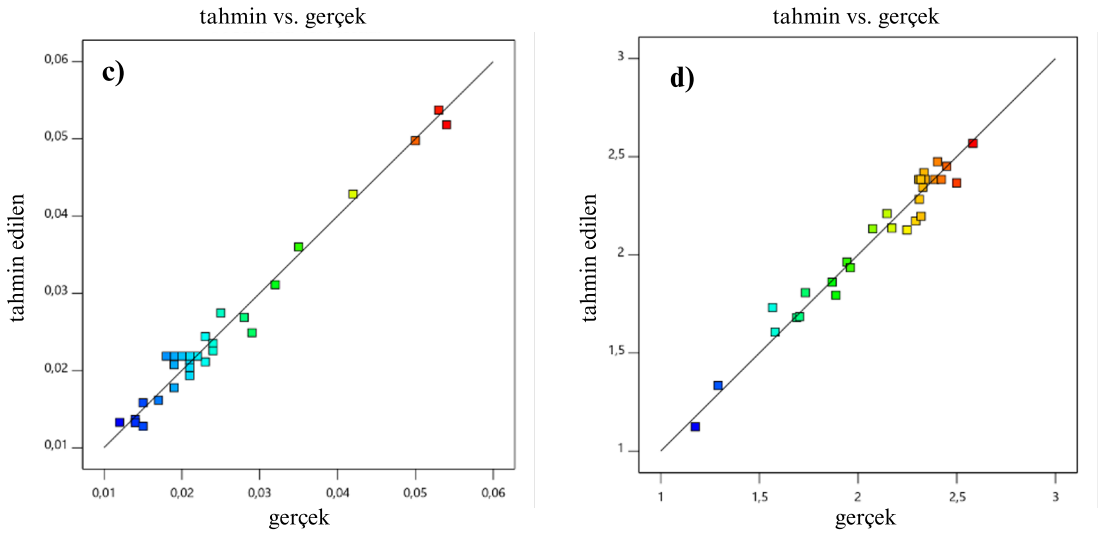
Fındık iç zarı					
Model	**Kareler toplamı**	**df**	**Ortalamaların karesi**	**F-değeri**	***p*-değeri**
	3,72	14	0,2656	25,51	< 0,0001
E	0,5439	1	0,5439	52,26	< 0,0001
F	0,0120	1	0,0120	1,15	0,3019
G	0,6833	1	0,6833	65,65	< 0,0001
H	0,8372	1	0,8372	80,44	< 0,0001
EF	0,0012	1	0,0012	0,1160	0,7385
EG	0,1280	1	0,1280	12,30	0,0035
EH	0,0012	1	0,0012	0,1127	0,7421
FG	0,0217	1	0,0217	2,08	0,1709
FH	0,0184	1	0,0184	1,77	0,2046
GH	0,0048	1	0,0048	0,4607	0,5083
E^2	0,0180	1	0,0180	1,73	0,2097
F^2	0,0002	1	0,0002	0,0162	0,9004
G^2	0,3781	1	0,3781	36,33	< 0,0001
H^2	0,0026	1	0,0026	0,2531	0,6228
Kalıntı	0,1457	14	0,0104		
Uyumsuzluk	0,1363	10	0,0136	5,79	0,0526
Saf hata	0,0094	4	0,0024		
Toplam	3,86	28			

Fındık unu ve fındık iç zarı için tahmini TAK değerlerinin hesaplanması için değişken parametrelerin dahil edildiği ikinci dereceden denklemler sırasıyla oluşturulmuştur.

$$TAC\ \left(\frac{mmolTR}{g-\text{örnek}}\right) = 0{,}0219 + 0{,}0016E + 0{,}0017F - 0{,}0056G + 0{,}0092H + 0{,}0013EF - 0{,}0012EG + 0{,}0004EH + 0{,}0023FG - 0{,}0016FH - 0{,}0076GH - 0{,}0009E^2 - 0{,}0024F^2 + 0{,}0086G^2 - 0{,}0001H^2 \quad \textbf{(4.3)}$$

$$TAC\ \left(\frac{mmolTR}{g-\text{örnek}}\right) = 2{,}380 + 0{,}1739E - 0{,}0258F + 0{,}1948G - 0{,}2158H + 0{,}0087EF - 0{,}0895EG + 0{,}0087EH + 0{,}0369FG - 0{,}0339FH - 0{,}0173GH - 0{,}0835E^2 + 0{,}0080F^2 - 0{,}3824G^2 - 0{,}0320H^2 \quad \textbf{(4.4)}$$

Oluşturulan denklemler kullanılarak hesaplanan tahmini TAK değerleri ve gerçek TAK değerleri arasındaki ilişki şekil 4.4'te verildiği gibidir.



Şekil 4.4: UDE tekniği ile c) fındık unundan d) fındık iç zarından ekstraksiyon için önerilen modelde tahmin edilen ve gerçek TAK değerleri arasındaki korelasyon.

4.2. FINDIK YAN ÜRÜNLERİ EKSTRAKTLARININ ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

4.2.1. Toplam Antioksidan Kapasitesinin İncelenmesi

Toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesi için optimum ekstraksiyon şartlarında elde edilen fındık yan ürünleri ekstraktlarına CUPRAC yöntemi uygulanmıştır. Standart olarak troloks çözeltisi kullanılarak yöntem için uygun çalışma aralığında kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Yöntemin uygulanmasının ardından elde edilen absorbans değerleri standart çözeltinin kalibrasyon grafiğinden elde edilen eğim katsayısına oranlanarak TAK değeri troloks eşdeğeri olarak verilmiştir (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Fındık yan ürünlerinin TAK değerlerinin troloks eşdeğerleri.

Ekstraksiyon yöntemi	**TAK mmol TR/g- kuru örnek**	
	Fındık iç zarı	**Fındık unu**
MDE	3,12	0,03
UDE	2,60	0,05

4.2.2. Serbest Radikal Süpürme Kapasitesinin Belirlenmesi

Serbest radikal süpürme kapasitesinin belirlenebilmesi için optimum şartlarda elde edilen fındık yan ürünleri ekstraktlarına DPPH yöntemi uygulanmıştır. Standart olarak troloks çözeltisi kullanılmış ve yöntem için uygun çalışma aralığında kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Yöntem uygulandıktan sonra elde edilen Δ_A değerleri standart çözeltinin kalibrasyonundan elde edilen eğim katsayısına göre hesaplanarak SRSK değeri troloks eşdeğeri olarak verilmiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6: Fındık yan ürünlerinin SRSK değerlerinin troloks eşdeğerleri.

Ekstraksiyon yöntemi	**SRSK mmol TR/g-kuru örnek**	
	Fındık iç zarı	**Fındık unu**
MDE	1,49	0,01
UDE	1,47	0,01

4.2.3. Toplam Fenolik İçeriğinin İncelenmesi

Fındık yan ürünlerinin MDE ve UDE yöntemiyle ekstraksiyonu sonucunda elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriğinin değerlendirilebilmesi için folin-ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Troloks çözeltisi ile kalibrasyon grafiği oluşturulup buradan elde edilen eğim değeri ile ekstraktların TFİ değerleri troloks eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7: Fındık yan ürünlerinin TFİ değerlerinin troloks eşdeğerleri.

Ekstraksiyon yöntemi	**TFİ mmol TR/ g-kuru örnek**	
	Fındık iç zarı	**Fındık unu**
MDE	8,63	0,12
UDE	7,41	0,36

4.2.4. ABTS Radikali Süpürme Kapasitesinin İncelenmesi

Fındık yan ürünlerinden elde edilen ekstraktların ARSK değerlerinin belirlenebilmesi için optimum şartlarda elde edilen ekstraktlar kullanılarak ABTS yöntemi uygulanmıştır. Standart troloks çözeltisi hazırlanarak uygun çalışma aralığında yöntem için kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Oluşturulan kalibrasyon grafiğinden elde edilen eğim değeri kullanılarak ekstraktların ARSK değerleri troloks eşdeğeri olarak belirlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.8: Fındık yan ürünlerinin ARSK değerlerinin troloks eşdeğerleri.

Ekstraksiyon yöntemi	ARSK mmol TR/ g-kuru örnek	
	Fındık iç zarı	**Fındık unu**
MDE	1,59	0,0003
UDE	1,29	0,015

4.3.FINDIK YAN ÜRÜNLERİ EKSTRAKTLARININ KROMATOGRAFİK ANALİZİ

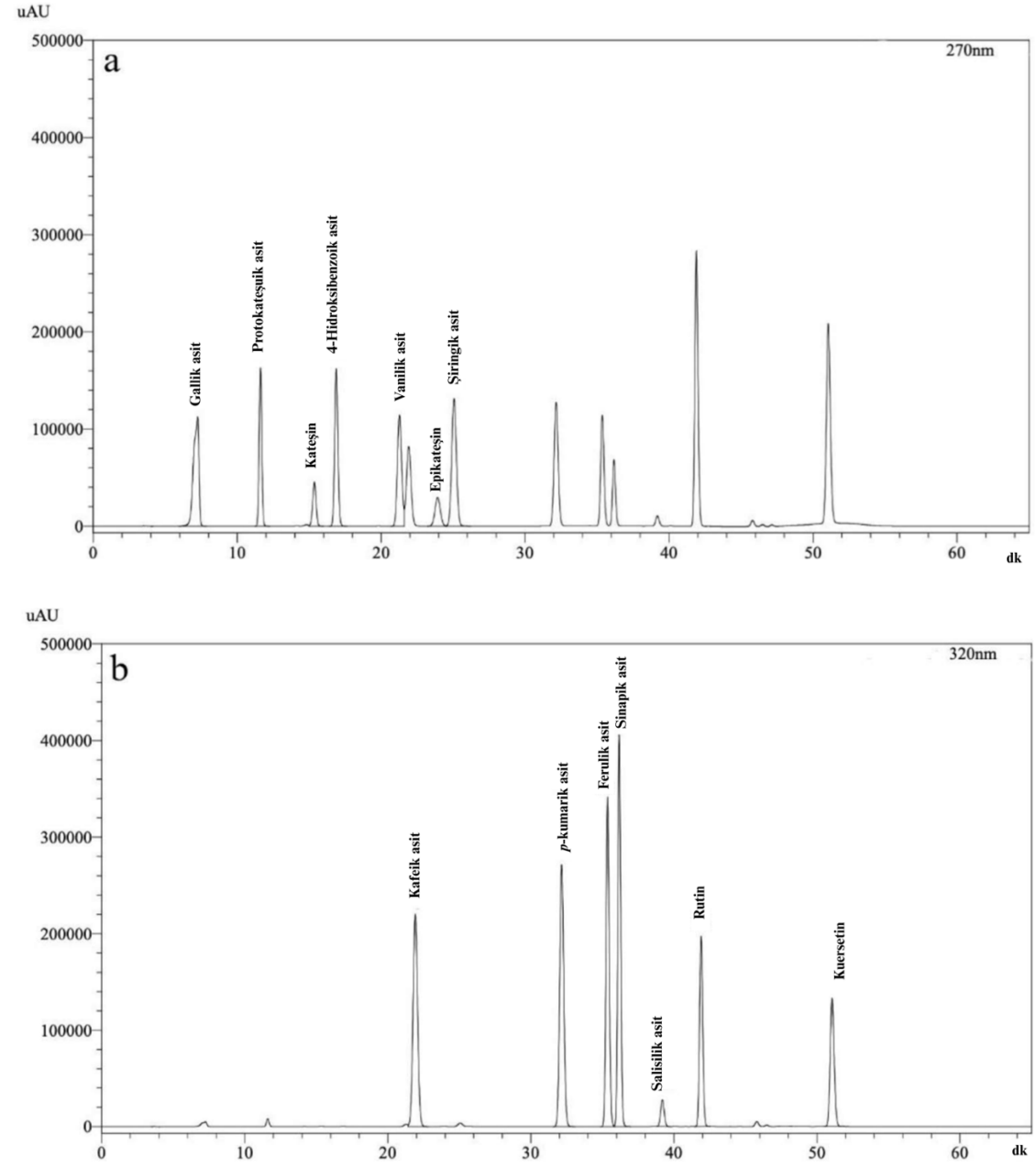
Fındık yan ürünlerinden elde edilen ekstraktların fenolik karakterinin taranması için HPLC-PDA sistemi kullanılmıştır. Literatürde bulunan çalışmalar doğrultusunda fındık yan ürünlerinde tespit edilen her bir antioksidan bileşik için kalibrasyon doğruları oluşturulmuştur. Ekstraktlarda dedekte edilen fenolik bileşikler için alıkonma süreleri, çalışma aralıkları, kalibrasyon denklemleri ve korelasyon katsayıları Tablo 4.9'te özetlenmiştir. Standart bileşiklerden hazırlanan sentetik karışımın 270 nm ve 320 nm dalga boyundaki kromatogramları Şekil 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.9: Fenolik bileşiklerin alıkonma süreleri, çalışma aralıkları, doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları.

Fenolik Bileşikler	Alıkonma süresi, t_R (dk)	Çalışma aralığı (mg/L)	Doğru denklemi	Korelasyon katsayısı (R^2)
Gallik asit	7,45	0,094 – 94,070	A = 32670c - 11177	0,9999
Protokateşuik asit	11,80	0,077 – 77,060	A = 27889c – 4924	0,9999
Kateşin	11,62	0,145 – 145,140	A = 5385c - 3324	0,9997
4-Hidroksobenzoik asit	17,11	0,069 – 69,060	A = 39020c – 6144	0,9999
Vanilik asit	21,60	0,084 – 84,075	A = 28809c – 6131	0,9999
Epikateşin	24,41	0,290 – 145,135	A = 5385c – 3325	0,9998
Şiringik asit	25,37	0,099 – 99,085	A = 31901c – 11364	0,9998
Kafeik asit	22,28	0,090 – 90,080	A = 55782c - 13758	0,9999
p-kumarik asit	32,45	0,082 – 82,080	A = 67433c - 11202	1,0000
Ferulik asit	35,55	0,097 – 97,090	A = 55964c - 10427	1,0000

Tablo 4.9 (devam): Fenolik bileşiklerin alıkonma süreleri, çalışma aralıkları, doğru denklemleri ve korelasyon katsayıları.

Sinapik asit	36,34	0,112 – 112,105	A = 51477c - 19350	0,9998
Salisilik asit	39,21	0,138 – 69,060	A = 7905c – 1799	1,0000
Rutin	42,04	0,305 – 305,260	A = 10238c – 8109	0,9999
Kuersetin	51,18	0,151 – 151,120	A = 16836c - 6504	0,9999

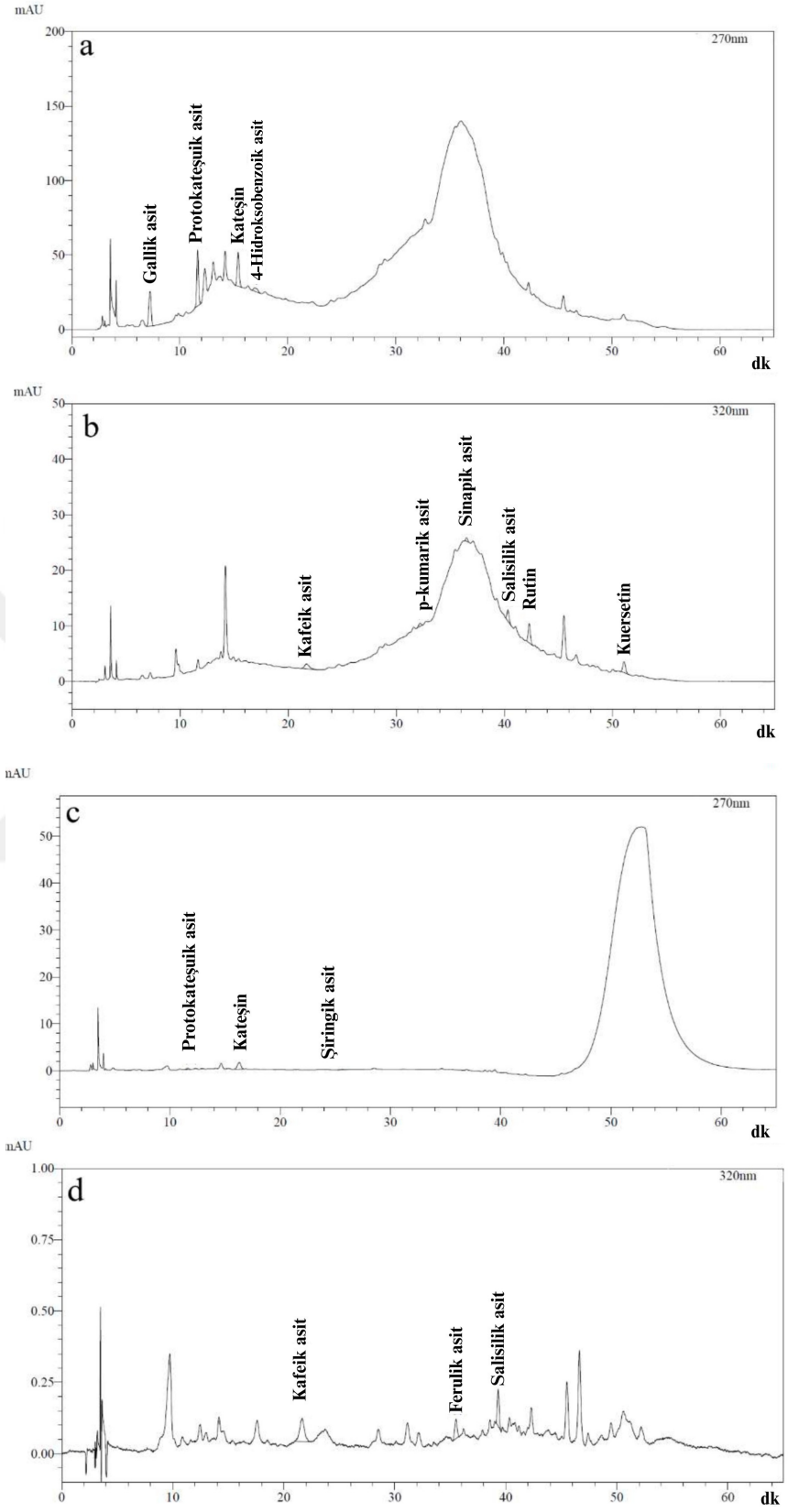


Şekil 4.5: Fenolik bileşiklerin sentetik karışımlarının a) 270 nm b) 320 nm dalga boyundaki kromatogramları.

Optimum koşullarda hazırlanan fındık yan ürünleri ekstraktlarında tespit edilen bileşikler ve miktarları Tablo 4.10'da verilmiştir. Fındık unu ve fındık iç zarının 270 nm ve 320 nm dalga boyundaki kromatogramları da Şekil 4.6'da verildiği gibidir. Fındık iç zarında ve fındık ununda toplam onar adet farklı fenolik bileşik tespit edilmiştir.

Tablo 4.10: Optimum şartlarda hazırlanan fındık yan ürünlerinin ekstraktlarında tespit edilen fenolik bileşiklerin miktarları.

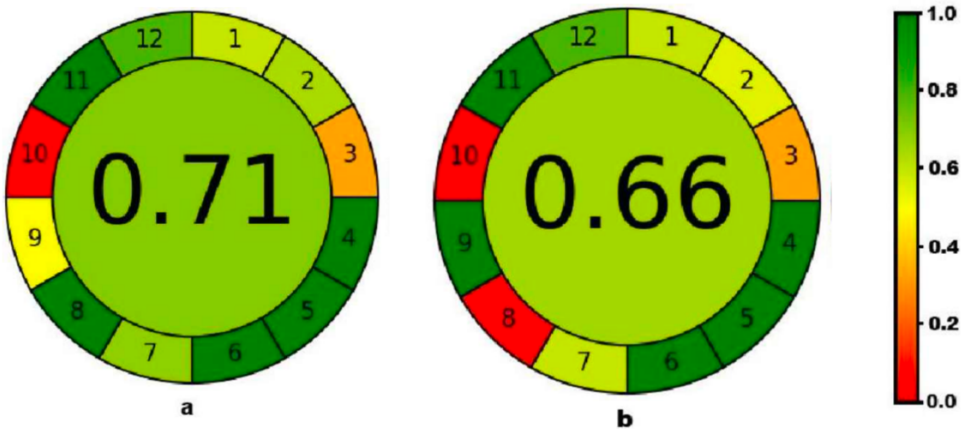
Fenolik Bileşikler	**Fındık iç zarı için MDE (mg/L)**	**Fındık iç zarı için UDE (mg/L)**	**Fındık unu için MDE (mg/L)**	**Fındık unu için UDE (mg/L)**
Gallik asit	11,254	9,662	0,516	-
Protokateşuik asit	15,496	13,201	0,428	0,260
Kateşin	57,672	30,483	2,956	6,373
4-Hidroksobenzoik asit	1,765	0,865	0,694	-
Vanilik asit	-	-	-	-
Epikateşin	-	-	-	-
Şiringik asit	-	-	0,568	0,428
Kafeik asit	0,755	0,731	0,395	0,290
p-kumarik asit	0,304	-	0,376	-
Ferulik asit	-	-	0,319	0,204
Sinapik asit	0,525	-	-	-
Salisilik asit	3,693	3,946	0,390	0,423
Rutin	5,506	5,479	-	-
Kuersetin	2,433	2,252	0,505	-



Şekil 4.6: Fındık iç zarı için MDE ekstraktının a) 270 nm b)320 nm dalga boyundaki HPLC-PDA kromatogramları ve fındık ununun UDE ekstraktının c) 270 nm d) 320 nm dalga boyundaki HPLC-PDA kromatogramları.

4.4.EKSTRAKSİYON İŞLEMLERİNİN YEŞİLLİK DEĞERLENDİRMESİ

Fındık yan ürünlerinin içerdiği antioksidanların geri kazanımı için kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin çevresel performansı, analitik bir ölçüt olan AGREE kullanılarak değerlendirilmiştir. AGREE değerlendirmesi ile elde edilen puanlar, her yöntemin enerji tüketimi, atık üretimi, reaktif toksisitesi ve sürecin otomasyonu gibi yönlere odaklanarak yeşil analitik kimyanın on iki ilkesiyle olan uyumunu yansıtmaktadır. Kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin çevresel performansını gösteren sonuçlar şekil 4.7' de gösterilmiştir.



Şekil 4.7: a) MDE ve b) UDE işlemi için AGREE analizi sonuçları (1: numune işleme, 2: numune miktarı, 3: cihaz konumlandırma, 4: numune hazırlama aşamaları, 5: otomasyon, minyatürleştirme, 6: türevlendirme, 7: atık, 8: analiz verimi, 9: enerji tüketimi, 10: reaktiflerin kaynağı, 11: toksisite, 12: operatörün güvenliği).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gıda işleme sürecinde büyük miktarda atık ürünler ortaya çıkmaktadır. Bu atıklar genellikle düşük ekonomik değere sahip olsalar bile içerdikleri biyoaktif bileşenler nedeniyle değerlendirilebilirler. Özellikle fındık işleme sürecinde açığa çıkan kavurma işlemi sonrası açığa çıkan fındık iç zarı ve yağ çıkarma işleminden kalan fındık unu, önemli miktarda fenolik bileşik, flavonoid ve diğer antioksidan özelliklere sahip biyoaktif bileşenler içerdiği literatürdeki kaynaklar tarafından da kanıtlanmıştır. Bu bileşikler kozmetik, gıda, ilaç endüstrisi gibi alanlarda doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilmektedir. Bu değerli bileşenlerin elde edilebilmesi için ise uygun ekstraksiyon yöntemlerinin geliştirilmesi oldukça önemlidir. Geleneksel ekstraksiyon yöntemleri genellikle yüksek sıcaklık, uzun ekstraksiyon süreleri ve fazlaca çözücü kullanımı sebebiyle çevreci ve sürdürülebilir olarak değerlendirilmemektedir. Bu sebeple değişen küresel şartlar ve ihtiyaçlar nedeniyle bilim dünyası daha çevre dostu olan yeşil olarak adlandırılan ekstraksiyon yöntemlerine yönelmişlerdir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyon bunlardan ikisidir. Tez çalışması kapsamında ise bu iki yöntem kullanılarak fındık yan ürünlerinden biyoaktif bileşenlerin elde edilmesi sağlanmıştır.

Çalışma kapsamında antioksidan bileşenler elde edilirken bileşenlerin kimyasal yapısının korunması yanında maksimum verimle elde edilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda değişken parametreler optimize edilerek en uygun koşullar belirlenmiştir. Değerlendirme yapılırken ekstraktların TAK değerlerinden yararlanılmıştır. MDE işleminde TAK için öngörülen ve düzeltilmiş R^2 değerleri fındık unu için sırasıyla 0,7981 ve 0,9232; fındık zarı için ise sırasıyla 0,9856 ve 0,9950 olarak bulunmuştur. UDE yönteminde TAK için öngörülen ve düzeltilmiş R^2 değerleri fındık unu için sırasıyla 0,9014 ve 0,9541; fındık iç zarı için ise 0,7900 ve 0,9288 olarak bulunmuştur. Aradaki farkın 0,2'den küçük olması, öngörülen R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerleriyle makul ölçüde tutarlı olduğunu göstermektedir. Sinyal-gürültü oranını ölçen yeterli hassasiyet değer ideal olarak 4'ü geçmesi gerekir. Bu bağlamda MDE yönteminde TAK sinyal-gürültü oranının fındık unu için 19,584 ve fındık iç zarı için 79,033 olarak bulunmuştur. UDE yönteminde ise TAK için sinyal-gürültü oranı fındık unu için 23,283 ve fındık iç zarı 20,718 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlara bakıldığında önerilen modellerin tasarım için kullanılmaya uygun olduğu görülmüştür. Modeller için *F* değeri MDE

işleminde sırasıyla fındık unu ve fındık iç zarı için 25,89 ve 416,26; UDE işleminde 42,61 ve 28,01 olarak bulunmuştur ve bu da modellerin önemini göstermektedir. Elde edilen büyük *F* değerinin gürültüden kaynaklanma olasılığı yalnızca %0,01'dir.

Uyum eksikliği değerleri MDE işleminde sırasıyla fındık unu ve fındık iç zarı için MDE işleminde 2,72 ve 4,47; UDE işleminde ise 2,95 ve 6,52 olarak bulunmuştur. Bu durum uyum eksikliğinin önemli olmadığı anlamına gelmektedir.

Yapılan analizler sonucunda fındık yan ürünlerinden biri olan fındık ununda mikrodalga yöntemi ile elde edilen ekstraktın en yüksek TAK değeri 0,0291 mmol TR/g-kuru örnek olarak A=100°C, B=19 dk., C=23 mL/g-kuru örnek ve D=%90 etanol oranı koşullarında elde edilmiştir. Ultrases yöntemi ile elde edilen ekstraktın en yüksek TAK değeri ise 0,0544 mmol TR/g-kuru örnek olarak E=45 dk., F=16 mL/g-örnek, G=100 W, H=%100 etanol oranı koşullarında hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında en yüksek antioksidan geri kazanımının ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edildiği görülmüştür.

Fındık iç zarı için bakıldığında en yüksek antioksidan kapasite değerleri mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile 3,125 mmol TR/g-kuru örnek olarak A=100°C, B=30 dk., C=10 mL/g-kuru örnek, D=%55 etanol oranı şartlarında; ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ile 2,610 mmol TR/ g-kuru örnek E=47 dk., F=16 mL/g-kuru örnek, G=100 W, H=%100 etanol oranı ile elde edilmiştir. Bu sonuçlara bakıldığında fındık iç zarı ekstraksiyonu için en etkili yöntemin mikrodalga destekli ekstraksiyon olduğu görülmüştür.

Ekstraksiyon sıcaklığı, bitkisel kaynaklardan antioksidan geri kazanımının verimliliğini direkt olarak etkilediği için MDE yönteminde önemli bir parametre olarak değerlendirilmiştir. Şekil 5.3'te ekstraksiyon sıcaklığının yükselmesi genellikle ekstraksiyon verimini yükselten bir etki gösterdiğini ifade etmektedir. Yüksek sıcaklıklar hedef analitlerin çözünürlüğünü arttırabilir ve çözücünün viskozitesini azaltarak kütle aktarım oranını iyileştirmektedir [121]. Aynı zamanda yüksek sıcaklıklar hücre yapılarını bozarak biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyon ortamına salınmasını kolaylaştırabilir [122]. Fakat bazı antioksidanlar yüksek ısının etkisi ile bozulabildiklerinden ekstraksiyon veriminin düşmesine neden olabilmektedir. Bu sebeple hem antioksidanların stabilitesini ve aktivitesini koruyup hem de verimliliği maksimumda tutabilmek için sıcaklığın optimizasyonu oldukça önem taşımaktadır.

Ekstraksiyon süresi, MDE sırasında antioksidan geri kazanımının verimliliğinde önemli bir rol oynamaktadır. Ekstraksiyon süresinin yeterli olması hücre matriksinin tamamen bozulmasını sağlayarak biyoaktif bileşenlerin çözücü içine dağılmasını kolaylaştırır [123]. Mikrodalga enerjisine uzun süre maruz kalındığında kütle transferi verimi arttırılabilir. Bununla birlikte, uzun ekstraksiyon süreleri, uzun süreli termal maruziyet veya oksidatif reaksiyonlar nedeniyle hassas antioksidanların bozulmasına sebep olabilir [124]. Bu nedenle, optimum ekstraksiyon süresinin belirlenmesi, antioksidan verimini en üst düzeye çıkarmak ve yapısal bütünlüklerini korumak arasında denge sağlamak için oldukça önemlidir.

Çözücü-katı oranının MDE verimine etkisi Şekil 5.3'te gösterilmiştir. Yüksek çözücü-katı oranı, numune matriksi ile tam olarak etkileşime girmek için yeterli çözücü miktarı sağlanarak biyoaktif bileşenlerin çözünürlüğünü ve difüzyonunu arttırır [75]. Bu durum kütle transferini ve ekstraksiyon verimini arttırır. Çözücü-katı oranının yüksek olması durumunda, ekstraksiyondan sonraki işlemlerde seyreltmeden kaynaklı hatalar ve yüksek solvent kullanımına yol açabilir. Tersi bir durumda ise ekstraksiyonun tam anlamıyla gerçekleşmemesinden kaynaklı sorunlar açığa çıkabilir. Bu sebeplerden dolayı çözücü-katı oranı optimizasyonu önemlidir.

EtOH oranının MDE yöntemi üzerindeki etkisine bakıldığında sudaki EtOH oranı arttıkça antioksidan ekstraksiyonu bir noktaya kadar artış göstermiş sonrasında stabil hale gelmiş ve oranın daha da arttığı durumda verimde azalma görülmüştür. Nisbeten yeşil bir çözücü olan EtOH, biyoaktif bileşenlerin çözünürlüğünü arttırabilir. Yüksek orandaki EtOH polar olmayan ve yarı polar olan bileşiklerin ekstraksiyonunu iyileştirirken ortamda bulunan su ise bitkinin dokularının şişmesini ve polar moleküllerin ekstraksiyonunu kolaylaştırır [125]. Etanol'ün yüksek miktarda bulunması polar bileşiklerin ekstraksiyonunu zorlaştıracağından bu oranı optimize etmek de oldukça önemli parametrelerden biridir.

UDE yönteminde uzun süreli işlem yapıldığında bitkinin hücre duvarlarının bozulmasını kolay hale getirerek biyoaktif bileşenlerin çözücüye daha kolay ve etkili şekilde yayılmasını sağlar [126]. Ancak uzun süreli sonikasyon işlemlerinde dezavantajlı durumlardan biri süre artışıyla sıcaklığın da paralel olarak artmasıdır. Uzun süre uygulanan ultrasonik enerji sebebiyle çözelti içerisindeki bölgesel sıcaklık artışlarının gerçekleşmesi, özellikle sıcaklıkla bozulan antioksidanların varlığında ekstraksiyon verimini düşürücü etkiye sebebiyet vermektedir [127].

Bir diğer dezavantaj ise enerji verimliliğidir. Sonikasyon süresinin artması ekstraksiyon verimini arttırmamasına rağmen enerji verimini azaltmaktadır. Bu nedenle ekstraksiyon süresinin optimizasyonu oldukça önem taşımaktadır.

Ultrasonik güç, kavitasyon etkisi yaratarak hücre duvarını parçalayıp biyoaktif bileşenlerin çözelti ortamına geçmesini sağlar. Bu sayede kütle transferi daha etkin bir şekilde gerçekleşmiş olur [128]. Yüksek ultrasonik güç uygulamaları bölgesel ısı artışı ve serbest radikal oluşumuna yol açabileceğinden ekstraksiyonun verimini ve kalitesini düşürebilir. Bu nedenle ultrasonik güç uygulamasının optimizasyonu, ekstraksiyon verimi için oldukça önem taşımaktadır.

Ekstraktların antioksidan özellikleri incelendiğinde, fındık unu için antioksidan bileşiklerinin en verimli şekilde elde edildiği yöntemin UDE olduğu belirlenmiştir. İşçimen ve Hayta [129] tarafından, fındık unundan fenolik bileşen ekstraksiyonu için kullanılmamış olsa da, UDE yöntemi kullanarak protein geri kazanımı için yöntem geliştirmişlerdir. UDE yönteminin protein ekstraksiyon verimliliğini arttırdığı ve hücre duvarında yapısal değişikliklere sebep olduğu bildirilmiştir. UDE'nin fındık iç zarından fenolik bileşenler, polisakkaritler ve diyet liflerinin ve fındık iç zarından antioksidan ekstraksiyonu için uygulandığı bildirilmiştir [130-133]. MDE yöntemi fındık iç zarından antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu için en verimli yöntem olarak belirlenmiştir. Çalışmamıza benzer olarak Odabaş ve Koca, MDE ve UDE için koşulları optimize ederek fenolik bileşen ekstraksiyonunu yüksek verimli olarak sonuçlandığını bildirmişlerdir [130]. Ancak bahsedilen çalışmada elde edilen sonuçlar UDE yönteminin MDE yöntemine göre daha verimli şekilde sonuçlar elde edilmiştir. Bahsedilen çalışmada modifiye edilmiş ev tipi MDE sisteminin kullanılmış olması bu sonucun elde edilmesinde belirleyici olmuş olabilir. Çalışmamızda kullanılan kapalı kap sistemi, sıcaklık ve basınç kontrolü sağladığı için daha yüksek verimlilik, düşük çözücü kullanımı ve gelişmiş güvenlik önlemleri dahil olmak üzere açık sistemlere göre avantajları bulunmaktadır.

TAK, SRSA, ARSA ve TFİ sonuçları, fındık yan ürünleri için tüm ekstraksiyon süreçlerinde genel olarak uyumlu bulunmuştur. Tüm ekstraktlar için elde edilen sonuçlar, süreç verimlilikleri ve antioksidan özellikleri açısından benzer eğilimler göstermiştir.

Ekstraksiyon sonrasında fındık unu ve fındık iç zarı ekstraktlarının fenolik karakterini ortaya koymak için HPLC-PDA sistemi kullanılarak kromatografik analiz gerçekleştirilmiştir. Bu

analiz sonucunda fındık iç zarı ekstraktında ana bileşen olarak kateşin, gallik asit ve protokateşuik asit tespit edilmiştir. Fındık unu ekstraktı için yapılan analizde ise en baskın fenolik bileşen olarak kateşin tespit edilmiştir. Sonuçlarımızı destekler nitelikteki bir çalışmada fındık iç zarı ekstraktlarında miktarı belirlenen on fenolik bileşik arasından kateşin, gallik asit ve protokateşuik asit başlıca bileşenler olarak belirlenmiştir [134]. Başka bir çalışmada, kateşin fındık iç zarı ekstraktında başlıca bileşen olarak tespit edilmiştir [135]. Ayrıca çalışmamızla uyumlu olarak kateşin, tüm fındık unu ekstraktlarında başlıca fenolik bileşen olarak bildirilmiştir [119]. Bu durum fındık yan ürünlerinin zengin birer antioksidan kaynağı olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir. Günümüzde birçok kozmetik ve gıda ürününde sentetik antioksidanlar yerine doğal kaynaklardan elde edilen antioksidan bileşikler kullanılmaktadır. Bu durum fındık yan ürünlerinin değerlendirilmesi ve ekonomik değer yaratması açısından oldukça önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada sadece ekstraksiyon verimliliği değil aynı zamanda kullanılan yöntemlerin çevreye karşı potansiyel etkileri de analiz edilmiştir. Kullanılan ekstraksiyon işlemlerinin çevre dostu olup olmadığını belirlemek için AGREE yazılımı kullanılmıştır. Bu yazılım sayesinde bir yöntemin çevresel açıdan sürdürülebilirliği çeşitli faktörler baz alınarak değerlendirilip sonrasında bir skor belirlenmektedir. Yapılan analiz sonucunda mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi 0,71 puan alarak en çevreci olan yöntem olduğu görülmüştür. Bu durum enerji kullanımındaki verimliliğe ve birden fazla numuneyi aynı anda işleyebilme yeteneğine, dolayısıyla atık ve kaynak tüketimini en aza indirmesiyle ilişkilendirilebilir. MDE yönteminin hızlı ısıtma yapabilmesi, ekstraksiyon süresini ve çözücü kullanımını azaltması antioksidanların yeşil ekstraksiyonu için ideal bir yöntem olduğunu gösterir. UDE yöntemi 0,66 AGREE puanı alarak MDE yöntemine yaklaşmıştır. Ekstraksiyon süresinin UDE yönteminde daha uzun olması MDE yönteminin gerisinde kalmasına yol açmıştır. UDE yöntemi, düşük sıcaklıkta çalışma ve ısıya duyarlı bileşiklerin korunmasıyla bilinmesine rağmen uzun sonikasyon süresi, enerji ihtiyacını arttırarak AGREE puanını etkilemektedir.

MDE yöntemi; düşük enerji kullanımı, düşük çözücü kullanımı ve işlem süresinin kısa olması gibi yeşil analitik kimyanın temel prensiplerine bağlı kalarak en sürdürülebilir işlem olarak öne çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

[1]. Silvestri, C., Bacchetta, L., Bellincontro, A., Cristofori, V., 2021, Advances in cultivar choice, hazelnut orchard management, and nut storage to enhance product quality and safety: an overview, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(1), 27-43.

[2]. Wani, I. A., Ayoub, A., Bhat, N. A., Dar, A. H., Gull, A., 2020, *Hazelnut*, Antioxidants in vegetables and nuts-properties and health benefits, In: Nayık, G. A., Gull, A., (ed.), Springer, Singapore, 559-572.

[3]. Wojdyło, A., Turkiewicz, I. P., Tkacz, K., Nowicka, P., Bobak, Ł., 2022, Nuts as functional foods: Variation of nutritional and phytochemical profiles and their in vitro bioactive properties, *Food Chemistry: X*, 15, 100418.

[4]. Sorrenti, V., Burò, I., Consoli, V., Vanella, L., 2023, Recent advances in health benefits of bioactive compounds from food wastes and by-products: Biochemical aspects, *International journal of molecular sciences*, 24(3), 2019.

[5]. Bouzaiene, A., Mansour, R. B., Jemaa-Guirat, M. B., Hammami, I., Trabelsi, D., Msaada, K., Labidi, N., 2025, Exploring the bioactive potential of dried fruit by-products: a focus on hazelnut, peanut, and almond teguments and shells, *International Journal of Environmental Health Research,* 35(4), 864-877.

[6]. Shahidi, F., Alasalvar, C., Liyana-Pathirana, C. M., 2007, Antioxidant phytochemicals in hazelnut kernel (Corylus avellana L.) and hazelnut byproducts, *Journal of agricultural and food chemistry,* 55(4), 1212-1220.

[7]. Rusu, M. E., Fizeşan, I., Pop, A., Gheldiu, A. M., Mocan, A., Crişan, G., Tomuta, I., 2019, Enhanced recovery of antioxidant compounds from hazelnut (Corylus avellana L.) involucre based on extraction optimization: Phytochemical profile and biological activities, *Antioxidants*, 8(10), 460.

[8]. Ceylan, F. D., Adrar, N., Bolling, B. W., Capanoglu, E., 2023, Valorisation of hazelnut by-products: current applications and future potential, *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews,* 39(2), 586-621.

[9]. Ollani, S., Peano, C., Sottile, F., 2024, Recent innovations on the reuse of almond and hazelnut by-products: A review, *Sustainability*, 16(6), 2577.

[10]. Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Omar, A. K. M., 2013, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.

[11]. Doğan, G., Bircan, R., 2010, Balık yemlerinde alternatif bitkisel protein kaynağı olarak fındık küspesi kullanımı, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi,* 1(2), 49-57.

[12]. Perez-Armada, L., Rivas, S., González, B., Moure, A., 2019, Extraction of phenolic compounds from hazelnut shells by green processes, *Journal of Food Engineering*, 255, 1-8.

[13]. FAO, 2023, *Crops and livestock products*, https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL , (Ziyaret tarihi: 06.08.2024).

[14]. Bars, T., 2023, *Fındık Ürün Raporu*, https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Menu/37/Urun-Raporlari , (Ziyaret tarihi: 06.08.2024).

[15]. Gümrük ve Ticaret Bakanlığı, 2017, *2016 yılı Fındık Raporu*, https://ticaret.gov.tr/data/5d41e59913b87639ac9e02e8/afb70617107b5d49cd4e70a47774be68.pdf , (Ziyaret tarihi: 08.08.2024).

[16]. Köksal, A. İ., Artik, N., Şimşek, A., Güneş, N., 2006, Nutrient composition of hazelnut (Corylus avellana L.) varieties cultivated in Turkey, *Food Chemistry*, 99(3), 509-515.

[17]. Hoşgün, E. Z., Bozan, B., 2020, Effect of different types of thermochemical pretreatment on the enzymatic hydrolysis and the composition of hazelnut shells, *Waste and Biomass Valorization*, 11, 3739-3748.

[18]. Gozaydin, G., Yuksel, A., 2017, Valorization of hazelnut shell waste in hot compressed water, *Fuel Processing Technology*, 166, 96-106.

[19]. Lopes, L. C., Martins, J., Esteves, B., Lemos, L. T. D. E., 2012, New products from hazelnut shell, *Proceedings of the ECOWOOD*, 83-90.

[20]. Xu, Y., Sismour, E. N., Parry, J., Hanna, M. A., Li, H., 2012, Nutritional composition and antioxidant activity in hazelnut shells from US-grown cultivars, *International Journal of Food Science and Technology,* 47(5), 940-946.

[21]. Yuan, B., Lu, M., Eskridge, K. M., Hanna, M. A., 2018, Valorization of hazelnut shells into natural antioxidants by ultrasound-assisted extraction: Process optimization and phenolic composition identification, *Journal of Food Process Engineering*, 41(5), e12692.

[22]. López, L., Rivas, S., Moure, A., Vila, C., Parajó, J. C., 2020, Development of pretreatment strategies for the fractionation of hazelnut shells in the scope of biorefinery, *Agronomy*, 10(10), 1568.

[23]. Bjelić, A., Hočevar, B., Grilc, M., Novak, U., Likozar, B., 2022, A review of sustainable lignocellulose biorefining applying (natural) deep eutectic solvents (DESs) for separations, catalysis and enzymatic biotransformation processes, *Reviews in Chemical Engineering,* 38(3), 243-272.

[24]. Gu, P., Liu, W., Hou, Q., Ni, Y., 2021, Lignocellulose-derived hydrogel/aerogel-based flexible quasi-solid-state supercapacitors with high-performance: a review, *Journal of Materials Chemistry A*, 9(25), 14233-14264.

[25]. Shen, X., Sun, R., 2021, Recent advances in lignocellulose prior-fractionation for biomaterials, biochemicals, and bioenergy, *Carbohydrate polymers*, 261, 117884.

[26]. Beisl, S., Friedl, A., Miltner, A., 2017, Lignin from micro-to nanosize: applications, *International journal of molecular sciences*, 18(11), 2367.

[27]. Bertolino, M., Belviso, S., Dal Bello, B., Ghirardello, D., Giordano, M., Rolle, L., Zeppa, G., 2015, Influence of the addition of different hazelnut skins on the physicochemical, antioxidant, polyphenol and sensory properties of yoğurt, *LWT-Food Science and Technology*, 63(2), 1145-1154.

[28]. Montella, R., Coïsson, J. D., Travaglia, F., Locatelli, M., Bordiga, M., Meyrand, M., Arlorio, M., 2013, Identification and characterisation of water and alkali soluble oligosaccharides from hazelnut skin (Corylus avellana L.), *Food Chemistry*, 140(4), 717-725.

[29]. Özdemir, K. S., Yılmaz, C., Durmaz, G., & Gökmen, V., 2014, Hazelnut skin powder: A new brown colored functional ingredient, *Food Research International*, 65, 291-297.

[30]. Tunçil, Y. E., 2020, Dietary fibre profiles of Turkish Tombul hazelnut (Corylus avellana L.) and hazelnut skin, *Food Chemistry,* 316, 126338.

[31]. Król, K., Gantner, M., Piotrowska, A., Hallmann, E., 2020, Effect of climate and roasting on polyphenols and tocopherols in the kernels and skin of six hazelnut cultivars (Corylus avellana L.), *Agriculture,* 10(2), 36.

[32]. Del Rio, D., Calani, L., Dall'Asta, M., Brighenti, F., 2011, Polyphenolic composition of hazelnut skin, *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(18), 9935-9941.

[33]. Taş, N. G., & Gökmen, V. (2015). Bioactive compounds in different hazelnut varieties and their skins, *Journal of Food Composition and Analysis*, 43, 203-208.

[34]. Szewczyk, K., Chojnacka, A., Górnicka, M., 2021, Tocopherols and tocotrienols—bioactive dietary compounds; what is certain, what is doubt?, *International journal of molecular sciences,* 22(12), 6222.

[35]. Aksoz, E., Korkut, O., Aksit, D., Gokbulut, C., 2020, Vitamin E (α-, β+ γ-and δ-tocopherol) levels in plant oils, *Flavour and fragrance journal*, 35(5), 504-510.

[36]. Lunn, J., Theobald, H. E., 2006, The health effects of dietary unsaturated fatty acids, *Nutrition Bulletin*, 31(3), 178-224.

[37]. Acan, B. G., Toker, O. S., Palabiyik, I., Pirouzian, H. R., Bursa, K., Kilicli, M., Konar, N., 2021, Physicochemical properties of chocolate spread with hazelnut cake: Comparative study and optimization, *LWT*, 147, 111548.

[38]. Atalar, I., 2019, Functional kefir production from high pressure homogenized hazelnut milk, *LWT*, 107, 256-263.

[39]. Çağlar, A. F., Çakır, B., Gülseren, İ., 2021, LC-Q-TOF/MS based identification and in silico verification of ACE-inhibitory peptides in Giresun (Turkey) hazelnut cakes, *European Food Research and Technology*, 247(5), 1189-1198.

[40]. Li, C., Qi, R., Yuan, J., Han, L., Wang, S., Li, W., Han, W., 2022, In silico study to predict potential precursors of human dipeptidyl peptidase-IV inhibitors from hazelnut, *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 40(22), 11664-11675.

[41]. Shahidi, F., Miraliakbari, H., 2006, *Tree nut oils and byproducts: Compositional characteristics and nutraceutical applications, In Nutraceutical and specialty lipids and their co-products* (pp. 173-182). CRC Press.

[42]. Amaral, J. S., Casal, S., Citová, I., Santos, A., Seabra, R. M., Oliveira, B. P., 2006, Characterization of several hazelnut (Corylus avellana L.) cultivars based in chemical, fatty acid and sterol composition*, European Food Research and Technology*, 222, 274-280.

[43]. Goyal, M. R., Joy, P. P., 2019, *Plant secondary metabolites for human health: extraction of bioactive compounds.* CRC Press, USA.

[44]. Harborne, J. B., 2014, *Introduction to ecological biochemistry*, Academic Press Inc., San Diego.

[45]. Shahidi, F., 2009, Nutraceuticals and functional foods: Whole versus processed foods, *Trends in Food Science & Technology*, 20(9), 376-387.

[46]. Kris-Etherton, P. M., Hecker, K. D., Bonanome, A., Coval, S. M., Binkoski, A. E., Hilpert, K. F., Etherton, T. D., 2002, Bioactive compounds in foods: their role in the prevention of cardiovascular disease and cancer, *The American journal of medicine*, 113(9), 71-88.

[47]. Hooper, L., Cassidy, A., 2006, A review of the health care potential of bioactive compounds, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(12), 1805-1813.

[48]. Verpoorte, R., Contin, A., Memelink, J., 2002, Biotechnology for the production of plant secondary metabolites, *Phytochemistry reviews*, *1*, 13-25.

[49]. Irchhaiya, R., Kumar, A., Yadav, A., Gupta, N., Kumar, S., Gupta, N., Gurjar, H., 2015, Metabolites in plants and its classification, *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences,* 4(1), 287-305.

[50]. Robinson, R., 2001, *Plant sciences for students*, Macmillan Referance, USA.

[51]. Jayaprakasha, G. K., 2018, *Advances in plant phenolics: from chemistry to human health*, American Chemical Society, Washington, DC.

[52]. Motilva, M. J., Serra, A., Macià, A., 2013, Analysis of food polyphenols by ultra high-performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry: An overview, *Journal of Chromatography A*, 1292, 66-82.

[53]. Karabulut, H., Gülay, M. Ş., 2016, Serbest radikaller, Mehmet Akif Ersoy University *Journal of Health Sciences Institute*, 4(1).

[54]. Dede, B. Ç., 2023, *Ege bölgesine ait zeytin yapraklarındaki oleuropein içeriğinin HPLC ile tespiti ve antioksidan analizlerinin belirlenmesi*, Yüksek lisans tezi, Üsküdar Üniversitesi.

[55]. Özcan, O., Erdal, H., Çakırca, G., Yönden, Z., 2015, Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri, *Journal of Clinical and Experimental Investigations,* 6(3), 331-336.

[56]. Panche, A. N., Diwan, A. D., Chandra, S. R., 2016, Flavonoids: an overview, *Journal of nutritional science*, 5, e47.

[57]. Bestfoods, U., America, N., Englewood Cliffs, N. J., 2003, USDA Database for the Flavonoid Content of Selected Foods.

[58]. Akdoğan, D., 2019, *Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin enginarın antioksidan aktivitesine etkileri*, Yüksek lisans tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi.

[59]. Starkov, A., Wallace, K. B., 2006, Yin and yang of mitochondrial ROS, Oxidative stress, disease and cancer, 1-60.

[60]. Dontha, S., 2016, A review on antioxidant methods, *Asian Journal of Pharmaceutıcal and Clinical Research,* 9(2), 14-32.

[61]. Sivanandham, V., 2011, Free radicals in health and diseases-a mini review, *Pharmacologyonline*, 1(1), 1062.

[62]. Ozturk, M., Hakeem, K. R., 2019, *Plant and human health, volume 2: Phytochemistry and molecular aspects*. Springer International Publishing.

[63]. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., Karademir, S. E., 2004, Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method, *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(26), 7970-7981.

[64]. Apak, R., Özyürek, M., Güçlü, K., Çapanoğlu, E., 2016, Antioxidant activity/capacity measurement. 1. Classification, physicochemical principles, mechanisms, and electron transfer (ET)-based assays, *Journal of agricultural and food chemistry*, 64(5), 997-1027.

[65]. Prior, R. L., Cao, G., 1999, In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods, *Free radical biology and medicine*, 27(11-12), 1173-1181.

[66]. Kasnak, C., Palamutoğlu, R., 2015, Doğal antioksidanların sınıflandırılması ve insan sağlığına etkileri, *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology,* 3(5), 226-234.

[67]. Bravo, L., 1998, Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance*, Nutrition reviews*, 56(11), 317-333.

[68]. Büyüktuncel, E., 2013, Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler, *Marmara Pharmaceutical Journal*, 17(2), 93-103.

[69]. Wang, Y. C., Chuang, Y. C., Hsu, H. W., 2008, The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan, *Food chemistry*, 106(1), 277-284.

[70]. Uma, D. B., Ho, C. W., Wan Aida, W. M., 2010, Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from Henna (Lawsonia inermis) leaves, *Sains Malaysiana*, 39(1), 119-128.

[71]. Torun, M., Dincer, C., Topuz, A., Sahin–Nadeem, H., Ozdemir, F., 2015, Aqueous extraction kinetics of soluble solids, phenolics and flavonoids from sage (Salvia fruticosa Miller) leaves, *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2797-2805.

[72]. Ghafoor, K., Park, J., Choi, Y. H., 2010, Optimization of supercritical fluid extraction of bioactive compounds from grape (Vitis labrusca B.) peel by using response surface methodology, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(3), 485-490.

[73]. Letellier, M., Budzinski, H., 1999, Microwave assisted extraction of organic compounds, *Analusis*, 27(3), 259-270.

[74]. Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Omar, A. K. M., 2013, Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.

[75]. More, P. R., Jambrak, A. R., Arya, S. S., 2022, Green, environment-friendly and sustainable techniques for extraction of food bioactive compounds and waste valorization, *Trends in Food Science & Technology*, 128, 296-315.

[76]. Atılgan, B., 2018, *Kızılçam (Pinus brutia) kabuk taneni eldesinde ekstraksiyon yöntemlerinin verim ve kimyasal bileşim üzerine etkisi*, Yüksek lisans tezi, Bursa Teknik Üniversitesi.

[77]. Büyüktuncel, E., 2012, Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I, Hacettepe University *Journal of the Faculty of Pharmacy*, (2), 209-242.

[78]. Awad, T. S., Moharram, H. A., Shaltout, O. E., Asker, D. Y. M. M., Youssef, M. M., 2012, Applications of ultrasound in analysis, processing and quality control of food: A review, *Food research international*, 48(2), 410-427.

[79]. Patist, A., Bates, D., 2008, Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production, *Innovative food science & emerging technologies*, 9(2), 147-154.

[80]. Chandrapala, J., Oliver, C. M., Kentish, S., Ashokkumar, M., 2013, Use of power ultrasound to improve extraction and modify phase transitions in food processing, *Food Reviews International*, 29(1), 67-91.

[81]. Mason, T. J., Paniwnyk, L., Lorimer, J. P., 1996, The uses of ultrasound in food technology*, Ultrasonics sonochemistry*, 3(3), S253-S260.

[82]. Picó, Y., 2012, *Chemical analysis of food: Techniques and applications*, Academic Press, USA.

[83]. Soria, A. C., Villamiel, M., 2010, Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: a review, *Trends in food science and technology*, 21(7), 323-331.

[84]. Santos, H. M., Capelo, J. L., 2007, Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment, *Talanta*, 73(5), 795-802.

[85]. Stalikas, C. D., 2007, Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids, *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.

[86]. Wianowska, D., Hajnos, M. Ł., Dawidowicz, A. L., Oniszczuk, A., Waksmundzka-Hajnos, M., Głowniak, K., 2009, Extraction methods of 10-deacetylbaccatin III, paclitaxel, and cephalomannine from Taxus baccata L. twigs: A comparison, *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 32(4), 589-601.

[87]. Kubrakova, I. V., Toropchenova, E. S., 2008, Microwave heating for enhancing efficiency of analytical operations*, Inorganic materials*, 44, 1509-1519.

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

[89]. Cannell, R. J., 1998, How to approach the isolation of a natural product, *Natural products isolation*, 1-51.

[90]. Kratchanova, M., Pavlova, E., Panchev, I., 2004, The effect of microwave heating of fresh orange peels on the fruit tissue and quality of extracted pectin, *Carbohydrate polymers*, 56(2), 181-185.

[91]. Yeoh, S., Shi, J. T. A. G., Langrish, T. A. G., 2008, Comparisons between different techniques for water-based extraction of pectin from orange peels, *Desalination*, 218(1-3), 229-237.

[92]. Jang, M. J., Sheu, S. R., Wang, C. C., Yeh, Y. L., Sung, K. H., 2009, Optimization analysis of the experimental parameters on the extraction process of propolis, *In*

Proceedings of the International MultiConference of Engineers and Computer Scientists Vol. 2, 18-20.

[93]. Mao, Y., Li, Y., Yao, N., 2007, Simultaneous determination of salidroside and tyrosol in extracts of Rhodiola L. by microwave assisted extraction and high-performance liquid chromatography, *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 45(3), 510-515.

[94]. Camel, V., 2000, Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 19(4), 229-248.

[95]. Renoe, B. W., 1994, Microwave assisted extraction, American laboratory, 26(12), 34-40.

[96]. Li, W., Li, T., Tang, K., 2009, Flavonoids from mulberry leaves by microwave-assisted extract and anti-fatigue activity, *African Journal of Agricultural Research*, 4(9), 898-902.

[97]. Casazza, A. A., Aliakbarian, B., Mantegna, S., Cravotto, G., Perego, P., 2010, Extraction of phenolics from Vitis vinifera wastes using non-conventional techniques, *Journal of Food Engineering*, 100(1), 50-55.

[98]. Barnabas, I. J., Dean, J. R., Fowlis, I. A., Owen, S. P., 1995, Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from highly contaminated soils using microwave energy, *Analyst*, 120(7), 1897-1904.

[99]. Harborne, J. B., Mabry, T. J., 2013, *The flavonoids: advances in research,* Springer.

[100]. Wang, Y., You, J., Yu, Y., Qu, C., Zhang, H., Ding, L., Li, X., 2008, Analysis of ginsenosides in Panax ginseng in high pressure microwave-assisted extraction, *Food Chemistry,* 110(1), 161-167.

[101]. Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., Chemat, F., 2007, Solvent free microwave extraction of Elletaria cardamomum L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil, *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1079-1086.

[102]. Khajeh, M., Reza Akbari Moghaddam, A., Sanchooli, E., 2010, Application of Doehlert design in the optimization of microwave-assisted extraction for determination of zinc and copper in cereal samples using FAAS, *Food analytical methods*, 3, 133-137.

[103]. Xiao, W., Han, L., Shi, B., 2008, Microwave-assisted extraction of flavonoids from Radix Astragali, *Separation and Purification Technology*, 62(3), 614-618.

[104]. Carabias-Martínez, R., Rodríguez-Gonzalo, E., Revilla-Ruiz, P., Hernández-Méndez, J., 2005, Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples, *Journal of Chromatography A*, 1089(1-2), 1-17.

[105]. Mustafa, A., Turner, C., 2011, Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review, *Analytica chimica acta*, 703(1), 8-18.

[106]. Kiathevest, K., Goto, M., Sasaki, M., Pavasant, P., Shotipruk, A., 2009, Extraction and concentration of anthraquinones from roots of Morinda citrifolia by non-ionic surfactant solution, *Separation and Purification Technology*, 66(1), 111-117.

[107]. Camel, V., 2001, Recent extraction techniques for solid matrices—supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls, *Analyst*, 126(7), 1182-1193.

[108]. Zhu, Y., Yanagihara, K., Guo, F., Li, Q. X., 2000, Pressurized fluid extraction for quantitative recovery of chloroacetanilide and nitrogen heterocyclic herbicides in soil, *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(9), 4097-4102.

[109]. Fisher, J. A., Scarlett, M. J., Stott, A. D., 1997, Accelerated solvent extraction: an evaluation for screening of soils for selected US EPA semivolatile organic priority pollutants, *Environmental science and technology*, 31(4), 1120-1127.

[110]. Zougagh, M., Valcárcel, M., Rıos, A., 2004, Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 23(5), 399-405.

[111]. Ndiomu, D. P., Simpson, C. F., 1988, Some applications of supercritical fluid extraction, *Analytica chimica acta*, 213, 237-243.

[112]. Inczédy, J., Lengyel, T., 1998, *Compendium of analytical nomenclature: definitive rules*, Institut d'Estudis Catalans.

[113]. Sihvonen, M., Järvenpää, E., Hietaniemi, V., Huopalahti, R., 1999, Advances in supercritical carbon dioxide Technologies, *Trends in Food Science and Technology*, 10(6-7), 217-222.

[114]. Mousavi, L., Tamiji, Z., Khoshayand, M. R., 2018, Applications and opportunities of experimental design for the dispersive liquid–liquid microextraction method–A review, *Talanta*, 190, 335-356.

[115]. Koç, B., Kaymak-Ertekin, F., 2010, Yanıt Yüzey Yöntemi ve Gıda İşleme Uygulamaları, *Gıda*, 35(1), 1-8.

[116]. Myers, R. H., Montgomery, D. C., Anderson-Cook, C. M., 2016, *Response surface methodology: process and product optimization using designed experiments*, John Wiley & Sons.

[117]. Box, G. E., Draper, N. R., 1987, *Empirical model-building and response surfaces*, John Wiley & Sons.

[118]. Oyejola, B. A., & Nwanya, J. C. (2015), Selecting the right central composite design. *Int. J. Stat. Appl*, 5(1), 21-30.

[119]. Bener, M., Şen, F. B., Önem, A. N., Bekdeşer, B., Çelik, S. E., Lalikoglu, M., Apak, R., 2022, Microwave-assisted extraction of antioxidant compounds from by-products of Turkish hazelnut (Corylus avellana L.) using natural deep eutectic solvents: Modeling, optimization and phenolic characterization, *Food Chemistry*, 385, 132633.

[120]. Pena-Pereira, F., Wojnowski, W., Tobiszewski, M., 2020, AGREE—Analytical GREEnness metric approach and software, *Analytical chemistry*, 92(14), 10076-10082.

[121]. Jain, S., Patel, N., Lin, S., 2015, Solubility and dissolution enhancement strategies: current understanding and recent trends, *Drug development and industrial pharmacy*, 41(6), 875-887.

[122]. Zhao, S., Baik, O. D., Choi, Y. J., Kim, S. M., 2014, Pretreatments for the efficient extraction of bioactive compounds from plant-based biomaterials, *Critical reviews in food science and nutrition*, 54(10), 1283-1297.

[123]. Jha, A. K., Sit, N., 2022, Extraction of bioactive compounds from plant materials using combination of various novel methods: A review, *Trends in Food Science and Technology*, 119, 579-591.

[124]. Kaderides, K., Papaoikonomou, L., Serafim, M., Goula, A. M., 2019, Microwave-assisted extraction of phenolics from pomegranate peels: Optimization, kinetics, and comparison with ultrasounds extraction, *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification,* 137, 1-11.

[125]. Fierascu, R. C., Fierascu, I., Avramescu, S. M., Sieniawska, E., 2019, Recovery of natural antioxidants from agro-industrial side streams through advanced extraction techniques, Molecules, 24(23), 4212.

[126]. Chandrapala, J., Oliver, C. M., Kentish, S., Ashokkumar, M., 2013, Use of power ultrasound to improve extraction and modify phase transitions in food processing, *Food Reviews International*, *29*(1), 67-91.

[127]. Zia, S., Khan, M. R., Shabbir, M. A., Aslam Maan, A., Khan, M. K. I., Nadeem, M., Khalil, A. A., Din, A., Aadil, R. M., 2022, An inclusive overview of advanced thermal and nonthermal extrac- tion techniques for bioactive compounds in food and food-related matrices, *Food Reviews International*, 38(6), 1166–1196.

[128]. Panda, D., Manickam, S., 2019, Cavitation technology—The future of greener extraction method: A review on the extraction of natural products and process intensification mechanism and perspectives, *Applied Sciences*, 9(4), 766.

[129]. İşçimen, E. M., Hayta, M., 2024, Optimization of ultrasound-assisted extraction of protein from the byproduct of the hazelnut oil industry using reverse micelles, *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences,* 42(4), 1202-1213.

[130]. Odabaş, H. İ., Koca, I., 2016, Application of response surface methodology for optimizing the recovery of phenolic compounds from hazelnut skin using different extraction methods, *Industrial Crops and Products*, 91, 114-124.

[131]. Yılmaz, T., Tavman, Ş., 2016, Ultrasound assisted extraction of polysaccharides from hazelnut skin, *Food Science and Technology International*, 22(2), 112-121.

[132]. Tunçil, Y. E., 2020, Dietary fibre profiles of Turkish Tombul hazelnut (*Corylus avellana* L.) and hazelnut skin, *Food Chemistry*, 316, 126338.

[133]. Yuan, B., Lu, M., Eskridge, K. M., Hanna, M. A., 2018, Valorization of hazelnut shells into natural antioxidants by ultrasound-assisted extraction: Process optimization and phenolic composition identification, *Journal of Food Process Engineering*, 41(5), e12692.

[134]. Ivanović, S., Avramović, N., Dojčinović, B., Trifunović, S., Novaković, M., Tešević, V., Mandić, B., 2020, Chemical composition, total phenols and flavonoids contents and antioxidant activity as nutritive potential of roasted hazelnut skins (*Corylus avellana* L.), *Foods*, 9(4), 430.

[135]. Del Rio, D., Calani, L., Dall'Asta, M., Brighenti, F., 2011, Polyphenolic composition of hazelnut skin, *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(18), 9935-9941.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Ervanur Elmas
Doğum Yeri	
Doğum Tarihi	Tarih girmek için tıklayın veya dokunun.
Uyruğu	☑ T.C. ❒ Diğer:
E-Posta Adresi	
Web Adresi	

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Marmara Üniversitesi
Fakülte	Fen ve Edebiyat Fakültesi
Bölümü	Kimya
Mezuniyet Yılı	2022

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Analitik Kimya Anabilim Dalı
Programı	Kimya

Makale ve Bildiriler

Makale:

Elmas, E., Şen, F. B., Kublay, İ. Z., Baş, Y., Tüfekci, F., Derman, H., Bekdeşer, B., Aşçı, Y.S., Capanoglu, E., Bener, M., Apak, R. (2025). Green Extraction of Antioxidants from Hazelnut By-products Using Microwave-Assisted Extraction, Ultrasound-Assisted Extraction, and Pressurized Liquid Extraction. Food and Bioprocess Technology, 1-19.

Şen, F. B., Elmas, E., Dilgin, Y., Bener, M., & Apak, R. (2024). Amperometric Sensor for Total Antioxidant Capacity Measurement Using Cu (II)-Neocuproine/Carrageenan-MWCNT/GCE. *Microchemical Journal*, *199*, 110081.

Elmas, E., Şen, F. B., Bener, M., & Apak, R. (2025). Development of a Dual-Sensing Colorimetric Probe for Total Antioxidant Capacity Measurement using Iron (III)-o-phenanthroline Reagent. *Talanta*, 127751.

Bildiri:

Elmas E., Şen F. B., Bener M., Apak M. R., Demir(III) İyonu İndirgeme Esaslı Çift Modlu Antioksidan Kapasite Tayin Sensörü, VI. Eser Analiz Kongresi, Manisa, Türkiye, 5 - 08 Eylül 2024, ss.1.

Elmas E., Şen F. B., Bener M., Apak M. R., Yeşil Ekstraksiyon Yöntemleri Kullanılarak Fındık Yan Ürünlerinden Değerli Biyoaktif Bileşenlerin Ekstraksiyonu, 17. Ulusal Spektroskopi Kongresi, Zonguldak, Türkiye, 30 Mayıs - 01 Haziran 2024, ss.50,

Elmas E., Şen F. B., Dilgin Y., Bener M., Apak M. R., Cu(II)Nc/Car-Mwcnt Modified Electrode For Antıoxıdant Capacity Measurement, 12th Aegean Analytical Chemistry Days, Türkiye, 19 - 22 Ekim 2023,