

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**Hibiscus sabdariffa L. ve Origanum vulgare subsp. hirtum L. BİTKİLERİNİN
ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYONU VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Harun Reşit ÖZDAL

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

Mart, 2020

T.C.
İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ



**Hibiscus sabdariffa L. ve Origanum vulgare subsp. hirtum L. BİTKİLERİNİN
ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYONU VE ANTİOKSİDAN
AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Harun Reşit ÖZDAL
(Y1713.040007)**

**Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı
Gıda Mühendisliği Programı**

Tez Danışmanı: Dr. Öğretim Üyesi Sibel KAHRAMAN

Mart, 2020

ONAY FORMU



YEMİN METNİ

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “Hibiscus sabdariffa L. Ve Origanum vulgare subsp. hirtum L. Bitkilerinin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu Ve Antioksidan Aktivitesinin Araştırılması” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadar ki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve etik geleneklere aykırı düşecek bir davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve yararlandığım eserlerin bibliyografyada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yaparak yararlanmış olduğumu belirtir ve onurumla beyan ederim.
21/03/2020

Harun Reşit ÖZDAL

ÖNSÖZ

Hazırlamış olduğum tez çalışmam ve lisansüstü eğitimim boyunca gösterdiği her türlü destek ve yardımlarından dolayı tez danışmanım Dr. Sibel KAHRAMAN' a ve hayatım boyunca beni destekleyen değerli aileme, arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Mart, 2020

Harun Reşit ÖZDAL



İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ	3
2.1 <i>Malvaceae</i> Familyası.....	3
2.1.1 Hibiscus.....	4
2.1.1.1 Hibiscus sabdariffa L.	5
2.2 Labiatae (Lamiaceae) Familyası	7
2.2.1 Origanum cinsi	8
2.2.2 <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> L.....	9
2.3 Polifenoller	9
2.3.1 Fenolik asitler.....	13
2.3.2 Flavonoidler	13
2.3.2.1 İzoflavonlar, neoflavonoidler ve kalkonlar	14
2.3.2.2 Flavonlar, flavonoller, flavononlar ve flavanonoller	14
2.3.2.3 Flavanoller ve proantosiyanidinler	15
2.4 Yeşil Ekstraksiyon Yöntemleri	16
2.4.1 Ultrason destekli ekstraksiyon	17
3. YÖNTEM VE GEREÇ	20
3.1 Materyalin Temin Edilmesi.....	20
3.2 Ekstrelerin Hazırlanması	20
3.3 Toplam Fenolik Madde Tayini.....	21
3.4 Toplam Flavanoid Tayini	22
3.5 Toplam Antosiyanın Tayini	22
3.6 Antioksidan Aktivite Tayini	23
3.6.1 ABTS radikali giderme aktivitesi	23
3.6.2 DPPH radikali giderme aktivitesi	23
3.6.3 İndirgeyici güç analizi.....	24
3.7 Kullanılan Çözeltiler	24
3.8 Kullanılan Ekipmanlar	25
3.9 İstatistiksel Analiz	26
4. BULGULAR VE SONUÇ	27
4.1 Bulgular	27
4.1.1 Hibiscus sabdariffa L.	27
4.1.1.1 Toplam fenolik madde	27

4.1.1.2 Toplam flavonoid tayini	28
4.1.1.3 Antosiyanin tayini	28
4.1.1.4 Antioksidan aktivite	29
4.1.2 O. vulgare subsp. hirtum L.....	32
4.1.2.1 Toplam fenolik madde	32
4.1.2.2 Toplam flavonoid	32
4.1.2.3 Antioksidan aktivite	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	36
KAYNAKÇA	40
ÖZGEÇMİŞ	47



KISALTMALAR

ABTS : 2,2' azinobis (3-etilbenzothiazolin-6-sulfonik asit) diamonyum

DPPH : 1,1-difenil-2- pikrilhidrazil

GAE : gallik asit ekivalanı

g : gram

h : saat

Mas : maserasyon

mg : miligram

ml : mililitre

' : dakika

RPM : dakikada devir sayısı

UDE : ultrason destekli ekstraksiyon

QE : kateşin ekivalanı

µg : mikro gram

µL : mikrolitre

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1: Polifenolik bileşenlerin ana sınıflandırması	10
Çizelge 2.2: Farklı bitkisel yiyecek ve içeceklerin fenolik madde miktarı	11



ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	: <i>Malvaceae</i> (Anonim, 2007)	3
Şekil 2.2	: <i>Hibiscus rosa-sinensis</i> (Anonim, 2008).....	4
Şekil 2.3	: <i>Hibiscus sabdariffa L.</i> (Anonim, 2009)	5
Şekil 2.4	: <i>Labiatae</i> (Anonim, 2020).....	7
Şekil 2.5	: <i>O. vulgare subsp hirtum L.</i> (Anonim, 2019).....	9
Şekil 2.6	: Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi	12
Şekil 2.7	: Fenoksi radikal ara maddelerin antioksidan etkisi.....	13
Şekil 2.8	: Gıdada bulunan tipik fenolik bileşikler.....	13
Şekil 2.9	: Gıdalarda bulunan tipik izoflavonlar, dalberginler ve kalkonlar	14
Şekil 2.10	: Temel flavonoid omurgası	14
Şekil 2.11	: Flavonlar, flavonollar, flavanonlar, flavanonollar	15
Şekil 2.12	: Flavanollar ve prosiyanidinler	16
Şekil 3.1	: Ekstrelerin hazırlanması.....	21
Şekil 3.2	: Gallik asit standart eğrisi	21
Şekil 3.3	: Kateşin standart eğrisi.....	22
Şekil 4.1	: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g)	27
Şekil 4.2	: Toplam flavonoid madde miktarı (mg QE/g)	28
Şekil 4.3	: Toplam antosiyanin miktarı (mg/L).....	29
Şekil 4.4	: ABTS radikali giderme aktivitesi (%)	30
Şekil 4.5	: DPPH radikali giderme aktivitesi (%)	31
Şekil 4.6	: İndirgeyici güç analizi (absorbans).....	31
Şekil 4.7	: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g)	32
Şekil 4.8	: Toplam flavonoid miktarı (mg QE/g).....	33
Şekil 4.9	: ABTS radikali giderme aktivitesi (%)	34
Şekil 4.10	: DPPH radikali giderme aktivitesi (%)	34
Şekil 4.11	: İndirgeyici güç analizi (absorbans).....	35

Hibiscus sabdariffa L. ve Origanum vulgare subsp. hirtum L. BİTKİLERİNİN ULTRASON DESTEKLİ EKSTRAKSİYONU VE ANTIOKSİDAN AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Bu çalışmada iki farklı bitki örneği (*Hibiscus sabdariffa L.*, *O. vulgare subsp. hirtum L.*) farklı etanol konsantrasyonları (%60, %70 v/v), farklı sıcaklık ve süre kombinasyonları kullanılarak ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Klasik yöntemi örnekleme amacıyla aynı etanol konsantrasyonları ile maserasyon yöntemine göre hazırlanan ekstraktler, toplam fenolik, flavonoid ve antosiyanin miktarı ile antioksidan aktivite açısından ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulan örneklerle karşılaştırılmıştır. Çalışmada antioksidan aktivite tayini için ABTS radikali giderme aktivitesi, DPPH radikali giderme aktivitesi ve indirgeyici güç analizi yapılmıştır.

Hibiscus sabdariffa L. için toplam fenolik madde miktarı açısından ultrason destekli ekstraksiyon, değerleri arttırmıştır. Etanol konsantrasyonlarında en iyi sonuçları %60 (v/v) etanol konsantrasyonlu örnekler göstermiştir. %60 etanol konsantrasyonu ile 40°C sıcaklıkta 60' ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulan ekstraktler 89 mg GAE/g toplam fenolik madde içeriği ile en yüksek değeri vermiştir. Toplam flavonoid madde miktarına bakıldığında ultrason destekli ekstraksiyonun maserasyon yöntemine göre daha üstün (44,6 mg QE/g) sonuçlar verdiği bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı analizlerinde olduğu gibi toplam flavonoid miktarı analizlerinde de %60 etanol konsantrasyonuna sahip örnekler daha etkili sonuçlar vermiştir. Antosiyanin miktarı ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile ekstrakte edilen örneklerde daha iyi sonuçlar vermiştir. Bunun maserasyon yönteminin uzun ekstraksiyon süresinden kaynaklandığı düşünülmektedir. %70 (v/v) etanol konsantrasyonu ile 60°C 60' ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulan örneklerin 12,27 mg/kg değer ile en yüksek sonucu verdiği görülmüştür. Antioksidan aktivite tayini sonuçlarına göre, ABTS radikali giderme aktivitesinde %70 etanol konsantrasyonuna sahip ekstraktler yüksek değerler vermiştir. DPPH radikali giderme aktivitesinde ise %70 etanol konsantrasyonuna sahip örneklerde daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. İndirgeyici güç analizinde ultrason destekli ekstraksiyonda maserasyon yöntemine eş değer sonuçlar alınmıştır.

O. vulgare subsp. hirtum L. için sonuçlara bakıldığında, toplam fenolik madde miktarı yönünden ultrason destekli ekstraksiyon ile maserasyon yöntemine göre daha yüksek sonuçlar elde edilmiştir. Maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilen örneklerden en yüksek değer 68,5 mg GAE/g iken 60°C sıcaklıkta 60' %60 etanol konsantrasyonu ile ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulan örnekler 71,3 mg GAE/g gibi yüksek değerlere çıkmıştır. Flavonoid madde miktarı açısından ultrason destekli ekstraksiyon, maserasyon yöntemine göre daha etkili bulunmuştur. Ekstraktler arasında en yüksek flavonoid içeriği 111,98 mg QE/g ile %60 etanol konsantrasyonlu 40°C sıcaklıkta 30' ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulmuş ekstraktlerde görülmüştür. Antioksidan aktivite sonuçlarına bakıldığında, ABTS radikali giderme aktivitesi

yönünden maserasyon yöntemine yakın sonuçlar elde edilmiştir. DPPH radikali giderme aktivitesi yönünden %70 etanol konsantrasyonunun %60'a göre daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür. Ultrason destekli ekstraksiyonda sıcaklığın ve sürenin değerleri olumlu yönde etkilediği görülmüştür. İndirgeyici güç analizinde ise her iki etanol konsantrasyonunda da ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulan örneklerin maserasyon yöntemine üstün geldiği görülmüştür.

Maserasyon yöntemine kıyasla daha az zaman ve enerji sarfıyatı ile ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle verimli ekstraksiyon yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Hibiskus, kekik, ultrason, ekstraksiyon, antioksidan, fenolik*



ULTRASON ASSISTED EXTRACTION OF *Hibiscus sabdariffa* L. AND *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* L. AND ANTIOXIDANT ACTIVITY

ABSTRACT

In the present study, two different plant samples (*Hibiscus sabdariffa* L., *O. Vulgare* subsp. *hirtum* L.) were subjected to ultrasound-assisted extraction at different ethanol concentrations (60%, 70% v/v) using varying temperature and time combinations. The extracts prepared by the maceration method with the same ethanol concentrations were compared with the samples subjected to ultrasound-assisted extraction in terms of total phenolic, flavonoid, and anthocyanin contents and antioxidant activity in order to exemplify the classical method. For the determination of antioxidant activity, ABTS radical scavenging activity, DPPH radical scavenging activity, and reducing power analysis were performed. Ultrasound-assisted extraction increased the total phenolic content of *Hibiscus sabdariffa* L. The samples with 60% (v/v) ethanol concentration yielded the best results. The extracts with 60% ethanol concentration subjected to ultrasound-assisted extraction for 60 minutes at 40° C yielded the highest value, with a total phenolic content of 89 mg GAE/g. When the total flavonoid content was examined, it was found that ultrasound-assisted extraction yielded results (44,6 mg QE/g) that are higher than the value obtained by the maceration method. The samples with 60% ethanol concentration produced more effective results in total flavonoid content analysis as well as in total phenolic content analysis. The samples extracted with the ultrasound-assisted extraction method gave better results in terms of anthocyanin content. This can be attributed to the longer extraction time that the maceration method requires. The samples with 70% (v/v) ethanol concentration subjected to ultrasound-assisted extraction for 60 minutes at 60° C were found to yield the highest values with 12,27 mg/kg. In terms of antioxidant activity determination, extracts having 70% ethanol concentration produced high values in ABTS radical scavenging activity. In DPPH radical scavenging activity, higher results were obtained in samples with 70% ethanol concentration. In reducing power analysis, it was seen that ultrasound-assisted extraction yielded similar values compared to the maceration method. Considering the results for *O. vulgare* subsp. *hirtum*, ultrasound-assisted extraction yielded higher results than those obtained by the maceration method in terms of total phenolic content. The highest value obtained from the samples extracted by the maceration method was 68,5 mg GAE/g, while the samples with 60% ethanol concentration that were subjected to ultrasound-assisted extraction at 60° C for 60 minutes yielded 71,3 mg GAE/g, which is higher than the result obtained by the maceration method. In terms of flavonoid content, ultrasound-assisted extraction produced more effective results than the maceration method. The highest flavonoid content (111,98 mg QE/g) among extracts was observed in extracts with 60% ethanol concentration which were subjected to the ultrasound-assisted extraction method at 40° C for 30 minutes. When the results of antioxidant activity were examined, it was observed that values close to those obtained by the maceration method in terms of ABTS radical scavenging

activity. In terms of DPPH radical scavenging activity, 70% ethanol concentration was found to yield higher values than 60% ethanol concentration. In ultrasound-assisted extraction, it was observed that the temperature and time had a positive effect on the values. Reducing power analysis showed that both ethanol sample concentrations yielded better results in ultrasound-assisted extraction than in the maceration method. The ultrasound-assisted extraction method, which requires less time and energy in comparison to the maceration method, provided more efficient extraction.

Keywords: *Hibiscus, thyme, ultrasound, extraction, antioxidant, phenolic*



1. GİRİŞ

Bitkiler, tıp, beslenme, boyama, koku, kozmetik vb. amacıyla birçok alanda kullanılmıştır. Tarih öncesi çağlardan bu yana, on dokuzuncu yüzyılda sentetik ilaçlar geliştirilinceye kadar şifalı bitkiler neredeyse tüm ilaç tedavisinin temelini oluşturmuştur. Bitkisel kaynakların koruyucu etkisi, dokularında antioksidan ve antimikrobiyal bileşenlerin bulunduğunu göstermektedir (Djeridane ve ark., 2006). Son zamanlarda, gıdalarda ya da tıbbi materyallerde kullanım için doğal antioksidanlar, kanserojen oldukları nedeniyle kısıtlanan sentetik antioksidanların yerini almaktadır (Velioglu ve ark., 1998). Birçok tıbbi bitki, serbest radikallerin adsorbe edilmesinde ve nötrleştirilmesinde, singlet ve peroksitlerin ayrıştırılmasında önemli bir rol oynayabilen polifenoller gibi büyük miktarda antioksidan içerir. Bu fitokimyasalların birçoğu, birkaç hastalığının görülme sıklığı ve ölüm oranını düşürmesi ile ilişkili olan önemli antioksidan kapasitelere sahiptir (Anderson ve ark., 2001).

Fenolikler, bir veya daha fazla hidroksil grubuna veya aromatik halkaya sahip bileşiklerdir. Bitki krallığının en bol ikincil metabolitleri olan fenoliklerin; fenolik asitler gibi basit moleküllerden tanen gibi yüksek polimerize maddelere kadar, günümüzde bilinen 8.000'den fazla türü bulunmaktadır. Bitki fenolikleri genellikle bitkinin kendini ultraviyole radyasyona karşı savunmasına veya patojenlerin, parazitlerin ve avcılarının saldırılarına karşı koymasına, bitkilerin renklerine ve dokularına katkıda bulunurlar. Tüm bitki organlarında bulunurlar ve bu nedenle insan diyetinin ayrılmaz bir parçasıdır. Fenolikler, bitkisel yiyecekler (meyveler, sebzeler, tahıllar, zeytin, baklagiller, çikolata, vb.) ve içeceklerin (çay, kahve, bira, şarap vb.) yaygın bileşenleridir ve bitkisel besinlerin genel organoleptik özelliklerinden kısmen sorumludurlar (Dai ve Mumper, 2010).

Artan enerji fiyatları ve CO₂ emisyonlarını azaltma çabasıyla, gıda ve kimya endüstrileri, enerji kullanımını azaltacak ve ekonomik sürdürülebilirliği olan, yüksek verimli yeni teknolojiler ve proses stratejileri üzerinde çalışmaktadır.

Doğal ürünlerin doğaya dost bir şekilde elde edilmesi; enerji tüketimini azaltacak, alternatif solventlerin ve yenilenebilir doğal ürünlerin kullanımına olanak sağlayan, güvenli ve yüksek verimli ürünlerin elde edilmesini sağlayacak, ekstraksiyon tekniklerinin kullanılmasını gerektiriyor. Günümüzde yoğun olarak kullanılan geleneksel ekstraksiyon tekniklerine (sokselet, maserasyon ve perkolasyon ekstraksiyonu vb.) alternatif olarak mikrodalga, ultrason, yüksek basınç, ohmik, vurgulu elektrik alan destekli ve süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmiştir (Rombaut ve ark., 2014).

Ultrason destekli ekstraksiyon (UDE), geleneksel ekstraksiyona kıyasla en basit ve etkili tekniklerden biridir. Ultrason destekli ekstraksiyon (UDE), daha az solvent tüketimi, daha kısa ekstraksiyon süresi ve düşük ekstraksiyon sıcaklığı gibi birçok avantaja sahip olmakla birlikte fenolik ve çeşitli bileşenlerin farklı bitki materyallerinden ekstrakte edilmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır (Harborne, 1983; Shi ve ark., 2005; Nicoue ve ark., 2007).

Bu çalışmada *Hibiscus sabdariffa L.* ve *Origanum vulgare subsp. hirtum L.* bitkilerinin kurutulmuş formlarının farklı sıcaklık/süre/etanol konsantrasyonları ile ultrason destekli ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen ekstraktların hem kendi içinde hem de klasik yöntem ile toplam fenolik/flavonoid ve antosiyanin miktarı ve antioksidan aktivitesi yönünden karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Malvaceae* Familyası

Malvaceae ailesi ortalama 80'e yakın cins ve 1000'den fazla tür bulundurmaktadır. Geniş coğrafyalara yayılmış bu familyanın ana vatanı Güney Amerika'dır. Çok soğuk iklimler hariç dünyanın birçok yerinde yayılım göstermektedir. 300'e yakın türü ile *Hibiscus* bu türün en büyük yayılıma sahip üyesidir. *Malvaceae* ailesine dahil birçok tür dünyanın tropik yerlerinde yayılış göstermektedir. Ebegümeçigiller familyası olarak da bilinen bu aile bir ya da birkaç yıllık; bazı türleri otsu, bazıları çalı veya ağaç şeklinde olan bitkilerdir. Huni şeklinde göz alıcı iri çiçeklere sahiptirler (Uzunhisarcıklı ve Vural, 2009).



Şekil 2.1: *Malvaceae* (Anonim, 2007)

Bu familyaya ait türlerden elde edilen ekstraktlar geleneksel ve modern tıbbın ilgi odağındadır (Tseng ve Lee, 2008). Örneğin *Hibiscus rosa-sinensis L.*'nin tomurcukları kanı durdurmak, ateşi düşürmek; çiçekleri afrodisyak etki ve adet kanamalarını hızlandırmak; tohumları ise öksürüğü gidermek için kullanılır (Islam, 2019). *Gossypium herbaceum L.*'nin ise tohumlarının sakinleştirici, balgam söktürücü, kabızlık giderici olarak kullanıldığı bilinmektedir. *Abutilon indicum (L.) Sweet* türünün pişirilmiş yaprakları ateş düşürmede ve göğüs

enfeksiyonlarında endikedir. Tohumlarının bronşit, öksürük, bel soğukluğu ve kronik sistit için faydalı olduğu bilinmektedir (Lewis ve ark., 1987).

2.1.1 Hibiscus

Hibiscus cinsi 300'den fazla tür içerir. Türlerin çoğu gösterişli çiçekler üretir ve bitkiler çoğunlukla peyzajda çalı veya küçük ağaçlar olarak kullanılır. Beş veya daha fazla, iri, cezbedici, trompet şeklinde çiçekleri vardır. Çiçekler, sarı, beyaz, mor, turuncu, kırmızı olabilir ve 4–18 cm genişliktedir. Çeşitli türleri, özellikle *Hibiscus syriacus* ve *Hibiscus rosa-sinensis* olmak üzere süs bitkileri olarak yaygın şekilde yetiştirilmektedir. Ilıman bölgelerde, belki de en yaygın şekilde yetiştirilen süs türleri, Ağaçatmi çiçeği olarak bilinen *Hibiscus syriacus*' tur. Tropikal ve subtropikal bölgelerde, pek çok gösterişli melezi olan Çin ebegümeçi (*Hibiscus rosa-sinensis*) en popüler ebegümeçidir (Wang ve ark., 2012).



Şekil 2.2: *Hibiscus rosa-sinensis* (Anonim, 2008)

Bazı türlerinin kalıksleri kurutulularak içecek yapımında kullanılır. *Hibiscus cannabinus* (Kenaf) türü kâğıt yapımında yaygın olarak kullanılan bir türdür. *Hibiscus* türleri ayrıca, yemeklik yağ üretmek veya hayvan yetiştirmek için potansiyel olarak kullanılabilir küçük tohumlar üretir (Ahmed ve Hudson, 1982). Bununla birlikte, *Hibiscus* tohum yağı iki sıradışı yağ asidi içerir: dihidrosterkulik asit (DHSA) ve vernolik asit (VA). *Hibiscus* tohumu veya yağı hayvanlar veya insanlar tarafından tüketildiğinde, *Hibiscus*'taki DHSA'nın (pamuk tohumu yağına benzer) toksisite ve fizyolojik bozukluklar gibi zararlı sağlık etkileri olabilir (Obert ve ark., 2007). VA bakımından zengin yağ, plastik

veya boya malzemelerindeki yapıştırıcılar gibi endüstriyel uygulamalarda potansiyel yarar sağlar. Kenaf ve roselle muhtemelen cinsinde ekonomik olarak en önemli iki türdür (Coetzee ve ark., 2008).

2.1.1.1 Hibiscus sabdariffa L.

Ana vatanının Afrika olduğuna inanılan çekici bir bitki olan *H. sabdariffa L.*, Sudan, Doğu Tayvan ve Tayland'daki tropikal bölgelerde yetiştirilmektedir (Lin ve ark., 2007). *Hibiscus sabdariffa L.* ‘‘Malvaceae-Ebegümeçigiller’’ familyasından, tüysüz, kırmızımsı, silindirik bir gövdeye sahip 3 metreye uzayabilen iki veya bir yıllık yarı odunsu bir çalıdır. *Hibiscus* cinsinin dünya çapında 500'den fazla türü vardır. Karkade, kerkede, roselle, Sudan çayı, ekşi çay, nar çiçeği gibi isimlerle anılan bitki, doğal olarak güneydoğu Asya ve Afrika'nın orta-batı tropik kuşağında yetişmektedir (Morton, 1974).



Şekil 2.3: *Hibiscus sabdariffa L.* (Anonim, 2009)

Roselle bitkisi ılık kuru iklimlerde iyi yetişmekte olup dünya çapındaki üretiminde %27,76 pay ile Çin başı çekmektedir. Çin'in ardından Hindistan (%17,91), Sudan (%9,1), Uganda (%8,40), Endonezya (%6,23), Malezya (%5,53) ve Meksika (%5,14) gelmektedir (Baser, 2017).

Kaliksler, dünyanın tropik ve alt tropik ülkelerinde sıcak ve soğuk içecekler yapmak için kullanılır. Bu içeceklerin Nijerya'da ortalama tüketimi 150-180 mg/kg gündür. Kaliksler Batı Hint Adaları'nda renk ve lezzet için romda ve bitkinin tohumları ise afrodisyak etki için kahve yapımında kullanılır. Ayrıca meyveleri de yenilebilir (Badreldin ve ark., 2005). Çiçeklerinin kırmızı kalıcı

kaliksi, ekşi bir tada sahiptir ve çoğunlukla soğuk ve sıcak içeceklerin hazırlanmasında kullanılır. Ayrıca gıdalarda renklendirici olarak kullanılır.

Son zamanlarda, yerel alkolsüz içecek pazarında önemli bir yer edinmiş olan Roselle ekstraktları potansiyel sağlık yararlarının fark edilmesi nedeniyle takviye edici gıda pazarında kendine yer edinmiştir (Wang ve ark., 2000).

Roselle bazı bölgelerde böbrek ve idrar kesesi taşları için geleneksel bir ilaç olarak kullanılır. Ayrıca, antibakteriyel, antifungal, hipokolesterolemik, antispazmodik, idrar söktürücü, ürikosürik, antihipertansif madde, iltihaplanma, mutajenite ve immün modülatör bir bileşik olarak da kullanılır (Dafallah ve Al-Mustafa, 1996).

Kaliksini ve çiçeklerinin birçok kimyasal bileşen içerdiği bilinmekle birlikte kimyasal kompozisyonu: Alkaloidler, askorbik asit, β -karoten, anisaldehit, araşidik asit, sitrik asit, malik asit, tartarik asit, glisinbeten, trigonellin; antosiyaninler, siyanidin-3-rutinosid, delfinidin, delphinidin-3-glukoksilosit, delfinidin-3-monoglikozit, siyanidin-3-monoglikozit, siyanidin-3-sambubiyosit, siyanidin-3,5-diglukozit; flavonol glikozitler, hibiscetin-3-monoglikozit, gossipetin-3-glukozit, gossipetin-7-glikoz, dedikodetin-8-glukozit ve sabdaritrin; kuersetin, protokateşik asit, pektin, polisakkaritler, mukopolisakkaritler, stearik asit ve balmumu şeklindedir (Hirunpanich ve ark., 2005).

Tohum yağında, kampasterol, stigmasterol, ergosterol, b-sitosterol ve aspinasterol varlığı bildirilmiştir. Bitkinin kaliks, çiçek yapraklarında antosiyaninler, kuersetin, askorbik asit, steroid glikozitler (b-sitosteroid glikozit gibi) ve protokateşik asit gibi çeşitli antioksidan bileşenleri bulunur (Tseng ve ark., 1997). Yapılan çalışmada, rosellenin ekstraktlarının polifenolik asitler (%1,7 kuru ağırlık), flavonoidler (%1,43 kuru ağırlık) ve antosiyaninler (%2,5 kuru ağırlık) yönünden zengin olduğu görülmüştür (Fakeye ve ark., 2008).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar Roselle kaliksini sulu ve etanol özlerinin insanlarda antioksidanlar olarak işlev görebileceğini göstermiştir. Ekstreler, anti-kanser görevi görebilir ve şeker hastalığı, dislipidemi ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler ve kronik hastalıkların azaltılmasına yardımcı olabilir. Roselle kaliks özütlerinde bulunan ana bileşikler, antioksidan görevi gören flavonoidler ve antosiyaninlerdir. Bu bileşikler toksik veya mutajenik aktiviteye sahip

değildir. Roselle kaliks özütlerinde bulunan protokateşik asit gibi fenolik bileşikler güçlü antioksidan özelliklere sahiptir. Protokateşik asit, hücreye zarar verebilecek potansiyeli olan lipid peroksidasyonunu azaltır (Da-Costa-Rocha ve ark., 2014).

2.2 Labiatae (Lamiaceae) Familyası

Genellikle ballıbaba veya nane ailesi olarak bilinen *Lamiaceae* veya *Labiatae* familyası tıbbi aromatik bitkiler sınıfında bulunan çiçekli bitkiler ailesindedir. Geniş bir yetişme alanı bulan bitki yerleşim yerlerinde ve yükseklerde yetişmektedir (Heywood, 1996). Bu aileye üye bitkilerin en dikkat çekici özelliği karakteristik koku ve aromatik bileşenlere sahip olmasıdır (Karousou ve Kokkini, 1997).

Zengin bir cins (200 üzerinde) ve tür (7000 üzerinde) çeşitliğine sahip bu familya Akdeniz ikliminin hâkim olduğu ılıman kuşakta yetişmektedir. Bu aileye sahip bitkiler geçmişten günümüze geleneksel tıbbın ilgi odağında olmuştur. Günümüzde ise ilaç ve gıda sanayi başta olmak üzere kozmetik ürünlerde kullanım alanı bulmaktadır (Saleem, 2000).



Şekil 2.4: *Labiatae* (Anonim, 2020)

Güncel çalışmalar ülkemizde bu familyanın cins olarak 46 ve tür olarak 600 tür ile en büyük üç familyası arasında olduğunu ve %44 endemizm oranının bulunduğunu göstermiştir. Bu familya ekonomik öneme sahip olmakla birlikte yüksek aromatik içeriği ihtiva ettiği yağ asitleri ile parfümeri ve gıda endüstrisi gibi sektörlerde kullanılmaktadır (Estilai ve ark., 2019).

2.2.1 *Origanum cinsi*

Lamiaceae/Labiatae familyasına üye *Origanum* cinsi, geleneksel tıpta sıklıkla kullanılan ve halk arasında kekik olarak bilinen bitkidir. Uçucu yağlardan ‘‘timol’’ ve ‘‘karvakrol’’ içeren türler kekik olarak tanımlanmaktadır (Asensio ve ark., 2015).

Kekik türleri çeşitli terapötik yararlar sergilemiştir (terletici, antiseptik, antispazmodik ve tonik) ve dünyadaki alternatif, homeopatik veya naturopati ilaçlarında kullanılmaktadır. Kekik esansiyel yağları, yiyecek ve içeceklerde, aromalarda, mantar ilaçlarında ve böcek ilaçlarında, farmasötik ve veterinerlikte ve endüstriyel ürünlerde tatlandırıcı ajanlar olarak kullanılmıştır (Souza ve ark., 2007).

Origanum türleri; terletici, antiseptik, antispazmodik gibi çeşitli terapötik yararlar sergilemektedir ve alternatif tıp, homeopatik veya naturopatik tedavi ilaçlarında kullanılmaktadır. *Origanum* esansiyel yağları, yiyecek ve içeceklerde aroma verici olarak, mantar ve böcek ilaçlarında, farmakolojide kokuları için kullanılmaktadır (Souza ve ark., 2007).

Ek olarak, *Origanum* türleri gıdalar dışındaki pek çok üründe kullanılır ve bu nedenle yıllarca birçok kullanım ve uygulama tanımlandığından (kozmetik, parfümeri ve tuvalet malzemeleri, aromaterapi, farmasötik preparatlar, diğerleri arasında) kendi başlarına endüstriyel hammadde olarak kabul edilmektedir (Shylaja, 2004).

Origanum türlerinin çoğu, Akdeniz bölgesinde bulunur, ancak aynı zamanda Avrupa-Sibirya bölgelerine de yayılmıştır. Günümüzde araştırma ve ticari amaçlar için dünya çapında yetiştirilmektedir (Spada ve Perrino, 1996). *Origanum* türleri aromatik, fenolik ve kendine has koku ile tanımlanan benzer bir aroma profilini paylaşır. Çünkü birçoğu timol ve karvakrol içerir. Bunların oranı aynı tür arasında bile farklılık göstermektedir. Kekik aroması, yaprak tüylerinde biriken uçucu yağların varlığından kaynaklanmaktadır (Meyers, 2005).

2.2.2 *O. vulgare* subsp. *hirtum* L.

O. vulgare subsp. *hirtum* L. Balkan Yarımadası'nın güneyinde ve Türkiye'de yabani olarak yetişen tipik bir Doğu Akdeniz taksonudur. Morfolojik açıdan çok değişken olmasına rağmen, tüylü gövdeleri, çiçek salkımları, yaprak altı salgı bezleri ve genellikle kaliksleri kadar uzun olan yeşil brakteleri ve beyaz çiçekleri ile diğer *O. vulgare* alt türlerinden ayırt edilebilir. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* L., Yunanistan'da ülkenin çoğu yerinde yetişen en yaygın *O. vulgare* alt türüdür. Deniz seviyesinden 1500 m' ye kadar, genellikle kireçtaşı üzerinde, nadiren serpantin ve kil taşı zeminlerde bulunur ve kıyıların yakınında kuru, güneşli yerlerde yetişebilir. Akdeniz tipi ekosistemlerin oldukça yaygın bir bitki türü olmasına rağmen, dağlık ormanlık alanlarda da bulunabilir (Vokou ve ark., 1993).



Şekil 2.5: *O. vulgare* subsp *hirtum* L. (Anonim, 2019)



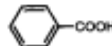
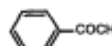
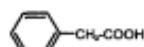
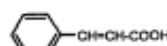
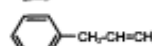
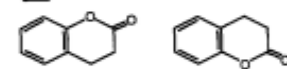
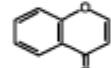
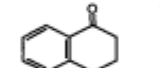
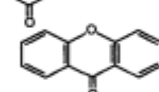
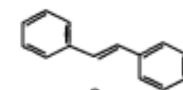
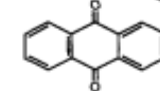
O. vulgare subsp. *hirtum* L., "Yunan kekik" adı altında bir baharat olarak yaygın olarak kullanılmaktadır. Tüm dünyada kekik baharatı olarak kullanılan farklı *Lamiaceae* ve *Verbenaceae* taksonları arasında Yunan kekiğinin en iyi kaliteye sahip olduğu genel olarak kabul edilmektedir (Lawrence, 1984).

2.3 Polifenoller

Fenolik bileşikler veya polifenoller, bitkiler aleminin en sık rastlanan ve yaygın olarak dağılmış madde gruplarından birini oluşturur. Günümüz itibari ile bilinen 8000'den fazla fenolik yapı bulunmaktadır. Polifenoller, bitkilerin sekonder metabolizmasının ürünleridir. Biyogenetik olarak iki ana sentetik yoldan ortaya

çıkarlar: şikimik asit yolu ve asetat yolu. Doğal polifenoller, fenolik asitler gibi basit moleküllerden tanenler gibi yüksek polimerize bileşiklere kadar değişebilir. Şeker biriminin bir aromatik karbon atomuna doğrudan bağlı mevcut olmasına rağmen, bunlar esas olarak konjuge formda, bir veya daha fazla şeker birimi ile hidroksil gruplarına bağlanırlar. İlişkili şekerler monosakaritler, disakaritler veya oligosakaritler halinde bulunabilir. Glukoz en yaygın şeker birimi olmasına rağmen, galaktoz, ramnoz, ksiloz ve arabinoz da bulunur. Karboksilik ve organik asitler, aminler ve lipitler gibi diğer bileşiklerle ve diğer fenollerle bağlanmaları da yaygındır (Harborne, 1989).

Çizelge 2.1: Polifenolik bileşenlerin ana sınıflandırması (Harborne, 1989)

Sınıf İsmi	Karbon Zinciri	Basit Yapı
Basit fenoller	C ₆	
Benzokinonlar	C ₆ [*]	
Fenolik asitler	C ₆ -C ₁	
Asetofenonlar	C ₆ -C ₂	
Fenilasetik asitler	C ₆ -C ₂	
Hidroksisinasamik Asitler	C ₆ -C ₃	
Fenilpropenler	C ₆ -C ₃	
Kumarinler ve izokumarinler	C ₆ -C ₃	
Kromanlar	C ₆ -C ₃	
Naftakinonlar	C ₆ -C ₄	
Ksantonlar	C ₆ -C ₁ -C ₆	
Stilbenler	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Antokinonlar	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Flavonoidler	C ₆ -C ₃ -C ₆	
Lignanlar	(C ₆ -C ₃) ₂	
Ligninler	(C ₆ -C ₃) _n	

Polifenoller bitkisel kaynaklarda (sebzeler, tahıllar, baklagiller, meyveler, fındık vb.) ve içeceklerde (şarap, elma şarabı, bira, çay, kakao, vb.) yoğun miktarda

bulunur. Polifenollerin miktarı bitkinin kısımları arasında farklılık göstermektedir. Örneğin, flavon ve flavonol glikozitlerin oluşumu büyük ölçüde ışığa bağlıdır. Bu nedenle, bu bileşiklerin en yüksek konsantrasyonları genel olarak yapraklarda ve bitkinin dış kısımlarında bulunurken, bitkilerin kök gibi toprak altında kalan bölgelerinde az miktarda bulunurlar. Bitki besinlerinde polifenollerin varlığı büyük ölçüde genetik faktörlerden ve çevresel koşullardan etkilenir. Çimlenme, olgunluk derecesi, iklim, işleme, depolama gibi diğer faktörler de bitki fenoliklerinin içeriğini etkiler (Herrmann, 1988).

Çizelge 2.2: Farklı bitkisel yiyecek ve içeceklerin fenolik madde miktarı (Kuhnau, 1976)

Hubuatlar (mg/100g km*)	Fenolik Md.	Meyveler (mg/100 g tm)	Fenolik Md.
Arpa	1200-1500	Elma	27-298
Mısır	309	Kayısı	30-43
Darı	590-1060	Siyah frenk üzümü	140-1200
Yulaf	8.7	Yaban mersini	135-280
Pirinç	8.6	Kiraz	60-90
Süpürge darısı	170-10,260	Kekreyemiş	128
Buğday	22-40	Kızılcık	77-247
		Bektaşî üzümü	22-75
Bakliyatlar (mg/100g km)		Üzüm	50-490
Siyah mercimek	540-1200	Greyfurt	50
Nohut	78-230	Portakal	50-100
Börülce	175-590	Şeftali	10-150
Kuru fasulye	34-280	Armut	2-25
Yeşil mercimek	440-800	Erik	4-225
Güvercin bezelye	380-1710	Ahududu	37-429
		Kırmızı frenk üzümü	17-20
Kuruyemişler (% km)		Çilek	38-218
Betel cevizi	26-33	Domates	85-130
Kaju	33.7	İçecekler	
Yer fıstığı	0.04	Çay (% km)	
Pekan cevizi	8-14	Yeşil	20-35
		Siyah	22-33
Sebzeler (mg/100 g tm**)		Bir fincan çay (mg/200 ml)	150-210
Bürüksel lahanası	6-15	Kahve çekirdeği (% km)	0.2-10
Lahana	25	Bir fincan kahve (mg/150 ml)	200-550
Pırasa	20-40	Kakao çekirdeği (% km)	12-18
Soğan	100-2025	Şarap (mg/L)	
Maydonoz	55-180	Beyaz	200-300
Kereviz	94	Kırmızı	1000-4000

*km: kuru materyal, tm: taze materyal

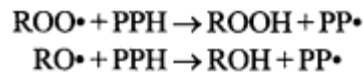
Polifenoller, bitkisel kaynaklı besinlerin duyuşal ve besinsel niteliklerinden de sorumludur. Yiyeceklerin ve içeceklerin tekstür, burukluk, acılık gibi

özellikleri, polifenolik bileşiklerin içeriğine bağlıdır. Polifenollerin işleme veya depolama sırasında oksidasyonu, gıda ürünlerinde istenen veya istenmeyen değişimlere neden olmaktadır. Örneğin, işleme sırasında kakaoların kahverengileşmesi gibi oksidatif değişiklikler veya siyah çayın üretimi sırasında çay polifenollerinin oksidatif polimerizasyonu, ayırt edici ve arzu edilen organoleptik özelliklerin gelişmesine neden olur. Tersine, fenolik bileşiklerin (polifenil oksidaz ile katalize edilen) enzimatik ve enzimatik olmayan esmerleşme reaksiyonları meyve ve sebzelerde istenmeyen renk ve lezzet oluşumundan sorumludur (Ho, 1992).

Polifenollere olan ilgi, antioksidan, antimutajen etkileri ve kanser, kardiyovasküler hastalıklar gibi yaygın hastalıkların önlenmesindeki kabiliyetleri nedeniyle artmıştır (Hertog ve ark., 1993).

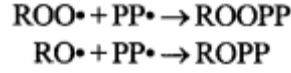
Serbest radikaller, eşleştirilmemiş elektronlar içeren herhangi bir kimyasal tür olarak tanımlanabilir. Eşleştirilmemiş elektronlar, bir atom veya molekülün kimyasal reaktivitesini artırır. Serbest radikaller, birçok biyokimyasal işlemin kaçınılmaz bir yan ürünü olarak büyük miktarlarda oluşur. Ek olarak, çevreden elektromanyetik radyasyona maruz kalan vücutta serbest radikaller oluşabilir ve ozon, azot dioksit gibi oksitleyici kirleticiler de serbest radikal oluşumuna neden olur. Serbest radikaller antioksidan aktivite eksikse, çeşitli dokularda hasar oluşturabilir (Betteridge, 2000).

Fenolik antioksidanlar, serbest radikallere ve lipit peroksidasyonunu katalize edebilen metal iyonlarına bağlanarak faaliyet gösterirler. Fenolik antioksidanlar, aşağıdaki reaksiyonlarda gösterildiği gibi, bir hidrojen atomunun radikallere hızlı bir şekilde bağlanmasıyla lipitlerin ve diğer moleküllerin oksidasyonuna müdahale eder.



Şekil 2.6: Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi

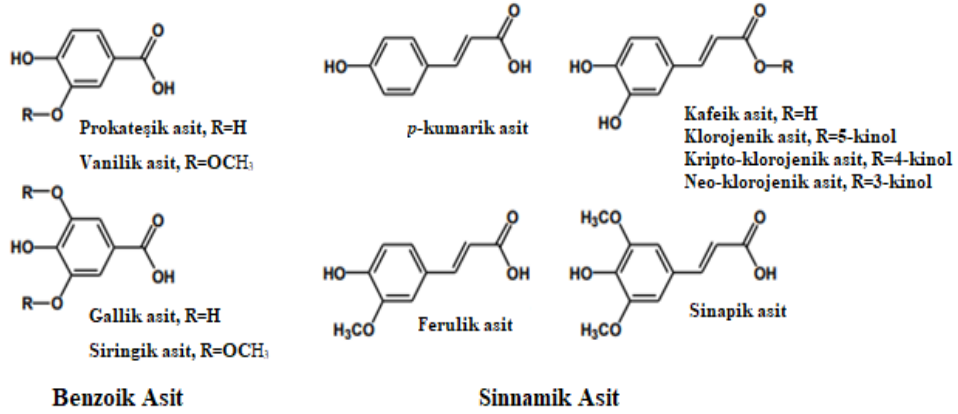
Ayrıca, antioksidan aktivite sonrası ortaya çıkan radikal ara maddeleri nispeten kararlıdır; bu nedenle, yeni bir zincir reaksiyonu kolayca başlatılamaz. Fenoksi radikal ara maddeleri, diğer serbest radikallerle reaksiyona girerek antioksidan reaksiyonların devamını sağlar (Shahidi ve ark., 1992).



Şekil 2.7: Fenoksi radikal ara maddelerin antioksidan etkisi

2.3.1 Fenolik asitler

Fenolik asitler, C1-C6 ve C3-C6 omurgalarına dayanan benzoik asit ve sinnamik asit türevleri olmak üzere iki ana tipe ayrılabilen flavonoid olmayan polifenolik bileşiklerdir (Şekil 1). Meyveler ve sebzeler birçok serbest fenolik asit içerirken, tahıllarda ve tohumlarda (özellikle kepek veya kabukta) fenolik asitler genellikle bağlı formdadır. Bu fenolik asitler yalnızca asit veya alkalın hidrolizinde veya enzimlerle serbest bırakılabilir veya hidrolize edilebilir (Chandrasekara ve Shahidi, 2010).



Şekil 2.8: Gıdada bulunan tipik fenolik bileşikler

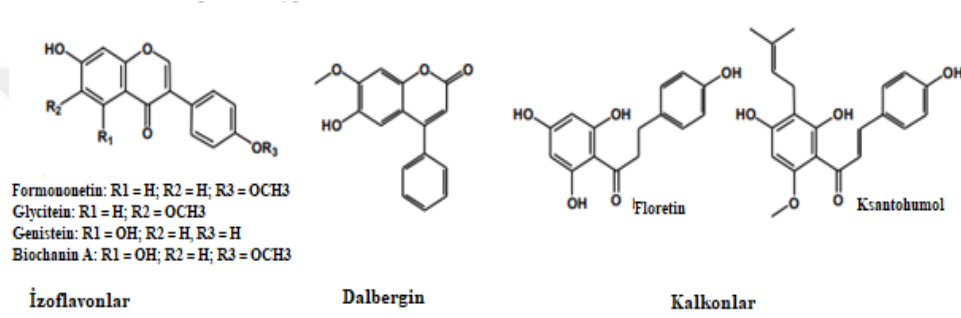
2.3.2 Flavonoidler

Flavonoidler, iki C6 ünitesinin (Halka A ve Halka B) fenolik yapıya sahip olduğu C6-C3-C6 genel yapısal omurgasına sahiptir. Hidroksilasyon modeli ve kroman halkasındaki (Halka C) farklılıklar nedeniyle, flavonoidler ayrıca antosiyaninler, flavan-3 ol, flavonlar, flavanonlar ve flavonoller gibi farklı alt gruplara ayrılabilir. Flavonoidlerin büyük çoğunluğunda B halkası C halkasına C2 pozisyonunda bağlıyken, B halkasının sırasıyla C halkasına C3 ve C4 pozisyonunda bağlandığı izoflavonlar ve neoflavonoidler gibi bazı flavonoidler bulunmaktadır. Kalkon, heterosiklik C halkasını içermemesine rağmen, hala flavonoid ailesinin üyeleri olarak sınıflandırılmaktadır. Flavonoidlerin bu temel yapıları aglikonlardır; Bununla birlikte, bitkilerde, bu bileşiklerin çoğu glikozitler halinde bulunur. Antioksidan aktivite dahil olmak üzere bu

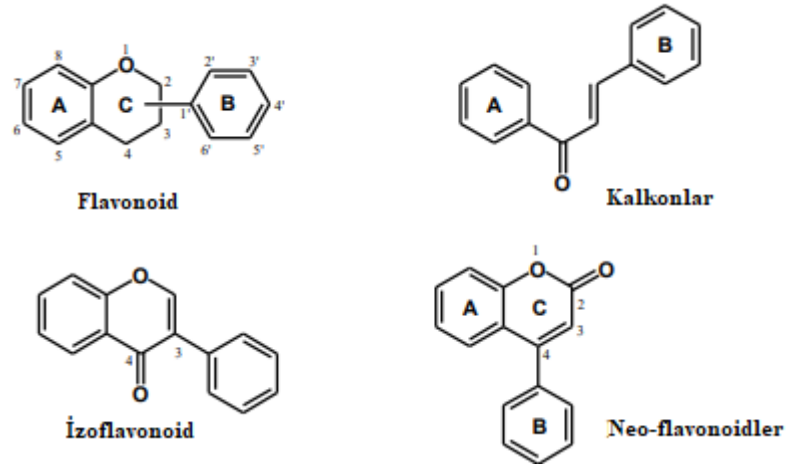
bileşiklerin biyolojik aktiviteleri hem yapısal farklılığa hem de glikozilasyon modellerine bağlıdır (Tsao, 2010).

2.3.2.1 İzoflavonlar, neoflavonoidler ve kalkonlar

İzoflavonlar B halkasının, C halkasına C3 pozisyonunda bağlanması ile oluşur. Bunlar çoğunlukla baklagillerde bulunur. Fasulye, özellikle soya fasulyesi, birçok kültürde diyetin önemli bir parçası olduğundan, izoflavonların rolü, insan sağlığı üzerinde büyük etkiye sahiptir. Genistein ve daidzein, soyada glisetin, biokanin A ve formononetin ile birlikte bulunan iki ana izoflavondur (Wang ve Murphy, 1994).



Şekil 2.9: Gıdalarda bulunan tipik izoflavonlar, dalberginler ve kalkonlar

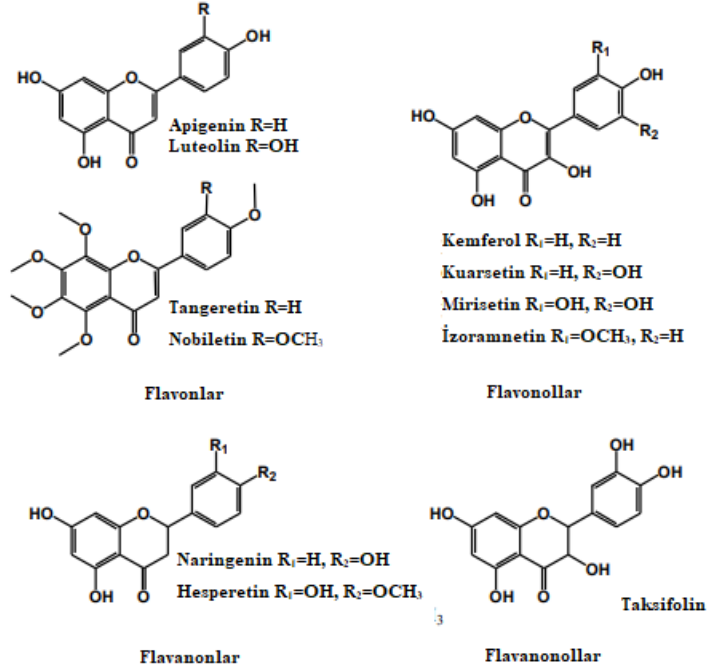


Şekil 2.10: Temel flavonoid omurgası

2.3.2.2 Flavonlar, flavonoller, flavononlar ve flavanonoller

Bu flavonoid alt grupları bitkiler aleminde en yaygın bulunan gruptur. Flavonları ve bunların 3-hidroksi türevli flavonolleri, glikozitleri, metoksitleri ve üç halkanın hepsindeki açillenmiş modelleri de dahil olmak üzere, bu grubu tüm polifenoller arasında en büyük alt grup yapar. En yaygın flavonol

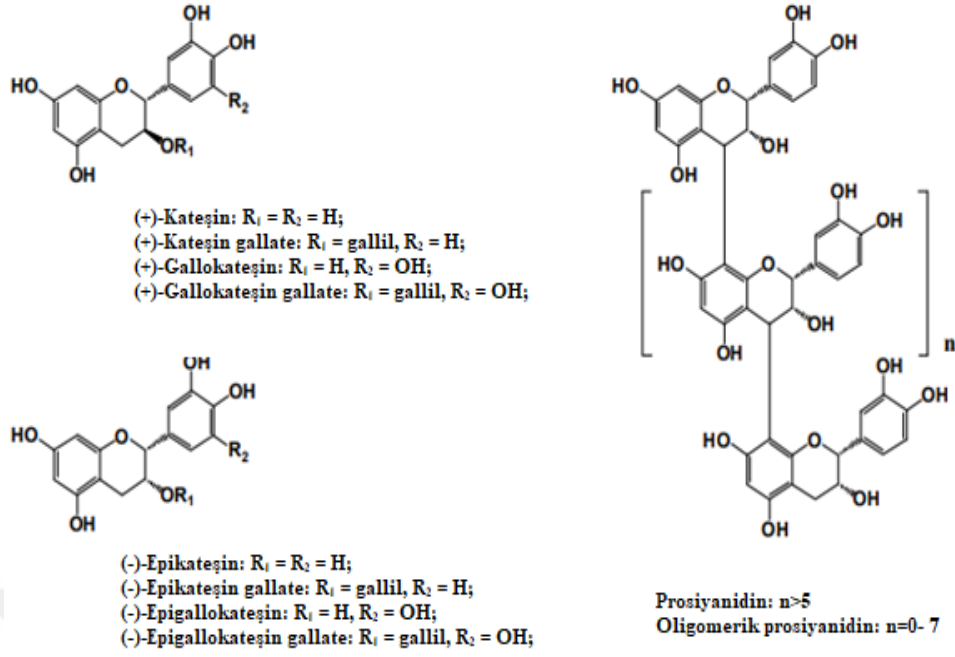
aglikonları, kersetin ve kemferol, sırasıyla en az 279 ve 347 farklı glikozidik kombinasyonuna sahiptir (Valant-Vetschera ve Wallenweber, 2006).



Şekil 2.11: Flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanonollar

2.3.2.3 Flavanoller ve proantosiyanidinler

Flavanoller veya flavan-3-ol'lara genellikle kateşinler denir. Flavonoidlerin çoğundan farklı olarak, C2 ve C3 arasında çift bağ ve C halkasında C4 karbonil yoktur. Bu ve C3'teki hidroksilasyon, flavanollerin molekül üzerinde iki kiral merkeze sahip olmasını sağlar (C2 ve C3 üzerinde), böylece dört olası diastereoizomer oluşumuna olanak sağlar. Kateşin, trans konfigürasyonlu izomerdir ve epikateşin, cis konfigürasyonlu olandır. Bu iki konfigürasyonun her birinde iki stereoizomer vardır, yani, (+)- kateşin, (-)- kateşin, (+)- epikateşin ve (-)- epikateşin. (+)- kateşin ve (-)- epikateşin, gıda tesislerinde sıklıkla bulunan iki izomerdir. Flavanoller birçok meyvede, özellikle üzüm, elma ve yaban mersinin kabuğunda bulunurlar. Monomerik flavanoller (kateşin ve epikateşin), bunların türevleri (örneğin gallokateşinler), çay yaprakları ve kakao çekirdeğindeki (çikolata) başlıca flavonoidlerdir (Prior ve ark., 2001).



Şekil 2.12: Flavanollar ve prosiyanidinler

2.4 Yeşil Ekstraksiyon Yöntemleri

Bir ekstraksiyon işleminin temel amacı, istenmeyen bileşiklerin ekstraksiyonunu en aza indirirken hedef bileşiğin verimini, bileşiğin özellikleri üzerinde minimum etki ile maksimize etmektir. Maserasyon, infüzyon ve “Soxhlet” ekstraksiyonunu içeren geleneksel katı-sıvı ekstraksiyon teknikleri zaman alıcıdır ve büyük miktarlarda solvent kullanır. Hedef bileşiğin özelliklerine bağlı olarak çeşitli matrislerden ekstraksiyon için çeşitli klorlu çözücüler (kloroform, karbon tetraklorür, tetrakloroetilen ve klorobenzen vb.) ve klorlanmamış çözücüler (aseton, metanol ve asetonitril vb.) kullanılır. Güvenlik riskleri, bazı çözücülerin toksisitesi ve düşük özütleme verimi ile birleştiğinde hedef bileşiklerde çözücü kalıntılarının varlığı, organik çözücülerin kullanımını en aza indirgeyebilen veya ortadan kaldıracı çevre dostu (yeşil) özütleme teknolojilerinin geliştirilmesine olan ilgiyi teşvik etmiştir. Toksik kimyasallar içermeyen daha yeşil alternatifler ve doğal içerikler için artan tüketici talepleri ve kimyasal çözücülerin kullanımıyla ilişkili çevresel sorunlar ve sağlık riskleri nedeniyle, daha sürdürülebilir ve toksik olmayan ekstraksiyon yollarına ticari ilgi artmıştır (Panja, 2018).

Karmaşık bir ortamdan molekülleri sürdürülebilir bir şekilde çıkarmada en büyük zorluk, bu moleküllerin genellikle matris içine gömülmesidir. Kuşkusuz, uygun fiyatlı, güvenli, etkili, ekolojik açıdan yenilikçi ekstraksiyon tekniklerini geliştirmek için açık bir ihtiyaç olsa da bu tür tekniklerin sadece çevreci olmasını sağlamakla kalmayıp, aynı zamanda son ürünün kalitesi üzerinde minimum etki ile gelişmiş verim sağlaması önemlidir. Ultrason destekli ekstraksiyon (UDE), alt kritik ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, yüksek basınçlı işleme ve darbeli elektrik alanı dahil olmak üzere çeşitli matrislerden hedef bileşiklerin ekstraksiyonu için geleneksel tekniklere bir dizi yeni alternatif önerilmiştir. Bu yeni teknikler, işlem verimliliğini, ekstraksiyon verimini ve ekstraktın kalitesini artırırken, toksik kimyasal çözücülerin kullanımını azaltmak veya ortadan kaldırmak için muazzam bir potansiyel sunmaktadır. Bu teknikler, ekstraksiyon işlemi sırasındaki sıcaklık nispeten düşük olduğu ve ekstrakte edilen bileşiklerin stabilitesini etkilemediği için soğuk ekstraksiyon teknikleri olarak da bilinir. Yeni teknikler ayrıca, ön işlem olarak veya ekstraksiyon verimliliğini yöneten parametre olan hücre zarı geçirgenliğini artırarak ekstraksiyon verimliliğini artırmak için çevre dostu, güvenli organik çözücülerle kombine halde kullanılabilir (Azmir ve ark., 2013; Shirsath ve ark., 2012).

2.4.1 Ultrason destekli ekstraksiyon

Ultrasonik ekstraksiyon mekanizması iki tür fiziksel olayı içerir: hücre duvarları boyunca difüzyon ve duvarlar kırıldıktan sonra hücre içeriğini yıkamak. Prosedür, 20–2000 kHz frekansları olan ultrason kullanımını içerir. Bitkisel materyalin boyutunun azaltılması, ultrasonik olarak indüklenen kavitasyona doğrudan maruz kalan hücre sayısını artıracaktır. Ultrason, şişmeyi ve hidrasyonu kolaylaştırır ve böylece hücre duvarının gözeneklerinde genişlemeye neden olabilir. Bu, difüzyon işlemi geliştirir ve bu nedenle kütle transferini geliştirir (Vinatoru, 2001). Kavitasyon nedeniyle, bitki materyalinin hücreleri oldukça bozulmuştur. Bu küçük parçacıklar katı-sıvı ayrılmasında sorunlara neden olma eğilimindedir. Ultrason Destekli Ekstraksiyon, ekstraksiyon işlemine birçok yönden yarar sağlayabilir (Tiwari, 2015):

- Ekstraksiyon veriminin arttırılması;
- Solvent kullanarak veya kullanmadan ekstraksiyon oranlarının arttırılması;
- Ekstraksiyon performanslarını artırarak, genellikle güvenli solventler olarak bilinen alternatif kullanma fırsatını sağlamak ve
- Isıya duyarlı bileşenlerin, aksi takdirde düşük verime sahip olan koşullar altında ekstraksiyonunun arttırılması.

UDE, bitkilerden fenolik bileşik ekstraksiyonu için etkili bir teknik gibi görünmektedir. *Rosmarinus officinalis*'ten karnosik ve rosmarinik asit gibi fenolik asitlerin çıkarılması üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bütün bu çalışmalar, UDE'nin etanol ile ve 15 ila 45 dakikalık aralıklarla, yani geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla çok daha hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi durumunda fenolik içeriğin artmasıyla sonuçlanmıştır (Albu ve ark., 2004; Bernatoniene ve ark., 2016).

Geleneksel ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında, UDE üzümde bulunan fenolik bileşiklerin (toplam fenolik, toplam antosiyaninler ve yoğunlaşmış tanen) benzer geri kazanımlarını daha kısa özütleme süresinde (6-30 dakika) ve daha düşük bir çözücü tüketimi ile gerçekleştirmiştir (Carrera ve ark., 2012; Da Porto ve ark., 2013).

UDE' un optimizasyonuna odaklanan birçok yeni çalışma vardır. Zaman, sıcaklık, ultrasonik güç ve frekans gibi çalışma koşulları, maksimum fenolik bileşik verimi elde etmek için doğru bir şekilde belirlenmelidir. Örneğin, yapılan bir çalışmada *Origanum majorana L.* 'den elde edilen fenolik bileşiklerin UDE' u 35°C/10' 'da optimize edilmiştir. Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında rosmarinik asit, luteolin-7-O-glukozit, apigenin-7-O-glukozit kafeik asit, karnosik asit, karnosol ve toplam fenolik bileşiklerde (%98'e kadar) bir artış gözlenmiştir (Hossain ve ark., 2012).

Thymus serpyllum L. bitkisi üzerinde yapılan bir çalışmada UDE 'da üç farklı etanol konsantrasyonu (%30/50/70 v/v) denemiş, en yüksek fenolik madde miktarının %50 etanol konsantrasyonu ile hazırlanan ekstrelerde olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada ekstreler 5,15,30 dakika UDE' a tabi tutulmuş, 15 dakika ekstraksiyona tabi tutulanlar diğerlerine nazaran daha iyi sonuçlar

vermiştir. Çalışmada flavonoid miktarı da incelenmiş, UDE' un maserasyon yöntemine üstün geldiği, en yüksek flavonoid içeriğine sahip ekstrelerin %50 etanol konsantrasyonu ile UDE' a tabi tutulan ekstreler olduğu görülmüştür (Jovanović ve ark., 2017).

Hibiscus Sabdariffa L. bitkisinden antosiyanin ekstrakte etmek için yapılan bir çalışmada UDE ve sıcaklık destekli ekstraksiyon kullanılmıştır. Yapılan çalışmada elde edilen sonuçlara göre UDE ile daha verimli ekstraksiyon yapılabileceği tespit edilmiştir (Pinela ve ark., 2019).

H. rosa-sinensis yaprağından ham polisakaritin maksimum ekstraksiyon verimini veren optimum işleme koşullarını belirlemek için yapılan çalışmada, ekstraksiyon sıcaklığı (°C), sonikasyon süresi (dak), ultrasonik güç (W) ve suyun hammaddeye oranı (ml /gr) gibi faktörler kullanılmıştır. Çalışma sonuçları 60.90 W ultrasonik gücün, 51.57 °C ekstraksiyon sıcaklığının ve suyun hammaddeye 29.24 ml/gr oranının maksimum ekstraksiyon verimiyle sonuçlandığını göstermiştir (Afshari ve ark., 2015).

3. YÖNTEM VE GEREÇ

3.1 Materyalin Temin Edilmesi

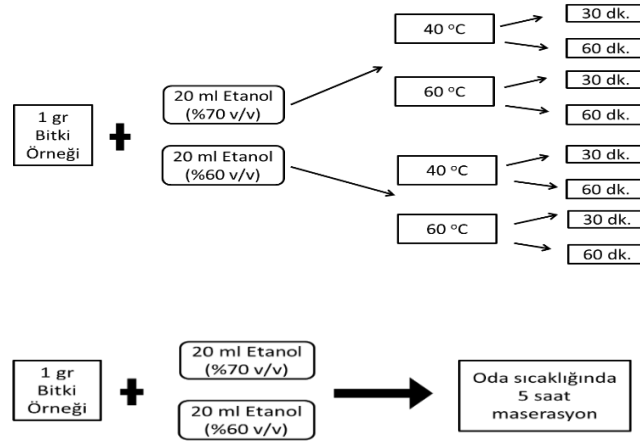
Rosella kaliksleri kurutulmuş olarak bir aktardan satın alınmış olup, analizler yapılmaya kadar buzdolabında (+4°C) muhafaza edilmiştir.

Origanum vulgare subsp. hirtum L.(İstanbul Kekığı) bitkisi ise İstanbul'un Adalar İlçesinden toplanmıştır. Toplanan bitkilerin tür tanımlaması İstanbul İl Tarım ve Orman Müdürlüğü, Çayır, Mera ve Yem Bitkileri Şube Müdürlüğü'nde çalışan Ziraat Müh. Hikmet Nazım KAYAR tarafından yapılmıştır. Toplanan bitkiler yıkanarak, oda sıcaklığında güneşten uzak bir şekilde kurutulmuş ve kurutulmuş bitki analiz edilene kadar buzdolabında (+4°C) muhafaza edilmiştir.

3.2 Ekstrelerin Hazırlanması

Kurutulmuş bitki örneklerinin, öğütücü yardımı ile (İKA A11) parçacık boyutu küçültülmüş, öğütülmüş örneklerden 1 gr tartılarak 20 ml (%60 / %70 v/v) etanol ile karıştırılmıştır. Hazırlanan karışım ultrason destekli ekstraksiyon için ultrasonik banyoda 40 derece ve 60 derece sıcaklıklarında 30 dakika ve 60 dakika olmak üzere ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Klasik yöntemi örnekleme amacıyla aynı ölçülerde örnek ve etanol karışımı 5 saat orbital shaker ile 120 rpm'de masere edilmiştir.

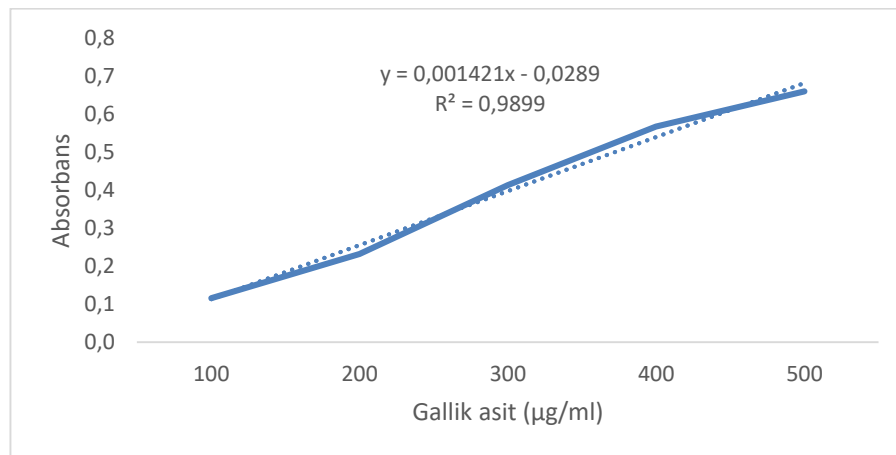
Elde edilen ekstreler filtre kâğıdından (2-3 nm) geçirilmiş analiz edilene dek buzdolabında saklanmıştır.



Şekil 3.1: Ekstrelerin hazırlanması

3.3 Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde tayini için Folin-Ciocalteu Metodu kullanılmıştır (Singleton ve ark., 1999). Ekstrelerden 0,1 ml alınarak tüplere konulmuş ve üzerine 4,5 ml distile su eklenmiştir. Karıştırıldıktan sonra 0,1 ml seyreltik Folin-Ciocalteu ayıracı ve 0,3 ml %2 sodyum karbonat çözeltisi eklenmiş ve karıştırılmıştır. Karanlık bir ortamda 2 saat bekletilip, süre sonunda oluşan mavi rengin absorbansı, örnek yerine distile su içeren köre karşı 760 nm’de okunmuştur. Sonuçların yorumlanması için 100-200-300-400-500 µg/ml gallik asit konsantrasyonları kullanılarak gallik asit standart eğrisi oluşturulmuş ve sonuçlar mg gallik asit ekivalanları/g olarak ifade edilmiştir.

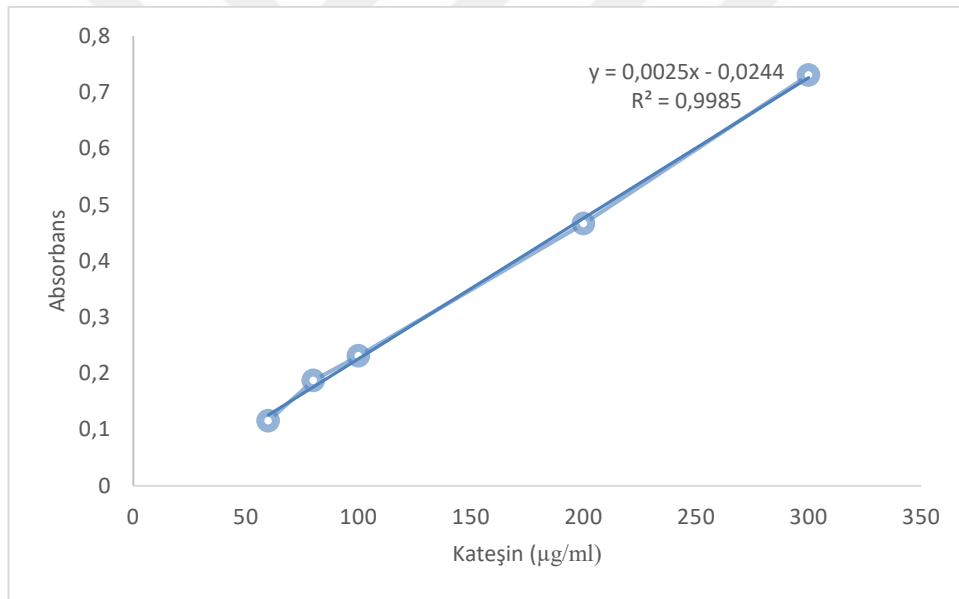


Şekil 3.2: Gallik asit standart eğrisi

3.4 Toplam Flavanoid Tayini

Örneklerin toplam flavonoid (TF) miktarının belirlenmesi Dewanto ve ark. (2002)'nin yöntemine göre gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstrelerden 0,25 ml alınmış ve 1,25 ml distile su ile karıştırılmıştır. 75µl %5'lik sodyum nitrit çözeltisi eklenerek, tüpler iyice karıştırılmış, 6 dakika beklendikten sonra 150µl %10'luk alüminyum klorür çözeltisi eklenmiş ve tüpler karıştırılmıştır. 5 dakika beklendikten sonra 0,5 ml 1 M sodyum hidroksit çözeltisi ve 275 µl distile su ilave edilerek, oluşan rengin absorbansı örnek yerine distile su eklenerek hazırlanan köre karşı 510 nm 'de okunmuştur.

Sonuçların yorumlanması için 60-80-100-200-300 µg/ml kateşin konsantrasyonları kullanılarak standart eğri oluşturulmuş, sonuçlar mg kateşin ekivalanları/g olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.3: Kateşin standart eğrisi

3.5 Toplam Antosiyanin Tayini

Antosiyanin tayini için Fuleki ve Francis, (1968) tarafından tanımlanan pH diferansiyel yöntemi uygulanmıştır. pH 1.0 ve pH 4.5 olan tampon çözeltileri kullanılarak örneğin iki farklı pH derecesinde 517nm ve 700 nm dalga boylarında absorbansı okunmuştur. Yöntemin temel prensibi monomerik antosiyaninin pH 1.0'da oksonium formunun hâkim olmasıdır. Absorbanslar

arasındaki fark ekstrlerdeki antosiyanin madde miktarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır.

$$\text{Antosiyanin (mg/L)} = \frac{\text{Absorbans (A)} \times 1000 \times \text{Molekül ağırlığı (ma)} \times \text{Seyreltme Faktörü}}{\text{Molar absorptans (E)} \times \text{Küvetin optik yoğunluğu}} \quad (3.1)$$

Toplam antosiyanin miktarının farklı örneklerde karşılaştırılmasını kolaylaştırmak amacı ile yöntemde; molekül ağırlığı (MW) 449.2, molar absorptansı (E) 26 900 ve maksimum dalga boyu (λ vis-max) 528 olan siyanidin-3-glukozit üzerinden hesaplama yapılmıştır. Sonuçlar mg/L cinsinden ifade edilmiştir.

3.6 Antioksidan Aktivite Tayini

3.6.1 ABTS radikali giderme aktivitesi

ABTS radikal giderme aktivitesi tayini için Re ve ark., (1999)'nın metodu kullanılmıştır. 7 mM ABTS çözeltisinden ve 2,45 mM potasyum persülfat çözeltisinden 50'şer ml alınarak karıştırılmış, 12-16 saat karanlıkta bekletilmiştir. 1 ml ABTS radikal çözeltisine karşılık 50 ml etanol çözeltisi olacak şekilde karışım hazırlanmış ve karışımın absorptansı 734 nm dalga boyunda 0,7 ($\pm 0,03$) olacak şekilde ayarlanmıştır. 3 ml radikal çözeltisi küvetlere alınmış ve 50 μ l örnek eklenerek, 6 dakika boyunca 1'er dakikalık aralıklarla absorptans değişimi okunmuştur. Radikalın başlangıçtaki absorptans değeri (A_0) ve 6. dakikadaki absorptans değeri (A_6) kullanılarak % inhibisyon değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\text{ABTS Radikali Giderme Aktivitesi (\%)} = \frac{A_0 - A_6}{A_0} \times 100 \quad (3.2)$$

3.6.2 DPPH radikali giderme aktivitesi

DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) radikal giderme aktivitesi tayini için Brand-Williams ve ark., (1995)'nin yöntemine göre çalışıldı. Örneklerden 0,1'er ml alınarak, 3,9 ml 0.1 mM DPPH çözeltisi (metanolde çözünmüş) ilave edildi. Tüpler iyice karıştırıldıktan sonra 30 dakika bekletilmiş ve örnek yerine çözücünün kullanıldığı köre karşılık 517 nm 'de absorptansları okunmuştur.

$$DPPH \text{ Radikali Giderme Aktivitesi (\%)} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \quad (3.3)$$

3.6.3 İndirgeyici güç analizi

İndirgeyici güç analizinde Oyaizu (1986) metodu kullanıldı. Ortamda indirgen madde olan Fe^{3+} iyonları Fe^{2+} iyonlarına indirgenerek oluşan renk değişimi gözlemlenir. Örneklerden 1,25 ml tüplere alınarak üzerine 1,25 ml 0,2 mM sodyum fosfat tampon çözeltisi ve 1,25 ml %1'lik potasyum ferrisiyanür eklenmiştir. Karışım 50 derece sıcaklıkta 20 dakika bekletilmiştir. Sonra karışıma 1,25 ml %10'luk trikloroasetik asit eklenerek 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj edilen karışımın üst fazından 2,5 ml alınarak ve üzerine 2,5 ml distile su ve 0,5 ml %0,1'lik demir klorür eklenmiş ve oluşan renk örnek yerine distile su ile hazırlanan köre karşı okunmuştur.

3.7 Kullanılan Çözeltiler

ABTS^{•+} Stok Çözeltisi

0,096 gr ABTS^{•+} (2, 2'-azinobis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonik asit)) 25 ml suda çözülür. 0,0165 gr potasyum persülfat 25 ml suda çözülür. Çözeltiler eşit hacimlerde karıştırılarak 12-16 saat karanlıkta bekletilir.

DPPH Stok Çözeltisi

2 mg DPPH• tartılarak metanolde çözülür ve hacmi balon jodede 100 ml'ye tamamlanır.

0,2 M Sodyum Fosfat Tamponu (ph: 6.6)

7,8 gr $NaH_2PO_4 \cdot 2 H_2O$ (Merck 106342) distile suyla 250 ml'ye tamamlanır. 13,4 gr $Na_2HPO_4 \cdot 7 H_2O$ (Merck 106575) distile suyla 250ml'ye tamamlanır ve pH 6,6 olacak şekilde karıştırılır.

%1'lik Potasyum Ferrisiyanür Çözeltisi

1 gr $K_3Fe(CN)_6$ (Merck 104973) distile suyla 100 ml'ye tamamlanır.

%10'luk TCA Çözeltisi

10 gr TCA (trikloroasetik asit) (Merck 100807) distile suyla 100 ml'ye tamamlanır.

%0,1'lik Demir Klorür Çözeltisi

0,1 gram FeCl_3 (Merck 803945) tartılarak 100 ml'ye tamamlanır.

Folin-Ciocalteu reaktifi

Folin reaktifi (Merck 109001) distile suyla 1/3 oranında seyreltilir.

%2 Sodyum karbonat çözeltisi

2 g sodyum karbonat (Na_2CO_3) (Merck 106392) tartılır ve distile su ile 100 ml 'ye tamamlanır.

%5'lik Sodyum nitrit çözeltisi

5 g sodyum nitrit (NNaO_2) (Merck 1.06544) tartılarak distile suda çözülür ve 100 ml 'ye tamamlanır.

%10'luk Alüminyum klorür çözeltisi

10 g alüminyum klorür (AlCl_3) (Merck 801081) tartılarak 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

1 M Sodyum hidroksit çözeltisi

4 g sodyum hidroksit (NaOH) (Sigma-Aldrich 06203) tartılıp 100 mL'ye distile suyla tamamlanır.

pH 1.0 tampon

0,025 M potasyum klorür (KCl) için 0,186 g tartılıp 100 ml distile suda çözülmüştür. Çözeltinin pH değerinin 1.0 olana kadar hidroklorik asit (HCl) çözeltisi damlatılmıştır.

pH 4.5 tampon

5,44 g sodyum asetat (CH_3COOHNa) 100 ml saf suda çözülür ve üzerine asetik asit eklenerek pH 4,5'e ayarlanır.

3.8 Kullanılan Ekipmanlar

Öğütücü: İKA (A 11)

Ultrasonik banyo: Protech (PMUY 4L D)

Orbital shaker: Stuart (SSL 1)

Hassas terazi: AND (GR-200)

Spektrofotometre: PG Instruments (T60)

Santrifüj: Rotofix (32A)

Su banyosu: Stuart (SWB2D)

Buzdolabı: Samsung

pH metre: Mettler Toledo

Distile su cihazı: Nüve (ND12)

3.9 İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS programı kullanılarak yapılmıştır. Her bir etanol konsantrasyonu kendi aralarında tek yönlü varyans analizine tabi tutulmuştur. Gruplar arasındaki farklılığın önemi DUNCON çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir. DUNCON çoklu karşılaştırma testine ve standart sapmalara ait değerler verilen grafiklerde sütunlar üzerine harflerle işlenmiştir.

4. BULGULAR VE SONUÇ

4.1 Bulgular

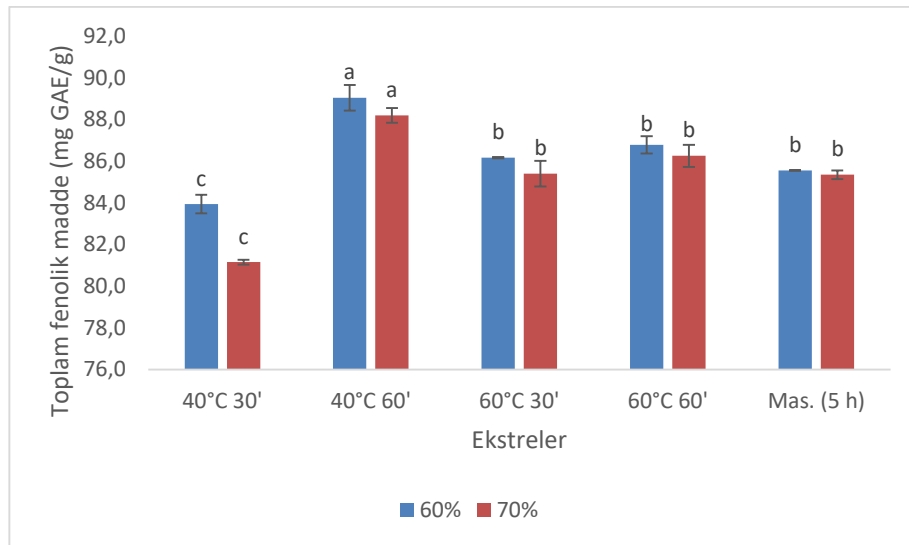
4.1.1 Hibiscus sabdariffa L.

4.1.1.1 Toplam fenolik madde

Toplam fenolik madde analizinin sonuçlarına göre %60 etanol konsantrasyonu ile 40°C 60' ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulan örneklerin diğer ekstraktlara göre daha iyi sonuç verdiği görülmektedir. Sonuçlar en düşük 81,2 en yüksek 89,0 mg GAE/g arasında değişmektedir.

%70 etanol konsantrasyonu ile maserasyona tabi tutulan örneklerin toplam fenolik madde miktarının %60 etanol konsantrasyonu ile masere edilenlerden daha yüksek değerler verdiği tespit edilmiştir.

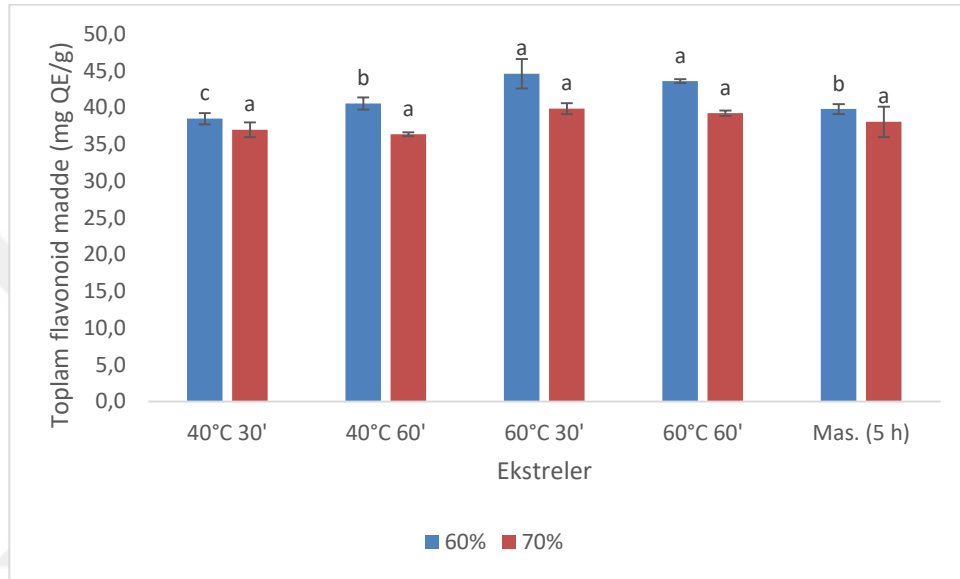
Verilerin istatistiksel analizine göre her iki etanol konsantrasyonunda da 40°C 60' UDE ekstraktlarının diğer ekstraktlara göre anlamlı derecede farklı olduğu görülmüştür. Ayrıca 60°C 30', 60°C 60' UDE işlemine ve maserasyona tabi tutulan örneklerin 40°C 30' UDE işlemine tabi tutulanlara göre anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$).



Şekil 4.1: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g)

4.1.1.2 Toplam flavonoid tayini

Toplam flavonoid analizi sonucunda %60 etanol konsantrasyonu ile hazırlanan ekstraktların daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür. %60 etanol konsantrasyonlu örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında 60°C 30' ve 60°C 60' ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulan örneklerin diğerlerine göre daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür ($p<0,05$). %70 etanol konsantrasyonu ile hazırlanmış örnekler arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).



Şekil 4.2: Toplam flavonoid madde miktarı (mg QE/g)

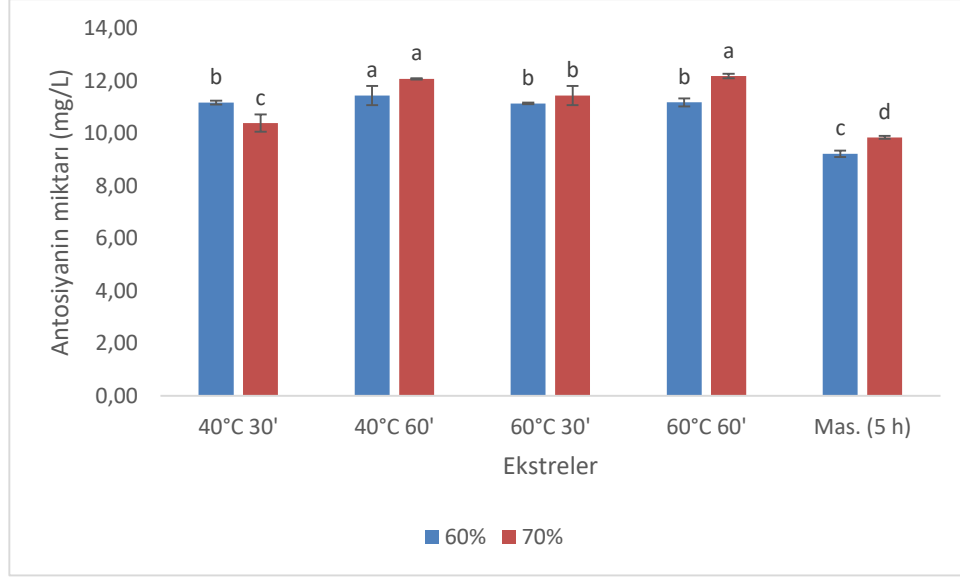
4.1.1.3 Antosiyanin tayini

Her iki etanol konsantrasyonları karşılaştırıldığında en yüksek değer %70 etanol konsantrasyonu ile 60°C 60' ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulmuş örneklerden elde edilmiştir.

%60 etanol konsantrasyonuna sahip örnekler kendi aralarında karşılaştırıldığında en yüksek değeri 40°C 60' ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutulmuş ekstraktların verdiği görülmüştür.

%70 etanol konsantrasyonu ile 40°C 60' ve 60°C 60' UDE işlemine tabi tutulmuş örneklerin diğer örneklere kıyasla daha yüksek değerler verdiği görülmektedir ($p<0,05$).

Her iki etanol konsantrasyonunda da UDE işlemine tabi tutulmuş örneklerin maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilen örneklere göre anlamlı derecede daha yüksek değerler verdiği görülmüştür ($p<0,05$).



Şekil 4.3: Toplam antosiyanin miktarı (mg/L)

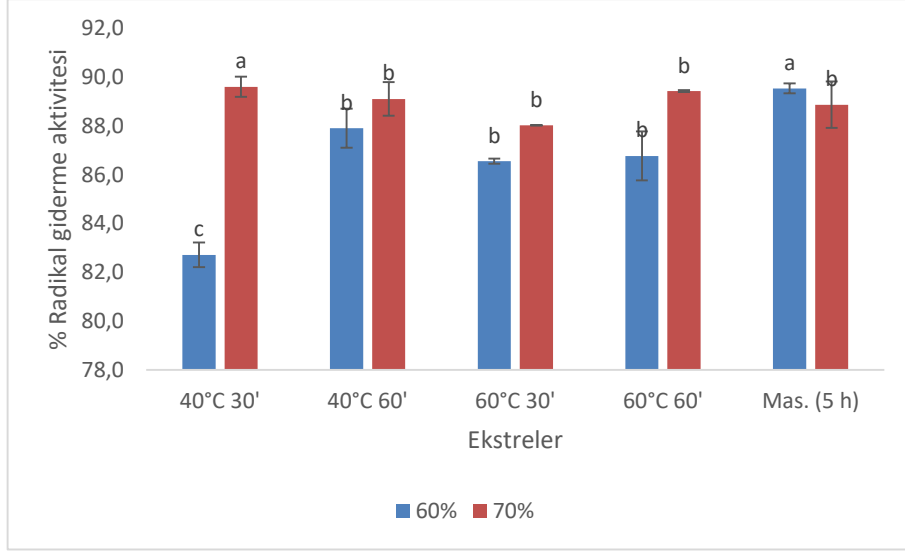
4.1.1.4 Antioksidan aktivite

ABTS radikali giderme aktivitesi

Yapılan analizlerde en yüksek radikal giderme aktivitesinin %89,6 inhibisyon değeri ile %70 etanol konsantrasyonuna sahip 40°C 30' UDE işlemine tabi tutulmuş örnekten, en düşük değer ise %82,7 ile %60 etanol konsantrasyonunda 40°C 30' UDE işlemine tabi tutulmuş örneklerden elde edildiği görülmüştür.

%60 etanol konsantrasyonu ile hazırlanan örneklerden en yüksek değeri (%89,5) maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilen örnekler göstermiştir. 40°C 60', 60°C 30' ve 60°C 60' UDE işlemine tabi tutulmuş örneklerin 40°C 30' UDE işlemine tabi tutulmuş örneklere göre anlamlı derecede daha yüksek sonuçlar verdiği tespit edilmiştir ($p < 0,05$).

%70 etanol konsantrasyonu ile hazırlanan örneklere bakıldığında 40°C 30' UDE işlemine tabi tutulan örneklerin diğerlerine göre daha yüksek sonuç verdiği görülmüştür ($p < 0,05$). Diğer örnekler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$).



Şekil 4.4: ABTS radikali giderme aktivitesi (%)

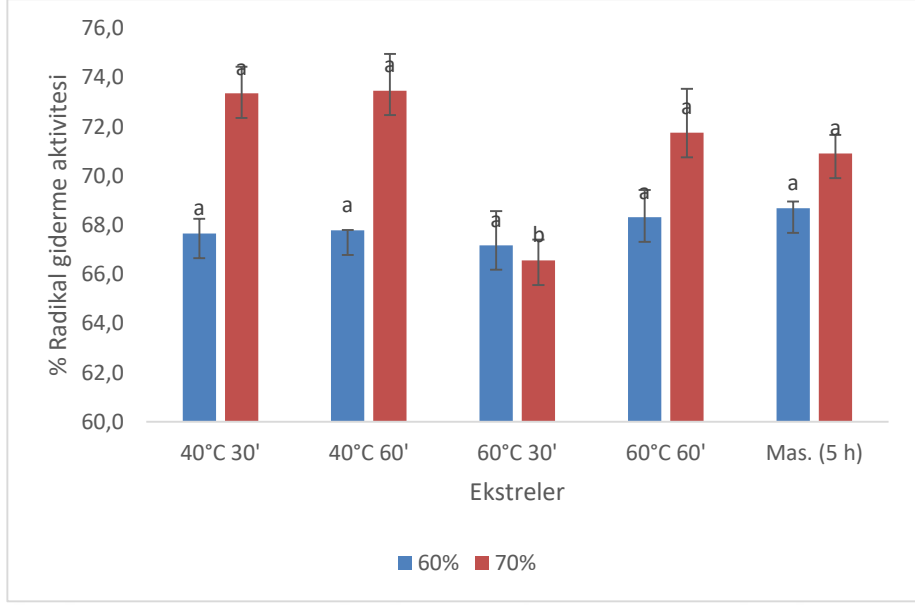
DPPH radikali giderme aktivitesi

Her iki etanol konsantrasyonları sonuçlarına bakıldığında değerlerin en yüksek %73,5 ve en düşük %67,2 arasında değiştiği görülmektedir.

%70 etanol konsantrasyonu ile hazırlanan ekstraktların %60 etanol konsantrasyonu ile hazırlanan örneklere kıyasla daha iyi sonuçlar verdiği anlaşılmaktadır.

%70 etanol konsantrasyonu ile ekstrakte edilen örneklerden en düşük değeri 60°C 30' UDE işlemine tabi tutulmuş örneklerin gösterdiği görülmüştür.

%60 etanol konsantrasyonu ile ekstrakte edilen örnekler arasında anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).

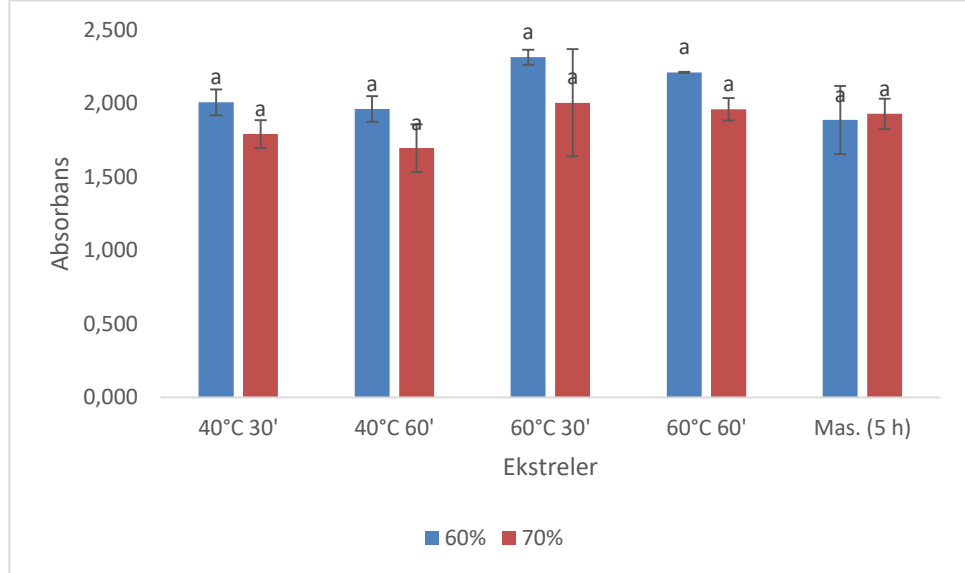


Şekil 4.5: DPPH radikali giderme aktivitesi (%)

İndirgeyici güç analizi

İndirgeyici güç analiz sonuçlarına bakıldığında en yüksek absorbansın %60 etanol konsantrasyonlu 2,314 ile 60°C 30' UDE işlemine tabi tutulan örneklerin, en düşük değeri ise 1,696 ile 40°C 60' UDE işlemine tabi tutulmuş örneklerin gösterdiği tespit edilmiştir.

İstatistiksel analizde gruplar içinde anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0,05$).

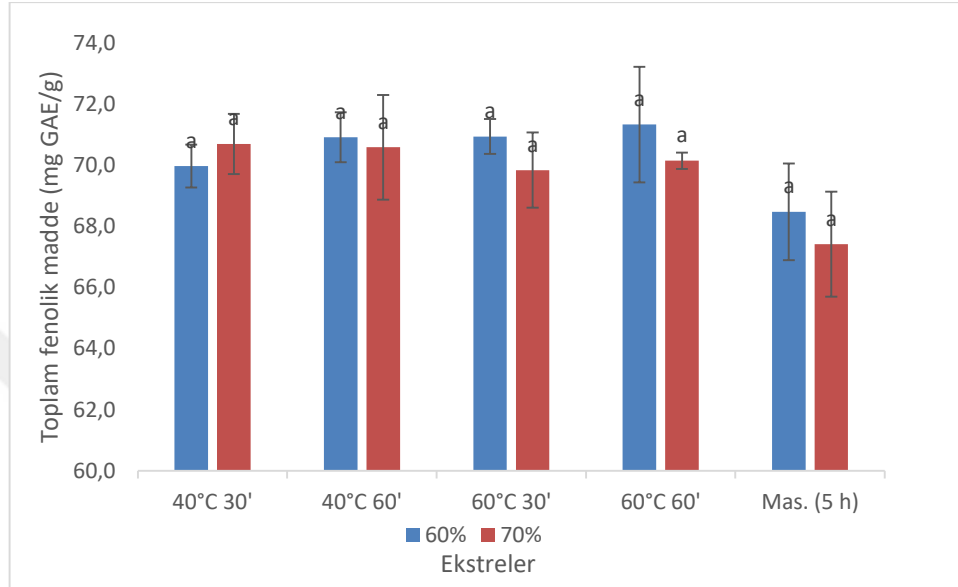


Şekil 4.6: İndirgeyici güç analizi (absorbans)

4.1.2 O. vulgare subsp. hirtum L.

4.1.2.1 Toplam fenolik madde

Toplam fenolik madde miktarı en yüksek 71,3 mg GAE/g (%60 etanol, 60°C 60' UDE) ile en düşük 67,4 mg GAE/g (%70 etanol, Mas. 5h) arasında değişmektedir. Gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

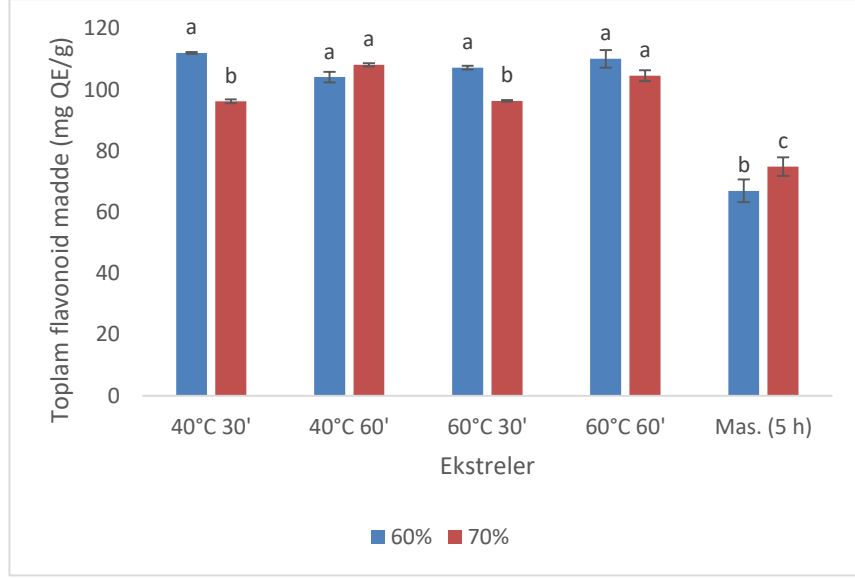


Şekil 4.7: Toplam fenolik madde miktarı (mg GAE/g)

4.1.2.2 Toplam flavonoid

Toplam flavonoid madde miktarı sonuçlarına bakıldığında, UDE tekniği ile ekstrakte edilen örneklerin, klasik yöntem olarak seçilen maserasyon yöntemine kıyasla daha yüksek sonuçlar verdiği görülmektedir ($p<0,05$). Tüm örnekler arasında en yüksek değeri 111,98 mg GAE/g ile %60 etanol konsantrasyonlu 40°C 30' örnekler gösterirken, en düşük değer 66,98 mg GAE/g ile %60 etanol konsantrasyonu ile 5 saat maserasyona tabi tutulan örnekler göstermiştir.

%70 etanol konsantrasyonu ile UDE yöntemi ile ekstrakte edilen örneklere bakıldığında ekstraksiyon süresinin verimi arttırdığı görülmektedir ($p<0,05$).



Şekil 4.8: Toplam flavonoid miktarı (mg QE/g)

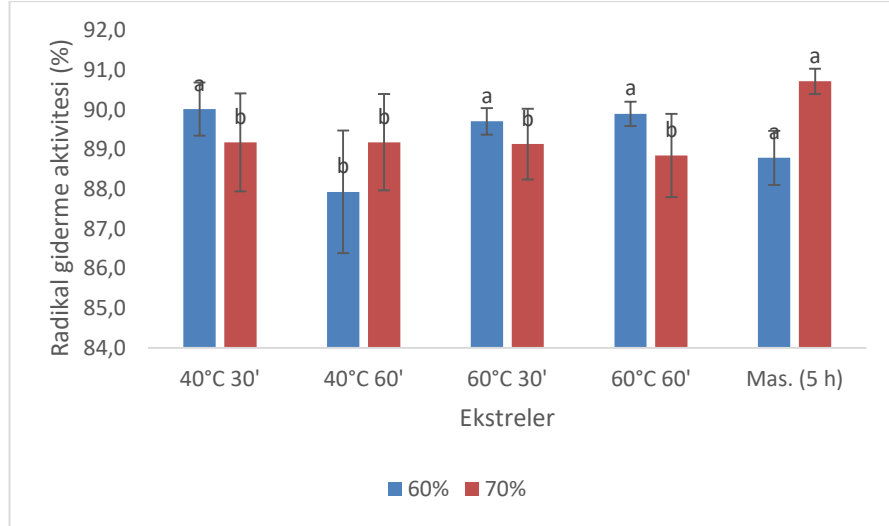
4.1.2.3 Antioksidan aktivite

ABTS radikali giderme aktivitesi

Radikal giderme aktivitesi yönünden en yüksek değeri (%90,7) %70 etanol konsantrasyonuna sahip maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilen örnekler göstermiştir.

%60 etanol konsantrasyonu ile hazırlanan örneklere bakıldığında 40°C 60' UDE işlemine tabi tutulan örneklerin en düşük değeri verdikleri görülmüştür.

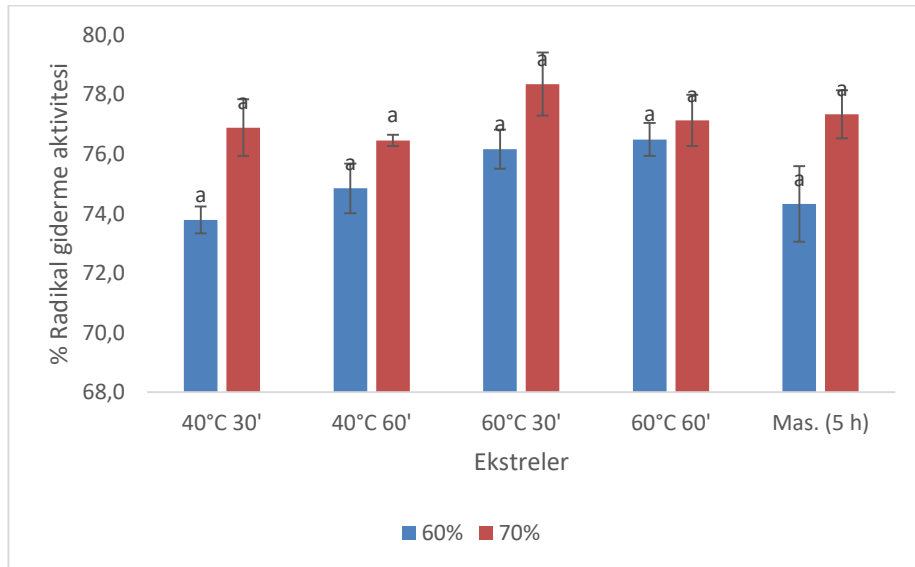
%70 etanol konsantrasyonu ile hazırlanan örneklerde ise maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilen örneklerin UDE ekstraksiyon yöntemine kıyasla daha yüksek sonuçlar verdiği görülmüştür ($p < 0,05$).



Şekil 4.9: ABTS radikali giderme aktivitesi (%)

DPPH radikali giderme aktivitesi

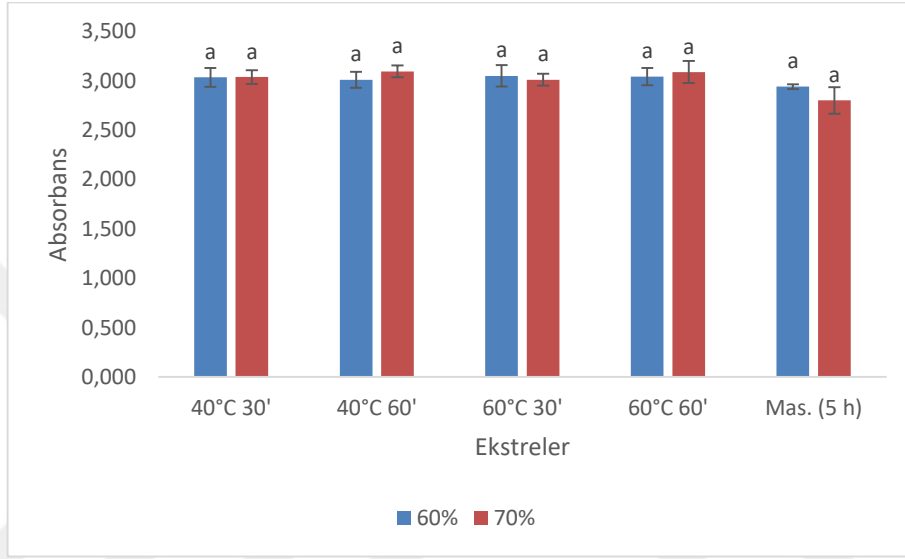
DPPH radikali giderme aktivitesi analizi sonuçlarına göre radikal giderme aktivitesi en yüksek örnek %78,3 ile 60°C sıcaklıkta 30' %70 etanol konsantrasyonu ile UDE işlemine tabi tutulan örnektir. En düşük değeri ise %73,8 değeri ile %60 etanol, 40°C 30' UDE işlemine tabi tutulmuş örnek göstermektedir. Yapılan istatistiksel analizde gruplar içinde anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.10: DPPH radikali giderme aktivitesi (%)

İndirgeyici güç analizi

İndirgeyici güç analizi sonuçlarına bakıldığında etanol konsantrasyonları arasında büyük farklar olmamakla birlikte en yüksek absorbans değerini %70 etanol konsantrasyonu ile 40°C sıcaklıkta 60'ekstraksiyona tabi tutulan örnekler göstermiştir. İstatistiksel olarak gruplar içinde anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).



Şekil 4.11: İndirgeyici güç analizi (absorbans)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Hibiscus sabdariffa L.:

Şen (2011)'in *Hibiscus Sabdariffa* bitkisi üzerinde su (kaynatma 15 dk), etanol ve aseton (maserasyon 3 saat) çözücülerini kullanarak yaptığı ekstraksiyonda toplam fenolik madde miktarı, çözücü sırası ile 47.93, 53.28, 44,88 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Çalışmamızda UDE tekniği ile %60 etanol konsantrasyonunda 40°C 60' ekstrete ettiğimiz roselle kalikslerinin toplam fenolik madde miktarı 88,42 mg GAE/g olarak bulunmuştur.

Borrás-Linares ve ark. (2015)'nin farklı orijinlere sahip *Hibiscus Sabdariffa* bitkisi üzerinde yaptıkları çalışmada, bitki örnekleri 1:10 (w:v) oranlarında %70 etanol ile karıştırılmış ve 72 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. En yüksek fenolik madde içeriği 100 mg GAE/g ile orijini Veracruz, Meksika olan örnekler, en düşük fenolik madde miktarını ise 24 mg GAE/g ile Jalisco, Meksika'dan toplanan örnekler göstermiştir. Çalışma aynı türün fenolik madde içeriğinin toprak, hava, iklim gibi koşullarından etkilendiğini göstermektedir. Çalışmamız sonuçlarına bakıldığında 88,42 mg GAE/g fenolik madde içeriği ile etkili bir ekstraksiyon yapıldığı görülmektedir.

Anokwuru ve ark. (2011)'nin *Hibiscus Sabdariffa* bitkisi kalikslerinden yaptıkları ekstraksiyonda, çözücü olarak metanol, etanol, aseton ve su kullanılarak 72 saat demlenmeye bırakılmıştır. Çalışmada toplam flavonoid madde miktarı yönünden en yüksek değeri (53,6 mg QE/g) çözücü olarak aseton kullanılan ekstreler göstermiştir. Etanol ile ekstrete edilen ekstreler ise 33,8 mg QE/g olarak bulunmuştur. Çalışmamızda %60 etanol konsantrasyonu ile UDE işlemine tabi tutulan ekstrelerin toplam flavonoid madde miktarı 43,85 mg QE/g olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada DPPH radikali giderme aktivitesi yönünden değerler %78 (metanol), %69 (etanol), %37 (aseton), %63 (su) şeklindedir. Çalışmamızda DPPH radikali giderme aktivitesi sonuçları %66,6 ile %73,5 arasındadır.

Çalışmamızda toplam fenolik madde içeriğine bakıldığında %60 etanol konsantrasyonuna sahip örneklerin daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.

Maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilen örneklerden etanol konsantrasyonları yönünden en yüksek değeri %70 etanol konsantrasyonlu örnekler göstermiştir. UDE tekniğinin toplam fenolik madde miktarı yönünden maserasyon yöntemine göre daha üstün sonuçlar elde edilmiştir.

Flavonoid madde miktarı yönünden %60 etanol konsantrasyonuna sahip örnekler maserasyon yöntemine göre anlamlı derecede yüksek sonuçlar vermiştir. %70 etanol konsantrasyonunda UDE tekniği ile maserasyon yöntemine eş sonuçlar elde edilmiş, sonuçlar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Sonuçlara bakıldığında antosiyanin miktarının uzun süren ekstraksiyon süresi nedeniyle maserasyon yönteminde, UDE yöntemine göre daha düşük bir değer verdiği anlaşılmaktadır. UDE ile hazırlanmış ekstrelerden 60 dakika ekstraksiyon tabi tutulanların 30 dakika ekstraksiyona tabi tutulanlara göre daha iyi sonuçlar verdiği görülmüştür.

Antioksidan aktivite tayininde ABTS radikali giderme aktivitesine göre etanol konsantrasyonları yönünden en iyi sonucu UDE işlemine tabi tutulana %70 etanol konsantrasyonlu örnekler gösterirken, maserasyon yöntemine tabi tutulan örneklerden %60 etanol konsantrasyonlu örnekler göstermiştir. 40°C 30' UDE işlemine tabi tutulan %70 etanol konsantrasyonuna sahip örneklerin ABTS radikali giderme aktivitesinin aynı etanol konsantrasyonunda masere edilen örneklerden anlamlı derecede yüksek çıktığı görülmüştür. DPPH radikali giderme aktivitesi yönünden bakıldığında en yüksek aktivitenin %70 etanol konsantrasyonlu örneklerde olduğu görülmektedir. İndirgeyici güç analizinde ise UDE işlemine tabi tutulan örnekler ile maserasyon yöntemine tabi tutulan örnekler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

O. vulgare L. subsp. hirtum:

Özkan (2007)'nin İstanbul Kekığı üzerine yapmış olduğu çalışmada, kuru kekik örnekleri çeşitli çözücülerle Soxhlet ekstraksiyonu (5 saat) ve UDE (2 saat) işlemine tabi tutulmuş, en yüksek fenolik madde miktarını (124.55 mg GAE/g) UDE işlemine tabi tutulmuş metanol:su:asetik asit (95:4.5:0.5) çözücü kompozisyonuna sahip ekstrelerin gösterdiği bulunmuştur. Soxhlet cihazı ekstraksiyonunda ise fenolik madde miktarı 114,75 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada

etanol:su:asetik asit (95:4.5:0.5) çözücü kompozisyonu ile UDE işlemine tabi tutulmuş örneklerin fenolik madde miktarı 54.23 mg GAE/g ile en düşük değeri vermiştir. Flavonoid madde miktarı yönünden Soxhlet cihazı ekstraksiyonu en yüksek değeri gösterirken, aseton:su:asetik asit (95:4.5:0.5) ile UDE işlemine tabi tutulmuş ekstraktler de klasik yöntemle yakın sonuçlar vermiştir. Çalışmamızda UDE işlemine tabi tutulmuş örneklerden en yüksek fenolik madde miktarı 71,3 mg GAE/g ile 60°C 60' %60 etanol konsantrasyonuna sahip ekstre olmuştur. Sıcaklık destekli ultrasonik ekstraksiyonun daha etkili sonuçlar verdiği görülmüştür.

Yılmaz ve ark. (2019) 'nın yaptığı bir çalışmada *Origanum onites* bitkisi %70 etanol konsantrasyonu ile klasik maserasyon (1 saat) ve UDE yöntemi ile (40°C 60') ekstrakte edilmiş ve karşılaştırılmıştır. Çalışmada UDE işlemine tabi tutulan ekstraktlerin toplam fenolik madde miktarı 60,6 mg GAE/g, maserasyon yöntemi ile ekstrakte edilen örneklerin toplam fenolik madde miktarı 49,2 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Çalışmamızda aynı şartlar altında (%70 etanol kons., 40°C 60') UDE işlemine tabi tutulmuş İstanbul Kekliği ekstraktlerinin toplam fenolik madde miktarı 70,6 mg GAE/g olarak bulunmuştur.

Karaboduk ve ark. (2014)'nın *O. vulgare L. subsp. hirtum* bitkisi üzerine yaptıkları çalışmada, 30 g kuru bitki örneği su, etanol ve metanol çözücüleri (300 ml) kullanılarak 6 saat Soxhlet cihazı ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Flavonoid madde miktarı yönünden en yüksek değeri 111,90 mg QE/g ile sulu ekstraktler vermiş, çözücü olarak etanol kullanılan ekstraktlerde ise değer 38,32 mg QE/g olmuştur. Çalışmamızda toplam flavonoid madde miktarı yönünden en yüksek değeri 111,98 mg QE/g ile 40°C 30' UDE işlemine tabi tutulmuş ekstraktler göstermiştir.

Toplam fenolik madde miktarı yönünden maserasyon yöntemi ile UDE yöntemi arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Etanol konsantrasyonları yönünden %60 etanol konsantrasyonunun genel olarak daha yüksek sonuçlar verdiği anlaşılmaktadır. UDE yönteminde sıcaklık ve sürenin fenolik madde miktarı yönünden çok bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Flavonoid madde miktarı ile etanol konsantrasyonları arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. %70 etanol konsantrasyonu ile UDE tabi tutulan örneklerde sürenin flavonoid madde miktarını arttırdığı görülmüştür. UDE işleminin maserasyon yöntemine göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir.

Antioksidan aktivitede ABTS radikali giderme aktivitesine etkisi bakımından etanol konsantrasyonları ele alındığında maserasyon yönteminde %70 etanol konsantrasyonu, UDE yönteminde ise %60 etanol konsantrasyonunun daha iyi sonuçlar verdiği görülmektedir. %70 etanol konsantrasyonu ile ekstrakte edilen örneklerde maserasyon yöntemi UDE yöntemine göre anlamlı derecede üstün çıkmıştır. DPPH radikali giderme aktivitesinde %70 etanol konsantrasyonlu örnekler daha iyi sonuçlar vermiştir. Etanol konsantrasyonları kendi aralarında kıyaslandığında anlamlı bir fark bulunamamıştır. İndirgeyici güç analizinde değerler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Ultrason destekli ekstraksiyon sistemi, çevresel kirliliği ve sağlık etkilerini en aza indirmek ve seçici ekstraksiyon ile istenen maddelerin verimini en üst düzeye çıkarmak için daha az çözücünün kullanıldığı modern yöntemlerden olup her kaynak için sıcaklık, süre, çözücü miktarı, ultrason kuvveti gibi parametrelerin optimize edilmesini gerektiren araştırmaya açık bir alandır. Çalışmamızda sıcaklık, süre ve etanol konsantrasyonu faktörleri kullanılarak ekstraksiyonun optimize edilmesi amaçlanmıştır. Ultrason destekli ekstraksiyon ile her iki bitki örneğinde de klasik metoda göre bazı parametrelerde üstün bazı parametrelerde eşdeğer sonuçlar alınmıştır.

KAYNAKÇA

- Afshari, K., Samavati, V., & Shahidi, S. A.** (2015). Ultrasonic-assisted extraction and in-vitro antioxidant activity of polysaccharide from Hibiscus leaf. *International Journal of Biological Macromolecules*, 74, 558–567. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.07.023>
- Ahmed, W. K. A., & Hudson, J. F. B.** (1982). The fatty acid composition of Hibiscus sabdariffa seed oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33(12), 1305–1309. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740331217>
- Albu, S., Joyce, E., Paniwnyk, L., Lorimer, J. P., & Mason, T. J.** (2004). Potential for the use of ultrasound in the extraction of antioxidants from Rosmarinus officinalis for the food and pharmaceutical industry. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11(3–4), 261–265. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2004.01.015>
- Anderson, K. J., Teuber, S. S., Gobeille, A., Cremin, P., Waterhouse, A. L., Steinberg, F. M., & Al, A. E. T.** (2001). Biochemical and Molecular Action of Nutrients Walnut Polyphenolics Inhibit In Vitro Human Plasma and LDL Oxidation 1 , 2. *The Journal of Nutrition*, 131(May), 2837–2842.
- Anokwuru, C. P., Esiaba, J., Ajibaye, O., & Adesuyi, A. O.** (2011). Polyphenolic content and antioxidant activity of hibiscus sabdariffa calyx. *Research Journal of Medicinal Plant*, 5(5), 557–566. <https://doi.org/10.3923/rjmp.2011.557.566>
- Anonim.** (2007). No Title. Tarihinde 01 Ocak 2020, adresinden erişildi <https://www.wikiwand.com/en/Malvaceae>
- Anonim.** (2008). No Title. Tarihinde 02 Ocak 2020, adresinden erişildi <https://fidanburada.com/japon-gulu-fidani-hibiscus-rosa>
- Anonim.** (2009). No Title. Tarihinde 03 Ocak 2020, adresinden erişildi <https://www.etsy.com/sg-en/listing/718114204/roselle-hibiscus-sabdariffa-25-seeds>
- Anonim.** (2019). No Title. Tarihinde 07 Ocak 2020, adresinden erişildi <http://www.tcfdatu.org/?lang=tr&page=product-detail&id=93>
- Anonim.** (2020). No Title. Tarihinde 26 Ocak 2020, adresinden erişildi <https://www.gardenersworld.com/plants/the-mint-family-lamiaceae/>
- Asensio, C. M., Grosso, N. R., & Juliani, H. R.** (2015). Quality characters, chemical composition and biological activities of oregano (*Origanum* spp.) Essential oils from Central and Southern Argentina. *Industrial Crops and Products*, 63, 203–213. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.056>

- 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. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Badreldin, H. A., Naser Al, W., & Gerald, B.** (2005). Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L.: a review. *Phytotherapy Research*, 19(5), 369–375. Tarihinde adresinden erişildi <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.1628>
- Baser, K. H. C.** (2017). *Karkade*. (November).
- Bernatoniene, J., Cizauskaite, U., Ivanauskas, L., Jakstas, V., Kalveniene, Z., & Kopustinskiene, D. M.** (2016). Novel approaches to optimize extraction processes of ursolic, oleanolic and rosmarinic acids from Rosmarinus officinalis leaves. *Industrial Crops and Products*, 84, 72–79. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.01.031>
- Borrás-Linares, I., Fernández-Arroyo, S., Arráez-Roman, D., Palmeros-Suárez, P. A., Del Val-Díaz, R., Andrade-González, I., Segura-Carretero, A.** (2015). Characterization of phenolic compounds, anthocyanidin, antioxidant and antimicrobial activity of 25 varieties of Mexican Roselle (Hibiscus sabdariffa). *Industrial Crops and Products*, 69, 385–394. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.02.053>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C.** (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology*, C, 28, ss. 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Betteridge, D. J.** (2000). What is oxidative stress? *Metabolism: Clinical and Experimental*, 49(2 SUPPL. 1), 3–8. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(00\)80077-3](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(00)80077-3)
- Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., & Barroso, C. G.** (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732, 100–104. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.11.032>
- Chandrasekara, A., & Shahidi, F.** (2010). Content of insoluble bound phenolics in millets and their contribution to antioxidant capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(11), 6706–6714. <https://doi.org/10.1021/jf100868b>
- Coetzee, R., Labuschagne, M. T., & Hugo, A.** (2008). Fatty acid and oil variation in seed from kenaf (Hibiscus cannabinus L.). *Industrial Crops and Products*, 27(1), 104–109. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.08.005>
- Çıkla Yılmaz, D., Özdoğan, O., Bulut, G., & Ayaz Seyhan, S.** (2019). İki Kekik Türünün (Thymbra spiciata var. spiciata ve Origanum onites) Antioksidan aktivitelerinin Karşılaştırılması. *International Journal of Eastern Anatolia Science Engineering and Design*, 1(2), 296–306.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M.** (2014). Hibiscus sabdariffa L. - A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 165, 424–443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>

- Da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D.** (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(4), 1076–1080. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.002>
- Dafallah, A. A., & Al-Mustafa, Z.** (1996). Investigation of the anti-inflammatory activity of *Acacia nilotica* and *Hibiscus sabdariffa*. *The American journal of Chinese medicine*, 24, 263–269.
- Dai, J., & Mumper, R. J.** (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313–7352. <https://doi.org/10.3390/molecules15107313>
- Davis, P. H.** (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 300–307.
- Dewanto, V., Xianzhong, W., Adom, K. K., & Liu, R. H.** (2002). Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010–3014. <https://doi.org/10.1021/jf0115589>
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N.** (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>
- Estilai, A., Hashemi, A., & Truman, K.** (2019). Chromosome Number and Meiotic Behavior of Cultivated Chia, *Salvia hispanica* (Lamiaceae). *HortScience*, 25(12), 1646–1647. <https://doi.org/10.21273/hortsci.25.12.1646>
- Fakeye, T. O., Pal, A., Bawankule, D. U., Yadav, N. P., & Khanuja, S. P.** (2008). Toxic Effects of Oral Administration of Extracts of Dried Calyx of *Hibiscus sabdariffa* Linn. (Malvaceae). *Phytotherapy Research*, 23, 412–416.
- Fuleki, T., & Francis, F. J.** (1968). Quantitative Methods for Anthocyanins. 1. Extraction and Determination of Total Anthocyanin in Cranberries. *Journal of Food Science*, 33(1), 72–77. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1968.tb00887.x>
- Harborne, J. B.** (1989). *Methods in plant biochemistry*. London: Academic Press Ltd.
- Harborne, Jeffrey B.** (1983). Anthocyanins as food colours. *Phytochemistry*, 22(4), 1067–1068. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(83\)85072-9](https://doi.org/10.1016/0031-9422(83)85072-9)
- Herrmann, K.** (1988). On the occurrence of flavonol and flavone glycosides in vegetables. *Z. Lebensm Unters Forsch*, 186, 1–5.
- Hertog, M. G. L., Feskens, E. J. M., Kromhout, D., Hertog, M. G. L., Hollman, P. C. H., Hertog, M. G. L., & Katan, M. B.** (1993). Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. *The Lancet*, 342(8878), 1007–1011. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(93\)92876-U](https://doi.org/10.1016/0140-6736(93)92876-U)
- Heywood, V. H.** (1996). *Flowering Plants of the World*. London: BT Batsford Ltd.

- Hirunpanich, V., Utaipat, A., Morales, N. P., Bunyapraphatsara, N., Sato, H., Herunsalee, A., & Suthisang, C.** (2005). Antioxidant effects of aqueous extracts from dried calyx of hibiscus sabdariffa Linn. (roselle) in vitro using rat low-density lipoprotein (LDL). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(3), 481–484. <https://doi.org/10.1248/bpb.28.481>
- Ho, C.-T.** (1992). Phenolic compounds in food. *Progress in Food Chemistry*, 1(9780841224766), 2–7. <https://doi.org/10.1021/bk-1992-0507.ch001>
- Hossain, M. B., Brunton, N. P., Patras, A., Tiwari, B., O'Donnell, C. P., Martin-Diana, A. B., & Barry-Ryan, C.** (2012). Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 19(3), 582–590. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2011.11.001>
- Islam, S.** (2019). A Review Study on Different Plants in Malvaceae Family and Their Medicinal Uses. *American Journal of Biomedical Science & Research*, 3(2), 94–97. <https://doi.org/10.34297/ajbsr.2019.03.000641>
- Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Godevac, D. M., & Bugarski, B. M.** (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369–380. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>
- Karaboduk, K., Karabacak, O., Karaboduk, H., & Tekinay, T.** (2014). CHEMICAL ANALYSIS AND ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF THE *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*. İçinde *Journal of Environmental Protection and Ecology* (C. 15).
- Karousou, R., & Kokkini, S.** (1997). Distribution and clinal variation of *Salvia fruticosa* Mill. (Labiatae) on the island of Crete (Greece) . *Willdenowia*, 27(1–2), 113–120. <https://doi.org/10.3372/wi.27.2710>
- Kuhnau, J.** (1976). The flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev Nutr Diet*, 24(0084–2230), 117–191.
- Lawrence, B. M.** (1984). The botanical and chemical aspects of oregano. *Perfumer and flavorist*.
- Lewis, W. H., Elvin-Lewis, M., & Gnerre, M. C.** (1987). Introduction to the ethnobotanical pharmacopeia of the Amazon Jivaro of Peru. İçinde *14th International Botanical Congress* (C. 5–35).
- Lin, H. H., Chen, J. H., Kuo, W. H., & Wang, C. J.** (2007). Chemopreventive properties of *Hibiscus sabdariffa* L. on human gastric carcinoma cells through apoptosis induction and JNK/p38 MAPK signaling activation. *Chemico-Biological Interactions*, 165(1), 59–75. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2006.10.011>
- Meyers, M.** (2005). Oregano and Marjoram: an Herb Society of America Guide To the Genus *Origanum*, pp: 8–9. *The Herb Society of America, Kirtland, USA*, 1–66.

- Morton, J. F.** (1974). Renewed interest in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), the long-forgotten “Florida Cranberry”. *Florida State Horticultural Society*, 415–425.
- Nicoué, E. É., Savard, S., & Belkacemi, K.** (2007). Anthocyanins in wild blueberries of Quebec: Extraction and identification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(14), 5626–5635. <https://doi.org/10.1021/jf0703304>
- Obert, J. C., Hughes, D., Sorenson, W. R., McCann, M., & Ridley, W. P.** (2007). A quantitative method for the determination of cyclopropenoid fatty acids in cottonseed, cottonseed meal, and cottonseed oil (*Gossypium hirsutum*) by high-performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(6), 2062–2067. <https://doi.org/10.1021/jf0617871>
- Oyaizu, M.** (1986). Studies on products of browning reaction. Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307–315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
- Özkan, G., & Gülcan.** (2007). Türkiye’ de Lamiaceae (Labiatae) familyasına ait baharat veya çeşni olarak kullanılan bazı bitkilerin fenolik bileşenleri ile antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi.
- Panja, P.** (2018). Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. *Current Opinion in Food Science*, 23, 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.11.012>
- Pinela, J., Prieto, M. A., Pereira, E., Jabeur, I., Barreiro, M. F., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R.** (2019). Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* calyces for natural food colorants. *Food Chemistry*, 275, 309–321. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.118>
- Prior, R. L., Lazarus, S. A., Cao, G., Muccitelli, H., & Hammerstone, J. F.** (2001). Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinium* spp.) Using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3), 1270–1276. <https://doi.org/10.1021/jf001211q>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rombaut, N., Tixier, A.-S., Antoine Bily, & Chemat, F.** (2014). Perspective: *Jatropha* cultivation in southern India: Assessing farmers’ experiences. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 8(4), 530–544. <https://doi.org/10.1002/bbb>
- Saleem, M.** (2000). *Chemical and Biological Screening of Some Relatives of Lamiaceae (Labiatae) Family and Marina Algae *Conidium iyengarii**.
- Shahidi, F., Janitha, P. K., & Wanasundara, P. D.** (1992). Phenolic Antioxidants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 32(1), 67–103. <https://doi.org/10.1080/10408399209527581>

- Shi, J., Nawaz, H., Pohorly, J., Mittal, G., Kakuda, Y., & Jiang, Y.** (2005). Extraction of polyphenolics from plant material for functional foods - Engineering and technology. *Food Reviews International*, 21(1), 139–166. <https://doi.org/10.1081/FRI-200040606>
- Shirsath, S. R., Sonawane, S. H., & Gogate, P. R.** (2012). Intensification of extraction of natural products using ultrasonic irradiations-A review of current status. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 53, 10–23. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2012.01.003>
- Shylaja, M. R.** (2004). *Handbook of herbs and spices*. [https://doi.org/10.1016/S0924-6509\(08\)70274-5](https://doi.org/10.1016/S0924-6509(08)70274-5)
- Singleton, L. V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. M.** (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, 299(6), 152–178. <https://doi.org/10.1007/BF02530903>
- Souza, E. L., Stamford, T. L. M., Lima, E. O., & Trajano, V. N.** (2007). Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. *Food Control*, 18(5), 409–413. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2005.11.008>
- Spada, P., & Perrino, P.** (1996). *Conservation of oregano species in national and international collections: an assessment*. 14–24. Bari.
- Şen, C.** (2011). Hibiscus sabdariffa L. bitkisinin antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesinin araştırılması.
- Tiwari, B. K.** (2015). Ultrasound: A clean, green extraction technology. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 71, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.04.013>
- Tsao, R.** (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246. <https://doi.org/10.3390/nu2121231>
- Tseng, T.-H., & Lee, Y.-J.** (2008). Evaluation of Natural and Synthetic Compounds from East Asiatic Folk Medicinal Plants on the Mediation of Cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, 6(4), 347–365. <https://doi.org/10.2174/187152006777698150>
- Tseng, T. H., Kao, E. S., Chu, C. Y., Chou, F. P., Lin Wu, H. W., & Wang, C. J.** (1997). Protective effects of dried flower extracts of *Hibiscus sabdariffa* L. against oxidative stress in rat primary hepatocytes. *Food and Chemical Toxicology*, 35(12), 1159–1164. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(97\)85468-3](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(97)85468-3)
- Uzunhisarcıklı, M. E., & Vural, M.** (2009). *Taxonomy and IUCN categories of two Alcea L. (Malvaceae) species cited in the data deficient (DD) category*. 2, 90–95.
- Valant-Vetschera, K. M., & Wallenweber, E.** (2006). *Flavones and Flavonols*. In *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis Group.
- Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D.** (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113–4117. <https://doi.org/10.1021/jf9801973>
- Vinatoru, M.** (2001). An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8(3), 303–313. [https://doi.org/10.1016/S1350-4177\(01\)00071-2](https://doi.org/10.1016/S1350-4177(01)00071-2)

- Vokou, D., Kokkini, S., & Bessiere, J. M.** (1993). Geographic variation of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) essential oils. *Biochemical Systematics and Ecology*, 21(2), 287–295. [https://doi.org/10.1016/0305-1978\(93\)90047-U](https://doi.org/10.1016/0305-1978(93)90047-U)
- Wang, C. J., Wang, J. M., Lin, W. L., Chu, C. Y., Chou, F. P., & Tseng, T. H.** (2000). Protective effect of Hibiscus anthocyanins against tert-butyl hydroperoxide-induced hepatic toxicity in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 38(5), 411–416. [https://doi.org/10.1016/S0278-6915\(00\)00011-9](https://doi.org/10.1016/S0278-6915(00)00011-9)
- Wang, H. J., & Murphy, P. A.** (1994). Isoflavone Content in Commercial Soybean Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(8), 1666–1673. <https://doi.org/10.1021/jf00044a016>
- Wang, M. L., Morris, B., Tonnis, B., Davis, J., & Pederson, G. A.** (2012). Assessment of oil content and fatty acid composition variability in two economically important Hibiscus species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(26), 6620–6626. <https://doi.org/10.1021/jf301654y>

ÖZGEÇMİŞ

Ad – Soyad: Harun Reşit Özdal

Doğum Yeri Ve Tarihi: Seyhan – 11.11.1987

E-Posta: harunresit.ozdal@tarimorman.gov.tr

İş Bilgileri:

09.2013- Tarım ve Orman Bakanlığı /Gıda Mühendisi

Yüksek Lisans:

2017-Devam Ediyor İstanbul Aydın Üniversitesi Gıda Mühendisliği

Lisans/Önlisans:

2005-2009 Gaziosmanpaşa Üniversitesi Gıda Mühendisliği

Lise:

2001-2004 Adana Erkek Lisesi