

**ŞEKER PANCARI KŐSPESİ VE BUĞDAY
KEPEĞİNDEN FERULİK ASİT ELDESİ**

Mensur GŐN

YŐksek Lisans Tezi

BiyomŐhendislik Anabilim Dalı

DoÇ. Dr., Mevlőt BAYRAKCI

Temmuz-2019

**T.C.
KARAMANOĞLU MEHMETBEY ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞEKER PANCARI KÜSPESİ VE BUĞDAY KEPEĞİNDEN FERULİK ASİT
ELDESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Mensur GÜN**

Ana Bilim Dalı: BİYOMÜHENDİSLİK

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mevlüt BAYRAKCI

KARAMAN 2019

TEZ ONAYI

Mensur GÜN tarafından hazırlanan “Şeker Pancarı Küşesi ve Buğday Kepeğinden Ferulik Asit Eldesi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Ana Bilim Dalı’nda (YÜKSEK LİSANS TEZİ) olarak kabul edilmiştir.

Danışman:

Doç. Dr. Mevlüt BAYRAKCI



Jüri Üyeleri:

İmza:

Doç. Dr. Mevlüt BAYRAKCI



Doç. Dr. Ahmet UYSAL



Dr. Öğr. Üyesi Ceren BAYRAÇ



Tez Savunma Tarihi:31/07/2019

Yukarıdaki sonucu onaylarım

~~Doç. Dr. Kamil ARI~~ 7.
Enstitü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

(İmza)
Mensur GÜN



ÖZET
Yüksek Lisans Tezi

**ŞEKER PANCARI KÜSPESİ VE BUĞDAY KEPEĞİNDEN FERULİK ASİT
ELDESİ**

Mensur GÜN

Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomühendislik Ana Bilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mevlüt BAYRAKÇI

Temmuz, 2019, 61sayfa

Bu çalışmada; HCl ile farklı çözücü oranlarında (1:25 ve 1:50) farklı asit değerlerinde (0,1 N ve 1 N) farklı sıcaklıklarda (80 ve 100° C) ve farklı ekstraksiyon sürelerinde (60 ve 180 dk) yapılan çalışmalar sonucunda şeker pancarı küspesi için en yüksek ferulik asit(FA) konsantrasyonunu 195 ppm olarak 1 N' lik HCl ile 1:50 oranında 100° C de 300 rpm de 180 dk karıştırarak elde edilirken, buğday kepeği için en yüksek FA konsantrasyonu 355 ppm olarak yine 1 N' lik HCl ile 1:50 oranında 100° C de 300 rpm de 180 dk karıştırarak elde edilmiştir. Metanol ile ve enzim ile farklı çözücü oranlarında ve farklı ekstraksiyon sürelerinde yapılan çalışmalar sonucunda şeker pancarı küspesi için çok düşük değerlerde FA elde edilirken, buğday kepeği içinise nispeten daha yüksek FA konsantrasyonu elde edilmiştir.NaOH ile farklı çözücü oranlarında (1:25 ve 1:50) farklı alkali değerlerinde (0,1 N ve 1 N) farklı sıcaklıklarda (80 ve 100° C) ve farklı ekstraksiyon sürelerinde (60 ve 180 dk) yapılan çalışmalar sonucunda şeker pancarı küspesi için en yüksek FA konsantrasyonunu 748 ppm olarak 1 N' lik NaOH ile 1:50 oranında 100° C de 300 rpm de 180 dk karıştırarak elde edilirken, buğday kepeği için en yüksek FA konsantrasyonu 1,9 ppm olarak 0,1 N' lik NaOH ile 1:50 oranında 100° C de 300 rpm de 180 dk karıştırarak elde edilmiştir.Ekstraksiyonda elde edilen ferulik asit miktarı, HPLC ile tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Ferulik asit, Ekmeklik buğday, Şeker pancarı küspesi, Buğday kepeği, Amilopektin, Pektin

ABSTRACT
MsThesis / Ph.D. Thesis

**FERULIC ACID DISPENSION FROM SUGAR BEET PUMP AND WHEAT
BRAN**

Mensur Gün

Karamanoğlu Mehmetbey University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Bioengineering

Supervisor: Doç. Dr. Mevlüt BAYRAKÇI

July, 2019, 61pages

In this study, working with HCl in different solution mixes (1:25 and 1:50), with different acid levels (0.1N and 1N), at different temperatures (80° C and 100° C), and for different extraction times (60min and 180min), the highest ferulic acid concentration has been observed as 195 ppm for sugar beet pulp when HCl solution mixed in 1:50 rate, with 1N acid level, at 100° C, with 300rpm in 180min. With the same conditions, the highest ferulic acid concentration has been observed as 355 ppm for wheat bran, similarly when HCl solution mixed in 1:50, with 1N acid level at 100° C, with 300rpm in 180min. A similar study was carried out with methanol and Enzyme in different solution mixes and for different extraction times. For sugar beet pulp, it yielded the lowest level of FA, whilst for wheat bran it yielded a marginally higher level of FA. Working with NaOH in different solution mixes (1:25 and 1:50), with different alkaline levels (0.1N and 1N), at different temperatures (80° C and 100° C), and for different extraction times (60min and 180min), the highest ferulic acid concentration has been observed as 748 ppm for sugar beet pulp when NaOH solution mixed in 1:50 rate, with 1N alkaline level, at 100° C, with 300rpm in 180min. With the same conditions, the highest ferulic acid concentration has been observed as 1.9 ppm for wheat bran, when NaOH solution was mixed in 1:50, with 0.1N alkaline level at 100° C, with 300rpm in 180min. The amount of ferulic acid obtained in the extraction was determined by HPLC.

Keywords: Ferulic acid, Bread wheat, Sugar beet pulp, Wheat bran, Amylopectin, Pectin

TEŞEKKÜR

Çalıőmamda bilgi deneyimi ile yanımda olan, yardım ve önerilerini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Doç. Dr. Mevlüt BAYRAKÇI' ya ayrıca yardımlarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Ceren BAYRAÇ' a

Laboratuvar çalıőmalarımda yanımda olan, Konya Şeker Atıőtırmalık Ürünler Fabrikası Kimya Laboratuvar ekibine,

Sabrı, sevgi ve saygısı ile beni yüreklendiren, motive eden sevgili eőim Ruhan Yıldırım GÜN, oğlum ve kızıma,

Son olarak, her zaman yanımda olan, anlayıő ve sevgisini benden esirgemeyen, babam, annem, kardeőim ve özellikle abim İsmail GÜN'e sonsuz teşekkür ederim.

(İmza)

Mensur GÜN

Karaman-2019

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ÇİZELGELER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. Bitki Materyali Ekstraksiyonu	4
2.2. Hücrelerin Yırılması	4
2.3. Mekanik Yöntemler	5
2.4. Enzimatik Bozunma.....	5
2.5. Kimyasal Bozunma.....	5
2.6. Ekstraksiyon işlemleri sırasında alınacak önlemler.....	6
2.7. Seçmeli Ekstraksiyon Teknikleri	6
2.8. Solvent ile Ekstraksiyon	7
2.9. İdeal Çözücü Seçimi	7
2.10. Ekstraksiyon işlem çeşitleri	11
2.11. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu (PLE)	13
2.12. Soxhlet Ekstraksiyonu	13
2.13. Enfluerage.....	14
2.14. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE).....	14
2.15. Ultrasonik Ekstraksiyon.....	15
2.16. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon	15
2.17. Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)	15
2.18. Katı Faz Mikro-ekstraksiyon(SPME)	16
2.19. Sıralı ve seçici ekstraksiyon.....	16
2.20. Dondurularak Kurutma (Liyofilizasyon)	17
2.21. Çağdaş ve Geleneksel Ekstraksiyon Yöntemleri	17
2.22. Kaynak Araştırması	18
3. MATERYAL VE METOD	28
3.1. Materyal	28
3.2. Kullanılan Cihazlar	28
3.3. Ekstraksiyon işlemi	29
3.3.1. Hidroklorik Asit ile Ekstraksiyon	32
3.3.2. Metanol ile Ekstraksiyon	35
3.3.3. Enzim ile Ekstraksiyon	36
3.3.4. Sodyum Hidroksit ile Ekstraksiyon	38
3.4. Toplam Fenolik İçeriğin Belirlenmesi	40
3.5. HPLC Analizi	40
4. BULGULAR	43
4.1. Hidroklorik Asit ile Ekstraksiyon Optimizasyonu	44
4.2. Metanol ile Ekstraksiyon Optimizasyonu	46
4.3. Enzim ile Ekstraksiyon Optimizasyonu	47
4.4. Sodyum Hidroksit ile Ekstraksiyon Optimizasyonu	48
5. TARTIŞMA SONUÇ	51

KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	61



ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge Sayfa

Çizelge 1. Pancar Küspesinin Kimyasal Bileşimi (%) (ÇİMEN, 2010).....	2
Çizelge 2. Buğday Ununun ve Kepeğinin Kimyasal Bileşimi (%) (Özer 1998)	3
Çizelge 3. Bitki-kimyasında (phytochemistry)kullanılan yaygın çözücülerin fiziksel özellikleri(McParland ve ark., 2002).....	9
Çizelge 4. Kurutulup öğütülmüş şeker pancarı küspesine yapılan analizler.	44
Çizelge 5. Buğday Kepeğine yapılan analizler.	44
Çizelge 6. Asit Hidrolizi ile ŞPK' den elde edilen FA oranları.....	45
Çizelge7. Asit Hidrolizi ile BK' den elde edilen FA oranları.	46
Çizelge 8. Metanol ile ŞPK' den elde edilen FA oranları.	47
Çizelge 9. Metanol ile BK' den elde edilen FA oranları.	47
Çizelge 10. Enzim ile ŞPK' den elde edilen FA oranları.	47
Çizelge 11. Enzim ile BK' den elde edilen FA oranları.	48
Çizelge 12. Baz Hidrolizi ile ŞPK' den elde edilen FA oranları.	49
Çizelge 13. Baz Hidrolizi ile BK' den elde edilen FA oranları.....	50
Çizelge 14. Farklı ŞPK numunelerinden metod I,II ve III ile elde edilen FA oranları (Jankovska ve ark. 2001).....	52
Çizelge 15. ŞPK' den ekstrakte edilen FA konsantrasyonları. (Aarabi, 2015)	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil Sayfa

Şekil 1. GC-MS' te kullanılan SPME fiberleri.....	16
Şekil 2. Bitkilerde ferulik asit ve ilgili bileşiklerin kimyasal yapısı ve sentezi(Moghadasian ve ark., 2008)	19
Şekil 3. Ferulik asit'in kimyasal yapısı	21
Şekil 4. FA ekstraksiyonu akış şeması.....	31
Şekil 5. Asit hidrolizi sonrası çözültiden pektin' in ayrılması.	32
Şekil 6. Süzülerek ayrılan pektin.	32
Şekil 7. ŞPK' den HCl ile elde edilen FA' in HPLC kromatogramı.	33
Şekil 8. BK' den HCl ile elde edilen FA'in HPLC kromatogramı.	33
Şekil 9. HCl ile ekstaksiyonun yapıldığı düzenek	34
Şekil 10. ŞPK' den MeOH ile elde edilen FA' in HPLC kromatogramı	35
Şekil 11. BK' den MeOH ile elde edilen FA'in HPLC kromatogramı.....	35
Şekil 12. MeOH ile ekstaksiyonun yapıldığı düzenek.....	36
Şekil 13. ŞPK' den Enzim ile elde edilen FA' in HPLC kromatogramı.....	37
Şekil 14. BK' den Enzim ile elde edilen FA'in HPLC kromatogramı	37
Şekil 15. ŞPK' den NaOH ile elde edilen FA' in HPLC kromatogramı.....	38
Şekil 16. BK' den NaOH ile elde edilen FA'in HPLC kromatogramı.	38
Şekil 17. NaOH ile ekstaksiyonun yapıldığı düzenek	39
Şekil 18. HPLC cihazı.	41
Şekil 19. 2-20 mg/L FA standardının HPLC de verdiği kromatogram ve kalibrasyon eğrisi	42
Şekil 20. ŞPK' ne yapılan UV-VIS ve HPLC sonuçları (Jankovska ve ark. 2001)...	52
Şekil 21. FA' in HPLC kromatogram (Aarabi, 2015).....	53

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<u>Simgeler</u>	<u>Açıklama</u>
N	Normalite (Konsantrasyon Birimi)
mM	miliMolarite (Konsantrasyon Birimi)
mg	miligram
µg	mikrogram
nm	nanometre (dalga boyu)
ppm	milyonda 1 birim (mg çözünen / kg veya litre çözelti)
mg/L	miligram/Litre (ppm)

<u>Kısaltmalar</u>	<u>Açıklama</u>
ŞPK	Şeker Pancarı Küspesi
BK	Buğday Kepeği
MSA	Metansülfonik Asit
FA	Ferulik Asit
TE	Tespit edilemedi

1.GİRİŞ

Şeker, geniş kitlelerin besin ve enerji kaynağı olarak stratejik bir öneme sahiptir. Bu sebeple tarihin bazı dönemlerinde ülkeler birbiriyle ciddi bir şekilde çatışmışlardır. Bu bakımdan bugün hemen hemen bütün ülkeler kendi ihtiyacı olan şekeri dahili imkanlarıyla karşılamaya çalışmaktadırlar (Er ve Uranbey, 1998).

Endüstriyel bitkilerden olan şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) insan ve hayvan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir. Dünyamızda bugün itibariyle ticari olarak şeker üretimi, şeker pancarından ve şeker kamışından elde edildiği bilinmektedir. Şeker kamışı tropik ve subtropik iklim kuşağında yetişirken, şeker pancarı ise kuzey yarım kürede ülkemizin de içinde bulunduğu 30° güney, 60° kuzey enlemleri arasındaki değişik iklim kuşakları ve bölgelerde yetişmekte olduğu bilinmektedir (Gencer, 1988).

Şeker pancarı (*Beta vulgaris* L.) bitkisi *Chenopodiaceae* (Ispanakgiller) familyasından, ikinci yılında endüstride kullanılabilen bir bitki olarak tanımlanmıştır. (Özer ve Ertunç, 2005).

Dünyada 18. yüzyılın sonlarına kadar şekerin hammaddesi olarak şeker kamışı bilinirken; 1747 yılında Alman Marggraf'ın pancara tat veren maddenin şeker kamışındaki ile aynı olduğunu belirlemesi üzerine pancardan şeker üretme çalışmalarını başlatmıştır. Ticari anlamda şeker pancarından şeker üretimini ise, Marggraf'ın öğrencisi olarak bilinen Franz Carl Achard adlı kişinin, 1802 yılında kurmuş olduğu fabrikada, kendi ıslah ettiği şeker pancarlarıyla gerçekleştirmiş olduğu bilinmektedir (Cooke ve Scott, 1993).

Türkiye'de şeker sanayi kurulup şeker pancarı tarımı gelişinceye kadar birçok aşamalardan geçilmiştir. İlk girişim olarak 1840'lı yıllarda Mareşal Necip Paşa ve tüccar Dimitri Efendi tarafından yapılmış ancak çeşitli nedenlerden dolayı başarıya ulaşamamıştır. Daha sonra 1867'de Davutoğlu Karabet Efendi, 1879'da İstanbul Fenerler İdaresi Müdürü Mishel Paşa, 1890'da Yusuf Bey şeker fabrikası kurmak için girişimlerde bulunmuşlar ancak olumlu bir sonuç alamamışlardır. 1898'de Topal

Rauf Paşa şeker fabrikası kurmak için oldukça önemli adımlar atmış ancak 1906'da aniden vefat etmesiyle bu çalışmalar yarım kalmıştır (Er ve Uranbey, 1998).

Ülkemizdeki 33 şeker fabrikasında yıllık 2 milyon tonun üzerinde şeker üretimi sonucunda 3 milyon tondan fazla şeker pancarı küspesi açığa çıkmaktadır. Elde edilen küspeler büyük oranda hayvancılık sektöründe kullanılmakta, kuru ve yaş olarak keçi, koyun, süt ve besi sığırlarının beslenmesinde kullanılmaktadır. Şeker pancarının küspesi bol ve ucuz bir yem kaynağı olmakla birlikte katma değeri oldukça düşük bir atıktır. Tüm bu açılardan düşünüldüğünde şeker pancarı küspesinin katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi önemli hale gelmektedir. Ayrıca ferulik asit gibi fenolik bileşiklerin tedavi edici etki gösterebilmesi için bu bileşikleri bulunduran meyveleri birkaç kez tüketmek yeterli değildir, ya beslenme alışkanlığının değiştirilmesi ya da ilgili bileşiği ekstakte edilmesi gerekmektedir. Pancar küspesinin kimyasal bileşimi Çizelge 1.'de verilmiştir.

	Pentozan	Pektin	Selüloz	Lignin	Proteinler	Yerleşmiş Kül
En sık rastlanan değerler	24-32	24-32	22-30	3-6	5	4-4,5
Aşırı değerler	16-40	21-41	14-36	2-7,4	2-7,4	2-6,6

Çizelge 1. Pancar Küspesinin Kimyasal Bileşimi (%) (ÇİMEN, 2010)

İnsanlık eski zamanlardan bu yana tükettikleri en temel gıda maddelerinin başında tahıllar gelmektedir. En çok üretimi yapılan tahıllar buğday, mısır ve pirinçtir. Tahıllar içerisinde buğday; verimliliği, yetiştirilebilmesinin basit olması, çeşitli gıdaların temel hammaddesi olarak işlenmesi, çok yönlü kullanılabilmesi imkanı ve beslenmemizdeki rolü itibariyle önemli bir yere sahiptir (Anonim., 1992).

Buğdayın rengi açık sarı kırmızı arasında bir renk olarak değişebilir. Tane şekli ovale yakın, uzun ve yuvarlaktır. Tane uzunluğu(3,0-8,0 mm), genişliği (1,5-5,0 mm), bin adet tanenin ağırlığı yaklaşık 20-65 g arasındadır (Kent, 1984; Hosney, 1986; Ünal, 1991).

Buğdayın karın kısmı içe doğru girintili olup taneyi uzunlamasına ikiye ayırır. Buğday tanesi dıştan içe doğru başlıca sırasıyla şu kısımlardan oluşur; perikarp (%3.5-5.5), testa (%0.5), hiyalin tabakası (%2), aleron hücreleri (%6-9), endosperm (%80-85), tanenin ucunda embriyo (%2-3) ve sakal kısımları(Hoseney, 1986; Kırtok, 1992; Ünal, 1999).

Buğday tanesinin kimyasal yapısı; nişasta ve nişasta dışındaki karbonhidratlar, proteinler ve diğer azotlu maddeler, yağlar, enzimler, vitaminler, inorganik maddeler ve sudan oluşur. Bu maddelerin tanedeki oranları çeşidine, yetiştirme şartlarına ve iklim koşullarına bağlı olarak değişir (Kent, 1984; Altan, 1986; Hoseney, 1986).

Öğütme işleminin en önemli yan ürünü olan kepek; buğday tanesinin meyve kabuğu, tohum kabuğu ve aleron tabakası ile endospermin dış katmanlarından oluşur. Ayrıca embriyo da çoğu zaman kepekten ayrılmadığından kepek ile birlikte düşünülür(Lai, 1986; Hoseney, 1986). Buğdayın öğütmesiyle oluşan buğday unu ve kepeğinin bileşimleri Çizelge2’de verilmiştir.

	Nişasta	Ham Protein	Su	Lipid	Kül	Ham Lif
Buğday Unu	70-75	10-12	14-15	1-1,5	0.5-0,7	0.5-0,7
Buğday Kepeği	20-25	14-16	8-12	5-7	7-8	15-20

Çizelge 2. Buğday Ununun ve Kepeğinin Kimyasal Bileşimi (%) (Özer 1998)

Çizelge2.’nin incelendiğinde görülebileceği gibi, buğday bazı temel besin maddeleri ve lif içeriği yönünden zengindir. Buğday ununa nazaran buğday kepeğinde toplam diyet lif, hemisellüloz ve sellüloz oranı bir hayli yüksektir.

Bu çalışmanın amacı; asit, organik çözücü, enzim ve alkali hidroliz yoluyla buğday kepeği ve şeker pancarı küspesinden ferulik asit ekstraksiyonu, ekstrakte edilmiş ferulik asidin saflaştırılması yöntemini optimize etmektir. Optimize edilmiş faktörler arasında buğday kepeği ve şeker pancarı küspesinin başlangıç ağırlığının çözücüye oranı, hidroklorik asit konsantrasyonu, sodyum hidroksit konsantrasyonu, hidroliz sıcaklığı ve hidroliz süresi dikkate alınmıştır. Ferulik asidin miktarının belirlenmesi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile yapıldı. Buğday

kepeği ve Şeker pancarı kúspesinden elde edilen ferulik asitler HPLC ile analiz edildi ve miktarları belirlendi.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Bitki Materyali Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon, insanoğlunun çay yapma ve kaynatma hazırlama gibi gúnlúk aktivitelerinde uyguladığı asırlık bir iŐlemdir. Bilimin ilerlemesiyle birlikte, özütleme süreci farklı bir alana geliŐti ve bitki-kimyası (phytochemistry) geliŐimine önemli katkılarda bulundu. Nadiren, bitki materyali, toplam kül ve azot tahmini durumunda olduğu gibi analiz için kullanılabilir. Bazı durumlarda, iŐlenecek malzeme doğal olarak lateks, bağırsak sıvısı ve nektar gibi bir çözelti halinde oluşur. Bununla birlikte, genel olarak, bitki-kimyasal analizin ilk basamağı, incelenen bileşikleri katı cisimlerin veya sıvıların karışımından uygun bir çözücü ile ayırmak için kullanılan bir yöntem olan  z tlemedir (Irıyama ve ark., 1974). Latince, extraho kelimesi, çizmek anlamına gelir. İyi bir ekstraksiyon prosedürü, aradığımız tüm materyal grubunu çözelti haline getirmeli ve bileşiklerin yapısında çok az deđiŐiklik veya hiç deđiŐiklik olmamasına ve daha fazla analiz için kolay olmasına neden olmalıdır. Ekstraksiyon teknikleri ayrı bir bölüm haline getirilmiş olsa da, ayırma işleminin bir parçasıdır.

2.2. Hücrelerin Yırtılması

Hücrelerin içinde bulunan bileşiklerin çoğu, hücre duvarı boyunca geçirgen değildir. Düşük moleküler ağırlıktaki suda çözünür bileşenler genellikle, doku ozmotik kontrolünü yok edecek Şekilde,  rneğin 60 C'ye ısıtmak suretiyle muamele edildiğinde hücreden yayılır. Ozmotik bariyer olmasa bile, dokulardan difüzyon, protein veya diŐ etleri gibi büyük moleküllerde sıklıkla yavaŐtır. Böylece dokular ilk önce parçalanır ve istenen bileşikler hücre özünden çözücüye yayılır(Vicrel ve ark., 2004).

2.3. Mekanik Yöntemler

Öğütme değirmenleri ve karıştırıcı öğütücü kullanılarak bitki dokuları toz haline getirilebilir. Bir bitki dokusunun hücrelerini yırtmanın en iyi yolu, dokuyu dondurmak ve havanda sıvı azot kullanarak onu ezmektir. Bu yöntem özellikle silislenmiş(silicified) veya yüksek derecede lignize(lignified) bitkisel malzemeler için kullanışlıdır. Donma işlemi hücreleri patlatır ve ekstraksiyonu çok kolaylaştırır. Bitki dokusu, hücrelerin yırtılmasını kolaylaştıran bir miktar yıkanmış kum eklendikten sonra öğütülebilir. Protein ve enzimlerin çıkarılması için bir tampon ilavesiyle dokunun yırtılması tavsiye edilir. Sadece bir değirmende toz haline getirme de işe yarayacaktır. Hücre süspansiyon kültürü yöntemleri ile yetiştirilen bitki materyallerinin özütlenmesi durumunda, bir sonikatör(sonicator), hücre yapısını kırmak için etkili bir tekniktir.

2.4. Enzimatik Bozunma

Enzimler canlı organizmada kimyasal reaksiyonları katalizleyen proteinlerdir. Canlı organizma dışında da katalitik aktivite gösterdiklerinden mikroorganizmalara bol miktarda ürettirilen enzimler izole edilerek endüstride yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Mikrobiyal enzimler; et ve süt tesislerinde, biracılıkta, meyve suyu üretim tesislerinde, nişasta bazlı şeker üretim tesislerinde, deterjan endüstrisinde, tekstil sektöründe, tıpta teşhis ve tedavi amacıyla kullanılmaktadırlar. Bitki hücre yapısı, çeşitli enzim preparatları ile parçalanabilir. Örneğin, selüloz bitki hücre duvarının selülozunu parçalamakta, pektinaz pektini monomerlerine ayırmakta, glikoizomeraz d-(+)glikoz u d-(+) fruktoza dönüştürmektedir.

2.5. Kimyasal Bozunma

Bir maddenin kimyasal yollarla başka bir maddeye dönüşmesi yada daha basit hallerine ayrışmasına denir. Dimetil formamid (dimethyl formamide) gibi güçlü kimyasal maddeler kullanılarak hücre çeperi, tüm içerikleri açığa çıkaracak şekilde parçalanabilir. Deterjanlar bazı durumlarda ekstrakte edilecek olan madde ile hücrenin çözünmeyen kısmı arasındaki moleküler ilişkiyi kırmak için kullanılır. Sodyum dodesil sülfat (sodium dodecyl sulphate) gibi iyonik deterjanlar, yüklü bir

hidrofilik yapıya sahiptir. Eğer ekstraksiyon yapılacak ise genellikle en çok HCl ve NaOH gibi asit ve bazların sulu çözeltileri tercih edilir.

2.6. Ekstraksiyon işlemleri sırasında alınacak önlemler

Ekstraksiyon işlemi sırasında bazı bileşikler ısının etkisiyle bozulabilir, diğer kimyasallar ve hücrelerde bulunan enzimlerle reaksiyona girebilir ve bunların minimize edilmesine özen gösterilmelidir. Suda çözüner bileşiklerin işlenmesinde, yapılar pH değişikliklerine duyarlı olduklarından spesifik tampon koşullarının korunması gerekir (Chemat ve ark., 2008). Proteinler ve enzimler söz konusu olduğunda, spesifik tampon sisteminin bir değişim olarak kullanılması gerekir, proteini bozabilir veya enzim aktivitesini kaybedebilir. Bitki dokularında bulunan polifenoller, çözünmeyen polivinil polipirrolidin (polyvinyl polypyrrolidine), çözülebilir polivinil pirolidin (polyvinyl pyrrolidine) ile kompleksleştirilerek veya fenol oksidazların (phenol oxidases) etkisini gidermek için güçlü indirgeyici ortamın muhafaza edilmesiyle etkisizleştirilebilirler. Yoğun köpükler üreten bitki malzemesinin çıkarılması sırasında, köpüklenmeyi kontrol etmek için DC-544 (Dow Corning) veya SAG-30 (Union Carbide) gibi uygun köpük önleyici maddelerin eklenmesi esastır.

2.7. Seçmeli Ekstraksiyon Teknikleri

Solventin bazik veya asidik hale getirilmesiyle modifikasyon, spesifik ekstraksiyon işlemlerini arttırır. Asitli su tercihen alkaloitleri çıkarır, oysa bazik yapıda su fenolik bileşikler için uygundur. Dolayısıyla, alkaloitlerin, aminlerin ve pirazinlerin, % 5 NaOH'nin veya % 5 KOH'nin ekstraksiyonu için % 5 HCl kullanılır, tercihen fenolikler ve laktonlar çıkarılır ve % 1 NaHCO₃, karboksilik asitlerin çıkarılması için kullanılır (Kaufmann ve ark., 2002). Metanol, kateşinler (catechins) için en iyi çözücü ve prosiyanidinler (procyanidins) için ise %70 aseton olabilir. Antosiyaninlerin (anthocyanins) çıkarılması durumunda, çözücünün hafif bir asiditesi, antosiyaninleri en stabil flavilyum formlarında tutar ve bu nedenle metanol içinde %0.1 HCl kullanılır. Antosiyaninlerin özütlenmesi için % 7 asetik asit veya %

3 trifloroasetik asit de kullanılır. Mineral asidin yüksek konsantrasyonda veya yüksek sıcaklıkta kullanılması, asil gruplarının hidrolizine yol açabilir.

2.8. Solvent ile Ekstraksiyon

Yırtılan hücreler, özütleme çözücüsünde homojenleştirilir ve karışım, çözücünün yırtılmış hücrelerin tüm parçalarına nüfuz etmesine izin vermek için bir süre (yarım saat ila 24 saat arası) tutulur. Ekstraksiyon işlemi sırasında göz önünde bulundurulması gereken başlıca faktörler, ekstrakte edilecek bileşiğin doğası, ideal bir çözücünün seçimi ve sıcaklığın etkisidir. İstenen bileşiğin tam ekstraksiyonunun herhangi bir ayrışma, izomerizasyon veya polimerizasyona uğramadan yapılmasını sağlayarak bir ekstraksiyon yöntemi benimsenmiştir (Kaufmann ve ark. 2002). Bu, ilgilenilen bileşiğin ve kullanılan çözücünün fizikokimyasal özellikleri hakkında detaylı bilgi gerektirir. Bileşiğin ışık, ısı ve özel çözücü içindeki kararlılığı ve bileşiğin polaritesi önemli belirleyici faktörlerdir. Ekstraksiyon, her adımda ekstrakte edilen çözücünün çıkarıldığı ve işlem tekrarlandığı bir toplu işlem veya ekstraksiyonun, Soxhlet ekstraksiyonu ve karşı akım ekstraksiyonu gibi olduğu döngüsel olarak tekrar ettiği, çok sayıda bir işlem olabilir.

2.9. İdeal Çözücü Seçimi

İdeal bir çözücü, diğer bileşenleri bırakarak istenen bileşiği çözer. Çözücü seçiminde benzer benzerde çözünür kuralını göz önünde bulundurmamız gerekmektedir. Polar maddeleri polar çözücüler çözerken, apolar maddeleri apolar çözücüler kullanarak çözmek gerekmektedir. Bunun yanında sadece çözmesi yetmez aynı zamanda elde etmek istediğimiz maddeye özel olmalı o maddenin yanında istenmeyen birçok maddeyi de çözmemesi gerekmektedir.

Özütleme işleminde de ideal bir çözücünün seçimi temel prensiptir. Solventler kutup indeks sırasına göre düzenlenebilir. Polarite endeksi, solventin çeşitli polar test solütleri ile etkileşim derecesinin göreceli bir ölçüsüdür. Çoğu organik moleküller, yağlar ve lipitler gibi polar olmayan bileşikler çıkarmak için polar olmayan çözücüler kullanılır. Sabit yağ, klorofil, steroidler, terpenoidler ve aglikonların ekstraksiyonu, hekzan kullanılarak gerçekleştirilebilir. Glikozitler,

şekerler, aminoasitler, proteinler ve polisakaritler gibi yüksek polar bileşiklerin çıkarılması, etanol ve su gibi polar çözücülerle yapılabilir. Flavonoidler söz konusu olduğunda, izoflavonlar, flavanonlar, metillenmiş flavonlar ve flavonoller gibi daha az polar olanlar, kloroform, diklorometan, dietil eter veya etil asetat gibi düşük polar çözücülerle ekstrakte edilir ve polar flavonoidler ve flavonoid glikozitler, alkoller veya aquous alkolü ile özütlenir. Genel olarak polar bileşiklerin ekstraksiyonu% 50 alkol veya% 100 su kullanılarak yapılabilir. Su ekstraktının ortak kromatografik teknikler kullanılarak işlenmesi zor olduğu için, su veya sulu etanolik ekstrakt daha ileri çalışmalar için kloroform, etil asetat veya bütanol ile ayrılır.

Çözücü düşük kaynama noktasına sahip olmalıdır, böylece yüksek sıcaklıklarda ekstrakte edilen bileşikler denatüre(denaturing) etmeden kolayca çıkarılabilir.

Bitki-kimyasında(phytochemistry) yaygın olarak kullanılan çözücülerin çoğu bir dereceye kadar toksiktir. Çözücülerin toksisitesi ve çözünürlük ve polarite gibi diğer özelliklerin olduğu bir fikre sahip olmak daha iyidir. Solventler, belirli nöral yolların ve sistemlerin fonksiyonlarına ya da yapılarına müdahale ederek nörotoksinler olarak görev yapabilir. Metanol görme, heksan ve toluen ise iştme ve denge sistemini etkiler; aromatikaminler ve hidrazin potansiyel olarak kanserojendir. Hafif bir maruz kalma bile tümörlere neden olabilir. Uçucu alkan çözücülerinin uzun süre solunması, kutupsal olmayan akciğer hücre yapılarını çözerek akciğerlere zarar verebilir. Bir çözücü için maruz kalınması durumunda bir sınır eşiği söz konusudur, ötesinde zararlı olabilir (McParland ve ark., 2002).

Çözücü	Polarite İndeksi	Kırılma İndeksi	Kaynama Noktası	Öz Gravite (20°C)
n-Pentan	0.0	1.358	36	
n-Hekzan	0.0	1.375	69	0.659
heptan	0.0	1.387	98	
Sikloheksan	0.2	1.426	81	0.779
Karbon tetraklorür	1.6	1.466	77	1.594
tolüen	2.4	1.496	111	0.867
Ksilen	2.5	1.500	139	0.860
Benzen	2.7	1.501	80	0.879
Dietil eter	2.8	1.353	35	0.714
diklorometan (Metilen klorür)	3.1	1.424	41	1.325

1,2- dikloroetan (Etilen klorür)	3.5	1.445	84	
izopropanol (2-Propanol)	3.9	1.380	82	0.785
n-Propanol	4	1.380	97	0.804
Tetrahidrofuran	4.0	1.407	65	0.887
n-Bütanol	3.9	1.399	125	0.810
Kloroform	4.1	1.443	61	1.486
Etil asetat	4.4	1.370	77	0.901
Aseton	5.1	1.359	56	0.791
Metanol	5.1	1.329	65	0.792
Etanol	5.2	1.361	78	
Piridin	5.3	1.510		0.982
Asetonitril	5.8	1.344	82	0.782
Asetik asit	6.2	1.372	118	1,049
Dimetil sülfoksit	7.2	1.477	189	1.101
Su	9.0	1.330	100	

Çizelge 3. Bitki-kimyasında (phytochemistry) kullanılan yaygın çözücülerin fiziksel özellikleri (McParland ve ark., 2002).

Bitki-kimyasında (phytochemistry) kullanılan bazı yaygın çözücülerin özellikleri aşağıda ayrıntı olarak verilecektir.

- **Hekzan**

Lipitler, yağlar, sabit yağlar, düşük polar steroidler ve terpenoidler gibi düşük polar bileşiklerin ekstraksiyonu için tercih edilen çözücüdür. Heksan (C_6H_{14}) kaynama noktası $69^\circ C$, çözünürlük özelliklerinde petrol eteriyle aynıdır. Petrol eteri, düşük sıcaklarda (kaynama noktası: $40-60^\circ C$), soğuk özütlemelerde ve yüksek sıcaklarda (kaynama noktası: $60-80^\circ C$), sıcak özütlerde geliştirme amaçlarında kullanılır. Karbonhidratlar, asitler ve proteinler gibi yüksek polar bileşikler, petrol eterinde çözünmez.

- **Benzen**

Benzen en basit aromatik moleküllerden biridir. Sikloalkenlerden halkasının içinde serbest dolaşan 6 pi elektronu vardır. Çok yanıcı ve oral yolla alındığında toksik etkilidir. Benzene uzun süre maruz kalmak lösemiye neden olur. Benzen için önerilen limit 10 ppm'dir. Eğer kokusunu alabilseydik atmosferde en az 75 ppm benzen olması gerekirdi. Halka içerisinde rezonans yapı oluşturan 3 pi bağı benzeni güçlü bir nükleofil yapar.

- **Diklorometan**

Diklorometan (DCM) tek bir toksik etkiye sahiptir çünkü karbon monoksit için metabolize edilir. Bunun dışında genel anlamda düşük toksisiteye ve kaydadeğer ölçüde reaksiyon inertliğine sahiptir. Polikarbonat üretiminde yaygın olarak kullanımının yanı sıra ilaç sanayiinde bazı antibiyotiklerin üretimi sırasında reaksiyon ortamı olarak kullanılmaktadır.

- **Kloroform**

Çözünürlük heksanıninkine benzerdir, ancak orta derecede polar bileşikler kloroform içinde çözülür. Özellikle çözücünün pH değerini değiştirdikten sonra alkaloitlerin ekstraksiyonu için tercih edilen çözücüdür. Kloroform hayvanlarda toksik ve kanserojendir ve ayrıca üreme tehlikelerine neden olabilir. Fosjene metabolize edildiği için hepatotoksiktir. Kloroform, CCl₄'ten daha az toksiktir.

- **Etil asetat**

Birçok insan için hoş kokulu olduğu düşünülen etilasetatın güçlü bir kokusu vardır, diğer organik çözücülere kıyasla düşük toksisiteye sahiptir. Ençok boya ve yapıştırıcı sanayii olmak üzere birçok üretimlerde ana ya da yardımcı hammadde olarak kullanılmaktadır. Sistematik adıyla etil etanoat renksiz berrak ve iyi bir çözücüdür.

- **Metanol**

Son derece polar polisakaritler ve proteinler dışında, düşük polar ve orta polar ve polar bileşiklerin çoğu metanolde çözünür. Metanol, alkol dehidrojenaz ve aldehit dehidrojenaz ile toksik formaldehit ve asetik aside metabolize edilebilir. 15 ml kadar küçük bir metanol körlüğe neden olabilir ve 70-100 ml insanlar için ölümcül olabilir. Etanolün oksidasyon hızı, metanolün 7 katıdır ve etanol üzerinde daha fazlası, metanole kampan edilen alkol dehidrojenaz için 100 kat daha fazla afiniteye sahip olduğundan, metanol zehirlenmesi riskini azaltmak için verilir.

- **Etanol**

Metanol toksik olduğu için gıda sınıfı izolatların ekstraksiyonu için tercih edilen çözücüdür. Taze bir bitki numunesinin etanol ekstresinde, ilk ekstraktın

dökülmesinden sonra, taze etanol ile ikinci bir ekstraksiyon şaşırtıcı bir şekilde ekstraktın ilk ekstraksiyondaki ile aynı veya daha fazla miktarını verir. Bunun nedeni, ilk ekstraksiyon sırasında, etanolün taze bitki dokusunda mevcut suyla seyreltilmesi, yaklaşık% 40 su içeren sulu bir etanol çözeltisi elde edilmesidir, oysa daha az polar oluşumlar ikinci ekstraksiyonda daha kolay çözünürdür.

- **Su**

Şekerler, polisakaritler, glikozitler, aminoasitler, proteinler ve enzimler gibi polar bileşiklerin izolasyonu için tercih edilen çözücüdür. Geleneksel bitkisel ilaçların çoğu sulu özlerdir. Suyun kimyasal olarak değiştirilmesi, bazı durumlarda asitlenmiş suyun kullanıldığı alkaloitlerin çıkarılması ve bazı fenoliklerin çıkarılması durumunda bazik su gibi esastır. Metanolün bir su ekstraktına eklenmesi, proteinlerin ve polisakaritlerin çoğunu çözer.

2.10. Ekstraksiyon işlem çeşitleri

Uygulanan ısıya dayanarak, ekstraksiyon işlemi sıcak ve soğuk ekstraksiyonlara sınıflandırılabilir. Malzemenin fiziksel durumuna bağlı olarak, ekstraksiyon işlemi katı sıvı ekstraksiyonu ve sıvı sıvı ekstraksiyonu olarak sınıflandırılabilir.

Burada ekstraksiyon işlemi oda sıcaklığında yapılır. Sızdırma, maserasyon(maceration) ve süper sıvı ekstraksiyonu, soğuk ekstraksiyon tekniklerine örnektir. Isıyla kararsız bileşikler için tavsiye edilir.

Sıcak ekstraksiyonda, sisteme sıcaklık uygulandığından ekstraksiyonun derecesi daha yüksektir. Sindirim, yansıma ve buhar damıtma, sıcak ekstraksiyonlar için örneklerdir. Sıcak ekstraksiyonun dezavantajı, yüksek sıcaklıklarda uçucu bileşenlerin kaçabileceği veya polimerizasyonun gerçekleşebileceği ve alkaloitlerin ve proteinlerin çoğunun ısıtma sırasında ayrışmasıdır.

Su banyosu sıcaklığı : 98-100 °C

Sıcak su : 70-80 °C

Ilık su	: 40-50 °C
Soğuk su	: 2-10 °C
Buz banyosu	: 2°C Dereceden düşük

Sıvılardan ekstraksiyon, başlangıç malzemesi sıvı formdayken, sıvı form ve çözücü arasındaki dağılım katsayısının kayda değer olduğu durumlarda ayırma yöntemi uygulanabilir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu için bir örnektir(Huddleston ve ark., 1998).

Katılardan ekstraksiyon, toz halindeki bitki materyalinin durdurulmuş bir kap içine alındığı ve çözülebilir kısımların çözücü içinde çözülene kadar çözücüyle belirli bir süre boyunca ıslatıldığı en basit özütleme yöntemidir. Soğuk çıkarma işlemine bir örnektir(Hawthorne ve ark., 2000).

Süzülme, bitki materyali pamukla tıkalı veya bir filtre ve bir vana (stopcock) ile donatılmış bir süzme tüpünde (koni şeklinde veya silindirik bir kap) alınır. Aşağıdaki durdurucuyu kapattıktan sonra bitki malzemesine çözücü ilave edilir ve bitki malzemesinin paslanmasına izin verilir. Bütün sistem bir süre oda sıcaklığında tutulur ve çıkarılan malzeme ile birlikte çözücü, durdurucu aşağıda açılarak toplanır. İşlem, buharlaştırıldığında çözücünden percolatörden(percolator) bir damla bir kalıntı bırakmayana kadar tekrarlanır.

Sindirim işlemi sırasında yumuşak ısı (40-60°C) uygulandığı bir türleşme şeklidir. Orta derecede yüksek sıcaklık sakıncalı olmadığında kullanılır. İşlem, malzemeyi çözücü ile manyetik karıştırıcı, mekanik karıştırıcı kullanarak karıştırmak veya zaman zaman el ile sallamak suretiyle değiştirilebilir. 8 ila 12 saat sonra, özüt süzülür ve taze çözücü ilave edilir ve istenen bütün çözücüler çıkarılıncaya kadar işlem tekrarlanır.

Demleme, bitki materyali kısa bir süre boyunca soğuk veya kaynar su ile yumuşatılır. En çok bilinen çayın demlenmesi halidir.

Kaynatma, burada bitki materyali su içinde kaynatılır, soğutulur ve süzülür. Bu prosedür, suda çözünür ve ısıya dayanıklı bileşenleri çıkarmak için uygundur.

Kaynayan çözücüler ile ekstre etme (Geri akış), bu sıcak ekstraksiyon işleminde, malzeme kaynar çözücü ile muamele edilir. Solvent buharı, tercihen yuvarlak tabanlı bir şişe olan kabın üstüne yerleştirilmiş bir kondansatör tarafından geri dönüştürülür.

Tentür, alkoldeki bitki materyalinin özüdür. Genellikle bitki materyali (taze) ve etil alkol 1: 5 oranında alınır. Alkol içeriği nedeniyle, tentürler, ayrıştırılmadan oda sıcaklığında saklanabilir.

2.11. Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu (PLE)

Bu metot ayrıca, hızlandırılmış solvent çıkarma sistemi (accelerated solvent extraction) veya geliştirilmiş solvent ekstraksiyon sistemi (enhanced solvent extraction) olarak da bilinir. Yöntem, artan sıcaklığın çözücünün difüzyonunu artırarak ekstraksiyon işlemini hızlandırdığı yüksek basınç ve sıcaklık kullanır, oysa artan basınç organik çözücüye kaynamadan sıvı halde tutar ve ayrıca çözücüye matris gözeneklerine girmeye zorlar. Enstrümantasyon seçenekleri inert bir atmosferde ve ışıktan korunma altında çalışma imkanı sağlar. Daha az zamanda daha az çözücü ile daha verimli ekstraksiyon yapılması bu işlemin avantajlarıdır.

2.12. Soxhlet Ekstraksiyonu

Bir Alman zirai kimyager olan “Franz Ritter von Soxhlet” adına ithaf edilen tarafından soxhlet ekstraksiyonu; bir katının sıcak bir çözücü ile ekstraksiyonu için en iyi yöntemlerden biridir. Soxhlet aparatı, çoğunlukla organik çözücü ekstraksiyonları için kullanılan özel bir cam geri akış ünitesidir. Toz haline getirilmiş katı malzeme filtre kağıdından yapılmış bir yüksük içine yerleştirilir ve soxhlet aparatının içine yerleştirilir. Cihaz, çözücüye içeren yuvarlak tabanlı bir şişeye ve bir refleks yoğunlaştırıcısına yerleştirilir. Yuvarlak tabanlı şişedeki çözücü hafifçe kaynatılır, buhar, yan borudan geçer, kondansatör tarafından yoğunlaştırılır ve malzemeyi içeren yüksük içine düşer ve yavaşça soxhlet'i doldurur. Çözücü ekli tüpün tepesine ulaştığında, şişeye sifonlar, böylece çıkardığı maddenin kısmını uzaklaştırır ve işlem tekrarlanır. Soxhlet'in kapasitesi sifonlaşma hacmi cinsinden 100 ml, 200 ml, 1 L vs. olarak ifade edilir (James ve ark., 2014)

2.13. Enfluerage

Bu teknik, bazı kokulardaki gibi narin kokuların çıkarılması için kullanılır. Çiçek yaprakları, çiçeklerin kokusunu toplayan bir rafine yağ tabakası üzerine yayılır ve doymuş yağ, genellikle kokulu bileşenlerin çözülebildiği alkol olan bir çözücü ile muamele edilir. Alkolde çözünen artık yağ, yağ ayrıldığında alkol ekstraktının 20 °C'ye soğutulmasıyla giderilebilir. Uçucu bileşenler daha sonra bir rotavaporda çözeltiyi indirgenmiş basınçta konsantre ederek alkolden geri kazanılır.

2.14. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)

Kritik nokta, farklı sıvı ve gaz fazlarının bulunmadığı, ancak homojen bir süper kritik akışkan durumunun mevcut olduğu koşulları belirtir. Bir maddenin artık sıvı olarak var olamayacağı sıcaklığa, ne kadar basınç uygulandığına bakılmaksızın kritik sıcaklık denir ve sıcaklığın ne kadar yüksek olduğuna bakılmaksızın maddenin artık bir gaz olarak var olamayacağı basınca kritik basınç denir. Süperkritik akışkanlar, kritik sıcaklığın üzerinde ısıtılarak ve kritik basıncın üzerinde sıkıştırılarak elde edilir. Süper kritik bir akışkan, bir gazın yanı sıra bir sıvının özelliklerine de sahiptir. Sıvılara kıyasla daha düşük viskoziteler ve süper kritik akışkanların difüzyon hızları, ekstraksiyon işlemini artırır. Malzemeye basınç altındaki gaz gibi nüfuz eder ve sıvı olarak kullanılabilir. En sık kullanılan süperkritik akışkan CO₂'dir. Etilen, etan, propilen, propan ve azot oksit gibi diğer gazlar da kullanılabilir. Süperkritik akışkan durumunda, hem sıcaklık hem de basınç kritik noktaya eşittir. CO₂ nispeten düşük bir kritik sıcaklığa (31.1°C) ve basınca (73.8bar) sahiptir. Yanıcı değildir, kimyasal olarak inert, kokusuzdur, atılması kolaydır ve yüksek saflıkta bulunur ve geri dönüştürülebilir. Ekstraksiyon CO₂ ile çok düşük bir sıcaklıkta gerçekleştirilebilir (Akshay ve ark., 2015). Bu teknik sanayide kahvenin kafeini giderilmesi ve nikotinin tütünden uzaklaştırılması için kullanılmaktadır. Metanol gibi polar bir çözücünün eklenmesi gibi bazı modifikasyonlar ile Yew ağacından taksol ve bakatinin çıkarılması için çözücü özütlemesinden daha etkili bir yöntemdir. Diğer uygulamalar, hassas aroma ve parfüm kimyasallarının çıkarılmasını içerir. Bu işlemde en büyük avantaj, damıtma ve çözücü özütlemesine kıyasla termal bozulma riskini önleyen yumuşak koşulların uygulanmasıdır.

2.15.Ultrasonik Ekstraksiyon

Burada bitki-kimyasallar, bitki dokularından hücre duvarına zarar veren yüksek frekanslı ses ile serbest bırakılır. Ultrason destekli özütleme, heksan gibi karışmayan çözücülerin metanol / su ile karışımları ile kullanılabilir. İşlem, ısıya kararsız bileşiklerin ayrışması için ısı yaratır. Bu gibi durumlarda, boşaltım kabı sıcaklığı azaltmak için buz banyosuna yerleştirilir. Yöntem, proteinler veya DNA gibi büyük moleküllerin izolasyonu için uygun değildir(Hanen ve ark., 2012)

2.16.Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Mikrodalgalar, 0,3 ila 300 GHz frekans aralığında elektromanyetik radyasyonlardır ve ev tipi mikrodalgalar, radyo iletişimde parazitlenmeyi önlemek için genellikle 2,45 GHz'de çalışır. Solvent içerisinde süspanse edilmiş numuneye mikrodalga enerjisi uygulanır, bu işlem çok fazla ısı oluşturduğundan kısa süreli soğutma süreleriyle birlikte yapılmalıdır. Elektromanyetik radyasyonun elektrik alanı, substratların dipolar rotasyon ve iyonik iletim yoluyla ısınmasına neden olur. Çözücünün dielektrik sabitinde bir artışla, ısıtma da artar. Ekstrenin verimi Soxhlet ekstraksiyonuyla karşılaştırılabilir, ancak Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon çok daha kısa sürede gerçekleşmekte ve tüm numuneyi aynı anda ısıtmaktadır (Vivekananda ve ark., 2007). Mikrovazlar zayıf hidrojen bağlarını bozar ve bazı durumlarda matris, mikrodalgalarla etkileşime girer, düşük dielektrik sabiti olan çözücü soğuk kalır, bu nedenle termobil bileşiklerin ekstraksiyonunu kolaylaştırır. Dolayısıyla çözücü buhar detektörleri ve ev tipi mikrodalga fırınlarının laboratuvar amaçlı kullanılması tavsiye edilmez.

2.17.Katı Faz Ekstraksiyonu (SPE)

Bu. teknik, çözünen moleküllerin durağan faz üzerine tercihen bağlı olduğu çeşitli sorventlere sahip farklı tipte kartuş ve diskler kullanan hızlı, ekonomik ve hassas bir tekniktir. Numune hazırlama ve konsantrasyon tek bir adımda elde edilebilir. Nomal faz, ters faz ve iyon değişimli katı faz ekstraksiyon birimleri mevcuttur(Liska, 2000). Isıtma banyosu sıcaklığının, çözücünün kaynama noktasından 20-30°C daha yüksek olması tavsiye edilir. Genellikle, çözücü kaynama noktası 80°C'nin altına düşerse,

özüt bir su banyosunda konsantre edilir. Diğer taraftan daha yüksek kaynama çözücülerinde bir ısıtma gömleği, kum banyosu veya sıcak plaka kullanılır.

2.18. Katı Faz Mikro-ekstraksiyon(SPME)

Doksanlı yılların başında geliştirilen bu örnekleme tekniği, ekstraksiyon için herhangi bir çözücü gerektirmez ve adsorban liflere dayanır. Katı Faz mikroekstraksiyon(SPME),Gaz Kromatografi(GC) veya Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile birleştirilebilir. Yerinde örnekleme SPME ile yapılabilir ve uygun şekilde depolanmış örnekler günler sonra analiz edilebilir. Bu teknik özellikle uçucu maddeler için faydalıdır (Centini ve ark., 1996). Gaz kromatografi cihazında kullanılan SPME fiberlerine örnekleri Şekil 1. de gösterilmektedir.



Şekil 1. GC-MS' te kullanılan SPME fiberleri.

2.19.Sıralı ve seçici ekstraksiyon

Ardışık özütlemelerde özütleme, aynı bitki materyali üzerinde art arda çözücünün polaritesi sırasına göre gerçekleştirilir. Aynı zamanda art arda

ekstraksiyon olarak da bilinir. Seçmeli ekstraksiyonda ekstraksiyon için özel bir solvent kullanılır ve ekstraksiyon bittiğinde, diğer solventlerle daha fazla ekstraksiyon için taze bitki materyali kullanılır.

2.20. Dondurularak Kurutma (Liyofilizasyon)

Proteinler, antibiyotikler ve enzimler gibi termo kararsız varlıklar içeren su ekstraktını konsantre etmek için dondurarak kurutma yöntemi kullanılır. Burada ilke olarak sulu çözelti dondurulur ve buz, kuru bir tortu bırakmak üzere süblimleştirilir. İşlem üç adımdan oluşmaktadır. İlk adımda, malzeme üçlü noktasının altına soğutulur ve sıcaklık genellikle -50 ila -80°C aralığındadır. Maddedeki suyun yaklaşık % 95'inin süblime edildiği birincil kurutma aşamasında, basınç birkaç milibar'a düşürülür. Süblimasyonlu su buharı soğuk bir yüzeyde (tipik olarak -50°C) yoğunlaştırılır. İkincil kurutma fazı, donmuş malzemeye bağlı kalan su moleküllerini çıkarmayı ve su moleküllerinin bağlantılarını kırmak için sıcaklık birincil kurutma fazından (0°C 'nin üstünde) daha yüksek bir sıcaklıkta yükseltmeyi amaçlar ve bu sırada basınç hala düşürülür. Buharlaşma enerjisi malzemeden alınır ve bu nedenle malzemenin oda sıcaklığına maruz kalmasına rağmen, tüm nem numuneden çıkıncaya kadar donmuş halde kalır. Tüm su numuneden uzaklaştırıldığında, çevre atmosfer sıcaklığına ulaşır. Bu, su arıtmanın tamamlandığının bir göstergesidir. İşlemin sonunda, üründeki nihai kalıntı su içeriği % 0.5 civarında, son derece düşüktür (Kunal ve ark., 2015).

2.21. Çağdaş ve Geleneksel Ekstraksiyon Yöntemleri

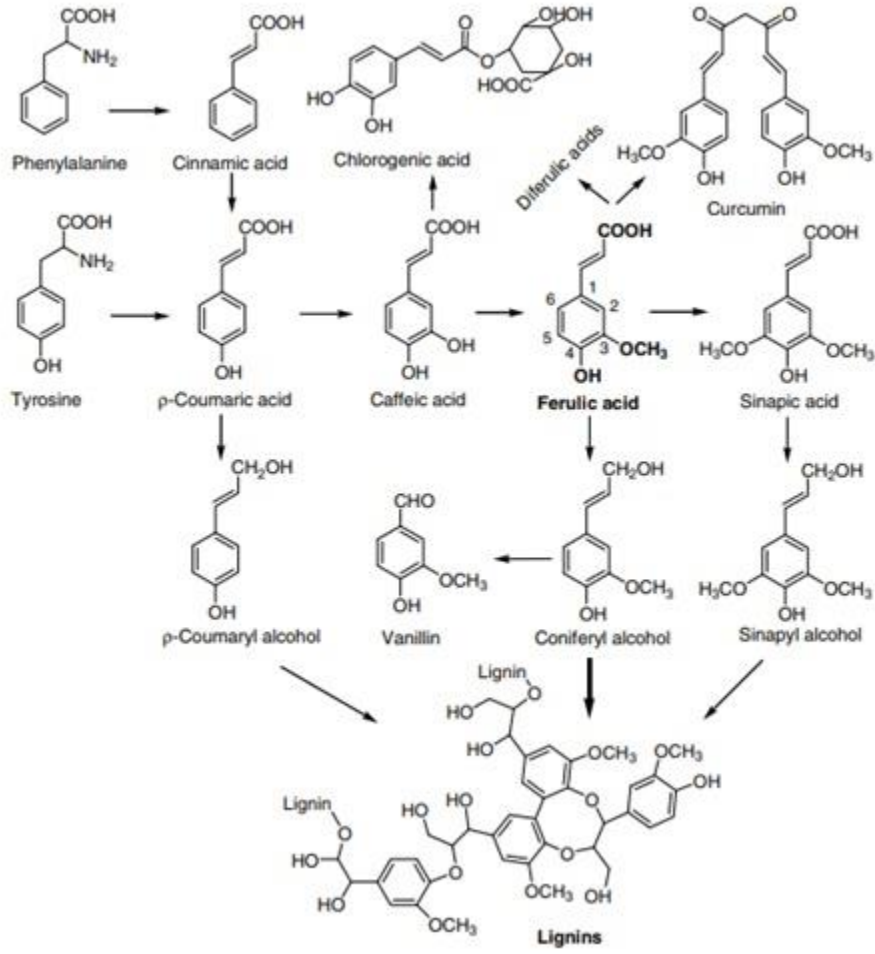
Geleneksel tıbbi uygulamalarda ve günlük aktivitelerde ekstraksiyon teknikleri çok etkili bir şekilde kullanılmıştır. Çayın hazırlanması, aktif bileşenlerin çıkarılması için sıcak suyun kullanıldığı en iyi örnektir. Bitkisel boyaların asırlık ekstraksiyon işlemi de ortam olarak su kullanır. Su, süt, yağ ve alkoldeki aurvedik ekstraksiyonlar geleneksel olarak kullanılan ekstraksiyon tekniklerinin diğer örnekleridir. Geleneksel özütleme yöntemlerinde, çoğunlukla kaynaşmalar organik çözücü özütler yerine baskındır. Bu nedenle, organik çözücüler kullanarak geleneksel bitkisel preparatların farmakolojik taraması, doğru çıkarımı gösterebilir. Süt, su içinde bir yağ emülsiyonudur. Lipofilik, kutupsal olmayan bileşenler yağda

ekstrakte edilirken, su kutupsal bileşenleri çıkarır. Artık alkol içeren alkol özütleri tentür olarak bilinir. Alkol hem iyonik hem de organik bileşikleri çözer. Eski ayurveda uzmanları, aktif bileşenin tam dozunu almak için çözücüyü modifiye etmede iyi bir tecrübeye sahipti. Örneğin, plumbagin *Plumbago roscae* rizomlarının aktif bileşenidir. Bitkide bulunan konsantrasyonda, insanlar için toksiktir, ancak suda inek idrarı veya kireç kullanılarak modifiye edilmiş ekstraksiyon işlemi, plumbagin optimum seviyede ekstrakte edilir.

Ekstraktı depoda olumsuz etkileyen faktörler nem, sıcaklık, ışık, oksijen varlığı ve miko organizmalarıdır. Organik çözücü özütleme işleminin herhangi bir aşamasında suyun kirlendiğinden şüpheleniliyorsa, susuz sodyum sülfat, kalsiyum klorür, P_2O_5 , $CuSO_4$, K_2CO_3 , Sodyum, CaO, $MgSO_4$, Moleküler elekler (0,3 mm, 0,4 mm) gibi uygun bir kurutma maddesi su izlerini gidermek için kullanılmalıdır. Su içeren ekstrelerde mantar gelişimini önlemek için birkaç damla toluen eklenebilir. Ekstraktın dururken koyulaşması bazen fenolik maddelerin bitki dokusunda bulunan polifenol oksidazlar tarafından oksidasyonu nedeniyle oluşur. Ekstraktın N_2 atmosferde tutulması, bir dereceye kadar ayrışmayı önler ve sistein (% 1, pH7) gibi bir indirgeyici madde ilavesinin bir dereceye kadar kararmayı kontrol eder. Depolama sırasında herhangi bir bileşiğin ayrışmasını önlemek için, ekstre bir buzdolabında veya derin dondurucuda saklanabilir veya hava geçirmez şekilde kapatılabilir.

2.22. Kaynak Araştırması

Doğada ferulik asit, hücre duvarı polisakaritlerine, yani özellikle hücre duvarı pektinlerine (Fry, 1982), hemiselülozlara ve tahıl pençelerine kovalent olarak bağlı esterler olarak bulunur. Şeker pancarı ve ıspanak pektinleri, rahmogalakturonan omurgası ve bağlantılı feruloil gruplarına sahip nötr şeker yan zincirlerinden oluşan heteropolisakaritlerdir (Voragen ve ark., 1994). Turunçgillerde, ferulik asit yalnızca oligosakaritlere bağlanır. Genellikle şekerlemelerde kullanılan narenciye ve elmalı pektinler herhangi bir ferulik asit içermez (Maga ve ark., 1992).



Şekil 2. Bitkilerde ferulik asit ve ilgili bileşiklerin kimyasal yapısı ve sentezi(Moghadasian ve ark., 2008)

Çeşitli bitki kaynaklarından gelen hemiselülozlar ayrıca küçük bir fenolik bileşen olarak ferulik asit içerir. Ferulik asit, $C_{10}H_{10}O_4$ kimyasal formülü ile bitki kökenli fenolik bir bileşiktir. Ferulik asit, bitkilerde en bol bulunan hidroksisinamik asittir. Toplam elyafa ait tahıl pentozanın kimyasal yapısı, ksilopiranoz ünitelerinin doğrusal zinciri ve L-aminoburanf kalıntılarının yan zincirleri ile karakterizedir (Pus-Sayawın ve Wetzel 1987). Bu polisakaritler durumunda, ferulik asit yan zincirlerin uçlarına kovalent olarak bağlanır.

Feruloil gruplarının varlığı, hücre duvarı polisakaritlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerini etkiler. Ferulik asit, hücre duvarı polimerlerini çapraz bağlamaya yarayan ve hücre duvarı ağ benzeri ağına katkıda bulunan oksidatif bağlanma yoluyla dimerler (Saulnier ve ark., 1999) oluşturabilir (Liyama ve ark., 1994). Bu fenomen, bitki hücre duvarının üç boyutlu yapısının oluşumunda rol oynar (Ralph ve ark., 1994).

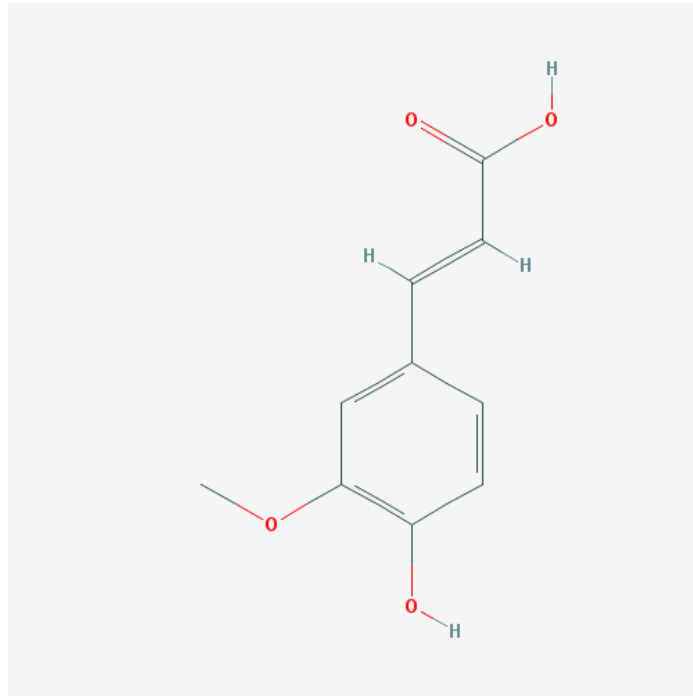
Tahıl pentozanın oksidatif jelleşmesinin, buğday ve çavdar unlarının ekmek yapım özellikleri ile ilgili olarak büyük önemi olduğu bildirilmiştir (İzydorczyk ve Biliaderis, 1995; Vinkx ve Delcour, 1996). Hamur karıştırması sırasında gerçekleşen oksidatif jelatinleşme, bu polisakaritlerin, un bileşenleri olarak feruloil birleştirme ile çapraz bağlanmasına yol açar. Bu işlem, hamurun reolojik özelliklerine katkıda bulunur. Ferulik asidin doymamış karbon-karbon bağları ayrıca proteinlerin tiyol gruplarıyla reaksiyona girer ve polisakaritler ve proteinler arasında moleküller arası bir çapraz bağ oluşturur (Smith ve Hartley, 1983).

Şeker pancarı pektini, elma veya turunçgil pektinlerine kıyasla zayıf jelleşme özelliklerine sahiptir. Oksitleyici ajanların varlığında, şeker pancarı pektinden iyi kalitede jel oluşur (Voragen ve ark., 1986). İki ferulik asit tortusu, şeker pancarı pektinlerinden jel elde etmenin üçüncü yolu olan bir dimer oluşturmak üzere reaksiyona birleştirilir (Vo-Ragen ve ark., 1994).

Trans-ferulik asit, bitki hücresi duvarlarında bulunan oldukça bol miktarda fenolik bir fitokimyasal maddedir. *Trans*-ferulik asit, ince bağırsak tarafından absorbe edilebilen ve idrar yoluyla atılabilen bir fenolik asittir. Bitkilerdeki en bol fenolik asitlerden biridir; buğday kepeğinde 5 g / Kg'den şeker pancarı hamurunda 9 g / kg'a ve mısır tanesinde 50 g / kg'a kadar bulunur. Özellikle tohumlarda ve yapraklarda hem serbest haliyle (nadiren) hem de lignin ve diğer biyopolimerlerle kovalent bağlarla oluşur. Genellikle çimdeki arabinoksilanlar, ıspanak ve şeker pancarda pektin ve bambu içindeki ksiloglukanlar gibi hücre duvarında polisakaritler ile ester çapraz bağlar olarak bulunur. Aynı zamanda proteinlerle çapraz bağlanabilir. Curcumin ve ferulik asit ile gıda takviyesi, alzheimer hastalığında oksidatif hasarı ve amiloid patolojiyi azaltmak için beslenme yaklaşımı olarak düşünülmüştür. (Calabrese ve ark., 2006). Ayrıca deneysel araştırma çalışmalarında umut verici hastalık önleme ve sağlıkla ilgili yararlar sergileyen pirinç kepeklerinden elde edilen fitotür maddeler incelenmiştir. İnositol ve ilgili bileşikler, inositol heksafosfat (IP6 veya fitat), pirinç yağı, ferulik asit, gamma-oryzanol, bitki steroller, tokotriyoller ve yeni pirinç kepek türevi bir ürün olan RICEO dahil olmak üzere araştırılan aday ürünlerdir. Önleyici ve / veya nutrasötik etkilerin tespit edildiği hastalıklar şunlardır: kanser, hiperlipidemi, yağlı karaciğer, hiperkalsiüri, böbrek taşları ve kalp

rahatsızlığı. Buna ek olarak, pirinç kepekli ürünler, fonksiyonel gıdalardaki faydaları bağlamında besleyici içerik olarak potansiyel uygulamalara sahip olabilirler. (Jariwalla ve ark.,2001).

Bununla birlikte ferulik asit, vücutta serbest radikalleri etkin bir şekilde temizler ve bazı ülkelerde gıdada kullanılan yağların oksidasyonunu önlemek için gıda katkı maddesi olarak onaylanmıştır (Srinivasan ve ark., 2007).



Şekil 3. Ferulik asit'in kimyasal yapısı

Şeker pancarı hamurundan ferulik asit çıkarımı, üç özütleme çözücüsü, sodyum hidroksit (0.5, 1, 2 M), metanol ve bunların karışımından (alkalin metanolik çözücü) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Her çözücü tarafından ekstrakte edilen ferulik asit, HPLC yöntemi ile tanımlanıp miktar tespit edilmiş ayrıca çözücü türü, konsantrasyon ve reaksiyon süresinin ferulik asit çözünürlüğü üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

Deney koşullarında ekstrakte edilen ürünlerin içeriğinde en yüksek konsantrasyonlar (957.4 mg / L ferulik asit), en yüksek 2 M NaOH konsantrasyonu ve 12 saat reaksiyon süresi kullanılarak elde edilmiş, en az miktarda ferulik asit metanolik özütten elde edilmiş (Aarabi ve ark.,2015).

Ferulik asit içeriği, ters fazlı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ve UV / VIS-spektroskopi ile belirlenebilir. Feruloil grupları taşıyan pektin asit ekstraktları analiz için hazırlandı. Ferulik asidin pektinden salınması için alkali ortamda hidroliz (pH 12,5) gerçekleştirildi. PH değeri 10'a ayarlandıktan sonra, hem hidrolize edilmemiş hem de hidrolize edilmiş ekstraktlar UV / VIS-spektroskopi ile ölçülmüştür. En fazla absorbands, hidrolize edilmemiş çözeltiler için 372 nm'de (ferulik asit esteri) ve hidrolize edilmiş çözeltiler 345 nm'de (sodyum feratat). Ferulik asitin HPLC ölçümü, sadece hidrolize çözeltilerde yapılmıştır. Şeker pancarı posasındaki ferulik asit içeriği % 0,3-0,9 (m / m) aralığındadır.

Belirli yöntemlerin bir takım örneklere uygulanmasıyla elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Tüm yöntemlerin sonuçları birbirleriyle uyum içindedir (Jankovska ve ark., 2001).

Lignoselülozik hammaddeler enzimatik hidroliz başlamadan önce genellikle fizikokimyasal ön işleme tabi tutulmalıdır. En uygun ön işlem, farklı hammaddeler için aynı olmayabilir ve biyokütle tahribine veya toksik ürünlerin oluşumuna neden olmamalıdır.

Farklı sıcaklıklar altında hafif sülfürik asit veya su ön arıtmasının şeker pancarı posasının enzimatik parçalanabilirliği üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Suda 140 ° C'de en uygun ön arıtmanın, başta pektinler olmak üzere mevcut toplam karbohidratların w / w'sini % 60 oranında çözüdüğü bulunmuştur. Daha şiddetli muameleler, çözünür şekerlerin tahrip edilmesine ve ardından şeker bozunma ürünlerinin furfural, hidroksimetilfurfural, asetik asit ve formik asidin üretilmesine yol açmıştır. Ön muamele edilmiş numuneler, deneysel bir selüloz preparatı ile enzimatik olarak başarıyla parçalanmıştır (Kühnel ve ark., 2011).

Şeker pancarı hamuruna *Aspergillus niger* I-1472, feruloil esterases da dahil olmak üzere hücre duvarı polisakaridi parçalayıcı enzimler üretmek için yetiştirildi. Daha önce ferulik asitin serbest bırakılması için kullanılan ticari olarak elde edilmiş karışımlarda ölçülen enzimatik aktivitelerle karşılaştırıldığında, *A. niger* enzimleri daha çeşitli idi. Bu enzimler şeker pancarı küspesinden, mısır kepeklerinden veya

otoklavlanmış mısır kepeklerinden ferulik asit salınması için test edildi. Şeker pancarı hamurundan ferulik asidi serbest bırakmak için ticari karışım kadar etkili idi. Öte yandan, ferulik asit esterinin% 95'i çözünür hale getirildiğinden, ön muamele otoklavından sonra mısır kepeklerinden ferulik asidi serbest bırakmakta daha verimli davrandılar. Böylece, *A. niger* enzimleri, çeşitli tarımsal endüstriyel yan ürünlerden ferulik asit salımına yüksek etki ettiği görüldü (Bonnin ve ark., 2001).

Şeker pancarı hamurundan türetilen ferulik asit, doğal vanilinin üretilmesi için biyoteknolojik iki aşamalı bir proste kullanıldı. Bu işlem, şeker pancarı küspesi ferulik asidin biyo-dönüşümünü bir mikrometre *Aspergillus niger* ve vanilyaya dönüştürülen vanilin'in bir basidiomycetes, *Pycnopus cinnabarinus* tarafından biyotransformasyonu ile vanilik aside birleştirdi. Sistem 100 mg / litreden fazla doğal vanilini üretmiştir. Bu doğal vanilin duyu analizi sonucu baskın bir vanilin aroması ve hafif bir çikolata kokusu algılanmıştır (Meessen ve ark., 1999).

Penicillium chrysogenum mikroorganizmasının şeker pancarı küspesinden ferulik asit salınımını yükselttiği tespit edildi. Bununla muamele edilen şeker pancarı küspesindeki ferulik asitin %85' inin alkali ekstraksiyonla alınabildiği görülmüştür (Sakamoto ve ark., 2004).

Ek olarak, ferulik asit ve türevleri bazı gıda dışı uygulamalara sahiptir. Örneğin, tokoferil ferlat ve ferulik asidin C1-C30 esterleri, antioksidan, antibakteriyel, antikanser ve antihepatotoksik etkilerinden dolayı kozmetik ve farmakolojide kullanılır (Schoenrock ve ark., 1997; Crotty ve ark.,1998). Bu bileşikler genellikle kimyasal sentez ile hazırlanır.

Değirmencilik endüstrisi, tam potansiyelinden yararlanılmayan büyük miktarda yan ürün üretmektedir (Ruthes ve ark., 2017) .Tüm yan ürünler için, buğday kepeği en önemlisidir (Pruckler ve ark., 2014). Buğday kepeği, buğday unu üretmek için buğday tanesinin haddehanesinden elde edilen bir yan üründür (Apprich ve ark., 2014). Bu malzeme tane ağırlığının yaklaşık% 25'ini temsil eder. Değirmencilik endüstrisi yılda yaklaşık 150 milyon ton buğday kepeği üretmektedir (Pruckler ve ark., 2014). Geleneksel olarak, hayvan yemi olarak kullanılır (Apprich ve ark., 2014). Bu yan ürünün sadece küçük miktarları, gıda endüstrisi için ticari

kepek olarak satılmaktadır. Günümüzde buğday unu endüstrisi, buğday kepeği için yeni katma değerli uygulamalar bulmayı amaçlamaktadır (Pruckler ve ark., 2014).

Buğday kepeğinin ana bileşenleri diyet lifi, protein, nişasta, su ve minerallerdir (Apprich ve ark., 2014). Küçük bileşenler arasında fenolik bileşikler, flavonoidler, liganlar ve fitik asit bulunur. Fenolik asitler, buğdayda en sık görülen fenolik bileşiklerdir. Bunlar ya hidrokisisinamik (p-kumarik, kafeik, ferulik ve sinapik asitler) veya hidroksibenzoik (p-hidroksibenzoik, protokatekuik, vannilik, şırıngaik ve gallik asitler) asitten türetilir (Wang ve ark., 2013). Ferulik asit (4-hidroksi-3-metoksisisinamik asit), buğday kepeğinde bulunan ve yaklaşık 20-1500 mg / 100 g konsantrasyona sahip en yaygın fenolik asidi temsil eder (Apprich ve ark., 2014). Ferulik asit, arabinoksilatlardaki C-5 hidroksil grubu arabinoz artıklarını esterleştirir (Barberousse ve ark., 2009). Ferulik asit ve diğer fenolik bileşiklerin tarımsal kalıntılardan çıkarılması, günümüzde eğilim, yan ürünlerden katma değerli ürünler geliştirmek olduğu için gittikçe daha fazla önem kazanmaktadır (Buranov ve Mazza, 2009).

Ferulik asit, anti-mikrobiyal, anti-oksidanlar, anti-enflamatuar, anti-tromboz ve anti-kanser aktiviteleri gibi çeşitli fizyolojik faydalar sergiler (Qu ve ark., 2017). Ayrıca koroner hastalıklar üzerinde olumlu etkileri vardır, serum ve karaciğerdeki kolesterolü düşürür ve sperm canlılığını artırır (Ou ve ark., 2007). Ferulik asidin gıdalarda (koruyucu ajan, jel oluşturucu özellikleri, lezzet ön maddesi), sağlıkta (antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuar, vb.) Ve kozmetik (foto koruma maddesi) endüstrilerinde (Barberousse ve ark., 2009) ticari kullanım potansiyeli göstermesinin nedeni budur). Dahası, ferulik asit elverişlidir, çünkü insan vücudu kolayca emebilir ve metabolize edebilir (Ou ve ark., 2007).

Ferulik asit, lignin / fenolik-karbonhidrat kompleksleri oluşturan ester ve eter bağları vasıtasıyla polisakaritlerle çapraz bağlanmış bitki materyalinde bulunur (Buranov ve Mazza, 2009). Bu nedenle, ferulik asidin bu komplekslerden salınması ve saflaştırılması zordur. Çapraz bağı kırabilen ve ferulik asidi bitki hücre duvarlarından salgılayan iki yöntem vardır (Ou ve ark., 2007). Ferulik asit, feruloil esterazlar kullanılarak enzimatik olarak veya 50-70 ° C'de seyreltik (0,1-4 M) NaOH çözeltisi kullanılarak alkalın-hidroliz ile salınabilir (Buranov ve Mazza, 2009).

Ferulik asidin hidrolizattan saflaştırılması zordur, çünkü birçok kirletici bileşen içerir (mumlar, oligomerik hemiselülozlar). Ferulik asidin enzimatik çözeltiden nasıl ekstrakte edileceğine dair yaklaşımlardan biri aktif kömür kullanımınıdır. Ferulik asidi saflaştırmanın bir başka yolu, ferulik asidi adsorbe etme kapasitesi yüksek olduğu için bir anyon makro gözenekli reçinenin kullanılmasıdır (Ou ve ark., 2007). Bununla birlikte, bu saflaştırma işlemleri endüstriyel kullanım için pahalıdır, bu nedenle ferulik asidi hidrolizattan saflaştırmanın alternatif basit ve ucuz bir yoluna ihtiyaç vardır. Yağlı maddeler ve hemiselülozlar, hidrolizat içinde% 30'luk bir etanol konsantrasyonuna kadar etanol ilave edilerek çökeltilir. Bu metodu kullanarak ferulik asit etanolde çözülür, diğer bileşenler hidrolizatta çözünmez kalır (Buranov ve Mazza, 2009).

Polivinil alkol (PVA) ve takviye elamanı olarak şeker pancarı posası (ŞPP) ve buğday sapı unu (BS) kullanılarak biyolojik olarak bozunabilen (biyobozunur) kompozit filmler dökme yöntemiyle (Casting method) başarılı bir şekilde üretilmiştir. Çalışma esnasında üretilen filmlerin bazı fiziksel (çekme direnci, çekmede elastikiyet modülü ve kopmada uzama) ve biyolojik bozunma özellikleri belirlenmiş ve takviye elamanı tipi ve miktarının üretilen kompozit filmlerin özellikleri üzerine etkisi istatistiksel olarak incelenmiştir. Yapılan testler sonucunda, PVA filmlerinin çekme direnci değerleri üzerinde takviye elamanı tipi ve miktarının istatistiksel olarak önemli oranda etkili olduğu ve bu değerleri düşürdüğü tespit edilmiştir. ŞPP kullanımının BS kullanımına göre daha düşük sonuçlar verdiği ve bunun ŞPP' nin düşük yoğunluğu ve matris içerisindeki homojen olmayan dağılımından kaynaklandığı düşünülmüştür. Ayrıca BS katılmasıyla PVA filmlerin elastikiyet modülü değerleri önemli oranda artmış ancak ŞPP kullanımının bu değer üzerinde fazla etkili olmadığı bulunmuştur. Her iki takviye elamanının da kopmada uzama değerlerini önemli oranda düşürdüğü ancak ŞPP kullanımında kopmada uzama değerlerinin az da olsa daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Biyolojikbozunma testleri sonucunda 15 gün içerisinde PVA filmlerin toprakta tamamen kaybolduğu, kompozit film örneklerin ise sakızimsı bir hal aldığı gözlemlenmiştir. (Mengeloğlu, 2014).

Türkiye’de amasya, çorum ve tokat’ ın içinde bulunduğu (TR83) bölgede şeker pancarı ilebuğday tohumluğu üretiminde etkinliği ölçmek, tohumluk fiyatlarının değişikliklerin işletmelere etkisini ortaya koymak i şeker pancarı tohumluğu yetiştiren 82 tarım işletmesi ile buğday tohumluğu yetiştiren 72 tarım işletmesine anket yapılmıştır. İncelenen işletmelerin ekonomik analizinde klasik ekonomik analiz yaklaşımları, teknik etkinliğin ölçülmesinde stokastik sınır modeli, optimum işletme organizasyonlarının belirlenmesinde doğrusal programlama metodu ve tohumluk fiyatlarındaki değişimin optimum plana etkilerini belirlemede değişken fiyatlı programlama metodu kullanılarak analiz edilmiştir. Araştırma sonuçlarında her iki ürününde yetiştiriciliğinde büyük tarım işletmelerinin kazancının, diğerlerinden daha iyi olduğunu görülmüştür. Etkinlik analizi sonuçlarına göre, her iki yetiştiricilikte de teknik etkinlik yüksek düzeydedir. Şekerpancarı tohumu ve buğday tohumluğu yetiştiren işletmeler için teknik etkinlik skorları sırasıyla 0,97 ve 0,81’dir. Küçük işletmeler mevcut durumdan olması gereken organizasyona geçtiklerinde, brüt kar ve tarımsal gelirlerinin yükseleceği araştırma sonucunda görülmektedir. Brüt gelir artışı şeker pancarı tohumluğu yetiştiren küçük işletmelerde %81 ve büyük işletmelerde %32 iken, buğday tohumluğu yetiştiren küçük ve büyük işletmelerde sırasıyla %118 ve %2’dir(Hazneci, 2015).

Tam buğday unununsık sık tüketilen unlu bir mamul olan keklerde kullanılması bir araştırma konusudur. Bu amaçla hem tam buğday ununun kullanım alanını arttırarak ürün çeşitliliği kazandırmak; hem de tam buğday unu ile üretilmiş olan keklerin diğer keklere göre besleyici özelliklerinin arttırılması düşünülmüştür. Tam buğday üretimindeki zorluklar göz önüne alınarak hemiselülaz enzimi katkı olarak kullanılmış ve kekin fiziksel özelliklerine etkisi araştırılmıştır. Hemiselülaz enzimi fırıncılıkta ekmek hamurunun işlenebilirliğini arttırarak, homojen yapıda, istenen hacim ve dokuda ürün elde edilmesini sağlar. Kek üretiminde hemiselülazın kullanılmasına dair yeterli bilgi bulunmamakla birlikte enzimin bu ürünleri de olumlu yönde etkileyeceği düşünülmüştür. Çalışmada kuvvetli beyaz un, zayıf beyaz un ve bir de tam buğday unu olmak üzere toplamda üç un örneği kullanılmıştır. Unların kalite analizleri yapılmış, hemiselülaz enzimi ilave edilerek elde edilen hamurların reolojik özellikleri belirlenmiştir. Hemiselülaz enzimi ilavesi enerji (Ekstensograf) değerinde, su kaldırma ve stabilite (Farinograf) değerlerinde artışa

neden olmuş; yumuşama derecesini ise (Farinograf) düşürmüştür. Tam buğday ununun iki farklı tip un ile (kuvvetli – zayıf) %0, %25, %50, %75 ve %100 oranında ikame edilmesi ve hemiselülazın üç farklı oranda (0, 25, 50 ppm) ilavesiyle kek denemeleri yapılmıştır. Kekler 175°C 'deki fırın sıcaklığında 60 dakika süreyle pişirilmiştir. Piştikten sonra soğutulan keklerin hacmi kolza ile yer değiştirme metoduyla ölçülmüştür. Spesifik yoğunluk, ölçülen hacmin kek ağırlığına bölünmesiyle bulunmuştur. Yoğunluk ölçümü yapılan kekler ambalajlanarak saklanmış ve bir sonraki gün doku analizi yapılmıştır. Doku analizi, doku analizörü ile yapılmış ve keklere ait sertlik, yapışkanlık, elastiklik, bağlılık, sakızımsılık ve çiğnenebilirlik değerleri elde edilmiştir. Tam buğday ununun denemelerde kullanılmasıyla hacim ve spesifikyoğunluk değerlerinde olumsuz bir etki tespit edilmemiştir. Hemiselülaz enziminin yalnızca tam buğday unu içeren keklerde önemli derecede arttırıcı etkisi görülmüştür. Tam buğday unu dışındaki unlarla yapılan keklerin hacim özelliklerini geliştirmemiştir. Tam buğday unu ile kuvvetli beyaz un birlikte kullanıldığında sertliği azaltıcı etki göstermiştir. Aynı zamanda yapışkanlık, sakızımsılık ve çiğnenebilirlik üzerine olumlu katkı sağlamıştır. Hemiselülaz enzimi zayıf beyaz unda sertliği azaltarak olumlu etki göstermiş ancak elastiklik değerini düşürmüştür. Çiğnenebilirlik ve sakızımsılık üzerine olumlu etki etmiş ancak istatistiksel açıdan önemli fark görülmemiştir. Hemiselülaz keklerin raf ömrünün arttırılmasında olumlu katkı sağlamıştır (Yavaş, 2011).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

Yaş şeker pancarı küspesi ve Bisküvilik buğday kepeği, Konya Şeker Fabrikası Çumra Şeker Entekre Tesisleri Kampüsü içerisinde üretilmektedir. Çalışmada kullanılan kimyasallar aşağıda verilmiştir.

trans-Ferulik asit (aldrich),

Metansülfonik asit (sigma-aldrich),

Hidroklorik asit (Merck),

Sodyum Hidroksit (Merck),

Metanol (Merck),

Etilasetat (Merck),

Etil alkol (Konya Şeker),

Selülaz (*Trichoderma reesei* sigma),

D-(+)-Galakturonik asid monohidrat (sigma-aldrich).

3.2. Kullanılan Cihazlar

HPLC; THERMO Dionex UltiMate 3000 pump, autosampler, column compartment, variable wavelength detector, THERMO Column (250 x 4,6 mm Hypersil GOLD),

ROTARY EVOPARATOR; Buchi Rotavapor R-210, Vaccum V-850, V700, Heating Bath B-491,

SANTIFUJ; SİGMA 3-18K,

EXTRACTOR: Buchi Extraction Unit E-812,

KARIŞTIRICI: Velp DLH Overhead stirrer,

NEM ÖLÇER: Mettler Toledo HC 103,

ÖĞÜTÜCÜ: Buchi Mixer B-400,

ETÜV: Binder ED 115,

pH metre: Mettler Toledo SevenMulti pH Conductivity Meter,

Soxhlet 250ml cam düzeneği,

Balon: 250 ml ve 1000 ml 29/32 Őilifli,

Geri soğutucu, 30 ya da 40 cm 29/32 ve 40/45 Őilifli.

3.3. Ekstraksiyon işlemi

Çalışmalarda kullanılan Şeker pancarı küspesi ve buğday kepeği Konya Şeker Fabrikası, Çumra Şeker Entegre Tesislerinden temin edilmiştir. Küspe, 2018-2019 pancar işleme kampanyası sırasında elde edilenlerden kullanılmıştır. Buğday kepeği yine 2018-2019 yılı içerisinde bisküvilik buğday unu üretimi sırasında elde edilenlerden kullanılmıştır.

Buğday kepeği içerdiği nem tayini yapılarak kuru madde 10g olacak Şekilde numuneler alınarak denemeler yapıldı, Şeker pancarı küspesi ise kurutup öğütme işlemi ayrıca maliyet içereceğinden kuru ve yaş numune aralarındaki farkı da ortaya koymak adına; yaş olarak nem tayini yapılıp kuru madde 10g olacak Şekilde numuneler alınarak deneyler yapıldı. Numuneden gelen suyun kullanılan asit ve baz konsantrasyonlarındaki deđiŐme göz ardı edilmeyip pH tayini yapılarak ayarlama yapıldı. Kuru pancar küspesi için yaş küspeler 24 saat 70 °C' de kurutularak 1mm'lik elekten geçecek Şekilde öğütüldü, öğütülmüş numunelerden 10g alınarak deneyler yapıldı.

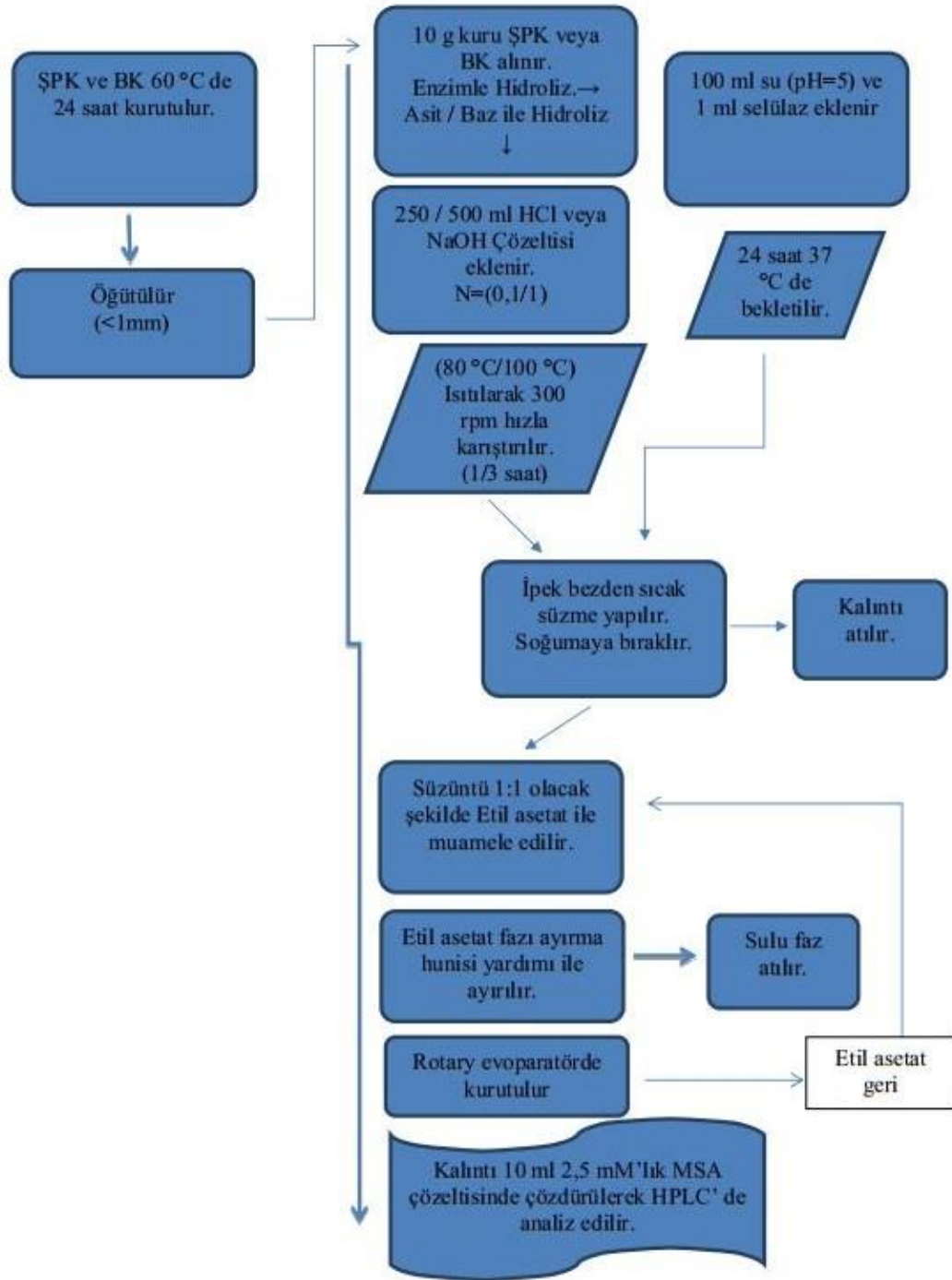
Ferulik asit üretim Őartları, hidroklorik asit, metanol, enzim ve sodyum hidroksit ile elde edilen ferulik asit miktarını dikkate alınarak optimize edilmiştir.

Bu amaçla hidroklorik asit ile her bir örnek için (şeker pancarı küspesi ve buğday kepeği) dört faktörlü (çözücü oranı, çözücü konsantrasyonu, sıcaklık ve süre) deneme dizaynı kullanılmıştır. Deneme dizaynında her iki örnek için 1:25, 1:50 oranlarında çözücü ile karıştırarak pH 0,1-1,0; sıcaklık 80-100 °C ve süre 1-3 saat aralığında belirlenmiştir. Bu dört faktörün çeşitli kombinasyonlarından oluşan denemeler yapılmıştır.

Metanol ile her bir örnek için (şeker pancarı küspesi ve buğday kepeği) iki faktörlü (çözücü oranı ve süre) deneme dizaynı kullanılmıştır. Bu iki faktörün çeşitli kombinasyonlarından oluşan deneme noktaları ile çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Enzim ile her bir örnek için (şeker pancarı küspesi ve buğday kepeği) iki faktörlü (çözücü oranı ve süre) deneme dizaynı kullanılmıştır. Bu iki faktörün çeşitli kombinasyonlarından oluşan denemeler gerçekleştirilmiştir.

Sodyum hidroksit ile her bir örnek için (şeker pancarı küspesi ve buğday kepeği) dört faktörlü (çözücü oranı, çözücü konsantrasyonu, sıcaklık ve süre) deneme dizaynı kullanılmıştır. Deneme dizaynında her iki örnek için 1:25, 1:50 oranlarında çözücü ile karıştırarak pOH 0,1-1,0; sıcaklık 80-100 °C ve süre 1-3 saat aralığında belirlenmiştir. Bu dört faktörün çeşitli kombinasyonlarından oluşan deneme noktaları dikkate alınarak çalışmalar yapılmıştır.



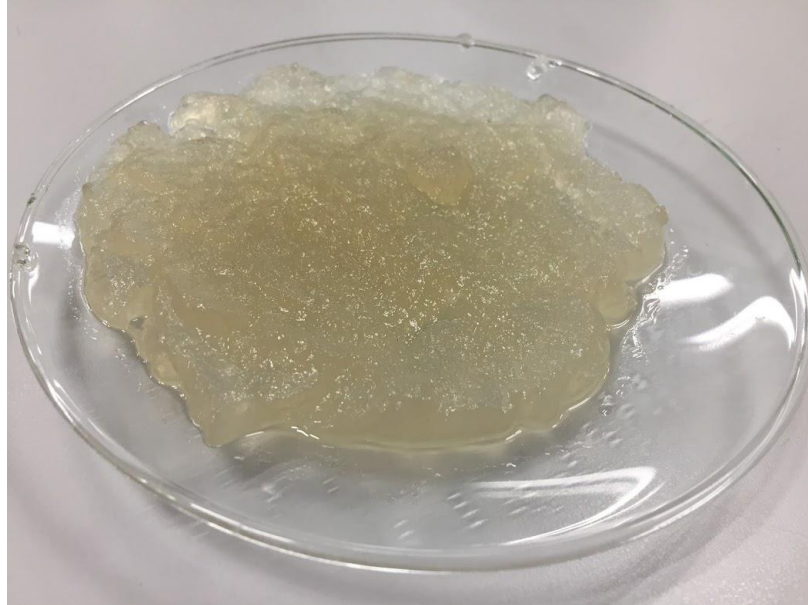
Şekil 4. FA ekstraksiyonu akış şeması

3.3.1. Hidroklorik Asit ile Ekstraksiyon

Hidroklorik asit ile FA eldesi için; 10g kuru şeker pancarı küspesi ve 10g buğday kepeği 1:25, 1:50 oranlarında 0,1N ve 1N' lik HCl çözeltileri ile karıştırıldı. 80 °C ve 100 °C (kaynama sıcaklığı) lerde; 1 saat ve 3 saat 300 rpm hızla sürekli karıştırılarak hidroliz yapıldı. Karışım soğutulurken ipek süzgeçten süzülür, süzüntü rotary evaporatör yardımı ile yoğunlaştırıldıktan sonra hacminin 3 katı kadar (1:3) %96 lik etil alkol katılarak içerisindeki pektin çöktürüldü (Şekil 5) ve (Şekil 6).

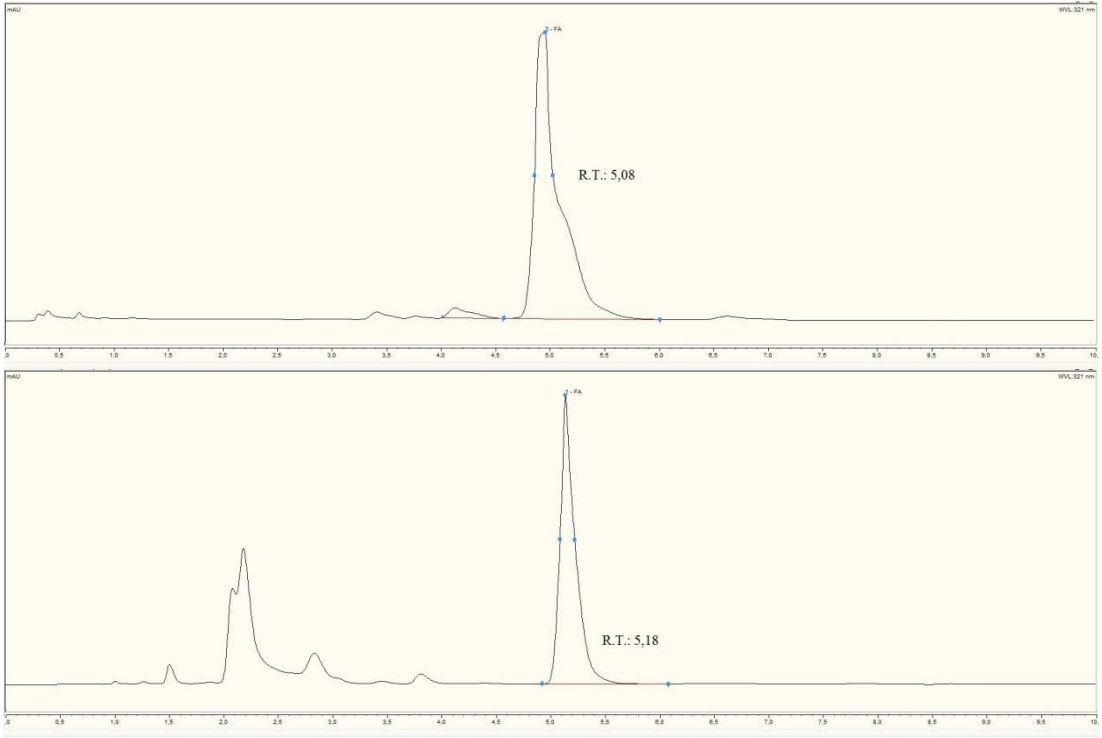


Şekil 5. Asit hidrolizi sonrası çözeltiden pektin' in ayrılması.

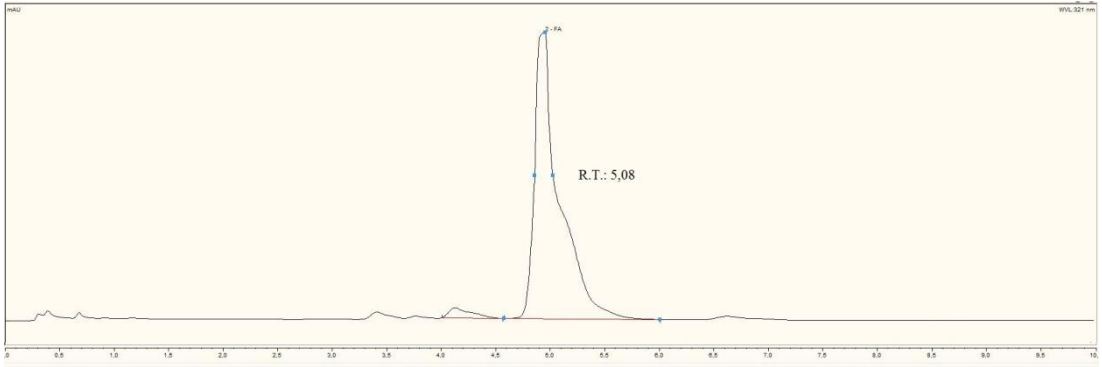


Şekil 6. Süzülerek ayrılan pektin.

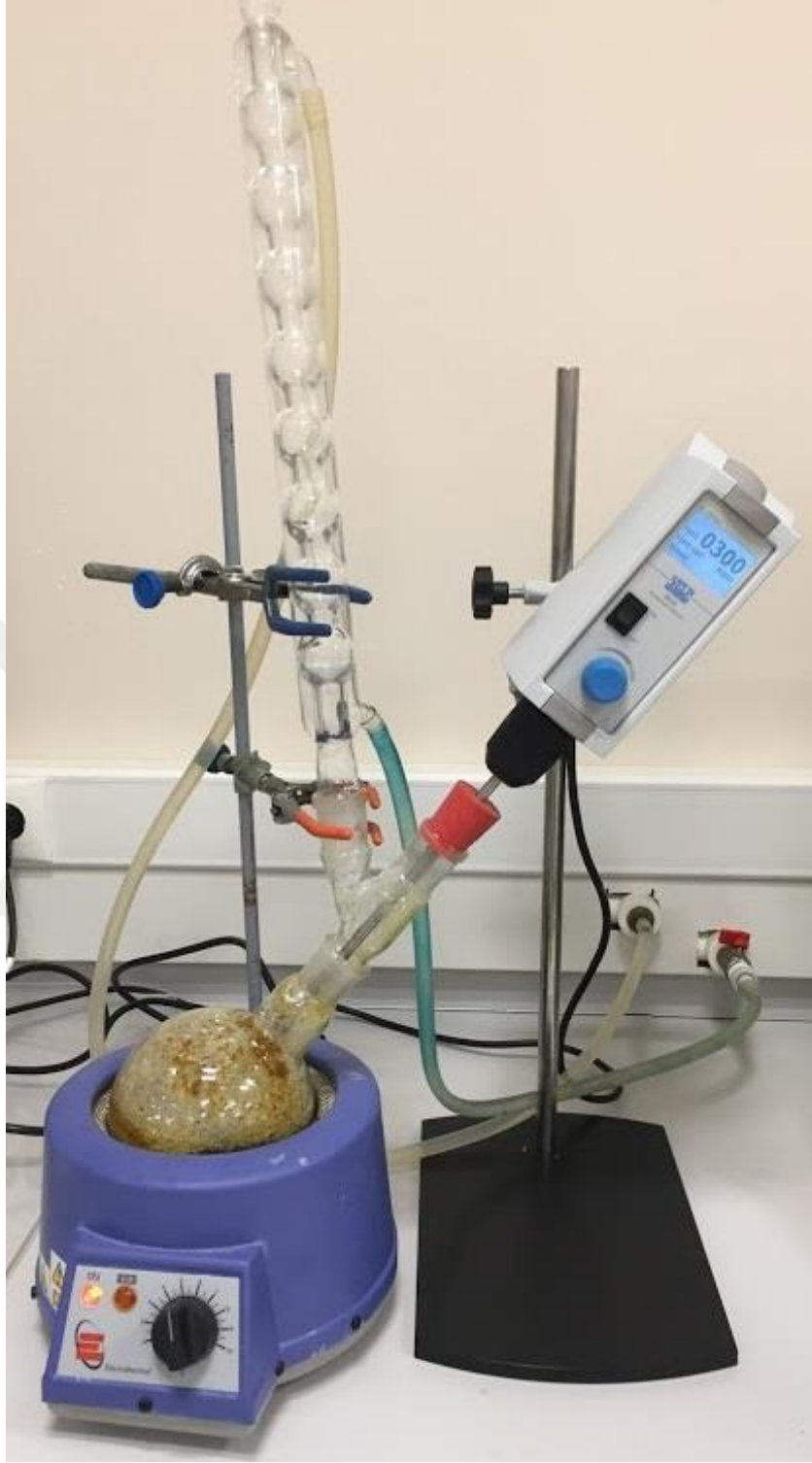
Elüent tekrar rotary evaporatör yardımı ile yoğunlaştırıldı (kullanılan etil alkol % 96 safiyette geri kazanılmış oldu) üzerine hacimce 1:1 olacak şekilde etil asetat eklenerek iyice karıştırılıp ayırma hunisi yardımı ile etilasetat fazı ayrıldı. Rotary evaporatör yardımı ile kurutuldu. Kalıntılar 2 ml 2,5 mM'lık metansülfonik asit ile çözdürülerek HPLC de analiz edildi. Örnek HPLC kromatogramları (Şekil 7) ve (Şekil 8) ekstraksiyon düzeneği (Şekil 9).



Şekil 7. ŞPK' den HCl ile elde edilen FA' in HPLC kromatogramı.



Şekil 8. BK' den HCl ile elde edilen FA'in HPLC kromatogramı.

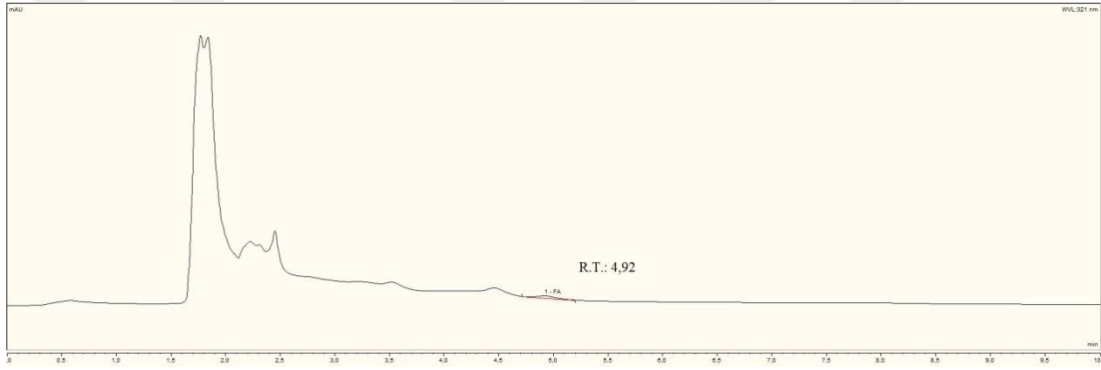


Şekil 9. HCl ile ekstaksiyonun yapıldığı düzenek

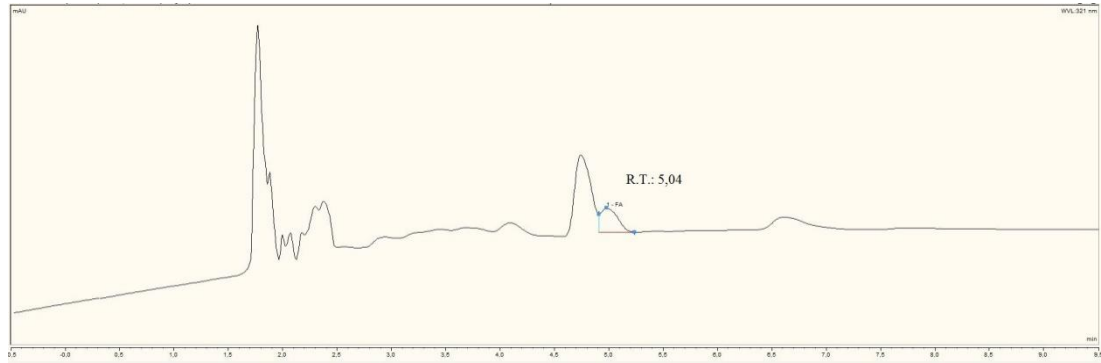
3.3.2. Metanol ile Ekstraksiyon

Buchi Extraction Unit E-812 kullanılarak metanol ile pancar küspesinden ve buğday kepeğinden FA ekstraksiyonu için: 10g kuru şeker pancarı küspesi ve 10g buğday kepeği 1:25, 1:50 oranlarında saf metanol ile karıştırıldı. 60C (metanolün kaynama sıcaklığı) de; 2 saat ve 6 saat Buchi Extraction Unit E-812 cihazında hidroliz yapıldı.

Kalıntılar 2 ml 2,5 mM'lık metansülfonik asit ile çözdürülerek HPLC de analiz edildi. Metanol ile ekstraksiyon sonucu elde edilen HPLC kromatogramları (Şekil 10) ve (Şekil 11) ekstraksiyon düzeneği (Şekil 12).



Şekil 10. ŞPK' den MeOH ile elde edilen FA' in HPLC kromatogramı



Şekil 11. BK' den MeOH ile elde edilen FA'in HPLC kromatogramı



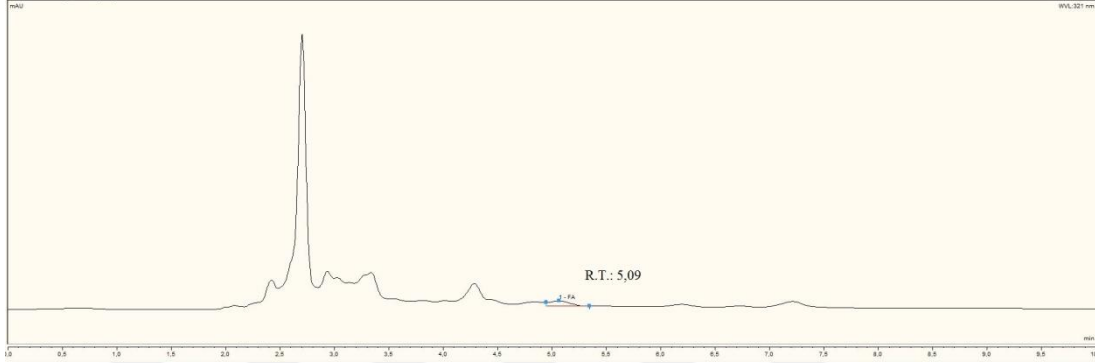
Şekil 12. MeOH ile ekstaksiyonun yapıldığı düzenek

3.3.3. Enzim ile Ekstraksiyon

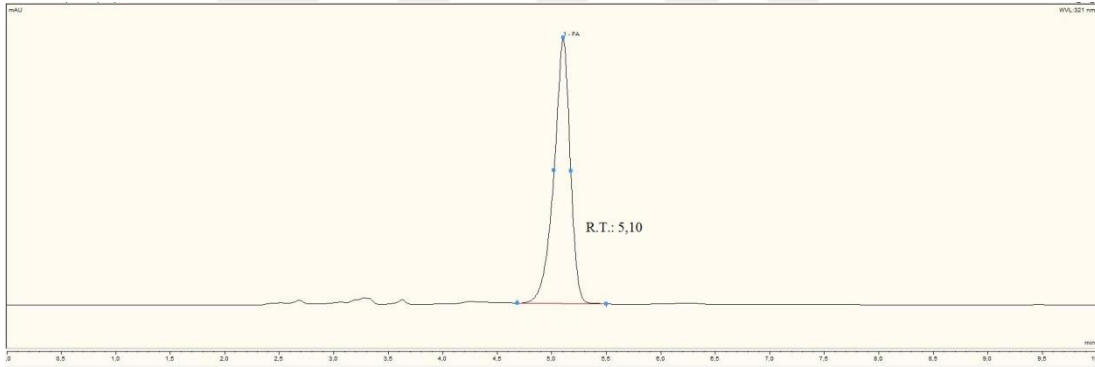
Enzim için; liyofilize selüloz enziminden %1'lik çözelti hazırlandı yapılan çalışmalarda enzim olarak bu çözelti kullanıldı.

Enzim ile FA eldesi için; 10g kuru şeker pancarı küspesi ve 10g buğday kepeği 1:10, 1:50 oranlarında pH'ı 5'e ayarlanmış saf su ile karıştırıldı üzerine 1 ml enzim eklendi ve 37°C'ye ayarlanmış inkübatörde 12 ve 24 saat bekletildi. Karışım ipek

süzgeçten süzöldü, süzöntü yoğunlaştırıldıktan sonra hacminin 1 katı kadar (1:1) etil asetat katılarak iyice karıştırılıp ayırma hunisi yardımı ile etilasetat fazı ayrıldı. Rotary evaporatör yardımı ile kurutuldu. Kalıntılar 2 ml 2,5 mM'lık metansülfonik asit ile çözdürölerek HPLC de analiz edildi. Enzim ile ekstraksiyon sonucu elde edilen HPLC kromatogramları (Şekil 13) ve (Şekil 14).



Şekil 13. ŞPK' den Enzim ile elde edilen FA' in HPLC kromatogramı

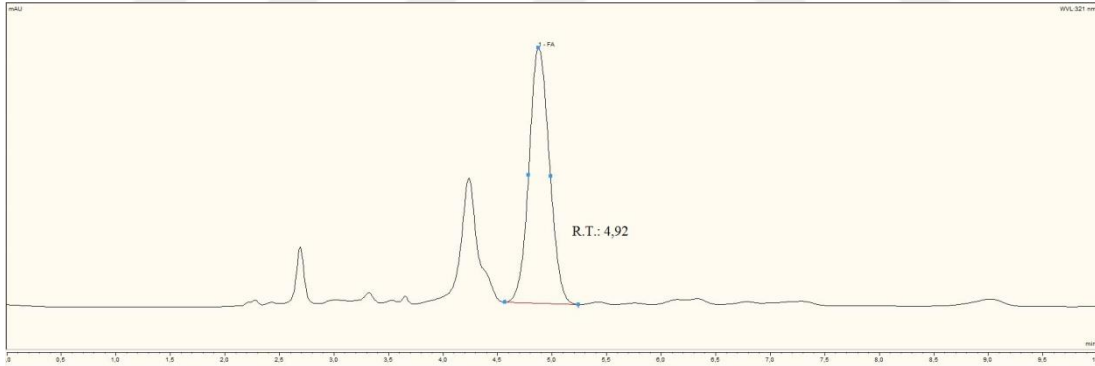


Şekil 14. BK' den Enzim ile elde edilen FA'in HPLC kromatogramı

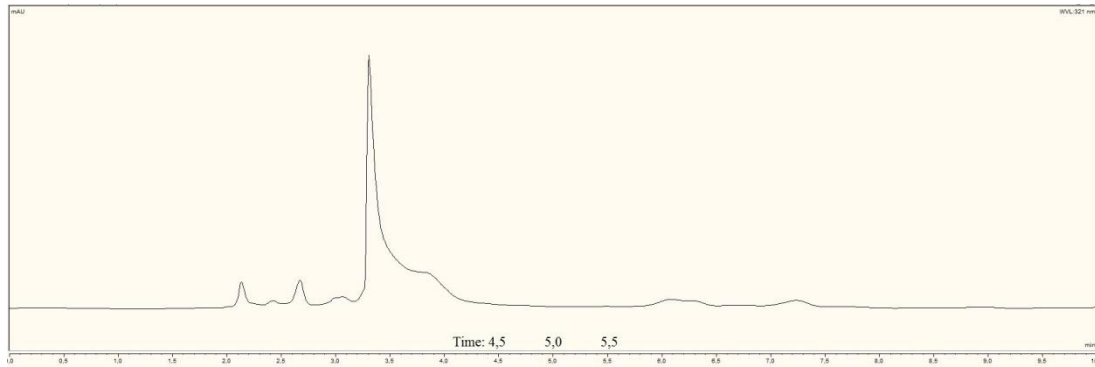
3.3.4. Sodyum Hidroksit ile Ekstraksiyon

Sodyum Hidroksit ile FA eldesi için; 10g kuru şeker pancarı küspesi ve 10g buğday kepeği 1:25, 1:50 oranlarında 0,1N ve 1N' lik Sodyum Hidroksit çözetileri ile karıştırıldı. 80 °C ve 100 °C (Kaynama sıcaklığı) lerde; 1 saat ve 3 saat 300 rpm hızla sürekli karıştırılarak hidroliz yapıldı. NaOH ile hidroliz sırasında buğday kepeği numunesi çalışırken süzekli önlenemez köpük oluştu taşma sonucu numune kaybı yaşanmaması için köpüğü bekletip tekrar sisteme almak için soxhlet sisteminde kullanılan cam düzenek kullanıldı(Şekil 17).

Karışım sıcak halde ipek süzgeçten süzüldü, süzüntü yoğunlaştırıldıktan sonra hacminin 1 katı kadar (1:1) etil asetat katılarak iyice karıştırılıp ayırma hunisi yardımı ile etilasetat fazı ayrıldı. Rotary evaporatör yardımı ile kurutuldu. Kalıntılar 2 ml 2,5 mM'lık metansülfonik asit ile çözdürülerek HPLC de analiz edildi. Sodyum Hidroksit ile ekstraksiyon sonucu elde edilen HPLC kromatogramları (Şekil 15) ve (Şekil 16).



Şekil 15. ŞPK' den NaOH ile elde edilen FA' in HPLC kromatogramı.



Şekil 16. BK' den NaOH ile elde edilen FA'in HPLC kromatogramı.



Şekil 17. NaOH ile ekstaksiyonun yapıldığı düzenek

3.4. Toplam Fenolik İÇeriğin Belirlenmesi

Fenolik maddeler, bitki veya meyvelerin kendine has tad, renk ve koku gibi özelliklerinin oluşmasında rol alan, asıl amacı bitkiyi korumak olan maddelerdir. Ekstraksiyon sonrası fenolik maddelerin saflaştırılması için etilasetat kullanıldı, etilasetat ile muamele edilen ektaktlar iyice yıkandıktan sonra ayırma hunisinde dinlendirilerek ayrıldı. Etilasetatlı faz vakumlu rotary evaporatör yardımı ile kurutuldu ve tartıldı.

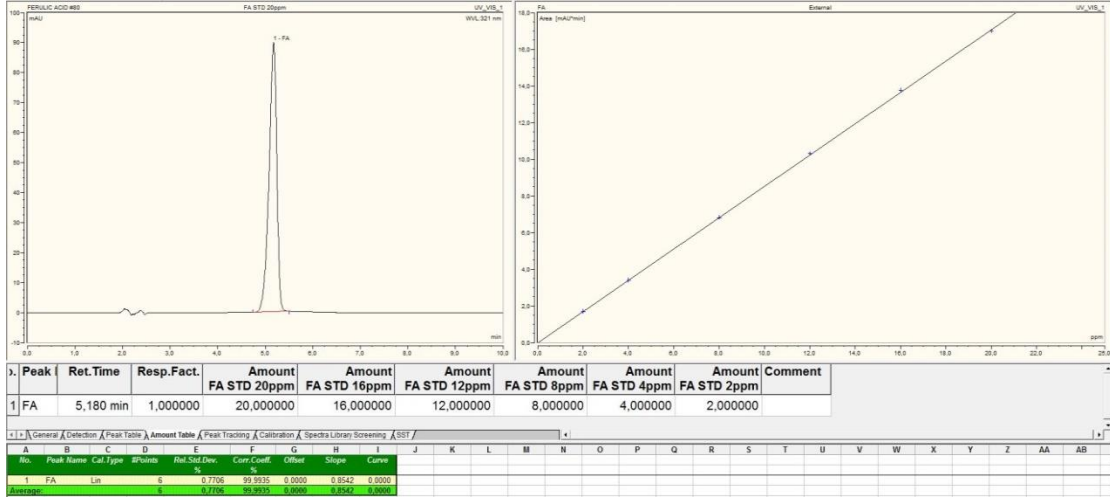
3.5. HPLC Analizi

Diğer analitik yöntemlerle ayrılamayan maddeler kromatografik metotlarla ayrılır. Sıvı kromatografisi yönteminin özel bir uygulaması olan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi sabit fazdan mobil fazın belirli bir hızla geçebilmesi ile yapılan basınçlı bir uygulamadır. Bu uygulama yüksek verimli kolonların ve oldukça yüksek basınçların kullanıldığı, element tiplendirilmesinde en yaygın biçimde uygulanan kromatografi türüdür. HPLC cihazının resmi (Şekil 18).



Şekil 18. HPLC cihazı.

HPLC cihazında ferulik asitkalibrasyonu oluşturmak için 2, 4, 8, 12, 16 ve 20 ppm'lik ferulik asit standard çözeltileri hazırlandı. Her biri seyreltikten derişğe doğru sırayla cihaza enjekte edilerek (HPLC – UV) dedektör (Thermo Hypersil GOLD) kolon kullanarak 321 nm dalga boyunda ölçümler alındı. Chromeleon yazılımı kullanılarak kalibrasyon eğrisi çizdirildi ve R² değeri 0.9999 olarak ölçüldü.



Şekil 19. 2-20 mg/L FA standardının HPLC de verdiği kromatogram ve kalibrasyon eğrisi

Bir örneği HPLC sistemine enjekte etmek için, bu örneğin, mobil faz olarak kullanılan çözeltilerde çözünmesi gerekir. Ferulik asit tayininde hareketli faz olarak 2,5 mM' lık metansülfonik asit (MSA) kullanıldı, standart ve elde edilen ürünler yine bu çözeltilerde çözülürken analize alındı. Analiz sonuçları en az 3 kez cihazla enjeksiyon yapılarak birbirine yakın değerlerin ortalamaya alınarak çok farklı değerler değerlendirme dışı bırakılarak tespit edildi.

4. BULGULAR

Laboratuvar şartlarında kullanılacak araç gereç büyüklükleri, ŞPK ve BK' nin çözücüyü emerek şişmesi ve numune:çözücü oranları göz önünde bulundurularak en uygun çalışmanın 10 g numune alarak yapılmasına karar verildi.

Hücre duvarında lignine kovalent bağla bağlanmış olan FA' i hidroklorik asit ile parçalayarak bunu yaparken kuvvetli asit kullanmak parçalanmayı hızlandıracağı gibi lignin gibi kompleks yapılardan gelen istenmeyen maddeleri arttıracaktır. Bunun için daha önce yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar incelenerek 0,1 ve 1 N' lik konsantrasyonlarda deneme çalışmaları yapıldı.

Çözücü oranı : numune miktarı, kullanılan araç gereç ve maliyet düşünülerek 1:25 ve 1:50 olarak ayarlandı.Bütün çalışmalar incelendiğinde 1:50 numune, çözücü oranının azda olsa ekstraksiyona katkısı olduğu görülmüştür.

Hidroliz sırasında kullanılan asit ve baz konsantrasyonları değişmemesi için kapalı ve geri soğutuculu sistem kuruldu, geri soğutucu 10C su ile sürekli soğutuldu. Sıcaklığın hidrolize etkisini görmek için 100 °C ve 80 °C olmak üzere 2 değer seçildi. Bütün çalışmalarda 100C' de yapılan ekstraksiyonun daha etkili olduğu görüldü.

Hirdoliz süresinin uzun tutulması istenmeyen renk ve ürünlerin oluşmasına sebep olduğundan ayrıca da ekstraksiyon maliyetini arttırdığından hidroliz süresi 1 ve 3 olarak karşılaştırıldı. 3 saat ürerinde yapılan hidrolizlerde özellikle asitle olanlarda selülozun hemiselülozdan sonra monomerik yapıya kadar farklı zincir büyüklüklerinde yapılar oluşturduğundan FA eldesini azalttığı ve renkte koyulaşma ve keskin asetik asit kokusunun oluştuğu duyusal olarak gözlemlendi. Yinede tüm çalışmalar incelendiğinde sürenin artması FA miktarını artırdığı görülmüştür.

Ekstraksiyona başlamadan önce örneklere yapılan analiz sonuçları (Çizelge 4) ve (Çizelge 5)'te verilmiştir.

Analiz Adı	Analiz Sunucu (%)
Nem	4,28
Protein	8,64
Toplam Yağ	0,08
Kül	2,42
Tuz	0,09
Karbonhidrat	84,58

Çizelge 4. Kurutulup öğütülmüş şeker pancarı küspesine yapılan analizler.

Analiz Adı	Analiz Sunucu (%)
Nem	4,85
Protein	8,2
Toplam Yağ	10,6
Kül	1,54
Tuz	0,7
Karbonhidrat	62,2

Çizelge 5. Buğday Kepeğine yapılan analizler.

4.1. Hidroklorik Asit ile Ekstraksiyon Optimizasyonu

Asit ile ekstraksiyon sonucu elde edilen FA konsantrasyonları (Çizelge 6) ve (Çizelge 7). Sonuçlara bakıldığında ŞPK' nde 1 saat ekstraksiyonda 187 ppm, 3 saat ekstraksiyonda 195 ppm'lik en yüksek sonuçlar 1 N HCl çözeltisi kullanılarak elde edildi. BK' nde ise 1 saat ekstraksiyonda 337 ppm, 3 saat ekstraksiyonda 355 ppm'lik en yüksek sonuçlar 1 N HCl çözeltisi kullanılarak elde edildi. Örnekler incelendiğinde BK' nden daha fazla FA içeren ŞPK' nden gerektiği kadar FA elde edilemediği görülmüştür.

Şeker pancarı küspesi					
Çözücü	(Numune:Çözücü) oranı	Çözücü Konsantrasyon	Sıcaklık °C	Süre (Saat)	FA Konsantrasyonu (ppm)
HCl	1 : 25	0,1	80	1	21± 6,3
HCl	1 : 25	0,1	80	3	38± 5,8
HCl	1 : 25	0,1	100	1	57± 11,4
HCl	1 : 25	0,1	100	3	61± 7,5
HCl	1 : 25	1	80	1	25± 8,8
HCl	1 : 25	1	80	3	27± 7,0
HCl	1 : 25	1	100	1	122± 14,3
HCl	1 : 25	1	100	3	129± 10,1
HCl	1 : 50	0,1	80	1	51± 7,1
HCl	1 : 50	0,1	80	3	68± 17,3
HCl	1 : 50	0,1	100	1	103± 11,1
HCl	1 : 50	0,1	100	3	121± 10,7
HCl	1 : 50	1	80	1	75±22,7
HCl	1 : 50	1	80	3	99± 13,5
HCl	1 : 50	1	100	1	187± 12,2
HCl	1 : 50	1	100	3	195± 5,7

Çizelge 6. Asit Hidrolizi ile ŞPK' den elde edilen FA oranları.

Buğday kepeği					
Çözücü	(Numune:Çözücü) oranı	Çözücü Konsantrasyon	Sıcaklık °C	Süre (Saat)	FA Konsantrasyonu (ppm)
HCl	1 : 25	0,1	80	1	33± 5,7
HCl	1 : 25	0,1	80	3	72± 5,5
HCl	1 : 25	0,1	100	1	93± 7,7
HCl	1 : 25	0,1	100	3	103± 4,3
HCl	1 : 25	1	80	1	49± 10,5
HCl	1 : 25	1	80	3	51± 6,1
HCl	1 : 25	1	100	1	243± 12,4
HCl	1 : 25	1	100	3	245± 9,5
HCl	1 : 50	0,1	80	1	87± 8,8
HCl	1 : 50	0,1	80	3	91± 6,3
HCl	1 : 50	0,1	100	1	197± 16,7
HCl	1 : 50	0,1	100	3	212± 11,6
HCl	1 : 50	1	80	1	137±21,7
HCl	1 : 50	1	80	3	154±15,2
HCl	1 : 50	1	100	1	337±8,3
HCl	1 : 50	1	100	3	355±9,5

Çizelge7. Asit Hidrolizi ile BK' den elde edilen FA oranları.

4.2. Metanol ile Ekstraksiyon Optimizasyonu

Buchi Extraction Unit E-812 kullanılarak metanol ile ekstraksiyon sonucu elde edilen FA konsantrasyonları (Çizelge 8) ve (Çizelge 9). Yine sonuçlar incelendiğinde BK' nden daha fazla FA içeren ŞPK' nden gerektiği kadar FA elde edilemediği görülmüştür. BK' den elde edilen FA sonuçları asit ile hidroliz kadar olmasada yaklaşık sonuçlar vermiştir.

Şeker pancarı küspesi					
Çözücü	(Numune:Çözücü) oranı	Çözücü Konsantrasyon	Sıcaklık °C	Süre (Saat)	FA Konsantrasyonu (ppm)
CH₃OH	1 : 25	%100	60	2	23± 7,1
CH₃OH	1 : 25	%100	60	6	67± 7,1
CH₃OH	1 : 50	%100	60	2	32± 5,7
CH₃OH	1 : 50	%100	60	6	86± 9,3

Çizelge 8. Metanol ile ŞPK' den elde edilen FA oranları.

Buğday kepeği					
Çözücü	(Numune:Çözücü) oranı	Çözücü Konsantrasyon	Sıcaklık °C	Süre (Saat)	FA Konsantrasyonu (ppm)
CH₃OH	1 : 25	%100	60	2	71± 13,3
CH₃OH	1 : 25	%100	60	6	236± 21,0
CH₃OH	1 : 50	%100	60	2	112± 17,9
CH₃OH	1 : 50	%100	60	6	292± 15,5

Çizelge 9. Metanol ile BK' den elde edilen FA oranları.

4.3. Enzim ile Ekstraksiyon Optimizasyonu

Enzim ile ekstraksiyon sonucu elde edilen FA konsantrasyonları (Çizelge 10) ve (Çizelge 11).Bu sonuçlara da bakıldığında BK' nden daha fazla FA içeren ŞPK' nden gerektiği kadar FA elde edilemediği gibi BK' den elde edilen FA sonuçları metanol ile hidroliz den çok daha düşük sonuçlar vermiştir.

Şeker pancarı küspesi					
Çözücü	(Numune:Çözücü) oranı	Çözücü Konsantrasyon	Sıcaklık °C	Süre (Saat)	FA Konsantrasyonu (ppm)
Enzim	1 : 25	%1	37	12	0,98± 0,5
Enzim	1 : 25	%1	37	24	1,38± 0,5
Enzim	1 : 50	%1	37	12	1,35± 0,6
Enzim	1 : 50	%1	37	24	1,42± 0,5

Çizelge 10. Enzim ile ŞPK' den elde edilen FA oranları.

Buğday kepeği					
Çözücü	(Numune:Çözücü) oranı	Çözücü Konsantrasyon	Sıcaklık °C	Süre (Saat)	FA Konsantrasyonu (ppm)
Enzim	1 : 25	%1	37	12	26,21±3,7
Enzim	1 : 25	%1	37	24	37,26±3,2
Enzim	1 : 50	%1	37	12	38,02±3,5
Enzim	1 : 50	%1	37	24	62,65±3,1

Çizelge 11. Enzim ile BK' den elde edilen FA oranları.

4.4. Sodyum Hidroksit ile Ekstraksiyon Optimizasyonu

Hidrolizi NaOH ile yaparken kuvvetli baz kullanmak parçalanmayı hızlandıracığı gibi elde edilmek istenen FA' in farklı maddelere dönüşme olasılığını arttıracaktır. Bunun için daha önce yapılan çalışmalar ve elde edilen sonuçlar incelenerek 0,1 ve 1 N' lik konsantrasyonlarda deneme çalışmaları yapıldı. Hidroksit ile ekstraksiyon sonucu elde edilen FA konsantrasyonları (Çizelge 12) ve (Çizelge 13).

ŞPK' nde 1 saat ekstraksiyonda 674 ppm, 3 saat ekstraksiyonda 748' ppm lik en yüksek sonuçlar 1 N NaOH çözeltisi kullanılarak elde edildi. BK' nde ise 0,1 N NaOH çözelti ile ekstraksiyonlarda 1,6-1,9 ppm gibi çok küçük değerlerde FA saptanırken, 1 N NaOH çözeltisinde hiç FA elde edilemedi. BK^den daha fazla FA içeren ŞPK 'nden beklenen miktarda FA elde edilmiştir.

Şeker pancarı küspesi					
Çözücü	(Numune:Çözücü) oranı	Çözücü Konsantrasyon	Sıcaklık °C	Süre (Saat)	FA Konsantrasyonu (ppm)
NaOH	1 : 25	0,1	80	1	208± 23,9
NaOH	1 : 25	0,1	80	3	296± 30,2
NaOH	1 : 25	0,1	100	1	401± 21,3
NaOH	1 : 25	0,1	100	3	467± 12,2
NaOH	1 : 25	1	80	1	380± 19,0
NaOH	1 : 25	1	80	3	392± 15,4
NaOH	1 : 25	1	100	1	621± 25,8
NaOH	1 : 25	1	100	3	685±14,1
NaOH	1 : 50	0,1	80	1	342±19,2
NaOH	1 : 50	0,1	80	3	453±13,1
NaOH	1 : 50	0,1	100	1	425±18,0
NaOH	1 : 50	0,1	100	3	598±9,9
NaOH	1 : 50	1	80	1	415±20,8
NaOH	1 : 50	1	80	3	420±23,1
NaOH	1 : 50	1	100	1	674±17,3
NaOH	1 : 50	1	100	3	748±15,7

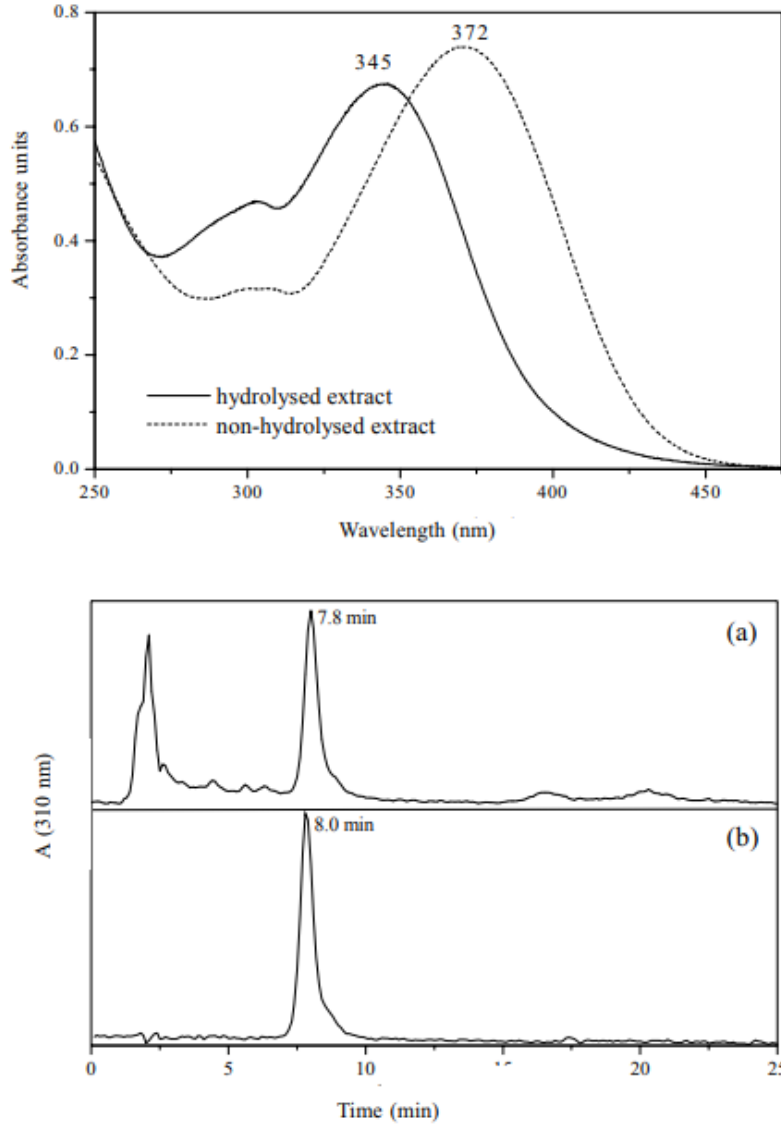
Çizelge 12. Baz Hidrolizi ile ŞPK' den elde edilen FA oranları.

Buğday kepeği					
Çözücü	(Numune:Çözücü) oranı	Çözücü Konsantrasyon	Sıcaklık °C	Süre (Saat)	FA Konsantrasyonu (ppm)
NaOH	1 : 25	0,1	80	1	0,5± 0,2
NaOH	1 : 25	0,1	80	3	0,7± 0,3
NaOH	1 : 25	0,1	100	1	1,4± 0,5
NaOH	1 : 25	0,1	100	3	1,6± 0,9
NaOH	1 : 25	1	80	1	TE
NaOH	1 : 25	1	80	3	TE
NaOH	1 : 25	1	100	1	TE
NaOH	1 : 25	1	100	3	TE
NaOH	1 : 50	0,1	80	1	0,8± 0,5
NaOH	1 : 50	0,1	80	3	0,9± 0,5
NaOH	1 : 50	0,1	100	1	1,5± 0,7
NaOH	1 : 50	0,1	100	3	1,9± 0,7
NaOH	1 : 50	1	80	1	TE
NaOH	1 : 50	1	80	3	TE
NaOH	1 : 50	1	100	1	TE
NaOH	1 : 50	1	100	3	TE

Çizelge 13. Baz Hidrolizi ile BK' den elde edilen FA oranları.

5. TARTIŞMA SONUÇ

HPLC' de hidrolize edilmiş ekstraller 250 x 4 mm Separon SGX C18 kolon ile izokratik olarak 1 ml / dak hızında tespit edilmiştir. Mobil faz olarak sitrat tamponu ($c = 0.01$ mol, $pH = 5.4$) ve metanol (88:12, V / V) kullanılmıştır. Ölçüm laboratuvar sıcaklığında 310 nm'de yapıldı. Hidrolize olmamış ve hidrolize edilmiş ŞPK ekstraktlarının UV / VIS absorpsiyon spektrumları ve hidrolize olmamış ŞPK ekstraktı ile FA standardına ait HPLC kromatogramları (Şekil 20). Farklı numunelerden elde edilen FA oranları (Çizelge 14)' te gösterilmektedir. (Jankovska ve ark. 2001)



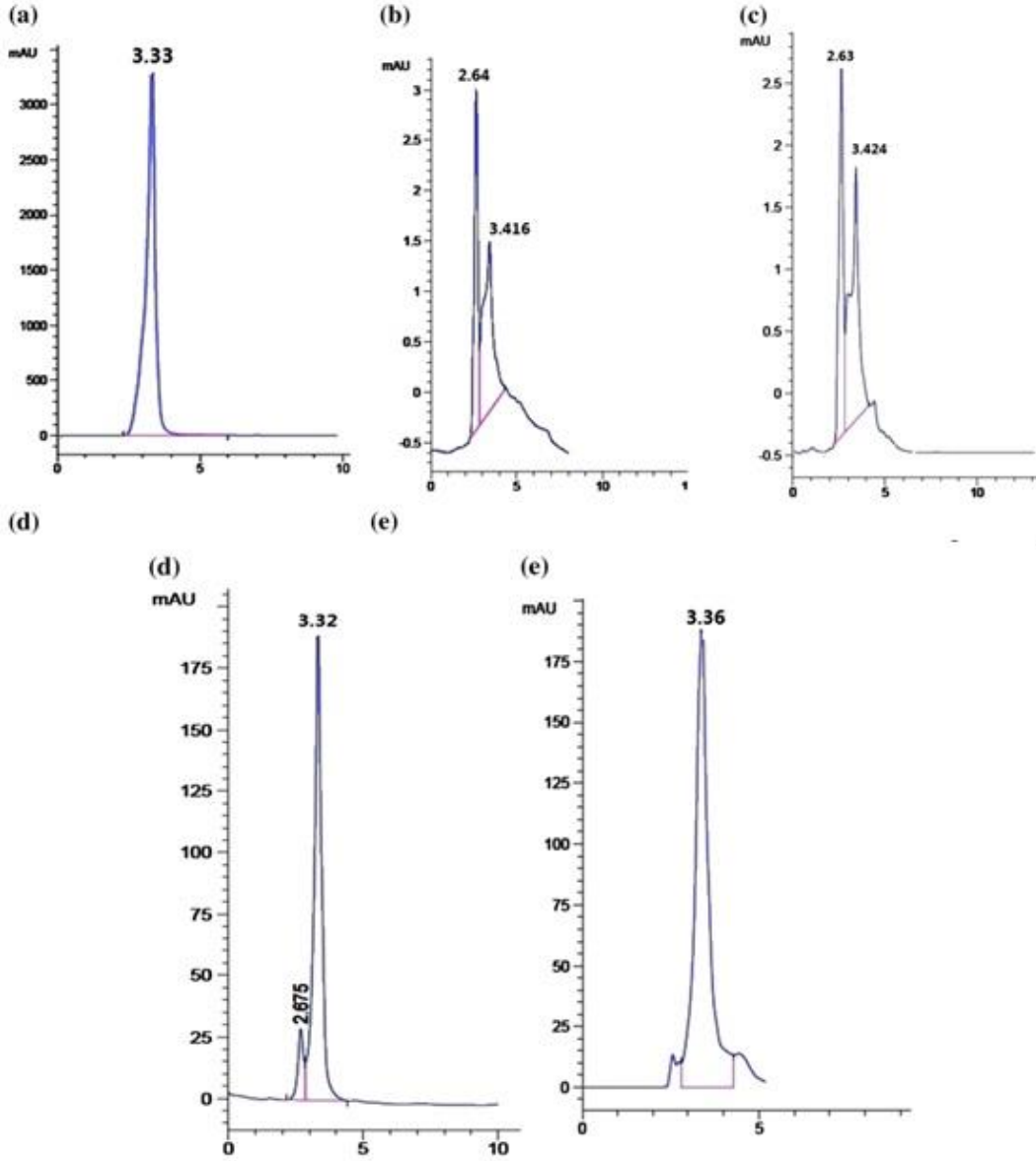
Şekil 20. ŞPK' ne yapılan UV-VIS ve HPLC sonuçları (Jankovska ve ark. 2001).

Sample No.	Sugar beet factory	Extractor type	Harvesting year	Ferulic acid content, % (m/m)		
				I	II	III
1	Opava-Vávrovice, Slezská a.s.	DdS	1995	0.543	0.521	0.560
2	Opava-Vávrovice, Slezská a.s.	DdS	1994	0.511	0.493	0.445
3	Opava-Vávrovice, Slezská a.s.	DdS	1994	0.523	0.538	0.396
4	Opava-Vávrovice, Slezská a.s.	DdS	1994	0.609	0.550	0.580
5	Opava-Vávrovice, Slezská a.s.	DdS	1995	0.782	0.764	0.772
6	Cukrovary Žatec, s.p.	KDP	1991	0.556	0.580	0.496
7	Cukrovary Žatec, s.p.	KDP	1991	0.389	0.434	0.304
8	Cukrovary Žatec, s.p.	KDP	1991	0.335	0.367	0.302
9	Cukrovary Žatec, s.p.	KDP	1991	0.938	0.925	0.925
10	Cukrovary Žatec, s.p.	KDP	1991	0.363	0.368	0.305
11	Severofrukt, Trávčice, s.p.	KDP	1991	0.483	0.447	0.401
12	Severofrukt, Trávčice, s.p.	KDP	1991	0.498	0.448	0.380
13	Severofrukt, Trávčice, s.p.	KDP	1991	0.469	0.414	0.508
14	Severofrukt, Trávčice, s.p.	KDP	1991	0.510	0.449	0.498
15	Severofrukt, Trávčice, s.p.	KDP	1991	0.394	0.401	0.328
16	Cukrospol. Praha-Modşany	KDP	1994	0.570	0.540	0.580
17	Cukrospol. Praha-Modşany	KDP	1994	0.446	0.409	0.398
18	Cukrospol. Praha-Modşany	KDP	1994	0.401	0.398	0.456
19	Severofrukt, Trávčice, s.p.	KDP	1992	0.456	0.489	0.412
20	Keblice, ZD	KDP	1991	0.510	0.470	0.456
21	Keblice, ZD	KDP	1991	0.421	0.453	0.420
22	Keblice, ZD	KDP	1991	0.407	0.491	0.395
23	Keblice, ZD	KDP	1991	0.362	0.351	0.402
24	Keblice, ZD	KDP	1991	0.600	0.564	0.586

Çizelge 14. Farklı ŞPK numunelerinden metod I,II ve III ile elde edilen FA oranları (Jankovska ve ark. 2001).

Yine bir çalışmada şeker pancarı küspesinin bazik ve metanolikhidrolizatlarında ferulik asidin varlığını, konsantrasyon seviyelerindeki farklılıklar kromatogramlarda 3. dakikada gözlemlendi. Ferulik asit (Şekil 21) (a) FA standart (b) metanolik ekstrakt (c) alkali etanolik ekstrakt (d) alkali ekstrakt (e) izole edilmiş FA. Metanol ve alkali metanol ile ekstraksiyonda viskoz ve yağlı ekstraktlar elde edildi. Alkali hidroliz ile elde edilenlerde işlem ekstraktın renk olarak sarılaşmasına neden olmuştur. Sonuçlar, metanolikekstrakttaki ferulik asit konsantrasyonunun, alkali hidrolizatlardaki konsantrasyondan çok daha düşük olduğunu gösterdi (Çizelge 15). En az ferulik asit metanolikekstraktan elde edilirken, en yüksek konsantrasyonlar (957,4 mg / L ferulik asit), 2 M' lıkNaOH ve reaksiyon süresi olarak 12 saat kullanılarak elde edildi. Böylece, fenolik bileşikler alkalik hidrolizle metanol koşullarından daha iyi salındıkları anlaşıldı. Alkalik hidrolizi, fenolik bileşikleri bağlayan ester bağını kırar ve bu nedenle fenolik bileşikler polisakkaritlerden salmanın etkili bir yoludur. Lignin yapısında, ferulik asidi serbest bırakmak için ester-hemiselüloz köprüsünü enzimler veya alkalilerle ayırmak gerekir. Aslında, alkalik işlemleri lignin-

polisakaritkomplekslerinde ester bağlantılarının bölünmesiyle lignini çözer ve yüksek alkali konsantrasyonu ve sıcaklık bu bileşiklerin önemli bir kısmının bozulmasına yol açar, böylece fenolik asitler serbest kalır (Aarabi, 2015).



Şekil 21. FA' in HPLC kromatogram (Aarabi, 2015)

No.	Extraction solvent	Time	Ferulic acid concentration (mg/L)
1	Methanolic	2	12.15 ± 0.14 ^{a*}
2	Methanolic	6	18.45 ± 0.43 ^a
3	Methanolic	12	27.5 ± 1.28 ^a
4	Alkali MeOH	2	55.4 ± 1.67 ^b
5	Alkali MeOH	6	150.45 ± 4.17 ^d
6	Alkali MeOH	12	200.3 ± 1.41 ^c
7	NaOH C = 0.5 M,	2	120.1 ± 2.17 ^c
8	NaOH C = 0.5 M	6	234.7 ± 1.38 ^f
9	NaOH C = 0.5 M	12	456.3 ± 2.94 ^h
10	NaOH C = 1 M	2	200.46 ± 1.56 ^c
11	NaOH C = 1 M	6	566.5 ± 16.59 ⁱ
12	NaOH C = 1 M	12	765.1 ± 16.97 ^k
13	NaOH C = 2 M	2	325 ± 13.91 ^g
14	NaOH C = 2 M	6	623.2 ± 21.41 ^j
15	NaOH C = 2 M	12	957.4 ± 24.47 ^l

Çizelge 15. ŞPK' den ekstrakte edilen FA konsantrasyonları. (Aarabi, 2015)

Yapılan literatür araştırmalarında daha önce organik solvent ve alkali yöntemlerle FA ekstraksiyonu gerçekleştirildiği görüldü bu çalışmalarla kıyaslandığında paralel sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca asit ile hidroliz yaparak pektin eldesi çalışmalarının yapıldığı gözlemlendi, bu çalışmada asit ile hidroliz sonrası pektin elde edildikten sonra atık olarak kalan kısımdan FA elde edilebilirliği görülmüş oldu. Yapılmış çalışmalarda elde edilen sonuçlarda ki farklılıkların ŞPK ve BK' ndeki FA miktarlarının tohum cinsi ve bitkinin mevsimsel ve coğrafik koşullara bağlı olarak değişebileceği düşünülmüştür.

ŞPK' nde en yüksek oranda FA' i bazik hidroliz ile alırken, BK' nde en yüksek oranda FA' i asit hidrolizi ile almamızın sebebini, bu bitkilerin birinin toprak altı diğlerinin toprak üstü olmasından kaynaklı hücre duvarı yapısındaki farklılıkların oluşturduğu düşünülmüştür.

Bu tez çalışmasında şeker sanayisinin önemli atığı olan şeker pancarı küspesinden aynı zamanda değirmencilik sanayisinin önemli atığı olan buğday kepeğinden optimum pH, sıcaklık ve sürede ferulik asit ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda sıcaklık ve süre arttıkça verimin arttığı belirlenmiştir. Özellikle şeker pancarı küspesini kurutup öğütürerek ekstraksiyon işlemine tabi tuttuğumuzda ferulik asit verimini arttırdığı görülmüştür bunun sebebinin tüm vasküler bitkilerde bulunan lignin oluştuurmaktadır. Lignin bitki hücre duvarında bulunur onları sağlam ve gevrek yapar. Bu sağlam yapıyı kurutup mekanik öğütme işlemine tabi tutmak yapıda kırılma ve çatlamalara sebep olduğundan içerisindeki ferulik asiti almamızı kolaylaştırmıştır.

Kromatogramlar incelendiğinde hidroklorik asit ve metanol ile yapılan ekstraksiyonlar da çok fazla safsızlık görülmüş buna karşılık sodyum hidroksit ile yapılan ekstraksiyonlarda bu safsızlıkların büyük çoğunluğu görülmemiştir.

Şeker pancarı küspesinden ve buğday kepeğinden ferulik asit elde için hidroklorik asit, metanol ve sodyum hidroksit incelendiğinde en uygun yöntemin kurutularak mekanik öğütme sonrası sodyum hidroksit ile hidrolizi sonrasında olacağı anlaşılmıştır.

Ayrıca lignoselülozik olarak zengin olan şeker pancarı küspesi ve buğday kepeği içerisindeki FA alındıktan sonra atık olarak kalan polisakkaritlerin uygun proses ve işlemler yardımı ile sıvı yakıt ürünlerine dönüştürülmesi mümkündür.

KAYNAKLAR

- Aarabi, A., Mizani, M., Honarvar, M., Faghihian, H. ve Gerami, A. 2015. Extraction of ferulic acid from sugar beet pulp by alkaline hydrolysis and organic solvent methods. Springer Science+Business Media New York 2015
- Altan, A., 1986. Tahıl İşleme Teknolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, Ofset Atölyesi, Adana, 107s.
- Anonim, 1992. Un. Gıda İşveren Dergisi, 24(255):16.
- Apprich, S., Tirpanalan, O., Hell, J., Reisinger, M., Böhmendorfer, S., Siebenhandl-Ehn, S., Novalin, S., Kneifel, W. 2014. Wheat Bran-Based Biorefinery 2: Valorization Of Products. Lwt – Food Science And Technology, 56(2): 222–231.
- Barberousse, H., Kamoun, A., Chaabouni, M., Giet, J.M., Roiseux, O., Paquot, M., Deroanne, C., Blecker, Ch. 2009. Optimization Of Enzymatic Extraction Of Ferulic Acid From Wheat Bran, Using Response Surface Methodology, And Characterization Of The Resulting Fractions. Journal Of The Science Of Food And Agriculture, 89(10): 1634–1641.
- Bonnin, E., Saulnier, L., Brunel, M., Marot, C., Meessen, L. L., Asther, M. ve Thibault, J.F. 2001. Release of ferulic acid from agroindustrial by-products by the cell wall-degrading enzymes produced by *Aspergillus niger* I-1472. Enzyme and Microbial Technology 31 (2002) 1000–1005
- Buranov, A.U., Mazza, G. 2009. Extraction And Purification Of Ferulic Acid From Flax Shives, Wheat And Corn Bran By Alkaline Hydrolysis And Pressurised Solvents. Food Chemistry, 115(4): 1542–1548.
- Calabrese, V., Guagliano, E., Sapienza, M., Mancuso, C., Butterfield, DA. ve Stella, AM. 2006. Redox regulation of cellular stress response in neurodegenerative disorders.
- Chemat, F., Tomao, V., & Viro, M., 2008. In: Otle, S. (Ed.), Handbook of Food Analysis Instruments. CRC Press, pp. 85–94.
- Cooke, D.A. And Scoot, R.K., The Sugar Beet Crop. Chapman And Hall, London, Uk, 1993.
- Crotty B.A., Znaiden A.P., Johnsonson A. (1998): Ferulic Acid With Dimethyl İsosorbide İn Cosmetic Compositions, Patent Ca Section 62 (Essential Oils And Cosmetics). Us 5824326
- Çimen H., 2010. Şeker Üretim Sürecinde Şerbetlerdeki Şeker Dışı Maddelerin İletkenlik ve Gravimetrik Yöntemle Tayini. Selçuk Üniversitesi, Fen

- Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Konya, 4s.
- Er, C. Ve Uranbey S., Nişasta Ve Şeker Bitkileri, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ankara, 1998.
- Falleh, H., Ksouri, R., Lucchessi, M.E., Abdelly C., and Magné C., Tropical Journal of Pharmaceutical Research April 2012; 11 (2): 243-249
- F.Centini, A.MastiI, Barni Comparini, Forensic Science International Volume 83, Issue 3, 27 December 1996, Pages 161-166
- Fry S.C. (1982): Phenolic Components Of The Primary Cell Wall. Biochem. J., 203: 493-504.
- Gencer, O., Genel Tarla Bitkileri (Endüstri Bitkileri), No:42, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Adana, 1988.
- Gruppen, H., Kühnel, S. ve Schols, H. A. 2011. Aiming for the complete utilization of sugar-beet pulp: Examination of the effects of mild acid and hydrothermal pretreatment followed by enzymatic digestion. Kühnel et al. Biotechnology for Biofuels 2011, 4:14
- Hazneci, K., “Şeker Pancarı Ve Buğday Tohumluğu Üretiminde Teknik Etkinlik Ve Fiyat Değişkenliğinin İşletme Organizasyonuna Etkisi”, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Y.L. Tez, 2015.
- Hawthorne, S.B., Grabanski,C.B., Martin,E., MillerD.J., Journal of Chromatography A, Volume 892, Issues 1–2, 15 September 2000, Pages 421-433
- Hoseney, R.C., 1986. Principles Of Cereal Science And Technology. American Association Of Cereal Chemists (Aacc), Inc. St. Paul, Minnesota, Usa, 372s.
- Huddleston, J.G.,Willauer, H.D.,Swatloski, R. P., Visser A.E., and Rogers, R.D., Chemical Communications. Issue 16, 1998.
- Iriyama, K., Ogura N.,and Takamiya, A., J. Biochem., 76, 901-904 (1974)
- Izydorczyk, M., Biliaderis C.G. (1995): Cereal Arabi- Noxylans Advances In Structure And Physiochemical Proper- Ties. Carbohydr. Polym., 28: 33-48.
- Janghe A., S. Deo, P. Raut, D. Bhosle, C. Verma, S.S.Kumar , M. Agrawal, N. Amit, M.Sharma, Research J. Pharm. and Tech. 8(6): June 2015.
- Jankovska P., Copikova J. ve Sınıtsya A. 2001. The determination of ferulic acid in sugar beet pulp. Czech J. Food Sci., 19: 143-147
- Jariwalla, RJ. 2001. Rice-bran products: phytonutrients with potential applications in preventive and clinical medicine. Drugs Exp Clin Res 27 (1): 17-26

- Kaufmann, B., Christen, P., 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction. *Phytochemical Analysis* 13 (2), 105–113.
- Kunal, A., Gaidhan, Harwalkar, M., Bhambere, D., Nirgude P.S., *World Journal of Pharmaceutical Research*, Vol 4, Issue 8, 2015.
- Kent, N.L., 1984. *Technology Of Cereals*. Pergamon Press, No: 2143 Usa, 220s.
- Kırtok, Y., 1992. Genel Tarla Bitkileri. Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Atölyesi, Adana, 114s.
- Lai, C.S., 1986. Effect Of Wheat Bran, Short And Germ On Bread Making. Department Of Grain Science And Industry Kansas State University (Phd Thesis), U.S.A.
- Liska, I., *Journal of Chromatography A* Volume 885, Issues 1–2, 14 July 2000, Pages 3-16
- Liyama, K., Lam T.B.T., Stone B.A. (1994): Covalent Cross- Links İn The Cell Wall. *Plant Physiol.*, 104: 315-320.
- Maga, J.A., Naim M., Zehavi U., Nagy S., Rouseff R.L. (1992): In: Chi-Tang Ho, Chang Y. Lee, Mou-Tang Huang (Eds): *Phenolic Compounds İn Food And Their Ef- Fects On Health I*. Am. Chem. Soc., Washington Dc: 170-191.
- Mandal, V., Mohan, Y., Hemalatha, S., *Pharmacognosy Reviews* Vol 1, Issue 1, Jan-May, 2007.
- McParland, M. and Bates, N., 2002. *Toxicology of Solvents*, Rapra Technology Limited, Shawbury, Shrewsbury, Shropshire, SY4 4NR, United Kingdom
- Meessen, L.L., Stentelaire, C., Lomascolo, A., Couteau, D., Asther, M., Moukha, S., Record, E., Sigoillot, J.C. ve Asther, M. 1999. Fungal transformation of ferulic acid from sugar beet pulp to natural vanillin. *Sci Food Agric* 79:487-490 (1999).
- MENGELOĞLU, M., “Şeker Pancarı Posası Kullanılarak Polivini Alkol (PVA) Esaslı Biyobozunur Film Üretimi”, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi FBE, Y.L. Tez, 2014.
- Ou, S., Luo, Y., Xue, F., Huang, C., Zhang, N., Liu, Z. 2007. Separation And Purification Of Ferulic Acid İn Alkaline-Hydrolysate From Sugarcane Bagasse By Activated Charcoal Adsorption/Anion Macroporous Resin Exchange Chromatography. *Journal Of Food Engineering*, 78(4): 1298–1304.

- Özer, G. Ve Ertunç, F., “Amasya şeker Fabrikası şekerpancarı Ekim Alanlarında Rhizomania Hastalığının Belirlenmesi”, Tarım Bilimleri Dergisi 11 (3), 339-343, 2005.
- Özer, M.S., 1998. Kepekli Ekmeklerin Bazı Niteliklerinin İncelenmesi ve Kalitelerinin İyileştirilmesi Olanakları. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Doktora Tezi (Yayınlanmamış), Adana, 152s.
- Prückler, M., Siebenhandl-Ehn, S., Apprich, S., Höltinger, S., Haas, C., Schmid, E., Kneifel, W. 2014. Wheat Bran-Based Biorefinery 1: Composition Of Wheat Bran And Strategies Of Functionalization. *Lwt – Food Science And Technology*, 56(2): 211–221.
- Pussayanawin V., Wetzel D. (1987): High-Performance Liquid Chromatographic Determination Of Ferulic Acid In Wheat Milling Fractions As A Measure Of Bran Contamination. *J. Chromatogr.*, 391: 243-255.
- Qu, Q., Tang, W., Tang, B., Zhu, T. 2017. Highly Selective Purification Of Ferulic Acid From Wheat Bran Using Deep Eutectic Solvents Modified Magnetic Nanoparticles. *Separation Science And Technology*, 52(6): 1022–1030.
- Ralph J., Quideau S., Grabber J., Hatfield D. (1994): Identification And Synthesis Of New Ferulic Acid Dehydrodimers Present In Grass Cell Walls. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1: 3485-3494
- Redfern, J., Kinninmonth, M., Burdass D., and Verran, J., *Journal Of Microbiology & Biology Education*, May 2014, P. 45-46
- Ruthes, A.C., Martínez-Abad, A., Tan, H.T., Bulone, V., Vilaplana, F. 2017. Sequential Fractionation Of Feruloylated Hemicelluloses And Oligosaccharides From Wheat Bran Using Subcritical Water And Xylanolytic Enzymes. *Green Chemistry*, 19(8): 1919–1931.
- Sakamoto, T., Nishimura S., Kato, T., Sunagawa Y., Tsuchiyama, M. ve Kawasaki, H. 2004. Efficient Extraction of Ferulic Acid from Sugar Beet Pulp Using the Culture Supernatant of *Penicillium chrysogenum*. *J. Appl. Glycosci.*, 52, 115-120 (2005)
- Saulnier L., Crépeau M.J., Lahaye M., Thibault J.F., Garcia-Conesa M.T., Kroon A.P., Williamson G. (1999): Isolation And Structural Determination Of Two 5,5'-Di-Feruloyl Oligosaccharides Indicate That Maize Heteroxylans Are Covalently Cross-Linked By Oxidatively Coupled Ferulates. *Carbohydr. Res.*, 320: 82-92.
- Schoenrock, U., Untiedt, S., Kux, U., Inoue, K. (1997): Use Of Tocopheryl Ferulates For Lightening The Skin Browning Caused By Uv Radiation. Patent Ca Section 62 (Essential Oils And Cosmetics). De 19615575.
- Shanthi, J., and Vijayalakshmi S. R., *Asian J. of Adv. Basic Sci.*: 3(1), 2014, 89-93

- Smith, M.M., Hartley, D.R., (1983): Occurrence And Nature Of Ferulic Acid Substitution Of Cell-Wall Polysaccharides In Gramineous Plants. *Carbohydr. Res.*, 118: 65-80.
- Srinivasan, M., Sudheer, AR., Menon, VP., 2007. Ferulic Acid: therapeutic potential through its antioxidant property. *J Clin Biochem Nutr* 40 (2): 92-100
- Ünal, S.S., 1991. Hububat Teknolojisi. Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Yayın No:29, İzmir, 216s.
- Vicre, M., Farrant J. M., ve Driouch, A., *Plant, Cell and Environment* (2004) 27, 1329–1340
- Vınx, C.J.A., Delcour, J.A., (1996): Rye (*Secale Cereale L.*) Arabinoxylans: A Critical Rewiew. *J. Cereal Sci.*, 24: 1-14.
- Voragen, A.G.J., Bergmans, M.E.F., Oosterveld, A., Schols, H.A., Beldman, G. (1994): Carbohydrates As Or- Ganic Raw Materials Iıı. In: Van Bekkum H., Röper H., Voragen F. (Eds): Carbohydrate Research Foundation. The Hague, The Netherlands.
- Voragen, A.G.J., Schols, H.A., Pılnık, W. (1986): Deter- Mination Of The Degree Of Methylation And Acetylation Of Pectins By Hplc. *Food Hydrocoloids*, 1: 65-70.
- Wang, L., Yao, Y., He, Z., Wang, D., Liu, A., Zhang, Y., 2013. Determination Of Phenolic Acid Concentrations In Wheat Flours Produced At Different Extraction Rates. *Journal Of Cereal Science*, 57(1): 67–72.
- Yavaş, Y., “Hemiselülaz Enziminin Tam Buğday Unlu Keklerin Fiziksel Özellikleri Üzerine Etkisi”, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Y.L. Tez, 2011.
- Zhao,Z., Moghadasian,M.H., (2008): Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: A review, Canada

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri:

Adı Soyadı: Mensur GÜN

E-posta: mensurgun@gmail.com

Adresi: Çaybaşı M. 73221. S. No:42 Çumra/KONYA

Eğitim:

Lise: Çumra Cumhuriyet Lisesi

Lisans: Marmara Üniversitesi

Yüksek Lisans: Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi

Yabancı Dil ve Düzeyi: İngilizce-orta

İş Deneyimi: 14 yıl

Deneyim Alanları: Şeker ve Gıda Sanayii Laboratuvar Hizmetleri