

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FUERTE VE HASS ÇEŞİDİ AVOKADO MEYVE VE ÇEKİRDEK
KABUKLARI İLE YAPRAKLARINDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN
MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYONUNDA İŞLEM
PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU**

Nevriye KURT

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ebru AYDIN**

**II. Danışman
Prof. Dr. Gülcan ÖZKAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA- 2023**



© 2023 [Nevriye KURT]

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	5
2.1. Dünyada Avokado Yetiştiriciliği	6
2.2. Ülkemizde Avokado Yetiştiriciliği.....	6
2.3. Avokadonun Besin İçeriği ve Sağlık Açısından Önemi.....	9
2.4. Ekstraksiyon, Antioksidan ve Antidiyabetik Aktivite	12
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1. Materyal.....	25
3.2. Metotlar	26
3.2.1. Nem ve toplam kuru madde tayini	26
3.2.2. Mikrodalga destekli su ekstraksiyon işlem şartlarının optimizasyonu	27
3.2.3. Ekstraksiyon veriminin belirlenmesi	36
3.2.4. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi.....	36
3.2.5. DPPH serbest radikalleri yakalama aktivitesinin belirlenmesi	36
3.2.6. Fenolik bileşiminin HPLC ile belirlenmesi	37
3.2.7. Antidiyabetik aktivitesinin belirlenmesi.....	38
3.3. İstatistiksel Analizler	40
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	41
4.1. Avokado Meyve kabuğu, Yaprak ve Çekirdek Kabuğunun Bazı Fizikokimyasal Özellikleri	41
4.2. Hass ve Fuerte Avokado Çeşitlerinin Yaprak, Meyve ve Çekirdek Kabuğu Su Ekstraktlarının Verim ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Ekstraksiyon Modellemesi.....	42
4.3. Hass Ve Fuerte Avokado Yaprak, Meyve ve Çekirdek Kabuğunun Su Ekstraktlarının Verim ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Optimizasyonu Ve Modellerin Doğrulanması.....	62
4.4. Optimum Şartlarda Ekstrakte Edilen Hass ve Fuerte Çeşidi Avokado Yaprak, Meyve ve Çekirdek Kabuğunun Su Ekstraktlarının Bazı Fizikokimyasal Özellikleri	64
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	78

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

FUERTE VE HASS ÇEŞİDİ AVOKADO MEYVE VE ÇEKİRDEK KABUKLARI İLE YAPRAKLARINDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYONUNDA İŞLEM PARAMETRELERİNİN OPTİMİZASYONU

Nevriye KURT

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ebru AYDIN

II. Danışman: Prof. Dr. Gülcan ÖZKAN

Avokadonun (*Persea americana* Mill.) yaygın olarak bilinen Fuerte ve Hass çeşitlerinin atıkları olan yaprakları ile meyve ve çekirdek kabuklarının biyoaktif bileşenlerce zengindir. Bu çalışmada, yanıt yüzey metodu (RSM) ve merkezi karma tasarımı (Central Composite Desing, CCD) ile Fuerte ve Hass çeşidi avokadoların yaprakları ile meyve ve çekirdek kabuklarından fenolik madde ekstraksiyonunda mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE) işlem parametrelerinin optimize edilmesi hedeflenmiştir.

Fuerte ve Hass çeşidinin yapraklar ile meyve ve çekirdek kabuklarının ekstraksiyon verimi (%) ve toplam fenolik madde içeriği ($\mu\text{g GAE/g}$ ekstrakt) bakımından değerlendirildiğinde işlem koşullarından sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranı optimum değerleri sırasıyla Fuerte çeşidi yaprakta 60 °C'de 5 dk ve 1 g kuru yaprak/100 mL su oranında, meyve kabuğunda 39 °C'de 5 dk ve 1 g kuru kabuk/100 mL su oranı ile çekirdek kabuğunda 60°C'de 5 dk 1.66 kuru çekirdek kabuğu/100 mL su oranında tespit edilmiştir. Hass çeşidinde ise yaprakta 47°C'de 5 dk ve 1.13 g kuru yaprak/100 mL su oranında, meyve kabuğunda 60°C'de 5 dakika ve 1 g kuru kabuk/100 mL su oranı ile çekirdek kabuğunda 60°C'de 5 dakika ve 4.28 kuru çekirdek kabuğu/100 mL su oranında tespit edilmiştir. Tüm modellerin tahmin değerleri istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.001$).

Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen su ekstraktlarının fonksiyonel özellikleri olarak ise toplam fenolik madde miktarı, fenolik bileşimi ile antidiyabetik ve serbest radikalleri yakalama aktiviteleri tespit edilmiştir. Optimum ekstraktlarının α -glikozidaz aktivitesi Fuerte çeşidi yaprakta %66.12, meyve kabuğunda %86.71 ve çekirdek kabuğunda %23.66 bulunmuştur. Hass çeşidi yaprakta %64.59, meyve kabuğunda %78.41 ve çekirdek kabuğunda %32.09 olarak saptanmıştır. Ayrıca, Hass ve Fuerte çeşidi avokadonun yaprak ve meyve kabuklarının su ekstraktlarında majör bileşen olarak klorojenik asit tespit edilmiştir. Her iki çeşidin de çekirdek kabuklarının su ekstraksiyonlarında

majör fenolik bileşik olarak protokateşik asit saptanmıştır. Optimum şartlarda elde edilen Fuerte çeşidi avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuk ekstraktlarının TFM miktarları sırasıyla 1342.47, 2523.61 ve 347.24 µg GAE/g ekstrakt olarak bulunmuştur. Hass çeşidinde ise avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuk ekstraktlarının TFM miktarları sırasıyla 591.76, 1339.06 ve 273.84 µg GAE/g ekstrakt olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak Fuerte ve Hass türü avokadoların yaprakları ile meyve ve çekirdek kabukları fenoliklerinin yeşil ekstraksiyon tekniklerinden biri olan MAE ile kısa sürede, düşük enerji ihtiyacı ve maksimum verim elde edildiği görülmüştür. Yaprak ve meyve kabukları yüksek fenolik, antioksidan ve antidiyabetik içeriklerinden dolayı takviye gıda olarak gelecekte diyabet hastalarında ve beslenmede kullanılabilir.

Anahtar Kelimeler: Avokado (*Persea americana* Mill), yanıt yüzey yöntemi (RSM), mikrodalga destekli su ekstraksiyon.

2023, 78 sayfa

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

OPTIMIZATION OF PROCESS PARAMETERS IN THE MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM FUERTE AND HASS AVOCADO FRUIT PEELS, SEED COATS AND LEAVES

Nevriye KURT

**Süleyman Demirel University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering**

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ebru AYDIN

Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gülcan ÖZKAN

Fuerte and Hass are widely known avocado varieties. Their fruit and seed shells and leaves, which are the wastes of avocado fruits, are rich in bioactive components.

In this study, it was aimed to optimize the microwave assisted extraction (MAE) process parameters of phenolic compounds from the fruit and seed shells and leaves of Fuerte and Hass avocado varieties using the response surface method (RSM) and central mixed design (CCD).

In terms of extraction yield (%) and total phenolic content ($\mu\text{g GAE/g extract}$) of fruit and seed shells and leaves of Fuerte and Hass avocados optimum extraction conditions were evaluated based on temperature, time and solid/solvent ratio and the optimized processing conditions were found for Fuerte's fruit and seed shells and leaves as 60 °C 5 min and 1 g dw leaf/100 mL, 39 °C, 5 min and 1 g dw peel/100 mL water and 60 °C for 5 min 1.66 dw coating/100 mL, respectively. Similarly the optimized conditions for Hass's fruit and seed shells and leaves optimized conditions were determined as 47 °C, 5 min and 1.13 g dry leaves/100 mL water, 60 °C 5 min and 1 g dry peel/100 mL and 60 °C, 5 minutes and 4.28 dry coating/100 mL water, respectively. The predicted values of all models were statistically significant ($p < 0.001$).

The extracts produced under optimum conditions were analyzed for their functional properties and their total phenolic content, phenolic composition, antidiabetic and free radical scavenging activities were determined. The α -glucosidase activity (%) of the optimum extracts was found for Fuerte fruit and seed shells and leaves 66.12, 86.71 and 23.66, respectively. Fruit and seed shells and leaves of Hass variety's α -glucosidase activity (%) was detected in order of 64.59, 78.41 and 32.09. In addition, chlorogenic acid was determined as the major component for both varieties leaves and fruit peels. Protocatechic acid was detected as the major phenolic compound in the water extraction of the

seed coats of both cultivars. The TPC of extracts of Fuerte avocado leaf, fruit peel and seed coats were found as 1342.47, 2523.61 and 347.24 $\mu\text{g GAE/g}$ extract, respectively. Whereas for Hass TPC of extracts for leaf, fruit peel and seed coat were determined in order of 591.76, 1339.06 and 273.84 $\mu\text{g GAE/g}$.

As a result, it was observed that microwave assisted extraction, which is one of the green extraction techniques, provides energy and time saving, and maximum efficiency for the fruit and seed shells and leaves phenolics of Fuerte

and Hass avocados. Due to their high phenolic, antioxidant and antidiabetic contents of the leaves and fruit peels, they may be used as a supplement in the future for diabetic patients and daily nutrition.

Keywords: Avocado (*Persea americana* Mill.), response surface method (RSM), microwave assisted extraction.

2023, 78 pages

TEŞEKKÜR

Öncelikle, yüksek lisans tez çalışmamın tasarlanmasında, veri toplanmasında danışmanlığımı yaparak beni yönlendiren ve tezimde çalışma ve yazım aşamalarında ilgisini ve desteğini her zaman gösteren, bilgi ve düşüncelerini esirgemeyen ve her zaman yol gösteren, zorlukları aşmamda yardımcı olan Danışman Hocam Dr. Öğr. Üyesi Ebru AYDIN'a teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans tez çalışmamda eş danışmanlığımı yapan, laboratuvar çalışmalarında ilgisi ve yol göstericiliğiyle, araştırmalarımda yardımcı olan, tez yazım aşamasında önerileri ile beni yönlendiren ve desteğini her zaman gösteren sevgili eş danışmanım Prof. Dr. Gülcan ÖZKAN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında bilgilerini ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen sevgili Hocam Doç. Dr. Erkan KARACABEY'e teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans hayatım boyunca her zaman yardım eden ve destek olan Dr. Muhammed Mustafa ÖZÇELİK, Gıda Yüksek Mühendisi Sedef AYDIN, Dr. Merve Seçil TURAN, Gıda Yüksek Mühendisi Mehmet AKSU, Gıda Yüksek Mühendisi Pınar ÜNSAL ve Gıda Yüksek Mühendisi Fulya DAL'a teşekkür ederim. Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi'ndeki sevgili çalışanlarına da çok teşekkür ederim.

Çalışmada verilerin planlanmasında ve değerlendirilmesinde, TÜBİTAK ile SDÜ iş birliğiyle yapılan Analitik Doğa-Kümeleme ve Ordinasyon Teknikleri (2237-BİDEB Etkinlik No:1129B372100180) ve Doğa Bilimlerinde İstatistiksel Modelleme Teknikleri ve Uygulamaları (2237-BİDEB Etkinlik No:1129B372000706) adlı bilimsel etkinlikler için başta TÜBİTAK olmak üzere, proje koordinatörlerine ve tüm hocalara sonsuz teşekkürlerimi sunarım

FYL-2021-8258 No'lu Proje ile maddi olarak tezime destek veren Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Materyal olarak kullandığımız avokadoların sağlanmasında desteği olan Fatma ÇETİN ve Ömer ÇETİN'e çok teşekkür ederim.

Nevriye KURT
ISPARTA, 2023

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Fuerte çeşidi avokado, yaprak ve çekirdek resmi.....	8
Şekil 2.2. Hass çeşidi avokado, yaprak ve çekirdek resmi	9
Şekil 2.3. Mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı.....	13
Şekil 3.1. Kurutma işlemi sırasında yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu.....	25
Şekil 3.2. Optimum şartlarda elde edilen avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu ekstraktlarının, sükrozun glukozidaz enziminin hidrolizi ile açığa çıkan glikoz ve fruktoz miktarının belirlenmesinde yararlanılan kimyasal reaksiyon aşamaları.....	39
Şekil 4.1. Fuerte avokado yaprağının, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi.....	45
Şekil 4.2. Fuerte avokado meyve kabuğunun, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (a) ve toplam fenolik maddeye sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (b)	48
Şekil 4.3. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (a) ve toplam fenolik maddeye sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (b)	52
Şekil 4.4. Hass avokado yaprağının, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi.....	55
Şekil 4.5. Hass avokado meyve kabuğunun, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (a) ve toplam fenolik maddeye sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (b)	58
Şekil 4.6. Hass avokado çekirdek kabuğunun, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (a) ve toplam fenolik maddeye sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (b)	61

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1. Avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğunda bulunan bazı fenolik bileşikler.....	2
Çizelge 1.2. Avokadonun bazı fonksiyonel özellikleri	3
Çizelge 2.1. Avokado bitkisinin sınıflandırılması	5
Çizelge 2.2. 2013 yılından 2017 yılına kadar ülkelerin avokado üretim miktarları (ton)	6
Çizelge 2.3. 100 g Hass ve Fuerte çeşidi avokado meyvesinin besin içeriği.....	10
Çizelge 3.1. Fuerte avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları	27
Çizelge 3.2. Fuerte avokado yaprağının bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri	28
Çizelge 3.3. Fuerte avokado yaprağının merkezi karma tasarımı	28
Çizelge 3.4. Fuerte avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları	29
Çizelge 3.5. Fuerte avokado meyve kabuğunun bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri	29
Çizelge 3.6. Fuerte avokado kabuğunun merkezi karma tasarımı	30
Çizelge 3.7. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları	30
Çizelge 3.8. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri	31
Çizelge 3.9. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun merkezi karma tasarımı.....	31
Çizelge 3.10. Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları	32
Çizelge 3.11. Hass avokado yaprağının bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri	32
Çizelge 3.12. Hass avokado yaprağının merkezi karma tasarımı	32
Çizelge 3.13. Hass avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları	33
Çizelge 3.14. Hass avokado meyve kabuğunun bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri	33
Çizelge 3.15. Hass avokado meyve kabuğunun merkezi karma tasarımı.....	34
Çizelge 3.16. Hass avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları	34
Çizelge 3.17. Hass avokado çekirdek kabuğunun bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri	35
Çizelge 3.18. Hass avokado çekirdek kabuğunun merkezi karma tasarımı.....	35
Çizelge 4.1. Hass ve Fuerte çeşidi avokado meyvelerine ait farklı kısımların taze ve kurutma sonrasındaki nem içerikleri (%).....	41
Çizelge 4.2. Taze avokado meyvesinin hacim miktarları	42
Çizelge 4.3. Fuerte avokado yaprağının, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika).....	43
Çizelge 4.4. Fuerte avokado yaprağının ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri	43

Çizelge 4.5. Fuerte avokado meyve kabuğunun, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)	46
Çizelge 4.6. Fuerte avokado meyve kabuğunun ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri	46
Çizelge 4.7. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)	49
Çizelge 4.8. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri	50
Çizelge 4.9. Hass avokado yaprağının, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)	53
Çizelge 4.10. Hass avokado yaprağının ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri	53
Çizelge 4.11. Hass avokado meyve kabuğunun, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)	56
Çizelge 4.12. Hass avokado meyve kabuğunun ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri	56
Çizelge 4.13. Hass avokado çekirdek kabuğunun, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)	59
Çizelge 4.14. Hass avokado çekirdek kabuğunun ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri	59
Çizelge 4.15. Hass ve Fuerte çeşidi avokadoların yaprak, meyve ve çekirdek kabuklarının ekstraktlarının fonksiyonel özellikleri	64
Çizelge 4.16. Ekstraktların fenolik bileşenleri (mg/100g km)	65

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADA	Antidiyabetik aktivite
aw	Su aktivitesi
CCD	Merkezi karma tasarım
cm	Santimetre
DAD	Diode array dedektör
dk	Dakika
DPPH	2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
dw	Kuru ağırlık
ESI-MS	Elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometrisi
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
GRAS	Genel olarak güvenli
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IC ₅₀	%50 inhibisyon konsantrasyonu
kg	Kilogram
L	Litre
MDE	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
nm	Nanometre
p	Para
PLE	Basınçlı sıvı ekstraksiyonu
RID	Reaktif indeks dedektör
rpm	Devir/dakika
RSM	Yanıt yüzey metodu
TE	Trolox eşdeğeri
TFC	Toplam flavonoid madde
TFM	Toplam fenolik madde
UDE	Ultrasonik destekli ekstraksiyon
UV-VIS	Ultraviyole-görünür ışık
W	Güç (watt)
YSA	Yapay sinir ağı
α	Alfa
β	Beta
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
°C	Santigrat derece

1. GİRİŞ

Halk arasında avokado meyvesi olarak bilinen *Persea americana* Mill., Lauraceae familyasına ait, Meksika ve Otra Amerika kökenli bir bitkidir. Avokado 18.yy'da Meksika'dan ABD'ye, 19.yy. ortalarında ise Avustralya ve Güney Afrika'ya yayılmıştır. Daha sonra dünyanın birçok bölgesinde üretilmeye başlanmıştır. Avokado yetiştiren başlıca ülkeler Meksika, Şili, ABD, Avustralya, Güney Afrika, Peru, Endonezya ve İsrail'dir. Dünya çapında üretimde ise en büyük paya sahip ülke Meksika ve ikinci sırada Dominik Cumhuriyeti gelmektedir ve bu ülkeleri Endonezya, Peru ve Şili takip etmektedir (FAO, 2019). Fuerte, Bacon, Zuatona ve Hass çeşitleri ülkemizde yaygın olarak yetiştirilmektedir. 2019 yılında 9.491 dekar alanda avokado üretimi yapılmıştır. Antalya (%69,5) ve Mersin (%29,2) bu alanda en önemli iller arasındadır. Antalya'nın toplam üretiminin yaklaşık %80'i Alanya ve Gazipaşa ilçelerinden karşılanmaktadır (TÜİK, 2015).

Avokado meyvesi, mükemmel besin içeriğine sahiptir. Yüksek yağ içeriğinin yanında protein, lif, vitaminler (C, E, K, A, B1, B2, B3, B6, B9) ve kalsiyum, sodyum, magnezyum ve potasyum minerallerini içerir. Az miktarda şeker (%1'den az) içerdiği için diyet yiyeceği olarak tercih edilir (Haas, 1937; Slater vd., 1975; Wolstenholme, 1986; Dreher & Davenport, 2013; Juma, 2020; Murathan vd., 2020; Marı'n-Obispo vd., 2021). Ayrıca vitamin, mineral ve biyoaktif bileşik açısından zengin olan avokado meyvesi, yüksek miktarda fenolik maddeler (hidroksisinnamik asitler, flavonoidler ve tanenleri içerir), karotenoitler, tokoferoller (α , β , γ ve δ), asetogeninleri, teklidoymamış ve çoklu doymamış yağ asitlerini içerir (Bhuyan vd., 2019).

Ayrıca, avokado yaprakları, meyve kabuğu ile çekirdek kabuğu meyve etinden daha yüksek miktarlarda fenolik madde içeriğine ve *in vitro* antioksidan potansiyeline sahiptirler (Çizelge 1.1 ve 1.2)

Çizelge 1.1. Avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğunda bulunan bazı fenolik bileşikler

Fenolik Bileşikler	Yaprak	Meyve kabuğu	Çekirdek kabuğu	Kaynakça
Gallik asit	+	-	-	Torres vd., 2002; Jiménez vd.,
Kateşin	-	+	-	Carpena vd., 2011b; Kosin vd., 2012; Rosero vd., 2019; Weremfo vd., 2020a
<i>p</i> -Hidroksi benzoik asit	+	+	-	Rodríguez-Torres vd., 2002; Owolabi vd., 2010; Rodríguez-Carpena vd., 2011b; Figueroa, Borrás-Linares, Lozano-Sánchez, & Segura-Carretero, 2018b; Jimenez vd., 2020; Figueroa vd., 2021; Rodríguez-Martínez vd., 2021
Klorojenik asit	+	-	-	Adelusi vd., 2014; Jiménez vd., 2017
Kafeik asit	+	-	-	Torres vd., 2002; Adelusi vd., 2014; Jiménez vd., 2017; Jimenez vd., 2020
Epikateşin	+	+	-	Owolabi vd., 2010; Adelusi
Şirincik asit	+	-	-	Adelusi vd., 2014; Weremfo
<i>p</i> -Kumarik asit	+	-	-	Torres vd., 2002; Jimenez vd., 2020.
Rutin	+	-	-	Adelusi vd., 2014; Weremfo vd., 2020a; Weremfo vd., 2020b
Kuersetin	+	-	-	Jiménez vd., 2017

*+: Var, -: Yok

Avokado meyvesinin gıda olarak tüketiminin yanında, geleneksel olarak antioksidan antidiyabetik, antikanser, antimikrobiyal ve kardiyovasküler hastalıkların tedavisi için kullanımı da mevcuttur (Hughes vd., 2009; Owolabi vd., 2010; Rodríguez-Carpena vd., 2011c; Noorul vd., 2016). Bir yan ürün olan avokado yaprağı, meyve ve çekirdek kabuklarının antioksidan, antidiyabetik, antikanser, antimikrobiyal özellikleri ile kardiyovasküler hastalıklar üzerine etkisinin tespit edildiği çalışmalar Çizelge 1.2’de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Avokadonun bazı fonksiyonel özellikleri

Fonksiyonel Özellikler	Yaprak	Meyve Kabuğu	Çekirdek Kabuğu	Kaynakça
Antioksidan	+	+	+	Owolabi vd., 2010; Rodríguez- Wang vd., 2010; Carpena vd., 2011b; An Rodríguez-Carpena vd., 2011; Kosińska vd., 2012; Dreher & Davenport, 2013b; Calderón-Oliver vd., 2016a; Yurt & Demirel, 2017; Kingne Kingne vd., 2018; Figueroa, Borrás-Linares, Lozano-Sánchez & Segura-Carretero, 2018a; Alkhalaf vd., 2019; Bhuyan vd., 2019
Antidiyabetik	+	+	-	Owolabi vd., 2010; Lima vd., 2012; Njateng vd., 2018
Antikanser	+	+	-	Flagg vd., 1994; Smyth vd., 1997; Cascinu vd., 2002; Thomson vd., 2007; Hughes vd., 2009; Tamimi vd., 2009
Antimikrobiyal	-	+	-	Raymond Chia & Dykes, 2010; Rodríguez-Carpena vd., 2011c; Calderón-Oliver vd., 2016b; Salinas-Salazar vd., 2017; Athaydes vd., 2019
Kardiyovasküler	+	+	-	Foster-Powell vd., 2002; Dreher & Davenport, 2013c; Noorul vd., 2016

*+: Var; -: Yok

Biyoaktif bileşenlerin ekstraksiyon teknolojisi gün geçtikçe gelişme gösteren bir alan olup günümüzde, geleneksel olan ekstraksiyon yöntemlerindeki bazı dezavantajlardan dolayı, yeni ekstraksiyon tekniklerinin kullanımına karşı artan bir talep görülmektedir (Sahena vd., 2009). Yeni ileri ekstraksiyon teknolojisinin başlıca avantajları, otomasyona uygunluk, yüksek ekstraksiyon verimliliği, düşük enerji ve solvent tüketimi, kısa ekstraksiyon süreleri ve çevre dostu teknolojidir (Sparr Eskilsson & Björklund, 2000; Xing vd., 2017).

MAE mikrodalga ve geleneksel çözücü ekstraksiyonunu birleştiren yeni bir ekstraksiyon tekniğidir (Delazar vd., 2012). MAE, bileşenleri numune

matrisinden çözücüye aktarmak ve numune ile temas halindeki çözücülerini ısıtmak için, mikrodalga enerjisi kullanma işlemidir. Numune çözücü karışımını hızlı bir şekilde ısıtma yeteneği ile optimum sıcaklıklarda ekstraksiyon gerçekleştirilebilir. Çoğu durumda, bileşiklerin geri kazanımları ve tekrarlanabilirlikleri geleneksel tekniklere kıyasla yüksektir (Sparr Eskilsson & Björklund, 2000). Daha kısa ekstraksiyon süresi, az çözücü, yüksek ekstraksiyon hızı ve düşük maliyet gibi birtakım avantajlara sahiptir. MAE teknolojik gelişmeler sayesinde günümüzde popüler ve uygun maliyetli ekstraksiyon yöntemlerinden biri haline gelmiştir (Delazar vd., 2012).

Yanıt yüzey yöntemi, günümüzde gıda proseslerinde ve daha çok ekstraksiyonda, proses değişkenlerinde ve bunların optimize edilmesinde yoğun olarak kullanılan istatistiksel bir metottur. CCD ise süreci optimize etmek için etkili bir araçtır (Guaracho vd., 2009) ve mühendislik ile alakalı çalışmalarda en yaygın kullanılan deneysel tasarımlardan biridir (Radojković vd., 2013).

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon işlemi çeşitli çözücüler ve yöntemler kullanılarak yapılmaktadır. Yapılan literatür taramalarında avokado yaprak ve meyve kabuğundan ultrases ekstraksiyonu ile etanol, etanol:su ve su çözücülerini kullanılarak yapılan bazı çalışmalar mevcuttur (Salar Bashi vd., 2011; Che-Galicia vd., 2020; Monzón vd., 2021; Hefzalrahman vd., 2022).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile ise sadece meyve kabuğundan etanol:su kullanılarak fenolik madde ekstraksiyonunun yapıldığı sınırlı sayıda çalışmaya rastlanmıştır (Figuerola vd., 2021). Ancak avokado yaprak ve çekirdek kabuğunda MAE çalışması henüz mevcut değildir.

Yukarıdaki bilgilerden yola çıkarak bu tez çalışmasında, avokado (*Persea americana* Mill.) yaprakları, meyve ve çekirdek kabuklarının fenoliklerinin mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun yanıt yüzey metodu ile optimize edilmesi amaçlanmıştır. Ek olarak, ekstraktların biyofonksiyonel özellikleri (antioksidan ve antidiyabetik aktivite) ile bazı biyoaktif bileşenlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Avokado veya Timsah armudu, Lauraceae familyasında olan iki çenekli bir bitkidir (Çizelge 2.1). Avokadonun kökeni Orta Amerika olmakla birlikte Meksika'nın doğu bölgelerinden, Orta Amerika'nın Pasifik sahilleri boyunca geniş bir coğrafi alanda yayılım göstermektedir (Güzel, 2018). İspanyolcada *aquacate* veya *ahuacate* sözcüklerinden türetilmiş olan avokadonun Türkçe adı "Amerikan Armudu" olarak isimlendirilmektedir.

Çizelge 2.1. Avokado bitkisinin sınıflandırılması (Güzel, 2018).

Familya	Laureceae
Cins	<i>Persea</i>
Tür	<i>Persea americana</i> Mill.
Alt Tür	-Guatemala -Meksika -Batı Hint

Avokado ilk defa 'Suma de Geografia' isimli kitapta 1510 yılında Martin Fernandez De Enrisco tarafından belirtilmiştir. Avokado 18.yy'da Meksika'dan ABD'ye, 19.yy'da ise Avustralya ve Güney Afrika'ya yayılmıştır. Bu dönemlerden sonra avokado dünyanın birçok bölgesinde yaygın hale gelmiş ve üretilmeye başlanmıştır (Güzel, 2018). Daha sonralarda coğrafi izolasyon nedeniyle, farklı botanik türlere dönüşen alt türler geliştirmiştir. Meyve ağırlığı 75 ila 300 g arasında değişir ve genel olarak şekli yuvarlak ve yeşil kabukludur. Meyve özelliklerinde sadece alt türler arasında değil, aynı zamanda bir alt tür içindeki çeşitler arasında da büyük farklılıklar vardır. Çeşitler arasındaki en belirgin farklılardan biri, olgunlaştığında kabuk rengidir. Bazı çeşitlerin meyve kabuğu, ileri olgunluk veya olgunlaşma ile yeşilden siyaha veya mora değişir. Kuspesi yeşil renklidir. Tropik ve subtropiktir. Sistematik çalışmalar 500'den fazla çeşidi sınıflandırmıştır (Yahia & Woolf, 2011).

2.1. Dünyada Avokado Yetiştiriciliği

Avokado soğuk iklim şartlarını sevmeyen ve tropik/yarı tropik bölgelerde yaygın olarak yetişen bir meyve olup dünya üzerinde birçok ülkede yetiştirilmektedir. Çeşitli ülkelerin coğrafi konumları ve ekolojik şartlarına göre farklı alt tür ve çeşitler yetiştirilmektedir. Dolayısıyla dünyada altmış bir avokado çeşidi bulunmaktadır. Küresel üretimde en büyük paya sahip olan Meksika, dünya üretiminin üçte birinden fazlasını karşılarken onu Dominik Cumhuriyeti ve Endonezya takip etmektedir (FAO, 2019). Çizelge 2.2’de 2013 ve 2017 yılları arasında farklı ülkelerin avokado üretim miktarları verilmiştir.

Çizelge 2.2. 2013 yılından 2017 yılına kadar ülkelerin avokado üretim miktarları (ton) (FAO, 2019)

Ülkeler	2013	2014	2015	2016	2017
Meksika	1.467.837	1.520.695	1.644.226	1.889.354	2.029.886
Dominik Cumhuriyeti	387.546	513.961	526.438	601.349	637.688
Peru	288.387	349.317	367.110	455.394	466.758
Endonezya	289.901	307.326	382.530	304.938	363.157
Brezilya	157.482	156.699	180.652	196.422	213.041
Şili	165.000	160.000	148.459	140.558	133.636
İspanya	195.971	212.749	269.105	343.008	351.111
ABD	166.106	179.124	207.750	124.860	132.730
Çin	112.000	116.000	118.203	122.875	124.110
İsrail	80.000	91.035	93.000	101.500	110.000
İspanya	69.777	77.401	86.638	91.509	92.936

2.2. Ülkemizde Avokado Yetiştiriciliği

Yetiştigi iklim şartları nedeniyle çoğu ülke avokado ihtiyacını başka ülkelere karşılamaktadır. Türkiye’nin bazı bölgeleri ise iklimi avokado üretimine uygundur ve pazarda satış fiyatı yüksektir bu sebeple, ülkemizde avokado yetiştiriciliği gün geçtikçe artmaktadır (Güzel, 2018).

Ülkemizde ilk olarak 1970’li yıllarda Kaliforniya’dan Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) tarafından 4 farklı avokado çeşidi (Fuerte, Bacon, Zuatona ve Hass) getirilerek ticari olarak ülkemizde yetiştirilmesi için İskenderun-Hatay, Antalya-Alanya, Mersin, Adana ve Muğla-Dalaman gibi ekolojik açıdan iklim şartları uygun olan şehirlerde yetiştirilmesi için denenmiştir. Bu çeşitlerin yetiştirilmesi için, Akdeniz sahil şeridindeki bazı alanların uygun olduğu tespit edilmiştir (Bayram vd., 2006).

Her geçen yıl Türkiye’deki avokado üretimi artmakta olup, 2019 yılında toplamda 9.491 dekar alanda avokado üretimi yapılmıştır. Toplam üretimin %69.5’i Antalya’dayken %29.2’u Mersin’de üretilmiştir (TÜİK, 2015). Ayrıca avokado üreten çoğu ülkede, üretimin %75’i ticari değerinin yüksek olması sebebiyle en önemli iki çeşidin Hass ve Fuerte olduğu bildirilmiştir (Hurtado-Fernández vd., 2017). Aşağıda Fuerte ve Hass avokado türlerinin botanik ve ekolojik özellikleri verilmiştir:

Kışlık bir çeşit olan Fuerte meyvesinin hasadı Kasım ile Nisan ayları arasında yapılmakta olup ortalama ağaç boyutu 4-6 metre arasındadır (Anonim, 2012). Fuerte çeşidinin meyveleri yeşil renkli, armut şekilli ve orta büyüklüktedir (Şekil 2.1). Meyvesinin eti lif içermez ve rengi açık sarıdır. Tüm avokado çeşitlerinin meyvesinde bir çekirdek bulunup büyüklükleri ve şekilleri çeşitlerine göre değişkenlik gösterebilmektedir (Şekil 2.1). Çekirdek iki çenekli olup eti yeşilimsi beyaz, sarımsı veya beyaz, renkli yüzeyi düz veya pürüzlü olabilmektedir. Fuerte çekirdeği büyük, düz ve pürüzsüz iken kabuğu açık kahverengi, konik şekilli ve ince katmanlıdır.

Fuerte çeşidi, büyük ve defne yaprağına benzeyen fakat daha büyük ve yeşil yapraklara sahiptir (Tavlı & Özkan, 2019). Fuerte çeşidi avokadonun kabuğu yeşil renkli ve kalındır, yüzeyi hafif pürüzlüdür ve olgunlaşmamış yaprakların rengi açık yeşildir (Şekil 2.1). Avokado yaprağı dağınık yapıda, oval, yuvarlak, yumurtamsı veya mızrağımsı şekillerde yaklaşık olarak 7,5 ila 37,5 cm boyutlarındadır (Bayram, 2006). Avokado yaprakları polifenoller açısından zengindir ve iyi bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Kingne Kingne vd., 2018).

Kabuđu pulptan daha yüksek miktarlarda fenoliklere ve daha yoğun bir *in vitro* antioksidan potansiyeline ve yüksek nem içeriğine sahiptir (Rodríguez- Carpena vd., 2011).



Şekil 2.1. Fuerte çeşidi avokado, yaprak ve çekirdek resmi

Yazlık bir çeşit olan Hass düşük sıcaklıklara karşı çok hassas olup orta büyüklükte ve ancak dikiminden 3 ila 4 yıl sonra meyve verebilen çeşittir. Yumurtamsı şeklindeki meyveleri Nisan, Mayıs ayları itibariyle vermekte olup yaklaşık olarak bir ağaçta 585-590 adet avokado yetiştiği saptanmıştır (Anonim, 2012).

Meyve kabuđu siyahımsı mor renkte ve yüzeyi çok pürüzlü iken orta kalınlıkta ve kolay soyulan özelliktedir (Şekil 2.2) (Anonim, 2012). Ayrıca avokado kabuğunun olgunlaşma ile yeşilden koyu mor renge dönüştüğü bildirilmiştir (Kosin vd., 2012). Meyve eti düşük lif içeriğine ve koyu sarı-krem renge sahiptir. Nem içeriği ise Fuerte çeşidine göre daha yüksek tespit edilmiştir (Rodríguez-Carpena vd., 2011).

Hass çeşidinin çekirdek büyüklüğü küçük olup yuvarlak, konik, yumurtamsı veya silindirik şekilli olabilmektedir (Şekil 2.2). İki çenekli ve düz veya pürüzlü yüzeye sahip olan çekirdeğin kabuğunun rengi ise açık kahverengi tonlarında iken eti yeşilimsi beyaz, beyaz veya sarımsı renkte olabilmektedir (Bayram, 2006).

Hass çeşidinin çekirdeği, Fuerte çeşidine göre daha küçüktür. Çekirdeğin kabuđu çok katmanlı, kalın ve odunsu kokusu vardır.

Hass ve Fuerte türlerinin yaprakları benzer özellik göstermektedir. Yapraklar Fuerte ile benzer şekilde yaklaşık olarak 7,5 ila 37,5 cm uzunluğunda mızrağımsı oval veya eliptik şekilli ve koyu yeşil renklidir (Şekil 2.2.) (Bayram,2006). Yapraklar polifenoller açısından zengindir ve iyi bir antioksidan aktiviteye sahiptir. Yapraklar polifenoller açısından zengindir ve iyi bir antioksidan aktiviteye sahiptir (Kingne Kingne vd., 2018).



Şekil 2.2. Hass çeşidi avokado, yaprak ve çekirdek resmi

2.3. Avokadonun Besin İçeriği ve Sağlık Açısından Önemi

Avokado meyvesi, mükemmel besin içeriğine sahiptir. Yüksek yağ içeriğinin yanında, protein, lif, vitaminler (C, E, K, B1, B2, B6 ve B9) ile fosfor, sodyum, magnezyum, potasyum, demir ve çinko mineralleri içerir (Alkhalaf vd., 2019). Çizelge 2.3'te Hass ve Fuerte çeşidi avokado meyvesinin besin içerikleri verilmiştir.

Çizelge 2.3. 100 g Hass ve Fuerte çeşidi avokado meyvesinin besin içeriği (Haas, 1937; Slater vd., 1975; Wolstenholme, 1986; Dreher & Davenport, 2013; Juma, 2020; Tuğba Murathan vd., 2020; Marín-Obispo vd., 2021).

Besin İçeriği	Hass Meyvesi	Fuerte Meyvesi
Enerji	114 kcal	267 kcal
Su	72.3 g	80 g
Protein	1.96 g	2.2 g
Toplam lipitler	15.4 g	17 g
Karbonhidratlar	8.64 g	6 g
Toplam diyet lifi	6.80 g	2.1 g
Şekerler	0.30 g	0.31 g
Doymuş yağ asidi	2.13 g	12.3 g
Tekli doymamış yağ asitleri	9.80 g	78.6 g
Doymamış yağ asitleri	1.82 g	9.1 g
C vitamini (askorbik asit)	8.80 mg	5.8 mg
Riboflavin (B2)	0.14 mg	0.95 mg
Niasin (B3)	1.91 mg	1.48 mg
Piridoksin (B6)	0.29 mg	0.22 mg
Folat (DFE)*	89 mg	61 mg
A Vitamini (RAE)*	7 µg	484 IU
K Vitamini (phylloquinone)	21 µg	21 µg
E Vitamini (α-tokoferol)	1.97 mg	2.1mg
Magnezyum (Mg)	29 mg	41 mg
Sodyum (Na)	8 mg	9 mg
Potasyum (K)	507 mg	555 mg
Kalsiyum (Ca)	13 mg	9.5 mg

*DFE, diyet folat eşdeğerleri; RAE, retinol aktivite eşdeğerleri

Meyvenin besin içeriği yanında yapılan çalışmalar, avokadodan elde edilen yan ürünlerin (çekirdekler ve meyve kabukları) zengin bir polifenolik bileşik kaynağı olduğunu göstermiştir (Rodríguez-Carpene vd., 2011a). Avokado posasının hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler ile prosiyanidinler açısından zengin olduğu, çekirdeklerin ise hidroksisinnamik asitler ile flavonoid bileşiklerden (+)-

kateşin, (-)-epikateşin ve 3-O-kafeoilkinik asitçe zengin olduğu bildirilmiştir (Rosero vd., 2019). Ayrıca diğer bir yan ürün olan avokado yaprağında da güçlü antioksidanlar olan flavonoidlerin varlığı tespit edilmiş olup, antidiyabetik aktivitesinin varlığı da ortaya konulmuştur (Owolabi vd., 2010).

Avokadoda, fenolik bileşikler (fenolik ve hidrokisisinnamik asitler, flavonoidler ve yoğun tanenler de dahil), karotenoidler, α , β , γ ve δ - tokoferoller, asetogeninler, tekli doymamış ve çoklu doymamış yağ asitleri avokadoda bulunan anahtar antioksidanlardır (Bhuyan vd., 2019). Yapılan bir çalışmada avokadoda bulunan fenolik bileşiklerin oksidasyonu, iltihabı ve trombosit agregasyonunu azalttığı saptanmıştır (Dreher & Davenport, 2013b). Çeşitli çalışmalarda, avokadonun yaprak, meyve kabuğu ve çekirdekleri yüksek antioksidan kapasite göstermiştir (Wang vd., 2010; Rodríguez-Carpena vd., 2011b; Figueroa, Kosińska vd., 2012; Calderón-Oliver vd., 2016a; Borrás-Linares, Lozano-Sánchez, & Segura-Carretero, 2018a; Alkhalaf vd., 2019; Bhuyan vd., 2019). Bu çalışmalar neticesinde avokadonun yan ürünleri olan avokado kabuğu, çekirdeği ve yaprağının zengin polifenolik ve antioksidan kaynakları olduğu saptanmıştır. Avokado meyvesi, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diyabet gibi kronik hastalıkların önlemesine destek olmaktadır. İçeriğindeki lipidlerin kolesterol ve kötü kolesterol düşürücü, şekeri düzenleyici bir etkisi vardır. Antioksidan miktarı fazla olduğu için bazı kanser çeşitlerinin oluşması riskini aza indirmektedir. Ayrıca fenolik bileşikler, fitokimyasallar, yağ asitleri, vitaminler, potasyum ve magnezyumun kalp damar hastalıklarına karşı koruyucu etkileri bulunmaktadır (Yurt & Demirel, 2017). Bu etkilerinden dolayı beslenme uzmanları avokado tüketimini diyet bir yiyecek olarak tavsiye etmektedirler. Kanser ilaçlarına alternatif olarak mono veya ek olarak kullanılabilecek daha güvenli alternatiflerin araştırılması, kanser araştırmalarında öncelik haline gelmektedir (Bhuyan vd., 2018). Avokado ve ana yan ürünleri (yaprak, kabuk ve çekirdek) kanser hastalığı için önemli kaynaktır. Çeşitli çalışmalarda avokadoda yaygın olarak bulunan biyoaktif bileşiklerin antikanser aktivitesini gösteren klinik çalışmalar yapılmıştır (Flagg vd., 1994; Smyth et al., 1997; Cascinu vd., 2002; Thomson vd., 2007; Hughes vd.,

2009; Tamimi vd., 2009). Bu alıřmalar sonucunda avokadonun kanseri nlemede etkisinin olabileceęi saptanmıřtır.

Son zamanlarda, gıda ve ila endüstrilerinde yaygın olarak kullanılan sentetik antimikrobiyal ajanlara alternatifler bulmaya artan bir ilgi vardır. Bunun nedeni, tüketicilerin sentetik kimyasallar ieren ürünlerin güvenlięi ve bunlarla iliřkili saęlık riskleri konusundaki endiřelerinden kaynaklanmaktadır (Papoutsis vd., 2019). Avokado endüstrisinin yan ürünleri olan ekirdekler (endokarp) ve meyve kabuklarının (eksokarp) ve antimikrobiyal zellikleri arařtırılmıřtır (Athaydes vd., 2019). řu ana kadar yürütölmüş alıřmalarda, Hass ve Fuerte avokado eřitlerinden (Raymond Chia & Dykes, 2010; Rodríguez-Carpena vd., 2011c; Calderón-Oliver vd., 2016b; Salinas-Salazar vd., 2017) elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi rapor edilmiřtir.

Diyette avokado tüketiminin kardiyovasküler hastalıklar ve lipit profilleri üzerine olumlu bir etkisinin olduęu rapor edilmiřtir. (Dreher & Davenport, 2013c; Noorul vd., 2016). Diyetle avokado alımının, düşük kolesterol sonucu kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde büyük etkisi olduęu tespit edilmiřtir. Avokadoda bol miktarlarda bulunan sindirilemeyen karbonhidratların diyabeti önleyebileceęi ve kan kolesterolünü düzenleyebileceęi rapor edilmiřtir (Pahua-Ramos vd., 2012). Glisemik indeks, gıdalardaki karbonhidratların kan řekeri seviyeleri üzerindeki etkilerine göre karşılařtırmalı bir sıralaması olarak tanımlanabilir (Foster-Powell vd., 2002).

2.4. Ekstraksiyon, Antioksidan ve Antidiyabetik Aktivite

Bu tez alıřmasında ilk olarak, geleneksel olarak antidiyabetik olduęu bilinen avokado yaprak, meyve ve ekirdek kabuęunun biyoaktif bileřenlerinin maksimum oranda MAE ile optimizasyon iřlemi gerekleřtirilmiřtir (řekil 2.3). MAE veya basite mikrodalga ekstraksiyon, mikrodalga ve geleneksel özöcü ekstraksiyonunu birleřtiren nispeten yeni bir ekstraksiyon teknięidir (Delazar vd., 2012). MAE, analitleri numune matrisinden özöcüye ayırmak ve bir

numune ile temas halindeki çözücülerini ısıtmak için mikrodalga enerjisi kullanma işlemidir.

Numune-çözücü karışımını hızlı bir şekilde ısıtma yeteneği vardır ve bu tekniğin en önemli avantajıdır. Kapalı kaplar kullanılarak, numune matrisinden hedef bileşiklerin kütle transferini hızlandıran yüksek sıcaklıklarda ekstraksiyon gerçekleştirilebilir. Çoğu durumda, analitlerin geri kazanımları ve tekrarlanabilirlik, çeşitli uygulamalarda gösterildiği gibi, geleneksel tekniklere kıyasla iyileştirilmiştir (Sparr Eskilsson & Björklund, 2000).



Şekil 2.3. Mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı

MAE'nin çeşitli matrislerden, özellikle doğal ürünlerden bileşiklerin geleneksel ekstraksiyonu yöntemine göre daha kısa ekstraksiyon süresi, daha az çözgen, daha yüksek ekstraksiyon hızı ve daha düşük maliyet gibi birtakım avantajları vardır. MAE'nin doğal ürün ekstraksiyonunda kullanımı 1980'lerin sonlarında başlamıştır ve teknolojik gelişmeler sayesinde günümüzde popüler ve uygun maliyetli ekstraksiyon yöntemlerinden biri haline gelmiştir (Delazar vd., 2012). Aşağıda geleneksel ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri ve farklı çözgenler kullanılarak yapılmış avokado yaprak, meyve kabuğu ve çekirdeklerinin ekstraksiyon çalışmaları verilmiştir: Jiménez ve arkadaşları (2017), haşlanıp kurutulmuş öğütülmüş Fuerte çeşidi avokado yapraklarını oda sıcaklığında 24 saat etanol:su (50:50 v/v) (3 L) içinde ekstrakte etmişler ve

daha sonra Büchner hunisi ile süzmüşlerdir. Toplam fenolik madde miktarı 17.5-19.3 mg gallik asit eşdeğeri (GAE)/g yaprak, antioksidan aktivitesi 0.11 mg/mL ve LC-MS ile B-tipi trimer prosiyanidin miktarı ise %38.5 olarak belirlenmiştir. Örneklerde düşük miktarlarda ise kuersetin-O- glukoronid veya kuersetin-O-heksosit (%5.6), kuersetin-O-pentoheksit (%4), B- tipi dimer prosiyanidin (%4), kafeik asit ve klorojenik asit bileşikleri tanımlanmıştır (Jiménez vd., 2017).

Weremfo ve arkadaşları (2020) ise RSM kullanarak Hass çeşidi avokado çekirdeklerinden MAE cihazında fenolik ekstraksiyon optimizasyonu gerçekleştirmişlerdir. Bağımsız değişkenler olarak etanol konsantrasyonu, mikrodalga gücü ve ekstraksiyon süresi kullanılırken bağımlı değişkenler olarak toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite değişkenleri kullanılmıştır. Ekstraktların, toplam fenolik miktarı (TFM) 47.25- 89.39 mg GAE/g aralığında ve antioksidan aktivitesi %22.93 ile 79.76 aralığında bulunmuştur. Toplam fenolik madde miktarı ve antioksidan aktivite hem mikrodalga gücünden hem de ekstraksiyon süresinden önemli ölçüde ($p < 0.05$) etkilenmiştir. Fenolik bileşiklerin eşzamanlı ekstraksiyonu ve antioksidan aktivite için en uygun şartlar, %58.3 (v/v) etanol konsantrasyonu, 400 W mikrodalga gücü ve 4.8 dakikalık ekstraksiyon süresi olmuştur. MAE, en kısa ekstraksiyon süresi içinde yüksek ekstraksiyon verimliliği ve antioksidan aktivite açısından geleneksel çözücü ekstraksiyonuna (CSE) göre daha avantajlı olmuştur. Ayrıca, optimum ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraktın yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile rutin (71.67 ± 2.04 mg/100g dw), kateşin (52.46 ± 0.15 mg/100g dw) ve şirincik asit (45.87 ± 0.05 mg/100g dw) içerdiği saptanmıştır (Weremfo vd., 2020a).

Figuerola ve arkadaşları (2021), Hass çeşidi avokado meyve kabuğunun biyoaktif polifenollerin ekstraksiyonunu en üst düzeye çıkarmak için "yeşil" MAE ile optimize etmişlerdir. Ayrıca, geliştirilen yeşil avokado kabuğu özütünün fenolik bileşimini, HPLC ile karakterize etmişlerdir ve farklı biyoaktiviteler test ederek gıda endüstrisi için potansiyel uygulamalar araştırmışlardır. Toplam fenolik maddesi $73,2 \pm 3,8$ mg GAE/g meyve kabuğu, kuru ekstraktın gramı

başına mmol Trolox eşdeğeri (mmol Eq T/g DE) ABTS: 1.34 mmol Eq T/g DE şeklinde tespit edilmiştir. Bu sonuç folin çözücüsü kullanılarak optimize edilmiş MAE'de antioksidan kapasiteyi test etmişlerdir. Fenolik kompozisyonunda ise, 4-hidroksibenzoik asit (450 ± 5 µg/g ekstrakt), şirincik asit (390 ± 10 µg/g ekstrakt), Tirozol-glukosil-pentosit (950 ± 60 µg/g ekstrakt), 3-O-kafeoilkinik asit (535 ± 8 µg/g ekstrakt), 4-O-kafeoilkinik asit (1120 ± 50 µg/g ekstrakt), 5-O-kafeoilkinik asit (950 ± 40 µg/g ekstrakt) bileşenlerine rastlamışlardır. Sonuçlar, avokado kabuğu MAE ekstraktının yüksek antioksidan aktivitesi olduğu saptanmıştır (Figuerola vd., 2021).

Kumar ve Cumbal (2016), avokado yaprağının antioksidan kapasitesini bulmayı amaçlamışlardır. İlk olarak avokado yaprağını, 50 mL suya 5 g avokado yaprağını ilave ederek, 60-65 °C'de 90 dakika süre boyunca su ile ekstraksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak 32.60-32.73µg/mL gallik asit eşdeğeri toplam fenolik madde değerleri ile %84.46-80.12 aralığında antioksidan aktivite varlığı tespit edilmiştir (Kumar & Cumbal, 2016).

Trujillo-Mayol ve arkadaşları (2019), liyofilize edilip toz haline getirilmiş Hass avokado meyve kabuklarını, 25 mL etanol ve damıtılmış su (80:20, v/v) ile 12 saat boyunca oda sıcaklığında orbital çalkalayıcı (100 rpm; Unimax 1010 Heidolph, Almanya) ile ekstraksiyonu gerçekleştirmişlerdir. Ekstraksiyon verimini, toplam fenolik maddesini ve antioksidan miktarının bulmayı amaçlamışlardır. Sonuç olarak % verimi 7.8 ± 0.1 iken, toplam fenolik maddesi 257.2 ± 7.5 mg GAE/g ekstrakt ve Trolox eşdeğeri (TE) 774.6 ± 0.7 µg TE/g ekstrakt olarak saptanmıştır (Trujillo-Mayol vd., 2019).

Torres ve arkadaşları (2002), dondurularak kurutulmuş Hass ve Fuerte avokado yapraklarını öğüttükten sonra 100 mg yaprak tozları tartılıp ayrı ayrı %100'lük 20 mL metanol ile 2 saat boyunca ekstrakte etmişlerdir. Daha sonra süzüp, 20 mL hekzan ile 6 kez yıkamış ve süzmüşlerdir. Daha sonra Folin-Ciocalteau yönteminin bir modifikasyonunu kullanarak toplam fenol içeriğinin ölçümünü yapmışlardır. Sonuç olarak Hass yaprak çeşidinde toplam fenolik madde 1.75–1.93 mg GAE/100g, Fuerte yaprak çeşidinde ise 1.50–2.40 mg GAE/100g olarak sonuç almışlardır. Ayrıca HPLC'de her ikisinin de fenolik kompozisyonlarına

bakmışlardır. Bunun sonucunda içeriklerinde, pirokateşuik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, protokateşuik asit, kafeik asit, vanilik asit, *p*-kumarik asit, ferulik asit, sinapik asit, resorsilik asit, gallik asit, şirincik asit tespit edilmiştir (Torres vd., 2002; Jimenez vd., 2020).

Rodríguez-Carpena ve arkadaşları (2011), Hass ve Fuerte çeşidi avokado kabuğu ve çekirdeğinin, antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik maddesi üzerine çalışma yapmışlardır. İlk olarak üçer gram meyve kabuğu ve çekirdeği 15 mL etil asetat; aseton/su (70:30 v/v); veya metanol/su (70:30 v/v) ile homojenizatörde homojenize edip özütlemişlerdir. Santrifüj edip tortuları ikinci kez aynı şekilde özütlemişlerdir. Antioksidan deneyleri için, ekstraktları bir döner buharlaştırıcı kullanarak buharlaştırmışlar ve 50 mL'lik ölçülü balonlarda damıtılmış su ile hacme getirmişlerdir. Her ekstrenin toplam fenolik maddesini, Folin Ciocalteu yöntemini izleyerek belirlemişlerdir. Antioksidan aktivitesi için de DPPH testi, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikalini kullanmışlardır. Toplam fenolik maddesi, her iki çeşit için de meyve kabuğunda (Hass çeşidi için 8.997 ± 3.103 mg GAE/100 g kuru madde; Fuerte çeşidi için 17.218 ± 1.446 mg GAE/100 g kuru madde) ve çekirdekte (Hass çeşidi için 6.082 ± 863 mg GAE/100 g kuru madde; Fuerte çeşidi için 6.912 ± 1.699 mg GAE/100 g kuru madde), en iyi sonuç aseton/ su çözeltisi kullanılarak yapılan ekstraksiyonda almışlardır. Antioksidan aktiviteleri de aynı şekilde, her iki türde de meyve kabuğunda (Hass çeşidi için 88.94 ± 48.22 mmol Trolox/g taze örnek; Fuerte çeşidi için 199.61 ± 33.15 mmol Trolox/g taze madde) ve çekirdekte (Hass çeşidi için 130.26 ± 36.80 mmol Trolox/g taze madde; Fuerte çeşidi için 167.50 ± 42.08 mmol Trolox/g taze madde) aseton/su ekstraktlarında en iyi sonucu almışlardır. Ayrıca her iki türde de avokadonun her iki çeşidinin meyve kabuğunun ekstrelerindeki biyoaktif bileşiklerin HPLC-ESI-TOF/QTOF-MS ile tanımlanmasını yapmışlardır. Sonuç olarak kateşin Hass kabuğunda 228.5 ± 13.5 mg/ 100 g, Fuerte kabuğunda 751.9 ± 24.8 mg/ 100 g, Hass çekirdeğinde 237.8 ± 4.2 mg/ 100 g, Fuerte çekirdeğinde 96.7 ± 4.1 mg/ 100 g, hidroksibenzoik asit Hass kabuğunda 1.3 ± 0.2 mg/ 100 g, Fuerte kabuğunda 22.5 ± 0.6 mg/ 100 g, Hass çekirdeğinde miktar sınırında, Fuerte çekirdeğinde 1 ± 0.1 mg/ 100 g, flavonoller Hass kabuğunda 129 ± 11 mg/ 100 g, Fuerte kabuğunda 361.1 ± 15.6

mg/ 100 g, Hass çekirdeğinde 1.7 ± 2.5 mg/ 100 g, Fuerte çekirdeğinde 2.1 ± 0.1 mg/ 100 g, hidroksisinamik asit Hass kabuğunda 328.1 ± 5.8 mg/ 100 g, Fuerte kabuğunda 599.4 ± 13.4 mg/ 100 g, Hass çekirdeğinde 282.7 ± 6.9 mg/ 100 g, Fuerte çekirdeğinde 72.4 ± 1.5 mg/ 100 g, prosiyanidin Hass kabuğunda 4183.5 ± 339.0 mg/ 100 g, Fuerte kabuğunda 13484.3 ± 512.2 mg/ 100 g, Hass çekirdeğinde 4592.0 ± 129.4 mg/ 100 g, Fuerte çekirdeğinde 876.9 ± 25.9 mg/100 g şeklinde fenolik kompozisyonları saptamışlardır (Rodríguez-Carpena vd., 2011b).

Figuerola ve arkadaşları (2018), Hass çeşidi avokado çekirdek ve çekirdek kabuğundaki fenolik ve diğer polar bileşiklerin HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS ile kapsamlı karakterizasyonu hakkında çalışma yapmışlardır. Hass çeşidi avokadoların çekirdeklerini ve çekirdek kabuklarını, %10 nemin altına düşene kadar 85°C 'de kurutup 0,5 mm parçacık büyüklüğüne öğütmüşlerdir. Biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunu, hızlandırılmış çözgen ekstraktör modeli ASE 350 kullanılarak etanol-su (1:1, v/v) ile 200°C 'de ve 11 MPa'da ekstrakte etmişlerdir. $20-25^{\circ}\text{C}$ 'lik bir sıcaklığa ulaştıktan sonra santrifüjleyip, 5°C 'de vakum (13 kPa) altında evaporatörde buharlaştırmışlardır. Ultra-Yüksek Çözünürlüklü Doğru-Kütleli Q-TOF ile birleştirilmiş sıvı kromatografisi kullanarak avokado çekirdek ve çekirdek kabuğunun fenolik profilini ve diğer polar bileşiklerini saptamışlardır. Sonuç olarak majör polar bileşikler çekirdekte, perseitol, 4-hidroksibenzoik asit, tirosol glukozit ve 3-O- kafeoilkinik asit olarak ve çekirdek kabuğunda 4- hidroksibenzoik asit, sitrik asit, perseitol ve malik asit olduğu saptanmıştır (Figuerola, Borrás-Linares, Lozano-Sánchez, & Segura-Carretero, 2018b).

Che-Galicia ve arkadaşları (2020), toplam fenolik bileşikleri avokado yapraklarından farklı elektrik güçlerine (UDE %0, UDE %60 ve UDE %100) ve ekstraksiyon sürelerine sahip olarak çıkarmak için ultrasonik destekli ekstraksiyon (UDE) yapmışlardır. Ultrasonik ekstraksiyon parametreleri, maksimum TFM ve antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için adım adım regresyon ile yapılan bir matematiksel model kullanılarak optimize etmişlerdir. Optimizasyon sonuçları, %84.5 elektrik gücünde ve 29.7 dakikalık ekstraksiyonda maksimum TFM değerinin (48.732 mg GAE/100 g kuru yaprak),

maksimum antioksidan aktivitesinin (22.677 ± 724 mg TE/100 g kuru yaprak) ise %100 elektrik gücünde ve 30 dakikalık ekstraksiyonda olduğu sonucunu bulmuşlardır. Tahmini efektif yayılma değerleri, UDE %0 ve UDE %100 için sırasıyla 1.3889×10^{-11} m²/s ila 2.2128×10^{-11} m²/s sonuçlarına ulaşmışlardır. UDE, avokado yapraklarından fenolik maddeleri çıkarmanın umut verici bir teknoloji olduğunu göstererek, etkili yayılmayı artırarak ekstraksiyon verimini önemli ölçüde artırdığını saptamışlardır (Che-Galicia vd., 2020).

Weremfo ve arkadaşları (2020), RSM kullanılarak Hass çeşidi avokado çekirdeklerinin toplam fenolik, toplam flavonoid ve antioksidan aktivitesinin üç adet MAE parametresini (etanol konsantrasyonu, mikrodalga gücü ve ekstraksiyon süresi) optimize etmişlerdir. Fenolik bileşiklerin eşzamanlı ekstraksiyonu ve antioksidan aktivite için en uygun şartlar, 1 g avokado çekirdek tozu için, %58.3 (v/v) etanol konsantrasyonu, 400 W mikrodalga gücü ve 4.8 dakikalık ekstraksiyon süresi olduğunu saptamışlardır. Ayrıca, optimize edilmiş ekstraktın HPLC analizi, rutin (71.67 ± 2.04 mg/100g kuru ağırlık), kateşin (52.46 ± 0.15 mg/100g kuru ağırlık) ve şirincik asidin (45.87 ± 0.05 mg/100g kuru ağırlık) baskın bileşikler olduğu sonucunu ortaya çıkarmışlardır. TFM 82.36 ± 1.05 mg GAE/g, toplam flavonoid madde (TFC) 19.93 ± 2.50 mg QE/g ve antioksidan aktivitesi (DPPH) $\%73.61 \pm 0.57$ ekstraksiyonu hem mikrodalga gücünden hem de ekstraksiyon süresinden önemli ölçüde etkilendiğini tespit etmişlerdir. MAE, en kısa ekstraksiyon süresi içinde yüksek ekstraksiyon verimliliği ve antioksidan aktivite açısından geleneksel çözgen ekstraksiyonuna (CSE) göre açık avantajlar ortaya koyduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak, bu optimize edilmiş MAE yöntemi, nutrasötik endüstrilerinde avokado çekirdeklerinden polifenolik antioksidanların verimli ekstraksiyonu için potansiyel bir uygulama göstermiştir (Weremfo vd., 2020b).

Mazyan ve arkadaşları (2021), kritik altı su ekstraksiyonu kullanılarak Hass çeşidi avokado meyve etinden ekstrakte edilen toplam fenolik verimler için optimum ekstraksiyon sıcaklığını ve ayrıca meyve olgunluğunun fenol ekstraksiyon verimliliği üzerindeki etkisini tespit etmişlerdir. İncelenen kritik altı su koşulları 18 bar, 87 mL/dk ve 105 °C, 120 °C ve 140 °C sıcaklıklardır. Toplam fenolik bileşik içeriği, iki örnek arasında dört haftalık bir olgunlaşma

periyodu ile birinci hafta avokado eti ve olgun (dördüncü hafta) avokado eti için karşılaştırmışlardır. Sonuçlar, 105 °C'de kritik altı su ile ekstraksiyonun, birinci hafta ve olgun meyve (dördüncü hafta) için sırasıyla %0.11 ve %0.26 kuru kütle verimi ile en yüksek fenolik bileşik verimi sağladığını göstermektedir. Deneysel sonuçlar ayrıca, dördüncü haftada avokadoda daha düşük ekstraksiyon sıcaklıklarının uygulanmasının (yani birinci haftadaki avokadoların seçilmesini ve bir aylık bir süre boyunca olgunlaşmasına izin verilmesinin ardından) fenolik bileşik ekstraksiyon verimlerini göreceli olarak dört kattan fazla arttırdığını göstermektedir. Spesifik olarak, birinci haftanın daha düşük çalışma sıcaklıklarında ekstraksiyon, yaklaşık %0.26 (kurutulmuş avokado kütlesinin) ile en yüksek fenolik bileşik verimini sunduğunu ve en yüksek verimin, ekstraksiyonun ilk 20 dakikasında elde edildiğini saptamışlardır (Mazyan vd., 2021).

Figueroa ve arkadaşları (2018), GRAS (genel olarak güvenli) çözücülerini ile basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PLE) kullanarak Hass çeşidi avokado kabuğundan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu optimize etmişlerdir. Ekstraksiyonları, bir çözgen kontrolörü ile donatılmış basınçlı bir sıvı ekstraktör (ASE-350, Dionex-Corp., Sunnyvale, CA) kullanarak yapmışlardır. Kısaca, 1 g kurutulmuş avokado kabuğu, 5 g kum ile homojen bir şekilde karıştırılmış ve 33 mL çözgen ile paslanmaz çelik ekstraksiyon hücrelerine yüklenmiştir. Metal fritlerin tıkanmasını önlemek için hücrenin her iki ucuna tek kullanımlık selüloz filtreler yerleştirilmiş ve numune ile selüloz filtreler arasına iki kısım kum (5 g) yerleştirilmiştir. PLE koşullarını optimize etmek için CCD modeline dayalı RSM kullanmışlardır. Ayrıca, konveksiyonel kurutma sıcaklığının TFM ve bireysel fenolik bileşik konsantrasyonu üzerindeki etkisi değerlendirmişlerdir. Bileşiklerin miktar tayinini, HPLC-DAD-ESI-TOF-MS ile gerçekleştirmişlerdir. Optimize edilmiş ekstraksiyon şartları, ekstraksiyon sıcaklığı olarak 200°C ve etanol/su oranı olarak 1/1'dir. Kurutmanın etkisi ile ilgili olarak, en yüksek verim (39 ± 0.2) ve TFM (88 ± 3 mg GAE/g kuru madde), 85 °C kurutma sıcaklığında elde etmişlerdir (Figueroa vd., 2018).

Ge ve arkadaşları (2017), Hass ve Fuerte olmak üzere iki avokado çeşidinin meyvelerindeki biyoaktif bileşikleri incelemişlerdir. Meyvenin yenilebilir ve yenmeyen kısımları (küspe ve tohum), gıda ve ilaç endüstrilerinin sürdürülebilirliğini iyileştirmeye olası katkılarını değerlendirmek için karşılaştırmışlardır. Meyvelerden posa ve çekirdekler ayrılmış, mutfak blenderi ile homojenize edilmiş ve bir hafta içinde yapılan analize kadar 4 °C'de saklamışlardır. Altı tür biyoaktif bileşiğin konsantrasyonlarını saptamışlardır; toplam fenolikler, flavonoidler, tanen, askorbik asit, tokoferil asetat ve karotenoidlerdir. Biyoaktif bileşiklerin içeriği ile ilgili olarak, Hass ve Fuerte çekirdeğinin, toplam fenolikler (685.58 ± 13.45 ve 798.52 ± 54.04 mg GAE/100 g taze ağırlık), flavonoidler (1636.25 ± 50.88 ve 936.60 ± 56.91 mg KE/100 g taze ağırlık) ve tanen (2.02 ± 0.04 ve 2.45 ± 0.09 mg /100 g taze ağırlık) içeriğinde posadan daha üstün olduğunu saptamışlardır. Askorbik asit (18.57 ± 0.31 ve 17.15 ± 1.28 g/100 g taze ağırlık), tokoferol asetat (1.28 ± 0.03 ve 2.32 ± 0.11 g/100 g taze ağırlık) ve toplam karotenoid (2.14 ± 0.18 ve 2.02 ± 0.02 g/100 g taze ağırlık) konsantrasyonlarına bakıldığında en yüksek değerler Hass ve Fuerte posalarında bulunmuştur. Yağ asidi kompozisyonlarının sonuçları, Hass ve Fuerte posasının palmitik (2431.81 ± 97.27 ve 1727.92 ± 6.73 g/100 g taze ağırlık), palmitoleik (526.63 ± 26.46 ve 393.11 ± 6.36 taze ağırlık), stearik (83.71 ± 4.23 ve 73.20 ± 2.77 g/100 g taze ağırlık), oleik (2090.11 ± 169.83 ve 1999.57 ± 181.68 g/100 g taze ağırlık) ve linoleik (1615.41 ± 98.16 ve 1481.21 ± 15.94 g/100 g taze ağırlık) asit içeriğinin çekirdeğe göre daha yüksek olduğunu, çekirdekte ise miristik (28.01 ± 1.00 ve 25.92 ± 1.17 g/100 g taze ağırlık) ve araşidonik (40.59 ± 0.11 ve 40.62 ± 0.15 g/100 g taze ağırlık) asit içeriğinin daha yüksek olduğunu saptamışlardır (Ge vd., 2017).

Rodríguez-Martínez ve arkadaşları (2021), çevre dostu bir teknik olan UDE kullanarak biyoaktif avokado kabuğu ekstraktının geri kazanılmasını amaçlamışlardır. 50°C'de 24 saat kurutulan Hass avokado meyve kabuklarını 50 °C sıcaklıkta ve 37 kHz frekansta, 8:1 mL/g sıvı:kıta oranında olan meyve kabuğu-çözgen karışımının ultrason destekli ekstraksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Ekstraksiyon, etanol-su karışımları ve süre koşullarını optimize etmek için RSM'yi uygulamışlardır. Optimize edilmiş ekstraktlar (etanol %38.46, 44.06

dakika ve 50 °C), HPLC-ESI-MS ve FTIR ile kimyasal olarak karakterize etmişlerdir. Antioksidan yeteneğinin yanı sıra normal (L929) ve kanser (Caco-2, A549 ve HeLa) hücre hatlarının hücre metabolik aktivitesi üzerindeki etkisini değerlendirmişlerdir. Sulu etanol özleri, yüksek antioksidan (76.1 mg TE/g kuru meyve kabuğu) potansiyeli olan biyoaktif bileşiklerde yüksek bir içerik sunduğunu tespit etmişlerdir. Avokado kabuğu ekstresinde bulunan fenolik bileşiklerden majör olarak, hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler gibi fenolik asitler tespit edilmiştir. Tespit edilen bir diğer önemli kimyasal grup ise flavanoller, flavanoller, flavonlar, flavanonlar ve kalkon gibi flavonoidler, feniletanoidler ve lignanlardır. Bu sonuçların, ultrasonun sürdürülebilir bir ekstraksiyon tekniği olduğunu, normal hücrelerde düşük toksisiteye sahip ekstraktlarla ve gıda, farmasötik veya nutrasötik sektörlerinde potansiyel uygulama ile sonuçlandığını açıkça görüldüğünü saptamışlardır (Rodríguez-Martínez vd., 2021).

Monzón ve arkadaşları (2021), Hass çeşidi avokadonun 40°C'de 24 saat kurutulup öğütülmüş meyve kabuğu ve çekirdeğini, RSM ve yapay sinir ağı (YSA), UDE (25 W/L) şartlarını sıcaklığa (40- 60 °C), konsantrasyona göre modellemek ve optimize etmek için kullanmışlardır. Bir gram numune (çekirdek ve meyve kabuğu) 20 mL etanol / su ile iyice karıştırıldıktan sonra 100 W gücünde (hacim gücü, 25 W/L) ve altta 42 kHz frekansında ultrason destekli ekstraksiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Avokado kalıntılarından fenolik elde etmede etanol/su (%30- %60) ve ekstraksiyon süresini (40- 80 dakika) optimum sonuç olarak bulmuşlardır. RSM ve YSA için, çekirdeklerde (145.170- 146.569 mg GAE/g; 49 °C, %41.2 ve 65.5- 65.1 dakika) ve meyve kabuklarında (124.050- 125.187 mg GAE/g; 50.9 °C, %49,5 ve 61.8 dakika) sonuçlarını tespit etmişlerdir. Deneysel değerler arasında tahmin edilen modeller anlamlı çıkmıştır (p <0.05). Bu çalışmanın sonucunda, avokado kalıntılarından biyoaktif metabolitlerin elde edilmesi için endüstride verimli, ekonomik ve çevre dostu ekstraksiyon prosedürlerinin tasarlanmasına izin vermektedir (Monzón vd., 2021).

Dünya Sağlık Örgütü'nün en son tahminine göre, dünyada yaklaşık 200 milyon kişi şeker hastasıdır. 2025 yılına kadar bu değer yaklaşık 350 milyona çıkabilir ve insan sağlığı üzerinde ciddi sonuçlara yol açabilir. Glisemik yönetim, şeker hastalığı olan kişiler için uzun süreli bir tedavidir. Miglitol ve akarboz gibi bazı önde gelen glukozidaz inhibitörleri piyasada mevcuttur, ancak bunların ishale ve diğer bağırsak rahatsızlıklarına, buna karşılık gelen gaz ve bağırsak ağrısına neden olduğu bildirilmiştir. Kalıcı hiperglisemiye uzun süre maruz kalmak nörolojik, görsel, renal ve kardiyovasküler sistemleri engelleyen çeşitli komplikasyonlara neden olabilmektedir. Diyabetik komplikasyonların ortaya çıktığı mekanizmalar henüz tam olarak bilinmemekte ve hiperglisemi ile ilgili çeşitli biyokimyasal yollar oluşturulmuştur. Daha sağlıklı ve doğal olması düşüncesiyle insanların tıbbi bitkilere yönelimi artmıştır. Tıbbi bitkiler, göreceli güvenlik ve düşük maliyet sayesinde güvenilir bir glukozidaz, aldoz redüktaz ve aldehit redüktaz inhibitörleri kaynağı olabilir. Avokado ve yan ürünlerinin geleneksel olarak şeker hastalığına karşı kullanıldığı bilinmektedir (Njateng vd., 2018). Avokadonun antidiyabetik etki üzerine yapılan bazı çalışmaları aşağıda verilmiştir.

Lima ve arkadaşları (2012), toz haline getirdikleri avokado yapraklarının toplam fenolik maddesini ve antidiyabetik aktivitesini inceledikleri çalışmada, avokado yapraklarını kurutup ve öğüttükten sonra, ardışık 5 gün boyunca oda sıcaklığında (ara sıra çalkalanan) etanol %50 (v/v) ve maserasyon (%10, v/v) tekniği ile ekstrakte etmişlerdir. Ham hidroalkolik özütteki alkolü uçurmak için indirgenmiş basınç altında kuruma noktasına kadar buharlaştırmışlardır. Bu özütü (0.15 ve 0.3 g/kg/gün), 4 hafta boyunca STZ-diyabetik sıçanlara oral yoldan vermişlerdir. Sonuç olarak hidroalkolik özüt, kan şekerini düşürdüğünü ve hayvanların metabolik durumunu iyileştirdiği saptanmıştır (Lima vd., 2012).

Nijateng ve arkadaşları (2018), avokadonun yapraklarının metanolik yaprak ekstraktının α -glukozidaz, maltaz-glukoamilaz, aldoz redüktaz ve aldehit redüktaz aktivitelerinin, nişasta sindiriminde yer alan enzimler veya diyabetik komplikasyonlar üzerindeki inhibitör aktivitesini belirlemek amacıyla, ekstraktlarla muamele edip test etmişlerdir. Test edilen özler, 1.07 ± 0.03 ila

31.77 ± 1.17 µg/mL arasında değişen IC₅₀ ile α-glukozidaz, maltaz glukozamilaz, aldoz redüktaz ve aldehit redüktaz aktivitelerini güçlü bir şekilde inhibe ettiği saptanmıştır (Njateng vd., 2018).

Makopa ve arkadaşları (2020), avokadonun metanolik yaprak ekstraktlarının α-glukosidaz aktivitesini inhibe etme potansiyelinin taranması için 405 nm dalga boyunda p-nitrofenol-glukopiranozidden (substrat) p-nitrofenol üretiminin ardından spektrofotometrik olarak gerçekleştirmişlerdir. Test edilen metanolik ekstrakt, zamana bağlı ve doza bağlı bir şekilde α-glukosidaz enzimi üzerinde 1 saat inkübasyondan IC₅₀: 1.4 mg/mL yani %25 oranında inhibitör aktiviteyi gösterdiği tespit edilmiştir (Makopa vd., 2020).

Oboh ve arkadaşları (2014), Avokado meyve, meyve kabuğu, yaprak ve çekirdeklerinin distile su ile elde edilen fenolik ekstraktın tip 2 diyabet (α-amilaz ve α-glukosidaz) ile bağlantılı bazı anahtar enzimler üzerindeki inhibitör etkisini araştırmayı amaçlamışlardır. Aldıkları sonuç, meyve (IC₅₀(mg/mL) α-amilaz: 0.079 ± 0.028; α-glukosidaz: 0.079 ± 0.006), meyve kabuğu (IC₅₀(mg/mL) α-amilaz: 0.057 ± 0.001; α-glukosidaz: 0.241 ± 0.011), yaprak (IC₅₀(mg/mL) α-amilaz: 0.219 ± 0.012; α-glukosidaz: 0.067 ± 0.001) ve çekirdeklerinin (IC₅₀(mg/mL) α-amilaz: 0.077 ± 0.002; α-glukosidaz: 0.116 ± 0.009), doza bağlı bir şekilde hem α-amilaz hem de α-glukosidaz aktivitelerini inhibe ettiğini ortaya koymuşlardır. Bununla birlikte, meyve kabuğu, en yüksek α-amilaz inhibe edici aktiviteye sahipken, yaprak da en yüksek α-glukosidaz inhibe edici aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Oboh vd., 2014).

Brai ve arkadaşları (2007), avokadonun sulu ve metanolik yaprak ekstraktlarının sıçanlarda toplam kolesterol, plazma glukozu, düşük yoğunluklu lipoprotein kolesterol (LDL-CHOL) ve yüksek yoğunluklu lipoprotein kolesterol (HDL-CHOL) üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Albino sıçanları, hiperkolesterolemiyi indüklemek için %20 yerfıstığı yağı, %0.5 kolesterol ve %0.25 kolik asit içeren bir diyetle beslemişlerdir. Daha sonra 8 hafta boyunca günlük olarak avokado yaprağının (10 mg/kg vücut ağırlığı) sulu veya metanolik özünü muamele etmişlerdir. Normal kontrol ile karşılaştırıldığında

hiperkolesterolemik sıçanların toplam vücut ağırlığı artışında önemli ($P > 0.5$) farklılıklar olmadığını tespit etmişlerdir. Normal kontrollere kıyasla hiperkolesterolemik diyetle beslenen sıçanlarda karaciğer/vücut ağırlığı oranı, plazma glukozu, toplam kolesterol (T-CHOL) ve LDL-CHOL seviyeleri önemli ölçüde ($P < 0.05$) yükselmiştir. Avokadonun sulu ve metanolik yaprak ekstratlarının uygulanması, plazma glukozunda tedavi edilen sıçanlarda hiperkolesterolemik kontrollere kıyasla (sırasıyla %16 ve %11), T-CHOL'de (sırasıyla %8 ve %5) ve LDL-CHOL'de (sırasıyla %19 ve %20) miktarlarda azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca plazma HDL-CHOL konsantrasyonlarının, hiperkolesterolemik kontrollere kıyasla sulu ve metanolik ekstrakt ile tedavi edilen sıçanlarda sırasıyla %85 ve %68 arttığını tespit etmişlerdir. Bu sonuçlar, avokadonun sulu ve metanolik yaprak ekstratlarının, hiperkolesterolemik sıçanlarda plazma glukozunu düşürdüğünü ve lipid metabolizmasını etkilediğini ve bunun sonucunda T-CHOL ve LDL-CHOL'nin düşmesini ve HDL-CHOL seviyelerinin restorasyonunu göstermektedir (Brai vd., 2007).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Avokado Fuerte ve Hass çeşidi meyveleri ve yaprakları, Antalya'nın Gazipaşa ilçesinden, yeşil olgunluğa eriştikleri zaman toplanmıştır. Fuerte ve Hass çeşidi avokadoların ve yapraklarının eşit hacim ve ağırlıkta olmasına özen gösterilmiştir. Toplandığı gün laboratuvara getirilmiş, işlenmiş ve kurutulmuşlardır. Kurutma öncesi ve sonrasında, her iki çeşidin yaprak, meyve ve çekirdek kabuklarından 5'er gram örnekler hızlı nem tayini cihazına (Radwag, Polonya) konularak % nem miktarları hesaplanmıştır (Şekil 3.1). Kurutma işlemi için sırasıyla Avokado meyveleri ve yaprakları saplarından ayrılmış, yıkanmış ve kurulanmıştır. Avokadoların meyve kabukları ve çekirdekleri meyve etinden ayrılarak kabuklarının kalkması için bekletilip kabukları soyulmuştur. Ayıklama aşamasında çalışmada kullanılacak olan örneklerin homojen renklere olmasına dikkat edilmiştir.

Avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabukları Mikrotest marka termostatlı (TT107) kurutma fırınında (Türkiye) sıcaklık ayarlanarak, 70°C sıcaklıkta kurutulmuştur (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Kurutma işlemi sırasında yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu

Kurutma işleminin sonrasında % nem miktarı, hızlı nem tayin cihazı (Radway, Polonya) ile meyve kabuğu için % 4.12, yaprak için %3.56 ve çekirdek kabuğu için %3.05 olarak belirlenmiştir.

Ekstraksiyon uygulamasına başlamadan önce kurutulan avokado meyve kabuğu, yaprak ve çekirdek kabukları laboratuvar tipi öğütücü (Waring Commercial Laboratory Blender, Amerika) ile parçalanmıştır. Öğütülmüş kuru meyve kabuğu, yaprak ve çekirdek kabukları farklı mm'li gözeneklere sahip olan raflı eleklerden (Kocintok, Türkiye) geçirilmiştir. 0.5 mm'lik elekten geçen örnekler polietilen/poliamid poşetlerde vakum ile paketlenerek ekstraksiyon işlemine kadar -18°C'da saklanmıştır.

Bu tez çalışmasında etanol, sodyum karbonat (Sigma Aldrich, Almanya), DPPH, trolox, D-(+) glikoz, gallik asit, nitrojen gazı (Yıldız Azot, Isparta, Türkiye), Tris-HCL, metanol, klorojenik asit, protokateşuik asit, kateşin, kuersetin, epikateşin, kafeik asit, şirincik asit, vanilin, *p*-kumarik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, sinapik asit, *o*-kumarik asit, kamferol, benzoik asit, rutin, eriodiktiol, sinamik asit, luteloin, intestinal acetone rat powder (I1630) (Sigma-Aldrich Co., Ltd., St. Louis, MO, Amerika), rozmarinik asit, hesperidin, ferulik asit, sodyum hidroksit, aseton, Folin & Ciocalteu fenol reaktifi (Merck, Almanya) kimyasalları kullanılmıştır.

3.2. Metotlar

3.2.1. Nem ve toplam kuru madde tayini

Nem ve kuru madde tayini, standart gravimetrik yöntem (AACC Metodu, 44-01.01, 2000) ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler, 1/1000 g hassasiyetteki hassas terazide tartılıp öncesinde sabit ağırlığa getirilip soğutulmuş kurutma kaplarına konmuştur. Örnekler kurutma fırınında (FN 120, Nüve, Türkiye), sabit ağırlığa gelene kadar 105 °C sıcaklıkta kurutulmuştur. Numunelerin % nem miktarları, kuru madde miktarı ile belirlenmiştir.

3.2.2. Mikrodalga destekli su ekstraksiyon işlem şartlarının optimizasyonu

Kurutulup öğütülmüş avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu örneklerinin, fenolikçe zengin mikrodalga destekli ekstraksiyonunun (Milipore, İtalya) optimizasyonu için RSM ve CCD uygulanmıştır.

Avokado Hass ve Fuerte yaprak, meyve ve çekirdek kabuğundan fenolikçe zengin mikrodalga destekli (Milipore, İtalya) su ekstraksiyonunun optimizasyonu için RSM seçilmiş, deneysel tasarım için ise CCD tercih edilmiştir. Çalışmada çözgen olarak 20 °C sabit sıcaklıkta saf su kullanılmıştır. Bağımsız değişkenlerden sıcaklık (°C) ve katı/çözücü oranının (g/100 mL) minimum ve maksimum faktör düzeylerini belirlemek için ön denemeler gerçekleştirilmiştir. Avokado Hass ve Fuerte çeşidi yaprak, meyve ve çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları Çizelge 3.1, 3.4, 3.7, 3.10, 3.10, 3.13 ve 3.16'da verilmiştir.

Çizelge 3.1. Fuerte avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları

Uygulama No	Bağımsız Değişkenler		Bağımlı Değişkenler	
	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)	Ekstraksiyon Verimi (%)
1	1	5	1549.51	15.19
2	5	5	1223.10	15.14
3	15	5	1003.56	12.49
4	20	5	828.53	9.33
5	1	10	1372.05	17.18
6	5	10	1102.09	17.13
7	15	10	994.97	12.88
8	20	10	848.47	9.47
9	1	15	1360.46	17.34
10	5	15	1103.15	17.33
11	15	15	977.74	13.14
12	20	15	875.55	9.61

Yukarıdaki ön deneme sonuçlardan yola çıkılarak merkezi karma tasarımında (CCD) kullanacağımız bağımsız değişkenlerin minimum (-1) ve maksimum (1)

faktör seviyeleri sırasıyla sıcaklık için 30 ile 60 °C ve katı/çözücü oranı için ise 1.0 ile 7.5 g/100 mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.2). Çizelge 3.2’de bağımsız değişkenlere ait kodlanmış ve kodlanmamış değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.2. Fuerte avokado yaprağının bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri		
	-1	0	1
X1: Sıcaklık (°C)	30	45	60
X2: Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)	1	4.25	7.5

Tez çalışmamızda, Fuerte avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonu için 2 adet merkezi nokta içeren 13 farklı uygulamaya ait CCD, Çizelge 3.3’ te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Fuerte avokado yaprağının merkezi karma tasarımı

Uygulama No ^a	Sıcaklık (°C)	Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)
1	45	4.25
2	45	7.5
3	45	4.25
4	60	4.25
5	45	4.25
6	45	4.25
7	30	4.25
8	56	1.95
9	34	1.95
10	45	1
11	34	6.55
12	56	6.55
13	45	4.25

a: rastgele seçilmiş

DeneySEL veriler istatistiksel analiz yazılımı Minitab (Minitab 20.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Model uyumu, regresyon testleri, R² ve düzeltilmiş R² değerleri dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır. Modelin yanıt yüzeyleri ve tasarımları iki değişkenli ikinci dereceden eşitliğe göre belirlenmiştir. Yanıt olarak ise ekstraktların % ekstraksiyon verimleri ve toplam fenolik madde miktarları kullanılmıştır.

Çizelge 3.4. Fuerte avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları

Uygulama No	Bağımsız Değişkenler		Bağımlı Değişkenler	
	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Ekstraksiyon Madde (μ g GAE/g ekstrakt)	Verimi (%)
1	1	5	2491.55	23.49
2	5	5	2424.66	20.76
3	10	5	2413.51	12.86
4	1	10	2552.11	23.03
5	5	10	2441.15	19.94
6	10	10	2429.54	12.74
7	1	15	2619.61	22.60
8	5	15	2470.73	19.58
9	10	15	2460.86	12.68

Yukarıdaki ön deneme sonuçlardan yola çıkılarak CCD’de bağımsız değişkenlerin minimum (-1) ve maksimum (1) faktör seviyeleri sırasıyla sıcaklık için 30 ile 60 °C ve katı/çözücü oranı için ise 1.0 ile 7.5 g/100 mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.5). Çizelge 3.5’te bağımsız değişkenlere ait kodlanmış ve kodlanmamış değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.5. Fuerte avokado meyve kabuğunun bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri		
	-1	0	1
X1: Sıcaklık (°C)	30	45	60
X2: Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)	1	4.25	7.5

Tez çalışmamızda, Fuerte avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu için 2 adet merkezi nokta içeren 13 farklı uygulamaya ait CCD, Çizelge 3.6’ da verilmiştir.

Çizelge 3.6. Fuerte avokado kabuğunun merkezi karma tasarımı

Uygulama No ^a	Sıcaklık (°C)	Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)
1	45	4.25
2	56	6.55
3	45	1
4	45	4.25
5	34	1.95
6	34	6.55
7	45	7.5
8	30	4.25
9	56	1.95
10	45	4.25
11	45	4.25
12	45	4.25
13	60	4.25

a: rastgele seçilmiş

Deneysel veriler istatistiksel analiz yazılımı Minitab (Minitab 20.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Model uyumu, regresyon testleri, R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerleri dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır. Modelin yanıt yüzeyleri ve tasarımları iki değişkenli ikinci dereceden eşitliğe göre belirlenmiştir. Yanıt olarak ise ekstraktların % ekstraksiyon verimleri ve toplam fenolik madde miktarları kullanılmıştır.

Çizelge 3.7. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları

Uygulama No	Bağımsız Değişkenler		Bağımlı Değişkenler	
	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Madde (μ g GAE/g ekstrakt)	Ekstraksiyon Verimi (%)
1	1	5	228.79	4,96
2	7.5	5	552.54	2.14
3	15	5	530.58	1.52

Yukarıdaki ön deneme sonuçlardan yola çıkılarak CCD’de kullanacağımız bağımsız değişkenlerin minimum (-1) ve maksimum (1) faktör seviyeleri sırasıyla sıcaklık için 30 ile 60 °C ve katı/çözücü oranı için ise 1.0 ile 7.5 g/ 100 mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.8.). Çizelge 3.8’de bağımsız değişkenlere ait kodlanmış ve kodlanmamış değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.8. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri		
	-1	0	1
X1: Sıcaklık (°C)	30	45	60
X2: Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)	1	4.25	7.5

Tez çalışmamızda, Fuerte avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu için 2 adet merkezi nokta içeren 13 farklı uygulamaya ait CCD, Çizelge 3.9' da verilmiştir.

Çizelge 3.9. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun merkezi karma tasarımı

Uygulama No ^a	Sıcaklık (°C)	Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)
1	45	4.25
2	45	4.25
3	34	6.55
4	56	6.55
5	56	1.95
6	34	1.95
7	45	4.25
8	30	4.25
9	45	7.5
10	45	1
11	45	4.25
12	45	4.25
13	60	4.25

a: rastgele seçilmiş

Deneysel veriler istatistiksel analiz yazılımı Minitab (Minitab 20.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Model uyumu, regresyon testleri, R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerleri dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır. Modelin yanıt yüzeyleri ve tasarımları iki değişkenli ikinci dereceden eşitliğe göre belirlenmiştir. Yanıt olarak ise ekstraktların % ekstraksiyon verimleri ve toplam fenolik madde miktarları kullanılmıştır.

Çizelge 3.10. Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları

Uygulama No	Bağımsız Değişkenler		Bağımlı Değişkenler	
	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)	Ekstraksiyon Verimi (%)
1	1	5	799.28	19.13
2	1	5	801.86	19.13
3	1	5	795.58	19.22

Yukarıdaki ön deneme sonuçlardan yola çıkılarak CCD’de kullanacağımız bağımsız değişkenlerin minimum (-1) ve maksimum (1) faktör seviyeleri sırasıyla sıcaklık için 30 ile 60 °C ve katı/çözücü oranı için ise 1.0 ile 7.5 g/100 mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.11). Çizelge 3.11’de bağımsız değişkenlere ait kodlanmış ve kodlanmamış değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.11. Hass avokado yaprağının bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri		
	-1	0	1
X1: Sıcaklık (°C)	30	45	60
X2: Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)	1	4.25	7.5

Tez çalışmamızda, Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonu için 2 adet merkezi nokta içeren 13 farklı uygulamaya ait CCD, Çizelge 3.12’ de verilmiştir.

Çizelge 3.12. Hass avokado yaprağının merkezi karma tasarımı

Uygulama No ^a	Sıcaklık (°C)	Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)
1	45	7.5
2	45	4.25
3	45	4.25
4	34	1.95
5	45	1
6	56	1.95
7	30	4.25
8	60	4.25
9	45	4.25
10	34	6.55
11	45	4.25
12	45	4.25
13	56	6.55

a: rastgele seçilmiş

Deneysel veriler istatistiksel analiz yazılımı Minitab (Minitab 20.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Model uyumu, regresyon testleri, R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerleri dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır. Modelin yanıt yüzeyleri ve tasarımları iki değişkenli ikinci dereceden eşitliğe göre belirlenmiştir. Yanıt olarak ise ekstraktların % ekstraksiyon verimleri ve toplam fenolik madde miktarları kullanılmıştır.

Çizelge 3.13. Hass avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları

Uygulama No	Bağımsız Değişkenler		Bağımlı Değişkenler	
	Katı/Çözücü (g/mL)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Madde (μ g GAE/g ekstrakt)	Ekstraksiyon Verimi (%)
1	1	5	1644.31	17.59
2	1	5	1715.60	17.50
3	1	5	1677.02	17.60

Yukarıdaki ön deneme sonuçlardan yola çıkılarak merkezi karma tasarımında CCD'de kullanacağımız bağımsız değişkenlerin minimum (-1) ve maksimum (1) faktör seviyeleri sırasıyla sıcaklık için 30 ile 60 °C ve katı/çözücü oranı için ise 1.0 ile 7.5 g/100 mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.14). Çizelge 3.14'te bağımsız değişkenlere ait kodlanmış ve kodlanmamış değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.14. Hass avokado meyve kabuğunun bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri		
	-1	0	1
X1: Sıcaklık (°C)	30	45	60
X2: Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)	1	4.25	7.5

Tez çalışmamızda, Hass avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu için 2 adet merkezi nokta içeren 13 farklı uygulamaya ait CCD, Çizelge 3.15' de verilmiştir.

Çizelge 3.15. Hass avokado meyve kabuğunun merkezi karma tasarımı

Uygulama No ^a	Sıcaklık (°C)	Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)
1	45	1
2	60	4.25
3	45	7.5
4	45	4.25
5	34	1.95
6	45	4.25
7	45	4.25
8	34	6.55
9	30	4.25
10	45	4.25
11	56	6.55
12	45	4.25
13	56	1.95

a: rastgele seçilmiş

Deneysel veriler istatistiksel analiz yazılımı Minitab (Minitab 20.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Model uyumu, regresyon testleri, R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerleri dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır. Modelin yanıt yüzeyleri ve tasarımları iki değişkenli ikinci dereceden eşitliğe göre belirlenmiştir. Yanıt olarak ise ekstraktların % ekstraksiyon verimleri ve toplam fenolik madde miktarları kullanılmıştır.

Çizelge 3.16. Hass avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun ön deneme sonuçları

Uygulama No.	Bağımsız Değişkenler		Bağımlı Değişkenler	
	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)	Ekstraksiyon Verimi (%)
1	1	5	160.60	8.22
2	7.5	5	172.95	5.01
3	15	5	139.25	3.36

Yukarıdaki ön deneme sonuçlardan yola çıkılarak CCD'de kullanacağımız bağımsız değişkenlerin minimum (-1) ve maksimum (1) faktör seviyeleri sırasıyla sıcaklık için 30 ile 60 °C ve katı/çözücü oranı için ise 1.0 ile 7.5 g/100 mL

olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.17). Çizelge 3.17’de bağımsız değişkenlere ait kodlanmış ve kodlanmamış değerleri verilmiştir.

Çizelge 3.17. Hass avokado çekirdek kabuğunun bağımsız değişkenlerinin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri		
	-1	0	1
X1: Sıcaklık (°C)	30	45	60
X2: Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)	1	4.25	7.5

Tez çalışmamızda, Hass avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu için 2 adet merkezi nokta içeren 13 farklı uygulamaya ait CCD, Çizelge 3.18’ de verilmiştir.

Çizelge 3.18. Hass avokado çekirdek kabuğunun merkezi karma tasarımı

Uygulama No ^a	Sıcaklık (°C)	Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)
1	56	6.55
2	34	1.95
3	45	1
4	45	4.25
5	45	4.25
6	45	7.5
7	30	4.25
8	34	6.55
9	45	4.25
10	60	4.25
11	45	4.25
12	56	1.95
13	45	4.25

a: rastgele seçilmiş

Deneysel veriler istatistiksel analiz yazılımı Minitab (Minitab 20.0) kullanılarak analiz edilmiştir. Model uyumu, regresyon testleri, R^2 ve düzeltilmiş R^2 değerleri dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır. Modelin yanıt yüzeyleri ve tasarımları iki değişkenli ikinci dereceden eşitliğe göre belirlenmiştir. Yanıt olarak ise ekstraktların % ekstraksiyon verimleri ve toplam fenolik madde miktarları kullanılmıştır.

3.2.3. Ekstraksiyon veriminin belirlenmesi

CCD kullanılarak avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlar, süzölmüş ve santrifüj (2-6, Sigma, Almanya) edilmiştir. Süzöntüden 10 mL örnek alınmış ve etüvde 105 °C'de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Kurutma sonrası tartımları yapıp, ekstraksiyon verim miktarı % (g ekstrakt/100 g örnek) olarak hesaplanmıştır. Analizler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Toplam fenolik madde miktarının belirlenmesi

CCD kullanılarak avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu ile elde edilen örnekler santrifüj yapıldıktan sonra, örneklerin TFM miktarları, Folin & Ciocalteu yöntemi kullanılarak saptanmıştır (Ainsworth & Gillespie, 2007). Farklı oranlar belirlenip seyreltilmiş fenolik ekstraktlarından 0.4 mL alınıp bir tüp içerisine pipetlenmiştir. Daha sonra 10 kat seyreltilmiş olan 2 mL Folin & Ciocalteu reaktifi eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır (Darmstadt, Germany). Ardından üzerine 1.6 mL %7.5'lik Na₂CO₃ (sodyum karbonat) çözeltisi eklenmiş ve tekrar vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım karanlıkta bir saat bekletildikten sonra, çözeltinin absorban değerleri, şahit çözeltiye karşı 765 nm dalga boyunda spektrofotometre (T70+UV/VIS spectrophotometer, PG Instruments, İngiltere) ile ölçölmüştür. Sonuçlar gallik asit ile hazırlanmış çözeltiden elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak hesaplanmıştır. Analizler üçer tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. DPPH serbest radikalleri yakalama aktivitesinin belirlenmesi

CCD kullanılarak avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu ile elde edilen örnekler santrifüj yapıldıktan sonra, örneklerin antioksidan etkisi Peltoketo vd. (2003) tarafından yayınlanmış olan DPPH serbest radikal yakalama aktivitesi tayini kullanılarak tespit edilmiştir (Ünsal vd., 2021). Fenolik ekstraktan 50 µL alınıp bir tüp içerisine pipetlenip, üzerine 450 µL Tris-HCl tamponu (50 mM, pH:7.4) eklenmiş ve vorteks ile

karıştırılmıştır. Ardından karışımlara 1.00 mL DPPH (0.10 mM, metanol içerisinde) çözeltisinden ilave edilip vorteksenerek, karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 30 dakika boyunca bekletilmiştir. Reaksiyon süresinin bitiminde çözeltinin absorbanı 517 nm’de spektrofotometrede okunmuştur. Kontrol olarak fenolik ekstraktı yerine saf su kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ekstraktların DPPH aktiviteleri, aşağıda verilen formülden yararlanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon (DPPH)} = [(AbsKontrol - AbsÖrnek)/AbsKontrol] * 100$$

Buradaki AbsKontrol ve AbsÖrnek sırasıyla kontrol ve örnek için okunan absorban değerlerini temsil etmektedir. Sonuçlar trolox® (99.87%) standardı (Sigma, Almanya) ile hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerin spektrofotometrede 517 nm’de elde edilen absorban değerleri kalibrasyon eğrisi ($R^2=0.9973$) kullanılarak hesaplanmış ve mg TE/100 g ekstrakt olarak verilmiştir.

3.2.6. Fenolik bileşiminin HPLC ile belirlenmesi

Mikrodalga destekli su ekstraksiyonu ile elde edilen avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu ekstraktlarından, en yüksek verim ve toplam fenolik madde içeriğine sahip örnekler süzülüp santrifüj edildikten sonra, süzüntüler 2 mL’lik eppendorflara konulmuştur. Daha sonra bu ekstraktlar Süleyman Demirel Üniversitesi Yenilikçi Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi (YETEM)’nde bulunan yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı ve refraktif indeks dedektör (RID) (Shimadzu, Japonya) cihazında analiz yaptırılmıştır. Çalışmada zıt faz (reversed-phase) Agilent Eclipse XDB-C18 (250x4.60 mm) 5 mikron analitik kolon kullanılmıştır. Dalga boyu 278 nm, akış hızı 0.8 mL/dakika, enjeksiyon hacmi 20 µL ve kolon fırın sıcaklığı 30 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Mobil faz olarak A: %3.0 asetik asit:metanol kullanılmıştır. Fenolik maddelerin profili, Caponio ve arkadaşlarının (2001) kademeli elüsyon (gradient) programı kullanılarak belirlenmiştir (Caponio vd, 1999; Delil vd, 2022).

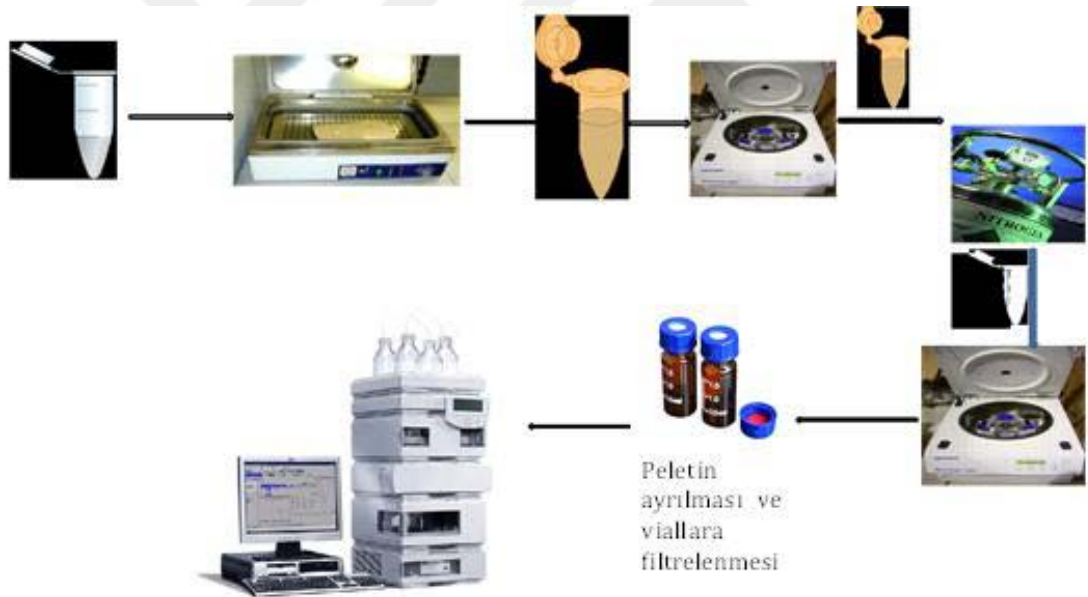
Standartların tespit limiti (limit of detection- LOD) Fuerte çeşidi yaprakta gallik asit için 0.4 ppm, protokateşuik asit için 0.2 ppm, p-hidroksibenzoik asit için 2.7 ppm, klorojenik asit için 31.6 ppm, epikateşin için 6.1 ppm, p-kumarik asit için 0.6 ppm, rutin için 1 ppm, rozmanirik asit için 5.4 ppm, sinamik asit için 0.4 ppm, kuersetin için 1.6 ppm, Fuerte çeşidi meyve kabuğunda gallik asit için 0.5 ppm, protokateşuik asit için 1.4 ppm, p-hidroksibenzoik asit için 7.6 ppm, klorojenik asit için 46.9 ppm, epikateşin için 25 ppm, şirincik asit için 2.5 ppm, p-kumarik asit için 0.8 ppm, rutin için 0.5 ppm, rozmanirik asit için 5.1 ppm, sinamik asit için 0.9 ppm, Fuerte çeşidi çekirdek kabuğunda gallik asit için 0.1 ppm, protokateşuik asit için 0.4 ppm, p-hidroksibenzoik asit için 0.2 ppm, klorojenik asit için 0.3 ppm, Hass çeşidi yaprakta gallik asit için 0.3 ppm, protokateşuik asit için 0.4 ppm, p-hidroksibenzoik asit için 1.8 ppm, klorojenik asit için 27.4 ppm, rozmanirik asit için 1.2 ppm, eriodiktiol için 0.6 ppm, sinamik asit için 0.6 ppm, kuersetin için 1.9 ppm, Hass çeşidi meyve kabuğunda gallik asit için 1,2 ppm, protokateşuik asit için 0.8 ppm, p-hidroksibenzoik asit için 5.9 ppm, klorojenik asit için 29.2 ppm, epikateşin için 27.2 ppm, rozmanirik asit için 3 ppm, sinamik asit için 0.4 ppm, Hass çeşidi çekirdek kabuğunda gallik asit için 1.9 ppm, protokateşuik asit için 2 ppm, kateşin için 1.9 ppm, p-hidroksibenzoik asit için 0.7 ppm, klorojenik asit için 1.1 ppm, kafeik asit için 0.4 ppm, şirincik asit için 0.3 ppm, p-kumarik asit için 0.1 ppm, sinamik asit için 0.4 ppm'dir. Ekstraktta bulunan toplam fenolik madde miktarı ise fenolik kalibrasyon eğrileri kullanılarak mg/g ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Analizler, üç tekerrürlü yapılmıştır.

3.2.7. Antidiyabetik aktivitesinin belirlenmesi

Antidiyabetik aktivitenin ölçülmesi, sıçan bağırsak tozundaki α -glikozidaz enzimlerinin (maltaz, izomaltaz ve sükröz) aktivitelerinin saptanması prensibine dayanmaktadır (Nyambe-Silavwe vd., 2015). 200 μ L substrat 200 μ L enzim ve 100 μ L tampon çözelti karıştırılarak 37°C'de 10 dk boyunca su banyosunda (Selecta, İspanya) inkübe edilmiştir. Daha sonrasında enzim aktivitesini durdurmak için 750 μ L aseton eklenerek 10 saniye boyunca vorteksle karıştırılmış ve ardından 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Son olarak elde edilen örneklerdeki aseton, nitrojen gazı ile uçurulmuştur. Sükrozdan

parçalanarak oluşan früktoz ve glikoz miktarlarının ölçülmesinde, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı ve refraktif indeks dedektör (RID) (Shimadzu, Japonya) kullanılmıştır. İç (internal) standart olarak laktoz kullanılmıştır. Ek olarak deneyin doğrulanması ve ekstraktların antidiyabetik aktivitesi için, diyabet hastalarının tedavisinde kullanılan metformin, pozitif kontrol olarak analize eklenmiştir.

Deneyin optimizasyonu için, Michaelis Sabiti (K_m/V_{max}) ölçülmüş ve K_m (mM), V_{max} (0.09 μ mol sükroz hidrolizi/dakika) değerlerine göre farklı enzim konsantrasyonu ve inkübasyon süresi kullanılarak 37 °C'de sükrozun hidrolizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerden, enzim spesifik aktivitesinin en yüksek olduğu değer ve sıçan bağırsak tozu konsantrasyonları, optimum inkübasyon süresi ve enzim konsantrasyonu olarak belirlenmiştir (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Optimum şartlarda elde edilen avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu ekstraktlarının, sükrozun glukozidaz enziminin hidrolizi ile açığa çıkan glikoz ve fruktoz miktarının belirlenmesinde yararlanılan kimyasal reaksiyon aşamaları

3.3. İstatistiksel Analizler

Ekstraksiyon ön deneme uygulamaları deneme planına göre 2 tekerrür, analizler ise 3 paralel halinde gerçekleştirilmiştir.

Avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu ekstraksiyonu için, elde edilen yanıtların değerlendirilmesi ve optimum noktaların bulunabilmesi için Minitab paket programı RSM kullanılmıştır. Elde edilen deney verileri Minitab istatistiksel analiz yazılım programı (Minitab 20.0) kullanılarak analiz edilmiş ve modelin performansı R^2 değerleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. CCD, model tasarımında kullanılmıştır. Model iki değişkenli ikinci dereceden eşitliğe göre değerlendirilmiştir.

Eşitlikte X bağımsız değişken, Z bağımlı değişken, sabit katsayı, birinci dereceden (doğrusal) denklem katsayısı, ikinci dereceden denklem katsayısı ve iki faktörlü çapraz interaksiyon katsayısı olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Avokado, az miktarda şeker oranı, zengin biyoaktif bileşenleri, besin öğeleri ve antioksidan özelliği ile insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan, dolayısıyla literatürlerde hipoglisemik, antioksidan, antidiyabetik, anti-viral vb. özellikleri bildirilen fonksiyonel bir meyvedir. Avokado atıkları olan yaprağın antioksidan, antidiyabetik, antikanser ve kardiyovasküler, meyve kabuğunun antioksidan, antidiyabetik, antikanser, antimikrobiyal ve kardiyovasküler ve çekirdek kabuğunun antidiyabetik ve antioksidan özellikleri yapılan bilimsel çalışmalarda rapor edilmiştir.

Bu tez çalışmasında, RSM ve CCD ile Hass ve Fuerte çeşidi avokado meyve kabuğu, yaprak ve çekirdek kabuğu biyoaktif bileşenlerinden fenolik maddelerin MAE işlem şartları optimize edilmiştir. Ayrıca, optimum şartlarda ekstrakte edilen Hass ve Fuerte avokado meyve kabuğu, yaprak ve çekirdek kabuğu su ekstraktlarının, fizikokimyasal özelliklerinin, biyoaktif bileşenlerinin ve biyofonksiyonel özellikleri (antioksidan ve antidiyabetik aktivite) belirlenmiştir.

4.1. Avokado Meyve kabuğu, Yaprak ve Çekirdek Kabuğunun Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

Avokado meyve kabuğu, yaprak ve çekirdek kabuğunun kurutma öncesi taze ve kuru örneklerinin, % nem miktarları ile taze meyvelerin hacim miktarları belirlenmiş, sonuçlar Çizelge 4.1 ve 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Hass ve Fuerte çeşidi avokado meyvelerine ait farklı kısımların taze ve kurutma sonrasındaki nem içerikleri (%)

Meyve Kısım	Taze (% Nem)		Kuru (%Nem)	
	Hass	Fuerte	Hass	Fuerte
Yaprak	48.22±0.53	57.32±0.56	6.60±0.29	3.91±0.13
Meyve Kabuğu	74.01±0.28	79.48±0.24	6.26±0.31	3.68±0.42
Çekirdek Kabuğu	36.20±0.10	37.96±0.12	6.19±0.47	3.54±0.04

Çizelge 4.2. Taze avokado meyvesinin hacim miktarları

Örnek Adı	Hacim (cm ³)
Fuerte avokado	120±2.88
Hass avokado	75±5.00

Örneklerin, kurutma işleminden sonra nem miktarları %10 nem seviyesine getirilmiştir (Çizelge 4.1). Her iki çeşidin de örnekleri üzerinde yapılan nem miktarı analizinin sonucunda, en fazla nem miktarı meyve kabuklarında, en az nem miktarı ise çekirdek kabuklarında, her iki çeşidin kuru örneklerinde en fazla nem miktarı yaprakta, en az nem miktarı ise çekirdek kabuğunda tespit edilmiştir. Meyve kabuğunda % nem miktarındaki düşme oranı, yaprağın nem miktarındaki düşme oranından daha fazla olmasının nedeni, meyve kabuğundaki yağ miktarının fazla olmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Her iki çeşidin meyvesinin hacim ölçümleri sonucunda, Fuerte avokado meyvesinin hacminin (120 cm³), Hass avokado meyvesinin hacminden (75 cm³) daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

4.2. Hass ve Fuerte Avokado Çeşitlerinin Yaprak, Meyve ve Çekirdek Kabuğu Su Ekstraktlarının Verim ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Ekstraksiyon Modellemesi

Hass ve Fuerte meyvelerinin yaprak, meyve ve çekirdek kabuğunun farklı ekstraksiyon şartlarındaki ekstraksiyon verimi (%) ve toplam fenolik madde (µg GAE/g ekstrakt) miktarları Çizelge 4.3, 4.5, 4.7, 4.9 4.11 ve 4.13'te ve ekstraksiyon şartlarına ilişkin ekstraksiyon verimi (%) ile TFM (µg GAE/g ekstrakt) değerlerinde meydana gelen değişimlere ait model katsayılarının değerlendirme sonuçları Çizelge 4.4, 4.6, 4.8, 4.10, 4.12, 4.14'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Fuerte avokado yaprağının, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)

Deney No ^a	Katı/Çözücü (g/ 100mL)	Sıcaklık (°C)	Ekstraksiyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)
1	4.25	45	15.82	1069.21
2	7.5	45	14.84	1038.66
3	4.25	45	15.82	1066.70
4	4.25	60	16.60	1226.45
5	4.25	45	15.78	1066.77
6	4.25	45	15.78	1066.80
7	4.25	30	14.49	1015.73
8	1.95	56	17.14	1253.37
9	1.95	34	15.64	1272.22
10	1	45	16.74	1345.90
11	6.55	34	14.25	900.56
12	6.55	56	15.70	1196.89
13	4.25	45	15.80	1073.05

a: rastgele seçilmiş

Çizelge 4.3 incelendiğinde Fuerte avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonu modellemesi ile elde edilen ekstraksiyon verimlerinin % 14.49 ile 17.57 aralığında olduğu saptanmıştır. Avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonunda en az ekstraksiyon verimi 4.25 g kuru yaprağa 30°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde, en yüksek verimin ise 1 g kuru yaprağa 60°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde tespit edilmiştir

Çizelge 4.4. Fuerte avokado yaprağının ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri

Model Katsayılar	Verim	Toplam Fenolik Madde
β0	11.684***	2260.9***
β1(Sıcaklık)	0.16964***	-27.80***
β2(Katı/Çözücü Oranı)	-0.29990***	-291.63***
β11	-0.001107***	0.2316***
β22	ns	11.675***
β12	ns	3.2327***
Model	***	***
Regresyon katsayısı (R ²)	99.93	99.95
Düzeltilmiş R ² (Adj- R ²)	99.91	99.92
Tahmin edilen R ² (Pred- R ²)	99.84	99.75
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.207	0.189

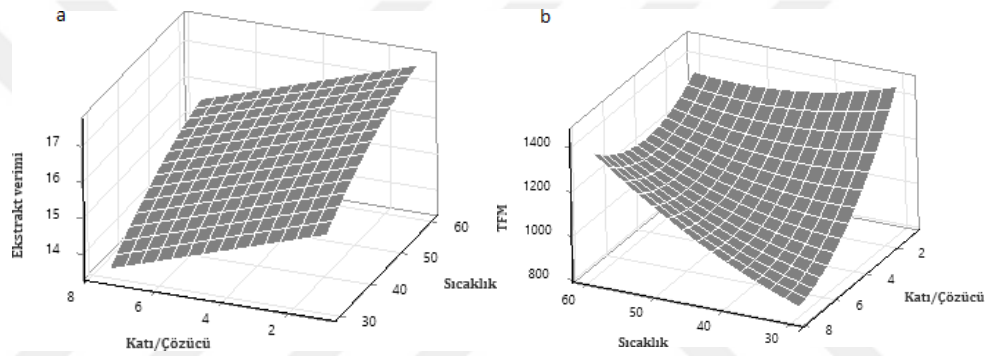
β0 sabit katsayı, βi Birinci dereceden (Doğrusal) denklem katsayısı, βii ikinci dereceden denklem katsayısı ve βij iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısıdır. ns, İstatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$); *, İstatistiksel olarak % 95 seviyesinde önemli ($p \leq 0.05$); **, İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$); ***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$).

Çizelge 4.4'te avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyon verimi incelendiğinde yanıt yüzey metoduna göre elde edilen modelde bağımsız değişken olan sıcaklık, katı/çözücü oranı ve ikinci derece değişkenlerden sıcaklığın ekstraksiyon verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli bulunmuştur ($p \leq 0.001$). Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Ekstrakt verimi bakımından modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Fuerte avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyon veriminin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.1 a'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde ekstraksiyon verimi düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte azalırken, daha yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte ekstraksiyon veriminde azalma tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık ve düşük katı/çözücü oranında ise verimin yükseldiği saptanmıştır. Literatür taramalarında Fuerte avokado yaprağı için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.

Fuerte avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun TFM miktarlarının ise, ekstraksiyon parametrelerine bağlı değişimini gösteren model incelendiğinde, sıcaklık ve katı/çözücü oranının birinci dereceden terimleri istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur (Çizelge 4.4). Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden sıcaklık ve katı/çözücü oranı ile sıcaklık ve katı/çözücü oranı interaksiyonu istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p \leq 0.001$). Lack of fit (uyum eksikliği) değeri önemsizdir ($p > 0.05$). Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstraktların TFM değişimlerini, model yüksek tahmin gücüyle (%99) açıklamaktadır.

Fuerte avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonundaki TFM'nin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.1 b'de verilmiştir. TFM miktarı düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte azalırken, daha yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte TFM miktarında önce azalma ve daha sonra ılımlı bir artış saptanmıştır. Düşük sıcaklık ve düşük katı/çözücü oranında ise TFM miktarının en yüksek olduğu belirlenmiştir. Literatür taramalarında Fuerte avokado yaprağı için yapılan ekstraksiyonlarda sıcaklık ve katı/çözücü oranının TFM miktarı üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.



Şekil 4.1. Fuerte avokado yaprağının, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi

Fuerte avokado yaprağının TFM sonuçları incelendiğinde değerlerin 900.56 ile 1345.90 µg GAE/g ekstrakt arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.3). En düşük toplam fenolik madde miktarı 34°C sıcaklık, 5 dk süre ve 6.54 g katı/çözücü oranı ile, en yüksek TFM miktarı ise 45°C sıcaklık, 5 dk süre ve 1.0 g katı/çözücü oranı kullanılarak yapılan ekstraksiyon şartlarında elde edilmiştir.

Torres (1987) yaptığı bir çalışmada Fuerte avokado yapraklarının metanolik ekstraksiyonundaki TFM miktarını araştırmıştır. Çalışma sonucunda TFM miktarını 1.50–2.40 mg GAE/100g arasında tespit etmiştir.

Çizelge 4.5. Fuerte avokado meyve kabuğunun, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)

Deney No ^a	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Sıcaklık (°C)	Ekstraksiyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)
1	4.25	45	20.88	2332.89
2	6.55	56	18.76	2405.94
3	1	45	24.03	2484.48
4	4.25	45	20.88	2332.89
5	1.95	34	22.73	2464.78
6	6.55	34	17.90	2449.11
7	7.5	45	17.18	2521.58
8	4.25	30	20.20	2386.70
9	1.95	56	23.56	2346.86
10	4.25	45	20.85	2335.08
11	4.25	45	20.82	2330.03
12	4.25	45	20.83	2327.86
13	4.25	60	21.53	2275.08

a: rastgele seçilmiş

Çizelge 4.5 incelendiğinde Fuerte avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu modellemesi ile elde edilen ekstraksiyon verimlerinin % 17.18 ile 24.03 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunda en az ekstraksiyon verimi 7.5 g kuru meyve kabuğuna 45°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde, en yüksek verimin ise 1 g kuru meyve kabuğa 45°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.6. Fuerte avokado meyve kabuğunun ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri

Model Katsayılar	Verim	Toplam Fenolik Madde
β_0	23.0096***	2917.9***
β_1 (Sıcaklık)	0.04201***	-7.017***
β_2 (Katı/Çözücü Oranı)	0.8522***	-167.11***
β_{11}	ns	ns
β_{22}	0.02334***	16.215***
β_{12}	ns	0.7667***
Model	***	***
Regresyon katsayısı (R^2)	99.98	99.93
Düzeltilmiş R^2 (Adj- R^2)	99.98	99.90
Tahmin edilen R^2 (Pred- R^2)	99.96	99.82
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.294	0.787

β_0 sabit katsayı, β_i Birinci dereceden (Doğrusal) denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı ve β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısıdır. ns, İstatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$); *, İstatistiksel olarak % 95 seviyesinde önemli ($p \leq 0.05$); **, İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$); ***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$).

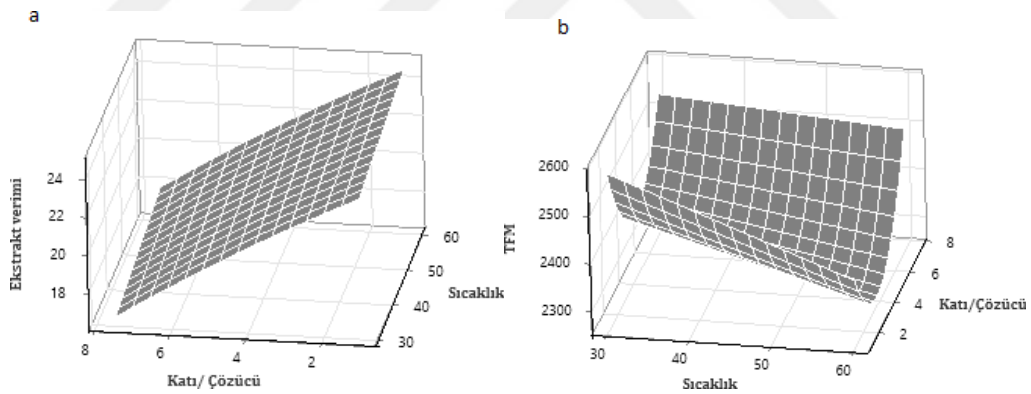
Çizelge 4.6'da Fuerte avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyon verimi incelendiğinde yanıt yüzey metoduna göre elde edilen modelde bağımsız değişken olan sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli olduğu ($p \leq 0.001$) tespit edilmiştir. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden katı/çözücü oranı, sıcaklık ve katı/çözücü oranı interaksyonu %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Ekstrakt verimi bakımından modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Fuerte avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyon veriminin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.2 a'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde ekstraksiyon verimi düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte azalırken, daha yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte ekstraksiyon veriminde azalma tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık ve düşük miktarda katı/çözücü oranında ise verimin en yüksek olduğu bulunmuştur. Literatür taramalarında Fuerte avokado kabuğu için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.6'da Fuerte avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun TFM miktarları için, ekstraksiyon parametrelerine bağlı değişimi gösteren model incelendiğinde, sıcaklık ve katı/çözücü oranının birinci dereceden terimleri istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden katı/çözücü oranı ve sıcaklık ve katı/çözücü oranı interaksyonu %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen

ekstrakt verim (%) deęişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Modelin tahmin gücünün yüksek olduęu görölmektedir.

Fuerte avokado meyve kabuęunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonundaki TFM'nin bağımsız deęişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine baęlı deęişimi Şekil 4.2 b'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde TFM miktarı düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte artarken, daha yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte TFM miktarında önce azalma sonra artış tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık ve düşük miktarda katı/çözücü oranında ise TFM miktarının en düşük olduęu bulunmuştur. En yüksek TFM miktarı ise düşük sıcaklık ve düşük katı/çözücü oranında saptanmıştır. Literatür taramalarında Fuerte avokado kabuęu için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyondaki TFM miktarı üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.



Şekil 4.2. Fuerte avokado meyve kabuęunun, % verime ekstraksiyon bağımsız deęişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine baęlı deęişimi (a) ve toplam fenolik maddeye sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine baęlı deęişimi (b)

Fuerte avokado meyve kabuęunun TFM sonuçları incelendiğinde deęerleri 2275.08 ile 2521.58 µg GAE/g ekstrakt arasında deęiştii tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). En düşük TFM 60°C sıcaklık, 5 dk süre ve 4.25 g katı/çözücü oranı ile, en yüksek TFM miktarı ise 45°C sıcaklık, 5 dk süre ve 7.5 g katı/çözücü oranı kullanılarak yapılan ekstraksiyon şartlarında elde edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada Fuerte avokado kabuğundan, aralıklı çalkalama ile yaptığı su, hidroetanolik ve etanolik ekstraksiyonundaki TFM miktarları araştırılmıştır. Avokado meyve kabuğunun su ekstraksiyonu sonucunda 867 mg GAE/g ekstrakt, hidroetanolik ekstraksiyonunda 1037 GAE/g ekstrakt ve etanolik ekstraksiyonunda 2407 GAE/g ekstrakt tespit edilmiştir (Dibacto vd., 2021). TFM'ler arası farklılıkların nedeni kullanılan çözgen ve uygulanan ekstraksiyon yöntemi olduğunu düşünmekteyiz.

Çizelge 4.7. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)

Deney No ^a	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Sıcaklık (°C)	Ekstraksiyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)
1	4.25	45	2.90	305.44
2	4.25	45	2.90	305.44
3	6.55	34	2.44	267.46
4	6.55	56	3.05	342.36
5	1.95	56	5.05	321.66
6	1.95	34	4.38	246.58
7	4.25	45	2.95	307.18
8	4.25	30	2.81	294.33
9	7.5	45	2.90	254.21
10	1	45	5.63	225.07
11	4.25	45	2.93	305.04
12	4.25	45	2.92	303.55
13	4.25	60	3.62	398.63

a: rastgele seçilmiş

Çizelge 4.7 incelendiğinde Fuerte avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu modellemesi ile elde edilen ekstraksiyon verimlerinin % 2.44 ile 5.63 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunda en az ekstraksiyon verimi 6.54 g kuru çekirdek kabuğuna 34°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde, en yüksek verimin ise 1 g kuru çekirdek kabuğuna 45°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.8. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri

Model Katsayılar	Verim	Toplam Fenolik Madde
β_0	5.59253***	394.27***
β_1 (Sıcaklık)	-0.08662***	-13.246***
β_2 (Katı/Çözücü Oranı)	-1.5024***	56.780***
β_{11}	0.001281***	0.18614***
β_{22}	0.12680***	-6.1502***
β_{12}	ns	ns
Model	***	***
Regresyon katsayısı (R^2)	99.94	99.95
Düzeltilmiş R^2 (Adj- R^2)	99.92	99.93
Tahmin edilen R^2 (Pred- R^2)	99.82	99.85
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.286	0.606

β_0 sabit katsayı, β_i Birinci dereceden (Doğrusal) denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı ve β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısıdır. ns, İstatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$); *, İstatistiksel olarak % 95 seviyesinde önemli ($p \leq 0.05$); **, İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$); ***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$).

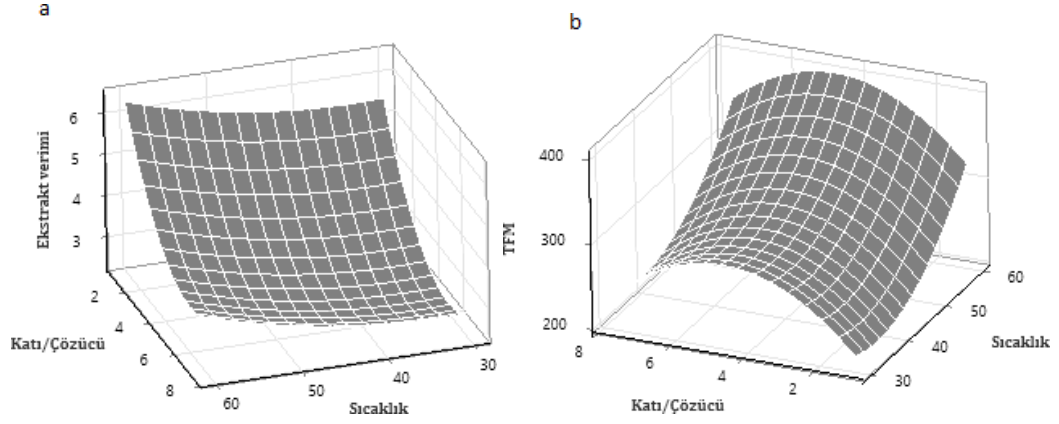
Çizelge 4.8’de Fuerte avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyon verimi incelendiğinde yanıt yüzey metoduna göre elde edilen modelde bağımsız değişken olan sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli olduğu ($p \leq 0.001$) tespit edilmiştir. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden sıcaklık ve katı/çözücü oranı %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Ekstrakt verimi bakımından modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Fuerte avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyon veriminin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.3 a’da verilmiştir. Şekil incelendiğinde ekstraksiyon verimi düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte azalırken, daha yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte ekstraksiyon veriminde

azalma gözlenmiştir. Yüksek sıcaklık ve düşük miktarda katı/çözücü oranında ise verimin en yüksek olduğu bulunmuştur. Literatür taramalarında Fuerte avokado çekirdek kabuğu için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.8'de Fuerte avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun TFM miktarları için, ekstraksiyon parametrelerine bağlı değişimi gösteren model incelendiğinde, sıcaklık ve katı/çözücü oranının birinci dereceden terimleri istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden katı/çözücü oranı ve sıcaklık %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Fuerte avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonundaki TFM'nin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.3 b'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde TFM miktarı düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte önce artmış sonra azalmıştır. Yüksek sıcaklıkta katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte ise TFM miktarında daha keskin bir artış ve azalış saptanmıştır. Yüksek sıcaklık ve düşük miktarda katı/çözücü oranında ise TFM miktarının en düşük olduğu bulunmuştur. Literatür taramalarında Fuerte avokado çekirdek kabuğu için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyondaki TFM miktarı üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.



Şekil 4.3. Fuerte avokado çekirdek kabuğunun, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (a) ve toplam fenolik maddeye sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (b)

Fuerte avokado çekirdek kabuğunun TFM sonuçları incelendiğinde değerlerin 225.07 ile 2521.58 $\mu\text{g GAE/g}$ ekstrakt arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). En düşük TFM miktarı 45°C sıcaklık, 5 dk süre ve 1.0 g katı/çözücü oranı ile, en yüksek TFM miktarı ise 60°C sıcaklık, 5 dk süre ve 4.25 g katı/çözücü oranı kullanılarak yapılan ekstraksiyon şartlarında elde edilmiştir.

Literatür taramalarında, Fuerte avokado çekirdek kabuklarının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır. Ancak yapılan bir çalışmada, Fuerte çekirdeğinin 15 dakika boyunca ultrasonik banyoda etanol/su (80/20 v/v) ile ekstraktının sonucunda toplam fenolik madde miktarını 59.2 mg GAE/g ekstrakt olarak tespit etmişlerdir (Tremocoldi vd., 2018).

Çizelge 4.9. Hass avokado yaprağının, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)

Deney No ^a	Katı/Çözücü (g/100mL)	Sıcaklık (°C)	Ekstraksiyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)
1	7.5	45	15.07	709.82
2	4.25	45	17.51	657.53
3	4.25	45	17.45	657.42
4	1.95	34	18.45	456.17
5	1	45	19.67	585.14
6	1.95	56	19.34	516.47
7	4.25	30	16.63	368.20
8	4.25	60	17.67	452.35
9	4.25	45	17.49	658.27
10	6.55	34	15.36	546.48
11	4.25	45	17.49	660.61
12	4.25	45	17.49	660.60
13	6.55	56	15.98	608.18

a: rastgele seçilmiş

Çizelge 4.9 incelendiğinde Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonu modellemesi ile elde edilen ekstraksiyon verimlerinin % 15.07 ile 19.67 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonunda en az ekstraksiyon verimi 7.5 g kuru yaprakta 45°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde, en yüksek verimin ise 1 g kuru yaprağa 45°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.10. Hass avokado yaprağının ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri

Model Katsayılar	Verim	Toplam Fenolik Madde
β_0	15.278***	-1793.0***
β_1 (Sıcaklık)	0.17468***	101.696***
β_2 (Katı/Çözücü Oranı)	-0.4964***	27.49***
β_{11}	-0.001442***	-1.09840***
β_{22}	-0.01007***	-0.940***
β_{12}	-0.002727***	ns
Model	***	***
Regresyon katsayısı (R^2)	99.98	99.97
Düzeltilmiş R^2 (Adj- R^2)	99.97	99.96
Tahmin edilen R^2 (Pred- R^2)	99.93	99.90
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.372	0.227

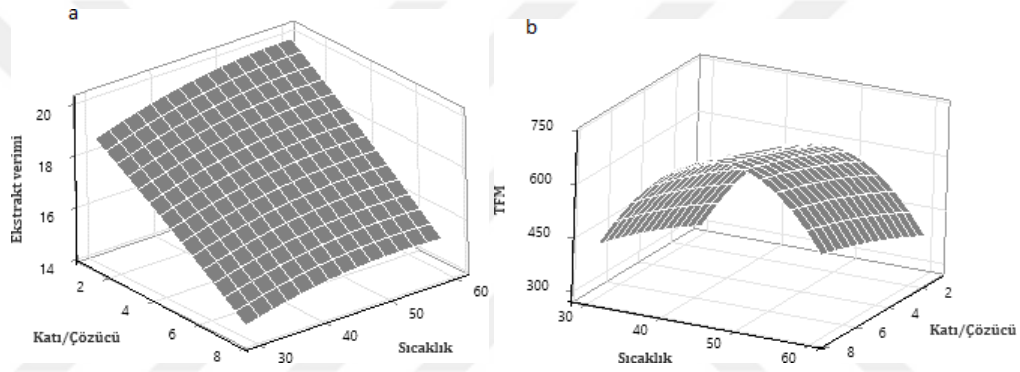
β_0 sabit katsayı, β_i Birinci dereceden (Doğrusal) denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı ve β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısıdır. ns, İstatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$); *, İstatistiksel olarak % 95 seviyesinde önemli ($p \leq 0.05$); **, İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$); ***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$).

Çizelge 4.10'da Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyon verimi incelendiğinde RSM'ye göre elde edilen modelde bağımsız değişken olan sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli olduğu ($p \leq 0.001$) tespit edilmiştir. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden sıcaklık, katı/çözücü oranı ve sıcaklık ve katı/çözücü oranı interaksiyonu %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Ekstrakt verimi bakımından modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyon veriminin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.4 a'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde ekstraksiyon verimi düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte azalırken, daha yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte ekstraksiyon veriminde azalma tespit edilmiştir. Yüksek sıcaklık ve düşük miktarda katı/çözücü oranında ise verimin en yüksek olduğu bulunmuştur. Literatür taramalarında Hass avokado yaprağı için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.10'da Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun TFM miktarları için, ekstraksiyon parametrelerine bağlı değişimi gösteren model incelendiğinde, sıcaklık ve katı/çözücü oranının birinci dereceden terimleri istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden katı/çözücü oranı ve sıcaklık %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Hass avokado yaprağının mikrodalga destekli su ekstraksiyonundaki TFM'nin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.4 b'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde TFM miktarı düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte önce artmış sonra azalmıştır, yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte TFM miktarı önce artmış sonra azalmıştır. Düşük sıcaklık ve düşük katı/çözücü oranında ise TFM miktarının en düşük olduğu belirlenmiştir. Literatür taramalarında Hass avokado yaprağı için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyondaki TFM miktarı üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.



Şekil 4.4. Hass avokado yaprağının, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi

Hass avokado yaprağının TFM sonuçları incelendiğinde değerlerin 368.20 ile 709.82 μg GAE/g ekstrakt arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.9). En düşük TFM miktarı 30°C sıcaklık, 5 dk süre ve 4.25 g katı/çözücü oranı ile, en yüksek TFM miktarı ise 45°C sıcaklık, 5 dk süre ve 7.5 g katı/çözücü oranı kullanılarak yapılan ekstraksiyon şartlarında elde edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada Hass avokado yapraklarının metanolik ekstraksiyonundaki TFM miktarı araştırılmıştır. Çalışma sonucunda TFM miktarını 1.750–1.930 mg GAE/g ekstrakt arasında tespit etmişlerdir (Torres vd., 1987).

Çizelge 4.11. Hass avokado meyve kabuğunun, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)

Deney No ^a	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Sıcaklık (°C)	Ekstraksiyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)
1	1	45	19.96	1148.50
2	4.25	60	19.72	1342.61
3	7.50	45	16.76	1133.64
4	4.25	45	18.34	1154.31
5	1.95	34	18.55	988.52
6	4.25	45	18.36	1155.43
7	4.25	45	18.34	1144.94
8	6.55	34	16.20	1004.60
9	4.25	30	16.94	901.88
10	4.25	45	18.38	1151.83
11	6.55	56	18.24	1296.65
12	4.25	45	18.38	1158.87
13	1.95	56	20.46	1276.17

a: rastgele seçilmiş

Çizelge 4.11 incelendiğinde Hass avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu modellemesi ile elde edilen ekstraksiyon verimlerinin %16.20 ile 20.46 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunda en az ekstraksiyon verimi 6.5 g kuru meyve kabuğunda 34°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde, en yüksek verimin ise 1.95 g kuru kabuğa 56°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.12. Hass avokado meyve kabuğunun ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri

Model Katsayılar	Verim	Toplam Fenolik Madde
β_0	16.5373***	287.7***
β_1 (Sıcaklık)	0.08712***	24.18***
β_2 (Katı/Çözücü Oranı)	-0.5564***	ns
β_{11}	ns	-0.1111**
β_{22}	ns	ns
β_{12}	0.001376**	ns
Model	***	***
Regresyon katsayısı (R^2)	99.98	99.41
Düzeltilmiş R^2 (Adj- R^2)	99.98	99.29
Tahmin edilen R^2 (Pred- R^2)	99.96	98.76
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.526	0.053

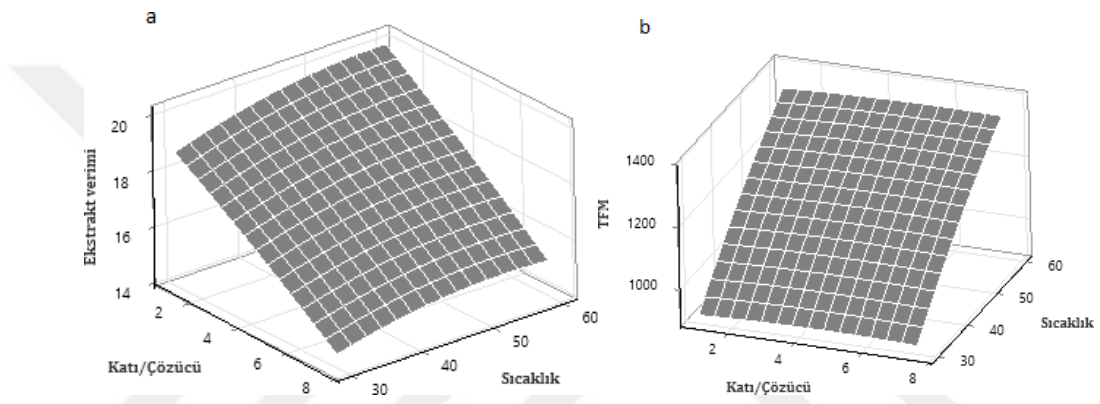
β_0 sabit katsayı, β_i Birinci dereceden (Doğrusal) denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı ve β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısıdır. ns, İstatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$); *, İstatistiksel olarak % 95 seviyesinde önemli ($p \leq 0.05$); **, İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$); ***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$).

Çizelge 4.12’de Hass avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyon verimi incelendiğinde RSM’ye göre elde edilen modelde bağımsız değişken olan sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli olduğu ($p \leq 0.001$) tespit edilmiştir. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden sıcaklık ve katı/çözücü oranı interaksiyonu %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Ekstrakt verimi bakımından modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Hass avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyon veriminin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.5 a’da verilmiştir. Şekil incelendiğinde ekstraksiyon verimi düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte azalırken, daha yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte ekstraksiyon veriminde azalma bulunmuştur. Yüksek sıcaklık ve düşük miktarda katı/çözücü oranında ise verimin en yüksek olduğu belirlenmiştir. Literatür taramalarında Hass avokado kabuğu için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.12’de Hass avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun TFM miktarları için, ekstraksiyon parametrelerine bağlı değişimi gösteren model incelendiğinde, sıcaklığın birinci dereceden terimleri istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden sıcaklığın %99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Hass avokado meyve kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonundaki TFM'nin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.5 b'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde TFM miktarı düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla en düşük değerlere, yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte ise en yüksek değerlere ulaşılmıştır. Literatür taramalarında Hass avokado kabuğu için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyondaki TFM miktarı üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.



Şekil 4.5. Hass avokado meyve kabuğunun, % verime ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (a) ve toplam fenolik maddeye sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi (b)

Hass avokado meyve kabuğunun TFM sonuçları incelendiğinde değerlerin 901,88 ile 1342,61 μg GAE/g ekstrakt arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.11). En düşük TFM 30°C sıcaklık, 5 dk süre ve 4.25 g katı/çözücü oranı ile, en yüksek TFM miktarı ise 60°C sıcaklık, 5 dk süre ve 4.25 g katı/çözücü oranı kullanılarak yapılan ekstraksiyon şartlarında elde edilmiştir.

Çizelge 4.13. Hass avokado çekirdek kabuğunun, farklı ekstraksiyon şartlarında elde edilen ekstraksiyon verimi ve toplam fenolik madde değerleri (Ekstraksiyon süresi: 5 dakika)

Deney No ^a	Katı/Çözücü (g/100 mL)	Sıcaklık (°C)	Ekstraksiyon Verimi (%)	Toplam Fenolik Madde (µg GAE/g ekstrakt)
1	6.55	56	5.45	273.66
2	1.95	34	5.56	154.14
3	1	45	5.72	125.93
4	4.25	45	5.87	186.80
5	4.25	45	5.88	186.18
6	7.5	45	4.74	193.82
7	4.25	30	5.43	168.63
8	6.55	34	4.86	154.30
9	4.25	45	5.88	186.20
10	4.25	60	6.25	274.01
11	4.25	45	5.87	187.35
12	1.95	56	6.15	179.47
13	4.25	45	5.88	186.77

a: rastgele seçilmiş

Çizelge 4.13 incelendiğinde Hass avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonu modellemesi ile elde edilen ekstraksiyon verimlerinin % 4,74 ile 6,25 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunda en az ekstraksiyon verimi 7.5 g kuru çekirdek kabuğuna 45°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde, en yüksek verimin ise 4.25 g kuru çekirdek kabuğuna 60°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde tespit edilmiştir.

Çizelge 4.14. Hass avokado çekirdek kabuğunun ekstraksiyon koşullarına ilişkin yanıtların model denklem katsayıları ve uyum değerleri

Model Katsayılar	Verim	Toplam Fenolik Madde
β_0	3.692***	436.37***
β_1 (Sıcaklık)	0.04788***	-14.460***
β_2 (Katı/Çözücü Oranı)	0.3799***	-11.403***
β_{11}	-0.000225**	0.15359***
β_{22}	-0.06253***	-2.5457***
β_{12}	ns	0.9643***
Model	***	***
Regresyon katsayısı (R^2)	99.90	99.98
Düzeltilmiş R^2 (Adj- R^2)	99.86	99.97
Tahmin edilen R^2 (Pred- R^2)	99.59	99.90
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.090	0.111

β_0 sabit katsayı, β_i Birinci dereceden (Doğrusal) denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı ve β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısıdır. ns, İstatistiksel olarak önemsiz ($p > 0.05$); *, İstatistiksel olarak % 95 seviyesinde önemli ($p \leq 0.05$); **, İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$); ***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$).

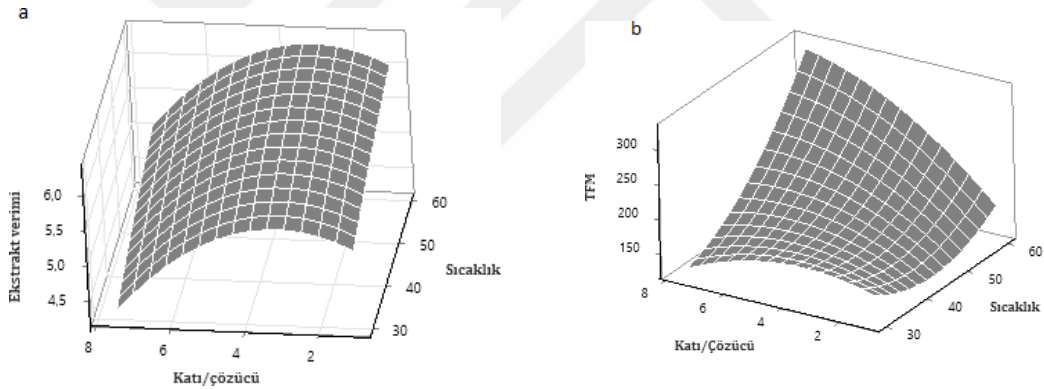
Çizelge 4.14'te Hass avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyon verimi incelendiğinde RSM'ye göre elde edilen modelde bağımsız değişken olan sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli olduğu ($p \leq 0.001$) tespit edilmiştir. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden sıcaklık İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$) katı/çözücü oranı interaksiyonu %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Ekstrakt verimi bakımından modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Hass avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyon veriminin bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine bağlı değişimi Şekil 4.6 a'da verilmiştir. Şekil incelendiğinde ekstraksiyon verimi düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte azalırken, daha yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte önce ılımlı bir artış sonra azalış tespit edilmiştir. Yüksek katı/çözücü oranı ve düşük sıcaklıkta ise verimin en düşük olduğu saptanmıştır. Literatür taramalarında Hass avokado çekirdek kabuğu için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.14'te Hass avokado çekirdek kabuğunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonunun TFM miktarları için, ekstraksiyon parametrelerine bağlı değişimi gösteren model incelendiğinde, sıcaklığın birinci dereceden terimleri istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) bulunmuştur. Model içerisindeki ikinci derece değişkenlerden sıcaklık, katı/çözücü oranı ve sıcaklık ve katı/ çözücü oranı interaksiyonu %99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$) bulunmuştur. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p > 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık ve katı/çözücü oranı ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen

ekstrakt verim (%) deęişimlerini model, %99 oranında açıklamaktadır. Modelin tahmin gücünün yüksek olduęu görölmektedir.

Hass avokado çekirdek kabuęunun mikrodalga destekli su ekstraksiyonundaki TFM'nin bağımsız deęişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranının etkisine baęlı deęişimi Şekil 4.6 b'de verilmiştir. Şekil incelendiğinde TFM miktarı düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte ılımlı bir artış daha sonra azalış bulunmuştur. Yüksek sıcaklıkta ve katı/çözücü oranının artmasıyla birlikte TFM miktarında artış saptanmıştır. Yüksek sıcaklık ve yüksek katı/çözücü oranında ise TFM miktarı en yüksek olduęu bulunmuştur. Literatür taramalarında Hass avokado çekirdek kabuęu için sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyondaki TFM miktarı üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır.



Şekil 4.6. Hass avokado çekirdek kabuęunun, % verime ekstraksiyon bağımsız deęişkenlerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine baęlı deęişimi (a) ve toplam fenolik maddeye sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine baęlı deęişimi (b)

Hass avokado çekirdek kabuęunun TFM sonuçları incelendiğinde deęerlerin 125,93 ile 274,01 µg GAE/g ekstrakt arasında deęiştii tespit edilmiştir (Çizelge 4.13). En düşük TFM 45°C sıcaklık, 5 dk süre ve 1.0 g katı/çözücü oranı ile, en yüksek TFM miktarı ise 60°C sıcaklık, 5 dk süre ve 4.25 g katı/çözücü oranı kullanılarak yapılan ekstraksiyon şartlarında elde edilmiştir.

Ancak avokado çekirdeğinde yapılan bir çalışmada, avokado çekirdeęinin 60°C'ta 23 dakika boyunca %56 etanolla ekstraktının sonucunda TFM miktarını 51.86

mg GAE/g ekstrakt olarak tespit etmişlerdir (Weremfo vd., 2020b). Diğer bir çalışmada ise çekirdeğin 15 dakika boyunca ultrasonik banyoda etanol/su (80/20 v/v) ile ekstraktının sonucunda TFM miktarını 57.3 mg GAE/g ekstrakt olarak tespit etmişlerdir (Tremocoldi vd., 2018). Bunun sonucunda MAE tarafından avokado çekirdeklerinden fenolik bileşiklerin hızlı ve verimli ekstraksiyonu, mikrodalga enerjisinin 8 kat daha fazla etkili olması ve hızlı ısı üretimi ile açıklanabilir.

4.3. Hass Ve Fuerte Avokado Yaprak, Meyve ve Çekirdek Kabuğunun Su Ekstraktlarının Verim ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Optimizasyonu Ve Modellerin Doğrulanması

Yanıt yüzey metodu kullanılarak Fuerte ve Hass avokado yapraklarının mikrodalga destekli su ekstraktlarının ekstraksiyon verimi (%) ve TFM miktarları (μg GAE/g ekstrakt) maksimize edilerek elde edilen optimum ekstraksiyon şartları sırasıyla sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranı Fuerte için 60°C, 5 dk ve 1 g kuru yaprak/100 mL su ve Hass için 47°C, 5 dk ve 1.13 g kuru yaprak/100 mL su olarak belirlenmiştir. Model tarafından optimum mikrodalga destekli su ekstraksiyon şartlarında Fuerte yaprağının ekstraksiyon verimi %17.52- 17.62 ve ekstraktın TFM miktarı 1328.02- 1353.14 μg GAE/g ekstrakt ve Hass avokado yaprağının ekstraksiyon verimi %19.62- 19.70 ve ekstraktın TFM miktarı 586.83- 593.81 μg GAE/g ekstrakt aralığında tahmin edilmiştir.

Modelin tahmin değerini deneysel olarak doğrulamak amacıyla, optimum şartlarda Fuerte ve Hass çeşidinin yaprak örneklerinden mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi ile elde edilen ekstraktlarda verim ve TFM miktarı belirlenmiştir. TFM miktarı Fuerte için 1342.47 μg GAE/g ekstrakt ve Hass için 591.76 μg GAE/g ekstrakt, ekstraksiyon verimi ise Fuerte için %17.59, Hass için %19.67 olarak saptanmıştır. Bu değerler yukarıda verilen model tahmin aralıkları içerisinde yer almıştır. Bu sonuçlara göre elde edilen teorik veriler deneysel olarak doğrulanmıştır.

Yanıt yüzey metodu kullanılarak Fuerte ve Hass avokado meyve kabuklarının mikrodalga destekli su ekstraktlarının; ekstraksiyon verimi (%) ve TFM

miktarları (μg GAE/g ekstrakt) maksimize edilerek elde edilen optimum ekstraksiyon şartları sırasıyla sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranı Fuerte için 39°C , 5 dk ve 1 g kuru meyve kabuğu/100 mL su ve Hass için 60°C , 5 dk ve 1 g kuru meyve kabuğu/100 mL su olarak belirlenmiştir. Model tarafından optimum mikrodalga destekli su ekstraksiyon şartlarında Fuerte meyve kabuğunun ekstraksiyon verimi %23.71- 23.83 ve ekstraktın TFM miktarı ise 2517.78- 2527.53 μg GAE/g ekstrakt, Hass avokado meyve kabuğunun ekstraksiyon verimi %21.23- 21.34 ve ekstraktın toplam fenolik madde miktarı ise 1320.40- 1356.14 μg GAE/g ekstrakt aralığında tahmin edilmiştir.

Modelin tahmin değerini deneysel olarak doğrulamak amacıyla, optimum şartlarda Fuerte ve Hass meyve kabuğu örneklerinden mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş, elde edilen ekstraktlarda verim ve TFM miktarları belirlenmiştir. TFM miktarı Fuerte için 2523.61 μg GAE/g ekstrakt ve Hass için 1339.06 μg GAE/g ekstrakt, ekstraksiyon verimi ise Fuerte için %23.77, Hass için %21.31 olarak saptanmıştır. Bu değerler yukarıda verilen model tahmin aralıkları içerisinde yer almıştır. Bu sonuçlara göre elde edilen modeller doğrulanmıştır.

Yanıt yüzey metodu kullanılarak Fuerte ve Hass avokado çekirdek kabuklarının mikrodalga destekli su ekstraktlarının; ekstraksiyon verimi (%) ve TFM miktarları (μg GAE/g ekstrakt) maksimize edilerek elde edilen optimum ekstraksiyon şartları sırasıyla sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranı Fuerte için Fuerte için 60°C , 5 dk ve 1.66 g kuru çekirdek kabuğu/100 mL su ve Hass için 60°C , 5 dk ve 4.28 g kuru çekirdek kabuğu/100 mL su olarak belirlenmiştir. Model tarafından optimum mikrodalga destekli su ekstraksiyon şartlarında Fuerte çekirdek kabuğunun ekstraksiyon verimi %5.53- 5.65 ve ekstraktın TFM miktarı ise 344.17- 349.35 μg GAE/g ekstrakt, Hass çekirdek kabuğunun verimi %6.20- 6.26 ve ekstraktın TFM miktarı 272.58- 275.31 μg GAE/g ekstrakt aralığında tahmin edilmiştir.

Modelin tahmin değerini deneysel olarak doğrulamak amacıyla, optimum koşullarda Fuerte ve Hass çekirdek kabuğu örneklerinden mikrodalga destekli

ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş, elde edilen ekstraktlarda verim ve TFM miktarları belirlenmiştir. TFM miktarı Fuerte için 347.24 µg GAE/g ekstrakt ve Hass için 273.84 µg GAE/g ekstrakt, ekstraksiyon verimi ise Fuerte için %5.60, Hass için %6.23 olarak saptanmıştır. Bu değerler yukarıda verilen model tahmin aralıkları içerisinde yer almıştır. Bu sonuçlara göre elde edilen modeller doğrulanmıştır.

4.4. Optimum Şartlarda Ekstrakte Edilen Hass ve Fuerte Çeşidi Avokado Yaprak, Meyve ve Çekirdek Kabuğunun Su Ekstraktlarının Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

Hass ve Fuerte çeşidi avokadoların yaprak, meyve ve çekirdek kabuklarının optimum şartlarda elde edilen su ekstraktlarının fonksiyonel özelliklerine ilişkin değerler Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. Hass ve Fuerte çeşidi avokadoların yaprak, meyve ve çekirdek kabuklarının ekstraktlarının fonksiyonel özellikleri

	Hass			Fuerte		
	Yaprak	Meyve kabuğu	Çekirdek Kabuğu	Yaprak	Meyve kabuğu	Çekirdek Kabuğu
TFM	591.7±7.0	1339±1.74	273.84±0.55	1342.47±13.04	2523.61±10.98	347.24±4.65
DPPH	235.6±6.74	333.01±4.04	22.90±1.07	264.31±1.34	635.49±2.69	16.507±0.40
ADA	64.59±0.12	78.41±0.10	32.09±0.10	66.12±0.10	86.71±0.08	23.66±0.08

TFM: Toplam fenolik madde (µg GAE/g ekstrakt); DPPH: Serbest radikal yakalama aktivitesi (mg TE/100 g); ADA: Antidiyabetik aktivite (%); *: Tespit edilemedi

TFM miktarı Fuerte çeşidi avokado yaprağında 1342.47 µg GAE/g ekstrakt, meyve kabuğunda 2523.61 µg GAE/g ekstrakt, çekirdek kabuğunda 347.24 µg GAE/g ekstrakt bulunmuştur. Hass çeşidinde ise avokado yaprağında TFM miktarı 591.76 µg GAE/g ekstrakt, meyve kabuğunda 1339 µg GAE/g ekstrakt, çekirdek kabuğunda 273.84 µg GAE/g ekstrakt olarak tespit edilmiştir. Hass çeşidi yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu ekstraktının TFM miktarı, Fuerte çeşidi yaprak, meyve ve çekirdek kabuğu ekstraktının TFM miktarından düşüktür.

Çizelge 4.15'te verilen DPPH incelendiğinde, Fuerte çeşidinde yaprakta 264.31 mg TE/100 g, meyve kabuğunda 635.49 mg TE/100 g, çekirdek kabuğunda 16.507 mg TE/100 g antioksidan aktivite belirlenmiştir. Hass çeşidinde yaprakta ise serbest radikal yakalama aktivitesi 235.68 mg TE/100 g, meyve kabuğunda 333.01 mg TE/100 g, çekirdek kabuğunda 22.90 mg TE/100 g olarak saptanmıştır. Hass ve Fuerte çeşitleri kendi örnekleri içerisinde incelendiğinde meyve kabuğunda en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olmuştur. Antidiyabetik aktivite ise, Hass çeşidi yaprakta %64,59, meyve kabuğunda %78,41, çekirdek kabuğunda %32,09, Fuerte çeşidi yaprakta %66,12, meyve kabuğunda %86,71 ve çekirdek kabuğunda %23,66 olarak tespit edilmiştir. Hass ve Fuerte çeşitleri kendi içerisinde incelendiğinde en yüksek antidiyabetik aktiviteye meyve kabuklarında sahip olmuştur.

Çizelge 4.16. Ekstraktların fenolik bileşenleri (mg/100g km)

Fenolik Bileşenler	Fuerte Yaprak	Hass Yaprak	Fuerte Meyve Kabuğu	Hass Meyve Kabuğu	Fuerte Çekirdek Kabuğu	Hass Çekirdek Kabuğu
Gallik asit	0.227	0.135	0.189	0.571	0.108	0.694
Protokateşik asit	0.114	0.180	0.567	0.357	0.430	0.731
Kateşin	*	*	*	*	*	0.694
p-hidroksi benzoik asit	1.534	0.809	3.130	2.810	0.161	0.263
Klorojenik asit	17.955	12.309	19.601	13.833	0.269	0.377
Kafeik asit	*	*	*	*	*	0.150
Epikateşin	3.466	*	10.462	12.810	*	*
Şirincik asit	*	*	1.029	*	*	0.113
p-kumarik asit	0.341	*	0.336	*	*	0.038
Rutin	0.568	*	0.168	*	*	*
Rozmanirik asit	3.068	0.539	2.122	1.381	*	*
Sinamik asit	0.199	0.270	0.378	0.190	*	0.150
Kuersetin	0.852	0.854	0.630	*	*	*
Eriodiktiol	*	0.270	*	*	*	*
TOPLAM	28.324	15.366	38.612	31.951	0.968	3.21

*: Tespit edilemedi

Çizelge 4.16 incelendiğinde Fuerte avokado yaprakları optimum su ekstraktının fenolik bileşenlerinin büyük bir çoğunluğunun klorojenik asitten (17.955 mg/100g km) meydana geldiği tespit edilmiştir. Bu sonucun takibinde sırasıyla epikateşin, rozmanirik asit, p-hidroksibenzoik asit, kuersetin, rutin, p-kumarik asit, gallik asit, sinamik asit ve protokateşik asit içerdiği tespit edilmiştir. Ancak eriodiktiol, kateşin, kafeik asit ve şirincik asit bileşenleri tespit edilememiştir.

Fuerte avokado meyve kabukları optimum su ekstraktının bileşenlerinin büyük bir çoğunluğunun klorojenik asitten (19.601 mg/100g km) meydana geldiği belirlenmiştir. Klorojenik asiti ise sırasıyla epikateşin, *p*-hidroksibenzoik asit, rozmanirik asit, şirincik asit, kuersetin, protokateşik asit, sinamik asit, *p*-kumarik asit, gallik asit, rutin içerdiği tespit edilmiştir.

Fuerte avokado çekirdek kabukları optimum su ekstraktının bileşenlerinin büyük bir çoğunluğunun protokateşik asitten (0.430 mg/100g km) meydana geldiği tespit edilmiştir. Protokateşik asiti takiben sırasıyla klorojenik asit, *p*-hidroksibenzoik asit ve gallik asit içerdiği tespit edilmiştir. Ancak kateşin, kafeik asit, epikateşin, şirincik asit, *p*-kumarik asit, rutin, rozmanirik asit, sinamik asit, kuersetin, eriodiktiol bileşenleri tespit edilememiştir.

Hass avokado yapraklarında optimum su ekstraktının bileşenlerinin büyük bir çoğunluğunun klorojenik asitten (12.309 mg/100g km) meydana geldiği tespit edilmiştir. Klorojenik asiti takiben sırasıyla kuersetin, *p*-hidroksibenzoik asit, rozmanirik asit, sinamik asit ve eriodiktiol, protokateşik asit ve gallik asit takip etmiştir.

Hass avokado meyve kabukları optimum su ekstraktının bileşenlerinin büyük bir çoğunluğunun klorojenik asitten (13.833 mg/100g km) meydana geldiği tespit edilmiştir. Klorojenik asiti takiben sırasıyla epikateşin, *p*-hidroksibenzoik asit, rozmanirik asit, gallik asit, protokateşik asit ve sinamik asit içerdiği saptanmıştır.

Hass avokado çekirdek kabukları optimum su ekstraktının bileşenlerinin büyük bir çoğunluğunun protokateşik asitten (0.731 mg/100g km) meydana geldiği tespit edilmiştir. Protokateşik asiti takiben sırasıyla gallik asit ve kateşin, klorojenik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, kafeik asit ve sinamik asit, şirincik asit ve *p*-kumarik asit içerdiği tespit edilmiştir.

Yapılan literatür taramalarının araştırma bulgularında kurutulmuş avokado (*Folium perseae*) yapraklarının liyofilize su ekstraktlarında ve etanol ekstraktlarında fenolik bileşiğinin (mg/kg) içeriğini sırasıyla kafeik asit (10.83-32.74), klorojenik asit (28.83-852.81) ve rutin (26.05-68.41) için verilen

değerleri HPLC-MS sistemi ile tespit etmişlerdir (Polat Kose vd., 2020). Bir başka çalışmada ise avokado yaprak su ekstraktlarında fenolik bileşik içeriğinin (mg/100g) şirincik asit 31.65, ferulik asit 7.09, epikateşin 2.84 ve *p*-hidroksibenzoik asit 2.51 (mg/100g) olduğu tespit edilmiştir (Adelusi vd., 2014).

Yapılan bir diğer çalışmada kurutulmuş ve %80 etanolle ekstrakte edilmiş avokado meyve kabuğu ve çekirdeklerinin fenolik bileşikleri, meyve kabuğunda majör olarak kateşin (148.8 ± 5.95 mg/100g), prosiyanidin ve dimer B (135.4 ± 7.44 mg/100g), çekirdekte ise kateşin (152.8 ± 14.60 mg/100g) ve prosiyanidin trimer A (89.3 ± 9.73) fenolik bileşiklerini tespit etmişlerdir (Kosin vd., 2012).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Avokado meyvesinin Hass ve Fuerte çeşidinin yaprak, meyve kabuğu ve çekirdek kabuklarının, mikrodalga destekli fenolik ekstraksiyonlarının işlem şartlarının optimize edilmesinin amaçlandığı bu çalışmada ekstraktların fizikokimyasal özelliklerinin, biyoaktif bileşenlerinin ve biyofonksiyonel özellikleri aşağıda kısaca özetlenmiştir:

Çalışmada ilk olarak, kurutulmuş Hass ve Fuerte avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuklarından mikrodalga destekli su ekstraksiyon deneme deseni CCD metodu ile ve işlem şartlarının optimizasyonu ise RSM kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hass ve Fuerte avokado meyve kabuğu, yaprak ve çekirdek kabuklarından mikrodalga destekli su ekstraktlarının verimi (%) ve TFM miktarları ($\mu\text{g GAE/g}$ ekstrakt) maksimize edilerek elde edilen optimum ekstraksiyon koşulları sırasıyla sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$), süre (dk) ve katı/çözücü (g kuru madde/100 mL su) Fuerte için yaprakta 60, 5 ve 1; meyve kabuğunda 39, 5 ve 1 ile çekirdek kabuğunda 60, 5, 1.66 olarak saptanmıştır. Hass çeşidi için ise yaprakta 47, 5 ve 1.13, meyve kabuğunda 60, 5 ve 1 ve çekirdek kabuğunda 60, 5 ve 4.28 olarak tespit edilmiştir. Model, seçilen tüm yanıtlar için yüksek tahmin performansı göstermiştir ($R^2 > 0.99$).

Çalışmanın ikinci aşamasında optimum şartlarda ekstrakte edilen Hass ve Fuerte çeşidi avokadonun yaprak ve meyve kabuklarının su ekstraktlarında majör bileşen olarak klorojenik asit tespit edilmiştir. Her iki çeşidin de çekirdek kabuklarının su ekstraksiyonlarında majör fenolik bileşik olarak protokateşik asit saptanmıştır.

Son olarak, Hass ve Fuerte çeşidi avokado yaprak, meyve ve çekirdek kabuklarının optimum şartlarda elde edilen ekstraktlarının TFM miktarları Fuerte çeşidi yaprak, meyve kabuğu ve çekirdek kabuğunda sırasıyla 1342.47, 2523.61 ve 347.24 $\mu\text{g GAE/g}$ ekstrakt olarak bulunmuştur. Hass çeşidinde ise sırasıyla 591.76, 1339.06 ve 273.84 $\mu\text{g GAE/g}$ ekstrakt olarak saptanmıştır.

Elde edilen bulgular kapsamında mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, avokado yaprak, meyve kabuğu ve çekirdek kabuğundan kısa sürede yüksek oranda fenolik ekstraksiyonu için kullanılabilir. Daha sonraki yapılacak olan çalışmalarda *in vivo* çalışmalar (hayvan ve klinik) yapılabilir. Ayrıca antioksidan ve antidiyabetik bitkisel gıda takviyesi, çay, sos vb. gibi tüketicilerin ilgisini çekecek fonksiyonel gıdalar üretilebilir.



KAYNAKLAR

- Adelusi, T. I., Oboh, G., Akinyemi, A. J., Ajani, R. A., Temitope Isaac, A., Ganiyu, O., Akinyemi, A. J., Bakare, &, & Olanrewaju, O. (2014). Avocado Pear Fruits and Leaves Aqueous Extracts Inhibit A-Amylase, A-Glucosidase and Snp Induced Lipid Peroxidation-An Insight into Mechanisms Involve in Management of Type 2 Dia... Erectile dysfunction View project Radio-Frequency Electromagnetic waves e. *International Journal of Applied and Natural Sciences (IJANS) ISSN (P, 3(September)*, 21–34.
- Alkhalaf, M. I., Alansari, W. S., Ibrahim, E. A., & ELhalwagy, M. E. A. (2019). Anti-oxidant, anti-inflammatory and anti-cancer activities of avocado (*Persea americana*) fruit and seed extract. *Journal of King Saud University - Science*, 31(4), 1358–1362.
- Ainsworth, E. A., & Gillespie, K. M. (2007). Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. *Nature Protocols*, 2(4), 875–877.
- An Rodríguez-Carpena, J.-G., Morcuende, D., Andrade, M.-J. U., Kylli, P., & Est Evez, M. (2011). Avocado (*Persea americana* Mill.) Phenolics, *In Vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *J. Agric. Food Chem*, 59, 5625–5635.
- Anonim. (2012). *AVOKADO*.
- Athaydes, B. R., Alves, G. M., Assis, A. L. E. M. de, Gomes, J. V. D., Rodrigues, R. P., Campagnaro, B. P., Nogueira, B. V., Silveira, D., Kuster, R. M., Pereira, T. M. C., Kitagawa, R. R., & Gonçalves, R. de C. R. (2019). Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Food Research International*, 119, 751–760.
- Bayram, S. (n.d.). *Dr. Süleyman BAYRAM AVOKADO YETİŞTİRİCİLİĞİ*.
<https://arastirma.tarimorman.gov.tr/batem/Belgeler/Kutuphane/TeknikBilgiler/AvokadoYetistiriciligi.pdf>
- Bhuyan, D. J., Alsherbiny, M. A., Perera, S., Low, M., Basu, A., Devi, O. A., Barooah, M. S., Li, C. G., & Papoutsis, K. (2019). The Odyssey of Bioactive Compounds in Avocado (*Persea americana*) and Their Health Benefits. *Antioxidants 2019, Vol. 8, Page 426, 8(10)*, 426.
- Bhuyan, D. J., Vuong, Q. v., Bond, D. R., Chalmers, A. C., Bowyer, M. C., & Scarlett, C. J. (2018). Eucalyptus microcorys leaf extract derived HPLC-fraction reduces the viability of MIA PaCa-2 cells by inducing apoptosis and arresting cell cycle. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 105, 449–460.
- Brai, B. I. C., Odetola, A. A., & Agomo, P. U. (2007). Hypoglycemic and Hypocholesterolemic Potential of *Persea americana* Leaf Extracts. *JOURNAL OF MEDICINAL FOOD J Med Food*, 10(2), 356–360.

- Calderón-Oliver, M., Escalona-Buendía, H. B., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J., Pedroza-Islas, R., & Ponce-Alquicira, E. (2016a). Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *LWT- Food Science and Technology*.
- Calderón-Oliver, M., Escalona-Buendía, H. B., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J., Pedroza-Islas, R., & Ponce-Alquicira, E. (2016b). Optimization of the antioxidant and antimicrobial response of the combined effect of nisin and avocado byproducts. *LWT- Food Science and Technology*, 65, 46–52.
- Caponio, F., Alloggio, V., & Gomes, T. (1999). Phenolic compounds of virgin olive oil: Influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry*, 64(2), 203–209.
- Cascinu, S., Catalano, V., Cordella, L., Labianca, R., Giordani, P., Baldelli, A. M., Beretta, G. D., Ubiali, E., & Catalano, G. (2002). Neuroprotective effect of reduced glutathione on oxaliplatin-based chemotherapy in advanced colorectal cancer: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Clinical Oncology*, 20(16), 3478–3483.
- Che-Galicia, G., Váquiro-Herrera, H. A., Sampieri, Á., & Corona-Jiménez, E. (2020). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from avocado leaves (*Persea americana* Mill. var. *Drymifolia*): Optimization and modeling. *International Journal of Chemical Reactor Engineering*, 18(7).
- Delil, S. O. S., Özkan, G., & Karacabey, E. (2022). Phenolic Transition from Olive Fruits at Different Ripening Stages to Olive Oil: Process Optimization and Determination by Spectrophotometric and Chromatographic Methods. *Food Analytical Methods*, 15(12), 3297–3310.
- Delazar, A., Nahar, L., Hamedeyazdan, S., & Sarker, S. D. (2012). Microwave-Assisted Extraction in Natural Products Isolation. *Methods in Molecular Biology*, 864, 89–115.
- Dibacto, R. E. K., Tchunte, B. R. T., Nguedjo, M. W., Tientcheu, Y. M. T., Nyobe, E. C., Edoun, F. L. E., Kamini, M. F. G., Dibanda, R. F., & Medoua, G. N. (2021). Total Polyphenol and Flavonoid Content and Antioxidant Capacity of Some Varieties of *Persea americana* Peels Consumed in Cameroon. *Scientific World Journal*, 2021.
- Dreher, M. L., & Davenport, A. J. (2013a). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition Hass Avocado Composition and Potential Health Effects Hass Avocado Composition and Potential Health Effects*.
- Dreher, M. L., & Davenport, A. J. (2013b). Hass Avocado Composition and Potential Health Effects.

- Dreher, M. L., & Davenport, A. J. (2013c). Hass Avocado Composition and Potential Health Effects.
- Figueroa, J. G., Borrás-Linares, I., del Pino-García, R., Curiel, J. A., Lozano-Sánchez, J., & Segura-Carretero, A. (2021). Functional ingredient from avocado peel: Microwave-assisted extraction, characterization and potential applications for the food industry. *Food Chemistry*, 352.
- Figueroa, J. G., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., Quirantes-Piné, R., & Segura-Carretero, A. (2018). Optimization of drying process and pressurized liquid extraction for recovery of bioactive compounds from avocado peel by-product. *Electrophoresis*, 39(15), 1908–1916.
- Figueroa, J. G., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., & Segura-Carretero, A. (2018a). Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF- MS. *Food Research International*.
- Figueroa, J. G., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., & Segura-Carretero, A. (2018b). *Comprehensive characterization of phenolic and other polar compounds in the seed and seed coat of avocado by HPLC-DAD-ESI-QTOF-MS*. Food Research International.
- Flagg, E. W., Coates, R. J., Jones, D. P., Byers, T. E., Greenberg, R. S., Gridley, G., McLaughlin, J. K., Blot, W. J., Haber, M., Preston-martin, S., Schoenberg, J. B., Austin, D. F., & Fraumeni, J. F. (1994). Dietary Glutathione Intake and the Risk of Oral and Pharyngeal Cancer. *American Journal of Epidemiology*, 139(5), 453–465.
- Foster-Powell, K., Holt, S. H. A., & Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5–56.
- Ge, Y., Si, X., Cao, J., Zhou, Z., Wang, W., & Ma, W. (2017). Morphological Characteristics, Nutritional Quality, and Bioactive Constituents in Fruits of Two Avocado (*Persea americana*) Varieties from Hainan Province, China. *Journal of Agricultural Science*, 9(2).
- Güzel, S. (2018). Ulusal Tez Merkezi Anasayfa. <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=YjuK7RaMtGxXZ yFRysQ7UQ&no=nVW8gR7xsmhdYz9-Lw-NqQ>
- Hughes, K. J., Mayne, S. T., Blumberg, J. B., Ribaya-Mercado, J. D., Johnson, E. J., & Cartmel, B. (2009). Plasma Carotenoids and Biomarkers of Oxidative Stress in Patients with prior Head and Neck Cancer. *Biomarker Insights*, 4(4), 17-26.

- Hurtado-Fernández, E., Fernández-Gutiérrez, A., & Carrasco-Pancorbo, A. (2017). Avocado fruit-*Persea americana* Chapter Outline. *Exotic Fruits Reference Guide*, 43–50.
- Jiménez, P., García, P., Bustamante, A., Barriga, A., & Robert, P. (2017). Thermal stability of oils added with avocado (*Persea americana* cv. Hass) or olive (*Olea europaea* cv. Arbequina) leaf extracts during the French potatoes frying. *Food Chemistry*, 221, 123–129.
- Jimenez, P., Garcia, P., Quitral, V., Vasquez, K., Parra-Ruiz, C., Reyes-Farias, M., Garcia-Diaz, D. F., Robert, P., Encina, C., & Soto-Covasich, J. (2020). Pulp, Leaf, Peel and Seed of Avocado Fruit: A Review of Bioactive Compounds and Healthy Benefits.
- Kingne Kingne, F., Doungue Tsafack, H., Teboukeu Bounjo, G., Mboukap Ntongme, A., Solefack Nguépi, E., Edie Kinge, E., Dzekén Silenou, A., & Afeanyi Azia, T. (2018). Phenolic Content and Antioxidant Activity of Young and Mature Mango (*Mangifera indica*) and Avocado (*Persea americana*) Leaves Extracts. *Journal of Food Stability*, 1(1), 14–27. www.foodstability.com
- Kosin, A., Karamac, M., Estrella, I., Herna, T., & Dykes, G. A. (2012). *Phenolic Compound Profiles and Antioxidant Capacity of Persea americana* Mill. *Peels and Seeds of Two Varieties*.
- Kosińska, A., Karamać, M., Estrella, I., Hernández, T., Bartolomé, B., & Dykes, G. A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. peels and seeds of two varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Kumar, B., & Cumbal, L. (2016). UV-Vis, FTIR and antioxidant study of *Persea americana* (Avocado) leaf and fruit: A comparison. *Revista de La Facultad de Ciencias Químicas*, 14, 13–20. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/quimica/article/view/1606>
- Lima, C. R., Vasconcelos, C. F. B., Costa-Silva, J. H., Maranhão, C. A., Costa, J., Batista, T. M., Carneiro, E. M., Soares, L. A. L., Ferreira, F., & Wanderley, A. G. (2012). Anti-diabetic activity of extract from *Persea americana* Mill. leaf via the activation of protein kinase B (PKB/Akt) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), 517–525.
- Makopa, M., Mangiza, B., Banda, B., Mozirandi, W., Mombeshora, M., & Mukanganyama, S. (2020). Antibacterial, Antifungal, and Antidiabetic Effects of Leaf Extracts from *Persea americana* Mill. (Lauraceae). *Biochemistry Research International*, 2020.

- Mazyan, W. I., O'Connor, E., Martin, E., Vogt, A., Charter, E., & Ahmadi, A. (2021). Effects of Temperature and Extraction Time on Avocado Flesh (*Persea americana*) Total Phenolic Yields Using Subcritical Water Extraction. *Processes* 2021, Vol. 9, Page 159, 9(1), 159.
- Monzón, L., Becerra, G., Aguirre, E., Rodríguez, G., Villanueva, E., Monzón, L., Becerra, G., Aguirre, E., Rodríguez, G., & Villanueva, E. (2021). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from avocado residues: Modeling and optimization using response surface methodology and artificial neural networks. *Scientia Agropecuaria*, 12(1), 33–40.
- Njateng, G. S. S., Zaib, S., Chimi, L., Feudjio, C., Mouokeu, R. S., Gatsing, D., Kuate, J. R., Adewole, E., & Iqbal, J. (2018). Antidiabetic potential of methanol extracts from leaves of *Piper umbellatum* L. and *Persea americana* Mill. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(3), 160.
- Noorul, H., Nesar, A., Zafar, K., Khalid, M., & Zeeshan, A. (2016). *Noorul: Health benefits and pharmacology of Persea...*- Google Akademik. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Health+benefits+and+pharmacology+of+Persea+americana+mill.+&author=Noorul,+H.+&author=Nesar,+A.+&author=Zafar,+K.+&author=Khalid,+M.+&author=Zeeshan,+A.+&author=Vartika,+S.+&publication_year=2016&journal=
- Nyambe-Silavwe, H., Villa-Rodriguez, J. A., Ifie, I., Holmes, M., Aydin, E., Jensen, J. M., & Williamson, G. (2015). Inhibition of human α -amylase by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 19, 723–732.
- Oboh, G., Olabiyi, A. A., Akinyemi, A. J., & Ademiluyi, A. O. (2014). Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes and sodium nitroprusside-induced lipid peroxidation in rat pancreas by water-extractable phytochemicals from unripe pawpaw fruit (*carica papaya*). *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 25(1), 21–34.
- Owolabi, M. A., Coker, H. A. B., & Jaja, S. I. (2010). Bioactivity of the phytoconstituents of the leaves of *Persea americana*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4(12), 1130–1135.
- Pahua-Ramos, M. E., Ortiz-Moreno, A., Chamorro-Cevallos, G., Hernández-Navarro, M. D., Garduño-Siciliano, L., Necoechea-Mondragón, H., & Hernández-Ortega, M. (2012). Hypolipidemic Effect of Avocado (*Persea americana* Mill) Seed in a Hypercholesterolemic Mouse Model. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(1), 10–16.
- Papoutsis, K., Mathioudakis, M. M., Hasperué, J. H., & Ziogas, V. (2019). Non-chemical treatments for preventing the postharvest fungal rotting of citrus caused by *Penicillium digitatum* (green mold) and *Penicillium italicum* (blue mold). *Trends in Food Science & Technology*, 86, 479–491.

- Polat Kose, L., Bingol, Z., Kaya, R., Goren, A. C., Akincioglu, H., Durmaz, L., Koksall, E., Alwasel, S. H., & Gülçin, İ. (2020). Anticholinergic and antioxidant activities of avocado (*Folium perseae*) leaves–phytochemical content by LC-MS/MS analysis. *International Journal of Food Properties*, 23(1), 878–893.
- Rani, A. M. S., Kumar, M., & Jeyakumar, P. (2021). *Diversity Analysis in Avocado (Persea americana Mill.) Accessions of Lower Diversity Analysis in Avocado (Persea americana Mill.) Accessions of Lower Pulney Hills of Tamil Nadu, India. December.*
- Raymond Chia, T. W., & Dykes, G. A. (2010). Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (*Persea americana*) of three cultivars. [Http://Dx.Doi.Org/10.3109/13880200903273922](http://Dx.Doi.Org/10.3109/13880200903273922), 48(7), 753–756.
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estevez, M. (2011a). Avocado (*Persea americana* Mill.) phenolics, *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities, and inhibition of lipid and protein oxidation in porcine patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625–5635.
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estevez, M. (2011b). Avocado (*Persea americana* Mill.) Phenolics, *In Vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625–5635.
- Rodríguez-Carpena, J. G., Morcuende, D., Andrade, M. J., Kylli, P., & Estevez, M. (2011c). Avocado (*Persea americana* Mill.) Phenolics, *In Vitro* Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5625–5635.
- Rodríguez-Martínez, B., Ferreira-Santos, P., Gullón, B., Teixeira, J. A., Botelho, C. M., & Yáñez, R. (2021). Exploiting the Potential of Bioactive Molecules Extracted by Ultrasounds from Avocado Peels—Food and Nutraceutical Applications. *Antioxidants 2021, Vol. 10, Page 1475*, 10(9), 1475.
- Rosero, J. C., Cruz, S., Osorio, C., & Hurtado, N. (2019). Analysis of Phenolic Composition of Byproducts (Seeds and Peels) of Avocado (*Persea americana* Mill.) Cultivated in Colombia. *Molecules 2019, Vol. 24, Page 3209*, 24(17), 3209.
- Salinas-Salazar, C., Hernández-Brenes, C., Rodríguez-Sánchez, D. G., Castillo, E. C., Navarro-Silva, J. M., & Pacheco, A. (2017). Inhibitory Activity of Avocado Seed Fatty Acid Derivatives (Acetogenins) Against *Listeria Monocytogenes*. *Journal of Food Science*, 82(1), 134–144.

- Smyth, J. F., Bowman, A., Perren, T., Wilkinson, P., Prescott, R. J., Quinn, K. J., & Tedeschi, M. (1997). Glutathione reduces the toxicity and improves quality of life of women diagnosed with ovarian cancer treated with cisplatin: Results of a double-blind, randomised trial. *Annals of Oncology*, 8, 569–573.
- Sparr Eskilsson, C., & Björklund, E. (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 902(1), 227–250.
- Tamimi, R. M., Colditz, G. A., & Hankinson, S. E. (2009). Circulating Carotenoids, Mammographic Density, and Subsequent Risk of Breast Cancer. *Cancer Research*, 69(24), 9323–9329.
- Tavlı, Ö. F., & Özkan, E. E. (2019). *Ülkemiz Kültür Bitkilerinden Persea americana Mill. (Avokado) ve Tıbbi Açidan Medical Evaluation of Persea americana Mill. (Avocado) Cultivated In Turkey Ömerül Faruk Tavlı i , Esra Eroğlu Özkan ii.*
- Thomson, C. A., Stendell-Hollis, N. R., Rock, C. L., Cussler, E. C., Flatt, S. W., & Pierce, J. P. (2007). Plasma and Dietary Carotenoids Are Associated with Reduced Oxidative Stress in Women Previously Treated for Breast Cancer. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 16(10), 2008–2015.
- Torres, A. M., Mau-Lastovicka, T., & Rezaaiyan, R. (1987). Total Phenolics and High-Performance Liquid Chromatography of Phenolic Acids of Avocado. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(6), 921–925.
- Torres, A. M., Mau-Lastovicka, T., & Rezaaiyan, R. (2002). Total phenolics and high-performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35(6), 921–925.
- Tremocoldi, M. A., Rosalen, P. L., Franchin, M., Massarioli, A. P., Denny, C., Daiuto, É. R., Paschoal, J. A. R., Melo, P. S., & de Alencar, S. M. (2018). Exploration of avocado by-products as natural sources of bioactive compounds. *PLoS ONE*, 13(2).
- Trujillo-Mayol, I., Céspedes-Acuña, C., Silva, F. L., & Alarcón-Enos, J. (2019). Improvement of the polyphenol extraction from avocado peel by assisted ultrasound and microwaves. *Journal of Food Process Engineering*, 42(6).
- TÜİK. (2015). *Ocak 2021*.
- Vinha, A. F., Moreira, J., & Barreira, S. V. P. (2013). Physicochemical Parameters, Phytochemical Composition and Antioxidant Activity of the Algarvian Avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Agricultural Science*, 5(12), p100.

- Wang, W., Bostic, T. R., & Gu, L. (2010). Antioxidant capacities, procyanidins and pigments in avocados of different strains and cultivars. *Food Chemistry*.
- Weremfo, A., Adulley, F., & Adarkwah-Yiadom, M. (2020a). Simultaneous Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Avocado (*Persea americana* Mill.) Seeds Using Response Surface Methodology. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2020.
- Weremfo, A., Adulley, F., & Adarkwah-Yiadom, M. (2020b). Simultaneous Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Avocado (*Persea americana* Mill.) Seeds Using Response Surface Methodology. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2020.
- Yahia, E. M., & Woolf, A. B. (2011). 8 Avocado (*Persea americana* Mill.). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits: Volume 2: Açai to Citrus*, 125–186e.
- Yurt, M., & Demirel, Z. B. (2017). Sağlıklı Beslenmede Avokadonun Yeri. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 45(2), 161–170. <https://www.beslenmevediyetdergisi.org/index.php/bdd/article/view/29>