

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

**GİLABURU MEYVESİNDEN FENOLİK BİLEŞİKLERİN
MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYONUNDA İŞLEM
PARAMETRELERİNİN OPTİMİZE EDİLMESİ VE EKSTRAKTLARIN
ENKAPSÜLASYONU**

Pınar ÜNSAL

**Danışman
Prof. Dr. Gülcan ÖZKAN**

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

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
ISPARTA - 2022**



© 2022 [Pınar ÜNSAL]

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇİNDEKİLER	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	6
2.1. Gilaburu Meyvesi.....	6
2.2. Ekstraksiyon, Biyoaktif Bileşenler, Antioksidan ve Antidiyabetik Aktivite Çalışmaları.....	9
2.3. Enkapsülasyon ve Özellikleri.....	18
3. MATERYAL VE METOT	21
3.1. Materyal	21
3.2. Metotlar.....	24
3.2.1. Asitlik ve pH Tayini.....	24
3.2.2. Su Aktivitesi.....	24
3.2.3. Çözünür Kuru Madde Tayini.....	25
3.2.4. Nem İçeriği ve Toplam Kuru Madde Tayini	26
3.2.5. Renk Tayini	26
3.2.6. Mikrodalga Destekli Su Ekstraksiyon İşlem Koşullarının Optimizasyonu	27
3.2.7. Ekstraksiyon Verimi	30
3.2.8. Toplam Fenolik Madde İçeriği.....	31
3.2.9. DPPH Serbest Radikalleri Yakalama Aktivitesi	31
3.2.10. Kromatografik Yöntemle Fenolik Bileşiminin Belirlenmesi.....	32
3.2.11. Antosiyanin Miktarı	33
3.2.12. Karotenoid Miktarı	34
3.2.13. Askorbik Asit Miktarı	35
3.2.14. Antidiyabetik Aktivite	36
3.2.15. Gilaburu Meyvesinin Su Ekstraktının İyonik Jelasyon ve Kitosan Sistemi ile Enkapsüle Edilmesi.....	37
3.2.16. Enkapsülasyon Etkinliği (% EE)	40
3.2.17. Enkapsüle Örneklerin Nem Analizi	41
3.3. İstatistiksel Analizler	41
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	43
4.1. Taze ve Kuru Gilaburu Meyvelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri.....	43
4.2. Gilaburu Meyve Ekstraktlarının Verim ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Ekstraksiyon Modellemesi.....	44
4.3. Gilaburu Meyvesi Ekstraktlarının Verim ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Optimizasyonu ve Model Doğrulanması	52
4.4. Optimum Koşullarda Ekstrakte Edilen Gilaburu Meyve Su Ekstraktının Enkapsülasyonu ve Bazı Fizikokimyasal Özellikleri.....	53
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	63
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ	75

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GİLABURU MEYVESİNDEN FENOLİK BİLEŞİKLERİN MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYONUNDA İŞLEM PARAMETRELERİNİN OPTİMİZE EDİLMESİ VE EKSTRAKTLARIN ENKAPSÜLASYONU

Pınar ÜNSAL

Süleyman Demirel Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gülcan ÖZKAN

II. Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ebru AYDIN

Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) meyvesi içerdiği besin öğeleri ve biyoaktif bileşenler açısından oldukça zengin bir meyvedir. İçeriğinde bulunan biyoaktif bileşenlerden klorojenik asit, L-malik asit, antosiyaninler ve karotenoidlerin sağlık üzerine birçok olumlu etkileri (antidiyabetik, antioksidan ve antimikrobiyal) bulunmaktadır.

Bu çalışmada, yanıt yüzey metodu (RSM) ve Box-Behnken deney tasarımı ile Gilaburu meyvesinin biyoaktif bileşenlerinden fenolik maddelerin mikrodalga destekli ekstraksiyonunun (MDE) optimize edilmesi amaçlanmıştır. Gilaburu meyvesinin maksimum ekstraksiyon verimi (%) ve toplam fenolik madde içeriği (mg GAE/g ekstrakt) optimize edildiğinde, sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranı optimum değerleri sırasıyla 60 (°C), 5 dakika, 4.18 g/100 mL olarak bulunmuştur.

RSM tasarımında belirlenen optimum parametreler kullanılarak üretilen sulu ekstraktın polifenol kompozisyonu, serbest radikalleri yakalama ve antidiyabetik aktivitesi tespit edilmiştir. Ayrıca, MDE'den elde edilen fenolik bileşiklerce zengin ve suda çözünür ekstraktın enkapsülasyonunda, iyonik jelasyon ve kitosan sistemi kullanılmıştır. Elde edilen hidrojel boncukların nem içeriği ve enkapsülasyon etkinliği ise sırasıyla %53.52 ve %91.26 olarak bulunmuştur. Bunun yanında hidrojel boncuklara da ekstrakt için belirlenen analizler uygulanmıştır. Yapılan HPLC analizi sonucunda hem ekstraktın hem de hidrojel boncuğun yüksek miktarda klorojenik asit içerdiği tespit edilmiştir ve bu değerler sırasıyla 34.18 mg/g ekstrakt ve 0.51 mg/g ekstrakt (56.45 g hidrojel boncuk) olarak bulunmuştur. Optimum şartlarda elde edilen ekstraktın α -glukozidaz aktivitesini %54, hidrojel boncuğun ise %99.9 inhibe ettiği tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre gilaburu meyve fenoliklerinin yeşil ekstraksiyon tekniklerinden mikrodalga ile ekstraksiyonu sonucunda kısa sürede, düşük enerji ihtiyacı ve maksimum verimle elde edildiği görülmüştür. Ayrıca, gilaburu

meyvesinin sulu ekstraktının ve hidrojel boncuğunun antioksidan ve antidiyabetik aktivitesinin olduđu tespit edilmiştir. Dolayısıyla hem gilaburu meyve ekstraktının hem de hidrojel boncuklarının fonksiyonel gıda üretiminde ya da gıda takviyesi olarak kullanılabilme potansiyeli mevcuttur.

Anahtar Kelimeler: Gilaburu meyvesi (*Viburnum opulus* L.), yanıt yüzey yöntemi (RSM), enkapsülasyon, mikrodalga destekli su ekstraksiyon.

2022, 75 sayfa



ABSTRACT

M.Sc. Thesis

OPTIMIZATION OF EXTRACTION PARAMETERS AND ENCAPSULATION OF PHENOLIC COMPOUNDS EXTRACTED FROM GILABURU FRUIT BY MICROWAVE ASSISTED EXTRACTION

Pınar ÜNSAL

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

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Gülcan ÖZKAN

Co-Supervisor: Asst. Prof. Dr. Ebru AYDIN

Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) is a fruit that contains different nutrients and bioactive components. Chlorogenic acid, L-malic acid, anthocyanins and carotenoids are the most abundant bioactive components of the fruit. Also, gilaburu fruit indicates several health-promoting activities such as antidiabetic, antioxidant and antimicrobial.

In this study, it was aimed to optimize the microwave assisted extraction (MAE) of bioactive components like phenolic substances from Gilaburu fruit with the response surface method (RSM) and Box-Behnken experimental design. The optimum extraction factors for gilaburu fruit phenolic were determined as temperature 60 (°C), time (5 minutes) and solid/solvent ratio (4.18 g/100 mL) based on the maximum extraction yield (%) and total phenolic content (mg GAE/g extract).

The water extract of the fruit that produced based on optimum parameters determined with RSM design used to analysed phenolic composition, free radical and antidiabetic activities. In addition, this phenolic-rich aqueous extract were encapsulated using ionic gelation and chitosan sytem. Also, the moisture content and encapsulation efficiency of these hydrogel beads were determined as 53.52% and 91.26% respectively. Same experiments were analysed for both extract and hyrdrogel beads. It was obtained chlorogenic acid was major compound of both extract and hydrogel beads, 34.18 mg/g ekstrakt and 0.51 mg/g ekstrakt (56.45 g hydrogel beads), respectively with HPLC. The inhibition activity of α -glucosidase in the presence of extract was detected as 54.9% for glucose. On the other hand hydrogel beads inhibited α -glucosidase activity at a rate of 99.9%.

It could be concluded that, gilaburu fruit phenolics can be extracted in shorter time with low energy needs and maximum efficiency using MAE. Furthermore, it was discovered that aqueous extract of gilaburu fruit and its hyrogel beads

exhibited antioxidant and antidiabetic activities. Consequently, both gilaburu fruit and its hydrogel beads can be considered as potential sources of invaluable compounds for development of functional food industry or food supplement.

Keywords: Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) fruit, response surface method (RSM), encapsulation, microwave assisted extraction.

2022, 75 pages



TEŞEKKÜR

Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümü lisans ve Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı yüksek lisans tez çalışmalarında danışmanlığımı yaparak beni yönlendiren, bilgi ve düşüncelerini benimle paylaşan ve her aşamada yol gösteren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan, kişiliği ile bana her zaman örnek olmuş ve bu yönüyle ışıltı tutan değerli Danışman Hocam Prof. Dr. Gülcan ÖZKAN'a teşekkürlerimi sunarım. Lisans ve yüksek lisans tez ve laboratuvar çalışmalarında sonsuz çabası ve yol gösterici yetkinliğiyle, literatür araştırmalarımnda yardımcı olan, tez yazım aşamasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli eş danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ebru AYDIN'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans hayatımın başlangıcından bitimine kadar her konuda yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Yüksek Gıda Mühendisi Muhammed Mustafa ÖZÇELİK, Yüksek Gıda Mühendisi Merve Seçil TURAN, Yüksek Gıda Mühendisi Sedef AYDIN, Yüksek Gıda Mühendisi Mehmet AKSU, Arş. Gör. Ayşe Bıyıklı, Gıda Mühendisi Lale GÜMÜŞTEPE, Nevriye KURT ve Fulya DAL'a teşekkürlerimi bir borç bilirim. Süleyman Demirel Üniversitesi Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma ve Uygulama Merkezi, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nin değerli çalışanlarına da çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans hayatımın her anında yanımda olup desteklerini esirgemeyen değerli dostlarım Müyesser GÜLCÜ, Beste FIRINCIOĞULLARI, Selma YAKUT ve Emel SAYIN YATIK'a çok teşekkür ederim.

Çalışmada verilerin planlanması ve değerlerlendirilmesinde, TÜBİTAK ve SDÜ işbirliği ile gerçekleştirilen Doğa Bilimlerinde İstatistiksel Modelleme Teknikleri ve Uygulamaları (2237-BİDEB Etkinlik No:1129B372000706) isimli bilimsel etkinlik için başta proje koordinatörleri olmak üzere tüm hocalarıma ve TÜBİTAK'a teşekkürü borç bilirim.

FYL-2020-7988 No'lu Proje ile tezimi maddi olarak destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Her zaman yanımda olup sonsuz desteği ve güven duygusu ile bana güç veren, anlayışı ve sevgisi ile beni her zaman destekleyen yol arkadaşım Gıda Mühendisi Oğuzhan GEDİK'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Okul hayatım boyunca ve tez çalışmalarım süresince beni yalnız bırakmayan her zaman yanımda olup maddi ve manevi desteğini esirgemeyen çok değerli ailem Adem ÜNSAL, Hatice ÜNSAL ve Gıda Mühendisi Buket ÜNSAL'a sonsuz sevgi ve saygılarımı sunarım.

Pınar ÜNSAL
ISPARTA, 2022

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Gilaburu meyvesi (<i>Viburnum opulus</i> L.).....	6
Şekil 2.2. DryDIST markalı MDE sistemi.....	10
Şekil 3.1. Taze gilaburu meyvesinin nem tayin cihazıyla nem oranının belirlenmesi	21
Şekil 3.2. Ayıklama, yıkama ve kurulum işlemlerinden sonra kurutma için tepsilere üst üste gelmeyecek şekilde konulmuş ve kurutulmuş gilaburu meyveleri.....	22
Şekil 3.3. Kurutma işlemi sonrasında elde edilen kuru meyvelerin laboratuvar tipi bir parçalayıcı kullanılarak öğütülmesi	23
Şekil 3.4. Taze (a) ve kurutulmuş (b) gilaburu meyvesi örneklerinin su aktivitesi cihazı ile aw değerlerinin belirlenmesi.....	25
Şekil 3.5. Taze gilaburu meyvesinin suda çözünür kuru madde miktarı briks derecesi (°Bx).....	26
Şekil 3.6. Taze (a) ve kuru (b) gilaburu meyvelerinin renk cihazı ile ölçülmesi.	27
Şekil 3.7. Gilaburu meyvesinde mikrodalga destekli su ekstraksiyon işlemi	27
Şekil 3.8. Sabit ağırlığa gelmiş gilaburu meyvesi ekstraktlarının bulunduğu cam petriler	30
Şekil 3.9. Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen örneklerde DPPH serbest radikal yakalama aktivitesi tayini	32
Şekil 3.10. Optimum koşullarda elde edilen gilaburu meyvesi su ekstraktlarının varlığında/yokluğunda sükrasin glükosidaz enzimi ile hidrolizi sonucu açığa çıkan glikoz ve fruktoz miktarının belirlenmesinde yararlanılan kimyasal reaksiyon aşamaları	37
Şekil 3.11. İyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile enkapsülasyon işlemi	38
Şekil 4.1. Gilaburu meyvesi mikrodalga destekli su ekstraktının ekstraksiyon verim değerinde, ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve sürenin etkisine (a), sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine (b), süre ve katı/çözücü oranı (c), etkisine bağlı değişimi	48
Şekil 4.2. Gilaburu meyvesi mikrodalga destekli su ekstraktının toplam fenolik madde miktarının ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve sürenin etkisine (a), sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine (b), süre (dakika) ve katı/çözücü oranı (c) etkisine bağlı değişimi.....	51
Şekil 4.3. Gilaburu meyve fenolik ekstraktından üretilen hidrojel boncuklar	55
Şekil 4.4. Gilaburu meyve fenolik ekstraktından üretilen hidrojel boncukların dijital kumpas ile ölçümü	55
Şekil 4.5. Ekstraktın ve hidrojel boncukların kolorimetre ile renk ölçümü	59

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 1.1. Gilaburu meyvesinde bulunan bazı fenolik bileşikler.....	2
Çizelge 1.2. Gilaburu meyvesinin fonksiyonel özellikleri.....	3
Çizelge 3.1. Gilaburu meyvesinden mikrodalga su ekstraksiyon ön deneme sonuçları.....	28
Çizelge 3.2. Bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri.....	29
Çizelge 3.3. Box-Behnken deney tasarımı.....	29
Çizelge 3.4. İyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile oluşturulan enkapsülasyon denemelerin sonuçları.....	39
Çizelge 3.5. Ön deneme sonuçlarına göre belirlenen gilaburu meyvesinden mikrodalga destekli su ekstraksiyonu iyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile oluşturulan enkapsülasyon deneme deseni	40
Çizelge 4.1. Taze ve kurutulmuş gilaburu meyvelerinin bazı fizikokimyasal özellikleri.....	43
Çizelge 4.2. Gilaburu meyve ekstraktlarının, ekstraksiyon koşullarına ilişkin ekstraksiyon verimi (%) ve TFM (mg GAE/g ekstrakt) değerlerinde meydana gelen değişimler.....	45
Çizelge 4.3. Gilaburu meyve ekstraktlarının, ekstraksiyon koşullarına ilişkin ekstraksiyon verimi (%) ve TFM (mg GAE/g ekstrakt) değerlerinde meydana gelen değişimlere ait model katsayılar değerlendirme parametreleri	46
Çizelge 4.4. Gilaburu su ekstraktının (g ekstrakt/100 mL su) enkapsülasyonu deneme deseni sonuçları	54
Çizelge 4.5. Askorbik asit (mg A.A./100 g kuru madde), β -karoten (mg/100 g kuru madde) ve antosiyanin (mg/g ekstrakt) içerikleri.....	56
Çizelge 4.6. Ekstrakt ve hidrojel boncukların renk değerleri.....	58
Çizelge 4.7. Ekstrakt ve hidrojel boncukların fenolik bileşenleri (mg/g ekstrakt).....	59
Çizelge 4.8. Ekstrakt ve Hidrojel Boncukların Fonksiyonel Özellikleri.....	61

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A.A.	Askorbik asit
aw	Su aktivitesi
BHT	Butillenmişhidroksitoluen
CCD	Merkezi karma tasarım
cm	Santimetre
COS	Kitosan oligosakkarit
DAD	Diode array dedektör
dk	Dakika
dL	Desilitre
DM	Diabetes Mellitus
ESI-MS	Elektrosprey iyonizasyon kütle spektrometrisi
g	Gram
GAE	Gallik asit eşdeğeri
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IC ₅₀	%50 inhibisyon konsantrasyonu
kg	Kilogram
L	Litre
L.	Linnaeus
MD	Maltodekstrin
MDE	Mikrodalga destekli ekstraksiyon
mg	Miligram
MHz	Mega hertz
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
PAD	Darbeli amperometrik dedektör
PEAF	Saflaştırılmış etil asetat fraksiyonu
RID	Refraktif indeks dedektör
rpm	Devir/dakika
RSM	Yanıt yüzey metodu
SFECO ₂	Süperkritik karbon dioksit
T.E.	Trolox eşdeğeri
TFM	Toplam Fenolik Madde
TURKDİAB	Türkiye Diyabet Vakfı
UPLC	Ultra performans sıvı kromatografisi
UV-VIS	Ultraviyole-görünür ışık
W	Watt
α	Alfa
β	Beta
Δ	Fark
μg	Mikrogram
μL	Mikrolitre
%EE	Enkapsülasyon etkinliği
°Bx	Briks derecesi
°C	Santigrat derece
μm	Mikrometre

1. GİRİŞ

Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) kırmızı renkli ve nohut büyüklüğünde meyveleri olan çok yıllık çalı formunda bir bitkidir (Güleşci, 2019). Dünya’da geniş bir yayılım gösteren gilaburu, ülkemizde Kırşehir, Kayseri, Tokat, Ankara, Artvin, Erzurum, Bursa, Trabzon, İzmit, Samsun, Sakarya, İstanbul, Sivas, İzmir, Kahramanmaraş ve etrafında doğal olarak yetişir (Yıldız ve Ekici, 2019). Ancak Türkiye genelinde çok fazla bilinmeyen gilaburu meyvesi geleneksel bir içecek olarak özellikle Kayseri bölgesinde böbrek, adet ve mide kramplarını önleyici etkisi olduğu düşünülerek oldukça sık tüketilmektedir (Soylak vd., 2002). Diyet meyvesi olarak kullanılan gilaburu meyvesi diüretik özelliği ve biyoaktif bileşenleri içermesi bakımından farmakolojik açıdan oldukça önemlidir (Iwai vd., 2004).

Gilaburu meyveleri bileşiminde % 7.81 suda çözünebilir kuru madde, % 9.86 ham selüloz, % 6.71 ham protein, % 5.83 indirgen şeker ile tannik asit (181.6-902.9 mg/L) ve askorbik asit (308-661 mg/L) gibi organik asitleri, C, E, A gibi önemli vitaminleri, klorür, sodyum, potasyum ve magnezyum gibi mineral maddeleri içermektedir (Dinç vd., 2012; Gündoğar, 2013; Soyçok vd., 2002). Çam ve Hışıl (2004) L-malik, askorbik ve oksalik asitlerin majör organik asitler (sırasıyla 9422.1, 736 ve 572.7 mg/L) olduğunu ve klorojenik asidin majör fenolik bileşik (798.8 mg/L) olduğunu bildirmiştir. Aynı zamanda biyoaktif organik asit, mineraller ve vitamince zengin olan gilaburu meyvesi yüksek oranda fenolik madde içermektedir (Çizelge 1.1).

Çizelge 1.1. Gilaburu meyvesinde bulunan bazı fenolik bileşikler

Fenolik Bileşikler	Kaynakça
Gallik asit	Çam, 2005; Turek ve Cisowski, 2007; Özrenk vd., 2011; Aktaş, 2012; Aktaş Karaçelik vd., 2015; Zarıfikhosroshahı, 2015; Güleşci, 2019
Kateşin	Velioglu vd., 2006; Özrenk vd., 2011; Aktaş, 2012; Kraujalyte vd., 2013; Sağdıç vd., 2013; Aktaş Karaçelik vd., 2015; Güleşci, 2019; Zakłos-Szyda vd., 2019
Epikateşin	Velioglu vd., 2006; Aktaş, 2012; Kraujalyte vd., 2013; Aktaş Karaçelik vd., 2015; Zakłos-Szyda vd., 2019
Kafeik asit	Çam, 2005; Turek ve Cisowski, 2007; Özrenk vd., 2011; Aktaş, 2012; Ceylan, 2015; Güleşci, 2019; Alifaki, 2019
Şirincik	Turek ve Cisowski, 2007; Özrenk vd., 2011; Aktaş, 2012; Güleşci, 2019
Vanilik asit	Aktaş, 2012; Güleşci, 2019
Rutin	Özrenk vd., 2011; Aktaş, 2012; Aktaş Karaçelik vd., 2015; Güleşci, 2019; Zakłos-Szyda vd., 2019; Polka vd., 2019
Ferulik asit	Turek ve Cisowski, 2007; Özrenk vd., 2011; Güleşci, 2019
Klorojenik asit	Çam, 2005; Velioglu vd., 2006; Levent Altun ve Yilmaz, 2007; Özrenk vd., 2011; Kraujalyte vd., 2013; Sağdıç vd., 2013; Aktaş Karaçelik vd., 2015; Celep vd., 2019; Zakłos-Szyda vd., 2019; Polka vd., 2019; Alifaki, 2019
Hidroksibenzoik asit	Çam, 2005; Velioglu vd., 2006; Turek ve Cisowski, 2007; Aktaş, 2012; Zakłos-Szyda vd., 2019
Hidroksisinnamik asit	Zakłos-Szyda vd., 2019; Polka vd., 2019
Kuersetin	Özrenk vd., 2011; Sağdıç vd., 2013; Güleşci, 2019; Aktaş Karaçelik vd., 2015; Ceylan, 2015; Zakłos-Szyda vd., 2019
Protokateşik asit, elajik asit	Turek ve Cisowski, 2007; Özrenk vd., 2011
<i>p</i> -Kumarik asit, mirisetin	Çam, 2005; Turek ve Cisowski, 2007; Özrenk vd., 2011; Güleşci, 2019
Prosiyanidin B1-B2-C1, siyanidin 3-glukozit, siyanidin-3-0-sambubiosit	Çam, 2005; Velioglu vd., 2006; Kraujalyte vd., 2013; Aktaş Karaçelik vd., 2015; Zakłos-Szyda vd., 2019; Polka vd., 2019
Antosiyanin	Česonienė vd., 2012; Dinç vd., 2012; Ersoy vd., 2017

Günümüzde sağlıklı beslenmeye verilen önemin artmasıyla birlikte tüketiciler antioksidanlarca zengin fonksiyonel ve doğal gıdalara yönelmeye başlamışlardır. Literatürelere bakıldığında gilaburunun içerdiği zengin antioksidan biyoaktif bileşenlerin insan bağışıklık sistemini geliştirme özelliğinden dolayı oksidatif stresin neden olduğu kalp-damar hastalıkları, kanser, katarakt ve nörolojik rahatsızlıklar gibi birçok hastalığı önlemede etkili olabileceği öne sürülmüştür (Frei 1994; Riemersma, 1994; Mackerras 1995; Halliwell, 1996; Schwartz, 1996). Gilaburu meyvesinin antioksidan, antimikrobiyal, antitümör, antidiyabetik ve antitümör vb. fonksiyonel özelliklerinin belirlendiği çalışmalar Çizelge 1.2’de verilmiştir.

Çizelge 1.2. Gilaburu meyvesinin fonksiyonel özellikleri

Fonksiyonel Özellikler	Kaynakça
Antioksidan	Burnaz Arslan, 2007; Altun vd., 2008; Orakçı, 2010; Rop vd., 2010; Aktaş, 2012; Kraujalyte vd., 2013; Şeker vd., 2016; Kraujalis vd., 2017; Bakir vd., 2017; Alifakı vd., 2018; Arslan vd., 2018; Alifakı, 2019; Celep vd., 2019
Antimikrobiyal	Česonienė vd., 2012; Arslan vd., 2018; Güleşçi, 2019
Antitümör	Arslan vd., 2018
Antidiyabetik	Yıldız, 2018; Zakłós-Szyda vd., 2019; Kajszyk vd., 2021
Antibakteriyal	Sagdic vd., 2006
Antitümör	Ceylan, 2015

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon işlemi farklı çözügenler ve yöntemlerle yapılmaktadır. Gilaburu meyvesinden fenolik madde ekstraksiyonunda; metanol, aseton, petrol eter ve/veya su ile Soxhlet, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon, süperkritik karbon dioksit ve basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemleri kullanılmaktadır (Sagdic vd., 2006; Şeker vd., 2016; Kraujalis vd., 2017; Alifakı vd., 2018; Arslan vd., 2018; Alifakı, 2019). Geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden ise damıtma, bekletme, ezme, karıştırma ve basınç uygulama (Sagdic vd., 2006; Altun vd., 2008; Kraujalyte vd., 2013; Bakir vd., 2017; Arslan vd., 2018) ile ekstraksiyon çalışmalarına rastlanmıştır. Özellikle son yıllarda, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin bazı dezavantajları nedeniyle gelişmiş ekstraksiyon tekniklerinin kullanımına yönelik giderek artan bir talep söz konusudur (Zhang vd., 2011; Cavuldak vd., 2016; Şahin, 2019). Gelişmiş

ekstraksiyon tekniklerinin en önemli avantajları otomasyona uygun olması, ekstraksiyon veriminin yüksek olması, çözgen tüketiminin az olması, ekstraksiyon süresinin kısa olması ve çevreye zarar vermeyen yeşil teknolojiye sahip olmasıdır (Wan ve Wong, 1996; Eskilsson Sparr ve Björklund, 2000; Şahin, 2019).

Geleneksel yöntemlere alternatif bir teknoloji olan mikrodalga destekli ekstraksiyon birçok ekstraksiyon tekniğine göre düşük maliyetli olması, besin ögelerini daha iyi korunması ve proses süresinin kısa olması gibi avantajları nedeniyle gıdalardan protein, karbonhidrat, uçucu yağ ve fenolik ekstraksiyonunda yoğun olarak kullanılmaktadır (Özer vd., 2018). Ekstraksiyon işleminde gıda örneğinin içerisinde bulunan polar su moleküllerinin elektrik alan etkisi ile polarize olması ve moleküllerin titreşimi sonucunda oluşan ısı ile ekstraksiyon verimi artmakta, düşük işlem süresi ve yüksek olmayan sıcaklık nedeniyle ise fenolik madde ve diğer biyoaktif bileşen degradasyonu oranı düşmektedir (Barba vd., 2016; Álvarez vd., 2017).

Son yıllarda gıda proseslerinde ve özellikle ekstraksiyonda yoğun olarak kullanılan yanıt yüzey metodu (RSM) ise proses değişkenlerinin optimize edilmesinde kullanılan istatistiksel bir metottur. Box-Behnken ise merkezi bileşik tasarımlar ile kıyaslandığı zaman ekonomik ve daha kolay olduğu için mühendislik çalışmalarında en yaygın kullanılan deneysel tasarımlardan birisidir (Myers vd., 1995; Radojković vd., 2013). Yanıt yüzey metodunun amacı; birçok değişken tarafından etkilenen tepkinin optimum yapılması ve tepkiyi optimum yapan karar değişkenlerinin değerlerinin tespit edilmesidir. Literatür taramalarında gilaburu meyvesinden RSM ve Box-Behnken deney tasarımıyla mikrodalga destekli ekstraksiyon optimizasyon çalışmasına rastlanmazken, sadece Alifakı (2019) tarafından yapılan tez çalışmasında mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi kullanılmıştır.

Ayrıca bu tez çalışmasında gilaburu meyvesinden optimum koşullarda ekstrakte edilen su ekstraktlarının iyonik jelasyon yöntemiyle enkapsülasyonu yapılmıştır. Enkapsülasyon, kapsül içerisine hapsedilen gıda bileşenlerinin

evresel etkenlerden ve metabolik inhibitörlerden korunmasını saėlayan bir bariyer oluřturma iřlemidir (řahin, 2019). Aynı zamanda, kapsül ierisine tutuklanan maddelerin aktivitesinin korunmasını, raf ömrünün arttırılmasını, besin deėerinin yükseltilmesini ve belirli kořullar altında ortama yavař salınmasını amalayan bir teknolojidir (Gökmen vd., 2012; Estevinho vd., 2016). Mikroenkapsölasyon tekniklerinden biri olan kitosan iyonik jelasyon yöntemi, kolay uygulanabilir ve düşük maliyetli olması, aljinat kaplama materyallerinden oluřan hidrojellerin toksik olmamaları, kimyasal ve termal olarak direnli olmaları sebebiyle daha fazla kullanılmaktadır (Chan vd., 2010). Yapılan literatür taramalarında gilaburu meyve ekstraktlarının sadece püskürtmeli kurutucu ve liyofilizatör kullanılarak maltodekstrin ve gam arabikle enkapsüle edildiėi sınırlı sayıda alıřma mevcuttur (Din vd., 2012; Alifakı, 2019). Ancak gilaburu su ekstraktında iyonik jelasyon ve kitosan sisteminin kullanıldıėı herhangi bir mikroenkapsölasyon alıřmasına rastlanılmamıřtır.

Yukarıdaki bilgilerden yola ıkarak bu tez alıřmasında, gilaburu meyve fenoliklerinin mikrodalga destekli ekstraksiyon cihazı ile yanıt yüzey metodu kullanılarak su ekstraksiyonlarının optimize edilmesi hedeflenmiřtir. Ekstraktların bazı biyoaktif bileřenleri ile biyofonksiyonel özelliklerinin (antioksidan ve antidiyabetik aktivite) belirlenmesi amalanmıřtır. Son olarak optimum ekstraksiyon kořullarında elde edilen sulu örneklerin iyonik jelasyon-kitosan sistemi ile mikroenkapsölasyonu yapılmıřtır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Gilaburu Meyvesi

Türkiye birçok meyve türünün doğal yayılma alanı ve gen merkezi olmakla birlikte tıbbi ve aromatik bitki çeşitliliği açısından dünyanın en zengin ülkelerinden birisi olarak bilinmektedir. Daha önce *Caprifoliaceae* (Hanımeliğiller) familyasına dahil edilmiş olmakla birlikte, son olarak Adoxaceae familyasına ait olarak kabul edilen çoğunlukla İç Anadolu ve Kayseri çevresinde doğal olarak yetişen *Viburnum opulus* L. türü endemik, 2-4 metre uzunluğa erişen, kışın yaprağını döken bir bitkidir (Şekil 2.1) (Güleşci, 2019; Yıldız ve Ekici, 2019). Gilaburunun dünyada 138, Türkiye’de ise 75 türü yetiştirilmektedir (Arslan vd., 2018). Selçuklular ve Osmanlılar zamanında çiçeklenme dönemindeki güzel görüntüsünden dolayı bu bitki “gül ebru” adı ile anılmıştır. Günümüze gelene kadar adı “gilaboru, giraboğlu, gilabba, girabolu, giligili, gildar, gilabu” şeklinde ülkemizin farklı bölgelerinde değişmiş ve en yaygın kullanılan ismi “gilaburu” olmuştur (Hızlısoy, 2009; Sağdıç vd., 2013; Yıldız ve Ekici, 2019). Ağustos-Eylül aylarında olgunlaşan ve yaklaşık 30-40 tanesi bir salkım oluşturan gilaburu meyvesi; kırmızı renkte, nohut büyüklüğünde, acımsı bir tada sahiptir (Bolat ve Özcan 1995; Çam, 2005; Dinç vd., 2012).



Şekil 2.1. Gilaburu meyvesi (*Viburnum opulus* L.)

Gilaburu meyvesi sađlık aısından birok faydası bulunan ve dođal renklendirici olarak kullanılan antosiyaninleri ve karotenoidleri iermesi nedeniyle yiyecek ve iecek endüstrisinde kullanım potansiyeli bulunan, gıda sanayinde hem taze ve kuru meyve hem de meyve suyu olarak tüketilen önemli bir meyvedir. Gilaburu meyvesinin yüksek miktarda fenolik asit, karotenoit, antosiyanin (Velioglu vd., 2006; Gavrilin vd., 2007; Česonienė vd., 2012; Din vd., 2012; Moldovan vd. 2012; Kalyoncu vd., 2013; Ersoy vd., 2017; Alifakı vd., 2018; Konarska ve Domaciuk, 2018; Yıldız, 2018; Zakłos-Szyda vd., 2019; Alifakı, 2019; Polka vd., 2019) ve bunun yanı sıra askorbik asit (Sagdı vd., 2006; Rop vd., 2010; Kraujalyte vd., 2013; Zarafkhosroshahi, 2015; Polka vd., 2019) ierdiđi bildirilmiřtir. Yüksek C vitamini ieriđine sahip gilaburu meyvesinin yapısında bulunan valerik asit, meyvede keskin bir kokuya yol amaktadır (Din vd., 2012). Gilaburu meyvesinin ieriđinde bulunan fenolik bileřik, antosiyanin ve karotenoit alıřmaları ařađıda detaylı olarak özetlenmiřtir:

Velioglu vd. (2006) taze gilaburu meyvesinin ekirdeđinde bulunan fenoliklerin belirlenmesi iin meyve örneklerinin %0.1 asetik asit ieren %80 metanol ile homojenize edip santrüfuj ettikten sonra üst fazı vakum altında nitrojen gazı kullanılarak konsantre etmiřlerdir. Elde edilen ekstrakttaki fenolik bileřikler (mg/kg) HPLC PAD dedektörü kullanılarak (+)-kateřin (290.40), klorojenik asit (2037.00), (-)-epikateřin (26.90), hidroksibenzoik asit (184.00), siyanidin 3-glukozit (72.30), prosiyanidin (82.80), kuersetin glukozit (52.10) olarak saptanmıřtır. Taze gilaburu meyvesinin toplam antosiyanin miktarının 82.20 mg/L olduđunu ve bu ieriđin %88'ini siyanidin 3-glukozit %12'sini ise siyanidin 3-rutinositten oluřtuđunu bildirmiřtir.

Česonienė vd. (2006) taze *Viburnum opulus* genotiplerinde toplam antosiyanin miktarını belirlemek iin 0.1 M HCl ile asitlendirilmiř %95'lik etanol ile ekstrakte etmiřtir. Antosiyanin miktarı hakim olarak siyanidin-3-galaktozit ifade edilen örneklerde 98.6 mg/100g spektrofotometre ile belirlenmiřtir; aynı arařtırıcılar 2008 yılında yaptıđı alıřmada taze *Viburnum* meyvesi türlerinde C vitamini ieriđini yođun renkli ekstraktlar iin kloroform kullanarak 2,6-

diklorfenolindofenolsodyum tuz çözeltisiyle 0.74 ile 44.7 mg/100 g aralığında olduğunu titrasyon tekniğiyle tespit etmiştir. Taze meyvelerin 0.1M HCl ile asitlendirilmiş metanol ekstraktlarında bulunan antosiyanin değerinin 0.821 ile 49.9 mg siyanidin 3-glukozit/100g aralığında değiştiğini spektrofotometrik olarak belirlemiştir. Ayrıca meyvelerdeki karotenoit miktarının $E_{1cm}^{1\%}=2592$ sönme değerinden 0.074 ile 2.7 mg/100 g aralığında olduğunu spektrofotometre ile tahmin etmiştir (Česonienė vd., 2008). 2012 yılında yaptığı bir diğer çalışmada ise, taze *V. opulus* var. *Sargentii* ve *V. opulus* var. *Americanum* meyvenin 0.1 M HCl içeren metanol ekstraktlarında bulunan antosiyanin miktarını sırasıyla 50.1 ve 24.3 mg siyanidin-3-glukozit/100 g olarak spektrofotometrik olarak tespit etmiştir (Česonienė vd., 2012).

Erzincan bölgesinde doğal olarak yetiştirilen gilaburu meyvesinin fenolik bileşik içerikleri (mg/kg) gallik asit (108.29-118.17), kateşin (284.96-352.04), klorojenik asit (29.51-44.33), kafeik asit (26.26-38.35), şirincik asit (24.70-30.29), *p*-kumarik asit (0.104-0.117), ferulik asit (44.98-55.90), *o*-kumarik asit (13.91-17.16), protokateşinik asit (20.93-36.27), vanilik asit (22.10-22.49), rutin (17.81-20.02) ve kuersetin (6.11-8.32) olarak tespit edilmiştir. HPLC-DAD ile taze gilaburu meyvesindeki C vitamini değeri (mg/100g) 32.761-33.432 olarak tespit edilmiştir (Özrenk vd., 2011).

Taze meyvelerde askorbik asit içeriğini belirlemek için yapılan başka bir çalışmada ise örnekler metanol-su-fosforik asit (99:0.5:0.5) çözeltileri ile örnekleri ekstrakte edilmiş ve HPLC ile askorbik asit miktarının 1.01 ile 1.64 g/kg yaş ağırlık aralığında değiştiği belirlenmiştir (Rop vd., 2010).

Zarifıkhosroshahı (2015), taze gilaburu meyvesinde antosiyanin miktarlarını (mg/L) Ardahan bölgesinde 188.5, Kayseri bölgesinde 52.35, Sivas bölgesinde 99.96 ve Gümüşhane bölgesinde 54.06 olarak tespit etmiştir. Farklı bölgelerden toplanan taze gilaburu meyvelerinin HPLC sistemi DAD dedektör kullanılarak fenolik bileşiklerini (mg/L) sırasıyla gallik asit (3020.26), klorojenik asit (1620.32), protokateşik asit (677.66), kateşin (323.55), siyanidin-3-glikozit (104.97), kafeik asit (72.89), elajik asit (75.88), şirincik asit (45.0), rutin (57.48),

kuersetin (36.91), pelargonidin-3-glikozit (25.24), *p*-kumarik asit (5.95), epikateşin (57.26) ve ferulik asit (4.42) olarak saptamıştır. Taze meyvelerin L-askorbik asit içeriğini (mg/100g) ise HPLC’de UV dedektör ile Ardahan bölgesinde 30.21, Kayseri bölgesinde 34.11, Sivas bölgesinde 39.53 ve Gümüşhane bölgesinde 37.21 olarak belirlemiştir.

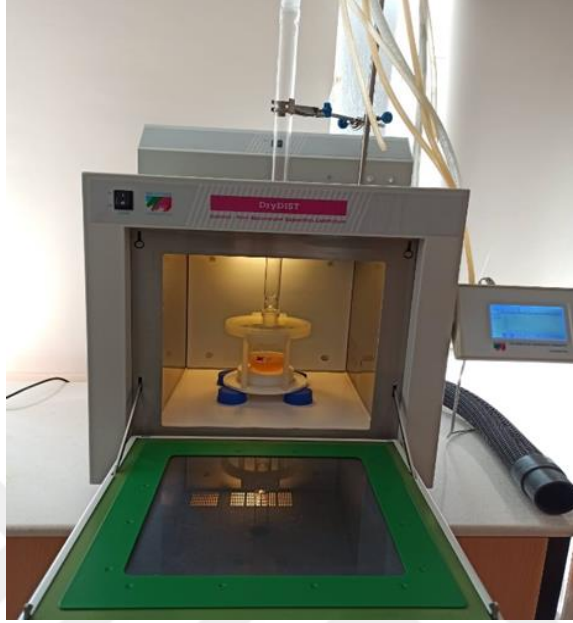
Taze gilaburu meyvelerinin β -karoten miktarını belirlemek için yapılan çalışmada; Kayseri’nin Bünyan, Develi ve Melikgazi ilçelerinde yetişen örnekler homojenizatörde parçalandıktan sonra etanol ve hekzan çözeltileri ile ekstraksiyonu yapılmıştır. Ekstraktların β -karoten içerikleri ($\mu\text{g/g}$) sırasıyla 5.04, 3.27 ve 6.52 olarak HPLC ile belirlenmiştir (Boyacı vd., 2016).

2.2. Ekstraksiyon, Biyoaktif Bileşenler, Antioksidan ve Antidiyabetik Aktivite Çalışmaları

Bu tez çalışmasının ilk adımında gilaburu meyvesinin fenolik biyoaktif bileşenlerinin maksimum verim ve miktarla mikrodalga destekli su ekstraksiyon metodu ile ekstraksiyon optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Son yıllarda, mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE), ekstraksiyon verimliliği ile katı matrislerden çözünen bileşenlerin hızlı ekstraksiyonuna izin vermesinden dolayı çok ilgi çekmektedir (Valérie Camel, 2000). Aynı zamanda, mikrodalga destekli solvent ekstraksiyonun düşük çözücü tüketimi (20-50 mL), yüksek sıcaklıklar ve kurutucu ajanlar gerektirmemesi, hızlı olması (10-30 dakika), ekstraksiyon parametrelerinin (zaman, güç, sıcaklık) tamamen kontrol edilebilir olması gibi avantajları bulunurken apolar çözücü ekstraksiyonunda başarının düşük olması en büyük dezavantajdır (Büyüktuncel, 2012).

Yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalar (300-300000 MHz) olarak bilinen mikrodalgaların ısıtma prensibi, iyonların iletimi ve dipol rotasyonu (dönme) yoluyla molekül üzerine mikrodalga’nın doğrudan etkisi temeline dayanmaktadır. Ticari sistemlerde kullanılan dipoller 2450 MHz’de düzenlenir (Eskilsson Sparr ve Björklund, 2000; Camel, 2001). MDE’de mikrodalga ışıması, ekstraksiyon çözücüsü ve örneği ısıtmak için kullanılmaktadır. Uygun çözgen

seçimi başarılı bir ekstraksiyon gerçekleştirmek için çok önemlidir. Seçilen çözügede çok kuvvetli ısınmaya neden olursa, bileşiklerin degradasyonu da kaçınılmazdır (Büyüktuncel, 2012).



Şekil 2.2. DryDIST markalı MDE sistemi

Ekstraksiyon aşamasında kullanılan yöntemler ve prosesteki değişkenler çok çeşitli olduğundan yanıt yüzey metodu ile proses parametrelerinin optimize edilmesi sağlanmaktadır. Yanıt yüzey metodunda ise amaç birçok değişken tarafından etkilenen tepkinin optimuma ayarlanması ve tepkiyi optimum yapan karar değişkenlerinin değerlerinin tespit edilmesidir. Aşağıda gilaburu meyvesinden bazı geleneksel yöntemler ile Soxhlet, mikrodalga ve ultrases destekli ekstraksiyon, süperkritik karbon dioksit ve basınçlı sıvı ekstraksiyon parametreleri ve farklı çözücüler kullanılarak yapılan ekstraksiyon çalışmalarına yer verilmiştir:

2007 yılında geleneksel ekstraksiyonla gilaburu meyvesinin fenolik içeriğinin belirlendiği çalışmada; meyveler kurutulup toz haline getirilmiş ve sonra oda sıcaklığında 8 saat metanol ile ekstrakte edilmiştir ve ekstraktlarda HPLC sistemi ve UV-VIS dedektörü ile salisin (%1.266) 17.77 ve klorojenik asit (%1.240) 17.81 mg/ml fenolik bileşikler saptanmıştır (Levent Altun ve Yılmaz, 2007).

Burnaz Arslan (2007) yüksek lisans tez çalışmasında, *V. opulus* yaprak, dal, meyve kabuğu ve çekirdeklerini açık havada kurutup ve toz haline getirmiş ve Soxhlet ile farklı çözügen (kloroform, metanol ve su) ekstraksiyonları gerçekleştirmiştir. Gilaburu meyvesinin toplam fenolik madde içeriği ($\mu\text{g GAE/mL}$) meyve kabuğu metanol ekstraktında 262, çekirdek su ve metanol ekstraktında ise sırasıyla 115 ve 220 olarak tespit edilmiştir. DPPH yöntemi ile belirlenen meyvenin farklı kısımlarının kloroform, metanol ve su ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ($\text{IC}_{50}=\text{mg/mL}$) ise çekirdek sulu ekstraktında 0.0342, meyve kabuğu metanolik ekstraktında 0.0146, çekirdek metanol ekstraktında 0.0047, meyve kabuğu kloroform ekstraktında 0.245, çekirdek kloroform ekstraktında 0.336 olarak belirlenmiştir.

Turek ve Cisowski (2007) gilaburu meyve kabuğu fenolik bileşimini belirlemek için meyve kabuk örneklerini kurutup ince toz haline getirmiş ve örnekleri önce su banyosunda petrol eteri ile 6 saat ekstrakte ederek lipid bileşenlerini uzaklaştırmış ve sonra 12 saat boyunca %70 metanol ile ekstrakte etmiştir. Ekstrakta bulunan fenolik asitler (mg/kg) HPLC ile kafeik asit (667.2), gallik asit (121.32), protokateşik asit (89.69), *p*-kumarik asit (7.29), elajik asit (34.30), klorojenik asit (544.24), ferulik asit (29.66), şirincik asit (210.13), 4-hidroksibenzoik asit (195.14) olarak belirlenmiştir.

Viburnum opulus ve *Viburnum lantana*'nın (Caprifoliaceae) farklı kısımlarından (meyve, dal ve yaprak) su ekstraksiyonu yapılan bir başka çalışmada, 100 g kurutulmuş ve toz haline getirilmiş örnekler 1 gün soğuk distile suda (1,000 ml) bekletilerek yumuşatılmış ve liyofilize edilmiştir (Altun vd., 2008). Ekstraktların antioksidan özellikleri, DPPH ve süperoksit anyon temizleme yöntemleri kullanılarak tespit edilmiştir. *V. opulus* meyvesi ve *V. lantana* meyve ekstraktları ile karşılaştırıldığında, $\text{IC}_{50}=\text{mg/mL}$ değerleri sırasıyla 0.057 ve 0.085 bulunmuş olup, güçlü DPPH radikal süpürücü aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

Bir diğerk alıřmada, Orakı (2010) gilaburu meyvesinin yař ve kurutulmuř hallerini, %70'lik metanol ve distile su özgenleri kullanılarak 8'er saat süreyle alkalamalı su banyosunda ekstrakte etmiř ve süzüntüyü vakum altında rotary evaporatörda 40-45°C sıcaklıkta yoğunlařtırmıřtır. Yař meyve (metanol ve distile su) ve kuru meyve (metanol) ekstraktlarının toplam antosiyanin deęerleri sırasıyla 0.47, 0.27 ve 0.12 mg/g, toplam fenolik ierięi sırasıyla 49.71, 47.86 ve 57,31 mg GAE/g ekstre olarak spektrofotometre ile belirlenmiřtir. Kuru meyve metanol ekstraktı, yař meyve metanol ve distile su ekstraktlarının antioksidan aktivite (IC₅₀) deęerleri sırasıyla 0.104, 0.803 ve 0.343 mg/mL olarak saptanmıřtır.

Aktař Karaelik vd. (2015) alıřmasında Doęu Karadeniz Bölgesi'nde yetiřtirilen gilaburu meyvelerinin ekirdek ve kabuk kısımlarını 40°C'lik etüvde kurutmuřlardır. Kurutulan örnekleri toz haline getirdikten sonra farklı özgenler ile (metanol, asetonitril ve distile su) 60°C'de 600 rpm'de manyetik ısıtıcıda 2 saat karıřtırarak ekstrakt elde etmiřlerdir. Ekstraktlardaki toplam fenolik madde miktarı (µg GAE/mL) kabuk metanol, asetonitril ve su ekstraktlarında sırasıyla 389, 150 ve 189, ekirdek metanol, asetonitril ve su ekstraktları ise sırasıyla 673, 406 ve 577 olarak tespit edilmiřtir. HPLC-ESI-MS sistemi DAD dedektörü ile gilaburu meyve suyunda belirlenen fenolik bileřikler klorojenik asit, kateřin, epikateřin, rutin, kuersetin, prosiyanidin B2, prosiyanidin trimer ve proantosiyanidin dimer monoglikozitlerdir.

Bir diğerk alıřmada ise Türkiye'nin Sivas ilinde yetişen bir dizi seilmiř *Viburnum opulus* L. genotipi meyvelerinin toplam fenolik, askorbik asit ve toplam antosiyanin miktarları belirlenmiřtir (Ersoy vd., 2017). Olgun meyve örnekleri paralanarak aseton, distile su ve asetik asitten (70:29.5:50.5 v/v/v) oluřan tampon özeltisinde 1 saat karıřtırarak ekstrakte edilmiřtir. Tartarik asit, tüm genotiplerde temel organik asit olarak tespit edilmiřtir. Ekstraktlarda, toplam fenolik ieriklerinin 621 ile 987 mg GAE/100 g, toplam antosiyanin ieriklerinin 15 ile 51 mg siyanidin-3 rutinosit eřdeęeri/100 g, C vitamin miktarı 27 ile 39 mg/100 g aralıęında deęiřtięi bildirilmiřtir. Sonular agro-

morfolojik, biyokimyasal ve biyoaktif özelliklerin çoğunda genotipe özgü farklılıklar göstermiştir.

Süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu (SFECO₂) ile yapılan çalışmada ise kurutulmuş gilaburu meyvesi ve posası iki seviyeli faktörel ve merkezi karma tasarım (CCD) kullanılarak ekstraksiyon optimizasyonu yapılmış ve optimum koşullarda elde edilen ekstraktların verimi ve toplam fenolik içeriği (mg GAE/g) sırasıyla %6.6 ve 40.9 olarak tespit edilmiştir (Kraujalis vd., 2017).

Alifakı vd. (2018), taze gilaburu meyvesinin fenolik bileşiklerini ultrason destekli su ekstraksiyon sistemiyle elde ettikleri çalışmada 6 farklı ekstraksiyon süresi (1, 10, 20, 30, 60 ve 120 dakika) ve 3 farklı katı: çözücü oranı (5:100, 10:100, 15:100) kullanmışlardır. Ekstraksiyon verimini %36.75 ile 70.34, TFM içeriğini (mg GAE/g kuru madde) 26.61 ile 50.93 ve serbest radikalleri yakalama aktivite değerlerini 7.21 ile 13.89 mg DPPH/g kuru madde aralığında tespit etmişlerdir. Çalışılan tüm katı:solvent oranları için ekstraksiyon süresi arttıkça belli bir değere kadar ekstraksiyon veriminin arttığını ve sonrasında azalışa geçtiğini bulmuşlardır. Çalışma sonuçlarına göre katı:solvent oranı azaldıkça antioksidan aktivitenin arttığını bildirmişlerdir. En iyi katı:solvent oranının 5:100 ve optimum ekstraksiyon süresinin ise 60 dakika olduğunu belirlemişlerdir. Antioksidan aktivite değerleri maserasyonla kıyaslandığında ultrason destekli ekstraksiyonda daha yüksek aktivite değerlerinin elde edildiğini belirlemişlerdir.

Arslan vd. (2018), taze gilaburu meyvesi antasiyonin miktarını ve serbest radikalleri yakalama aktivitesini (DPPH yöntemi) belirledikleri çalışmaların, örnekleri saf su ile homojenize ettikten sonra 72 saat 190 rpm'de karıştırarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmişler ve sonra 5000 x g'de 10 dakika santrifüj edip süpernatant kısmını rotary evaporatörde konsantre etmişlerdir. Ekstraktların spektrofotometrik olarak serbest radikalleri yakalama aktivitesi (DPPH) %52.5 ve toplam antosiyanin miktarı ise 0.80 mg/g olarak belirlemiştir.

Konarska ve Domaciuk (2018) ise *Viburnum opulus* ve *Viburnum lantana* türlerinin biyoaktif bileşenlerini karşılaştırdıkları çalışmalarında, taze meyve örneklerini homojenize ederek parçalamış ve renk değiştirene kadar petrol eteri (1: 1) ve %80'lik aseton çözgeni ile ekstrakte etmişlerdir. *V. opulus* meyvelerinin *V. lantana* meyvelerinden daha fazla miktarda karotenoit ve polifenol içerdiğini bulmuşlardır. *V. opulus* ve *V. lantana* meyvelerinin sekonder metabolitlerden karotenoit ile toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 1.50 ve 0.15 mg 100/g ile 12.30 ve 5.16 mg 100/g olarak tespit edilmiştir.

Alifakı (2019) ise taze gilaburu meyvesinden fenolik bileşiklerin mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyonunu karşılaştırdığı doktora tez çalışmasında; ultrason destekli ekstraksiyon için 5 farklı ekstraksiyon süresi (1-10-20-30-60 dk), 3 farklı ultrason gücü (14 W, 35 W ve 56 W) ve 3 farklı katı:çözücü oranı (5:100, 10:100 ve 15:100 g:mL) ile mikrodalga destekli ekstraksiyon için ise 9 farklı ekstraksiyon süresi (1-5-10-15-20-30-40-60-120 dakika), 5 farklı mikrodalga gücü (90-180-270-360 ve 450 W) ve 3 farklı katı: çözücü oranı (5:100, 10:100 ve 15:100 g:mL) kullanmıştır. Optimum ekstraksiyon süresini (dakika), katı:çözücü oranını (g/mL) ve güç (W) değerlerini ultrason destekli ekstraksiyon için sırasıyla 30, 5:100 ve 35, mikrodalga destekli ekstraksiyon için ise 15, 5:100 ve 360 olarak saptmıştır. Ekstraksiyon veriminin katı:çözücü oranı, süre ve güç değişkenlerine göre değişimi mikrodalga ekstraksiyonunda %28.86 ile 98.78, ultrason ekstraksiyonunda ise %24.76 ile 75.35 değerleri aralığında olduğunu tespit etmiştir. Optimum koşullarda ekstraktların TFM miktarları (mg GAE/g km) ultrason ile ekstrakte edilen örneklerde 54.55 ve mikrodalga ile ekstrakte edilen örneklerde 71.52 olarak bulunmuştur. Analiz sonunda ekstraksiyon çeşitleri karşılaştırıldığında en yüksek TFM değerlerine göre optimum ekstraksiyon süresi ve katı:solvent oranı 5:100 belirlenmiştir. En yüksek TFM miktarı maserasyonla 72.40 mg GAE/g kuru madde olarak tespit edilmiştir. Optimum koşullarda ekstraktların DPPH metodu ile serbest radikalleri yakalama aktivitesi (mg DPPH/g km) ultrason ile ekstrakte edilen örneklerde 4.91 ve mikrodalga ile ekstrakte edilen örneklerde 14.45 olarak bulunmuştur. Çalışma sonuçlarına göre mikrodalga ve ultrason güç değerleri için katı:solvent oranı azaldıkça antioksidan aktivitenin arttığı tespit edilmiştir.

Geleneksel, mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlar antioksidan aktiviteleri bakımından kıyaslandığında mikrodalga destekli ekstraktın, ekstraksiyon süresinin kısa olması nedeniyle çok daha yüksek antioksidan aktiveye sahip olduğunu bildirmiştir. Optimum koşullarda mikrodalga ve ultrason ile ekstrakte edilen örneklerdeki fenolik bileşik içeriklerinden (mg/g km) klorojenik asit miktarı sırasıyla 16.76 ve 12.42, kafeik asit miktarı sırasıyla 0.004 ve 0.006 olarak saptanmıştır.

Celep vd. (2019) ise gilaburu meyvelerinden iki farklı çözgenle (metanol, distile su) ekstraksiyon yaptıkları çalışmada taze meyveleri yıkadıktan sonra doğrudan elektrikli bir karıştırıcı ile ezip -80°C'de liyofilize etmişler ve ayrı ayrı çözgenler ile (250:500 g:mL) manyetik karıştırıcıda ekstrakt elde etmişlerdir. Ekstraksiyon verimi, meyvenin metanol ekstraktında %14.46, meyvenin distile su ekstraktında ise %12.69 olarak belirlenmiştir. Toplam fenolik madde (mg/g GAE) miktarı metanol ve su ekstraktında sırasıyla 40.17 ve 25.64 olarak belirlenmiştir. İnsan sindiriminin simülasyonunu yaptıkları analizde ise toplam fenolik madde miktarlarının önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir. Ekstraktların serbest radikalleri yakalama aktivitesi (DPPH) metanol ve su ekstraktlarında sırasıyla 103.59, 96.74 mg BHTE/g olarak elde etmiştir. *Viburnum opulus* L. meyvesinin metanol ve su ekstratlarındaki klorojenik asit değerleri sırasıyla 34.42 ve 26.76 mg/g olarak yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (HPTLC) sistemi ile saptamıştır.

Bir diğer çalışmada Polka vd. (2019) tarafından kurutulmuş *Viburnum opulus* meyvesi ve kabuk etanol ekstraktlarının ultra performans sıvı kromatografisi (UPLC) sistemi kullanarak fenolik bileşikleri incelemiştir. Ekstraktaki fenolik bileşikler (mg/ 100g kuru madde) meyve etanol ekstraktında prosiyanidin B1 (14.02), klorojenik asit (752.59), kriptoklorojenik asit (3.51), toplam hidrosisinnamik asit (763.32), rutin (5.39), kabuk etanol ekstraktında ise, prosiyanidin B1 (437.79), (+)-kateşin (1062.43), prosiyanidin B2 (116.47), (-)-epikateşin (95.87), klorojenik asit (352.49), kriptoklorojenik asit (18.44), *p*-kumarik asit (14.17) ve toplam hidrosisinnamik asit (426.61) olarak tespit edilmiştir. Meyve ve kabuk etanol ekstraktlarındaki karotenoit (mg

β karoten/ 100 g kuru madde) miktarları ise sırasıyla 2.70 ve 1.13 ve toplam fenolik madde (g GAE/ 100g kuru madde) miktarları 3.73 ve 3.98 olarak saptamıştır.

Taze gilaburu meyve posalarından %70'lik aseton ve metanol:aseton:su (2:2:1 h/h/h) ve aseton çözeltisi kullanılarak elde edilen ekstraktlarda TFM (mg GAE/g) miktarları metanol:aseton ekstraktında 143.77, aseton ekstraktında 137.80 ve metanol:aseton:su ekstraktında ise 361.52 olarak tespit edilmiştir. Ekstraktlardaki fenolik bileşik içerikleri (mg/g ekstrakt) meyve posası metanol:aseton ekstraktında gallik asit (0.21), prosiyanidin B1 (3.28), (+)-kateşin (9.71), prosiyanidin B2 (5.44), (-)-epikateşin (4.42), hidrosisinamik asit (96.37), klorojenik asit (96.22), siyanidin-3-O-glukozit (0.86), antosiyanin (2.07), meyve posasının aseton ekstraktında ise gallik asit (0.40), prosiyanidin B1 (2.46), (+)-kateşin (5.70), prosiyanidin B2 (3.77), (-)-epikateşin (3.53), hidrosisinamik asit (84.27), klorojenik asit (84.31), rutin (0.12), siyanidin-3-O-glukozit (0.58) ve antosiyanin (1.45) olarak saptanmıştır (Zakłós-Szyda vd., 2019).

Son yıllarda, diyabet hastalığının artış göstermesi, tedavi masraflarının artması, metformin gibi diyabet hastalığı tedavisinde kullanılan ilaçların birtakım yan etkilerinden (nefes darlığı, hipoglisemi, bulantı, kusma, çarpıntı vd.) dolayı tüketicilerin biyoaktif bileşenlerce zengin, doğal bitki ve gıdaların kullanımına yönelik talep artmıştır. “TURKDİAB (Türkiye Diyabet Vakfı) Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi 2019” raporuna göre, Diabetes Mellitus (DM), insülin etkisi, insülin salınımı veya bu faktörlerin her ikisinde de bozukluk nedeniyle oluşan hiperglisemi ile karakterize kronik metabolik bir hastalıktır. Sindirim enzimlerini önleyen ya da insülin benzeri moleküller olarak işlev gören bazı meyveler, polifenoller gibi bazı biyoaktif bileşimleri nedeniyle diyabet yönetiminde (akarboz benzeri aktivite) kullanılabilir (Ünsal vd., 2019). Oksidatif bir stres hastalığı olan diyabet hastalığının tedavisinde, antioksidan aktiviteye sahip bileşiklerin kullanılmasının olumlu etkilerinin olduğu bildirilmiştir. Özellikle (+)-kateşin gibi zengin flavonoidlerin kaynağı olan gilaburunun antioksidan etkileri olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla antidiyabetik

etkiler antioksidan etkiyle doğrudan ilişkili olduğu için, gilaburunun antidiyabetik ajan olma potansiyeline sahip olduğu Rop vd. (2010) tarafından bildirilmiştir. Gilaburu meyvesinin antidiyabetik özelliği ile ilgili çalışmalar aşağıda özetlenmiştir:

Yıldız (2018) tarafından yapılan çalışmada, sağlıklı ve streptozotosin ile diyabet indüklenmiş Wistar albino sıçanların bir grubu 100 mg/kg dozda gilaburuyla diğer grubu ise standart yemle 15 gün boyunca beslenmişlerdir. Araştırmaların sonucunda sağlıklı ve standart yemle beslenen (kontrol), diyabetli ve standart yemle beslenen, sağlıklı ve gilaburuyla beslenen, son olarak diyabetli ve gilaburu ile beslenen (test) sıçan gruplarının kan glikoz değerleri sırasıyla 85.3, 341.2, 80.1 ve 145 µg/dL tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar gilaburu meyvesinin kan glikoz düzeyini azaltarak, alternatif tıp başta olmak üzere diyabetli hastalar için kullanılabileceğini göstermiştir.

Zakłós-Szyda vd. (2019) çalışmalarında, ince bağırsak modeli olarak Caco-2 hücrelerini kullanmış ve *V. opulus* meyvesi ekstraktlarının glikoz taşıyıcısını (GLUT 2) inhibe edici etkisini araştırmışlardır. Elde ettikleri bulgulara göre *Viburnum opulus* meyvesinin, bağırsak hücreleri tarafından glikoz emilim oranını geciktirerek ve durdurarak postprandiyal glikoz seviyesini azalttığı saptanmıştır.

Kajszczak vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada ise ekstraksiyonda farklı çözügenler (aseton, metanol, etil asetat) ile gilaburudan ekstrakte edilen fenolik bileşenlerin α -glukosidaz aktivitesini durdurucu etkisi spektrofotometrik yöntemle belirlenmiştir. Enzim aktivitesini durdurmak için IC₅₀ değeri 1.37 µg/mL akarboz olarak tespit edilmiştir. α -glukosidaz aktivitesini akarbozdan sonra en iyi durduran ekstraksiyon ise saflaştırılmış ekstrenin etil asetat fraksiyonu (PEAF) 110.06 µg/mL olarak bulunmuştur. Fenolik bileşiklerce zengin gilaburu meyvesi fraksiyonlarının, α -glukosidaz aktivitesine karşı en yüksek inhibitör aktivite göstermesi proantosiyanidin polimerleri ve klorojenik asitler, özellikle dikafeoilkinik asitlerle ilgili olduğu bildirilmiştir.

2.3. Enkapsülasyon ve Özellikleri

Mikroenkapsülasyon, çekirdek veya iç faz olarak isimlendirilen katı, sıvı veya gaz partiküllerin mikro parçacık oluşturacak bir veya daha fazla kaplama materyali (duvar maddesi) ile çevrenip kapsüllerin elde edilmesi işlemidir (Estevinho vd., 2016). Kaplanan malzeme “çekirdek” veya “aktif” olarak adlandırılırken, kaplamada kullanılan materyal ise “taşıyıcı”, “kabuk” veya “enkapsülant” olarak isimlendirilmektedir. Enkapsülasyon teknolojisinde birçok aktif madde, belirlenen amaç doğrultusunda enkapsüle işlemi ile korunabilmektedir. Mikroenkapsülasyon uygulamalarında en fazla kullanılan aktif bileşenler proteinler ve enzimler, mineraller ve vitaminler, prebiyotikler ve probiyotikler, organik asitler, esansiyel yağlar, aromalar, renklendiriciler, koruyucular, tatlandırıcılar, yağ asitleri (konjuge linoleik asit, ω -3), karotenoidler (likopen, β - karoten) ve antioksidanlardır (flavonoidler, polifenoller, tokoferol) (Çoruhli, 2013).

Mikroenkapsülasyon teknolojisi gıda endüstrisinde enkapsüle edilecek maddenin dış etkenlerden (hava, sıcaklık, nem ve ışık gibi) ve fiziksel özelliklerinin daha iyi korunması, başka bileşenler ile etkileşime girmesinin engellenmesi, taşınmasının kolaylaştırılması ve tat ile kokunun maskelenmesi amaçlarıyla tercih edilmektedir (Koç vd., 2010). Bu anlamda enkapsülasyon gıda endüstrisinin yanı sıra kimya, biyoteknoloji, ziraat, tıp, eczacılık, yem, veterinerlik ve kozmetik gibi çeşitli alanlarda yer almaktadır (Poncelet, 2006; Şahin, 2019). Püskürtmeli kurutma, püskürtmeli soğutma, ekstrüzyon, koaservasyon, dondurarak kurutma, kristalizasyon, akışkan yatak kaplama, lipozom tutuklama ve iyonik jelasyon mikroenkapsülasyon teknolojisinde kullanılan yöntemlerdir (Gökmen vd., 2012). Hidrojeller su ve çoğu biyolojik sıvıyı absorbe edebildiğinden dolayı enkapsülasyon teknolojisinde çoğunlukla kullanılmaktadır. Biyolojik açıdan kolay üretilen kalsiyum ve sodyum aljinat bileşenlerinden oluşan hidrojeller, toksik olmamaları, termal ve kimyasal olarak dirençli olmaları (Chan vd., 2010), ayrıca kalsiyum-aljinat ile mikroenkapsüle edilen tannik asidin α -amilaz aktivitesinin daha yüksek olması ve ince

bağırsaktaki salınımın mideden daha hızlı olması sebebi ile daha fazla tercih edilmektedir (Annunziata vd., 2020).

Damlatma metodu “çapraz bağlanma” ve ‘iyonik jelasyon’ gibi isimlerle de anılmaktadır. Bu metot kolay uygulanabilir ve ekonomik açıdan fazla maliyet gerektirmeyen bir yöntem olması nedeniyle enkapsülasyon teknolojisinde kullanılmaktadır (Çoruhli, 2013). Kalsiyum klorür ile sodyum aljinatın bağlanma prensibine dayanan iyonik jelasyon metodu hidrojel boncukların elde edilmesinde kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen gilaburu meyvesi ekstraktı ile mikroenkapsülasyon üretimi hedeflenmiştir. Gilaburu meyvesi ile ilgili yapılan enkapsülasyon çalışmalarında damlatma metodu ile iyonik jelasyon enkapsülasyonu ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır ve gilaburu meyvesi enkapsülasyonu ile ilgili yapılan farklı çalışmalar aşağıda detaylı olarak verilmiştir:

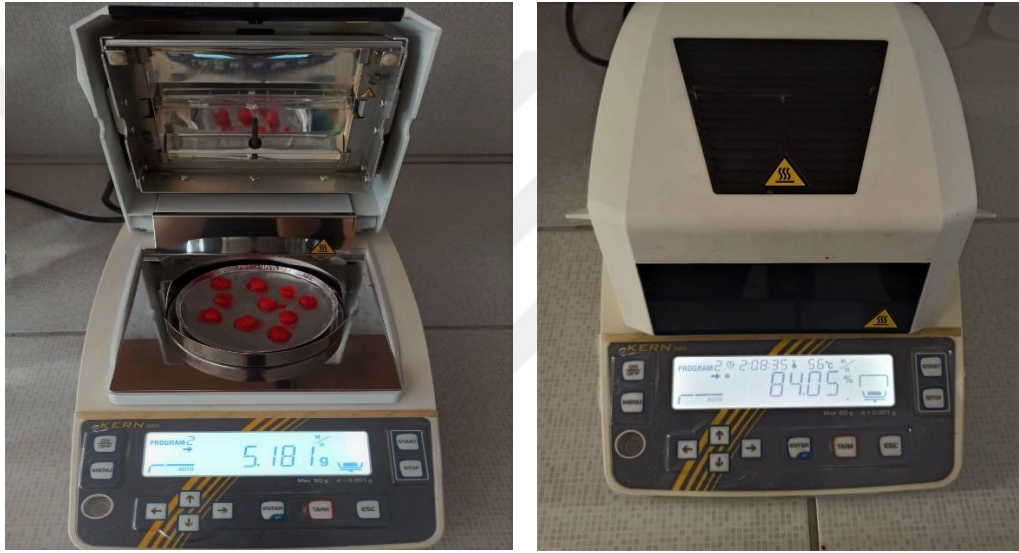
Dinç vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada gilaburu meyvesi ile gerçekleştirilen enkapsülasyon yöntemi, ekstraksiyon yöntemlerinden ezme metodu uygulamasıyla elde edilmiştir. Posası ayrılmış toplam kuru madde miktarı %9.25 olan gilaburu suyu kullanılmıştır. Mikroenkapsülasyon besleme çözeltilerinin hazırlanmasında gilaburu suyuna 1/1 ve 1/2 (kuru madde/maltodekstrin (MD)) oranında dekstroz eşdeğeri 18-20 olan maltodekstrin ilave edilerek kuru madde oranı arttırılmıştır. MD eklenmesinin ardından çözelti ultra-Turraks ile homojenize hale getirilmiştir. Hazırlanan karışım püskürtmeli kurutucuya mikroenkapsülasyon işlemini gerçekleştirmek üzere aktarılmıştır. Farklı sıcaklık ve farklı MD oranlarında (160°C 1/1MD, 180°C 1/1MD ve 160°C 1/2MD) gerçekleştirilen mikroenkapsüllerin TFM değerleri sırasıyla 29.21, 28.16 ve 25.35 mg GAE/g kuru madde, mikroenkapsülasyon verimi sırasıyla % 32.29, 33.33 ve 23.96, mikroenkapsülasyon etkinliği sırasıyla % 94.40, 93.61 ve 97.50, antosiyanin miktarı sırasıyla 23.03, 24.44 ve 14.01 mg/100g olarak tespit edilmiştir. Gilaburu suyu antosiyanin miktarı ise 51.35 mg/100g olarak bulunmuştur.

Bir diğ er  alıřmada ise gilaburu tozunun  eřitli kaplama maddeleri (gam arabik, maltodekstrin), ultrasonikasyon s releri (10, 20 ve 30 dakika),  ekirdek:kaplama maddesi oranları (1:10, 1:20 ve 1:30) kullanılarak mikroenkaps lasyonu arařtırılmıřtır. Enkaps lasyon i in belirlenen optimum kořullar i in kaplama maddesi gam arabik, ultrasonikasyon s resi 20 dk ve  ekirdek:kaplama oranı 1:30 olarak saptanmıřtır. Gilaburu meyvesinden elde edilen mikroenkaps le edilmemiř toz  r n n TFM miktarı 41.72 mg GAE/g km olarak bildirilmiřtir. 1:10, 1:20 ve 1:30 oranlarında  ekirdek:kaplama materyali i eren mikroenkaps le edilmiř  r nlerin TFM miktarları ise sırasıyla 19.37, 12.67 ve 7.68 mg GAE/g km olarak elde edilmiřtir. Mikroenkaps lasyon iřlemi enkaps lasyon verimliliğı maltodekstrin i eren kaps llerde %84.14 ile 96.74, gam arabik kaplama materyali i eren kaps llerde % 89.69 ile 99.68 değıerleri arasında değıiřmektedir. Gilaburu tozunun antioksidan aktivitesi 2.80 mg DPPH/g km ve mikroenkaps le edilmiř kaps llerin ise 1.18 ile 1.73 mg DPPH/g km değıerleri aralığında tespit edilmiřtir. Ayrıca gilaburu meyvesinden elde edilen mikroenkaps le edilmemiř toz  r n ve optimum kořullarda mikroenkaps le edilmiř  r n n baskın fenolik bileřenleri olan klorojenik asit miktarları sırasıyla 13.71 ve 3.59 mg/g km ve kafeik asit miktarları ise sırasıyla 0.011 ve 0.004 mg/g km olarak bildirilmiřtir (Alifakı, 2019).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Gilaburu meyveleri Kayseri ilinden kırmızı rengin olduğu olgunluk döneminde toplanmıştır. Hızlı bir şekilde laboratuvara getirilmiş ve bekletilmeden hemen kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutma işlemi öncesinde yaklaşık 5 g taze gilaburu meyve örneği hızlı nem tayin cihazına (Radway, Polonya) konularak % nem miktarı hesaplanmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Taze gilaburu meyvesinin nem tayin cihazıyla nem oranının belirlenmesi

Kurutma işlemi için sırasıyla gilaburu meyveleri dışındaki sap, yaprak ve kusurlu (çürümüş, aynı renk olmayan sarı ve turuncu renkli) meyveler ayıklanmış, yıkanmış ve kurulanmıştır. Ayıklama aşamasında çalışmada kullanılacak örneklerin renklerinin homojen olmasına özen gösterilmiştir.

Gilaburu meyveleri Eksis marka kurutma fırınında (TK-LAB, Türkiye) sıcaklık, ağırlık, nem, tepsi dönüş hızı ve hava akış hızı özellikleri ayarlanarak 70°C sıcaklıkta kurutulmuştur (Şekil 3.2). Kurutma işlemi sonrası %nem miktarı, hızlı nem tayin cihazı (Radway, Polonya) ile %4.56 olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Ayıklama, yıkama ve kurulama işlemlerinden sonra kurutma için tepsilere üst üste gelmeyecek şekilde konulmuş ve kurutulmuş gilaburu meyveleri

Ekstraksiyon uygulamasına başlamadan önce kurutulan gilaburu meyveleri laboratuvar tipi bir parçalayıcı (Waring Commercial Laboratory Blender, ABD) kullanılarak öğütülmüştür (Şekil 3.3). Öğütülen kuru meyveler farklı gözeneklere sahip rafli eleklerden (Kocintok, Türkiye) geçirilmiştir. 0.5 mm'lik elekten geçip öğütülen numuneler poliamid/polietilen poşetlerde vakum altında paketlenerek ekstraksiyon işlemine kadar -45°C'da depolanmıştır.



Şekil 3.3. Kurutma işlemi sonrasında elde edilen kuru meyvelerin laboratuvar tipi bir parçalayıcı kullanılarak öğütülmesi

Bu tez çalışmasında sodyum karbonat (Sigma Aldrich, Almanya), etanol (ISO LAB, Almanya), 2,2-dipenil-1-pikril-hidrazil (Sigma Aldrich, Almanya), gallik asit (Sigma Aldrich, Çin), trolox (Sigma Aldrich, ABD), D-(+) glikoz (ISO LAB, Almanya), sükroz (ISO LAB, Almanya), D-(+) Galaktoz (Sigma Aldrich, ABD), D-(-) fruktoz (Merck KGaA, İsrail), kalsiyum klorür (ISO LAB, Almanya), nitrojen gazı (Yıldız azot, Türkiye), Tris-HCL (Merck KGaA, Almanya), metanol (Sigma Aldrich, İsrail), kitosan (Sigma Aldrich, ABD), sodyum sitrat (ISO LAB, Almanya), sodyum aljinat (Sigma Aldrich, Norveç), sitrik asit (Sigma Aldrich, Çin), klorojenik asit (Sigma Aldrich, ABD), kuersetin, luteolin, protokateşik asit, kafeik asit, kateşin, epikateşin, şirincik asit, *p*-hidroksibenzoik asit, *p*-kumarik, *o*-kumarik, kamferol, benzoik asit, eriodiktiol, sinamik asit, apigenin, Intestinal rat powder (I1630, Sigma Aldrich, ABD), protokateşik asit, rutin, rosmarinik asit, hesperidin, ferulik asit, (Fluka, ABD), sodyum hidroksit (ISO LAB, Almanya), aseton (Merck KGaA, Almanya), formik asit (Merck KGaA, Almanya), asetonitril (ISO LAB, Almanya), asetik asit (ISO-LAB, Almanya), Folin & Ciocalteu fenol reaktifi (Merck KGaA, Almanya), siyanidin 3-glukozit (Phyto LAB, Almanya), siyanidin 3-rutinosit (Phyto LAB, Almanya), pelargonidin 3-glukozit (Phyto LAB, Almanya), BHT (Fluka, Almanya), β - karoten (Sigma Aldrich, ABD), metafosforik asit (Merck KGaA, Almanya), L-askorbik asit (Sigma Aldrich, ABD), etil asetat (Sigma Aldrich, Fransa) kimyasalları kullanılmıştır.

3.2. Metotlar

3.2.1. Asitlik ve pH Tayini

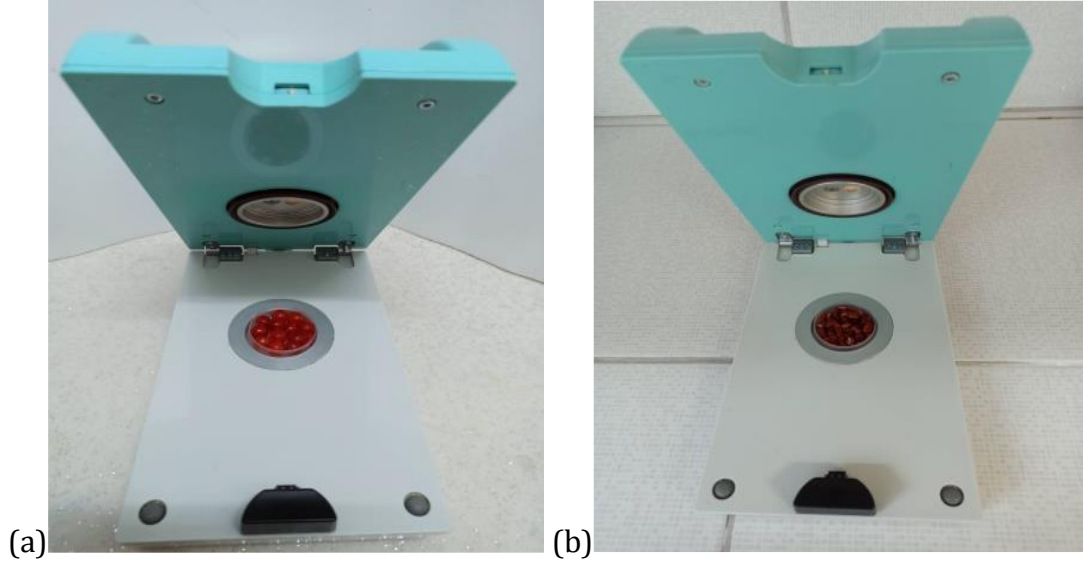
Taze ve kurutulmuş gilaburu meyve örneklerinde asitlik değeri (%) klorojenik asit eşdeğeri olarak belirlenmiştir. Örnek hazırlama aşamasında, 5 g taze ve kurutulmuş gilaburu meyvesi tartılmıştır. Üzerine 100 mL saf su eklenmiş ve 1 dakika boyunca Ultra Turrax (Ika, Staufen, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Ardından huni üzerine yerleştirilen fitre kağıdı ile süzölmüştür. Elde edilen süzöntüden 25 mL alınarak elektrometrik titrasyon yöntemi ile pH 8.1 olana kadar örneğe 0.1 N NaOH çözeltisi ile titrasyon işlemi uygulanmıştır. Örneklerin pH değerleri ise potansiyometrik olarak pH metre (HI 2211, Hanna, Romanya) ile ölçölmüştür. Titrasyon asitliği aşğıdaki denklemden (3.1) yararlanarak hesaplanmıştır:

$$\text{Titrasyon asitliği, \%} = \frac{[(V)(f)(E)]}{M} \cdot 100 \quad (3.1.)$$

Burada V: Harcanan 0.1N NaOH miktarı (mL), f: Baz çözelti normalitesi eğer tam 0.1 değilse, bu f değeri çözelti faktörüdür, çözeltinin normalitesi tam 0.1 ise f=1'dir. E: 1 mL 0.1 N NaOH eşdeğeri asit miktarı (g), M: Titre edilen örneğin gerçek miktarı (mL veya g) değerlerini temsil etmektedir.

3.2.2. Su Aktivitesi

Taze ve kurutulmuş gilaburu meyvelerinin su aktiviteleri (a_w) thermoconstanter TH 200 (Novasina, Axair Ltd., İsviçre) su aktivitesi tayin cihazı kullanılarak oda sıcaklığında belirlenmiştir (Şekil 3.4). Okuma yapılırken farklı tanelerin seçilmesine özen gösterilmiştir. Analiz 3 tekerrürlü olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.4. Taze (a) ve kurutulmuş (b) gilaburu meyvesi örneklerinin su aktivitesi cihazı ile aw değerlerinin belirlenmesi

3.2.3. Çözünür Kuru Madde Tayini

Taze ve kuru gilaburu meyvesinin suda çözünür kuru madde miktarı, refraktometre cihazı (HI 96801 Hanna, Romanya) ile oda sıcaklığında belirlenmiştir (Şekil 3.5). Sonuçlar briks derecesi ($^{\circ}\text{Bx}$) cinsinden ifade edilmiştir. Okuma yapılırken farklı tanelerin seçilmesine özen gösterilmiştir. Seçilen örnekler bıçak yardımıyla ufak bir delik açılıp meyvenin suyu okuma yapılan kısma damlatılmış ve okuma gerçekleştirilmiştir. Kurutulmuş gilaburu meyvesinin örnek hazırlama aşamasında, 5 g örnek tartılmıştır. Üzerine 100 mL saf su eklenmiş ve 1 dakika boyunca Ultra Turrax (Ika, Staufen, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Ardından huni üzerine yerleştirilen fitre kağıdı ile süzölmüştür. Elde edilen süzöntüden birkaç damla okuma yapılan kısma damlatılmış ve okuma gerçekleştirilmiştir. Kurutulmuş gilaburu meyvesinin çözünür kuru madde miktarı aşağıdaki denklemden (3.2) yararlanarak hesaplanmıştır:

$$\text{Çözünür kuru madde miktarı} = (\text{°Briks} / \text{Örnek miktarı}) * 100 \quad (3.2)$$



Şekil 3.5. Taze gilaburu meyvesinin suda çözünür kuru madde miktarı briks derecesi ($^{\circ}\text{Bx}$)

3.2.4. Nem İçeriği ve Toplam Kuru Madde Tayini

Nem tayini, standart gravimetrik yöntem (AACC Metodu, 44-01.01, 2000) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Örnekler hassas teraziyle 1/1000 g hassasiyette tartılıp önceden sabit tartıma getirilmiş ve soğutulmuş kurutma kaplarına konmuştur. Kurutma fırınına (FN 120, Nüve, Türkiye) yerleştirilen kaplar, sabit tartıma gelene kadar 105 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta kurutulmuştur. Örneklerin nem miktarları kuru madde üzerinden belirlenmiştir.

3.2.5. Renk Tayini

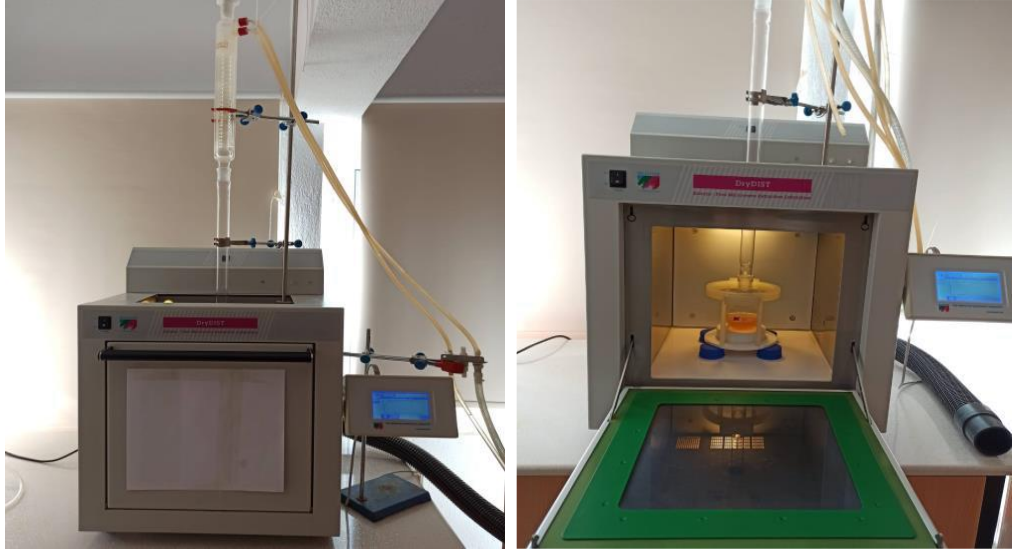
Taze ve kuru gilaburu meyvesi örneklerinin yüzey rengini belirlemek amacıyla 3nh renk kolorimetresi (China) kullanılmıştır (Şekil 3.6). Analizler “CIE Lab Renk Skalası (L^* , a^* , b^*)” yöntemi ile farklı örnekler rastgele seçilerek 3 tekerrürlü olacak şekilde ölçülmüştür. Hunter sistemine göre L^* değeri rengin parlaklığını, a^* değeri kırmızı-yeşil, b^* değeri sarı-maviyi ifade etmektedir.



Şekil 3.6. Taze (a) ve kuru (b) gilaburu meyvelerinin renk cihazı ile ölçülmesi

3.2.6. Mikrodalga Destekli Su Ekstraksiyon İşlem Koşullarının Optimizasyonu

Kurutulmuş ve öğütülmüş gilaburu meyvesinden fenolikçe zengin mikrodalga destekli (Milipore, İtalya) ekstraksiyon (Şekil 3.7) optimizasyonu için yanıt yüzey metodu ve deneysel tasarım için Box-Behnken deney tasarımı uygulanmıştır.



Şekil 3.7. Gilaburu meyvesinde mikrodalga destekli su ekstraksiyon işlemi

Çalışmada çözgen olarak saf su kullanılmıştır. Bağımsız parametreler olan süre (dakika), sıcaklık (°C), güç (W) ve katı/çözücü oranının (g/100 mL) minimum ve maksimum faktör seviyelerini tespit etmek için ön denemeler 3 tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır. Gilaburu meyvesinin mikrodalga destekli su ekstraksiyon ön deneme sonuçları Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Gilaburu meyvesinden mikrodalga su ekstraksiyon ön deneme sonuçları

Uygulama No	Bağımsız Değişkenler				Bağımlı Değişkenler	
	Katı/Çözücü Oranı (g/100 ml)	Güç (W)	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Toplam Fenolik Madde (mg GAE/ g ekstrakt)	Ekstraksiyon Verimi (%)
1	3	200	45	7.5	345.41±1.13 b*	47.23±0.02 c*
2	3	350	45	7.5	346.51±1.12 ab	47.83±0.02 b
3	3	500	45	7.5	347.78±0.79 a	48.13±0.02 a
4	6	200	45	7.5	339.63±0.17 d	45.73±0.05 e
5	6	350	45	7.5	340.01±0.91 cd	46.08±0.19 d
6	6	500	45	7.5	341.96±2.40 c	47.05±0.26 c
7	9	200	45	7.5	215.73±0.70 f	43.03±0.03 h
8	9	350 W	45	7.5	218.03±0.15 e	43.71±0.08 g

*Aynı sütunda aynı harfle işaretlenen ortalama değerler, istatistik olarak birbirinden farklı değildir (p<0.05).

Güç, süre, sıcaklık ve katı/çözücü oranına göre ekstraksiyon uygulamaları arasındaki farklılık istatistiksel olarak $p \leq 0.05$ seviyesinde önemli bulunmuştur (Çizelge 3.1). En yüksek TFM miktarı (347.78 mg GAE/g ekstrakt) ve ekstrakt verimi (% 48.13) bağımsız değişkenlerden gücün 500 W, sıcaklığın 45°C, sürenin 7.5 dk ve katı/çözücü oranının 3 g/100 mL olduğu değişkenlerde bulunmuştur.

Yukarıda verilen ön deneme sonuçlardan yola çıkarak Box-Behnken deneysel tasarımında kullanılacak bağımsız değişkenlerin minimum (-1) ve maksimum (1) faktör seviyeleri sırasıyla sıcaklık için 30 ile 60 °C, süre için 5 ile 20 dk ve katı/çözücü oranı için ise 2.0 ile 10.0 g/100 mL olarak belirlenmiştir (Çizelge 3.2.).

Çizelge 3.2. Bağımsız değişkenlerin kodlanmış ve kodlanmamış değerleri

Bağımsız Değişkenler	Faktör Seviyeleri		
	-1	0	1
X1: Sıcaklık (°C)	30	45	60
X2: Süre (dakika)	5	12.5	20
X3: Katı/Çözücü Oranı (g/100mL)	2.0	6.0	10.0

Gilaburu meyvesinden mikrodalga destekli su ekstraksiyonu için 3 adet merkezi nokta içeren 15 farklı uygulamaya ait Box- Behnken deney tasarımı ise Çizelge 3.3' te verilmiştir.

Çizelge 3.3. Box-Behnken deney tasarımı

Uygulama No ^a	X1	X2	X3	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Katı/Çözücü Oranı (g/100 ml)
1	1	0	-1	60	12.5	2.0
2	0	0	0	45	12.5	6.0
3	0	1	-1	45	20	2.0
4	0	0	0	45	12.5	6.0
5	-1	1	0	30	20	6.0
6	-1	-1	0	30	5	6.0
7	1	1	0	60	20	6.0
8	-1	0	-1	30	12.5	2.0
9	-1	0	1	30	12.5	10.0
10	0	1	1	45	20	10.0
11	0	0	0	45	12.5	6.0
12	1	0	1	60	12.5	10.0
13	0	-1	0	60	5	6.0
14	0	-1	-1	45	5	2.0
15	0	-1	1	45	5	10.0

^a Rastgele seçilmiş

Deney verileri Minitab İstatistiksel Yazılımı (Minitab 20.0) kullanılarak analiz edilmiş, model yeterliliği ve regresyon testleri R^2 ve düzeltilmiş $-R^2$ değerleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Yanıt yüzeyleri ve tasarımları yaklaşımında modeller iki değişkenli ikinci dereceden eşitliğe göre belirlenmiştir. Yanıt olarak ekstraktların ekstraksiyon verimleri ve TFM içerikleri kullanılmıştır (Myers vd., 1995; Radojković vd., 2013).

Kontrol olarak ise geleneksel yöntemlerden maserasyon ile gilaburu meyvesinden fenolik su ekstraksiyonu yapılmıştır. Öğütülmüş 4.18 g gilaburu meyvesi 100 mL distile su ile mikrodalga destekli su ekstraksiyonunda optimum sıcaklık olarak belirlenen 60°C kullanılmış olup 60 dakika manyetik karıştırıcıda 500 rpm’de maserasyona bırakılmıştır. Örnekler süzülüp, santrifüj edildikten sonra toplam fenolik madde miktarları ve ekstraksiyon verimleri belirlenmiştir. Ekstraksiyon işlemi üç tekerrür halinde yapılmıştır.

3.2.7. Ekstraksiyon Verimi

Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak gilaburu meyvelerinden mikrodalga destekli su ekstraksiyonu ile elde edilen örnekler süzölmüş ve santrifüj (2-6, Sigma, Almanya) yapılmıştır. Süzüntüden alınan 10 mL örnek etüvde 105 °C’de sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Tartım sonrası ekstraksiyon verim miktarı % (g ekstrakt/100 g meyve) olarak hesaplanmıştır (Şekil 3.8). Analizler iki tekerrürlü olarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.8. Sabit ağırlığa gelmiş gilaburu meyvesi ekstraktlarının bulunduğu cam petriler

3.2.8. Toplam Fenolik Madde İçeriği

Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak gilaburu meyvelerinden mikrodalga destekli su ekstraksiyonu ve sıcak su ekstraksiyonu ile elde edilen örnekler süzülüp santrifüj edildikten sonra, örneklerin TFM içerikleri Folin & Ciocalteu yöntemi kullanılarak tespit edilmiştir (Li vd., 2006). Farklı oranlar belirlenerek seyreltilmiş fenolik ekstraktlarından 0.4 mL alınıp bir tüp içerisine pipetlenmiştir. Ardından 10 kat seyreltilmiş olan 2 mL Folin & Ciocalteu reaktifi ilave edilerek vortekslenmiştir (Wisd, Kore). Daha sonra üzerine 1.6 mL %7.5'lik Na_2CO_3 eklenerek tekrar vorteks ile karıştırılmıştır. Karışım karanlıkta bir saat bekletildikten sonra, çözeltinin absorbansı şahit çözeltiye karşı 765 nm dalga boyunda spektrofotometre (T70+UV/VIS spectrophotometer, PG Instruments, İngiltere) ile ölçülmüştür. Sonuçlar gallik asitten hazırlanmış çözeltilerden elde edilen kalibrasyon eğrisi ($y=0.9171x+0.2439$; $R^2=0.9975$) kullanılarak hesaplanmıştır. Analizler üçer tekerrür halinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.9. DPPH Serbest Radikalleri Yakalama Aktivitesi

Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak gilaburu meyvesinden mikrodalga su ekstraksiyonu ile optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen örnekler süzülüp santrifüj edilmiştir. Ekstrakt içeren ve içermeyen enkapsüle hidrojel boncuklardan ise 1 g tartılan örnek 10 mL sodyum sitrat solisyonuna (%5 w/v) konularak 37 °C sıcaklıkta kapsüller çözünene kadar çalkalanıp, santrifüj edilmiştir. Daha sonra, örneklerin antioksidan etkisi Dorman vd. (2003) tarafından yayınlanmış olan DPPH serbest radikal yakalama aktivitesi tayini kullanılarak tespit edilmiştir (Şekil 3.9). Fenolik ekstrakt 50 μL alınıp bir tüp içerisine pipetlenmiş ve üzerine 450 μL Tris-HCl tamponu (50 mM, pH:7.4) eklenerek vorteks ile karıştırılmıştır. Daha sonra bu karışıma 1.00 mL DPPH (0.10 mM, metanol içerisinde) çözeltisinden ilave edilerek karanlık bir ortamda oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir. Reaksiyon süresinin bitiminde çözeltinin 517 nm'deki absorbansı spektrofotometrede okunmuş ve kontrol olarak fenolik ekstraktı yerine saf su kullanılmıştır.



Şekil 3.9. Optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen örneklerde DPPH serbest radikal yakalama aktivitesi tayini

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktların DPPH aktivitesi aşağıdaki formülden (3.3) yararlanarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon (DPPH)} = [(Abs_{\text{Kontrol}} - Abs_{\text{Örnek}}) / Abs_{\text{Kontrol}}] * 100 \quad (3.3)$$

Burada Abs_{Kontrol} ve $Abs_{\text{Örnek}}$ sırasıyla kontrol ve örnek için okunan absorbans değerlerini temsil etmektedir.

Sonuçlar Trolox® standardı ile hazırlanmış farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerin spektrofotometrede 517 nm'de elde edilen absorbans değerleri kalibrasyon eğrisi ($R_2=0.9973$) kullanılarak hesaplanmış ve mg TE/100 g ekstrakt olarak verilmiştir.

3.2.10. Kromatografik Yöntemle Fenolik Bileşiminin Belirlenmesi

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazı ve diode array dedektör (Shimadzu, Japonya) kullanılarak ekstrakt ve enkapsüle hidrojel boncukların fenolik bileşimleri belirlenmiştir. Box-Behnken deney tasarımı kullanılarak gilaburu meyvelerinden mikrodalga destekli su ekstraksiyonu ile optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen örnekler süzülüp santrüfuj edilmiş ve süzüntü mikropor filtreden geçirilerek ($0.45 \mu\text{m}$) cihaza enjekte edilmiştir. Enkapsüle hidrojel boncuklardan ekstraksiyonda ise 1 g tartılan örnek 10 mL sodyum sitrat solisyonuna (%5 w/v) konularak 37°C sıcaklıkta kapsüller

çözünene kadar çalkalanıp, santrüfjü edilmiş ve süzüntü mikropor filtreden geçirilerek (0.45 µm) cihaza enjekte edilmiştir. Çalışmada zıt faz (reversed-phase) Agilent Eclipse XDB-C18 (kolon uzunluğu x iç çapı: 250x4,60 mm, partikül boyutu: 5 µm) analitik kolon ve Agilent Eclipse XDB C18 koruyucu (guard) kolon (kolon uzunluğu x iç çapı: 4.6 x 12.5 mm, partikül boyutu: 5 µm) 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: %2.0 asetik asit:distile su ve B: kromatografik saflıkta metanol kullanılmıştır. Fenolik maddelerin profili kademeli elüsyon (gradient) programı kullanılarak belirlenmiştir (Caponio vd., 1999).

Standartların tespit limiti (limit of detection- LOD) ve tayin limiti (limit of quantification-LOQ) alıkonma zamanı sırasıyla protokatesik asit için 0.05 ve 0.16 µg/mL, gallik asit için 0.01 ve 0.02 µg/mL, kateşin için 0.05 ve 0.16 µg/mL, klorojenik asit için 0.02 ve 0.07 µg/mL, *p*-hidroksibenzoik asit için 0.005 ve 0.01 µg/mL, kafeik asit için 0.02 ve 0.05 µg/mL, şirincik asit için 0.01 ve 0.02 µg/mL, (-)-epikateşin için 0.05 ve 0.15 µg/mL, *p*-kumarik asit için 0.01 ve 0.03 µg/mL, benzoik asit için 0.06 ve 0.19 µg/mL, apigenin için 0.03 ve 0.08 µg/mL, ferulik asit için 0.01 ve 0.02 µg/mL, *o*-kumarik asit için 0.005 ve 0.01 µg/mL, hesperidin için 0.02 ve 0.06 µg/mL, rutin için 0.06 ve 0.18 µg/mL, rosmarinik asit 0.03 ve 0.19 µg/mL, sinamik asit 0.01 ve 0.03 µg/mL, eriodiktiol için 0.03 ve 0.08 µg/mL, kuersetin 0.11 ve 0.32 µg/mL, kamferol için 0.02 ve 0.06 µg/mL, luteolin için 0.03 ve 0.10 µg/mL'dir. Ekstrakta bulunan fenolik bileşiklerin miktarı ise fenolik kalibrasyon eğrileri kullanılarak mg/g ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Analizler üçer tekerrür olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.11. Antosiyanin Miktarı

Taze ve kuru gilaburu meyvesi örnekleri ile Box-Behnken deney tasarımına göre meyvelerin mikrodalga destekli su ekstraktları ile enkapsüle hidrojel boncuklardan antosiyanin bileşiklerinin ekstraksiyonu ve analizi Kelebek ve Selli (2011)'ne göre HPLC cihazı ve diode array dedektör (Agilent infinity 1260, ABD) kullanılarak belirlenmiştir.

Ekstraksiyon için kurutulmuş numuneler toz haline getirilip 0.8 gr tartılarak 25 mL ekstraksiyon çözeltisiyle (aseton, su, asetik asit; 70:29.5:0.5h:h:h) 1 dakika boyunca Ultra Turrax (Ika, Staufen, Almanya) ile homojenize edilmiştir. Ardından 15 dakika boyunca ultrasonik su banyosunda buz ile soğuk tutularak sonikasyon uygulanmıştır. Daha sonra aseton 35°C'de yaklaşık 4 dakika boyunca vakum altında buharlaştırılmıştır. Sulu kalıntı süzülerek aktifleştirilmiş bir Sep-Pack C-18 katı faz ekstraksiyon kartuşundan (Waters, Mil-ford, MA, ABD) geçirilip ilk önce suyla yıkanmış ardından tutulan fenolik bileşikler 8 mL metanol ile yıkanıp alınmıştır. Metanol vakum altında 35°C'de buharlaştırılıp kuru ekstrakt 1 mL ekstraksiyon çözeltisi içinde yeniden çözölmüştür. Daha sonra çözelti 0.45 µm'lik PA naylon filtreden geçirilip doğrudan HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

Çalışmada kolon olarak Beckman Ultrasphere ODS (Roissy CDG, Fransa) analitik kolon (kolon uzunluğu x iç çapı: 4.6mm x 250mm, partikül boyutu: 5 µm) ve koruyucu (guard) kolon (kolon uzunluğu x iç çapı: 4.6 mm x10 mm, partikül boyutu: 5 µm) kullanmıştır. Akış hızı 1 mL/dk, akış süresi 106 dk, kolon fırın sıcaklığı 25 °C ve enjeksiyon hacmi 20 µl olacak şekilde ayarlanmıştır. Mobil faz olarak A: ultra saf su:formik asit (95:5; h/h) ve B: asetonitril/ A karışımı (60:40;h/h) kullanılmıştır. Antosiyaninlerin tespiti için 510nm dalga boyunu seçmiştir. Fenolik maddelerin profili kademeli elüsyon (gradient) programı kullanılarak belirlenmiştir; program 0-5dk B: %7, B: 0-%20'ye 27dk, B:%25'e 12dk, B:%30'a 12dk, B:%33'e 29dk, B:%42'ye 5dk, B:%50'ye 5dk, B:%70'e 5 dk, B:%80'e 5dk, B:%100'e 5dk, B:%7'ye 15 dk olarak uygulanmıştır. Ekstrakta bulunan siyanidin-3-glukozit, siyanidin-3-rutinosit ve pelargonidin-3-glukozit bileşiklerinin miktarı ise antosiyanin kalibrasyon eğrileri kullanılarak mg/g ekstrakt olarak hesaplanmıştır. Analizler üçer tekerrür halinde yapılmıştır.

3.2.12. Karotenoit Miktarı

Taze ve kuru gilaburu meyvesi örnekleri ile Box-Behnken deney tasarımına göre meyvelerin mikrodalga destekli su ekstraktları ile enkapsüle hidrojel

boncuklardan β -karoten ekstraksiyon ve analizi Sadler vd. (1990) ve Özkan (2006) tarafından kullanılan yöntemle göre HPLC cihazı ve diode array dedektör (Agilent infinity 1260, ABD) kullanılarak belirlenmiştir.

Ekstraksiyonda örnekler 50 mL'lik falkon tüpe 1-2 gram tartılıp 10 mL etil asetat (%99.7) çözeltisi eklenerek Ultraturrax ile homojenize (14,000 devir/dakika) edilmiştir. Sonrasında santrifüj (2594x *g* /20 dakika) yapılan ekstrakt 100 mL'lik balona aktarılmıştır. Kalan posaya aynı işlemler iki kez daha uygulanarak (posada renk kalmayınca kadar) elde edilen ekstraktların hepsi aynı balonda toplanmıştır. Döner (Basis Hei VAP HL, Heidolph, Almanya) buharlaştırıcıda (40°C su banyosu sıcaklığı, 550 mm Hg vakum) ekstrakttaki aseton tamamen uçurulmuştur. Kurutulmuş ekstraktın üzerine 5mL %2 BHT içeren etanol:aseton (6:4) çözeltisi ilave edilip çözünmesi sağlanmıştır. Ekstrakt membran filtreden (0.45 μ m) geçirilerek cam viallere süzölmüş ve doğrudan HPLC cihazına enjekte edilmiştir.

Çalışmada kolon olarak Eclipse XDB-C18 (kolon uzunluğu x iç çapı: 250x4,6 mm, partikül boyutu: 5 μ m) analitik kolon kullanmıştır. Akış hızı 0.8 mL/dk, akış süresi 40 dk, dalga boyu 450 nm, enjeksiyon hacmi 20 μ l ve kolon fırın sıcaklığı 28 °C olacak şekilde ayarlanmıştır. Mobil faz olarak A: hekzan, B: tetra hidro furan, C: metanol ve D: asetonitril kullanılmıştır. β -karoten tespiti için 450 nm dalga boyunda, kademeli elüsyon (gradient) programı kullanılmıştır. Program 0-5dk A: %0.0, B: %0.0, C: %46, D: %54, 5-30 dk A: %12, B: %12, C: %46, D: %30, 30-40 dk A: %0.0, B: %0.0, C: %46, D: %54 dk olarak uygulanmıştır. β -karoten kalibrasyon eğrisi oluşturularak, sonuçlar mg karoten /100 g kuru madde olarak hesaplanmıştır. Analizler üçer tekerrürlü olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.13. Askorbik Asit Miktarı

Taze ve kuru gilaburu meyvesi örnekleri ile Box-Behnken deney tasarımına göre meyvelerin mikrodalga destekli su ekstraktları ile enkapsüle hidrojel boncukların askorbik asit içeriği Demiray vd. (2013) tarafından modifiye

edilmiş olan y nteme g re HPLC cihazı ve diode array dedekt r (Agilent infinity 1260, ABD) kullanılarak tayin edilmiřtir. Mikrodalga destekli gilaburu meyvesi su ekstraktı, taze ve kurutulmuř gilaburu meyveleri ve enkaps le hidrojel boncuklar k   k par alara ayrıldıktan sonra %3'l k metafosforik asit (g/mL) c zeltisi ile 1:10 oranında olacak řekilde karıřtırılmıř ve homojenize edilmiřtir. Devamında 4000×g 4 C'de 20 dk santrif j edilmiř ve supernatant 0.45  m filtreden ge irilerek enjeksiyona hazır hale getirilmiřtir.

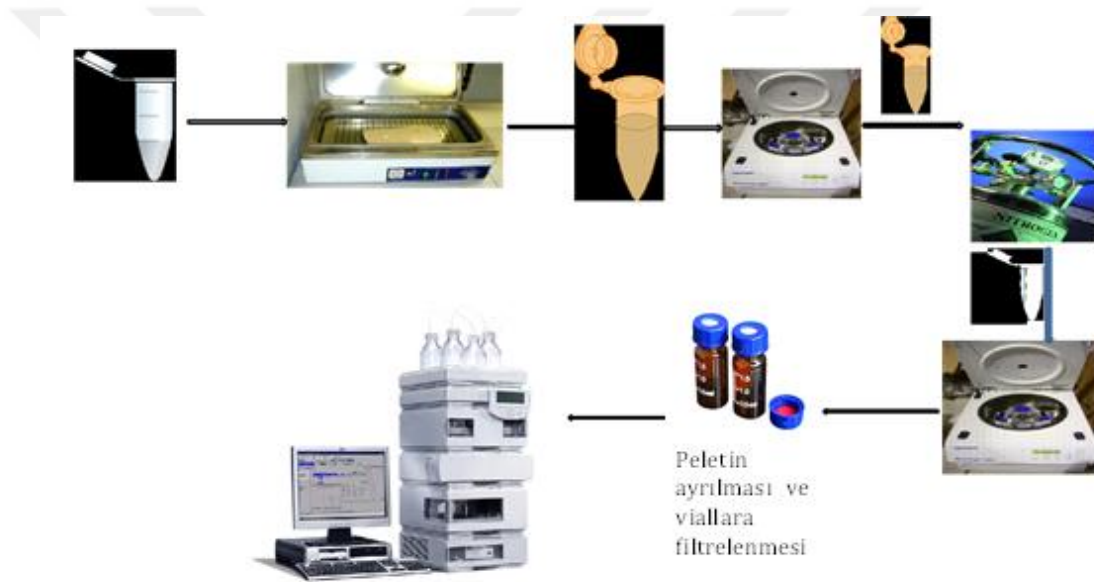
 alıřmada kolon olarak ACE 5C18 (kolon uzunluđu x i   apı: 250x4,6 mm, partik l boyutu: 5  m) analitik kolon kullanmıřtır. Akıř hızı 0.8 mL/dk, akıř s resi 30 dk, dalga boyu 254 nm, enjeksiyon hacmi 20  l ve kolon fırın sıcaklıđu 30  C olacak řekilde ayarlanmıřtır. Mobil faz olarak A: Ultra saf su (pH:2.2 H₃PO₄ (%85.0-88.0) ile ayarlanarak) kullanılmıřtır. Askorbik asit tespiti i in 254 nm dalga boyunda, izokritik el syon programı kullanılmıřtır. L-askorbik asit miktarı standart kalibrasyon eđrisi ile mg A.A./100 g KM olarak hesaplanmıřtır. Analizler   er tekerr r halinde ger ekleřtirilmiřtir.

3.2.14. Antidiyabetik Aktivite

Metodun prensibi sı an bađırsak tozundaki  -glikozidaz enzimlerinin (maltaz, izomaltaz ve s kraz) aktivitelerinin saptanmasına dayanmaktadır (Aydin, 2015). Bu arařtırmada  -glikozidaz aktivitesinin belirlenmesinde s krozun hidrolizinden oluřan glikozun, heksokinaz kiti ile  l  lmesi prensibinden faydalanılmıřtır. 200  L substrat 200  L enzim ve 100  L tampon c zelti karıřtırılarak 37 C'de 10 dk boyunca su banyosunda (Selecta, İřpanya) ink be edilmiřtir. Daha sonra enzim aktivitesini durdurmak i in 750  L aseton eklenerek 10 saniye vortekslenmiř ve ardından 5 dakika santrif j edilmiřtir. Son olarak elde edilen  rneklerdeki asetonun nitrojen gazı ile u urulması sađlanmıřtır. Par alanarak s krozdan oluřan fr ktoz ve glikoz miktarlarının  l  lmesinde HPLC cihazı ve refraktif indeks dedekt r (RID) (Shimadzu, Japonya) kullanılmıřtır. Internal standart olarak laktoz kullanılmıřtır. Ayrıca hem deneyin dođrulanması hem de ekstraktların antidiyabetik aktivitesinin diyabet hastalarının tedavisinde kullanılan ticari kimyasal ila larla

karşılaştırılabilmesi amacıyla aynı analiz pozitif kontrol olarak kullanılan metformin için de yapılmıştır.

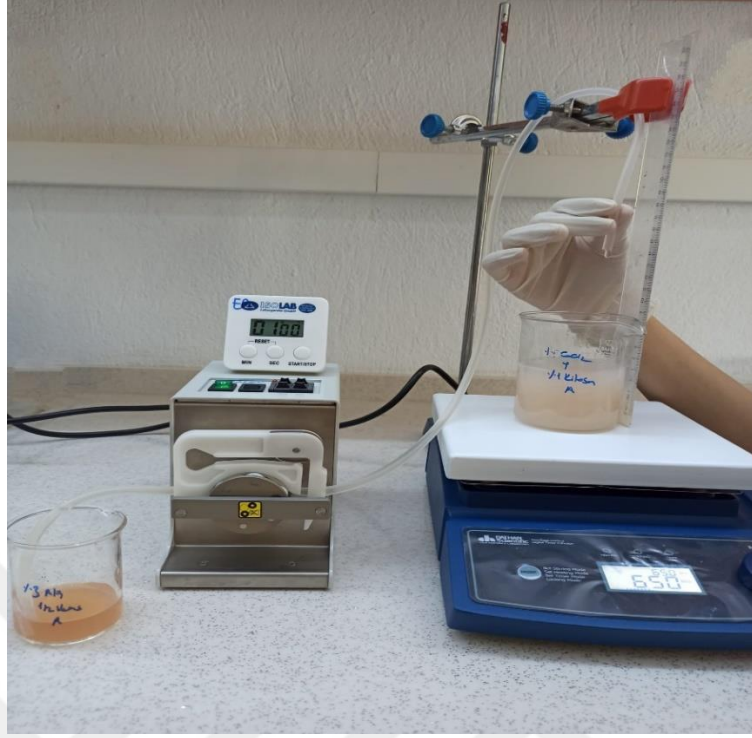
Deneyin optimizasyonu için ilk olarak Michaelis Sabiti (K_m/V_{max}) ölçülmüş ve K_m (mM), V_{max} (0.09 μmol sukroz hidrolizi/dakika) değerlerine göre farklı inkübasyon süresi ve enzim konsantrasyonu kullanılarak 37°C'de sükrozun hidrolizi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen değerlerden enzim spesifik aktivitesinin en yüksek olduğu değer ve sıçan bağırsak tozu konsantrasyonları optimum inkübasyon süresi ve enzim konsantrasyonu olarak belirlenmiştir (Şekil 3.10).



Şekil 3.10. Optimum koşullarda elde edilen gilaburu meyvesi su ekstraktlarının varlığında/yokluğunda sükrazın glukozidaz enzimi ile hidrolizi sonucu açığa çıkan glikoz ve fruktoz miktarının belirlenmesinde yararlanılan kimyasal reaksiyon aşamaları

3.2.15. Gilaburu Meyvesinin Su Ekstraktının İyonik Jelasyon ve Kitosan Sistemi ile Enkapsüle Edilmesi

Optimum ekstraksiyon koşullarında ekstrakte edilen sulu örnekler süzölmüş ve santrifüj edilerek enkapsülasyon için berrak üst faz kullanılmıştır. Kitosan kaplı hidrojel boncukların üretimi (Şekil 3.11) için sırasıyla aljinat, kitosan ve CaCl_2 çözeltileri hazırlanarak aşağıda verilen yöntemle gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.11. İyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile enkapsülasyon işlemi

Sodyum aljinat çözeltinin hazırlanmasında aljinat oranları 10, 20 ve 30 g/L olacak şekilde toz aljinatlar, optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen gilaburu ekstraktında manyetik karıştırıcı ile tamamen çözündürülmüştür. Ekstraksiyon konsantrasyon miktarlarına göre çözelti hazırlama aşaması Çizelge 3.4'te ayrıntılı bir şekilde verilmiştir. Çözelti karıştırma esnasında oluşan hava baloncuklarının giderilmesi amacıyla kullanılmadan önce 24 saat +4 °C'de bekletilmiştir.

Kitosan çözeltisinin hazırlanmasında ise kitosan yüzdesi (10 g/L), yapılan ön denemeler ile deneysel olarak belirlenmiş ve sulu asetik asit (glasiyal) (10 g/L) içinde çözündürülerek hazırlanmıştır. CaCl_2 çözeltisinin hazırlanması için ise; jelleşme ortamında kullanılmış olan CaCl_2 çözeltisi konsantrasyonları 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 ve 90 g/L olacak şekilde CaCl_2 -kitosan çözeltisi içinde çözündürülerek hazırlanmıştır.

Kitosan kaplı hidrojel boncukların üretilmesi aşamasında; fenolikçe en zengin gilaburu meyvesinin su ekstraktından hazırlanan sodyum aljinat çözeltisi peristaltik pompa (Ismatec, ABD) yardımıyla, jelleşme ortamı olan kitosanlı CaCl_2 çözeltisine oranı 1/2 olacak şekilde sürekli karıştırılarak damlatılmıştır. Damlacıkların, küresel şekil alabilmesi için, ekstraktla hazırlanmış sodyum aljinat çözeltisi ile kitosanlı CaCl_2 çözeltisi yüzeyi arasında 10 cm'lik mesafe bırakılmıştır. Damlatma işleminden sonra manyetik karıştırıcıda 30 dakika boyunca jelleşme ortamında sertleştirilen hidrojel boncuklar bir süzgeç yardımıyla süzölmüş ve saf su ile yıkanarak oda koşullarında kurumaya bırakılmıştır (Najafi-Soulari vd., 2016). Ön denemede bağımsız değişkenler olarak ekstrakt miktarı (g ekstrakt/100 mL), sodyum aljinat miktarı (%), kitosan: CaCl_2 oranı (%) ve bağımlı değişkenler olarak ise enkapsülasyon etkinliği (%EE) ile nem içeriği (%) sonuçları Çizelge 3.4'te detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 3.4. İyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile oluşturulan enkapsülasyon denemelerin sonuçları

Ekstrakt Miktarı (g ekstrakt/100 ml)	Bağımsız Değişkenler		Bağımlı Değişkenler	
	Sodyum Aljinat Oranı (%)	Kitosan: CaCl_2 Oranı (%)	Enkapsülasyon Etkinliği (%EE)	Nem İçeriği (%)
1.11	1	%1 kitosan- %2 CaCl_2	15.88	94.75
1.11	2		37.72	94.62
1.11	3		42.51	93.77
2.23	1		11.47	94.62
2.23	2		24.47	94.61
2.23	3		21.16	93.60
4.13	1		6.94	94.37
4.13	2		13.40	94.34
4.13	3		10.09	93.01

Ön deneme 3 farklı ekstrakt miktarı kullanılmıştır. Optimum koşullarda elde edilen sulu ekstrakt miktarı 2.23 g ekstrakt/100 mL ile birlikte bu konsantrasyonun yarısı olan 1.11 ve iki katı olan 4.13 g ekstrakt/100 mL'lik konsantrasyonda ekstraktlar ile %1, 2 ve 3 konsantrasyonda sodyum aljinat, %1 kitosan- %2 CaCl_2 ile en yüksek enkapsülasyon etkinliğini sağlayan optimum bağımsız değişkenler belirlenmiştir. Deneme sonuçlarına göre 1.11 g

ekstrakt/100 mL su konsantrasyonundaki örnek ile %3'lük sodyum aljinat çözeltisi kullanılarak elde edilen enkapsülasyonların etkinliğinin en iyi sonuç verdiği saptanmıştır. Ön deneme sonuçlarına göre oluşturulan gilaburu meyvesinden mikrodalga destekli su ekstraksiyonu 7 farklı kitosan:CaCl₂ (1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8 ve 1:9) çözeltisi konsantrasyonu kullanılarak oluşturulan enkapsülasyon deneme deseni ise Çizelge 3.5'te verilmiştir.

Çizelge 3.5. Ön deneme sonuçlarına göre belirlenen gilaburu meyvesinden mikrodalga destekli su ekstraksiyonu iyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile oluşturulan enkapsülasyon deneme deseni

Ekstrakt Miktarı (g ekstrakt/100 mL su)	Sodyum Aljinat Miktarı (%)	Kitosan:CaCl ₂ Oranı (%)
1.11	3	1:3
1.11	3	1:4
1.11	3	1:5
1.11	3	1:6
1.11	3	1:7
1.11	3	1:8
1.11	3	1:9

Kontrol olarak deneme deseninden elde edilen sonuçlara göre stabil hidrojel boncukların değerleri kullanılarak ekstrakt içermeyen boş hidrojel boncuk üretimi gerçekleştirilmiştir. Sodyum aljinat çözeltisi, optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen gilaburu ekstraktı yerine saf su kullanılarak manyetik karıştırıcı ile tamamen çözündürülerek hazırlanmıştır. Ekstrakt içermeyen hidrojel boncuklardan elde edilen analiz sonuçları gilaburu ekstraktı içeren hidrojel boncukları için şahit olarak değerlendirilmiş ve hesaplama dahil edilmiştir.

3.2.16. Enkapsülasyon Etkinliği (% EE)

Hidrojel boncukların enkapsülasyon etkinliği, hidrojel boncukların içerisine enkapsüle edilen toplam fenolik maddenin meyve ekstraktlarındaki fenolik madde miktarına oranlanması ile Eşitlik 3.4 kullanılarak hesaplanmıştır. Bu kapsamda ekstrakt içeren ve içermeyen enkapsüle hidrojel boncuklardan 1 g tartılan örnek 10 mL sodyum sitrat solisyonuna (%5 w/v) konularak 37 °C

sıcaklıkta kapsüller çözünene kadar çalkalanıp, santrüfjü edilmiş ve Folin & Ciocalteu yöntemi kullanılarak polifenol içeriği saptanmıştır (Najafi-Soulari vd., 2016).

$$EE \% = (W_e/W_t) \times 100 \quad (3.4)$$

Burada, W_e enkapsüle edilmiş örneklerin polifenol miktarını, W_t ise ekstraktın polifenol miktarını temsil etmektedir.

3.2.17. Enkapsüle Örneklerin Nem Analizi

Hidrojel boncukların nem içerikleri gravimetrik olarak tespit edilmiştir. Hidrojel boncuklar 80°C'de sabit ağırlığa gelene kadar bekletilmiş ve Eşitlik 3.5 kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar % nem cinsinden belirlenmiştir (Najafi-Soulari vd., 2016).

$$\text{Nem içeriği (\%)} = ((W_w - W_d)/W_w) \times 100 \quad (3.5)$$

Burada, W_w yaş hidrojel boncuk ağırlığını, W_d ise kuru hidrojel boncuk ağırlığını temsil etmektedir.

3.3. İstatistiksel Analizler

Ekstraksiyon ön deneme uygulamaları tam şansa bağlı deneme planına göre 2 tekerrür, analizler ise 3 paralel halinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen verilerin istatistik değerlendirilmesinde SPSS 20.0 İstatistik Programı kullanılmış olup, muameleler arasındaki farkın önemi varyans analiziyle tespit edilmiştir. Önemli farklılıkların belirlenmesinde ise Duncan çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

Gilaburu meyvesinin ekstraksiyonu için, elde edilen yanıtların değerlendirilmesi ve optimum noktaların bulunabilmesi için Minitab Paket Programı yanıt yüzey metodu kullanılmıştır.

Deney verileri Minitab istatistiksel analiz yazılımı (Minitab 17) kullanılarak analiz edilmiş ve modelin performansı R^2 değerleri dikkate alınarak

değerlendirilmiştir. Box-Behnken deney tasarımı model tasarımında kullanılmıştır. Model üç değişkenli ikinci dereceden fonksiyona göre değerlendirilmiştir.

$$Z = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (3.6)$$

Eşitlikte Z bağımlı değişken, X bağımsız değişken, β_0 sabit katsayı, β_i birinci dereceden (doğrusal) denklem katsayısı, β_{ii} ikinci dereceden denklem katsayısı ve β_{ij} iki faktörlü çapraz etkileşim katsayısı olarak belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Gilaburu meyvesi içerdığı zengin antioksidan biyoaktif bileşenler ve besin öğeleri ile insan bağışıklık sistemini güçlendiren, dolayısıyla literatürlerde antioksidan, antimikrobiyal, antimutajenik, antidiyabetik ve antitümör vb. özellikleri bildirilen fonksiyonel bir meyvedir.

Yukarıdaki bilgilerden yola çıkarak bu tez çalışmasında, yanıt yüzey metodu ve Box-Behnken deney tasarımı ile Gilaburu meyve biyoaktif bileşenlerinden fenolik maddelerin mikrodalga destekli ekstraksiyonun optimize edilmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda, optimum koşullarda ekstrakte edilen gilaburu meyvesi su ekstraktlarının iyonik jelasyon- kitosan sistemi ile enkapsülasyon optimizasyonu ve enkapsüle edilen hidrojel boncuklar ile enkapsülasyon öncesi su ekstraktlarının fizikokimyasal özelliklerinin, biyoaktif bileşenlerinin ve biyofonksiyonel özelliklerinin (antioksidan ve antidiyabetik aktivite) belirlenmesi hedeflenmiştir.

4.1. Taze ve Kuru Gilaburu Meyvelerinin Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

Gilaburu meyvelerinin kurutma öncesi taze ve kurutma sonrası kuru örneklerinin asitlik (%), pH, su aktivitesi, çözünür kuru madde ($^{\circ}\text{Bx}$), % nem miktarları ile renk değerleri belirlenmiş ve Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Taze ve kurutulmuş gilaburu meyvelerinin bazı fizikokimyasal özellikleri

	Taze meyve	Kuru meyve
Titrasyon asitliği (%)	1.36±0.00	0.86±0.00
pH	3.23±0.02	3.28±0.01
Su aktivitesi	0.909±0.00	0.303±0.30
Çözünür kuru madde ($^{\circ}\text{Bx}$)	10.4±0.20	55.78±0.01
%Nem miktarı	84.05±0.75	4.56±0.16
L*	18.56±0.30	24.52±0.29
a*	23.49±0.29	15.83±0.54
b*	13.57±0.39	14.99±0.31

Taze meyvelerin, kurutma işleminden sonra titrasyon asitliği (%), su aktivitesi ve %nem miktarlarında azalma tespit edilirken, pH miktarında kısmi artış ve çözünür kuru madde (°Bx) miktarında ise ılımlı bir artış saptanmıştır (Çizelge 4.1). Yapılan literatür araştırmalarında Arslan vd. (2018) taze gilaburu meyvesinde suda çözünür kuru madde değerini %11.3, pH değerini ise 3.20 olarak tespit etmiştir. Gündoğar (2013) doktora tez çalışmasında gilaburu meyvesinin pH değerini 2.83 ile 3.17 aralığında olduğunu saptamıştır. Zarıfıkhosroshahı (2015) yüksek lisans tez çalışmasında farklı bölgelerde yetişen (Ardahan, Kayseri, Sivas ve Gümüşhane) taze gilaburu meyvelerinin pH değerini 3.03 ile 3.15, suda çözünür toplam kuru madde değerini ise %7.73 ile 12.23 aralığında bulmuştur. Bu farklılığın meyvenin yetiştirme koşulları, olgunluk derecesi, toplandığı coğrafik bölgelerin farklı olması vb. faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Renk ölçümü, farklı örnekler rastgele seçilip 3 tekerrürlü olacak şekilde 3nh renk kolorimetresi (China) ile ölçülmüştür ve ortalama değerlerin verildiği Çizelge 4.1 incelendiğinde taze meyveleri kurutma işleminden sonra L* değerinin arttığı, a* değerinin azaldığı, b* değerinin arttığı belirlenmiştir. Farklı bölgelerde yetişen taze gilaburu meyvelerinin renk değerleri L* değerini 23.21 ile 31.28 aralığında, a* değerini 30.86 ile 37.51 aralığında, b* değerini 19.26 ile 26.38 aralığında, c* değerini 35.0 ile 45.85 aralığında değiştiğini tespit etmiştir (Zarıfıkhosroshahı, 2015). Kurutulmuş örneklerde yapılmış renk değeri belirlenmesine yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır. Taze örneklerin renk değerlerindeki minör farklılıkların ise meyvenin yetiştirme koşulları, olgunluk derecesi, toplandığı coğrafik bölgelerin farklı olması vb. faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

4.2. Gilaburu Meyve Ekstraktlarının Verim ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Ekstraksiyon Modellemesi

Gilaburu meyvesi ekstraktlarının farklı ekstraksiyon koşullarındaki ekstraksiyon verimi (%) ve toplam fenolik madde (mg GAE/g ekstrakt) miktarları Çizelge 4.2'de ve ekstraksiyon koşullarına ilişkin ekstraksiyon verimi

(%) ile TFM (mg GAE/g ekstrakt) değerlerinde meydana gelen değişimlere ait model katsayılar değerlendirme sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.2. Gilaburu meyve ekstraktlarının, ekstraksiyon koşullarına ilişkin ekstraksiyon verimi (%) ve TFM (mg GAE/g ekstrakt) değerlerinde meydana gelen değişimler

Deney No ^a	Katı/Çözücü (g/100 ml)	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)	Verimlilik (%)	Toplam Fenolik Madde
1	2	60	12.5	45.71	346.32
2	6	45	12.5	45.73	330.60
3	2	45	20.0	46.10	340.51
4	6	45	12.5	45.74	329.42
5	6	30	20.0	45.97	338.98
6	6	30	5.0	44.22	352.25
7	6	60	20.0	45.75	348.85
8	2	30	12.5	44.90	348.70
9	10	30	12.5	43.72	216.58
10	10	45	20.0	46.13	205.92
11	6	45	12.5	45.63	331.32
12	10	60	12.5	46.47	209.43
13	6	60	5.0	48.32	324.26
14	2	45	5.0	46.76	334.38
15	10	45	5.0	46.32	204.14

a, Rastgele seçilmiş

Çizelge 4.2 incelendiğinde gilaburu meyvesinin mikrodalga destekli su ekstraksiyonu modellemesi ile elde edilen ekstraksiyon verimlerinin (%) 43.72 ile 48.32 aralığında olduğu saptanmıştır. Gilaburu meyvesinin mikrodalga destekli su ekstraksiyonunda en düşük ekstraksiyon verimi 10 g kuru meyveye 30°C ve 12.5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde, en yüksek verimin ise 6 g kuru meyveye 60°C ve 5 dakika sürenin uygulandığı örneklerde tespit edilmiştir. Ekstraksiyon verimi sonuçları Alifakı (2019) tarafından yapılan mikrodalga destekli ekstraksiyon çalışmasında %28.86 ile 98.78 aralığında bulunan ekstraksiyon verimi sonuçları ile karşılaştırıldığında benzer aralıklarda olduğu saptanmıştır. Değerler arasındaki farklılığın ise bu tez çalışması ile Alifakı (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmanın mikrodalga destekli ekstraksiyon parametrelerinin ve deneme desenlerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Farklı çözücü ve ekstraksiyon metotları kullanılarak yapılan diğer gilaburu meyvesi ekstraksiyon çalışmalarında

ekstraksiyon verimi oranları ekstraksiyonda kullanılan çözücülere ve metotlara göre farklılık göstermiştir. Ekstraksiyon verimi (%), Kraujalis vd. (2017) tarafından 6.6, Alifakı vd. (2018) tarafından 36.75 ile 70.34 aralığında ve Celep vd. (2019) tarafından ise 12.69 ve 14.46 olarak saptanmıştır.

Çizelge 4.3. Gilaburu meyve ekstraktlarının, ekstraksiyon koşullarına ilişkin ekstraksiyon verimi (%) ve TFM (mg GAE/g ekstrakt) değerlerinde meydana gelen değişimlere ait model katsayılar değerlendirme parametreleri

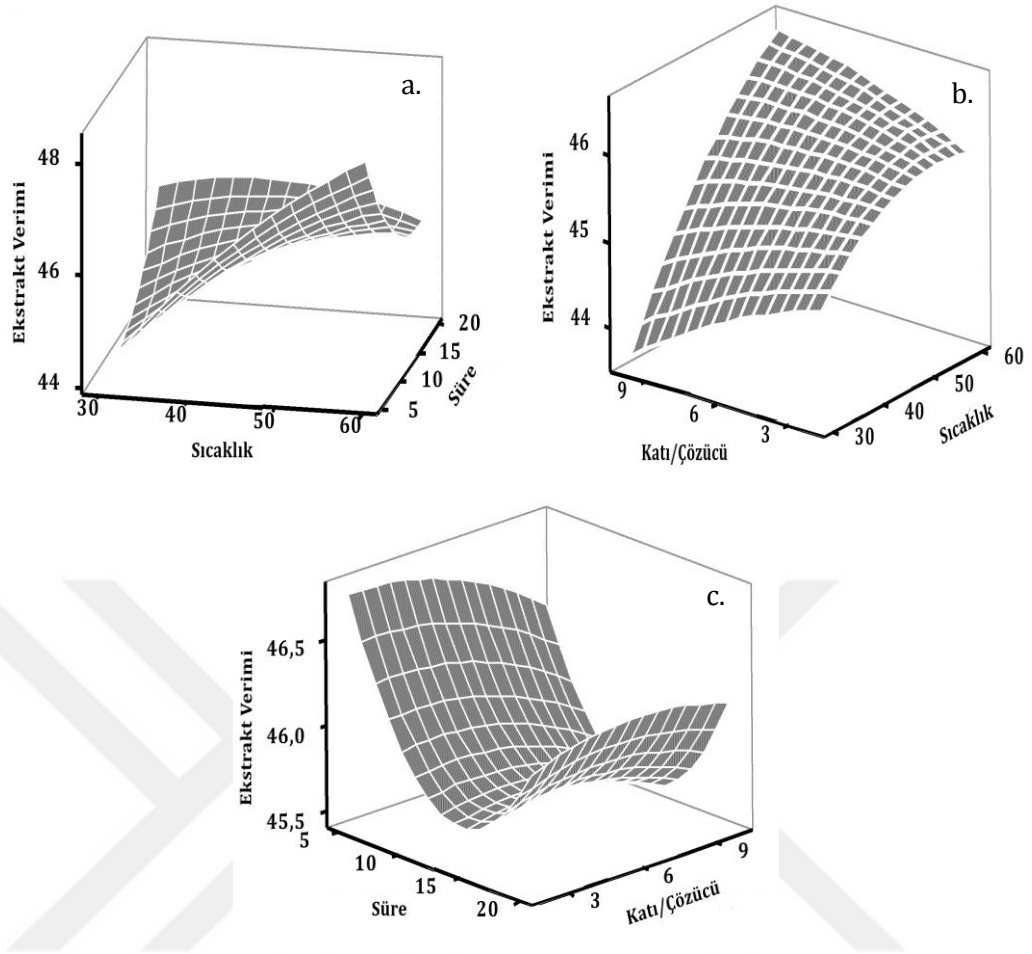
Model Katsayıları	Verim	Toplam Fenolik Madde
β_0	45.70	330.945
β_1 (Sıcaklık)	0.9390***	-3.457***
β_2 (Süre)	-0.2076***	-2.405**
β_3 (Katı/Çözücü Oranı)	-0,1031**	-66.730***
β_{11}	-0.3836**	9.766***
β_{22}	0.7479***	-
β_{33}	-0.1184***	-60.081***
β_{12}	-1.0795***	9.467***
β_{13}	0.4835***	-
β_{23}	0,1189**	-
Model	***	***
Regresyon katsayısı (R^2)	99.87	99.95
Düzeltilmiş R^2 (Adj- R^2)	99.64	99.90
Tahmin edilen R^2 (Pred- R^2)	98.53	99.75
Uyum eksikliği (Lack of fit)	0.454	0.188

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 ($p \geq 0.05$); **, İstatistiksel olarak % 99 seviyesinde önemli ($p \leq 0.01$); ***, İstatistiksel olarak % 99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$).

Çizelge 4.3 incelendiğinde ise yanıt yüzey metoduna göre elde edilen modelde bağımsız değişkenlerden sıcaklık ve sürenin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$), katı/çözücü oranına bağlı olan birinci derece terimin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi ise istatistiksel olarak %99 seviyesinde önemli bulunmuştur ($p \leq 0.01$). Model içindeki ikinci derece değişkenlerinden süre ve katı/çözücü oranı istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$), sıcaklık ise istatistiksel olarak %99 seviyesinde önemlidir ($p \leq 0.01$). Sıcaklık ve süre, sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkileşimlerinin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi incelendiğinde ise istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.001$).

Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p \geq 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Deneme desenindeki sıcaklık, süre ve katı/çözücü ekstraksiyon parametrelerine bağlı olarak gerçekleşen ekstrakt verim (%) değişimlerini model %99 oranında açıklamaktadır ve ekstrakt verimi bakımından modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Gilaburu meyvesinin mikrodalga destekli su ekstraksiyon veriminin (%), bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve sürenin etkisine, sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine, süre ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimi sırası ile Şekil 4.1. a, b ve c' de verilmiştir. Şekiller incelendiğinde, 4.1a'da ekstraksiyon verimi düşük sürelerde sıcaklığın artışıyla birlikte artarken, yüksek sürelerde sıcaklığın artışıyla birlikte ekstraksiyon verimi önce artmış belirli bir noktadan sonra azalmıştır. Düşük sıcaklıklarda sürenin artışıyla birlikte ekstraksiyon verimi artarken, yüksek sıcaklıklarda sürenin artışıyla birlikte önce azalma sonra kısmi bir artış olduğu saptanmıştır. Sıcaklık ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisine bakıldığında düşük katı/çözücü oranında sıcaklığın artışıyla birlikte önce artış sonra kısmi bir azalış, yüksek katı/çözücü oranında ise sıcaklığın artışıyla birlikte ekstraksiyon veriminin arttığı tespit edilmiştir. Düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte ekstraksiyon verimi azalırken, yüksek sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.1b). Son olarak süre ve katı/çözücü oranı etkisine bağlı değişimler incelendiğinde bütün uygulanan katı/çözücü oranlarında 5 ile 15 dakika aralığında ekstraksiyon verimi azalırken 15 ile 20 dakika aralığında artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.1c).



Şekil 4.1. Gilaburu meyvesi mikrodalga destekli su ekstraktının ekstraksiyon verim değerinde, ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve sürenin etkisine (a), sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine (b), süre ve katı/çözücü oranı (c), etkisine bağlı değişimi

Literatür taramalarında gilaburu meyvesi için sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır. Sadece Alifakı (2019) tarafından yapılan güç, süre ve katı/çözücü oranının ekstraksiyon verimi üzerine etkisinin araştırıldığı mikrodalga destekli su ekstraksiyon çalışması mevcuttur. Bu çalışmada, en iyi ekstraksiyon veriminin 360 W güçte yapılan ekstraksiyon işleminde görüldüğü, 450 W'lık mikrodalga gücü kullanıldığında düşük ekstraksiyon verimi elde edildiği bildirilmiştir ve güçteki artışla ters orantılı olarak verimdeki düşüşün nedeni mikrodalga gücü arttıkça sıcaklık artışına bağlı olarak fenolik bileşiklerin degrade olmaları şeklinde açıklanmıştır. Katı madde başına düşen solvent miktarı olarak ifade

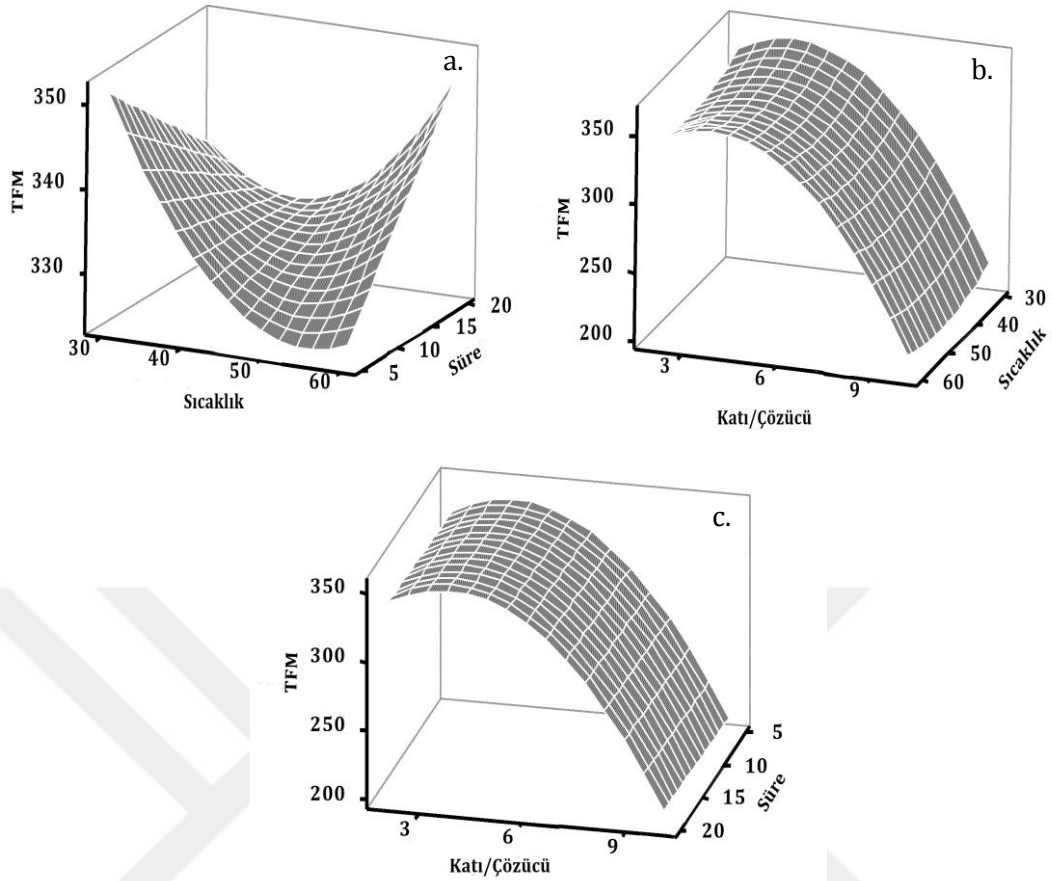
edilen katı/çözücü oranında çözücü miktarı arttıkça yani katı miktarı azaldıkça sonuçlarımızla benzer şekilde ekstraksiyon veriminin arttığı belirlenmiştir (Alifakı, 2019). Bu durum pek çok çalışmada da ifade edilmiştir (Durmaz vd., 2015; Şimşek, 2010). Aynı çalışmada yine sonuçlarımızla benzer şekilde, süre attıkça bir noktaya kadar ekstaksiyon veriminde artış gözlemlendiği ve o noktadan sonra değerlerde istatistiksel olarak önemsiz ılımlı bir azalma olduğu ifade edilmiştir.

Gilaburu meyvesinin TFM (mg GAE/g ekstrakt) sonuçları incelendiğinde değerlerin 204.14 ile 352.25 arasında değiştiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2). En düşük toplam fenolik madde miktarı 45°C sıcaklık, 5 dk süre ve 10.0 g katı/çözücü oranı ile, en yüksek fenolik madde miktarı ise 30°C sıcaklık, 5 dk süre ve 6 g katı/çözücü oranı kullanılarak yapılan ekstraksiyon koşullarında elde edilmiştir. Alifakı (2019) gilaburu meyvesinin mikrodalga destekli ekstraksiyonunda katı:solvent oranları, süre ve güç değerlerine göre yaptıkları denemelerde kuru meyvede TFM miktarlarını 20.90 ile 71.52 mg gallik asit/g değerleri arasında bulmuştur. Sonuçlarımızdan daha düşük TFM değeri bulan Alifakı (2019), optimum koşullardaki ekstraktın TFM değerini ise 71.52 mg gallik asit/g kuru meyve olarak rapor etmiştir. Farklı çözücü ve ekstraksiyon metotları kullanılarak yapılan diğer gilaburu meyvesi ekstraksiyon çalışmalarında ise toplam fenolik madde miktarları 49.71, 47.86 ve 57.31 mg GAE/g ekstre (Orakçı, 2010), 40.9 mg GAE/g (Kraujalis vd., 2017), 621 ile 987 mg GAE/ 100g aralığında (Ersoy vd., 2017), 5.16 ve 12.30 mg 100/g (Konarska ve Domaciuk, 2018), 26.61 ile 50.93 mg GAE/g km aralığında (Alifakı vd., 2018), 40.17 ve 25.64 mg GAE/g (Celep vd., 2019), 3.73 g GAE/100g (Polka vd., 2019) olarak belirlenmiş olup, literatür sonuçlarının sonuçlarımızdan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun mikrodalga destekli ekstraksiyon sisteminin kullanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çizelge 4.3'te gilaburu meyvesinin TFM miktarları için geliştirilmiş, ekstraksiyon parametrelerine bağlı değişimi ifade eden model incelendiğinde; sıcaklık ve katı/çözücü oranının birinci dereceden terimleri istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemli bulunurken ($p \leq 0.001$), süreye bağlı olan birinci

derece terimin TFM miktarı üzerine etkisinin istatistiksel olarak %99 seviyesinde önemli olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.01$). İkinci değişken terimi olan ekstraksiyon parametrelerinden sıcaklık ve katı/çözücü oranı istatistiksel olarak %99.9 seviyesinde önemlidir ($p \leq 0.001$). Sıcaklık ve süre etkileşiminin TFM miktarı üzerine etkisi %99.9 seviyesinde önemli ($p \leq 0.001$) olduğu tespit edilmiştir. Lack of fit (uyum eksikliği) değerinin önemsiz ($p \geq 0.05$) olması modelin hatasız olduğunu göstermektedir. Elde edilen modelin, TFM değerinde sıcaklık, süre ve katı/çözücü ekstraksiyon parametrelerine bağlı gerçekleşen değişimleri %99.75 oranında açıkladığı belirlenmiştir. Bu yönüyle modelin tahmin gücünün yüksek olduğu görülmektedir.

Toplam fenolik madde miktarı üzerine ekstraksiyon parametreleri olan bağımsız değişkenlerden sıcaklık ile süre, sıcaklık ile katı/çözücü oranı ve süre ile katı/çözücü oranlarının etkileri sırasıyla Şekil 4.2a, b ve c'de verilmiştir. Sıcaklık ile sürenin TFM miktarı üzerine etkisi incelendiğinde düşük sürelerde sıcaklığın artışıyla birlikte TFM miktarında önce azalış sonra belirli bir noktadan sonra kısmi bir artış olurken, yüksek sürelerde sıcaklığın artışıyla birlikte önce azalış belirli bir sıcaklık değerinden sonra ise artış olduğu tespit edilmiştir. Düşük sıcaklıklarda sürenin artışıyla birlikte TFM miktarı azalırken, yüksek sıcaklıklarda sürenin artışıyla birlikte arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.2a). Sıcaklık ile katı/çözücü oranının TFM miktarı üzerine etkisinin incelendiği diğer grafikte ise bütün uygulanan sıcaklık değerlerinde katı/çözücü oranının 3 ile 6 g/100ml aralığında TFM miktarı artarken 6 ile 9 g/100ml aralığında azalma olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2b). Son olarak ise süre ile katı/çözücü oranının TFM miktarı üzerindeki etkisi (Şekil 4.2c) incelendiğinde bütün uygulanan sürelerde katı/çözücü oranının 3 ile 6 g/100ml aralığında TFM miktarı artarken 6 ile 9 g/100ml aralığında azalma olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. Gilaburu meyvesi mikrodalga destekli su ekstraktının toplam fenolik madde miktarının ekstraksiyon bağımsız değişkenlerinden sıcaklık ve sürenin etkisine (a), sıcaklık ve katı/çözücü oranı etkisine (b), süre (dakika) ve katı/çözücü oranı (c) etkisine bağlı değişimi

Yapılan literatür taramaları sonucunda gilaburu meyvesi için sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranının toplam fenolik madde üzerine etkisinin araştırıldığı herhangi bir RSM ile mikrodalga destekli su ekstraksiyon modelleme çalışmasına rastlanılmamıştır. Ancak Alifakı (2019) tarafından yapılan tez çalışmasında güç, süre ve katı/çözücü oranlarının TFM üzerine etkisinin araştırıldığı bir adet mikrodalga destekli su ekstraksiyon çalışması mevcuttur. Bu çalışmada, en yüksek TFM miktarı için en iyi mikrodalga güç ve süresi; 5:100 katı:çözücü oranında 360 W ve 15 dakika, 10:100 katı:çözücü oranında sırasıyla 180 W ve 120 dakika ve 15:100 katı:çözücü oranında ise 180 W ve 60 dakika bulunmuştur. Katı madde başına düşen solvent miktarı olarak ifade edilen katı/çözücü oranında katı miktarındaki artışa bağlı olarak sonuçlarımızla benzer şekilde önce TFM miktarının çok az arttığını sonrasında ise belirgin bir

şekilde azaldığını tespit etmişlerdir. Bu durum ise Durmaz vd. (2015) ile Şimşek (2010)'in de çalışmalarında rapor ettiği gibi, çözücünün birim başına katı miktarındaki artışa bağlı olarak doygunluğa erişmesi ve bu noktadan sonra ise ekstrakt veriminde ve dolayısıyla TFM miktarında azalmaya sebep olması olarak açıklanabilir. Yine Alifakı (2019) çalışmasında sonuçlarımızla benzer şekilde mikrodalga gücünde 350 W'a kadar olan artışın TFM miktarında artışa, 350 W'ın üzerindeki artışın ise sıcaklık artışındaki artıştan dolayı TFM miktarında azalışa neden olduğunu bulmuşlardır. Çünkü mikrodalga gücü ve sıcaklık arasında sıkı doğru orantılı bir ilişki olup, yüksek güçlerde sistem içindeki sıcaklık kolaylıkla yükselebilir. Dolayısıyla güç ve sıcaklık artışına bağlı olarak çözgen vizkositesinin azalması ve bileşiklerin çözgen içerisindeki çözünürlüğünün artması ile önce ekstraksiyon veriminde ve dolayısıyla fenolik madde miktarında artış olurken, sonrasında güç ve sıcaklık yükselişinin fenolikleri parçalanmasına (hidroliz ve oksidasyon) bağlı olarak TFM miktarında azalış görülür. Aynı çalışmada Alifakı (2019), yine sonuçlarımızla benzer şekilde, süre attıkça bir noktaya kadar TFM miktarında artış gözlemlendiği ve o noktadan sonra ise hem güce hem de katı/çözücü oranına bağlı olarak TFM değerlerinde ılımlı bir azalma olduğu ifade edilmiştir. Bu durum pek çok çalışmada da ifade edilmiştir (Durmaz vd., 2015).

4.3. Gilaburu Meyvesi Ekstraktlarının Verim ve Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Optimizasyonu ve Model Doğrulanması

Yanıt yüzey metodu kullanılarak gilaburu meyvesinden mikrodalga destekli su ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimi (%) ve TFM miktarları (mg GAE/g ekstrakt) maksimize edilerek elde edilen optimum ekstraksiyon koşulları sırasıyla sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranı için 60°C, 5 dk ve 4.18 g kuru meyve/100 mL su olarak belirlenmiştir. Model tarafından optimum mikrodalga destekli su ekstraksiyon koşullarında gilaburu meyvesinin ekstraksiyon verimi %47.98- 48.29 ve ekstraktın toplam fenolik madde miktarı 339.79- 346.81 mg GAE/g ekstrakt aralığında tahmin edilmiştir.

Modelin tahmin deęerini deneysel olarak doęrulamak amacıyla, optimum kořullarda (sıcaklık: 60°C; süre: 5 dk; katı/çözücü oranı: 4.18 g kuru meyve/100 mL su) gilaburu meyvesi örneklerinden tekrar mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş, elde edilen ekstraktlarda verim ve toplam fenolik madde konsantrasyonu belirlenmiştir. TFM miktarı 344.31 mg GAE/g ekstrakt ve ekstraksiyon verimi %48.03 olarak tespit edilmiştir. Bu deęerler yukarıda verilen model tahmin aralıkları içerisinde yer almıştır. Bu sonuçlara göre elde edilen modeller doęrulanmıştır.

Kontrol olarak geleneksel yöntemlerden 4.18 g kuru meyve/100 ml su, 60°C ve 60 dakika süre manyetik karıştırma ile yapılan sıcak maserasyon şartlarında gilaburu meyvesi fenolik su ekstraktının 60 dakika ekstraksiyon verimi (%) 45.07 ve TFM miktarı (mg GAE/g ekstrakt) 311.37 olarak bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen %48.03 ekstraksiyon veriminin ve 344.31 mg GAE/g ekstrakt toplam fenolik madde miktarının geleneksel yöntemle elde edilen sonuçtan daha yüksek olduęu tespit edilmiştir. Ancak mikrodalga ekstraksiyonunda ekstraksiyon süresinin 5 dakika olması, maserasyonda ise 60 dakika (1 saat) olduęu göz önüne alındığında, 12 kat daha az sürede ekstraksiyonun tamamlanması zaman bakımından mikrodalgayı ön plana çıkaracaęı düşünülmektedir.

4.4. Optimum Kořullarda Ekstrakte Edilen Gilaburu Meyve Su Ekstraktının Enkapsülasyonu ve Bazı Fizikokimyasal Özellikleri

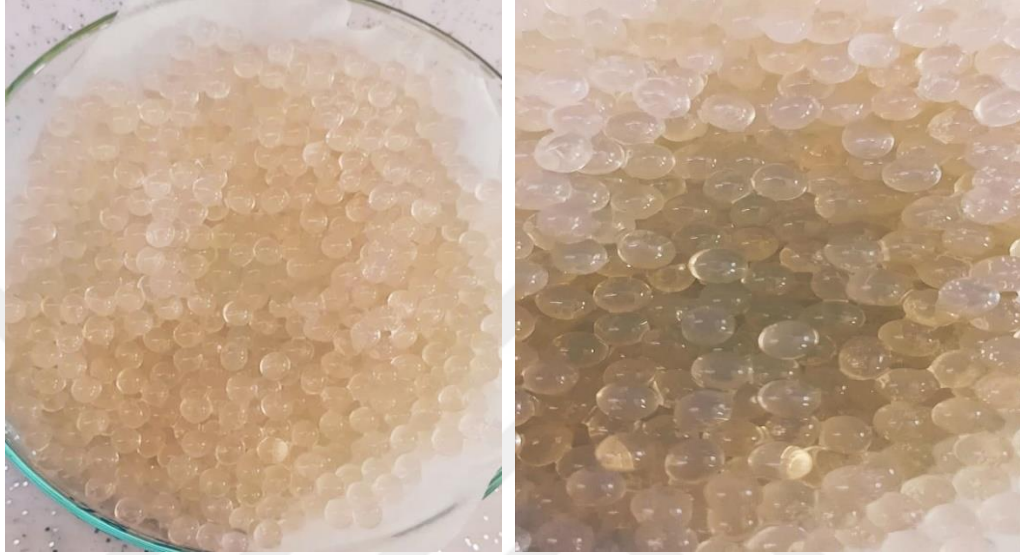
Optimum ekstraksiyon kořullarında gilaburu meyvesinden mikrodalga destekli ekstraksiyonu yapılarak elde edilen sulu ekstrakt, aljinat ile karıştırılıp peristaltik pompa vasıtasıyla daęıtıcı faza (kitosan:CaCl₂) damlatılarak hidrojel boncukların üretimi gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.3). Enkapsülasyon işlemi için farklı sodyum aljinat miktarları (%1, 2 ve 3) ve kitosan:CaCl₂ miktarları (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8, 1:9) kullanılmıştır. Optimum kořullarda elde edilen ekstraktın iyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile hidrojel boncuk üretim deneme deseni ve boncukların enkapsülasyon etkinlięi (%EE) ile nem miktarı (%) sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. Gilaburu su ekstraktının (g ekstrakt/100 mL su) enkapsülasyonu deneme deseni sonuçları

Ekstrakt Miktarı	Bağımsız değişkenler		Bağımlı değişkenler	
	Sodyum Aljinat Miktarı (%)	Kitosan:CaCl ₂ Oranı (%)	Enkapsülasyon Etkinliği (%)	Nem İçeriği (%)
1.11	3	1:3	43.75	93.78
		1:4	44.61	93.38
		1:5	46.36	92.91
		1:6	48.66	92.64
		1:7	49.42	91.74
		1:8	51.27	91.52
		1:9	53.52	91.26

Deneme deseninden elde edilen sonuçlara göre 1.11 g ekstrakt/ 100 mL su konsantrasyondaki örnek ile %3'lük sodyum aljinat miktarı ve 1:9 kitosan:CaCl₂ miktarı ile daha stabil hidrojel boncuklar elde edilmiştir. İyonik jelasyon-kitosan sisteminde, peristaltik pompa ile dakikada 64 adet hidrojel boncuk elde edilmiştir. Enkapsülasyon için kullanılan çözeltilerin konsantrasyonları dakikada elde edilen boncuk sayısı üzerine oldukça etkili bulunmuştur. Yirmi adet hidrojel boncuğun ortalama çapı kumpas kullanılarak 4.5±0.00 mm olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.4). Bu hidrojel boncukların enkapsülasyon etkinliği %53.52 ve nem içeriği ise %91.26 olarak bulunmuştur. Yapılan literatür taramalarında, gilaburu ekstraktlarından iyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile yapılmış bir enkapsülasyon çalışmasına rastlanılmamıştır. İncelenen araştırmalarda, hidrofilik örneklerden iyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncukların %EE değerlerinin düşük olduğu saptanmıştır (Dobler vd., 2016; Kurozawa ve Hubinger, 2017; Oral, 2017). Çoruhli (2013) tarafından yapılan tez çalışmasında da karadut meyvesi antosiyanin ekstraktı kullanılarak iyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile hidrojel boncukların enkapsülasyon etkinliği %53.97 ile 70.51 aralığında olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada da üretilen hidrojel boncukların %EE, sonuçlarımızla benzer oranda olup hidrofilik maddelerin enkapsülasyonunda kitosan ve aljinat kaplama materyali kullanımının hidrojel boncuk içerisine ekstraktın hapsedilme oranını etkilediği düşünülmektedir.

Kontrol olarak deneme deseninden elde edilen sonuçlara göre ekstrakt içermeyen stabil hidrojel boncukların (%3 sodyum aljinat miktarı ve 1:9 kitosan:CaCl₂ miktarı) değerleri kullanılarak boş hidrojel boncuk üretimi gerçekleştirilmiştir. Peristaltik pompa ile dakikada 64 adet hidrojel boncuk elde edilmiş ve nem içeriği %92.39 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.3. Gilaburu meyve fenolik ekstraktından üretilen hidrojel boncuklar



Şekil 4.4. Gilaburu meyve fenolik ekstraktından üretilen hidrojel boncukların dijital kumpas ile ölçümü

Aynı zamanda gilaburu meyvesinden optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen mikrodalga destekli su ekstraktının ve ekstraktan iyonik jelasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncukların renk (L*, a* ve b*) değerleri, toplam fenolik madde miktarı, fenolik bileşimi, serbest radikalleri yakalama ile antidiyabetik aktiviteleri tespit edilmiş ve kıyaslanmıştır.

Taze ve kuru gilaburu meyve örnekleri ile Box-Behnken deney tasarımına göre meyvelerin mikrodalga destekli su ekstraktları ile enkapsüle hidrojel boncukların HPLC cihazı ile belirlenen askorbik asit, β -karoten ve antosiyanin içerikleri Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Askorbik asit (mg A.A./100 g kuru madde), β -karoten (mg/100 g kuru madde) ve antosiyanin (mg/g ekstrakt) içerikleri

Örnek Adı	Askorbik asit	β -karoten	Antosiyanin		
			siyanidin 3-glukozit	siyanidin 3-rutinosit	pelargonidin 3-glukozit
Taze meyve	232.86 $\pm$ 0.21	15.88 $\pm$ 0.19	*	*	*
Kuru meyve	200.40 $\pm$ 1.26	4.03 $\pm$ 0.01	*	*	*
Ekstrakt	38.08 $\pm$ 0.21	*	*	*	*
Hidrojel boncuk	38.25 $\pm$ 0.20	*	*	*	*

*: Tespit edilemedi.

Yüzde 3'lük metafosforik asit çözeltisi ile oluşturulan taze ve kuru meyve ekstraktlarının, mikrodalga destekli su ekstraktlarının ve hidrojel boncukların askorbik asit miktarları sırasıyla HPLC cihazı ile 232.86 ve 200.40 mg A.A./100g kuru madde, 38.08 ve 38.25 mg/g ekstrakt olarak saptanmıştır (Çizelge 4.5). Literatür taramalarında Rop vd. (2010) 1 kg taze meyvede askorbik asit miktarını 1.01 ile 1.64 g aralığında değiştiğini belirlemiştir. Bir başka çalışmada farklı bölgelerde (Ardahan, Kayseri, Sivas ve Gümüşhane) yetişen taze meyvelerin L-askorbik asit (mg/100 g) içeriklerini Zarıfıkhosroshahi (2015) sırasıyla 30.21, 34.11, 39.53 ve 37.21 olarak tespit etmiştir. Ersoy vd. (2017) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise taze meyvelerde askorbik asit miktarı 27 ile 39 mg/100 g aralığında değiştiği bildirilmiştir. Taze meyvelerde elde edilen bu farklılığın meyvenin yetiştirme koşulları, olgunluk derecesi, toplandığı coğrafik bölgelerin farklı olması vb. faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

β -Karoten (mg karoten/100g kuru madde) miktarları ise HPLC cihazı ile kuru ve taze meyvelerde sırasıyla 15.88 ve 4.03 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Mikrodalga destekli su ekstraktları ile enkapsüle hidrojel boncuklarda β -karoten tespit edilememiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon aşamasında su çözgeni kullanıldığı için suya β -karoten geçişi olmadığı veya çok az oldu ise de dedeksiyon limitinin altında kaldığı için tespit edilemediği düşünülmektedir. Bunun sebebi β -karoten pigmenti yağda çözünen bir bileşiktir (Gökpınar vd., 2006). Literatür taramalarında Boyacı vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada Kayseri'nin Bünyan, Melikgazi ve Develi ilçelerinde yetişen taze gilaburu meyvesinin β -karoten miktarlarını ($\mu\text{g/g}$) sırasıyla 5.04, 3.27 ve 6.52 olarak HPLC ile belirlemiştir. Bir başka çalışmada Konarska ve Domaciuk (2018) taze meyve örneğinde karotenoit içeriğini 1.50 mg/100g olarak saptamıştır. Polka vd. (2019) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise kuru meyve etanol ekstraktında karotenoit miktarını (mg β karoten/ 100 g km) 2.70 olarak bildirmiştir. Taze ve kuru gilaburu meyvelerinde β karoten miktar farklılığının meyvenin yetiştirme koşullarının, olgunluk derecesinin, toplandığı coğrafik bölgelerin farklı olması ile farklı ekstraksiyon ve analiz parametreleri gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 4.5'te verilen sonuçlara göre taze ve kuru gilaburu meyve örnekleri, Box-Behnken deney tasarımına göre meyvelerin mikrodalga destekli su ekstraktları ve enkapsüle hidrojel boncuklarında antosiyanin miktarı (mg/g ekstrakt) tespit edilememiştir. Antosiyaninler nötral veya alkali stabil olmadığından ekstraksiyon işlemlerinde pek çok araştırmacı tarafından asidik çözeltilerin kullanılması önerilmektedir (Jackman ve Smith, 1992). Dolayısıyla, bu çalışmada ekstraksiyon çözücüsü olarak nötral pH'ya yakın su kullanılmasından dolayı antosiyaninlerin ekstrakte edilemediği ve/veya iz miktarda edildi ise de dedeksiyon limitinin altında kaldığı için tespit edilemediği düşünülmektedir. Literatür taramalarında Velioglu vd. (2006) taze gilaburu meyvesinin toplam antosiyanin miktarının 82.20 mg/L olduğunu ve bu içeriğin %88'ini siyanidin 3-glukozit %12'sini ise siyanidin 3-rutinositten oluştuğunu belirlemiştir. Bir başka çalışmada Ersoy vd. (2017) taze meyvelerde toplam antosiyanin içeriklerinin 15 ile 51 mg siyanidin-3-rutinosit aralığında

değiştiğini bildirmiştir. Dinç vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada farklı sıcaklık ve farklı MD oranlarında (160°C 1/1MD, 180°C 1/1MD ve 160°C 1/2MD) gerçekleştirilen mikroenkapsüllerin antosiyanin miktarı (mg/100g) sırasıyla 23.03, 24.44 ve 14.01 olarak tespit edilmiştir.

Gilaburu meyvesinden optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen mikrodalga destekli su ekstraktının ve ekstraktan iyonik jelasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncukların renk (L*, a* ve b*) değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Ekstrakt ve hidrojel boncukların renk değerleri

Renk Değerleri	Ekstrakt	Hidrojel Bocuk
L*	26.66±0.02	47.27±0.82
a*	1.70±0.02	2.42±0.13
b*	1.61±0.02	7.55±0.22

Renk ölçümü, 3 tekerrürlü olacak şekilde 3nh renk kolorimetresi (China) ile ölçülmüştür (Şekil 4.5) ve ortalama değerlerin verildiği Çizelge 4.6 incelendiğinde; mikrodalga destekli su ekstrakt ve ekstraktan iyonik jelasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncuklar karşılaştırıldığında, hidrojel boncukların L*, a* ve b* değerlerinin arttığı saptanmıştır. L* değerindeki artışın kaplama materyalinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Alifakı (2019) tarafından yapılan doktora tez çalışmasında da benzer şekilde kaplama materyali miktarının L* değerini arttırdığı tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. Ekstraktın ve hidrojel boncukların kolorimetre ile renk ölçümü

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile gilaburu meyvesi mikrodalga destekli su ekstraktının ve ekstraktan iyonik jelasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncukların fenolik bileşenlerine ilişkin değerler Çizelge 4.7’ de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Ekstrakt ve hidrojel boncukların fenolik bileşenleri (mg/g ekstrakt)

Fenolik Bileşenler	Ekstrakt	Hidrojel Boncuk
Klorojenik asit	34.18±0.06	0.51±0.01**
Şirincik asit	0.44±0.01	0.1±0.00
Kateşin	4.50±0.02	*
Epikateşin	1.27±0.01	*
<i>p</i> -Hidroksi benzoik asit	0.51±0.01	*
Gallik asit	0.05±0.00	*
Protokateşik asit	*	*
Kafeik asit	*	*
Vanilin	*	*
<i>p</i> -Kumarik asit	*	*
Ferulik asit	*	*
Sinapinik asit	*	*

* Tespit edilemedi.

** 56.45 g hidrojel boncuk 1 g fenolik ekstraktı içeriyor.

Çizelge 4.7 incelendiğinde gilaburu meyvesi ekstraktının fenolik bileşenlerinin büyük bir çoğunluğunun klorojenik asitten meydana geldiği belirlenmiştir. Ayrıca onu sırasıyla şirincik asit, kateşin, epikateşin, *p*-hidroksi benzoik asit ve gallik asit takip etmiştir. Ancak protokateşik asit, kafeik asit, vanilin, *p*-kumarik asit, ferulik ve sinapinik asit bileşenleri tespit edilememiştir. Ekstrakta ve hidrojel boncukta klorojenik asit (mg/g ekstrakt) sırasıyla 34.18 ve 0.51 (56.45 g hidrojel boncuk 1 g fenolik ekstraktı içeriyor) miktarları ile en yüksek miktarda bulunan bileşendir. Gilaburu meyvesi ekstraktından iyonik jelasyon ve kitosan sistemi ile enkapsüle edilen hidrojel boncuklarda ise klorojenik asit ve şirincik asit fenolik bileşenleri bulunurken, optimum koşullarda ekstrakte edilen fenolik bileşenlerde kapsülleme sonrasında bu bileşenler dedeksiyon limitinin altında kaldığı için hidrojel boncuklarda tespit edilememiştir.

Literatür taramalarında Celep vd. (2019) taze gilaburu meyvesi metanol ve distile su ekstraktlarında bulunan fenolik bileşik içeriğinde klorojenik asit değerini sırasıyla 34.433 ve 26.76 mg/g oranında HPLC sistemi ile tespit etmiştir. Kurutulmuş gilaburu meyvesi metanol ekstraktlarının fenolik bileşik (mg/100g kuru madde) içeriğini prosiyanidin B1 14.02, klorojenik asit 752.59, kriptoklorojenik asit 3.51, toplam hidrosisinamik asit 763.32 ve rutin 5.39 değerlerini ultra performans sıvı kromatografisi (UPLC) sistemi kullanarak belirlemiştir (Polka vd., 2019). Alifakı (2019) tarafından yapılan çalışmada taze gilaburu meyvesi MDE ile elde edilen ekstrakta klorojenik asit 16.76 ve kafeik asit 0.004 mg/g kuru madde miktarlarını HPLC sistemi ile saptamıştır. Araştırma bulguları yapılan literatür taramaları ile karşılaştırıldığında; gilaburu ekstraktlarında bulunan fenolik bileşen miktarlarının benzer aralıklarda olduğu görülmektedir. Farklılıkların ise kullanılan çözücü, meyvenin yetiştirme koşulları, hasat koşulları, iklim şartları, olgunluk derecesi, yöntem farklılığı vb. faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Literatür taramalarında gilaburu meyve su ekstraktından iyonik jelasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncuk çalışmasına rastlanılmamıştır.

Çizelge 4.8. Ekstrakt ve Hidrojel Boncukların Fonksiyonel Özellikleri

Fonksiyonel Özellikler	Ekstrakt	Hidrojel Boncuk
TFM (mg GAE/g ekstrakt)	344.31±3.29	74.3±1.05
DPPH (mg TE/100 g)	317.19±2.12	116.26±2.80
Antidiyabetik Aktivite (%)	54±0.55	99.9±0.51

TFM: Toplam fenolik madde; DPPH: Serbest radikal yakalama aktivitesi

Gilaburu meyvesinden optimum koşullarda elde edilen su ekstraktlarının ve enkapsüle edilen hidrojel boncukların fonksiyonel özelliklerine ilişkin değerler Çizelge 4.8’de verilmiştir. Toplam fenolik madde miktarı gilaburu meyve su ekstraktında 344.31 mg GAE/ g ekstrakt, hidrojel boncuklarda ise 74.35 mg GAE/ g ekstrakt (gilaburu ekstraktı içeren ve içermeyen hidrojel boncuklar arasındaki fark) olarak tespit edilmiştir. Hidrojel boncukların TFM miktarları, gilaburu meyve su ekstraktlarından düşüktür. Yani gilaburu meyve su ekstraktında bulunan fenoliklerin sadece %21.58’i hidrojel boncuk içerisine enkapsülasyonla alınmıştır. Literatür taramalarında gilaburu meyve su ekstraktından iyonik jealasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncuk çalışmasına rastlanılmamıştır.

Çizelgeye göre, DPPH serbest radikal yakalama aktivitesi miktarı (mg TE/100 g) su ekstraktlarında 317.19, hidrojel boncuklarda ise 116.26 (gilaburu ekstraktı içeren ve içermeyen hidrojel boncuklar arasındaki fark) olarak belirlenmiştir. Hidrojel boncukların DPPH serbest radikal yakalama aktivitesi, optimum koşullarda ekstrakte edilen gilaburu meyve su örneklerinden düşüktür. Bu durum ekstraktın ve hidrojel boncukların içerdiği fenolik madde miktarı ile doğru orantılı olup, TFM miktarı daha yüksek örneklerin DPPH serbest radikalleri yakalama aktivitesi de daha yüksek bulunmuştur. Literatür taramalarında Alifakı vd. (2018) çalışmasında taze gilaburu meyvesi ultrason destekli su ekstraktlarında serbest radikalleri yakalama aktivite değerlerini 7.21 ile 13.89 mg DPPH/g kuru madde aralığında değiştiğini tespit etmiştir. Bir başka çalışmada Celep vd. (2019) taze meyve metanol ve su ekstraktlarında serbest radikalleri yakalama aktivite değerlerini (mg BHTe/g) sırasıyla 103.59 ve 96.74 olarak bildirmiştir. Alifakı (2019) tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise optimum koşullarda elde edilen taze meyve su ekstraktlarında serbest

radikalleri yakalama aktivite deęerlerini (mg DPPH/g km) ultrason ile ekstrakte edilen örneklerde 4.91 ve mikrodalga ile ekstrakte edilen örneklerde 14.45 olarak saptamıştır. Literatürlerde tespit edilen deęerler sonuçlarımızdan daha düşük miktardadır. Sonuçlardaki farklılıkların sebebi olarak ekstraksiyonda kullanılan farklı çözümler ve metotlar ile meyvenin taze veya kuru kullanılması gibi faktörler gösterilebilir.

Optimum şartlarda elde edilen su ekstraktın α -glukozidaz aktivitesini %54, hidrojel boncuęun ise %99.9 durdurduęu tespit edilmiştir. Yani hidrojel boncuk içerisinde bulunan gilaburu ekstraktının %27, kitosan kaplama materyalinin ise %72.9 oranında α -glukozidaz aktivitesi üzerine inhibisyon etkisinin olduęu belirlenmiştir (gilaburu ekstraktı içeren ve içermeyen hidrojel boncuklar arasındaki fark). Fenolik bileşiklerce zengin gilaburu meyvesi fraksiyonlarının, α -glukozidaz aktivitesine karşı en yüksek inhibitör aktivite göstermesi proantosiyanidin polimerler, klorojenik asitler ve özellikle dikafeoilkinik asitlerle ilgili olduęu bildirilmiştir (Kajszczak vd., 2021). Ancak elde edilen sonuçlar fenolik içerięi düşük olan hidrojel boncukların α -glukozidaz aktivitesinin ekstrakttan daha yüksek olduęunu göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, gilaburu meyvesi içerisinde bulunan oligosakkaritlerin kitosana bağlanarak oluşturuęu COS (kitosan oligosakkarit) formunun antidiyabetik aktivitesinin yüksek olduęu tespit edilmiştir (Ngo vd., 2015; Ellis ve Korbitt, 2017). Ayrıca enkapsülasyon materyalindeki kalsiyum iyonlarının da gilaburu meyvesi içerisindeki asidik polisakkaritlerin daha fazla çözünmesini sağladığı bildirilmiştir (Ovodova vd., 2000). Dolayısıyla oluřan COS miktarına baęlı olarak α -glukozidazı inhibe etme oranına etki edeceęi düşünülmektedir. Yu vd. (2016) düşük molekül aęırlıklı kitosanın α -glukozidazı ve ayrıca akarboz etkisinden farklı olan glukoz taşıyıcıları olan SGLT1 ve GLUT2'yi inhibe ettięini buna ek olarak tokluk kan řekeri artışı da önemli ölçüde baskıladıęını tespit etmişlerdir. Literatür taramalarında gilaburu meyvesi mikrodalga destekli su ekstrakta ve ekstrakttan iyonik jelasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncuklara yapılmıř antidiyabetik aktivite çalışmasına rastlanılmamıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) meyvesinden fenolik bileşenlerce zengin mikrodalga destekli su ekstraksiyonu için deney parametreleri optimize edilmiş ve belirlenen şartlarda elde edilen ekstraktan iyonik jelasyon kitosan sistemi ile hidrojel boncukları üretilmiştir. Enkapsüle edilen hidrojel boncuklar ile enkapsülasyon öncesi su ekstraktlarının fizikokimyasal özelliklerinin, biyoaktif bileşenlerinin ve biyofonksiyonel özelliklerinin (antioksidan ve antidiyabetik aktivite) belirlenmesinin amaçlandığı bu tez çalışmasında elde edilen bulgular aşağıda kısaca özetlenmiştir:

Çalışmada ilk olarak, kurutulmuş gilaburu meyvelerinden mikrodalga destekli su ekstraksiyon deneme deseni Box-Behnken deney tasarım metodu ve deney parametrenin optimizasyonu ise yanıt yüzey metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gilaburu meyvesinden mikrodalga destekli su ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen ekstraktların ekstraksiyon verimi (%) ve TFM miktarları (mg GAE/g ekstrakt) maksimize edilerek elde edilen optimum ekstraksiyon koşulları sırasıyla sıcaklık, süre ve katı/çözücü oranı için 60°C, 5 dk ve 4.18 g kuru meyve/100 mL su olarak saptanmıştır. Model, çalışılan yanıtlardaki farklılığı açıklamak için yüksek tahmin performansı göstermiştir ($R^2 > 0.99$). Ekstraksiyon verimi oranında, düşük sürelerde sıcaklığın artışıyla birlikte artarken, yüksek sürelerde sıcaklığın artışıyla birlikte ekstraksiyon verimi önce artmış belirli bir noktadan sonra azalmıştır. Düşük sıcaklıklarda sürenin artışıyla birlikte ekstraksiyon verimi artarken, yüksek sıcaklıklarda sürenin artışıyla birlikte önce azalma sonra kısmi bir artış olduğu saptanmıştır. Düşük katı/çözücü oranında sıcaklığın artışıyla birlikte önce artış sonra kısmi bir azalış, yüksek katı/çözücü oranında ise sıcaklığın artışıyla birlikte ekstraksiyon veriminin arttığı tespit edilmiştir. Düşük sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte ekstraksiyon verimi azalırken, yüksek sıcaklıklarda katı/çözücü oranının artışıyla birlikte arttığı belirlenmiştir. Son olarak bütün uygulanan katı/çözücü oranlarında 5 ile 15 dakika aralığında ekstraksiyon verimi azalırken 15 ile 20 dakika aralığında artış olduğu tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde miktarında ise düşük sürelerde sıcaklığın artışıyla birlikte TFM miktarında önce

azalış sonra belirli bir noktadan sonra kısmi bir artış olurken, yüksek sürelerde sıcaklığın artışıyla birlikte önce azalış belirli bir sıcaklık değerinden sonra ise artış olduğu saptanmıştır. Düşük sıcaklıklarda sürenin artışıyla birlikte TFM miktarı azalırken, yüksek sıcaklıklarda sürenin artışıyla birlikte arttığı belirlenmiştir. Son olarak bütün uygulanan süre ve sıcaklık değerlerinde katı/çözücü oranının 3 ile 6 g/100ml aralığında TFM miktarı artarken 6 ile 9 g/100ml aralığında azalma olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda, metot doğrulaması yapılarak teorik ve deneysel veriler kıyaslandığında deneysel olarak elde edilen verilerin model tahmin aralığında olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında gilaburu meyve fenolik ekstraktından üretilen hidrojel boncukların enkapsülasyon işlemi için ön denemede 3 farklı ekstrakt miktarı (1.11, 2.23 ve 4.13 g ekstrakt/100 mL), 3 farklı sodyum aljinat miktarları (%1, 2 ve 3) ve %1 kitosan: %2 CaCl_2 miktarları ile en yüksek enkapsülasyon etkinliğini sağlayan optimum bağımsız değişkenler belirlenmiştir. Deneme sonuçlarına göre 1.11 g ekstrakt/100 mL su konsantrasyonundaki örnek ile %3'lük sodyum aljinat çözeltisi kullanılarak elde edilen enkapsülasyonların etkinliğinin en iyi sonuç verdiği saptanmıştır. Ön deneme sonuçlarına göre 7 farklı kitosan: CaCl_2 (1:2, 1:3, 1:4, 1:5, 1:6, 1:7, 1:8 ve 1:9) çözelti konsantrasyonları kullanılarak oluşturulan deneme deseninden elde edilen sonuçlara göre 1.11 g ekstrakt/ 100 mL su konsantrasyondaki örnek ile %3'lük sodyum aljinat miktarı ve 1:9 kitosan: CaCl_2 miktarı ile daha stabil hidrojel boncuklar elde edilmiştir. Bu hidrojel boncukların fizikokimyasal özelliklerinden enkapsülasyon etkinliği (%EE) 53.52 ve nem içeriği %91.26 olarak tespit edilmiştir.

Çalışmanın üçüncü kısmında taze ve kuru gilaburu meyve örnekleri ile Box-Behnken deney tasarımına göre meyvelerin mikrodalga destekli su ekstraktları ile enkapsüle hidrojel boncukların askorbik asit içerikleri sırasıyla 232.86 ve 200.40 mg A.A./100g kuru madde, 38.08 ve 38.25 mg/g ekstrakt olarak saptanmıştır. Taze ve kuru meyve örneklerinde β -karoten içerikleri sırasıyla 15.88 ve 4.03 mg karoten/100g kuru madde olarak tespit edilmiştir. Mikrodalga destekli su ekstraktları ile enkapsüle hidrojel boncuklarda β -karoten tespit

edilememiştir. Bunun sebebi β -karoten pigmenti yağda çözünen bir bileşiktir (Gökpinar vd., 2006). Ekstraksiyon aşamasında su çözgeni kullanıldığı için suya β -karoten geçişi olmadığı veya çok az oldu ise de dedeksiyon limitinin altında kaldığı için tespit edilemediği düşünülmektedir. Taze ve kuru gilaburu meyve örnekleri, kuru meyvelerin mikrodalga destekli su ekstraktları ve enkapsüle hidrojel boncuklarında antosiyanin miktarı (mg/g ekstrakt) tespit edilememiştir. Bunun sebebi antosiyaninler nötral veya alkali stabil olmadığından ekstraksiyon işlemlerinde pek çok araştırmacı tarafından asidik çözeltilerin kullanılması önerilmektedir (Jackman ve Smith, 1992). Dolayısıyla ekstraksiyon çözücüsü olarak nötral pH'ya yakın su kullanılmasından dolayı antosiyaninlerin ekstrakte edilemediği ve/veya iz miktarda edildi ise de dedeksiyon limitinin altında kaldığı için tespit edilemediği düşünülmektedir.

Çalışmanın dördüncü kısmında optimum koşullarda ekstrakte edilen gilaburu meyve su ekstraktının ve ekstraktan iyonik jelasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncukların renk (L^* , a^* ve b^*) değerleri ile fenolik bileşenleri belirlenmiştir. Ekstrakt ve hidrojel boncukların renk değerleri kıyaslandığında, hidrojel boncukların L^* , a^* ve b^* değerlerinin arttığı saptanmıştır. Fenolik bileşen analiz sonucunda, ekstraktın başlıca fenolik madde bileşeni klorojenik asit ve bu bileşeni takiben sırasıyla şirincik asit, kateşin, epikateşin, *p*-hidroksi benzoik asit ve gallik asit olarak tespit edilmiştir. Hidrojel boncuklarda ise klorojenik asit ve şirincik asit fenolik bileşenleri belirlenirken, ekstraktta tespit edilen diğer fenolik bileşenler ise hidrojel boncuklarda dedeksiyon limitinin altında kalması nedeniyle tespit edilememiştir.

Son olarak, gilaburu meyvesinden optimum ekstraksiyon koşullarında elde edilen mikrodalga destekli su ekstraktının ve ekstraktan iyonik jelasyon kitosan sistemi ile üretilen hidrojel boncukların, TFM içeriği sırasıyla 344.31 mg GAE/ g ekstrakt ve 74.3 mg GAE/ g ekstrakt, DPPH serbest radikalleri yakalama aktivitesi (mg TE/100 g) miktarı sırasıyla 317.19 ve 116.26 ile antidiyabetik aktiviteleri (%) sırasıyla 54 ve 99.9 olarak tespit edilmiştir.

Elde edilen sonuçlar neticesinde mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin, gilaburu meyvesinden kısa süreli ekstraksiyonla yüksek oranda antioksidan ve antidiyabetik bileşenlerce zengin fenolik maddelerin ekstraksiyonunda kullanılabileceği söylenebilir. Elde edilen bulgular ışığında bu çalışmaya ek olarak hayvan çalışması yapılabilir. Çalışmada toksik etki miktarı belirlenerek, tüketicilerin günlük tüketim miktarının saptanması ile, ticari olarak fonksiyonel bir enkapsüle salata sosu, soda vb. ürünler üretilebilir. Ayrıca antioksidan ve antidibetik gıda takviyesi olarak kullanılması ile yeni bir kullanım alanının da oluşabileceği düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Aktaş, A. (2012). LC-ESI-MS ve On-Line HPLC-ABTS Yöntemleriyle Belirlenen Gilaburu, Kızılcık, Kokulu Üzüm ve Karayemiş Meyvelerinin Biyoaktif Fenolik Bileşimi. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 139s, Trabzon.
- Aktaş Karaçelik, A., Küçük, M., İskefiyeli, Z., Aydemir, S., Smet, S. De, Miserez, B., & Sandra, P. (2015). Antioxidant Components of *Viburnum opulus* L. Determined by On-line HPLC – UV – ABTS Radical Scavenging and LC – UV – ESI-MS Methods. Food Chemistry, 175, 106–114.
- Alifakı, Y. Ö. (2019). Gilaburu (*Viburnum Opulus* L.) Meyvesinden Yeni Yöntemlerle Fenolik Bileşenlerin Ekstraksiyonu ve Gilaburu Tozunun Mikroenkapsülasyonu. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 274s, Ankara.
- Alifakı, Y. Ö., Şakıyan, Ö., & İşci, A. (2018). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvesinden Fenolik Bileşiklerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu. Gıda The Journal Of Food, 43 (5), 846–855.
- Altun, M. L., Çitoğlu, G. S., Yilmaz, B. S., & Çoban, T. (2008). Antioxidant Properties of *Viburnum opulus* and *Viburnum lantana* Growing in Turkey. International Journal of Food Sciences and Nutrition, 59(3), 175–180.
- Álvarez, A., Poejo, J., Matias, A. A., Duarte, C. M. M., Cocero, M. J., & Mato, R. B. (2017). Microwave Pretreatment to Improve Extraction Efficiency and Polyphenol Extract Richness from Grape Pomace. Effect on Antioxidant Bioactivity. Food and Bioproducts Processing, 106, 162–170.
- Annunziata, G., Jiménez-García, M., Capó, X., Moranta, D., Arnone, A., Tenore, G. C., Sureda, A., & Tejada, S. (2020). Microencapsulation as a Tool to Counteract the Typical Low Bioavailability of Polyphenols in the Management of Diabetes. Food and Chemical Toxicology, 139, 111248.
- Arslan, M., Erbil, N., & Murathan, Z. T. (2018). Ardahan ve Çevresinde Yabani Olarak Yetişen Gilaburu Meyve Ekstraktının, Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktivitelerinin Araştırılması. Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 8 (1), 18–25.
- Aydin, E. (2015). Effects of Natural Products on Sugar Metabolism and Digestive Enzymes. The University of Leeds. Phd. Thesis, 240p, United Kingdom.
- Bakir, S., Devecioglu, D., Kayacan, S., Toydemir, G., Karbancioglu-Guler, F., & Capanoglu, E. (2017). Investigating The Antioxidant and Antimicrobial Activities of Different Vinegars. European Food Research and Technology, 243(12), 2083–2094.

- Barak, T. H., Celep, E., İnan, Y., & Yesilada, E. (2019). Influence of In Vitro Human Digestion on the Bioavailability of Phenolic Content and Antioxidant Activity of *Viburnum opulus* L. (European Cranberry) Fruit Extracts. *Industrial Crops and Products*, 131, 62–69.
- Barba, F. J., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A. S., & Orlie, V. (2016). Green Alternative Methods for the Extraction of Antioxidant Bioactive Compounds From Winery Wastes and by-Products: A Review. *Trends in Food Science and Technology*, 49, 96–109.
- Boyacı, H., Çötel, E., & Karataş, F. (2016). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvesindeki A, E Vitamini, Beta- Karoten, Likopen, Redükte ve Okside Glutasyon Miktarlarının Araştırılması. *Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(2), 111–117.
- Burnaz Arslan, N. (2007). *Viburnum opulus* ve *V. orientale* Bitki Ekstraktlarının Kimyasal Bileşimi ve Biyolojik Aktiviteleri. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 105s, Trabzon.
- Büyüktuncel, E. S. (2012). Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. ResearchGate, 32(2), 209–242.
- Çam, M. (2005). Kayseri Bölgesi'nde Tüktilen Gilaburu (*Viburnum opulus*) Meyve Suyunun Organik Asit ve Fenolik Bileşiklerinin Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi (HPLC) ile Belirlenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 73s, İzmir.
- Çam, M., & Hışıl, Y. (2004). Gıda Flavonoidlerinin Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi İle Analizi. *Akademik Gıda Dergisi*, 2, 24–27.
- Camel, Valeria. (2001). Recent Extraction Techniques for Solid Matrices—Supercritical Fluid Extraction, Pressurized Fluid Extraction and Microwave-Assisted Extraction: Their Potential and Pitfalls. *Critical Review the Analyst*, 126(7), 1182–1193.
- Camel, Valérie. (2000). Microwave-Assisted Solvent Extraction of Environmental Samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 19(4), 229–248.
- Caponio, F., Alloggio, V., & Gomes, T. (1999). Phenolic Compounds of Virgin Olive Oil: Influence of Paste Preparation Techniques. *Food Chemistry*, 64(2), 203–209.
- Cavuldak, Ö. A., Vural, N., & Anlı, R. E. (2016). Bitki Kaynaklı Fenolik Bileşiklerin Ultrasonik Dalga Destekli Ekstraksiyonu. *Gıda Teknolojisi Derneği*, 41(1), 53–60.

- Česonienė, L., Daubaras, R., Areškevičiūtė, J., & Viškelis, P. (2006). Evaluation of Morphological Peculiarities, Amount of Total Phenolics and Anthocyanins in Berries of European Cranberry (*Oxycoccus palustris*). *Baltic Forestry*, 12(1), 59–63.
- Česonienė, L., Daubaras, R., & Viškelis, P. (2008). Evaluation of Productivity and Biochemical Components in Fruit of Different *Viburnum* Accessions. *Biologija*, 54(2), 93–96.
- Česonienė, L., Daubaras, R., Viškelis, P., & Šarkinas, A. (2012). Determination of the Total Phenolic and Anthocyanin Contents and Antimicrobial Activity of *Viburnum opulus* Fruit Juice. *Plant Foods for Human Nutrition*, 67(3), 256–261.
- Ceylan, D. (2015). Farelerde Deneysel Olarak Oluşturulan Ehrlich Assit Tümör (Eat) Üzerine Gilaburu (*Viburnum opulus*) Meyve Suyunun Etkileri. Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 107s, Kayseri.
- Chan, E.-S., Yim, Z.-H., Phan, S.-H., Mansa, R. F., & Ravindra, P. (2010). Encapsulation of Herbal Aqueous Extract Through Absorption With Ca-Alginate Hydrogel Beads. *Food and Bioprocess Processing*, 88(2–3), 195–201.
- Çoruhli, T. (2013). Kara Dut Antosiyaninlerinin İyonik Jelasyon Yöntemi ile Enkapsülasyonu ve Enkapsülasyon Parametrelerinin Tepki Yüzeyi Metodu ile Optimize Edilmesi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 75s, İstanbul.
- Demiray, E., Tulek, Y., & Yilmaz, Y. (2013). Degradation Kinetics of Lycopene, β -carotene and Ascorbic Acid in Tomatoes During Hot Air Drying. *LWT - Food Science and Technology*, 50(1), 172–176.
- Dinç, M., Çam, M., Aslan, D., & İçyer, N. C. (2012). Gilaburu Suyunun Mikroenkapsülasyonu. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 7(2), 1–11.
- Dobler, D., Schmidts, T., Zinecker, C., Schlupp, P., Schäfer, J., & Runkel, F. (2016). Hydrophilic Ionic Liquids as Ingredients of Gel-Based Dermal Formulations. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 17(4), 923–931.
- Dorman, H. J. D., Peltoketo, A., Hiltunen, R., & Tikkanen, M. J. (2003). Characterisation of the Antioxidant Properties of De-odourised Aqueous Extracts From Selected Lamiaceae Herbs. *Food Chemistry*, 83(2), 255–262.
- Durmaz, E., Sumnu, G., & Sahin, S. (2015). Microwave-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Caper. *Separation Science and Technology (Philadelphia)*, 50(13), 1986–1992.

- Ellis, C. E., & Korbitt, G. S. (2017). Chitosan-Based Biomaterials for Treatment of Diabetes. In Chitosan Based Biomaterials, (2), 91-113.
- Ersoy, N., Ercisli, S., & Gundogdu, M. (2017). Evaluation of European Cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) Genotypes for Agro-Morphological, Biochemical and Bioactive Characteristics in Turkey. Folia Horticulturae Polish Society for Horticultural Science, 29(2), 181-188.
- Eskilsson Sparr, C., & Björklund, E. (2000). Analytical-Scale Microwave-Assisted Extraction. Journal of Chromatography A, 902, 227-250.
- Gavrilin, M. V., Markova, O. M., Likhota, T. T., & Izmailova, E. A. (2007). Optimization of The Procedure of Vitamin Determination in *Viburnum* Oil. Pharmaceutical Chemistry Journal, 41(2), 101-104.
- Gökmen, S., Palamutoğlu, R., & Sariçoban, C. (2012). Gıda Endüstrisinde Enkapsülasyon Uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 7(1), 36-50.
- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., & Durmaz, Y. (2006). Algal Antioksidanlar. Ege Üniversitesi Su Ürünleri Dergisi, 23(1/1), 85-89.
- Güleşçi, N. (2019). *Viburnum opulus* L. (Adoxaceae) Meyvesinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve Kimyasal İçeriği Yönünden Metabolizmaya Etkilerinin Değerlendirilmesi Üzerine Bir Derleme. İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 9(9), 920-928.
- Gündoğar, R. (2013). Kayseri Yöresinde Yetişen Gilebor (*Viburnum opulus* L.) Genotiplerinin Belirlenmesi. Ordu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 61s, Ordu.
- Halliwell, B. (1996). Antioxidants in Human Health and Disease. Annual Review of Nutrition, 16(1), 33-50.
- Hızlısoy, H. (2009). Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Gilaburunun Antimikrobiyal Etkisinin İncelenmesi. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 53s, Kayseri.
- Iwai, K., Onodera, A., & Matsue, H. (2004). Inhibitory Effects of *Viburnum dilatatum* Thunb. (Gamazumi) on Oxidation and Hyperglycemia in Rats with Streptozotocin-Induced Diabetes. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(4), 1002-1007.
- Jackman, R. L., & Smith, J. L. (1992). Anthocyanins and Betalains. Natural Food Colorants, 244-309.
- Kajszczak, D., Kowalska-Baron, A., & Podsędek, A. (2021). Glycoside Hydrolases and Non-enzymatic Glycation Inhibitory Potential of *Viburnum Opulus* L. Fruit—In Vitro Studies. Antioxidants, 10(989), 1-18.

- Kalyoncu, İ. H., Ersoy, N., Elidemir, A. Y., & Karalı, M. E. (2013). Some Physico-Chemical Characteristics and Mineral Contents of Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Fruits in Turkey. 7(6), 169–171.
- Kelebek, H., & Selli, S. (2011). Characterization of Phenolic Compounds in Strawberry Fruits by RP-HPLC-DAD and Investigation of Their Antioxidant Capacity. Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies, 34(20), 2495–2504.
- Koç, M., Sakin, M., & Kaymak Ertekin, F. (2010). Mikroenkapsülasyon ve Gıda Teknolojisinde Kullanımı. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi, 16(1), 77–86.
- Konarska, A., & Domaciuk, M. (2018). Differences in the Fruit Structure and the Location and Content of Bioactive Substances in *Viburnum opulus* and *Viburnum lantana* Fruits. Protoplasma, 255(1), 25–41.
- Kraujalis, P., Kraujalienė, V., Kazernavičiūtė, R., & Venskutonis, P. R. (2017). Supercritical Carbon Dioxide and Pressurized Liquid Extraction of Valuable Ingredients From *Viburnum opulus* Pomace and Berries and Evaluation of Product Characteristics. The Journal of Supercritical Fluids, 122, 99–108.
- Kraujalyte, V., Venskutonis, P. R., Pukalskas, A., Česonienė, L., & Daubaras, R. (2013). Antioxidant Properties and Polyphenolic Compositions of Fruits From Different European Cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) Genotypes. Food Chemistry, 141(4), 3695–3702.
- Kurozawa, L. E., & Hubinger, M. D. (2017). Hydrophilic Food Compounds Encapsulation By Ionic Gelation. Current Opinion in Food Science, 15, 50–55.
- Levent Altun, M., & Yilmaz, B. S. (2007). HPLC Method for The Analysis of Salicin and Chlorogenic Acid From *Viburnum Opulus* and *V. Lantana*. Chemistry of Natural Compounds, 43(2), 205–207.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of Antioxidant Properties of Pomegranate Peel Extract in Comparison with Pomegranate Pulp Extract. Food Chemistry, 96(2), 254–260.
- Moldovan, B., David, L., Chisbora, C., & Cimpoiu, C. (2012). Degradation Kinetics of Anthocyanins From European Cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) Fruit Extracts. Effects of Temperature, pH and Storage Solvent. Molecules, 17(10), 11655–11666.
- Myers, R. H., Montgomery, C. D., & Anderson-Cook, C. M. (1995). Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments, NJ: Wiley, 856p, Hoboken.

- Najafi-Soulari, S., Shekarchizadeh, H., & Kadivar, M. (2016). Encapsulation Optimization of Lemon Balm Antioxidants in Calcium Alginate Hydrogels. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 27(16), 1631–1644.
- Ngo, D. H., Vo, T. S., Ngo, D. N., Kang, K. H., Je, J. Y., Pham, H. N. D., Byun, H. G., & Kim, S. K. (2015). Biological Effects of Chitosan and its Derivatives. *Food Hydrocolloids*, 51, 200–216.
- Orakçı, E. E. (2010). Gilaburunun Antioksidan Aktivitesi. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bitirme Tezi, 36s, Kayseri.
- Oral, R. A. (2017). New Perspectives for the Encapsulation of Hydrophilic Compounds. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1), 1–8.
- Ovodova, R. G., Golovchenko, V. V., Popov, S. V., Shashkov, A. S., & Ovodov, S. Y. (2000). The Isolation, Preliminary Structural Studies, and Physiological Activity of Water-soluble Polysaccharides from the Squeezed berries of the Snowball Tree *Viburnum opulus*. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 26(1), 54–59.
- Özer, P., Görgüç, A., & Yılmaz, F. M. (2018). Mikrodalga Teknolojisinin Bitkisel Dokulardan Makro ve Mikro Bileşenlerin Özütlemeinde Kullanımı. *Gıda The Journal of Food*, 43, 765–775.
- Özkan, M. (2006). Greyfurt Suyu ve Domates Pulpunda Likopenin Yüksek Sıcaklıklardaki Isıl Stabilitesi. Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Rapor No: 20040745023, 29s.
- Özrenk, K., Gündoğdu, M., Kenskin, N., & Kaya, T. (2011). Some Physical and Chemical Characteristics of Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Fruits in Erzincan Region. *Iğdır University Journal of the Institute of Science and Technology*, 1(4), 9–14.
- Polka, D., Podsędek, A., & Koziołkiewicz, M. (2019). Comparison of Chemical Composition and Antioxidant Capacity of Fruit, Flower and Bark of *Viburnum opulus*. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(3), 436–442.
- Poncelet, D. (2006). Microencapsulation: Fundamentals, Methods and Applications. *Surface Chemistry in Biomedical and Environmental Science*, 23–34.
- Radojković, M., Zeković, Z., Sudar, R., Jokić, S., & Cvetanović, A. (2013). Optimization of Solid-Liquid Extraction of Antioxidants and Saccharides From Black Mulberry Fruit by Response Surface Methodology. *Journal of Food and Nutrition Research*, 52(3), 146–155.

- Riemersma, R. A. (1994). Epidemiology and the Role of Antioxidants in Preventing Coronary Heart Disease: A Brief Overview. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53(1), 59–65.
- Rop, O., Reznicek, V., Valsikova, M., Jurikova, T., Mlcek, J., & Kramarova, D. (2010). Antioxidant Properties of European Cranberrybush Fruit (*Viburnum opulus* var. *edule*). *Molecules*, 15(6), 4467–4477.
- Sadler, G., Davis, J., & Dezman, D. (1990). Rapid Extraction of Lycopene and β -Carotene from Reconstituted Tomato Paste and Pink Grapefruit Homogenates. *Journal of Food Science*, 55(5), 1460–1461.
- Sagdıç, O., Aksoy, A., & Ozkan, G. (2006). Evaluation of the Antibacterial and Antioxidant Potentials of Cranberry (Gilaburu, *Viburnum Opulus* L.) Fruit Extract. *Acta Alimentaria*, 35(4), 487–492.
- Sağdıç, O., Yetim, H., Hayta, M., Sarıoğlu, K., & Yapar, N. (2013). Geleneksel Fermente Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyve Suyundan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özellikleri ve Endüstriyel Üretimde Kullanımları. Tübitak Porje No: 1100214, 123s, İstanbul.
- Şahin, Ö. (2019). Melocan (*Smilax excelsa* L.) Bitkisinin Farklı Kısımlarının Ultrason ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon ile Elde Edilen Bileşenlerinin Tanımlanması. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 125s, Ankara.
- Schwartz, J. L. (1996). The Dual Roles of Nutrients as Antioxidants and Prooxidants: Their Effects on Tumor Cell Growth. *Journal of Nutrition*, 126, 1221–1227.
- Şeker, İ. T., Ertop, M. H., & Hayta, M. (2016). Physicochemical and Bioactive Properties of Cakes Incorporated With Gilaburu Fruit (*Viburnum opulus*) Pomace. *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods*, 8(2), 261–266.
- Şimşek, M. (2010). Microwave Assisted Extraction of Phenolic Compounds from Sour Cherry Pomaces. Middle East Technical University, The Graduate School of Natural and Applied Sciences, M.Sc. Thesis, 173p, Ankara.
- Turek, S., & Cisowski, W. (2007). Free and Chemically Bonded Phenolic Acids in Barks of *Viburnum opulus* L. and *Sambucus nigra* L. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 64(4), 377–383.
- Ünsal, P., Aydın, E., & Özkan, G. (2019). Review of Traditionally Consumed Antidiabetic Fruits in the Diet. *Bilge International Journal of Science and Technology Research*, 3, 58–76.

- Velioglu, S. Y., Ekici, L., & Poyrazoglu, E. S. (2006). Phenolic Composition of European Cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) Berries and Astringency Removal of Its Commercial Juice. *International Journal of Food Science and Technology*, 1011–1015.
- Wan, H. B., & Wong, M. K. (1996). Minimization of Solvent Consumption in Pesticide Residue Analysis. *Journal of Chromatography A*, 754, 43–47.
- Yıldız, R. (2018). Streptozotosin İle Deneyisel Olarak Diyabet Oluşturulan Ratlarda Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) nun Antioksidatif Metabolizma Üzerine Etkisi. Kırıkkale Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 47s, Kırıkkale.
- Yıldız, R., & Ekici, H. (2019). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.)’nun Farmakolojik Açıdan Değerlendirilmesi. *Bulletin of Veterinary Pharmacology and Toxicology Association*, 10(1), 16–23.
- Yu, S. Y., Kwon, Y.-I., Lee, C., Apostolidis, E., & Kim, Y.-C. (2016). Antidiabetic Effect of Chitosan Oligosaccharide (GO2KA1) is Mediated Via Inhibition of Intestinal Alpha-Glucosidase and Glucose Transporters and PPAR γ Expression. *BioFactors*, 43(1), 90–99.
- Zakłos-Szyda, M., Pawlik, N., Polka, D., Nowak, A., Koziolkiewicz, M., & Podsedek, A. (2019). *Viburnum opulus* Fruit Phenolic Compounds as Cytoprotective Agents Able to Decrease Free Fatty Acids and Glucose Uptake by Caco-2 Cells. *Antioxidants*, 8(262), 1–25.
- Zarífıkhosroshahı, M. (2015). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) Meyvelerinde Biyoaktif, Biyokimyasal ve Besin Element İçeriklerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 145s, Adana.
- Zhang, Q., Zhou, M., Chen, P., Cao, Y., & Tan, X. (2011). Optimization of Ultrasonic-Assisted Enzymatic Hydrolysis for the Extraction of Luteolin and Apigenin from Celery. *Journal of Food Science*, 76(5), 680–685.