T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

DEFNE (LAURUS NOBILIS L.) YAPRAKLARINDAN BİYOAKTİF KATKI MADDESİ ÜRETİM SÜREÇLERİNİN KİNETİK, TERMODİNAMİK VE İSTATİSTİKSEL YAKLAŞIM İLE İNCELENMESİ

Okan TUNÇ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik Tezli Yüksek Lisans Programı

Şubat, 2026

TEZ KABUL VE ONAYI

Okan TUNÇ tarafından, **Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ** danışmanlığında hazırlanan **"Defne (Laurus nobilis L.) Yapraklarından Biyoaktif Katkı Maddesi Üretim Süreçlerinin Kinetik, Termodinamik ve İstatistiksel Yaklaşım ile İncelenmesi"** başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **28/01/2026** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Xxxx XXXX İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa ..... Anabilim Dalı		☐ Kabul ☐ Ret

Bu çalışmayı; hayatımın her anımda bana destek olan, sevgilerini ve güvenlerini hiçbir zaman esirgemeyen canım ailem ve değerli yakınlarıma; akademik yolculuğumda bana ışık tutan, bilgi ve deneyimlerini cömertçe paylaşan, her aşamada yol gösteren saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ' ye, Doç. Dr. Ebru KURTULBAŞ ŞAHİN' e ve Arş. Gör. Dr. İrem TOPRAKÇI YÜKSEL' e; bu süreçte yanımda olan motivasyonumu ve inancımı hiç kaybetmememem için her zaman desteklerini hissettiğim değerli arkadaşım İbrahim HEBİP' e ve son olarak insanlık için yararlı çalışmalar yapmak isteyen sevgili bilim dünyasına ithaf ediyorum…

BÜTÇE DESTEKLERİ

DEFNE (LAURUS NOBILIS L.) YAPRAKLARINDAN BİYOAKTİF KATKI MADDESİ ÜRETİM SÜREÇLERİNİN KİNETİK, TERMODİNAMİK VE İSTATİSTİKSEL YAKLAŞIM İLE İNCELENMESİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: FYL-2025-38382

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ 1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE 3
2.1. ANTİOKSİDANLAR 3
2.1.1. Antioksidanların Sınıflandırılması 3
2.1.1.1. Sentetik Antioksidanlar 4
2.1.1.2. Doğal Antioksidanlar 5
2.2. ANTİOKSİDAN KAYNAĞI BAZI TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLER 6
2.3. DEFNE (*Laurus nobilis* L.) 8
2.3.1. Defne Yaprağının Kökeni 8
2.3.2. Botanik Sınıflandırma 9
2.3.3. Defne Yaprağının Botanik Tanımlaması 9
2.3.4. Defne Yaprağının Coğrafi Dağılımı 10
2.3.5. Defne Yaprağının Türkiye' deki Durumu 11
2.3.6. Defne Yaprağını İşleme 14
2.3.6.1. Defne Yaprağının Hasadı 14
2.3.6.2. Defne Yaprağının Kurutulması 14
2.3.7. Defne Yaprağının Bileşim ve Besin Değeri 15
2.4. DEFNE YAPRAĞININ BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİ 16
2.4.1. Uçucu Yağlar 17
2.4.2. Fenolik Bileşikler 17
2.4.2.1. Flavonoidler 19
2.4.2.2. Proantosiyanidinler 19
2.4.2.3. Diğer Fenolik Bileşikler 19
2.4.3. Alkaloidler 19
2.5. DEFNE YAPRAĞI'NIN GELENEKSEL KULLANIMLARI VE TERAPÖTİK ETKİLERİ 20
2.5.1. Tıbbi Kullanımlar 20
2.5.2. Mutfak Kullanımları 21

2.5.3. Kozmetik Kullanımlar 21
2.5.4. Farmakolojik Kullanımlar 21
2.6. YAN ETKİLER VE TOKSİSİTE 22
2.7. FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONU 22
2.7.1. Katı-Sıvı Sürekli Ekstraksiyon (Soxhlet Ekstraksiyonu) 23
2.7.2. Ultrason Destekli Ekstraksiyon 24
2.7.3. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon 25
2.7.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu 27
2.8. ANALİTİK YÖNTEMLER 28
2.8.1. Spektrofotometrik Analizler 28
2.8.2. Folin-Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik Bileşik Tayini 30
2.8.3. Alüminyum Klorür Kolorimetrik ile Toplam Flavonoid Madde Analizi 31
2.8.4. DPPH Süpürücü Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi 31
2.8.5. TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) Yöntemi 32
2.8.6. Cu (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi 35
2.9. PLACKETT-BURMAN FAKTÖRİYEL TASARIMI 35
2.10. BOX-BEHNKEN TASARIMI 37
3. YÖNTEM 39
3.1. MALZEMELER 39
3.2. EKSTRAKSİYON 40
3.3. BİYOAKTİVİTE ÖLÇÜMLERİ 41
3.4. KİNETİK MODELLEME 42
3.5. TERMODİNAMİK ANALİZ 43
3.6. DİFÜZYON ve KÜTLE TRANSFER ANALİZİ 44
4. BULGULAR 45
4.1. KİNETİK ÇALIŞMA 45
4.2. TERMODİNAMİK ÇALIŞMA 47
4.3. DİFÜZYON VE KÜTLE TRANSFER KATSAYISI DAĞILIMI 48
4.4. PLACKETT-BURMAN TASARIMI 48
4.5. BOX-BEHNKEN TASARIMI 50
4.6. PROSES PARAMETRELERİNİN ETKİLERİ 57
5. TARTIŞMA 66
5.1. KİNETİK PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ 66
5.2. TERMODİNAMİK PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİMESİ 67

5.3. DİFÜZYON PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ 67
5.4. İSTATİSTİKSEL OLARAK EN ETKİN PROSES PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ 68
5.5. BOX-BEHNKEN DENEYSEL TASARIM SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ 69
5.6. OPTİMİZASYON VE MODEL DOĞRULAMASI 71
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 72
KAYNAKLAR 73
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 93
ETİK KURUL İZİN YAZISI 94
KURUM İZNİ YAZILARI 95
ÖZGEÇMİŞ 96

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Defne bitkisinin görünümü [32] 10
Şekil 2.2: Defne yaprağının coğrafi dağılımı [35] 11
Şekil 2.3: İhracat ve ithalat miktarları (1000 ton) [39] 12
Şekil 2.4: İhracat ve ithalat değerleri (1000 TL) [39] 12
Şekil 2.5: Defne envanter miktarı (Ton) [37]. 13
Şekil 2.6: Defne envanter miktarı alan (Ha) [37]. 13
Şekil 2.7: Popülasyon toplama noktaları [40] 14
Şekil 2.8: Uçucu yağ bileşikleri [46] 18
Şekil 2.9: Spektrofotometre cihazı. 29
Şekil 2.10: Spektrofotometre analiz prensibi [123] 30
Şekil 2.11: DPPH reaktifinin kimyasal yapısı [131] 32
Şekil 2.12: Troloks molekülünün kimyasal yapısı [134] 33
Şekil 2.13: ABTS molekülünün kimyasal yapısı [136] 33
Şekil 2.14: ABTS radikal katyon oluşumunun reaksiyon denklemi [137] 34
Şekil 3.1: Defne yaprağının belirlenen boyutlara göre öğütülmesi. 39
Şekil 3.2: Çalkalayıcı su banyosu. 40
Şekil 3.3: Deneyde uygulanan spektrofotometrik testler. 42
Şekil 4.1: Sıcaklığın ekstraksiyon kinetiği üzerindeki etkisi. 45
Şekil 4.2: Arrhenius grafiği. 46
Şekil 4.3: Van't Hoff grafiği. 47
Şekil 4.4: Plackett-Burman ana etki Pareto grafiği. 49
Şekil 4.5: TPC üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto). 52

Şekil 4.6: TFC üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto). 53
Şekil 4.7: DPPH aktivitesi üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto). 53
Şekil 4.8: ABTS aktivitesi üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto). 54
Şekil 4.9: CUPRAC aktivitesi üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto)..... 54
Şekil 4.10: TPC' nin kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi). 58
Şekil 4.11: TPC' nin kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi). 58
Şekil 4.12: TPC' nin kontur grafiği (Etanol-Katı madde). 59
Şekil 4.13: TFC' nin kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi). 59
Şekil 4.14: TFC' nin kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi). 60
Şekil 4.15: TFC' nin kontur grafiği (Etanol-Katı madde). 60
Şekil 4.16: DPPH kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi). 61
Şekil 4.17: DPPH kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi). 61
Şekil 4.18: DPPH kontur grafiği (Etanol-Katı madde). 62
Şekil 4.19: ABTS kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi). 62
Şekil 4.20: ABTS kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi). 63
Şekil 4.21: ABTS kontur grafiği (Etanol-Katı madde). 63
Şekil 4.22: CUPRAC kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi). 64
Şekil 4.23: CUPRAC kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi). 64
Şekil 4.24: CUPRAC kontur grafiği (Etanol-Katı Madde). 65

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Antioksidanların sınıflandırılması [12] 4
Tablo 2.2: Flavonoidlerin sınıflandırılması [14]. 6
Tablo 2.3: Defne bitkisinin botanik sınıflandırması [30] 9
Tablo 2.4: Defne yaprağının besin değeri [41] 16
Tablo 2.5: 11 faktörlü Plackett-Burman deney tasarımı matrisi [146] 36
Tablo 2.6: Üç faktör, üç seviyeli Box-Behnken deney tasarımı [146] 37
Tablo 3.1: Kinetik ekstraksiyon modelleri. 43
Tablo 4.1: Kinetik parametrelerin karşılaştırılması. 46
Tablo 4.2: Termodinamik parametreler. 47
Tablo 4.3: Difüzyon ve kütle transfer parametreleri. 48
Tablo 4.4: Plackett-Burman faktöriyel tasarımı. 49
Tablo 4.5: Varyans analizi. 50
Tablo 4.6: Box-Behnken deneysel tasarımı. 55
Tablo 4.7: Box-Behnken tasarımı varyans analiz sonuçları. 55

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
Bi	**:** Biot sayısı
C_0	**:** Başlangıç TPC konsantrasyonu
C_t	**:** t anındaki TPC konsantrasyonu
C_∞	**:** Denge anındaki TPC konsantrasyonu
D_e	**:** Etkin difüzyon katsayısı
E_a	**:** Aktivasyon enerjisi
I	**:** Ortamdan ayrılan ışığın yoğunluğu
I_0	**:** Başlangıç ışık yoğunluğu
IR	**:** Kızılötesi ışık
k	**:** Faktör sayısı/Ekstraksiyon hız sabiti
k_0	**:** Frekans faktörü
k_1	**:** Birinci dereceden hız sabiti
k_2	**:** İkinci dereceden hız sabiti
K_e	**:** Denge dağılım sabiti
K_t	**:** Kütle transfer katsayısı
n	**:** Hidroksil grubu sayısı
N	**:** Toplam deney sayısı
q_e	**:** Denge kapasitesi
R	**:** Evrensel gaz sabiti
r_p	**:** Parçacık yarıçapı
T	**:** Sıcaklık/Geçirgenlik
t	**:** Süre
V_s	**:** Çözelti hacmi
Y	**:** Yanıt değişkeni/Faktör
Y_{max}	**:** Maksimum TPC verimi
Y_s	**:** Doymuş TPC verimi
Y_t	**:** Herhangi bir zamandaki TPC verimi
α	**:** Alfa
β	**:** Beta
β0	**:** Kesme noktası katsayısı
βi	**:** Regresyon katsayıları
γ	**:** Gama
δ	**:** Delta
ΔG	**:** Gibbs serbest enerjisi
ΔH	**:** Entalpi
ΔS	**:** Entropi
ε	**:** Molar absorpsiyon katsayısı
° C	**:** Santigrat derece
±	**:** Standart sapma gösterimi
≥	**:** Büyük eşit

>	**:** Büyük
<	**:** Küçük
%	**:** Yüzde
Ω	**:** Ohm

Kısaltmalar	**Açıklama**
ABAP	**:** 2,2'-azobis-(2-amidinopropan)HCl
ABTS	**:** 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
ABD	**:** Amerika Birleşik Devletleri
Adj MS	**:** Düzeltilmiş ortalama kareler toplamı
Adj SS	**:** Düzeltilmiş kareler toplamı
Adj-R_2	**:** Ayarlanmış belirleme katsayısı
$AlCl_3$	**:** Alüminyum klorür
ANOVA	**:** Varyans analizi
BHA	**:** Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	**:** Bütillenmiş hidroksi toluen
CCl_4	**:** Karbon tetra klorür
CE	**:** Kateşin eşdeğeri
cm	**:** Santimetre
CO_2	**:** Karbondioksit
Cu	**:** Bakır
Nc	**:** Neokuproin
CUPRAC	**:** Bakır (I) indirgeyici antioksidan kapasite
DF	**:** Serbestlik derecesi
DNA	**:** Deoksiribonükleik asit
DNP	**:** 2,4-dinitrofenilhidrazin
DPPH	**:** 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
F-değeri	**:** Fisher istatistik değeri
FRAP	**:** Demir indirgeyici antioksidan güç
g	**:** Gram
GAE	**:** Gallik asit eşdeğeri
GC-MS	**:** Gaz kromatografisi-Kütle spektrofotometresi
H_20_2	**:** Hidrojen peroksit
Ha	**:** Hektar
HCl	**:** Hidroklorik asit
HPLC	**:** Yüksek performanslı sıvı kromatografisi

HRP : Yaban turpu peroksidaz

Hz : Hertz

IC_{50} : %50 inhibisyon konsantrasyonu

IR : Kızılötesi

IU : Uluslararası birim

J : Joule

K : Kelvin

kcal : Kilokalori

KE : Kateşin eşdeğeri

kg : Kilogram

kHz : Kilohertz

kJ : Kilojoule

KM : Kuru madde

L : Litre

L. nobilis : Laurus nobilis

LOF : Uyum eksikliği (Lack of Fit)

m : Metre

MDE : Mikrodalga destekli ekstraksiyon

mg : Miligram

MHz : Megahertz

Min : Dakika

mL : Mililitre

mm : Milimetre

MS : Ortalama kareler toplamı (Mean Square)

MSS : Merkezi sinir sistemi

µg : Mikrogram

Na_2CO_3 : Sodyum karbonat

$NaNO_2$: Sodyum nitrit

NaOH : Sodyum hidroksit

nm : Nanometre

OGM : Orman Genel Müdürlüğü

ORAC : Oksijen radikal absorbans kapasitesi

P-değeri : Olasılık değeri (İstatistiksel anlamlılık)

PFO : Yalancı birinci mertebe

pH : Hidrojen iyonu konsantrasyonu
PLE : Basınçlı sıvı ekstraksiyonu
PSO : Yalancı ikinci mertebe
rpm : Dakikadaki devir sayısı
SAE : Süperkritik akışkan ekstraksiyonu
sn : Saniye
SOD : Süperoksit dismutaz
SS : Kareler toplamı (Sum of Squares)
TBHQ : Tersiyer bütil hidrokinon
TEAC : Troloks eşdeğer antioksidan aktivite
TFC : Toplam flavanoid içeriği
TL : Türk Lirası
TPC : Toplam fenolik içerik
TYM : Tepki yüzeyi metodolojisi
UDE : Ultrason destekli ekstraksiyon
UV : Ultraviyole

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DEFNE (*LAURUS NOBILIS* L.) YAPRAKLARINDAN BİYOAKTİF KATKI MADDESİ ÜRETİM SÜREÇLERİNİN KİNETİK, TERMODİNAMİK VE İSTATİSTİKSEL YAKLAŞIM İLE İNCELENMESİ

Okan TUNÇ

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik, Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman : Prof. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ

Defne (*Laurus nobilis* L.) yaprakları, güçlü antioksidan özelliklere sahip fenolik ve flavonoid bileşikler içermesine rağmen ekstraksiyon mekanizmasını inceleyen çalışma sayısı sınırlıdır. Bu tez çalışması kinetik, termodinamik, kütle transferi ve istatistiksel optimizasyon yoluyla ekstraksiyon sürecini kapsamlı bir şekilde değerlendirmiştir. Kinetik modelleme, yalancı birinci dereceden (PFO) modelin verilere en iyi şekilde uyduğunu ve çok düşük aktivasyon enerjisi (E_a=1,27 kJ mol^{-1}) ile difüzyon kontrollü bir ekstraksiyonu gösterdiğini ortaya koymuştur. Termodinamik çalışma, endotermik (ΔH=4,60 kJ mol^{-1}), kendiliğinden (ΔG=-5,20--6,52 kJ mol^{-1}) ve entropi güdümlü bir süreci (ΔS=0,0329 kJ $mol^{-1}K^{-1}$) göstermiştir. Etkin difüzyon (D_e) değerleri ve Biot sayıları (Bi)>40, iç direncin kütle transferini yönettiğini göstermiştir. 2 seviyeli Plackett-Burman faktöriyel tasarımı, etkin faktörleri katı kütle, çözücü hacmi ve çözücü konsantrasyonu olarak belirlemiştir. Belirlenen parametreler, toplam fenolik içerik (TPC) için 9,9 mg-GAE/g-KM, toplam flavonoid içerik (TFC) için 20,3 mg-KE/g-KM ve antioksidan aktivite (DPPH ve ABTS>%90 inhibisyon; CUPRAC 101,7 mg-TEAC/g-KM) açısından en yüksek verimleri elde etmek için Box-Behnken tasarımı ile optimize edildi.Şubat 2026 , 114 sayfa.

Anahtar kelimeler: *Laurus nobilis*, antioksidan aktivite, aktivasyon enerjisi, etkin difüzyon, Plackett-Burman tasarımı, Box-Behnken tasarımı

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF BIOACTIVE ADDITIVE PRODUCTION PROCESSES FROM BAY (*LAURUS NOBILIS* L.) LEAVES WITH KINETIC, THERMODYNAMIC AND STATISTICAL APPROACHES

Okan TUNÇ

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Unit Operations and Thermodynamics, Master's Program with Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Selin SAHIN SEVGILI

Laurus nobilis leaves have phenolic and flavonoid compounds with strong antioxidant properties. However, the studies on their extraction mechanisms are limited. This work comprehensively evaluated the extraction process through kinetics, thermodynamics, mass transfer and statistical optimization. Kinetic modeling revealed that the pseudo-first-order (PFO) model best fitted the data, indicating a diffusion-controlled extraction with a very low activation energy (E_a=1.27 kJ mol^{-1}). Thermodynamic study showed an endothermic (ΔH=4,60 kJ mol^{-1}), spontaneous (ΔG=-5,20 to-6,52 kJ mol^{-1}) and entropy-driven process (ΔS=0,0329 kJ $mol^{-1}K^{-1}$). Effective diffusivity (D_e) values and Biot numbers (Bi)>40 showed that internal resistance governed mass transfer. 2-level Plackett-Burman factorial design screened the effective factors as solid mass, solvent volume and solvent concentration. The determined parameters were optimized with Box-Behnken design to get the highest yields of 9,9 mg-GAE/g-KM of total phenolic content (TPC), 20,3 mg-CE/g-KM of total flavonoid content (TFC) and antioxidant activity (DPPH and ABTS>90% inhibition; CUPRAC 101,7 mg-TEAC/g-KM).

February 2026, 114 pages.

Keywords: *Laurus nobilis*, antioxidant activity, activation energy, effective diffusivity, Plackett-Burman design, Box-Behnken design

1. GİRİŞ

Defne, Roma defnesi, defne, tatlı defne gibi isimlerle de anılan *Laurus nobilis* yapraklarının, uçucu yağları ve alkaloidlerine ek olarak fenolik ve flavonoid bileşenleri nedeniyle çeşitli fonksiyonel özellikleri olduğu bilinmektedir [1,2]. Pacifico ve arkadaşları, fenolik maddeler açısından zengin *L. nobilis* özütünün Alzheimer hastalığına karşı antioksidan ve antiamiloidojenik etkiler gösterdiğini gözlemlemiştir [3]. Fernández ve arkadaşları, *L. nobilis* özütünün Paenibacillus larvalarına karşı antimikrobiyal aktivitesini bildirmiş ve bu özelliği özütteki fenolik bileşiklere bağlamıştır [4]. Dobroslavić ve arkadaşları da fenolik açıdan zengin *L. nobilis* özütünün yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu duyurmuştur [5]. Altın ve arkadaşları da özütün fenolik içeriğinin antioksidan, antidiyabetik ve antikolinerjik aktivitelere yol açtığını bildirmiştir [6]. Ancak kinetik, termodinamik ve kütle transferi ile istatistiksel tasarım ve çoklu tepki optimizasyonu içeren ekstraksiyon mekanizması üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. *L. nobilis*' in uçucu yağının geri kazanımı, istatistiksel deney tasarımı (Box-Behnken) yoluyla mikrodalga destekli ekstraksiyonla gerçekleştirildi [7]. Bu bitkinin uçucu yağlarının hidrodistilasyon ekstraksiyon kinetiği de gerçekleştirildi [8]. Farklı olarak, Chatzimitakos ve arkadaşları kinetik analiz, iki değişkenli analiz, Pareto çizimi analizi, temel bileşen analizi, çok değişkenli korelasyon analizi ve kısmi en küçük kareler analizi açısından defneden biyoaktif maddelerin ekstraksiyonu üzerine daha kapsamlı bir çalışma gerçekleştirdiler [9]. Sonuç olarak, bu tez *L. nobilis* biyoaktif maddelerinin ekstraksiyon sistemini kinetik, termodinamik, kütle transferi ve deney yaklaşımlarının tasarımı (Plackett-Burman taraması ve Box-Behnken tepki yüzeyi metodolojisi tasarımı (TYM) açısından araştıran ilk kapsamlı çalışma olacaktır. Plackett-Burman taraması, TYM aracılığıyla birden fazla performans metriği genelinde en etkili değişkenleri belirlemek ve optimize etmek için etkili bir araçtır [10].

Diğer taraftan, bu değerli bileşiklerin endüstriyel olarak verimli bir şekilde kullanılmasını sağlamak için, en yüksek verim ve kaliteli ürünleri sağlayan optimum ekstraksiyon prosedürlerinin oluşturulması önemlidir. Bu çalışmada, *L. nobilis* yapraklarından antioksidan fenolik bileşiklerin ekstraksiyon sürecini optimize ederek doğal katkı maddesi olarak kullanım potansiyelinin arttırılması hedeflenmiştir.

- İlk aşamada, farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinden kinetik veriler elde edildi. Daha sonra, ilgili işlemler belirli matematiksel modeller çerçevesinde analiz edildi.

- İkinci aşamada, ekstraksiyon işleminin enerji gereksinimlerini ve sürdürülebilirliğini değerlendirmek için termodinamik hesaplamalar yapıldı.

- Üçüncü aşamada, ekstraksiyon işlemini yöneten taşınım olaylarını daha iyi anlamak için kütle transfer katsayısı (K_t), etkili difüzyon (D_e) ve Biot sayısı (Bi) dahil olmak üzere kütle transfer parametreleri hesaplandı.

- Daha sonra, analiz edilecek değişken sayısını azaltmak için Plackett-Burman tasarımı kullanılarak ekstraksiyon verimliliğini etkileyen en önemli parametreler belirlendi.

- Son aşamada, belirlenen kritik değişkenlerin etkileri, proses optimizasyonunu gerçekleştirmek için TYM'nin Box-Behnken tasarımı kullanılarak ayrıntılı olarak incelendi.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. ANTİOKSİDANLAR

İnsan yaşamı için gerekli olan oksijenin metabolik olaylar sonucu meydana gelen bazı reaktif oksijen türleri vücudumuza hasar verebilmektedir. Serbest radikaller, üzerinde eşleşmemiş elektron veya elektronlar bulunan atom veya moleküllerdir. Reaktif oksijen türlerinin zarar verebilme ihtimaline karşılık, insan vücudunun oluşturduğu doğal savunma sistemleri serbest radikal seviyesini belirli bir noktada tutabilmektedir. Bu radikallerin neden olduğu oksidasyonları önleyen, serbest radikalleri tutma ve yakalama yeteneğine sahip olan maddelere ise antioksidan denmektedir. Antioksidanlar, vücudumuzdaki serbest radikalleri yakalayarak etkisiz hale getirmeden sorumlu olup bu radikalleri kendine bağlayarak veya imha ederek zararlı etkenleri minimize etmektedir ve böylelikle yaşlanması süresinin uzamasını sağlamaktadır (Anti-ageing). Günümüzde antioksidan olarak koenzim Q-10, C-E vitaminleri, çinko, likopen, manganez gibi birçok organik ve inorganik maddeler kullanılmaktadır [11].

Antioksidan maddelerin çalışma mekanizmalarını şu şekildedir:

1. Meydana gelen serbest radikalleri kendine bağlayarak,
2. Serbest radikal üreten reaksiyonları durdurarak,
3. Reaksiyon hızını azaltarak,
4. DNA, lipit ve protein gibi yapılarda meydana gelen hasarları rejenere ederek,
5. Oksidasyon reaksiyonlarını durdurarak,
6. Süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan özellik gösteren enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezlenmesini sağlayarak etki gösterirler.

2.1.1. Antioksidanların Sınıflandırılması

Günümüzde kullanılan antioksidanların gıdaların raf ömrüne olan olumlu etkisine ek olarak serbest radikallerin zararlarına karşılık vücuda sağladığı faydalar sayesinde insan sağlığı

açısından önemi oldukça fazladır. Antioksidanları sınıflandırmak gerekirse doğal ve sentetik olmak üzere 2 ana başlıkta sınıflandırabiliriz. Sınıflandırma Tablo 2.1' de verilmiştir.

Tablo 2.1: Antioksidanların sınıflandırılması [12]

ANTİOKSİDANLAR			
Doğal Antioksidanlar			**Sentetik Antioksidanlar**
Enzimatik	**Enzimatik Olmayan**		
	Endojen	**Eksojen**	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutatyon	E vitamini	BHT, BHA
Katalaz	Serüloplazmin	Beta karoten	Troloks
Glutatyon peroksidaz	Bilirubin, Albumin	Askorbik asit	Askorbil Palmitat
Glutatyon redüktaz	Ferritin	Flavonoidler	Propil Gallat
Glutatyon-S-transferaz	Ürik Asit	-	Tersiyer Bütil, Hidrokinon

2.1.1.1. Sentetik Antioksidanlar

Gıda endüstrisinde, ürünlerin raf ömrünü uzatmak ve lipid peroksidasyonunu engellemek amacıyla antioksidan ilavesi zorunlu bir işlem basamağı haline gelmiştir. Bu süreçte, özellikle fenolik yapıları sayesinde güçlü antioksidan aktivite gösteren bütillenmiş hidroksi toluen

(BHT), bütillenmiş hidroksi anisol (BHA) ve tersiyer bütil hidrokinon (TBHQ) gibi sentetik bileşikler öne çıkmaktadır. Doğal antioksidanların yüksek maliyeti, üreticileri 20. yüzyılın başlarından itibaren daha ekonomik olan sentetik alternatiflere yöneltmiştir. Ancak son yıllarda yapılan ekonomik çalışmalar, bu sentetik maddelerin potansiyel kanserojen etkilerini ve toksisite risklerini ortaya koymuş, bu durum birçok ülkede kullanımlarının yasal mevzuatlarla sınırlandırılmasına veya yasaklanmasına neden olmuştur [13].

2.1.1.2. Doğal Antioksidanlar

Son yıllarda güvenilirlik profillerinin yüksek olması ve yan etkilerinin bulunmaması, doğal antioksidanların sentetik türevlere kıyasla daha fazla tercih edilmesini sağlamıştır. İnsan organizması, oksidatif strese karşı süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi endojen enzimatik sistemlerle sürekli bir savunma halindedir. Bu iç savunma mekanizması, diyet yoluyla alınan gıda kaynaklı antioksidanlarla desteklenerek güçlendirilir. Gıdalardaki antioksidanlar, doğal bileşenler olarak bulunabildiği gibi Maillard reaksiyonu gibi ısıl işlemler sonucunda oluşabilir veya ekstraksiyon yoluyla sonradan ilave edilebilirler. Bu gıdalarda baskın olan biyoaktif bileşenler genellikle fenolik yapılardır. Özellikle meyve ve sebzelerde bolca bulunan flavonoidlerin güçlü antioksidan aktivite gösterdiği bilinmektedir [14]. Tablo 2.2’ de de flavonoidlerin sınıflandırılması yer almaktadır.

Tablo 2.2: Flavonoidlerin sınıflandırılması [14].

Flavonoidler	Bulundukları Bazı Kaynaklar	Bileşenler
Flavonoller	Brokoli, soğan, karabuğday	Mirsetin, kaempferol, kuersetin
Flavanoller	Çikolata, kırmızı şarap, yeşil çay	Epigallokateşin, epikateşin, kateşin
Flavonlar	Maydanoz, kereviz, turunçgiller, domates	Apigenin, luteolin, naringenin, hisperidin
Antosiyanidinler	Kırmızı meyveler	Malvidin, pelargonidin, siyanidin
İzoflavonlar	Soya ve soya ürünleri	Genistein, daidzein

2.2. ANTİOKSİDAN KAYNAĞI BAZI TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLER

Bitki gelişimi; kuraklık, sıcaklık, tuzluluk ve yüksek ışık yoğunluğu gibi çevresel stres faktörlerinin doğrudan etkisi altındadır. Bu faktörler optimum tolerans sınırlarını aştığında bitkilerde yapısal, fizyolojik ve biyokimyasal değişimleri tetikleyen bir stres durumu meydana gelir. Bu süreçte bitkiler, hayatta kalabilmek adına savunma mekanizması olarak uçucu yağ, flavonoid, alkaloid, saponin ve tanen gibi sekonder metabolitler sentezlerler. Özellikle flavonoidlerin varlığı, bitkilerin yüksek antioksidan aktivite sergilemesinde kilit bir rol oynamaktadır [15].

Lamiaceae familyasına ait tıbbi ve aromatik bitkiler, serbest radikal süpürme kapasiteleri sayesinde oldukça güçlü antioksidan etkiler sunar. Biberiye yapraklarındaki rosmarinik asit ile adaçayındaki karnasol ve karnosik asit, bu bileşenlerin en karakteristik örnekleridir. Değerli bir uçucu yağ ve baharat bitkisi olan biberiye; karnosol, rozmanol, apigenin ve rosmarinik asit gibi zengin bir kimyasal kompozisyona sahiptir. Bu bileşenlerden karnosik asidin beyni serbest radikallere karşı koruduğu ve Alzheimer tedavisinde potansiyel bir yardımcı olabileceği

belirtilmektedir. Nitekim karnosol ve karnosik asidin membran lipid peroksidasyonunda BHA ve BHT gibi sentetik antioksidanlardan daha yüksek aktivite sergilediği rapor edilmiştir [16].

Adaçayı türlerinde ise fenolik asitler ve flavonoidler dahil olmak üzere 160' ın üzerinde polifenolik bileşen tanımlanmıştır. Bu türlerin antioksidan kapasitesi; içerdikleri kafeik asit türevleri, luteolin, apigenin ve kuersetin gibi maddelerin yanı sıra uçucu yağlarındaki α-thujon ve 1,8-sineol bileşenlerinden kaynaklanmaktadır. Benzer şekilde, Türkiye' de doğal olarak yetişen oğul otu hem uçucu yağındaki sitronellal hem de yapısındaki rosmarinik asit ve gallik asit sayesinde yüksek yağlı gıdalarda oksidasyonu önleyici bir doğal koruyucu olarak değerlendirilmektedir [17].

Nane türleri, uçucu yağlarındaki mentol ve menton oranına bağlı olarak kalite ve tıbbi değer kazanmaktadır. Nanenin flavonoid glikozitleri ile desteklenen yapısı; gıda ve kozmetik sanayiinde spazm giderici ve ferahlatıcı etkileriyle geniş bir kullanım alanı bulmaktadır [18]. Kekik türlerinde ise antioksidan aktivite, ana bileşikler olan timol ve karvakrol ile ilişkilidir. Bu bileşenler gıdalarda bozulmayı engellerken, insan sağlığında antibakteriyel ve antifungal amaçlarla kullanılmaktadır [19]. Maydanozgiller familyasından olan dereotu ise meyvelerindeki karvon ve limonen sayesinde sakinleştirici ve spazm çözücü etkiler sunan bir diğer önemli aromatik bitkidir [20].

Yeşil çay, fermente edilmemiş yapısı ve içerdiği epigallokateşin gallat gibi kateşin türevleriyle en güçlü antioksidan kaynaklarından biri olarak kabul edilir. Bu polifenoller, reaktif oksijen türlerini bağlamanın yanı sıra hücre içindeki endojen antioksidan enzimlerin sentezini tetikleyerek dolaylı bir koruma da sağlar [21]. Alıç ise meyve ve çiçeklerindeki yüksek flavonoid ve oligomerik proantosiyanidin içeriğiyle kardiyovasküler sistem üzerinde koruyucu etkiler sergilemekte, kalp kaslarını güçlendirerek serbest radikal hasarını önlemektedir [22].

Süper meyve olarak nitelendirilen likapa; klorojenik asit, resveratrol ve yüksek oranda antosiyanin içermesi nedeniyle olağanüstü bir antioksidan potansiyele sahiptir [23]. Likapa ekstrelerinin lipid peroksidasyonunu ve DNA hasarını azalttığına dair bulgular, bu meyvenin oksidatif stresle ilişkili patolojilerdeki önemini vurgulamaktadır [24]. Son olarak çörekotu, uçucu yağındaki timokinon bileşiği sayesinde benzersiz bir antioksidan profil sunar [25]. Timokinonun serbest radikalleri inhibe etmedeki başarısı, bu bitkiyi hem geleneksel tıpta hem de modern gıda koruma stratejilerinde vazgeçilmez kılmaktadır [26].

2.3. DEFNE (*Laurus nobilis* L.)

Defne yaprağı veya ağacı, Lauraceae familyasından olup *Laurus nobilis* L. olarak adlandırılan bir mutfak bitkisi olarak bilinir. Akdeniz ikliminin bitkisidir ve dünyanın birçok yerinde yetiştirildiği bilinmektedir. Gerçek defne yaprağı, koku ve lezzet olarak farklıdır. Bunun sebebi gerçek defne yaprağının bazen Hint defne yaprağı, Endonezya defne yaprağı ve Kaliforniya defne yaprağı gibi türlerle karıştırılmasıdır. Antik çağlara bakıldığında defne, dekoratif amaçlarla kullanılırdı ve koruyucu bir gücünün olduğuna inanılırdı. Hatta bu sebepten ötürü yıldırım çarpmasını önlemek için evin yakınına defne ağacı dikilirdi. Defne yaprağı; Türkiye, İtalya ve Fransa gibi ülkelerin mutfak kültürünün oluşmasına büyük katkısı olmuştur. Yemeğin cinsine bağlı olarak değişmekle birlikte genel olarak bir kurutulmuş defne yaprağı şeklinde kullanılır (yaklaşık 200 mg). Özel yemeklere ise Fransa' ya özgü ratatouille, İtalya' ya özgü ballocioli, Yunanistan' a özgü stiphado örnek verilebilir. Defne yaprağı, yemek dışında parfüm endüstrisinde de özel kokusuyla karşımıza çıkmaktadır. Yapraklarından damıtılan uçucu yağ, 1,8-sineol veya okaliptol ağırlıklı olmak üzere çeşitli fitokimyasallar içerdiği bilinir. Yaprağın biyolojik aktivitesi, yetiştiği koşullara göre değişiklik gösterebilmektedir. Defne yaprağı solunum bozuklukları ve enfeksiyonları, gastrointestinal rahatsızlıklar ve düzensizlikler, ishal ve amenore tedavisi ile kusturucu, uyarıcı ve idrar söktürücü olarak kullanımlarıyla sağlık alanında da yaygın olarak kullanılmaktadır [27].

2.3.1. Defne Yaprağının Kökeni

Akdeniz bölgesine özgü bir bitki olarak karşımıza çıkmaktadır. Eski zamanlarda baharat ve ilaç olarak kullanılmıştır. Yunan mitolojisinde kutsal sayılan defne, kendisinden yapılan bir çelenk almak onur kabul edilirdi. Olimpiyat kazananlar, birinci olanlar bu tacı takarlardı ve bu gelenek Romalılar tarafından da geçmiş zamanda benimsenmiştir [28]. Laurus isminin hikayesi, Latince kelime olan laureola ifadesinden gelmektedir. Tarihsel yayılışı ise Romalılardan başlamış, daha sonrasında Avrupa' ya, devamında ise tüm Dünya' ya dağılmıştır. Günümüzde ise en çok Akdeniz bölgesinde, ABD coğrafyasında ve Rusya' da yetiştirilmektedir.

2.3.2. Botanik Sınıflandırma

Defne, Lauraceae (Defnegiller) familyasına mensup bir bitkidir. Ayrıca Apollon defnesi olarak da isimlendirilir. Laurales (Defneler takımı) yaklaşık 3000 türü içerisinde barındıran büyük bir takımdır. Bu takımın içerisindeki önemli bir yere sahip olan Lauraceae ailesi yaklaşık 2500-3500 arası türe sahiptir [29]. İçerisinde yer alan Laurus cinsi; *Laurus azorica*, *Laurus nobilis* ve *Laurus novocanariensis* olmak üzere üç ana türü kapsamaktadır. Defnenin botanik sınıflandırması Tablo 2.3' te gösterilmiştir.

Tablo 2.3: Defne bitkisinin botanik sınıflandırması [30]

Krallık	Plantae
Hükümdarlık altında	Vascular plants
Dal	Spermaphytes
Alt Dal	Angiosperms
Sınıf	Dicotyledonous
Alt Sınıf	Magnolideae
Takım	Laurales
Aile	Lauraceae
Cins	Laurus
Tür	Laurus nobilis L.

2.3.3. Defne Yaprağının Botanik Tanımlaması

Defne, 12 metre uzunluğuna kadar büyüyebilen yeşil bir çalı veya ağaçtır. Genellikle kültür ortamında 2-3 metre budama işlemi yapılır. Gövdesinin ve dallarının kabuğu siyaha yakın bir renktedir. Yapısı incelendiğinde üst kısmının koyu yeşil, alt kısımlarının daha açık renkte olduğu görülür. Yaprakları mızrak şeklinde olup sivri uca sahiptir. Yaprak kenarları biraz kalın

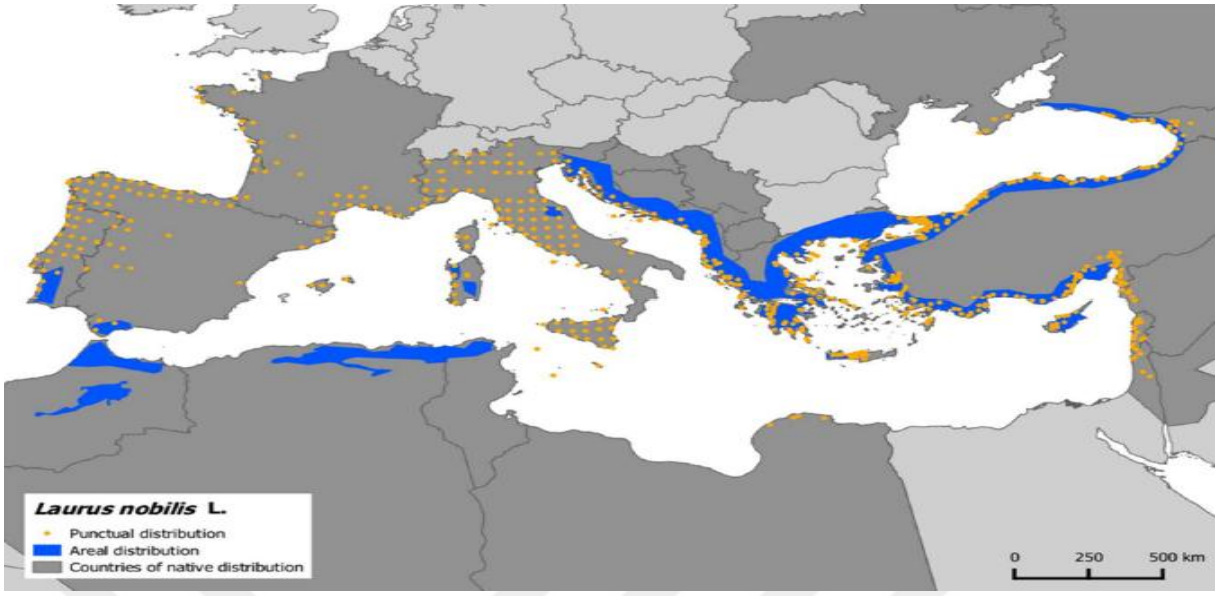
ve iç tarafa doğru kıvrıktır. Yaprakların genişliği yaklaşık 3-5 cm ve uzunluğu ise 10 cm' dir. İlk zamanlarda tüylü görünen yapraklar, daha sonrasında tüysüz bir görünüm kazanırlar. Defnede erkek ve dişi çiçekler ayrı bitkilerde bulunurlar. Çiçeklenme zamanı Mart ile Mayıs aralığıdır. Rengi yeşilimsi beyaz gibidir. Lauraceae familyasının diğer türleriyle kıyaslandığında bu türün çiçeği ikili yapıdadır. Meyvesi incelendiğinde 10-15 mm uzunluğunda, yumurta şeklinde ve olgunlaştığında mor-siyah arası bir renge sahip olur. Dıştan içe perikarp, mezokarp ve endokarp olmak üzere üç tabakadan oluşur. Yağ bakımından zengin tek bir tohuma sahiptir. Meyveler, ilkbahara kadar bitki kıvamında kalır ve bu dönem içerisinde yeni çiçeklenmeler görülebilir [31]. Şekil 2.1' de defne yaprağının görseli bulunmaktadır.



Şekil 2.1: Defne bitkisinin görünümü [32]

2.3.4. Defne Yaprağının Coğrafi Dağılımı

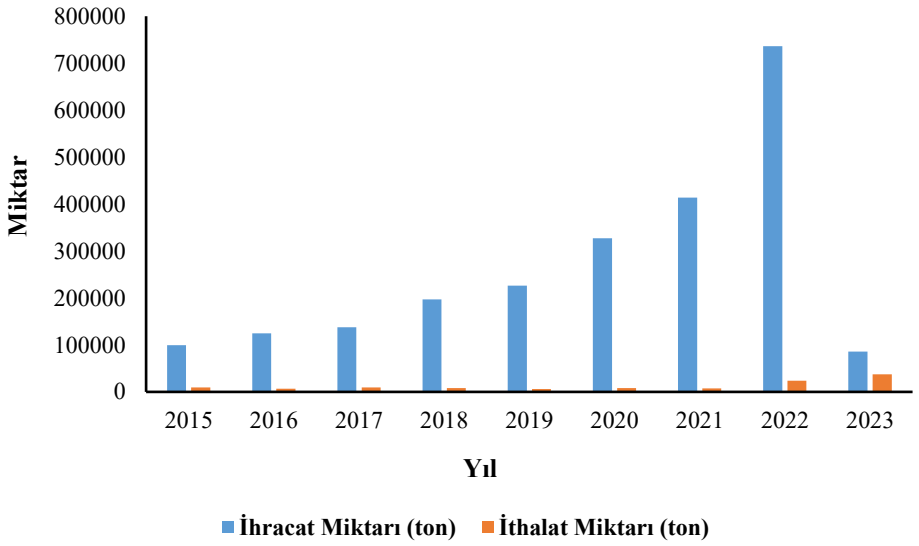
Defne, Dünya' nın birçok yerinde yetiştirilebilmektedir (Şekil 2.2). Nemli, pH seviyesi 4,5-8,2 arasında tutulan, iyi drene edilmiş şartlarını taşıyan yerlerde yetiştirilebilme koşulları elverişlidir [33]. Defnenin çoğunlukla yetiştirildiği yerler aşağıdaki görselde belirtilmiştir. Bu yerlere örnek vermek gerekirse; Türkiye, Avustralya, Amerika kıtasının bir bölümü, Portekiz, Cezayir, Yunanistan, Fas gibi birçok ülke söylenebilir [34].



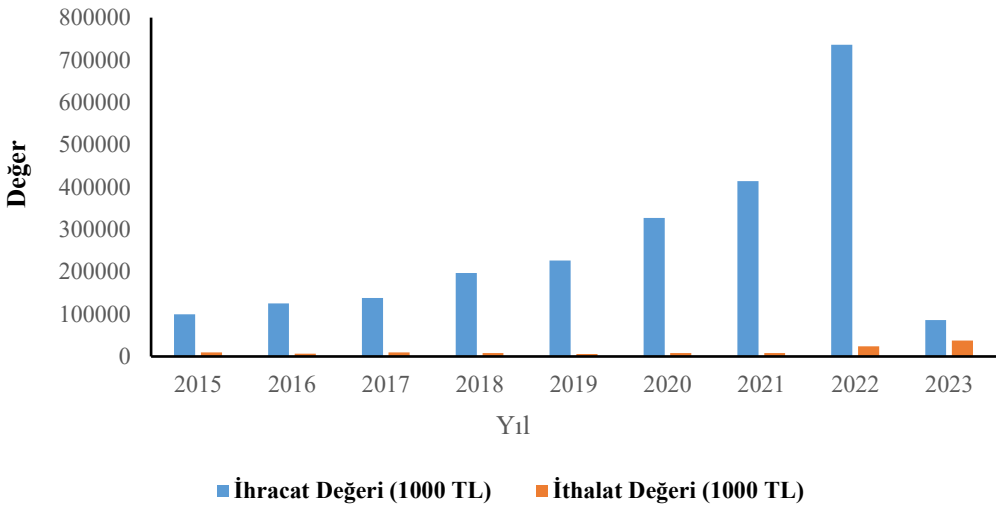
Şekil 2.2: Defne yaprağının coğrafi dağılımı [35]

2.3.5. Defne Yaprağının Türkiye' deki Durumu

Defne yaprağı, ülkemizde daha çok Ege ve Akdeniz bölgesinde İzmir, Antalya, Muğla ve Hatay taraflarında; Marmara bölgesinde ise Balıkesir ve Bursa taraflarında yayılış göstermektedir [36]. Şekil 2.5 ve Şekil 2.6' da ülkemizdeki envanter dağılımı ton ve Ha cinsinden gösterilmiştir [37]. Şekil 2.7' de ise ülkemizdeki toplama noktaları harita üzerinde belirtilerek gösterilmiştir. Türkiye' de üretimi yapıldığı kadar aynı zamanda dışarıya ihracat anlamında da önemli bir payı bulunmaktadır [38]. Orman Genel Müdürlüğü verilerine bakıldığında 2019-2024 yılları arasında 206502 ton defne yaprağı üretimi yapılmıştır. Aşağıdaki şekillerde gerçekleştirilen ihracat, ithalat miktarları ve değerleri ton ve TL cinsinden gösterilmiştir (Şekil 2.3 ve Şekil 2.4). Şekillere de bakıldığında ithalata göre ihracat tarafında daha üst seviyelerde olduğu görülmektedir. İhracat ise özellikle ABD, Rusya, İngiltere, Hollanda gibi ülkelere yapılmaktadır [39].



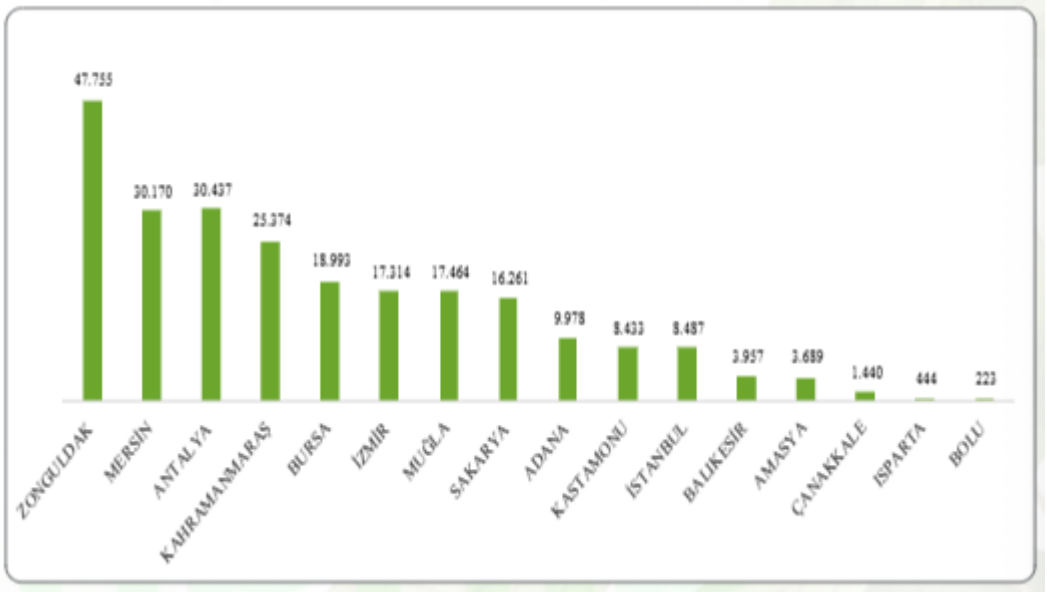
Şekil 2.3: İhracat ve ithalat miktarları (1000 ton) [39]



Şekil 2.4: İhracat ve ithalat değerleri (1000 TL) [39]



Şekil 2.5: Defne envanter miktarı (Ton) [37].



Şekil 2.6: Defne envanter miktarı alan (Ha) [37].



Şekil 2.7: Popülasyon toplama noktaları [40]

2.3.6. Defne Yaprağını İşleme

2.3.6.1. Defne Yaprağının Hasadı

Defnenin yapraklarının yeşil rengini uzun süre boyunca kaybetmemesi sayesinde hasadı yıl boyunca gerçekleşebilir. Akdeniz bölgesi için en iyi zaman dilimi sonbahardır. Balkan taraflarında hasat zamanı Ağustos-Ekim aralığında gerçekleşirken, Portekiz ve Fas' ta bu zaman dilimi Temmuz-Ağustos aralığındadır. Hasadın yapılacağı zaman özellikle yağmurun şiddetli olmadığı, nemin yüksek olmadığı zamanlar olmalıdır. Çünkü bu etkenler ürün kalitesini bozabilir. Defne yapraklarının toplanması klasik yöntemle gerçekleşir. Genel olarak elle veya tırmık gibi aletlerle bu işlem yapılır [41].

2.3.6.2. Defne Yaprağının Kurutulması

Gıdaları muhafaza etmek için kullanılan en klasik yöntem kurutmadır. Kurutma, kimyasal ve enzimatik reaksiyonları en aza indirme amacıyla gerçekleştirilen bir işlemdir. Kurutma işlemi sayesinde gıdaların kullanılabilirlik süresi artmaktadır. Ayrıca taze bitkinin içerdiği yüksek su kapasitesi tedarik konusunda sıkıntılar çıkartır ve bu nedenle bu suyun dehidrasyon yoluyla giderilmesi bitkiyi muhafaza eder ve daha kolay insanlara ulaştırılmasını sağlar [42].

Defne yaprağı üreticileri, hasat yapıldıktan sonra yaprakları yıkar ve daha sonrasında kurutma işlemine geçerler. Yapraktaki nem seviyesi, kurutma ile beraber %10' dan daha az seviyelere

düşürülür. Kurutma işleminin çeşitleri vardır. Örneğin; güneşte kurutma, gölgede kurutma veya sıcak havada kurutma işlemi gerçekleştirilebilir. Güneşte kurutma yaprak kalitesini de olumsuz etkileyebileceğinden gölgede veya sıcak havada kurutma yapmak kaliteyi korumada daha doğru bir seçenektir. Son zamanlarda ise teknolojiyle beraber fırın ve mikrodalga ile kurutma gibi seçenekler daha çok popüler hale gelmiştir. Bu süre olarak da tasarruf sağlamaktadır [43].

2.3.7. Defne Yaprağının Bileşim ve Besin Değeri

Defne yaprağı, acı bir tada sahiptir. Yapraklardaki uçucu yağların varlığından dolayı koku ve aromasında farklılıklar mevcuttur [44]. Uçucu yağları 140’ tan fazla bileşen içermektedir. Defne yapraklarında üç polisakkarit, üç organik asit ve dört şeker türü tespit edilmiştir. Polisakkarit olarak aljinat, fukoidin ve laminaran; organik asit olarak oksalik asit, malik asit ve askorbik asit; şeker olarak ise glukoz, fruktoz, trehaloz ve sükroz bulunmaktadır. Çeşitli yağ asitleri bulundururlar. Bunların başında palmitik asit gelir, onu ise linoleik asit takip eder [45]. Defne yaprağı ve tohumlarında tokoferoller de bulunur. Yapraklarda en bol bulunanları α ve γ-tokoferolleri, tohumlarında baskın olanı ise β-tokoferoldür. Hem yaprakta hem tohumda sayıca az bulunanı ise δ- tokoferoldür [46]. Laurus nobilis yapraklarının içeriğinin tablosu aşağıda belirtilmiştir (Tablo 2.4).

Tablo 2.4: Defne yaprağının besin değeri [41]

Bileşen	100 g Kuru Madde Başına Değer
Su (g)	5,44
Enerji (kcal)	313
Protein (g)	7,61
Karbonhidratlar (g)	74,96
Kül (g)	3,62
Yağ (g)	8,36
Toplam doymuş yağ asitleri (g)	2,28
Toplam tekli doymamış yağ asitleri (g)	1,64
Toplam çoklu doymamış yağ asitleri (g)	2,29
Kalsiyum (mg)	834
Demir (mg)	43
Magnezyum (mg)	120
Fosfat (mg)	113
Potasyum (mg)	529
Sodyum (mg)	23
Çinko (mg)	3,70
Folat (µg)	180
Niasin (mg)	2,005
Riboflavin (mg)	0,421
Tiamin (mg)	0,009
Vitamin A, IU (IU)	6185
Vitamin A (µg)	309
Vitamin B (mg)	1,740
Vitamin C (mg)	46,5
Vitamin E (mg)	139

2.4. DEFNE YAPRAĞININ BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİ

Antioksidanı, oksitlenebilir substratın oksidasyonunu önleyen herhangi bir madde olarak tanımlanır. Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olabilirler. Reaktif oksijen türlerinin etkisini minimum seviyeye indirirler veya tamamen etkisiz hale getirirler [47].

Reaktif oksijen türleri de endojen veya eksojen kaynaklı olabilirler. Mutajenik ve sitotoksik etkileri sebebiyle hasara sebebiyet verebilirler. Bu anlamda antioksidanların varlığı önem taşımaktadır [48].

2.4.1. Uçucu Yağlar

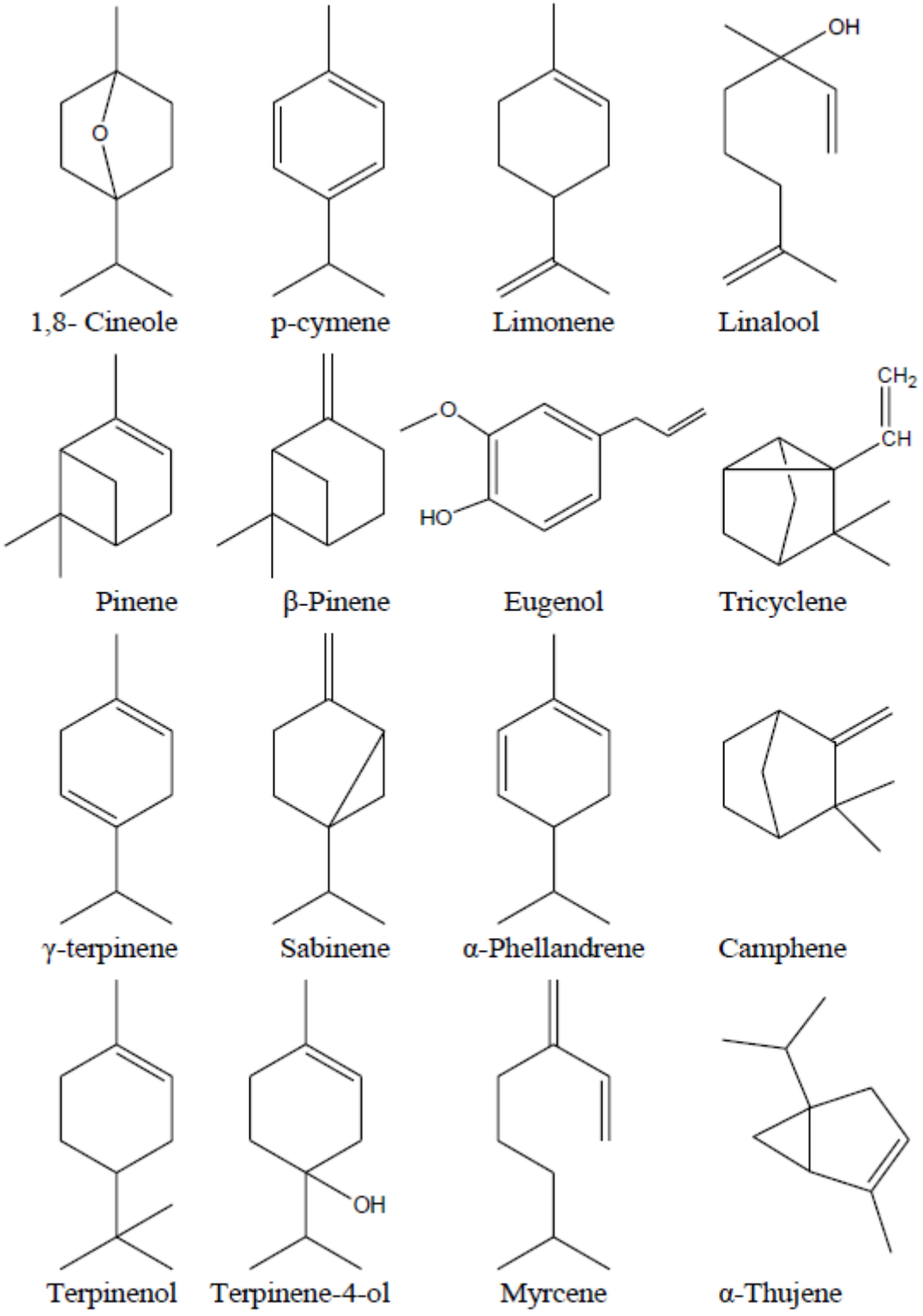
Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi yöntemi ile defne yaprağı uçucu yağında 150' den fazla bileşen tespit edilmiştir. Bu bileşenlerin içerisinde genel olarak görülen ana bileşen 1,8-sineol'dür. Görülen diğer ana bileşenler ise a-pinen, β-pinen, linalol, sabinen ve limonendir. Uçucu yağ bileşikleri Şekil 2.8' de gösterilmiştir. Yapraklar dışında bitkinin diğer kısımları da bazı araştırmalarla incelenmiştir. Meyveler konusunda Abu-Dahab ve ark. [49], tohumlar konusunda Zolfaghari ve ark. [50], çiçekler konusunda ise Moghtader & Salari [51] birtakım araştırmalarla defnedeki uçucu yağ dağılımını çalışmışlardır. Chalchat ve ark. [52] ise meyve kısımlarındaki uçucu yağın ana bileşenlerini tespit etmiştir.

Defne yapraklarının baharat aromasının kaynağı, içerisinde yer alan öjenol, metil öjenol ve elemisin bileşikleridir ve bu yaprakların kalitesinin belirlenmesinde önemli ölçütlerdir [53]. Bu uçucu yağın, birçok gıda maddesinin koruyucusu olarak da kullanıldığı görülmüştür [54].

2.4.2. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler veya diğer bir adıyla polifenollerin hepsinin ortak bir noktası vardır. Bu da bileşene göre değişebilen hidroksi fonksiyonu taşıyan 6 karbon atomuna sahip aromatik halkadır [55]. Defne yaprağının içerisinde yer alan flavonlar ve flavonoller, antioksidan özellik göstermesini sağlamaktadır.

Fenolik bileşiklerin hidroksil grupları, serbest radikal temizleme sağladığından önemlidir [56]. Gıda kalitesini ve besin içeriğini arttırdığından fenolik bileşeni zengin olan bitkilerin daha fazla tercih edildiği görülmektedir [57]. *Laurus nobilis*; fenolik asit, lignan, tanen, flavonoid dahil olmak üzere bütün fenolik grupları içerir.



Şekil 2.8: Uçucu yağ bileşikleri [46]

2.4.2.1. Flavonoidler

Flavonoidler, doğal olarak meydana gelen 6000’ den fazla sayıda bulunan bir gruptur. Bunlar, bitkilerin renklerinden sorumlu pigmentlerdir [58]. Flavonoidlerin antioksidan aktiviteleri, hidroksil gruplarının reaktivitesine bağlıdır.

Flavonoidler, oksitleyici moleküllerin önemli temizleyicileri olarak bilinirler [59]. Flavonoid ve türevlerinin insan sağlığı konusundaki olumlu etkileri, yapılan araştırmalar ve çalışmalarla saptanmıştır [60]. Flavonoidler, defne yaprağını ekstrakte ettiğimizde ortaya çıkan ana bir fenolik bileşendir. Flavonoller ve flavonlar ise bu ekstraktlarda ortaya çıkan ana flavonoidlerdir.

2.4.2.2. Proantosiyanidinler

Proantosiyanidinler, bir diğer adıyla kondanse tanenler, flavan polimerleridir. Bu sekonder metabolitler önemli antioksidan etkinliğine sahiptirler. Diyet programlarında sıkça yer alırlar. Defne yaprağının proantosiyanidin içeriği Vinha ve ark. [61] tarafından yapılan araştırmayla incelenmiştir. Bu araştırma ile beraber defne yaprağında en bol bulunan proantosiyanidin bileşiğinin dimerik proantosiyanidin olduğu anlaşılmıştır.

2.4.2.3. Diğer Fenolik Bileşikler

Defne yaprağı incelendiğinde tespit edilen diğer fenolik bileşiklerin kumarik asit ve kafeik asit türevleri olduğu görülmüştür. Ayrıca yapılan başka bir araştırmada ise defne yapraklarının hidroalkolik ekstraktından dört lignanın da izole edilebildiği görülmüştür [45].

2.4.3. Alkaloidler

Büyük bir çoğunluğu bitki kökenli olan bir grup sekonder metabolit olarak bilinirler. Alkaloidler, kimyasal olarak çoğunlukla heterosiklik olan azot bazlı moleküller olarak karşımıza çıkar. Bitkilerden on binden fazla alkaloid izole edildiği görülmüştür. Alkaloidler; anktioksidan, antikanser ve antibakteriyel gibi birçok biyolojik aktiviteye sahiptirler. Asil defne yapraklarından izole elde edilen alkaloid sayısı 10’ dur (1-10). Bunlardan beşi (2, 4, 6, 8, 9) noraporfin, dördü (3, 5, 7, 10) aporfin ve sonuncusu (1) ise benzil-tetrahidro-izokinolin

tipindedir. Gövde ve köklerin kabuğunda 1, 4 ve 8 numaralı bileşikler yer almaktadır. Defne yapraklarının ana alkaloidi Noraporfin 4' tür [62].

2.5. DEFNE YAPRAĞI'NIN GELENEKSEL KULLANIMLARI VE TERAPÖTİK ETKİLERİ

Genellikle mutfak alanında kullanımı daha çok bilinen defnenin başka alanlarda da kullanımı aslında yaygındır ki uluslararası alanda ticareti de devamlı olarak yapılmaktadır. Türkiye bu noktadaki potansiyeliyle ve gücüyle en büyük ticaret zincirinin merkezinde yer almaktadır [63].

2.5.1. Tıbbi Kullanımlar

Birçok hastalığın tedavisinde bitkisel tıp dediğimiz alanda karşımıza çıkan defne yapraklarının anti-ishal, anti-diyabetik ve anti-enflamatuar aktiviteye sahip oluşu; bağışıklık sistemine direkt olarak katkı vermesi ve hastalıklardan korunmada ciddi fayda sağlamaktadır. Vücuttaki birçok reaksiyona etki edebilen bu yapraklar, çok sayıda molekül içerir [64]. Defne yaprağının uçucu yağı aynı zamanda antikonvülsan ve analjezik aktiviteye de sahiptir [65]. Bu yaprakların migren ve diyabet tedavisinde de faydalarının olduğu yapılan çeşitli araştırmalarla desteklenmiştir [66]. Bunların dışında da soğuk algınlığı, baş ağrısı, katarakt gibi birçok hastalığa da iyi geldiği bilinmektedir.

Defne yaprakları, kanser hücrelerinin büyümesine engel olarak hastalığın erken aşamada sonlanmasında son derece etkilidir. Genel olarak da A vitamini eksikliğinden kaynaklanan rahatsızlıkların tedavisinde sıkça kullanılmaktadır [53].

2.5.2. Mutfak Kullanımları

Bitkilere baktığımızda birçoğunun duruma göre değişmekle birlikte çiçek, yaprak, kabuk, sap gibi kısımlarının baharat olarak günlük hayatta kullanılıp tüketildiği görülmektedir. Taze defne yaprakları acı olduğundan dolayı önce kurutma işlemine tabi tutulur. Daha sonrasında toz haline getirilerek endüstriyel alanda kullanılmaktadır [67].

2.5.3. Kozmetik Kullanımlar

Defne, yapraklarından elde edilen uçucu yağ ile endüstride parfüm, sabun, krem gibi ürünlere koku kazandırılmasında etkilidir [31]. Örneğin; Suriye' de yaygın olarak bilinen Halep sabununun ana bileşenidir [28].

2.5.4. Farmakolojik Kullanımlar

Yapılan araştırmalar ve çalışmalar, defne yapraklarının farmakolojik alanda birçok etkisinin olduğunu göstermiştir. Elmastaş ve arkadaşları [68], defne yapraklarının ekstraktlarını incelediğinde güçlü antioksidan aktivite gösterdiğini araştırmasıyla ortaya koymuştur. Khan ve arkadaşları [69], defne yaprağını kullandığı çalışmasında 30 günlük tedavi sürecinden sonra serum glikoz seviyesinin önemli ölçüde azaldığını gözlemlemiştir. Al Chalabi ve arkadaşları [70], defne yaprağının içerisinde bulunan fenolik içeriklerin açlık kan glikoz seviyesini ciddi derecede düşürdüğünü belirlemiştir. Duletic-Lausevic ve arkadaşları [71] tarafından ortaya konan çalışmada ise *Laurus nobilis* yapraklarının fenolik ekstraktlarının α-glukozidaz etkinliğini yüksek seviyede inhibe ettiğini tespit etmiştir. Gasparyan ve arkadaşları [72], yaptıkları çalışmada defne bitkisindeki fenolik içeriklerin sıçanların neden olduğu metabolik problemlere karşı koruma sağladığını gözlemlemişlerdir. Khaled Khodja ve arkadaşları [73], defne yapraklarının güçlü antibakteriyel etki gösterdiğini yaptıkları çalışmayla göstermişlerdir. Peixoto ve arkadaşları [74], defnenin uçucu yağının Candida türlerine karşı önemli ölçüde antifungal aktivite gösterdiğini tespit etmiştir. Böcek öldürücü aktivite gösterdiğine yönelik ise Jemaa ve arkadaşları [75], Erler ve arkadaşları [76] çalışmalar ortaya koymuştur.

2.6. YAN ETKİLER VE TOKSİSİTE

Defne yaprağı, yapısı gereği öğütülmüş olarak tüketilmektedir. Fakat bütün yaprak, hacminden dolayı sindirilememektedir. Defne yaprağı, kan şekeri kontrolünü etkileyebilir ve diyabet tedavisinde kullanımı esnasında tehlike arz edebilir. Merkezi sinir sistemi (MSS) fonksiyonlarını yavaşlatabilir. Anestezi, ameliyat ve başka ilaçlarla beraber kullanıldığında MSS' ye daha fazla olumsuz etki bırakabilir. Ameliyatın planlı olması ve ameliyattan en az 2 hafta önce olmak koşuluyla defne yaprağını ilaç olarak tüketmeyi bırakmak tavsiye edilmektedir [53].

2.7. FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONU

Teknolojik ilerlemelerle paralel olarak gelişim gösteren gıda endüstrisinde, değişen tüketici bilinci ve talepleri doğrultusunda doğal içerikli gıdalara yönelik ilgi her geçen gün artmaktadır. Bu süreçte üretim aşamalarında kullanılan sentetik katkı maddelerinin yerini doğal alternatiflerin alması, bitkisel kaynaklardan elde edilen fenolik bileşiklerin gıda sanayii için stratejik bir öneme sahip olmasına yol açmıştır. Söz konusu bileşiklerin doğal birer gıda katkı maddesi olarak fonksiyonellik kazanabilmesi; etkili bir ekstraksiyon işlemiyle doğru bir şekilde tanımlanmalarına ve izole edilmelerine bağlıdır. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimi ve elde edilen özütün kalitesi üzerinde; kullanılan çözücünün türü ve konsantrasyonu, örneğin partikül boyutu, katı-sıvı oranı, işlem süresi ve sıcaklık gibi parametreler belirleyici rol oynamaktadır [77,78].

Fenolik bileşiklerin bitkisel matrislerden geri kazanımında, klasik katı-sıvı sürekli ekstraksiyon (Soxhlet) yönteminin yanı sıra ultrason destekli, mikrodalga destekli ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu gibi çeşitli modern tekniklerden yararlanılmaktadır. Yeşil biyo-rafine teknolojiler çatısı altında toplanan bu yenilikçi yaklaşımlar; ekstraksiyon verimini arttırmaları, işlem sürelerini minimize etmeleri, enerji ve çözücü sarfiyatını azaltmaları gibi sürdürülebilir avantajları sayesinde modern gıda araştırmalarında geleneksel yöntemlerin önüne geçmektedir [79].

2.7.1. Katı-Sıvı Sürekli Ekstraksiyon (Soxhlet Ekstraksiyonu)

Katı-sıvı sürekli ekstraksiyon metodolojisi, meyve ve sebze matrislerinden fenolik bileşiklerin izole edilmesinde geleneksel ve yaygın başvurulan bir tekniktir. Bu prosedürde genellikle metanol, etanol ve aseton gibi çözücüler; saf formda, farklı konsantrasyonlardaki karışımlarda veya su ile kombine edilerek tercih edilmektedir [80]. Soxhlet ekstraksiyonunun temel prensibi, çözücünün kaynama noktasına kadar ısıtılarak buharlaştırılması ve ardından yoğunlaşan buharın damlacıklar halinde numune üzerine geri dönmesi esasına dayanır. Sifon mekanizması sayesinde sistem dolana kadar hedef bileşikler çözücü fazına geçer ve bu döngü genellikle birkaç saat boyunca kesintisiz sürdürülür. Bu süreçte ekstraksiyon verimliliğini belirleyen en kritik parametre kullanılan çözücünün polaritesidir; ancak yöntemin yüksek miktarda çözücü gerektirmesi ve işlem süresinin uzunluğu, modern çalışmalarda en büyük dezavantajları olarak nitelendirilmektedir [81,82].

Tarihsel süreçte temel olarak lipit ekstraksiyonu amacıyla geliştirilen Soxhlet düzeneği, zamanla farklı organik bileşiklerin geri kazanımında da geniş bir uygulama alanı bulmuştur. Örneğin, Alara ve arkadaşları [83] tarafından yürütülen bir araştırmada, Asteraceae familyasına mensup *Vernonia cinerea* (sahadevi) bitkisinin yapraklarından fenolik bileşiklerin eldesinde bu yöntemden yararlanılmıştır. Söz konusu çalışmada; ekstraksiyon süresi, katı-sıvı oranı ve etanol konsantrasyonu gibi değişkenlerin, toplam fenolik madde ve flavonoid verimi üzerinde doğrudan etkili olduğu saptanmıştır. Elde edilen ekstraktların, askorbik asit referansıyla kıyaslandığında oldukça güçlü bir antioksidan potansiyel sergilediği rapor edilmiştir [82,83].

Öte yandan, zeytin yaprakları gibi yüksek katma değerli fenolik bileşikler açısından zengin kaynaklar üzerinde yapılan çalışmalar, yöntemsel tercihlerin verimlilik üzerindeki kritik önemini ortaya koymaktadır. Zeytin yaprağı ekstraktlarının kompozisyonu ve biyoaktif kapasitesini, uygulanan ekstraksiyon tekniğine bağlı olarak belirgin farklılıklar gösterebilmektedir. Nitekim Lama-Muñoz ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir kıyaslama çalışmasında, Soxhlet ekstraksiyonunun; basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PLE) yöntemiyle karşılaştırıldığında hem toplam fenolik ve flavonoid miktarı hem de elde edilen ürünün antioksidan kapasitesi bakımından daha düşük verimli sonuçlar verdiği tespit edilmiştir [84].

2.7.2. Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Geleneksel ekstraksiyon teknikleri, genellikle uzun işlem süreleri gerektirmeleri ve yüksek sıcaklıklarda gerçekleştirilmeleri nedeniyle, elde edilen fenolik bileşiklerin hem kalitesi hem de miktarı üzerinde termal bozunma gibi olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Bu kısıtlamalar, biyoaktif bileşenlerin verimliliğini ve saflığını koruyacak yenilikçi teknolojilere olan ihtiyacı arttırmıştır. Bu doğrultuda geliştirilen ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) yöntemi; yüksek verim sunması, işlem süresini önemli ölçüde kısaltması ve çözücü sarfiyatını minimize ederek maliyet etkinliğini sağlaması gibi avantajlarıyla öne çıkan çevre dostu bir yaklaşımdır [85,86].

UDE yönteminin temel çalışma prensibi, ultrasonik dalgaların bitki matrisinde meydana getirdiği fiziksel değişimler ve hücresel tahribat aracılığıyla biyoaktif bileşenlerin çözücü fazına geçişini kolaylaştırmasına dayanmaktadır. 20 kHz üzerindeki frekanslarda üretilen ultrason enerjisi, ortamda kavitasyon kabarcıkları oluşturarak bitki hücreleri üzerinde mekanik ve termal etkiler yaratır; bu durum hücre duvarlarının parçalanmasını, dolayısıyla bileşiklerin difüzyon ve veya çözünme yoluyla çözücüye nüfuz etmesini hızlandırır [87,88,89,90]. Akustik dalgalar, ortamda ardışık seyrekleşme ve sıkıştırma alanları oluşturarak heterojen yapıyı şiddetli bir titreşime maruz bırakır. Yerel basıncın çözücünün buharlaşma basıncının altına düştüğü anlarda oluşan kavitasyon kabarcıkları, kritik bir boyuta ulaştıktan sonra hızla çöker. Bu mikro ölçekli çöküşlerin yarattığı şok dalgaları, bitki dokularında mikroskobik hasarlara yol açarak hücresel içeriklerin hızla salınmasını sağlar [91].

Literatürde çok sayıda çalışma, UDE' nin fenolikler, flavonoidler, timoller, saponinler ve proteinler gibi geniş bir biyoaktif sprektrumun ekstraksiyonundaki etkinliğini kanıtlamaktadır [92]. Örneğin, tropikal bölgelerde besleyici özellikleri için yetiştirilen elma guava yaprakları üzerinde yapılan araştırmalar; kateşin, kuersetin ve gallik asit gibi bileşenlerin geri kazanımında UDE' nin geleneksel yöntemlere kıyasla daha düşük maliyetli ve yüksek kaliteli sonuçlar verdiğini göstermiştir [93]. Benzer şekilde Hint inciri meyve ve çiçekleri üzerine yapılan çalışmalarda, UDE yönteminin maserasyon ve Soxhlet tekniklerinden çok daha yüksek verim ürettiği bildirilmiştir [94]. Yaban mersini posasından antosiyanin ve fenolik asit eldesinde de UDE' nin geleneksel çözücü ekstraksiyonuna göre üstünlük sağladığı tespit edilmiştir [95].

Meyve atıklarının değerlendirilmesi noktasında mandalina kabuklarından fenolik bileşik ve özellikle hesperidin eldesinde UDE' nin hem maserasyon hem de mikrodalga destekli ekstraksiyona göre daha başarılı sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir [96]. Aspir bitkisinin kök ve

yaprak kısımlarından bu yöntemle elde edilen özütlerin ise serbest radikalleri temizleme potansiyelinin oldukça yüksek olduğu saptanmıştır [97]. Pirinç tanelerinde bulunan fenolik asitlerin optimizasyonunda UDE' nin kullanılması, kromatografik analizlerde 15 farklı bileşiğin hassas bir şekilde tanımlanmasına imkân tanırken; lahanadan hiroksisinamik asit türevlerinin izolasyonunda da yöntemin hızı ve etkinliği HPLC analizleriyle doğrulanmıştır [98,99].

Son dönem araştırmaları, UDE' nin derin ötektik çözücüler gibi yeni nesil sistemlerle entegrasyonuna da odaklanmaktadır. Kırmızı ahududu üzerinde yapılan çalışmalarda; çözücü konsantrasyonu, sıcaklık ve süre gibi parametrelerin optimize edilmesiyle toplam fenolik ve antosiyanin içeriğinin maksimum düzeyde ekstrakte edilebildiği görülmüştür [100]. Dünyanın en ağır meyvesi olarak bilinen jack meyvesi püresinde bulunan 35 farklı fenolik bileşiğin analizinde, aseton ve metanol eşliğinde uygulanan UDE işleminin 18 farklı bileşenin başarıyla izole edilmesini sağladığı belirlenmiştir [101]. Son olarak, Hindistan cevizi kabuğu gibi endüstriyel atıklardan biyoaktif bileşenlerin geri kazanımında UDE' nin, mikrodalga destekli yöntemlere kıyasla daha verimli bir alternatif olduğu saptanmıştır [102].

2.7.3. Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon (MDE); fenolik bileşikler, karbonhidratlar ve lipitler gibi çok çeşitli biyoaktif bileşenlerin izolasyonunda kullanılan, son derece verimli bir yöntemdir. Geleneksel tekniklere kıyasla uygulama kolaylığı, yüksek ekstraksiyon verimi, enerji tasarrufu ve işlem süresini kayda değer ölçüde kısaltması gibi avantajları, bu yöntemi modern araştırmalarda ön plana çıkarmaktadır [103]. Frekans aralığı 300 MHz ile 300 GHz arasında değişen elektromanyetik dalgalar olarak tanımlanan mikrodalgalar, hedef materyalde iyonik iletim ve dipol rotasyonu mekanizmalarını tetikleyerek hızlı bir ısınma sağlar. Özellikle polar çözücülerle birleştiğinde mikrodalga enerjisi, moleküler hareketi arttırarak gıda matrisine derinlemesine nüfuz eder ve biyoaktif bileşenlerin yapıdan ayrılma sürecini hızlandırır [104].

Bitki matrisinin mikrodalga ile ısıtılması sürecindeki temel mekanizma, hücre içindeki su moleküllerinin bu enerjiye verdiği tepkiye dayanmaktadır. Kurutulmuş bitki materyallerinde dahi hücre içinde var olan mikroskobik düzeydeki su, mikrodalga enerjisini absorbe ederek hızla ısınır ve hücre duvarı üzerinde yoğun bir iç basınç oluşturur. Bu lokal basınç artışı, hücre

duvarının içeriden zayıflamasına ve nihayetinde fiziksel olarak deforme olup kırılmasına yol açar. Hücre bütünlüğünün bozulmasıyla birlikte, hapsolmuş durumdaki biyoaktif bileşenler hızla hücre dışına çıkarak çözücü fazına geçerler. Bu aşamada kullanılan çözücüler, salınan bu bileşenleri absorbe ederek ekstraksiyon verimliliğini maksimize eden kritik bir taşıyıcı rolü üstlenmektedir [104].

MDE yönteminin etkinliği, farklı bitkisel kaynaklar üzerinde yapılan çok sayıda çalışma ile kanıtlanmıştır. Örneğin, anti-inflamatuar ve hipoglisemik özellikleriyle bilinen Surinam kirazı yapraklarından terapötik değeri yüksek fenoliklerin eldesinde MDE' nin hem kalite hem de verim açısından oldukça etkili olduğu saptanmıştır [105]. Benzer şekilde, kakao meyvesinin toplam ağırlığının büyük kısmını oluşturan ve protein, lipit, polifenol gibi değerli bileşenler açısından zengin bir atık olan kakao kabuklarının değerlendirilmesinde de MDE yöntemi; maserasyon ve geri akış gibi yöntemlere kıyasla çok daha üstün bir performans sergilemiştir [106].

Fındık yan ürünleri ve zeytin pirinası gibi endüstriyel atıkların katma değerli ürünlere dönüştürülmesinde de MDE teknolojisi stratejik bir öneme sahiptir. Fındık posasından fenolik bileşiklerin geri kazanımında bu yöntemin, bileşik yapısına minimum zarar vererek yüksek antioksidan kapasiteli ekstraktlar ürettiği görülmüştür [107]. Zeytin pirinası gibi işlenmesi zor yan ürünlerde ise MDE' nin sadece su kullanılarak uygulanabilmesi veya enzim ilavesiyle desteklenmesi, ekstraksiyon sıcaklığını ve süresini düşüren gelecek vaat eden bir yaklaşım olarak değerlendirilmektedir [108]. Ayrıca domates üzerinde yapılan bir karakterizasyon çalışmalarında, klorojenik asit gibi ana fenolik bileşenlerin izolasyonunda MDE' nin başarısı kromatografik olarak doğrulanmıştır [109].

Meyve atıklarının değerlendirilmesine dair bir diğer önemli örnek, mango kabuğu ve tohumlarıdır. Yapılan araştırmalarda, MDE işleminin mango atıklarından elde edilen toplam fenolik madde miktarını ve antioksidan kapasiteyi doğrudan arttırdığı belirlenmiştir [110]. Son olarak, kestane kabuklarından biyoaktif bileşenlerin ve melanin pigmentlerinin geri kazanımında MDE yönteminin; gallik asit ve epikateşin gibi bileşenlerce zengin, *Staphylococcus aureus*' a karşı antimikrobiyal etki gösteren özütlerin eldesine imkân tanıdığı görülmüştür. Bu durum, MDE' nin hem gıda hem de ilaç endüstrisi için doğal renklendirici ve koruyucu üretiminde ne denli güçlü bir araç olduğunu kanıtlamaktadır [111].

2.7.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SAE), biyoaktif bileşenlerin süperkritik koşullardaki bir akışkan içerisinde çözünmesi ve ardından sistem basıncının düşürülmesiyle çözücünün gaz fazına geçerek ayrılması prensibine dayanmaktadır [112]. Bu yöntem; düşük çözücü gereksinimi, enerji maliyetlerini minimize etmesi ve çevre dostu karakteriyle modern ekstraksiyon stratejileri arasında stratejik bir öneme sahiptir [113]. SAE uygulamalarında; düşük maliyeti, yanıcı olmaması ve diğer sıvılara kıyasla çok daha düşük bir kritik noktaya sahip olması nedeniyle çözücü olarak genellikle karbondioksit tercih edilmektedir. İnsan sağlığı ve çevre güvenliği açısından ideal bir seçenek olan CO_2, ortam sıcaklığı ve basıncında gaz fazında bulunduğu için basınç değişimiyle birlikte ekstrakttan hiçbir kalıntı bırakmadan kolayca uzaklaştırılabilmektedir. Saf CO_2' nin düşük polariteye sahip olması her ne kadar bir dezavantaj teşkil etse de sistem düşük konsantrasyonlarda etanol, metanol veya su gibi yardımcı çözücülerin eklenmesiyle bu sorun aşılmakta ve hedeflenen bileşiklerin geri kazanım verimi arttırılmaktadır [114].

Günümüzde bilimsel araştırmaların odak noktası, yüksek antioksidan aktiviteye sahip bitki ekstraktlarını hem ekonomik hem de güvenli metodolojilerle elde etmeye yönelmiştir. SAE, literatürde tanımlanan 300' den fazla bitki türü üzerindeki başarılı uygulamalarıyla sürdürülebilir bir ekstraksiyon seçeneği olarak avantajlı bir konumdadır. Örneğin, fenolik kompozisyonunun önemli bir bölümünü flavonoidlerin oluşturduğu kuşkonmazın yüksek verim ve saflıkta ekstrakte edilmesinde SAE' nin etkinliği kanıtlanmıştır. Benzer şekilde, zengin bir diyetetik fenolik kaynağı olan sarımsak üzerinde yapılan çalışmalar, bu yöntemle 15 farklı fenolik bileşiğin karakterize edilebildiğini ve SAE' nin sarımsak matrisi için ideal bir izolasyon tekniği olduğunu ortaya koymuştur [102,103].

Metodun endüstriyel potansiyeli, yan ürünlerin değerlendirilmesi ve özel aromatik bitkilerin işlenmesinde de kendini göstermektedir. Çikolata endüstrisinin temel atığı olan kakao kabuklarından fenolikçe zengin özütlerin eldesi için SAE; sıcaklık, basınç ve yardımcı çözücü parametreleri optimize edildiğinde gelecek vaat eden bir yeşil biyo-rafine teknolojisi olarak değerlendirilmektedir [117]. Ayrıca, güçlü bir fenolik kaynağı olan şeker otu yapraklarından biyoaktif bileşenlerin yüksek verimle geri kazanılması bu teknikle mümkün olmaktadır [118]. Aromatik ve tıbbi önemiyle bilinen biberiye üzerinde yapılan kıyaslama çalışmaları ise; karnosol, karnosik asit ve rosmarinik asit gibi kritik bileşenlerin izolasyonunda SAE' nin,

hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu ve ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) gibi modern taktiklere kıyasla daha üstün bir verimlilik sağladığını doğrulamaktadır [119].

2.8. ANALİTİK YÖNTEMLER

2.8.1. Spektrofotometrik Analizler

Spektrofotometreler, bir çözelti içerisindeki analitin hem nitel hem de nicel özelliklerini belirlemede kullanılan temel analitik cihazlardır. Tam otomatik analiz sistemlerinde dahi, nihai ölçüm aracı olarak genellikle spektrofotometrelerden yararlanılmaktadır. Şekil 2.9' da şematize edilen bu cihazın temel prensibi, elektromanyetik ışımanın madde ile etkileşimi sonucu meydana gelen enerji düzeyi değişimlerinin ölçülmesine dayanır. Her kimyasal madde, kendi karakteristik yapısına bağlı olarak belirli dalga boylarındaki ışığı absorbe etme, iletme veya yansıtma eğilimindedir. Spektrofotometrik ölçümler, elektromanyetik spektrumun özellikle morötesi (UV), görünür bölge ve kızılötesi (IR) bantlarındaki absorbans değişimlerini esas alır. Işık, dalga boyu özelliklerinin yanı sıra, enerjisi dalga boyuyla ters orantılı olan foton adlı enerji paketçikleri gibi davranır. Örneğin, 200 nm dalga boyundaki UV ışığı, 750 nm dalga boyundaki kızılötesi radyasyondan daha yüksek bir enerjiye sahiptir. Kullanılan ışık kaynağının spektral aralığına göre spektrofotometreler temel olarak iki kategoriye ayrılır. Bunlardan birincisi, elektromanyetik spektrumun 185-400 nm (UV) ve 400-700 nm (görünür) aralıklarında çalışan cihazlardır. İkincisi ise, spektrumun kızılötesi bölgesinde 700-15000 nm aralıklarında ölçüm yapan cihazlardır. Uygulamada en sık ultraviyole ve görünür bölge cihazları kullanılmakla birlikte, yakın kızılötesi alanda çalışan sistemler de mevcuttur [76,77].



Şekil 2.9: Spektrofotometre cihazı.

Şekil 2.10' da şematize edildiği üzere, I_0 başlangıç yoğunluğuna sahip bir ışık demeti, belirli bir dalga boyunda absorbsiyon yapan çözeltiyi içeren bir küvetten geçirildiğinde, ortamdan ayrılan ışığın yoğunluğu I olarak ölçülür. Bu etkileşim sonucunda ışık geçirgenliği (Transmittans) şu eşitlikle tanımlanmaktadır (Denklem 2.1):

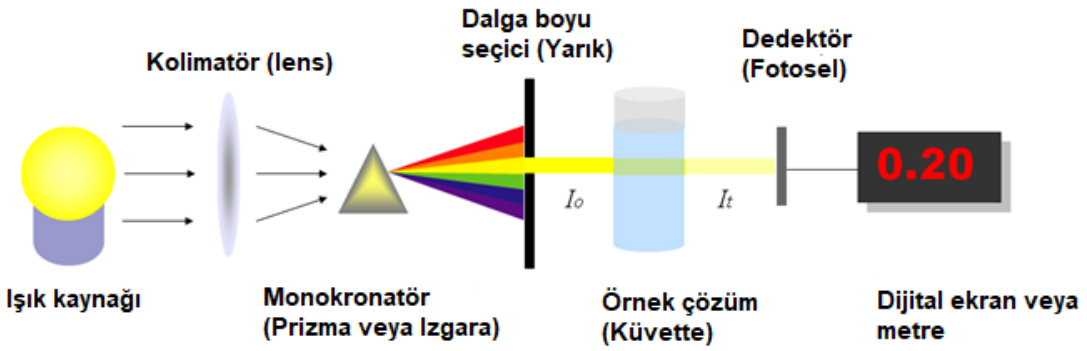
$$T = \frac{I}{I_0} \qquad \textbf{(2.1)}$$

Ancak pratikte, gelen ışığın şiddetindeki azalma sadece analit tarafından değil; küvet yüzeyinden yansıyan ışık veya çözücü tarafından absorbe edilen miktar nedeniyle de gerçekleşebilir. Bu deneysel hataları elimine etmek için, analiz edilen maddeyi içermeyen ancak diğer tüm bileşenleri barındıran bir referans hücre kullanılır. Bu düzeltme işleminde; referans hücrenin geçirgenliği I_R/I_0, çözeltideki analitin net geçirgenliği ise I/I_R oranı ile ifade edilir. Uygulamada cihaz, önce referans hücre ile %100 geçirgenlik değerine kalibre edilir. Böylece çözücüden ve küvetten kaynaklanan etkiler sıfırlanır. Işığın numune içerisinden

geçerken absorbe edilen miktarı, yani Absorbans (A) şu eşitlik ile ifade edilmektedir (Denklem 2.2) [122]:

$$A = log\frac{1}{T} \quad \textbf{(2.2)}$$

Absorbans (A), analiz edilecek bileşenin konsantrasyonu ve ışığın numune içerisinde kat ettiği mesafe ile doğrudan orantılıdır. Literatürde genellikle Beer-Lambert Yasası olarak bilinen bu ilişki, A= ε.b.c eşitliği ile formüle edilir. Burada ε, çalışılan dalga boyuna özgü molar absorptivite katsayısını ($L.mol^{-1}.cm^{-1}$), b ışığın geçtiği optik yol uzunluğunu (cm) ve c ise emici maddenin molar konsantrasyonunu (mol/L) temsil eder. Teorik olarak beklenen bu doğrusal ilişki; numunenin pH değeri, analit-çözücü etkileşimleri, floresan özellik gösteren bileşenlerin varlığı, numunede meydana gelen ışık saçılmaları veya foto-bozunma gibi çeşitli fizikokimyasal faktörlerden etkilenebilmektedir [123].



Şekil 2.10: Spektrofotometre analiz prensibi [123]

2.8.2. Folin-Ciocalteu Yöntemi ile Toplam Fenolik Bileşik Tayini

İlk olarak 1965 yılında Singleton ve Rossi tarafından önerilen ve zamanla farklı araştırmalarca geliştirilen bu yöntem, fenolik ve polifenolik antioksidanların kolorimetrik tayininde temel

referans kabul edilmektedir. Yöntemde kullanılan Folin-Ciocalteu reaktifi kimyasal olarak fosfomolibdat ve fosfotungstat karışımından oluşmaktadır. Prensip olarak analiz, test edilen materyalin reaktifin oksidasyonunu inhibe etme kapasitesinin ölçülmesine dayanır [124].

Ancak literatürde, bu reaktifin yalnızca fenolik bileşiklere özgü olmadığı; ortamdaki diğer indirgen maddelerle de reaksiyona girebildiği bilinmektedir. Bu durum, yöntemin sadece fenolik bileşik düzeyini mi yoksa numunenin toplam indirgeme kapasitesini mi ölçtüğü konusunda tartışmaları beraberinde getirmiştir [125]. Söz konusu kısıtlılığa rağmen Folin-Ciocalteu yöntemi, antioksidan çalışmalarında toplam fenolik içerik tayini için halen en yaygın kullanılan standart prosedürdür. Yöntem günümüzde modifiye edilerek ilaç analizleri [126], idrar gibi biyolojik sıvılar [127] ve gıda ürünlerinin [128] analizinde güvenle uygulanmaktadır.

2.8.3. Alüminyum Klorür Kolorimetrik ile Toplam Flavonoid Madde Analizi

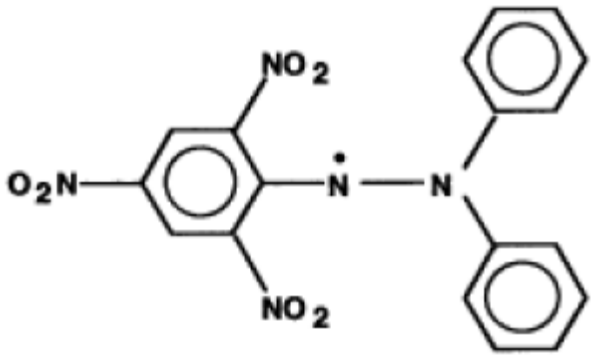
Bitki materyallerinin toplam flavonoid içeriği, farklı flavonoid sınıflarını kapsayabilmek amacıyla birbirini tamamlayan iki ayrı kolorimetrik yöntemle belirlenmiştir. Bu kapsamda, flavon ve flavonollerin tayini için ise 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNP) yöntemi tercih edilmiştir. Alüminyum klorür yönteminin temel prensibi; $AlCl_3$' ün, flavon ve flavonollerde yer alan C-4 keto grubu ile C-3 veya C-5 hidroksil grupları arasında aside dirençli kompleksler oluşturmasına dayanır. Ayrıca $AlCl_3$, flavonoidlerin A veya B halkalarındaki orto-hidroksil gruplarıyla aside karşı duyarlı bileşikler meydana getirebilmektedir. Reaksiyon sonucunda ortaya çıkan karakteristik sarı renkli kompleksin şiddeti 510 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. $AlCl_3/NaNO_2$ sistemiyle gerçekleştirilen bu analizlerde, toplam flavonoid seviyeleri genellikle kateşin eşdeğeri (CE) cinsinden ifade edilmektedir [85,86].

2.8.4. DPPH Süpürücü Antioksidan Aktivite Tayin Yöntemi

DPPH yöntemi, ilk olarak 1958 yılında Blois tarafından 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikallerinin (Şekil 2.11) antioksidan tayininde kullanılabileceğinin önerilmesiyle literatüre girmiştir. Takip eden yıllarda antioksidan araştırmalarının ivme kazanmasıyla birlikte, Brand-Williams ve çalışma arkadaşları yöntemi geliştirerek pek çok araştırmacı için standart bir

referans haline geliştirmiştir. Yöntemin temel prensibi; mor renkli kararlı bir serbest radikal olan DPPH' in, hidrojen atomu verme eğilimindeki antioksidan moleküller tarafından indirgenerek renginin açılmasına dayanır. Bu reaksiyon süreci, çözeltinin 520 nm civarındaki absorbans değerinde meydana gelen azalmanın spektrofotometrik olarak takip edilmesiyle izlenir. Analiz sonuçları genellikle, başlangıçtaki DPPH derişimini %50 oranında inhibe etmek için gereken antioksidan miktarını ifade eden IC_{50} (etkin konsantrasyon) değeri ile standardize edilir [131].

Pratik ve hızlı bir yöntem olmasına rağmen, DPPH analizinin bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Örneğin, lipid peroksidasyonunda kritik rol oynayan peroksil radikalleriyle çok hızlı etkileşime giren bazı antioksidanlar, DPPH radikaliyle oldukça yavaş tepkime verebilmektedir. Bu durum, antioksidan kapasitenin tam olarak yansıtılamaması riskini doğurmaktadır. Ayrıca, DPPH ile antioksidanlar arasındaki reaksiyon kinetiğinin her zaman doğrusal bir seyir izlememesi de yöntemin dikkatle yorumlanması gereken yönlerindendir [88,89].

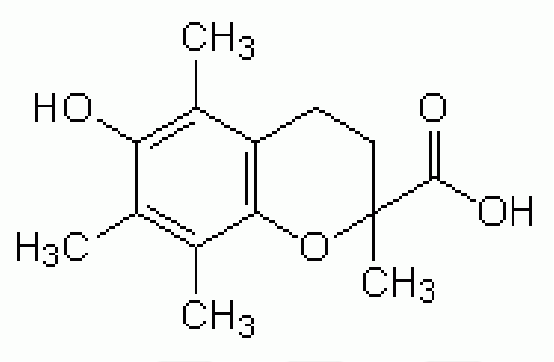


Şekil 2.11: DPPH reaktifinin kimyasal yapısı [131]

2.8.5. TEAC (Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasite) Yöntemi

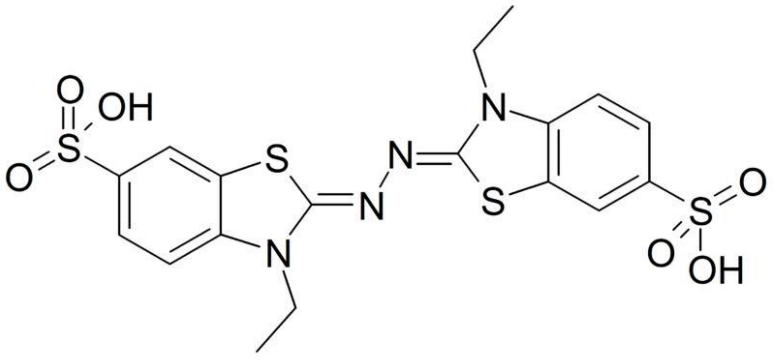
E vitaminin suda çözünür bir analoğu olan Trolox [(±)-6-hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilikasit] (Şekil 2.12), biyolojik sistemlerde doğal olarak bulunmasına rağmen, antioksidan aktivite tayinlerinde en yaygın kullanılan standart bileşiklerden biridir. Analiz süreçlerinde genellikle belirli bir konsantrasyon aralığında Trolox standartları hazırlanarak bir

kalibrasyon grafiği oluşturulur ve test edilen numunelerin aktivite değerleri bu grafik üzerinden Trolox eşdeğeri (TEAC) olarak hesaplanır [134].



Şekil 2.12: Troloks molekülünün kimyasal yapısı [134]

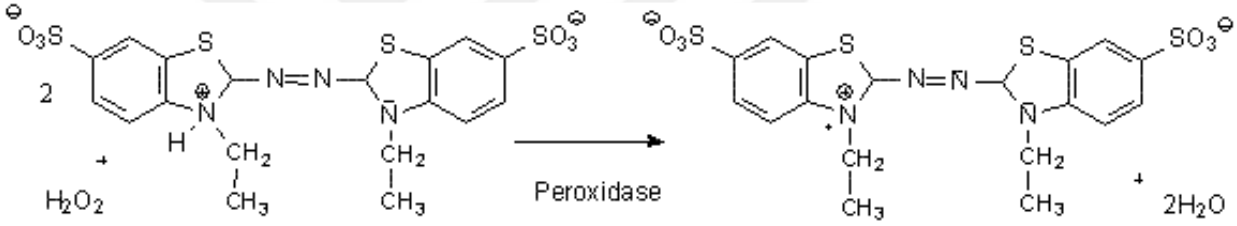
TEAC yöntemi, temel olarak kararlı ve kromojenik bir redoks radikali olan ABTS [2,2'-azinobis(3-etilbenzotiyalin 6-sülfonat)] (Şekil 2.13) molekülünün kullanımına dayanmaktadır. ABTS' nin hem sulu hem de lipofilik karakterdeki antioksidanların kapasitesini ölçmede çok yönlü bir araç olarak tercih edilmesini sağlamıştır [135].



Şekil 2.13: ABTS molekülünün kimyasal yapısı [136]

Yöntemin çalışma prensibi, ortamda bulunan antioksidan bileşiklerin ABTS radikalini ($ABTS^{\bullet+}$) indirgemesi ve buna bağlı olarak çözeltinin karakteristik renginin açılması esasına

dayanır. Miller ve arkadaşları [136] tarafından önerilen orijinal protokolde radikal katyonu; metilmiyoglobinin hidrojen peroksit (H_2O_2) ile etkileşimi sonucu oluşan ferrilmiyoglobin aracılığıyla üretilir. Bu şekilde üretilen radikal; 660, 734 ve 820 nm dalga boylarında maksimum absorpsiyon spektrumu sergiler. Ancak orijinal yöntemde analiz edilen antioksidanların doğrudan radikal yerine radikal üreticisi olan ferrilmiyoglobini de indirgeme riski bulunmaktadır. Bu analitik sorunu, aşmak amacıyla Re ve arkadaşları [134], ABTS' nin potasyum persülfat ile doğrudan oksidasyonu yoluyla radikal katyonunun antioksidan ilavesinden önce oluşturulduğu modifiye bir yöntem geliştirmişlerdir (Şekil 2.14). Karanlık ortamda ve oda sıcaklığında iki gün boyunca kararlılığını koruyan bu oluşturulmuş radikal sistemi, dekolorizasyon hızı üzerinden daha kesin sonuçlar elde edilmesine olanak tanımıştır [137].



Şekil 2.14: ABTS radikal katyon oluşumunun reaksiyon denklemi [137]

TEAC metodolojisi üzerine yapılan diğer modifikasyonlar ise radikal oluşum mekanizmasını çeşitlendirmiştir. Örneğin Van den Berg ve arkadaşları [137], bir azo bileşiği olan ABAP (2,2'-azobis-(2-amidinopropan)HCl] kullanarak ABTS radikal anyonunu oluşturmuş ve antioksidanların radikal meydana gelmeden önce sisteme dahil edildiği bir yaklaşım önermişlerdir. Bu sayede radikal oluşum sürecini etkileyebilecek olası girişimlerin önlenmesi hedeflenmiştir. Benzer şekilde Arnao ve arkadaşları [138] tarafından geliştirilen bir diğer yenilikte ise radikal oluşumu için horse radish peroxidase (HRP) enzimi ve H_2O_2' den oluşan enzimatik bir sistem kullanılmıştır. Tüm bu varyasyonlar, ABTS tabanlı ölçümlerin farklı polariteye sahip antioksidan grupları üzerinde yüksek hassasiyetle uygulanabilmesini mümkün kılmıştır [94,95].

2.8.6. Cu (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite (CUPRAC) Yöntemi

Tütem ve arkadaşları [140] tarafından ılımlı bir oksidan olarak önerilen bis(neokuproin)bakır (II) klorür reaktifi; başlangıçta sistein [140], E vitamini [141] ve askorbik asit [142] gibi çeşitli indirgen ajanların tayininde başarıyla kullanılmıştır. Bu yaklaşım daha sonra bakır iyonu indirgeme potansiyelinin ölçülmesine dayanan bir metodolojiyle geliştirilerek, bitki ekstreleri ve insan serumu gibi kompleks biyoloji örneklerde toplam antioksidan kapasitenin belirlenmesinde uygulanmaya başlanmış ve CUPRAC olarak literatüre kazandırılmıştır. CUPRAC yönteminin en belirgin avantajlarından biri hem hidrofilik hem de lipofilik karakterdeki antioksidanların kapasitesini aynı protokol dahilinde kolaylıkla tayin edebilmesidir [143].

Yöntemin temelinde, kromojenik bir oksidasyon reaktifi olan bis(neokuproin)-Cu (II) klorür ile antioksidan polifenoller arasındaki redoks reaksiyonu yer almaktadır. Bu kimyasal etkileşim genel olarak aşağıdaki eşitlik ile ifade edilmektedir (Denklem 2.3):

$$2nCu(Nc)_2^{2+} + Ar(OH)_n \rightarrow 2nCu(Nc)_2^{+} + Ar(O)_n + 2nH^{+} \quad \textbf{(2.3)}$$

Söz konusunda reaksiyonda, Ar(OH)n ile temsil edilen ve yapısında n sayıda hidroksil grubu barındıran antioksidan bileşiklerdir, bir 2n-e donörü gibi hareket ederek kinon formuna yükseltgenmektedir. Bu süreçte iki proton açığa çıkarken, başlangıçta zayıf renkli olan Cu(II)-Nc şelatı indirgenerek 450 nm dalga boyunda maksimum absorbans veren, oldukça şiddetli sarı-turuncu renkli Cu(I)-Nc kelatına dönüşmektedir. Ortaya çıkan bu renkli kompleksin absorbans şiddeti, numunenin antioksidan kapasitesiyle doğrudan orantılıdır [143].

2.9. PLACKETT-BURMAN FAKTÖRİYEL TASARIMI

Plackett ve Burman (1946) tarafından iki seviyeli kesirli faktör tasarımı olarak literatüre kazandırılan Plackett-Burman yöntemi, çok sayıda bağımsız değişkenin bulunduğu

durumlarda, sonuç üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etki yaratan faktörlerin ayıklanması amacıyla kullanılmaktadır. Bu yöntem, karmaşık yapısına rağmen diğer deney tasarımı yaklaşımlarına kıyasla daha az sayıda deney gerektirmesi nedeniyle, maliyet ve zaman avantajı sağlayarak araştırmacılar tarafından sıklıkla tercih edilmektedir [144].

Metodolojik olarak bu tasarımda toplam deney sayısı 4' ün katı olacak şekilde belirlenir ve bu sayı toplam faktör sayısından en az bir fazla olmalıdır. Örneğin 32 faktörün incelendiği bir çalışmada 36 deney yürütülmesi yeterlidir. Plackett-Burman tasarımı, ana etkilerin faktör etkileşimleri ile karıştığı bir yapıya sahiptir; bu nedenle yöntemin geçerli olabilmesi için faktörler arası ikili etkileşimlerin ihmal edilebilir düzeyde veya önemsiz olduğu varsayılmalıdır. Bu kısıt sebebiyle yöntem, genellikle süreçlerin başlangıç aşamasında, hangi değişkenlerin çıktı üzerinde anlamlı olduğunu belirlemek için kullanılır. Burada tespit edilen kritik değişkenler, daha sonraki aşamalarda yapılacak daha detaylı deney tasarımlarına girdi oluşturur [145]. Tablo 2.5' te sunulan 11 faktörlü Plackett–Burman deneysel tasarım matrisi örneği, Hadamard matrislerinden türetilmiş bir yapıya sahiptir.

Tablo 2.5: 11 faktörlü Plackett-Burman deney tasarımı matrisi [146]

Deney no	**Faktörler**										
	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8	X_9	X_{10}	X_{11}
1	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+
2	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
3	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
4	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+
5	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+
6	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
7	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-
8	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-
9	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+
10	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
11	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+
12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Bu deneysel düzenlemeye ait verilerin matematiksel modellemesi, birinci derece polinom denklemi kullanılarak yapılmaktadır (Denklem 2.4):

$$Y = \beta_0 + \Sigma\beta_i X_i \quad \textbf{(2.4)}$$

Bu denklemde Y yanıt değişkenini, β_o kesme noktası katsayısını, β_i her bir faktörün etkisini gösteren regresyon katsayılarını ve X_i bağımsız değişkenleri (faktörleri) ifade etmektedir [147].

2.10. BOX-BEHNKEN TASARIMI

Box ve Behnken tarafından 1960 yılında geliştirilen bu deneysel tasarım yaklaşımı, tüm deney faktörlerinin üçer seviyede incelenmesi prensibine dayanmaktadır [148]. Özellikle sınırlı sayıda faktörün bulunduğu çalışmalarda kullanımı önerilen bir metodolojidir [149]. Tablo 2.6' da üç faktör ve üç seviye içeren bir Box–Behnken deneysel tasarım örneği sunulmaktadır.

Tablo 2.6: Üç faktör, üç seviyeli Box-Behnken deney tasarımı [146]

Deney no	Faktörler		
	X	Y	Z
1	-	-	0
2	+	-	0
3	-	+	0
4	+	+	0
5	-	0	-
6	+	0	-
7	-	0	+
8	+	0	+
9	0	-	-
10	0	+	-
11	0	-	+
12	0	+	+
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

Tabloda yer alan X, Y ve Z sembolleri deneysel faktörleri ifade ederken, (-), 0 ve (+) işaretleri bu faktörlerin seviye değerlerini göstermektedir.

(-): Düşük Seviye

0: Orta Seviye

(+): Yüksek Seviye

Tablo 2.6' da sunulan deneysel düzenleme analiz edildiğinde, bütün faktörlerin üçer seviyede incelendiği görülmektedir. Tablodaki her bir deney koşulunda, iki faktör alt veya üst sınır değerlerinde bulunurken, kalan bir faktör her zaman merkez seviyesinde tutulmuştur. Bu deneysel yapının, üç faktörlü tam faktöriyel tasarımın bir alt grubu niteliğinde olduğu anlaşılmaktadır [148].

Box-Behnken deneysel tasarımında, faktörlerin maksimum ve minimum değerlerinin eş zamanlı olarak uygulanmaması, deneylerin pratik uygulanabilirliğini kolaylaştırmakta ve bu durum önemli bir avantaj oluşturmaktadır. Bu özellik, söz konusu deneysel tasarım modelinin seçilmesindeki temel gerekçelerden birisidir. Box-Behnken deneysel tasarımında gerçekleştirilecek toplam deney adedi şu formül yardımıyla belirlenir (Denklem 2.5):

$$N = 2k(k-1) + C_0 \quad \textbf{(2.5)}$$

Burada; N: Toplam deney sayısı, k: Faktör sayısı, C_0= Merkez nokta deney sayısını ifade eder.

3. YÖNTEM

3.1. MALZEMELER

Çalışmada kullanılan *L. nobilis* bitkisinin materyalleri, Tekirdağ (Türkiye) Süleymanpaşa bölgesinde aktarlık hizmeti veren Halktan mağazasından tek seferde (her zaman aynı dönemde ve aynı türden toplanarak) temin edildi. Kurutulan örnekler öğütüldü ve parçacık boyutlarına göre gruplandırıldı (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Defne yaprağının belirlenen boyutlara göre öğütülmesi.

Deneylerde etanol (≥99,8%) ve metanol (≥99,9%) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, ABD) ve damıtılmış su (laboratuvar ultra saf su sistemi, ≥18 MΩ·cm) kullanıldı. Toplam fenolik madde içeriği (TPC), toplam flavonoid madde içeriği (TFC) ve antioksidan aktivite testleri (DPPH, ABTS, CUPRAC) için kalibrasyon standartları olarak sırasıyla gallik asit (≥99%), kateşin (≥98%) ve Trolox (≥97%) kullanılmıştır. Bu kimyasallar da Sigma-Aldrich' ten (Saint Louis,

MO, ABD) temin edildi. TPC tayini için Folin-Ciocalteu reaktifi ve sodyum karbonat (Na_2CO_3) kullanılırken, TFC tayini işleminde alüminyum klorür ($AlCl_3$, ≥98%), sodyum nitrit ($NaNO_2$) ve sodyum hidroksit (NaOH) kullanılmıştır (Merck, Darmstadt, Almanya). Serbest radikal süpürme aktivitelerinin değerlendirilmesi için DPPH ve ABTS reaktifleri kullanılırken, CUPRAC testi için bakır klorür dihidrat ($CuCl_2 \cdot 2H_2O$), amonyum asetat ve neokuproin kullanılmıştır.

3.2. EKSTRAKSİYON

L. nobilis biyoaktiflerinin ekstraksiyonu, kontrollü sıcaklık koşulları altında (sıcaklık kontrollü, ±0,1 °C doğruluk) çalkalayıcı su banyosu (Weightlab Instruments, Türkiye) kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 3.2). İlk olarak, 100 rpm çalkalama hızı altında 0,2 g katı/10 mL çözücü (h/h %80 etanol) ile ekstraksiyonun tamamlanması için denge süresini belirlemek amacıyla farklı sıcaklık değerlerinde (25, 35, 45, 55, 65 ve 75 °C) kinetik deneyler gerçekleştirildi. Süre ve sıcaklık belirlendikten sonra, *L. nobilis* yapraklarından fenolik geri kazanımı etkileyen en etkili değişkenleri belirlemek için Minitab istatistik yazılımı 22 (Minitab Inc., State College, PA, ABD) kullanılarak Plackett-Burman faktöriyel tasarımı uygulandı. İki seviyeli bağımsız değişkenler katı kütle (0,5-1 g), çözücü hacmi (10-40 mL), çalkalama hızı (50-180 rpm), etanol konsantrasyonu (%20-80, v/v) ve partikül boyutudur (0,8-1,5 mm).



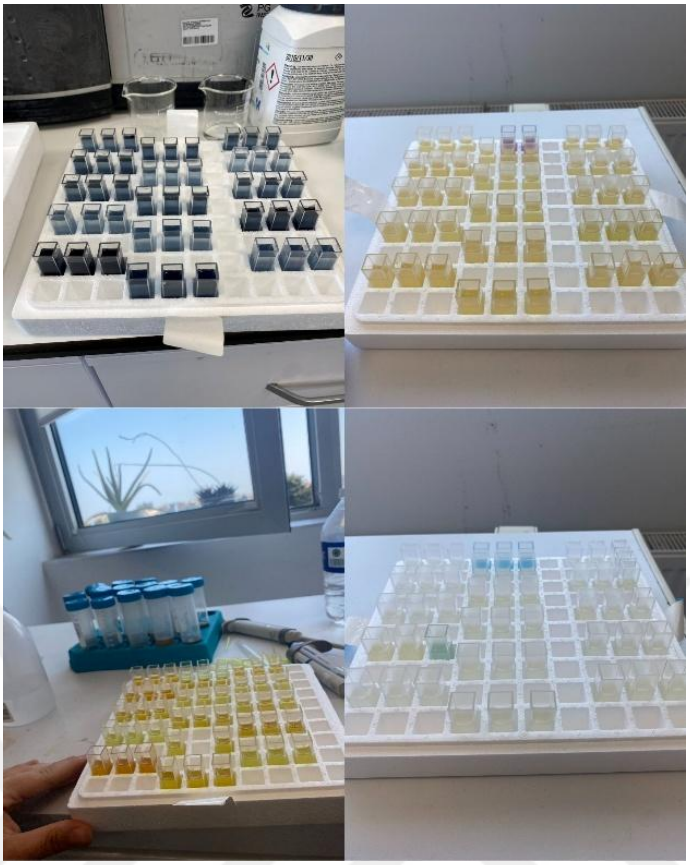
Şekil 3.2: Çalkalayıcı su banyosu.

En etkili parametrelerin Plackett-Burman faktöriyel tasarımı ile Pareto grafiği analizi yoluyla belirlenmesinin ardından, ekstraksiyon sürecini daha da iyileştirmek için aynı yazılım (Minitab istatistik yazılımı 22) ile üç faktörlü ve üç seviyeli bir Box-Behnken tasarımı kullanıldı. Bu tasarımda, çözücü hacmi (10-40 mL), katı kütle (0,5-1 g) ve etanol konsantrasyonu (%20-80, v/v) bağımsız değişkenler olarak seçilirken, TPC, TFC ve antioksidan aktiviteler (DPPH, ABTS ve CUPRAC) yanıt değişkenleri olarak kabul edildi.

İkinci dereceden polinom modelleri yazılım tarafından üretildi. Modellerin yeterliliği varyans analizi (ANOVA) testi ile değerlendirildi. Tüm deneyler üçer kez gerçekleştirildiğinden, sonuçlar ortalama±standart sapma olarak ifade edildi.

3.3. BİYOAKTİVİTE ÖLÇÜMLERİ

Bu çalışmada, *L. nobilis* özütlerinin TPC, TFC ve antioksidan aktivite değerleri, bir UV spektrofotometresi (PG Instruments, T60, Leicestershire ve İngiltere) ile spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. TPC, daha önce açıklandığı gibi 765 nm' de Folin-Ciocalteu yöntemi uygulanarak ölçülmüştür [150]. Seyreltilmiş ekstrakt, Na_2CO_3 ve Folin-Ciocalteu reaktifi karıştırılmış ve karanlıkta oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. TPC değerleri, kuru madde gramı başına gallik asit eşdeğerleri (mg-GAE/g-KM) ve çözelti litresi başına gallik asit eşdeğerleri (mg/L) olarak verilmiştir. TFC durumunda, daha önce açıklandığı gibi 510 nm' de alüminyum klorür kolorimetrik yöntemi kullanılmıştır [150]. Özüt, sırasıyla $AlCl_3$, $NaNO_2$ ve NaOH ile reaksiyona sokulmuştur. Sonuçlar, kuru madde gramı başına mg kateşin eşdeğerleri (mg-KE/g-KM) olarak ifade edilmiştir. Antioksidan aktivite hakkında güvenilir bulgular elde etmek için 3 *in vitro* test spektrofotometrik olarak gerçekleştirildi. DPPH radikal süpürücü aktivitesi, DPPH çözeltisi ile 30 dakika süreyle işlenen ekstrenin inkübasyon işleminden sonra 517 nm' de ölçüldü [151]. ABTS radikal katyon giderim testi de gerçekleştirildi ve absorbanstaki azalma 734 nm' de kaydedildi [151]. CUPRAC testi, ekstrelerin bir Cu(II)-neokuproin-amonyum asetat reaktifi ile reaksiyona sokulmasıyla gerçekleştirildi [151]. Absorbans 450 nm' de okundu. 3 testin sonuçları, kuru madde başına mg troloks eşdeğeri (mg-TEAC/g-KM) olarak ifade edildi. Şekil 3.3 uygulanan testleri görsel olarak özetlemektedir.



Şekil 3.3: Deneyde uygulanan spektrofotometrik testler.

3.4. KİNETİK MODELLEME

Kinetik veriler, iki ampirik kinetik model kullanılarak değerlendirilmiştir. Aktivasyon enerjisini (E_a) hesaplamak için, farklı sıcaklıklardaki ilgili hız sabitleri (k) hesaplandıktan sonra Arrhenius grafiği kullanılmıştır. Kinetik denklemlerin doğrusallaştırılmış halleri Tablo 3.1' de listelenmiştir.

Tablo 3.1: Kinetik ekstraksiyon modelleri.

Model	Doğrusallaştırılmış denklem	Referans
Yalancı birinci mertebe (PFO)	$ln\left(\frac{C_\infty}{C_\infty - C_t}\right) = k_1 t + ln\left(\frac{C_\infty}{C_\infty - C_0}\right)$	
Yalancı ikinci mertebe (PSO)	$\frac{t}{C_t} = \frac{1}{k_2 C_e^2} + \frac{t}{C_e}$	[152]
Arrhenius Denklemi	$lnk = -\frac{E_a}{R} \times \frac{1}{T} + lnk_\circ$	

C_0=Başlangıç TPC konsantrasyonu (mg L^{-1}); C_∞=Denge anındaki TPC konsantrasyonu (mg L^{-1}); C_t=t anındaki TPC konsantrasyonu (mg L^{-1}); t=Ekstraksiyon süresi (dak); k_1=Birinci dereceden hız sabiti (dak^{-1}); k_2=İkinci dereceden hız sabiti (L mg^{-1} dak^{-1}); k=Ekstraksiyon hız sabiti (L mg^{-1} dak^{-1}) veya (dak^{-1}); E_a=Aktivasyon enerjisi (kj mol^{-1}); k_0=Frekans faktörü; T=Sıcaklık (K); R=Evrensel gaz sabiti (8,314 J mol^{-1} K^{-1}).

3.5. TERMODİNAMİK ANALİZ

Denge dağılım sabiti (K_e) şu şekilde tanımlandı (Denklem 3.1) [153]:

$$K_e = \frac{Y_S}{Y_{max} - Y_S} \quad \textbf{(3.1)}$$

Y_s, doymuş (mg-GAE/g-KM) TPC verimi iken, Y_{max} maksimum TPC verimidir (mg-GAE/g-KM). Sıcaklık bağımlılığı Van't Hoff denklemi [153] ile değerlendirildi (Denklem 3.2):

$$lnK_e = -\frac{\Delta H}{R} \times \frac{1}{T} + \frac{\Delta S}{R} \quad \textbf{(3.2)}$$

ΔH ve ΔS, Van't Hoff grafiğinden elde edilirken, ΔG değerleri her sıcaklık için aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplandı (Denklem 3.3):

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad \textbf{(3.3)}$$

3.6. DİFÜZYON ve KÜTLE TRANSFER ANALİZİ

L. nobilis' ten fenoliklerin ekstraksiyonunun etkili yayılma gücü (D_e), Fick denklemi (Denklem 3.4) ile hesaplandı [154]:

$$\ln\left(\frac{Y_s}{Y_s - Y_t}\right) = \left(\frac{D_e \pi^2}{rp^2}\right) t + \frac{ln\pi^2}{6} \quad \textbf{(3.4)}$$

Y_t, herhangi bir zamandaki TPC verimi iken, rp kurutulmuş ve öğütülmüş parçacıkların yarıçapıdır (m). Biot sayısı (Bi), Denklem 3.5 ile hesaplanır. Kütle transfer katsayısını (K_T) hesaplamak için Denklem 3.6 uygulanır [155]:

$$Bi = \frac{rpK_T}{D_e} \quad \textbf{(3.5)}$$

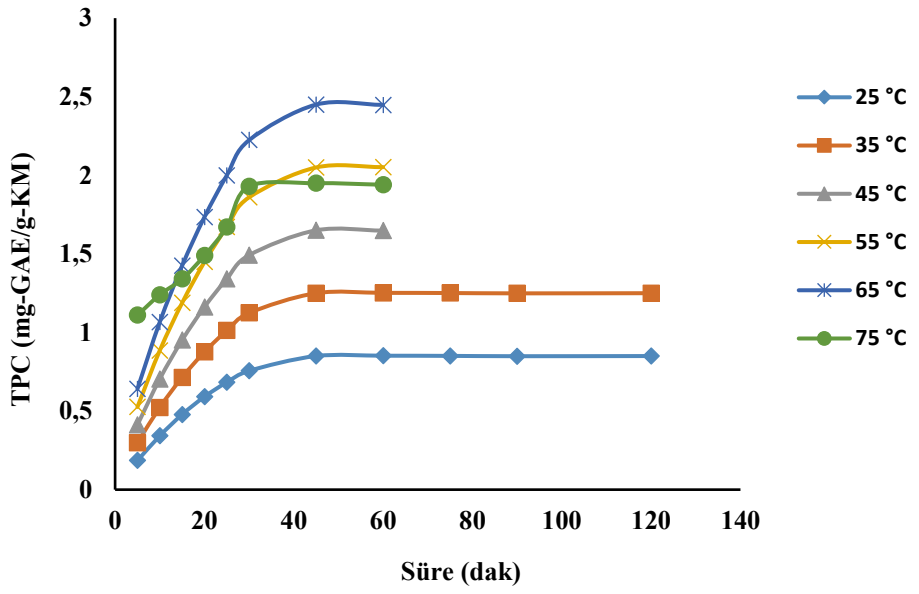
$$\ln\left(\frac{C_\infty}{C_\infty - C_t}\right) = \left(\frac{K_T A}{V_s}\right) t \quad \textbf{(3.6)}$$

A parçacıkların toplam yüzey alanıdır (m^2), V_S ise çözelti hacmidir (m^3).

4. BULGULAR

4.1. KİNETİK ÇALIŞMA

Çeşitli sıcaklık değerleri için ekstraksiyonun tamamlanması için gereken denge süresi Şekil 4.1' de görülmektedir.



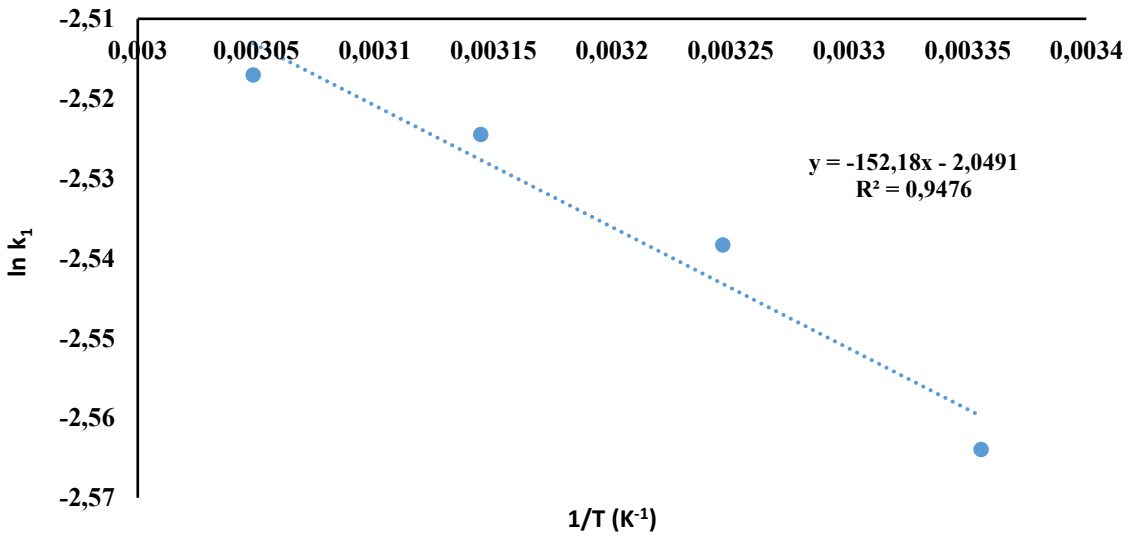
Şekil 4.1: Sıcaklığın ekstraksiyon kinetiği üzerindeki etkisi.

Farklı sıcaklıklardaki ekstraksiyon kinetiğini açıklamak için, yalancı birinci mertebe (PFO) ve yalancı ikinci mertebe (PSO) modellerinin kinetik parametreleri hesaplanmış ve karşılaştırmalı olarak sunulmuştur (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Kinetik parametrelerin karşılaştırılması.

Model	Parametre	25 °C	35 °C	45 °C	55 °C	65 °C	75 °C
PFO	k_1 (min^{-1})	0,0770	0,0790	0,0801	0,0807	0,0807	0,0526
	R^2	0,9807	0,9736	0,9695	0,9667	0,9667	0,9331
PSO	k_2 ($g \cdot mg^{-1} \cdot min^{-1}$)	0,0704	0,0527	0,0202	0,0169	0,0146	0,4926
	R^2	0,9843	0,9874	0,9771	0,9794	0,9804	0,9878
	Deneysel q_e ($mg\ g^{-1}$)	0,85	1,25	1,65	2,05	2,45	1,95
	Hesaplanan q_e ($mg\ g^{-1}$)	0,9935	1,4436	2,3441	2,8893	3,4211	2,2120
	Hata (%)	16,9	15,5	42,1	40,9	39,6	13,4

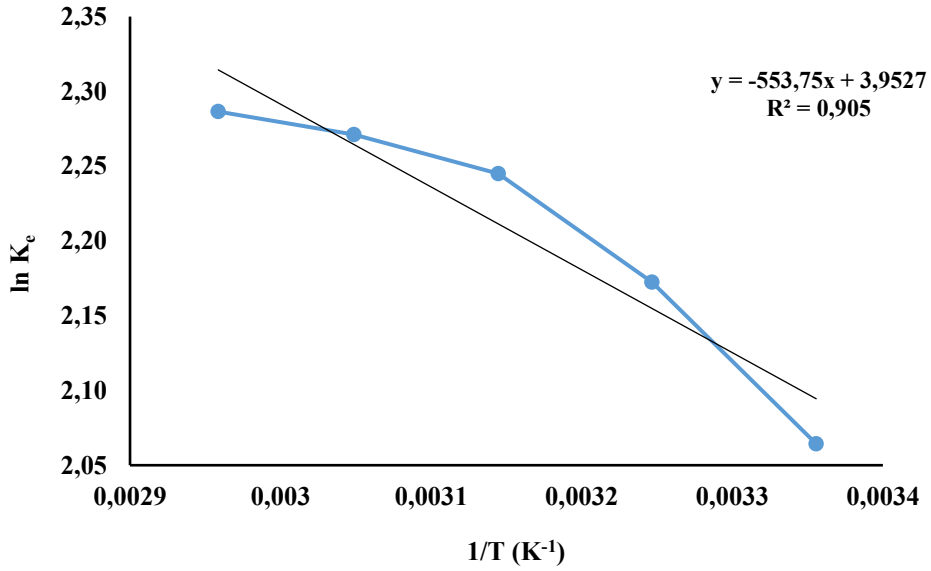
Mevcut sistem için elde edilen çok düşük E_a değeri (1,27 kJ mol^{-1}), ekstraksiyonun son derece enerji verimli ve difüzyona bağımlı bir süreç olduğunu göstermektedir (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: Arrhenius grafiği.

4.2. TERMODİNAMİK ÇALIŞMA

Van't Hoff yaklaşımı, ekstraksiyon işleminin termodinamik özelliklerini değerlendirmek için kullanıldı ve elde edilen parametreler Tablo 4.2' de özetlendi. ΔH ve ΔS, Van't Hoff grafiğinden elde edildi (Şekil 4.3). Her sıcaklık için ΔG değerleri, Denklem 3.3 kullanılarak hesaplandı.



Şekil 4.3: Van't Hoff grafiği.

Tablo 4.2: Termodinamik parametreler.

Sıcaklık (K)	ΔH (kJ·mol^{-1})	ΔS (kJ·mol^{-1}·K^{-1})	ΔG (kJ·mol^{-1})
298			-5,20
308			-5,53
318	4,60	0,0329	-5,86
328			-6,19
338			-6,52

4.3. DİFÜZYON VE KÜTLE TRANSFER KATSAYISI DAĞILIMI

D_e, K_t ve Bi, fenolik ekstraksiyonla ilgili taşınma olaylarını anlamak için sıcaklığın bir fonksiyonu olarak hesaplandı [156]. Sonuçlar Tablo 4.3' te özetlenmiştir.

Tablo 4.3: Difüzyon ve kütle transfer parametreleri.

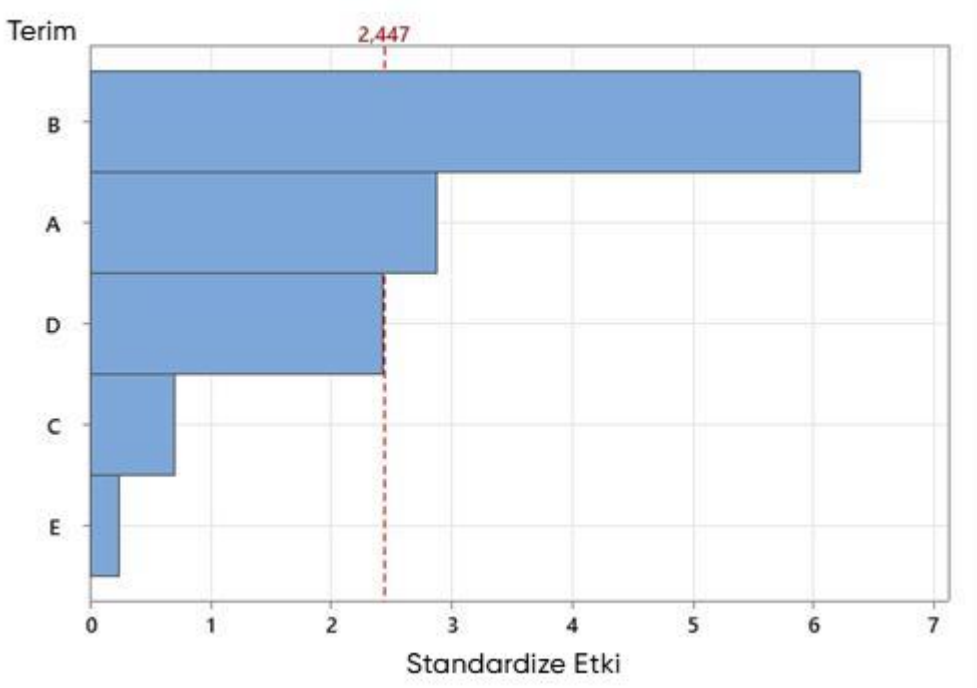
Parametre	**Sıcaklık (K)**				
	298	**308**	**318**	**328**	**338**
D_e (m^2 sn^{-1})	$7{,}80\times10^{-9}$	$8{,}01\times10^{-9}$	$8{,}12\times10^{-9}$	$8{,}18\times10^{-9}$	$8{,}18\times10^{-9}$
K_t (m sn^{-1})	0,000336	0,000345	0,000350	0,000352	0,000352
Bi	43,08	43,07	43,10	43,03	43,03

4.4. PLACKETT-BURMAN TASARIMI

Plackett-Burman tasarımı, prosesi veya reaksiyonu çoğunlukla etkileyen önemli faktörleri belirlemek için kullanılan istatistiksel bir deneysel tasarımdır [157]. Bu çalışmada, defne yapraklarından TPC açısından zengin özütün geri kazanımı üzerinde önemli bir etkiye sahip etkili faktörleri taramak için 12 çalışmalı 2 seviyeli bir Plackett-Burman faktöriyel tasarımı uyguladık (Tablo 4.4). Şekil 4.4 parametrelerin etkilerini görsel olarak göstermektedir. Tablo 4.5 ise varyans analiz sonuçlarını sergilemektedir.

Tablo 4.4: Plackett-Burman faktöriyel tasarımı.

Sıra	Katı Kütlesi (g)	Solvent hacmi (mL)	Karıştırma Hızı (rpm)	Etanol Konsantrasyonu (%, v/v)	Partikül Boyutu (mm)	TPC (mg/L)
1	0,5	40	50	20	0,8	43,89±0,02
2	0,5	10	180	80	1,5	83,62±0,02
3	1	10	180	80	0,8	200,35±0,10
4	1	40	50	80	1,5	67,82±0,01
5	1	40	50	80	0,8	30,29±0,02
6	0,5	40	180	80	0,8	40,35±0,03
7	1	40	180	20	1,5	87,15±0,17
8	1	10	50	20	1,5	223,75±0,05
9	0,5	10	50	20	0,8	150,89±0,36
10	1	10	180	20	0,8	244,75±0,05
11	0,5	40	180	20	1,5	79,62±0,02
12	0,5	10	50	80	1,5	142,09±0,11



Şekil 4.4: Plackett-Burman ana etki Pareto grafiği.

Tablo 4.5: Varyans analizi.

Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F-değeri	P-değeri
Model	5	55035,4	11007,1	11,08	0,005
Lineer	5	55035,4	11007,1	11,08	0,005
Katı Kütlesi	1	8198,9	8198,9	8,25	0,028
Solvent hacmi	1	40406,7	40406,7	40,68	0,001
Karıştırma Hızı	1	495,8	495,8	0,50	0,506
Etanol konsantrasyonu	1	5875,7	5875,7	5,91	0,051
Partikül boyutu	1	58,4	58,4	0,06	0,817
Hata	6	5960,3	993,4		

4.5. BOX-BEHNKEN TASARIMI

Plackett-Burman tasarımıyla belirlenen aralıklarda çözücü hacmi (A), katı kütle (B) ve etanol konsantrasyonu (C) fonksiyonu olarak TPC, TFC ve antioksidan aktivite (DPPH, ABTS ve CUPRAC) verimlerini optimize etmek için üç faktörlü ve üç seviyeli Box-Behnken tasarımı kullanıldı (Tablo 4.6). Box-Behnken tasarım matrisinden elde edilen deneysel sonuçlar, her faktörün anlamlılığını ve yanıt değişkenleri üzerindeki etkileşimlerini değerlendirmek için ANOVA' ya tabi tutuldu (Tablo 4.7). Kodlanmamış birimlerdeki bağımsız değişkenler (A, B ve C) ile yanıtlar (TPC, TFC, DPPH antioksidan aktivitesi, ABTS antioksidan aktivitesi ve CUPRAC indirgeme kapasitesi) arasındaki ilişkiyi tanımlamak için ikinci dereceden polinom regresyon modelleri (Denklem 4.1, Denklem 4.2, Denklem 4.3, Denklem 4.4 ve Denklem 4.5) geliştirilmiştir:

$$TPC = 2{,}24 + 0{,}3576\text{çözücü } hacmi + 6{,}76katı\ kütle + 0{,}0723etanol\ konsantrasyonu - 0{,}00104\text{çözücü } hacmi^2 - 2{,}79katı\ kütle^2 - 0{,}000682etanol\ konsantrasyonu^2 - 0{,}2318\text{çözücü } hacmi.katı\ kütle + 0{,}000074\text{çözücü } hacmi.etanol\ konsantrasyonu - 0{,}0231katı\ kütle.etanol\ konsantrasyonu \quad (\mathbf{4.1})$$

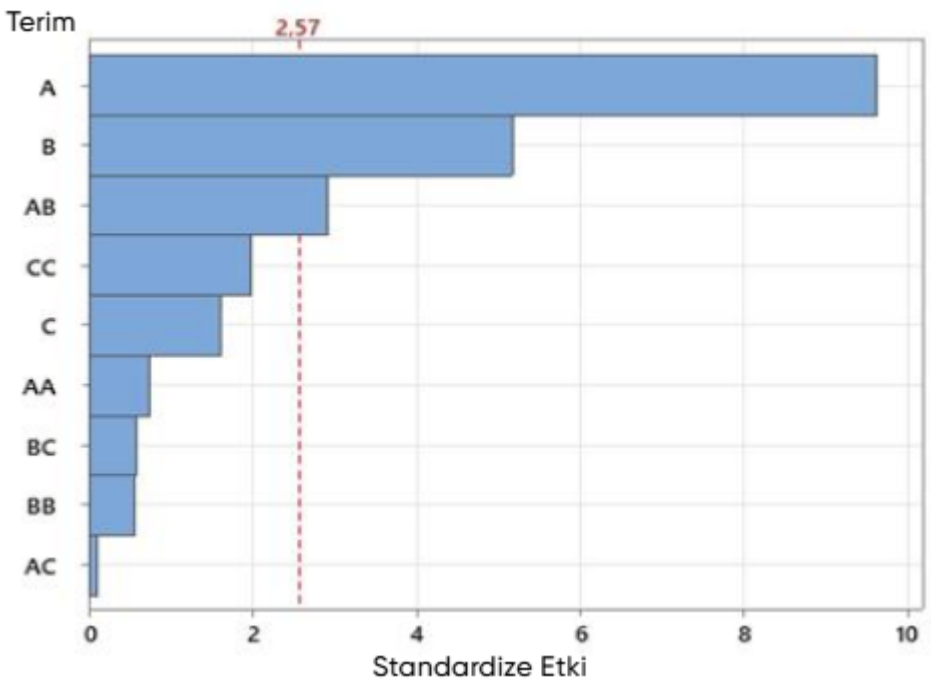
$$TFC = 19{,}79 + 0{,}0296\text{çözücü } hacmi - 14{,}27katı\ kütle + 0{,}1567etanol\ konsantrasyonu + 0{,}00143\text{çözücü } hacmi^2 + 4{,}12katı\ kütle^2 - 0{,}001436etanol\ konsantrasyonu^2 + 0{,}0278\text{çözücü } hacmi.katı\ kütle - 0{,}000423\text{çözücü } hacmi.etanol\ konsantrasyonu - 0{,}0338katı\ kütle.etanol\ konsantrasyonu \quad (\mathbf{4.2})$$

$$DPPH = 10{,}41 + 0{,}8256\text{çözücü } hacmi - 29{,}27katı\ kütle - 0{,}0016etanol\ konsantrasyonu - 0{,}00003\text{çözücü } hacmi^2 + 19{,}28katı\ kütle^2 - 0{,}000025etanol\ konsantrasyonu^2 - 0{,}5655\text{çözücü } hacmi.katı\ kütle + 0{,}000057\text{çözücü } hacmi.etanol\ konsantrasyonu + 0{,}0040katı\ kütle.etanol\ konsantrasyonu \quad (\mathbf{4.3})$$

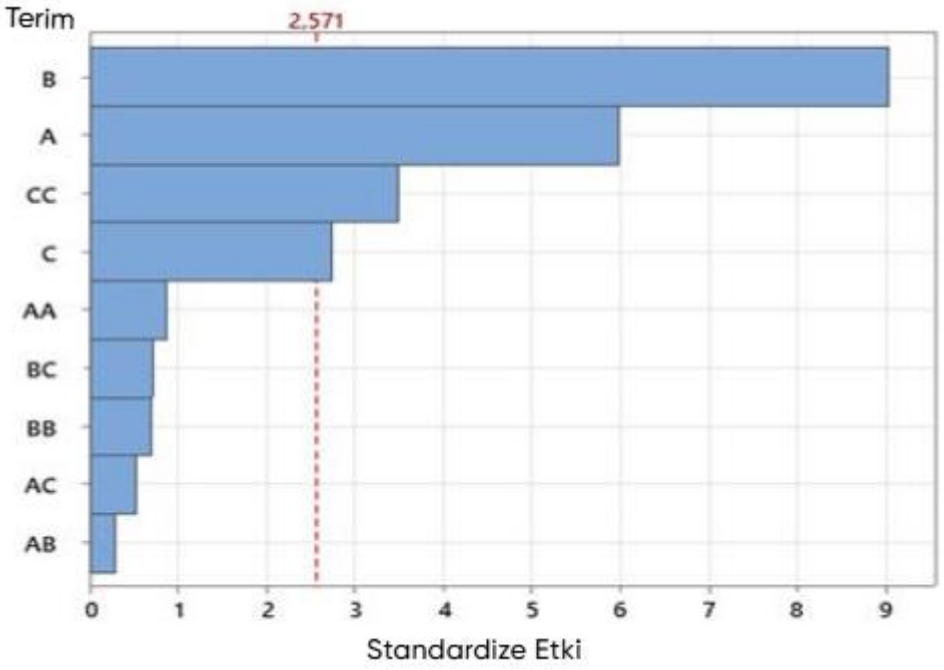
$$ABTS = 10{,}67 + 0{,}8238\text{çözücü } hacmi - 28{,}78katı\ kütle - 0{,}0146etanol\ konsantrasyonu - 0{,}000133\text{çözücü } hacmi^2 + 18{,}70katı\ kütle^2 + 0{,}00001etanol\ konsantrasyonu^2 - 0{,}5503\text{çözücü } hacmi.katı\ kütle - 0{,}000063\text{çözücü } hacmi.etanol\ konsantrasyonu + 0{,}0064katı\ kütle.etanol\ konsantrasyonu \quad (\mathbf{4.4})$$

$$CUPRAC = 52{,}3 + 2{,}581\text{çözücü } hacmi - 63{,}3katı\ kütle + 0{,}066etanol\ konsantrasyonu - 0{,}00242\text{çözücü } hacmi^2 + 49{,}3katı\ kütle^2 + 0{,}00086etanol\ konsantrasyonu^2 - 1{,}419\text{çözücü } hacmi.katı\ kütle - 0{,}00141\text{çözücü } hacmi.etanol\ konsantrasyonu - 0{,}195katı\ kütle.etanol\ konsantrasyonu \quad (\mathbf{4.5})$$

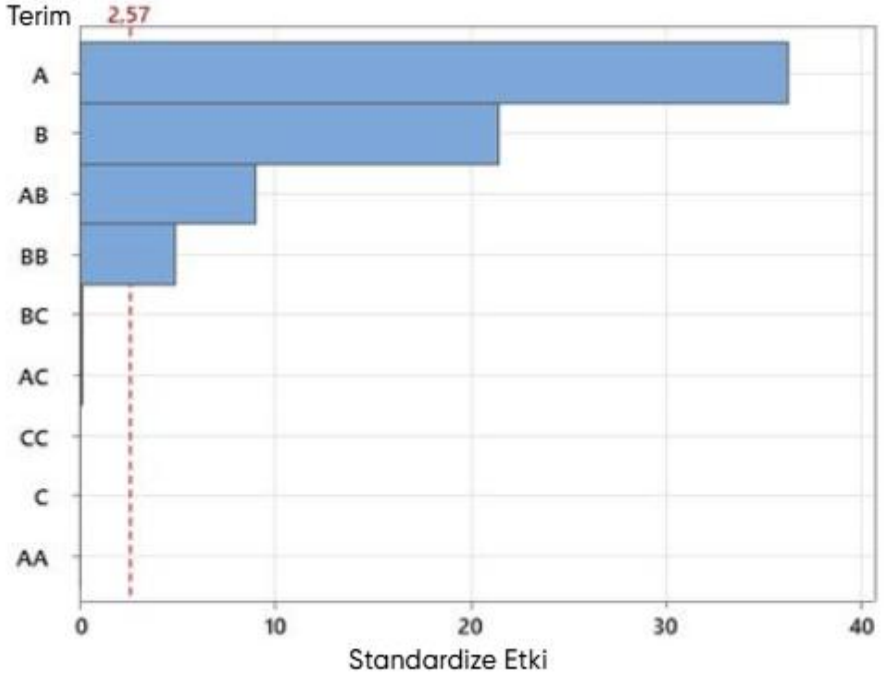
Şekil 4.5-4.9 sırasıyla ilgili cevap değerlerini etkileyen proses parametrelerinin etkilerini görsel olarak vermektedir.



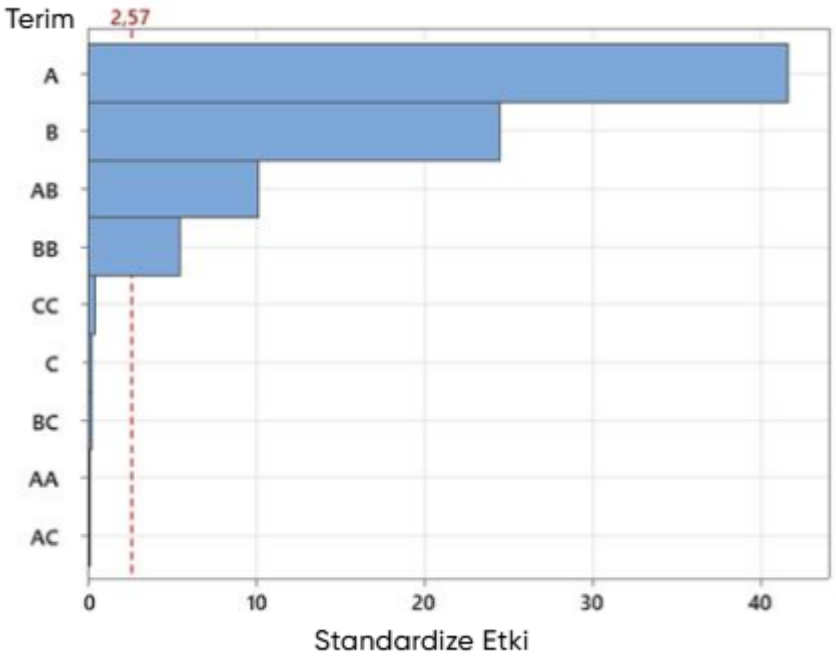
Şekil 4.5: TPC üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto).



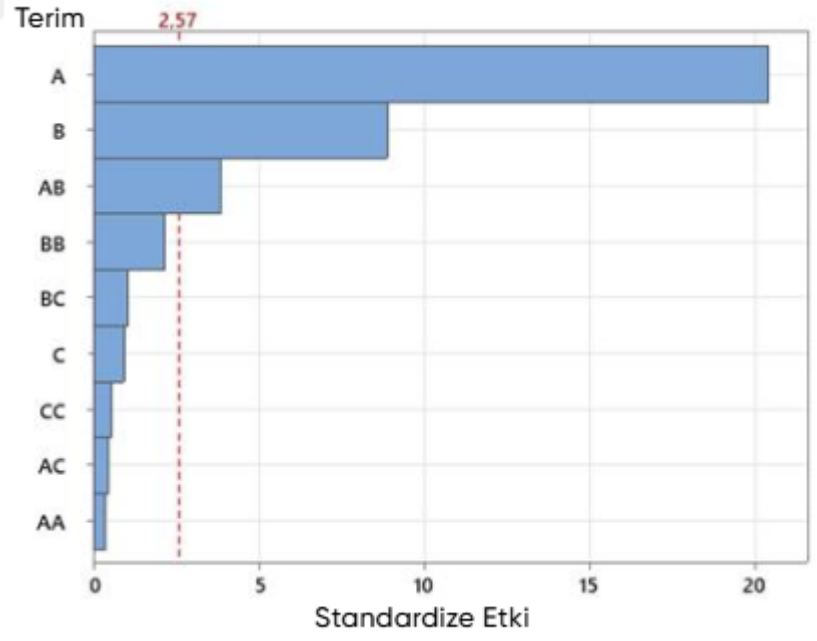
Şekil 4.6: TFC üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto).



Şekil 4.7: DPPH aktivitesi üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto).



Şekil 4.8: ABTS aktivitesi üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto).



Şekil 4.9: CUPRAC aktivitesi üzerindeki standartlaştırılmış etkiler (Pareto).

Tablo 4.6: Box-Behnken deneysel tasarımı.

Sıra	Solvent hacmi (mL)	Katı kütlesi (g)	Etanol konstrasyonu (%)	TPC (mg-GAE/g-KM)	TFC (mg-CE/g-KM)	DPPH (mg-TEAC/g-KM)	ABTS (mg-TEAC/g-KM)	CUPRAC (mg-TEAC/g-KM)
1	25	0,75	50	6,39	16,07	9,33	9,38	63,97
2	25	1,00	20	4,87	13,98	6,96	7,15	60,69
3	10	0,50	50	3,70	18,14	5,61	5,70	48,85
4	10	0,75	20	4,42	13,99	3,70	3,82	48,50
5	40	0,50	50	10,41	20,57	22,69	22,50	102,13
6	25	0,50	80	6,58	16,45	14,15	14,22	80,50
7	25	0,75	50	6,33	16,00	9,43	9,54	66,31
8	40	1,00	50	6,42	15,23	11,34	11,40	76,13
9	25	1,00	80	4,11	12,42	7,01	7,12	58,29
10	40	0,75	80	6,63	15,68	15,09	15,20	81,24
11	10	0,75	80	3,41	12,69	3,69	3,84	45,61
12	40	0,75	20	7,51	17,74	15,00	15,28	86,67
13	10	1,00	50	3,20	12,38	2,75	2,86	44,14
14	25	0,50	20	6,65	17,00	14,21	14,45	77,04
15	25	0,75	50	6,30	15,93	9,43	9,50	65,56

Tablo 4.7: Box-Behnken tasarımı varyans analiz sonuçları.

	Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F-değeri	P-değeri
TPC	Model	9	48,1541	5,3505	14,99	0,004
	Lineer	3	43,4374	14,4791	40,55	0,001
	Solvent hacmi	1	32,9746	32,9746	92,36	0,000
	Katı kütlesi	1	9,5321	9,5321	26,70	0,004
	Etanol konsantrasyonu	1	0,9306	0,9306	2,61	0,167
	R^2	3	1,5690	0,5230	1,46	0,330
	Solvent hacmi*Solvent hacmi	1	0,2026	0,2026	0,57	0,485
	Katı kütlesi*Katı kütlesi	1	0,1120	0,1120	0,31	0,600
	Etanol konsantrasyonu*Etanol konsantrasyonu	1	1,3909	1,3909	3,90	0,105
	2-Yol Etkileşimi	3	3,1477	1,0492	2,94	0,138
	Solvent hacmi *Katı kütlesi	1	3,0237	3,0237	8,47	0,033
	Solvent hacmi* Etanol konsantrasyonu	1	0,0044	0,0044	0,01	0,916
	Katı kütlesi*Etanol konsantrasyonu	1	0,1196	0,1196	0,33	0,588
	Hata	5	1,7852	0,3570		
	Uyum Eksikliği	3	1,7806	0,5935	261,33	0,004
	Saf Hata	2	0,0045	0,0023		
	Toplam	14	49,9393			
	Kaynak	**DF**	**Adj SS**	**Adj MS**	**F-Value**	**P-Value**
TFC	Model	9	70,7224	7,8580	15,55	0,004
	Lineer	3	63,0517	21,0172	41,58	0,001
	Solvent hacmi	1	18,0542	18,0542	35,72	0,002
	Katı kütlesi	1	41,2356	41,2356	81,57	0,000
	Etanol konsantrasyonu	1	3,7619	3,7619	7,44	0,041

	Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
	R^2	3	7,2253	2,4084	4,76	0,063
	Solvent hacmi*Solvent hacmi	1	0,3803	0,3803	0,75	0,425
	Katı kütlesi*Katı kütlesi	1	0,2447	0,2447	0,48	0,518
	Etanol konsantrasyonu*Etanol konsantrasyonu	1	6,1701	6,1701	12,21	0,017
	2-Yol Etkileşimi	3	0,4454	0,1485	0,29	0,829
	Solvent hacmi *Katı kütlesi	1	0,0435	0,0435	0,09	0,781
	Solvent hacmi* Etanol konsantrasyonu	1	0,1451	0,1451	0,29	0,615
	Katı kütlesi*Etanol konsantrasyonu	1	0,2569	0,2569	0,51	0,508
	Hata	5	2,5275	0,5055		
	Uyum Eksikliği	3	2,5187	0,8396	189,90	0,005
	Saf Hata	2	0,0088	0,0044		
	Toplam	14	73,2499			

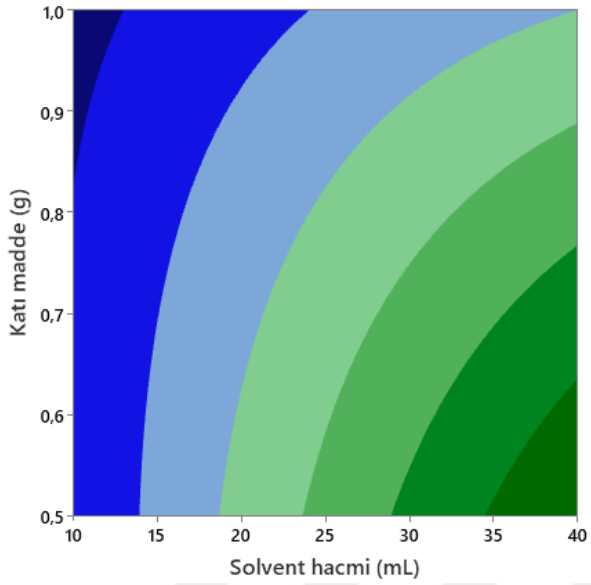
	Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
DPPH	Model	9	417,904	46,434	208,26	0,000
	Lineer	3	394,468	131,489	589,74	0,000
	Solvent hacmi	1	292,302	292,302	1311,00	0,000
	Katı kütlesi	1	102,165	102,165	458,22	0,000
	Etanol konsantrasyonu	1	0,001	0,001	0,00	0,950
	R^2	3	5,439	1,813	8,13	0,023
	Solvent hacmi*Solvent hacmi	1	0,000	0,000	0,00	0,981
	Katı kütlesi*Katı kütlesi	1	5,359	5,359	24,04	0,004
	Etanol konsantrasyonu*Etanol konsantrasyonu	1	0,002	0,002	0,01	0,931
	2-Yol Etkileşimi	3	17,997	5,999	26,91	0,002
	Solvent hacmi *Katı kütlesi	1	17,991	17,991	80,69	0,000
	Solvent hacmi* Etanol konsantrasyonu	1	0,003	0,003	0,01	0,917
	Katı kütlesi*Etanol konsantrasyonu	1	0,004	0,004	0,02	0,905
	Hata	5	1,115	0,223		
	Uyum Eksikliği	3	1,108	0,369	112,64	0,009
	Saf Hata	2	0,007	0,003		
	Toplam	14	419,019			

	Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
ABTS	Model	9	412,530	45,837	273,70	0,000
	Lineer	3	390,386	130,129	777,02	0,000
	Solvent hacmi	1	289,875	289,875	1730,89	0,000
	Katı kütlesi	1	100,498	100,498	600,09	0,000
	Etanol konsantrasyonu	1	0,012	0,012	0,07	0,797
	R^2	3	5,095	1,698	10,14	0,014
	Solvent hacmi*Solvent hacmi	1	0,003	0,003	0,02	0,894
	Katı kütlesi*Katı kütlesi	1	5,041	5,041	30,10	0,003
	Etanol konsantrasyonu*Etanol konsantrasyonu	1	0,030	0,030	0,18	0,690
	2-Yol Etkileşimi	3	17,049	5,683	33,93	0,001
	Solvent hacmi *Katı kütlesi	1	17,036	17,036	101,73	0,000
	Solvent hacmi* Etanol konsantrasyonu	1	0,003	0,003	0,02	0,896
	Katı kütlesi*Etanol konsantrasyonu	1	0,009	0,009	0,06	0,823
	Hata	5	0,837	0,167		

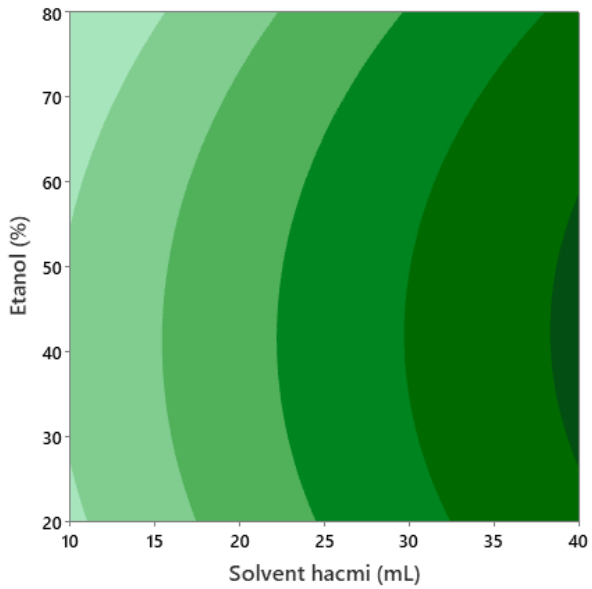
	Kaynak	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
	Uyum Eksikliği	3	0,823	0,274	37,70	0,026
	Saf Hata	2	0,015	0,007		
	Toplam	14	413,367			
	Kaynak	**DF**	**Adj SS**	**Adj MS**	**F-Value**	**P-Value**
CUPRAC	Model	9	3931,60	436,84	57,49	0,000
	Lineer	3	3769,48	1256,49	165,37	0,000
	Solvent hacmi	1	3163,11	3163,11	416,29	0,000
	Katı kütlesi	1	599,81	599,81	78,94	0,000
	Etanol konsantrasyonu	1	6,57	6,57	0,86	0,395
	R^2	3	38,61	12,87	1,69	0,283
	Solvent hacmi*Solvent hacmi	1	1,09	1,09	0,14	0,720
	Katı kütlesi*Katı kütlesi	1	35,04	35,04	4,61	0,085
	Etanol konsantrasyonu*Etanol konsantrasyonu	1	2,20	2,20	0,29	0,614
	2-Yol Etkileşimi	3	123,51	41,17	5,42	0,050
	Solvent hacmi *Katı kütlesi	1	113,33	113,33	14,92	0,012
	Solvent hacmi* Etanol konsantrasyonu	1	1,60	1,60	0,21	0,665
	Katı kütlesi*Etanol konsantrasyonu	1	8,57	8,57	1,13	0,337
	Hata	5	37,99	7,60		
	Uyum Eksikliği	3	35,15	11,72	8,26	0,110
	Saf Hata	2	2,84	1,42		
	Toplam	14	3969,59			

4.6. PROSES PARAMETRELERİNİN ETKİLERİ

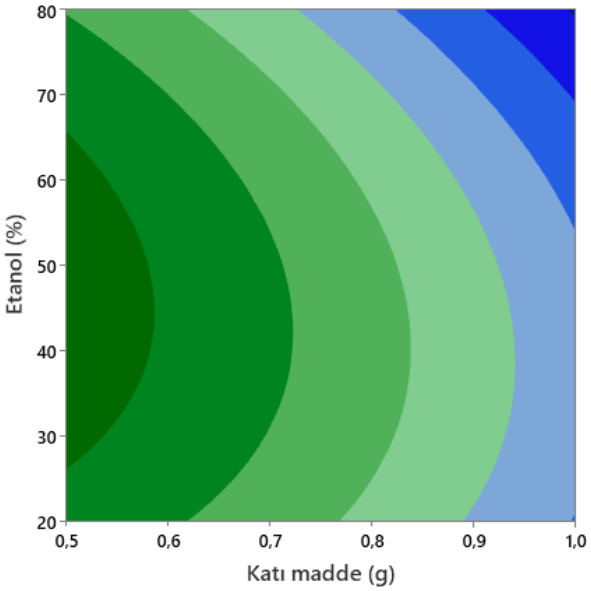
Aşağıdaki şekillerde verilen kontur grafikleri, çözücü hacmi, katı kütle ve etanol konsantrasyonunun sırasıyla TPC (Şekil 4.10-4.12), TFC (Şekil 4.13-4.15) ve antioksidan aktiviteleri (DPPH (Şekil 4.16-4.18), ABTS (Şekil 4.19-4.21) ve CUPRAC (4.22-4.24) üzerindeki birleşik etkilerini göstermektedir. Renk gradyanları, tepkilerin büyüklüğünü temsil eder. Daha koyu yeşil bölgelerin daha yüksek verime karşılık geldiği grafiklerde, bu bölgeler optimum kombinasyonları gösterir. Buna karşılık, mavi gradyanlarla ölçeklendirilmiş grafiklerde, daha açık alanlar daha yüksek tepkilere karşılık gelir. Renkler arasındaki daha dik geçişler daha güçlü faktör etkilerini (özellikle çözücü hacmi) gösterirken, daha yumuşak gradyanlar etanol konsantrasyonu gibi daha zayıf katkıları doğrular.



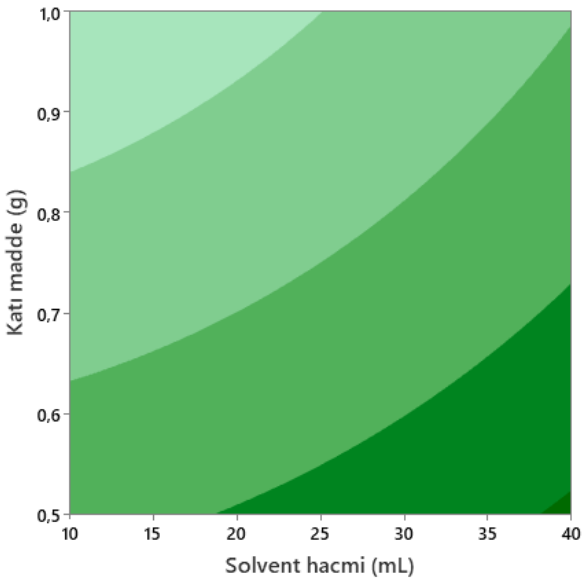
Şekil 4.10: TPC' nin kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi).



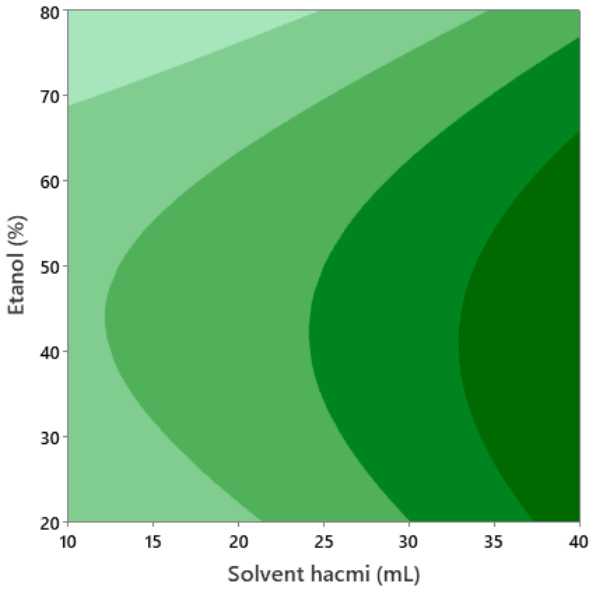
Şekil 4.11: TPC' nin kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi).



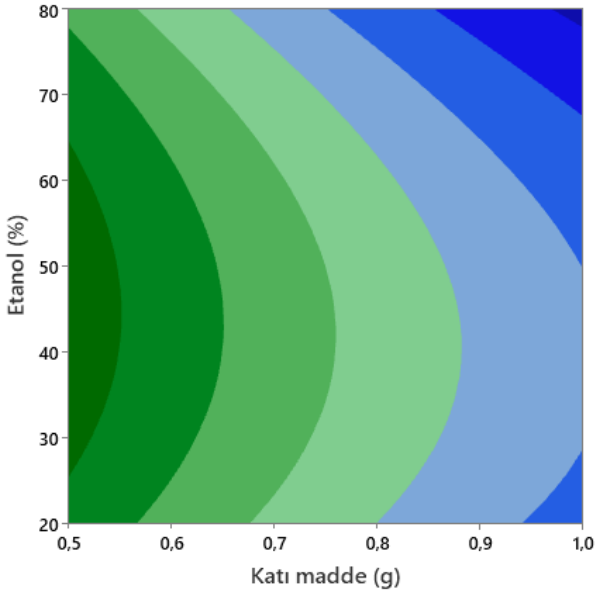
Şekil 4.12: TPC' nin kontur grafiği (Etanol-Katı madde).



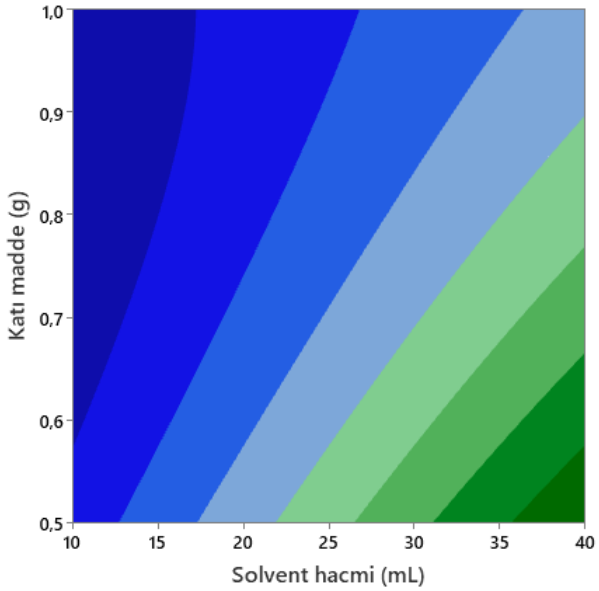
Şekil 4.13: TFC' nin kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi).



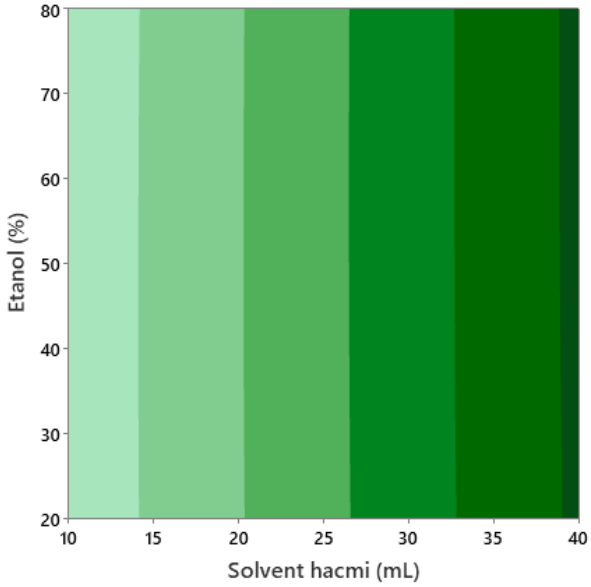
Şekil 4.14: TFC' nin kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi).



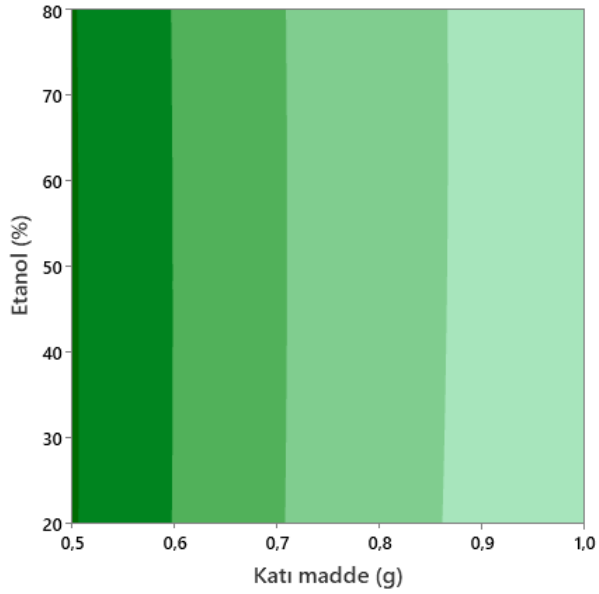
Şekil 4.15: TFC' nin kontur grafiği (Etanol-Katı madde).



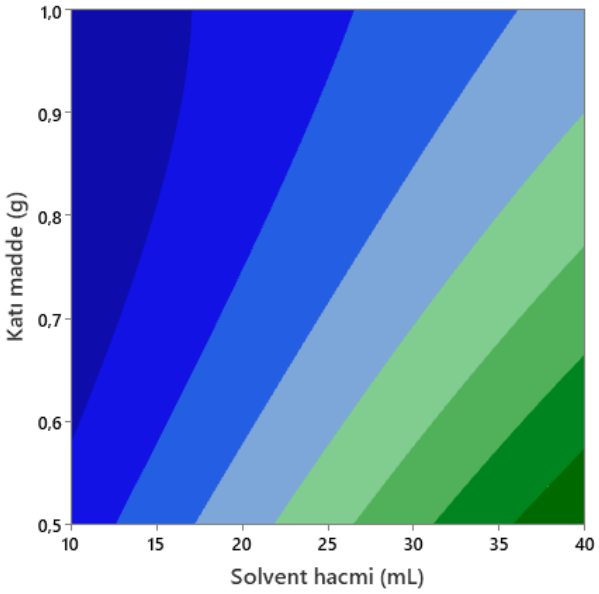
Şekil 4.16: DPPH kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi).



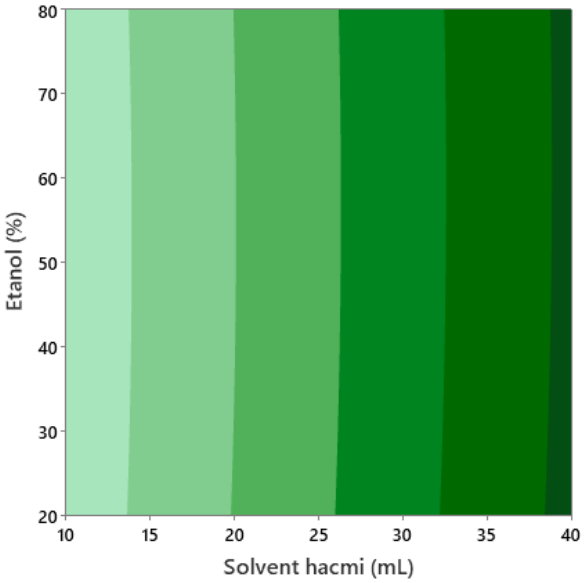
Şekil 4.17: DPPH kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi).



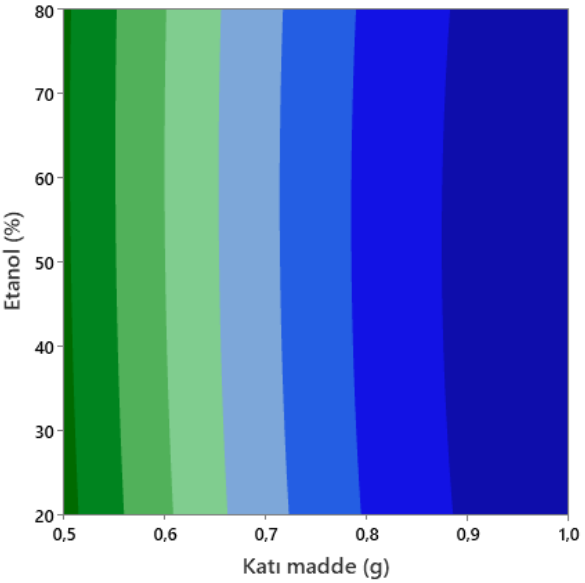
Şekil 4.18: DPPH kontur grafiği (Etanol-Katı madde).



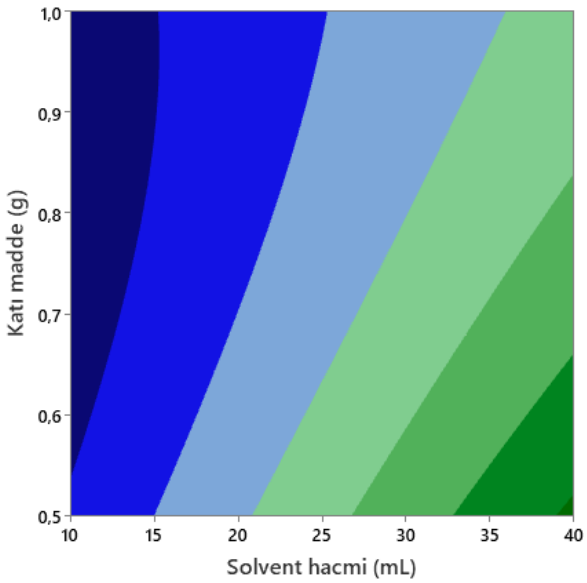
Şekil 4.19: ABTS kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi).



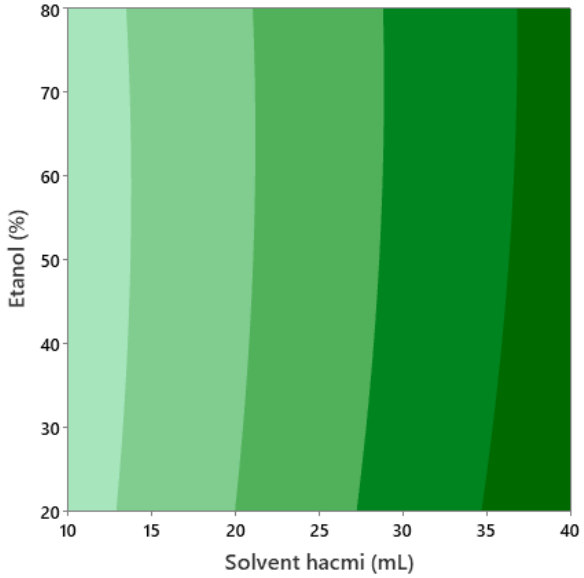
Şekil 4.20: ABTS kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi).



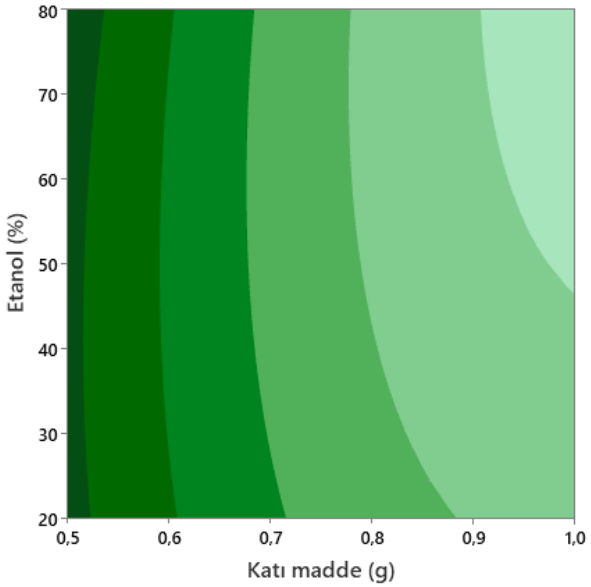
Şekil 4.21: ABTS kontur grafiği (Etanol-Katı madde).



Şekil 4.22: CUPRAC kontur grafiği (Katı madde-Çözücü hacmi).



Şekil 4.23: CUPRAC kontur grafiği (Etanol-Çözücü hacmi).



Şekil 4.24: CUPRAC kontur grafiği (Etanol-Katı Madde).

5. TARTIŞMA

5.1. KİNETİK PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ekstraksiyon 25 °C' de yavaş ve düşük verimli olmuştur (Şekil 4.1). En yüksek verim 65 °C' de elde edilmiştir. TPC verimliliği yaklaşık 3 kat artmış (65 °C' de), ancak 75 °C' de tekrar düşmüştür. Antony ve Farid, etanol, metanol ve aseton ile geleneksel ekstraksiyon yöntemleri sırasında maksimum fenolik verimlerin 60-80 °C' de kaydedildiğini bildirmiştir [158]. Bu inceleme çalışmasında ayrıca, fenolik bileşiklerin termal bozunması nedeniyle fenolik verimin 80 °C' nin üzerindeki sıcaklık değerlerinin üzerinde azaldığını bildirmişlerdir. Dolayısıyla, bulgularımız önceki çalışmalarla tutarlıdır.

Her iki model (PFO ve PSO) yüksek R^2 değerleri (>0,96) üretmektedir ve bu da kinetik verilere matematiksel olarak iyi uyum göstermektedir (Tablo 4.1). Diğer taraftan, PSO modelinin tahmini q_e değerleri genellikle deneysel modellerden çok daha yüksektir. Fark özellikle 45-65 °C aralığında yüksektir (%40 civarı). Bu, PSO modelinin ekstraksiyon sistemini iyi temsil etmediği anlamına gelir. Tablo 4.1' de görüldüğü gibi PFO modelindeki k_1 değerleri sıcaklıkla önemli ölçüde değişmez. Sadece 75 °C' de önemli bir azalma vardır. Bu, biyoaktif bileşiklerin daha yüksek sıcaklıklarda ayrışmasıyla açıklanabilir. Yani, bu beklenen bir durumdur. Sant'Anna ve arkadaşları da üzüm cibresinden TPC ekstraksiyonu için 25-60 °C' de PFO tarafından tahmin edilen benzer k_1 değerleri (0,040-0,1302 dak-1) üretmiştir [153]. PFO' nun kinetik verileri en iyi şekilde temsil ettiğini bildirmişlerdir. Linares ve arkadaşları Ayrıca, PFO' yu, yerba mate yapraklarından toplam suda çözünür katıların ekstraksiyonu hakkında faydalı bilgiler sağlayan basit bir model olarak bildirmiştir [159].

Bu E_a değeri (<20 kJ mol^{-1}), (Şekil 4.2) difüzyon kontrollü bir sürece işaret etmektedir [82,83]. Benzer şekilde, Bucić-Kojić ve arkadaşları, üzüm çekirdeklerinden toplam polifenol ekstraksiyonu için E_a' yı 1,10 kJ mol^{-1} olarak hesaplamışlardır [162]. Balyan ve arkadaşları, jamun çekirdeklerinden fenoliklerin ekstraksiyonu için 5,45±0,16 kJ mol^{-1}' lik bir E_a değeri bildirmişlerdir [163]. Rahmah ve arkadaşları da Piper Betle Linn. yapraklarından fenolik bileşiklerin difüzyonu için düşük bir aktivasyon enerjisi (8,964 kJ mol^{-1}) bildirmişlerdir [164].

González-Centeno ve diğerleri, üzüm posasından fenolik bileşiklerin geleneksel ekstraksiyonu ve ultrason destekli ekstraksiyonu için 12,5 kJ mol^{-1} ve 4,6 kJ mol^{-1} kaydetti [165].

5.2. TERMODİNAMİK PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİMESİ

Tablo 4.2' de görüldüğü gibi, defne yapraklarından fenolik maddelerin ekstraksiyon işlemi endotermik sistemi ifade eder ($\Delta H>0$). $\Delta S>0$, sistemdeki düzensizliğin ekstraksiyonla arttığını gösterir. Ek olarak, işlem tüm sıcaklık değerlerinde kendiliğindendir ($\Delta G<0$) ancak sıcaklık arttıkça daha elverişli hale gelir (Tablo 4.2). Das ve arkadaşları da daha yüksek sıcaklıklarda giderek artan negatif ΔG değerleri gözlemlediler; bu da termodinamik uygunluğu desteklemektedir [166]. Ihlamur çiçeklerinden toplam polifenollerin ekstraksiyon işlemi de benzer termodinamik parametreler üretti ($\Delta H>0$, $\Delta S>0$ ve $\Delta G<0$) [167]. Jevtovic ve diğerleri ayrıca üzüm saplarından fenolik antioksidanların geri kazanılması için endotermik, kendiliğinden ve geri döndürülemez bir süreç bildirdiler [168].

5.3. DİFÜZYON PARAMETRELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Toplam fenolik maddeye dayalı olarak hesaplanan D_e değerlerinin, sıcaklığa (298 K-338 K) bağlı olarak $7{,}80\times10^{-9}$ m^2 sn^{-1}-$8{,}18\times10^{-9}$ m^2 sn^{-1} aralığında olduğu bulundu (Tablo 4.3). Bu D_e bulguları, pirinç kabuğu atıklarından polifenollerin katı-sıvı ekstraksiyonu [169] ve çuha çiçeği çiçeklerinin antioksidan ekstraksiyonu [170] ile tutarlıdır. D_e' nin artan sıcaklıkla arttığı ancak 328 K' nin üzerinde sabit kalma eğiliminde olduğu görülmektedir (Tablo 4.3). Bu, başlangıçta sıcaklığın moleküler hareketliliği artırarak difüzyon hızını arttırdığını, ancak çözücü-çözünen dengesinin daha yüksek sıcaklıklarda sınırlayıcı faktör haline geldiğini göstermektedir. Tao ve arkadaşları üzüm posasındaki fenolik bileşikler için ultrason destekli bir ekstraksiyon çalışmasında difüzyon katsayısının genellikle artan sıcaklıkla birlikte arttığı, ancak bazen hızlandırılmış difüzyonun doymuş hale gelebildiği ve fiksasyona yakın bir davranış sergileyebildiği bildirilmiştir [171]. Benzer şekilde, Tablo 4.3' te görüldüğü gibi K_t değerleri 0,000336 m sn^{-1} ile 0,000352 m sn^{-1} arasında değişmiştir. Raneen ve arkadaşları da mikrodalga destekli ekstraksiyon kullanılarak yapılan fenolik ekstraksiyonda difüzyon katsayısı ve kütle

transfer katsayısı değerlerinin artan sıcaklıkla birlikte arttığını gözlemlemiştir [154]. Biot sayısı sürekli olarak yüksek kalmıştır (yaklaşık 43). Bi>40, kütle difüzyonunun iç direncinin kütle transferini yönettiği anlamına gelir [172]. Benzer şekilde, Cheng ve arkadaşları çeşitli sistemler için 50 ile 413 arasında Bi değerleri bildirmiş ve bu koşullar altında iç kütle transfer direncinin baskınlığını doğrulamıştır [173].

5.4. İSTATİSTİKSEL OLARAK EN ETKİN PROSES PARAMETRELERİNİN BELİRLENMESİ

Plackett-Burman tasarımı bir tarama yöntemi olarak kullanıldığından, herhangi bir tahmini regresyon denklemi önerilmemiştir. Bunun yerine, test edilen faktörlerin etkileri, standartlaştırılmış etkilerin Pareto grafiği (Şekil 4.4) ve ANOVA sonuçları (Tablo 4.5) aracılığıyla değerlendirilmiştir. En iyi TPC geri kazanımı için en etkili parametre çözücü hacmiydi. Bunu katı miktarı izledi. Bu nedenle, bu birçok çalışmada bildirildiği gibi katı/sıvı oranına benziyor. Silva ve arkadaşları, katı/sıvı oranının, portakal yan ürünlerinde ve kullanılmış kahve telvesinde derin ötektik çözücülerle fenolik bileşiklerin geri kazanımı sırasında proses verimliliğini doğrudan etkileyen önemli bir parametre olduğunu bildirmiştir [174]. Bu, kütle taşınımının nedeni olan çözücü fazı ile çözünen faz arasındaki konsantrasyon gradyanı meselesidir [175]. Machado-Carvalho ve arkadaşları da *Inonotus hispidus*' tan fenolik verimi en üst düzeye çıkarmada TYM ile katı/sıvı oranı optimizasyonunun önemini vurguladılar [176]. Ancak, etanol konsantrasyonu Pareto grafiğine göre sınırlayıcı bir faktördü (Şekil 4.4). Çalkalama hızı ve bitkinin parçacık boyutu, yanıtı önemli ölçüde etkilemedi ($p>0,05$). Silva ve arkadaşları ayrıca çalkalama hızının 100 rpm' den 1500 rpm' ye çıkarılmasının Norveç ladin köklerinden fenolik geri kazanımı önemli ölçüde etkilemediğini bildirdi [177]. Parçacık boyutu durumunda, armut posası üzerinde yapılan bir çalışma, parçacık boyutu azaltımının TPC geri kazanımı üzerinde istatistiksel olarak önemli bir etkisi olmadığını ($p>0,05$) gösterdi [178]. Daha sonra, geri kazanım verimliliğini en üst düzeye çıkarmak için optimizasyon çalışmasında yalnızca katı kütle, çözücü hacmi ve etanol konsantrasyonu olmak üzere 3 faktör dikkate alındı (Tablo 4.7). Sonuç olarak, model özet istatistikleri, modelin varyansın %90' ını açıkladığını ($R^2=0,9023$) göstermiştir. Bu, tarama analizinin güvenilirliğini desteklemektedir.

5.5. BOX-BEHNKEN DENEYSEL TASARIM SONUÇLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Denklem 4.1' de görüldüğü gibi, A ve B' nin pozitif doğrusal katsayıları, fenolik ekstraksiyonun artan çözücü hacmi ve katı maddeyle birlikte arttığını göstermektedir. Bununla birlikte, B^2 ve AB' nin negatif katsayıları, yüksek seviyelerde doygunluk etkisine işaret etmektedir. Denklem 4.2' de ise, B' nin negatif doğrusal katsayısı dikkat çekicidir ve bu da yüksek katı madde yüklemesinin flavonoid verimini azaltabileceğini göstermektedir. Antioksidan aktivite tepkileri (Denklem 4.3-4.5) benzerdir; burada A pozitif, B ise negatif doğrusal etkiye sahiptir ve ikinci dereceden terimler (özellikle B^2 ve C^2) önemli bir doğrusal olmayan katkı sağlamaktadır.

ANOVA (Tablo 4.6) ve Pareto grafiği (Şekil 4.5-4.9) sonuçları birlikte değerlendirildiğinde, çözücü hacmi tüm tepkiler için en baskın faktör olarak ortaya çıkmıştır. Katı madde içeriği, özellikle TFC' de (Şekil 4.6) ve DPPH (Şekil 4.7), ABTS (Şekil 4.8) ve CUPRAC (Şekil 4.9) aktivitelerinde önemli bir rol oynamıştır. Etanol konsantrasyonu TFC dışında doğrusal olarak etkili olmasa da (çok sınırlı etki), kare terimi (C^2) TFC üzerinde önemli bir etkiye sahipti. Bu sonuç, Lohvina ve arkadaşları [179]' nın sonuçlarına benzerdir. Bu çalışmada, farklı etanol konsantrasyonları (%30, %50, %70 ve %96, v/v) test edilmiş ve en yüksek TPC, %70' lik bir etanol çözeltisiyle elde edilmiştir. Dolayısıyla bu, C^2 teriminin etkimize benzerdir. Şekil X_e, çözücü hacmi ve katı kütlenin en baskın etkiler olduğunu göstermektedir. Etkileşimleri ($p=0,012$) kritik eşiğin üzerindeydi (Tablo 4.6).

Ayrıca, model yeterlilikleri R^2 metrikleri ve uyumsuzluk (LOF) ile değerlendirilmiştir. TPC ve TFC için modeller yüksek belirleme katsayıları (sırasıyla R^2=%96,43 ve %96,55) ve ayarlanmış R^2 (adj-R^2) değerleri (%89,99 ve %90,34) gösterdi, ancak LOF anlamlıydı (sırasıyla $p=0,004$ ve $p=0,005$). Antioksidan tepkiler için, ikinci dereceden modeller mükemmel uyum gösterdi. DPPH (R^2=%99,73, adj-R^2=%99,26, LOF $p=0,009$), ABTS (R^2=%99,80, adj-R^2=%99,43, LOF $p=0,026$) ve CUPRAC (R^2=%99,04, adj-R^2=%97,32, LOF $p=0,110$). Mevcut çalışmada, TPC, TFC, DPPH ve ABTS modelleri için LOF değerleri anlamlı bulundu ($p<0,05$). Bu, daha düşük tekrar merkez noktası sayısından, deneysel değişkenlikten veya kullanılan testlerin (biyoaktivite testleri) duyarlılığından kaynaklanıyor olabilir. Sınırlı sayıda tekrar noktası olan Box-Behnken tasarımları gibi yanıt yüzeyi metodolojilerinde, LOF testi son derece hassas hale gelir. Montgomery, LOF' un özellikle az sayıda tekrar noktası olan tasarımlarda (Plackett-

Burman ve Box-Behnken gibi) aşırı duyarlı olabileceğinden, modelin tamamen reddedilmesi gerekmediğini vurgulamaktadır [180]. Supasatyankul ve arkadaşları da mung fasulyesi tohum kabuğundan fenolik ve flavonoid bileşiklerin basınçlı sıvı ekstraksiyon sistemi için anlamlı LOF bildirmiştir [181]. Gıda antioksidanı çalışmasının regresyon analizinde [182], modeller anlamlıyken, DPPH ve TEAC için LOF anlamlı olarak bildirilmiştir. Doğal derin ötektik çözücülerle polifenol ekstraksiyonunda [183], LOF' un tüm yanıtlar (DPPH ve ABTS) için önemsiz olduğu bildirilirken, LOF yalnızca FRAP' ta önemliydi. Bizim durumumuzda, DPPH ve ABTS' nin LOF' ları önemliyken, CUPRAC' ın LOF' u önemsizdir (Tablo 4.6).

Kontur grafiklerinin yer aldığı şekiller, deney bölgesi genelinde tüm tepkileri olumlu yönde etkileyen çözücü hacminin önemli etkisini açıkça göstermektedir. Taweekayujan ve arkadaşları da çözücü/katı oranının artırılmasının fenolik verimi önemli ölçüde artırdığını gözlemlemiş ve bu da çözücü hacmi üzerindeki etkimizi desteklemektedir [184]. Genel olarak, artan çözücü hacmi tüm tepkiler için ekstraksiyon verimlerini artırırken, daha yüksek katı kütle TPC' yi iyileştirmiş (Şekil 4.10-4.12) ancak yüksek seviyelerde TFC' yi azaltmıştır (Şekil 4.13-4.15), bu da olası bir kütle transfer sınırlamasını düşündürmektedir. Benzer şekilde, Liao ve arkadaşları, fıstık kabuklarından flavonoid verimlerinin artan çözücü/katı oranıyla belirli bir noktaya kadar arttığını, ancak katı yükleme çok yükseldiğinde azaldığını bildirmiştir; bu da kütle transfer sınırlamalarıyla tutarlıdır [185].

Tek başına etanol konsantrasyonunun, ikinci dereceden bir katkının belirgin olduğu TFC dışında, yalnızca küçük bir doğrusal etkisi vardı. Bu, Ruby S elma kabuğundan ultrason destekli ekstraksiyon sırasında etanolün ikinci dereceden terimlerinin TFC ve fenolik verimler için anlamlı olduğu Park ve arkadaşlarının bulgularıyla tutarlıdır [186]. Benzer şekilde, Thoo ve arkadaşları, artan etanol konsantrasyonunun durağan bir noktaya kadar TFC' yi iyileştirdiğini göstermiştir [187].

Önemli olan, çözücü hacmi ile katı kütle arasındaki etkileşimin, şekillerde görüldüğü gibi antioksidan analizlerinde (DPPH, ABTS ve CUPRAC) özellikle güçlü olması, ANOVA sonuçlarında gözlemlenen önemli etkileşim terimlerini desteklemektedir (Tablo 4.6). Park ve diğerleri [186], Costa ve diğerleri [188] ayrıca çözücü hacmi ve katı kütle etkileşimlerinin radikal temizleme aktivitelerini önemli ölçüde etkilediğini bildirmiştir.

5.6. OPTİMİZASYON VE MODEL DOĞRULAMASI

Sayısal optimizasyon, 0,973’ lük bir arzu edilebilirlik endeksi üretmiştir. Bu değer, çoklu yanıt optimizasyonunda arzu edilir olarak kabul edilmektedir [189]. Paulo ve arkadaşları da, zeytinyağı posası özleri üzerinde modelin güçlü tahmin performansıyla yüksek arzu edilebilirlik değerleri bildirmiştir [190]. Baeza ve arkadaşları da Typha lifinin ekstraksiyonunu optimize etmek için arzu edilebilirlik fonksiyonu analizini kullanmış ve yüksek arzu edilebilirliğin pratik optimum koşullarla uyumlu olduğunu doğrulamıştır [191]. Bu arzu edilirlik indeksi, önerilen koşulların (40 mL çözücü, 0,5 g katı ve %43,6 etanol) maksimum tepkileri sağladığını göstermektedir (TPC’ nin 9,9 mg-GAE/g-KM’ si, TFC’ nin 20,3 mg-CE/g-KM’ si, DPPH antioksidan aktivitesinin 22,3 mg-TEAC/g-KM’ si, ABTS antioksidan aktivitesinin 22,3 mg-TEAC/g-KM’ si ve CUPRAC antioksidan aktivitesinin 101,7 mg-TEAC/g-KM’ si). TFC sonuçları, %70 etanol ve %70 asetonla ultrason destekli ekstraksiyonla 10,73-12,13 mg-CE/g-KM bildiren Zorić ve arkadaşlarının sonuçlarından üstündür [192]. Ayrıca, %80 etanol ile elde edilen Cezayir yaprağı özütünden (12,11 mg-CE/g-KM) daha yüksektir [193]. TPC değerimiz Muniz-Marquez ve arkadaşları [194] tarafından bildirilen 10,23 mg-GAE/g-KM ve 3,52-17,32 mg-GAE/g-KM [195] ile uyumludur. Ancak, Dobroslavić ve arkadaşları [196] ve Rincón ve arkadaşları [197] sırasıyla 42,21-42,35 mg-GAE/g-KM ve 24,77 mg-GAE/g-KM ile *L. nobilis* özütü için çok daha yüksek TPC sonuçları bildirmiştir. Diğer yandan, sonuçlarımız TEAC eşdeğerleri cinsinden ifade edilmesine rağmen, DPPH ve ABTS temizleme aktiviteleri %90 inhibisyonu aşmıştır; bu, L. nobilis özütleri hakkındaki önceki raporlarla tutarlıdır [198]. Ek olarak, çalışmamızda optimize edilmiş CUPRAC değeri 101,7 mg-TEAC/g-KM’ ye ulaşmıştır. CUPRAC dışındaki ilgili analizlerde de benzer antioksidan kapasiteler elde edilmiştir. Metanolik *L. nobilis* özütleri FRAP değerleri olarak 73,26 mg-TEAC/g-KM ve ORAC değerleri olarak 77,01 mg-TEAC/g-KM gösterirken, sulu özütler sırasıyla 46,29 mg-TEAC/g-KM ve 40,75 mg-TEAC/g-KM vermiştir [199]. Bu sonuçlar bulgularımızla büyük ölçüde örtüşmekte ve *L. nobilis* özütlerinin güçlü indirgeyici potansiyelini daha da doğrulamaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma kinetik, termodinamik ve kütle transfer modellemesini istatistiksel tasarım yaklaşımlarıyla entegre ederek *Laurus nobilis* yapraklarından biyoaktif maddelerin ekstraksiyonuna ilişkin ilk kapsamlı araştırmadır. Kinetik değerlendirme, yalancı birinci mertebeden modelin ekstraksiyon sürecini yeterince tanımladığını göstermiştir. Bu durum, sistemin difüzyon kontrollü doğasını doğrulayan düşük aktivasyon enerjisiyle de desteklenmiştir. Termodinamik analiz, endotermik ve kendiliğinden gerçekleşen bir sürece işaret etmiştir. Kütle transfer araştırmaları, etkili difüzyon değerlerinin ve iç direncin kütle transferi oalylarına hakim olduğunu göstermiştir. Plackett-Burman tasarımı katı kütle, çözücü hacmi ve çözücü konsantrasyonunun en etkili parametreler olduğunu göstermiştir. Öte yandan, Box-Behnken tasarımı, yüksek arzu edilebilirlik indeksi ile birden fazla yanıtı (TPC, TFC ve antioksidan aktiviteleri) başarıyla optimize etmiştir. Bu optimize edilmiş koşullarda elde edilen ürünler, literatürde daha önce bildirilenlere kıyasla veya onlardan daha yüksek düzeyde yüksek fenolik ve flavonoid verimleri ve güçlü antioksidan aktiviteleri sergilemiştir.

KAYNAKLAR

[1] E. Dobroslavić, M. Repajić, V. Dragović-Uzelac, and I. E. Garofulić, "Isolation of Laurus nobilis Leaf Polyphenols: A Review on Current Techniques and Future Perspectives," *mdpi.comE Dobroslavić, M Repajić, V Dragović-Uzelac, I Elez GarofulićFoods, 2022•mdpi.com*, vol. 11, no. 2, Jan. 2022, doi: 10.3390/FOODS11020235.

[2] Y. Khaled Khodja, M. Bachir-Bey, M. Belmouhoub, R. Ladjouzi, F. Dahmoune, and B. Khettal, "The botanical study, phytochemical composition, and biological activities of Laurus nobilis L. leaves: A review," *International Journal of Secondary Metabolite 2023*, vol. 10, no. 2, pp. 269–296, 2023, doi: 10.21448/ijsm.1171836.

[3] S. Pacifico *et al.*, "Neuroprotective potential of Laurus nobilis antioxidant polyphenol-enriched leaf extracts," *Chem. Res. Toxicol.*, vol. 27, no. 4, pp. 611–626, Apr. 2014, doi: 10.1021/TX5000415.

[4] N. J. Fernández *et al.*, "Laurus nobilis L. Extracts against Paenibacillus larvae: Antimicrobial activity, antioxidant capacity, hygienic behavior and colony strength," *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 26, no. 5, pp. 906–912, Jul. 2019, doi: 10.1016/J.SJBS.2018.04.008.

[5] E. Dobroslavić, I. Elez Garofulić, J. Šeparović, Z. Zorić, S. Pedisić, and V. Dragović-Uzelac, "Pressurized Liquid Extraction as a Novel Technique for the Isolation of Laurus nobilis L. Leaf Polyphenols," *Molecules*, vol. 27, no. 16, Aug. 2022, doi: 10.3390/MOLECULES27165099.

[6] S. Altın *et al.*, "Therapeutic potential of Laurus nobilis extract by experimental and computational approaches: phenolic content and bioactivities for antioxidant, antidiabetic, and anticholinergic properties," *Front. Chem.*, vol. 13, 2025, doi: 10.3389/FCHEM.2025.1541250/PDF.

[7] A. Franco-Vega, N. Ramírez-Corona, A. López-Malo, and E. Palou, "Studying microwave assisted extraction of Laurus nobilis essential oil: Static and dynamic modeling," *J. Food Eng.*, vol. 247, pp. 1–8, Apr. 2019, doi: 10.1016/J.JFOODENG.2018.11.007.

[8] R. V. Nascimento *et al.*, "Hydrodistillation Extraction Kinetics of Volatile Oils from Varronia curassavica and Laurus nobilis," *Revista Brasileira de Farmacognosia*, vol. 30, no. 4, pp. 503–509, Aug. 2020, doi: 10.1007/S43450-020-00067-9.

[9] T. Chatzimitakos *et al.*, "Optimizing Extract Preparation from Laurel (Laurus nobilis L.) Leaves Using a Pulsed Electric Field," *ChemEngineering*, vol. 8, no. 2, Apr. 2024, doi: 10.3390/CHEMENGINEERING8020026/S1.

[10] R. Sha, D. Wu, W. Wang, S. Wang, C. Cai, and J. Mao, "Application of Plackett–Burman Design in Screening the Significant Parameters in Extraction of Phytic Acid from Defatted Rice Bran by Acetic Acid," *Waste Biomass Valorization*, vol. 10, no. 4, pp. 1003–1011, Apr. 2019, doi: 10.1007/S12649-017-0092-X.

[11] S. Ayşe Çelik, İ. Ayran, S. Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü Tıbbi Bitkiler Anabilim Dalı Kampüs, and S. yazar, "Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi ANTİOKSİDAN KAYNAĞI OLARAK BAZI TIBBİ VE AROMATİK BİTKİLER," *Derleme Makalesi*, vol. 13, no. 2, pp. 115–125, 2020.

[12] R. Yavaşer, T. Danışmanı, and A. A. Karagözler, "AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ KİMYA ANABİLİM DALI".

[13] R. Haigh, "Safety and necessity of antioxidants: EEC approach," *Food and Chemical Toxicology*, vol. 24, no. 10–11, pp. 1031–1034, Oct. 1986, doi: 10.1016/0278-6915(86)90284-X.

[14] Fereidoon. Shahidi and C.-Tang. Ho, "Phytochemicals and phytopharmaceuticals," p. 431, 2000.

[15] A. Yashin, Y. Yashin, X. Xia, and B. Nemzer, "Antioxidant Activity of Spices and Their Impact on Human Health: A Review," *Antioxidants 2017, Vol. 6, Page 70*, vol. 6, no. 3, p. 70, Sep. 2017, doi: 10.3390/ANTIOX6030070.

[16] G. Nieto, G. Ros, and J. Castillo, "Antioxidant and Antimicrobial Properties of Rosemary (Rosmarinus officinalis, L.): A Review," *Medicines 2018, Vol. 5, Page 98*, vol. 5, no. 3, p. 98, Sep. 2018, doi: 10.3390/MEDICINES5030098.

[17] S. Miraj, Rafieian-Kopaei, and S. Kiani, "Melissa officinalis L: A Review Study With an Antioxidant Prospective," *journals.sagepub.comS Miraj, Rafieian-Kopaei, S KianiJournal of evidence-based complementary & alternative medicine, 2017•journals.sagepub.com*, vol. 22, no. 3, pp. 385–394, Jul. 2017, doi: 10.1177/2156587216663433.

[18] M. Loolaie, N. Moasefi, H. Rasouli, H. A.-A. C. Microbiol, and undefined 2017, "Peppermint and its functionality: A review," *researchgate.netM Loolaie, N Moasefi, H Rasouli, H AdibiArch Clin Microbiol, 2017•researchgate.net*, Accessed: Oct. 31, 2025. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/Rasouli-H/publication/319529691_Peppermint_and_Its_Functionality_A_Review/links/59b16f9d458515a5b4893448/Peppermint-and-Its-Functionality-A-Review.pdf

[19] E. M. A. Dauqan and A. Abdullah, "Medicinal and Functional Values of Thyme (Thymus vulgaris L.) Herb ARTICLE INFO ABSTRACT," *J. Appl. Biol. Biotechnol.*, vol. 5, no. 02, pp. 17–022, doi: 10.7324/JABB.2017.50203.

[20] N. W. Callan, D. L. Johnson, M. P. Westcott, and L. E. Welty, "Herb and oil composition of dill (Anethum graveolens L.): Effects of crop maturity and plant density," *Ind. Crops Prod.*, vol. 25, no. 3, pp. 282–287, Apr. 2007, doi: 10.1016/J.INDCROP.2006.12.007.

[21] H. Şahin, F. Özdemir, A. Üniversitesi, Z. Fakültesi, and G. Mühendisliği Bölümü, "Yeşil çayın sağlık üzerine etkisi," *gidadernegi.orgH Şahin, F ÖzdemirTürkiye,*

2006•gidadernegi.org, Accessed: Oct. 31, 2025. [Online]. Available: http://www.gidadernegi.org/TR/Genel/240934326f277.pdf

[22] H. Vatansever, "Alıç (Crataegus Tanacetifolia, Crataegus Monogyna) Meyvesi Çeşitlerinden Üretilen Marmelat Ve Reçellerin Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi," 2016. Accessed: Jan. 29, 2026. [Online]. Available: http://hdl.handle.net/11630/6298

[23] G. Giovanelli and S. Buratti, "Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties," *Food Chem.*, vol. 112, no. 4, pp. 903–908, Feb. 2009, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2008.06.066.

[24] S. Bilimleri Enstitüsü and S. Seyhan, "TÜRKİYE CUMHURİYETİ MARMARA ÜNİVERSİTESİ TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN MAVİYEMİŞ TÜRLERİNDE ELLAJİK ASİT VE RESVERATROL MİKTARLARININ HPLC YÖNTEMİ İLE TAYİNİ."

[25] Y. Kar, S. Üniversitesi, F. Bilimleri, E. Kimya, and A. Dalı, "ÖZET Doktora Tezi ÇÖREKOTU (Nigella sativa L.) TOHUMUNUN DOĞAL ANTİOKSİDAN VE ALTERNATİF ENERJİ KAYNAĞI OLARAK İNCELENMESİ."

[26] K. Singletary, "Bay leaf: Potential health benefits," *Nutr. Today*, vol. 56, no. 4, pp. 202–208, Jul. 2021, doi: 10.1097/NT.0000000000000493.

[27] R. Ballabio and P. Goetz, "Huile de graine/fruit de laurier Laurus nobilis L., Laurus azorica (Seub.) Franco, Laurus novocanariensis Rivas Mart., Lousã, Fern. Prieto, E. Dias, J.C. Costa et C. Aguiar," *Phytothérapie 2010 8:2*, vol. 8, no. 2, pp. 141–144, Apr. 2010, doi: 10.1007/S10298-010-0547-8.

[28] D. Trofimov, D. Cadar, J. Schmidt-Chanasit, P. L. Rodrigues de Moraes, and J. G. Rohwer, "A comparative analysis of complete chloroplast genomes of seven Ocotea species (Lauraceae) confirms low sequence divergence within the Ocotea complex," *Scientific Reports 2022 12:1*, vol. 12, no. 1, pp. 1–13, Jan. 2022, doi: 10.1038/s41598-021-04635-4.

[29] C. Chatelain, B. Medjahdi, and S. Benhouhou, "eFlore du Maghreb, une flore électronique basée sur la Nouvelle flore d'Algérie de P. Quézel et S. Santa," *Ecologia Mediterranea*, vol. 44, no. 2, pp. 131–136, 2018, doi: 10.3406/ECMED.2018.2053.

[30] A. Elzebroek, "Guide to cultivated plants," 2008, Accessed: Oct. 31, 2025. [Online]. Available: https://books.google.com/books?hl=tr&lr=&id=YvU1XnUVxFQC&oi=fnd&pg=PR5&dq=35)%09Elzebroek,+T.,+%26+Wind,+K.+(2008).+Guide+to+cultivated+plants.+CABI.&ots=bkrrEewXGM&sig=uHYNpIbyV1uhF6UZjsP2k3GWL-s

[31] A. YILMAZ - innoCentric, "Defne İşleme ve Paketleme Tesisi Ön Fizibilitesi", Accessed: Jan. 23, 2026. [Online]. Available: www.innocentric.com.tr

[32] P. K.-T. J. of Ecology and undefined 1983, "Phenological patterns of Chihuahuan Desert plants in relation to the timing of water availability," *JSTORPR KempThe Journal of Ecology, 1983•JSTOR*, Accessed: Oct. 31, 2025. [Online]. Available: https://www.jstor.org/stable/2259725

[33] V. Parthasarathy, B. Chempakam, and T. Zachariah, “Chemistry of spices.,” Jan. 2008, doi: 10.1079/9781845934057.0000.

[34] A. Paparella, B. Nawade, L. Shaltiel-Harpaz, and M. Ibdah, “A Review of the Botany, Volatile Composition, Biochemical and Molecular Aspects, and Traditional Uses of Laurus nobilis,” May 01, 2022, *MDPI*. doi: 10.3390/plants11091209.

[35] İ. ŞAFAK and T. OKAN, “KEKİK, DEFNE ve ÇAM FISTIĞININ ÜRETİMİ VE PAZARLAMASI,” *researchgate.net*, Accessed: Oct. 31, 2025. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/Taner_Okan/publication/237702493_KEKIK_DEFNE_ve_CAM_FISTIGININ_URETIMI_VE_PAZARLAMASI/links/0f31752ff3e961b070000000/KEKIK-DEFNE-ve-CAM-FISTIGININ-UeRETIMI-VE-PAZARLAMASI.pdf

[36] “Tam Metin Erişim.” Accessed: Jan. 26, 2026. [Online]. Available: https://kutuphane.tarimorman.gov.tr/pdf_goster?file=70be8f2abe004cc0d3b7b8ea52f44e0e#book/

[37] D. Makalesi *et al.*, “Türkiye’de defne (Laurus nobilis L.) bitkisinin durumu,” *dergipark.org.trA Yılmaz, V ÇiftçiAvrupa Bilim ve Teknoloji Dergisi, 2021•dergipark.org.tr*, vol. 22, pp. 325–330, Jan. 2021, doi: 10.31590/EJOSAT.856195.

[38] R. Kurt, S. Karayılmazlar, … E. İ.-B. O. F., and undefined 2016, “Türkiye ormancılık sektöründe odun dışı orman ürünleri: ihracat analizi,” *dergipark.org.trR Kurt, S Karayılmazlar, E İmren, Y CabukBartın Orman Fakültesi Dergisi, 2016•dergipark.org.tr*, vol. 18, no. 2, pp. 158–167, 2016, Accessed: Nov. 01, 2025. [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/en/pub/barofd/issue/25627/267289

[39] Ü. Karık, F. Çiçek, E. Oğur, … M. T.-A. E. T., and undefined 2016, “Türkiye’de yayılış gösteren defne (Laurus nobilis L.) populasyonlarının meyve özellikleri,” *dergipark.org.trÜ Karık, F Çiçek, E Oğur, M Tutar, F AyasANADOLU Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2016•dergipark.org.tr*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://dergipark.org.tr/en/pub/anadolu/issue/30611/330851

[40] D. Ambrose, A. Manickavasagan, and R. Naik, “Leafy medicinal herbs: botany, chemistry, postharvest technology and uses,” 2016, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://books.google.com/books?hl=tr&lr=&id=wwLpDAAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR3&dq=7)%09Ambrose,+D.C.,+Manickavasagan,+A.,+%26+Naik,+R.+(2016).+Leafy+medicinal+herbs:+botany,+chemistry,+postharvest+technology+and+uses.+CABI.&ots=9R2jVBzYMz&sig=MHKjIQFaBnt7qSe8kCsTdO55cMs

[41] N. Ouafi, H. Moghrani, N. Benaouada, N. Yassaa, R. Maachi, and R. Younsi, “Moisture sorption isotherms and heat of sorption of Algerian bay leaves (Laurus nobilis),” *SciELO ChileN Ouafi, H Moghrani, N Benaouada, N Yassaa, R Maachi, R YounsiMaderas. Ciencia y tecnología, 2015•SciELO Chile*, vol. 17, no. 4, pp. 759–772, 2015, doi: 10.4067/S0718-221X2015005000066.

[42] M. C. Díaz-Maroto, M. S. Pérez-Coello, and M. D. Cabezudo, “Effect of Drying Method on the Volatiles in Bay Leaf (Laurus nobilis L.),” *ACS PublicationsMC Díaz-Maroto,*

MS Pérez-Coello, MD CabezudoJournal of agricultural and food chemistry, 2002•ACS Publications, vol. 50, no. 16, pp. 4520–4524, Jul. 2002, doi: 10.1021/JF011573D.

[43] A. Sumono, A. W.-D. Journal, and undefined 2008, "The use of bay leaf (Eugenia polyantha Wight) in dentistry," *journal.unair.ac.id*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: http://journal.unair.ac.id/filerPDF/abstrak_26972_tpjua.pdf

[44] A. Alejo-Armijo, J. Altarejos, and S. Salido, "Phytochemicals and Biological Activities of Laurel Tree (Laurus nobilis)," *journals.sagepub.comA Alejo-Armijo, J Altarejos, S SalidoNatural product communications, 2017•journals.sagepub.com*, vol. 12, no. 5, pp. 743–757, May 2017, doi: 10.1177/1934578X1701200519.

[45] K. Chahal, M. Kaur, U. Bhardwaj, … N. S.-J. of, and undefined 2017, "A review on chemistry and biological activities of Laurus nobilis L. essential oil," *researchgate.netKK Chahal, M Kaur, U Bhardwaj, N Singla, A Kaur, M Kaur, U Bhardwaj, N Singla, A KaurJournal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 2017•researchgate.net*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/Nancy-Singla/publication/381126638_A_review_on_chemistry_and_biological_activities_of_Laurus_nobilis_L_essential_oil/links/665ebfe92f32b240a5639361/A-review-on-chemistry-and-biological-activities-of-Laurus-nobilis-L-essential-oil.pdf

[46] G. Yasin, S. Noor, S. Irshad, I. Haq, … S. F.-Int. J. P., and undefined 2020, "Solvents based extraction of antioxidants and their activity from some plants of cholistan desert, Pakistan," *researchgate.netG Yasin, S Noor, S Irshad, I Haq, S Fatima, I Anwer, A KhanInt. J. Pharm. Phytopharm. Res, 2020•researchgate.net*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/Ikram-Ul-Haq-6/publication/350579520_Solvents_Based_Extraction_of_Antioxidants_and_their_Activity_from_Some_Plants_of_Cholistan_Desert_Pakistan/links/6066aa6f92851c91b198865d/Solvents-Based-Extraction-of-Antioxidants-and-their-Activity-from-Some-Plants-of-Cholistan-Desert-Pakistan.pdf

[47] G. Deby-Dupont, C. Deby, M. L.- Réanimation, and undefined 2002, "Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène," *Elsevier*, 2002, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1624069301002080

[48] R. Abu-Dahab, V. Kasabri, F. A.-R. of N. Products, and undefined 2014, "Evaluation of the Volatile Oil Composition and Antiproliferative Activity of Laurus nobilis L.(Lauraceae) on Breast Cancer Cell Line Models.," *researchgate.netR Abu-Dahab, V Kasabri, FU AfifiRecords of Natural Products, 2014•researchgate.net*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/Violet-Kasabri-2/publication/258845244_''Evaluation_of_the_volatile_oil_composition_and_antiproliferative_activity_of_Laurus_nobilis_L_Lauraceae_on_breast_cancer_cell_line_models''/links/54f468ce0cf299c8d9e74b6f/Evaluation-of-the-volatile-oil-composition-and-antiproliferative-activity-of-Laurus-nobilis-L-Lauraceae-on-breast-cancer-cell-line-models.pdf

[49] B. Zolfaghari, … S. S.-S.-J. of R. in, and undefined 2013, "Chemical composition of volatile oils from the endocarp and hulls of Persian bay laurel fruit: A fragrant herb used

in traditional Iranian medicine," *journals.lww.comB Zolfaghari, SH Samsam-Shariat, A GhannadiJournal of Reports in Pharmaceutical Sciences, 2013•journals.lww.com*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://journals.lww.com/jrps/abstract/2013/02010/chemical_composition_of_volatile_oils_from_the.1.aspx

[50] M. Moghtader, H. S.-J. of E. and the Natural, and undefined 2012, "Comparative survey on the essential oil composition from the leaves and flowers of Laurus nobilis L. from Kerman province," *academicjournals.org*, vol. 4, no. 6, pp. 150–153, 2012, doi: 10.5897/JENE11.126.

[51] J. C. Chalchat, M. M. Özcan, and G. Figueredo, "The composition of essential oils of different parts of Laurel, Mountain Tea, Sage and Ajowan," *Wiley Online LibraryJC Chalchat, MM Özcan, G FigueredoJournal of Food Biochemistry, 2011•Wiley Online Library*, vol. 35, no. 2, pp. 484–499, Apr. 2011, doi: 10.1111/J.1745-4514.2010.00397.X.

[52] R. Rehman, M. Nayyar, M. A. Hanif, M. Ayub, and M. Majeed, "Medicinal Plants of South Asia, Chapter 16 - Datura," p. 768, 2019, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://books.google.com/books/about/Medicinal_Plants_of_South_Asia.html?hl=tr&id=ro6vDwAAQBAJ

[53] S. A. Ordoudi, M. Papapostolou, N. Nenadis, F. T. Mantzouridou, and M. Z. Tsimidou, "Bay Laurel (Laurus nobilis L.) Essential Oil as a Food Preservative Source: Chemistry, Quality Control, Activity Assessment, and Applications to Olive Industry Products," *Foods 2022, Vol. 11, Page 752*, vol. 11, no. 5, p. 752, Mar. 2022, doi: 10.3390/FOODS11050752.

[54] U. Matern, "The Handbook of Natural Flavonoids (two volumes set), Edited by J.B. Harborne and H. Baxter, John Wiley, Chichester, 1999. ISBN 0-471-95893-X; Hardcover £595.00," *Plant Science*, vol. 155, no. 1, p. 109, Jun. 2000, doi: 10.1016/S0168-9452(00)00196-5.

[55] M. NACZK and F. SHAHIDI, "Extraction and analysis of phenolics in food," *J. Chromatogr. A*, vol. 1054, no. 1–2, pp. 95–111, Oct. 2004, doi: 10.1016/S0021-9673(04)01409-8.

[56] T. Nithya, J. Jayanthi, M. R.-A. J. P. C. Res, and undefined 2016, "Antioxidant activity, total phenol, flavonoid, alkaloid, tannin, and saponin contents of leaf extracts of Salvinia molesta DS Mitchell (1972)," *hero.epa.gov*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://hero.epa.gov/hero/index.cfm/reference/details/reference_id/8391379

[57] B. H. Havsteen, "The biochemistry and medical significance of the flavonoids," *Pharmacol. Ther.*, vol. 96, no. 2–3, pp. 67–202, 2002, doi: 10.1016/S0163-7258(02)00298-X.

[58] L. B.-N. reviews and undefined 1998, "Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance," *academic.oup.comL BravoNutrition reviews,*

1998•academic.oup.com, 1998, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://academic.oup.com/nutritionreviews/article-abstract/56/11/317/1901722

[59] P. Montoro, A. Braca, C. Pizza, and N. De Tommasi, "Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids isolated from different plant species," *Food Chem.*, vol. 92, no. 2, pp. 349–355, 2005, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2004.07.028.

[60] A. F. Vinha, L. F. Guido, A. S. G. Costa, R. C. Alves, M. Beatriz, and P. P. Oliveira, "Monomeric and oligomeric flavan-3-ols and antioxidant activity of leaves from different Laurus sp.," *pubs.rsc.orgAF Vinha, LF Guido, ASG Costa, RC Alves, MBPP OliveiraFood & function, 2015•pubs.rsc.org*, 2015, doi: 10.1039/c5fo00229j.

[61] B. Pech, J. B.-J. of N. Products, and undefined 1982, "Alcaloïdes du laurier noble, Laurus nobilis," *ACS PublicationsB Pech, J BrunetonJournal of Natural Products, 1982•ACS Publications*, vol. 45, no. 5, pp. 560–563, 1982, doi: 10.1021/NP50023A008.

[62] C. A. Ravindran, V. A. Murugaiyah, P. K. Khiang, and R. Xavior, "HEPATOPROTECTIVE ACTIVITY OF LEAF OF METHANOL EXTRACT OF LAURUS NOBILIS.L AGAINST PARACETAMOL INDUCED HEPATOTOXICITY IN RATS," *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, pp. 153–157, Sep. 2013, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://www.journals.innovareacademics.in/index.php/ajpcr/article/view/375

[63] F. Fang, S. Sang, K. Y. Chen, A. Gosslau, C. T. Ho, and R. T. Rosen, "Isolation and identification of cytotoxic compounds from Bay leaf (Laurus nobilis)," *Food Chem.*, vol. 93, no. 3, pp. 497–501, Dec. 2005, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2004.10.029.

[64] M. Sayyah, J. Valizadeh, M. K.- Phytomedicine, and undefined 2002, "Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of Laurus nobilis against pentylenetetrazole-and maximal electroshock-induced seizures," *Elsevier*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S094471130470104X

[65] A. Aljamal, "Effects of Bay Leaves on Blood Glucose and Lipid Profiles on the Patients with Type 1 Diabetes," *International Journal of Medical and Health Sciences*, 2010.

[66] G. Raghavan, V. O.-A. J. of Chemical, and undefined 2007, "Recent advances in drying of biomaterials for superior quality bioproducts," *Wiley Online LibraryGSV Raghavan, V OrsatAsia-Pacific Journal of Chemical Engineering, 2007•Wiley Online Library*, vol. 2, no. 1, pp. 20–29, Jan. 2007, doi: 10.1002/APJ.51.

[67] M. Elmastaş, I. Gülçin, Ö. Işildak, Ö. I. Küfrevioğlu, K. Ibaoğlu, and H. Y. Aboul-Enein, "Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts," *Journal of the Iranian Chemical Society*, vol. 3, no. 3, pp. 258–266, 2006, doi: 10.1007/BF03247217.

[68] A. Khan, G. Zaman, R. A.-J. of clinical biochemistry, and undefined 2009, "Bay leaves improve glucose and lipid profile of people with type 2 diabetes," *jstage.jst.go.jp*, vol. 44, pp. 52–56, 2009, doi: 10.3164/jcbn.08-188.

[69] S. Al Chalabi, D. Majeed, … A. J.-Ann. Trop. Med. P., and undefined 2020, "Benefit effect of ethanolic extract of Bay leaves (Laura nobilis) on blood sugar level in adult

diabetic rats induced by alloxan monohydrate," *academia.eduS Al Chalabi, D Majeed, A Jasim, K Al-AzzawiAnn. Trop. Med. Publ. Health, 2020•academia.edu*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://www.academia.edu/download/82410401/8497_pdf.pdf

[70] S. Duletić-Laušević, M. Oalđe, and A. Aradski, "In vitro evaluation of antioxidant, antineurodegenerative and antidiabetic activities of Ocimum basilicum L., Laurus nobilis L. leaves and Citrus reticulata blanco," 2019, doi: 10.5555/20203472965.

[71] G. Gasparyan, S. Tiratsuyan, and S. Kazaryan, "Effect of Laurus nobilis extract on the functioning of liver against CCl4 induced toxicity.," 2015, doi: 10.5555/20153218398.

[72] Y. Khodja, M. Bachir-Bey, … R. L.-S. A. J., and undefined 2021, "In vitro antioxidant and antibacterial activities of phenolic and alkaloid extracts of Laurus nobilis.," *researchgate.netYK Khodja, M Bachir-Bey, R Ladjouzi, D Katia, B KhettalSouth Asian Journal of Experimental Biology, 2021•researchgate.net*, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://www.researchgate.net/profile/Yazid-Khaled-Khodja/publication/353817911_In_vitro_antioxidant_and_antibacterial_activities_of_phenolic_and_alkaloid_extracts_of_Laurus_nobilis/links/612ead5438818c2eaf72fd96/In-vitro-antioxidant-and-antibacterial-activities-of-phenolic-and-alkaloid-extracts-of-Laurus-nobilis.pdf

[73] L. R. Peixoto *et al.*, "Antifungal activity, mode of action and anti-biofilm effects of Laurus nobilis Linnaeus essential oil against Candida spp.," *Arch. Oral Biol.*, vol. 73, pp. 179–185, Jan. 2017, doi: 10.1016/J.ARCHORALBIO.2016.10.013.

[74] J. Mediouni Ben Jemâa, N. Tersim, K. T. Toudert, and M. L. Khouja, "Insecticidal activities of essential oils from leaves of Laurus nobilis L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition," *J. Stored Prod. Res.*, vol. 48, pp. 97–104, Jan. 2012, doi: 10.1016/J.JSPR.2011.10.003.

[75] F. Erler, I. Ulug, and B. Yalcinkaya, "Repellent activity of five essential oils against Culex pipiens," *Fitoterapia*, vol. 77, no. 7–8, pp. 491–494, Jan. 2006, doi: 10.1016/J.FITOTE.2006.05.028.

[76] J. Pérez-Jiménez and F. Saura-Calixto, "Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays," *Food Research International*, vol. 39, no. 7, pp. 791–800, Aug. 2006, doi: 10.1016/J.FOODRES.2006.02.003.

[77] I. Ignat, I. Volf, and V. I. Popa, "A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables," *Food Chem.*, vol. 126, no. 4, pp. 1821–1835, Jun. 2011, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2010.12.026.

[78] A. L. dos Santos, "Recuperação de compostos bioativos do resíduo do processamento do café (silverskin) : otimização do processo de extração; caracterização química, capacidade antioxidante e toxicidade dos extratos," 2018, Accessed: Jan. 23, 2026. [Online]. Available: https://lume.ufrgs.br/handle/10183/180650

[79] C. C. XU, B. WANG, Y. Q. PU, J. S. TAO, and T. ZHANG, "Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials," *Chinese Journal of Natural*

Medicines , vol. 15, no. 10, pp. 721–731, Oct. 2017, doi: 10.1016/S1875-5364(17)30103-6.

[80] M. Çolak, "Prunus laurocerasus meyvesi yağ asidi bileşenlerinin ultrason destekli mikrodalga ekstraksiyon yöntemi kullanılarak belirlenmesi," 2019, *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü*. Accessed: Jan. 23, 2026. [Online]. Available: https://hdl.handle.net/11480/7717

[81] "Bitkisel Materyallerdeki Biyoaktif Bileşenlerin Ekstraksiyonunda Kullanılan Konvansiyonel ve Yeni Nesil Ekstraksiyon Yöntemleri Conventional and Novel Methods for Extraction of Bioactive Compounds from Plant Materials", doi: 10.5152/FSER.2023.23008.

[82] O. R. Alara, N. H. Abdurahman, and C. I. Ukaegbu, "Soxhlet extraction of phenolic compounds from Vernonia cinerea leaves and its antioxidant activity," *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants*, vol. 11, pp. 12–17, Dec. 2018, doi: 10.1016/J.JARMAP.2018.07.003.

[83] A. Lama-Muñoz, M. del M. Contreras, F. Espínola, M. Moya, I. Romero, and E. Castro, "Content of phenolic compounds and mannitol in olive leaves extracts from six Spanish cultivars: Extraction with the Soxhlet method and pressurized liquids," *Food Chem.*, vol. 320, Aug. 2020, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2020.126626.

[84] X. Fu *et al.*, "Natural deep eutectic solvent enhanced pulse-ultrasonication assisted extraction as a multi-stability protective and efficient green strategy to extract anthocyanin from blueberry pomace," *LWT*, vol. 144, Jun. 2021, doi: 10.1016/J.LWT.2021.111220.

[85] J. Nie, D. Chen, J. Ye, Y. Lu, and Z. Dai, "Optimization and kinetic modeling of ultrasonic-assisted extraction of fucoxanthin from edible brown algae Sargassum fusiforme using green solvents," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 77, p. 105671, Sep. 2021, doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2021.105671.

[86] M. M. Rahman, B. Byanju, D. Grewell, and B. P. Lamsal, "High-power sonication of soy proteins: Hydroxyl radicals and their effects on protein structure," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 64, Jun. 2020, doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2020.105019.

[87] M. Hadidi, A. Ibarz, and J. Pagan, "Optimisation and kinetic study of the ultrasonic-assisted extraction of total saponins from alfalfa (Medicago sativa) and its bioaccessibility using the response surface methodology," *Food Chem.*, vol. 309, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.125786.

[88] Y. Bi, Y. Lu, H. Yu, and L. Luo, "Optimization of ultrasonic-assisted extraction of bioactive compounds from Sargassum henslowianum using response surface methodology," *Pharmacognosy Magazine* , vol. 15, no. 60, p. 156, 2019, doi: 10.4103/pm.pm_347_18.

[89] J. Qian, Y. Li, J. Gao, Z. He, and S. Yi, "The effect of ultrasonic intensity on physicochemical properties of Chinese fir," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 64, Jun. 2020, doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2020.104985.

[90] Y. Deng *et al.*, "Ultrasound-assisted extraction of lipids as food components: Mechanism, solvent, feedstock, quality evaluation and coupled technologies – A review," *Trends Food Sci. Technol.*, vol. 122, pp. 83–96, Apr. 2022, doi: 10.1016/J.TIFS.2022.01.034.

[91] I. M. Yusoff, Z. Mat Taher, Z. Rahmat, and L. S. Chua, "A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins," *Food Research International*, vol. 157, Jul. 2022, doi: 10.1016/J.FOODRES.2022.111268.

[92] K. M. Wani and R. V. S. Uppaluri, "Efficacy of ultrasound-assisted extraction of bioactive constituents from Psidium guajava leaves," *Applied Food Research*, vol. 2, no. 1, Jun. 2022, doi: 10.1016/J.AFRES.2022.100096.

[93] F. Brahmi *et al.*, "Optimization of the conditions for ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Opuntia ficus-indica [L.] Mill. flowers and comparison with conventional procedures," *Ind. Crops Prod.*, vol. 184, Sep. 2022, doi: 10.1016/j.indcrop.2022.114977.

[94] B. He *et al.*, "Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (Vaccinium ashei) wine pomace," *Food Chem.*, vol. 204, pp. 70–76, Aug. 2016, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2016.02.094.

[95] S. Nipornram, W. Tochampa, P. Rattanatraiwong, and R. Singanusong, "Optimization of low power ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from mandarin (Citrus reticulata Blanco cv. Sainampueng) peel," *Food Chem.*, vol. 241, pp. 338–345, Feb. 2018, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2017.08.114.

[96] H. Moussa, F. Dahmoune, M. Hentabli, H. Remini, and L. Mouni, "Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic-saponin content from Carthamus caeruleus L. rhizome and predictive model based on support vector regression optimized by dragonfly algorithm," *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, vol. 222, Mar. 2022, doi: 10.1016/J.CHEMOLAB.2022.104493.

[97] W. Setyaningsih, I. E. Saputro, C. A. Carrera, and M. Palma, "Optimisation of an ultrasound-assisted extraction method for the simultaneous determination of phenolics in rice grains," *Food Chem.*, vol. 288, pp. 221–227, Aug. 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2019.02.107.

[98] A. Oniszczuk and M. Olech, "Optimization of ultrasound-assisted extraction and LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic acids from Brassica oleracea L. var. sabellica," *Ind. Crops Prod.*, vol. 83, pp. 359–363, May 2016, doi: 10.1016/J.INDCROP.2016.01.015.

[99] H. Koraqi, A. Trajkovska Petkoska, W. Khalid, N. Kumar, and S. Pareek, "Optimization of experimental conditions for bioactive compounds recovery from raspberry fruits (Rubus idaeus L.) by using combinations of ultrasound-assisted extraction and deep eutectic solvents," *Applied Food Research*, vol. 3, no. 2, p. 100346, Dec. 2023, doi: 10.1016/J.AFRES.2023.100346.

[100] M. Cheng *et al.*, "Comparison of microwave, ultrasound and ultrasound-microwave assisted solvent extraction methods on phenolic profile and antioxidant activity of extracts from jackfruit (Artocarpus heterophyllus Lam.) pulp," *LWT*, vol. 173, p. 114395, Jan. 2023, doi: 10.1016/J.LWT.2022.114395.

[101] P. Singh *et al.*, "Ultrasound-assisted extraction of phytochemicals from green coconut shell: Optimization by integrated artificial neural network and particle swarm technique," *Heliyon*, vol. 9, no. 12, Dec. 2023, doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e22438.

[102] S. Moradi, A. Fazlali, and H. Hamedi, "Microwave-Assisted Hydro-Distillation of Essential Oil from Rosemary: Comparison with Traditional Distillation," *Avicenna J. Med. Biotechnol.*, vol. 10, no. 1, p. 22, Jan. 2018, Accessed: Jan. 26, 2026. [Online]. Available: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5742650/

[103] S. B. Bagade and M. Patil, "Recent Advances in Microwave Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Complex Herbal Samples: A Review," *Crit. Rev. Anal. Chem.*, vol. 51, no. 2, pp. 138–149, 2021, doi: 10.1080/10408347.2019.1686966.

[104] O. A. Souza *et al.*, "Combining natural deep eutectic solvent and microwave irradiation towards the eco-friendly and optimized extraction of bioactive phenolics from Eugenia uniflora L.," *Sustain. Chem. Pharm.*, vol. 26, May 2022, doi: 10.1016/J.SCP.2022.100618.

[105] S. R. Dewi, L. A. Stevens, A. E. Pearson, R. Ferrari, D. J. Irvine, and E. R. Binner, "Investigating the role of solvent type and microwave selective heating on the extraction of phenolic compounds from cacao (Theobroma cacao L.) pod husk," *Food and Bioproducts Processing*, vol. 134, pp. 210–222, Jul. 2022, doi: 10.1016/J.FBP.2022.05.011.

[106] M. Bener *et al.*, "Microwave-assisted extraction of antioxidant compounds from by-products of Turkish hazelnut (Corylus avellana L.) using natural deep eutectic solvents: Modeling, optimization and phenolic characterization," *Food Chem.*, vol. 385, Aug. 2022, doi: 10.1016/j.foodchem.2022.132633.

[107] G. A. Macedo, Á. L. Santana, L. M. Crawford, S. C. Wang, F. F. G. Dias, and J. M. L. N. de Mour Bell, "Integrated microwave- and enzyme-assisted extraction of phenolic compounds from olive pomace," *LWT*, vol. 138, Mar. 2021, doi: 10.1016/J.LWT.2020.110621.

[108] H. Baltacıoğlu, C. Baltacıoğlu, I. Okur, A. Tanrıvermiş, and M. Yalıç, "Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds from tomato: Characterization by FTIR and HPLC and comparison with conventional solvent extraction," *Vib. Spectrosc.*, vol. 113, Mar. 2021, doi: 10.1016/J.VIBSPEC.2020.103204.

[109] D. Ramírez-Brewer, S. E. Quintana, and L. A. García-Zapateiro, "Modeling and optimization of microwave-assisted extraction of total phenolics content from mango (Mangifera indica) peel using response surface methodology (RSM) and artificial neural networks (ANN)," *Food Chem. X*, vol. 22, p. 101420, Jun. 2024, doi: 10.1016/J.FOCHX.2024.101420.

[110] S. Kocer *et al.*, "Optimization and characterization of chestnut shell pigment extract obtained microwave assisted extraction by response surface methodology," *Food Chem.*, vol. 443, p. 138424, Jun. 2024, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2024.138424.

[111] K. Y. Khaw, M. O. Parat, P. N. Shaw, and J. R. Falconer, "Solvent Supercritical Fluid Technologies to Extract Bioactive Compounds from Natural Sources: A Review," *Molecules 2017, Vol. 22,* vol. 22, no. 7, Jul. 2017, doi: 10.3390/MOLECULES22071186.

[112] Y. Marcus, "Extraction by Subcritical and Supercritical Water, Methanol, Ethanol and Their Mixtures," *Separations 2018, Vol. 5,* vol. 5, no. 1, Jan. 2018, doi: 10.3390/SEPARATIONS5010004.

[113] C. G. Pereira and M. A. A. Meireles, "Supercritical Fluid Extraction of Bioactive Compounds: Fundamentals, Applications and Economic Perspectives," *Food and Bioprocess Technology 2009 3:3*, vol. 3, no. 3, pp. 340–372, Oct. 2009, doi: 10.1007/S11947-009-0263-2.

[114] M. Solana, I. Boschiero, S. Dall'Acqua, and A. Bertucco, "A comparison between supercritical fluid and pressurized liquid extraction methods for obtaining phenolic compounds from Asparagus officinalis L," *J. Supercrit. Fluids*, vol. 100, pp. 201–208, May 2015, doi: 10.1016/J.SUPFLU.2015.02.014.

[115] J. Liu *et al.*, "Determination of garlic phenolic compounds using supercritical fluid extraction coupled to supercritical fluid chromatography/tandem mass spectrometry," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 159, pp. 513–523, Sep. 2018, doi: 10.1016/j.jpba.2018.07.020.

[116] L. Valadez-Carmona, A. Ortiz-Moreno, G. Ceballos-Reyes, J. A. Mendiola, and E. Ibáñez, "Valorization of cacao pod husk through supercritical fluid extraction of phenolic compounds," *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 131, pp. 99–105, 2018, doi: 10.1016/J.SUPFLU.2017.09.011.

[117] K. Ameer, B. S. Chun, and J. H. Kwon, "Optimization of supercritical fluid extraction of steviol glycosides and total phenolic content from Stevia rebaudiana (Bertoni) leaves using response surface methodology and artificial neural network modeling," *Ind. Crops Prod.*, vol. 109, pp. 672–685, Dec. 2017, doi: 10.1016/J.INDCROP.2017.09.023.

[118] S. Saklar Ayyildiz, E. Pelvan, and B. Karadeniz, "Optimization of Accelerated Solvent Extraction, Ultrasound Assisted and Supercritical Fluid Extraction to Obtain Carnosol, Carnosic Acid and Rosmarinic Acid from Rosemary," 2023, doi: 10.2139/SSRN.4578928.

[119] J. Chapman, R. Orrell-Trigg, K. Y. Kwoon, V. K. Truong, and D. Cozzolino, "A high-throughput and machine learning resistance monitoring system to determine the point of resistance for Escherichia coli with tetracycline: Combining UV-visible spectrophotometry with principal component analysis," *Biotechnol. Bioeng.*, vol. 118, no. 4, pp. 1511–1519, Apr. 2021, doi: 10.1002/BIT.27664.

[120] B. S. Hosker, "Demonstrating Principles of Spectrophotometry by Constructing a Simple, Low-Cost, Functional Spectrophotometer Utilizing the Light Sensor on a

Smartphone," *J. Chem. Educ.*, vol. 95, no. 1, pp. 178–181, Jan. 2018, doi: 10.1021/ACS.JCHEMED.7B00548.

[121] P. em. Dr. H.-H. Perkampus, "UV-VIS Spectroscopy and Its Applications," *Springer Lab Manuals*, 1992, doi: 10.1007/978-3-642-77477-5.

[122] M. L.C. Passos and M. L. M.F.S. Saraiva, "Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies," *Measurement (Lond).*, vol. 135, pp. 896–904, Mar. 2019, doi: 10.1016/J.MEASUREMENT.2018.12.045.

[123] J. A. Vinson, L. Zubik, P. Bose, N. Samman, and J. Proch, "Dried Fruits: Excellent in Vitro and in Vivo Antioxidants," *J. Am. Coll. Nutr.*, vol. 24, no. 1, pp. 44–50, Feb. 2005, doi: 10.1080/07315724.2005.10719442.

[124] M. Ikawa, T. D. Schaper, C. A. Dollard, and J. J. Sasner, "Utilization of folin-ciocalteu phenol reagent for the detection of certain nitrogen compounds," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 7, pp. 1811–1815, Mar. 2003, doi: 10.1021/JF021099R.

[125] C. S. P. Sastry and A. R. M. Rao, "Application of Folin-Ciocalteu reagent for the spectrophotometric determination of some nonsteroidal antiinflammatory agents," *J. Pharmacol. Methods*, vol. 19, no. 2, pp. 117–125, 1988, doi: 10.1016/0160-5402(88)90032-0.

[126] E. Roura, C. Andrés-Lacueva, R. Estruch, and R. M. Lamuela-Raventós, "Total polyphenol intake estimated by a modified folin-ciocalteu assay of urine," *Clin. Chem.*, vol. 52, no. 4, pp. 749–752, Apr. 2006, doi: 10.1373/CLINCHEM.2005.063628.

[127] L. M. Magalhães, M. A. Segundo, S. Reis, J. L. F. C. Lima, and A. O. S. S. Rangel, "Automatic method for the determination of Folin-Ciocalteu reducing capacity in food products," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 15, pp. 5241–5246, Jul. 2006, doi: 10.1021/JF060324S.

[128] S. B. Iloki-Assanga *et al.*, "Solvent effects on phytochemical constituent profiles and antioxidant activities, using four different extraction formulations for analysis of Bucida buceras L. and Phoradendron californicum," *BMC Res. Notes*, vol. 8, no. 1, Sep. 2015, doi: 10.1186/S13104-015-1388-1.

[129] N. Hudz, K. Korzeniowska, P. P. Wieczorek, Z. Schubertová, J. Brindza, and E. Ivanišová, "Approaches To The Identification And Assay Of Flavonoids In Bee Bread Extracts By Spectrophotometric Method," *Agrobiodiversity for Improving Nutrition, Health and Life Quality*, pp. 168–173, Jan. 2017, doi: 10.15414/AGROBIODIVERSITY.2017.2585-8246.168-173.

[130] W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 28, no. 1, pp. 25–30, Jan. 1995, doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.

[131] D. Huang, O. U. Boxin, and R. L. Prior, "The chemistry behind antioxidant capacity assays," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, no. 6, pp. 1841–1856, Mar. 2005, doi: 10.1021/JF030723C.

[132] P. Molyneux, “The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity.” Accessed: Jan. 22, 2026. [Online]. Available: https://www.academia.edu/23265991/The_use_of_the_stable_free_radical_diphenylpicrylhydrazyl_DPPH_for_estimating_antioxidant_activity

[133] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, “Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 26, no. 9–10, pp. 1231–1237, May 1999, doi: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3.

[134] C. Rice-Evans and N. J. Miller, “[241 Total antioxidant status in plasma and body fluids,” *Methods Enzymol.*, vol. 234, no. C, pp. 279–293, Jan. 1994, doi: 10.1016/0076-6879(94)34095-1.

[135] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga, “Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 20, no. 7, pp. 933–956, 1996, doi: 10.1016/0891-5849(95)02227-9.

[136] R. van den Berg, G. R. M. M. Haenen, H. van den Berg, and A. Bast, “Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures,” 1999.

[137] M. B. Arnao, A. Cano, and M. Acosta, “Methods to measure the antioxidant activity in plant material. A comparative discussion,” *Free Radic. Res.*, vol. 31 Suppl, no. SUPPL., 1999, doi: 10.1080/10715769900301371.

[138] C. A. Rice-Evans, N. J. Miller, and G. Paganga, “Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 20, no. 7, pp. 933–956, 1996, doi: 10.1016/0891-5849(95)02227-9.

[139] E. Tütem and R. Apak, “Simultaneous spectrophotometric determination of cystine and cysteine in amino acid mixtures using copper(II)-neocuproin reagent,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 255, no. 1, pp. 121–125, Dec. 1991, doi: 10.1016/0003-2670(91)85096-B.

[140] E. Tütem, R. Apak, E. Günaydi, and K. Sözgen, “Spectrophotometric determination of vitamin E (alpha-tocopherol) using copper(II)-neocuproine reagent,” *Talanta*, vol. 44, no. 2, pp. 249–255, 1997, doi: 10.1016/S0039-9140(96)02041-3.

[141] K. Güçlü, K. Sözgen, E. Tütem, M. Özyürek, and R. Apak, “Spectrophotometric determination of ascorbic acid using copper(II)-neocuproine reagent in beverages and pharmaceuticals,” *Talanta*, vol. 65, no. 5, pp. 1226–1232, Mar. 2005, doi: 10.1016/J.TALANTA.2004.08.048.

[142] R. Apak, K. Güçlü, M. Özyürek, and S. E. Karademir, “Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 52, no. 26, pp. 7970–7981, Dec. 2004, doi: 10.1021/JF048741X.

[143] K. Rekab and M. Shaikh, “Statistical Design of Experiments with Engineering Applications,” *Statistical Design of Experiments with Engineering Applications*, Apr. 2005, doi: 10.1201/B16326.

[144] R. L. PLACKETT and J. P. BURMAN, “THE DESIGN OF OPTIMUM MULTIFACTORIAL EXPERIMENTS,” *Biometrika*, vol. 33, no. 4, pp. 305–325, Jun. 1946, doi: 10.1093/BIOMET/33.4.305.

[145] U. Ecz Fırat YERLİKAYA Farmasötik Teknoloji Programı, “PAKLİTAKSEL NANOPARTİKÜLLERİNİN KALİTE TASARIMI İLE GELİŞTİRİLMESİ VE DEĞERLENDİRİLMESİ.”

[146] M. A. Khan, S. V. Sastry, S. R. Vaithiyalingam, V. Agarwal, S. Nazzal, and I. K. Reddy, “Captopril gastrointestinal therapeutic system coated with cellulose acetate pseudolatex: evaluation of main effects of several formulation variables,” *Int. J. Pharm.*, vol. 193, no. 2, pp. 147–156, Jan. 2000, doi: 10.1016/S0378-5173(99)00324-5.

[147] Ö. Demir, B. Aksu, and Y. Özsoy, “İlaç formülasyonu geliştirilmesinde deney tasarımı (DoE) seçimi ve kullanımı,” *Marmara Pharm. J.*, vol. 21, no. 2, pp. 211–222, 2017, doi: 10.12991/MARUPJ.277719.

[148] G. E. P. Box and D. W. Behnken, “Some New Three Level Designs for the Study of Quantitative Variables,” *Technometrics*, vol. 2, no. 4, pp. 455–475, 1960, doi: 10.1080/00401706.1960.10489912.

[149] E. Kurtulbaş, İ. Toprakçı, K. Kübra Güngör, F. Balci-Torun, and S. Şahin, “Exploring the impact of choline chloride based deep eutectic solvents’ presence in the recovery process of phenolic antioxidants from Moringa oleifera leaves: A multivariate optimization study and principal component analysis,” *J. Mol. Liq.*, vol. 409, Sep. 2024, doi: 10.1016/J.MOLLIQ.2024.125412.

[150] S. Şahin, “A novel technology for extraction of phenolic antioxidants from mandarin (Citrus deliciosa Tenore) leaves: Solvent-free microwave extraction,” *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 32, no. 5, pp. 950–957, May 2015, doi: 10.1007/S11814-014-0293-Y.

[151] G. V. S. Bhagya Raj and K. K. Dash, “Ultrasound-assisted extraction of phytocompounds from dragon fruit peel: Optimization, kinetics and thermodynamic studies,” *ElsevierGVSB Raj, KK DashUltrasonics Sonochemistry, 2020•Elsevier*, vol. 68, Nov. 2020, doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2020.105180.

[152] V. Sant’Anna, A. Brandelli, L. D. F. Marczak, and I. C. Tessaro, “Kinetic modeling of total polyphenol extraction from grape marc and characterization of the extracts,” *Sep. Purif. Technol.*, vol. 100, pp. 82–87, Oct. 2012, doi: 10.1016/J.SEPPUR.2012.09.004.

[153] R. Albarri, İ. Toprakçı, E. Kurtulbaş, and S. Şahin, “Estimation of diffusion and mass transfer coefficients for the microwave-assisted extraction of bioactive substances from Moringa oleifera leaves,” *Biomass Convers. Biorefin.*, vol. 13, no. 6, pp. 5125–5132, Apr. 2023, doi: 10.1007/S13399-021-01443-8.

[154] R. Albarri, İ. Toprakçı, E. Kurtulbaş, and S. Şahin, “Estimation of diffusion and mass transfer coefficients for the microwave-assisted extraction of bioactive substances from Moringa oleifera leaves,” *SpringerR Albarri, İ Toprakçı, E Kurtulbaş, S ŞahinBiomass*

Conversion and Biorefinery, 2023•Springer, vol. 13, no. 6, pp. 5125–5132, Apr. 2023, doi: 10.1007/S13399-021-01443-8.

[155] J. E. Cacace and G. Mazza, "Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries," *J. Food Eng.*, vol. 59, no. 4, pp. 379–389, Oct. 2003, doi: 10.1016/S0260-8774(02)00497-1.

[156] N. H. Mohammad, G. M. El-Sherbiny, A. A. Hammad, S. A. A. El-Nour, and A. A. Askar, "Optimization of bacterial cellulose production using Plackett-Burman and response surface methodology," *Egypt. J. Med. Microbiol.*, vol. 30, no. 4, pp. 93–101, Oct. 2021, doi: 10.21608/EJMM.2021.197467.

[157] A. Antony and M. Farid, "Effect of temperatures on polyphenols during extraction," *mdpi.comA Antony, M FaridApplied Sciences, 2022•mdpi.com*, vol. 12, no. 4, Feb. 2022, doi: 10.3390/APP12042107.

[158] A. R. Linares, S. L. Hase, M. L. Vergara, and S. L. Resnik, "Modeling yerba mate aqueous extraction kinetics: Influence of temperature," *J. Food Eng.*, vol. 97, no. 4, pp. 471–477, Apr. 2010, doi: 10.1016/J.JFOODENG.2009.11.003.

[159] S. M. Hsu, F. Ren, C. Batich, A. E. Clark, V. Craciun, and J. F. Esquivel-Upshaw, "Dissolution activation energy of a fluorapatite glass-ceramic veneer for dental applications," *Materials Science and Engineering C*, vol. 111, Jun. 2020, doi: 10.1016/J.MSEC.2020.110802.

[160] F. Faraji, A. Alizadeh, F. Rashchi, and N. Mostoufi, "Kinetics of leaching: A review," *Reviews in Chemical Engineering*, vol. 38, no. 2, pp. 113–148, Feb. 2022, doi: 10.1515/REVCE-2019-0073/HTML.

[161] A. Bucić-Kojić, M. Planinić, S. Tomas, M. Bilić, and D. Velić, "Study of solid–liquid extraction kinetics of total polyphenols from grape seeds," *ElsevierA Bucić-Kojić, M Planinić, S Tomas, M Bilić, D VelićJournal of food engineering, 2007•Elsevier*, vol. 81, no. 1, pp. 236–242, Jul. 2007, doi: 10.1016/J.JFOODENG.2006.10.027.

[162] U. Balyan and B. Sarkar, "Aqueous extraction kinetics of phenolic compounds from jamun (Syzygium cumini L.) seeds," *Int. J. Food Prop.*, vol. 20, no. 2, pp. 372–389, Feb. 2017, doi: 10.1080/10942912.2016.1163266.

[163] N. L. Rahmah, "Kinetic study of total phenolic content from Piper betle Linn. leaves extract using subcritical water," 2023.

[164] M. R. González-Centeno, F. Comas-Serra, A. Femenia, C. Rosselló, and S. Simal, "Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (Vitis vinifera L.): Experimental kinetics and modeling," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 22, pp. 506–514, 2015, doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2014.05.027.

[165] P. Das, P. K. Nayak, and R. krishnan Kesavan, "Extraction kinetics and thermodynamic evaluation of functional components in thermosonicated Sohshang juice optimized by ANN-GA," *Prep. Biochem. Biotechnol.*, 2025, doi: 10.1080/10826068.2025.2515946.

[166] M. Mitic, S. Jankovic, S. Mitic, G. Kocic, P. Maskovic, and D. Dukic, “Optimization and kinetic modelling of total phenols and flavonoids extraction from tilia cordata m. flowers,” *South African Journal of Chemistry*, vol. 75, no. 1, pp. 64–72, Jan. 2021, doi: 10.17159/0379-4350/2021/V75A7.

[167] V. Jevtovic *et al.*, “Targeted Recovery of Phenolic Antioxidants from Grape Stems: A Sequential Approach,” *Molecules 2025, Vol. 30, Page 3546*, vol. 30, no. 17, p. 3546, Aug. 2025, doi: 10.3390/MOLECULES30173546.

[168] J. I. Abraham-Diego, H. E. Reynel-Ávila, A. Bonilla-Petriciolet, and J. Moreno-Pérez, “Experimental Intensification and Modeling of Solid–Liquid Extraction of Polyphenols From Rice Husk Waste Using Organic Solvents,” *Wiley Online LibraryJI Abraham-Diego, HE Reynel-Ávila, A Bonilla-Petriciolet, J Moreno-PérezInternational Journal of Chemical Engineering, 2024•Wiley Online Library*, vol. 2024, no. 1, 2024, doi: 10.1155/2024/7145617.

[169] C. E. Ochoa-Velasco and I. I. Ruiz-López, “Mass transfer modeling of the antioxidant extraction of roselle flower (Hibiscus sabdariffa),” *J. Food Sci. Technol.*, vol. 56, no. 2, pp. 1008–1015, Feb. 2019, doi: 10.1007/S13197-018-03567-8.

[170] Y. Tao, Z. Zhang, and D. W. Sun, “Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature,” *Ultrason. Sonochem.*, vol. 21, no. 4, pp. 1461–1469, 2014, doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2014.01.029.

[171] R. Winiczenko, K. Górnicki, and A. Kaleta, “Evaluation of the Mass Diffusion Coefficient and Mass Biot Number Using a Nondominated Sorting Genetic Algorithm,” *Symmetry 2020, Vol. 12, Page 260*, vol. 12, no. 2, p. 260, Feb. 2020, doi: 10.3390/SYM12020260.

[172] S. Cheng, C. Zhong, T. A. G. Langrish, Y. Sun, Z. Zhou, and Z. Lei, “The relative importance of internal and external physical resistances to mass transfer for caffeine release from apple pectin tablets,” *pmc.ncbi.nlm.nih.govS Cheng, C Zhong, TAG Langrish, Y Sun, Z Zhou, Z LeiCurrent Research in Food Science, 2022•pmc.ncbi.nlm.nih.gov*, vol. 5, pp. 634–641, Jan. 2022, doi: 10.1016/J.CRFS.2022.03.014.

[173] C. N. da Silva, R. M. da Silva, A. C. Lemes, and B. D. Ribeiro, “Recovery of Phenolic Compounds by Deep Eutectic Solvents in Orange By-Products and Spent Coffee Grounds,” *Sustainability 2024, Vol. 16, Page 7403*, vol. 16, no. 17, p. 7403, Aug. 2024, doi: 10.3390/SU16177403.

[174] R. Rashid, S. Mohd Wani, S. Manzoor, F. A. Masoodi, and M. Masarat Dar, “Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction: Optimisation, comparison and bioactivity,” *Food Chem.*, vol. 398, p. 133871, Jan. 2023, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2022.133871.

[175] L. Machado-Carvalho, T. Martins, A. Aires, and G. Marques, “Optimization of Phenolic Compounds Extraction and Antioxidant Activity from Inonotus hispidus Using

Ultrasound-Assisted Extraction Technology," *Metabolites*, vol. 13, no. 4, Apr. 2023, doi: 10.3390/METABO13040524.

[176] A. Kalyniukova *et al.*, "Deep eutectic solvent-based shaking-assisted extraction for determination of bioactive compounds from Norway spruce roots," *Front. Chem.*, vol. 12, 2024, doi: 10.3389/FCHEM.2024.1385844.

[177] J. Ferreira *et al.*, "Influence of Particle Size and Extraction Methods on Phenolic Content and Biological Activities of Pear Pomace," *Foods*, vol. 12, no. 23, Dec. 2023, doi: 10.3390/FOODS12234325.

[178] H. Lohvina, M. Sándor, and M. Wink, "Effect of ethanol solvents on total phenolic content and antioxidant properties of seed extracts of fenugreek (Trigonella foenum-graecum l.) varieties and determination of phenolic composition by hplc-esi-ms," *Diversity (Basel).*, vol. 14, no. 1, Jan. 2022, doi: 10.3390/D14010007.

[179] D. Montgomery, "Design and analysis of experiments," 2017, Accessed: Nov. 02, 2025. [Online]. Available: https://books.google.com/books?hl=tr&lr=&id=Py7bDgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=D.+C.+Montgomery.+(2017).+Design+and+Analysis+of+Experiments,+John+Wiley+%26+Sons.+Mycological+Research,+106(11),+1323%E2%80%931330.+Retrieved+from+https://books.google.com/books/about/Design_and_Analysis_of_Experiments.html%3Fhl%3Dtr%26id%3DPy7bDgAAQBAJ&ots=X8v0l4QV05&sig=vSYFlYFpA7WZVLscC4XhN58aYMM

[180] B. Supasatyankul, M. Saisriyoot, U. Klinkesorn, K. Rattanaporn, and S. Sae-Tan, "Extraction of Phenolic and Flavonoid Compounds from Mung Bean (Vigna radiata L.) Seed Coat by Pressurized Liquid Extraction," *Molecules 2022, Vol. 27, Page 2085*, vol. 27, no. 7, p. 2085, Mar. 2022, doi: 10.3390/MOLECULES27072085.

[181] A. A. Ruiz-Hernández, J. L. Cárdenas-López, M. O. Cortez-Rocha, G. A. González-Aguilar, and R. M. Robles-Sánchez, "Optimization of germination of white sorghum by response surface methodology for preparing porridges with biological potential," *CYTA - Journal of Food*, vol. 19, no. 1, pp. 49–55, 2021, doi: 10.1080/19476337.2020.1853814.

[182] D. Božović *et al.*, "Valorization of Sour Cherry Kernels: Extraction of Polyphenols Using Natural Deep Eutectic Solvents (NADESs)," *Molecules*, vol. 29, no. 12, Jun. 2024, doi: 10.3390/MOLECULES29122766/S1.

[183] S. Taweekayujan, S. Somngam, and T. Pinnarat, "Optimization and kinetics modeling of phenolics extraction from coffee silverskin in deep eutectic solvent using ultrasound-assisted extraction," *Heliyon*, vol. 9, no. 7, Jul. 2023, doi: 10.1016/J.HELIYON.2023.E17942.

[184] J. Liao, Z. Guo, and G. Yu, "Process intensification and kinetic studies of ultrasound-assisted extraction of flavonoids from peanut shells," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 76, Aug. 2021, doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2021.105661.

[185] N. Y. Park, S. D. Cho, M. S. Chang, and G. H. Kim, "Optimization of the ultrasound-assisted extraction of flavonoids and the antioxidant activity of Ruby S apple peel using the response surface method," *Food Sci. Biotechnol.*, vol. 31, no. 13, pp. 1667–1678, Dec. 2022, doi: 10.1007/S10068-022-01150-8.

[186] Y. Y. Thoo, S. K. Ho, F. Abas, O. M. Lai, C. W. Ho, and C. P. Tan, "Optimal Binary Solvent Extraction System for Phenolic Antioxidants from Mengkudu (Morinda citrifolia) Fruit," *Molecules 2013, Vol. 18, Pages 7004-7022*, vol. 18, no. 6, pp. 7004–7022, Jun. 2013, doi: 10.3390/MOLECULES18067004.

[187] R. S. da Costa *et al.*, "Polyphenol Extraction Using Microwaves and Pressured Liquid Condition from Cupuaçu Seed By-Product: Optimization and Comparative Study," *J. Braz. Chem. Soc.*, vol. 36, no. 3, 2025, doi: 10.21577/0103-5053.20240149.

[188] N. R. Costa, J. Lourenço, and Z. L. Pereira, "Desirability function approach: A review and performance evaluation in adverse conditions," *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, vol. 107, no. 2, pp. 234–244, Jul. 2011, doi: 10.1016/J.CHEMOLAB.2011.04.004.

[189] F. Paulo, L. Tavares, and L. Santos, "Response Surface Modeling and Optimization of the Extraction of Phenolic Antioxidants from Olive Mill Pomace," *Molecules*, vol. 27, no. 23, Dec. 2022, doi: 10.3390/MOLECULES27238620.

[190] M. Hasan, M. Rahman, Y. Chen, and N. Cicek, "Optimization of typha fibre extraction and properties for bio-composite applications using desirability function analysis. Polymers (Basel). 2022; 14 (9)," *mdpi.com*, vol. 14, no. 9, May 2022, doi: 10.3390/POLYM14091685.

[191] Z. Zorić, S. Pedisić, M. Brnčić, A. Matanović, I. Marjanović, and A. Ninčević Grassino, "Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from Laurus nobilis Leaves: Effects of Process Parameters," *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 15, no. 17, p. 9347, Sep. 2025, doi: 10.3390/APP15179347/S1.

[192] H. Guenane *et al.*, "Minerals analysis, antioxidant and chemical composition of extracts of Laurus nobilis from southern Algeria," *J. Mater. Environ. Sci*, vol. 7, no. 11, pp. 4253–4261, 2016.

[193] D. B. Muñiz-Márquez *et al.*, "Phenolic content and antioxidant capacity of extracts of Laurus nobilis L., Coriandrum sativum L. and Amaranthus hybridus L.," *CYTA - Journal of Food*, vol. 12, no. 3, pp. 271–276, Jul. 2014, doi: 10.1080/19476337.2013.847500.

[194] D. B. Muñiz-Márquez, G. C. Martínez-Ávila, J. E. Wong-Paz, R. Belmares-Cerda, R. Rodríguez-Herrera, and C. N. Aguilar, "Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Laurus nobilis L. and their antioxidant activity," *Ultrason. Sonochem.*, vol. 20, no. 5, pp. 1149–1154, 2013, doi: 10.1016/j.ultsonch.2013.02.008.

[195] E. Dobroslavić, I. E. Garofulić, Z. Zorić, S. Pedisić, and V. Dragović-Uzelac, "Polyphenolic Characterization and Antioxidant Capacity of Laurus nobilis L. Leaf Extracts Obtained by Green and Conventional Extraction Techniques," *Processes 2021, Vol. 9, Page 1840*, vol. 9, no. 10, p. 1840, Oct. 2021, doi: 10.3390/PR9101840.

[196] E. Rincón, A. M. Balu, R. Luque, and L. Serrano, “Mechanochemical extraction of antioxidant phenolic compounds from Mediterranean and medicinal Laurus nobilis: A comparative study with other traditional and green novel techniques,” *Ind. Crops Prod.*, vol. 141, Dec. 2019, doi: 10.1016/J.INDCROP.2019.111805.

[197] S. N. El, N. Karagozlu, S. Karakaya, and S. Sahın, “Antioxidant and Antimicrobial Activities of Essential Oils Extracted from <i>Laurus nobilis</i> L. Leaves by Using Solvent-Free Microwave and Hydrodistillation,” *Food Nutr. Sci.*, vol. 05, no. 02, pp. 97–106, 2014, doi: 10.4236/FNS.2014.52013.

[198] A. Mrabet, B. Abdelfattah, F. El Mansouri, A. Simou, and M. Khaddor, “Bay Laurel of Northern Morocco: A Comprehensive Analysis of Its Phytochemical Profile, Mineralogical Composition, and Antioxidant Potential,” *Biophysica*, vol. 4, no. 2, pp. 238–255, Jun. 2024, doi: 10.3390/BIOPHYSICA4020017.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

ETİK KURUL İZİN YAZISI

KURUM İZNİ YAZILARI

ÖZGEÇMİŞ