

**T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ÜZÜM ÇEKİRDEĞİNDEN FENOLİK MADDE
EKSTRAKSİYONU**

**Burcu TENDERİS
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI**

**GEBZE
2010**

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÜZÜM ÇEKİRDEĞİNDEN FENOLİK MADDE EKSTRAKSİYONU

Burcu TENDERİS
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ
ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Mahmut ŞEKER

GEBZE
2010



YÜKSEK LİSANS TEZİ JÜRİ ONAY SAYFASI

G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından tarihinde tez savunma sınavı yapılan Burcu TENDERİS'in tez çalışması Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ

ÜYE

(TEZ DANIŞMANI) : Yrd. Doç. Mahmut ŞEKER

ÜYE

: Doç. Dr. Murat ÖZDEMİR

ÜYE

: Yrd. Doç. Dr. Tunahan ÇAKIR

ONAY

G.Y.T.E. Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../20... tarih ve/..... sayılı kararı.

İMZA/MÜHÜR

ÖZET

TEZİN BAŞLIĞI : ÜZÜM ÇEKİRDEĞİNDEN FENOLİK MADDE EKSTRAKSİYONU

YAZAR ADI : BURCU TENDERİS

Meyveler ve sebzeler fenolik bileşiklerce zengindir. Antioksidan özellikleri olan fenolik bileşiklerin sağlığa olumlu katkıları vardır. Birçok çalışma, meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşiklerin tüketiminin bazı kanser türlerini, kardiyovasküler hastalıkları ve çeşitli yaşa bağlı dejeneratif hastalık risklerini azalttığına işaret etmektedir. Bu nedenlerle, doğal antioksidanların kaynağı olan; çekirdekler, kabuklar, saplar, gövde ve yapraklar gibi gıda endüstrisinin atık ürünleri üzerine ilgi artmıştır.

Üzüm, çoğu sebze ve meyveye göre kat kat fazla fenolik bileşikler içerdiğinden, araştırmalar üzüm ve üzümden yapılan gıdalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Üzüm çekirdekleri, şarap endüstrisindeki katı atıkların %15'ini oluşturur ve yaklaşık % 60-70 ekstrakte edilebilir fenolik madde içerir. Bu atıklar fenolik bileşiklerin eldesi için kullanılmaktadır.

Çalışmada, üzüm çekirdeğinden fenolik madde ekstraksiyonunda çözücü olarak saf su kullanılmıştır. Parçalanmış ve bütün haldeki çekirdeklerden farklı sıcaklık, süre ve çözücü oranlarında ekstraksiyon gerçekleştirilmiştir. Her koşul için toplam fenolik madde içerikleri bulunmuş, ekstraksiyon koşullarının elde edilen fenolik bileşiklerin miktarına etkileri incelenmiştir. Partikül boyutunun küçülmesi, sürenin ve sıcaklığın artması ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin artmasını sağlamış; ancak, bütün haldeki üzüm çekirdeğinin ekstraksiyonunda saflığı daha yüksek fenolik madde elde edilmiştir.

Üzüm çekirdeklerinin hacmi Solidworks programıyla bulunmuş ve buna bağlı olarak yayılım sabitleri hesaplanmıştır.

SUMMARY

**TITLE OF THE THESIS : EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS
FROM GRAPE SEED**

AUTHOR : BURCU TENDERİS

Fruits and vegetables are rich in phenolic compounds. Phenolic compounds with antioxidant properties have a positive contribution to health. The consumption of phenolic compounds reduces the risk of some cancers, cardiovascular diseases and various age-related degenerative diseases. Natural antioxidants in waste products (seeds, skins, stalks, stems and leaves, etc.) of food industry takes a interest.

Phenolic compounds in grapes is more than phenolic compounds of fruits and vegetables. Therefore research has focused on foods made from grapes. Grape seeds in the wine industry generates 15% of solid waste and approximately 60-70% of which are extractable phenolic substances. These wastes are used for extraction of phenolic compounds.

In this study, pure water is used as a solvent for extraction of grape seed phenolics. Extraction was carried out from crushed and whole grape seeds at different temperature, time and solid-liquid ratios. Effect of extraction conditions on the amount of extracted phenolic compounds were investigated. The smaller size of particles, time and temperature increases have led to an increase in phenolic compounds extracted. However, more pure phenolic substances were obtained from whole grape seeds.

The volume of grape seeds were found with the Solidworks program and consequently, the propagation constants are calculated.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince, özellikle de tez çalışmamın başından sonuna kadar bilgisiyle ve hoşgörülü yaklaşımıyla bana yol gösteren değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Mahmut Şeker'e ve tez savunma jürimde görev alan Doç. Dr. Murat Özdemir'e ve Yrd. Doç. Dr. Tunahan Çakır'a,

Yaşadığımız şehirden farklı bir şehirde de olsa lisansüstü eğitimim için beni teşvik eden, herkesin gösteremeyeceği fedakârlıklarda bulunarak maddi ve manevi yanımda olan, ders aşamamdan tezimi teslim ettiğim güne kadar her konuda yardımcı olan eşim Erten Tenderis'e,

Sorumluluklarımı paylaşıp bana sürekli yardım eden, destekleriyle beni sürekli yüreklendiren canım annelerim Ahsen Emel Tenderis ve Nevin Aktakke'ye,

Ailemden ve arkadaşlarımdan çok kişinin emeği geçti, desteği oldu, emeği geçen herkese; ama adını yazmadan geçemeyeceğim kadar katkısı olan rahmetli Yalçın İleri ve ailesine,

Analizlerimi yaptığım SDÜ laboratuvarlarında her başım sıkıştığında benden yardımlarını esirgemeyen; Yrd. Doç. Dr. Gülcan Özkan, okutman Hüseyin Tunçmen, kimyager Mukadder Tunçmen ve fizikçi Neslihan Kaya'ya,

Çözüm bulmakta zorlandığımda hızır gibi yetişen Uğur Aral'a ve kuzenim Nazlı Aktakke'ye teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	i
SUMMARY	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
TABLolar DİZİNİ	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Fenolik Bileşikler	4
2.1.1. Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması	6
2.1.2. Fenolik Bileşiklerin Metabolizması	8
2.1.3. Fenolik Bileşiklerin Roller ve Önemi	8
2.1.4. Fenolik Bileşiklerin Farmakolojik Etkisi	9
2.2. Fenolik Bileşiklerin Gıda Kaynakları	10
2.2.1. Üzüm	11
2.2.2. Üzüm Çekirdeği	13
2.3. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu	16
2.3.1. Katı-Sıvı Ekstraksiyonu	16
2.3.2. Ekstraksiyonu Etkileyen Etmenler	17
2.3.2.1. Çözücünün Etkisi	18
2.3.2.2. Sıcaklığın Etkisi	19
2.3.2.3. Partikül Boyutunun Etkisi	19
2.3.2.4. Sürenin Etkisi	19
2.3.3. Gıdalarda Katı-Sıvı Ekstraksiyonunun Özellikleri	20
2.3.4. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu	21
2.4. Fenolik Bileşiklerin Miktar Analizi	22
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1. Materyal	25
3.2. Metot	25
3.2.1. Kimyasal Reaktifler	25

3.2.2.	Numune Hazırlama	25
3.2.3.	Üzüm Çekirdeklerinin Boyutlarının Ölçülmesi	25
3.2.4.	Üzüm Çekirdeklerinin Kesit Alanlarının Belirlenmesi	26
3.2.5.	Üzüm Çekirdeklerinin Hacimlerinin Hesaplanması	27
3.2.6.	Üzüm Çekirdeklerinden Fenolik Madde Ekstraksiyonu	29
3.2.7.	Toplam Fenolik Madde Tayini	30
3.2.8.	Bütün ve Parçalanmış Üzüm Çekirdeklerinden Çıkarılan Fenolik Maddelerin Saflığının Belirlenmesi	31
3.2.9.	Yayılım Sabitinin Belirlenmesi	31
3.2.9.1.	Eşdeğer yarıçap hesaplanması	32
3.2.9.2.	Regresyon analizi	32
4.	SONUÇLAR	35
4.1.	Sıcaklığın Fenolik Madde Ekstraksiyonuna Etkisi	35
4.2.	Ekstraksiyon Süresinin Fenolik Madde Ekstraksiyonuna Etkisi	37
4.3.	Bütün ve Parçalanmış Üzüm Çekirdeklerinden Çıkarılan Fenolik Maddelerin Saflığı	39
4.4.	Bütün Üzüm Çekirdeği/Çözücü Oranının Fenolik Madde Ekstraksiyonuna Etkisi	41
4.5.	Üzüm Çekirdeğinden Çıkarılan Fenolik Maddelerin Yayılım Sabitleri	44
5.	KAYNAKLAR	45
6.	EKLER	55
	EK-A Üzüm Çekirdeklerinin Kesit Alanları	
	EK-B Toplam Fenolik Madde Tayininde Standart Olarak Kullanılan Gallik Asidin Kalibrasyon Eğrisi	
	EK-C Saflık Hesaplamasında Kullanılan Veriler	
	EK-D 50, 75 ve 95°C Sıcaklıklarda Maksimum Fenolik Madde Miktarları	
	EK-E Regresyon Penceresinde Y ve X Giriş Aralığı İçin Seçilen Veriler	
	ÖZGEÇMİŞ	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Stresin neden olduğu durumlarda bitkilerde sentezlenen fenolik bileşikler (Dixon ve ark., 1995)	5
2.2 Fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı (Manach ve ark., 2004)	6
2.3 Flavonoidlerin kimyasal yapısı (Manach ve ark., 2004)	7
2.4 Üzüm çekirdekleri	13
2.5 Vitis vinifera L. cv. 'Samtrot' üzüm çekirdeklerinden sağlanan ekstraktın flavonoid kompozisyonu	15
2.6 Katı gıda partiküllerinin çözücü ekstraksiyonundaki hareketleri. (Tzia ve Liadakis, 2003)	20
3.1 Üzüm çekirdeğinin boyutlandırılması	26
3.2 Katı model tasarımı - çekirdek 1	28
3.3 Katı model tasarımı - çekirdek 2	29
3.4 Katı model tasarımı - çekirdek 3	29
3.5 Veri çözümleme aracı	33
3.6 Regresyon penceresi	33

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Bazı üzüm çeşitlerinde bulunan fenolik asit ve flavonoidler (Baydar, 2006)	12
4.1 Farklı ekstraksiyon sıcaklıkları için hesaplanmış yayılım sabitleri	44

GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
4.1 Bütün üzüm çekirdeklerindeki toplam fenolik madde miktarına sıcaklığın etkisi	35
4.2 Parçalanmış üzüm çekirdeklerindeki toplam fenolik madde miktarına sıcaklığın etkisi	36
4.3 50°C sıcaklıkta bütün üzüm çekirdekleriyle yapılan ekstraksiyonda süre ile ekstrakte olan fenolik maddelerin değişimi	37
4.4 50°C sıcaklıkta parçalanmış üzüm çekirdekleriyle yapılan ekstraksiyonda süre ile ekstrakte olan fenolik maddelerin değişimi	38
4.5 50°C sıcaklıkta bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik maddelerin saflığı	39
4.6 75°C sıcaklıkta bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik maddelerin saflığı	40
4.7 95°C sıcaklıkta bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik maddelerin saflığı	40
4.8 50°C sıcaklıkta farklı çekirdek/çözücü oranlarının fenolik madde ekstraksiyonuna etkisi	42
4.9 75°C sıcaklıkta farklı çekirdek/çözücü oranlarının fenolik madde ekstraksiyonuna etkisi	43
4.10 95°C sıcaklıkta farklı çekirdek/çözücü oranlarının fenolik madde ekstraksiyonuna etkisi	43

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

nm	: Nanometre
µL	: Mikrolitre
mg	: Miligram
L	: Litre
g	: Gram
°C	: Santigrat derece
dk	: Dakika
m ²	: Metrekare
ml	: Mililitre
kg	: Kilogram
%	: Yüzde
±	: Artı eksi işareti
π	: Pi sayısı
GAE	: Gallik asit eşdeğeri
DNA	: Deoksiribonükleik asit
LDL	: Low Density Lipoprotein - Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
ve ark.	: ve arkadaşları
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
UV	: Ultraviyole
UV-VIS	: Ultraviyole ve görünür ışık
HCl	: Hidroklorik asit
Cu	: Bakır
SDÜ	: Süleyman Demirel Üniversitesi
CAD-CAM	: CAD (Computer-Aided Design; Bilgisayar Destekli Tasarım), CAM (Computer-Aided Manufacturing; Bilgisayar Destekli Üretim)

1. GİRİŞ

Beslenme, insan sağlığını büyük ölçüde etkilemektedir. Bu nedenle vücuda alınan besinlerin sağlığımıza etkileri son yıllarda çok fazla araştırılmaktadır. Bitkisel besinler; kalp ve damar hastalıkları, hipertansiyon, kanser gibi kronik hastalıklara karşı koruyucu bileşikler, bağışıklık sistemini güçlendiren bileşikler, kemik ve kas sağlığını destekleyen vitaminler ve mineraller içerir. Bitkisel besinlerin sağlığa etkileri; üretim biçimleri, tüketim biçimleri ve içerikleri araştırmalara konu olmaktadır. Meyveler, sebzeler ve tahıllar fenolik bileşikler içerir. Birçok çalışma, meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşiklerin tüketiminin, antioksidan özellikleri yoluyla bazı kanser türlerini, kardiyovasküler hastalıkları ve çeşitli yaşa bağlı dejeneratif hastalık risklerini azalttığına işaret etmektedir. Son yirmi yıldır bu bileşikler, sağlık, bitkilerden izolasyon, farklı bitki çeşitlerindeki fenolik maddelerin profilinin belirlenmesi ve antioksidan aktiviteleri gibi farklı yönlerde araştırmaların konusu olmuştur. Doğal antioksidanların kaynağı olan gıda sanayisinin atık ürünleri (çekirdekler, kabuklar, saplar, gövde ve yapraklar gibi) üzerine ilgi artmıştır.

Üzüm, çoğu sebze ve meyveye göre kat kat fazla fenolik bileşik içerdiğinden, araştırmalar üzüm ve üzümden yapılan gıdalar üzerinde yoğunlaşmıştır. Üzümün çekirdeği, kabuğu ve meyvenin tümü literatürde sayısız araştırmanın kaynağı olmuştur. Üzüm dünyada çok üretilmektedir. İşlendikten sonraki katı atığı da biyoaktif fenolik bileşiklerce hâlâ zengindir. Üzüm çekirdekleri, şarap endüstrisindeki katı atıkların %15'ini oluşturur ve yaklaşık % 60-70 toplam ekstrakte edilebilir üzüm fenolik maddelerini içerir. Bu çekirdekler kateşin, epikateşin, epikateşin gallat, dimerik, trimerik, tetramerik prokyanidinler gibi monomerik fenolik bileşiklerin kaynağıdır. Ayrıca, yaşlanmayı geciktirici, anti-mutajenik, damarlarda daralmayı önleyen ve virüslere karşı büyük ölçüde rol oynayan polimerize olmuş proantosiyanidinler de içerirler.

Fenolik bileşiklerin bitki materyallerinden ekstraksiyonu sıkça araştırılan bir konu olmuştur. Çalışmalarda ekstraksiyonu etkileyen önemli faktörler araştırılmıştır. Bu faktörlerden bazıları; çözücü seçimi, ekstraksiyon sıcaklığı, katı-sıvı oranı, akış hızı, ekstraksiyon süresi, partikül boyutu, ekstraksiyon metodu, örnek ve örneğin depolanma koşullarıdır.

Fenolik maddelerin çözünürlüğü ve çözücüye yayılımı, basit bileşiklerden büyük ölçüde polimerize olmuş bileşiklere kadar değişen kimyasal yapılarına bağlıdır. Bu nedenle çözücü seçimi, ekstraksiyon işlemindeki önemli adımlardan birisidir. Literatürde, bitki fenoliklerinin ekstraksiyonunda; metanol, etanol, propanol, aseton, etil asetat, dimetilformamid gibi organik çözücülerin ve bunların birbirleriyle ya da su ile karışımlarının kullanıldığı görülmektedir. Organik çözücülerin, fenolik bileşiklerin elde edilmesinde olumlu etkileri vardır; ancak, bu çözücülerin kullanımı güvenlik tedbirlerine son derece bağlı olmayı gerektirir. Sağlığa zararları ve çevresel nedenlerle son üründe organik çözücüler eser miktarda bulunmalıdır. Çoğu çözücü çok miktarda solunursa, ani bilinç kaybına sebep olabilir. Örneğin; metanol, sürekli körlük ve ölüme neden olabilir.

Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, katı-sıvı oranı, partikül boyutu ekstraksiyonu etkileyen diğer önemli faktörlerdir. Bu faktörlerin değiştirilmesiyle ekstraksiyon verimi arttırılabilir. Ancak ekstraksiyon koşulları değiştirilerek ekstraksiyon arttırıldığında o çözücüde çözünebilen bütün maddelerin konsantrasyonu da artar. Bu da hedef bileşiklerin saf olarak elde edilememesine yol açmaktadır.

Bu bilgiler ışığında bu çalışmanın hipotezi şudur; üzüm çekirdeğinin ekstraksiyonunda parçalanmış haldeki çekirdeklere göre bütün haldeki üzüm çekirdeklerinden daha saf fenolik madde elde edilebilir.

Bu çalışmanın amaçları,

- Organik çözücülere alternatif olarak saf suda üzüm çekirdeğindeki fenolik maddelerin farklı sıcaklık, süre ve katı-sıvı oranlarında ekstraksiyonu,
- Daha saf fenolik madde elde edilen bütün haldeki üzüm çekirdeğinin hacminin hassas olarak belirlenmesi,
- Bütün haldeki üzüm çekirdeğinin ekstraksiyonunda yayılım sabitinin hesaplanmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

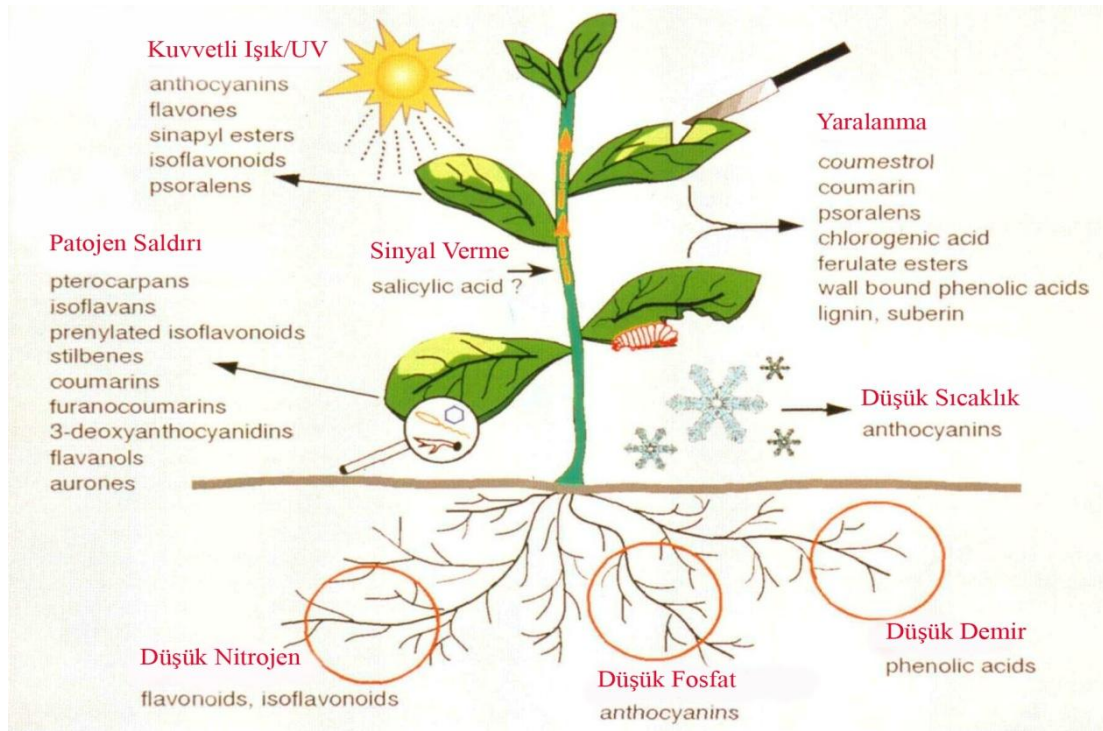
2.1. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşiklerin, bitkilerde aromatik aminoasit metabolizması sırasında sentezlenen yan bileşiklerden oluşan ikincil metabolitler oldukları varsayılmaktadır. (Saldamlı,1998) Fenolik bileşikler bitkiler aleminde her bitkide bulunmaktadır (Burns ve ark., 2001). Meyve ve sebzelerin kendilerine has renk, tat, aroma ve dokuya sahip olmalarını sağlayan bu bileşikler, bitki bünyesinde meydana gelen birçok metabolik olayda önemli roller üstlenmektedirler (Aras, 2006). Fenolik bileşikler, bitkiler tarafından normal gelişim sırasında sentezlendiği gibi bitki hastalandığında, yaralandığında, UV ışınlarına maruz kaldığında, düşük sıcaklıkta kaldığında; ortamda nitrojen, fosfat ve demir miktarı düşük olduğunda da sentezlenirler (Dixon ve ark., 1995). Fenolik bileşiklerin bitkileri UV ışınlardan koruma ve hastalıklara karşı direnç kazandırma gibi çeşitli rolleri bulunur(Burns ve ark., 2001). Fenolik bileşikler, gövde uzamasının düzenlenmesi ve meyve olgunlaşması gibi önemli olaylarda görev almaktadır (Park ve Cha, 2003). Stresin neden olduğu durumlarda da bitkilerde sentezlenen fenolik bileşikler Şekil 2.1’de gösterilmiştir.

Üzümün kabuk rengi, içermiş olduğu fenolik miktarına göre belirlenmektedir (Kanellis ve Roubelakis Angelakis, 1993). Kırmızı ve siyah üzüm çeşitleri değişik miktarlarda fenolik madde içerirken beyaz üzüm çeşitlerinde renk veren fenolik bileşikler bulunmamaktadır.

Üzüm ve üzüm ürünlerinde bulunan fenolik bileşiklerin kompozisyonlarının pek çok faktöre bağlı olarak değiştiği bilinmektedir. Genel olarak bitkilerde fenolik bileşikler olgunluk dönemine, çeşide ve iklim koşullarına göre değişmektedir. Bununla birlikte uygulanan kültürel işlemlere, toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre de üzümlerin içermiş oldukları fenolik bileşiklerin büyük ölçüde değiştiği belirlenmiştir (Arozarena ve ark.,

2002). Katalinic ve ark. (2004) da şarapların fenolik bileşik kompozisyonlarının çeşide, ekstraksiyon yöntemine, şarap işleme metoduna ve şarabın olgunlaştırma sürecindeki kimyasal reaksiyonlara bağlı olarak değiştiğini vurgulamışlardır.



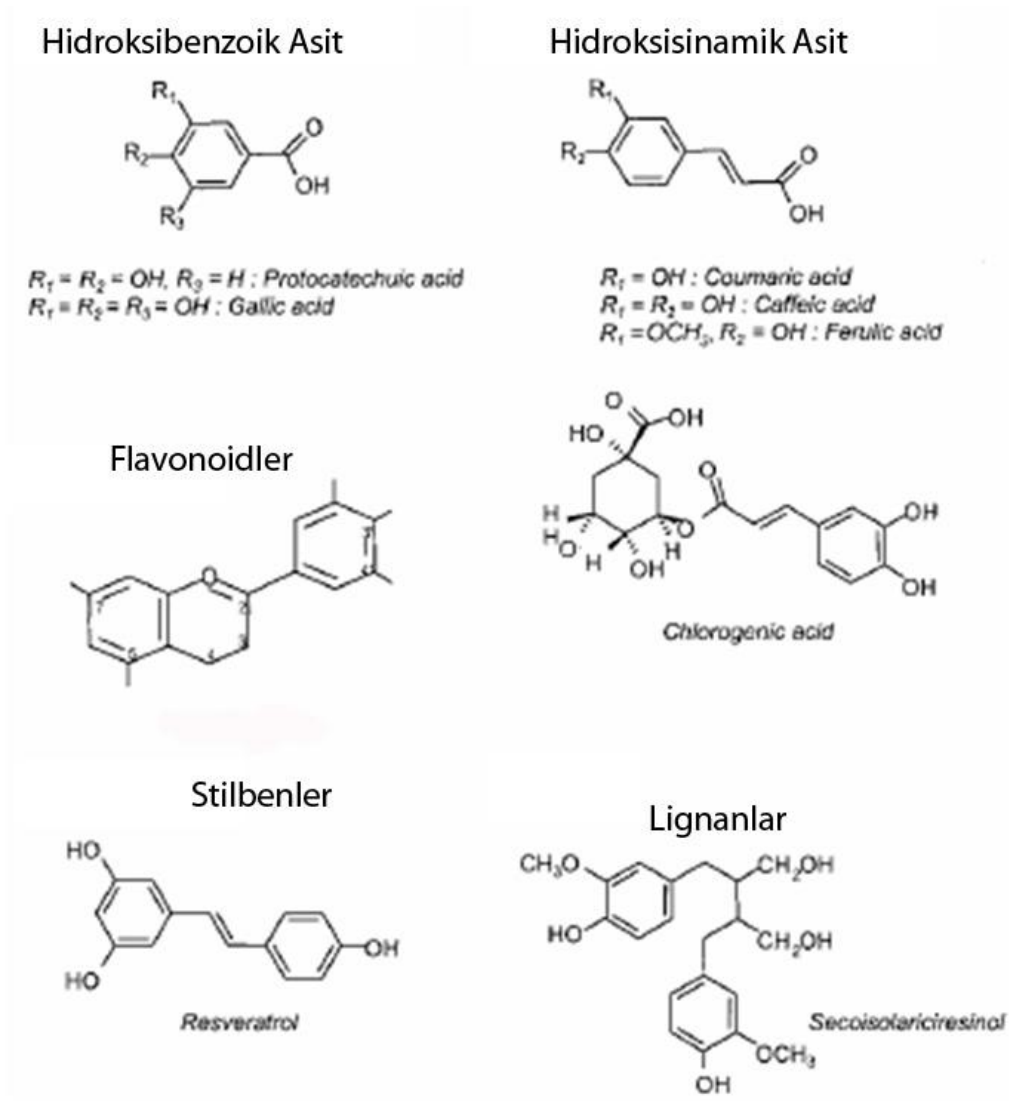
Şekil 2.1 Stresin neden olduğu durumlarda bitkilerde sentezlenen fenolik bileşikler (Dixon ve ark., 1995)

Fenolik bileşikler, tat, aroma, çiçek ve meyvelerin renklenmesi gibi kalite unsurlarını belirlemelerinin yanı sıra, tür ve çeşitlerin birbirinden ayrılmasına yönelik taksonomik çalışmalarda da önem taşıyan bileşiklerdir (Aras, 2006).

Fenolik bileşiklerin yukarıda değinilen ve bitkiler üzerinde sahip oldukları özelliklerinin yanı sıra, insan sağlığı üzerinde son derece önemli etkilerde bulundukları pek çok araştırma sonucu ile belirlenmiştir. Fenolik bileşikler, serbest radikalleri bağlama yeteneği olan antioksidan bileşiklerdir (Frankel ve ark., 1993).

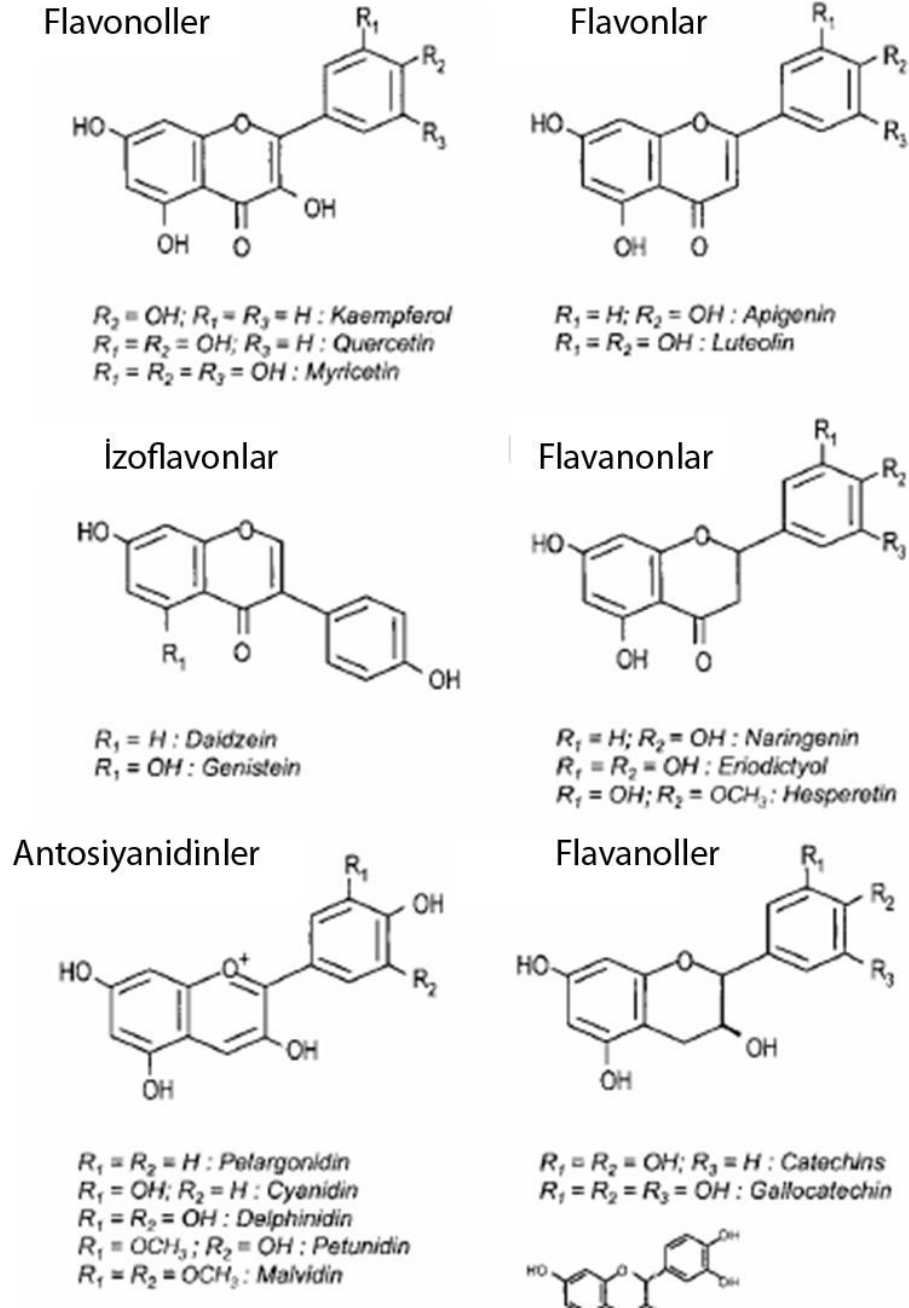
2.1.1.Fenolik Bileşiklerin Sınıflandırılması

Fenolik bileşikler (Şekil 2.2), fenol halkalarının sayılarına göre fenolik asitler, flavonoidler, lignanlar ve stilbenler olarak sınıflandırılır (Manach ve ark., 2004). Fenolik asitler; hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asitler. Olmak üzere iki alt gruptan oluşurlar (Balasundram ve ark., 2006).



Şekil 2.2 Fenolik bileşiklerin kimyasal yapısı (Manach ve ark., 2004)

Flavonoidler (Şekil 2.3), bitkilerdeki fenolik bileşiklerin en geniş grubudur. Altı alt gruba ayrılırlar: flavonoller, flavonlar, flavanonlar, izoflavonoidler (izoflavonlar), flavanoller ve antosiyanidinlerdir (Manach ve ark., 2004; Aharne ve O'Brien, 2002).



Şekil 2.3 Flavonoidlerin kimyasal yapısı (Manach ve ark., 2004)

2.1.2.Fenolik Bileşiklerin Metabolizması

Fenolik bileşiklerin sentezinde ve oksidasyonunda bazı anahtar enzimler rol oynamaktadır. Bu enzimlerden en önemlileri polifenol oksidaz (PPO) ve fenilalaninamonyaliyaz (PAL)'dir. PAL fenolik bileşiklerin sentezinde anahtar enzim olarak görev yapar. PPO ise fenolik bileşiklerin bulunduğu dokuların tümünde yer alan, fenoliklerin sentezlenmesinde, birbirine dönüşümlerinde, dokulardaki kararma ve enzim aktivitesiyle oluşan enzimatik kararmalarda yani oksidatif reaksiyonlarda etkin bir şekilde rol oynayan bir enzimdir (Harmankaya, 2003).

Fenolik bileşikler meyve ve sebzelerde yoğun olarak epidermal tabakada bulunmaktadır. Bu nedenle, yüzeye yakın kısımlarda meydana gelen mekanik zararlanmalar sonucu okside olarak esmerleşirler. Bunun yanında tür ve çeşide göre değişen oranlarda kabuk, meyve eti ve meyvenin suyunda da bulunmaktadır.

Bitkisel dokulardaki fenolik bileşiklerin sentezi ve miktarı birçok faktöre bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Günümüze değin bu konuda sürdürülen birçok araştırma ile bitki tür ve çeşidi, bitki ve sürgün yaşı, dokuların sakkaroz gibi karbonhidratlarla hormon içeriği, ekolojik faktörler, budama, bilezik alma, sulama, gübreleme, dışsal büyümeyi düzenleyici madde kullanımı, tarımsal savaş gibi teknik ve kültürel işlemlerin fenolik bileşiklerin sentezini değiştirdiği saptanmıştır (Harmankaya, 2003).

2.1.3.Fenolik Bileşiklerin Roller ve Önemi

Fenolik bileşiklerin ziraat ve gıda alanlarında önemli rolleri bulunmaktadır. Zirai bakımdan fenolik bileşik çeşitlerinin kalitatif ve kantitatif incelenmesi iki ilginç özelliğe sahip olduklarını göstermektedir. Birincisi, bazıları meyve gelişiminin fizyolojik aşamalarında çok iyi gösterge olmaları, ikincisi, çevresel faktörlere özellikle ışık ve sıcaklığa çok duyarlı olmalarıdır.

Gıda teknolojisi bakımından meyvelerdeki fenolik bileşikler meyvelerin duyusal kalitesine (renk, burukluk, acılık ve aroma) katkıda bulunmaktadır.

Bu parametrelerdeki değişimlerin teknolojik işlemlerle bağlantısı, meyve temelli ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra bazı fenolik bileşikler farmakolojik özelliklere sahiptirler ve sağlıkla ilgili amaçlar için kullanılırlar.

2.1.4.Fenolik Bileşiklerin Farmakolojik Etkisi

Bitkiler tarafından sentezlenen bazı moleküller; karbohidratlar, proteinler ve yağların sentezinden sonra ikincil metabolizma ürünleri olup, mikroorganizmalara karşı insektisit ve herbisit olarak serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar. Bunlar "fitokimyasallar" diye de adlandırılırlar. Fitokimyasallar, özellikle meyve ve sebzelerdeki fenolikleri, flavonoidleri ve karotenoidleri kapsarlar. Fenolikler, flavonoidler ve karotenoidler insanlar tarafından sentezlenemeyen bitki fitokimyasallarıdır (Ekinci, 2008).

Fenolik bileşikler antioksidan olarak, insan vücudundaki çeşitli nedenlerle oluşmuş serbest radikalleri temizleme kabiliyetine sahiptirler. Ayrıca, ağır ve radyoaktif metalleri şelatlama ve otooksidasyonu önleme konusunda fenolik bileşikler oldukça etkilidirler. Diğer bir deyişle fenolik bileşikler, çeşitli reaktif oksijen türlerini (serbest oksijen, peroksinitrit ve hidrojen peroksiti) hücrelerden uzaklaştırarak metabolizmayı zinde tutarlar.

Antioksidan moleküller, DNA'ya, hücrelere ve bağışıklık sistemine saldırarak kalp ve damar hastalıklarına, kansere ve erken yaşlanmaya neden olan serbest radikaller olarak bilinen molekülleri tutarak etkisiz hale getiren bileşiklerdir (Renaud ve De Lorgeril, 1992; Tomera, 1999). Nitekim antioksidanlar, serbest radikallerin zararlarını, düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL), lipoprotein oksidasyonunu, platelet agregasyonunu ve kırmızı hücrelerin zararlanmasını önleyerek sağlık üzerinde olumlu etki yapmaktadırlar (Stanley ve Mazier, 1999). Ek olarak fenolik bileşiklerin, kardiovasküler hastalıklara karşı koruyucu etkilerinin bulunduğu (Keevil ve ark., 2000; Serafini ve ark., 2000; Cui ve ark., 2002), antimitojen, antikanserojen (Malaveille ve ark., 1998; Bell ve ark., 2000; Agarwal ve ark.,

2003; Sanchez, 2006) ve antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu da yapılan pek çok araştırma ile tespit edilmiştir.

Flavonoidler genellikle insan beslenmesi üzerine direkt olarak etkili olmamakla birlikte, insan sağlığına olan yararlarından dolayı giderek yükselen bir ilgiye sahiptirler Flavonoidlerin antioksidan, antimutajenik ve antikarsinojenik özelliklerinden dolayı insan sağlığını destekleyici bileşikler olduğu belirtilmektedir (Hertog ve ark., 1993). Flavonoidler keşfedildikleri ilk dönemlerden bu yana en yüksek antioksidan aktiviteye sahip fenolik kompozisyona sahip olan gruplar olarak bilinmektedirler (Aras, 2006).

Üzümün özellikle kabuk kısmında bulunan fenolik bileşiklerin farmakolojik ve kozmetik ürünlerde aktif maddeler olarak kullanıldığını belirten Pykett ve ark. (2001), bu ürünlerin oksidatif zararlanmayı azaltıcı etkilerinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Ayrıca, üzüm ve şarapta bulunan fenolik bileşiklerin, insanda kötü kolesterol olarak bilinen LDL'yi düşürdüğü, kalp ve kanser hastalıklarında hem koruyucu hem de tedavi edici özelliklerinin bulunduğunun tespit edilmesi üzerine bu bileşikler tıp ve eczacılıkta büyük önem taşımaktadırlar (Harmankaya, 2003).

2.2. Fenolik Bileşiklerin Gıda Kaynakları

Fenolik bileşikler (polifenoller), bitkilerde en fazla bulunan yapılardan biri olup bitki aleminde 6000'den fazla fenolik yapının bulunduğu belirtilmektedir (Bravo, 1998). Fenolik maddeler, meyve, sebze, baharat ve tahıl gibi bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır (Karadeniz ve ark., 2005). Farklı gıdalarda bulunan fenolik bileşiklerin miktarları 1 mg/kg ve 3000 mg/kg arasında değişmektedir. Çoğu gıdada eşitli fenolik maddelerin karışımı bulunmaktadır (King ve Young, 1999).

Meyve ve sebzelerin içermiş oldukları fenolik bileşiklerin miktarlarının belirlenmesine yönelik yapılan araştırmaların büyük çoğunluğunda, materyal olarak üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin de yer aldığı görülmektedir.

Elde edilen sonuçlara bakıldığında bu ürünlerin pek çok fenolik bileşik grubu bakımından oldukça zengin oldukları göze çarpmaktadır (Aras, 2006).

2.2.1.Üzüm

Asma Vitaceae familyasından, Vitis cinsine ait, dolaşan, yıllık ve tırmanan bir sarmaşıktır. Budanmazsa uzunluğu 30 metreye varabilir ve gövdeleri kalp şeklinde yapraklar taşır. Anadolu kökenli olan asma, meyvesi olan üzümleri için dünyanın her kıtasında yetiştirilmektedir. Sayısız türleri vardır ve ıslah edilmiş çeşitler yaratılmıştır. 5000 civarında çeşidi vardır. Üzüm; pekmez, şarap, meyve suyu yapımında kullanılmakta, sofralık meyve ve kurutulmuş halde tüketilmektedir.

Meyve ve sebzelerin içermiş oldukları fenolik bileşiklerin miktarlarının belirlenmesine yönelik yapılan araştırmaların büyük çoğunluğunda, materyal olarak üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerin de yer aldığı görülmektedir. Elde edilen sonuçlara bakıldığında bu ürünlerin pek çok fenolik bileşik grubu bakımından oldukça zengin oldukları göze çarpmaktadır (Aras, 2006).

Son yıllarda üzüm ve ondan elde edilen ürünlerin üzerinde kapsamlı araştırmalar yapılmasının asıl nedeni ise, içermiş oldukları bir takım maddeler nedeniyle anti kanserojen özelliğe sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bu alanda yapılmış olan araştırmalar sonucunda üzüm ve üzümünden elde edilen ürünlerde oldukça fazla miktarlarda fenolik bileşiklerin bulunduğu (Torres ve ark., 2002; Dávalos ve ark., 2004) ve bu bileşiklerin pek çok hastalığı önlemede etkili oldukları belirlenmiştir (Malaveille ve ark., 1998; Keevil ve ark., 2000; Sanchez, 2006). Tablo 2.1'de bazı üzüm çeşitlerinde bulunan fenolik asit ve flavonoidler sıralanmıştır (Baydar, 2006)

İnsan beslenmesi ve sağlığı üzerinde bu denli önemli etkileri olan üzüm ve üzüm ürünlerinin kimyasal bileşiminin belirlenmesinin daha bilinçli bir tüketim alışkanlığının oluşmasında önemli rol oynayacağı düşünülmektedir.

Tablo 2.1 Bazı üzüm çeşitlerinde bulunan fenolik asit ve flavonoidler (Baydar, 2006)

FENOLİK ASİTLER	Gallik Asit Klorojenik Kafeik Siyrincik (Syringic) p-Kumarik Ferrulik o-Kumarik trans-Sinamik Asit
FLAVONOİDLER	Kateşin Vanilin Epikateşin Rutin Kuersetin

Schwarz ve ark. (2001) zencefil, biberiye, kahve, Japon, Çin ve Hint çayları, kahve, üzüm ve domates kabuğunu kullandıkları araştırmalarında farklı ekstraksiyon yöntemleri ile bu ürünlerdeki toplam fenolik bileşik miktarlarını belirlemişlerdir. Araştırma sonucunda en yüksek toplam fenolik bileşik içeriğinin 1,6 mmol/g ile üzüm kabuğunda elde edildiğini ifade etmişlerdir.

Üzüm ve üzüm ürünlerinde bulunan fenolik bileşiklerin kompozisyonlarının pek çok faktöre bağlı olarak değiştiği bilinmektedir. Genel olarak bitkilerde fenolik bileşikler olgunluk dönemine, çeşide ve iklim koşullarına göre değişmektedir. Bununla birlikte uygulanan kültürel işlemlere,

toprağın fiziksel ve kimyasal özelliklerine göre de üzümlerin içermiş oldukları fenolik bileşiklerin büyük ölçüde değiştiği belirlenmiştir (Arozarena ve ark., 2002). Katalinic ve ark. (2004) şarapların fenolik bileşik kompozisyonlarının çeşide, ekstraksiyon yöntemine, şarap işleme metoduna ve şarabın olgunlaştırma sürecindeki kimyasal reaksiyonlara bağlı olarak değiştiğini vurgulamışlardır.

2.2.2. Üzüm Çekirdeği

Çoğunlukla çöpe giden tarımsal atıklar biyolojik olarak aktif olan çok çeşitli bileşikler içerir. Özellikle, çoğu bitki türevi materyaller antioksidan fenolik maddeler bakımından zengindir. Şarap sanayi tarafından işlenen üzümlerin ağırlığının tahminen %13'ü preslemenin ardından yan ürün olarak çıkmaktadır. Kabuk, çekirdek ve saplardan oluşan bu üzüm posası fenolik bileşikler bakımından zengin bir kaynaktır (Torres ve ark., 2002).

Üzüm çekirdekleri (Şekil 2.4) %35 lif, %29 azotsuz bileşik (örneğin polifenoller), %15 yağ, %11 protein, %3 kül ve %7 su içerir (Mayer ve ark., 2008).

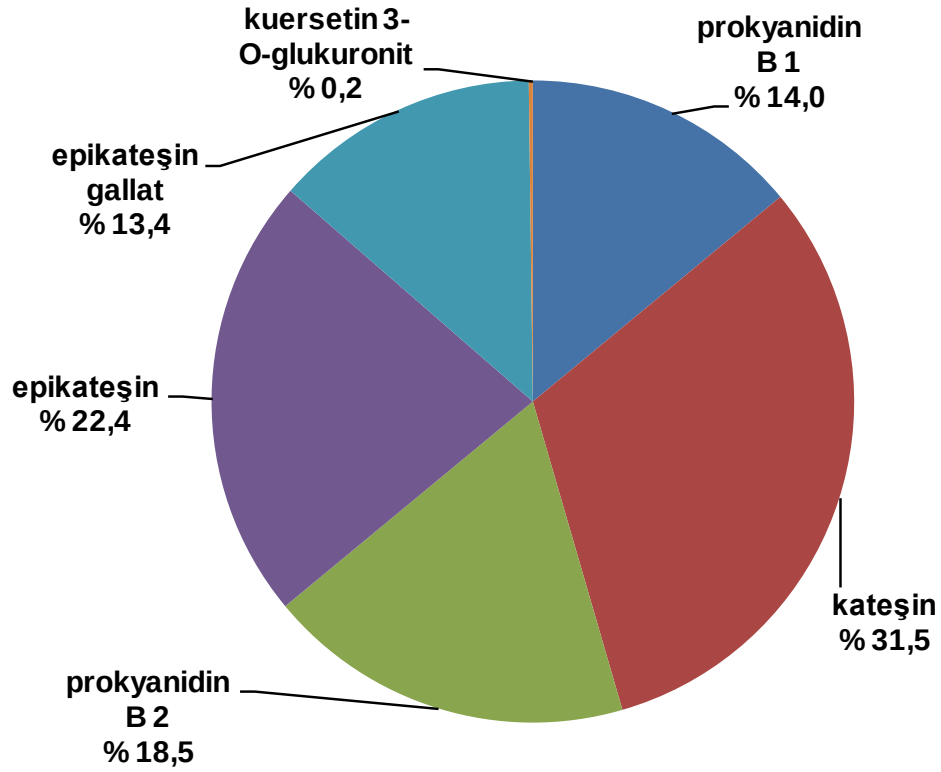


Şekil 2.4 Üzüm çekirdekleri

Üzümün içermiş olduğu karbonhidrat, protein ve mineral maddelerin yanı sıra, diğer meyveler içerisinde ayrı ve özel bir yere sahip olmasının asıl nedeni üzümün kabuğunda, meyve etinde ve çekirdeklerinde oldukça fazla miktarlarda bulunan fenolik bileşiklerden kaynaklanmaktadır (Mattoo ve Kovacevic, 2003; Matito ve ark., 2003; Negro ve ark., 2003).

Üzüm ve üzüm ürünlerinin içermiş oldukları fenolik bileşik miktarlarının yüksek olduğunun belirlenmesi, araştırmacıların bu ürünler üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur (Aras, 2006). Üzüm çekirdeklerindeki polifenoller: monomerik flavan-3-ols kateşin, epikateşin, gallokateşin, epigallokateşin ve epikateşin 3-O-gallat, prokanidin dimerleri, trimerleri ve daha fazla polimerize olmuş prokanidin içeren flavonoidlerdir (Fuleki ve Ricardo-da-Silva, 1997). Fenolik bileşikler içerisinde yer alan flavonoidler, moleküler ağırlığı az olan polifenolik kompozisyona sahip geniş bir aile olup, flavon, flavonol, flavonon, isoflavon, flavan-3-ol ve antosiyaninleri içermektedirler (Stewart ve ark., 2000). Flavonoidler genellikle insan beslenmesi üzerine direkt olarak etkili olmamakla birlikte, insan sağlığına olan yararlarından dolayı, onlara karşı giderek yükselen bir ilgi bulunmaktadır. Flavonoidlerin antioksidan, antimutajenik ve antikarsinojenik özelliklerinden dolayı insan sağlığını destekleyici bileşikler olduğu belirtilmektedir. Flavonoidler keşfedildikleri ilk dönemlerden bu yana en yüksek antioksidan aktiviteye sahip fenolik kompozisyona sahip olan gruplar olarak bilinmektedirler (Hertog ve ark., 1993).

Üzüm çekirdeğinin özellikle flavanoller bakımından zengin olduğu bilinmektedir (Şekil 2.5). Bununla birlikte üzüm kabuğunda da flavanoller bulunmaktadır. Ancak kabukta bulunan asıl fenolik bileşik grubunu flavonoller oluşturmaktadır. Üzüm kabuğunda flavonollerden özellikle kuersetin miktarının yüksek olduğu, kuersetin, kaempferol ve bunların glikozitlerinin şaraplarda acılığı artırdığı bilinmektedir (Aras, 2006).



Şekil 2.5 Vitis vinifera L. cv. 'Samtrot' üzüm çekirdeklerinden sağlanan ekstraktın flavonoid kompozisyonu

Üzümlerde fenolik bileşik miktarı tanenin kısımlarına göre de değişmektedir. Bu amaçla, taneyi oluşturan farklı kısımlardaki toplam fenolik bileşiklerin miktarlarının tespit edildiği bir araştırmada, toplam fenolik bileşik miktarının tanenin kısımlarına göre büyük farklılıklar gösterdiği belirlenmiştir. Araştırmaya göre kırmızı çeşitlerde gallik asit cinsinden toplam fenolik bileşik miktarı çekirdeklerde 3225 mg/kg tane iken, bu değer kabukta 1859 mg/kg tane, üzüm suyunda 206 mg/kg tane ve suyu sıkılmış tane etinde 41 mg/kg tane olarak bulunmuştur. Beyaz çeşitlerde ise çekirdeklerde 2778 mg/kg tane, kabukta 904 mg/kg tane, üzüm suyunda 176 mg/kg tane ve suyu sıkılmış tane etinde 35 mg/kg tane toplam fenolik bileşik tespit edilmiştir (Aras, 2006).

2.3. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin izolasyonu için ilk adım ekstraksiyondur. Ekstraksiyon, gıda sanayinde kütle transferi işlemlerinde kullanılan en yaygın işlemlerden birisidir (Welti-Chanes ve ark., 2005). Amaç, gıda matrisinden istenilen bileşiklerin elde edilmesidir (Lopez ve ark., 2008).

Ekstraksiyon, bir katı maddede veya bir sıvı içinde çözünmüş halde bulunan bir bileşeni, çözücü ya da çözücü karışımı kullanmak suretiyle elde etme işlemidir. Ekstraksiyon işleminin gerçekleşmesi için iki ayrı faz oluşmalıdır. Bu fazlardan birinde ayrılacak madde, diğerinde ise bu maddeyi kendisine fiziksel veya kimyasal yollarla çekecek bir çözücü bulunmalıdır. Ekstraksiyon, sabit sıcaklık ve basınçta bir maddenin iki fazdaki denge derişimlerinin farklı olmasından yararlanılarak yapılan bir ayırma işlemidir (Uslu, 2005).

Ekstraksiyonun dayandığı temel kanun Nernst Dağılım Kanunu'dur. Buna göre, birbirinde çözünmeyen veya çok az çözünen iki sıvıya, bunlarda tamamen çözünebilen üçüncü bir madde ilave edilir ve karıştırılırsa, ilave edilen madde her iki faz arasında dağılıma uğrar (İnci ve ark., 2000).

Ayrılmak istenen maddenin bulunduğu ortama göre ekstraksiyon işleminin adı değişir. Eğer bu madde katı ortamda bulunuyorsa katı-sıvı ekstraksiyonu, madde sıvı ortamda bulunuyorsa sıvı-sıvı ekstraksiyonu adı verilir. Her iki ekstraksiyon türünün de kimya ve gıda sanayinde önemi büyüktür. Çoğu endüstriyel maddeler bulundukları karışımlardan ekstraksiyon yöntemiyle ayrılırlar (Bayazit, 2008).

2.3.1. Katı-Sıvı Ekstraksiyonu

Katı-sıvı ekstraksiyon yönteminde katı ortamdan ayrılmak istenen madde, bu maddeyi büyük ölçüde çözebilen bir çözücü yardımıyla alınır. Fazlar ayrıldıktan sonra, çözücünün ortamdan uzaklaştırılmasıyla istenen

madde elde edilir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonuna benzer bir işlem gibi gözükmesine rağmen katı-sıvı ekstraksiyonu daha zor bir işlemdir. Çünkü katı içindeki yayılım sıvı içindeki yayılımdan çok daha yavaştır ve bu yüzden dengeye ulaşması daha zordur.

Katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi, genellikle katı madde içinde bulunan bir ya da birden fazla katı-sıvı bileşeni çözücü fazına transfer etmek amacıyla uygulanır. Kütle transferi katı ve sıvı faz arasındaki ara yüzeyde oluşur. Prosesin etkinliği bakımından, katı ile çözücü fazları arasındaki temas alanı ve temas süresi önemlidir. Ekstraksiyon işlemi 4 kademedeyi yapar (Şenol, 2003):

- (i) Ekstrenin çözücü fazına geçirilmesi;
- (ii) Bakiyenin ekstrakt fazından mekanik olarak ayrılması;
- (iii) Taşıyıcı inert madde yüzeylerinde tutulan ekstraktın taze çözücü ile yıkanıp geri kazanılması;
- (iv) Çözünen maddenin ekstrakt fazından ayrılması ve rafine edilmiş çözücünün prosesine devredilmesidir.

Katı-sıvı ekstraksiyonu çoğu önemli gıda bileşenini elde etmek için kullanılan temel işlemlerden biridir. Örneğin şeker pancarından sükröz, yağlı tohumlardan yağlar, bitkilerden fitokimyasallar, alglerden fonksiyonel hidrokolloidler katı-sıvı ekstraksiyon işlemi ile elde edilir. Katı-sıvı ekstraksiyonu gıdalarda bulunan atıkları ve toksinleri uzaklaştırmak için de kullanılır (Tzia ve Liadakis, 2003).

2.3.2. Ekstraksiyonu Etkileyen Etmenler

Ekstraksiyon süresince bitkilerin enzim aktivitesi, oksijen ve ışık ekstraksiyon verimini etkiler. Bu nedenle hidroliz, oksidasyon ve

izomerizasyondan kaçınmak için son derece dikkatli olmak gereklidir (Tsao ve Deng, 2004).

Ekstraksiyon koşulları da bitkilerden fenolik bileşiklerin elde edilmesini etkilemektedir. Bunlar çözücü, sıcaklık, katı-sıvı oranı, karıştırılma durumu, ekstraksiyon süresi, partikül boyutu, ekstraksiyon metodu, zaman, örnek, örneğin depolanma durumu, istenmeyen bileşiklerin ekstraksiyonu ve benzeri faktörlerdir (Robards, 2003; Naczki ve Shahidi, 2004).

2.3.2.1. Çözücünün Etkisi

Ekstraksiyon işleminin verimliliği çözücünün seçiciliğine bağlıdır. Yaygın olarak kullanılan çözücüler; su, organik çözücüler (hekzan, metilen klorid, etil asetat vb.), alkol ve süperkritik hale getirilmiş gazlardır. Fenolik bileşiklerin çözünürlüğü ve çözücüye yayılımları kimyasal yapılarına bağlıdır. Fenolik bileşiklerin kimyasal yapıları basitten yüksek polimerize haldeki bileşiklere kadar değişiklik gösterir, bu nedenle çözücü seçimi ekstraksiyon işleminde en önemli adımdır.

Literatüre göre bitki fenoliklerinin ekstraksiyonunda en sık kullanılan çözücüler metanol, etanol, propanol, aseton, etil asetat, dimetil formamid ve bunların suyla ve birbirleriyle karışımlarıdır (Escribano-Bailon ve Williamson, 2003). Gıda esaslı polifenol ekstraksiyonunda daha iyi verim elde edilmesine rağmen etil asetat, aseton ve metanol gibi organik çözücüler tercih edilmemektedir (Naczki ve Shahidi, 2006).

Organik çözücülerin kullanımı güvenlik tedbirlerine son derece bağlı olmayı gerektirir. Üründe kalıntı olabilecek organik çözücü miktarı çok önemlidir. Bu nedenle, çözücü olarak su, gıda bileşenlerinin eldesi için çok iyi bir alternatiftir (Maier ve ark., 2009).

Ekstraksiyon işlemi için seçilen çözücü istenilen maddeyi çözebilen yapıda olmalıdır. Çözücüde çözünen maddenin doygunluk noktasına bağlı olarak çözücü kapasitesi belirlenir. Ancak çözücü kapasitesi ne olursa olsun,

kullanılan çözücü miktarı inert katının miktarına göre seçilmelidir. Çözücü, ekstrakte edilen katıdan ve ekstre çözücünden (çözünen+çözücü) kolayca ayrılabilme özelliğine sahip olmalıdır. Ekstraksiyonda düşük kaynama noktasına sahip çözücülerin kullanılması tercih edilir.

2.3.2.2. Sıcaklığın Etkisi

Uygun çözücünün seçiminin yanı sıra ekstraksiyon sıcaklığı, çözünen madde verimini arttıran önemli bir faktördür. Ekstraksiyon sıcaklığının, fenolik bileşiklerin tek ve toplam olarak ekstraksiyonunda pozitif etkisi vardır (Bucic-Kojic ve ark., 2007).

Ekstraksiyon işleminde yüksek sıcaklıklarda çalışmak çözünen maddenin çözücüye geçişini hızlandırır. Ekstre edilecek katının yapısına bağlı olarak sıcaklıkla ekstraksiyon verimi artmasına rağmen, yüksek sıcaklıkta bazı bileşenlerin yapısında bozunmalar oluşabilir ve arzu edilmeyen bileşikler de çözünebilir.

2.3.2.3. Partikül Boyutunun Etkisi

Katının hazırlanması, kırma, öğütme, parçalara bölme veya yeniden şekillendirme olarak gerçekleştirilebilir. Çözünmesi istenen madde katı yüzeyinde ise, çözücü ile ekstrakte edilmesi kolaydır. Çözünmesi istenen madde katının içinde ise, katının bir ön işleminden geçirilerek parçacık boyutunun küçültülmesi ile katı-çözücü temas yüzeyi artırılarak ekstraksiyon verimi yükselir.

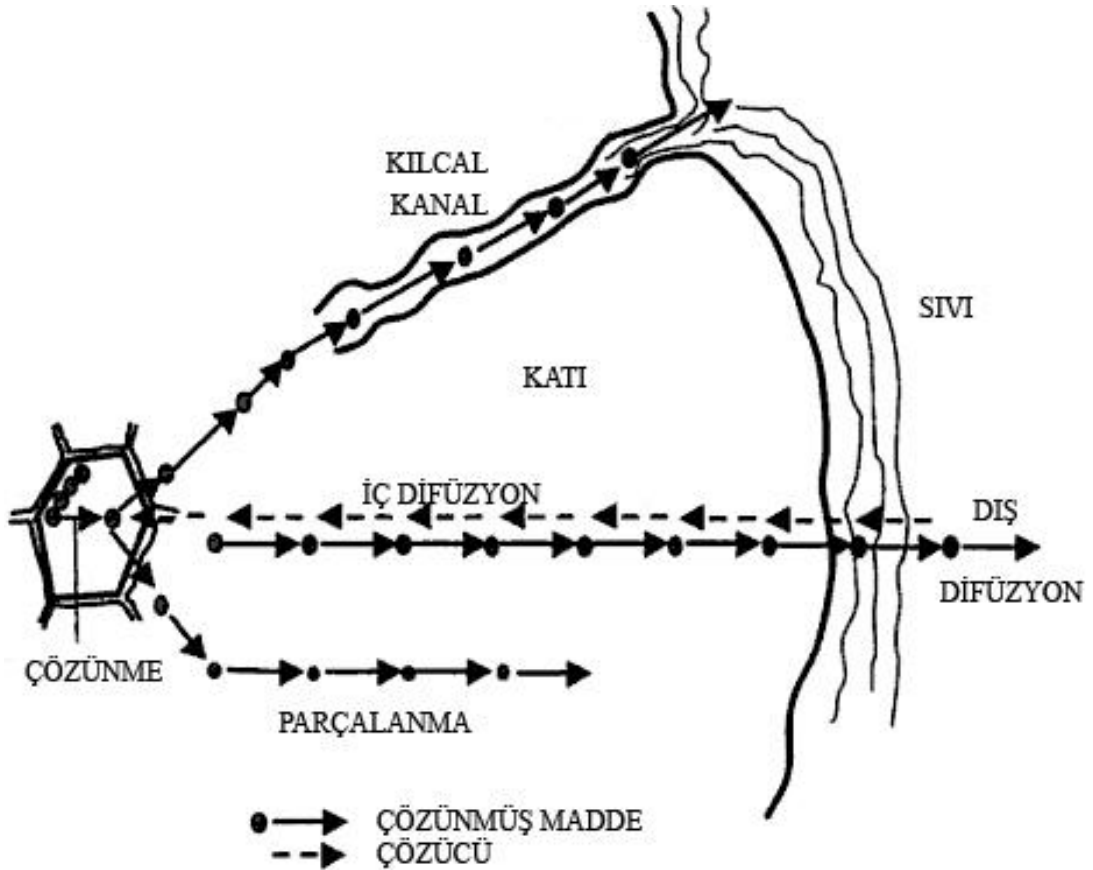
2.3.2.4. Sürenin Etkisi

Madde ile çözücünün temasta kaldığı süre arttıkça genelde çözünen madde verimi artar. Ancak bazı durumlarda ekstraksiyon süresinin artışı bazı olumsuzluklara yol açabilir. Örneğin, optimum durumda elde edilen fenolik bileşiklerin ekstraksiyonuna devam edilirse, fenolik bileşiklerin antioksidan aktivitesi bu durumdan olumsuz yönde etkilenir.

2.3.3. Gıdalarda Katı-Sıvı Ekstraksiyonunun Özellikleri

Mühendislik bakış açısıyla, gıdaların katı-sıvı ekstraksiyonu çok bileşenli, çok aşamalı, kararsız durumdaki kütle transfer işlemidir. Gıda bileşenlerinin ekstraksiyonunda çoğunlukla kullanılan çözücüler su, etanol, etanol-su karışımları, hekzan ve karbondioksittir. Fakat doğal kimyasalların kullanımına doğru bir eğilim vardır (Tzia ve Liadakis, 2003) .

Ekstraksiyon süresince katı içinde çözünen madde konsantrasyonu hareketli bir ortam oluşturur. Çözünmüş madde ve çözücü arasında etkileşim periyodu süresince oluşan hareketler Şekil 2.6'da gösterilmiştir:



Şekil 2.6 Katı gıda partiküllerinin çözücü ekstraksiyonundaki hareketleri. (Tzia ve Liadakis, 2003)

2.3.4.Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Fenolik bileşikleri incelemek için kullanılan metotlar çok çeşitlidir ve sayısız çalışmaya konu olmuştur. Genelde çalışmalarda meyvelerdeki lignin gibi çözünmez kısımlar değil, çözünür fenolik bileşikler incelenmiştir (Macheix ve ark., 1990).

Çözülmesi gereken ilk problem, seçilen bitki materyaline ve çalışılacak fenolik bileşiğin tipine uygun ekstraksiyon metodunu seçmektir. Metot mümkün olduğunca fenolik bileşiklerin tamamen ekstraksiyonunu sağlamalı ve kimyasal değişiklikleri önlemelidir (Tsao ve Deng, 2004).

Farklı ekstraksiyon metotları üzüm çekirdeklerinin de içermiş olduğu antioksidan özelliğine sahip fitokimyasallar için kullanılmakta olup, bu metotların çoğu çözücü ekstraksiyonuna dayanmaktadır. Solvent ekstraksiyonu, meyve örneği hazırlamada en iyi metottur (Kahkonen ve ark., 2001). Günümüzde sokselet (soxhlet) ekstraksiyonu, pek çok rutin laboratuvar da en sık kullanılan ekstraksiyon metodudur (Eskilsson ve Björklund, 2000; Björklund ve ark., 2002). Fakat, geleneksel soxhlet metodu enerji ve zaman kaybıdır. Uzun ekstraksiyon işlemi bileşiklerin bozunmasına neden olabilir (Ganzler, 1986). Dahası, zararlı organik çözücülerin fazlaca kullanımı, sağlık problemlerinin yanı sıra çevresel imha etme problemlerine de yol açabilmektedir (Özcan ve Özcan, 2004).

Organik çözücülerin yüksek fiyatı, çevresel faktörler ve zorunluluklar gıda ve eczacılık sanayileri tarafından yeni ekstraksiyon tekniklerinin gelişmesini sağlamıştır (Sihvonen ve ark., 1999). Bu nedenle, geleneksel ekstraksiyon metotlarına alternatif metotlar geliştirilmeye ve kullanılmaya başlanmıştır (Yvonne Dansby, 2006)

Fenolik bileşiklerin elde edilmesinde çözücü, katı-faz, mikrodalga destekli, ultrason destekli, süper kritik akışkan ve yüksek basınç ekstraksiyon çeşitleri kullanılabilir (Hasbay Adil, 2006). Ancak, bitki polifenollerinin yapısal

olarak çok çeşitli olduğundan, bütün bitki fenolikleri için uygun bir ekstraksiyon metodu geliştirmek pratik olarak imkansızdır (Naczek ve Shahidi, 2004).

2.4. Fenolik Bileşiklerin Miktar Analizi

Bitki materyallerinde fenolik bileşiklerin miktar analizi için çok sayıda spektrofotometrik metot geliştirilmiştir. Bu analizler farklı prensiplere dayanmakta olup, fenolik bileşiklerdeki çeşitli yapısal grupların varlığını belirlemek ve fenollerin genel özelliklerini hesaplamakta kullanılırlar (Naczek ve Shahidi, 2004). Örneğin oksidasyon kapasitesi, UV ve görünür ışıktaki absorpsiyon veya belli metal iyonlarıyla şelat kapasitesi gibi özellikler spektrofotometrik metotlarla ölçülebilir (Macheix ve ark., 1990).

Folin-Denis analizi, bitki materyallerinde toplam fenoliklerin miktar analizi için sık kullanılan analizlerden birisidir. Fenolik bileşiklerin varlığında fosfomolibdik-fosfotungistik asitlerin indirgenmesi ile ayraç (Folin-Denis) alkaline çözeltide mavi renkli kompleks oluşturur.

Folin-Ciocalteu analizi de gıda bitki fenoliklerinin toplam miktarının belirlenmesi için kullanılır (Naczek ve Shahidi, 2004). Folin-Ciocalteu ayırıcının kullanımı toplam fenollerin klasik ölçümüdür. Bu ayraç çok duyarlıdır, fakat çok spesifik değildir. %10 sodyum klorid (NaCl) içeren sulu çözeltide %1 jelatin veya formaldehit kullanımı tanin ve flavonoidlerin ayrılmasını ve fenolik bileşiklerin farklı gruplarının ölçümünü sağlar (Macheix ve ark., 1990).

Bu yöntem, suda ve diğer organik çözücülerde çözünmüş olan fenolik bileşiklerin Folin reaktifi ile alkali ortamda renkli kompleks oluşturması esasına dayanır. Folin-Ciocalteu çözeltisinde bulunan fosfotungistik ve fosfomolibdik asitlerin kompleks polimerik iyonları ile oksidasyonu sonucu mavi renkli molibden-tungsten kompleksi oluşur. Ölçüm için UV-VIS spektrofotometre kullanılır. Oluşan mavi-mor-menekşe renkli kompleks 760

nm dalga boyunda maksimum absorbands verir. Bu dalga boyunda ışık absorbsiyonunun yoğunluğu polifenollerin konsantrasyonu ile orantılıdır. Adı bunu yansıtmamasına rağmen, bu yöntem aslında numunenin indirgeme kapasitesini ölçer. Reaktifin kimyasal indirgenmesine dayanır. Mavi renkli kompleksler metal oksit indirgeme ürünleridir. Bir antioksidan tayin yöntemidir (Ekinci, 2008).

Folin-Ciocalteu yönteminin avantajı farklı fenoller için oldukça eşdeğer yanıt vermesi, dezavantajı ise şeker ve kükürt dioksit varlığından etkilenmesidir. Renk gelişimi yavaştır ama örneğin ısıtılmasıyla hızlandırılabilir. Reaktif satın alınabilir veya hazırlanabilir. Kalan çözeltiler tehlikeli atık olarak sayılır. Orijinal prosedürde çok fazla atık oluşur. Ancak, modern sıvı ölçme ekipmanları, UV-VIS spektrofotometrenin küvet hacminde mikro ölçüm yapma imkânı sağlayarak reaktif maliyetini ve atıkları azaltır.

Vanilin metodu proantosiyanidinlerin (kondanse taninler) miktar analizinde kullanılır. Bu metotta standart olarak kateşin kullanılır. 4-dimethylamino-cinnamaldehyde (DMCA) metodu da proantosiyanidinlerin tahmini için önerilmiştir. Proantosiyanidin metodu, butanol ve konsantre hidroklorik asit (95:5, v/v) çözeltisinde uygulanır. Bu asidik çözeltideki proantosiyanidinler antosiyanidinlere dönüştürülür. Bu reaksiyonun verimi HCl ve su konsantrasyonuna, sıcaklığa, reaksiyon süresine, dönüşmüş metallerin varlığına ve proantosiyanidinlerin polimerizasyon derecesine bağlıdır (Naczk ve Shahidi, 2004).

Hidrolize edilebilir taninlerin miktar analizi için çok sayıda bitki materyallerinin taranmasıyla çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır. Bunlar arasından en yaygın kullanılan metot potasyum iyodad ve hidrolize edilebilir taninler arasındaki reaksiyona dayanır (Naczk ve Shahidi, 2004).

Az veya çok saflaştırılmış toplam ekstraktta fenoliklerin doğrudan spektrofotometrik belirlenmesi de yöntemlerden birisidir. Bu hızlı yaklaşım, saflaştırılmış ekstraktlara uygulandığında oldukça kesin sonuçlar almak

mümkündür. Doğrudan spektral absorbans analizi, hızlı ve basittir. Fakat bu yöntem, farklı fenolik sınıflara farklı tepkiler verir ve ortamda sorbat bulunursa bundan etkilenir. Fenolik bileşikler tüm UV ışığı emer ve hepsi 280 nm dalga boyunda az veya çok absorbans verir. Bu özellik, spektral analiz ile fenoliklerin belirlenmesinde kullanılabilir. Bu metotla ilgili sorun, fenolik bileşiklerin her sınıfının 280 nm dalga boyunda farklı emiciliğe sahip olmasıdır. Bu nedenle, sonuçlar herhangi bir spesifik standartla ilgili değildir ve doğrudan absorbans biriminde bildirilir. Bu, iki farklı örneğin bu metotla karşılaştırılmasının çok zor olacağı anlamına gelir (Macheix ve ark., 1990).

Diğer bir yöntem bakır iyonlarıyla (Cu^{+2}) oksidasyonun ardından susuz ortamda toplam fenoliklerin belirlenmesidir. Bu metot toplam o-diphenoller ve o-diphenol fonksiyonlarıyla (klorojenik asit, kateşin, kuersetinden türetilmiş flavonol) birlikte fenolik bileşiklerin çeşitli gruplarını da belirlemektedir (Macheix ve ark., 1990).

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

Deneylerde 2008 yılı sonbaharında Eğirdir bölgesinde yetiştirilen Uluğbey cinsi kırmızı üzüm çekirdekleri kullanılmıştır. Çekirdekler zedelenmeden meyve etinden ayrılmış, kurutulmuş ve deneylerin yapılacağı zamana kadar vakumlu paketlerde, oda sıcaklığında (25°C) ve karanlık ortamda bekletilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Kimyasal Reaktifler

Analizlerde kullanılan Folin-Ciocalteu's fenol reaktifi Merck Co.'den (Darmstadt, Almanya); galik asit (%93,1 w/w) Sigma Chemical Co.'den (Çin) ve sodyum karbonat (%99,9 w/w) J.T. Baker Inc.'den (Phillipsburg, ABD) temin edilmiştir.

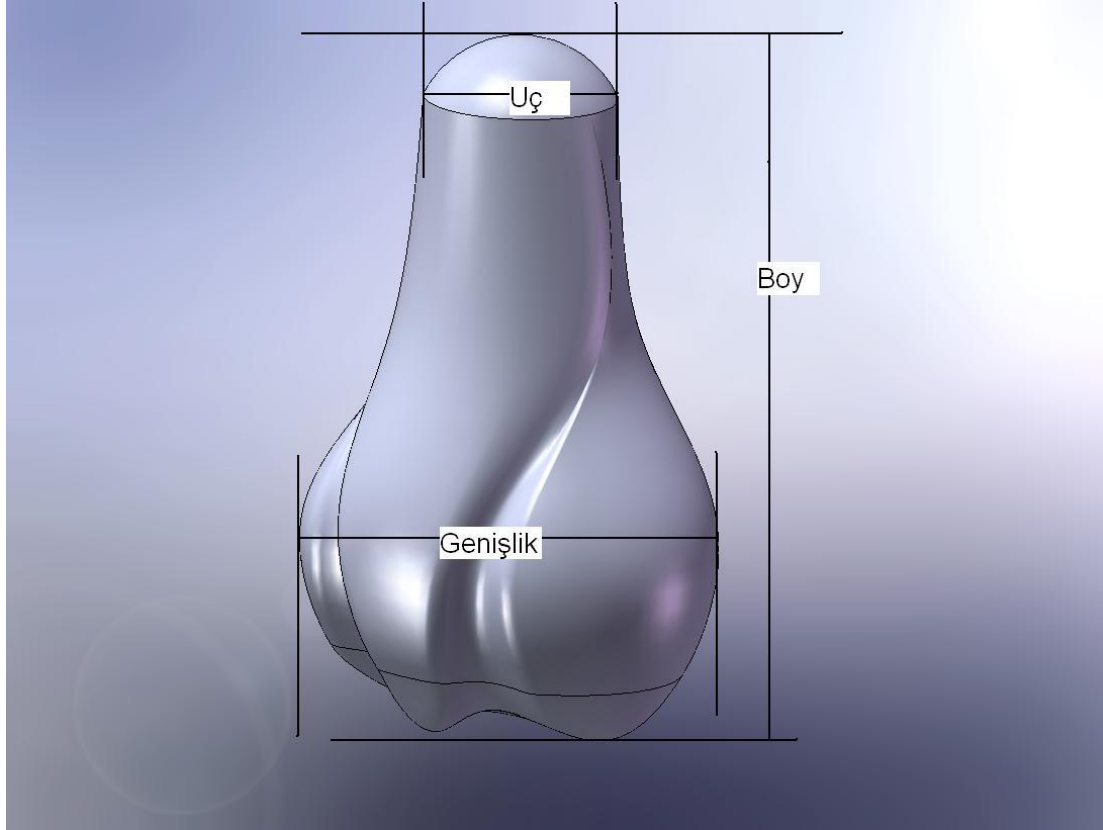
3.2.2. Numune Hazırlama

Ekstraksiyonda kullanılacak çekirdekler $50\pm1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta sabit tartıma gelinceye kadar etüvde (Heraeus, Vacutherm, Almanya) bekletilmiştir. $0,5\pm0,002$ g üzüm çekirdeği hassas terazide (Mettler Toledo, PB303-S, İsviçre) tartılarak tüplere konulmuştur. Her tüpteki çekirdek sayısı kaydedilmiştir.

3.2.3. Üzüm Çekirdeklerinin Boyutlarının Ölçülmesi

Dijital kumpas (Mitutoyo, 500-161U CD-15DC, ABD) ile tüplerdeki her üzüm çekirdeğinin boyutları ölçülmüştür. Çekirdeğin boyu, çekirdeğin uç

kısının kalınlığı ve çekirdeğin geniş kısmının kalınlığı ölçülmüştür. Böylece çekirdeklerin üç boyutu kayıt altına alınmıştır (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Üzüm çekirdeğinin boyutlandırılması

Farklı ekstraksiyon koşullarının denendiği çalışmada toplam 1325 tane üzüm çekirdeğinin boyutları kumpas ile ölçülmüştür. Üzüm çekirdeklerinin boylarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları $5,648 \pm 0,505$ mm, genişliklerinin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları $3,502 \pm 0,300$ mm, uçlarının aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları $1,296 \pm 0,194$ mm olarak bulunmuştur.

3.2.4. Üzüm Çekirdeklerinin Kesit Alanlarının Belirlenmesi

Üzüm çekirdeklerinin kesit alanları SDÜ Tekstil Mühendisliği laboratuvarında bulunan görüntü analiz sistemine sahip ışık mikroskobu (Motic, Çin) ile ölçülmüştür. 11 üzüm çekirdeği 4x objektif ve 10x oküler ile toplam 40 kat büyütülerek kesit alanları ve çevreleri bulunmuştur (Ek-A).

Üzüm çekirdeklerinin aritmetik ortalaması $5,315 \text{ mm}^2$ ve standart sapmaları $0,482 \text{ mm}^2$ olarak bulunmuştur.

3.2.5.Üzüm Çekirdeklerinin Hacimlerinin Hesaplanması

Üzüm çekirdeklerinden yayılım sabiti hesaplaması için çekirdeklerin belli geometrik şekillere benzetilmesi gerekmektedir (Ochoa-Martinez ve ark., 2009). Üzüm çekirdeği küreye ve silindire benzetilerek yaklaşık hacimleri hesaplanmıştır.

Üzüm çekirdekleri küre olarak kabul edildiğinde;

Küre Hacmi	:	$V=4/3\pi r^3$
Çekirdek Kesit Alanı (aritmetik ortalama)	:	$A=5,315 \text{ mm}^2 (\pi r^2)$
Çekirdek Hacmi	:	$V_{\text{çekirdek}}=9,2 \text{ mm}^3$

Üzüm çekirdekleri silindir olarak kabul edildiğinde;

Silindir Hacmi	:	$V= (\pi r^2 h)$
Çekirdek Kesit Alanı (aritmetik ortalama)	:	$A=5,315 \text{ mm}^2 (\pi r^2)$
Çekirdek Boyu (aritmetik ortalama)	:	$h=5,648 \text{ mm}$
Çekirdek Hacmi	:	$V_{\text{çekirdek}}=30,024 \text{ mm}^3$

Hesaplanan çekirdek hacim değerlerinden hangisinin üzüm çekirdeğinin gerçek hacim ölçüsüne yakın olduğu SDÜ CAD/CAM Araştırma ve Uygulama Merkezi tasarım iş istasyonunda yapılan hacim hesaplamalarının ardından belirlenmiştir. Tasarımda Solidworks 2008 (versiyon SPO4) programı kullanılmıştır. Ölçümler $0,01 \text{ mm}$ duyarlılığındaki dijital kumpas (Mitutoyo, CD15-DC, Japonya) ile yapılmıştır.

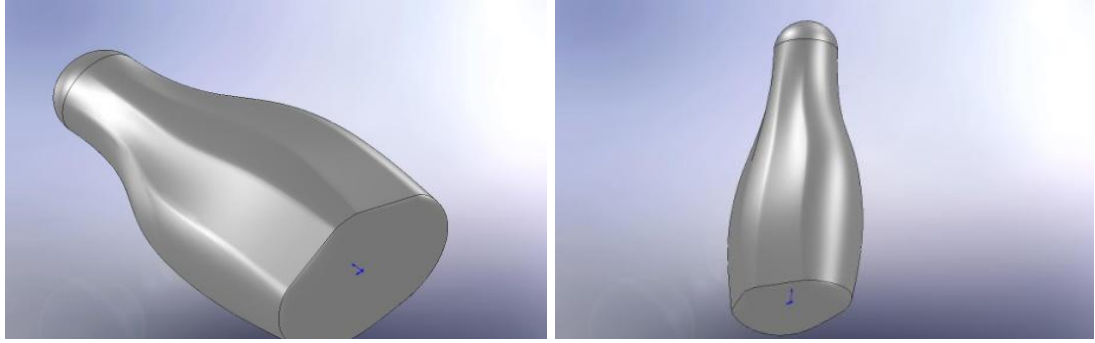
Tersine mühendislik yaklaşımı ile modelleme yapılmıştır. Bu yaklaşım, varolan ürünlerin yeniden tasarımında kullanılmaktadır. Çalışmamızda gerek duyulan hacim bilgisi için elde varolan ürünün modellemesinin yapılması uygun bir yaklaşım olmuştur.

Önce tasarlanacak ürünün şekil bilgisi elde edilmiştir. Üzüm çekirdeğinin; tavanı, tabanı ve ölçülen üç çekirdek için her biri için dört eşit parçasının kesitleri (slice) ölçülendirilmiştir. Ayrıca çekirdeğin belirlenen dilimler dışında kanalları da ölçülmüştür. Solidworks programında düzlemler (plane) oluşturulmuş, ölçümler her kesit bir düzleme gelecek biçimde programa aktarılmıştır. Düzlemler birbirine bağlanarak programın Loft komutu ile katı model tasarımı yapılmıştır. Tasarım sonucu oluşan katıdan programın MESS özelliği ile hacim bilgisi bulunmuştur.

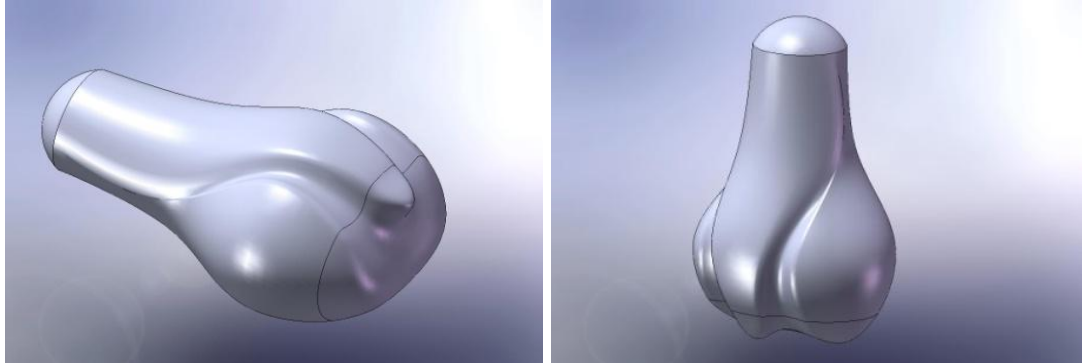
Farklı boyutlarda seçilen üç çekirdeğin tasarımı yapılmış ve hacim ölçüleri birinci çekirdek için (Şekil 3.2) $25,44 \text{ mm}^3$, ikinci çekirdek için (Şekil 3.3) $37,166 \text{ mm}^3$ ve üçüncü çekirdek için (Şekil 3.4) $28,34 \text{ mm}^3$ olarak bulunmuştur. Üç çekirdeğin hacim ölçülerinin aritmetik ortalaması $30,315 \text{ mm}^3$ 'tür. Elde edilen bu değer, üzüm çekirdeklerinin silindire benzetilerek hesaplanan hacim ölçüsü ile örtüşmektedir. Bu nedenle yayılım sabiti hesaplamasında kullanılacak olan hacim ölçüsü belirlenirken üzüm çekirdekleri silindire benzetilmiştir.



Şekil 3.2 Katı model tasarımı - çekirdek 1



Şekil 3.3 Katı model tasarımı - çekirdek 2



Şekil 3.4 Katı model tasarımı - çekirdek 3

3.2.6.Üzüm Çekirdeklerinden Fenolik Madde Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon 15 ml'lik falkon tüplerde gerçekleştirildi. Çözücü olarak saf su cihazından (Millipore, Q-Gard 1, Molsheim, Fransa) elde edilen saf su kullanıldı. Fenolik madde içeriği incelenecek olan üzüm çekirdekleri bütün ve parçalanmış olmak üzere iki şekilde ekstraksiyona tabi tutulmuştur.

Ağırlıkları bilinen ($\approx 0,5$ gram) tüpler içindeki üzüm çekirdeklerine 2500 μl , 3750 μl , 5000 μl , 6250 μl ve 7500 μl saf su eklenmesiyle 0,067, 0,08, 0,1, 0,133 ve 0,2 g çekirdek/ml çözücü oranı elde edilmiştir. Tüpler daha sonra alüminyum folyo ile sarılarak su banyosuna konulmuştur. 50, 75 ve 95°C sıcaklıklardaki su banyosunda (J.P.Selecta, Precisdig, Barselona, İspanya)

10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dakika bekletilen üzüm çekirdeklerinde toplam fenolik madde tayini yapılmıştır.

Maksimum fenolik madde miktarının bulunması için üzüm çekirdeklerine ($\approx 0,5$ gram) 5000 μl saf su eklenerek, 50, 75 ve 95°C sıcaklıklardaki su banyosunda 5-35 saat arasında bekletilmiştir. Numuneler -18°C sıcaklıkta saklanmıştır. Daha sonra bütün numunelerde toplam fenolik madde tayini yapılmıştır (Ek-B). Fenolik maddelerin ışıktan etkilenmemesi için su banyosunda bekletme ve ekstraksiyon işlemleri karanlıkta yapılmıştır. Deneyler iki paralelli olarak yapılmıştır.

3.2.7. Toplam Fenolik Madde Tayini

Toplam fenolik madde miktarı ve üzüm çekirdeklerinden elde edilen ekstraktlardaki fenolik bileşik miktarı Folin-Ciocalteu kolorimetrik metodu kullanılarak Singleton ve Rossi (1965) yöntemine göre yapılmış, absorbans değerlerinin ölçümü UV-VIS spektrofotometre (Perkin Elmer, Lambda 20, Norwalk, ABD) ile 760 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Değerler gallik asit cinsinden $\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{g}$ çekirdek olarak hesaplanmıştır.

Ekstraksiyon yapılan tüplerden belirli süreler sonunda 40 μl ekstrakt alınmıştır. Ekstrakt üzerine 2400 μl saf su, 200 μl Folin-Ciocalteu reaktifi, 600 μl doymuş sodyum karbonat çözeltisi ve tekrar 760 μl saf su konulup, vorteksle (Velp. Scientifica, ZX3, İtalya) karıştırılmıştır. 2 saat oda sıcaklığında karanlıkta bekletildikten sonra UV-VIS spektrofotometrede 760 nm dalga boyunda absorbans değeri ölçülmüştür.

Folin-Ciocalteu kolorimetrik metodunda ekstrakt yerine standart olarak gallik asit kullanılmıştır. Gallik asitin farklı konsantrasyonlarının (62,5-1000 mg/L) 760 nm dalga boyundaki absorbanslarına karşı kalibrasyon eğrisi hazırlanmıştır. Kalibrasyon eğrisinden yararlanılarak toplam fenolik madde miktarı belirlenmiştir (Ek-B). Toplam fenolik madde içeriği, 1 gram üzüm çekirdeğindeki gallik asit eşdeğeri olarak ($\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{g}$ çekirdek) ifade edilmiştir.

3.2.8.Bütün ve Parçalanmış Üzüm Çekirdeklerinden Çıkarılan Fenolik Maddelerin Saflığının Belirlenmesi

Bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda, ekstraksiyon koşullarının saflığa etkilerinin incelenmesi için $\approx 0,5$ g bütün ve parçalanmış üzüm çekirdekleri 5000 μ l saf suda 50, 75, 95°C sıcaklıkta 20, 40 ve 60 dakika süre ile bekletilmiştir. Bu koşullarda elde edilen ekstraktlar etüvde 105°C sıcaklıkta kurutulmuş ve toplam kurumadde miktarı bulunmuştur.

Bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerindeki fenolik maddelerin saflığı aşağıdaki formül ile bulunmuştur:

$$\text{Saflık(\%)} = \frac{\text{Ekstrakte edilen fenolik madde miktarı (g)}}{\text{Ekstraktın kurumadde miktarı (g)}} \times 100 \quad (1)$$

Saflık hesaplamasında (1) numaralı eşitlikte kullanılan ekstrakte edilen fenolik madde miktarları ve ekstraktın kurumadde miktarları Ek-C'de verilmiştir.

3.2.9.Yayılm Sabitinin Belirlenmesi

Yayılm sabitinin belirlenmesi için Fick'in ikinci kanununa dayanan, Crank'ın silindirde yayılım için önerdiği aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır (Ochoa-Martinez ve ark., 2009):

$$\frac{ML}{ML_{\infty}} = 6 \left(\frac{Dt}{a^2\pi} \right)^{1/2} - \frac{3Dt}{a^2} \quad (2)$$

ML = t anında ekstrakte edilen fenolik madde miktarı ($\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{g}$ çekirdek)

ML_{∞} = Ekstrakte edilen maksimum fenolik madde miktarı ($\text{mg}_{\text{GAE}}/\text{g}$ çekirdek)

D = Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon yayılım sabiti (mm^2/saat)

- t = Ekstraksiyon süresi (saat)
a = Eşdeğer yarıçap (mm)

Yayılm sabitinin belirlenmesinde kullanılan (2) numaralı eşitlikte ekstrakte edilen maksimum fenolik madde miktarı değerleri Ek-D'de verilmiştir.

3.2.9.1. Eşdeğer yarıçap hesaplanması

Eşdeğer yarıçapı hesaplamak için aşağıdaki eşitlik kullanılmıştır (Ramaswamy ve Grabowski, 1998):

$$r_e = \frac{(6V/\pi)^{1/3}}{2} \quad (3)$$

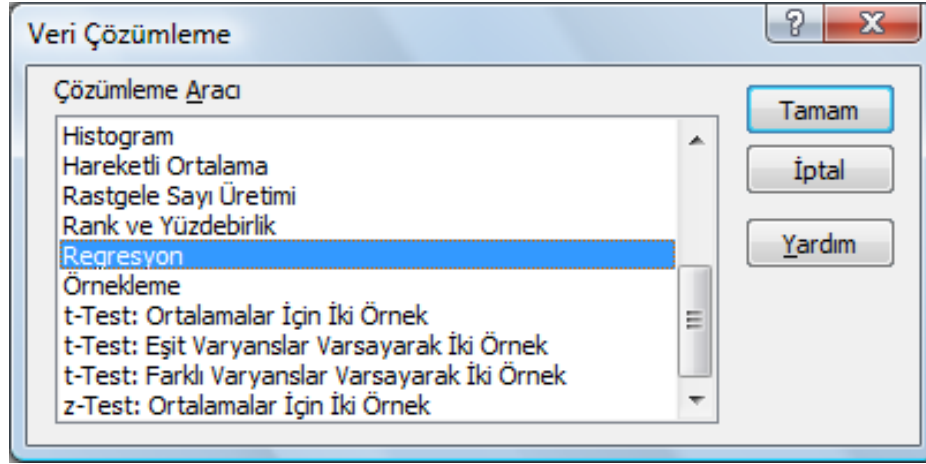
r_e = Eşdeğer yarıçap (mm)

V= Üzüm çekirdeğinin hacmi (mm³)

Çekirdekler silindire benzetilerek üzüm çekirdeğinin ortalama hacmi, $V_{\text{çekirdek}}=30,024 \text{ mm}^3$ olarak hesaplandığından, eşdeğer yarıçap, $r_e=1,93 \text{ mm}$ olarak bulunmuştur.

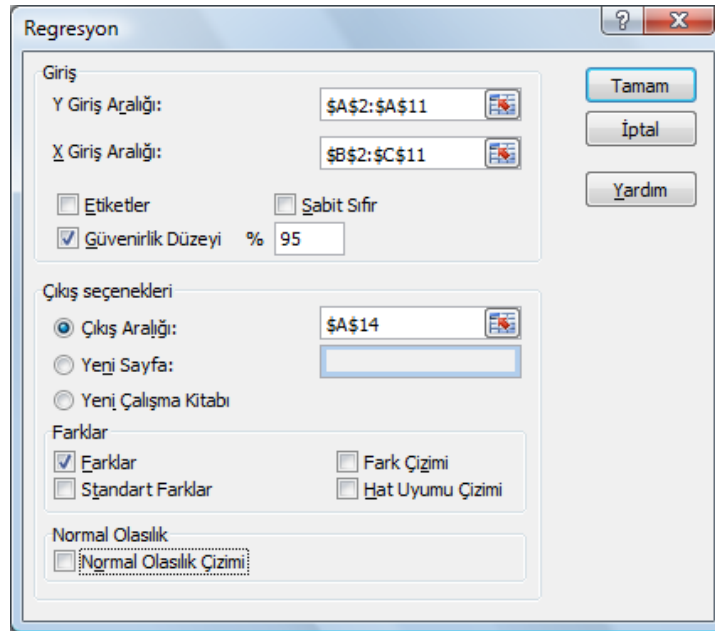
3.2.9.2. Regresyon analizi

Ekstraksiyon süresi ile ekstrakte edilen fenolik madde miktarı arasındaki ilişki kullanılarak (1) numaralı eşitlikten yayılım sabitinin (D) bulunması için regresyon analizi yapılmıştır. Regresyon analizi, Microsoft Excel 2007'de veri sekmesindeki veri çözümleme aracı (Şekil 3.5) ile yapılmıştır.



Şekil 3.5 Veri çözümleme aracı

Veri çözümleme aracındaki regresyon penceresinde (Şekil 3.6), “Y Giriş Aralığı” için bağımlı değişken olan toplam fenolik madde miktarları (ML) (Ek-E), “X Giriş Aralığı” için ise bağımsız değişken olan süre (t) (Ek-E) seçilmiştir. (1) numaralı eşitlikte süre iki yerde yayılım sabitine (D) bağlı halde bulunmaktadır. Bu nedenle X giriş aralığı seçilirken $X_1(t)$ ve $X_2(\sqrt{t})$ değerleri beraber seçilmiştir.



Şekil 3.6 Regresyon penceresi

Bağımlı ile bağımsız değişken arasındaki ilişkiyi gösteren regresyon analizi Ek-F’de verilmiştir. Regresyon analizi çıktısında, X değişkeni katsayısı

1 ve 2'ye ait değerlerin (1) numaralı difüzyon denkleminde yerine konmasıyla, o sıcaklıktaki yayılım sabiti (D) elde edilir. X değişkeni için veri girişi iki sütun halinde yapıldığından, regresyon analizi çıktısında X değişkenine ait iki katsayı bulunmaktadır. Bu katsayılardan X değişkeni katsayısı 1 (4) numaralı eşitlikte; X değişkeni katsayısı 2 ise (5) numaralı eşitlikte yerine konduğunda iki tane yayılım sabiti değeri elde edilmiştir. Bu yayılım sabitlerinden biri negatif diğeri pozitif olup, pozitif olan yayılım sabiti dikkate alınmıştır.

$$\text{X Değişkeni Katsayısı 1} = -\frac{3 \times D \times ML_{\infty}}{a^2} \quad (4)$$

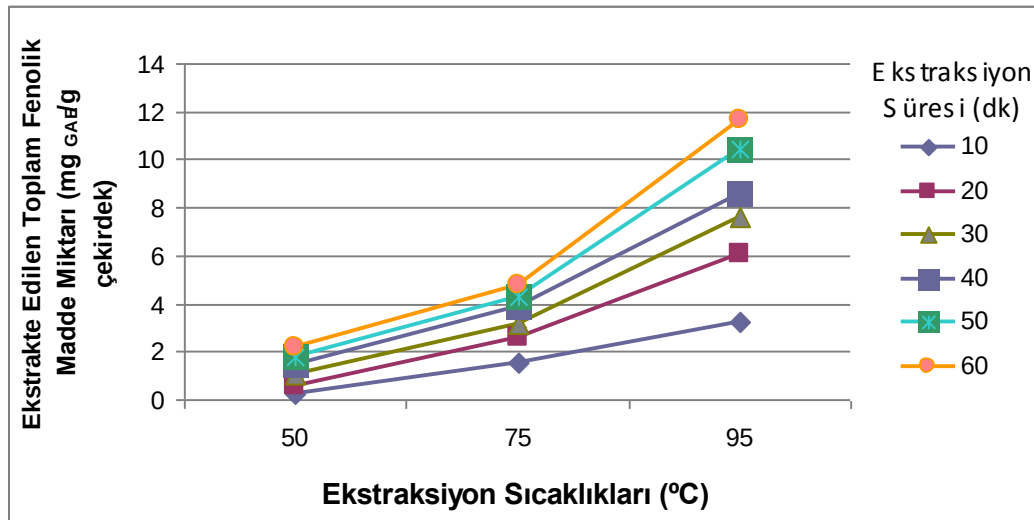
$$\text{X Değişkeni Katsayısı 2} = \frac{6 \times \sqrt{D} \times ML_{\infty}}{\sqrt{a^2 \pi}} \quad (5)$$

4. SONUÇLAR

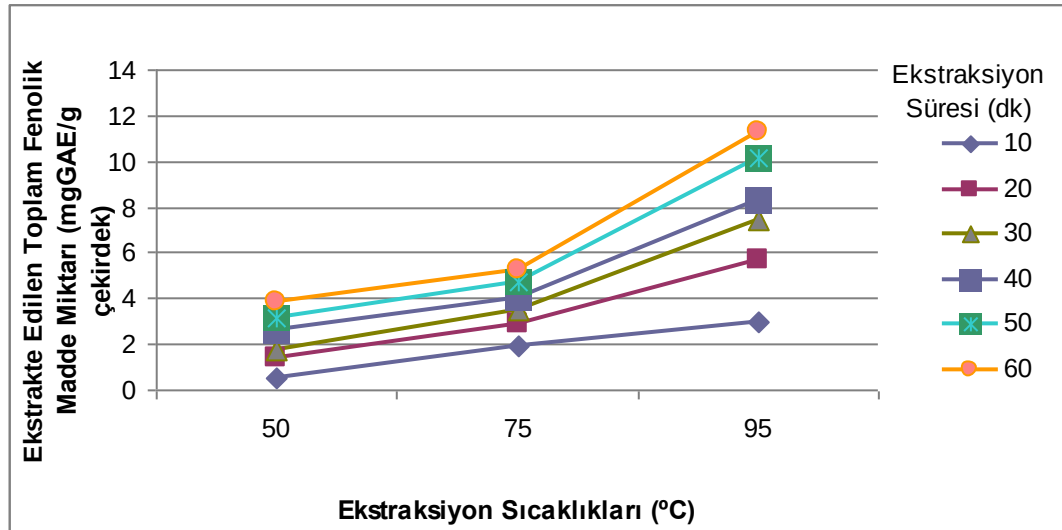
Üzüm çekirdeklerinde toplam fenolik maddenin belirlenmesinde ekstraksiyon koşullarının etkileri araştırılmıştır. Etkileri incelenen ekstraksiyon koşulları sıcaklık, süre, partikül boyutu (üzüm çekirdeklerinin bütün ve parçalanmış halde olması) ve katı-çözücü oranıdır. Ekstraksiyon esnasında üzüm çekirdeklerinden çözücüye transfer olan fenolik maddelerin yayılım sabiti her bir ekstraksiyon sıcaklığı için ayrı ayrı hesaplanmıştır.

4.1. Sıcaklığın Fenolik Madde Ekstraksiyonuna Etkisi

Ekstraksiyon 50, 75 ve 95°C sıcaklıklarda yapılmıştır. Ekstraksiyon sıcaklığı arttıkça hem bütün hem de parçalanmış üzüm çekirdeklerinde ekstrakte olan toplam fenolik madde miktarının doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. Örnek olarak, 0,1 g çekirdek/ml çözücü oranında bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik madde miktarına sıcaklığın etkisi Grafik 4.1 ve Grafik 4.2’de gösterilmiştir.



Grafik 4.1 Bütün üzüm çekirdeklerindeki toplam fenolik madde miktarına sıcaklığın etkisi



Grafik 4.2 Parçalanmış üzüm çekirdeklerindeki toplam fenolik madde miktarına sıcaklığın etkisi

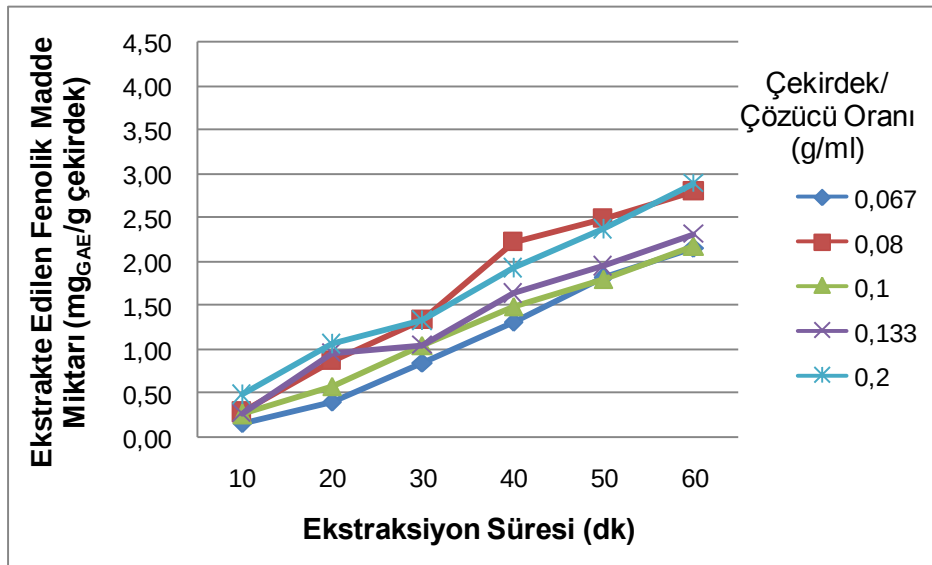
Bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarı 50°C sıcaklıkta yapılan ekstraksiyon işleminde parçalanmış üzüm çekirdeklerinde bütün üzüm çekirdeklerine göre yaklaşık 2 kat fazla olmuştur. 75 ve 95°C sıcaklıklarda ise üzüm çekirdeklerinin bütün veya parçalanmış olmasına bağlı olmaksızın ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarı birbirine oldukça yakın olmuştur. Her bir sıcaklıkta ekstraksiyon süresinin artmasıyla ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarı artmıştır. Sıcaklığın artmasıyla parçalanmış ve bütün üzüm çekirdeklerinin dokusu daha da yumuşamakta, fenolik bileşik-protein ve fenolik bileşik-polisakkarit etkileşimleri zayıflamaktadır. Böylece daha fazla fenolik madde çözücüye geçmektedir (Youssef ve El-Adawi, 2006).

Literatürdeki çalışmalarda da bulgular bu yöndedir. Bucic-Kojic ve ark. (2007) üzüm çekirdeklerinden toplam polifenollerin ekstraksiyon kinetiklerini inceledikleri çalışmalarında 25°C'den 80°C'ye kadar altı farklı sıcaklıkta ekstraksiyon yapmışlardır. Polifenollerin en fazla (30,243 mg_{GAE}/g) 80°C sıcaklıkta ekstrakte edildiğini bildirmişlerdir. Spingo ve ark. (2007) üzüm posasındaki fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu inceleyen çalışmalarında, 45°C ve 60°C sıcaklıklarda ekstraksiyon yapmışlardır. 60°C sıcaklıkta daha yüksek verim elde ettiklerini bildirmişlerdir. Aynı şekilde Pinelo ve ark. (2005)

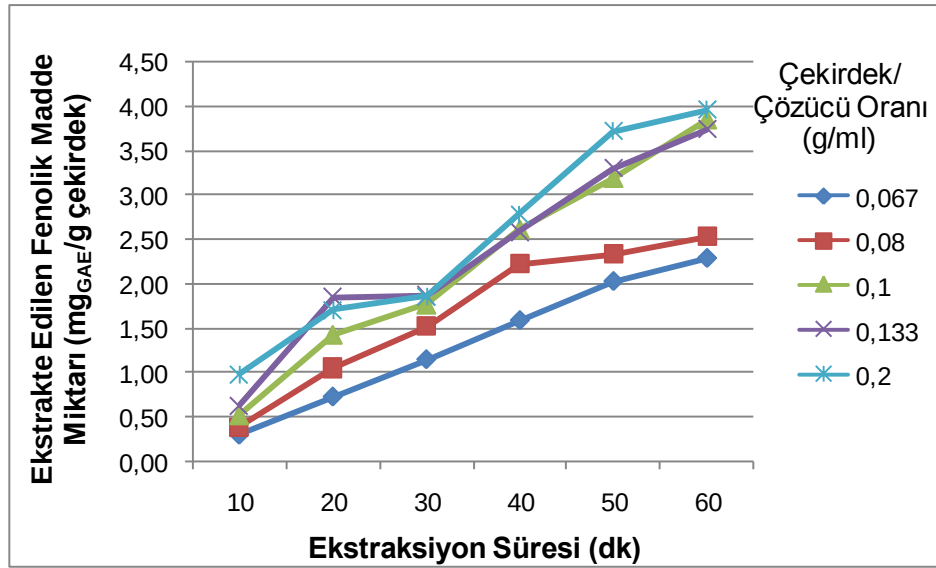
üzüm posasından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunu inceledikleri araştırmalarında diğer ekstraksiyon koşulları yanında sıcaklığın da etkisini incelemişlerdir. 25°C, 37,5°C ve 50°C sıcaklıklarda uygulanan ekstraksiyon işleminde sıcaklığın yükseltilmesi çözünen maddelerin çözünürlüğünü arttırdığından ekstraksiyonun miktarı da artmıştır.

4.2. Ekstraksiyon Süresinin Fenolik Madde Ekstraksiyonuna Etkisi

50, 75 ve 95°C sıcaklıklarda yapılan ekstraksiyon işlemlerinde ekstraksiyon süresiyle ekstrakte olan fenolik madde miktarının doğru orantılı olarak arttığı görülmüştür. Örnek olarak, 50°C sıcaklıkta bekletilen bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik madde miktarına sürenin etkisi Grafik 4.3 ve Grafik 4.4'de gösterilmiştir.



Grafik 4.3 50°C sıcaklıkta bütün üzüm çekirdekleriyle yapılan ekstraksiyonda süre ile ekstrakte olan fenolik maddelerin değişimi



Grafik 4.4 50°C sıcaklıkta parçalanmış üzüm çekirdekleriyle yapılan ekstraksiyonda süre ile ekstrakte olan fenolik maddelerin değişimi

Lafka ve ark. (2007) şarap artıklarından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ve antioksidan aktivitelerini konu alan çalışmalarında ekstraksiyon süresinin arttırılmasıyla ekstrakte edilen fenolik madde miktarının arttığını bildirmişlerdir.

Lapornik ve ark. (2005) siyah ve kırmızı kuş üzümünün (frenk üzümü) posalarından farklı çözücü ve ekstraksiyon süreleri kullanarak hazırladıkları ekstraktlarda, fenolik madde ekstraksiyonunun zamanla arttığını göstermişlerdir.

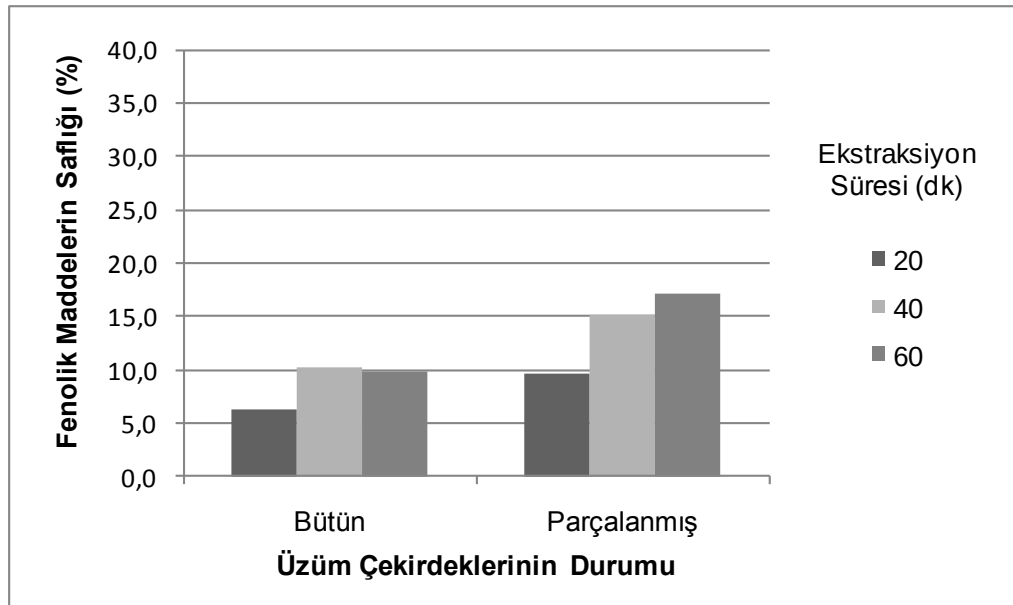
14 farklı üzüm ekstraktının antioksidan aktivitelerini analiz ettikleri çalışmalarında Yi ve ark. (1997), ekstraksiyon süresinin arttırılmasının ekstrakte edilen madde miktarını artırdığını rapor etmişlerdir.

Literatürde yapılmış çalışmalar da deney sonuçlarıyla paralellik göstermekte, ekstraksiyon süresinin artışının ekstraksiyona olumlu katkısını desteklemektedir.

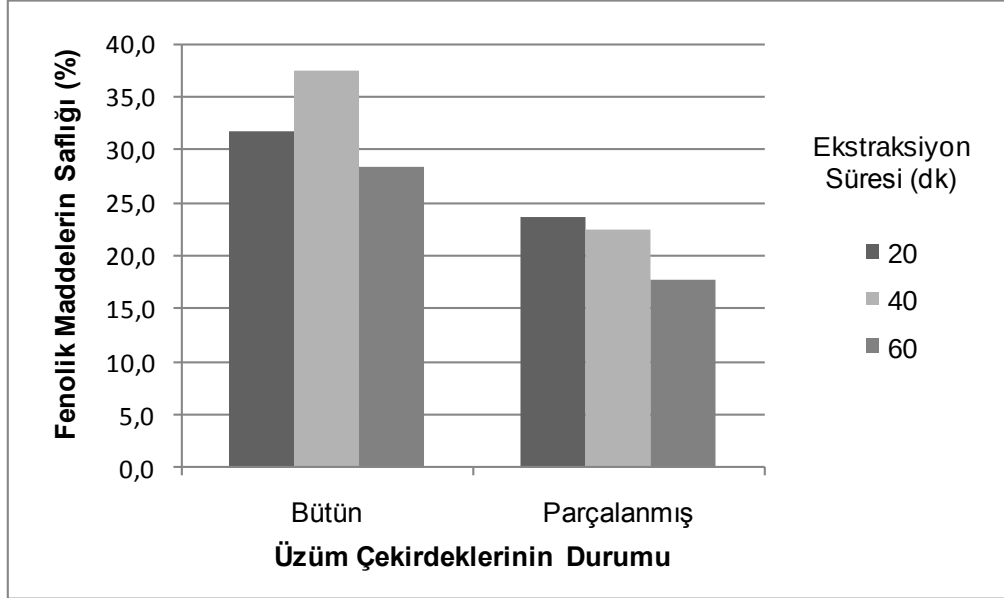
4.3. Bütün ve Parçalanmış Üzüm Çekirdeklerinden Çıkarılan Fenolik Maddelerin Saflığı

Bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinin 50, 75 ve 95°C sıcaklıklarda 20, 40 ve 60 dakikalık ekstraksiyonun ardından elde edilen fenolik maddelerin % saflıkları Grafik 4.5-Grafik 4.7’de gösterilmiştir.

50°C sıcaklıktaki saflık değeri 75°C ve 95°C sıcaklıklardaki saflık değerlerine göre düşüktür. Bu sıcaklık, diğer sıcaklıklara göre daha düşük olduğu için üzüm çekirdeği dokusunun yumuşaması daha geç olur. Fenolik maddelerin etkileşim halinde olduğu protein ve polisakkarit gibi bileşiklerden ayrılması bu sıcaklıktaki ekstraksiyon sürelerinde olmamıştır. Parçalanmış haldeki üzüm çekirdeklerinin, bütün haldeki üzüm çekirdeklerine göre daha saf olması, parçalanmış üzüm çekirdeklerinden aynı koşullarda daha fazla fenolik madde ekstrakte edilmesinden kaynaklanmaktadır.

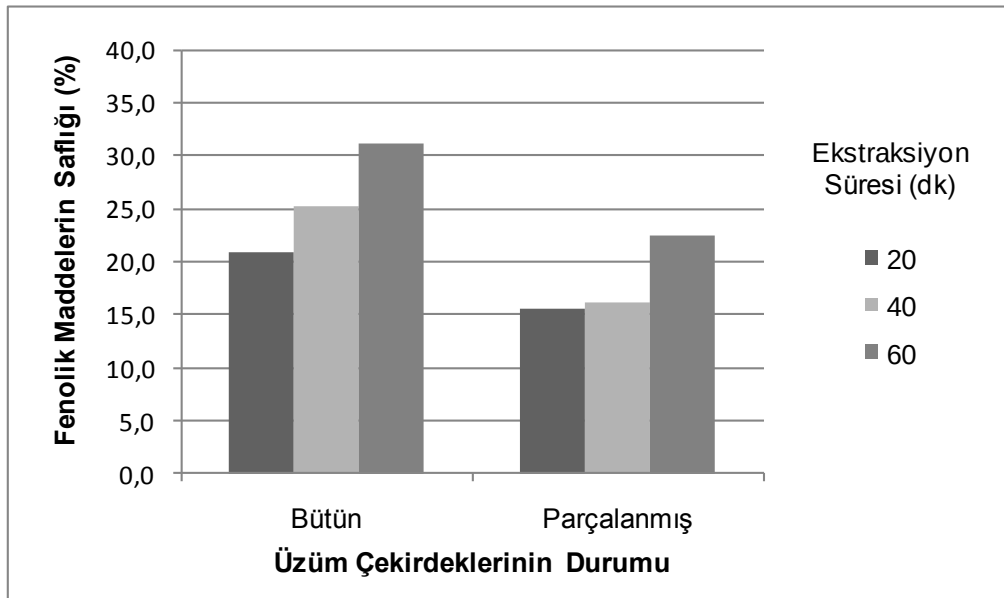


Grafik 4.5 50°C sıcaklıkta bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik maddelerin saflığı



Grafik 4.6 75°C sıcaklıkta bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik maddelerin saflığı

75°C sıcaklıktaki saflık değeri 50°C ve 95°C sıcaklıktaki saflık değerlerinden fazladır. Bunun nedeni 50°C'nin ekstraksiyon için düşük bir sıcaklık, 95°C'nin ise istenmeyen bileşiklerin de dahil olmak üzere çok fazla bileşiğin çözücüye geçtiği bir sıcaklık olmasıdır.



Grafik 4.7 95°C sıcaklıkta bütün ve parçalanmış üzüm çekirdeklerinden elde edilen fenolik maddelerin saflığı

95°C sıcaklıktaki saflık değeri, 50°C sıcaklıktaki saflık değerinden yüksek ancak 75°C sıcaklıktaki saflık değerinden düşüktür. Bunun nedeni, 75°C'den sonra üzüm çekirdeğinden daha fazla protein ve polisakkarit ekstrakte olmasıdır. 75°C ve 95°C sıcaklıktaki parçalanmış üzüm çekirdeklerinin saflığının bütün haldeki üzüm çekirdeklerinin saflığına göre düşük olmasının nedeni, partikül boyutunun küçülmesiyle istenmeyen bileşiklerin de çözücüye geçmesi ve fenolik maddelerin çözücü kurumaddesindeki oranının azalmasındandır.

Spingo ve ark. (2007) partikül boyutunun azaltılmasının kütle transferi için uygun yüzey alanının artırılmasını sağlayıp, ekstraksiyon verimini arttırdığı, fakat istenmeyen bileşiklerin ekstraksiyonunun önemli ölçüde artmasına neden olduğunu belirtmişlerdir. Youssef ve El-Adawi (2006) yüksek sıcaklıkta üzüm çekirdeklerinden daha fazla protein ve polisakkaritin ekstrakte olduğunu bildirmiştir.

Literatürdeki çalışmalar deney sonuçlarını desteklemektedir. Ekstraksiyon sıcaklığı arttıkça ve partikül boyutu küçüldükçe ekstraktın saflığı azalmaktadır. Ekstrakte edilen fenolik maddelerin saflığının bütün haldeki üzümlerde daha fazla olması dolayısıyla daha sonraki deneylerde bütün haldeki üzüm çekirdekleri kullanılmıştır. Bir başka deyişle, ekstraksiyona; sürenin, çekirdek/çözücü oranının ve sıcaklığın etkisi araştırılırken saflığı daha yüksek olan bütün haldeki üzüm çekirdekleri kullanılmıştır. Üzüm çekirdeğinden çıkarılan fenolik maddelerin yayılım sabitleri de bütün haldeki çekirdekler göz önüne alınarak hesaplanmıştır.

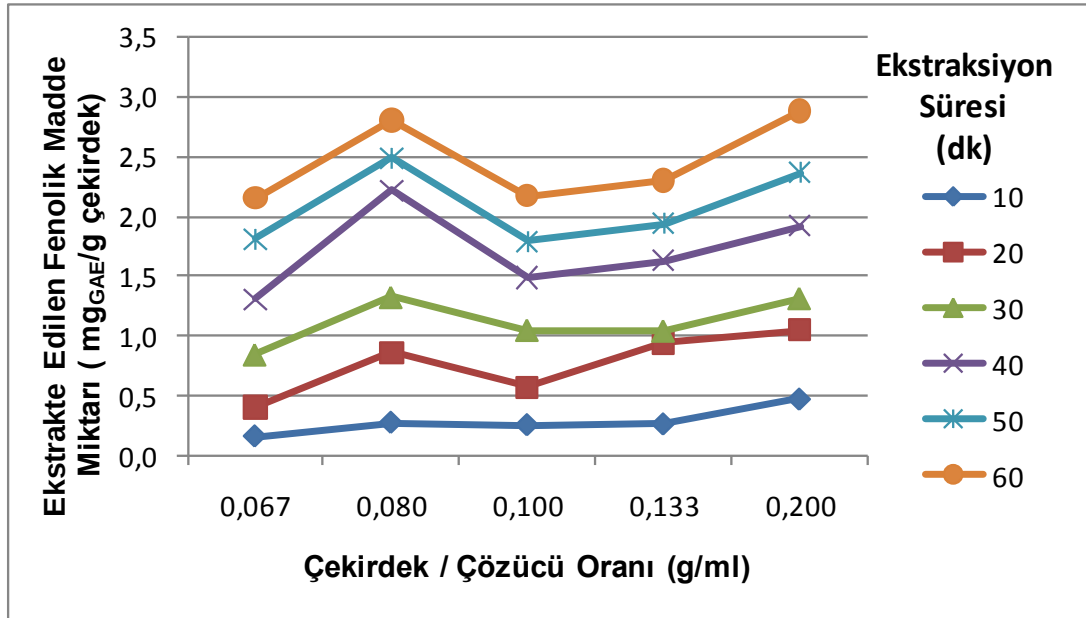
4.4. Bütün Üzüm Çekirdeği/Çözücü Oranının Fenolik Madde Ekstraksiyonuna Etkisi

50, 75 ve 95°C sıcaklıklarda 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dakika süre ile ekstraksiyon işlemi uygulanan bütün haldeki üzüm çekirdeklerinde 0,067-0,2 katı/çözücü oranları arasında beklenen ekstraksiyon artışı görülmemiştir (Grafik 4.8-Grafik 4.10). Bunun nedeni üzüm çekirdeği miktarına göre çözücü

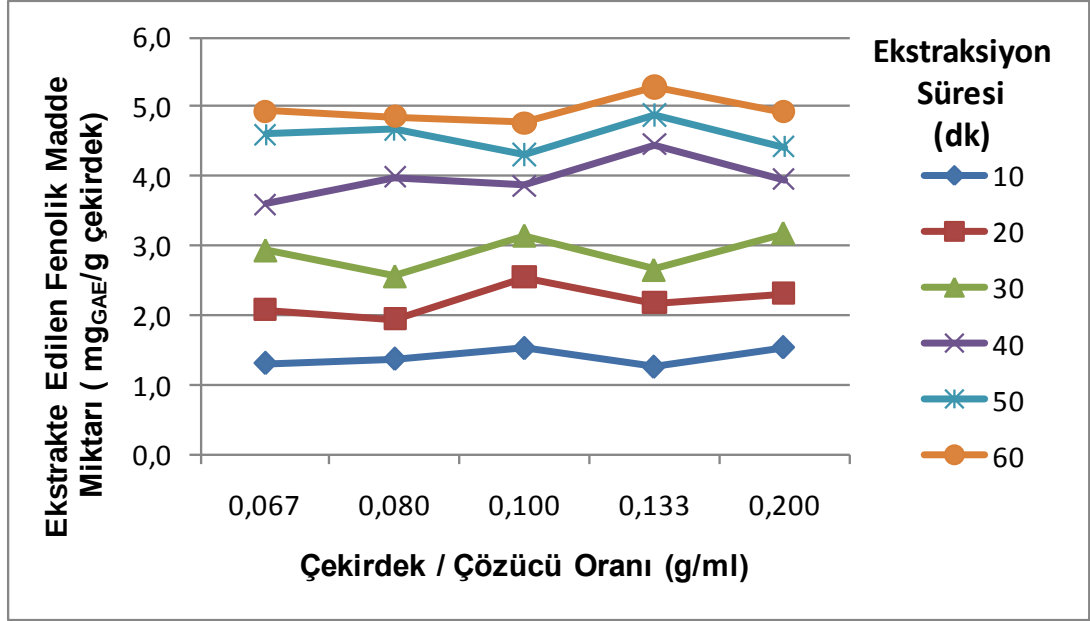
miktarının çok fazla olmasıdır. Bu nedenle çözücü hacminin değişmesi konsantrasyonu etkilememiştir

Pinelo ve ark. (2005) üzüm posasından farklı bileşiklerin ekstraksiyonunu inceledikleri çalışmada 1:1 ve 1:5 katı/çözücü oranları kullanmışlar ve 1:5 katı/çözücü oranında ekstrakte edilen maddenin daha fazla olduğunu görmüşlerdir.

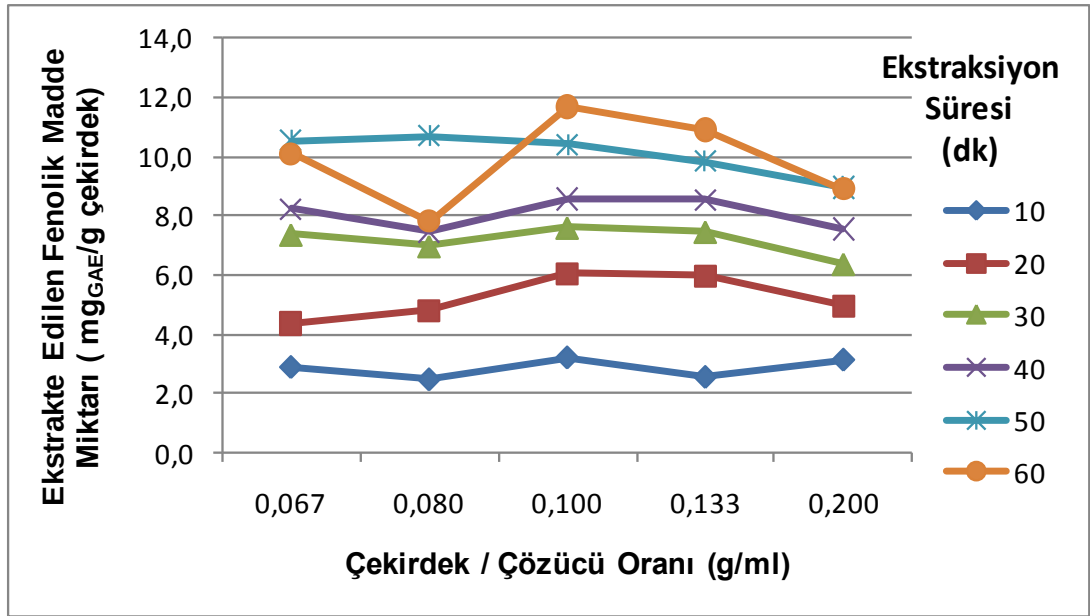
Cacace ve Mazza (2003), Rostagno ve ark (2004) ve Hasbay Adil (2006) tarafından yapılan çalışmalarda düşük katı/çözücü oranlarında daha fazla fenolik madde ekstrakte edildiği bildirilmiştir.



Grafik 4.8 50°C sıcaklıkta farklı çekirdek/çözücü oranlarının fenolik madde ekstraksiyonuna etkisi



Grafik 4.9 75°C sıcaklıkta farklı çekirdek/çözücü oranlarının fenolik madde ekstraksiyonuna etkisi



Grafik 4.10 95°C sıcaklıkta farklı çekirdek/çözücü oranlarının fenolik madde ekstraksiyonuna etkisi

4.5. Üzüm Çekirdeğinden Çıkarılan Fenolik Maddelerin Yayılım Sabitleri

Bütün üzüm çekirdeklerinden 50, 75 ve 95°C sıcaklıklarda ekstrakte edilen fenolik madde miktarları ile ekstraksiyon süreleri arasında yapılan regresyon analizi sonucunda elde edilen yayılım sabitleri Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Farklı ekstraksiyon sıcaklıkları için hesaplanmış yayılım sabitleri

Ekstraksiyon Sıcaklığı	Yayılım Sabiti $D \cdot 10^{-11}$ (m^2/s)	Regresyon Katsayısı R^2
50°C	0,174	0,9989
75°C	0,390	0,9983
95°C	1,922	0,9931

Farklı sıcaklıklarda yapılan ekstraksiyon işlemi sonucunda bulunan yayılım sabitleri $0,174 \times 10^{-11} m^2/s$ ile $1,922 \times 10^{-11} m^2/s$ aralığındadır. Literatürde yapılmış çalışmalardan Sineiro ve ark. (1996) tane kalınlığı 0,6 mm olan preslenmiş ayçiçeği küspesinde yaptıkları çalışmada fenolik bileşikler için yayılım sabitini $0,0221 \times 10^{-11} m^2/s$ ile $0,06126 \times 10^{-11} m^2/s$ aralığında bulmuşlardır. Cacace ve Mazza (2003) tarafından yapılmış bir çalışmada 1,6 mm çapında ezilmiş frenküzümlerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda yayılım sabiti $1,86452 \times 10^{-11} m^2/s$ ile $2,07921 \times 10^{-11} m^2/s$ aralığında değişmiştir. Pinelo ve ark. (2006) üzüm yan ürünlerinden yaptıkları ekstraksiyon işleminde fenolik bileşiklerin yayılım sabitini $0,01326 \times 10^{-11} m^2/s$ ile $0,10549 \times 10^{-11} m^2/s$ arasında bulmuşlardır.

5. KAYNAKLAR

1. Agarwal, C., Singh, R.P., Dhanalakshmi, S., Agarwal, R., 2004. Antiangiogenic efficacy of grape seed extract in endothelial cells. *Oncology Reports*, 11, 681-685.
2. Aherne, S., A., O'Brien, N., M., 2002. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. *Nutrition* 18(1), 75-81.
3. Aras, Ö., 2006, Üzüm ve üzüm ürünlerinin toplam karbonhidrat, protein, mineral madde ve fenolik bileşik içeriklerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
4. Arozarena, I., Ayestar'an, B., Cantalejo, M.A., Navarro, M., Vera, M., Abril, I., Casp, A., 2002. Anthocyanin composition of Tempranillo, Garnacha and Cabernet Sauvignon grapes from high- and low-quality vineyards over two years. *European Food Research and Technology*. 214, 303-309.
5. Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry* 99(1), 191-203.
6. Bayazit, Ş. S., 2008. Fermantasyonla üretilen organik asitlerin ayırma yöntemlerinin karşılaştırılmalı değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
7. Baydar, N. G., 2006, Organic acid, tocopherol, and phenolic compositions of some turkish grape cultivars chemistry of natural compounds. *Chemistry of Natural Compounds* 42(2), 156-159.

8. Bell, J.R.C., Donovan, J.L., Wong, R., Waterhouse, A.L., German, J.B., Walzem, J.R., 2000. (+)- Catechin in human plasma after ingestion of a single serving of reconstituted red wine. *American Journal of Clinical Nutrition* 71, 103-108.
9. Berardini, N., Knödler, M., Schieber, A., Carle, R., 2005. Utilization of mango peels as a source of pectin and polyphenolics. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 6, 442-452.
10. Björklund, E. von Holst, C., Anklaam, E., 2002. Fast extraction, clean-up and detection methods for the rapid analysis and screening of seven indicator PCBs in food matrices. *Trends in analytical chemistry* 21(1), 39-52.
11. Bonilla, F., Mayen, M., Merida, J., Medina, M., 1999. Extraction of phenolic compounds from red grape marc for use as food lipid antioxidants. *Food Chemistry* 66, 209-215.
12. Bravo, L., 1998. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews* 56, 317-333.
13. Bucic'-Kojic', A., Planinic', M., Tomas, S., Jakobek, L., Seruga, M., 2008. Influence of solvent and temperature on extraction of phenolic compounds from grape seed, antioxidant activity and colour of extract. *International Journal of Food Science and Technology* 44, 2394-2401.
14. Burns, J., Gardner, P T, Matthews, D., Duthie, G G., Lean, M. E. J., Crozier, A., 2001. Extraction of phenolics and changes in antioxidant activity of red wines during vinification. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry* 49(12), 5797-5808.

15. Cacace, J. E., Mazza, G., 2003. Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering* 59, 379–389.
16. Cevallos-Casals, B.A., Byrne, D., Okie, W.R., Cisneros-Zevallos, L. 2006. Selecting new peach and plum genotypes rich in phenolic compounds and enhanced functional properties. *Food Chemistry* 96(2), 273-280.
17. Cui, J., Juhasz, B., Tosaki, A., 2002. Cardioprotection with grapes. *Journal of Cardiovascular Pharmacology* 40, 762-769.
18. Dávalos, A., Bartolomé, B., Cordovés, C.G., 2004. Antioxidant properties of commercial grape juices and vinegars. *Extending Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 48-54.
19. Dixon, R. A., Paiva N. L., 1995. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *The Plant Cell* 7, 1085-1097.
20. Ekinci, A. P., 2008. Erzincan üzümünün (*Vitis vinifera* ssp. , cimin) farklı dokularına ait ekstraktların antioksidan özelliklerinin in vitro incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
21. Escribano-Bailon, M. T., Williamson, G., 2003. Methods in polyphenols. Royal Society of Chemistry. Great Britain.
22. Eskilsson, C.S., Björklund, E., 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A* 902, 227-250.

23. Frankel, E.N., Kanner, J., German, J.B., Parks, E., Kinsella, J.E., 1993. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substances in red wine. *Lancet* 341, 454- 457.
24. Fuleki, T., Ricardo-da-Silva, J.M., 1997. Catechin and procyanidin composition of seeds of grape cultivars grown in Ontario. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 45, 1156-1160.
25. Ganzler, K., Salgó, A., Valkó, K., 1986. Microwave extraction-a novel sample preparation method for chromatography. *Journal of Chromatography* 371, 299-306.
26. Gomez-Plaza, E., Miñano, A., Lopez-Roca, J. M., 2006. Comparison of chromatic properties, stability and antioxidant capacity of anthocyanin-based aqueous extracts from grape pomace obtained from different vinification methods. *Food Chemistry* 97, 87-94.
27. Harmankaya, N., 2003. Tane tutum şekilleri farklı üzüm çeşitlerinde olgunlaşma süresince tanelerdeki hormonlar ile fenolik madde değişimlerinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
28. Hasbay Adil, İ., 2006. Fenolik maddelerin meyve posalarından basınçlı sıvı ekstraksiyonu, Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
29. Hertog, M.G.L., Hollman, P.C.H., Putte, B., 1993. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41, 1242-1246.
30. İnci, İ., Hasdemir, M., Bilgin, M., Aydın, A., 2000. Laktik asitin alamin-336 ile çeşitli seyreltici çözücüler kullanılarak ekstraksiyonunun

incelenmesi, Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences 24, 45-51.

31. Kahkonen, M. P., Hopia, A., I., Heinonen, M., 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. Journal Of Agricultural and Food Chemistry 49, 4076-4082.

32. Kanellis, A., K., Roubelakis-Angelakis, K., A., 1993. Grape. Editörler: Seymour, G., B., Taylor, J., E., Tucker, G., A.,. Biochemistry of fruit ripening. Chapman & Hall, London. 189-220.

33. Karadeniz, F.,Burdurlu, H. S., Koca, N., Soyer, Y., 2005. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey, Turkish Journal of Agriculture and Forestry 29, 297-303.

34. Katalinic, V., Milos, M., Modun, D., Music, I., Boban, M., 2004. Antioxidant effectiveness of selected wines in comparison with (+)-catechin. Journal of Food Chemistry 86, 593-600.

35. Keevil, J.G., Hashim, E.,O., Reed, J.D., Folts, J.D., 2000. Grape juice, but not orange juice or grapefruit juice, inhibits human platelet aggregation. Journal of Nutrition 130, 53-56.

36. King, A., Young, G., 1999. Charecteristics and occurence of phenolic phytochemicals. Journal of the American Dietetic Association 99, 213-218.

37. Leontowicz, H., Gorinstein, S., Lojek, A., Leantowicz, M., Cíc, M., Soliva-Fortuny, R., Park, Y.S., Jung, S.T., Trakhtenberg, S., Martin-Belloso, O., 2002. Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity in rats. Journal of Nutritional Biochemistry 13, 603-610.

38. Lopez, N., Pue'rtolas, E., Condo'n, S., A'lvarez, I., Raso, J., 2008. Application of pulsed electric fields for improving the maceration process during vinification of red wine: influence of grape variety. *European Food Research and Technology* 227, 1099-1107.
39. Macheix, J., J., Fleuriet, A., Billot, J., 1990. *Fruit Phenolics*. CRC Press, United States.
40. Maier, T., Schieber, A., Kammerer, D. R., Carle, R., 2009. Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry* 112, 551-559.
41. Malaveille, C., Hautefeuille, A., Pignatelli, B., Talaksa, G., Vineis, P., Bartsch, S., 1998. Antimutagenic dietary phenolics as antigenotoxic substances in urothelium of smokers. *Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 402(1-2), 219-224.
42. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., Jimenez, L., 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition* 79, 727-747.
43. Matito, C., Mastorakou, F., Centelles, J. J., Torres, J. L., Cascante, M., 2003. Antiproliferative effect of antioxidant polyphenols from grape in murine Hepa-c1c7. *European journal of nutrition* 42(1), 43-9.
44. Mattoo, T.K., Kovacevic, L., 2003. Effect of grape seed extract on puromycinaminonucleoside-induced nephrosis in rats. *Pediatric Nephrology* 18 (9), 872-877.
45. Mayer, R., Stecher, G., Wuerzner, R., Silva, R. C., Sultana, T., Trojer, L., Feuerstein, I., Krieg, C., Abel, G., Popp, M., Bobleter, O.,

Bonn G. K., 2008. Proanthocyanidins: Target Compounds as Antibacterial Agents. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry* 56, 6959–6966.

46. Naczek, M., Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food, *Journal of Chromatography A* 1054, 95-111.

47. Negro, C., Tommasi, L., Miceli, A., 2003. Phenolic compounds and antioxidant activity from red grape marc extracts. *Bioresource Technology* 87, 41-44.

48. Ochoa-Martinez, C.I., Ramaswamy, H.S., Ayala-Aponte, A.A., 2009. Suitability Of Crank's Solutions To Fick's Second Law For Water Diffusivity Calculation And Moisture Loss Prediction In Osmotic Dehydration Of Fruits. *Journal of Food Process Engineering* 32, 933-943.

49. Özcan, A., Özcan A. S., 2004. Comparison of supercritical fluid and soxhlet extractions for the quantification of hydrocarbons from *Euphorbia macroclada*. *Talanta* 64, 491-495.

50. Park, H. J., Cha, H. C., 2003. Flavonoids from leaves and exocarps of the grape kyoho. *Korean Journal of Biological Science* 7, 327–330.

51. Pykett, M.A., Craig, A.H., Galley, E., Smith, C., 2001. Skin care composition against free radicals. *International Patent Applications*. WO 2001017495 A1, 59 pp.

52. Renaud, S. de Lorgeril, M., 1992. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 339, 1523-1526.

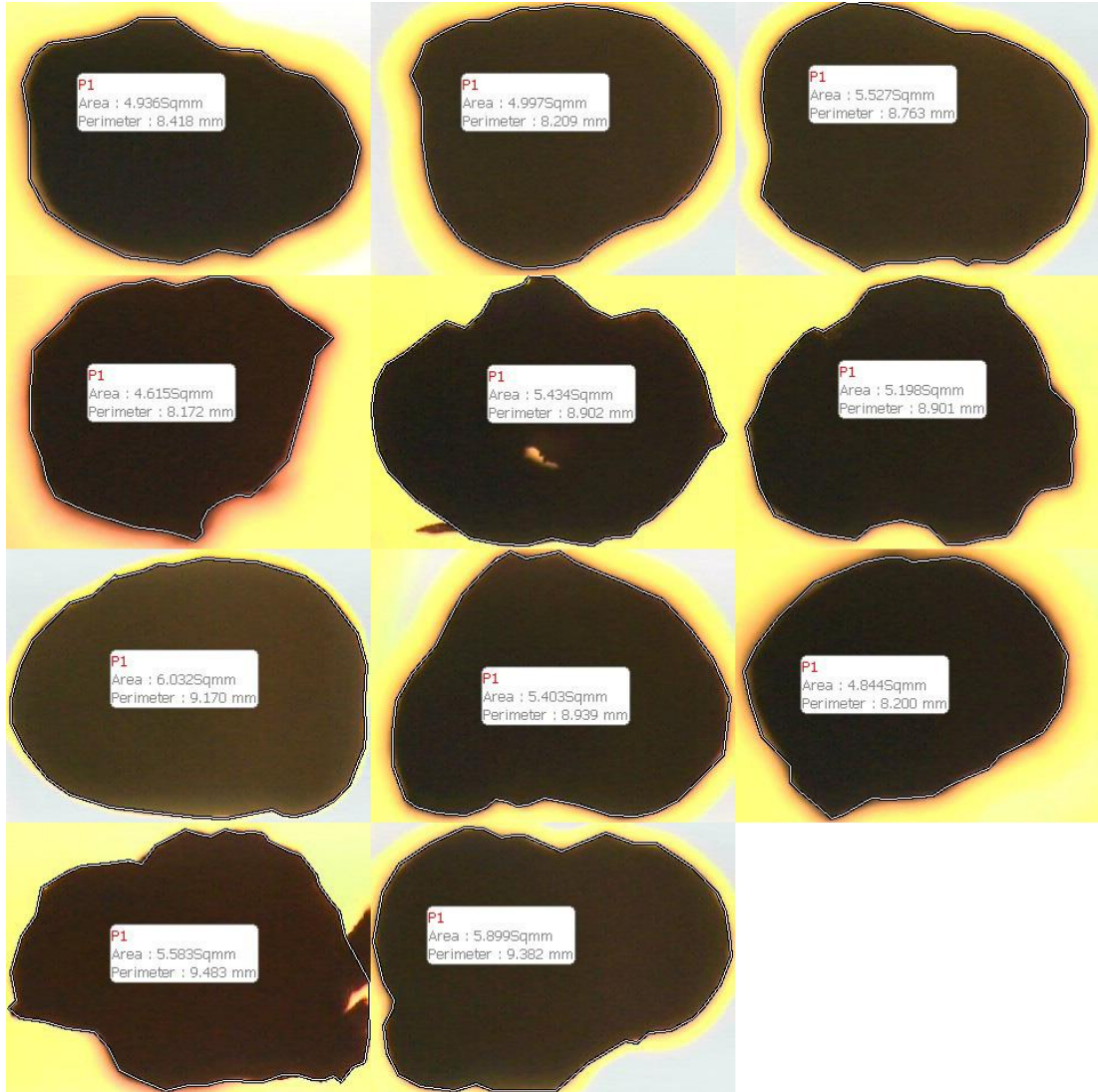
53. Robards, K., 2003. Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables. *Journal of Chromatography A* 1000, 657-691.
54. Rødtjer, A., Skibsted L.H., Andersen M.L., 2006. Antioxidative and prooxidative effects of extracts made from cherry liqueur pomace. *Food Chemistry* 99, 6-14.
55. Saldamlı, İ., 1998. *Gıda Kimyası*. Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara.
56. Sanchez, C.M., 2006. Polyphenolic fractions from wine by-products as potential antitumoral and/or protective agents against UV damage. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona, Instituto de Investigaciones Químicas y Ambientales de Barcelona-CSIC.
57. Schwarz, K., Bertelsen, G., Nissen, L.R., Gardner, P.T., Heinonen, M.I., Huynh-Ba, A.H.T., Lambelet, P., Mc Phail, D., Skibsted, I.H., Tijburg, L., 2001. Investigation of plant extracts for the protection of processed foods against lipid oxidation. Comparison of antioxidant assays based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *European Food Research and Technology* 212, 319-328.
58. Serafini, M., Laranjinha, J.A.N., Almeida, L.M., Mainai, G., 2000. Inhibition of human Idl lipid peroxidation by phenol-rich beverages and their impact on plasma total antioxidant capacity in humans. *Journal of Nutritional Biochemistry* 11, 585-590.
59. Sihvonen, M., Järvenpää, E., Hietaniemi, V., Huopalahti, R., 1999. Advances in supercritical carbon dioxide technologies. *Trends in Food Science and Technology* 10, 217-222.

60. Singleton, V. L., Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16, 144-158.
61. Slinkard, K., Singleton, V. L., 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manuel methods. *American Journal of Enology and Viticulture* 28, 49-55.
62. Spingo, G., Tramelli, L., De Faveri, D. M., 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering* 81, 200-208.
63. Stanley, L. L., Mazier, M. J., 1999. Potential explanations for the french paradox. *Nutrition Research* 19, 13-15.
64. Stewart, A. J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G. I., Lean, M. E. J. ve Crozier, A., 2000. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48, 2663-2669.
65. Şenol, A., 2003. Batarya tipi katı-sıvı ekstraksiyon sisteminde sıcak su ile çay artıklarından kafein ekstraksiyonu: proses optimizasyonu ve modellenmesi. *DEU Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi* 5(3), 1-10.
66. Tomera, J. F., 1999. Current knowledge of the health benefits and disadvantages of wine consumption. *Trends in Food Science and Technology* 10, 129-138.
67. Toor, R.K., Savage, G.P., 2005. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International* 38, 487-494.

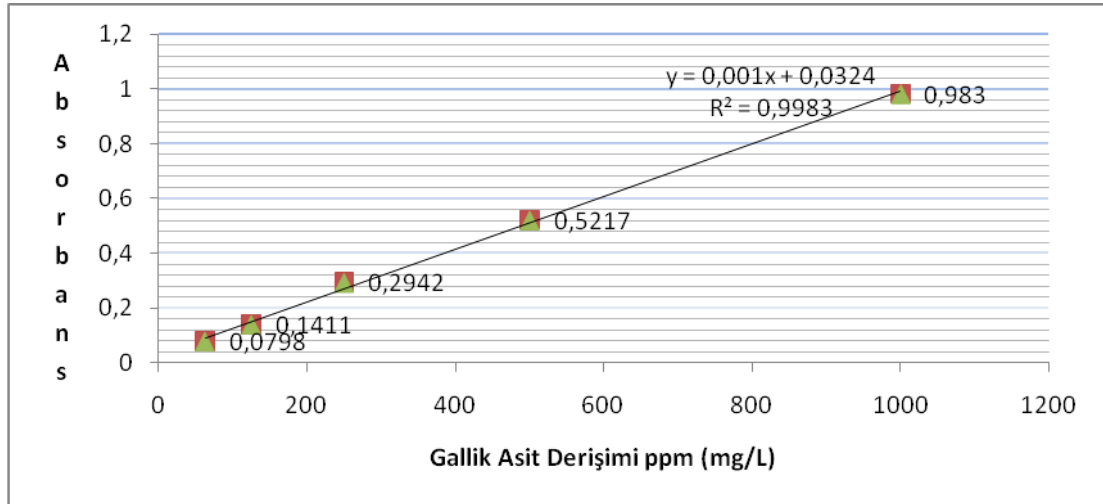
68. Torres, J.L., Varela, B., Garcia, M.T., Carilla, J., Matito, C., Centelles, J.J., Cascante, M., Sort, X., Bobet, R.L., 2002. Valorization of grape (*Vitis vinifera*) byproducts, antioxidant and biological properties of polyphenolic fractions differing in procyanidin composition and flavonol content. *Journal Of Agricultural and Food Chemistry* 50, 7548-7555.
69. Tsao, R., Deng, Z., 2004. Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B* 812, 85-99.
70. Tzia, C., Liadakis, G., 2003. *Extraction Optimization in Food Engineering*. United States Of America.
71. Uslu, H., 2005. Bazı hidroksi karboksilik asitlerin sulu çözeltilerinden ayrılmasının incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
72. Waterhouse, A. L., 2002. Determination of total phenolics, *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* I1.1.1-I1.1.8.
73. Welte-Chanes, J., Vergara-Balderas, F., Bermudez-Aguirre, D., 2005. Transport phenomena in food engineering: basic concepts and advances. *Journal of Food Engineering* 67(1-2), 113-128.
74. Youssef, D., El-Adawi, H., 2006. Study on grape seeds extraction and optimization: an approach. *Journal of Applied Sciences* 6(14), 2944-2947.
75. Yvonne Dansby, M., 2006. Evaluation of the antioxidant and biological properties of muscadine grape seed extracts. North Carolina State University, Raleigh.

6. EKLER

EK-A Üzüm Çekirdeklerinin Kesit Alanları



EK-B Toplam Fenolik Madde Tayininde Standart Olarak Kullanılan Gallik Asidin Kalibrasyon Eğrisi

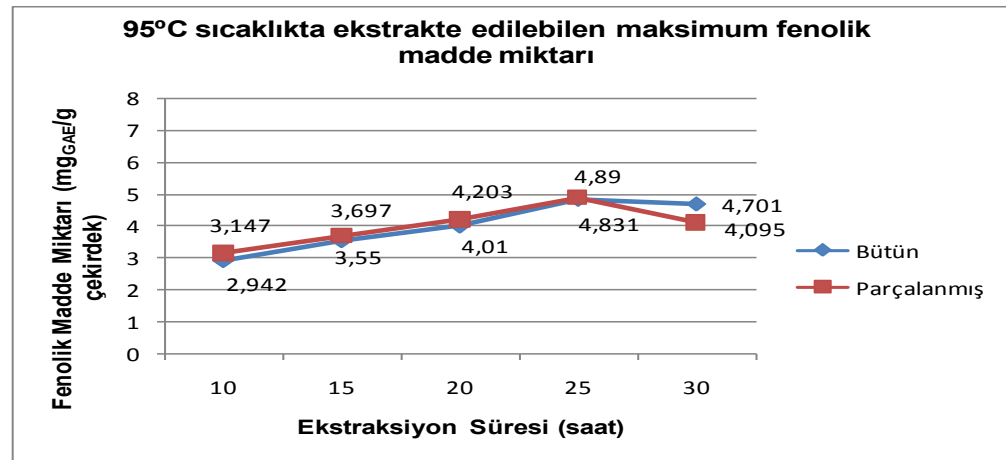
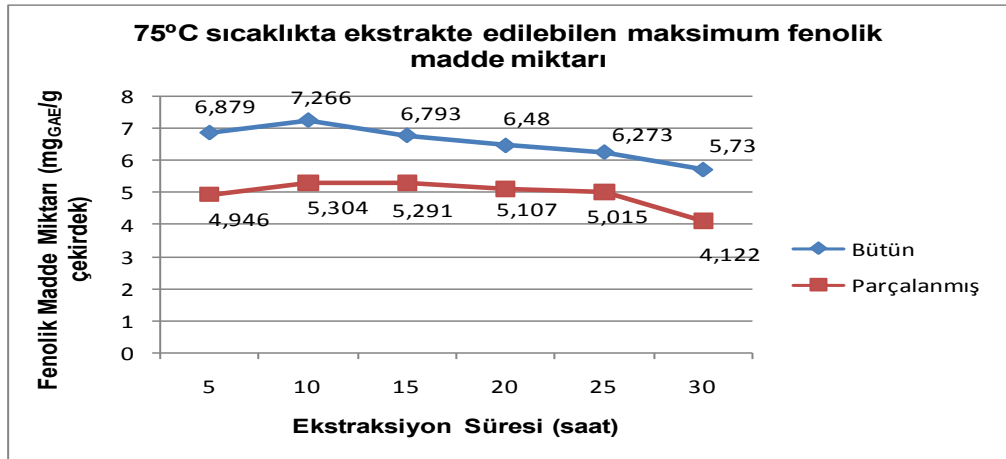
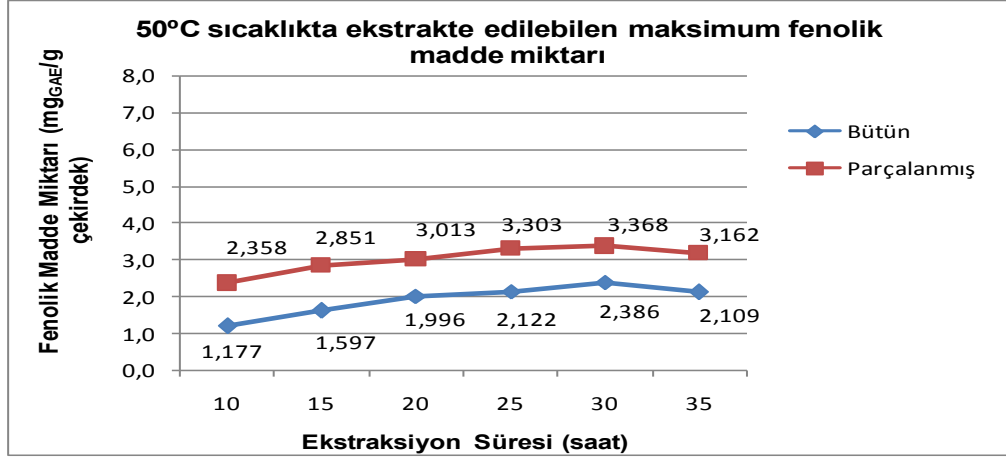


EK-C Saflık Hesaplamasında Kullanılan Veriler

Üzüm çekirdeklerinden belirtilen ekstraksiyon koşullarında elde edilen fenolik miktarları (g)				
Çekirdeğin Durumu	Süre (dk)	Sıcaklık(°C)		
		50	75	95
Bütün	20	0,057	0,174	0,620
	40	0,149	0,298	0,863
	60	0,217	0,511	1,180
Parçalanmış	20	0,098	0,489	1,127
	40	0,190	0,596	1,310
	60	0,285	0,637	2,002

Üzüm çekirdeklerinden belirtilen ekstraksiyon koşullarında elde edilen ekstraktlarının kurumadde miktarları (g)				
Çekirdeğin Durumu	Süre (dk)	Sıcaklık(°C)		
		50	75	95
Bütün	20	0,914	0,514	2,886
	40	1,457	0,800	3,400
	60	2,229	1,800	3,743
Parçalanmış	20	1,029	2,114	7,143
	40	1,257	2,629	8,143
	60	1,686	3,657	8,943

EK-D 50, 75 ve 95°C Sıcaklıklarda Maksimum Fenolik Madde Miktarları



EK-E Regresyon Penceresinde Y ve X Giriş Aralığı İçin Seçilen Veriler

	ML Bir çekirdekteki fenolik madde miktarı (mg/L)	t (saat)	$\sqrt{t}$
	Y	X1	X2
50°C	29,430	10	3,162
	39,925	15	3,873
	49,910	20	4,472
	53,060	25	5,000
	59,650	30	5,477
75°C	73,550	10	3,162
	88,740	15	3,873
	100,260	20	4,472
	120,775	25	5,000
	117,535	30	5,477
95°C	181,645	10	3,162
	145,855	15	3,873
	169,820	20	4,472
	156,820	25	5,000
	143,250	30	5,477
	138,815	35	5,916

EK-F Bağımlı ile Bağımsız Değişken Arasındaki İlişkiyi Gösteren Regresyon Analizi Çıktıları

50°C sıcaklık için regresyon analizi çıktısı

ÖZET ÇIKIŞI						
<i>Regresyon İstatistikleri</i>						
Çoklu R	0,9994					
R Kare	0,9989					
Ayarlı R Kare	0,6652					
Standart Hata	2,0570					
Gözlem	5,0000					
ANOVA						
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Anlamlılık F</i>	
Regresyon	2	11311,9315	5655,9657	1336,7644	0,0007	
Fark	3	12,6933	4,2311			
Toplam	5	11324,6247				
	<i>Katsayılar</i>	<i>Standart Hata</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-değeri</i>	<i>Düşük %95</i>	<i>Yüksek %95</i>
Kesişim	0	#YOK	#YOK	#YOK	#YOK	#YOK
X Değişkeni 1	0,5039	0,2766	1,8215	0,1661	-0,3765	1,3842
X Değişkeni 2	8,2687	1,3121	6,3016	0,0081	4,0928	12,4445

75°C sıcaklık için regresyon analizi çıktısı

ÖZET ÇIKIŞI						
<i>Regresyon İstatistikleri</i>						
Çoklu R	0,9991					
R Kare	0,9983					
Ayarlı R Kare	0,6643					
Standart Hata	5,4879					
Gözlem	5,0000					
ANOVA						
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Anlamlılık F</i>	
Regresyon	2	51647,1844	25823,5922	857,4500	0,0012	
Fark	3	90,3502	30,1167			
Toplam	5	51737,5346				
	<i>Katsayılar</i>	<i>Standart Hata</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-değeri</i>	<i>Düşük %95</i>	<i>Yüksek %95</i>
Kesişim	0	#YOK	#YOK	#YOK	#YOK	#YOK
X Değişkeni 1	-0,5052	0,7380	-0,6846	0,5427	-2,8540	1,8435
X Değişkeni 2	25,0899	3,5007	7,1670	0,0056	13,9489	36,2308

95°C sıcaklık için regresyon analizi çıktısı

ÖZET ÇIKIŞI						
<i>Regresyon İstatistikleri</i>						
Çoklu R	0,9965					
R Kare	0,9931					
Ayarlı R Kare	0,7414					
Standart Hata	15,9635					
Gözlem	6,0000					
ANOVA						
	<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Anlamlılık F</i>	
Regresyon	2	146470,7625	73235,3813	287,3846	0,0004	
Fark	4	1019,3360	254,8340			
Toplam	6	147490,0986				
	<i>Katsayılar</i>	<i>Standart Hata</i>	<i>t Stat</i>	<i>P-değeri</i>	<i>Düşük %95</i>	<i>Yüksek %95</i>
Kesişim	0	#YOK	#YOK	#YOK	#YOK	#YOK
X Değişkeni 1	-10,3968	1,6413	-6,3346	0,0032	-14,9537	-5,8399
X Değişkeni 2	83,7938	8,3271	10,0628	0,0005	60,6741	106,9136

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Ankara’da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Ankara’da tamamladı. 2001 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü’ne girdi. 2005 yılında mezun olduktan sonra Puccinelli Elmataş A.Ş.’de Sorumlu Yönetici olarak çalışmaya başladı. 2007 Şubat ayında Elmataş’tan ayrılarak Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Bölümü, Gıda Teknolojileri Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı. 2008-2009 Eğitim-Öğretim Yılı güz ve bahar dönemlerinde SDÜ Gelendost Meslek Yüksekokulu’nda ders verdi.