

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

GÜVEY OTUNDA (*Origanum sipyleum* L.) POLİFENOLİK MADDELERİN
EKSTRAKSİYONUNUN KEMOMETRİK YÖNTEMLE OPTİMİZASYONU

Emine ATEŞ ARSLAN

KİMYA ANABİLİM DALI

ANKARA
2025

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Doktora Tezi

GÜVEY OTUNDA (*Origanum sipyleum* L.) POLİFENOLİK MADDELERİN EKSTRAKSİYONUNUN KEMOMETRİK YÖNTEMLE OPTİMİZASYONU

Emine ATEŞ ARSLAN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa TAŞTEKİN

Tıbbi aromatik bitki olan *Origanum sipyleum* L. içerdiği polifenolik bileşenler antioksidan, antiviral, antikanser, antiinlamatuvar sağlık etkileri göstermektedir. Bu çalışmada *O. sipyleum* L. bitkisinde fenolik maddelerin ekstraksiyonun kemometrik yöntemle optimizasyonu çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre; uçucu yağ kompozisyonu GC-MS yöntemiyle timol (%20,18±0,32), gamma-terpinen (%17,36±0,28), karvakrol (%10,18±0,24) olarak tespit edilmiştir. Bitkideki 15 farklı elementin ICP-MS de yapılan ölçümlerinde sağlık etkileri değerlendirildi. Optimum ekstraksiyon koşulları ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon için etil alkol/su oranı 75/25 mL/mL; sıcaklık 60 °C; süre 45 min; çözücü/katı oranı 50 g/mL; pH:3 ve mikrodalga destekli ekstraksiyon için etil alkol/su oranı 35/65 mL/mL; mikrodalga gücü 350 W; süre 60 s; çözücü/katı oranı 65 g/mL; pH:3 olarak belirlenmiştir. Optimal koşullardaki toplam fenolik madde; toplam flavonoid madde; antioksidan madde DPPH yöntemi; antioksidan madde FRAP yöntemi; rozmarinik asit; luteolin; kafeik asit; pirogallol değerleri sırasıyla ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon için 22,771 mg GAE/g; 0,128 mg/g KuBİ; 86,797% İnhibisyon; 45,642 mg TEA /100 g KuBİ; 149,692 mg/100 g KuBİ; 44,037 mg/100 g KuBİ; 7,097 mg/100 g KuBİ; 703,637 mg/100 g KuBİ ile mikrodalga destekli ekstraksiyon için 543,717mg GAE/g; 0,944mg/g KuBİ; 89,083% İnhibisyon; 1640 mg TEA /100 g KuBİ; 227,765 mg/100 g KuBİ; 5,505mg/100 g KuBİ; 8,714mg/100 g KuBİ; 136,045 mg/100 g KuBİ bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen polifenolik madde miktarı ve buna bağlı aktivitelerin ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon göre yüksek olduğu anlaşılmıştır.

Origanum sipyleum L. bitkisinin zengin bir polifenolik içeriğe sahip olduğunu ve fonksiyonel gıda olarak farmasötik ve diyet potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir.

Şubat, 2025, 154 sayfa

Anahtar Sözcükler: *Origanum sipyleum* L, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon, polifenolik bileşikler, kemometri, optimizasyon

ABSTRACT

PhD Thesis

OPTIMISATION OF POLYPHENOLIC SUBSTANCES EXTRACTION IN *Origanum sipyleum* L. BY CHEMOMETRIC METHOD

Emine ATEŞ ARSLAN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa TAŞTEKİN

The polyphenolic compounds contained in the medicinal aromatic plant *Origanum sipyleum* L. show antioxidant, antiviral, anticancer, anti-inflammatory health effects. In this study, the optimization of the extraction of phenolic substances in *O. sipyleum* L. plant was studied by chemometric method.

According to the results obtained; the composition of the essential oil was determined as thymol % ($20,18 \pm 0,32$), gamma-terpinene % ($17,36 \pm 0,28$), carvacrol % ($10,18 \pm 0,24$) by GC-MS method. The health effects of 15 different elements in the plant were evaluated in the measurements made by ICP-MS. The optimum extraction conditions were ethyl alcohol/water ratio 75/25 mL/mL for Ultrasound assisted extraction (USAE); temperature 60 °C; time 45 min; solvent/solid ratio 50 g/mL; pH: 3 and ethyl alcohol/water ratio 35/65 mL/mL for microwave assisted extraction (MWAE); microwave power 350 W; time 60 s; solvent/solid ratio 65 g/mL; pH: 3 were determined. Total phenolic substance; Total flavonoid substance; antioxidant substance DPPH method; antioxidant substance FRAP method; rosmarinic acid; luteolin; caffeic acid; pyrogallol values under optimal conditions were 22,771 mg GAE/g for USAE; 0,128 mg/g QE; 86,797 % Inhibition; 45,642 mg TEA /100 g dry plant (DP); 149,692 mg/100 g DP; 44,037 mg/100 g DP; 7,097 mg/100 g DP; For USAE, 543,717 mg GAE/g; 0,944 mg/g QE; 89,083 % Inhibition; 1640 mg TEA/100 g DP; 227,765 mg/100 g DP; 5,505 mg/100 g DP; 8,714 mg/100 g DP; 136,045 mg/100 g DP were found. It was understood that the amount of polyphenolic substance obtained with MWAE and the activities related to it were higher than USAE. It shows that *Origanum sipyleum* L. plant has a rich polyphenolic content and may have pharmaceutical and dietary potential as a functional food.

February, 2025, 154 pages

Key Words: *Origanum sipyleum* L, microwave-assisted extraction, ultrasound-assisted extraction, polyphenolic compounds, chemometrics, optimization

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda engin tecrübesi ile yol gösterici olan, hoşgörüsünü esirgemeyen çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa TAŞTEKİN'e (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Anabilim Dalı) teşekkürlerimi sunarım.

Tez konumun belirlenmesinde ve ilgili çalışmalarım sırasında yardımlarını ve tecrübesini esirgemeyen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Mehmet Abdülkadir AKAY'a ve Doç.Dr. Nilüfer VURAL'a teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarında bana destek veren Dr. Öğretim Üyesi Emine Kübra İNAL ve Doç.Dr. Dilek ESKİKÖY BAYRAKTEPE'ye teşekkür ederim.

Maddi ve manevi desteğini gördüğüm yöneticilerim Daire Başkanım Emine Lale DEMİREL'e ve Başkan Yardımcım Doç. Dr. Kürşat DERİCİ'ye ile değerli arkadaşlarım Dr. Kimya Mühendisi Arzu DİNLER, Dr. Kimyager Havva BEKİROĞLU ATAŞ, Kimyager Nesrin GEVREK, Kimyager Özden YARIMBAŞ Bil.Uzm. Kimyager Soner BAY, Ziraat Mühendisi Yusuf DELİALİOĞLU ve Kimya Mühendisi Fatih TANIŞ'a sonsuz teşekkür ederim.

Haydarpaşa Sağlık Meslek Lisesi Radyoloji Bölümü 1992 yılı mezunları manevi kardeşlerime özel teşekkür ederim.

Çalışmalarımda bana ilham veren evlatlarım Zennure Gül, Ayşe Gül ile Ahmet Fatih ve eşim Av. Mehmet ARSLAN'a ile her zaman destek olan değerli anneme, babama, kardeşlerime teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenen FDK-2022-2557 numaralı projeden temin edilen kimyasal maddeler kullanılarak tamamlanmıştır.

Kromatografik ölçümlerde Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu AR-GE Birimindeki HPLC cihazından yararlanılmıştır.

Emine ATEŞ ARSLAN
Ankara, Şubat 2025

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ	4
2.1 <i>Origanum sipyleum</i> L. Bitkisi Hakkında Genel Bilgi.....	4
2.2 <i>Origanum sipyleum</i> L. Bulunuşu.....	4
2.3 <i>Origanum sipyleum</i> L Fizyolojik Yapısı	6
2.4 <i>Origanum sipyleum</i> L. Bitkisinin Kimyasal Bileşimi.....	7
2.4.1 <i>Origanum Sipyleum</i> L bitkisinde polifenolik yapılardan fenolikler ve özellikleri	7
2.5 <i>Origanum sipyleum</i> L Bitkisindeki Maddelerin Tayin Çalışmaları.....	17
2.5.1 <i>Origanum sipyleum</i> L bitkisindeki polifenolik madde tayini	17
2.5.1.1 Fenolik madde tayininde kullanılan cihazlar	19
2.5.2 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisindeki antioksidan madde tayini.....	20
2.5.3 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisindeki uçucu yağların tayini.....	21
2.6 <i>Origanum sipyleum</i> L. Bitkisinin Sağlık Etkileri.....	22
2.7 Ekstraksiyon.....	25
2.7.1 Bitkiden polifenollerin ekstraksiyonu	27
2.7.2 <i>Origanum sipyleum</i> L bitkisinden farklı ekstraksiyon yöntemleriyle polifenolik maddelerin ayrılmasına yönelik yapılan çalışmalar	30
2.8 Genel Kemometrik Uygulamalar.....	32
2.8.1 Tıbbi bitkilerde kemometrik çalışma örnekleri	32
2.9 Optimizasyon	34
2.9.1 Tıbbi bitkilerde ekstraksiyona yönelik optimizasyon çalışma örnekleri.....	34
2.10 Deney Tasarımları.....	36
2.10.1 Cevap yüzey modelleri.....	38

3. MATERİYAL VE YÖNTEM.....	40
3.1 Materyal	40
3.2 Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar.....	40
3.3 Origanum sipyleum L Bitkisinin Ekstraksiyonu İçin Kullanılan Yöntemler ...	42
3.3.1 Çözücü ekstraksiyonu	42
3.3.2 Ultrasonik banyo ile ekstraksiyon	42
3.3.3 Mikrodalga ile ekstraksiyon	43
3.4 Origanum sipyleum L bitkisinin polifenollerin analizi	43
3.4.1 Origanum sipyleum L. bitkisinin Folin-Ciocalteu yöntemi ile TFM tayini....	43
3.4.2 GA kalibrasyon grafiğinin hazırlanması	43
3.4.3 Origanum sipyleum L. bitkisinin TFLM tayini	44
3.4.4 TAA-D yöntemi	44
3.4.5 TAA-F yöntemi.....	45
3.4.6 Origanum sipyleum L bitkisindeki polifenollerin HPLC ile tayini.....	45
3.5 Origanum sipyleum L. Bitkisinin Uçucularının GC ile Tayini.....	50
3.6 Origanum sipyleum L. Bitkisinin Elementlerin ICP-MS ile Tayini.....	51
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	53
4.1 SÖDE İçin Deneysel Tasarım ve Optimizasyon Çalışması	54
4.1.1 Cevap Faktörü 1: SÖDE ile elde edilen TFM (GAE) bağımlı değişkeni için modelleme bulguları.....	59
4.1.2 Cevap Faktörü 2: SÖDE toplam flavanoid miktarı (TFLM) deneysel tasarım (ANOVA) bulguları	66
4.1.3 Cevap Faktörü 3: SÖDE TAA-D bağımlı Ddeğişkeni için deneysel tasarım (ANOVA) bulguları modelleme bulguları:.....	74
4.1.4 Cevap Faktörü 4: SÖDE TAA-F bağımlı değişkeni için deneysel tasarım (ANOVA) bulguları modelleme bulguları:.....	79
4.1.5 Cevap Faktörü 5: Rozmarinik asit miktarı (RA) deneysel tasarım (ANOVA) bulguları	86
4.2 Mikrodalga Destekli Çözücü Ekstraksiyonu İçin Deneysel Tasarım ve Optimizasyon Çalışması Bulguları.....	92
4.2.1 Cevap Faktörü 1: MDDE TFM (GAE) bağımlı değişkeni için modelleme bulguları	97
4.2.2 Cevap Faktörü 2: MDDE TFLM deneysel tasarım (ANOVA) bulguları	103
4.2.3 Cevap Faktörü 3: MDDE TAA-D bağımlı değişkeni için deneysel tasarım (ANOVA) bulguları modelleme bulguları:.....	109

4.2.4 Cevap Faktörü 4: MDDE TAA-F bağımlı değişkeni için deneysel tasarım (ANOVA) bulguları modelleme bulguları:.....	117
4.2.5 Cevap Faktörü 5: MDDE RA deneysel tasarım (ANOVA) bulguları.....	124
4.3 GC’de Origanum sipyleum L. bitkisi uçucu bileşenlerinin tayini.....	131
4.4 ICP-MS cihazında Origanum sipyleum L. bitkisinin element analizi	132
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	134
KAYNAKLAR	142
ÖZGEÇMİŞ.....	154

KISALTMALAR DİZİNİ

TFM	Toplam Fenolik Madde
TFLM	Toplam Flavanoid Madde
TAA-D	Toplam Antioksidan Aktivite- DPPH
TAA-F	Toplam Antioksidan Aktivite- FRAP
SÖDE	Ses Ötesi Destekli Ektraksiyon
MDDE	Mikro Dalga Destekli Ektraksiyon
HPLC	Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi
RP-HPLC	Ters Faz Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi
UHPLC	Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
GC-MS	Gac Kromatografi-Kütle Spektroskopisi
RSM	Cevap-Yüzey Metodolojisi
KuBi	Kuru bitki
EDI	Maruz Kalma Değerlendirmesi
HQ	Tehlike Katsayısı
CR	Kanserojen Riski
R^2_D	R^2 Düzeltilmiş
ABTS	2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit
CUPRAC	Bakır(II) indirgeyici antioksidan kapasite
DNA	Deoksiribo nükleik asit
GAE	Gallik asit eşdeğeri
CE	Kuersetin eş değeri
RE	Rutin eş değeri
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
IC50	İnhibitör konsantrasyonu
HCT116	Yarı maksimum inhibitör konsantrasyonu
5-HT	5-hidroksitriptamin
FID	Alev iyonlaştırma dedektörü
YMM	Yüzey merkezli model

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Origanum sipyleum L. bitkisinin görünüşü	4
Şekil 2.2 Türkiye'deki O. syriacum L. ve O. sipyleum L. x O. onites L. hibriti üzerine yapılan yapılan çalışmalardaki bitki toplama yerleri	5
Şekil 2.3 Gallik asitin kimyasal ve biyolojik önemi	11
Şekil 2.4 Pirogallol kimyasal ve biyolojik önemi	11
Şekil 2.5 Rozmarinik asitin kimyasal ve biyolojik önemi	12
Şekil 2.6 Kafeik asitin kimyasal ve biyolojik önemi	12
Şekil 2.7 Luteolinin kimyasal ve biyolojik önemi	13
Şekil 2.8 Ferulik asitin kimyasal ve biyolojik önemi.....	13
Şekil 2.9 Terpeneoidlerin sınıflandırması	15
Şekil 2.10 Aromaya göre uçucu yağların sınıflandırılması.....	16
Şekil 2.11 Ekstraksiyon hızını etkileyen faktörler.....	27
Şekil 2.12 Deneysel tasarımın aşamaları	37
Şekil 3.1 KA'in standart kalibrasyonu verileri ve HPLC kromatogramı.....	47
Şekil 3.2 Rozmarinik asit standardı kalibrasyon grafiği ve HPLC kromatogramı	48
Şekil 3.3 Pirogallol asit standardı kalibrasyon grafiği ve HPLC kromatogramı	48
Şekil 3.4 standardı kalibrasyon grafiği ve HPLC kromatogramı	49
Şekil 3.5 Luteolin standardı kalibrasyon grafiği ve HPLC kromatogramı	49
Şekil 4.1 SÖDE TFM etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri.....	61
Şekil 4.2 SÖDE TFM etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri.....	61
Şekil 4.3 SÖDE TFM miktarının etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri.....	62
Şekil 4.4 SÖDE TFM etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri.....	62
Şekil 4.5 SÖDE TFM sıcaklık ve etraksiyon süresi eşyükselti eğrileri	63
Şekil 4.6 SÖDE TFM sıcaklık ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri	63
Şekil 4.7 SÖDE TFM sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri	64
Şekil 4.8 SÖDE TFM ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri.....	64
Şekil 4.9 SÖDE TFM ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri.....	65
Şekil 4.10 SÖDE TFM çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri.....	65
Şekil 4.11 SÖDE TFM ile bağlı değişkenlerin ilişkisi grafiği	66
Şekil 4.12 SÖDE TFLM etil alkol/ su oranı ve sıcaklık eşyükselti eğrileri.....	68
Şekil 4.13 SÖDE TFLM etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri ...	69
Şekil 4.14 SÖDE TFLM etil alkol/ su oranı ve çözücü/ katı oranı eşyükselti eğrileri ...	69
Şekil 4.15 SÖDE TFLM etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri	70

Şekil 4.16 SÖDE TFLM sıcaklık ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri.....	70
Şekil 4.17 SÖDE TFLM sıcaklık ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri	71
Şekil 4.18 SÖDE TFLM sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri.....	71
Şekil 4.19 SÖDE TFLM ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri ...	72
Şekil 4.20 SÖDE TFLM ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri	72
Şekil 4.21 SÖDE TFLM çözücü /katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri.....	73
Şekil 4.22 SÖDE TFLM ile değişkenlerin ilişkisi grafiği.....	73
Şekil 4.23 SÖDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve sıcaklık eşyükselti eğrileri.....	76
Şekil 4.24 SÖDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri.....	76
Şekil 4.25 SÖDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(min) eşyükselti eğrileri.....	77
Şekil 4.26 SÖDE TAA-D etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri.....	77
Şekil 4.27 SÖDE TAA-D sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri	78
Şekil 4.28 SÖDE TAA-D ekstraksiyon süresi ve pH oranı eşyükselti eğrileri	78
Şekil 4.29 SÖDE TAA-D çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri.....	79
Şekil 4.30 SÖDE TAA gerçek ve düzeltilmiş değerlere ait grafik	79
Şekil 4.31 SÖDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve sıcaklık eşyükselti eğrileri.....	82
Şekil 4.32 SÖDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi (min) eşyükselti eğrileri.....	82
Şekil 4.33 SÖDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri ...	83
Şekil 4.34 SÖDE TAA-F etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri	83
Şekil 4.35 SÖDE TAA-F sıcaklık ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri.....	84
Şekil 4.36 SÖDE TAA-F sıcaklık ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri	84
Şekil 4.37 SÖDE TAA-F sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri.....	85
Şekil 4.38 SÖDE TAA-F ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri ...	85
Şekil 4.39 SÖDE TAA-F ekstraksiyon süresi-pH oranı ilişkisini gösteren grafik	85
Şekil 4.40 SÖDE TAA-F çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri	86
Şekil 4.41 SÖDE RA etil alkol/ su oranı ve sıcaklık eşyükselti eğrileri.....	88
Şekil 4.42 SÖDE RA etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri.....	88
Şekil 4.43 SÖDE RA etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(min) eşyükselti eğrileri.....	89
Şekil 4.44 SÖDE RA etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri.....	89
Şekil 4.45 SÖDE RA sıcaklık ve ekstraksiyon süresi(min) eşyükselti eğrileri.....	90
Şekil 4.46 SÖDE RA sıcaklık ve Çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri.....	90
Şekil 4.47 SÖDE RA sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri.....	90
Şekil 4.48 SÖDE RA ekstraksiyon süresi(min) ve Çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri.....	91

Şekil 4.49 SÖDE RA ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri	91
Şekil 4.50 SÖDE RA çözücü/katı oranı (mL/g) ve pH eşyükselti eğrileri	92
Şekil 4.51 MDDE TFM etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri	97
Şekil 4.52 MDDE TFM'nın etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) eşyükselti eğrileri.....	99
Şekil 4.53 MDDE TFM'nın etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı(mL/g) eşyükselti eğrileri.....	99
Şekil 4.54 MDDE TFM, etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri.....	100
Şekil 4.55 MDDE TFM, güç ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri	100
Şekil 4.56 MDDE TFM, güç ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri.....	101
Şekil 4.57 MDDE TFM, güç ve pH eşyükselti eğrileri.....	101
Şekil 4.58 MDDE TFM, ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri ..	102
Şekil 4.59 MDDE TFM, ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri	102
Şekil 4.60 MDDE TFM, çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri.....	103
Şekil 4.61 MDDE TFLM etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri	105
Şekil 4.62 MDDE TFLM miktarının etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri	105
Şekil 4.63 MDDE TFLM etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) eşyükselti eğrileri.....	106
Şekil 4.64 MDDE TFLM, etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri	106
Şekil 4.65 MDDE TFLM, güç ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri.....	107
Şekil 4.66 MDDE TFLM, güç ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri	107
Şekil 4.67 MDDE TFLM, güç ve pH eşyükselti eğrileri	108
Şekil 4.68 MDDE TFLM, ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri.....	108
Şekil 4.69 MDDE TFLM, ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri.....	109
Şekil 4.70 MDDE TFLM, Çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri	109
Şekil 4.71 MDDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri	112
Şekil 4.72 MDDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri.....	112
Şekil 4.73 MDDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve Çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri.....	113
Şekil 4.74 MDDE TAA-D, etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri	113
Şekil 4.75 MDDE TAA-D, güç ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri	114
Şekil 4.76 MDDE TAA-D, güç ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri.....	114
Şekil 4.77 MDDE TAA-D, güç ve pH eşyükselti eğrileri	115
Şekil 4.78 MDDE TAA-D, ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri.....	115
Şekil 4.79 MDDE TAA-D, ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri	116

Şekil 4.80 MDDE TAA-D, çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri	116
Şekil 4.81 MDDE TAA-D gerçek ve düzeltilmiş değerler arasındaki ilişki grafiği	117
Şekil 4.82 MDDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri	120
Şekil 4.83 MDDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri	120
Şekil 4.84 MDDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) eşyükselti eğrileri	121
Şekil 4.85 MDDE TAA-F etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri	121
Şekil 4.86 MDDE TAA-F güç ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri	122
Şekil 4.87 MDDE TAA-F güç ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri	122
Şekil 4.88 MDDE TAA-F güç ve pH eşyükselti eğrileri	123
Şekil 4.89 MDDE TAA-F ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri	123
Şekil 4.90 MDDE TAA-F ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri	124
Şekil 4.91 MDDE TAA-F çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri	124
Şekil 4.92 MDDE RA etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri	125
Şekil 4.93 MDDE RA etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri	127
Şekil 4.94 MDDE RA etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) eşyükselti eğrileri	127
Şekil 4.95 MDDE RA, etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri	128
Şekil 4.96 MDDE RA, güç ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri	128
Şekil 4.97 MDDE RA, güç ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri	129
Şekil 4.98 MDDE RA, güç ve pH eşyükselti eğrileri	129
Şekil 4.99 MDDE RA, ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri	130
Şekil 4.100 MDDE RA, ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri	130
Şekil 4.101 MDDE RA çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri	131
Şekil 5.1 Origanum sipyleum L. bitkisinin SÖDE ve MDDE tekniğinde optimum ekstraksiyon bulgularının karşılaştırma grafiği	136

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Deneysel çalışmada kullanılan cihazlar	40
Çizelge 3.2 Deneysel çalışmada kullanılan kimyasallar	41
Çizelge 3.3 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisinin fenolik madde tayini için HPLC cihazındaki elüsyon gradienti bilgileri	46
Çizelge 3.4 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisinin elementlerin ICP-MS ile tayininde program verileri	51
Çizelge 4.1 SÖDE için belirlenen bağımlı değişkenlerin beş faktörlü CCD tasarımdaki araştırılan dizilim ve düzeyler için sayısal aralık değerleri	54
Çizelge 4.2 SÖDE çalışmaya ait belirlenen aralıklar ve elde edilen ekstraktların renkleri	55
Çizelge 4.3 SÖDE deneysel tasarım noktalarında bağımlı değişkenlere ait sonuçlar	57
Çizelge 4.4 SÖDE TFM cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	60
Çizelge 4.5 Toplam Flavonoid miktarı (TFLM) cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	67
Çizelge 4.6 SÖDE TAA-D Bağımlı cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	75
Çizelge 4.7 SÖDE TAA-F Bağımlı cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	81
Çizelge 4.8 SÖDE Rozmarinik Asit miktarı (RA) cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	87
Çizelge 4.9 MDDE deneysel tasarım noktaları, çalışma aralıkları ve ekstraktların renkleri	93
Çizelge 4.10 MDDE deneysel tasarım noktalarında bağımlı değişkenlere ait sonuçlar	95
Çizelge 4.11 MDDE TFM cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	98
Çizelge 4.12 MDDE TFLM cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	104
Çizelge 4.13 MDDE TAA-D cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	110
Çizelge 4.14 MDDE TAA-F Bağımlı cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	119
Çizelge 4.15 MDDE RA cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu	126
Çizelge 4.16 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisinin uçucu madde içeriğine ait GC-MS cihazı sonuçları	131
Çizelge 4.17 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisinin element içeriğinin ICP-MS ‘deki ölçüm bulguları	132
Çizelge 5.1 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisinin SÖDE ve MDDE tekniklerine göre optimum ekstraksiyon koşulları	134
Çizelge 5.2 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisinin SÖDE tekniğinde optimum ekstraksiyon bulguları	135
Çizelge 5.3 <i>Origanum sipyleum</i> L. bitkisinin bitkisinin MDDE tekniğinde optimum ekstraksiyon bulguları	135

1. GİRİŞ

Tıbbi aromatik bitkilerden yararlanılarak yürütülen çalışmalar günümüzde de devam etmekte, önemi giderek artmaktadır. Bitkilere dayalı doğal tedavi yöntemlerine geçiş, 20. yüzyılın ikinci yarısında, sentetik ilaçların yan etkilerinin ve uzun süreli antibiyotik tedavisine direncin belirlendiği bir dönemde gözlemlenmiştir. Bitkisel terapi savunucularına göre, günümüzde bitkisel tedavinin amacı öncelikle hastalıkları önlemek olduğu bildirilmiştir. Bitkisel ürünler hastalıkların önlenmesinde tamamlayıcı tıp yaklaşımları arasında yer alan aromaterapi içerisinde diyet takviyeleri vitaminler, mineraller, bitkiler ve enzimler kullanılmaktadır. Fitoterapi içerisinde fitoterapatikler (Birbirinin etki düzeylerini arttıranlar gibi) ve fitofarmakonlar (İçeriğinde bir etken madde bulunduran) yer almaktadır. Fitoterapide, bu bitki kısımları farklı farmasötik formlar (Çeşitli ekstratlar ve bunlardan elde edilmiş tablet, kapsül, şurup vb.) halinde kullanılabileceği gibi doğrudan parçalanarak su yardımıyla hazırlanan preparatlar (çaylar) şeklinde de kullanılabilmektedir (Haspolat, 2022).

Türkiye’de Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği ile izin verilen uygulamalar arasında fitoterapinin en çok tercih edilen uygulama olduğu bildirilmiştir (Akalin, 2023).

Bitkiler birçok hastalığın profilaksisi ve tedavisinde içeriğindeki organik ve inorganik bileşikler sayesinde yapabilmektedir. Bitkisel preparatlar, toksik maddelerin atılımını teşvik eder, bireylerin normal güçlerini geri kazanmalarına, enerji metabolizmasını artırmalarına ve ateroskleroz ve hipertansiyon sırasında hastalığın daha fazla ilerlemesini durdurmalarına yardımcı olur. Şifalı bitkilerin farmakoterapötik etkileri, kompleks yapılarından kaynaklandığı bildirilmiştir (Eisenman, 2013).

Bu alanda yapılan çalışmalarda kimyasal yapının aydınlatılması, canlı üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ve bitkiden elde edilen ürünün ticarileşmesi konularında olduğu görülmüştür.

Origanum sipyleum L. ülkemize ait endemik bir türdür. Tıbbi aromatik bir bitki olan güvey otunda (*Origanum sipyleum* L.) aynı zamanda halk arasında nane ve kekik gibi yaygın olarak kullanılan yabani bir bitkidir. Kimyasal profilinin belirlenmesine yönelik olarak yapılan çalışmalarda organik (Fenolik maddeler, flavonoidler, yağlar vb) ve inorganik yapıların (İçeriğinde yer alan elementler) miktarının belirleme çalışmaları yanı sıra antioksidan özelliğe yönelik deneyler ile mikrobiyolojik etkinlik testleri de yapılmıştır. Yapılan çalışmalarla bitkideki kimyasalların mikrobiyolojik etkileri (Bakteri, virüs parazit, mantar, böcek üzerinde öldürücü etkisi) ile insan sağlığı üzerine çeşitli etkilerinin (Kanser önleyici, hepatoprotektif, genotoksik/ antijenotoksik, anti diyabetik, kardiyorespiratuar, inflamasyon önleyici, kolinesteraz inhibitörü ve ağrı dindirici) olduğu bildirilmiştir (Özkan, 2007). Bitkide etkinliği üzerinde fenolik maddeler grubu, en çeşitli farmakolojik aktiviteye sahip olan gruptur (Eisenman, 2013) (Tiring, 2021). Polifenollerin önemli özelliğinden olan antioksidan özellikleri oksidatif strese neden olan radikallerin azaltılması yoluyla oksidatif stres kaynaklı hastalıklar üzerinde kalp damar sistemi, kanser oluşumlarını azalttığı ve nörolojik hastalıklardan Alzheimer hastalığının başlangıcının geciktirdiği gösterilmiştir. *Origanum sipyleum* L. bitkisinin bünyesinde bulunan uçucu yağlar ve polifenolik bileşikler biyolojik etkileri yönüyle önemlidir (Unal B. G., 2013). Bitkinin metil alkoldeki ekstresi, kronik myeloid lösemi tedavisinde ponatinib ile birlikte kullanımında sinerjik etkili olduğu gösterilmiştir (Kayabası, 2022).

Bitkinin içerisinde tıbbi önemi olan fenolik maddelerden olan Rozmarinik asit ($C_{18}H_{16}O_8$) diğer adları; (R)-O-(3,4-Dihidroksisinaoil)-3-(3,4-dihidroksifenil)laktik asit ve 3,4-Dihidroksisinaamik asit (R)-1-karboksi-2-(3,4-dihidroksifenil) etil esteridir. Rozmarinik asitin antioksidan ve membran stabilizatörü olmasının yanı sıra lipozomlarda fiziksel ve oksidatif stabilitesini arttırarak kimyasallarca tetiklenen DNA hasarı ve kromozom kırığına karşı koruyucu özelliği vardır. Ultraviyole B ışığına karşı cilt koruması ile kognitif artırıcı etkinin hasarına karşı nöronların korunması suretiyle Alzheimer hastalığının gelişmesinin önlenmesi için potansiyel kullanımı bildirilmiştir (Said, 2016). Rozmarinik asitin analjezik etkisi serotonin ve nöradrenalin görev yaptığı ağrı yolağında nörolojik etki göstererek aperiferik noradrenerjik sistemi uyararak santral ve periferel ağrı kesici etki sağladığı anlaşılmaktadır (Aydın, 2017). Rozmarinik asit antimikrobiyal, virüs öldürücü ve inflamasyon önleyici özelliklerinin yanında antioksidan özelliği de sahip bir

bileşik olup pıhtı oluşumunu önleyici özelliği ve nefron üzerinde koruyucu etkili olduğu kanıtlanmıştır. (Başkan, 2005) Rozmarinik asit ve türevlerinin antialerjik, kanserin gelişimini önlemek için antianjiyojenik ve nöroprotektif etkiler göstermiştir (Karataş, 2022).

Bu bitkideki polifenolik bileşiklerin tayinlerinin yüksek doğrulukta yapılabilmesi ancak bitki yapısındaki bu bileşiklerin çözücü sistemine alınmasıyla mümkün olabilmektedir. Bu amaçla zenginleştirme ekstraksiyon işlemiyle yapılacaktır. Ekstraksiyon işleminde yüksek verim elde edilebilmesi uygulanacak şartların optimizasyonuna şiddetle bağlıdır. Bu tez çalışmasında yüksek verimin elde edilmesi için uygun çözücü ve/veya çözücü karışımlarının bileşimi, sıcaklık, pH, karıştırma süresi gibi parametrelerle ilgili optimum şartların belirlenmesinde kemometrik yöntemlerin uygulanması amaçlanmıştır. Ticari değeri olan bu ürünlerden yüksek düzeyde fayda sağlamaya katkı sağlayacak bir çalışma olması hedeflenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 *Origanum sipyleum* L. Bitkisi Hakkında Genel Bilgi

Lamiaceae, tüm dünyaya dağılmış yaklaşık bitki topluluğu içerisinde *Origanum* cinsi içerisinde *sipyleum* türü ülkemizde Batı ve Güney Anadolu'ya özgü endemik tür olarak Isparta, Manisa, İzmir illerinde yayılım göstermektedir (Ünal B. G., 2013) (Oluk E. A., 2009) (Gürhan, 2014)(Oluk E. A., 2013) (Durmuşkahya, 2016) (Zengin, 2019) (Doğan, 2022), Denizli (Semiz, 2018) (Kasha, 2018)



Şekil 2.1 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin görünüşü

Çok yıllık bitkinin dik olan gövdesindeki karşılıklı yaprakların arasında gelişen pembe veya açık erguvani renkli çiçekleri vardır. Yarı çalılık olarak birkaç yıllık bir olan bitkinin sıcak ilkim koşullarında yetişmektedir. Toprağın organik içeriğinin, azot ve fosfor pentaoksit değerlerinin yüksek, potasyum oksit değerinin düşük, kalsiyum karbonat değerinin yüksek olduğu bölgede yetişen bitkinin klorofil, karotenoid, prolin ve toplam protein içeriğinin rakımla değişikliği gösterilmiştir (Unal B. T., 2013).

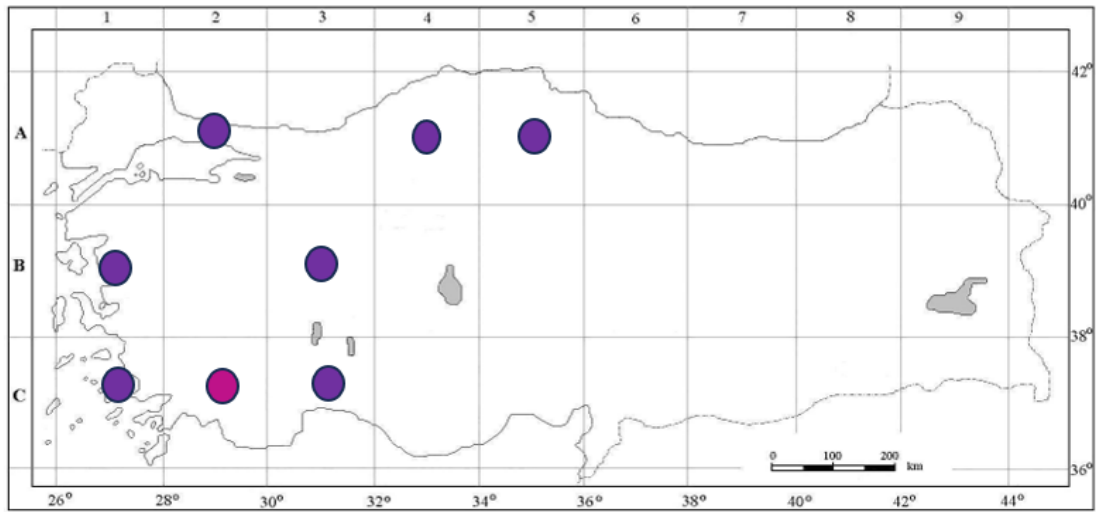
2.2 *Origanum sipyleum* L. Bulunuşu

Endemik bir tür olarak ülkemizde birçok yerde yetişmektedir. Bitkinin endemik olarak yetiştiği yerlerdeki tehlike durumu en az endişe verici olarak değerlendirilmiş (Gürbüz,

2011) . Şekil 2.2’de işaretli bölgelerde bitkinin bilimsel olarak araştırma çalışmaları yapılmıştır.

Ticari öneminden dolayı bazı kekik türlerinin kültür koşullarında üretimiyle ilgili denemeler yapılmıştır. Aralarında *O. sipyleum* ‘un da bulunduğu bir çalışmada bitkinin çoğaltılmasıyla ilgili olarak İzmir ili Kemalpaşa ilçesinde bulunan Nif dağında 1070 metredeki makilik alandan toplanıp klonal olarak üretildikten sonra Antalya ilinde kültürel yetiştirme denemesi yapılmıştır (Doğan, 2022).

Yerli tıbbi bitkilerde kültürel ıslah çalışmaları özellikle türün devamının riske girmesi durumuna karşı bir önlem almayı ve artan tüketimin karşılanmayı sağlamaktadır. *Origanum* türü özellikle organik ve inorganik yönden besleyici, asitliğin pH: 6-8 arasında olduğu toprakta yetismekte (Bağdat, 2006) ve kireçli toprak ile ilgili verim değerlendirmesi de yapılmıştır (Ünal, 2004).



Şekil 2.2 Türkiye’deki *O. syriacum* L. ve *O. sipyleum* L. x *O. onites* L. hibriti üzerine yapılan yapılan çalışmalarda bitki toplama yerleri

	<i>O. syriacum</i> L.		<i>O. sipyleum</i> L. x <i>O. onites</i> L. hibriti
---	-----------------------	---	---

Batı Anadolu bölgesinde yayılış gösteren *O. sipyleum* (Kütahya ili Gediz ilçesi) içinde bulunduğu bir grup bitki çimlendirilmesi denemesinde bitkinin oda şartlarında daha iyi çimlendiği gözlenmiştir (Temel, 2005).

Sanayi ve Teknoloji Bakanlığının Akdeniz Kalkınma Ajansının 2021 yılına ait Kekik Tarımı ve Endüstrisi Fizibilite Raporunda *origanum*, *thymus*, *thymbra*, *satureja* vb bitkilerden toplamda 23,8 bin ton ürün ekildiği ve yaklaşık iki bin tondan fazlasının doğadan toplanarak elde edildiği tespit edilmiştir. 2020 yılı kekik üretimi 184,711 dekar alanda 23,866 ton olup uçucu yağ veriminin en yüksek olduğu il Antalya'dır. 2021 yılında ihraç edilen kekik yağı (terpeni alınmamış) 63,822 kg olup ithal edilen miktar ise 3756 kg'dır (Batı Akdeniz Kalkınma Ajansı, 2024).

2.3 *Origanum sipyleum* L Fizyolojik Yapısı

Origanumu yeryüzünde bulunuşuna göre Meksika Kökenli (*Lippia* cinsi, Orta Amerika ve Güneydoğu kısmı) ve Avrupa Kökenli (*Origanum* cinsi özellikle Akdeniz Bölgesi) olarak ayrılmaktadır. *Origanum sipyleum* L. bitkisinin toksonomik sınıflandırması:

Alem	Plantae
Alt alem	Viridiplantae
Süper bölüm	Embryophyta
Bölüm	Tracheophyta
Sınıf	Magnoliopsida
Alt sınıf	Asteridae
Takım	Lamiales
Familya	Lamiaceae
Cins	Origanum Tür sayısı: 24 Endemizm oranı:16

Bugün *Origanum*'ların 10 seksiyonu ve bu seksiyonlara ilişkili 37 tür içerisinde II. Sektion Anatolicon Bentham'a bağlı *origanum sipyleum* L. ve Intermedium Davis (*O. onites x sipyleum*) yer aldığı anlaşılmaktadır (Fakılı, 2010).

2.4 *Origanum sipyleum* L. Bitkisinin Kimyasal Bileşimi

Origanum sipyleum L. bitkisi birçok farklı kimyasal bileşiği içerir. Bu kimyasallar içerisinde fenolik maddeler bitkinin tıbbi önemini arttırmaktadır. Gövde, yaprak ve çiçek kısımlarında protein, vitamin, yağ, element (mikro ve makro) bulunmaktadır. Tıbbi açıdan içerdiği polifenoller ve uçucu yağlar önemlidir.

2.4.1 *Origanum Sipyleum* L bitkisinde polifenolik yapılardan fenolikler ve özellikleri

Polifenik yapıların birçok şekilde gruplandırılmaktadır. Polifenolik maddelerin kimyasal içeriğinin sınıflandırılma verileri aşağıda gösterilmiştir:

Fenolik asitler:Fenolik asitler, bitki metabolizmasının şikimik asit veya fenilpropanoid yolu genellikle fenolik asitlerin biyosentezini düzenler (Jan, 2021). Bazı durumlarda fenolik asitler, tanenler, kumarinler, benzokinonlar ve naftokinonlar gibi diğer önemli fitokimyasalların öncüsüdür.

Hidroksibenzoik asit türevleri:

- Gallik asit, 3,4,5-Trihidroksibenzoik asit
- Vanillik asit, 4-Hidroksi-3-metoksibenzoik asit; p-Vanilik asit
- Hippurik asit, N-Benzoilglisin

Hidroksisinnamik asit türevleri:

- p-Kumarik asit, p-Hidroksisinnamik asit
- Kafeik asit, 3,4-Dihidroksisinnamik asit
- Ferulik asit, 3-Metoksi-4-Hidroksisinnamik asit; 3-Metilkafeik asit; koniferik asit
- Hidroksifenilasetik asit

- Homovanillik asit 3-Metoksi-4-hidroksifenilasetik asit; 3-Metoksi-4-hidroksifenilasetat; 4-Hidroksi-3-metoksibenzenasetik asit
- 3,4-Dihidroksifenilasetik asit DOPAC; Homoprotokateşik asit; Homogentisik asit; Dopasetik asit

Hidroksifenilpropiyonik asit türevleri:

- Dihidro-p-kumarik asit 4-Hidroksi-fenil-propanoik asit; p-Hidroksifenilpropanoat; 4-Hidroksifenilpropionik asit; floretik asit
- Dihidroferulik asit

1.2 Hidroksifenilpentanoik asit

- 5-(3'-Metoksi-4'-hidroksifenil)- γ -valerolaston
- 5-(3',5'-dihidroksifenil)- γ -valerolaston 3-O-glukuronit

Flavonoid türevleri altı gruptur:

Antosiyaninler, Kalkonlar ve Dihidrokalonlar

- Malvidin 3-O-(6"-p-kumaroil-glukozit)
- Delfinidin 3-O-(6"-asetil-galaktozit)
- A vitamini
- Butein, 3,4,2',4'-Tetrahidroksişalkon
- Ksantaohumol
- Floretin
- 4,2',4',6'-Tetrahidroksidihidroşalkon
- Floretin 2'-O-glukozit

1.2 Dihidroflavonoller ve Flavanoller

- Dihidrokuarsetin 3,5,7,3',4'-Pentahidroksiflavanon; Taksifolin, Distilin
- Dihidromirisetin 3-O-ramnozid
- (+)-kateşin, 3,5,7,3',4'-Pentahidroksiflavan
- (-)-Epikateşin 3,5,7,3',4'-Pentahidroksiflavan
- Theaflavin
- Prosiyanidin dimer B1
- Epikateşin 7-O-glukuronid
- 3'-O-Metilepikateşin

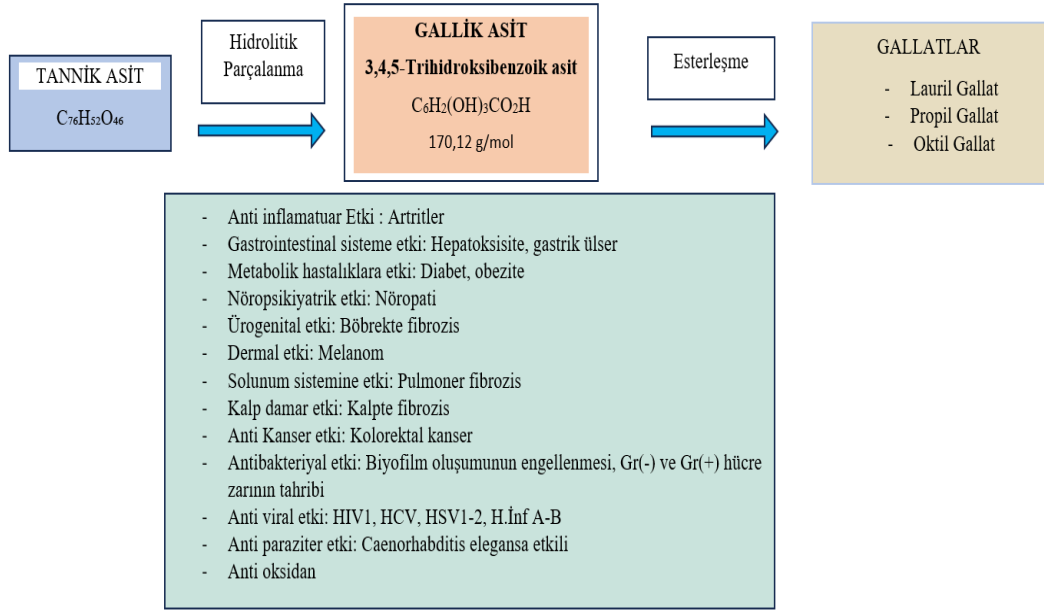
Flavanonlar

- Naringenin, 5,7,4'-Trihidroksiflavanon
- Hesperitin, 5,7,3'-Trihidroksi-4'-metoksiflavanon; 4'- Metileriodityol
- Hesperetin 7-O-rutinoside
- Naringenin 5-O-glukuronid
- Didim, Isosakuranetin 7-rutinoside
- Flavonlar,
- Apigenin
- Luteolin
- 5,6-Dihidroksi-7,8,3',4'-tetrametoksiflavon
- Baicalein
- Krisin
- Hispidulin
- Flavonoller
- 3,7-Dimetilkuarsetin
- Galangin
- İzorhamnetin
- Kaempferol
- Morin
- Spinacetin 3-O-glukozil-(1->6)-glukoside
- İzoflavonlar
- Daidzein
- Formononetin: 7-Hidroksi-4'-metoksiizoflavon; 4'-Metil daidzein; Biyokanin B; neokanin; Pratol
- Genistein 7-O-glikozit; 5,7,4'-Trihidroksiizoflavon 7-O-glukozit
- Biochanin A, 5,7-Dihidroksi-4'-metoksiizoflavon; 4'-Metilgenistein; Pratensol
- 6"-O-Asetil daidzein 7-O-glukozit; 6"-O-asetil-7,4'-dihidroksiizoflavon 7-O-glukozit; asetil daidzin
- 6"-O-Malonilglisitin 7-O-glukozit; 6"-O-Malonil-7,4'-dihidroksi-6-metoksiizoflavon 7-O-glukozit; malonilglisitin
- Tanenler,

- Hidrolize edilebilir tanenler (merkezi bir glikoz çekirdeği veya gallotanninler olarak da adlandırılan gallik asitle veya ellagitanninler olarak da adlandırılan hekzahidroksidifenik asitle esterlenmiş başka bir poliol içeren bileşiklerdir.)
- Yoğunlaştırılmış tanenler
- Kompleks taninler
- Stilbenler
- Resveratrol
- 3'-Hidroksi-3,4,5,4'-tetrametoksistilben
- Dihidroresveratrol
- Lignanlar (Dai, 2010)
- Matairesinol
- Sekoizolarisiresinol
- Arktikeninin (phenol-explorer, 2024).
-

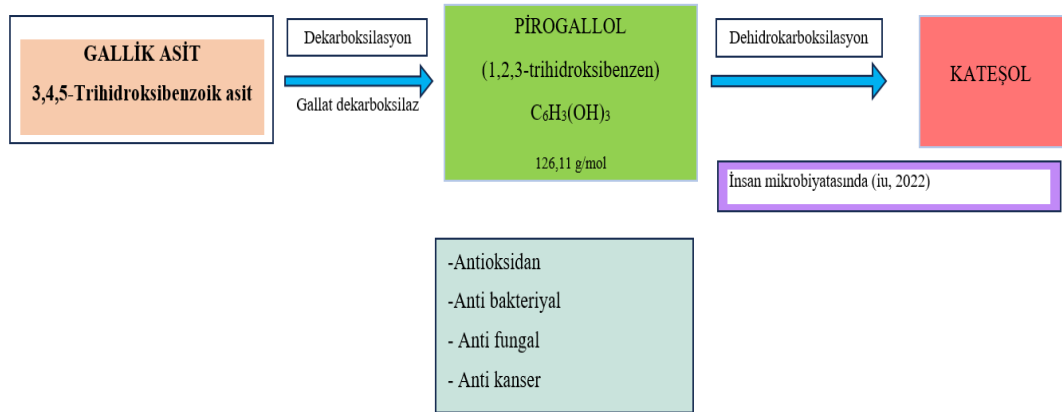
Fenolik maddeler: Genel olarak bitkilerdeki birincil metabolit olan yaşamsal önemi olan maddelerden üretilen ikincil metabolitler, arasında alkaloidler, terpenler, glikozitler ve fenolikler şeklinde ayrılmaktadır. Alkaloidler, gerçek alkaloitler (nikotin gibi), protoalkaloitler, poliamin alkaloitler, peptit ve siklopeptit alkaloitler ile psödoalkaloitler (kafein) olarak gruplandırılır. Terpenler içerdiği izopren birimi sayısına göre hemiterpen, monoterpen, sesquiterpen, diterpen, triterpen, tetraterpen olarak adlandırılır. Glikozitler, siyanojenik glikozitler, kardiyak glikozitler, saponinler ve antraglikozitler olarak bilinmektedir. Fenolikler basit fenoller, kumarinler, kromonlar, lignan, tropolonlar ve bunların glikozitleri, tanenler, proantosiyaniidinler ve diğerleri bu gruptadır. Bu tezde miktarı tayin edilen fenolik maddelere ait teknik bilgiler aşağıdaki şekillerde yer almaktadır.

Şekil 2.3 'de Gallik asidin oluşumu ve dönüşümüne ait reaksiyon ile sağlık etkileri görülmektedir (Kahkeshani, 2019).



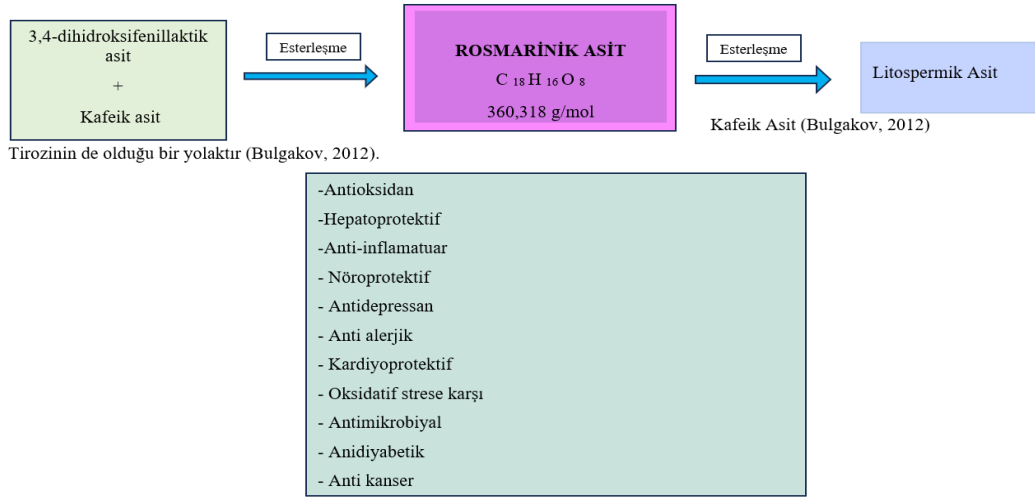
Şekil 2.3 Gallik asitin kimyasal ve biyolojik önemi

Şekil 2.4’de Piragallol oluşumu ve dönüşümüne ait reaksiyon ile sağlık etkileri görülmektedir (Gupta, 2021).



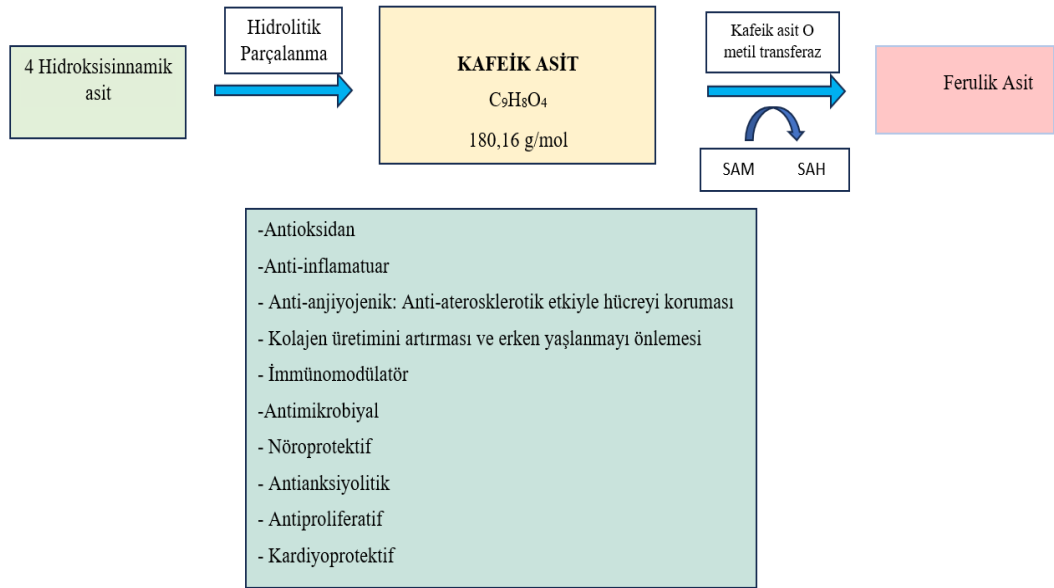
Şekil 2.4 Pirogallol kimyasal ve biyolojik önemi

Şekil 2.5’de Rozmarinik asit oluşumu ve dönüşümüne ait reaksiyon ile sağlık etkileri görülmektedir (Bulgakov, 2012) (Nadeem M. I., 2019).



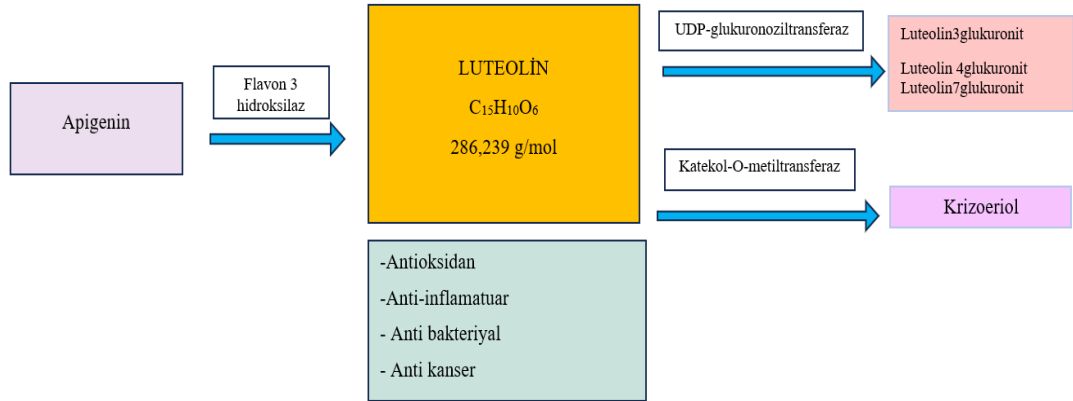
Şekil 2.5 Rozmarinik asitin kimyasal ve biyolojik önemi

Şekil 2.6’da Kafeik asit oluşumu ve dönüşümüne ait reaksiyon ile sağlık etkileri görülmektedir (Magnani C. I., 2014), (Birková, 2020) (Kadar, 2021).



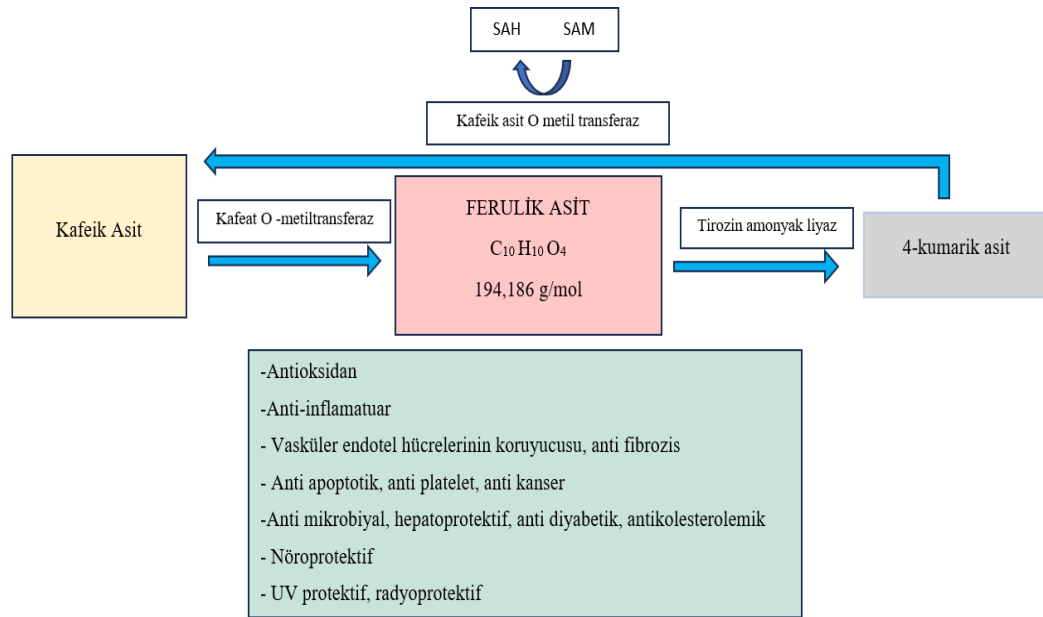
Şekil 2.6 Kafeik asitin kimyasal ve biyolojik önemi

Şekil 2.7’de Luteolin oluşumu ve dönüşümüne ait reaksiyon ile sağlık etkileri görülmektedir (Bangar, 2023).



Şekil 2.7 Luteolinin kimyasal ve biyolojik önemi

Şekil 2.8’de Ferulik asit oluşumu ve dönüşümüne ait reaksiyon ile sağlık etkileri görülmektedir (Paiva, 2013) (Li, 2021).



Şekil 2.8 Ferulik asitin kimyasal ve biyolojik önemi

2.4.2 *Origanum sipyleum* L bitkisindeki anti oksidan maddeler

Çeşitli reaksiyonlar sonucunda oluşan reaktif oksijen radikalleri ile oksidanlar oksidatif stres kaynağıdır. Oksidatif stres organizmadaki dengeyi bozarak yaşlanma ve pek çok

hastalığa zemin hazırlamaktadır. Antioksidan madde olarak bitkide bulunan polifenolik maddeler etkinlik göstermektedir. Fenoliklerin yapısında bulunan -OH grubu antioksidan aktiviteyi belirlemektedir. Fenolik maddelerin enzimlerden pankreatik lipaz, β -glukuronidaz, katalaz, süperoksit dismütaz, peroksidaz etkilemesinin yanı sıra membran yapısıyla ilgili reseptör, iyon akışı üzerinde etkinliği bildirilmiştir (Demirbüker Kavak, 2010) .

2.4.3 *Origanum sipyleum* L. bitkisindeki uçucu yağlar

Herman ve ark. çalışmasında uçucu yağları kimyasal bileşimine, ekstraksiyon metoduna ve aromasına göre sınıflandırmaktadır (Herman R. A., 2019).

- Kimyasal bileşime göre hidrokarbon, -OH, C=O, aldehit, keton, fenol, oksit, ester, fenilpropan, terpen sınıflandırmaktadır. Żukowska' ya göre uçucu yağların bileşenleri aşağıdaki gibi gruplandırılmaktadır (Żukowska, 2024).

-

1.Terpenler ve terpenoidler (örn. limonen, mentol); Asetik asit moleküllerin oluşturduğu mevalonik asit ($C_6H_{12}O_4$) izopentenil pirofosfata ilerleyen süreçte izopentenil bileşiği oluşur. İzopren (C_5H_8) biriminin sayısına göre terpenler mono, di, tri ve tetra olarak isimlendirilir. Şekil 2.8'de terpenoidlerin sınıflandırması görülmektedir.

2.Aromatik bileşikler (örn. sinamaldehyt),

3.Fenoller (örn. timol, öjenol),

4. Alifatik alkoller (örn. linalool, geraniol),

5. Alifatik ketonlar (örn. kafur),

6.Alifatik asit esterleri (asetatlar, propiyonatlar) (Tilkat, 2023) (Devi, 2024)

- Ekstraksiyon metoduna göre buhar distilasyonu, soğuk presleme ve çözücü ekstraksiyonu olarak ayrılmaktadır. Elham Assadpour ve ark. geleneksel ve yenilikçi olarak ayırmıştır (Assadpour, 2024).
- Aromaya göre yapılmaktadır (Herman, 2019).



Şekil 2.10 Aromaya göre uçucu yağların sınıflandırılması

Origanum sipyleum L. bitkisinde tıbbi önemi olan uçucu yağlar vardır. Bitkinin doğal yolla yetişen örneklerde α -pinen, γ -terpinen, p-simen, kariofilen ve karvakrol bileşiklerinin sırasıyla 11,03; 45,46; 24,29; 9,74 ve 13,14 değerlerine karşılık kültür ortamında yetiştirilen bitkilerde α -kadinol, germakren D ve timol bileşiklerinin sırasıyla 23,41; 9,01 ve 48,55 değerleri yüksek bulunmuş. Farklı zamanlarda ve farklı bölgelerde yetişen bitkilerin analiz edilmesi farklılıkların nedeni olabileceği değerlendirilmiştir (Akçam Oluk E.2, 2013) (Erbaş, 2012) (Semiz, 2018).

2.4.5 *Origanm sipyleum* L bitkisindeki elementler

Bitki element ilişkisinin yayınlarda, bitkinin gelişimini etkileyen ve bitkinin yapısında bulunan elementler olarak incelendiği anlaşılmaktadır. *Origanum* türünün gelişimine etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda bitki besleyicileri, farklı element içerikleri, tuz oranı, suyun içeriği, pH gibi faktörlere göre değişiklikler araştırılmış. Bu değişiklikler

bitkinin biyo kütlesi, besin içeriği, uçucu yağ bileşimi, element düzeyi analiz edilerek gözlemlenmiş. *Origanum syriacum* üç farklı yetiştirme koşulunda toprak içeriği ile bitkideki element içeriği analiz edildiğinde topraktaki Cd, Pb ve Ni düzeyleri ile bitkideki düzeyi aralarında doğrusal bir bağlantı olduğu ortaya konulmuştur (Dbaibo, 2020). *Origanum syriacum* L.'nin üç farklı sulamanın (Kimyasal gübre, balık atığı suyu ve her ikisinin karışımı) bitkideki karvakrol miktarına etkisi değerlendirildiğinde balık atığı içeren sulamada karvakrol miktarının yüksek olduğu tespit edilmiştir (Kimera, 2021). *Origanum elongatum* bitkisinin çoğaltılmasında optimum koşulları belirlendiği çalışmada çimlenme NaCl ile ters ilişkili olup pH'nın 6,5-7 olması gerektiği bulunmuştur (Laghmouchi, 2017). İki farklı *Origanum majorana* türünden Kanada çeşidinin Tunus çeşidine nazaran tuza daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (Baâtour, 2012).

Durmuşkahya ve ark. (2016) yaptığı çalışmada *Origanum sipyleum* L. bitkisinin dispersif X-ışını floresansı (XRF) teknolojiye sahip SPectro IQ II cihazıyla yapılan ağır metal ve eser elementler içeriği makro ve mikro element yönüyle gruplandırılarak miktarları belirlenmiştir (Durmuşkahya, 2016). Bitkide element içeriğinin birçok faktöre bağlı olduğu ve bitkideki element kompozisyonu için yapılan değerlendirmelerde element içeriğinin makro element, mikro element ve eser element ile ağır metal düzeyleri olarak gruplandırıldığı anlaşılmaktadır.

2.5 *Origanum sipyleum* L Bitkisindeki Maddelerin Tayin Çalışmaları

2.5.1 *Origanum sipyleum* L bitkisindeki polifenolik madde tayini

Fenolik maddelerin bitkilerden ayrılması ve analiz edilmesiyle ilgili ön işlem, ekstraksiyon, saflaştırma ve analizden oluşan işlem basamaklarıdır (Dai, 2010). TFM miktarının belirlenmesinde kolorimetrik yöntem olan Folin-Ciocalteu deneyinde bazik ortamda CuSO₄ fenolik madde ile birleşir ve ortama konulan FCR fenolik madde ile birleşiminden açığa çıkan Cu(I) spektrometrik renk değişimiyle (Maviden sarıya) izlenir (Pérez, 2023). Diğer bir kolorimetrik yöntem ise Fast Blue BB testinde bazik ortamda 4-benzoilamino-2,5-dimetoksibenzenediazonium-klorür-hemi-[çinko klorür] fenolle bağlanınca diazo bileşiği oluşmaktadır (Siano, 2022).

FCR fenollerin tayini için kullanılmakla birlikte bitkide en çok bulunan fenolik yapılardan dolayı toplam antioksidan kapasiteyi temsil etmektedir (Everette, 2010).

GC’de çeşitli çözücüler kullanılarak elde edilen uçucu özellikteki ekstreler taşıyıcı fazı gaz olan sistemde kimyasal bileşenlerin kolonda alıkonma süresine göre belirlemek mümkün olmaktadır.

Özkan ve ark. (2007) çalışmasında Konya, Seydişehir-Beyşehir anayolundan toplanan bitkinin metil alkoldeki ekstresinin RP-HPLC ile analizde apigenin, kafeik asit, karvakrol, hesperidin, naringenin, rozmarinik asit, rutin ve viteksin sırasıyla $6,81 \pm 1,95$; $3,94 \pm 1,65$; $6,78 \pm 1,53$; $6,71 \pm 1,01$; $4,95 \pm 3,30$; $870,22 \pm 82,66$; $19,47 \pm 1,77$ ve $1017,33 \pm 93,06$ (mg/100 g) düzeylerinde tayin edilmiştir (Özkan, 2007).

Kasha (2018) tarafından yapılan çalışmada Denizli ilindeki Kızılcabölük yolundaki ormanlık alanda toplanan bitkinin etil alkoldaki ekstresi HPLC ile analiz edilerek fenolik içeriği analiz edilmiş. On üç farklı fenolik maddeden kafeik asit, epikateşin, 2,5 dihidroksibenzoik asit ile kuarsetin miktarları $16787,16 \mu\text{g/g}$ ile $2591,22 \mu\text{g/g}$ yüksek bulunmuş. Toplam fenolik madde (Folin-Ciocalteu metotla) ve flavonoid madde (Arvouet-Grand ve diğerlerinin yöntemi) sırasıyla $203,57 \pm 4,62$ mg GAE/g ve $46,98 \pm 0,34$ mg QE/g olarak bulunmuştur (Kasha, 2018).

Semiz ve ark. (2018) tarafından Denizli ilinde toplanan *Origanum* türlerinden dört bitkinin su, metil alkol ve kloroform çözücülerini kullanılarak 6 saat süresince sıcaklığın 50°C olduğu çalkalayıcı kullanılarak elde edilen ekstrelerde ve uçucu yağda yapılan TFM miktarı (Folin-Ciocalteu metotla) ve TFLM miktarı (AlCl_3 kullanılan kolorimetrik metot) bulunan değerler 3,81 ila 47,54 mg GAE/g arasında olup *O. sipyleum* içeriği diğer *O. majorana* ve *O. onitese* göre düşük bulunmuştur (Semiz, 2018).

Origanum sipyleum L. bitkisinde bulunan başlıca fenolik maddeler arasında apigenin, viteksin, hesperidin, rutin, naringenin, kafeik asit, 6-hidroksi kafeik asit, rozmarinik asit, 6-hidroksi rozmarinik asit sayılabilir.

TFM miktarı ve TFLM miktarı belirlemeye yönelik çalışmalarında farklı çözücülerde yapılan denemelerde farklı değerler bulunmuş olduğu görülmektedir.

Nakiboğlu (2007) çalışmasında TFM tayininde sulu ekstraksiyonda $0,147 \pm 0,018$ µg GAE/µg ekstre, metil alkol ekstraksiyonda $0,138 \pm 0,012$ µg GAE/µg ekstre, etil alkol ekstraksiyonda $0,117 \pm 0,011$ µg GAE/µg ekstre ve aseton ekstraksiyonda $0,156 \pm 0,013$ µg GAE/µg ekstre, bulunmuş ve Özkan (2007) çalışmasında metil alkol ekstraksiyonunda $226,66 \pm 1,18$ mg GAE/g kurutulmuş bitki bulmuştur.

Dursun (2016) çalışmasında $8312,59 \pm 3,88$ mg CE/g kurutulmuş bitki, Zengin (2019) çalışmasında çözücü olarak sulu ekstraksiyonda $171,74$ mg GAE/g ekstrakt, metil alkol ekstraksiyonda $123,50$ mg GAE/g ekstre, etil asetat ekstraksiyonda $39,86$ mg GAE/g ekstre olarak bulunmuş. TFM miktarı en yüksek metil alkoldeki çalışmada $226,66 \pm 1,18$ mg GAE/g ekstre ve en düşük etil asetatda $39,86$ mg GAE/g ekstre bulunmuştur (Nakiboğlu, 2007).

TFLM miktarı tayininde Dursun (2016) metil alkolde $641,95 \pm 1,67$ mg CE/g kuru ağırlık miktara karşın Zengin (2019) çalışmasında çözücü olarak su için $33,64$ mg RE/g ekstrakt, metil alkol için $18,26$ mg RE/g ekstre, etil asetat için $39,68$ mg RE/g ekstre olarak tespit edilmiştir. Toplam flavonid madde miktarı ise rozmarinik asit eşdeğeri cinsinden tayin edilmiş ve toplam fenolik madde miktarının aksine etil asetatda en yüksek $39,68$ mg RE/g ekstre ve suda en düşük $18,26$ mg RE/g ekstre bulunmuştur (Dursun, 2016) (Zengin, 2019).

Dursun ve ark. (2016) yaptığı çalışmada *Origanumun* türleri arasında *O. sipyleum* L. için flavonoid içeriği en yüksek olup toplam fenolik yönünden ise *O. onites*'i takip etmektedir (Dursun, 2016).

2.5.1.1 Fenolik madde tayininde kullanılan cihazlar

Fenolik madde UV spektrometre ve HPLC cihazı kullanılarak tayin edilebilmektedir. Analiz edilen çözeltiden geçen ışığın absorpsiyon miktarındaki değişim ile çözelti

derişimi arasındaki ilişkiyi Lambert Beer kanunu açıklamakta ve ölçümler UV spektrometre cihazında yapılmaktadır. UV spektrometre cihazı ışın kaynağı (Döteryum, tungsten, ksenon gibi lambalar), dalga boyu seçici (Filtre veya monokromatör), dedektör (Fotovoltaik, fototüp, fotoçoğaltıcı tüp) ve kaydedici kısımlarından oluşmaktadır. Cam, kuvars ve plastikten yapılmış numune kabı ölçüm yapılacak dalga boyu dikkate alınarak seçilir (Singh D. C., 2021).

HPLC cihazı numune içerisindeki maddelerin özelliklerine göre sabit faza bağlanması (Dağılım katsayısı) içeriğindeki maddelerin farklı zamanlarda dedektöre ulaşmasıyla tanımlama yapılması prensibine dayanmaktadır. Cihazdaki kolon, kolon fırını, dedektör ile tampon çözeltiler, hareketli faz ayırmanın şartlarını belirlemektedir (Rashed, 2020)

2.5.2 *Origanum sipyleum* L. bitkisindeki antioksidan madde tayini

Antioksidan madde tayini in-vitro ve in-vivo olarak ayrılmaktadır. İn -vivo tayin arasında Lipid Peroksidasyon Testi ve LDL Oksidasyon Testi yer alır. İn vitro testler arasında İndüklenen düşük yoğunluklu lipoprotein otoksidasyonunun inhibisyonu, Oksijen radikal absorban kapasitesi, Toplam radikal yakalama antioksidan parametresi, Krosin ağartma, FCR yöntemi ile Toplam Fenol tayini, Troloks kullanılarak yapılan analizler, ABTS Radikal Katyon Toplama Aktivitesi, Ferrik iyon indirgeyici antioksidan gücü, Oksidan olarak Cu(II) kompleksi hesaplanan “toplam antioksidan potansiyeli” analizi, DPPH, O₂ temizleme kapasitesi, H₂O₂ Temizleme Kapasitesi Testi, Peroksinitrit (ONOO-) Temizleme Kapasitesi Testi, OH radikal temizleme kapasitesi ve Singlet Oksijen Toplama Kapasitesi Testi sayılır.

Elektron transferi tabanlı analizler arasında yer alan testlerde indirgendiğinde renk değiştiren bir oksidanın renk değişiminin derecesi, numunenin antioksidan konsantrasyonuyla ilişkilidir.

FCR ile toplam fenol analizinde alkali ortamda bakır sülfat, fenolik madde ile birleşince açığa çıkan Cu(I) spektrometrik renk değişimi (Maviden sarıya) düzeyine göre

değerlendirme yapılırken kalibrasyon standart çözeltisi olarak gallik asitin yanı sıra kateşin, tannik asit, kafeik asit kullanılmıştır (Pérez, 2023).

FRAP, asidik ortamda sarı renkli demir (III) tripridiltriazin varlığında antioksidan ilavesiyle mavi renk izlenmekte değerlendirme troloks eşdeğeri olarak hesaplanmaktadır.

DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) varlığında antioksidan ilavesiyle rengin kırmızıdan sarıya değişimi izlenmiştir (Santos, 2020).

Arzu Kasha'nın (2018) çalışmasında DPPH, ABTS, β -karoten/linoleik asit, fosfomolibden, güç azaltıcı aktivite ve metal şelatlama aktivitesi ölçümlerinde sırasıyla $102,75 \pm 1,6$ (IC50, $\mu\text{g/mL}$), $88,64 \pm 2,1$ (IC50, $\mu\text{g/mL}$), $85,59 \pm 1,2$ (%), $62,95 \pm 1,36$ ($\mu\text{g/mg}$), $0,51 \pm 0,08$ (mg/mL) ve $20,68 \pm 2,6$ (%) değerlerini bulmuş ve güçlü radikal süpürücü aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Kasha, 2018).

Semiz ve ark. (2018) çalışmasında DPPH bulguları su, metil alkol, kloroform ve uçucu yağ için sırasıyla 4188 ± 047 ; $4635 \pm 0,48$; $36,85 \pm 0,35$ ve $4665 \pm 0,49$ (IC50, $\mu\text{g/mL}$) değerleri bulmuştur (Semiz, 2018).

2.5.3 *Origanum sipyleum* L. bitkisindeki uçucu yağların tayini

Erbaş ve ark. (2012) çalışmasında Isparta-Ayazmana (Darıdere mevki)'den toplanan bitki oda sıcaklığında kurutulduktan ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) sonra clevengerde damıtılarak bitkinin açık sarı renkli uçucu yağı süzülüp rotary evaporatörde $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de kurutulmuş, elde edilen uçucu yağ içeriği $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta GC MS cihazında analiz yapılincaya kadar saklanmıştır. Ölçüm bulgularına bakıldığında en çok bulunan γ -terpinen olduğu bildirilmiştir (Erbaş, 2012).

Akçam Oluk ve ark. (2013) çalışmasında Manisa ili Spil Dağı mevki 700 metreden toplanan bitki ile bitkinin in-vitro şartlarda mikro çağaltılmış olanı clevenger distilasyon cihazında destilasyon işlemine alınmış, elde edilen uçucu yağ içeriği sulu fazdan n-

hekzan ile organik faza alınarak GC/GC-MS cihazında analiz edilmiştir. Ölçüm bulguları yabani bitkinin gövde ve çiçek ile mikro çığaltılmış olanın ölçüm bulgularına bakıldığında farklı numunelerde timol, α - Kadinol ve germakren-D yüksek bulunmuştur (Akçam Oluk E.2, 2013).

Semiz ve ark. (2018) yaptığı çalışmada bitkinin uçucu yağ analizinde p-simen, karvakrol ve α -pinen sırasıyla %13,21; %13,14 ve %11,03 olarak bulunmuştur. *Origanum* türleri arasında karvakrol, α -pinen değerleri *O. sipyleum*'da yüksek bulunmuştur (Semiz, 2018).

2.6 *Origanum sipyleum* L. Bitkisinin Sağlık Etkileri

Akçam Oluk ve ark. (2013) yabani ve mikroçoğaltılla üretilen bitkinin Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) testi için bakteri ((*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. ve C. albicans*) ile mantar (*C. Albicans*) mikrodilüsyon testi ile yapılan çalışmada farklı şartlarda yetiştirilen bitkiye ait uçucu yağlarının antimikrobiyal olarak etkinliği vardır denilmektedir (Akçam Oluk E.2, 2013).

Semiz ve ark. (2018) yaptığı çalışmada hastanelerde biyofilm kaynaklı enfeksiyonlarına yönelik gram pozitif ve negatif bakterilere karşı üç farklı derişimdeki uçucu yağlar (50, 25 ve 12,5 mg/ml) için etkinlik % inhibisyon olarak değerlendirilmiş ve *S. aureus*, *M. luteus*, *E. faecalis*, *E. cloacea*, *S. tpyhimurium*, *P. fluorescens* 50 mg/ml de %50 üzerinde inhibisyonun gözlendiğı bildirilmiştir (Semiz, 2018).

Zengin ve ark. (2019) tarafından yapılan ex vivo çalışmada *Origanum sipyleum*'un farklı çözücülerdeki (Etil asetat, metil alkol ve su) ile hazırlanan ekstreleri sıçan örneklerine uygulanarak kolon pro-oksidan ve pro-inflamatuar biyobelirteçlerini azaltmada etkili olduğu gösterilmiş. Aynı zamanda anti bakteriyel ve anti mikotik etkinlik çalışmasında *C. albicans*, *C. tropicalis*, *S. aureus* ve *S. thyphimurium* dahil olmak üzere ülseratif kolitte yer alan mantar ve bakteri türlerini inhibe edebildiğı ortaya çıkmıştır. Son olarak, etil

alkol ekstrelerinin insan kolon kanseri HCT116 hücre hattı üzerinde uygulandığında antiproliferatif etkileri de gösterilmiştir (Zengin, 2019).

Origanum sipyleum L. bitkisinde bulunan kimyasal bileşiklerden fenolik maddelerin biyolojik açıdan önemli bilinmektedir.

Origanum spiyleum L. bulunan fenolik maddelerin biyolojik etkileri:

Epikateşin, diyetle ortalama $15,2 \pm 7,7$ mg/gün alımında kalp damar hastalığı olan yaşlı bireylerde hastalığa bağlı ölümleri %46 azalttığı gösterilmiştir (Dower, 2016). Diyabet ve kanserde teropatik etki mekanizması tam bilinmemekle beraber tedaviye katkı sağladığı bildirilmiştir (Abdulkhaleq, 2017) . AKT/mTOR yol sinyalizasyonu ve mitokondriyal biyosentez indüksiyonunu uyardığı gösterilmiş ancak kas atrofisinin tedavisine yönelik klinik çalışmalarla doğrulanması gerektiği bildirilmiştir (German, 2024). Kolorektal kanser tedavisinde kurkumin ile sinerjik etkili olduğu (Razavi, 2024) değerlendirilmiştir. 2,5 dihidroksibenzoik asit, kalp hücresine toksik olmayan alımlarda metformine benzer etki göstermiştir (García-Díez, 2024).

Apigenin, anti kanser, antioksidan ve antiinflamatuvar özelliklerine rağmen oral biyoyararlanımı düşüktür (Allemailem, 2024). Yaşlanmayı önleme ve uykuya olumlu katkısı (Kramer, 2024) olmuştur. Karaciğer kanseri tedavisinde Sorafenib ile kombinasyonunda etkinlik artışı, toksisitede azalma gözlemlenmiştir (Singh D. K., 2024).

Rutin, meme kanseri hücrelerinde seçici olarak DNA hasarı oluşturmaması iyi ve kötü huylu ayrımını yapabilmesi (Pravin, 2024) ve bazı üreme bozukluklarının önlenmesi ve yumurtalık fonksiyonlarının düzenlenmesi için umut verici olarak gösterilmiştir (Sirotkin, 2024).

Viteksin, kemik ile ilgili olan C3T3-E1 hücre proliferasyonunu ve osteogenik farklılaşmayı önemli ölçüde destekleyebileceği ve glukokortikoid olan deksametazon kaynaklı MC3T3-E1 hücrelerinin farklılaşma ve mineralizasyonunun inhibisyonunu

azaltılabileceği kemik hastalığının önlenmesi ve glukokortikoid kaynaklı osteoporozun önlenmesinde umut verici olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (GU, 2020).

Kuarsetin, kan basıncı, diyabet, hiperlipidemi ve obezite gibi metabolik sendromun bazı risk faktörlerin azalttığı (Wang, 2016) birçok kanser türünün in vivo ve in vitro çalışmalarında etkin olduğu (Rauf, 2018) ve geniş antiviral etkilik gösterdiği (Di Petrillo, 2022) bildirilmiştir.

Karvakrol, antioksidan, antikanser, diyabet önleme, kalp koruyucu, obezite önleyici, karaciğeri koruyucu ve üreme rolü, yaşlanma karşıtı, antimikrobiyal ve bağışıklığı uyarıcı özelliklere sahiptir denilmektedir (Imran, 2022) (Khazdair, 2024).

Naringenin, nöron yıkımıyla giden hastalıklarda (Atoki, 2024), kolorektal kanserde (Zamanian, 2024), uzamış COVID'e karşı koruyucu (Liu, 2024), antiinflamatuvar, antioksidan, antiapoptotik, anti-doku fibrozu ve hipolipidemik özellikler (Peng, 2024) göstermektedir.

Hesperidin, nöroprotektif, kardiyoprotektif, hepatoprotektif, antidiyabetik, anti-ülser, anti artrit, antikanser, yara iyileşmesi, yaşlanma karşıtı etkilere sahiptir (Bansal, 2024).

Origanum spiyleum L. bulunan uçucu yağların biyolojik etkileri:

α -pinen, antibakteriyel, antifungal, anti-leishmania, antiinflamatuvar, antioksidan, nöroprotektif, gastroprotektif, antiapoptotik, apoptotik, antitümör, antimetastatik, böcek öldürücü, nematisidal etkilidir (Allenspach, 2021) .

α -Terpineol, kalp ve damar için koruyucu, antioksidan, antikanser, anti nosiseftif, anti ülser, antikonvülsan ve sedatif, antibronşit, cilt penetrasyonunu arttırmada ve insekdisidal etkilidir (Khaleel, 2018).

γ -terpinen, tromboembolik hastalıklar için umut verici (Souza, 2024), beyinde apoptoz ilişkili genlerin ve proteinlerin düzenlenerek iskemiğe karşı koruyucu (Khoshnazar, 2024) ve tümör kaynaklı ağrıyı azaltıcı olduğu (Pina, 2024) bildirilmiştir.

p-simen, γ -Terpinenin oksidatif dehidrojenasyonundan oluşur. Antioksidan, anti-inflamatuvar, antiparaziter, antidiyabetik, antiviral, antitümör, antibakteriyel, antifungal, analjezik, antinosiseptif, immünomodülatör, vazorelaksan ve nöroprotektif etkili olduğu (Balahbib, 2021) bildirilmiş. Kanser tedavisinde, γ -terpinenin ve p-simenin antiproliferatif etkileri hedefli kanser tedavisi için araştırılmaktadır (Baginska, 2023).

Linalool, anti-inflamatuvar, kalp damar üzerine (anti hiperlipidemik, anti-hipertansif) çeşitli hastalıklarla ilgili (alerjik dermatit, atopik dermatit, psoriasis, romatoid artrit, astım, Parkinson ve alzheimer) gastroprotektif, kardiyoprotektif ve nöroprotektif ile antimikrobiyal ve anti-kanser etkileri (Singh S. &, 2024) bildirilmiştir.

Karyofilenin klinik öncesi verilerinde Streptococcus enfeksiyonlarına etkili, osteoporoz, steatohepatit'te potansiyel olarak yararlı ve antikonvülsan, analjezik, kas gevşetici, sedatif ve antidepresif etkili olduğu vurgulanmıştır (Francomano, 2019). Bisiklik seskiterpen β -karyofilenin çok iyi bir anti-inflamatuvar ve antioksidan terapötik ajan olabileceği (Ricardi, 2024) bildirilmiştir.

Germakren D, koku endüstrisi için önemli bir (Sharma, 2024) bileşik olup virüsleri taşıyan vektörlere karşı (Al-Ghanim, 2023) böcek öldürücü etkisi bildirilmiştir.

Origanum spicileum L. bulunan elementlerin biyolojik etkileri: İçerisinde bulunan elementlerin alımından kaynaklanan sağlık etkileri hesaplanmıştır.

2.7 Ektraksiyon

Rice ve ark. yayınından referansla Ektraksiyonda Kullanılan Terimlerin Sözlüğü'ne göre (IUPAC Tavsiyeleri 2016) "hedef analitin bir fazdan daha fazla işleme ve analizin

gerçekleştirdiği farklı bir faza aktarılması” olarak tanımlanmaktadır (N. M. Rice, 1993) (Poole, 2016).

Craig’e göre analitik yöntemle beraber bir ayırma aracı seçilirken dikkat edilecek faktörler arasında başarının kolaylığı ve hızı, gerekli numune miktarı, genel uygulanabilirlik, elde edilebilecek nihai genel seçicilik, farklı çözünen madde oranlarından veya yabancı madde varlığından bağımsız olarak tekrarlanabilirlik ve aynı anda izole edilecek veya belirlenecek çözünen madde sayısı olarak sıralamıştır (Craig, 1956)

Sıvı sıvı ekstraksiyonda ekstree edilecek madde sıvı fazdan sıvı faza geçirilmektedir. Bu sıvılar birbiri içerisinde az veya hiç çözünmediği için karışmaz, su ile kloroform gibi. Sıvı fazlar arasında kütle aktarımıyla maddenin geçişi olmakta ve yoğunluk farkından yararlanarak sıvıların ayrımı yapılmaktadır. Ayırma hunisinin yanı sıra sürekli sıvı ekstraksiyon düzeneği ile Craig ekstraksiyonu örnekleri bilinmektedir (Atak E. &, 2018) (İstanbul Üniversitesi, 2024).

Katı sıvı ekstraksiyonunda katı fazda bulunan ve sıvı faza geçmesi istenen maddenin çözücü tarafından çözülmesi, katı yüzeyine ilerlemesi ve çözücüye ulaşması aşamalarından geçer. Burada geçen maddenin partikül boyutu, diffüzyon katsayısının yanı sıra laminar film tabakasının kalınlığı etkilidir denilmektedir (Şenol, 2003)

Ekstraksiyon hızını arttıran ve azaltan faktörler Şekil 2.10’de gösterilmektedir (Sarıtaş, 2018).



Şekil 2.11 Ekstraksiyon hızını etkileyen faktörler

2.7.1 Bitkiden polifenollerin ekstraksiyonu

Sridhar ve ark. göre bitkiden ekstraksiyonla bileşiğin ayrılması için yapılacak işlemler üç aşamalıdır: Ön işlem, ekstraksiyon ve aktif madde eldesi (Sridhar, 2021) sayılmıştır. Polifenolik maddelerin ekstraksiyonunda geleneksel ve yenilikçi metotlar uygulanmaktadır. Geleneksel metotlar arasında kaynatma, sokselet ekstraksiyon, perkolasyon, ısı geri akışı ekstraksiyon ve maserasyon yer almaktadır. Yenilikçi metotlar arasında ise mikrodalga destekli ekstraksiyon, ses ötesi destekli ekstraksiyon, yüksek voltajlı elektrik deşarjı ekstraksiyon, süperkritik CO₂ /sıvı ile ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon, darbeli elektrik alanı ekstraksiyon, membran ekstraksiyon ve kapsülleme sayılmaktadır (Sridhar, 2021).

Perkolasyon: Koni veya silindirik şeklindeki kabın en üstten başlayarak bitkideki faydalı bileşiklerin ayrılmasını sağlayacak çözücünün bulunduğu kısımdan itibaren çözücü bitki arasındaki bariyer kağıt veya kumdan olabilir. En altta ise bitkiyi tutan çözücüyü geçiren tabaka düzeneği vardır ve ekstre buradan süzülerek alınır.

Kaynatma: Kap içerisinde çözücüyle bitki kayatılıp süzülür. Bitki çayları ve tentürler için.

Isı geri akışı ekstraksiyon: Sıcaklığın kontrol edilerek çözücünün sürekli olarak çevrimini esas alan bir tekniktir.

Sokselet ekstraksiyon: Isıtılan çözücü buharı sokselet aparatına yerleştirilen bitkiye yoğunlaşarak temas eder. Katıdan çözdüğü ile birlikte altta bulunan cam balona süzülür. Sokselet ekstraksiyonu düzeneğinde ekstree edilecek bitkinin özel bir kap içerisine konularak düzeneğin içine yerleştirilir. Katı veya yarı-katı örneklerle uyumludur. Sokselet ekstraksiyon sistemleri, bilinen en eski ayrıştırma yöntemlerinden olup günümüzde önemini hala sürdürmektedir, kullanımı yaygındır. Sokselet ayrıştırma düzeneği, alt kısımda çözücünün konulduğu cam balon, balona oturtulmuş bir tarafında sifon görevi yapan eklentinin olduğu cam boruda ekstree edilecek bitkinin bulunduğu özel imal kap bulunur. Ortadaki sifonlu cam boruyu takiben camdan yapılmış düz soğutucu ve buna bağlı su sistemi vardır. Alttaki çözücünün bulunduğu cam balon ısıtılınca çözücü buharı yükselerek katı numunenin olduğu kaba ulaşır ve katı içerisinde ekstraksiyon işlemi başlar yükseln buhar yukarıda yoğunlaşarak bu kısma geri döner ve sifon seviyesine ulaşan çözücü yan taraftan alttaki çözücü balonuna geri döner (Büyüktuncel, 2012).

Maserasyon: Ezilen üzümün şarap için belirli şartlarda bekletilmesinin yanı sıra bazı bitkilerin sıvı yağ içerisinde bekletilmesi sonrasında süzülerek sıvı kısmın ayrılmasıdır.

Ses ötesi dalga (Ses ötesi) destekli ekstraksiyon: Ses ötesi dalgalar sayesinde bitkilerin dış çeperinde yer alan yapının tahrip edilmesi ile bitkinin iç bölgelerindeki biyolojik bileşenler, geleneksel yöntemlere nazaran ekstraksiyon çözücü ortamına madde aktarımının daha kısa zamanda ve yüksek miktarda fayda sağlandığından ses ötesi dalga destekli yöntemin üstün olduğu kabul görmektedir. Bu yöntem sayesinde elde edilen aktif bileşenlerin miktarı da yüksektir. Bu yöntemin uygulamada ultrasonik banyo adıyla yaygın kullanılan çözücülere dayanıklı metalden imal ekipman sistemi yaygın kullanılmaktadır. Bu cihazların çözücü ortamının ısıtılması amacıyla ilave düzeneği de mevcuttur (Şengül, 2019).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon: Mikrodalga ısıma enerjisi dipol momente sahip çözücülerde daha fazla ısınmaya neden olur. Çözeltilerin ısıtılması ekstraksiyon için geçen sürenin ve çözelti sarfiyatında düşürülmesini sağlar. Bitki materyallerinde salgı bezi ve damar sistemlerinde bulunan serbest su molekülleri ile seçici olarak etkileşime gireceği bildirilmiştir (Jocelyn Paré, 1997) . Bölgesel ısınmaya yol açar ve sıcaklık, suyun kaynama noktasının yakınında veya üzerinde hızla artar. Bu nedenle, bu tür sistemler, uçucu yağın organik çözücüye doğru geçişini sağlayan bitki hücre duvarlarının tahrip eder. Ekstraksiyon çözücüsünün matrise yayıldığı ve bileşenleri çözündürerek çıkardığı klasik çözücü ekstraksiyonundan oldukça farklıdır. Mikrodalga enerjisi ile iyonik iletimle dipol moment değişikliği ile etki etmektedir (Kalender, 2023). Bu tekniğin yüksek çözücü afinitesine daha az bağımlı olması farklı çözücülerin kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Camel, 2000).

Süperkritik akışkan ekstraksiyon: Süperkritik faza geçen CO₂ çözücü özelliği kazanmakta olup kurutulmuş bitki ile temas ettiğinde bitkiyi çözerek içerisindeki bileşikleri çıkışa sürüklemektedir. Kapalı bir sistem içerisinde sıcaklık ve basıncın kontrol edildiği bu tekniktir.

Yüksek voltajlı elektrik deşarjı ekstraksiyonu: Çözelti ortamına konulan elektrotlar ile ön parçalama ve parçalama olmak üzere iki aşamada enerji vererek bitkinin içerisindeki bileşiklerin çözeltiliye geçmesini sağlamaktadır.

Darbeli elektrik alanı çıkarma: Elektrotlar yardımıyla oluşturulan manyetik alanda bitki ile çözücü sistemi etkileştirildiğinde ayrıştırılma işlemi gerçekleşir.

Enzim destekli ekstraksiyon: Bitkinin hücre duvarının enzimle (selüloz, proteaz, pektinaz) parçalanması sonucu düşük sıcaklıkta uygulanan bu teknikte ekstrenin verim ve kalitesinde artış sağlamaktadır.

Membran ayırma: Konsantrasyon farklılığı gibi durumlarda membran yardımıyla ayrılmayı sağlamaktadır. Geri kazanımın sağlanması, çok az çözücü kullanımı gibi avantajları olan bu teknikte membran kirlenmesi önemli bir sorundur.

Katı Faz ekstraksiyonu zaman alıcı ve çözücü sarfiyatı yüksek olmasına karşın ses ötesi destekli ekstraksiyon hızlı ve endüstriyel düzeyde uygulanabilir, enerji tasarruflu, ısıya dayanıklı bileşiklere uygulama kolaylığı, kolay, hızlı ve basit uygulanabilir yöntemdir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ısıya dayanıklı fenolikleri eldesine karşılık enerji tüketimi yüksektir (Lama-Muñoz, 2022).

2.7.2 *Origanum sipyleum* L bitkisinden farklı ekstraksiyon yöntemleriyle polifenolik maddelerin ayrılmasına yönelik yapılan çalışmalar

Özkan ve ark. (2007) yaptığı çalışmada ses ötesi banyoda metil alkol çözücü ile bitkinin ekstraksiyonu yapılmış, Ters faz-HPLC fenolik tayini için 278 nm dalga boyunda asetik asit-metil alkol-su yürütücü faz olarak kullanılmış, apigenin, karvakrol, hesperidin, naringenin, rutin ve viteksinin mevcut olduğu tespit edilmiş olup antioksidan madde miktarı ile 15 farklı bakteri üzerinde etkinlik denemesi yapılmıştır (Ozkan, 2007).

Şahin ve ark. (2007) kekik, defne ve biberiye esansiyel (uçucu) yağlarının eldesinde çözücü mikrodalga ekstraksiyonu, mikrodalga yardımcı ekstraksiyon ve süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu karşılaştırdığı çalışmasında kekik ve defne ile biberiye için farklı ekstraksiyon tekniklerini karşılaştırmıştır. Mikrodalga gücü olarak 622W- 249 W aralığında dört farklı seviyede çalışma gerçekleştirilmiş. GC-MS uçucu yağ analizi, Güçlendirilmiş ABTS Radikal Katyonu Yöntemi, DPPH, Linoleik Asit Oksidasyonu Yöntemi ve Antimikrobiyal aktivite testleri uygulanmıştır (Şahin, 2007).

Durmuşkahya ve ark. (2016) çözücü olarak su kullanılarak ekstre elde etmiş ve elementlerin X-ışını floresens spektroskopik analizini yapmıştır (Durmuşkahya, 2016).

Dursun ve ark. (2016) mikrodalga sisteminde elde ettikleri ekstrelerdeki element analizi bitkinin potasyum yönünden zengin olduğu değerlendirilmiştir (Dursun, 2016) .

Semiz ve ark. (2018) çalışmasında metil alkol ve kloroform çözücülerini ile elde edilen ekstraktlarda β -karoten ağartma, DPPH, CUPRAC, antikolinesteraz analizleri yapılmış. Clavanger destilasyon kullanılarak elde edilen uçucu yağın kimyasal analizi yapılmış ve uçucu yağların biyofilm üzerine etkinliği test edilmiştir (Semiz, 2018).

Zengin ve ark. (2019) Manisa (Spil Dağı) bölgesinden temin edilen bitkinin üç farklı çözücü ekstraktlarında (100 mL etil asetat, metil alkol ve su infüzyon tekniği uygulanarak 20 dakika kaynatılarak elde edilen ekstraktlar liyofilizatör ile kurutulup +4 °C'de analize kadar saklanmış) kimyasal ve mikrobiyolojik testler yapılmıştır. UHPLC fenolik tayini, antioksidan deneylerden Fosfomolibden, DPPH, ABTS, CUPRAC, FRAP, Metal şelatlama aktivitesi, enzim inhibitör analizlerinden AChE, BChE, Tirozinaz, Amilaz ve Glukozidaz yapılmıştır. Toksikite denemesi tuzlu su karidesi ile, LDH tayini, 5-HT düzeyi tespiti, insan kolon kanseri HCT116 hücre etkinlik denemesi yapılmıştır (Zengin, 2019).

Özer ve ark. (2020) altı farklı *origanum* türünün üç farklı çözücü kullanılarak aşamalı ekstraksiyonu ile elde edilen farklı dört ekstraktın kimyasal analizleri gerçekleştirilmiş. Clevenger cihazı kullanılarak hidrodestilasyonla elde ettiği uçucu yağların da tespiti yapılmıştır (Özer, 2020).

2.7.2.1 *Origanum* türlerinin ekstraksiyonuna ait değerlendirmeler

Origanum sipyleum L. bitkisinin ekstraksiyon işlemlerine ait deneysel tasarım çalışmasına ait literatür bilgisine ulaşamamış olup; *Origanum* türlerine ait literatür özetleri aşağıda verilmiştir.

Şahin ve ark. kekik hidrodistilasyon, mikrodalga yardımcı ekstraksiyon ve süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu karşılaştırdığı çalışmada kekik ve defne için çözücü kullanılmayan mikrodalga ekstraksiyonu ile uçucu yağ eldesinde verim değerlendirmesi yapmıştır. Hidrodistilasyonda süredeki artışla birlikte oksijenli bileşenler ve seskiterpenler artış gözlenmiştir. Süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonda süreyle beraber monoterpen hidrokarbonlarda azalmaya karşın oksijenli bileşenlerde artış olduğu tespit edilmiştir (Şahin, 2007).

Rodríguez-Meizoso ve ark. yaptığı çalışmada Murciana de Herboristeria'dan (Murcia, İspanya) toplanan *Origanum vulgare* L. kritik su altı çözücü ekstraksiyonu farklı sıcaklıklarda tek ve ardışık ekstraksiyona alınıp bulguları değerlendirilmiş. 30 dakikalık sürede ve ardışık 15 dakikalık süreyle ekstraksiyon sıcaklığı 25°C ile 200°C aralığında belirlenmiş. EC₅₀ (µg/ml) değeri ile toplam fenolik madde tayininde bekleme süresi ve sıcaklık artışı sonuçlarda azalmaya verim % artışa neden olmuştur (Rodríguez-Meizoso, 2006).

Toplam fenollerin ayrı sıcaklıklarda gerçekleştirilen ekstrelerdeki benzer olması ve bu verilerin antioksidan aktivite ile korelasyon göstermemesi durumunda bile, farklı koşullarda ekstrelenen farklı flavonoidlerin yapısının nihayetinde tüm ekstreün antioksidan aktivitesini belirleyeceğini düşünmektedir. Yılmaz ve ark. yaptığı çalışmada Muğla ilinin Menteşe ilçesinden toplanan bitkilerden *T. spicata* var. *spicata* ve *O. onites* çözücü ekstraksiyonu ile ses ötesi ekstraksiyon karşılaştırması yapılmıştır. Sıcaklık 40°C, süre 3 saat ve çözücü ve katı madde için 60/1 oranı tasarlanmış ve çözücü ekstraksiyonuna kıyasla ses ötesi destekli ekstraksiyonun üstün olduğu anlaşılmıştır (Yılmaz, 2019).

2.8 Genel Kemometrik Uygulamalar

Birçok kullanım alanı olan kemometri bu tez çalışmasında deneysel tasarım, modelleme, optimizasyon amacıyla kullanılacaktır. Deneylerle ilgili optimal şartları belirlerken maliyet, zaman ve işlevsellik için deneysel tasarım yapılması yolu seçilmiştir.

2.8.1 Tıbbi bitkilerde kemometrik çalışma örnekleri

Karakaya ve ark. (2011) tarafından *Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* bitkisini üç farklı ekstraksiyon yöntemi kullanarak (çözücüsüz mikrodalga ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve geleneksel hidrodistilasyon) elde ettiği uçucu yağlar üzerinde antioksidan ve antimikrobiyal (*L. monocytogenes*, *S. typhimurium*, *E. coli* ve *S. aureus*) etkinlik denemeleri yapılmış. Hidrodistilasyon ile ekstrakte edilen uçucu yağların çözücüsüz mikrodalga ekstraksiyonu ile elde edilen örneklerle göre daha yüksek

antioksidan kapasitesine sahip olduğu bulunmuştur. Farklı mikrodalga güç seviyelerinde benzer antioksidan değeri bulunmuştur (Karakaya, 2011).

Teofilović ve ark (2017) *Ocimum basilicum* L. farklı çözücülerle (Su, metil alkol, kloroform, hekzan ve diklorometan) değişik boyutlardaki (0,3 mm ve 2 mm) bitki farklı ekstraksiyon sürelerinde (10 dakika ve 30 dakika) ekstraksiyon edilmiş. TFM, TFLM ile TAA-D, radikal inhibisyonu IC50 değerlerine hiyerarşik küme analizi ve temel bileşen analizi uygulandığında süre, çözücü polaritesi ve bitki boyutu artışının, fenolik bileşen içeriği ve antioksidan düzeylerinde artışa neden olduğu görülmüş. En yüksek antioksidan değeri konsantrasyon etil alkol ve metil alkol maserasyonu ile elde edilmiştir (Teofilović, 2017).

Nutrizio ve ark. (2021) *Origanum vulgare* L. bitkisi yüksek voltajlı elektriksel deşarj plazması kullanılan ekstraksiyonda parametreleri plazma üretimi için argon ve azot, voltaj, frekans, darbe süresi ve işlem süresinin STATGRAPHICS yazılımında optimize edilmesiyle belirlenen şartlarda elde edilen ekstraktlarda fenolik maddeler, TFM ve TAA-D miktarları belirlenmiş. Teorik ile uygulamanın uyumlu olduğu, etil alkolün suya göre biyolojik aktif maddeleri çözme gücünün yüksek olduğu gösterilmiştir. Yüksek voltajlı elektriksel deşarj plazmasının ekstraksiyonda kullanılması ekstraksiyon verimindeki artıştan dolayı biyolojik aktif maddelerin ekstraksiyonunda kullanılmasının önemli olduğu ortaya konulmuştur (Nutrizio, 2021).

Muzolf-Panek ve Stuper-Szablewska (2021) çalışmasında kekik, mercanköşk, biberiye gibi bitkilerde bulunan fenolik madde içeriği ile antioksidan kapasitenin çözücü ve ekstraksiyon süresi ilişkisini araştırdıkları çalışmada kemometrik yaklaşım kullanılarak optimum ekstraksiyon için %50 sulu etil alkol ile 24 saatlik sürede toplam fenolikleri ve antioksidan aktiviteyi sağladığı anlaşılmıştır (Muzolf-Panek, 2021).

Panagiotidou ve ark. (2024) *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* bitkisindeki fenolik maddelerin ekstraksiyonu için geleneksel çözücü ekstraksiyonundan farklı olarak daha etkin süre çözücü ekstraksiyonunun optimizasyonuna yönelik çalışmada ekstraksiyon koşulları, RSM uygulanarak optimize edilmiş. Üç bağımsız değişken belirlenmiş ve metil alkol konsantrasyonu, statik zaman ve ekstraksiyon sıcaklığı yanıt değişkenleri

üzerindeki etkileri (ekstraksiyon verimi, TFM), TFLM, ABTS ve TAA-D merkezi bir bileşik tasarım (CCD) oluşturulmuş. Bağımlı değişkenlere 2. matematiksel model uygulanıp elde edilen veriler varyans analizi yapılmış. %95 güven düzeyinde deneysel faktörlerden (zaman, sıcaklık ve çözücü derişimi) ekstraksiyon verimi, TFM, TFLM ve TAA-D ile ABTS olmak üzere beş cevap için değerlendirme yapılmıştır (Panagiotidou, 2024).

2.9 Optimizasyon

Optimizasyon deneysel veriler kullanılarak deneyin bu verilere deney üzerinde hangi faktörlerin en yüksek düzeyde etkinliğinin olabileceğinin tespitinin yanı sıra bu etkilerin matematik olarak model denkleminin oluşturulmasının sağlar. Optimizasyon tarama tasarımları ile elde edilen cevap faktörleri içerisinde en uygun olduğu değerlendirilen bilgiye ulaşılması faaliyetidir.

Tarama tasarımı ve optimizasyon sonucu deneye etkisi olduğu düşünülen etkinin büyüklüğünün uygulama verileriyle ve matematiksel işlemlerle gösterilmesinden sonra teorik olarak beklenen sonucun deneysel olarak gerçekleştirilip gerçekleştirilemediği kontrol edilmektedir (Özçelik, 2013).

2.9.1 Tıbbi bitkilerde ekstraksiyona yönelik optimizasyon çalışma örnekleri

Hossain ve ark. (2012) *Origanum majorana* L. bitkisinin ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktlarda Rozmarinik asit, luteolin, apigenin, kafeik asit, karnosik asit ve karnosol gibi fenoliklerle toplam fenolik madde ile anti oksidan madde miktarı üzerinden optimizasyon çalışmasında genlik, süre ve sıcaklık parametrelerine göre yaptığı denemede yanıt yüzey metodolojisi kullanarak her bir analiz için farklı değerler elde edilmiş. Örneğin TFM için 60,60 µm (genlik), 34,84 °C (sıcaklık), 14,80 dakika (süre) optimal olarak bulunmuştur (Hossain, 2012).

Majeed ve ark.(2016) *Origanum vulgare* L bitkisinin ekstraksiyonu sayesinde ekstrelerde TFM ile TAA-D üzerinden optimizasyon çalışmasında çözücü derişimi, çözünen:çözücü oranı, süre ve çözünen partikül boyutu parametrelerine göre yaptığı denemede merkezi bileşik döndürülebilir tasarıma dayalı yanıt yüzey metodolojisi kullanarak üç farklı düzeyde optimal için %70 çözücü derişimi, 20 katı oranında çözünen:çözücü, 16 saat süre ve 20 mikron çözünen partikül boyutu olarak değerlendirilmiştir (Majeed, 2016).

Baranauskaitė ve ark. (2016) *Origanum* türlerine ait bitkilerinin ultrason destekli, ısı-reflü, sürekli karıştırma, maserasyon, perkolasyon ekstraksiyon ile elde edilen ekstrelerde çeşitli fenolik maddelerin verimi üzerinden optimizasyon çalışmasında çözücü türü, çözücü derişimi, çözünen/çözücü oranı, süre ve sıcaklık parametrelerine göre yaptığı denemede karvakrol, rozmarinik, oleanolik ve ursolik asit için HPLC’de yapılan analizlerden elde edilen sonuçlara göre perkolasyonda en düşük olduğu bulunmuştur (Baranauskaitė, 2016)

Nabet ve ark. (2019) *O. glandulosum* ve *T. fontanesii* bitkilerinin MDDE ile elde edilen ekstrelerde TFM ile TAA-D ve ekstraksiyon verimi üzerinden optimizasyon çalışmasında çözelti derişimi, süre ve sıcaklık optimize etmek için yanıt yüzey metodolojisi yanıt yüzey metodolojisi kullanarak *O. glandulosum* için %100 su, 42 °C ve 2 dakika ve *T. fontanesii* %50 metil alkol, 150 °C ve 9,5 dakika yanıt değerleri bulunmuştur (Nabet, 2019)

Sarakatsianos ve ark. (2020) *Origanum vulgare* bitkisinin bulunduğu üç bitkinin mikrodalga ekstraksiyon ile elde edilen ekstrelerinin optimizasyon çalışmasında çözelti derişimi ve türü, bitki / çözücü oranıyla mikrodalga uygulama süresi optimize edildiğinde H₂O <Su/metil alkol oranı 20/80 (v/v) <Su/ Etil alkol oranı 40/60(v/v) <Metil alkol <Etil alkol sırasıyla yanıt değerleri belirlenmiştir (Sarakatsianos, 2020).

Panagiotidou ve ark. (2024) *Origanum vulgare* ssp. *Hirtum* bitkisindeki hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonunun optimizasyonu çalışmasında çözücü derişimi, süre ve sıcaklık için iki farklı düzey için MCT’la fenolik maddelerin miktarına göre değerlendirme yapılmış ve %74 metil alkol konsantrasyonu, 9 dakikalık ekstraksiyon süresi ve 140 °C ekstraksiyon sıcaklığı bulunmuştur (Panagiotidou, 2024).

2.10 Deney Tasarımları

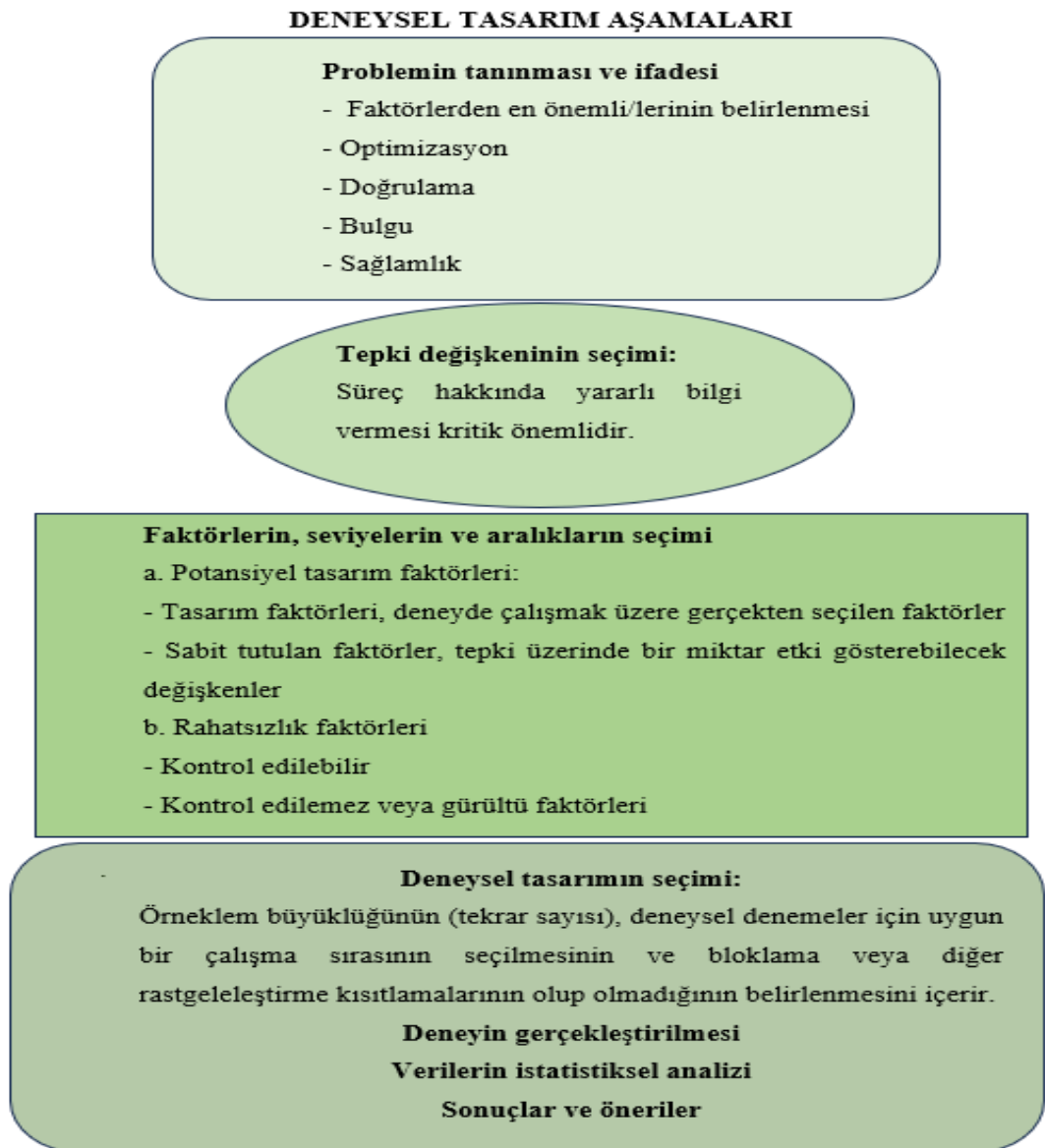
Bir deneyin sonucu üzerinde etkisinin olabileceği düşünülen çeşitli etkilerin düzeylendirilmesiyle deneyin sonucundaki değişikliğin gözlemlenmesi ve matematiksel ve istatistiksel analiz edilmesi işleminin bütünüdür. Bu işlem deney hatalarını azaltmak amacıyla deneyde rastgeleleştirme ile sağlanmaktadır. Deneysel tasarım rastlantısallığı sağlamak, cevapların oluşturulmasındaki tesir seviyelerinin tespit edilmesi, etkenler arasındaki bağlantıları belirlemesi ve etkin verimlilikle doğruyu temsil edebilen kavrayışa ulaşabilmeyi sağlar. İyi tasarlanmış deneyler genellikle bir sistem performansı modeline yol açabilir; bu tür deneysel olarak belirlenen modellere ampirik modeller denir.

Günümüzde genellikle deneylerin gerçekleştirilmesindeki aşamaların ve sistemlerin verimliliğinin incelemesinde yararlanılmaktadır. Burada yürütülen planlı faaliyet deney sistemine bir girdiyi (bu tez için bitki örneği) bir veya daha fazla gözlemlenebilir yanıt değişkenine sahip bir çıktıya (veriler kullanılarak elde edilen kantitatif madde miktarlarına ait sonuç değerleri) çeviren eylemler, işlemler, cihaz, modelleme, yöntemler, vb. bir birleştirmesi olarak ele alınabilir, görünür hale getirilebilir (Dean, 1999).

Sürecin kontrol edilebilir ve edilemeyen değişkenleri olabilir. Deneyi planlama ve yürütme konusundaki genel yaklaşıma deney stratejisi denir. Deney tasarımcısı faktörleri belirlerken deneyimine dayanarak bazılarının daha önemli olduğuna karar verebilir. Birkaç faktörle başa çıkmanın doğru yaklaşımı faktöriyel deney yapmaktır. Bu, faktörlerin birlikte ele alındığı deneysel kapsamlı bir çalışmadır.

Deneysel tasarımın ilkeleri arasında rastgeleleştirme, tekrarlar ve bloklama ve bazen faktöriyel ilkesi yer alır. Deneysel materyalin ayrılması ve deneyin yapılış sıranın rastgele belirlenmesi rastgeleleştirmedir. Tekrarlar ile her faktör kombinasyonunun bağımsız bir tekrarlanabilirliği ve çalışmalar arasının yanı sıra çalışma içindeki değişkenlik katsayısını açıklar. Bloklama ise deneysel yanıtı etkileyebilecek fakat analistin doğrudan ilgilenmediği faktörlerdir.

Deneysel tasarıma ait metodolojide iki ayrı metodolojiden Klasik metodoloji parametrelerden biri değiştirilip diğerleri üzerinde etkisi tespit edilmeye çalışılır, kalitatif deney parametresinin seviye skalasının dışındaki değer tahmin edilemez. Ve kantitatif deney parametresinin seviye skalasının dışındaki değer tahmin edilir. Zaman ve maliyet yüksektir. Diğer istatistiksel (aktif) metodoloji farklı yöntemler kullanılmakta olup bu yöntemler arasındatam faktöriyel: ANOVA (Varyasyon Analizi) ve regresyon analizi sayılır (Vural, 2017). Şekil 2.12 Deneysel tasarımın aşamaları başlangıçtan bitişe doğru ele alınmıştır.



Şekil 2.12 Deneysel tasarımın aşamaları

2.10.1 Cevap yüzey modelleri

Girdi değişkenine karşılık cevap değişkenini etkileyen bağımsız değişkenlerin derecelendirmesi amacıyla matematiksel ve istatistiksel yöntem modelleridir. Yöntemin uygulama basamaklarının ilki deney tasarımıdır. Bu tasarlanmış deneyler bilgisayar simülasyon modellerine uygulanabilir. Stokastik ve deterministik olmak üzere iki tür simülasyon modeli uygulanarak ilgili modelin optimizasyonun belirlendiği aşamaya geçilir.

Çok değişkenli optimizasyon çalışmasında amaç çalışmanın ilk aşamasında belirlenen girdiler ve çalışmanın sonunda girdiye verilen cevaplar arasındaki ilişkide verilecek en iyi cevaba karşın girdinin değerlerindeki değişikliğin bulabilmesidir. Pareto optimal çözüm için bir alternatiftir. Burada önceden belirlenen amaçları yeterince açıklayacak seçenekleri ifade eder (Türkşen, 2011).

İkinci dereceden modeli uydurmak için tasarımlar

Yüzey merkezli tasarım (CDD)

Tepki yüzeyi metodolojisi (RSM), belirlenmek istenen cevaba etkilerin optimizasyonunun modellenmesi ve analizi için yararlı matematiksel ve istatistiksel tekniklerin bir bileşimidir.

Bağımsız değişkenler ile cevap arasında fonksiyonel ilişkiyi bulmak amacıyla 1. veya 2. dereceden denklemlerden yararlanılır.

Çok cevaplı yüzey problemlerin çözümünde;

- İki girdi değişkenine sahip problemlerin çözümü eş yükselti grafiklerinde elde edilen eş zamanlı en iyi değerlere ulaşılan çözüm uzayı,

- İstenebilirlik Fonksiyonu Yaklaşımı ve Genelleştirilmiş Uzaklık Yaklaşımındaki cevap işlevlerinden elde edilen bir cevaba çevrilerek çözümlenen ve en iyi giren bağımsız değişken değerlerinin tanımlanması ve değerlerin belirlenmesi,
- Lineer olmayan programlamayı ve cevapların eşyükselti eğrilerinden hareketle grafik eldesi,
- İki girdi değişkeni için optimizasyonunda kuadratik cevap yüzeyleri oluşturmak amacıyla çeşitli eğilimler oluşturularak kullanılmaktadır (Vural, 2017).

D-Optimal tasarım: Klasik tasarımların dışında düzensiz deneysel bölgelerin olduğu nitel faktörlerin fazla olduğu ve ikiden fazla seviyelerdeki belirlenmiş en iyi ölçüt ve ideal modelin kullanıldığı optimizasyondur (Demir, 2017; İlbaş, 2016).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

Laboratuvarda analiz edilecek bitki örneği Ankara ili Ayaş ilçesinden temin edilmiştir. Bitki materyallerinin taksonomik sınıflandırılması Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Halk Sağlığı Enstitüsü Prof. Dr. Murat Koç tarafından tanımlanmıştır.

Materyal laboratuvarda ağzı kapalı ve doğrudan güneş ışığı almayan dolapta muhafaza edilmiştir.

3.2 Kullanılan Cihaz ve Kimyasallar

Deneysel çalışmada analitik işlemler için kullanılan cihaz, kimyasal ve ekipmanlar Çizelge 3.1 de marka, cihazlara ve Çizelge 3.2’de kimyasallara ait teknik bilgiler yer verilmiştir.

Çizelge 3.1 Deneysel çalışmada kullanılan cihazlar

Adı	Açıklama
Saf su cihazı	Millipore Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, ABD)
UV spektrofotometre	Shimadzu U-2800 model
GC- MS cihazı	Shimadzu QP2010 Plus GS-MS
HPLC cihazı	Hitachi marka 2000 model cihazda C18 ODS 4 250x 4.6 mm x3 µm kolon
pH metre	ORION
Analitik terazi	Ohaus PA214C
Manyetik karıştırıcılar	Rodwell ve Chiltren

Çizelge 3.1 Deneysel çalışmada kullanılan cihazlar (devam)

Adı	Açıklama
Deiyonize su cihazı	Mes mp minipure
Mantolu ısıtıcılar	Isotex, Elektro mag, Elektromatle
Buzdolabı	Thermo
Analitik tearzi	Shimadzu-AUX 220
Ses ötesi dalga banyosu	Everest marka Cleanex 911model
ICP-MS	Perkin Elmar marka NexION-300X
Mikrodalga ektreörü	CEM Mars
Membran filtre	0,45 µm
Muhtelif laboratuvar cam malzemeler	Balon joje, beher, huni, taksimatlı pipet, mezür, puar, pistonlu pipet ve pipet uçları, kapaklı numune kapları, baget vb.

Çizelge 3.2 Deneysel çalışmada kullanılan kimyasallar

Adı	Açıklama
DPPH çözeltisi	120 µM: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil etil alkoldeki çözeltisi
FRAP reaktifi	0,3 M 50 mL Asetat tampon, 0,4 mM HCL, 20 mM 5 mL FeCl ₃ ve 10 mM 5 mL Tripridil triazin
FCR reaktifi	Folin-Ciocalteu reaktifi, molibdofosfotungstik heteropoliasit
Asetik asit	Merck (» %96safılıkta: HPLC’de kullanıldı.)
Sodyum asetat	Merck, Susuz, ≥%99,0
Hidroklorik asit	Merck, %37
Demir 3 klorür, FeCl ₃	Merck, ≥%99,9
Tri Pridil Triazin	Sigma spektrometrik analiz için ≥%98

Çizelge 3.2 Deneysel çalışmada kullanılan kimyasallar (devam)

Adı	Açıklama
Trolaks	Merck, C ₁₄ H ₁₈ O ₄
DPPH	Sigma, C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆
Gallik asit	Sigma (» %99HPLC saflıkta)
Folin Ciocalteu reaktifi	Merck,
Sodyum karbonat	Merck, Na ₂ CO ₃ , ≥%99,5, toz halinde
Alüminyum klorür hegzahidrat	Sigma, AlCl ₃ .6H ₂ O, %99
Kuarsetin	Sigma Aldrich, referans madde, C ₁₅ H ₁₀ O ₇
Pirogallol	Sigma Aldrich, standart madde, C ₆ H ₃ (OH) ₃
Fumarik asit	Sigma Aldrich, standart madde, C ₄ H ₄ O ₄
Luteolin	Sigma Aldrich, standart madde, C ₁₅ H ₁₀ O ₆
Nitrik asit	%65 saflıkta Merck marka
Etil alkol	Sigma (» %99,8 HPLC saflıkta)

3.3 Origanum sipyleum L Bitkisinin Ekstraksiyonu İçin Kullanılan Yöntemler

3.3.1 Çözücü ekstraksiyonu

Çözücü ekstraksiyonu için yaklaşık 100 gram bitki örneği tartılarak ekstraksiyon için Clevenger cihazına yerleştirilmiştir. Çözücü olarak su kullanılmış ve işlemin sonunda bitkiye ait esansiyel yağı içeren ekstre dikkatli şekilde amber cam tüpe alınarak ağzı kapatılmıştır.

3.3.2 Ultrasonik banyo ile ekstraksiyon

Everest marka ultrasonik banyo kullanılarak sıcaklık ve süre dikkate alınarak deney seti içerisinde aynı sıcaklıkta olanlar bir arada olmak üzere çalışma planlanmıştır. Belirlenen süre sonunda banyodan çıkarılan örnekler süzülüp süzüntü hacimleri ölçüldükten sonra deney yapılarına kadar saklamak üzere üzerlerinde çalışma numarası yazılan kapaklı

kaplara aktarılmıştır. Çalışma aşamasına kadar beklemek üzere -18 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.3.3 Mikrodalga ile ekstraksiyon

IFTECH marka cihaz kullanılarak güç ve süre dikkate alınıp deney seti içerisinde aynı sıcaklıkta olanlar bir arada olacak şekilde çalışma planlanmıştır. Cihazda işlem için belirlenen sürenin sonunda çıkarılan örnekler süzülüp, hacimleri ölçülmüştür. Süzüntü hacimleri ölçüldükten sonra deney yapılana kadar saklamak üzere üzerlerinde ekstraksiyon metodu ve çalışma numarasının yazıldığı kapaklı kaplara aktarılmıştır. Çalışma aşamasına kadar beklemek üzere -18 °C ‘de konulmuştur.

3.4 *Origanum sipyleum* L Bitkisinin Polifenollerin Analizi

Fenolik madde tayininde spektrofotometrik yöntem (Folin-Denis ve Folin-Ciocalteu), kolorimetrik analiz, gaz kromatografisi ve HPLC cihazı kullanılmıştır (Atak E. v., 2018)

3.4.1 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin Folin-Ciocalteu yöntemi ile TFM tayini

Folin-Ciocalteu yöntemine göre TFM miktarı belirlenirken yapılan işlemler sırasıyla şöyledir. 100 µL hacimli bitki ekstraktına 100 µL Folin-Ciocalteu ayırıcı eklenmiş, 3 dakika sonra 2 mL %2’lik Na₂CO₃ eklenip ve oda sıcaklığında 30 dakika beklenmiştir. UV spektrometrede dalga boyu 750 nm üç tekrarlı ölçümler gerçekleştirilip GA çözeltisi ile kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Ölçüm bulguları mg (GAE)/g (KuBi ağırlık) olarak hesaplanmıştır.

3.4.2 GA kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

Gallik asit (3,4,5-trihidroksibenzoik asit), formülü C₆H₂(OH)₃CO₂H olup mol kütle: 170,12 g/mol’dir. Stok çözelti için 0,1248 g Gallik asit mono hidrat tartılır ve suyla çözülerek 500 mL hacme tamamlanmıştır. Stok çözeltiden 225,56 ppm, 135,34 ppm,

112,78 ppm, 90,22 ppm, 67,67 ppm, 45,11 ppm ve 22,56 ppm konsantrasyonlarında hazırlanan kalibrasyon çözeltileri UV spektrofotometrede suya karşı okunup absorbens değerlerine karşı konsantrasyon değerleri grafiğe geçirilmiştir.

3.4.3 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin TFLM tayini

Flavonoid madde içeriği, alüminyum klorür kolorimetrik yöntemine göre ölçülmüştür. 100 µL ekstre, 300 µL etil alkol ve 20 µL %10 AlCl₃, 20 µL 1M sodyum asetat çözeltisine ilaveten 560 µL distile su eklenmiştir. Laboratuvar standart koşullarda 30 min karanlıkta inkübe edilmiş, (Absorbans $\lambda_{\max}$ 415 nm'de belirlenmiş) kuarsetin ile bir kalibrasyon eğrisi hazırlanmış ve sonuçlar Kuarsetin eşdeğeri (mg Ku/g ekstrakt) cinsinden ifade edilmiştir. Hazırlanan numuneler üç tekrarlı ölçümlenmiştir. Her bir numune için ölçümlerin ortalaması ortalama değer olarak alınmıştır.

Kuarsetin (3,4,5-trihidroksibenzoik asit), C₁₅H₁₀O₇ formülü olup mol kütle: 302,23 g/mol'dir. Kuarsetinin 10,80 mg 100 mL hazırlanan stok çözeltiden 10,8, 8,64, 4,32, 2,16, 1,08, 0,432 ve 0,216 ppm konsantrasyonlarında kalibrasyon çözeltileri UV spektrometrede okumalar yapılmış ve absorbansa karşı konsantrasyon grafiği çizilmiştir. Bu grafikte numune içeriği tayin edilmiştir.

3.4.4 TAA-D yöntemi

Metil alkol içerisindeki 0,1 mM DPPH çözeltisi çalışmanın başlangıcında hazırlanmış ve etiketlenmişti. Deneysel çalışma setinde yer alan bitki ekstrelerinden ayrı ayrı 750 µL miktardaki örnekler reaktiflerin de konulacağı işaretli çalışma kaplarına aktarılmıştı. Üzerlerine 750 µL DPPH çözeltisi ekleyip ve karışması sağlanmıştır. Laboratuvar koşullarında yaklaşık 50 dakikalık süre beklenmiş ve bekleme süresinin bitiminde UV spektrofotometrik ölçüm işlemi gerçekleştirilmiştir. Kör olarak saf su kullanılarak 517 nm dalga boyunda okumalar yapılmıştır (Aktaş Karaçelik, 2021). Üç tekrarlı yapılan çalışma verilerinden ortalama değere göre aşağıdaki formül yardımıyla hesaplama yapılmıştır.

$$\% \text{inhibisyon} = [(A_{\text{kontrol 0 dakika}} - A_{\text{örnek 40 dakika}}) / A_{\text{kontrol 0 dakika}}] \times 100$$

3.4.5 TAA-F yöntemi

Yöntem, Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenme esnasında renk değişikliğinin 595 nm dalga boyunda ölçülmesine dayanmaktadır. FRAP reaktifi, 0,3 M 50 mL asetat tamponu, 4 mM HCl, 20 mM FeCl_3 ve 10 mM TPTZ, pH 3,6'da çözeltileri sırasıyla 10:1:1 oranında eklenerek deney başlangıcında hazırlanmıştır. Deney setindeki her bir örnek çalışmasında için sırasıyla çalışma kabına 300 μL su, 100 μL bitki ekstresi, 3 mL FRAP eklenmiş ve karıştırılmıştır. Laboratuvar şartlarında 20 dakika beklendikten sonra UV spektrofotometrede kör olarak saf su kullanılarak 595 nm dalga boyunda okumalar yapılmıştır.

Bitki ekstraktının içeriği Trolaks eşdeğeri olarak belirlenmesi amacıyla standart olarak Trolaks'ın kalibrasyon grafiği çizdirilmiştir. Bu amaçla 0,5 g/L stok çözeltisinden 5, 25, 50, 125, 250, 500 mg/L konsantrasyonlarına karşılık okunan absorbans değerleri dikkate alınarak kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Deney setindeki numunelere ait absorbans değerleri bu kalibrasyon grafiği verileri dikkate alınarak antioksidan aktivite Trolaks eşdeğeri antioksidan kapasite (μM) tayin edilmiştir (Aktaş Karaçelik, 2021).

3.4.6 *Origanum sipyleum* L bitkisindeki polifenollerin HPLC ile tayini

Mikroalg destekli ve ultrason banyo destekli olarak elde edilen ekstraktların HPLC'de fenolik madde miktarının tayinine yönelik ölçümler yapılmıştır. Fenolik maddelerin için kalibrasyon çalışması için öncelikle referans kimyasallar temin edilmiş ve kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır.

Deney setinden alınan bitkinin ekstraktları (Önce kaba süzgeç kağıdından süzülüp dondurulmuş örnekler) Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Tandoğan yerleşkesindeki laboratuvarından alınarak Refik Saydam Hıfzısıha Yerleşkesindeki AR-GE Laboratuvarında HPLC cihazıyla analiz edilmek üzere getirilmiştir. Çözülen numuneler

cihaza verilmeden önce 0,45 µm filden geçirip camdan imal cihazın numune kabına konulup ağzı kapatılmıştır.

Ayırmalar, ODS4 kolonu (5 µm, 250x4,6 mm) ile yapılmak üzere cihazda 0,8 mL/min akış hızında uygulanan elüsyon gradyanı programlanmıştır.

Çizelge 3.3 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin fenolik madde tayini için HPLC cihazındaki elüsyon gradienti bilgileri

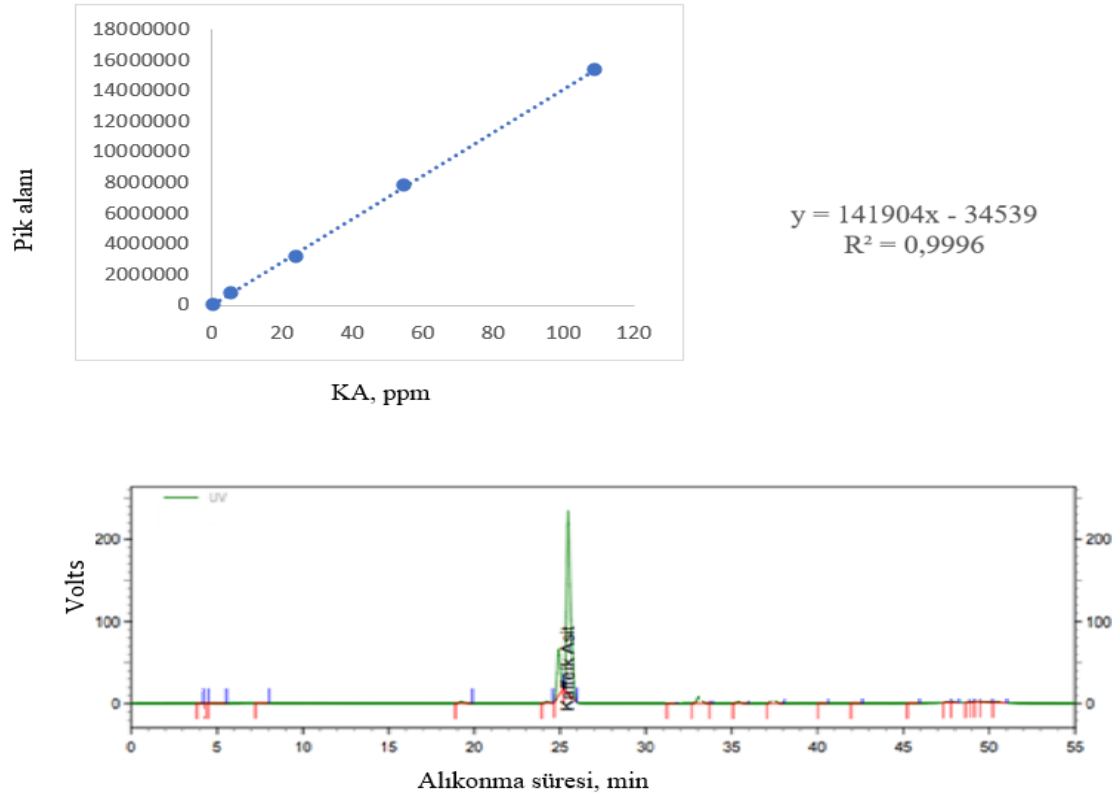
Süre, dakika	% Metil alkol	%2 Asetik Asit
Başlangıç	0,0	100
25	35	65
40	60	40
45	100	0,0
55	0,0	100

Cihaza enjekte edilen numune miktarı 500 µL olup kolon fırını sıcaklığı 30 °C ve ölçümde dalga boyu 320 nm olarak uygulanmıştır.

Origanum sipyleum L. için HPLC’de çalışılan fenolik maddeler kafeik asit; rozmarinik asit; pirogallol; luteolin; kaemferol; fumarik asit ve alıkonma zamanları (min) sırasıyla 24,500; 35,410; 38,527; 43,457;46,013; - ‘dir.

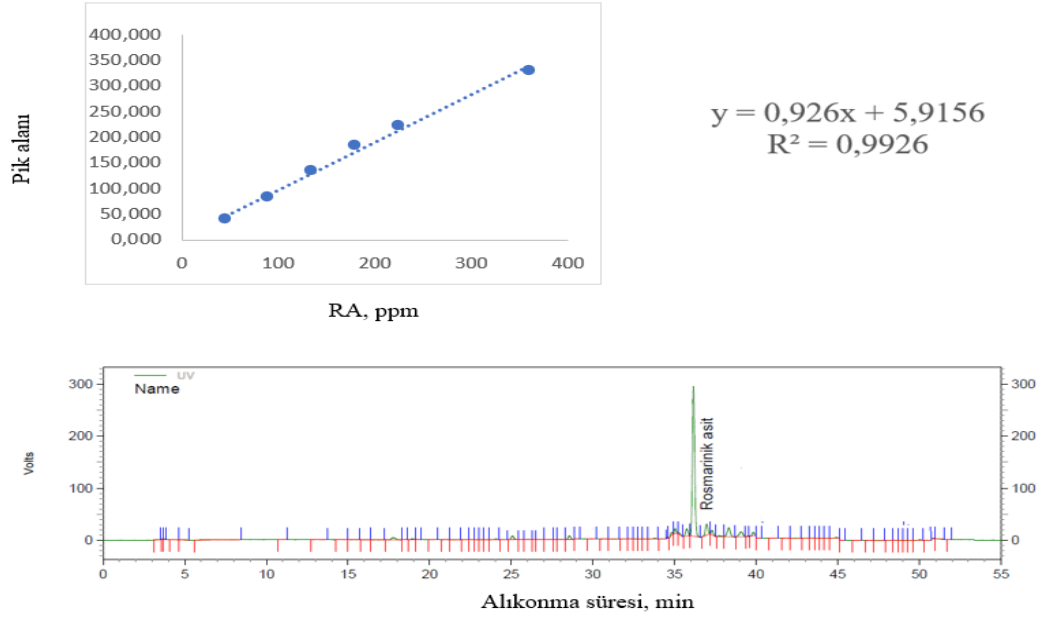
Her bir fenolik madde kullanılarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir.

Kafeik asit için suyla 10,9 mg tartılarak 100 mL çözülerek tamamlandığında 109 ppm stok çözeltiden seyreltilerek 1,09, 5,45, 10,9, 54,5 ve 109 ppm konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltiler cihazda okunarak absorbansa karşı grafik elde edilmiştir. Şekil 3.1’de çalışmaya ait veriler görülmektedir.



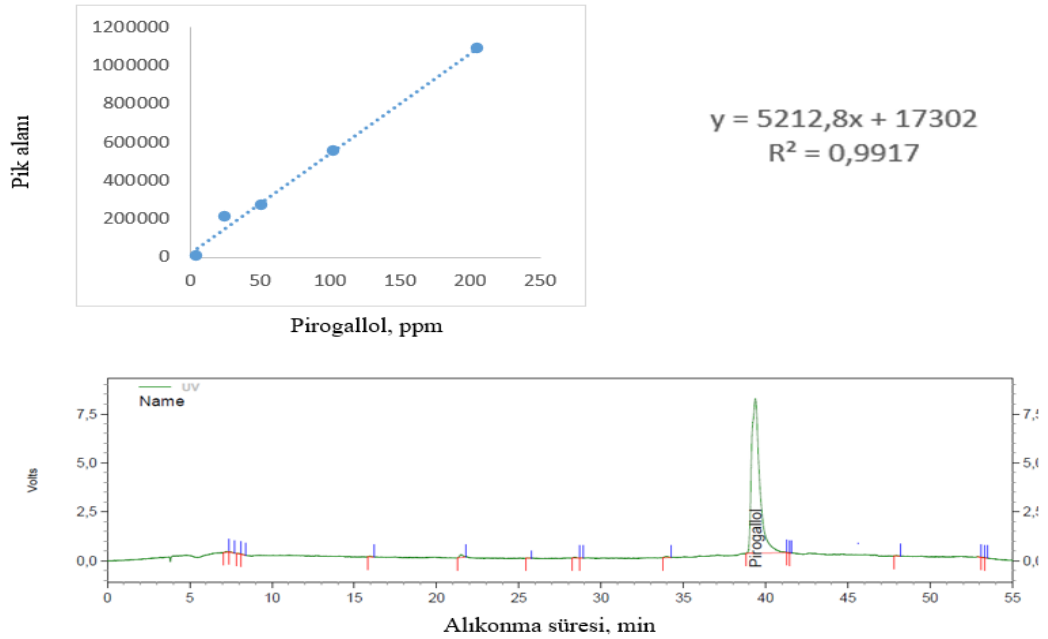
Şekil 3.1 KA'in standart kalibrasyonu verileri ve HPLC kromatogramı

Rozmarinik asit için suyla 360 ppm stok çözeltiden seyreltilerek 45, 90, 135, 180, 225 ve 360 ppm konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltiler cihazda okunarak absorbansa karşı grafik elde edilmiştir. Şekil 3.2'de çalışmaya ait veriler görülmektedir.



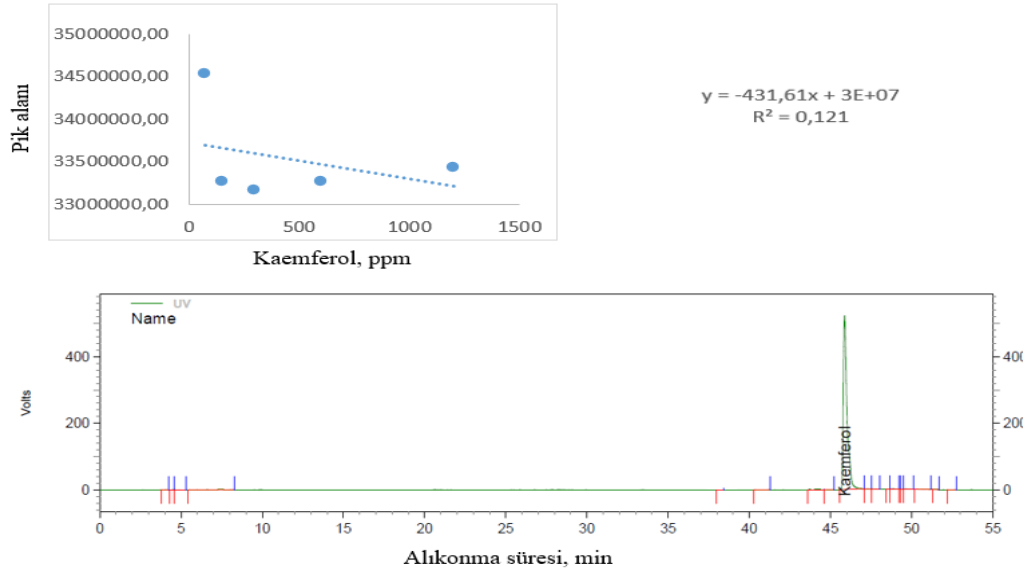
Şekil 3.2 Rozmarinik asit standardı kalibrasyon grafiği ve HPLC kromatogramı

Pirogallol, benzentriollerin üç izomerinden biridir. Suyula hazırlanan 206 ppm stok çözeltiden seyreltilerek 5, 51,5, 103 206 ppm farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltiler cihazda okunarak absorbansa karşı grafik elde edilmiştir. Şekil 3.3'te çalışmaya ait veriler görülmektedir.



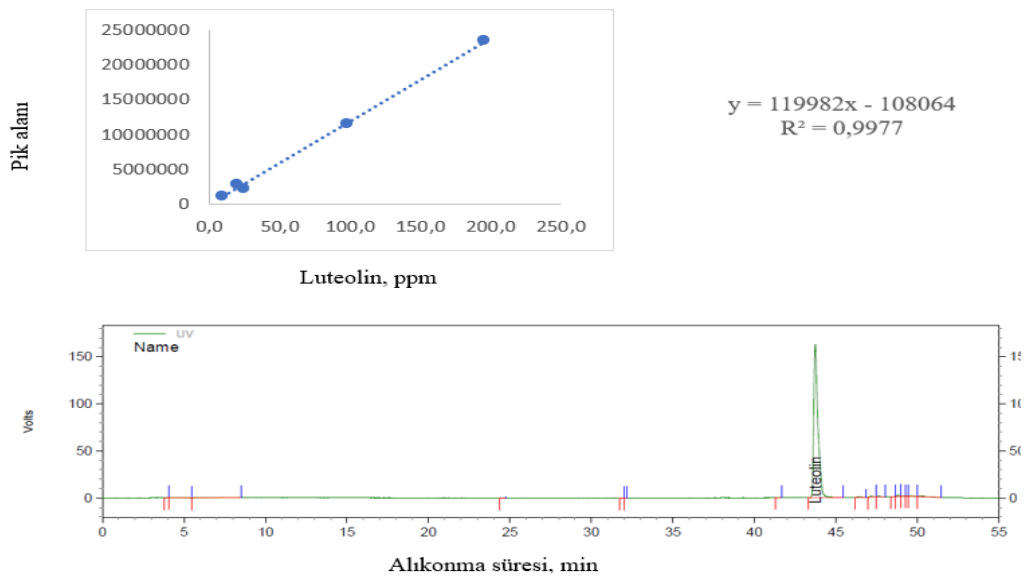
Şekil 3.3 Pirogallol asit standardı kalibrasyon grafiği ve HPLC kromatogramı

Kaempferol 6 mg madde 5 mL çözülerek tamamlandı, 75, 150, 300, 600 ve 1200 ppm farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltiler cihazda okunarak absorbansa karşı grafik elde edilmiş. Şekil 3.4'te çalışmaya ait veriler görülmektedir.



Şekil 3.4 standardı kalibrasyon grafiği ve HPLC kromatogramı

Luteolin suyla 196 ppm stok çözeltilerden seyreltilerek farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltiler cihazda okunarak absorbansa karşı grafik elde edilmiştir. Şekil 3.5'te çalışmaya ait veriler görülmektedir.



Şekil 3.5 Luteolin standardı kalibrasyon grafiği ve HPLC kromatogramı

Fumarik asit için 320 nm dalga boyu herhangi bir sonuç alınamamıştır. Şükrü Yılmaz'ın (2005) te yayınladığı tezinde elma suyunda yapılan çalışmada beklenen pik 210 nm dalga boyunda ve 40 dakika ile 45 dakika aralığında geldiği bilgisi görülmüştür (Yılmaz, 2005) ve Keskin ve arkadaşlarının yaptığı üzüm kalite belirlenmesi çalışmasında detektör 214 nm ve 280 nm dalga boylarına ayarlanarak ölçüm alınmıştır (Keskin, 2013).

3.5 *Origanum sipyleum* L. Bitkisinin Uçucularının GC ile Tayini

Bitkide bulunan uçucu maddelerin katı faz mikroekstraksiyonu (SPME) ile ayrılmasında karboksen/polidimetilsiloksan (CAR-PDMS) SPME lifi kullanılacağı için bunun GC/MS cihazının enjeksiyon portunda 220°C'de 10 min süresince şartlandırılması gerçekleştirilmiştir. Cam şişeye şartlandırılan lif ve 0,5 g yaklaşık tartılan bitki yerleştirildikten sonra ağzı kapatılmıştır. Analiz edilecek olan uçucuların şartlandırılan lif tarafından emilmesi için 80 °C'de 30 min sonunda lif analiz için GC-MS cihazının enjeksiyon portuna yerleştirilmiş uçucu bileşikler, hem Alev İyonizasyon Dedektörü (FID) hem de Kütle Seçici Dedektör (MSD) ile donatılmış Shimadzu GC-17A/QP5000 sistemi kullanılarak üç tekrarlı analiz yapılmıştır.

Analiz programına ait teknik bilgiler: Hareketli faz için seçilen He gazı 1,8 mL/min akış hızı; Supelcowax-10 kılcal kolon kullanıldı. Başlangıçta iki dakika boyunca 40°C'de sabit, ardından dakikada 2 °C'lik kademeli bir artış ile ve 220 °C'ye 30 min tutulmuş. Enjektör ve MSD transfer hattı sıcaklıkları sırasıyla 200 °C ve 250 °C'ye ayarlanırken, FID sıcaklığı 300 °C'de tutulmu ve analitler, m/z 50 ila 550 kütle aralığında SCAN modunda elektron darbe iyonizasyonu (70 eV) yoluyla tespit edilmiştir. Bileşik tanımlama, spektrumların ve tutulma sürelerinin standartlarla karşılaştırılması C8–C32 n-alkan karışımına göreli tutulma sürelerini kütle spektrumlarını kapsayacak şekilde değerlendirilmiştir.

3.6 *Origanum sipyleum* L. Bitkisinin Elementlerin ICP-MS ile Tayini

Bitkinin tüm kısımlarını içerecek şekilde bir miktar alınıp ve havanda ezilerek boyutu küçültülmüştür. Yaklaşık 0,2521 g tartılan numune 1:1 oranında HNO₃ ve distile su eklenerek mikrodalgada yakma işlemine alınmıştır. Çıkarılan karışım soğumaya bırakıldıktan sonra numuneler 0,45 µm'lik filtreden süzölmüş ve uygun hacme ultra saf su ile 25 mL hacme tamamlanmıştır. ICP-MS cihazı Çizelge 4.3'e göre programlanmıştır.

Çizelge 3.4 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin elementlerin ICP-MS ile tayininde program verileri

Parametre	Birim ve değeri
Plazma (Ar) gaz akış hızı	15 (L/min)
Yardımcı gaz akış hızı	0,9 (L/min)
Nebulizer gaz akışı	0,9 (L/min)
Tarama modu	CPS
Oto örnekleiyici	ASX500
RF güç çıkışı	1600 (W)
Numune alım hızı	60 (µL/min)
Bekleme süresi	15 (s)
Numune ölçüm süresi	60 (min/numune)
Tekrarlanabilirlik ölçüm sayısı	3

Kalibrasyon grafiğı çizdirilecek çözeltiler de %1 'lik HNO₃ ile hazırlanıp süzölen örneklele ile kalibrasyon çözeltileri ICP-MS cihazında ölçölmüştür.

Bitkinin tüketimine bağılı olarak içeriğindeki elementlerden kaynaklı sağıık etkilerinin belirlenmesi amacıyla tahmini günlük alım miktarı (EDI), tehlike katsayısı (HQ) ve kanser riski (CR) değeri hesaplanmıştır.

$$EDI = \frac{(C \times IRD)}{BW}$$

C: (mg·kg⁻¹), bitkisel ilaçlarda her bir metalin tespit edilen konsantrasyon
 IRD: (kg·gün⁻¹), bitkisel ilaçların günlük dozajını ifade eden günlük alım oranı
 BW: (kg) vücut ağırlığıdır ve denklemden ortalama 60 kg insan ağırlığı

Bu formülden yapılan hesaplamada C değeri yayınlarda tespit edilen ağır metal miktarı ve IRD değeri bu bitkinin günlük en fazla tüketilecek miktarı dikkate alınarak hesaplama yapılmıştır. Kişilerin yıl boyunca tükettiği göz önüne alınmıştır.

Yayınlardaki her bir metalin tahmini günlük alımı (EDI, mg kg⁻¹ gün⁻¹·vw) hesaplandıktan sonra geçici tolere edilebilir günlük alım (PTDI) ile karşılaştırılmaktadır.

$$HQ = \frac{(C \times IR \times E_f \times E_d \times t)}{(AT \times BW \times RfD)}$$

IR (kg·gün⁻¹) bitkisel günlük dozu olup, 0,1 kg olarak alındı.
 E_f (gün) maruz kalma sıklığıdır, burada yılda 90 gün
 E_d (yıl), 20 yıl olarak belirlenen yaşam boyu maruz kalan gün
 AT (gün), 365 gün × 70 yıl olan ortalama yaşam süresi
 t: Metalin bitkilere transfer oranı
 BW: Ortalama vücut ağırlığı 60 kg
 RfD: Oral referans dozunu (mg⁻¹·kg⁻¹·gün)

HQ veya HI ise 1'e eşit veya 1'in üzerindeyse risk kabul edilemez olarak değerlendirilmektedir (Meseret, 2020).

$$CR = \frac{(C \times IR \times E_f \times E_d \times t \times SFo)}{(AT \times BW)}$$

SFo (mg·kg⁻¹·day⁻¹·bw), kanserin ciddiyetini belirten Oral Eğim Faktörü

Karsinojen risk faktörü CR hesaplanırken SFo değerinin bilinmesi gerekir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Havada kurutulan bitkinin SÖDE ve MDDE elde edilen ekstraktlarda polifenollerin miktar tayinine yönelik çalışmada; deney tasarımı metotlarından sisteme etki eden değişkenlerden en önde görünenin tespit edilmesi, değişkenlerin karşılıklı etkileşimlerinde etkin olup olmadığının tayini yapılmıştır. Deney tasarımı yöntemlerinden biri cevap yüzey metodudur. Bu yöntem kullanılarak optimal sonucu verecek değişken/değişkenlerin önemi anlaşılmaya çalışılmıştır. Bu yöntemin uygulandığı çalışmada beş farklı değişken kullanılarak cevap yüzeyleri, model denklemin ve istatistiksel tekniklerle incelemiştir. Ekstraksiyon yönteminin verimliliğinin değerlendirilmesinde cevaplar eş zamanlı çalışılmıştır.

Cevaplar en yüksek seviyedeki dikkate alınarak, sisteme kabul edilebilirliği ve amaca uygunluğuna göre gerekli değer verilerinin girişi yapılmıştır. Cevap yüzeyi metodu, deneysel bir çalışmada sonuç üzerinde etkili beş faktörce oluşturulan bu tasarımda, istenen özelliklerin sağlandığı bölge ve bu bölgenin optimum noktasının tahmininde faydalanılmıştır.

Deneysel tasarımda, merkezi kompozit tasarım (MCT) (Box Wilson tasarımı) tercih edilmiştir. (24+yıldız tasarımı) 5 faktör için, döndürülebilir ve ortogonal tasarım oluşturulmuştur. Eksenel mesafe 2,00'dir. Deney sayısı ile bağımsız değişken sayısı (bağımsız değişken sayısı olan k) arasındaki matematiksel ilişki 2^k olup bu çalışma için hesaplanan değer 2^5 eşitliğinden 32 adet olarak belirlenmiştir.

Deneysel tasarımın bağımsız değişkenlere ait fonksiyonu gösteren cevapları tanımlayan ikinci derece model geliştirilmiştir. Bu ikinci derece seviyesindeki oluşturulan modele ait hatalar, sabit varyansla normal dağılım göstermekte ve birbirinden bağımsız olarak değerlendirilmiştir. Optimizasyon çalışması düzenini temsil eden tüm cevaplar top yekün ele alınmıştır. Çok yanıtli optimizasyon çözümünde çok amaçlı pareto bölgelerden yararlanılmıştır. Meydana gelen bu model için deneye ait bulguları hangi seviyede değer oluşturduğuna dair ANOVA değerlendirmesinden yararlanılmıştır. Bu yöntem belirlenen tüm faktörün lineer, kuadratik ve interaksiyon etkilerinin cevaplara istatistiksel önem

düzeyi %95 güven seviyesinde Fischer (F testi) uygulmasıyla ifade edilmiştir. Bu model düzeninin deneysel verilerden elde edilen gerçek cevaplara uygunluk değerlendirmesi ve uyum eksikliği (lack of fit) sebebiyle meydana gelen hatanın kayda değer olmaması ve regresyondan hesaplanan varyasyonun %95 güven seviyesinde (GS) mühim oluşu şartıyla değerlendirilmiştir.

CCD tasarımından yararlanılarak başlangıçta belirlenen parametreler için tasarlanan oluşturulan 31 deneysel nokta çalışılmıştır. İlişki katsayıları R^2 ve R_D^2 değerlerinin anlamı bir ortalamadan sapanların istatistiksel oran değeri olarak regresyon modelindeki bağımlı değişkenlere karşılık laboratuvarında gerçekleştirilen faaliyetlerden elde edilen sonuç bulgularının ele alındığı bir ölçüttür. Aynı zamanda herbir değişken için bağımsız değişkenlerin kullanılarak ne ifade edildiği açıklanmaktadır.

4.1 SÖDE İçin Deneysel Tasarım ve Optimizasyon Çalışması

Deneysel tasarım için Çizelge 4.1'deki bağımsız değişkenler (x_1 , x_2 , x_3 , x_4 ve x_5) ile değişkenlere ait seviyeler ve bağımlı değişkenler (y_1 , y_2 , y_3 , y_4 ve y_5) belirlenmiştir.

Çizelge 4.1 SÖDE için belirlenen bağımlı değişkenlerin beş faktörlü CCD tasarımıdaki araştırılan dizilim ve düzeyler için sayısal aralık değerleri

Bağımsız Değişkenler	Sem bol	Dizilim ve düzeyler				
		- 2	-1	0	+1	+2
A: Etil alkol/su, mL/mL	(x_1)	15/85	35/65	55/45	75/25	95/5
B: Sıcaklık, °C	(x_2)	40	50	60	70	80
C: Zaman, min	(x_3)	5	45	85	125	165
D: Çözücü/katı oranı mL/ g	(x_4)	20	35	50	65	80
E: pH	(x_5)	2	3	4	5	6

Bağımlı değişken olarak;

y_1 : TAA-D % inhibisyon

y_2 : TAA-F (TE) mg/g KuBi

y_3 : TFM (GAE) mg/g KuBi

y₄: TFLM (KE) mg/g KuBi

y₅: RA mg/g KuBi

Ses ötesi dalga destekli ekstraksiyon deneysel tasarım noktaları ve çalışma aralıklarının belirlendikten sonra bu şartlarda yapılan her bir ekstraksiyon işlemin neticesinde ortaya çıkarılan ekstrelerin renkleri Çizelge 4.2 de yer almaktadır.

Çizelge 4.2 SÖDE çalışmaya ait belirlenen aralıklar ve elde edilen ekstrelerin renkleri

Deneysel Tasarım Noktaları	A: Etil alkol/ Su oranı, %	B: Sıcaklık, °C	C: Süre, dakika	D: Çözücü/ Katı, mL/ g	E: pH	Ekstrenin Rengi
1	55	50	85	65	4	
2	35	40	45	20	5	
3	95	50	85	35	4	
4	75	40	125	20	5	
5	55	30	85	35	4	
6	35	40	125	50	5	
7	75	60	45	50	3	
8	55	50	165	35	4	
9	55	50	85	35	4	
10	55	50	85	35	6	
11	35	40	45	50	3	
12	75	60	45	20	5	
13	55	50	85	5	4	
14	75	60	125	50	5	
15	75	40	45	20	3	
16	55	50	85	35	4	
17	55	50	5	35	4	
18	55	50	85	35	4	
19	15	50	85	35	4	
20	75	40	45	50	5	
21	55	50	85	35	4	
22	35	60	45	20	3	
23	55	50	85	35	4	
24	55	50	85	35	2,5	
25	55	70	85	35	4	
26	35	40	125	20	3	
27	35	60	125	50	3	
28	35	60	45	50	5	
29	75	40	125	50	3	
30	75	60	125	20	3	
31	35	60	125	20	5	
32	55	50	85	35	4	

Bağımsız değişkenlerden pH ve çözücü miktarının ekstrenin rengini belirleyen temel değişkenler olduğu söylenebilir. Etil alkolün düşük değerlerinde ekstre daha kahverengi renkte iken yüksek değerlerinde daha çok yeşil renk hâkim olmuştur.

Deneysel tasarım noktalarında TFM, TFLM, TAA-D ile TAA-F ve RA bağımlı değişkenlerine ait elde edilen sonuçlar yer almaktadır. Çizelge incelendiğinde SÖDE deneysel tasarım noktalarında TAA-D metoduna göre 27,231-89,245 %İnhibisyon aralığında değişmektedir. mg/g cinsinden Troloks eşdeğeri olarak TAA-F miktarı 9,987-150,270 aralığında değişmektedir. TFM1, 652-32,679 mg GAE/g aralığındadır. TFLM düzeyi 0,026-0,480 mg/g kuarsetin eşdeğeri karşılığıyla bulunmuştur. RA miktarı 10,5-248 mg/g aralığında bulunmuştur.

O. sipyleum L bitkisinin ses ötesi dalga destekli ekstraksiyonu sonrasında, ekstraktlardaki polifenolik maddelerin HPLC analiz bulguları Çizelge 4.3’de belirtilmiştir.

Çizelge 4.3 SÖDE deneysel tasarım noktalarında bağımlı değişkenlere ait sonuçlar

Deneysel Tasarım Noktası	TAA-D	TFM mg GAE/g	Rozmarinik Asit mg/100 g KuBi	Luteolin mg/100 g KuBi	KA mg/100 g KuBi	Pirogallol mg/100 g KuBi	Toplam Flavonoid Madde mg/g Kuarsetin	Toplam Antioksidan Aktivite FRAP mg/g Troloks
	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS
1	73,594 ± 0,042	29,035 ± 0,024	225,073 ± 2,012	63,498 ± 0,230	9,741 ± 0,176	1121,38 ± 8,934	0,420 ± 0,001	150,27 ± 1,336
2	61,858 ± 0,036	3,034 ± 0,002	67,732 ± 0,126	27,272 ± 0,036	3,12 ± 0,164	568,955 ± 2,287	0,158 ± 0,000	40,334 ± 0,358
3	83,863 ± 0,048	4,101 ± 0,003	123,317 ± 0,466	49,693 ± 0,010	4,691 ± 0,051	1037,31 ± 1,069	0,074 ± 0,000	41,382 ± 0,368
4	73,839 ± 0,043	9,249 ± 0,008	44,375 ± 0,129	17,642 ± 0,005	2,032 ± 0,018	407,138 ± 1,637	0,037 ± 0,000	31,186 ± 0,277
5	74,328 ± 0,043	20,661 ± 0,017	132,038 ± 0,175	36,024 ± 0,084	5,746 ± 0,058	713,734 ± 1,245	0,316 ± 0,001	75,86 ± 0,674
6	75,061 ± 0,043	32,679 ± 0,027	168,915 ± 0,031	41,049 ± 0,115	6,176 ± 0,091	808,802 ± 1,497	0,400 ± 0,001	75,619 ± 0,672
7	86,797 ± 0,050	22,771 ± 0,019	149,692 ± 0,132	44,037 ± 0,168	7,097 ± 0,024	703,637 ± 0,677	0,128 ± 0,000	45,642 ± 0,406
8	59,902 ± 0,035	12,51 ± 0,010	128,205 ± 0,254	47,727 ± 0,034	4,334 ± 0,021	933,096 ± 0,613	0,262 ± 0,001	86,162 ± 0,766
9	77,751 ± 0,045	20,964 ± 0,017	114,607 ± 0,256	42,976 ± 0,035	5,038 ± 0,074	804,473 ± 1,641	0,165 ± 0,000	79,81 ± 0,709
10	70,416 ± 0,041	19,637 ± 0,016	119,719 ± 0,490	24,265 ± 0,040	4,48 ± 0,091	885,369 ± 1,658	0,304 ± 0,001	50,942 ± 0,453
11	86,553 ± 0,050	15,105 ± 0,012	178,6 ± 0,099	54,636 ± 0,072	7,102 ± 0,025	600,223 ± 0,887	0,333 ± 0,001	93,567 ± 0,832
12	71,149 ± 0,041	5,717 ± 0,005	48,454 ± 0,044	24,54 ± 0,018	1,691 ± 0,013	555,987 ± 0,479	0,129 ± 0,000	38,754 ± 0,344
13	49,389 ± 0,029	2,395 ± 0,002	10,495 ± 0,000	1,157 ± 0,006	0,418 ± 0,011	25,565 ± 0,060	0,026 ± 0,000	9,978 ± 0,089
14	80,929 ± 0,047	27,578 ± 0,023	149,418 ± 0,042	23,91 ± 0,208	5,281 ± 0,338	997,671 ± 0,233	0,255 ± 0,001	90,259 ± 0,802
15	83,863 ± 0,048	5,695 ± 0,005	55,659 ± 0,095	20,199 ± 0,001	2,245 ± 0,005	398,032 ± 0,090	0,018 ± 0,000	42,156 ± 0,375
16	76,528 ± 0,044	18,308 ± 0,015	115,236 ± 0,092	33,099 ± 0,104	4,37 ± 0,047	850,575 ± 0,182	0,181 ± 0,000	69,846 ± 0,621

Çizelge 4.3 SÖDE deneysel tasarım noktalarında bağımlı değişkenlere ait sonuçlar (devam)

Deneysel Tasarım Noktası	TAA-D	TFM mg GAE/g	Rozmarinik Asit mg/100 g KuBi	Luteolin mg/100 g KuBi	KA mg/100 g KuBi	Pirogallol mg/100 g KuBi	Toplam Flavonoid Madde mg/g Kuarsetin	Toplam Antioksidan Aktivite FRAP mg/g Troloks
17	87,042 ± 0,050	1,652 ± 0,001	96,423 ± 0,404	20,172 ± 0,100	4,158 ± 0,065	222,077 ± 0,082	0,103 ± 0,000	24,469 ± 0,217
18	71,149 ± 0,041	20,281 ± 0,017	127,803 ± 1,278	31,299 ± 0,075	4,229 ± 0,178	844,086 ± 0,180	0,268 ± 0,001	83,693 ± 0,744
19	66,259 ± 0,038	21,22 ± 0,017	142,132 ± 0,074	19,23 ± 0,002	4,519 ± 0,158	136,203 ± 0,198	0,405 ± 0,001	56,233 ± 0,500
20	89,245 ± 0,052	5,514 ± 0,005	152,184 ± 0,257	5,472 ± 0,056	5,698 ± 0,817	57,373 ± 0,287	0,084 ± 0,000	46,144 ± 0,410
21	73,227 ± 0,042	18,345 ± 0,015	150,769 ± 0,114	6,329 ± 0,008	5,083 ± 0,035	107,661 ± 0,040	0,122 ± 0,000	64,994 ± 0,578
22	51,487 ± 0,030	7,822 ± 0,006	123,634 ± 0,364	3,216 ± 0,034	3,386 ± 0,029	137,682 ± 0,927	0,102 ± 0,000	40,747 ± 0,362
23	72,082 ± 0,042	19,904 ± 0,016	162,017 ± 0,083	5,284 ± 0,008	5,753 ± 0,055	133,775 ± 0,107	0,273 ± 0,001	70,149 ± 0,623
24	78,49 ± 0,045	15,527 ± 0,013	174,616 ± 0,322	6,086 ± 0,031	5,263 ± 0,070	134,52 ± 0,219	0,248 ± 0,001	72,811 ± 0,647
25	64,989 ± 0,038	20,386 ± 0,017	175,16 ± 0,322	7,819 ± 0,107	5,166 ± 0,036	152,399 ± 0,104	0,203 ± 0,001	104,973 ± 0,933
26	27,231 ± 0,016	8,928 ± 0,007	132,097 ± 0,461	33,917 ± 0,021	3,426 ± 0,009	171,285 ± 3,733	0,134 ± 0,000	39,268 ± 0,349
27	70,252 ± 0,041	28,364 ± 0,023	203,255 ± 3,611	12,798 ± 0,073	8,771 ± 0,233	1233,65 ± 4,794	0,486 ± 0,001	134,219 ± 1,193
28	80,32 ± 0,046	23,696 ± 0,019	248,995 ± 0,528	8,482 ± 0,088	8,307 ± 0,031	126,482 ± 0,079	0,45 ± 0,001	129,775 ± 1,153
29	83,295 ± 0,048	27,74 ± 0,023	194,45 ± 0,930	9,968 ± 0,037	8,862 ± 0,177	1147,26 ± 2,213	0,331 ± 0,001	142,435 ± 1,266
30	69,565 ± 0,040	17,175 ± 0,014	89,352 ± 0,478	28,817 ± 0,103	5,518 ± 0,002	1279,93 ± 0,838	0,132 ± 0,000	71,879 ± 0,639
31	28,604 ± 0,017	18,615 ± 0,015	70,55 ± 2,485	27,591 ± 0,027	5,902 ± 0,913	1862,1 ± 3,095	0,223 ± 0,001	64,917 ± 0,577
32	68,421 ± 0,040	27,996 ± 0,023	119,251 ± 1,850	18,478 ± 0,057	7,179 ± 0,025	1241,65 ± 0,376	0,299 ± 0,001	103,704 ± 0,922

Not: Sonuçlar üç tekrarlı (n=3) olarak verilmiştir. SS: Standart sapma

4.1.1 Cevap Faktörü 1: SÖDE ile elde edilen TFM (GAE) bağımlı değişkeni için modelleme bulguları

Tasarım matrisi ve TFM (GAE) cevap faktörünün istatistiksel yöntemle F testi ile Fischer'in (FT-Fis) Çizelge verilerinden regresyon modelin uygulanabilirliği denenmiş ve iki testin bulguları çizelge 4.4'te gösterilmiştir.

R^2 değeri verilerin tahmini laboratuvar çalışmasıyla elde edilen verilerin birbirlerinin uyumluluğunu ifade eden ilişki katsayısı olup 0,9116 olarak bulunmuş, deneysel verilerin YMM ile %91,16 açıklanabileceğini göstermektedir. TFM öncelikle belirlenen bağımlı değişkenlerin ölçüm kapsamında yüksek doğrulukta uygulanabilirliği izah edilmektedir.

Uyum Eksikliği F değeri olan 0,6892 hesaplanan bu değer elverişli (uygun) ($p>0.05$) olarak değerlendirilmemiştir. TFM miktar tayininde ses ötesi ekstraksiyonuyla etil alkol/ su oranı, ekstraksiyon süresi, çözücü/katı oranı ve etil alkol/ su oranı-Çözücü/katı oranı parametrelerinin etkilerinin oluşturduğu model ile açıklanabilir.

CCD Tasarım kullanılarak 32 deneysel nokta çalışılması deneysel verilerine uygulanan çoklu regresyon analizinden elde edilen regresyon katsayılarının yer aldığı, yüzey merkezli tasarım için ikinci dereceden matematiksel gösterim meydana getirilmiştir. Tüm parametreler etkisinin göz önünde bulundurularak düzenlenen, ikinci dereceden model denklemi şu şekildedir:

$$\text{SÖDE TFM: } +28,29 -5,43A +5,36B +8,56C +10,32D +0,4770E +1,57AB +$$

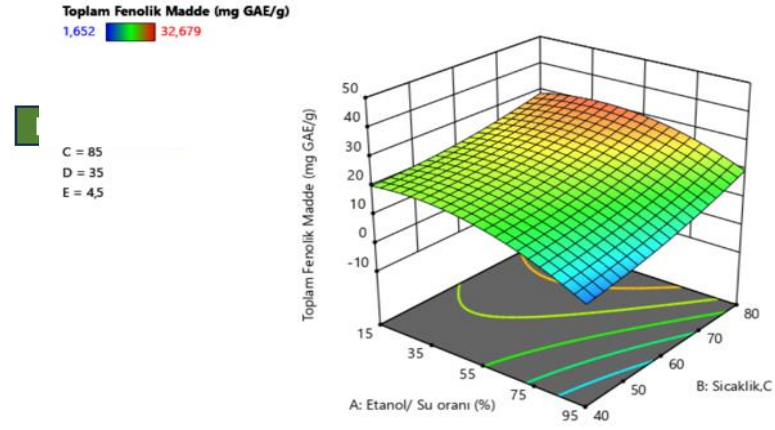
$$0,7790 AC -3,92AD -10,78AE -4,38BC -0,2630BD +1,62BE +4,39CD +4,84CE -$$
$$0,3770DE -5,97 A^2 +1,89B^2 -11,55C^2 -2,92D^2 -0,0084E^2$$

TFM cevap faktörü model denkleminde pozitif etkinin en yükseği çözücü/katı oranı (10,32) olup bunu ekstraksiyon süresi (8,56) ve sıcaklık (5,36) takip etmektedir. Etil alkol su oranının (-5,43) negatif etkilidir. Model denklemdaki ikili ilişkilere bakıldığında ekstraksiyon süresi- çözücü/katı oranı nın en yüksek pozitif etkiye (4,84) karşılık etil alkol/su oranı-pH en yüksek negatif etkiyi (-10,78) göstermiştir.

Çizelge 4.4 SÖDE TFM cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

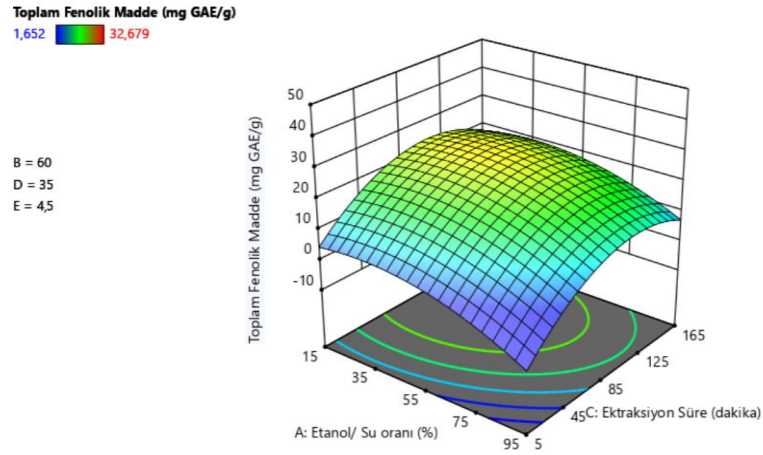
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	0,4707	20	0,0235	5,67	0,0026
Etil alkol /Su oranı	0,0806	1	0,0806	19,44	0,001
Sıcaklık	0,0007	1	0,0007	0,1744	0,6842
Ektraksiyon Süresi	0,0209	1	0,0209	5,05	0,0461
Çözücü/Katı oranı	0,0294	1	0,0294	7,1	0,022
pH	0,0009	1	0,0009	0,2258	0,644
Etil alkol /Su oranı x Sıcaklık	0,0002	1	0,0002	0,0579	0,8142
Etil alkol /Su oranı x Ektraksiyon Süresi	0,0024	1	0,0024	0,5789	0,4627
Etil alkol /Su oranı x Çözücü/Katı oranı	0,0203	1	0,0203	4,9	0,049
Etil alkol /Su oranı x pH	0,0049	1	0,0049	1,18	0,3003
Sıcaklık x Ektraksiyon Süresi	0	1	0	0,0073	0,9335
Sıcaklık x Çözücü/Katı oranı	0,0003	1	0,0003	0,0697	0,7967
Sıcaklık x pH	0,0075	1	0,0075	1,8	0,2063
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/Katı oranı	0,008	1	0,008	1,93	0,1921
Ektraksiyon Süresi x pH	0,0104	1	0,0104	2,51	0,1415
Çözücü/Katı oranı x pH	0,0039	1	0,0039	0,9419	0,3527
Etil alkol /Su oranı xEtil alkol /Su oranı	$4,51 \cdot 10^{-07}$	1	4,51E-07	0,0001	0,9919
Sıcaklık x Sıcaklık	0,0007	1	0,0007	0,1691	0,6888
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	0,0061	1	0,0061	1,47	0,2508
Çözücü/Katı oranı x Çözücü/Katı oranı	0,0005	1	0,0005	0,1284	0,7269
pH x pH	0,0022	1	0,0022	0,5217	0,4852
Arta Kalan	0,0456	11	0,0041		
<i>UyumEksikliği</i>	0,0201	6	0,0034	0,6587	0,6892
<i>Hata</i>	0,0255	5	0,0051		
Düzeltilmiş top.	0,5163	31			
Önemli Model Terimleri	A, C, D, AD				
R ²	0,9116				
R ² _D	0,7169				

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için TFM üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.



Şekil 4.1 SÖDE TFM etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

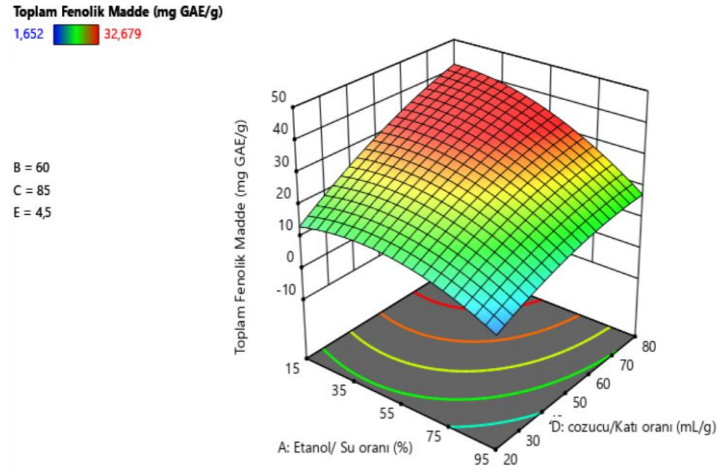
Şekil 4.1’de etil alkol/ su oranı ve sıcaklık arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının %15-%55 ve sıcaklığın 70 °C-80 °C aralığında değerler yükselmektedir.



Şekil 4.2 SÖDE TFM etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

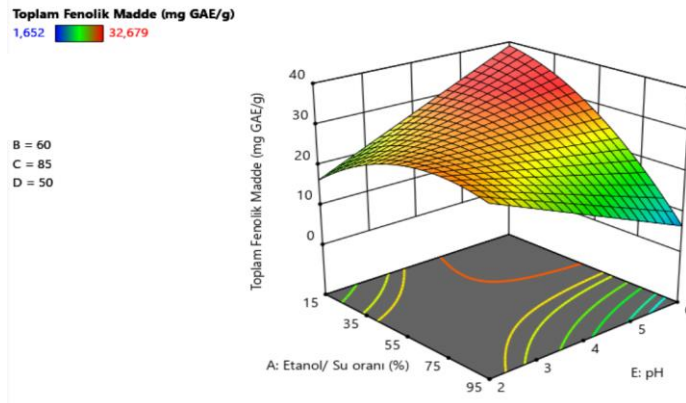
Şekil 4.2’de etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının %15-%55 ve

ekstraksiyon süresinin 85 min-125 min arasında değerler yükselmekte eğer görünümü almaktadır ancak TFM açısından en yüksek değeri sağlayamadığı anlaşılmaktadır.



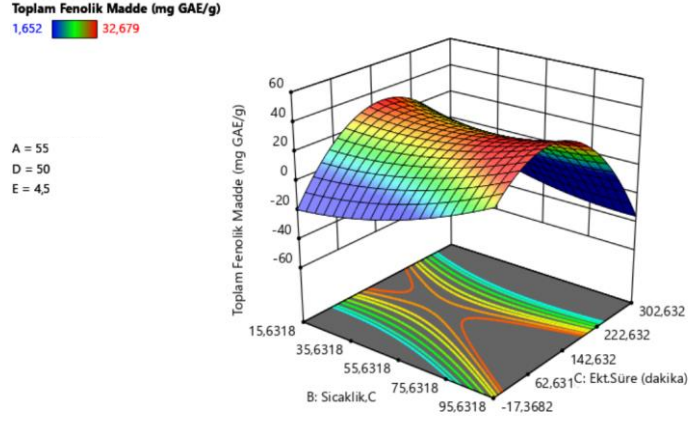
Şekil 4.3 SÖDE TFM miktarının etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.3’de etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının %15-%75 ve çözücü/katı oranı 40 g/mL-80 g/mL aralığında değerler birlikte yükselmektedir.



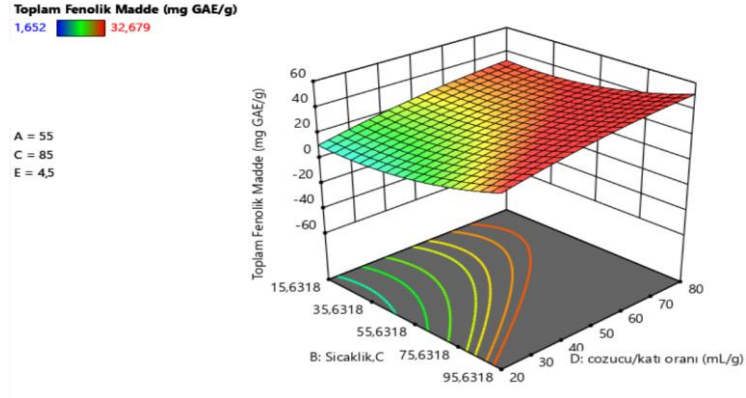
Şekil 4.4 SÖDE TFM etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.4’de etil alkol/ su oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının %15-%55 aralığında ve pH nın 4’ün üstünde yükseldiği izlenmektedir.



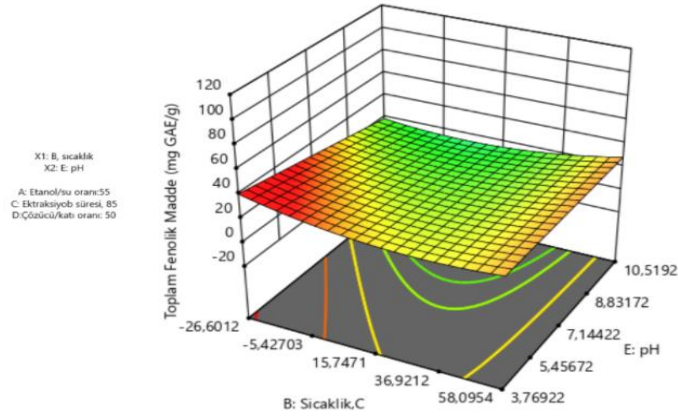
Şekil 4.5 SÖDE TFM sıcaklık ve etraksiyon süresi eşyükselti eğrileri

Şekil 4.5’de sıcaklık ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin TFM üzerinde negatif etki yapmasına karşın bu parametrelerin birlikte yükseldiği izlenmektedir.



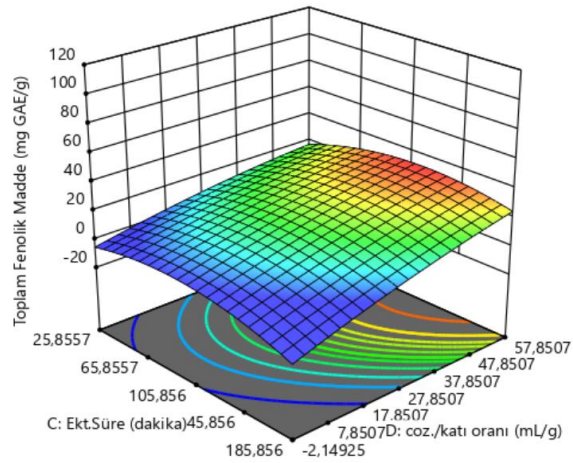
Şekil 4.6 SÖDE TFM sıcaklık ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.6’da sıcaklık ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklığın artırıcı etkisinin özellikle çözücü/katı oranının artışıyla en yüksek seviyeye eğilimlidir.



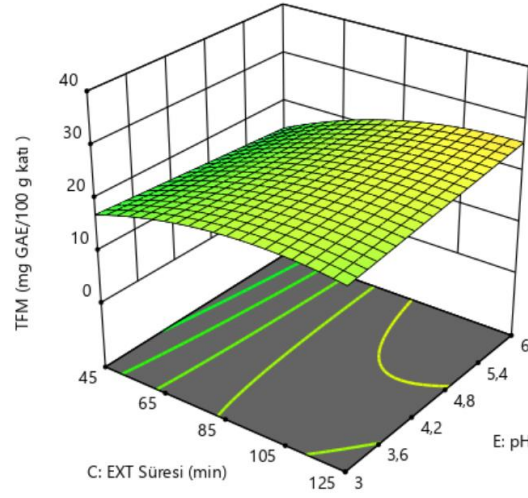
Şekil 4.7 SÖDE TFM sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.7’de sıcaklık ve pH oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklık ile pH oranının pozitif etkileşimi zayıftır.



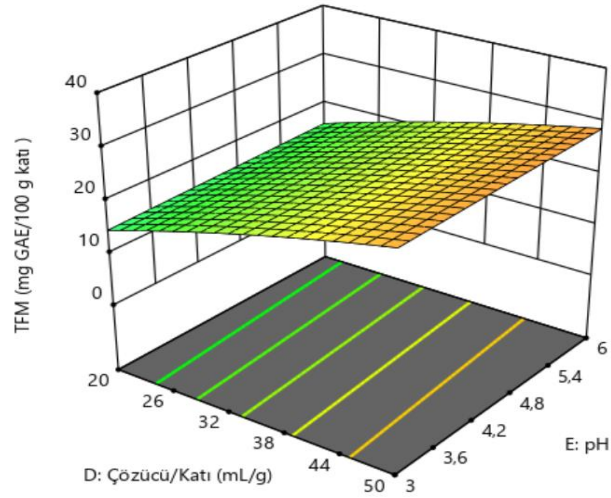
Şekil 4.8 SÖDE TFM ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.8’de ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranının pozitif etkileşimi 65 min-145 min arasında ve çözücü/katı oranı 45 mL/g üzerinde TFM arttırıcı etki yaptığı anlaşılmaktadır.



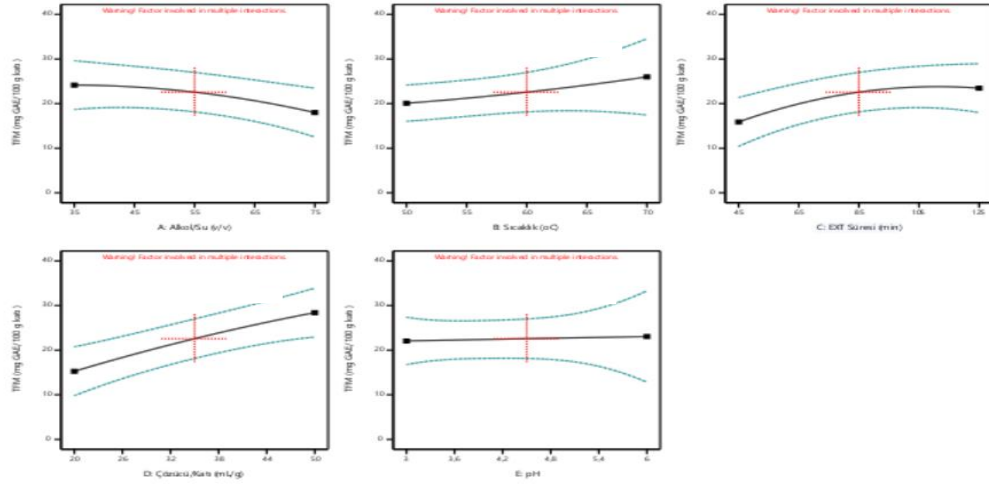
Şekil 4.9 SÖDE TFM ekstraksiyon süresi ve pH eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.9’da ekstraksiyon süresi ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve pH pozitif etkileşiminde farklı değerler için belirgin etki oluşturmadığı anlaşılmaktadır.



Şekil 4.10 SÖDE TFM çözücü/katı oranı ve pH eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.10’da çözücü/katı oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı nın negatif etkileşimi gözlenmekle birlikte çözücü/katı oranı nın yükselmesi TFM arttırıcı etki yapmaktadır.



Şekil 4.11 SÖDE TFM ile bağılı değişkenlerin ilişkisi grafiği

Şekil 4.11’de TFM ile sıcaklık, çözücü/katı oranı ve ekstraksiyon süresi arasında pozitif etil alkol/su oranında negatif ilişki gözlenirken pH’nın etkin olmadığı anlaşılmaktadır.

4.1.2 Cevap Faktörü 2: SÖDE toplam flavanoid miktarı (TFLM) deneysel tasarım (ANOVA) bulguları

TFLM için bulunan dğerlerin istatiki hesaplamasında FT-Fis F Çizelge değerlerinden regresyon modelin uygulanabilirliği denenmiş ve FT-Fis bulguları çizelge 4.5 de verilmiştir.

Tahmini olan veri seti ile ölçümlerle bulunan veri seti birnirleriyle alakasını göstermek üzere ilişki katsayısı (R^2) değeri olarak YMM % olarak açıklanmasını ifade eder. İncelenen cevabın üzerinde bağımsız değişkenlerin katkısı hakkında bilgi vermektedir.

R^2 : 0,9116 olup YMM için %91,16 anlaşılması sağlanmıştır. Uyum eksikliği için testte 0,1841 hesaplanmış ve önemli (uygun) bulunmamıştır. Uyum Eksikliği F değerinin oluşma olasılığı %30,45’dir. SÖDE TFLM etil alkol/ su oranı, ekstraksiyon süresi, çözücü/katı oranı, etil alkol/ su oranı x çözücü/katı oranı ve ekstraksiyon süresixekstraksiyon süresi parametrelerinin etkileri oluşturulan model ile açıklanabilir.

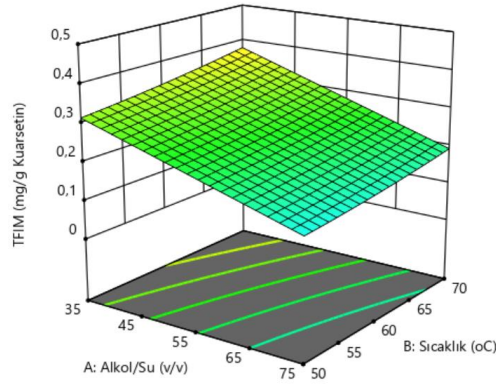
Çizelge 4.5 Toplam Flavanoid miktarı (TFLM) cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	2217,85	20	110,89	4,93	0,0047
Etil alkol /su oranı	44,17	1	44,17	1,96	0,1888
Sıcaklık	29,97	1	29,97	1,33	0,2731
Ektraksiyon Süresi	110,02	1	110,02	4,89	0,0492
Çözücü/katı oranı	111,12	1	111,12	4,94	0,0482
pH	0,3312	1	0,3312	0,0147	0,9056
Etil alkol /su oranı x Sıcaklık	2,47	1	2,47	0,1099	0,7465
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon Süresi	0,6068	1	0,6068	0,027	0,8726
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	15,36	1	15,36	0,6824	0,4263
Etil alkol /su oranı x pH	116,25	1	116,25	5,16	0,0441
Sıcaklık x Ektraksiyon Süresi	19,19	1	19,19	0,8524	0,3757
Sıcaklık x Çözücü/katı oranı	0,0692	1	0,0692	0,0031	0,9568
Sıcaklık x pH	2,61	1	2,61	0,1161	0,7397
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	19,31	1	19,31	0,8577	0,3743
Ektraksiyon Süresi x pH	23,39	1	23,39	1,04	0,3299
Çözücü/katı oranı x pH	0,1421	1	0,1421	0,0063	0,9381
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	65,81	1	6,58E+01	2,92	0,1153
Sıcaklık x Sıcaklık	6,58	1	6,58	0,2922	0,5996
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	246,14	1	246,14	10,93	0,007
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	15,72	1	15,72	0,6983	0,4211
pH x pH	0,0001	1	0,0001	4,01.10-06	0,9984
Arta Kalan	247,63	11	22,51		
<i>UyumEksikliği</i>	182,67	6	30,45	2,34	0,1841
<i>Hata</i>	64,95	5	12,99		
Düzeltilmiş top.	2465,48	31			
Önemli Model Terimleri	A, C, D, AD ve C ²				
R ²	0,9116				
R ² _D	0,751				

Model denklem: $+0,3249 - 0,2318A + 0,0263B + 0,1182C + 0,1680D + 0,0254E - 0,0155AB + 0,0490AC - 0,1425AD - 0,0700AE - 0,0055BC - 0,0170BD + 0,0865BE + 0,0895CD - 0,1020CE - 0,0625DE - 0,0005A^2 + 0,0195B^2 - 0,0575C^2 - 0,0170D^2 + 0,0409E^2$

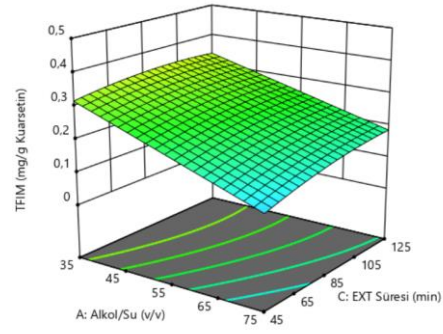
TFLM cevap faktörü model denkleminde pozitif etkinin en yükseği çözücü/katı oranı (0,1680) karşın etil alkol su oranının (-0,2318) negatif etkilidir. Model denklemdeki ikili ilişkilere bakıldığında ekstraksiyon süresi- çözücü/katı oranı nın en yüksek pozitif etkiye (0,0895) karşılık etil alkol/su oranı- çözücü/katı oranı en yüksek negatif etkiyi (-0,1425) göstermiştir.

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için TFLM üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.



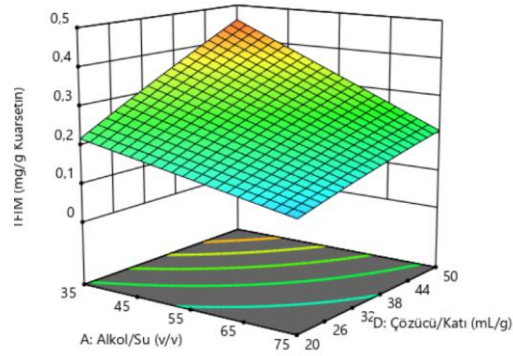
Şekil 4.12 SÖDE TFLM etil alkol/ su oranı ve sıcaklık eşyükselti eğrileri

Şekil 4.12’de etil alkol/ su oranı ve sıcaklık arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve sıcaklığın TFLM üzerinde farklı değerler için belirgin etki oluşturmamıştır.



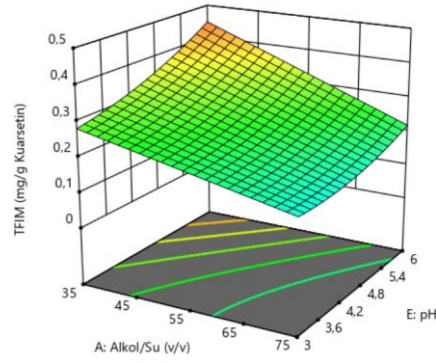
Şekil 4.13 SÖDE TFLM etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri

Şekil 4.13’de etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve ekstraksiyon süresi TFLM üzerinde farklı değerler için belirgin etki oluşturmamıştır.



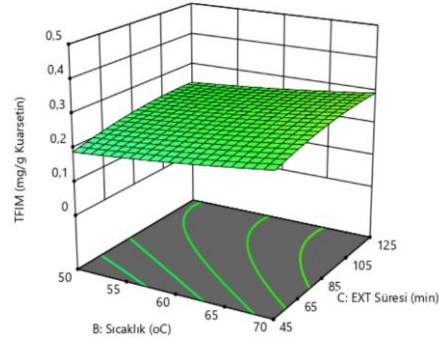
Şekil 4.14 SÖDE TFLM etil alkol/ su oranı ve çözücü/ katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.14’de etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının %35-%45 ve çözücü/katı oranı 40 g/mL-50 g/mL aralığında değerler birlikte yükselmektedir.



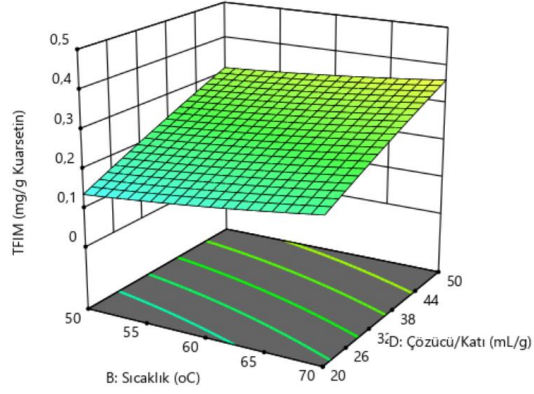
Şekil 4.15 SÖDE TFLM etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.15’de etil alkol/ su oranı ve pH oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının %35-%45 ve çözücü/katı oranı pH’nın 5,4 ve üzerinde TFLM değerleri yükselmektedir.



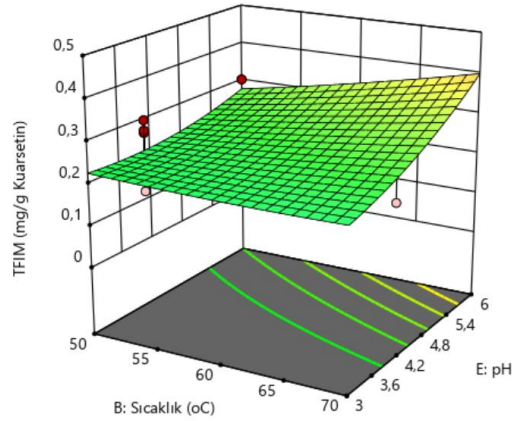
Şekil 4.16 SÖDE TFLM sıcaklık ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri

Şekil 4.16’da sıcaklık ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etkilerin farklı değerlerine rağmen TFLM değerlerine arttırıcı etkisi gözlenmemiştir.



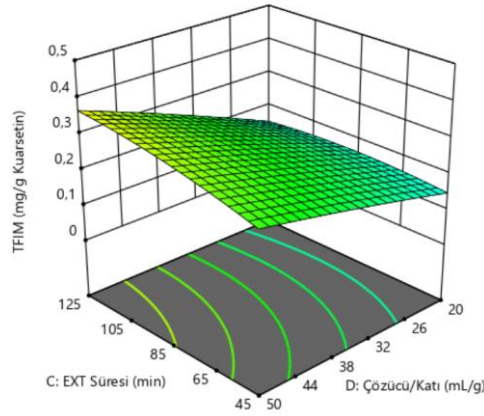
Şekil 4.17 SÖDE TFLM sıcaklık ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.17’de sıcaklık ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etkilerin farklı değerlerine rağmen TFLM değerlerine arttırıcı etkisi gözlenmemiştir.



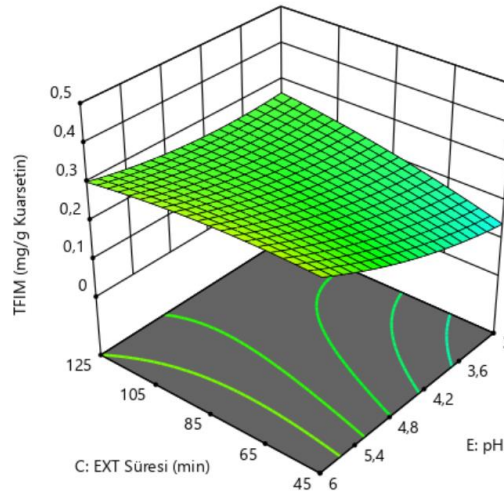
Şekil 4.18 SÖDE TFLM sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.18’de sıcaklık ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etkilerin farklı değerlerinde TFLM seviyesinde arttırıcı etkisi gözlenmiştir.



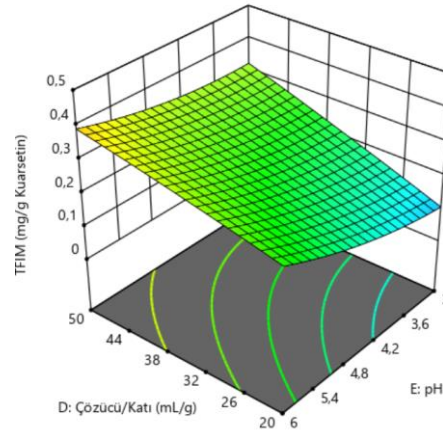
Şekil 4.19 SÖDE TFLM ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.19’da ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu ekstraksiyon süresinin ve çözücü/katı oranı artışı ilişkisi TFLM seviyesinde arttırıcı etkisi gözlenmiştir.



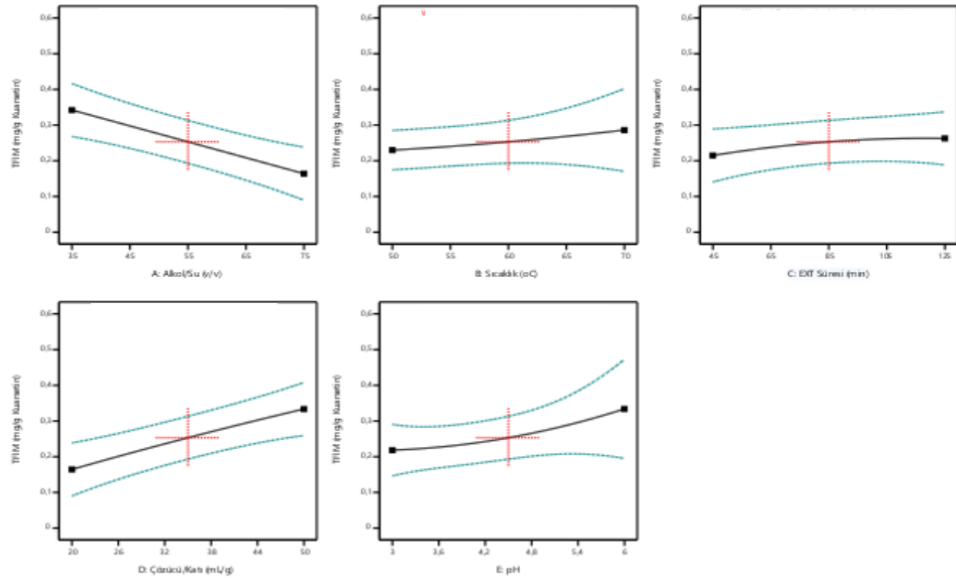
Şekil 4.20 SÖDE TFLM ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.20’de ekstraksiyon süresi ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu ekstraksiyon süresinin ve çözücü/katı oranı artışı ilişkisi TFLM seviyesinde arttırıcı etkisi gözlenmiştir.



Şekil 4.21 SÖDE TFLM çözücü /katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.21’de çözücü /katı oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu çözücü /katı oranı ve pH artışı ilişkisinde en yüksek değer görülememiştir.



Şekil 4.22 SÖDE TFLM ile değişkenlerin ilişkisi grafiği

Şekil 4.22’de TFLM ile sıcaklık, çözücü/katı oranı ve ekstraksiyon süresi ve pH arasında pozitif etil alkol/su oranında negatif ilişkilidir.

4.1.3 Cevap Faktörü 3: SÖDE TAA-D bağımlı Ddeğişkeni için deneysel tasarım (ANOVA) bulguları modelleme bulguları

TAA-D için Cevap faktörüne istatistiksel yöntemle FT-Fis F Çizelge değerlerinden regresyon modelin uygulanabilirliği denenmiş ve iki testin bulguları çizelge 4.6'da verilmiştir.

Tahmin edilen veriler ve deneysel veriler arasındaki uyumu gösteren ilişki katsayısı (R^2) değeri 0,9971 olarak elde edilen bu değer, deneysel verilerin YMM ile %99,71 açıklanabileceğini gösterir. Bu sonuç elde edilen model denklemin TAA_D için incelenen bağımsız değişkenlerin ölçüm aralığında yüksek doğrulukta uygulanabilirliği açıklamaktadır.

0,0826'lık “Uyumluluk Eksikliği” F değeri, bu kadar büyük bir “Uyumluluk Eksikliği” F değerinin gürültü nedeniyle oluşma olasılığı %86,19'dir.

TAA-D miktar tayininde ses ötesi ekstraksiyonuyla etil alkol/ su oranı-ekstraksiyon süresi, etil alkol/ su oranı-çözücü/katı oranı ve etil alkol/ su oranı-etil alkol/ su oranı parametrelerinin etkilerini oluşturduğu model ile açıklanabilir.

Model denklem: $+103,14 + 9,14A - 5,23B - 4,99C + 31,23D + 91,10E + 10,75AB + 3,48AC - 6,32AD - 1,75AE + 1,36BC + 0,6331BD + 3,39BE + 2,23CD + 1,33CE - 0,4354 DE - 22,088A^2 - 0,8837B^2 + 0,0697C^2 - 15,27D^2 - 51,81E^2$

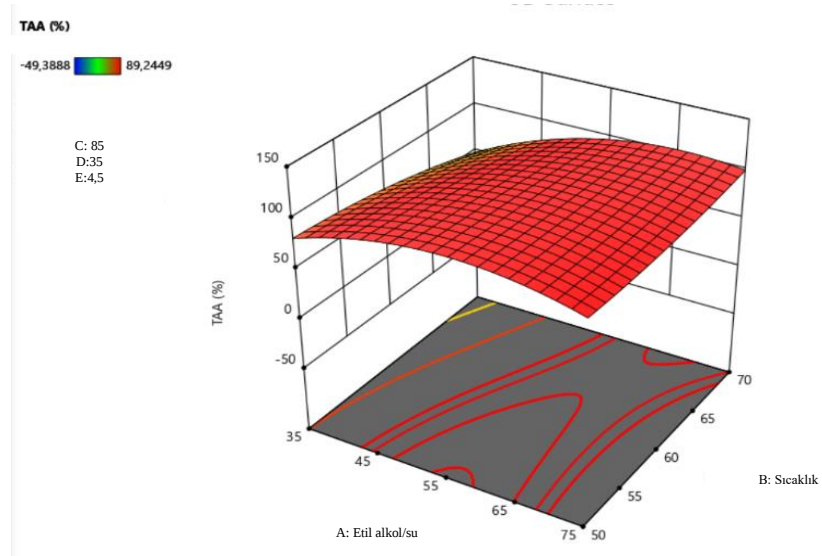
Model denkleminde etil alkol/su oranı, ekstraksiyon süresi ve Çözücü/katı oranı nın en önemli parametreler olduğu belirlenmiştir.

TAA-D cevap faktörü model denkleminde pozitif etkinin en yükseği pH (91,1) Çözücü/katı oranı (31,23) olup bunu etil alkol su oranının (9,14) takip etmektedir. Sıcaklık (-5,23) negatif etkilidir. Model denklemdaki ikili ilişkilere bakıldığında etil alkol/su oranı-sıcaklık en yüksek pozitif etkiye (10,75) karşılık ve etil alkol/su oranı-Çözücü/katı oranı en yüksek negatif etkiyi (-6,32) göstermiştir.

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için TAA-D üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.

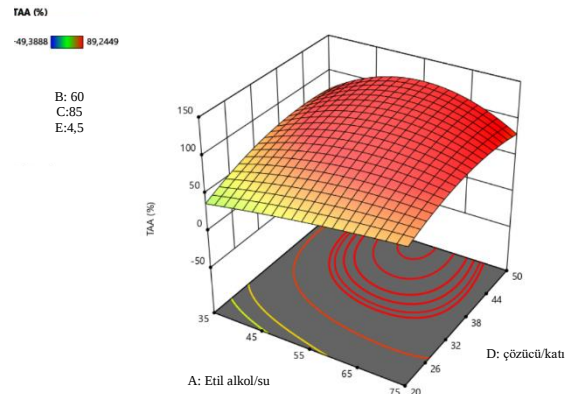
Çizelge 4.6 SÖDE TAA-D Bağımlı cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	20398,7	26	784,56	65,3	<0,0001
Etil alkol /su oranı	593,85	1	593,85	49,42	0,0009
Sıcaklık	89,09	1	89,09	7,41	0,0416
Ektraksiyon süresi	122,34	1	122,34	10,18	0,0242
Çözücü/katı oranı	4802,67	1	4802,67	399,7	<0,0001
pH	466,11	1	466,11	38,79	0,0016
Etil alkol /su oranı x Sıcaklık	142,29	1	142,29	11,84	0,0184
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon süresi	193,52	1	193,52	16,11	0,0102
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	639,53	1	639,53	53,22	0,0008
Etil alkol /su oranı x pH	21,81	1	21,81	1,82	0,2357
Sıcaklık x Ektraksiyon Süresi	29,4	1	29,4	2,45	0,1785
Sıcaklık x Çözücü/katı oranı	6,41	1	6,41	0,5337	0,4978
Sıcaklık x pH	81,72	1	81,72	6,8	0,0478
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	79,84	1	79,84	6,64	0,0496
Ektraksiyon Süresi x pH	12,63	1	12,63	1,05	0,3522
Çözücü/katı oranı x pH	1,35	1	1,35	0,1122	0,7513
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	298,29	1	2,98E+02	24,83	0,0042
Sıcaklık x Sıcaklık	18,74	1	18,74	1,56	0,267
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	0,1167	1	0,1167	9,70.10-03	0,9253
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	5598,03	1	5598,03	465,9	<0,0001
pH x pH	371,48	1	371,48	30,92	0,0026
Arta Kalan	501	11	46,67		
<i>UyumEksikliği</i>	417,17	6	86,19	4,4	0,0826
<i>Hata</i>	60,8	5	12,02		
Düzeltilmiş top.	20458,7	31			
Önemli Model Terimleri	A, B, C, D, E, AB, AC, AD, BE, CD, A ² , D ² , E ²				
R ²	0,9971				
R ² _D	0,9818				



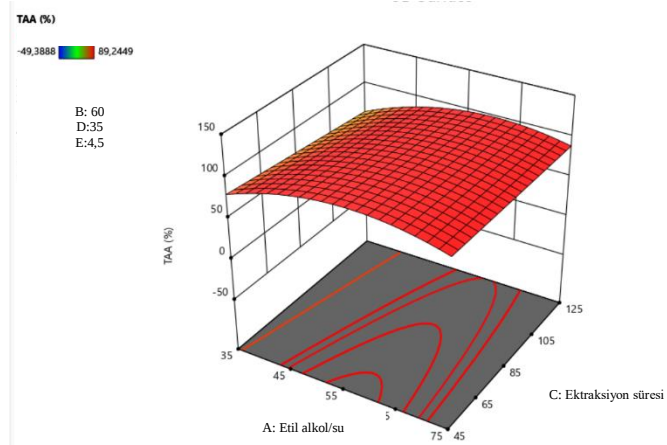
Şekil 4.22 SÖDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve sıcaklık eşyükselti eğrileri

Şekil 4.23’de etil alkol/ su oranı ve sıcaklık arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve sıcaklığın oldukça geniş aralıkta TAA-D değerlerinin yüksektir.



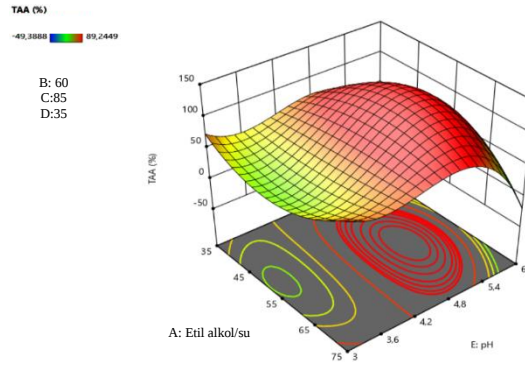
Şekil 4.24 SÖDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.24’te etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve sıcaklığın oldukça geniş aralıkta TAA-D değerleri yüksektir



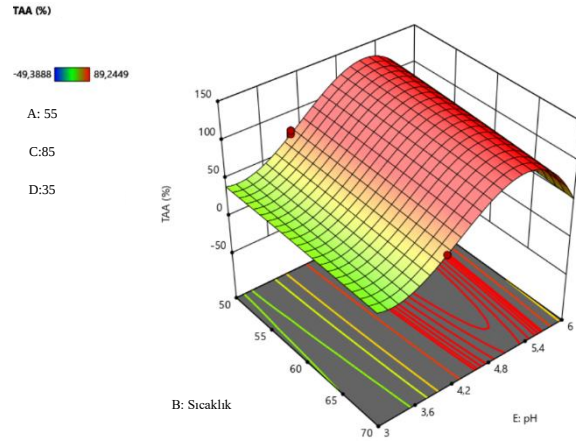
Şekil 4.25 SÖDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(min) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.25'te etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi (min) arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve ekstraksiyon süresi oldukça geniş aralıkta TAA-D değerleri yüksektir



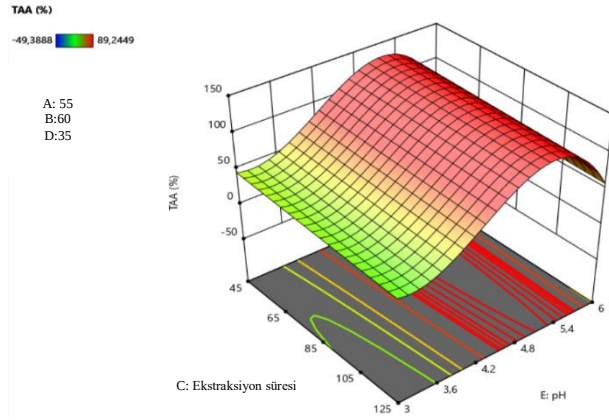
Şekil 4.26 SÖDE TAA-D etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.26'te etil alkol/ su oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve pH azalan ve artan bölgeler vardır. Özellikle pH'nın 4,2'den sonrasında TAA-D değerleri yüksekliip kubbeleşmiştir.



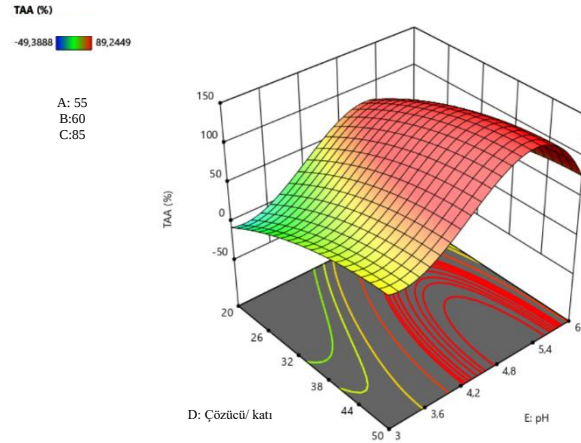
Şekil 4.27 SÖDE TAA-D sıcaklık ve pH eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.27’de sıcaklık ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve pH azalan ve artan bölgeler vardır. Özellikle pH’nın 4,2’den sonrasında TAA-D değerleri yüksekliip kubbeleşmiştir.



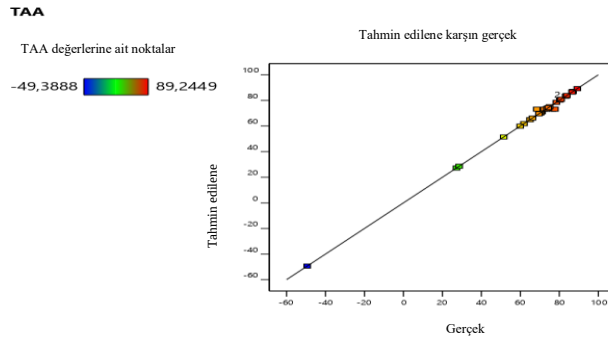
Şekil 4.28 SÖDE TAA-D ekstraksiyon süresi ve pH oranı eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.28’de ekstraksiyon süresi ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve pH azalan ve artan bölgeler vardır. Özellikle pH’nın 4,2’den sonrasında TAA-D değerleri yüksekliip kubbeleşmiştir.



Şekil 4.29 SÖDE TAA-D çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.29’de Çözücü/katı oranı ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Çözücü/katı oranı ve pH azalan ve artan bölgeler vardır. Çözücü/katı oranı nın 38 g/ mL ile pH’nın 4’den sonrasında TAA-D değerleri oldukça yükselip kubbeleşmiştir.



Şekil 4.30 SÖDE TAA gerçek ve düzeltilmiş değerlere ait grafik

4.1.4 Cevap Faktörü 4: SÖDE TAA-F bağımlı değişkeni için deneysel tasarım (ANOVA) bulguları modelleme bulguları

Tasarım matrisi ve TAA-F cevap faktörünün istatistiksel yöntemle FT-Fis F Çizelge verilerinden regresyon modelin uygulanabilirliği denenmiş ve iki testin bulguları çizelge 4.7’te verilmiştir.

Tahmin edilen veriler ve deneysel veriler arasındaki uyumu gösteren ilişki katsayısı (R^2) değeri 0,9476 olarak elde edilen bu değer, deneysel verilerin YMM ile %94,76 açıklanabileceğini gösterir. Bu sonuç elde edilen model denklemin TAA-F için incelenen bağımsız değişkenlerin ölçüm kapsamında yüksek doğrulukta uygulanabilirliği izah edilmektedir.

0,5989'lük ‘‘Uyumluluk Eksikliği’’ F değeri, bu kadar büyük bir ‘‘Uyumluluk Eksikliği’’ F değerinin gürültü nedeniyle oluşma olasılığı %81,85'dir.

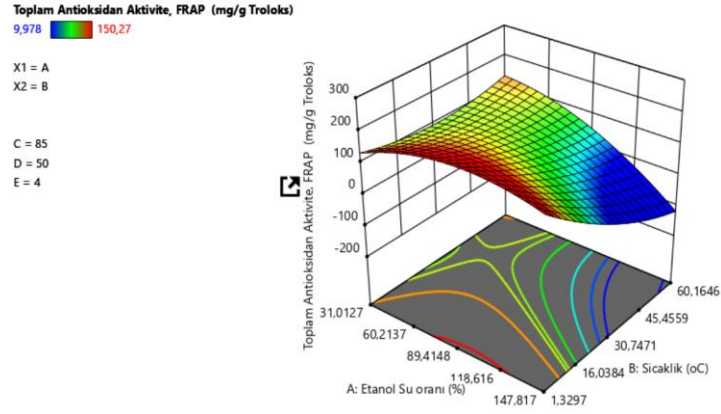
Model denklem; $+116,20-42,10A +27,39B +39,95C +59,21D +1,29E -4,06AB +38,37AC -26,85AD -24,65AE +10,01BC -5,31BD +38,84BE +20,54CD-39,68CE -13,80DE-25,21A^2 +16,40B^2-18,70C^2+6,11D^2-12,05E^2$

TAA-F miktar tayininde ses ötesi ekstraksiyonuyla en yüksek pozitif etki çözücü/katı oranı (59,21), ekstraksiyon süresi (39,95) ve sıcaklık (27,39) ancak etil alkol/ su oranı negatif büyük bir etkili (-42,10) olmaktadır. İkili etkilere bakıldığında sıcaklık-pH (38, 84) ile etil alkol/ su oranı pozitif yüksek etkili (38,37) ve negatif yönde ekstraksiyon süresi-pH (-39,68) belirgindir. Karesel etkilerde Sıcaklık ve çözücü katı oranı pozitif etkilidir.

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için TAA-F üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.

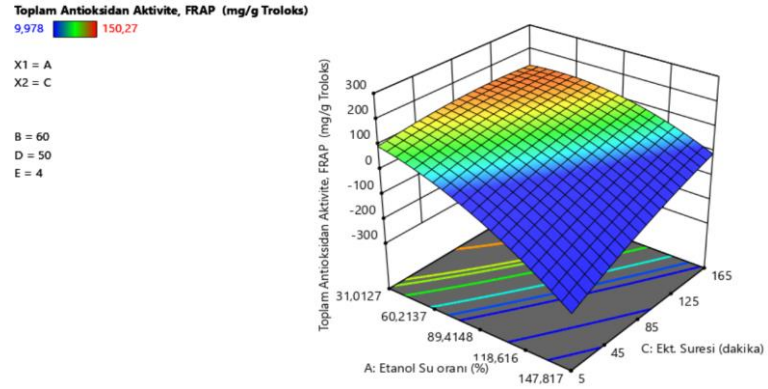
Çizelge 4.7 SÖDE TAA-F Bağımlı cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	35537,48	20	1776,87	9,95	0,0002
Etil alkol /su oranı	2658,53	1	2658,53	14,89	0,0027
Sıcaklık	782,46	1	782,46	4,38	0,0603
Ektraksiyon Süresi	2393,4	1	2393,4	13,41	0,0037
Çözücü/katı oranı	3655,47	1	3655,47	20,48	0,0009
pH	2,42	1	2,42	0,0136	0,9094
Etil alkol /su oranı x Sıcaklık	1160,37	1	1160,37	6,5	0,027
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon Süresi	1471,93	1	1471,93	8,24	0,0152
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	721,04	1	721,04	4,04	0,0696
Etil alkol /su oranı x pH	607,78	1	607,78	3,4	0,0921
Sıcaklık x Ektraksiyon Süresi	100,25	1	100,25	0,5615	0,4694
Sıcaklık x Çözücü/katı oranı	28,15	1	28,15	0,1577	0,6989
Sıcaklık x pH	1508,57	1	1508,57	8,45	0,0143
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	421,74	1	421,74	2,36	0,1525
Ektraksiyon Süresi x pH	1574,4	1	1574,4	8,82	0,0128
Çözücü/katı oranı x pH	190,49	1	190,49	1,07	0,3238
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	1171,39	1	1,17E+03	6,56	0,0264
Sıcaklık x Sıcaklık	496,14	1	496,14	2,78	0,1237
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	644,58	1	644,58	3,61	0,0839
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	68,86	1	68,86	0,3857	0,5472
pH x pH	187,88	1	187,88	1,05	0,327
Arta Kalan	1963,79	11	178,53		
<i>UyumEksikliği</i>	973,06	6	162,18	0,8185	0,5989
<i>Hata</i>	990,73	5	198,15		
Düzeltilmiş top.	37501,26	31			
Önemli Model Terimleri	A, C, D, AB, AC, BE, CE, A ²				
R ²	0,9576				
R ² _p	0,8524				



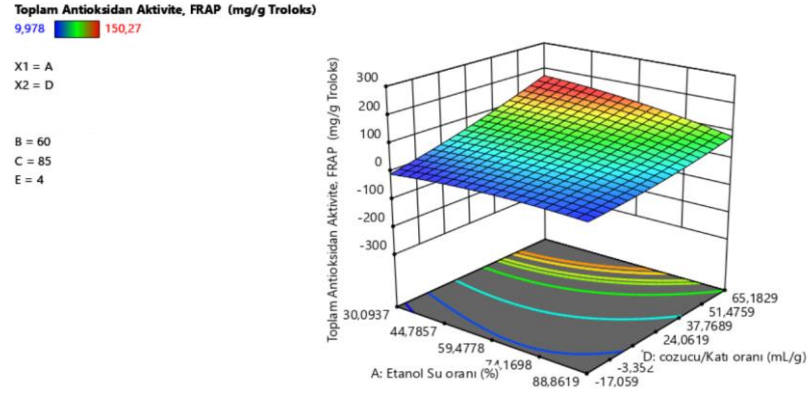
Şekil 4.31 SÖDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve sıcaklık eşyükselti eğrileri

Şekil 4.31’de etil alkol/ su oranı ve sıcaklık ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklıkla artan TAA-F için yüksek değerli bölgeler vardır.



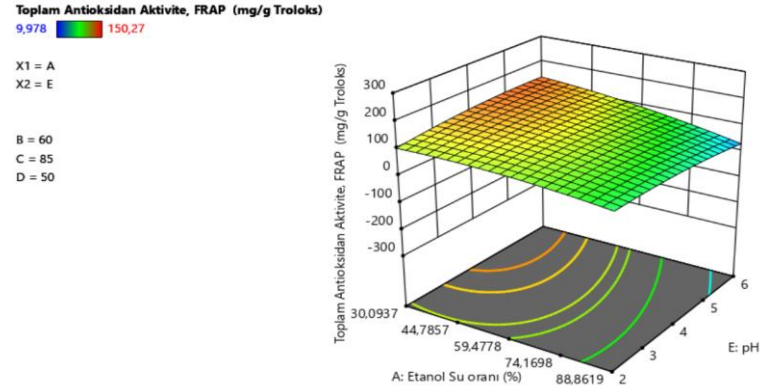
Şekil 4.32 SÖDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi (min) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.32’de etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı azalmasına karşın ekstraksiyon süresi artışla TAA-F için artmaktadır.



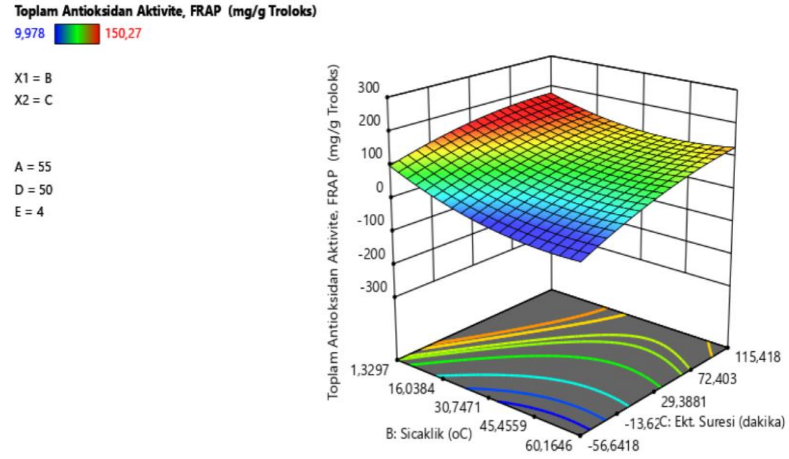
Şekil 4.33 SÖDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.32’de etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı azalmasına karşın ekstraksiyon süresi artışıla TAA-F için artmaktadır.



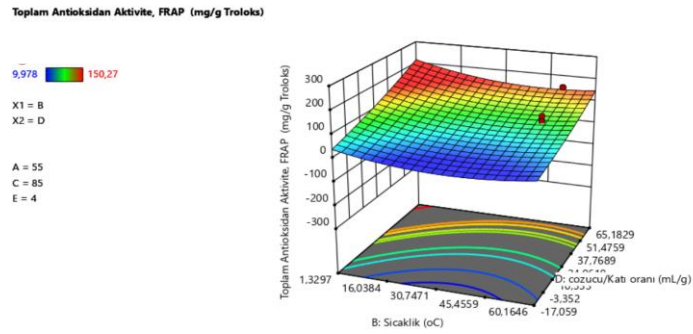
Şekil 4.34 SÖDE TAA-F etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.34’de etil etil alkol/ su ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı (45 v/vden aşağısı) azalmasına karşın pH artışıla (4’den yukarısı) TAA-F için artmaktadır.



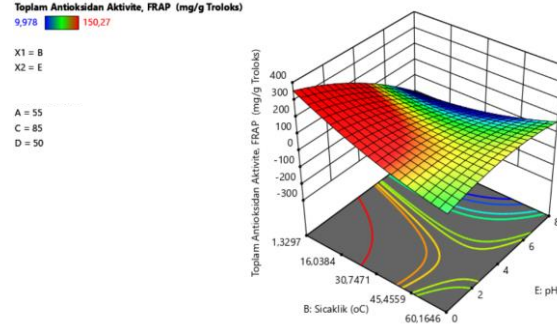
Şekil 4.35 SÖDE TAA-F sıcaklık ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri

Şekil 4.35’de sıcaklık ve ekstraksiyon süresi ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklık ve ekstraksiyon süresindeki artışla TAA-F için artmaktadır.



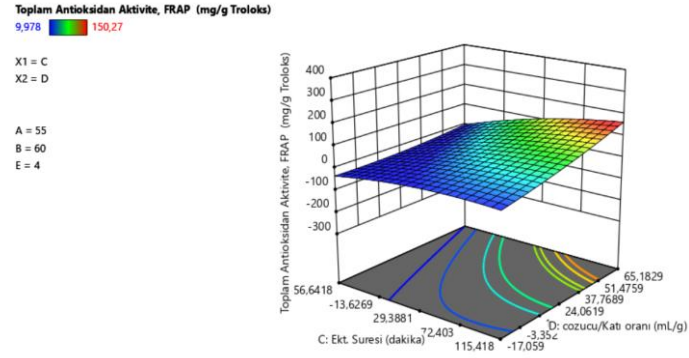
Şekil 4.36 SÖDE TAA-F sıcaklık ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.36’da sıcaklık ve çözücü/katı oranı ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklık ve çözücü/katı oranı artan ve azalan noktalar yer almaktadır. TAA-F ile negatif ilişkili olduğu değerlendirilmiştir.



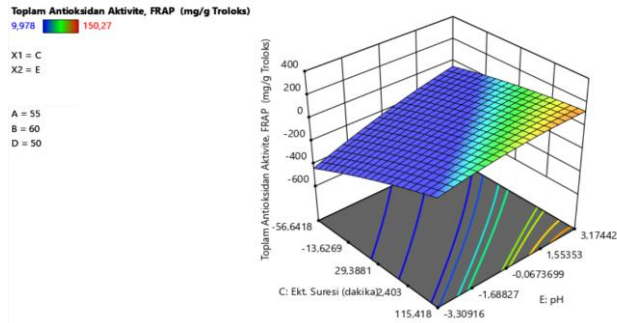
Şekil 4.37 SÖDE TAA-F sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.37’de sıcaklık ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklık ve pH artan ve azalan noktalar yer almaktadır.



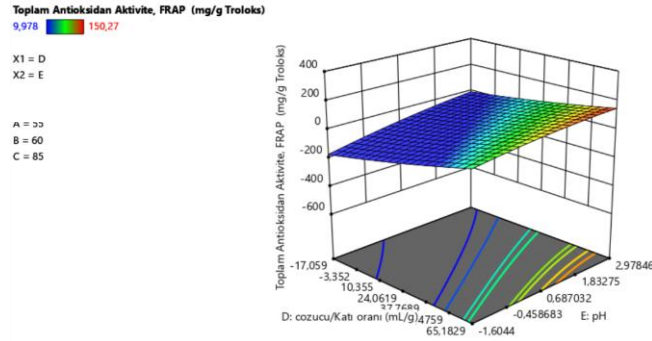
Şekil 4.38 SÖDE TAA-F ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.38’de ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi (70 min ve üzeri) ve çözücü/katı oranı (50 g/ml üzeri) artan noktalar TAA-F için pozitif etkilidir.



Şekil 4.39 SÖDE TAA-F ekstraksiyon süresi-pH oranı ilişkisini gösteren grafik

Şekil 4.39’da ekstraksiyon süresi ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve pH artan noktalar TAA-F için farklı değerlerde maksimum artış gözlenmemiştir.



Şekil 4.40 SÖDE TAA-F çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.40’da çözücü/katı oranı ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Çözücü/katı oranı ve pH artan noktalar TAA-F için farklı değerlerde maksimum artış gözlenmemiştir.

4.1.5 Cevap Faktörü 5: Rozmarinik asit miktarı (RA) deneysel tasarım (ANOVA) bulguları

RA cevap faktörünün istatistiksel yöntemle FT-Fis F Çizelge verilerinden regresyon modelin uygulanabilirliği denenmiş ve iki testin bulguları çizelge 4.8’te verilmiştir.

Tahmin edilen veriler ve deneysel veriler arasındaki uyumu gösteren ilişki katsayısı (R^2) değeri 0,9561 olarak elde edilmiştir. Elde edilen bu değer, deneysel verilerin YMM ile %95,61 açıklanabileceğini göstermektedir. Bu sonuç elde edilen model denklemin RA tayini için incelenen bağımsız değişkenlerin ölçüm aralığında yüksek doğrulukta uygulanabilirliğini göstermektedir.

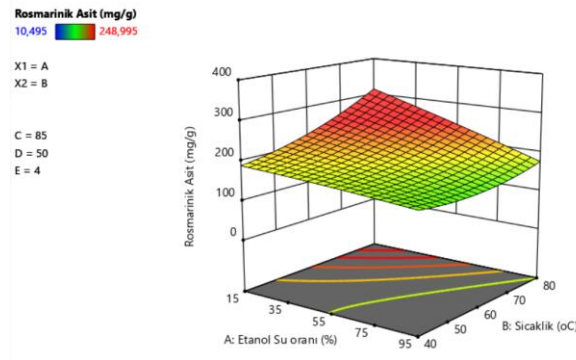
0,77’lik Uyum Eksikliği F değeri, “Uyumluluk Eksikliği”nin saf hataya göre anlamlı olmadığını gösterir. Bu kadar büyük bir “Uyumluluk Eksikliği” F değerinin gürültü nedeniyle oluşma olasılığı %62,69’dur. Model denkleminde çözücü/katı oranı (89,12) ve sıcaklık (36) pozitif etkili iken etil alkol/ su oranı (-42,32) negatif etkilidir.

Çizelge 4.8 SÖDE Rozmarinik Asit miktarı (RA) cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	84336,57	20	4216,83	11,98	< 0.0001
Etil alkol /su oranı	2686,67	1	2686,67	7,63	0,0185
Sıcaklık	1351,06	1	1351,06	3,84	0,0759
Ektraksiyon Süresi	443,15	1	443,15	1,26	0,2857
Çözücü/katı oranı	8281,13	1	8281,13	23,53	0,0005
pH	34,09	1	34,09	0,0969	0,7615
Etil alkol /su oranı x Sıcaklık	740,41	1	740,41	2,1	0,1748
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon Süresi	837,38	1	837,38	2,38	0,1512
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	0,2894	1	0,2894	0,0008	0,9776
Etil alkol /su oranı x pH	11,1	1	11,1	0,0315	0,8623
Sıcaklık x Ektraksiyon Süresi	1293,52	1	1293,52	3,68	0,0815
Sıcaklık x Çözücü/katı oranı	39,33	1	39,33	0,1117	0,7445
Sıcaklık x pH	390,89	1	390,89	1,11	0,3145
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	184,47	1	184,47	0,5242	0,4842
Ektraksiyon Süresi x pH	2393,07	1	2393,07	6,8	0,0244
Çözücü/katı oranı x pH	1663,54	1	1663,54	4,73	0,0524
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	12,91	1	1,29E+01	0,0367	0,8516
Sıcaklık x Sıcaklık	612,65	1	612,65	1,74	0,2138
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	980,19	1	980,19	2,79	0,1233
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	570,28	1	570,28	1,62	0,2293
pH x pH	305,43	1	305,43	0,8679	0,3715
Arta Kalan	3871,2	11	351,93		
<i>UyumEksikliği</i>	1855,1	6	309,18	0,7668	0,6269
<i>Hata</i>	2016,1	5	403,22		
Düzeltilmiş top.	88207,77	31			
Önemli Model Terimleri	A, C, CE				
R ²	0,9561				
R ² _D	0,8763				

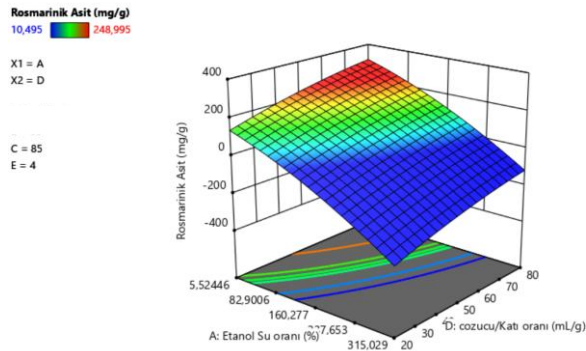
İkili etkilerde çözücü/katı oranı -pH arasındaki pozitif ilişki (40,79) ve ekstraksiyon süresi-pH negatif (-48,92) ilişkisi model denklemle açıklanmaktadır.

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için RA üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.



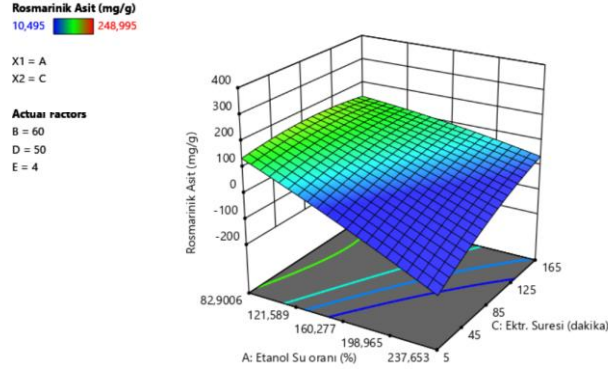
Şekil 4.41 SÖDE RA etil alkol/ su oranı ve sıcaklık eşyükselti eğrileri

Şekil 4.41’de etil alkol/ su oranı ve sıcaklık ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı azalan ve sıcaklık artan noktaları RA için değerinde artış gözlenmiştir.



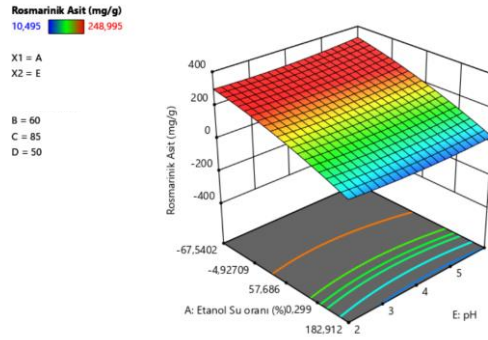
Şekil 4.42 SÖDE RA etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.42’de etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı çözücü/katı oranı (mL/g) değişen noktaları RA için değerinde yüksek değişiklik gözlenmemiştir.



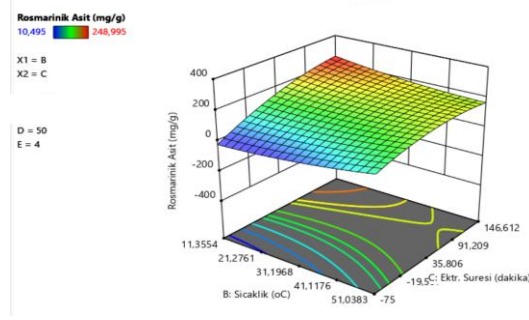
Şekil 4.43 SÖDE RA etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(min) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.43’de etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(min) ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı azalan ile ekstraksiyon süresi(min) artan değişen noktaları RA için değeri artmaktadır.



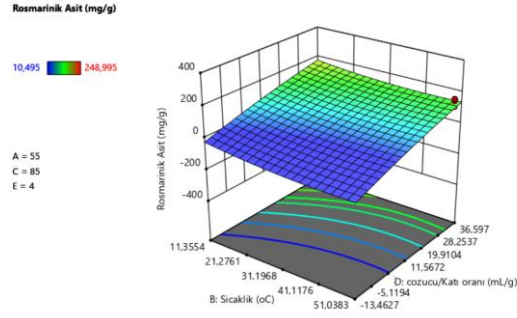
Şekil 4 44 SÖDE RA etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.44’de etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(min) ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı azalan ile ekstraksiyon süresi(min) artandeğişen noktaları RA için değeri artmaktadır.



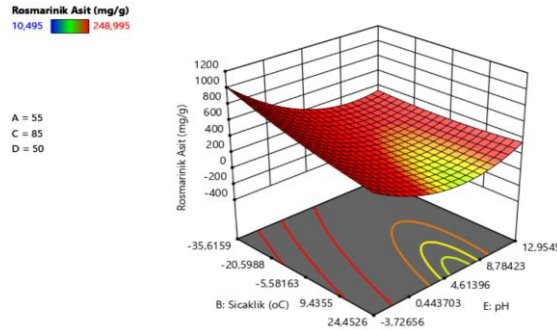
Şekil 4.45 SÖDE RA sıcaklık ve ekstraksiyon süresi(min) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.45’de sıcaklık ve ekstraksiyon süresi(min) ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklık azalan ile ekstraksiyon süresi(min) artan değişen noktaları RA için değeri artmaktadır.



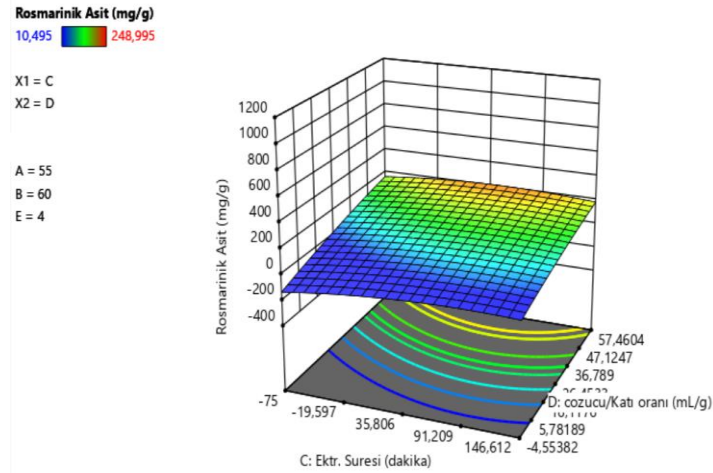
Şekil 4.46 SÖDE RA sıcaklık ve Çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.46’da sıcaklık ve Çözücü/katı oranı (mL/g) ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklık ve Çözücü/katı oranı (mL/g) değişen noktaları için RA değerinde bariz bir artış gözlenmemiştir.



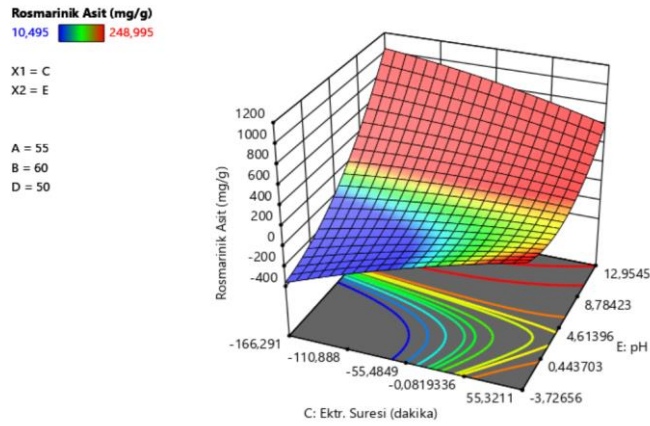
Şekil 4.47 SÖDE RA sıcaklık ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.47’de sıcaklık ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Sıcaklık ve pH değişen noktaları için RA değerinde yüksek artan değerler gözlenmiş ve model denklemden pozitif değer ile açıklanmıştır.



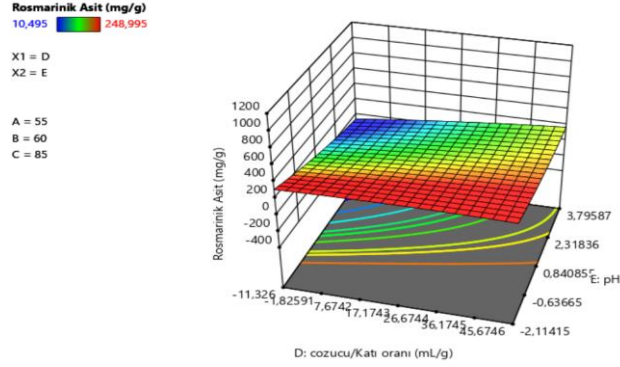
Şekil 4.48 SÖDE RA ekstraksiyon süresi(min) ve Çözücü/katı oranı eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.48’de ekstraksiyon süresi(min) ve çözücü/katı oranı ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi(min) ve çözücü/katı oranı (mL/g) değişen noktaları için RA azalan değerler gözlenmiştir.



Şekil 4.49 SÖDE RA ekstraksiyon süresi ve pH eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.49’da ekstraksiyon süresi(min) ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi(min) ve pH değişen noktaları için RA azalan değerler gözlenmiştir.



Şekil 4.50 SÖDE RA çözücü/katı oranı (mL/g) ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.50 Çözücü/katı oranı (mL/g) ve pH ilgili bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Çözücü/katı oranı (mL/g) ve pH değişen noktaları için RA artan değerler gözlenmiştir.

4.2 Mikrodalga Destekli Çözücü Ekstraksiyonu İçin Deneysel Tasarım ve Optimizasyon Çalışması Bulguları

MDDE için deneysel tasarım: MDDE için Optimizasyon için beş faktör (bağımsız değişkenler) etil alkol/ su oranı (%) mikrodalga güç(W); süre (saniye); çözücü/katı (mL/g) ve pH seçilmiştir.

MDDE Optimizasyon: Optimizasyonun cevap faktörleri

- Toplam fenolik madde miktarı
- Toplam flavonoid madde miktarı
- DPPH
- FRAP
- Fenolik madde miktarı: Rozmarinik asit, kaffeik asit, luteolin ve pirogallol

Yaklaşık 0,5000 g tartılan numunelere iki farklı tasarıma göre hazırlanan deney setlerindeki şartlara göre işlem yapılmıştır. Kaba süzgeç kağıdından süzülen ekstaktların süzüntü hacimleri kaydedildikten sonra dondurulmuştur.

MDDE için belirlenen şartlar altında mikrodalga destekli ekstraksiyonla elde edilen ekstraktların farklı renkleri Çizelge 4.9 'da görülmektedir.

Çizelge 4.9 MDDE deneysel tasarım noktaları, çalışma aralıkları ve ekstraktın renkleri

Deneysel Tasarım	A:Etil alkol/ Su oranı, %	B: Güç, W	C: Süre, saniye	D: Çözücü Katı, mL/	E:pH	Ekstraktın Rengi
1	55	350	80	55	4	
2	75	525	60	45	5	
3	35	350	100	45	3	
4	35	525	100	45	5	
5	55	700	80	55	4	
6	55	350	80	55	2,5	
7	35	350	100	65	5	
8	35	525	60	45	3	
9	35	350	60	45	5	
10	75	350	60	65	5	
11	75	350	100	65	3	
12	55	350	80	55	4	
13	75	350	100	45	5	
14	75	525	60	65	3	
15	35	350	60	65	3	
16	55	350	80	75	4	
17	75	525	100	65	5	
18	35	525	100	65	3	
19	55	350	80	55	4	
20	55	350	80	55	4	
21	95	350	80	55	4	
22	55	350	80	35	4	
23	75	350	60	45	3	
24	15	350	80	55	4	
25	55	350	80	55	4	
26	35	525	60	65	5	
27	55	175	80	55	4	
28	55	350	80	55	4	
29	55	350	120	55	4	
30	55	350	40	55	4	
31	75	525	100	45	3	
32	55	350	80	55	6	

MDDE deney tasarımında, bağımsız değişkenlerin bir fonksiyonu olarak yanıtı tanımlayan ikinci dereceden model geliştirilmiştir. İkinci dereceden kurulan modelin hataları, sabit varyansla normal dağılmış olup birbirinden bağımsızdır. Optimizasyon çalışmasında sistemi karakterize eden tüm yanıtlar birlikte ele alınmış, çok yanıtlı optimizasyon, çok amaçlı pareto bölgeler yardımı ile çözülmüştür. Her bir cevap faktörü için tasarım matrisi ve herbir terimin uyumu varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiştir.

Bu yöntemle herbir faktörün lineer, kuadratik ve interaksiyon etkilerinin cevaplar üzerindeki istatistiksel önemlilikleri %95 güven seviyesinde Fischer (F testi) uygulanarak verilmiştir. Bir model sistemin gerçek cevaba uygun olup olmadığına ve uyum eksikliğinden (lack of fit) kaynaklanan hatanın önemsiz ve regresyondan kaynaklanan varyasyonun %95 güven seviyesinde önemli olması koşulu ile karar verilmiştir. Uyum eksikliği için F testinin önemli olduğu durumda, verilere uygun olması için daha karmaşık bir modele ihtiyaç duyulmuş ve model değiştirilmiştir.

Çalışmada kullanılan deneysel tasarım noktaları ve çalışma aralıkları Çizelge 4.10'da verilmiştir. Bağımsız değişkenlerden pH ve çözücü miktarının ekstraktın rengini belirleyen temel değişkenler olduğu söylenebilir. Etil alkolün düşük değerlerinde ekstre daha kahverengi renkte iken orta değerlerinde daha çok yeşil renk hâkim olmuştur. Çizelge 4.9 'daki deneysel tasarım noktalarında TFM, TFLM, TAA-D, TAA-F ve RA yöntemlerine göre bağımlı değişkenlere ait elde edilen bulguları vermektedir. Çizelge 4.10 incelendiğinde MDDE deneysel tasarım noktalarında TAA-D metoduna göre 32,169 - 90,539 %inhibisyon aralığında değişmektedir. TAA-F miktarı olarak 1421-7057,57 mg/100g troloks eşdeğeri aralığında değişmektedir. TFM 32,888 - 428,426 mg GAE/100 g aralığındadır. TFLM ise 0,429-3,337 mg/g kuarsetin eşdeğeri olarak bulunmuştur. RA miktarı 67,0-708 mg/g aralığında bulunmuştur. *O. sipyleum* bitkisinin mikrodalga destekli ekstraksiyonu sonrasında, ekstraktlardaki polifenolik maddelerin HPLC analiz bulguları bu Çizelge 4.10'da belirtilmiştir.

Çizelge 4.10 MDDE deneysel tasarım noktalarında bağımlı değişkenlere ait sonuçlar

Deneysel Tasarım Noktası	Toplam Antioksidan Aktivite DPPH	Toplam Fenolik Madde mg GAE/g	Rozmarinik Asit mg/100 g KuBi	Luteolin mg/100 g KuBi	Kafeik Asit mg/100 g KuBi	Pirogallol mg/100 g KuBi	Toplam Flavonoid Madde mg/g Kuarsetin	Toplam Antioksidan Aktivite FRAP mg/g Troloks
	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS	Ortalama ± SS
1	78,020 ± 0,045	288,581 ± 0,219	163,896 ± 28,014	11,0 ± 0,015	5,6 ± 0,859	26,5 ± 0,258	1,586 ± 0,004	3937,69 ± 0,014
2	67,249 ± 0,039	176,61 ± 0,144	86,3368 ± 3,892	6,5 ± 0,015	2,9 ± 0,012	17,8 ± 0,351	0,989 ± 0,003	2378,96 ± 0,009
3	81,223 ± 0,047	295,35 ± 0,122	114,23 ± 14,363	7,5 ± 0,037	2,9 ± 0,124	21,3 ± 0,516	0,513 ± 0,001	2648,88 ± 0,005
4	81,514 ± 0,047	295,158 ± 0,106	130,03 ± 7,418	7,9 ± 0,001	5,9 ± 0,065	1545,5 ± 11,712	1,044 ± 0,003	3901,9 ± 0,009
5	72,926 ± 0,042	251,238 ± 0,140	185,776 ± 3,288	6,6 ± 0,063	5,7 ± 0,063	36,9 ± 1,510	1,968 ± 0,005	4544,66 ± 0,017
6	73,071 ± 0,042	257,573 ± 0,169	105,793 ± 36,331	5,9 ± 0,070	5,7 ± 0,304	30,1 ± 0,030	1,849 ± 0,005	4550,29 ± 0,016
7	83,552 ± 0,048	354,868 ± 0,175	172,068 ± 0,678	5,2 ± 0,016	5,7 ± 0,302	29,2 ± 0,173	1,082 ± 0,003	3871 ± 0,010
8	86,463 ± 0,050	293,416 ± 0,232	140,556 ± 30,590	4,4 ± 0,031	5,6 ± 0,024	14,0 ± 2,180	1,745 ± 0,005	1806,64 ± 0,016
9	86,463 ± 0,050	293,328 ± 0,240	116,537 ± 18,996	4,5 ± 0,100	5,6 ± 0,969	17,6 ± 0,244	1,417 ± 0,004	2371,73 ± 0,013
10	90,539 ± 0,052	428,426 ± 0,415	589,376 ± 4,603	6,6 ± 0,057	8,1 ± 0,344	19,9 ± 0,322	2,771 ± 0,007	1681,73 ± 0,025
11	80,932 ± 0,047	291,555 ± 0,214	185,481 ± 11,064	9,7 ± 0,010	5,6 ± 1,501	526,3 ± 0,134	1,572 ± 0,004	4396,58 ± 0,014
12	77,001 ± 0,044	268,277 ± 0,191	162,486 ± 15,017	24,4 ± 0,064	5,0 ± 0,027	525,3 ± 0,451	1,786 ± 0,005	4157,79 ± 0,016
13	60,116 ± 0,035	124,809 ± 0,020	204,01 ± 9,502	7,8 ± 0,088	2,8 ± 0,029	537,6 ± 0,206	0,877 ± 0,002	2522,03 ± 0,008
14	85,153 ± 0,049	343,126 ± 0,239	608,56 ± 67,713	10,6 ± 0,059	17,7 ± 0,045	419,1 ± 1,955	1,963 ± 0,005	5244,03 ± 0,017

Çizelge 4.10 MDDE deneysel tasarım noktalarında bağımlı değişkenlere ait sonuçlar (devam)

Deneysel Tasarım Noktası	Toplam Antioksidan Aktivite DPPH	Toplam Fenolik Madde mg GAE/g	Rozmarinik Asit mg/100 g KuBi	Luteolin mg/100 g KuBi	Kafeik Asit mg/100 g KuBi	Pirogallol mg/100 g KuBi	Toplam Flavonoid Madde mg/g Kuarsetin	Toplam Antioksidan Aktivite FRAP mg/g Troloks
15	89,083 ± 0,051	418,717 ± 0,444	827,765 ± 60,292	5,5 ± 0,079	8,7 ± 0,096	136,0 ± 1,639	0,944 ± 0,002	1640,29 ± 0,008
16	78,748 ± 0,045	289,585 ± 0,255	408,629 ± 52,266	14,0 ± 0,023	20,0 ± 0,066	576,2 ± 1,640	2,264 ± 0,006	5952,57 ± 0,020
17	74,964 ± 0,043	261,539 ± 0,161	636,299 ± 3,282	10,4 ± 0,043	18,1 ± 0,001	573,2 ± 0,922	1,143 ± 0,003	4618,22 ± 0,010
18	82,096 ± 0,047	315,921 ± 0,268	558,695 ± 37,903	11,6 ± 0,035	17,3 ± 0,046	508,3 ± 0,236	2,473 ± 0,007	5398,9 ± 0,022
19	78,748 ± 0,045	189,182 ± 0,154	282,371 ± 0,674	9,9 ± 0,036	14,7 ± 0,091	438,7 ± 2,088	2,21 ± 0,006	4418,4 ± 0,020
20	65,502 ± 0,038	285,992 ± 0,064	772,001 ± 0,871	12,8 ± 0,028	17,2 ± 0,290	652,2 ± 1,406	0,951 ± 0,003	4442,87 ± 0,008
21	83,843 ± 0,048	322,558 ± 0,051	809,775 ± 23,876	1,7 ± 0,000	7,4 ± 0,045	208,9 ± 0,173	0,429 ± 0,001	1421,65 ± 0,004
22	35,808 ± 0,021	78,314 ± 0,031	561,754 ± 71,278	9,1 ± 0,020	13,4 ± 0,024	610,7 ± 1,838	0,849 ± 0,002	2625,14 ± 0,008
23	77,729 ± 0,045	212,371 ± 0,141	642,293 ± 25,038	9,9 ± 0,033	17,3 ± 0,028	487,8 ± 0,246	1,826 ± 0,005	4802,42 ± 0,016
24	75,546 ± 0,044	200,618 ± 0,147	522,414 ± 81,679	9,4 ± 0,052	16,9 ± 0,079	478,4 ± 0,301	1,732 ± 0,005	4421,31 ± 0,015
25	83,843 ± 0,048	181,3 ± 0,204	495,614 ± 16,825	9,6 ± 0,005	14,9 ± 0,030	381,0 ± 0,560	1,966 ± 0,005	4623,78 ± 0,017
26	86,026 ± 0,050	325,63 ± 0,266	514,849 ± 76,498	10,8 ± 0,048	16,6 ± 0,017	361,5 ± 1,362	3,337 ± 0,009	5077,68 ± 0,030
27	88,064 ± 0,051	338,133 ± 0,225	246,529 ± 25,839	5,4 ± 0,040	9,9 ± 0,011	146,4 ± 0,627	1,866 ± 0,005	2155,68 ± 0,017
28	71,033 ± 0,041	198,382 ± 0,130	631,288 ± 3,896	11,1 ± 0,019	16,6 ± 0,015	541,7 ± 1,767	1,784 ± 0,005	4761,71 ± 0,016
29	79,185 ± 0,046	291,189 ± 0,573	546,538 ± 1,066	10,1 ± 0,052	15,2 ± 0,044	537,9 ± 0,736	1,495 ± 0,004	4498,8 ± 0,013
30	88,792 ± 0,051	385,869 ± 0,282	248,677 ± 18,997	5,6 ± 0,043	9,5 ± 0,031	138,3 ± 0,591	1,645 ± 0,004	2028,59 ± 0,015
31	32,169 ± 0,019	32,888 ± 0,027	77,0082 ± 5,671	2,4 ± 0,001	9,3 ± 0,013	432,2 ± 0,112	0,51 ± 0,001	1570,78 ± 0,005
32	73,799 ± 0,043	202,992 ± 0,566	254,648 ± 6,208	14,7 ± 0,050	22,6 ± 0,023	610,2 ± 1,478	2,678 ± 0,007	7057,57 ± 0,024

Not: Sonuçlar üç tekrarlı (n=3) olarak verilmiştir. SS: Standart sapma

4.2.1 Cevap Faktörü 1: MDDE TFM (GAE) bağımlı değişkeni için modelleme bulguları

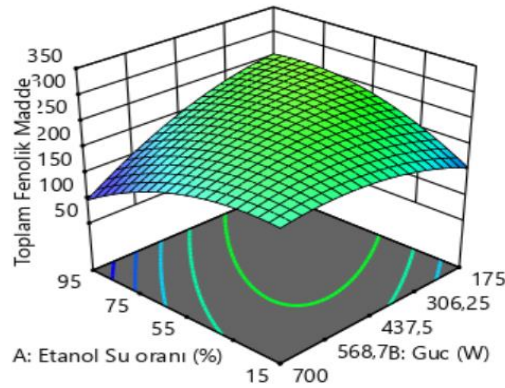
Tasarım matrisi ve TFM (GAE) cevap faktörü için uygulanan FT-Fis F çizelge değerlerinden regresyon modelin geçerliği sınanmış ve her iki test ANOVA istatistiği çizelge 4.11’de verilmiştir.

Tahmin edilen veriler ve deneysel veriler arasındaki uyumu gösteren ilişki katsayısı (R^2) değeri olarak elde edilen 0,8662 değeri deneysel verilerin YMM ile %86,62 açıklanabileceğini gösterir. Bu sonuç elde edilen model denklemin TFM için incelenen bağımsız değişkenlerin ölçüm kapsamında yüksek doğrulukta uygulanabilirliğini izah etmektedir.

MDDE TFM ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı parametrelerinin pozitif yöndeki etkilerini oluşturulan model denklem ile açıklanabilir.

Model denklem: $179,037 + -19,8956A + 3,15772 B + 55,5199 C + 16,6305 D + 16,6758 E + -13,6038 AB + 31,7913AC + 15,4462AD + -3,72524 AE + 34,0226 BC + -16,0866 BD + -17,8424 BE + -96,3329 CD + 12,5404 CE + -13,5793 DE -13,865 A^2 + 3,29181 B^2 + 110,521 C^2 + 12,1004 D^2 + 57,2114 E^2$

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için TFM üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.

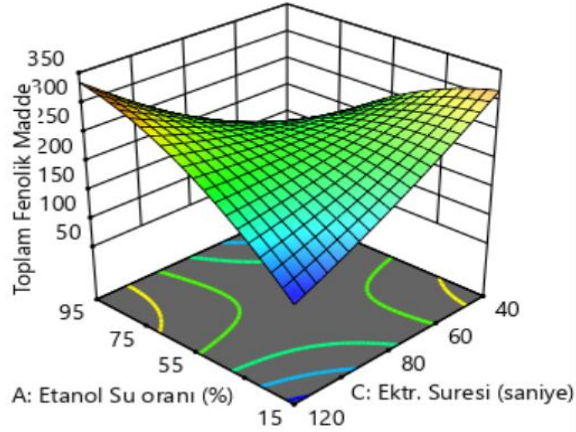


Şekil 4.51 MDDE TFM etil alkol/ su oranı ve güç eşyüksekti eğrileri

Çizelge 4.11 MDDE TFM cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

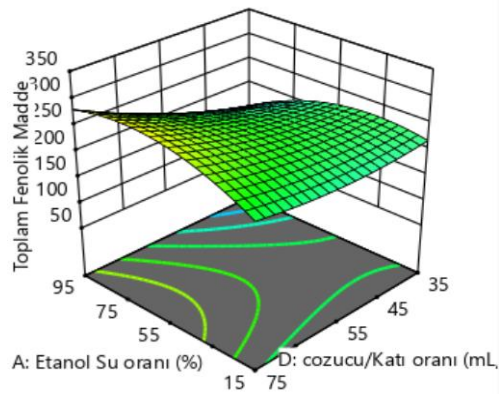
Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	3,528.105	20	17639,6	3,56	0,0173
Etil alkol /su oranı	6761,83	1	6761,83	1,37	0,2673
Güç	450,88	1	450,88	0,091	0,7685
Ektraksiyon Süresi	10608,73	1	10608,73	2,14	0,1713
Çözücü/katı oranı	4724,58	1	4724,58	0,9539	0,3497
pH	4223,5	1	4223,5	0,8527	0,3756
Etil alkol /su oranı x Güç	2723,5	1	2723,5	0,5499	0,4739
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon Süresi	2007,81	1	2007,81	0,4054	0,5374
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	1066,43	1	1066,43	0,2153	0,6517
Etil alkol /su oranı x pH	44,67	1	44,67	0,009	0,926
Güç x Ektraksiyon Süresi	7571,13	1	7571,13	1,53	0,2421
Güç x Çözücü/katı oranı	3808,35	1	3808,35	0,7689	0,3993
Güç x pH	3322,69	1	3322,69	0,6708	0,4301
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	18435,52	1	18435,52	3,72	0,0799
Ektraksiyon Süresi x pH	224,99	1	224,99	0,0454	0,8351
Çözücü/katı oranı x pH	593,58	1	593,58	0,1198	0,7357
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	5414,72	1	5,41E+03	1,09	0,3182
Güç x Güç	3295,73	1	3295,73	0,6654	0,432
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	67960,57	1	67960,57	13,72	0,0035
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	4124,14	1	4124,14	0,8326	0,3811
pH x pH	62142,6	1	62142,6	12,55	0,046
Arta Kalan	54483,44	11	4953,04		
<i>UyumEksikliği</i>	54481,91	6	9080,318	29795,58	<0,0001
<i>Hata</i>	1,52	5	0,304		
Düzeltilmiş top.	4,073.105	31			
Önemli Model Terimleri	C2 ve D2				
R ²	0,8662				
R ² _D	0,623				

Şekil 4.51’de etil alkol/ su oranı ve güç arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının %75-%95 ve ekstraksiyon süresinin 40 -60 s arasında değerler yükselmekte eğer görünümü almaktadır ancak TFM açısından en yüksek değeri sağlayamadığı anlaşılmaktadır



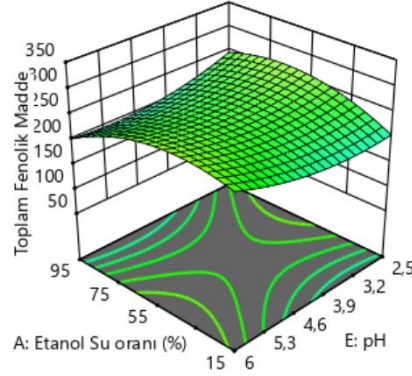
Şekil 4.52 MDDE TFM’nın etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.52’de etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. İkili değerlerin farklı seviyeleri için etkileşimde etil alkol su oranındaki artışa karşılıkektrasksiyon süresindeki azalışta TFM artış belirginleşmekte olduğu anlaşılmaktadır.



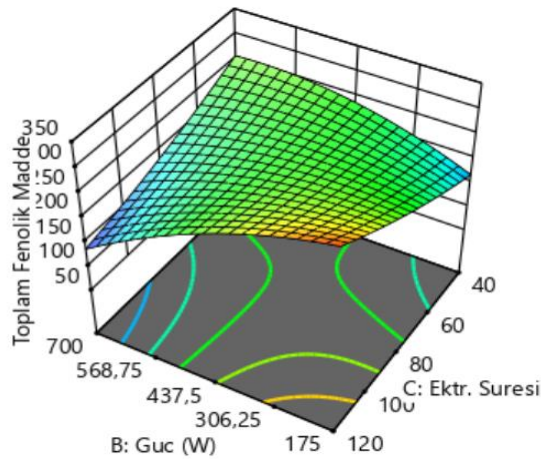
Şekil 4.53 MDDE TFM’nın etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı(mL/g) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.53’de etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. İkili değerlerin farklı seviyeleri için etkileşimin belirgin olmadığı anlaşılmaktadır.



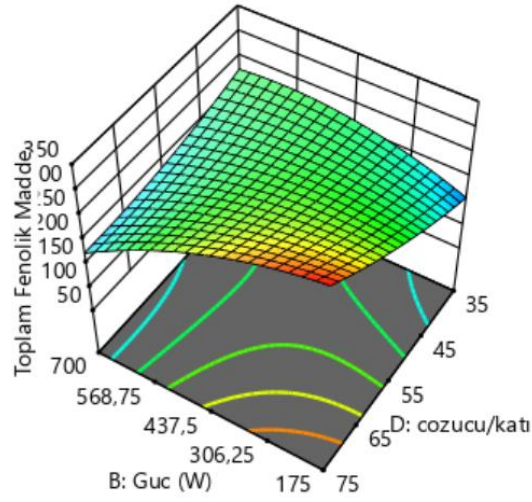
Şekil 4.54 MDDE TFM, etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.54’de etil alkol/ su oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. İkili değerlerin farklı seviyeleri için etkileşim düzeylerinin bariz olarak artan azalan olmadığı anlaşılmaktadır.



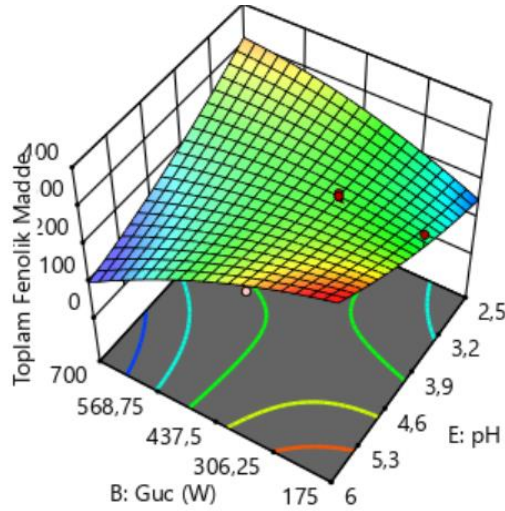
Şekil 4.55 MDDE TFM, güç ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri

Şekil 4.55’de güç ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Güç ve ekstraksiyon süresi farklı seviyeleri için etkileşim düzeylerinin artan azalan değerlerle, ekstraksiyon süresindeki artış ile TFM artışı ilişkisi görülmektedir.



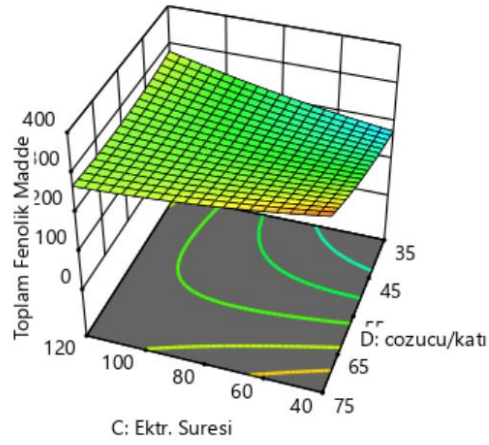
Şekil 4.56 MDDE TFM, güç ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.56’da güç ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Güç ve çözücü/katı oranı farklı seviyeleri için etkileşim düzeylerinin artan azalan değerlerle, çözücü/katı oranı artış ile TFM artışı ilişkili görünmektedir.



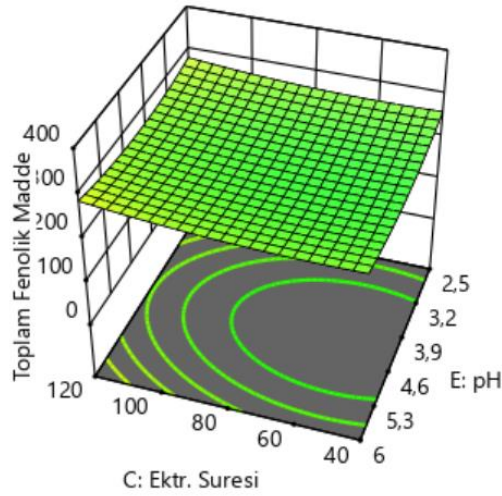
Şekil 4.57 MDDE TFM, güç ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.57’da güç ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Güç ve pH farklı seviyeleri için etkileşim düzeylerinin artan azalan değerlerle, pH artış ile TFM artışı ilişkili görünmektedir.



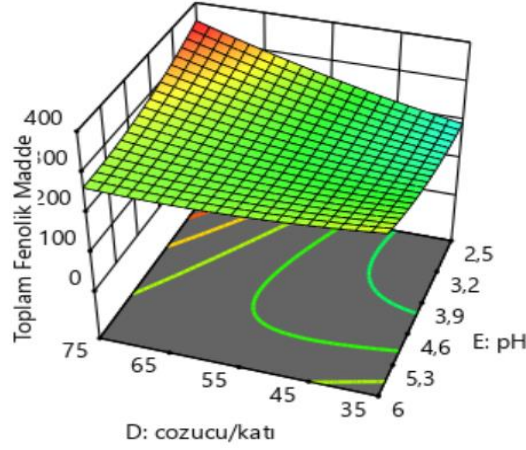
Şekil 4.58 MDDE TFM, ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.58’da ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı farklı seviyeleri için etkileşim düzeylerinin artan azalan değerlerle, çözücü/katı oranı artış ile TFM artışı ilişkili görünmektedir.



Şekil 4.59 MDDE TFM, ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.59’da ekstraksiyon süresi ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve pH farklı seviyeleri için etkileşim düzeylerinin değişen seviyeleri artan değerlerle ilişkili görünmemektedir.



Şekil 4.60 MDDE TFM, çözücü/katı oranı ve pH eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.60’da Çözücü/katı oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Çözücü/katı oranı artan değerlerine ve pH düşük değerlerine karşılık TFM’de artışa eğilimlidir.

4.2.2 Cevap Faktörü 2: MDDE TFLM deneysel tasarım (ANOVA) bulguları

Tasarım matrisi ve MDDE TFLM cevap faktörü için uygulanan FT-Fis F Çizelge değerlerinden regresyon modelin geçerliği sınanmış ve her iki test ANOVA istatistiği çizelge 4.12’de verilmiştir.

Tahmin edilen veriler ve deneysel veriler arasındaki uyumu gösteren ilişki katsayısı (R^2) değeri 0,74,52 olarak elde edilen bu değer, deneysel verilerin YMM ile %74,52 açıklanabileceğini gösterir. Bu sonuç elde edilen model denklemin Toplam Flavanoid miktarı (TFLM) için incelenen bağımsız değişkenlerin ölçüm kapsamında yüksek doğrulukta uygulanabilirliği izah edilmektedir.

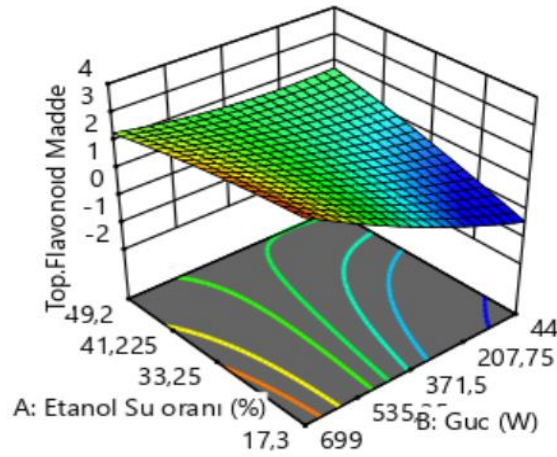
Uyum eksikliği için F testi değeri 0,1600 hesaplanmış ve önemli (uygun) bulunmamıştır. TFLM tayininde mikro dalga ekstraksiyonuyla ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı parametrelerinin etkileri, oluşturulan model ile açıklanabilir.

Çizelge 4.12 MDDE TFLM cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	10,96	20	0,5479	1,61	0,2101
Etil alkol /su oranı	1,28	1	1,28	3,75	0,0788
Güç	0,0203	1	0,0203	0,0597	0,8114
Ektraksiyon Süresi	2,09	1	2,09	6,13	0,0308
Çözücü/katı oranı	4,13	1	4,13	12,11	0,0051
pH	0,3214	1	0,3214	0,9438	0,3522
Etil alkol /su oranı x Güç	1,5	1	1,5	4,39	0,0601
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon Süresi	0,0778	1	0,0778	0,2286	0,6419
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	0,0011	1	0,0011	0,0031	0,9566
Etil alkol /su oranı x pH	0,105	1	0,105	0,3083	0,5899
Güç x Ektraksiyon Süresi	0,1317	1	0,1317	0,3867	0,5467
Güç x Çözücü/katı oranı	0,4583	1	0,4583	1,35	0,2706
Güç x pH	0,1922	1	0,1922	0,5644	0,4683
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	0,0052	1	0,0052	0,0152	0,904
Ektraksiyon Süresi x pH	0,5469	1	0,5469	1,61	0,2312
Çözücü/katı oranı x pH	0,1697	1	0,1697	0,4985	0,4949
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	0,957	1	9,57E-01	2,81	0,1218
Güç x Güç	0,0306	1	0,0306	0,0898	0,7701
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	0,1153	1	0,1153	0,3386	0,5724
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	0,1276	1	0,1276	0,3747	0,5529
pH x pH	0,2459	1	0,2459	0,7222	0,4135
Arta Kalan	3,75	11	0,3405		
<i>UyumEksikliği</i>	2,83	6	0,4713	2,57	0,16
<i>Hata</i>	0,9182	5	0,1836		
Düzeltilmiş top.	14,7	31			
Önemli Model Terimleri	C ve D				
R ²	0,7452				
R ² _D	0,282				

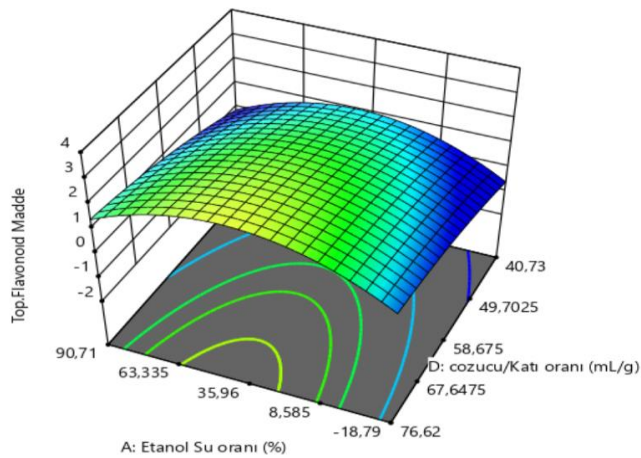
Model denklem: $Y_{Flavanoid} = +1,78 - 0,5095A + 0,0721B - 0,6513C + 0,9154D + 0,2340E - 1,59AB - 0,2790AC + 0,0325AD - 0,2835AE - 0,4714BC + 0,8794BD - 5147BE + 0,0720CD - 0,6471CE + 0,3605DE - 0,7498A\hat{A}^2 + 0,1636B\hat{A}^2 - 0,2603C\hat{A}^2 - 0,2738D\hat{A}^2 + 0,3550E\hat{A}^2$

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için TFLM üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.



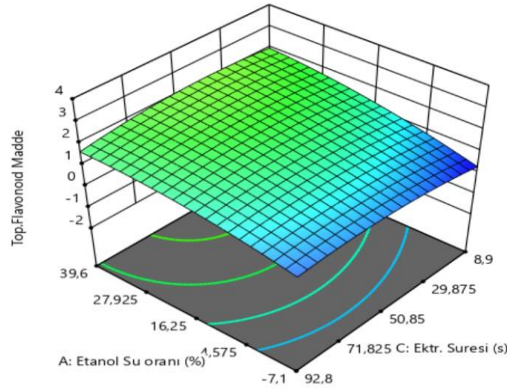
Şekil 4.61 MDDE TFLM etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri

Şekil 4.61’de etil alkol/ su oranı ve güç arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve güç TFLM üzerinde farklı değerler için %30 etil alkol su ile 700 W güçte artış belirginleşmiştir.



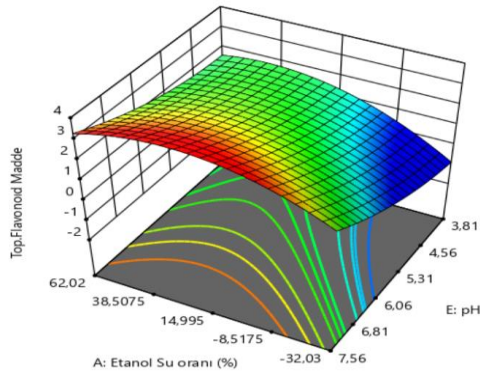
Şekil 4.62 MDDE TFLM miktarının etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.62’de etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve Çözücü/katı oranı nın TFLM üzerinde farklı değerler için belirgin etki oluşturmamıştır.



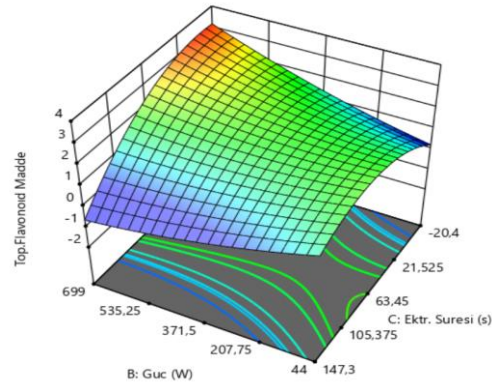
Şekil 4.63 MDDE TFLM etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.63’de etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve ekstraksiyon süresi değişen seviyelerine karşın TFLM üzerinde artmamaktadır.



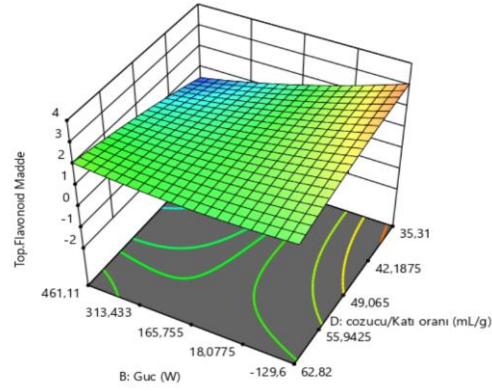
Şekil 4.64 MDDE TFLM, etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.64’te etil alkol/ su oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/su oranının ve pH’nın artışı üzerinde TFLM değerleri yükselmektedir.



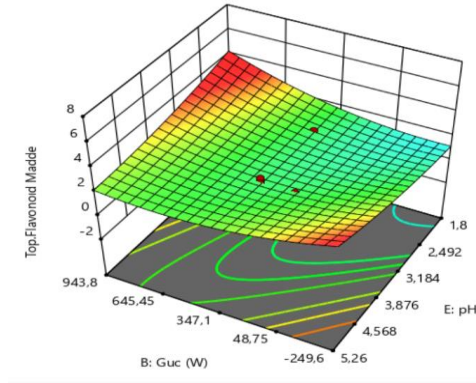
Şekil 4.65 MDDE TFLM, güç ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri

Şekil 4.65’te güç ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Gücün artışı ve ekstraksiyon süresi azalması üzerinde TFLM değerleri yükselmektedir.



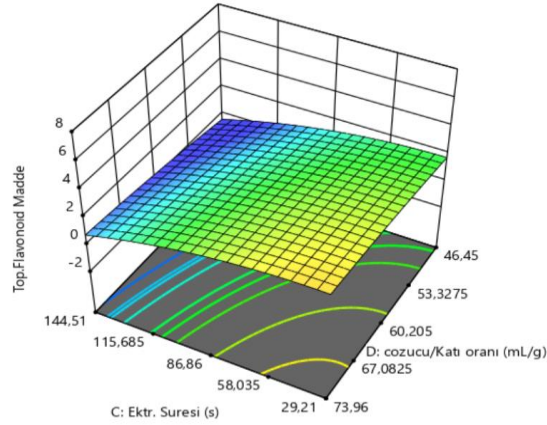
Şekil 4.66 MDDE TFLM, güç ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.66’da güç ve Çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Gücün artışı ve Çözücü/katı oranı azalması üzerinde TFLM değerleri yükselmektedir.



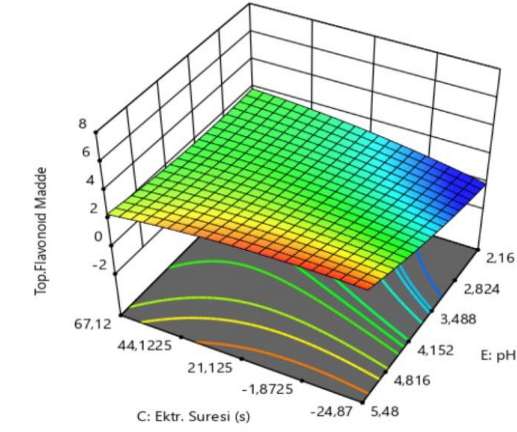
Şekil 4.67 MDDE TFLM, güç ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.67’da güç ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Gücün artışı ve pH azalması TFLM değerlerini yükselmektedir.



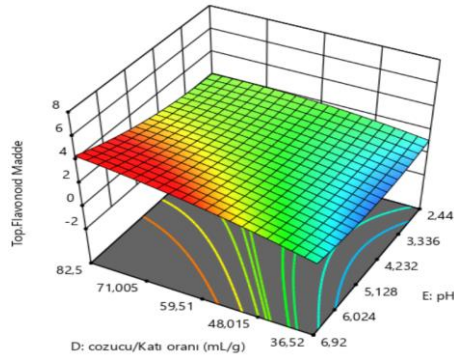
Şekil 4.68 MDDE TFLM, ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.68’da ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Burada ekstraksiyon süresinin ve Çözücü/katı oranı artışı ilişkisi TFLM seviyesinde belirgin artış sağlamamıştır.



Şekil 4.69 MDDE TFLM, ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.69’da ekstraksiyon süresi ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Burada ekstraksiyon süresinin azalmasına karşın pH artışı ilişkisi TFLM seviyesinde artışa eğilim sağlamıştır.



Şekil 4.70 MDDE TFLM, Çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.70’da Çözücü/katı oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Burada Çözücü/katı oranı artışı pH artışı ilişkisi TFLM seviyesinde artışa eğilim sağlamıştır.

4.2.3 Cevap Faktörü 3: MDDE TAA-D bağımlı değişkeni için deneysel tasarım (ANOVA) bulguları modelleme bulguları

Tasarım matrisi ve TAA-D cevap faktörü için uygulanan FT-Fis F Çizelge değerlerinden regresyon modelin geçerliği sınanmış ve her iki test ANOVA istatistiği çizelge 4.13’de verilmiştir.

Çizelge 4.13 MDDE TAA-D cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	8631,74	20	431,59	11,84	< 0,0001
Etil alkol /su oranı	752,19	1	752,19	20,63	0,0008
Güç	299,83	1	299,83	8,22	0,0153
Ektraksiyon Süresi	207,27	1	207,27	5,69	0,0362
Çözücü/katı oranı	1939,13	1	1939,13	53,19	< 0,0001
pH	190,19	1	190,19	5,22	0,0432
Etil alkol /su oranı x Güç	3,87	1	3,87	0,1061	0,7507
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon Süresi	611,31	1	611,31	16,77	0,0018
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	6,45	1	6,45	0,177	0,682
Etil alkol /su oranı x pH	292,28	1	292,28	8,02	0,0163
Güç x Ektraksiyon Süresi	449,94	1	449,94	12,34	0,0049
Güç x Çözücü/katı oranı	82,72	1	82,72	2,27	0,1601
Güç x pH	346,88	1	346,88	9,52	0,0104
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	381,93	1	381,93	10,48	0,0079
Ektraksiyon Süresi x pH	4,13	1	4,13	0,1132	0,7429
Çözücü/katı oranı x pH	226,48	1	226,48	6,21	0,0299
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	140,39	1	1,40E+02	3,85	0,0755
Güç x Güç	188,78	1	188,78	5,18	0,0439
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	307,86	1	307,86	8,45	0,0143
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	320,18	1	320,18	8,78	0,0129
pH x pH	38,31	1	38,31	1,05	0,3273
Arta Kalan	401	11	36,45		
<i>UyumEksikliği</i>	337,17	6	56,19	4,4	0,0626
<i>Hata</i>	63,83	5	12,77		
Düzeltilmiş top.	9032,74	31			
Önemli Model Terimleri	A, B, C, D, E, AC, AE, BC, BE, CD, DE, B ² , C ² , D ²				
R ²	0,9556				
R ² _D	0,8749				

R^2 değeri verilerin tahmini ile deneysel verilerin arasındaki uyumu gösteren ilişki katsayısı olup 0,9556 olarak elde edilen bu değer, deneysel verilerin YMM ile %95,56 açıklanabileceğini göstermektedir. Bu sonuç elde edilen model denklemin TAA-D için incelenen bağımsız değişkenlerin ölçüm kapsamında yüksek doğrulukta uygulanabilirliği izah edilmektedir.

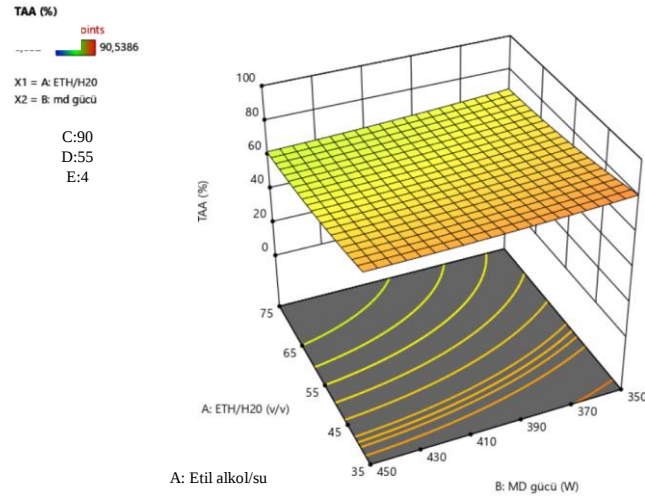
Uyum Eksikliği F değeri olan 0,00626 hesaplanan bu değer önemli (uygun) ($p>0.05$) bulunmamıştır.

MDDE TAA-D tayininde etil alkol/ su oranı, güç, ekstraksiyon süresi, çözücü/katı oranı ve etil alkol/ su oranı- çözücü/katı oranı parametrelerinin etkilerinin oluşturduğu model ile açıklanabilir.

Model denklem: $+69,55-6,64A-2,58B-7,76 C+10,65D+3,54E-0,5128AB-17,54AC+1,20AD+9,53AE-8,29BC-2,37BD+5,76BE+13,87CD-1,70CE-8,39DE+2,23A^2+ 0,7878 B^2+7,44C^2-3,37D^2+1,42E^2$

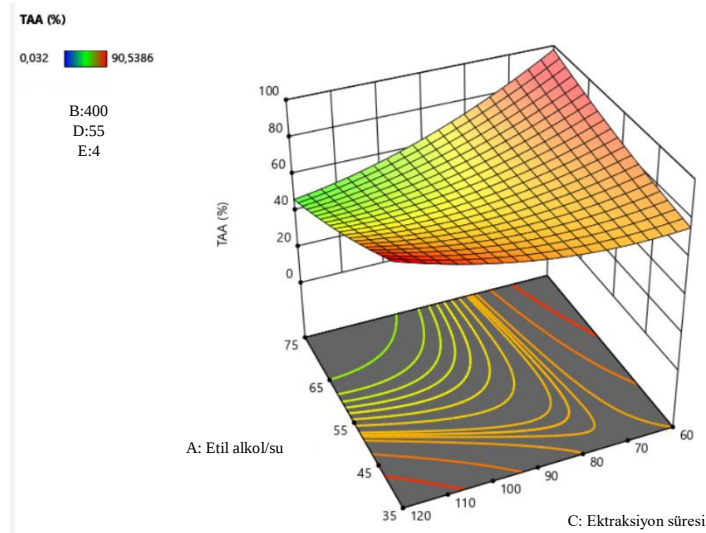
Model denkleminde etil alkol/ su oranı, güç, ekstraksiyon süresi, çözücü /katı oranı, pH ile ikili etil alkol/ su oranı-güç, etil alkol/ su oranı-pH, güç-ekstraksiyon süresi, güç-pH, ekstraksiyon süresi- çözücü/katı oranı, çözücü/katı oranı -pH ve karesel etkileşimlerinin önemli olduğu belirlenmiştir.

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için TAA-D üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.



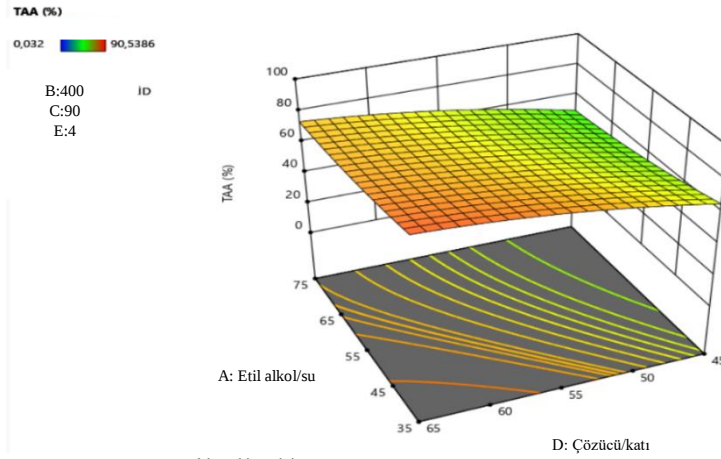
Şekil 4.71 MDDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri

Şekil 4.71’de etil alkol/ su oranı ve güç arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etil alkol/ su oranı ve güç farklı seviyeleri için TAA-D seviyesinde arttırıcı etkisi gözlenmemiştir.



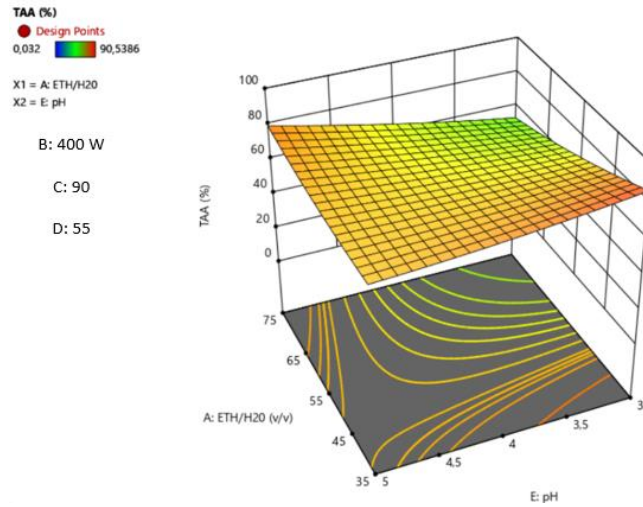
Şekil 4.72 MDDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri

Şekil 4.72’de etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etil alkol/ su oranı azalan ve ekstraksiyon süresinin artan değerlerine karşın TAA-D seviyesinde arttırıcı etkisi gözlenmiştir.



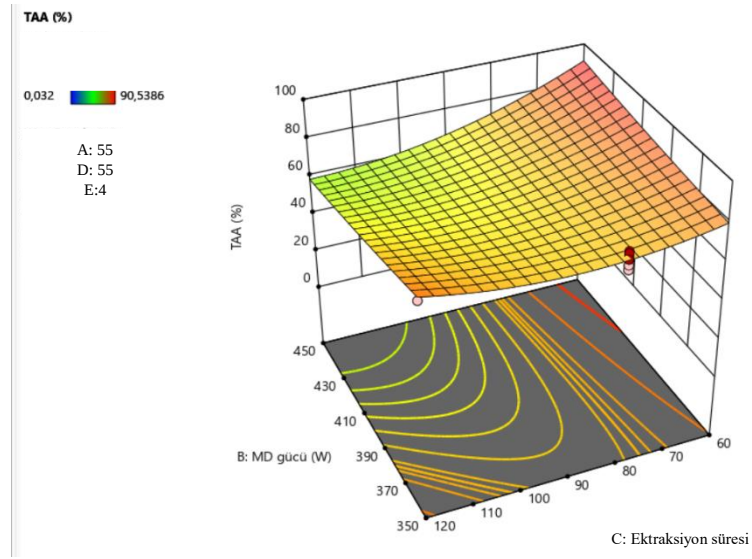
Şekil 4.73 MDDE TAA-D etil alkol/ su oranı ve Çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.73’de etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı artan değerlerine karşın TAA-D seviyelerinde yüksek artış olmamıştır.



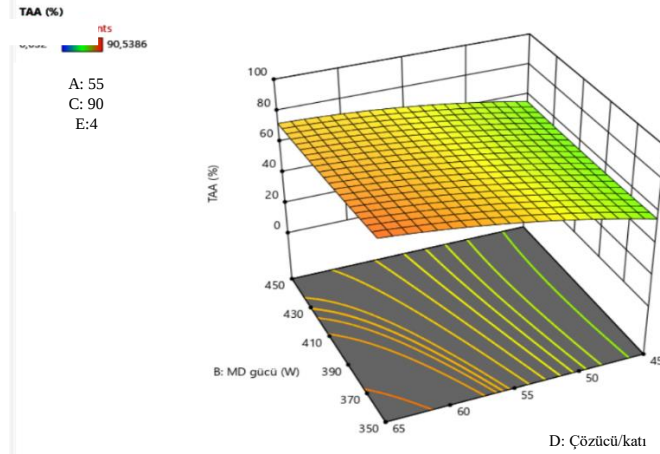
Şekil 4.74 MDDE TAA-D, etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.74’de etil alkol/ su oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etil alkol/ su oranı azalanve pH artan değerlerine karşın TAA-D seviyelerinde genel artış olmuştur.



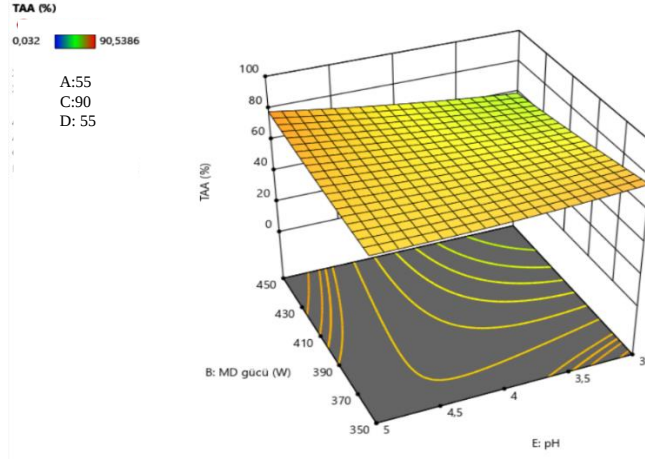
Şekil 4.75 MDDE TAA-D, güç ve ekstraksiyon süresi eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.75’de güç ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramını ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Bu gücün değişen ve ekstraksiyon süresi artan değerlerine karşın TAA-D seviyelerinde genel artış olmuştur.



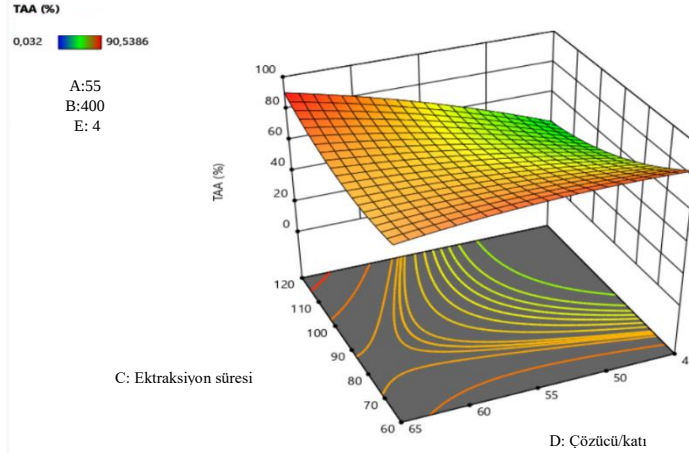
Şekil 4.76 MDDE TAA-D, güç ve çözücü/katı oranı eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.76’da güç ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramını ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Bu gücün değişen ve çözücü/katı oranı artan değerlerine karşın TAA-D seviyelerinde genel artış olmuştur.



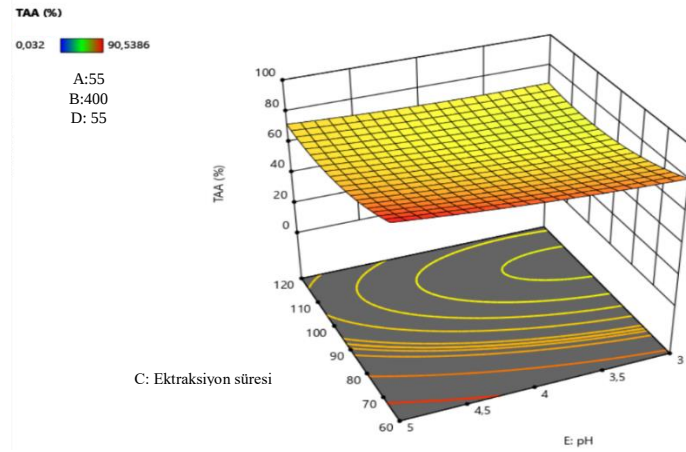
Şekil 4.77 MDDE TAA-D, güç ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.77’da güç ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu gücün ve pH’nın çeşitli seviyelerdeki değerlerine karşın TAA-D seviyelerinde yüksek olmayan genel artış olmuştur.



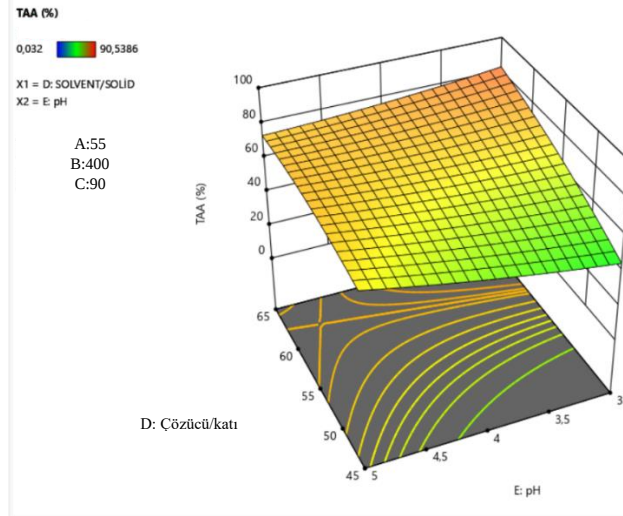
Şekil 4.78 MDDE TAA-D, ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.78’da ekstraksiyon süresi ve Çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı çeşitli seviyelerdeki değerlerine karşın TAA-D seviyelerinde belirgin artış olmuştur.



Şekil 4.79 MDDE TAA-D, ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri

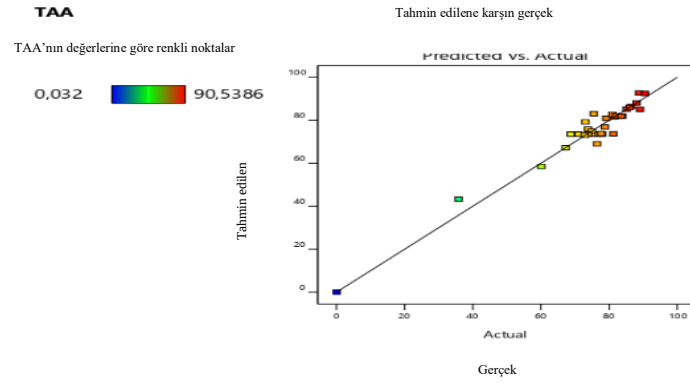
Şekil 4.79’da ekstraksiyon süresi ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu ekstraksiyon süresinin azalan ve pH artan değerlerine karşın 70 s ve pH 4 ‘ün üzerinde TAA-D seviyelerinde artış olmuştur.



Şekil 4.80 MDDE TAA-D, çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.80’da çözücü/katı oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu çözücü/katı oranı ve pH değişen seviyelere karşın TAA-D seviyelerinde büyük artış olmamıştır.

MDDE TAA-D gerçek ve düzeltilmiş değerler arasındaki ilişki Şekil 4.81’deki grafikde görülmektedir.



Şekil 4.81 MDDE TAA-D gerçek ve düzeltilmiş değerler arasındaki ilişki grafiği

4.2.4 Cevap Faktörü 4: MDDE TAA-F bağımlı değişkeni için deneysel tasarım (ANOVA) bulguları modelleme bulguları

İlişki katsayıları (R^2 ve R^2_D) değerleri, istatistiksel olarak; regresyon modelindeki bağımlı değişkenlerin ortalamadan sapmalarının, deneysel olarak elde edilen bağımlı değişkenlerin ortalamadan sapmalarına oranı olarak ifade edilir ve bağımlı değişkenin bağımsız değişkenler tarafından ne kadar iyi açıklandığını göstermek için kullanılır.

Tasarım matrisi ve Toplam Antioksidan Kapasite TAA-F cevap faktörüne ilişkin regresyon katsayılarının önemini bulmak için faktörlerin (değişkenlerin) orta noktalarında yapılan bir dizi paralel deneyden yararlanılmış ve uygulanan Cevap faktörüne istatistiksel yöntemle FT-Fis F Çizelge değerlerinden regresyon modelin uygulanabilirliği denenmiş ve iki testin bulguları çizelge 4.14’de verilmiştir.

Parametrelerden üç tanesi merkezde sabit tutulduğunda, diğer iki faktör seviyelerinin TAA-F miktarı üzerine olan etkileri eşyükselti eğrileri ile gösterilmiştir.

0,7223 olarak elde edilen bu değer, deneysel verilerin YMM ile %72,23 açıklanabileceğini gösterir. Bu sonuç elde edilen model denklemin TAA-F için incelenen bağımsız değişkenlerin ölçüm kapsamında yüksek doğrulukta uygulanabilirliği izah edilmektedir.32,72’lik Uyum Eksikliği F değeri, Uyum Eksikliği’nin anlamlı olduğunu

gösterir. Bu kadar büyük bir “Uyumluluk Eksikliği” F değerinin gürültü nedeniyle oluşma olasılığı yalnızca %0,07'dir.

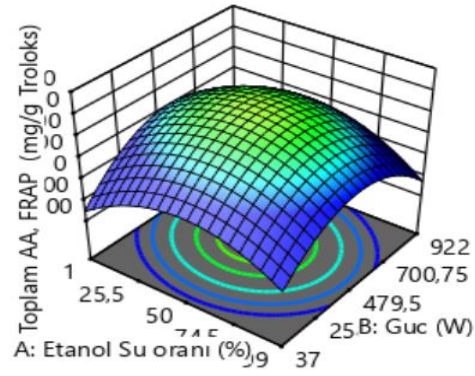
TAA-F miktar tayininde mikro dalga ekstraksiyonuyla çözücü/katı oranı parametresinin etkisini oluşturulan model ile açıklanabilir.

Model denklem: $+4809,50 - 759,09A + 765,10B + 705,41C + 1648,28D + 496,70E - 303,94AB - 1480,75AC - 147,75AD - 1868,34AE - 1109,81BC + 2898,56BD + 485,85BE + 1339,25CD + 629,78CE - 388,72DE - 2113,74A^2 - 1404,52B^2 - 1771,24C^2 - 746,24D^2 + 807,72E^2$

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için TAA-F üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.

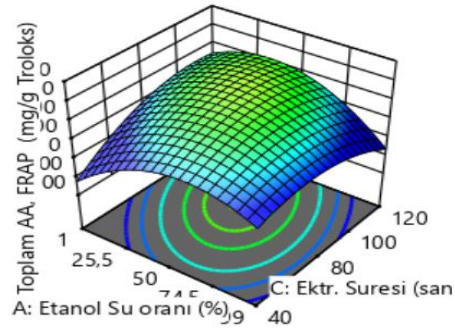
Çizelge 4.14 MDDE TAA-F Bağımlı cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	4,76.107	20	2,38.106	1,43	0,2746
Etil alkol /su oranı	2,83.106	1	2,83.106	1,7	0,2184
Güç	2,29.106	1	2,29.106	1,38	0,2653
Ektraksiyon Süresi	2,45.106	1	2,45.106	1,47	0,2505
Çözücü/katı oranı	1,33.107	1	1,33.107	8,03	0,0162
pH	1,44.106	1	1,44.106	0,8694	0,3711
Etil alkol /su oranı x Güç	54742,52	1	54742,52	0,0329	0,8594
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon Süresi	2,19.106	1	2,19.106	1,32	0,2755
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	21830,06	1	21830,06	0,0131	0,9109
Etil alkol /su oranı x pH	4,55.106	1	4,55.106	2,74	0,1262
Güç x Ektraksiyon Süresi	7,29.105	1	7,29.105	0,4384	0,5215
Güç x Çözücü/katı oranı	4,97.106	1	4,97.106	2,99	0,1117
Güç x pH	1,71.105	1	1,71.105	0,1029	0,7544
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	1,79.106	1	1,79.106	1,08	0,3216
Ektraksiyon Süresi x pH	5,18.105	1	5,18.105	0,3111	0,5882
Çözücü/katı oranı x pH	1,97.105	1	1,97.105	0,1185	0,7371
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	7,60.106	1	7,60.106	4,57	0,0559
Güç x Güç	2,25.106	1	2,25.106	1,35	0,2694
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	5,34.106	1	5,34.106	3,21	0,1008
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	9,48.105	1	9,48.105	0,5694	0,4664
pH x pH	1,27.106	1	1,27.106	0,7647	0,4005
Arta Kalan	1,83.107	11	1,66.106		
<i>UyumEksikliği</i>	1,78.107	6	2,97.106	32,72	0,0007
<i>Hata</i>	4,54.105	5	90971,9		
Düzeltilmiş top.	6,59.107	31			
Önemli Model Terimleri	D				
R ²	0,7223				
R ² _D	0,2175				



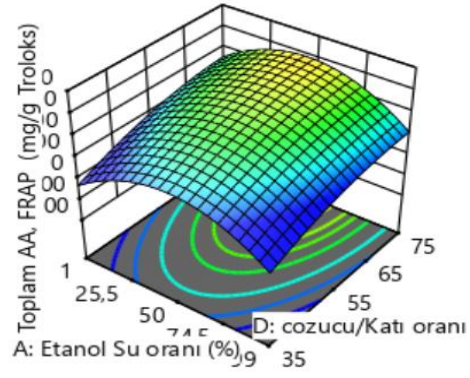
Şekil 4.82 MDDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri

Şekil 4.82’de etil alkol/ su oranı ve güç arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etil alkol/ su oranı ve güç ilişkisi TAA-F seviyesinde arttırıcı etkisi kubbeleşme şeklinde gözlenmiştir.



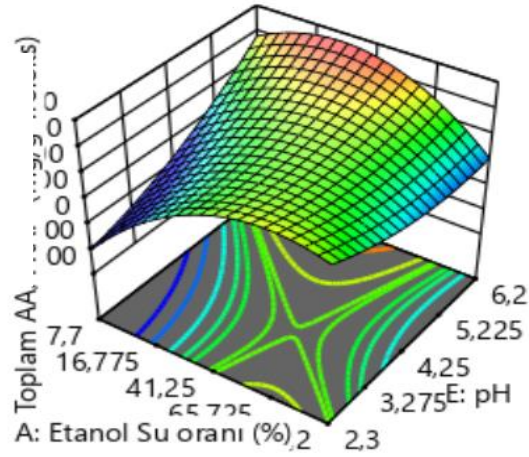
Şekil 4.83 MDDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.83’te etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etil alkol/ su oranı ve Çözücü/katı oranı (mL/g) ilişkisi TAA-F seviyesinde arttırıcı etkisi kubbeleşme şeklinde gözlenmiştir.



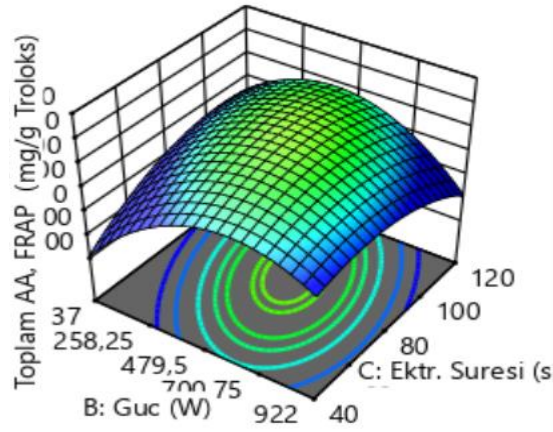
Şekil 4.84 MDDE TAA-F etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.84'te etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) ilişkisi TAA-F seviyesinde arttırıcı etkisi gözlenmiştir.



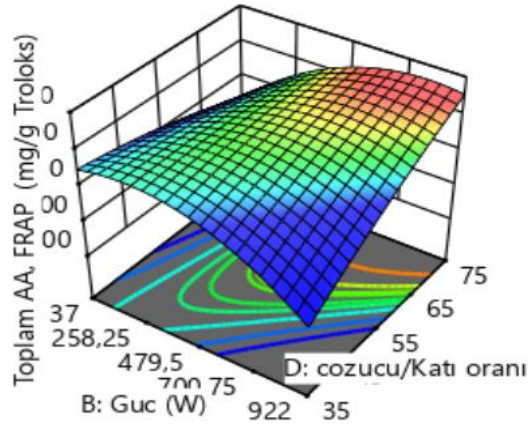
Şekil 4.85 MDDE TAA-F etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.85'te etil alkol/ su oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu etil alkol/su oranı ve pH ilişkisi TAA-F seviyesinde azaltıcı etkisi gözlenmiştir.



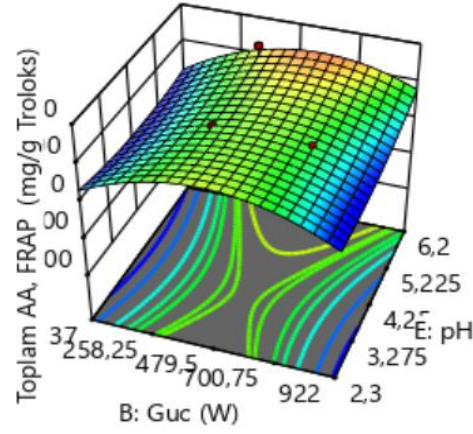
Şekil 4.86 MDDE TAA-F güç ve ekstraksiyon süresi eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.86’da güç ve ekstraksiyon süresi arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Bu güç (475 W) ve ekstraksiyon süresi (80 s) ilişkisi TAA-F seviyesinde hafif artış etkisi gözlenmiştir.



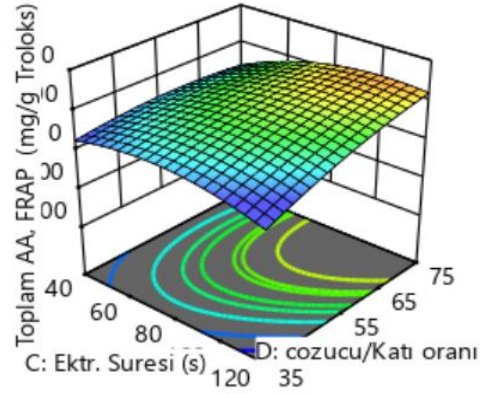
Şekil 4.87 MDDE TAA-F güç ve çözücü/katı oranı eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.87’de güç ve Çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Bu güç (475 W-700 W) ve Çözücü/katı oranı (55 -75) ilişkisi TAA-F seviyesinde yüksek artışla gözlenmiştir.



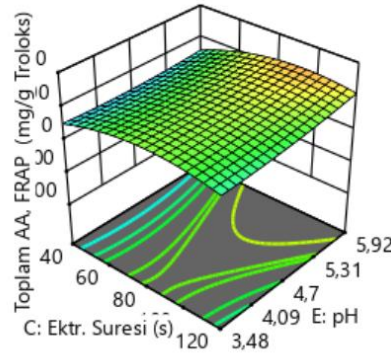
Şekil 4.88 MDDE TAA-F güç ve pH eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.88’de güç ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Bu güç (475 W-700 W) ve pH (4-6) ilişkisi TAA-F seviyesinde yüksek artışla ve kritik nokta gözlenmiştir.



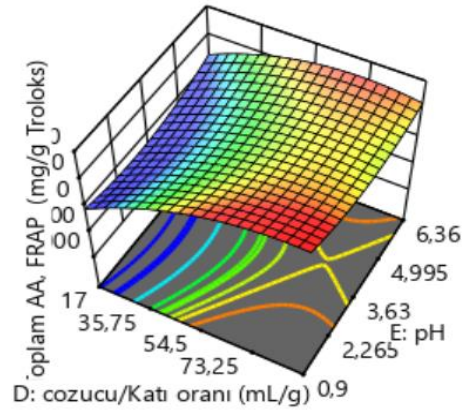
Şekil 4.89 MDDE TAA-F ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.89’da ekstraksiyon süresi ve Çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi (80 s-120 s) ve Çözücü/katı oranı (55-75 g/mL) artışıyla TAA-F seviyesinde hafif artışla gözlenmiştir.



Şekil 4.90 MDDE TAA-F ekstraksiyon süresi ve pH eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.90'da ekstraksiyon süresi ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi (80 s-100 s) ve pH (5-6) artışıyla TAA-F seviyesinde hafif artışla gözlenmiştir.



Şekil 4.91 MDDE TAA-F çözücü/katı oranı ve pH eşyüksekti eğrileri

Şekil 4.91'de çözücü/katı oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyüksekti eğrileri yer almaktadır. Çözücü/katı oranı (40 mL/g üzerinde) ve pH (3 ile 5 noktaları) artışıyla TAA-F seviyesinde farklı cevaplar gözlenmiştir

4.2.5 Cevap Faktörü 5: MDDE RA deneysel tasarım (ANOVA) bulguları

RA için cevap faktörüne ilişkin regresyon katsayılarının önemini bulmak için faktörlerin orta noktalarında yapılan bir dizi paralel deneyden yararlanılmış ve uygulanan Cevap

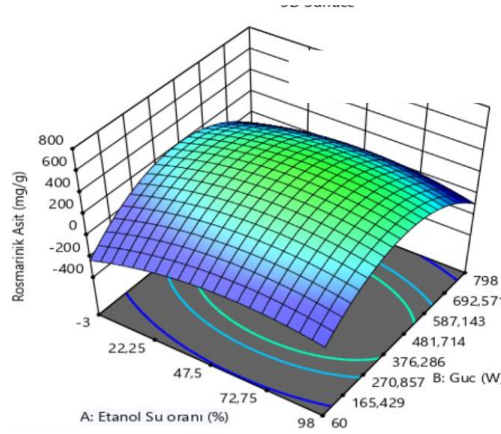
faktörüne istatistiksel yöntemle FT-Fis F Çizelge değerlerinden regresyon modelin uygulanabilirliği denenmiş ve iki testin bulguları çizelge 4.15 de yer almaktadır.

R^2 için 0,5805 olarak elde edilen bu değer, deneysel verilerin YMM ile %58,05 açıklanabileceğini gösterir. Bu sonuç elde edilen model denklemin RA miktarı için incelenen bağımsız değişkenlerin ölçüm aralığında doğrulukta uygulanabilirliği açıklanır.

Model denklem: $+400,45-2,89A+7,73B+41,46C+265,63D-94,59E-20,13AB-17,21AC+41,95AD-179,33AE-49,10BC+620,13BD+112,33BE+250,67CD+85,16CE+8,54DE-85,64A^2-194,00B^2-54,12C^2+183,46D^2-186,75E^2$

Rozmarinik Asit miktarı (RA) miktar tayininde mikro dalga ekstraksiyonuyla çözücü/katı oranı (+265,63) parametresinin etkisini oluşturulan model ile açıklanabilir.

Bağımsız değişkenlerden üçü değiştirilmeden merkezde tutularak diğerlerinin farklı düzeyleri için RA üzerindeki olan etkileri eşdeğer eğriler ve yüzey grafikleri oluşturulmuştur.

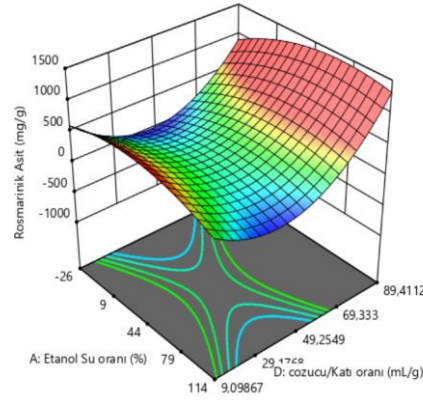


Şekil 4.92 MDDE RA etil alkol/ su oranı ve güç eşyükselti eğrileri

Şekil 4.92’de etil alkol/ su oranı ve güç arasındaki bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı (45-75 mL/g ve güç (375-625 W arası) farklı düzeylerde RA seviyesinde farklı cevaplar gözlenmiştir.

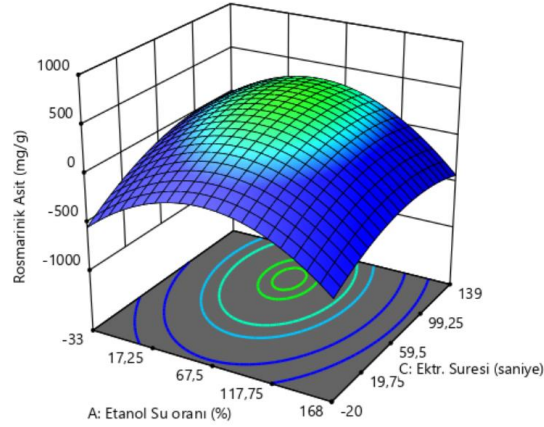
Çizelge 4.15 MDDE RA cevap faktörü için uygulanan ANOVA testi sonucu

Kaynak	Kareler toplamı	Serbestlik derecesi, df	Ort.karesi	F Değeri	p-değeri
Model	8,416. 105	20	42079,09	0,7614	0,7132
Etil alkol /su oranı	41,11	1	41,11	0,0007	0,9787
Güç	233,82	1	233,82	0,0042	0,9493
Ektraksiyon Süresi	8463,94	1	8463,94	0,1532	0,703
Çözücü/katı oranı	3,474. 105	1	3,47E+05	6,29	0,0291
pH	52489,76	1	52489,76	0,9498	0,3507
Etil alkol /su oranı x Güç	240,15	1	240,15	0,0043	0,9486
Etil alkol /su oranı x Ektraksiyon Süresi	296,3	1	296,3	0,0054	0,9429
Etil alkol /su oranı x Çözücü/katı oranı	1760,1	1	1760,1	0,0318	0,8616
Etil alkol /su oranı x pH	42003,27	1	42003,27	0,76	0,4019
Güç x Ektraksiyon Süresi	1428,45	1	1428,45	0,0258	0,8752
Güç x Çözücü/katı oranı	2,279. 105	1	2,28E+05	4,12	0,0672
Güç x pH	9154,4	1	9154,4	0,1656	0,6918
Ektraksiyon Süresi x Çözücü/katı oranı	62833,94	1	62833,94	1,14	0,3091
Ektraksiyon Süresi x pH	9472,06	1	9472,06	0,1714	0,6868
Çözücü/katı oranı x pH	95,23	1	95,23	0,0017	0,9676
Etil alkol /su oranı x Etil alkol /su oranı	12484,06	1	1,25E+04	0,2259	0,6439
Güç x Güç	42968,22	1	42968,22	0,7775	0,3968
Ektraksiyon Süresi x Ektraksiyon Süresi	4986,61	1	4986,61	0,0902	0,7695
Çözücü/katı oranı x Çözücü/katı oranı	57297,17	1	57297,17	1,04	0,3304
pH x pH	68065,57	1	68065,57	1,23	0,2908
Arta Kalan	6,079. 105	11	55263,84		
<i>UyumEksikliği</i>	3,453. 105	6	57549,46	1,1	0,47
<i>Hata</i>	2,626. 105	5	52521,11		
Düzeltilmiş top.	1,449.106	31			
Önemli Model Terimleri	D				
R ²	0,5805				
R ² _D	0,1819				



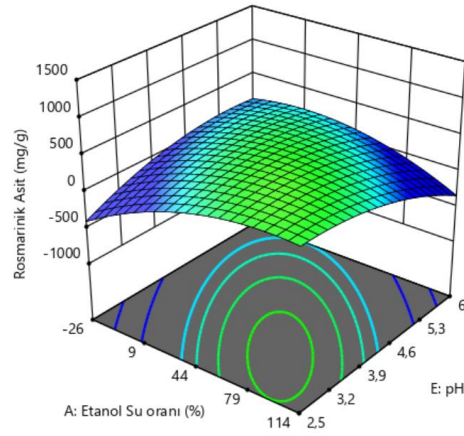
Şekil 4.93 MDDE RA etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı (mL/g) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.93'te etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı arasındaki bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı ve çözücü/katı oranı farklı düzeylerde RA seviyesinde merkezde azalan ve uç noktalarda kısmen artan cevaplar gözlenmiştir.



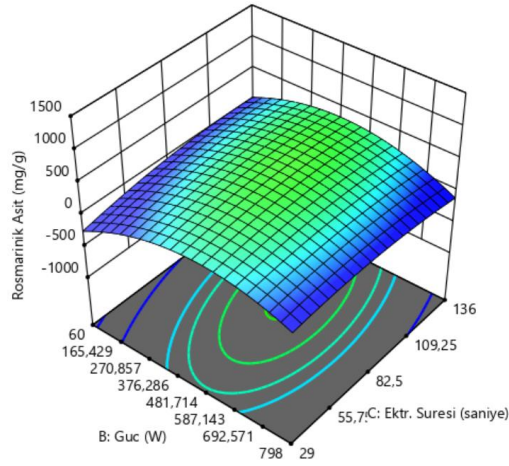
Şekil 4.94 MDDE RA etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi(s) eşyükselti eğrileri

Şekil 4.94'de etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi arasındaki bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı ve ekstraksiyon süresi farklı düzeylerde RA seviyesinde merkezde kısmen artan ve uç noktalarda azalan cevaplar gözlenmiştir.



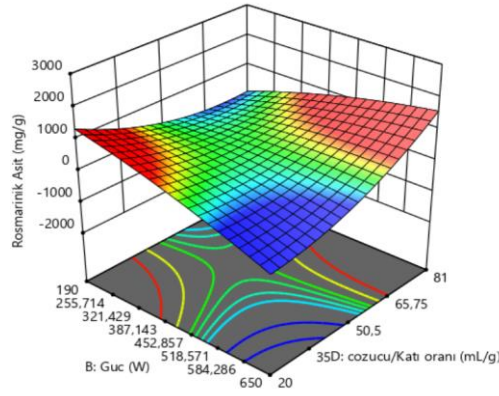
Şekil 4.95 MDDE RA, etil alkol/ su ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.95’de etil alkol/ su oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Etil alkol/ su oranı arttığı ve pH azaldığı düzeylerde RA için merkezde artış yönünde çok değişkenlik göstermeyen cevaplar gözlenmiştir.



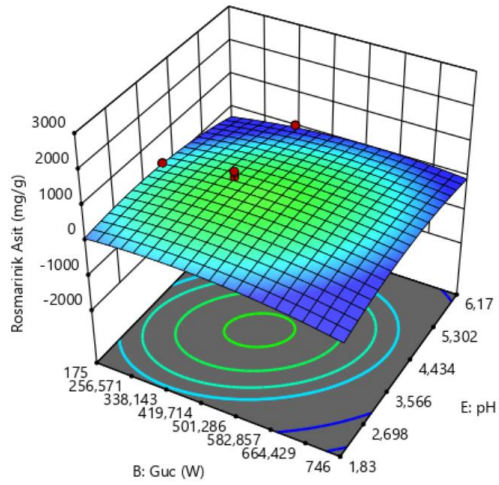
Şekil 4.96 MDDE RA, güç ve ekstraksiyon süresi eşyükselti eğrileri

Şekil 4.96’da güç ve ekstraksiyon süresi arasındaki bağlantıya ilişkin yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Güç (375-525 W) ve ekstraksiyon süresi (55-100 s) farklı düzeylerde RA için çok değişkenlik göstermeyen cevaplar gözlenmiştir.



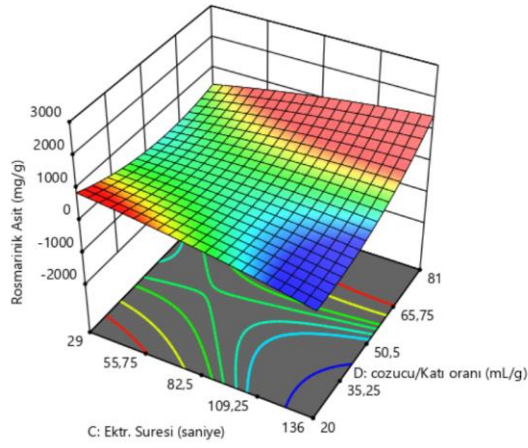
Şekil 4.97 MDDE RA, güç ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.97’da güç ve çözücü/katı oranı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Güç (225 ile 425-575W) ve Çözücü/katı oranı (20-35 ile 65-80 mL/g) farklı düzeylerde RA için çok değişkenlik gösteren uç noktalarda artan cevaplar gözlenmiştir.



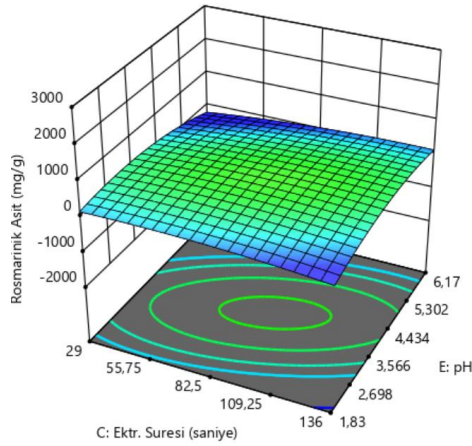
Şekil 4.98 MDDE RA, güç ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.98’de güç ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Bu güç (225W -600 W) ve pH (3-5) ilişkisi RA seviyesinde belirgin olmayan değişiklikler ve kritik nokta gözlenmiştir.



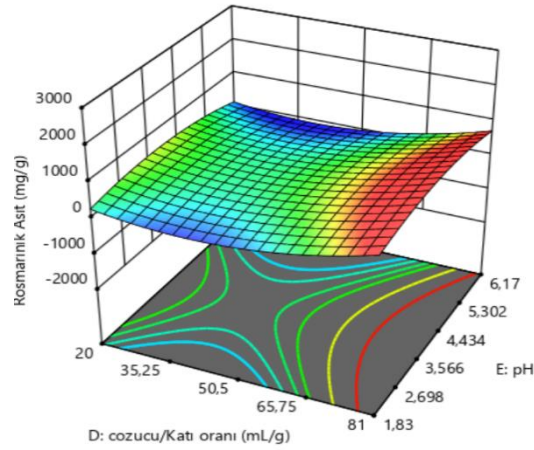
Şekil 4.99 MDDE RA, ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı oranı eşyükselti eğrileri

Şekil 4.99’da ekstraksiyon süresi ve çözücü/katı arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve Çözücü/katı oranı (20-35 ile 65-80 mL/g) farklı düzeylerde RA için çok değişkenlik gösteren uç noktalarda artan cevaplar gözlenmiştir.



Şekil 4.100 MDDE RA, ekstraksiyon süresi ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.100’de ekstraksiyon süresi ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Ekstraksiyon süresi ve pH farklı düzeylerde RA için çok değişkenlik göstermeyen noktalarda artan cevaplar gözlenmiştir.



Şekil 4.101 MDDE RA çözücü/katı oranı ve pH eşyükselti eğrileri

Şekil 4.101’de Çözücü/katı oranı ve pH arasındaki ilişkiye ait yüzey diyagramı ve eşyükselti eğrileri yer almaktadır. Çözücü/katı oranı (65-80 mL/g) ve pH farklı düzeylerde RA için çok değişkenlik gösteren merkezde azalan çözücü katı oranının artan uç noktalarında kısmen artan cevaplar gözlenmiştir.

4.3 GC’de *Origanum sipyleum* L. bitkisi uçucu bileşenlerinin tayini

Miktar olarak yüksek değerlerden gamma-terpinen, timol, karvakrol, simol beta- miresen, alfa-kopaen, 1,8-sineole, l-limonen, trans- karyofilen ve borneol sıralanabilir.

Çizelge 4.16 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin uçucu madde içeriğine ait GC-MS cihazı sonuçları

Uçucu bileşiğin adı	% miktar $\pm$ standart sapma
Asetaldehit	1,02 $\pm$ 0,02
Aseton	0,27 $\pm$ 0,02
Asetik Asit	0,11 $\pm$ 0,00
A-pinen	0,39 $\pm$ 0,02
Kamfen	0,21 $\pm$ 0,01
Sabinen	0,39 $\pm$ 0,02
2-.beta.-pinen	0,29 $\pm$ 0,01
beta.-miresen	6,15$\pm$0,00
1-Okten-3-ol	0,65 $\pm$ 0,02
beta.-Fellandren	0,17 $\pm$ 0,02
Simol	9,95$\pm$0,12

Çizelge 4.16 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin uçucu madde içeriğine ait GC-MS cihazı sonuçları (devam)

1,8-Sineole	1,47±0,01
l-Limonen	1,44±0,02
1,3,6-Oktatrien, 3,7-dimetil-, (Z)- beta-okimen	0,59±0,03
gamma.-Terpinen	17,36±0,28
Timol	20,18±0,32
Karvakrol	10,18±0,24
alfa.-Kubeben	0,24±0,01
alfa.-kopaen	2,67±0,03
alfa-terpinolen	1,45±0,02
Linalool	0,28±0,01
p-cymen	0,63±0,03
Borneol	1,66±0,03
alfa-Terpineol	0,78±0,02
trans- Karyofilen	2,98±0,03
Aromadendren	0,23±0,02
alfa.-Humulen	0,65±0,01
Germakren	0,44±0,01
(+)spatulenol	0,63±0,01
(-)-Karyofilen oksit	0,83±0,02
Heptadekan	0,25±0,00

4.4 ICP-MS Cihazında *Origanum sipyleum* L. Bitkisinin Element Analizi

15 farklı element içeriğinin ölçüldüğü çalışmada Çizelge 4.17’deki sonuçlar bulunmuştur.

Çizelge 4.17 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin element içeriğinin ICP-MS ‘deki ölçüm bulguları

Elementin adı	Ortalama değer ± Standart sapma, mg /kg KuBi
Arsenik	0,0003 ± 0,0000
Kadmivum	0,0049 ± 0,0002
Antimon	0,0001 ± 0,0000
Cıva	0,0004 ± 0,0000
Kursun	0,0078 ± 0,0002
Mangan	0,0010 ± 0,0000
Bakır	0,0042 ± 0,0001
Krom	0,0001 ± 0,0000
Magnezyum	1,9722 ± 0,0560
Molibden	0,0011 ± 0,0017
Potasvum	15,2519 ± 3,5679
Cinko	0,0399 ± 0,0062
Selenyum	0,0002 ± 0,0002
Sodvum	0,2995 ± 0,0349
Demir	1,0525 ± 0,0014

Günlük 50 mg tüketilmesi durumunda As, Cu, Hg, Pb ve Cd den gelen EDİ değerleri sırasıyla $1,55 \cdot 10^{-8}$; $3,47 \cdot 10^{-5}$; $3,04 \cdot 10^{-6}$; $6,53 \cdot 10^{-5}$; $4,08 \cdot 10^{-5}$ ile HQ değerleri $1,27 \cdot 10^{-6}$; $8,57 \cdot 10^{-6}$; $1,72 \cdot 10^{-4}$; $1,84 \cdot 10^{-4}$; $8,05 \cdot 10^{-5}$, toplam HQ $4,46 \cdot 10^{-4}$ ile CR değeri AS, Pb ve Cd için sırasıyla $5,7 \cdot 10^{-10}$, $5,5 \cdot 10^{-9}$ ve $2,5 \cdot 10^{-6}$ olarak hesaplanmıştır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Etil alkol/su çözücüsünün farklı oranlarının kullanıldığı ses ötesi dalga destekli ve mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemleriyle ilgili yapılan deneysel tasarım çalışmasında belirlenen beş cevap faktörünün ANOVA ile yapılan değerlendirilmesinde bulguların birbirleriyle uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Bu tez kapsamında elde edilen veriler için sinyal gürültü oranlarının yeterliliği beş ayrı cevap faktörü için (TFM, TFLM, TAA-D, TAA-F ve RA) alınan istatistiksel verilerden anlaşılmıştır. Yeterli cevapların alınmasından sonra optimizasyon çalışmaları aşamasına geçilmiştir.

Optimizasyon aşamasında doğrusal programlamayı takiben dinamik ve kısıtlı optimizasyon uygulaması tercihen çalışılmıştır. Çalışmada kullanılan Box-Wilson'un dik yokuş yöntemi, kuadratik bir regresyon model ile açıklanan proseslerin optimizasyonu için kullanılmıştır. Optimizasyon yapmaktaki amacımız bağımsız değişkenlerin sınırlandırıldığı, en yüksek cevabın alındığı TFM, TFLM, TAA-D, TAA-F ve RA tespit edilen miktarlar için tasarımı oluşturan parametrelerin şartlarını belirlendiği optimizasyon yapılmıştır. Optimum şartların belirlendiği yapılan deneysel çalışmalara ait verilerle tahmini cevap değerleri kıyas edilmiştir. Pareto optimal sistemi tasarım parametrelerinin optimizasyonu için kullanılmıştır. Birden fazla yanıt için optimizasyon belirlenmesinde istenebilirlik kullanımı tercih edilmiştir. Optimizasyon uygulamasıyla istenebilirlik işlemiyle aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

Çizelge 5.1 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin SÖDE ve MDDE tekniklerine göre optimum ekstraksiyon koşulları

Ekstraksiyon Yöntemi	Optimum Ekstraksiyon Koşulları
SÖDE	Etil alkol/su oranı 75/25; sıcaklık 60 °C; süre 45 min; Çözücü/katı oranı 50; pH 3
MDDE	Etil alkol/su oranı 35/65; mikrodalga gücü 350 W; süre 60 s; Çözücü/katı oranı 65; pH 3

Etil alkol/su oranının MDDE’da daha düşük olduğu gör÷lmektedir. Bu ekstraksiyonda kullanılan çözücü miktarının daha az olacağı yani çözücü sarfiyatının düşük olacağı anlamına gelmektedir.

Ekstraksiyon süresi SÖDE için 45 min olup MDDE 60 s olarak belirlenmiştir, MDDE çalışmada ekstraksiyon süresinin SÖDE’ye göre çok daha kısadır, işlemde bekleme süresi yönüyle kolaylık sağlamaktadır.

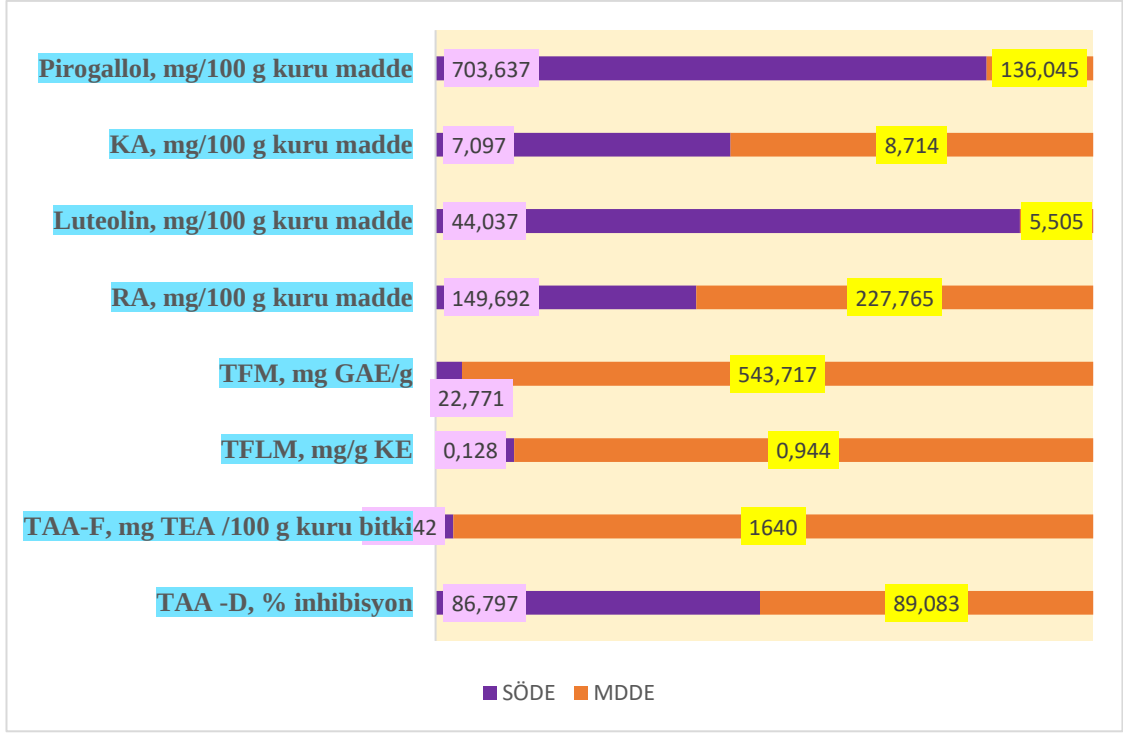
Çözücü/katı oranı SÖDE’de 50 mL/g MDDE’de 65 mL/g olarak belirlenmiştir. Kullanılan çözücü miktarı SÖDE için daha düşük olmasına rağmen MDDE için kullanıcak etil alkol sarfiyatı % 39,3 daha az olacağından MDDE daha ekonomiktir. Her iki yöntemde optimum pH’nın 3 bulunması yapılacak işlemde bu parametrenin genel kullanımını olanak sağlayabilir.

Çizelge 5.2 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin SÖDE tekniğinde optimum ekstraksiyon bulguları

TAA -D	TAA-F	TFLM	TFM	RA	Luteolin	KA	Pirogallol
% İnhibisyon	mg TEA /100 g KuBi	mg/g Kuarsetin	mg GAE/g	mg/ 100 g kuru madde	mg/100 g kuru madde	mg/ 100 g kuru madde	mg/ 100 g kuru madde
86,797	45,642	0,128	22,771	149,692	44,037	7,097	703,637

Çizelge 5.3 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin bitkisinin MDDE tekniğinde optimum ekstraksiyon bulguları

TAA -D	TAA-F	TFLM	TFM	RA	Luteolin	KA	Pirogallol
% İnhibisyon	mgTEA /100 g KuBi	mg/g Kuarsetin	mg GAE/g katı	mg/ 100 g kuru madde	mg/ 100 g kuru madde	mg/ 100 g kuru madde	mg/ 100 g kuru madde
89,083	1640	0,944	543,717	227,765	5,505	8,714	136,045



Şekil 5.1 *Origanum sipyleum* L. bitkisinin SÖDE ve MDDE tekniğinde optimum ekstraksiyon bulgularının karşılaştırma grafiği

Optimizasyon sonucuna göre SÖDE ile pirogallol ve luteolin ile TAA-F yüksek bulunmasına karşın MDDE ile KA, RA, TFM, TFLM ve TAA-D yüksek bulunmuştur. Genelleme yapacak olursak MDDE'nin SÖDE'ye göre genel olarak daha etkin olduğu tespit edilmiştir.

Fenolik maddelerin optimizasyon çalışmasında elde edilen bulguların mikrodalga destekli ekstraksiyondaki cevap faktörlerine ait bulguların miktar olarak ses ötesi dalgaya göre yüksek olduğu görülmektedir.

Literatürde TFM tayini çalışmalarında en düşük 39,86 mgGAE/g (Zengin, 2019) ve en yüksek $203,57 \pm 4,62$ mg GAE/g (Kasha, 2018) aralığındadır. Hesaplanan en düşük ve en yüksek ile optimum nokta için ses ötesi destekli ekstraksiyonda sırasıyla $1,652 \pm 0,001$; $32,670 \pm 0,0279$; $32,679 \pm 0,027$; $22,771 \pm 0,013$ mg GAE/g ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda sırasıyla $32,888 \pm 0,027$; $428,426 \pm 0,415$; $227,765 \pm 0,206$ mg GAE/g bulunmuştur. Optimum koşullar için bakıldığında ses ötesi destekli ekstraksiyona ait düşük değere karşın mikro dalga destekli de yüksek olduğu görülmektedir. Mikrodalga

destekli ekstraksiyonda literatürde bulunan değerden düşük olan 3 veri bulunmuştur. Mikro dalga gücündeki artış ile TFM arasında ilişki olduğu değerlendirilmiştir.

TFLM tayininde tayini çalışmalarında en düşük su çözücüsünde $18,26 \pm 0,14$ mg RE/g ekstre (Zengin, 2019) ve en yüksek etil alkol çözücüsündeki $46,98 \pm 0,34$ mg KE/g (Kasha, 2018) değerler aralığındadır. Hesaplanan en düşük ve en yüksek ile optimum nokta için ses ötesi destekli ekstraksiyonda sırasıyla $0,018 \pm 0,00$; $0,486 \pm 0,001$; $0,128 \pm 0,001$ mg/g Kuarsetin ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda sırasıyla $0,429 \pm 0,001$; $3,337 \pm 0,009$; $0,944 \pm 0,004$ mg/g Kuarsetin bulunmuştur. Literatür verilerine göre düşük olarak bulunmuş. Bunun nedeni çözücü farklılığı, ekstraksiyon tekniği farklılığı, bitkinin yetiştirme koşulları ve toplanma zamanı ile ilgili (İşcan, 2018) olabileceği değerlendirilmiştir.

Literatürde TAA-D yöntemi için bulunan antioksidan kapasite değerleri % ($73,98 \pm 2,66$) (Ozkan, 2007) ve $102,75 \pm 1,6$ (IC50) (Kasha, 2018) aralığında verilmiştir.

Hesaplanan en düşük ve en yüksek ile optimum nokta için ses ötesi destekli ekstraksiyonda sırasıyla $27,231 \pm 0,016$; $89,245 \pm 0,052$; $86,797 \pm 0,040$ % İnhibisyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda sırasıyla $32,169 \pm 0,019$; $90,539 \pm 0,052$; $89,083 \pm 0,044$ % İnhibisyon bulunmuştur. Optimum koşullar için bakıldığında hem ses ötesi destekli ekstraksiyonda hem de mikro dalga destekli ekstraksiyonda uyumlu olduğu görülmektedir. En düşük değerlerin her iki ekstraksiyon yöntemi için bakıldığında çözücü katı oranının ve pH'nın düşük değerlerde olduğu değerlendirilmiştir.

Literatürde TAA-F yöntemi için etil asetat $122,56 \pm 4,98$ ve suda $921,57 \pm 8,03$ mg TE/g ekstrakt (Zengin, 2019) değerleri aralığında olduğu rapor edilmiştir. Hesaplanan en düşük ve en yüksek ile optimum nokta için ses ötesi destekli ekstraksiyonda sırasıyla $9,978 \pm 0,089$; $150,270 \pm 1,336$; $45,642 \pm 0,631$ mgTEA/100 g KuBi ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda sırasıyla $1421,650 \pm 0,004$; $7057,570 \pm 0,024$; $1640,0 \pm 0,014$ mgTEA/100 g KuBi bulunmuştur. Optimum koşullar için bakıldığında hem ses ötesi destekli ekstraksiyonda hem de mikro dalga destekli de uyumlu olduğu görülmektedir. En düşük değerlerin her iki ekstraksiyon yöntemi için bakıldığında ses ötesi destekli de çözücü katı

oranının ve mikrodalgada ise etil alkol /su oranı yüksekliği farklılık olarak pH olması ortak olduğu değerlendirilmiştir.

Literatürde HPLC de fenolik madde tayini ile bu tezde çalışılan fenolikler için değerlendirme aşağıdadır.

RA metil alkol çözücüsü kullanılarak ses ötesi destekli elde edilen ekstrakt için $870,22 \pm 82,66$ mg/100 g (Ozkan, 2007) bulmuş. Metil alkol çözücüsünde $2020,01 \pm 154,8$ mg/kg KuBi, kloroform çözücüsünde $4,7 \pm 0,36$ mg/kg KuBi, aseton çözücüsünde $967,42 \pm 74,18$ mg/kg KuBi (Özer, 2020) bulunmuştur. Yapılan bu tez çalışmasında hesaplanan en düşük ve en yüksek ile optimum nokta için ses ötesi destekli ekstraksiyonda sırasıyla $10,495 \pm 0,000$; $248,995 \pm 0,528$; $149,692 \pm 0,562$ mg/100 g KuBi ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda sırasıyla $77,008 \pm 5,671$; $827,765 \pm 60,292$; $227,765 \pm 23,860$ mg/100 g KuBi bulunmuştur. Literatürdeki verilerle uyumludur, MDDE çalışma verileri yüksektir.

Luteolin için metil alkoldeki ekstraktta tespit edilememiş (Ozkan, 2007), metil alkol çözücüsünde $5,02 \pm 1,29$ mg/kg KuBi, aseton çözücüsünde $94,86 \pm 24,37$ mg/kg KuBi (Özer, 2020) bulunmuş.

Bu çalışmada hesaplanan en düşük ve en yüksek ile optimum nokta için ses ötesi destekli ekstraksiyonda sırasıyla $1,157 \pm 0,006$; $63,498 \pm 0,230$; $44,037 \pm 0,062$ mg/100 g KuBi ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda sırasıyla $2,400 \pm 0,001$; $24,400 \pm 0,064$; $5,505 \pm 0,0385$ mg/100 g KuBi bulundu. Literatürdeki verilerle uyumludur. Çalışmadaki veriler her iki ekstraksiyon yöntemi için luteolin miktarların yüksek olduğu söylenebilir.

KA için metil alkoldeki ekstrakta $3,94 \pm 6,65$ (mg/100 g) (Ozkan, 2007), etil alkoldeki ekstrakta $16787,16$ µg/g (Kasha, 2018) ve metil alkoldeki ekstrakta $99,45 \pm 19,68$; kloroform çözücüsünde $5,95 \pm 1,18$ mg/kg KuBi, aseton çözücüsünde $73,4 \pm 14,53$ mg/kg KuBi (Özer, 2020) değerleri bulunmuş. Çalışmada mg/100 g kuru madde olarak hesaplanan en düşük ve en yüksek ile optimum nokta için ses ötesi destekli ekstraksiyonda sırasıyla $0,418 \pm 0,011$; $9,741 \pm 0,176$; $7,097 \pm 0,126$ mg/100 g KuBi ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda sırasıyla $2,848 \pm 0,029$; $22,567 \pm 0,023$; $8,714 \pm 0,175$ mg/100 g KuBi

bulunmuştur. Literatürdeki verilerle uyumludur. Çalışmadaki veriler her iki ekstraksiyon yöntemi için kafeik asit miktarların yüksek olduğu söylenebilir.

Özer (2020) Pirogallol metil alkoldeki ekstrakta $31,21 \pm 2,08$ mg/kg KuBi (Özer, 2020) bulmuş. Çalışmada mg/100 g kuru madde olarak hesaplanan en düşük ve en yüksek ile optimum nokta için ses ötesi destekli ekstraksiyonda sırasıyla $25,565 \pm 0,060$; $1862,104 \pm 3,095$; $703,637 \pm 1,264$ mg/100 g KuBi ve mikrodalga destekli ekstraksiyonda sırasıyla $13,984 \pm 2,180$; $1545,466 \pm 11,712$; $136,045 \pm 1,180$ mg/100 g KuBi bulunmuştur. Literatürdeki verilerden yüksek değerler bulunmuştur. Bulunan düşük değerler ses ötesi destekli de çözücü/katı oranı nın düşük olduğu ve mikrodalga destekli ekstraksiyon içi etil alkol/su oranının düşük olduğu çalışmada elde edilmiştir. Her iki ekstraksiyon metodu için yüksek değerler ise pH değerinin 5 olduğu çalışmada görülmüştür.

GC-MS ile Uçucu Bileşen Analiz Bulguları: SPME fiberi ile ekstraksiyon işleminde, diğer kimyasal ekstraksiyon yöntemlerinden farklı olarak, bitki örneklerinin küçük molekül kütleli en yüksek uçuculuk özelliğine sahip maddeleri bile ölçebilir. Çalışmamızda bitkinin uçucu maddeleri, katı faz mikroekstraksiyon metodu (SPME) ile karboksen/polidimetilsiloksan (CAR-PDMS) SPME fiberi kullanılarak ekstrakte edilmiştir. GC-MS cihazı ile ölçümlenen bitkiye ait bileşenlere ait miktarları Çizelge 5.16'de yer almıştır. En yüksek bileşenleri timol, karvakrol, beta-mirsene ve gamma-terpene olduğu söylenebilir. *O. spyleum* bitkisinin Clevenger destilasyonu ile elde edilen uçucu yağların miktarlarına yönelik bir çalışmada (Özer, 2020) miktar olarak en yüksek tespit edilen bileşikler p-simen, karvakrol ve gamma terpenen olmuştur. Bu bileşiklerin etkileri şöyle sıralanabilir:

p-simen (%37,9) hayvan örneklerinde gastrik ve duodenum ülserlerini önlediği belirlenmiştir (de Oliveira Formiga, 2021)

Karvakrol (%21,6) meme, karaciğer ve akciğer karsinomlarının klinik öncesi modellerinde, proapoptotik süreçler üzerinde etkili olduğu bildirilmiştir (Sharifi-Rad, 2018)

Gamma-terpinen (%12,5) tümör hücreleri tarafından indüklenen nöropatik ağrıyı azaltabilmektedir (Pina L. T., 2024) (Başyigit, 2017). *O. sipyleum* L. uçucu yağının kimyasal bileşimine odaklanan bir çalışmada, bulgularımız timol, linalool ve karvakrol (Oluk E. A., 2013) dahil olmak üzere 10 ortak bileşiğin varlığını ortaya koymuştur. Aynı türe ait başka bir çalışmada Semiz ve arkadaşları, p-simenin uçucu yağların en yüksek uçucu bileşeni olduğunu bildirmişler ve analiz edilen 34 uçucu bileşiğin 15'inin çalışmamızdaki uçucu bileşiklerle aynı olduğu belirlenmiştir (Semiz, 2018). Semiz (2018) çalışması verileri t testi uygulandığında anlamlı fark bulunmuştur.

O. sipyleum L. element analizinde 15 elemente ait sonuçlar ile karşılaştırıldığında Durmuşkahya ve ark. (2016) tayin limitinin altında verilen değerlerden As, Cd, Sb, Hg, Se ve Cr düşüktür. Pb, Fe, Mg ve K yüksek Mn, Cu, Mo, Na ve Zn düşük olarak bulunmuştur (Durmuşkahya, 2016). Dursun ve ark. (2016) tarafından yapılan ICP-AES bulguları p: 0,01 düzeyinde Cu, Zn ve Mo için anlamlı olarak değerlendirilmiştir. (Dursun, 2016). Bitkilerde bulunması istenen elementler yönünden (Bolat, 2017) Mn değeri çok düşük ve Fe değeri çok yüksek olup Cu, Mo ve K nisbeten yakın ve istatistiksel olarak Mg yakın olarak değerlendirilmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü'nce (WHO) (1996) Cd, Zn, Cu, Cr ve Pb elementleri bitkilerde izin verilen limit değerlerin altındadır. Bitkinin tüketilmesiyle olabilecek sağlık etkileri için bitkinin kuru olarak günlük 50 mg tüketilmesi durumunda hesaplanan ED₀₁ değerlerinin izin verilen değerlerinden düşüktür. Karsinojenik risk faktörü de tek tek ve toplam değerleri birlikte değerlendirildiğinde Cd, Pb ve Hg etkisine dikkat edilmesi ve sürekli tüketiminden kaçınılması önerilmektedir.

Diğer araştırmacıların bulgularından farklı olarak bulunan sonuçlar, bitkinin toplandığı bölgenin toprak özellikleri, toplanma zamanı ve analiz edilen cihazlardan gelebilecek etkiler farklılıklara yol açabileceği düşünülmektedir.

İki farklı ekstraksiyon yönteminin optimizasyonunun değerlendirildiği bu çalışmada MDDE yönteminin zaman, çözücü sarfıyatı, enerji tüketimi yönüyle üstün olduğu gösterilmiştir. Kimyasal içerik yönüyle KA, RA, TFM, TFLM ve TAA-D yüksek olduğu değerlendirilmiştir. İçerdiği uçucu yağlardan timol ve beta- miresen yüksek miktarda

bulunmuştur. Bitkinin EDİ, Toplam HQ ve CR değerleri dikkate alınarak sürekli tüketimde sağlık için riskli olabileceği değerlendirilmiştir. *Origanum sipyleum* L. bitkisinin zengin bir polifenolik içeriğe sahip olduğunu ve fonksiyonel gıda olarak farmasötik ve diyet potansiyeline sahip olabileceğini göstermektedir. Bitkide bulunan Fe değerinin genel bitki ortalamasının üzerinde bulunması ve antibakteriyel özelliğe sahip uçuculardan timol düzeyinin yüksek olması bitkinin sağlık etkilerine yönelik ileri araştırmalar önerilir.

KAYNAKLAR

- Abdulkhaleq, L. A.-Y. (2017). Therapeutic uses of epicatechin in diabetes and cancer. *Veterinary world*, s. 10(8), 869.
- Afacan, F. Ö. (2020). ANTOSİYANİNLERİN BESLENMEDEKİ ÖNEMİ VE SAĞLIK ÜZERİNE ETKİLERİ. *Karya Journal of Health Science*, s. 1(1), 19-24.
- Aijaz, M. K. (2022). Chemical, biological, and pharmacological prospects of caffeic acid. *Biointerface Res. Appl. Chem*, s. 13, 324.
- Akalın, B. A. (2023). Türkiye’de Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamalarının Mevcut Standartları ve İyileştirme Önerileri. *J Pro Health Res*, s. 49-69.
- Akçam Oluk E.2, Ç. İ. (2013). Comparison of the antimicrobial activity and essential oil content of wild and micropropagated *Origanum sipyleum* L.: A medicinal herb native to Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, Vol. 7(6), pp. 230-233.
- Aktaş Karaçelik, A. E. (2021). Aksiyal Disüstitüe Silisyum Ftalosiyanınların Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 11(2): 1302-1310.
- Al-Ghanim, K. A. (2023). Insecticidal potential of *Matricaria chamomilla*’s essential oil and its components (E)- β -farnesene, germacrene D, and α -bisabolol oxide A against agricultural pests, malaria, and Zika virus vectors. *Agriculture*, s. 13(4), 779.
- Allemailem, K. S. (2024). Apigenin: A Bioflavonoid with a Promising Role in Disease Prevention and Treatment. *Biomedicines*, s. 12(6), 1353.
- Allenspach, M. &. (2021). α -Pinene: A never-ending story. *Phytochemistry*, s. 190, 112857.
- Arabacı, T. Ö. (2019). Physicochemical soil properties of genus *Origanum* (Lamiaceae) L. grown in Turkey. *Biological Diversity and Conservation*, s. 2(3), 14-18.
- Assadpour, E. C.-A. (2024). Application of essential oils as natural biopesticides; recent advances. *ritical Reviews in Food Science and Nutrition*, s. 64(19), 6477-6497.
- Assessing Human Health Risks From Chemically Contaminated Fish And Shellfish Guidance Manual. (1989). (EPA-503/8-89-002).
- Atak, E. &. (2018). FENOLİK BİLEŞİKLER, EKSTRAKSİYON METOTLARI VE ANALİZ YÖNTEMLERİ. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, s. 3(27), 39-48.
- Atak, E. v. (2018). Fenolik Bileşikler, Ekstraksiyon metotları ve Analiz Yöntemleri. *M C B Ü Soma Meslek Yüksekokulu 7HNQLN%LOLPOHU'HUJLV*, 39-48.
- Atak, E. Y. (2017). Fenolik bileşiklerin enkapsülasyonu. *Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi*, s. 2(24), 82-92.
- Atoki, A. V. (2024). Naringenin: its chemistry and roles in neuroprotection. *Nutritional Neuroscience*, s. 27(6), 637-666.

- Aydın, D. B. (2017). Serotonerjik Ve Noradrenerjik Modülasyonun Rosmarinik Asit Analjezisine Katkısı. *SAĞLIK BİLİMLERİ DERGİSİ*, s. 26: 52-59.
- B. T. Ünal, A. G. (2013). Variations in the proline and total protein contents in *Origanum sipyleum* L. from different altitudes of Spil mountain Turkey. *Pak. J. Bot*, 45(S1): 571-576.
- Baâtour, O. N.-A. (2012). Salt effect on physiological, biochemical and anatomical structures of two *Origanum majorana* varieties (Tunisian and Canadian). *African Journal of Biotechnology*, s. 11(27), 7109-7118.
- Baginska, S. G. (2023). Monoterpenes as medicinal agents: Exploring the pharmaceutical potential of p-cymene, p-cymenene, and γ -terpinene. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, s. 80(6), 879-892.
- Bağdat, R. B. (2006). Tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanım alanları, tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.) ve ülkemizde kekik adıyla bilinen türlerin yetiştirme teknikleri. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, s. 15(1-2), 19-28.
- Balahbib, A. E. (2021). Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. *Food and Chemical Toxicology*, s. 153, 112259.
- Bangar, S. P. (2023). Luteolin: A flavone with myriads of bioactivities and food applications. *Food Bioscience*, s. 52, 102366.
- Bansal, K. B. (2024). New insights into therapeutic applications and nanoformulation approaches of Hesperidin: An updated review. *Pharmacological Research-Modern Chinese Medicine*, s. 100363.
- Baranauskaitė, J. J. (2016). Optimization of carvacrol, rosmarinic, oleanolic and ursolic acid extraction from oregano herbs (*Origanum onites* L., *Origanum vulgare* spp. *hirtum* and *Origanum vulgare* L.). *Natural Product Research*, s. 30(6), 672-674.
- Başkan, S. (2005). *Adaçayının (Salvia Officinalis) Antioksidan Bileşikleri Rosmarinik Ve Karnosik Asitin Kapiler Elektroferez İle Tayini*. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Başığit, M. &. (2017). Tıbbi adaçayı (*Salvia officinalis* L.)’nda farklı hasat zamanlarının uçucu yağ ve fenolik bileşikler ile antioksidan aktivite üzerine etkisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, s. 21(1), 131-137.
- Batı Akdeniz Kalkınma Ajansı. (2024, 10 06). *Kekik Tarımı ve Endüstrisi*. Kalkınma Kütüphanesi: <https://www.kalkinmakutuphanesi.gov.tr/assets/upload/dosyalar/kekik-tarimi-ve-endustrisi-fizibilite-raporu.pdf> adresinden alındı
- Bawwab, M. Q. (2022). Evaluation of heavy metal concentrations in soil and edible vegetables grown in compost from unknown sources in Al-Jiftlik, Palestine. *Journal of Environmental Protection*, s. 13(1), 112-125.
- Bayar, F. U. (2020). Kültür koşullarında yetiştirilen farklı *Origanum* spp. türlerinin bazı verim ve kalite parametreleri. *DERİM*, s. 37(1), 10-17.
- Bayaz, M. (2014). Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antitumör aktivite ve kalite parametreleri. *Akademik Gıda*, s. 12(3), 45-53.

- Baydar, H. &. (2004). Bitki büyüme düzenleyicilerinin İzmir kekiğinin *Origanum onites* L. Yaprak kalitesine etkisi. *Journal of Agricultural Sciences*, s. 10(01), 9-13.
- Birková, A. H. (2020). Caffeic acid: A brief overview of its presence, metabolism, and bioactivity. *Bioactive Compounds in Health and Disease-Online*, s. ISSN: 2574-0334; Print ISSN: 2769-2426, 3(4), 74-81.
- Bolat, İ. &. (2017). Bitki besin elementleri: Kaynakları, işlevleri, eksik ve fazlalıkları. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, s. 19(1), 218-228.
- Bulgakov, V. P. (2012). Rosmarinic acid and its derivatives: biotechnology and applications. *Critical reviews in biotechnology*, s. 32(3), 203-217.
- Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 209-242.
- Camel, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 229-248.
- Caponio, F. A. (1999). Phenolic compounds of virgin olive oil: influence of paste preparation techniques. *Food Chemistry* , 203±209.
- Craig, L. C. (1956). Extraction. *Analytical Chemistry*, s. 28(4), 723-729.
- da Silva Rivas, A. C. (2012). Biological activities of α -pinene and β -pinene enantiomers. *Molecules*, s. 17(6), 6305-6316.
- Dai, J. a. (2010). Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.
- Dbaiibo, R. B. (2020). Uptake of Cd, Pb, and Ni by *Origanum syriacum* produced in Lebanon. *Environmental Geochemistry and Health*, s. 42, 2293-2303.
- de Oliveira Formiga, R. J. (2021). Effect of p-cymene and rosmarinic acid on gastric ulcer healing–Involvement of multiple endogenous curative mechanisms. *Phytomedicine*, s. 86, 153497.
- Dean, A. &. (1999). Design and analysis of experiments. *New York, NY: Springer New York*.
- Demir, Ö. A. (2017). *İlaç formülasyonu geliştirilmesinde deney tasarımı (doe) seçimi ve kullanımı*.
- Demirbükür Kavak, D. (2010). Antioksidan Etkileşimleri: Polifenol-Protein Etkileşimleri. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, s. Cilt: 5, No: 3, (9-16).
- Devi, M. B. (2024). Insights on the Emerging Therapeutic Potential of Terpenoids as Anti-inflammatory Agents: A Scoping Review. *Journal of Bio-X Research*, s. 7, 0006.
- Dhull, S. B. (2016). Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts. *Resource-Efficient Technologies*, s. 2(4), 168-174.
- Di Petrillo, A. O. (2022). Quercetin and its derivates as antiviral potentials: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, s. 36(1), 266-278.

- Doğan, S. A. (2022). Endemik Mor Mercan (*Origanum sipyleum* L.) Bitkisinin In Vitro Çoğaltımı. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, Cilt 32, Sayı 1, 124 - 132.
- Dower, J. I.-M. (2016). Dietary epicatechin intake and 25-y risk of cardiovascular mortality: the Zutphen Elderly Study. *The American journal of clinical nutrition*, s. 104(1), 58-64.
- Du, W. T.-V.-T. (2018). Differential effects of copper nanoparticles/microparticles in agronomic and physiological parameters of oregano (*Origanum vulgare*). *Science of the Total Environment*, s. 618, 306-312.
- Durmuşkahya, C. A. (2016). X-ray fluorescence spectroscopic determination of heavy metals and trace elements in aerial parts of *Origanum sipyleum* L. from Turkey. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(5), 1013-1015.
- Dursun, N. D. (2016). Mineral contents and chemical properties of some *Sideritis* and *Origanum* species. *J Agroaliment Process Technol*, s. 22, 220-225.
- Eisenman, S. Z. (2013). *Medicinal Plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan*. Springer.
- Erbaş, S. v. (2012). Türkiye'nin Batı Akdeniz Yöresinde doğal olarak yetişen dağ çayı (*Sideritis libanotica* Labill. subsp. *linearis* (Benth) Bornm) ve bayır kekiği (*Origanum sipyleum* L.) türlerinin uçucu yağ oranları ve bileşenlerinin belirlenmesi. *SDÜ Orman Fakültesi Dergisi*, 13: 119-122.
- Everette, J. D. (2010). Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin–Ciocalteu reagent. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(14), 8139-8144.
- Fakılı, O. (2010). *TÜRKİYE'DE KEKİK ADI İLE ANILAN BİTKİLER KONUSUNDA YAPILAN ÇALIŞMALARIN ENVANTERİ*. Adana: Çukurova Üniversitesi YL tezi.
- Francomano, F. C. (2019). β -Caryophyllene: a sesquiterpene with countless biological properties. *Applied sciences*, s. 9(24), 5420.
- García-Díez, E. P.-J. (2024). (–)-Epicatechin and colonic metabolite 2, 3-dihydroxybenzoic acid, alone or in combination with metformin, protect cardiomyocytes from high glucose/high palmitic acid-induced damage by regulating redox status, apoptosis and autophagy. *Food & Function*, s. 15(5), 2536-2549.
- German, I. J. (2024). New Trends to Treat Muscular Atrophy: A Systematic Review of Epicatechin. *Nutrients*, s. 16(2), 326.
- GU, C. (2020). Enhancing effect of vitexin on osteogenic activity of murine pre-osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Sains Malaysiana*, s. 49(6), 1389-1400.
- Gupta, A. J. (2021). Pyrogallol: a competent therapeutic agent of the future. *Biotech Env Sc*, s. 23(2), 213-217.
- Güner, S. Ö. (2008). ZEYTİN VE ZEYTİN YAĞLARINDAKİ FENOLİK BİLEŞENLERİN GAZ KROMATOĞRAFİSİ İLE TAYİNİNDE

KULLANILAN ÖRNEK HAZIRLAMA METODLARI. Edremit-Balıkesir :
I.Ulusal Zeytin Öğrenci Kongresi .

- Gürbüz, B. İ. (2011). Türkiye florasındaki *Origanum* türlerinin yayılış alanları ve ticareti. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, s. (2), 5-58.
- Gürhan, İ. (2014). *Türkiye'de yetişen Origanum l.(Labiatae) cinsi üzerinde farmasötik botanik araştırmalar (Master's thesis, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü)*.
- Han, G. H. (2016). Overexpression of methionine adenosyltransferase in *Corynebacterium glutamicum* for production of S-adenosyl-l-methionine. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, s. 63(5), 679-689.
- Haspolat, Y. E. (2022). *Tamamlayıcı ve Geleneksel Tıp*. Ankara: Orient Yayınları.
- Herman, R. A. (2019). Essential Oils and their applications-A mini review. *Adv. Nutr. Food Sci*, s. 4(4), 1-13.
- Herman, R. A. (2019). Essential Oils and their applications-A mini review. *Adv. Nutr. Food Sci*, s. 4(4), 1-13.
- Herman, R. A. (2019). Essential Oils and their applications-A mini review. *Adv. Nutr. Food Sci*, s. 4(4), 1-13.
- Hossain, M. B.-D.-R. (2012). Optimization of ses ötesi assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, s. 19(3), 582-590.
- İlbay, Z. (2016). *Turunçgil meyve ve yapraklarının farklı ekstraksiyon yöntemleriyle ekstraksiyonu ve matematik modellemesi. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Temel İşlemler ve Termodinamik Bilim Dalı. Doktora Tezi.*
- Imran, M. A. (2022). Therapeutic application of carvacrol: A comprehensive review. *Food science & nutrition*, s. 10(11), 3544-3561.
- İstanbul Üniversitesi. (2024, 10 15). *Sıvılardan ekstraksiyon*. <https://avesis.istanbul.edu.tr/resume/downloadfile/osagirli?key=6a2584c0-d53f-4fbd-9ca0-d5dde1c67291&announcementId=c932356a-7363-4db5-8cbe-06a1d43e0517> adresinden alındı
- İşcan, İ. (2018). Yayla/sütçüler kekiğinin (*Origanum minutiflorum* O. Schwarz et PH Davis) kültüre alınması ve farklı hasat dönemlerine göre verim ve bazı kalite özelliklerinin araştırılması. *YLtezi*.
- iu, C. B. (2022). The gut microbial metabolite pyrogallol is a more potent inducer of Nrf2-associated gene expression than its parent compound green tea (-)-epigallocatechin gallate. *Nutrients*, s. 14(16), 3392.
- Jan, R. A. (2021). Plant secondary metabolite biosynthesis and transcriptional regulation in response to biotic and abiotic stress conditions. *Agronomy*, s. 11(5), 968.
- Jocelyn Paré, J. B. (1997). Chapter 10 Microwave-assisted process (MAP™) principles and applications.

- Kadar, M. N. (2021). Caffeic acid on metabolic syndrome: A review. *Molecules*, s. 26(18), 5490.
- Kahkeshani, N. F. (2019). Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. *Iranian journal of basic medical sciences*, s. 22(3), 225.
- Kalender, A. (2023). PROPOLİSTEN BİYOAKTİF BİLEŞİKLERİN ELDESİ İÇİN MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYON YÖNTEMİNİN OPTİMİZASYONU. *YL tezi*.
- Karakaya, S. E. (2011). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oils obtained from oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum*) by using different extraction methods. *Journal of medicinal food*, s. 14(6), 645-652.
- Karaoğlu, E. (2011). *Bazı Origanum Türleri Üzerinde Farmakognozik Çalışmalar*. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Karataş, İ. (2022). Reyhan Bitkisinin (*Ocimum basilicum* L.) Adventif Kök Kültürlerinde Rosmarinik Asit Üretimi Olanaklarının ve Antioksidan Kapasitenin Araştırılması. *KSÜ Tarım ve Doğa Derg*, s. 25 (3): 459-466.
- Kasha, A. (2018). The phenolic content, antioxidant and cytotoxic activities of *Origanum sipyleum* from Turkey. *International Journal of Secondary Metabolite*, 5(4), 343-352.
- Kayabası, C. Y. (2022). *Origanum Sipyleum* Methanol Extract in Combination with Ponatinib Shows Synergistic anti-Leukemic Activities on Chronic Myeloid Leukemia Cells. *Nutrition and Cancer*, s. 74(10), 3679-3691.
- Keskin, N. Y. (2013). Sivas-Gemerek yöresi üzümünün bazı kalite özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, s. 23(3), 271-278.
- Khaleel, C. T. (2018). α -Terpineol, a natural monoterpene: A review of its biological properties. *Open Chemistry*, s. <https://doi.org/10.1515/chem-2018-0040>.
- Khazdair, M. R. (2024). Protective effects of carvacrol on lipid profiles, oxidative stress, hypertension, and cardiac dysfunction—A comprehensive review. *Food Science & Nutrition*, s. 12(5), 3137-3149.
- Khoshnazar, S. M. (2024). Neuroprotective Effects of γ -Terpinene in Rats with Acute Cerebral Ischemia: Modulation of Inflammation, Apoptosis, and Oxidation. *Neurochemical Research*, s. 49(7), 1863-1878.
- Kılıç, A. (2008). UÇUCU YAĞ ELDE ETME YÖNTEMLER. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 37-45.
- Kimera, F. S. (2021). Sustainable production of *Origanum syriacum* L. using fish effluents improved plant growth, yield, and essential oil composition. *Heliyon*, s. 7(3).
- Kızıl, S. T. (2005). Diyarbakır Koşullarında Bazı Çok Yıllık Tıbbi Bitkilerin Yetiştirilmesi Üzerine Çalışmalar. *Türkiye VI. Tarla Bitkileri Kongresi, Antalya Cilt I, Sayfa* 483-487).
- Kramer, D. J. (2024). Apigenin: a natural molecule at the intersection of sleep and aging. *Frontiers in Nutrition*, s. 11, 1359176.

- Laghmouchi, Y. B. (2017). Effect of temperature, salt stress and pH on seed germination of medicinal plant *Origanum compactum*. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, s. 10, 156-160.
- Lama-Muñoz, A. &. (2022). Extraction systems and analytical techniques for food phenolic compounds: a review. *Foods*, s. 11(22), 3671.
- Li, D. R. (2021). Ferulic acid: A review of its pharmacology, pharmacokinetics and derivatives. *Life sciences*, s. 284, 119921.
- Liu, S. Z. (2024). Potential Beneficial Effects of Naringin and Naringenin on Long COVID—A Review of the Literature. *Microorganisms*, s. 12(2), 332.
- Magnani, C. I. (2014). Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical methods*, s. 6(10), 3203-3210.
- Magnani, C. I. (2014). Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. 6(10), 3203-3210.
- Magnani, C. I. (2014). Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical methods*, s. 6(10), 3203-3210.
- Magnani, C. I. (2014). Caffeic acid: a review of its potential use in medications and cosmetics. *Analytical methods*, s. 6(10), 3203-3210.
- Majeed, M. H. (2016). Optimization protocol for the extraction of antioxidant components from *Origanum vulgare* leaves using response surface methodology. *Saudi Journal of Biological Sciences*, s. 23(3), 389-396.
- Meseret, M. K. (2020). Health risk assessment and determination of some heavy metals in commonly consumed traditional herbal preparations in Northeast Ethiopia. *Journal of Chemistry*, s. (1), 8883837.
- Muzolf-Panek, M. &.-S. (2021). Comprehensive study on the antioxidant capacity and phenolic profiles of black seed and other spices and herbs: Effect of solvent and time of extraction. *ournal of Food Measurement and Characterization*, s. 15(5), 4561-4574.
- N. M. Rice, H. M. (1993). *Pure Appl. Chem*, s. 65, 2373.
- Nabet, N. G.-L. (2019). Optimization of microwave-assisted extraction recovery of bioactive compounds from *Origanum glandulosum* and *Thymus fontanesii*. *Industrial Crops and Products*, s. 129, 395-404.
- Nadeem, M. I. (2019). Therapeutic potential of rosmarinic acid: A comprehensive review. *Applied Sciences*, s. 9(15), 3139.
- Nadeem, M. I. (2019). Therapeutic potential of rosmarinic acid: A comprehensive review. *Applied Sciences*, s. 9(15), 3139.
- Nadeem, M. I. (2019). Therapeutic potential of rosmarinic acid: A comprehensive review. *Applied Sciences*, s. 9(15), 3139.
- Nakiboğlu, M. Ö. (2007). Antioxidant capacities of endemic *Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey. *Food Chemistry*, 630-635.
- Nishida, R. S. (2000). α -Copaene, a potential rendezvous cue for the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*? *Journal of chemical ecology*, s. 26, 87-100.

- Nohutçu, L. T. (2024). Determination of Nutrient Elements Content, Essential Oils Ratio and Biochemicals Composition of *Origanum rotundifolium* Boiss. and *Origanum syriacum* L. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, s. 27(Ek Sayı 1 (Suppl 1)), 213-230.
- Nutrizio, M. M.-S. (2021). High-Voltage electrical discharges in green extractions of bioactives from oregano leaves (*Origanum vulgare* L.) using water and ethanol as green solvents assessed by theoretical and experimental procedures. *Food Engineering Reviews*, s. 13, 161-174.
- Oluk, E. A. (2009). Micropropagation of *Origanum sipyleum* L., an endemic medicinal herb of Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8(21).
- Oluk, E. A. (2013). Comparison of the antimicrobial activity and essential oil content of wild and micropropagated *Origanum sipyleum* L.: A medicinal herb native to Turkey. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(6), 230-233.
- Ong, S. (2007). Extraction methods and chemical standardization of botanicals and herbal preparations. *Journal of Chromatography B*, 23-33.
- Ozkan, G. S. (2007). Phenolic compounds of *Origanum sipyleum* L. extract, and its antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Lipids*, s. 14(2), 157-169.
- Özçelik, S. (2013). *KAPİLER ELEKTROFOREZ YÖNTEMİ İLE PVI KAPLI KAPİLERDE İNORGANİK ANYONLARIN HASSAS ANALİZİ: KEMOMETRİK DENEYSEL TASARIM İLE METOD OPTİMİZASYONU*. İTÜ Yüksek Lisans Tezi.
- Özer, Z. G. (2020). The phenolic contents, antioxidant and anticholinesterase activity of section *Amaracus* (Gled.) Vogel and *Anatolicon* Ietsw. of *Origanum* L. species. *Arabian journal of chemistry*, s. 13(4), 5027-5039.
- Özkan, G. O. (2007). PHENOLIC COMPOUNDS OF *ORIGANUM SIPYLEUM* L. EXTRACT, AND ITS ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES. *Journal of Food Lipids*, 157-169.
- Paiva, L. B. (2013). Ferulic acid and derivatives: molecules with potential application in the pharmaceutical field. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, s. 49, 395-411.
- Panagiotidou, C. B. (2024). Optimization of Extracted Phenolic Compounds from Oregano through Accelerated Solvent Extraction Using Response Surface Methodology. *Engineering Proceedings*, s. 67(1), 10.
- Peng, Y. Q. (2024). Regulatory mechanism and therapeutic potentials of naringin against inflammatory disorders. *Heliyon*.
- Pérez, M. D.-L.-R. (2023). The chemistry behind the folin–ciocalteu method for the estimation of (poly) phenol content in food: Total phenolic intake in a mediterranean dietary pattern. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, s. 71(46), 17543-17553.
- Anonymous *phenol-explorer*. (2024, 03 24). <http://phenol-explorer.eu/>

- Pina, L. T. (2024). Antihyperalgesic effect of γ -terpinene complexed in β -cyclodextrin on neuropathic pain model induced by tumor cells. *International Journal of Pharmaceutics*, s. 662, 124538.
- Pina, L. T. (2024). Antihyperalgesic effect of γ -terpinene complexed in β -cyclodextrin on neuropathic pain model induced by tumor cells. *International Journal of Pharmaceutics*, s. 662, 124538.
- Pina, L. T. (2024). Antihyperalgesic effect of γ -terpinene complexed in β -cyclodextrin on neuropathic pain model induced by tumor cells. *International Journal of Pharmaceutics*, s. 662, 124538.
- Poole, C. M.-B. (2016). Glossary of terms used in extraction (IUPAC Recommendations 2016). *Pure and Applied Chemistry*, s. 88(5), 517-558.
- Pravin, B. N. (2024). Assessing the antioxidant properties of Naringin and Rutin and investigating their oxidative DNA damage effects in breast cancer. *Scientific reports*, s. 14(1), 15314.
- Rashed, A. (2020). The investigation of the stability of ruthenium based photocatalysts using HPLC, NMR and UV visible techniques (Doctoral dissertation, Dublin City University).
- Rauf, A. I.-R. (2018). Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review. *Phytotherapy research*, s. 32(11), 2109-2130.
- Ravirajsinh N. Jadeja, R. V. (2014). Polyphenols in Chronic Diseases and their Mechanisms of Action. *Polyphenols in Human Health and Disease*, s. 615-623.
- Razavi, S. M. (2024). Evaluation of Synergic Effect of Nano-Micelle Curcumin and Epicatechin on Apoptosis and Proliferation of HT29 Colorectal Cancer Cell Line. *ournal of Mazandaran University of Medical Sciences*, s. 34(235), 13-25.
- Ricardi, C. B. (2024). Beta-Caryophyllene, a Cannabinoid Receptor Type 2 Selective Agonist, in Emotional and Cognitive Disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, s. 25(6), 3203.
- Rodríguez-Meizoso, I. M. (2006). Subcritical water extraction of nutraceuticals with antioxidant activity from oregano. Chemical and functional characterization. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, s. 41(5), 1560-1565.
- Said, O. (2016). *Bazı Bitki Ekstrelerinin Antioksidan Aktivitesi Ve Rozmarinik Asit İçeriği Üzerine Çalışmalar*. İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Santos, C. M. (2020). The antioxidant activity of prenylflavonoids. *Molecules*, s. 25(3), 696.
- Sarakatsianos, I. A. (2020). Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds from medicinal and aromatic plants: *Sideritis raeseri*, *Sideritis scardica* and *Origanum vulgare*. *Current Analytical Chemistry*, s. 16(2), 106-111.
- Sarıtaş, N. (2018). Ceviz yeşil kabuğundan ultrases yardımıyla fenolik madde ekstraksiyonu, kinetik modellenmesi ve optimizasyonu (Master's thesis, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü).

- Semiz, G. S.-D. (2018). Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant and antibiofilm activities of four *Origanum* species from southeastern Turkey. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 194-204.
- Sharifi-Rad, M. V.-R. (2018). Carvacrol and human health: A comprehensive review. *Phytotherapy Research*, s. 32(9), 1675-1687.
- Sharma, S. C. (2024). High-level biosynthesis of enantiopure germacrene D in yeast. *Applied Microbiology and Biotechnology*, s. 108(1), 50.
- Siano, F. V. (2022). Accurate determination of total biophenols in unfractionated extra-virgin olive oil with the fast blue BB assay. *Food Chemistry*, s. 370, 130990.
- Singh, D. C. (2021). A REVIEW ON INSTRUMENTATION AND VALIDATION METHOD OF UV-VISIBLE SPECTROSCOPY AND HPLC FOR THE ANALYSIS OF DRUGS. *The International Research Journal of Pharmacy*, s. 12(3), 14-21.
- Singh, D. K. (2024). Apigenin enhances sorafenib anti-tumour efficacy in hepatocellular carcinoma. *Translational Oncology*, s. 43, 101920.
- Singh, S. &. (2024). Linalool: Therapeutic Indication And Their Multifaceted Biomedical Applications. *Drug Research*, s. 74(06), 255-268.
- Sirotkin, A. V. (2024). Positive effects of rutin on female reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, s. 59(2), e14540.
- Souza, R. P. (2024). Non-clinical investigations about cytotoxic and anti-platelet activities of gamma-terpinene. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, s. 1-16.
- Sridhar, A. P. (2021). Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: A review. *Environmental Chemistry Letters*, s. 19, 3409-3443.
- Sulaiman, M. B. (2024). Heavy metal contamination in medicinal plants: assessing carcinogenic and non-carcinogenic health risks. *Discover Environment*, s. 2(1), 11.
- Şahin, S. &. (2007). *Yeni teknolojilerle baharatlardan esansiyel yağ ekstraksiyonu ve bu yağların fiziksel, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri*.
- Şengül, M. v. (2019). Katı-Sıvı Ekstraksiyonunda Kullanılan Modern Teknikler ve Bu Teknikler. *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg*, 50 (2): 201-216.
- Şenol, A. (2003). BATARYA TİPİ KATI-SIVI EKSTRAKSİYON SİSTEMİNDE SICAK SU İLE ÇAY ARTIKLARINDAN KAFEİN EKSTRAKSİYONU: PROSES OPTİMİZASYONU VE MODELLENMESİ. *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, s. 5(3), 1-10.
- Tekman, E. A. (2024). Exploring Quantitative Biological Major, Trace, and Ultratrace Elements Composition and Qualitative Primary-Secondary Metabolites in Lamiaceae Medicinal Plants from Turkey. *Biological Trace Element Research*, s. 1-14.
- Temel, M. &. (2005). Bazı *Origanum* L.(Lamiaceae) taksonlarının tohum çimlenme davranışlarının belirlenmesi. *Afyon Kocatepe Üniversitesi FEN BİLİMLERİ DERGİSİ* , 6 (2) 71-88.

- Teofilović, B. G.-L.-K. (2017). Experimental and chemometric study of antioxidant capacity of basil (*Ocimum basilicum*) extracts. *Industrial crops and products*, s. 100, 176-182.
- Tilkat, E. A. (2023). Influence of Salinity on In Vitro Production of Terpene: A Review. *Making Plant Life Easier and Productive Under Salinity-Updates and Prospects*.
- Tiring, G. S. (2021). Sekonder metabolitler. *Bursa Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, s. 35(1), 203-215.
- Türkşen, Ö. (2011). *Çoklu Yanıt Problemlerinin Çözümüne Bulanık ve Sezgisel Yaklaşım (Doctoral dissertation, Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi. Ankara*.
- Unal, B. G. (2013). Variations in the proline and total protein contents in *Origanum sipyleum* L. from different altitudes of Spil mountain, Turkey. *Pakistan Journal of Botany*, s. 45(S1):571-576.
- Unal, B. T. (2013). Variations in the proline and total protein contents in *Origanum sipyleum* L. from different altitudes of spil mountain Turkey. *Pak J Bot*, s. 571-576.
- Üçüncüoğlu, D. (2018). Ayvalık (Edremit Yağlık) Çeşidi Naturel Sızma Zeytinyağı Uçucu Bileşenlerinin Spme-Gc/Ms Ve Raman Spektroskopisi İle Karakterize Edilmesi.
- Ünal, O. G. (2004). Antalya endemiği *Origanum* türlerinin tohum çimlenmesi ve çelikle çoğaltılması üzerinde araştırmalar. *Akdeniz University Journal of the Faculty of Agriculture*, s. 17(2), 135-147.
- Vural, N. (2017). *Olea europaea l. bitki yapraklarından sekoiridoid yapıdaki polifenollerin ekstraksiyonu ve analizi için yeni bir yöntem geliştirilmesi (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi (Turkey))*.
- Wang, W. S. (2016). The biological activities, chemical stability, metabolism and delivery systems of quercetin: A review. *Trends in food science & technology*, s. 56, 21-38.
- Y. Peng, R.-Y. G. (2020). Absorption, metabolism, and bioactivity of vitexin: recent advances in understanding the efficacy of an important nutraceutical. *Taylor & Francis*, s. 61(27):1-16.
- Yabalak, E. E. (2020). Wide-scale evaluation of *Origanum munzurense* Kit Tan & Sorger using different extraction techniques: Antioxidant capacity, chemical compounds, trace element content, total phenolic content, antibacterial activity and genotoxic effect. *Flavour and fragrance journal*, s. 35(4), 394-410.
- Yaman, T. v. (2016). Uçucu Yağ Elde Etmede Gelişmiş Ekstraksiyon Yöntemleri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 78-83.
- Yan, X. R. (2008). Medicinal Herb Extraction Strategy– A Solvent Selection and Extraction Method Study., (s. Vol. 30, p. 122).
- Yılmaz, D. Ç. (2019). İki kekik türünün (*Thymbra spicata* var. *spicata* ve *Origanum onites*) antioksidan aktivitelerinin karşılaştırılması. *Uluslararası Doğu Anadolu Fen Mühendislik ve Tasarım Dergisi*, s. 1(2), 296-306.

- Yılmaz, Ş. (2005). Farklı durultma proseslerinin elma suyu üretiminde fumarik asit miktarına ve bazı kalite özelliklerine etkisi. *Pamukkale Üniversitesi Yüksek lisans tezi*.
- Zamanian, M. Y. (2024). A Narrative Review on Therapeutic Potential of Naringenin in Colorectal Cancer: Focusing on molecular and biochemical processes. *Cell Biochemistry and Function*, s. 42(3), e4011.
- Zengin, G. F.-D. (2019). Chemical profiling and pharmaco-toxicological activity of *Origanum sipyleum* extracts: Exploring for novel sources for potential therapeutic agents. *Journal of food biochemistry*, 43(11), e13003.
- Żukowska, G. &. (2024). Properties and applications of essential oils: A review. *Journal of Ecological Engineering*, s. 25(2).