



Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/yyufbed>



Araştırma Makalesi

Yeşil Cevizlerden Ultrason Destekli Ekstraksiyon Yöntemiyle Fenolik Bileşiklerin Eldesi

Serdar UĞURLU*, Emre BAKKALBAŞI

Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, 65080, Van, Türkiye

Serdar UĞURLU, ORCID No: 0000-0002-5785-9647,

Emre BAKKALBAŞI, ORCID No: 0000-0001-9913-1091

*Sorumlu yazar e-posta: serdar_ugurlu@hotmail.com

Makale Bilgileri

Geliş: 28.07.2022
Kabul: 07.11.2022
Online Nisan 2023

DOI:10.53433/yyufbed.1150133

Anahtar Kelimeler

Fenolik bileşikler,
Juglon,
Ultrason destekli
ekstraksiyon,
Yeşil ceviz

Öz: Bu çalışmada, yeşil cevizden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonuna iki farklı yöntemin etkisi araştırılmıştır. Fenolik bileşikler yeşil cevizden konvansiyonel yöntemle (120, 240, 360 480, 720, 960 ve 1200 dakika) ve ultrason destekli ekstraksiyon (%25, 50, 75 ve 100 genlik; 10, 20, 30, 40, 50 ve 60 dakika) ile ekstrakte edilmiştir. HPLC analizi ile yeşil ceviz ekstraktlarında bazı fenolik asitler (gallik asit, neoklorojenik asit), flavonol (rutin) ve juglon tespit edilmiştir. Konvansiyonel yöntemde toplam fenolik içerik 240 dakika sonra 158.55 mg GAE/kg olarak belirlendi. Ultrason destekli ekstraksiyonda ise toplam fenolik içerik, 60 dakika sonunda %100 genlikte 156.80 mg GAE/kg olarak ölçülmüştür. Konvansiyonel ekstraksiyonda ise toplam fenolik içerik, 1200 dakika sonunda 1478.15 mg GAE/kg olarak ölçülmüştür. Ekstraksiyon süresi artırıldığında konvansiyonel ekstraksiyon etkili olmuştur. En iyi ekstraksiyon verimi, %100 ultrason genliğinde elde edilse de 50. dakikadan sonra fenolik bileşiklerdeki kayıplar nedeniyle ekstraksiyon süresi uzatılamamakta ve uzun sürmesine karşılık bozunma olmadığı için konvansiyonel ekstraksiyonda daha yüksek fenolik bileşik değerlerine ulaşılmaktadır.

Extraction of Phenolic Compounds from Green Walnut by Ultrasound Assisted Extraction

Article Info

Recieved: 28.07.2022
Accepted: 07.11.2022
Online April 2023

DOI:10.53433/yyufbed.1150133

Keywords

Green walnut,
Juglone,
Phenolic compounds,
Ultrasound assisted extraction

Abstract: In this study, the effects of two different methods on the extraction of phenolic compounds from green walnuts were investigated. Phenolic compounds were extracted from green walnut by conventional (120, 240, 360 480, 720, 960 and 1200 minutes) and ultrasound-assisted extraction (25, 50, 75 and 100% amplitude; 10, 20, 30, 40, 50 and 60 min.). HPLC analysis indicated that green walnut extracts have some phenolic acids (gallic acid, neochlorogenic acid), flavonol (rutin) and juglone. In the conventional method, total phenolic content was determined as 158.55 mg GAE/kg after 240 minutes. In the ultrasound-assisted extraction, the total phenolic content was measured as 156.80 mg GAE/kg at 100% amplitude for 60 minutes, whereas 1478.15 mg GAE/kg for 1200 minutes for conventional extraction. Although the best extraction efficiency is obtained with the use of 100% ultrasound amplitude, the extraction time cannot be extended after 50 minutes due to losses in phenolic compounds. There was no degradation in the phenolic compound during conventional extraction despite its long extraction time, and the values of phenolic compound were higher in conventional extraction.

1. Giriş

Ceviz (*Juglans regia* L.) sevilerek tüketilen, besin içeriği ve ekonomik değer açısından önemli bir üründür (Oliveira ve ark., 2008). Sadece kuru meyvesi değil, aynı zamanda olgunlaşmamış yeşil meyveleri, meyve üstündeki sert kabukları, yeşil kabukları, ağacının kabukları ve yaprakları hem kozmetik hem de ilaç endüstrisinde kullanılmaktadır (Stampar ve ark., 2006). Ceviz fenolik asitler, naftokinonlar ve flavonoidler dahil fenolik bileşikler açısından zengin bir meyvedir (Cosmulescu ve ark., 2014). Cevizin kimyasal bileşenlerinden biri olan fenolik bileşikler, insan sağlığının korunmasında ve hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynar (Solar ve ark., 2019). Bu bileşikler yeşil ceviz kabuğunda (Cosmulescu ve ark., 2010), yeşil ceviz meyvesinde (Jakopic ve ark., 2007), olgun ceviz tohumunda (Colaric ve ark., 2005) ve yapraklarda (Vieira ve ark., 2019) önemli miktarda bulunmaktadır.

Bitkilerden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, analiz ve kullanımı için ilk adımı oluşturur (Rosa ve ark., 2017). Doğal ve biyolojik olarak aktif bileşenlerin izole edilmesi için çeşitli ekstraksiyon yöntemleri önerilmiştir. Soxhlet ekstraksiyonu, geri akış ısı ekstraksiyonu ve maserasyon, geleneksel ekstraksiyon yöntemleri olarak geçmişten günümüze kadar kullanılmaktadır. Ancak bu konvansiyonel yöntemlerin uzun zamana ihtiyaç duyması, verimsizliği ve ekonomik olmaması gibi dezavantajları vardır (Um ve ark., 2018). Ekstraksiyon ve gıda muhafazası için ultrasonik dalgaların kullanımı, güvenli, verimli, ekonomik ve çevre dostu olarak uygulanabilen yeni, etkili bir işleme teknolojisidir (Rodrigues & Fernandes, 2009). Ultrason yarattığı kavitasyon etkisi ile hücre duvarının deforme olmasına ve bu sayede çözücünün biyolojik numunelerin matrisine daha fazla nüfuz etmesine izin vererek organik bileşiklerin ekstraksiyon etkinliğini artırmaktadır (Rostagno ve ark., 2003). Bu anlamda katı-sıvı ekstraksiyonunda ultrason kullanımının başlıca faydası, ekstraksiyon verimliliğinin artmasıdır. Ayrıca ultrason ile düşük sıcaklıklarda çalışılabilir ve böylece ısıya hassas bileşiklerin çıkarılmasına da olanak sağlar. Bununla birlikte, mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi diğer yeni ekstraksiyon teknikleri ile karşılaştırıldığında ultrason sistemleri daha ucuzdur ve çalışması daha kolaydır (Wang & Weller, 2006).

Bu çalışmada, yeşil cevizden fenolik madde ekstraksiyonunda yenilikçi bir teknoloji olan ultrason destekli ekstraksiyon tekniğinin kullanım olanaklarının araştırılması amaçlanmıştır.

2. Materyal ve Yöntem

Çalışmada fenolik madde ekstraksiyonu için 2017 yılının 30 Haziran'ında Bitlis ili Ahlat ilçesinden yerel bir üreticiden temin edilen yeşil ceviz örneği (*Juglans regia* L.) kullanılmıştır.

Örnekler ultrason destekli ekstraksiyon ve konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleri ile ekstrakte edilmiştir. Bu iki yöntem, elde edilen ekstraktların fenolik madde içeriği açısından karşılaştırılmıştır. Çalışmada ön denemeler sonucunda meyve: su oranı 2:3 (W:V) olarak belirlenmiş, örnek ve su 1 L'lik cam kavanozlara konularak her iki ekstraksiyon işlemi için kullanılmıştır.

Yeşil cevizlerden fenolik madde ekstraktı için ultrason destekli ekstraksiyon Bandelin (UW 3200, 200 W, 20 kHz, Germany) marka ultrasonik homojenizatör ile gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 4 farklı ultrason genliği (%25-50-75-100) kullanılmıştır. Ekstraksiyon için kavanoz içeriği 60 dk boyunca ultrason destekli ekstraksiyona tabi tutuldu ve ekstraksiyon süresince (oda sıcaklığında) kavanozdan 10, 20, 30, 40, 50 ve 60.dakikalarda 5 ml ekstrakt alınıp fenolik madde analizlerinde kullanıldı.

Konvansiyonel yöntemle ekstraksiyon ise kavanoz içeriğinin oda sıcaklığında ve karanlıkta 20 saat boyunca sabit olarak bekletilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Süre boyunca 120, 240, 360, 480, 720, 960 ve 1200. dakikalarda ekstrakttan 5 ml alınmıştır.

2.1. Yeşil ceviz metanolik ekstraktları

Her iki ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktlar dondurularak kurutulmuş ve elde edilen kuru ekstraktlar analiz edilinceye kadar -24°C'de azot akışı altında kapatılmış amber renkli şişelerde muhafaza edilmiştir. Kuru ekstraktlar 10 mL metanol de çözüldükten sonra kimyasal analizlerde kullanılmıştır.

2.2. Toplam fenolik madde analizi

Yeşil ceviz ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı için Singleton & Rossi (1965) tarafından bildirilen yöntem kullanılmıştır. 0.4 mL yeşil ceviz metanolik ekstrakt üzerine, sırasıyla 2 mL 1/10 oranında su ile seyreltilen Folin-Ciocalteu ajanı ve 1.6 mL %7.5 sodyum karbonat çözeltisi eklenerek karıştırılmıştır. Reaksiyon karışımı bir saat boyunca oda sıcaklığında bekletilip ardından spektrofotometrede 765 nm'de okuma yapılmıştır. Ekstraktların toplam fenolik madde miktarı, gallik asit eşdeğeri (mg GAE/kg) olarak verilmiştir.

2.3. Juglon ve fenolik madde içeriği

Ekstrakt örneklerinin juglon ve fenolik madde içeriği Colaric ve ark. (2005)'e ait yöntem modifiye edilerek yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı ile belirlenmiştir. HPLC cihazı; Shimadzu marka LC-20 AD pompa, SPD-M20A model DAD dedektör ve CTO-10AS VP model kolon fırınından oluşmaktadır. Waters Symetry C18 (250x4 mm ID, 5 µm) kolonu (Waters, ABD) ile juglon, gallik asit, neoklorojenik asit ve rutin fenolik bileşenlerinin tespiti yapılmıştır. Mobil faz olarak %2 asetik asitli su (A) ve % 0.5 asetik asitli su: asetonitril (1:1 v/v) (B) kullanılmıştır. Gradyan programı: 0. dk % 10 B, 50. dk % 55 B, 60. dk % 100 B olarak belirlenmiştir. Kolon sıcaklığı 25°C ve akış hızı 1.0 mL/ dk'dir. Juglon, gallik asit, neoklorojenik asit ve rutin için sırasıyla 254, 280, 320 ve 360 nm'de okuma yapılmıştır.

2.4. İstatistik analizler

Veriler arasındaki farklılıklar SPSS istatistik programı (sürüm 20.0) kullanılarak tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklar Duncan çoklu karşılaştırma testi ile belirlenmiştir.

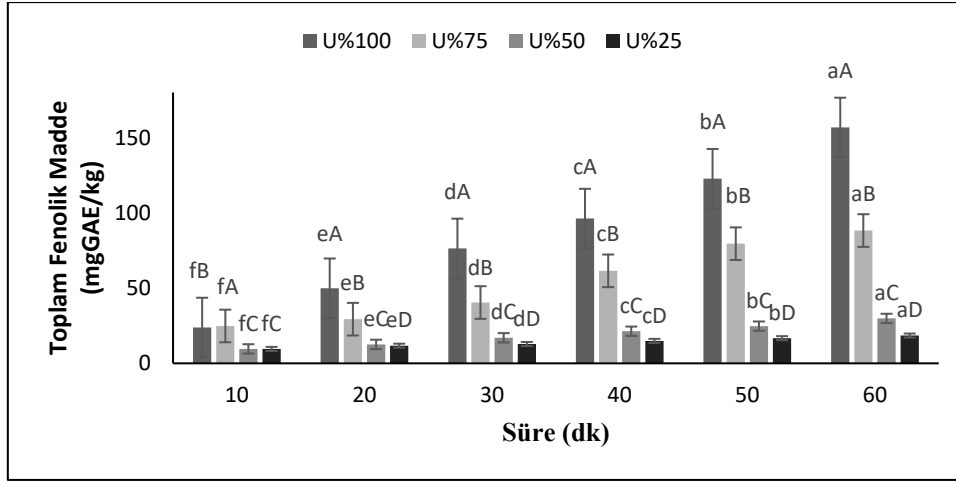
3. Bulgular ve Tartışma

3.1. Yeşil ceviz ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı

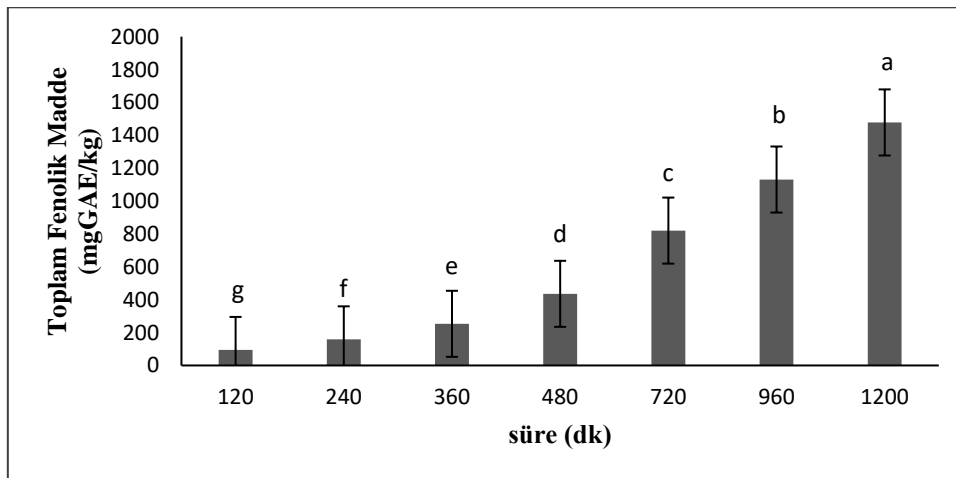
Farklı ultrason genliklerinde (%25, 50, 75, 100) 60 dk süresince gerçekleştirilen ultrason destekli ekstraksiyonlara ait toplam fenolik madde miktarları Şekil 1'de gösterilmiştir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı %100 ultrason genliğinde 60. dakikada (156.80 mg GAE/kg), en düşük ise %25 ve %50 ultrason genliğinde 10. dk'da alınan ekstraktta tespit edilmiştir. Her dört ultrason genliğinde de artan ekstraksiyon süresi ile toplam fenolik madde miktarının arttığı görülmüştür. Diğer taraftan, aynı süredeki ekstraktların toplam fenolik madde miktarının yükselen ultrason genlikleri ile arttığı belirlenmiştir. Analizlere göre, %25 ultrason genliği uygulanmış örnek ekstraktlarından, 60. dakika sonunda elde edilen toplam fenolik madde miktarı, %50 ultrason genliği uygulanmış örnek ekstraktlarının 30-40. dakika aralığına; %50 ultrason genliği uygulanmış örnek ekstraktlarının 60. dakikada elde edilen toplam fenolik madde miktarı, %75 ultrason genliğinin yaklaşık olarak 20. dakikalarında elde edilen miktarlarına denk gelmiştir. Ultrason genliği %75 olan örnek ekstraktlarının 60. dakikasında elde edilen toplam fenolik madde miktarı ise ultrason genliği %100 olan örnek ekstraktlarının 30-40. dakika aralığına denk gelmiştir. Toplam fenolik madde içeriği açısından aynı ultrason genliklerindeki ekstraksiyon süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Ayrıca aynı süredeki ekstraktların ultrason genlikleri arasındaki farkta istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). Yaş üzüm tanelerinden ultrason destekli ekstraksiyon ile fenolik madde ekstrakte edildiği çalışma da %100 genlik kullanılarak bulunan geri kazanımın %20 genliğin kullanılmasından daha yüksek bulunduğu ve kullanılan genlik arttıkça fenolik madde ekstraksiyonunun arttığını bildirmişlerdir (Carrera ve ark., 2012). Benzer şekilde artan ekstraksiyon süresi ile kabak ve şeftali örneklerinden ultrason destekli ekstraksiyonla ekstrakte edilen toplam fenolik madde miktarının da arttığı bildirilmiştir (Altemimi ve ark., 2016).

Konvansiyonel yöntemle elde edilmiş yeşil ceviz ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarındaki değişim ise Şekil 2'de gösterilmiştir. Konvansiyonel yöntemle elde edilen yeşil ceviz ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı ekstraksiyon süresi arttıkça artmıştır. En yüksek toplam

fenolik madde miktarı 1200 dakika sonundaki ekstraktta (1478.15 mg GAE/kg) tespit edilmiştir. Toplam fenolik madde içeriği açısından ekstraksiyon süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$). 120 ve 240 dakika sonunda elde edilen toplam fenolik madde miktarı (sırasıyla 94.13 ve 158.55 mg GAE/kg) %100 ultrason genliği uygulanarak yaklaşık olarak 40. ve 60. dakika sonundaki ekstraktın toplam fenolik madde miktarına (sırasıyla 96.25 ve 156.80 mg GAE/kg) denk gelmiştir. Çalışmamızda ultrason destekli ekstraksiyon ile daha kısa sürede daha yüksek verim elde edilebildiği ve ekstraksiyon süresini önemli miktarda azaltabileceği ortaya çıkmaktadır. Ancak uzun ekstraksiyon sürelerinden dolayı klasik ekstraksiyon daha yüksek toplam fenolik içeriğe sahip olmuştur. Benzer çalışma şeftali posasından toplam fenolik madde ekstraksiyonunda geleneksel yöntemle 4 saat sonunda en yüksek 1834.88 mg GAE/kg yaş ağırlık, ultrason destekli ekstraksiyon yöntemiyle ise %100 genlikte 10 dk en yüksek 1817.21 mg GAE/kg yaş ağırlık olarak elde edildiği bildirilmiştir (Baltacıoğlu ve ark., 2019). *Limonium sinuatum* çiçeklerinden antioksidanların ekstraksiyonu için ultrason destekli ekstraksiyon, geleneksel maserasyon ve soxhlet ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak ultrason destekli ekstraksiyonun, daha yüksek antioksidan verimi sağladığı ve ekstraksiyon süresini önemli ölçüde azaltabileceği bildirilmiştir (Xu ve ark., 2017). Kırmızı üzümde toplam fenolik madde, toplam kondense tanen ve toplam antosiyanin ekstraksiyonu üzerine yapılan bir çalışmada da ultrason destekli ekstraksiyonda (6 dk) klasik ekstraksiyona (60 dk) kıyasla daha kısa sürede daha yüksek verim elde edildiği bildirilmiştir (Carrera ve ark., 2012).



Şekil 1. Ultrason destekli ekstraksiyon ile farklı süre ve genliklerde elde edilen ekstraktların toplam fenolik miktarlarındaki değişimi (Küçük harfler aynı ultrason genliğindeki örnekler arasındaki farkı, büyük harfler aynı süredeki farklı ultrason genlikleri arasındaki farkı göstermektedir).



Şekil 2. Konvansiyonel yöntemle ekstraksiyon ile farklı sürelerde elde edilen ekstraktların toplam fenolik miktarlarındaki değişimi (Küçük harfler örnekler arasındaki farkı göstermektedir).

3.2. Juglon ve fenolik madde miktarı

Cevizde (*Juglans regia*), naftokinonlar ve flavonoidler başlıca fenolik bileşikler olarak kabul edilir (Nour ve ark., 2016). Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi ile en yüksek toplam fenolik madde miktarı %100 ultrason genliği uygulanarak elde edildiğinden dolayı bu örnek ekstraktının juglon ve fenolik madde miktarı incelenmiştir. Yeşil cevize %100 ultrason genliği uygulanarak ekstrakte edilen fenolik bileşikler (juglon, gallik asit, neoklorojenik asit ve rutin) Çizelge 1’de gösterilmiştir. %100 ultrason genliği uygulanmış ekstraktlardaki juglon, gallik asit, neoklorojenik asit ve rutin miktarları sırasıyla 0.02-12.63, 1.35-12.74, 4.90-18.28 ve 0.49-2.17 mg/kg arasında değişmiştir. Juglon, gallik asit ve neoklorojenik asit içeriği için ekstraksiyon süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Süre arttıkça ekstrakte edilen bileşiklerin miktarının 50. dakikaya kadar arttığı tespit edilmiştir. Fakat 60. dakikada tespit edilen tüm bileşikler, özellikle juglon ve neoklorojenik asit miktarı azalmıştır. Bu durumun yüksek ultrason genliği ve özellikle sürenin yeşil cevizin yapısında bulunan bu bileşiklerin yapısının bozulmasına neden olabileceği düşünülmektedir. Ceviz yapraklarından ultrason destekli hidroalkol ekstraksiyon ile ekstrakte edilen fenolik bileşiklerin, ekstraksiyon süresinin 50. dakika sonunda maksimum flavonoid konsantrasyonuna ulaştığı ve ardından ekstraksiyon süresinin uzamasıyla flavonoidlerin ayrışmasının neden olduğu çok hafif bir düşüş olduğu bildirilmiştir (Nour ve ark., 2016). *Folium eucommiae*’den ultrason destekli hidroalkol ekstraksiyonunda 70 dakikadan fazla ekstraksiyon süresinin flavonoid miktarında azalma ile sonuçlandığı Huang ve ark. (2009) tarafından da bildirilmiştir.

Konvansiyonel yöntemle yeşil cevizden ekstrakte edilen fenolik bileşikler ise Çizelge 2’de gösterilmiştir. Ekstraktlardaki juglon, gallik asit, neoklorojenik asit ve rutin miktarları sırasıyla 1.05-13.14, 4.07-103.08, 5.92-73.89 ve 3.86-13.59 mg/kg arasında değişmiştir. Juglon, gallik asit, neoklorojenik asit ve rutin içeriği açısından ekstraksiyon süreleri arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p<0.05$). Konvansiyonel yöntemle elde edilen ekstraktlarda sürenin artmasıyla suya geçen fenolik bileşiklerin de miktarı artmıştır. %100 ultrason genliği uygulanarak 50. dakikada elde edilen ekstrakttaki juglon miktarı, klasik ekstraksiyon yöntemi ile yaklaşık 1200 dk da elde edilen juglon miktarına denk gelmektedir. Gallik asit, neoklorojenik asit ve rutin miktarları ise konvansiyonel yöntemin ilk örnekleme olan 120. dk’dan itibaren ultrason destekli ekstraksiyondan elde edilen miktarlardan yüksek bulunmuştur. Bu durumun ultrason destekli ekstraksiyonda bu bileşiklerin ultrason etkisiyle bozulmasından ve/veya klasik ekstraksiyonun uzun ekstraksiyon süresinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Benzer durum melisa bitkisinden fenolik bileşiklerin ekstrakte edildiği çalışmada kateşin, şiringik asit, p-kumarik asit, rosmanirik asit miktarlarının ultrasonik ekstraksiyona kıyasla maserasyon uygulanmış örneklerde daha yüksek bulunduğu bildirilmiştir (İnce ve ark., 2013). Başka bir çalışmada siyah akasya (*Robinia pseudoacaciae*) çiçeklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için ultrason destekli ekstraksiyon, soxhlet ve konvansiyonel ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Araştırmada fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda ultrason destekli ekstraksiyonun daha kısa ekstraksiyon süresi ile daha yüksek toplam fenolik içerik ve daha iyi antioksidan aktivite verdiği bildirilmiştir (Gajic ve ark., 2019).

Çizelge 1. %100 ultrason genliğine ait yeşil ceviz ekstraktlarının fenolik bileşik içerikleri (mg/kg)

Süre (dk)	Juglon	Gallik Asit	Neoklorojenik Asit	Rutin
10	0.02 ± 0.0 ^e	1.35 ± 0.05 ^b	4.90 ± 1.70 ^c	0.49 ± 0.04 ^b
20	0.97 ± 0.11 ^d	2.80 ± 0.08 ^b	7.41 ± 2.25 ^c	1.53 ± 0.05 ^{ab}
30	2.07 ± 0.41 ^c	4.27 ± 0.53 ^b	8.95 ± 2.52 ^{bc}	1.72 ± 0.26 ^{ab}
40	7.11 ± 0.14 ^b	5.11 ± 1.06 ^b	9.56 ± 2.25 ^{bc}	2.13 ± 0.86 ^a
50	12.63 ± 0.09 ^a	12.74 ± 4.32 ^a	18.28 ± 4.04 ^a	2.17 ± 0.69 ^a
60	6.66 ± 0.39 ^b	12.34 ± 1.86 ^a	13.20 ± 1.72 ^b	2.08 ± 0.82 ^a

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Küçük harfler aynı sütundaki örnekler arasındaki farkı göstermektedir ($p<0.05$).

Çizelge 2. Konvansiyonel yöntemle ait yeşil ceviz ekstraktlarının fenolik bileşik içerikleri (mg/kg)

Süre (dk)	Juglon	Gallik Asit	Neoklorojenik Asit	Rutin
120	1.05 ± 0.29 ^c	4.07 ± 1.38 ^f	5.92 ± 1.08 ^e	3.86 ± 0.08 ^c
240	1.46 ± 0.60 ^c	6.66 ± 2.44 ^f	7.25 ± 1.16 ^e	4.64 ± 0.81 ^c
360	2.31 ± 0.91 ^c	16.16 ± 2.73 ^e	11.88 ± 1.77 ^{de}	5.20 ± 0.46 ^c
480	3.10 ± 1.01 ^c	28.84 ± 1.19 ^d	20.56 ± 1.73 ^d	6.23 ± 0.82 ^c
720	3.93 ± 1.26 ^c	47.55 ± 5.71 ^c	35.09 ± 4.24 ^c	8.84 ± 1.22 ^b
960	8.25 ± 0.51 ^b	77.56 ± 1.77 ^b	54.21 ± 5.14 ^b	12.64 ± 2.04 ^a
1200	13.14 ± 2.72 ^a	103.08 ± 3.84 ^a	73.89 ± 7.94 ^a	13.59 ± 0.80 ^a

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Küçük harfler aynı sütundaki örnekler arasındaki farkı göstermektedir (p<0.05).

4. Sonuç

Fenolik bileşikler insan sağlığı üzerine olumlu etkileri nedeniyle son yıllarda ilgi odağı olmuş ve kozmetik, eczacılık ve gıda endüstrisinde yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmada, yeşil cevizden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için ultrason destekli ekstraksiyon ile konvansiyonel ekstraksiyon tekniklerinin karşılaştırılması amaçlanmıştır. Hem ultrason destekli hem de konvansiyonel ekstraksiyonda artan ekstraksiyon süresi ile toplam fenolik madde de bir artış olduğunu göstermektedir. Ayrıca ultrason destekli ekstraksiyonda ultrason genliğindeki artışın fenolik madde içeriğinin artmasına katkıda bulunduğu ve en iyi toplam fenolik madde ekstraksiyonunun, %100 ultrason genliği kullanımıyla elde edildiği görülmüştür. Buna karşın 50. dakikadan sonra bireysel fenolik bileşiklerde kayıplar yaşandığı tespit edilmiştir. Konvansiyonel ekstraksiyon uzun sürmesine karşılık analiz edilen bileşiklerde belirgin bir bozunma olmadığı için juglon hariç daha yüksek toplam ve bireysel fenolik bileşik değerlerine ulaşılmaktadır. Sonuç olarak konvansiyonel yöntemle alternatif olarak ultrason yönteminin kullanılması daha verimli bir şekilde fenolik madde elde edilmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Kaynakça

- Altemimi, A., Watson D. G., Choudhary, R., Dasari, M. R., & Lightfoot, D. A. (2016). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from peaches and pumpkins. *PLoS ONE*, 11(2), e0148758. doi:10.1371/journal.pone.0148758
- Baltacıoğlu, H., Şahin, E. M., & Karadağ, E. D. (2019). Şeftali posasından ultrason ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleriyle fenolik bileşiklerin eldesi. *Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 8(2), 875-881. doi:10.28948/ngumuh.570250
- Carrera, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2012). Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*, 732, 100-104. doi:10.1016/j.aca.2011.11.032
- Colaric, M., Veberic, R., Solar, A., Hudina, M., & Stampar, F. (2005). Phenolic acids, syringaldehyde, and juglone in fruits of different cultivars of *Juglans regia* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(16), 6390-6396. doi:10.1021/jf050721n
- Cosmulescu, S., Trandafir, I., Achim, G., Botu, M., Baci, A., & Gruia, M. (2010). Phenolics of green husk in mature walnut fruits. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(1), 53-56. doi:10.15835/nbha3814624
- Cosmulescu, S., Trandafir, I., & Nour, V. (2014). Seasonal variation of the main individual phenolics and juglone in walnut (*Juglans regia*) leaves. *Pharmaceutical Biology*, 52, 575-580. doi:10.3109/13880209.2013.853813
- Gajic, I. S., Savic, I., Boskov, I., Žerajić, S., Markovic, I., & Gajic, D. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from black locust (*Robinia Pseudoacaciae*) flowers and comparison with conventional methods. *Antioxidants*, 8(8), 248. doi:10.3390/antiox8080248

- Huang, W., Xue, A., Niu, H., Jia, Z., & Wang, J. (2009). Optimised ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multitest systems in vitro. *Food Chemistry*, 114(3), 1147-1154. doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.079
- İnce, A. E., Şahin, S., & Şümnü, S. G. (2013). Extraction of phenolic compounds from melissa using microwave and ultrasound. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 37(1), 69-75. doi:10.3906/tar-1201-1
- Jakopic, J., Colaric, M., Veberic, R., Hudina, M., Solar, A., & Stampar, F. (2007). How much do cultivar and preparation time influence on phenolics content in walnut liqueur? *Food Chemistry*, 104(1), 100-105. doi:10.1016/j.foodchem.2006.11.008
- Nour, V., Trandafir, I., & Cosmulescu, S. (2016). Optimization of ultrasound-assisted hydroalcoholic extraction of phenolic compounds from walnut leaves using response surface methodology. *Pharmaceutical Biology*, 54(10), 2176-2187. doi:10.3109/13880209.2016.1150303
- Oliveira, I., Sousa, A., Ferreira, I. C. F. R., Bento, A., Estevinho, L., & Pereira, J. A. (2008). Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. *Food and Chemical Toxicology*, 46(7), 2326-2331. doi:10.1016/j.fct.2008.03.017
- Rodrigues, S., & Fernandes F. A. N. (2009). Ultrasound-assisted extraction. *Stewart Postharvest Review*, 5(5), 1-11. doi:10.2212/spr.2009.5.1
- Rosa, R., Tassi, L., Orteca, G., Saladini, M., Villa, C., Veronesi, P., Leonelli, C., & Ferrari, E. (2017). Process intensification by experimental design application to microwave-assisted extraction of phenolic compounds from *Juglans regia* L.. *Food Analytical Methods*, 10, 575-586. doi:10.1007/s12161-016-0624-1
- Rostagno, M. A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2003). Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012(2), 119-128. doi:10.1016/S0021-9673(03)01184-1
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-58.
- Solar, A., Jakopic, J., Miklavc, J., Stampar, F., Veberic, R., & Trdan, S. (2019). Walnut husk fly substantially affects sensory attributes and phenolic contents of the kernels in common walnut. *Scientia Horticulturae*, 247, 17-26. doi:10.1016/j.scienta.2018.11.078
- Stampar, F., Solar, A., Hudina, M., Veberic, R., & Colaric, M. (2006). Traditional walnut liqueur – cocktail of phenolics. *Food Chemistry*, 95(4), 627-631. doi:10.1016/j.foodchem.2005.01.035
- Um, M., Han, T. H., & Lee, J. W. (2018). Ultrasound-assisted extraction and antioxidant activity of phenolic and flavonoid compounds and ascorbic acid from rugosa rose (*Rosa rugosa* Thunb.) fruit. *Food Science and Biotechnology*, 27(2), 375-382. doi:10.1007/s10068-017-0247-3
- Vieira, V., Pereira, C., Pires, T. C. S. P., Calhelha, R. C., Alves, M. J., Ferreira, O., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2019). Phenolic profile, antioxidant and antibacterial properties of *Juglans regia* L. (walnut) leaves from the Northeast of Portugal. *Industrial Crops & Products*, 134, 347-355. doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.04.020
- Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312. doi:10.1016/j.tifs.2005.12.004
- Xu, D. P., Zheng, J., Zhou, Y., Li, Y., Li, S., & Li, H. B. (2017). Ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from the flower of *Limonium sinuatum*: Optimization and comparison with conventional methods. *Food Chemistry*, 217, 552-559. doi:10.1016/j.foodchem.2016.09.013