

## MİKRODALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYON VE IN VITRO SİNDİRİMİN AYÇİÇEK POSASI EKSTRAKTININ FENOLİK İÇERİK VE ANTiOKSİDAN AKTİVİTESİNE ETKİSİ

İnci CERİT\*

Sakarya Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, Sakarya, Türkiye

Geliş / *Received* 20.12.2024; Kabul / *Accepted*: 10.02.2025; Online baskı / *Published online*: 12.02.2025

Cerit, İ. (2025). Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve in vitro sindirimin ayçiçek posası ekstraktının fenolik içerik ve antioksidan aktivitesine etkisi. GIDA (2025) 50 (1) 116-130 doi: 10.15237/gida.GD24119

*Cerit, İ. (2025). Effects of microwave and in vitro digestion on the phenolic content and antioxidant activity of sunflower meal. GIDA (2025) 50 (1) 116-130 doi: 10.15237/gida.GD24119*

### ÖZ

Ayçiçek yağı üretimi sonucu atık ürün olarak açığa çıkan ayçiçeği posası, biyoaktif bileşenler açısından zengin bir hammaddedir. Çalışmanın amacı, mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin ayçiçeği posasından elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde (TFM) içeriği ve antioksidan aktivitesi [2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP)] üzerindeki etkisini incelemektir. Ayrıca, in vitro sindirim süreci sonrasında antioksidan aktivitedeki değişimler belirlenmiştir. En yüksek aktivite, 1:20 katı:çözücü oranı ve 120 saniyelik mikrodalga uygulamasıyla elde edilmiş (TFM: 2500.44 mg GAE/100g; DPPH: 2318.49 mg Trolox/100g; FRAP: 3989.26 mg Trolox/100g) ve fenolik bileşiklerin varlığı ultraviyole-görünür spektroskopisi (UV-VIS) ve Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ile doğrulanmıştır. Simüle edilmiş sindirim sürecinin ardından DPPH değerlerinde bir azalma gözlemlenirken TFM ve FRAP değerlerinin mide aşamasında azaldığı, bağırsak aşamasında ise artış gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma ile, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ayçiçeği posasından fenolik bileşiklerin etkin şekilde elde edilmesini sağlamış ayrıca in vitro sindirim sonrası antioksidan aktivitenin bileşik dinamiklerine bağlı olarak değişim gösterdiğini ortaya koymuştur.

**Anahtar kelimeler:** Ayçiçeği posası, in vitro sindirim, mikrodalga, ekstraksiyon

## THE EFFECT OF MICROWAVE-ASSISTED EXTRACTION AND IN VITRO DIGESTION ON THE PHENOLIC CONTENT AND ANTiOXIDANT ACTIVITY OF SUNFLOWER MEAL EXTRACT

### ABSTRACT

The sunflower meal, a by-product of sunflower oil production, is a raw material rich in bioactive compounds. This study investigates the effect of microwave-assisted extraction on the total phenolic (TPC) content and antioxidant activity [2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and ferric reducing antioxidant power (FRAP)] of extracts from sunflower meal. Changes in antioxidant activity during the in vitro digestion process were also examined. The highest activity was obtained using a 1:20 solid-to-solvent ratio and 120 seconds of microwave application (TPC: 2500.44 mg GAE/100g; DPPH: 2318.49 mg Trolox/100g; FRAP: 3989.26 mg Trolox/100g). Phenolic compounds were confirmed by Ultraviolet-visible (UV-VIS) spectroscopy and Fourier transform infrared (FT-IR)

\* Sorumlu yazar / *Corresponding author*

✉: incicantik@sakarya.edu.tr

☎: (+90) 264 295 5847

İnci Cerit; ORCID no: 0000-0002-3106-8951

analysis. After simulated digestion, DPPH values decreased, while TPC and FRAP values decreased during the gastric phase but increased during the intestinal phase. This study demonstrates the efficiency of microwave-assisted extraction in recovering phenolic compounds from sunflower meal and highlights antioxidant activity changes during in vitro digestion.

**Keywords:** Sunflower meal, in vitro digestion, microwave, extraction

### GİRİŞ

Ayçiçeği, ülkemizde üretimi oldukça yüksek olan ve en fazla ekim alanına sahip yağlı tohum bitkisidir. Ayçiçeği tarımı dünyada en fazla Rusya ve Ukrayna'da yapılmakla birlikte Türkiye üretim açısından 6. sırada yer almaktadır. 2023-2024 yılları arasında üretim miktarı dünyada 55.93 milyon iken Türkiye'de 1.55 milyon olmuştur (Meral, 2019; USDA, 2024). Bitkisel sıvı yağ tüketimimizin ise %84'e yakını ayçiçeğinden karşılanmaktadır (Gül vd., 2016). Tohumdan yağ üretimi sonucu atık ürün olarak ham proteince zengin değerli bir yan ürün olan ayçiçeği posası (küşpesi) açığa çıkmaktadır. Ayçiçek yağı üretiminde pre-pres solvent ekstraksiyon yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem ile hemen hemen yağın tamamı tohumdan ayrılmakta ve daha sonra tohum kurutulmuş olarak depolanmaktadır. Ayçiçeği tohumunun işlenmesi sonucunda; 100 kg tohumdan; yaklaşık 57 kg posa oluşmaktadır (Kocabaş, 2021). Posa, yağ sanayi için atık ürün olarak değerlendirilirken, yüksek protein içeriğiyle nitelikli bir hammadde özelliği taşımaktadır. Kuru madde oranı yaklaşık %90 olan posanın protein oranı %29-32, selüloz oranı %22-26, hemiselüloz oranı %6-12'dir. Bunların yanında, ayçiçeği posasının fenolik bileşen içeriği yaklaşık %4 olup büyük bir çoğunluğunu klorojenik asit, daha sonra ise kafeik asit oluşturmaktadır (Lomascolo vd., 2012; Nedelkov, 2023). Ayçiçeği dışında yeşil kahve ekstraktlarında ve çayda doğal olarak bulunabilen ve fenolik asit bileşiklerinden olan klorojenik asitin antioksidan, anti-alerjik, anti-inflamatuar, anti-mikrobiyal, anti-obezite ve anti-trombotik gibi biyolojik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Naveed vd., 2018). Tüm bu özelliklerinden dolayı ayçiçek posasında yüksek oranda bulunan fenolik bileşenlerin farmasötik, kozmetik veya gıda bileşeni olarak değerlendirilebilmesi sürdürülebilirlik açısından önem taşımaktadır (Náthia-Neves ve Alonso, 2021).

Literatür incelendiğinde, çeşitli kaynaklardan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için birkaç yaygın yöntem bulunduğu görülmektedir. Ancak bir ekstraksiyon yöntemi seçerken kullanılan çözücü, uygulanan sıcaklık, enerji tüketimi, işlem süresi gibi dikkate alınması gereken çeşitli faktörler bulunmaktadır. Günümüzde fonksiyonel bileşenleri izole etmeye yönelik mevcut metodolojiler arasında geleneksel yöntemlerden ziyade yeşil teknolojiler daha fazla tercih edilmektedir (Prado vd., 2020). Geleneksel yöntemler, hedef bileşiklerin ekstrakte edilmesinde etkili olmakla birlikte, fazla miktarda çözücü kullanımı, enerji gereksinimi ve potansiyel olarak tehlikeli atık üretimi gibi zorluklar ortaya çıkarmaktadır. Buna karşın son zamanlarda geliştirilen yeşil teknolojiler enerji tüketimini azaltmakta, çevresel etkiyi azaltarak sürdürülebilirlik hedeflerine ulaşılmasına katkıda bulunmaktadır (Usman vd., 2023). Araştırmalara konu olan yeşil teknolojiler, süperkritik akışkan, ultrasonik destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, enzim destekli ekstraksiyon ve basınçlı sıcak su ekstraksiyonu olarak sıralanabilir (Bitwell vd., 2023). Hepsinin kendi içinde avantajları ve dezavantajları olmakla birlikte mikrodalga ekstraksiyonu, çözücü ve mikrodalgaların kullanımını bir araya getiren modern bir tekniktir. Mikrodalga ekstraksiyonunun prensibi, çözücülerin numuneye difüzyonunu, ardından çözünen maddenin fonksiyonel bölgeden ayrılmasını ve son olarak çözücülere salınmasını içermektedir (Taşkın ve Özbek, 2020). Literatürde, fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda mikrodalga teknolojisinin kullanıldığı çalışmalar bulunmakla birlikte ayçiçeği posasından mikrodalga destekli ekstraksiyonunun yapıldığı çalışma sayısının az olduğu görülmüştür. (Náthia-Neves ve Alonso, 2021). Ayrıca, ayçiçeği posasından ekstrakte edilen biyoaktif bileşenlerin in vitro sindirim analizlerin yapıldığı herhangi bir çalışmaya da rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, bitkisel yağ üretiminde atık olarak elde edilen ayçiçeği posası kullanılarak mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Farklı proses parametreleri (katı:çözücü oranı ve süre) uygulanarak elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteleri (DPPH ve FRAP yöntemleri ile) tespit edilmiştir. Ekstraksiyon yönteminin yapısal değişimlere etkisi Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ve UV-görünür bölge spektrum (UV-VIS) taraması ile belirlenmiştir. Ek olarak in vitro sindirim uygulandıktan sonra toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitelerindeki değişim değerlendirilmiştir.

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### Materyal

Çalışmada kullanılan ayçiçeği posası Kırklareli ili Tarım Kredi Yem San. ve Ticaret A.Ş. firmasından 2024 yılının Ekim ayında fabrika atığı olarak temin edilmiştir. Posaya, kurutma cihazı ile (Atacama Pro, F77000, Tre Spade, Torino, İtalya) 40°C ve 2.0±0.2 m/s hava akış hızında kurutma işlemi uygulanmıştır. Kurutmaya, posanın nem içeriği yaklaşık %5 olana kadar devam edilmiştir. Kurutulmuş posa öğütülerek elenmiş ve partikül boyutu açısından homojen hale (<2.0 mm) getirilmiştir. Posa temini ve kurutma işlemleri Kırklareli Üniversitesi Gıda Mühendisliği Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon işlemi için kullanılan mikrodalga cihazı (Siemens, Almanya) 180 W gücüne ayarlanmıştır. Hacmi 100 mL olan cam bir beherin içerisine 40 mL olacak şekilde çözücü (distile su) konulmuş ve üzerine farklı oranlarda posa (1:10; 1:20; 1:30 g/mL) eklenmiştir. Karışım 10 dakika oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra mikrodalga haznesine yerleştirilmiştir. Her bir örnek 15, 30, 45, 60, 90 ve 120 s boyunca mikrodalgaya maruz bırakılmıştır. İşlem sonunda tüm örneklerin sıcaklıkları bir termometre yardımı ile ölçüldükten sonra örnekler hızlıca soğuk su ile soğutulmuştur. Santrifüj cihazı ile (Hettich, Universal 320-R, Almanya) 13,130× g, 4°C, 10 dk koşullarında uygulanan işlemin ardından üst faz ayrılmış ve

analizlerde kullanılmak amacıyla karanlıkta 4°C'de depolanmıştır.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon sonucunda maksimum toplam fenolik maddenin elde edildiği koşulların aynısı mikrodalga işlemi olmadan uygulanmış ve kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

#### Toplam fenolik madde tayini

Hazırlanan ekstraktların toplam fenolik madde içeriği Wojdyło vd. (2007) yöntemi ile belirlenmiştir. Bunun için gerekli konsantrasyonda seyreltilen ekstrakttan 100 µL alınmış ve üzerine 200 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. Ardından 2 mL distile su eklenmiş ve 3 dakika bekletilmiştir. Sodyum karbonat (%20) çözeltilisinden 1 mL ilave edildikten sonra oda sıcaklığında karanlıkta 1 saat inkübe edilmiştir. Absorbans değerleri 765 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Sonuçlar mg gallik asit eşdeğeri/100 g kuru madde olarak verilmiştir. Hesaplama farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit standart eğrisi kullanılmıştır (R<sup>2</sup>=0.9986).

#### DPPH süpürme aktivitesi analizi

DPPH süpürme aktivitesi tayini, Brand-Williams vd. (1995) yöntemine bazı modifikasyonlar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Bir test tüpüne 50 µL ekstrakt, 50 µL çözücü ve 3 mL DPPH çözeltisi (0.051 mmol/L) eklenmiş ve karışım oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki Trolox çözeltileri kullanılarak bir standart eğri oluşturulmuştur (R<sup>2</sup> = 0.9983). Absorbans değerleri 517 nm'de kaydedilmiş ve sonuçlar mg Trolox eşdeğeri/100 g kuru madde olarak ifade edilmiştir.

#### Ferrik indirgeme antioksidan gücü (FRAP) yöntemi

FRAP tayini, Benzie ve Strain (1996) prosedürüne göre uygulanmıştır. FRAP reaktifi, sırasıyla 10 mmol/L TPTZ, 20 mmol/L FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O ve 300 mmol/L asetat tamponu (pH 3.6) çözeltilerinin 1:1:10 oranında karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Ekstrakt (50 µL) ve çözücü (50 µL) bir test tüpüne aktarılmıştır. Daha sonra, 1.8 mL FRAP reaktifi ve 1.2 mL distile su eklenerek karıştırılmış ve 37°C'de 15 dakika inkübe edilmiştir. Sonuçlar,

Trolox'un standart eğrisine göre hesaplanmış ( $R^2 = 0.9976$ ) ve 100 gram kuru madde başına miligram Trolox eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

### Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) spektroskopisi analizi

Ekstraktların Fourier dönüşümlü kızılötesi (FT-IR) analizleri için öncelikle 50°C'de etüve kurutma işlemi yapılmıştır. Kurutulan örneklerin FT-IR spektroskopisi analizleri, ATR tekniği kullanılarak Perkin Elmer spektrometresi (Massachusetts, ABD) üzerinde Spectrum Two modeli ile gerçekleştirilmiştir. Veriler, Spectrum Yazılımı ile analiz edilmiştir. Spektrumlar, 4000 ile 400  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyu aralığında ve oda sıcaklığında elde edilmiştir.

### Spektrum taraması

Ekstraktların 200 ile 700 nm arasındaki spektrumları, bir UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu UV-1240, ABD) kullanılarak nitel olarak incelenmiştir.

### In vitro sindirim (gastrik ve bağırsak)

Ekstraktların in vitro sindirimi, gastrik ve bağırsak simülasyonu ile ayrı ayrı incelenmiştir. Simüle edilmiş gastrik sıvı (SGF) ve simüle edilmiş bağırsak sıvısı (SIF), U.S. Pharmacopeia (2012) talimatlarına göre hazırlanmıştır.

SGF hazırlığı için sodyum klorür (2.0 g), pepsin (3.2 g) ile karıştırılmıştır. Daha sonra, karışıma 7 mL hidroklorik asit (37%) eklenmiş ve pH 1.2'de tutulacak şekilde hacim saf su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Gastrik sıvıdaki sindirimi simüle etmek için, 1.4 mL SGF, 10 mL'lik bir test tüpünde 200  $\mu\text{L}$  ekstrakt ile karıştırılarak, 37°C'de 80 rpm hızında 120 dakika inkübe edilmiştir. Çözeltinin oda sıcaklığında soğutulmasının ardından santrifüjlenmiş ve ardından 0.2 mol/L sodyum hidroksit çözeltisi eklenerek nötralize edilmiştir.

SIF için monobazik potasyum fosfat (6.8 g), 250 mL saf su içinde çözülmüştür. Bu çözeltiye, 0.2 N sodyum hidroksit (77 mL) ve pankreatin (10 g) eklenmiştir. Karışımın hacmi 1000 mL'ye tamamlanmış ve pH 6.8'de tutulmuştur. Bağırsak sıvısındaki sindirimi simüle etmek için, 2.4 mL

SIF, 10 mL'lik bir test tüpünde 200  $\mu\text{L}$  ekstrakt ile karıştırılmış ve 36.6°C'de, çalkalamadan, 120 dakika inkübe edilmiştir. Çözeltinin oda sıcaklığında soğutulmasının ardından santrifüjlenmiş ve 2 mL ekstrakta 100  $\mu\text{L}$  3 M hidroklorik asit eklenerek pH 1.2'ye düşürülerek enzim aktivitesi durdurulmuştur. 15 dakika sonra, çözeltiye 900  $\mu\text{L}$  0.2 N sodyum hidroksit eklenerek pH 7.0'ye nötralize edilmiştir. Son olarak, hem SGF hem de SIF numuneleri, fenolik içerik ve antioksidan aktivite açısından yukarıda belirtilen yöntemler ile test edilmiştir.

### İstatistiksel analiz

Sonuçlar, SPSS (sürüm 11.5, SPSS Inc., ABD) bilgisayar programı kullanılarak ANOVA ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Ekstraktlar arasındaki farkları belirlemek için %5 anlamlılık düzeyinde Duncan'ın çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. In vitro sindirim analizlerinde, iki örnek arasındaki farkı belirlemek için ise T-testi kullanılmıştır ( $P < 0.05$ ).

## BULGULAR VE TARTIŞMA

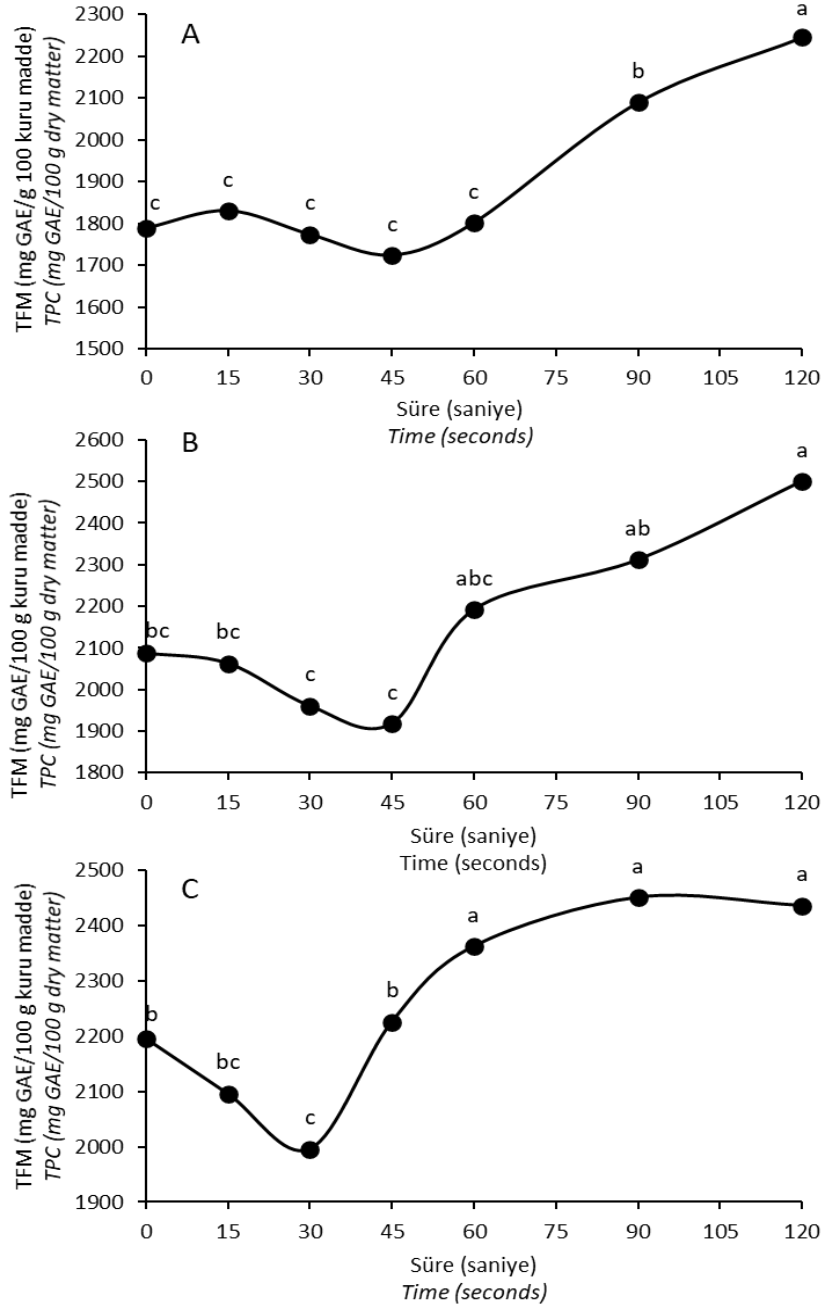
### Toplam fenolik madde içeriği

Ayçiçeği posasından fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, aynı anda iki farklı amaçla uygulanabilmektedir. Birincisi, fenolik bileşenler, gıdalara istenmeyen renk ve tat verdiğinden fenolik bileşenlerden arındırılmış ayçiçeği posası, yüksek protein içeriği ile gıda endüstrisinde değerlendirilme potansiyeline sahiptir. (Alexandrino vd., 2021). Ayrıca, sentetik antioksidanlar yerine ayçiçeği posası ekstraktından elde edilen doğal antioksidanların kullanılması, sürdürülebilir üretim yöntemleri, doğal gıda bileşenleri ve sıfır atık üretimi gibi kavramlarla ilişkilendirilebilmektedir (Wildermuth vd., 2016).

Bu çalışmada, ayçiçek yağı fabrikasından atık olarak temin edilen ayçiçeği posası, fenolik bileşen ekstraksiyonunda hammadde olarak kullanılmıştır. Çalışma iki aşamalı olarak kurgulanmıştır. İlk aşamada 180 W gücünde mikroalga enerjisi kullanılarak 0-120 s aralığında ekstraksiyonlar yapılmış ve ekstraktlara toplam fenolik madde (TFM) ve antioksidan aktivite testleri uygulanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstraktların TFM içerikleri Şekil 1'de

verilmiştir. Mikrodalga uygulanmayan örneklerin TFM miktarı 1:10; 1:20 ve 1:30 konsantrasyonlar için sırasıyla 1788.00, 2087.11 ve 2196.20 mg

GAE/100 g kuru madde olarak belirlenmiştir. Bu değerler literatürde yapılan çalışmalar ile uyum göstermektedir (Zardo vd., 2017).



Şekil 1. Katı madde:çözücü oranı 1:10 (A); 1:20 (B) ve 1:30 (C) olan ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri. Aynı grafikte farklı küçük harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ ).

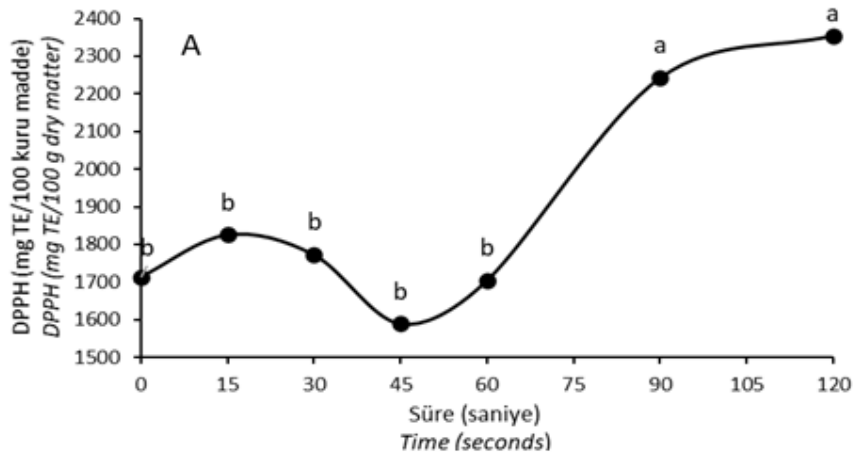
Figure 1. Total phenolic contents of extracts with solid-to-solvent ratios of 1:10 (A), 1:20 (B), and 1:30 (C). Values followed by different different lower case in the same figure are significantly different ( $P < 0.05$ ).

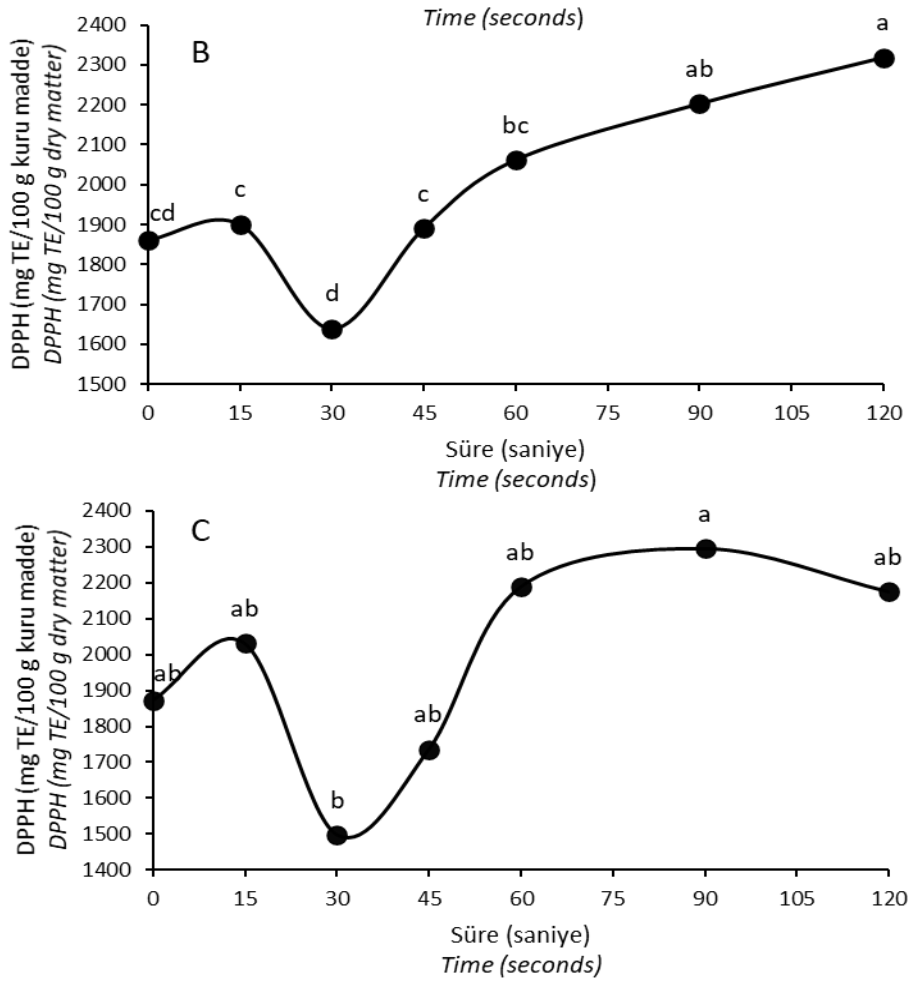
Mikrodalga kullanılan örneklerde TFM miktarının 1723.56 ile 2500.44 mg GAE/100 g kuru madde arasında değiştiği ve en yüksek değer 1:20 konsantrasyon ve 120 s mikrodalga uygulamasında (1:20-120) olduğu tespit edilmiştir. Taha vd. (2012) tarafından yapılan çalışmada, ayçiçeği posasından geleneksel, ultrasonikasyon ve mikrodalga yöntemleriyle fenolik bileşenler ekstrakte edilmiştir. Çözücü olarak en yüksek verimin aseton ile sağlandığı çalışmada, geleneksel yöntemle 1802.76 mg GAE/100 g örnek TFM elde edilirken, bu değer mikrodalga enerjisinin kullanıldığı yöntemde 3093.31 mg GAE/100 g olarak rapor edilmiştir. Bu çalışma ile kıyaslandığında geleneksel yöntemle ekstraksiyon sonuçları TFM içeriği açısından benzer olurken mikrodalga grubundan daha az olduğu görülmektedir. Çalışmamızda çözücü olarak su kullanılması mikrodalga ile ekstraksiyon sonuçlarındaki farklılığın sebebi olarak düşünülmektedir.

#### Antioksidan aktivite

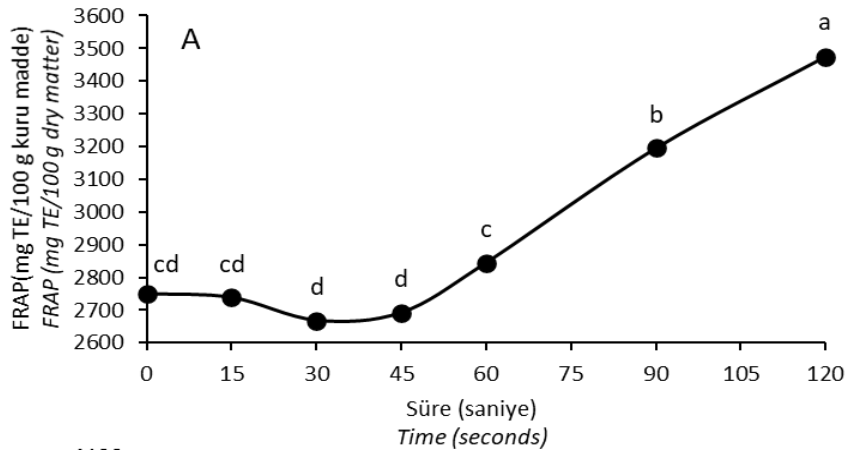
Ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH radikalı süpürme aktivitesi ve FRAP analizi uygulanarak iki farklı yöntemle belirlenmiştir. DPPH analizi sonrasındaki verilere bakıldığında (Şekil 2), TFM analizi ile paralel olarak 30 s ve 45

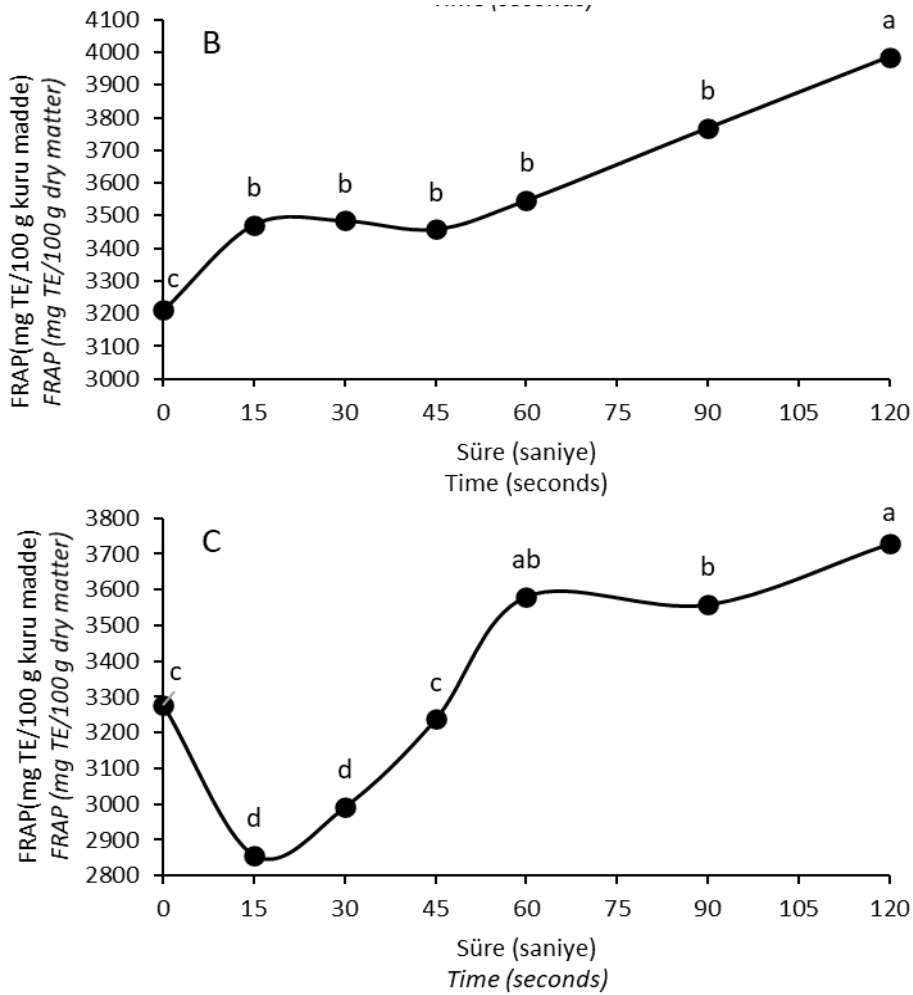
s mikrodalga uygulamalarından sonra antioksidan aktivitelerde bir azalma daha sonrasında ise artış olduğu belirlenmiştir. Bu duruma, başlangıçta mikrodalga enerjisinin hassas fenolik bileşiklerin termal bozunmasına neden olması, ancak ekstraksiyon devam ettikçe, hücre duvarlarının bozulması sonucu bağlı fenolik bileşiklerin serbest bırakılması sebep olmuş olabilir (Hayat vd., 2020). En düşük değer 1498.10 mg Troloks/100 g kuru madde ile 1:30-30 ekstraktında, en yüksek değer ise 2355.47 Troloks/100 g kuru madde ile 1:10-120 ekstraktında olduğu hesaplanmıştır. Yine FRAP sonuçları değerlendirildiğinde (Şekil 3), en yüksek antioksidan aktivitenin 1:20-120 (3986.26 mg Troloks/100 g kuru madde) uygulaması sonucu olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ). Ek olarak, TFM ve DPPH radikalı süpürme aktivitesi sonuçları arasında korelasyon yapıldığında, korelasyon katsayısının oldukça yüksek olduğu ( $r=0.7806$ ;  $P=0.0005$ ) dikkat çekmektedir. TFM ve FRAP sonuçları arasındaki korelasyon katsayısının da  $r=0.8484$ ;  $P=0.0001$  değeri ile yine önemli derecede yüksek olduğu görülmüştür. Ayçiçeği posasında antioksidan aktiviteye katkıda bulunan en önemli bileşik grubu fenolik maddeler olduğundan sonuçlar arasında paralellik oluşması beklenen bir sonuçtur (Karamac vd., 2012).





Şekil 2. Katı madde:çözücü oranı 1:10 (A); 1:20 (B) ve 1:30 (C) olan ekstraktların DPPH süpürme aktiviteleri. Aynı grafikte farklı küçük harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P<0.05$ ).  
 Figure 2. DPPH scavenging activities of extracts with solid-to-solvent ratios of 1:10 (A), 1:20 (B), and 1:30 (C).  
 Values followed by different lower case in the same figure are significantly different ( $P<0.05$ ).





Şekil 3. Katı madde:çözücü oranı 1:10 (A); 1:20 (B) ve 1:30 (C) olan ekstraktların FRAP aktiviteleri.

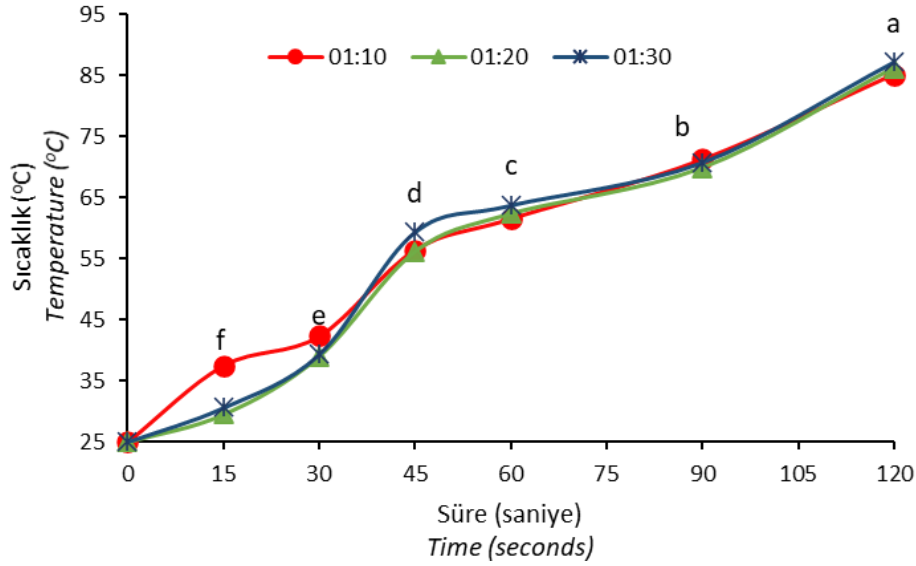
Aynı grafikte farklı küçük harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P < 0.05$ ).

Figure 3. FRAP activities of extracts with solid-to-solvent ratios of 1:10 (A), 1:20 (B), and 1:30 (C). Values followed by different lower case in the same figure are significantly different ( $P < 0.05$ ).

Ekstraktların proses süresi boyunca sıcaklık değişimleri Şekil 4'de verilmiştir. Konsantrasyondan bağımsız olarak mikrodalga uygulama süresi arttıkça sıcaklığın arttığı ve 120 s sonunda 87°C civarına ulaştığı belirlenmiştir. Mikrodalga süresinin artması, hücrelerin hasar görmesine yol açarak fenolik bileşiklerinin ekstraksiyon çözeltisine geçişini kolaylaştırmaktadır (Aquino vd., 2023). Ancak, uygulanan mikrodalga gücü ve sürenin optimize edilmesi önem taşımaktadır. Náthia-Neves ve Alonso (2021) tarafından yapılan çalışmada, mikrodalga gücünün 100 W'tan 200 W'a

yükseltilmesinin, ayçiçeği posasından fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimini artırdığı, ancak daha yüksek güç seviyelerinin verimi düşürdüğü tespit edilmiştir. Mikrodalga uygulamasında 30 saniyelik bir süre, en yüksek verimi elde etmek için yeterli bulunmuştur. Çalışmamızda farklı olarak, süre arttıkça (120 s) ekstrakt veriminin de yükseldiği gözlemlenmiştir. Ancak, daha uzun uygulama süreleri hem sıcaklığın aşırı yükselmesine hem de enerji tüketiminin artmasına neden olacağından denenmemiştir.





Şekil 4. Ekstraktların proses süresi boyunca sıcaklık değişimleri. Aynı grafikte farklı küçük harflerle belirtilen değerler istatistiksel olarak farklıdır ( $P<0.05$ ).

Figure 4. Temperature variations of the extracts during the process duration. Values followed by different lowercase in the same figure are significantly different ( $P<0.05$ ).

#### Fenolik bileşiklerin UV-VIS spektroskopisi ve FT-IR ile kalitatif belirlenmesi

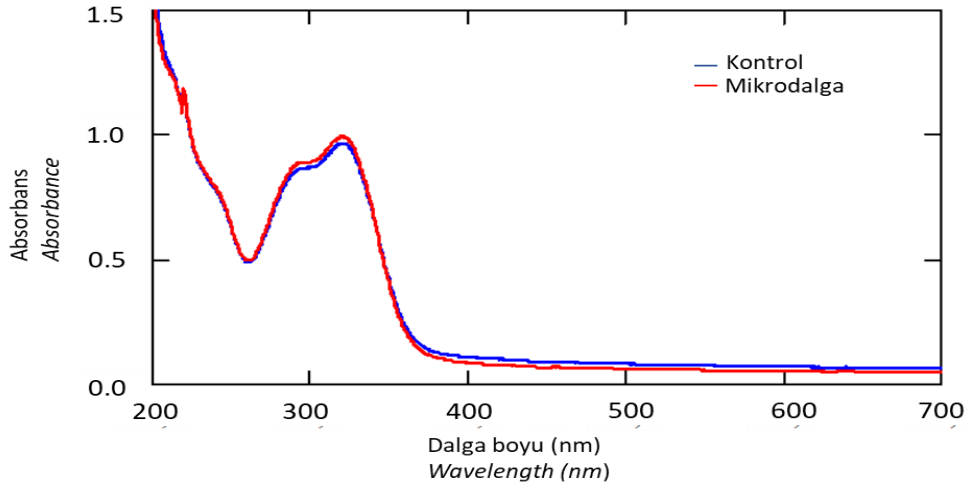
En yüksek biyoaktif bileşen içeren ekstrakt 1:20 konsantrasyonda 120 s mikrodalga uygulaması sonrası olduğundan karakterizasyon ve in vitro sindirim analizleri için bu koşullar seçilmiştir. Ayrıca, aynı konsantrasyonda mikrodalga uygulanmayan ekstrakt, karşılaştırma yapmak amacıyla kullanılmıştır. Ekstraktların karakterizasyon özelliklerini belirlemek için UV-VIS absorpsiyon spektrumları ve FT-IR spektrumları incelenmiştir. UV-VIS absorpsiyon spektrumları, spesifik absorpsiyon dalga boylarını belirlemek amacıyla 200-700 nm aralığında analiz edilmiştir (Şekil 5). 400 nm üzerindeki dalga boylarında herhangi bir absorpsiyon gözlemlenmezken 322 ve 295 nm dalga boyunda iki pikin maksimum noktası tespit edilmiştir. Her iki örneğin de benzer piklere sahip olduğu belirlenmiştir. Ayçiçeği posasında bulunan en baskın fenolik bileşenin klorojenik asit olduğu bilinmektedir (Wanjari ve Waghmare, 2015). Klorojenik asitin UV-VIS spektroskopisiyle belirlendiği bir çalışmada, 324 nm'deki pikin, ağırlıklı olarak  $\pi\pi^*$  karakteri sergilemekte ve elektron yoğunluğunun benzen halkası ile karbon zincirinde lokalize olduğu rapor edilmiştir

(Cornard vd., 2008). Çalışmamızdaki 322 nm'deki pikin klorojenik asit pikine karşılık geldiği düşünülmektedir. Ayrıca, fenolik ve flavonoid bileşiklerin, aromatik maddelerdeki  $n-\pi^*$  elektronik geçiş ve kromoforlar nedeniyle 200-350 nm arasında UV ışığını absorbe ettiği bilinmektedir (Rafı vd., 2018; Song vd., 2020, Avcı vd., 2023).

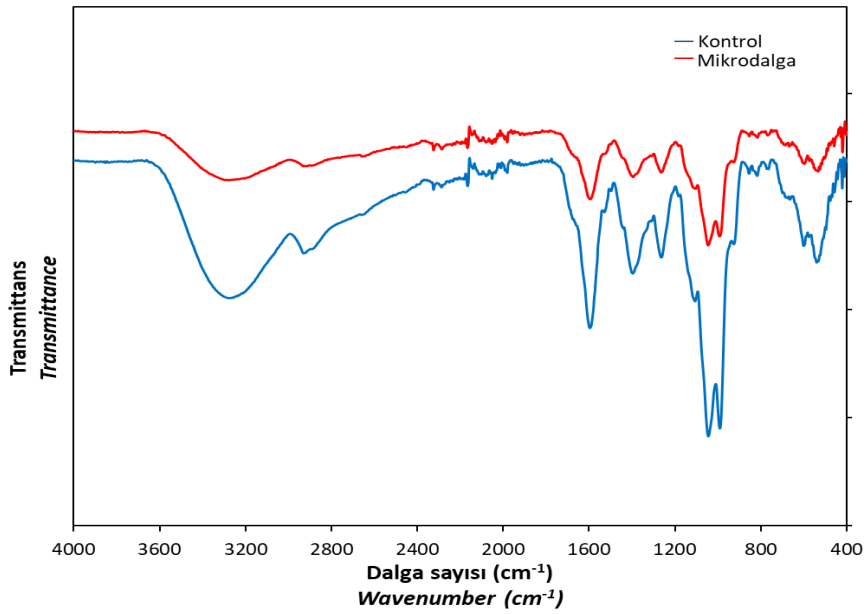
FT-IR spektrometrisi, fonksiyonel gruplar hakkında nitel bilgiler sağlamak için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Mikrodalga ile elde edilen ekstrakt ile mikrodalga uygulanmayan kontrol grubunun kurutma işlemi sonrasındaki FT-IR spektrumları Şekil 6'da gösterilmiştir. Her iki örnekte de aynı pik şekli tespit edildiğinden bu durumun mikrodalga işlemi sırasında hammadde kimyasal yapısında, yeni bağ oluşumu veya bozunma gibi dikkate değer değişikliklerin meydana gelmediğini işaret etmektedir. Spektrumda görülen  $3300\text{ cm}^{-1}$  civarındaki geniş pik, fenollerdeki -OH gruplarının gerilme titreşimlerini göstermektedir (Alara vd., 2018). Örneklerde görülen  $2922\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, aromatik halkaların CH gerilme titreşimleri ile ilişkilendirilmektedir (Jain vd., 2016; Avcı vd., 2023).  $1595\text{ cm}^{-1}$  dalga sayısındaki fenil halkası

gerilmesi, ekstraktların klorojenik asit içeriğinden kaynaklı olduğunu düşündürmektedir (Monje vd., 2018). Yine  $1393\text{ cm}^{-1}$ 'deki titreşimsel absorpsiyon bandı, metil grubunun salınımından dolayı olabilir (Jain vd., 2016).  $1260\text{ cm}^{-1}$  ve  $1043\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler, CO grubunun gerilme titreşimlerinin varlığını ortaya koymuş olup eterler, karboksilik asitler ve alkolik bileşiklerin varlığını düşündürmektedir (Agatonovic-Kustrin

vd., 2021; Náthia-Neves ve Alonso, 2021).  $987\text{ cm}^{-1}$  yer alan pikler, aromatik halkalarda bulunan C-H bağlarının açılma deformasyonuna bağlanmıştır (Batista vd., 2016). Yukarıdaki bilgiler göz önüne alındığında, mikrodalga uygulaması fenolik bileşiklerin yapısında kontrol grubuna göre değişiklik oluşturmamakla birlikte fonksiyonel gruplar ve kimyasal bağlar ile fenolik bileşiklerin varlığı kanıtlanmıştır.



Şekil 5. Ekstraktların UV-VIS spektrumları  
Figure 5. UV-VIS absorption spectra of extracts



Şekil 6. Ekstraktların FT-IR spektrumları  
Figure 6. FT-IR spectra of extracts

**In vitro sindirim**

Gıdaların tüketimiyle vücuda alınan fenolik bileşikler gıda matrisinden doğal formlarında sindirim sistemine bırakılmaktadır. Mide ve bağırsaktaki farklı pH seviyeleri nedeniyle parçalanabilmekte ve biyotransformasyona uğrayarak kan dolaşımında veya idrarda bulunan çeşitli metabolitlere dönüşebilmektedir. Bir bileşiğin TFM ve antioksidan aktivitesi, simüle edilmiş mide ve bağırsak sindirimi sonrasında değişiklik gösterebilmektedir (Jakobek vd., 2023). Bu çalışmada, ayçiçeği posasından mikrodalga ve kontrol grubundan elde edilen ekstraktların simüle edilmiş mide ve bağırsak sindirimi sonrası TFM içerikleri Çizelge 1’de verilmiştir. Sindirim öncesinde kontrol ve mikrodalga örneklerinin TFM içerikleri sırasıyla 2087.11 ve 2500.44 mg/100 g örnek iken mide sindirimi sonrasında azalma görülmüştür. Ancak bağırsak sindirimi sonrasında TFM içeriklerinin 8868.00 ve 9471.88 mg/100 g’a önemli oranda yükseldiği belirlenmiştir ( $P<0.05$ ). Benzer olarak örneklerin antioksidan aktivitesi FRAP analizi ile değerlendirildiğinde, mide sonrası azalma ve bağırsak sonrası artış tespit edilmiştir. DPPH radikal süpürme aktivitesi ise farklı bir eğilim göstermektedir. Kontrol ve mikrodalga ekstraktlarının DPPH değerleri sırasıyla sindirim öncesi 1860.63 ve 2318.49 mg/100 g, mide

sonrası 699.17 ve 789.61 mg/100 g, bağırsak sonrası 799.17 ve 1326.35 mg/100 g olarak saptanmıştır. Jara-Palacios vd. (2018) tarafından yürütülen çalışmada, farklı beyaz şarap üretim yan ürünlerinin fenolik bileşenleri ve antioksidan aktiviteleri üzerine yapılan in vitro gastrointestinal sindirim analizlerinde, sindirilmemiş örneklerden bağırsak sindirimine kadar TFM seviyesinin azaldığı bildirilmiştir. Bu bulgular mevcut çalışmanın sonuçları ile uyum göstermemektedir. Fenolikler, pH değişimlerine karşı oldukça hassastır ve bu nedenle, sindirim sonrası TFM’deki farklı değişiklikler, test edilen ortam koşullarına bağlı olarak gıda matrisinde bulunan her bir fenolik bileşiğin stabilitesine bağlanabilir (Pavan vd., 2014). Jayawardena vd. (2015) bazı yenilebilir bitkilerden elde edilen ekstraktların özellikle ORAC ve FRAP analizleri ile ölçüldüğünde, bağırsak fazı sonrası önemli ölçüde artan antioksidan aktivite sergilediğini göstermiştir. Asidik ortamdan alkali ortama geçiş, fenolik bileşiklerin aromatik halkalarındaki hidroksil gruplarının deprotonasyonuna neden olarak antioksidan aktiviteyi artırabilmektedir. Ayrıca sonuçlar, çalışılan ekstrakta ve antioksidan aktivite yöntemine bağlı olarak da değişebilmektedir (Bouayed vd., 2011; Gonçalves vd., 2019).

Çizelge 1. Sindirim öncesi ve sonrası ekstraktların TFM içerikleri  
Table 1. TPC of extracts before and after digestion

	Toplam fenolik madde (mg GAE/100 g kuru madde) Total phenolic content (mg GAE/100 g dry matter)		
	Sindirim öncesi <i>Before Digestion</i>	Mide sonrası <i>After gastric digestion</i>	Bağırsak sonrası <i>After intestinal digestion</i>
Kontrol <i>Control</i>	2087.11 ± 56.60 <sup>bB</sup>	2008.80 ± 125.42 <sup>bB</sup>	8868.00 ± 973.75 <sup>bA</sup>
Mikrodalga <i>Microwave</i>	2500.44 ± 112.02 <sup>aB</sup>	2232.89 ± 67.95 <sup>aB</sup>	9471.88 ± 506.90 <sup>aA</sup>

Satır boyunca farklı büyük harfler, sindirim öncesi, mide sonrası ve bağırsak sonrası değerler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir. Sütun boyunca farklı küçük harfler, kontrol ve mikrodalga arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ ).

*Different uppercase across rows indicate significant differences among before, after gastric, and after intestinal digestion values. Different lowercase within a column indicate significant differences between control and microwave treatments ( $P<0.05$ ).*

## Mikrodalga ve sindirimin ayçiçek posası ekstraktı biyoaktivitesine etkisi

Çizelge 2. Sindirim öncesi ve sonrası ekstraktların antioksidan aktiviteleri  
Table 2. Antioxidant activities of extracts before and after digestion

	DPPH radikali süpürme aktivitesi (mg Troloks/100 g kuru madde) DPPH scavenging activity (mg Trolox/100 g dry matter)		
	Sindirim öncesi <i>Before Digestion</i>	Mide sonrası <i>After gastric digestion</i>	Bağırsak sonrası <i>After intestinal digestion</i>
Kontrol <i>Control</i>	1860.63 ± 130.14 <sup>bA</sup>	699.17 ± 13.83 <sup>bC</sup>	799.17 ± 45.84 <sup>bB</sup>
Mikrodalga <i>Microwave</i>	2318.49 ± 149.43 <sup>aA</sup>	789.61 ± 30.51 <sup>aC</sup>	1326.35 ± 80.86 <sup>aB</sup>

	FRAP aktivitesi (mg Troloks/100 g kuru madde) FRAP activity (mg Trolox/100 g dry matter)		
	Sindirim öncesi <i>Before Digestion</i>	Mide sonrası <i>After gastric digestion</i>	Bağırsak sonrası <i>After intestinal digestion</i>
Kontrol <i>Control</i>	3210.75 ± 91.29 <sup>bB</sup>	1215.67 ± 76.79 <sup>aC</sup>	5239.09 ± 596.17 <sup>bA</sup>
Mikrodalga <i>Microwave</i>	3986.26 ± 29.53 <sup>aB</sup>	1291.18 ± 41.60 <sup>aC</sup>	5608.21 ± 310.35 <sup>aA</sup>

Satır boyunca farklı büyük harfler, sindirim öncesi, mide sonrası ve bağırsak sonrası değerler arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir. Sütun boyunca farklı küçük harfler, kontrol ve mikrodalga arasında anlamlı farklılık olduğunu göstermektedir ( $P<0.05$ ).

*Different uppercase across rows indicate significant differences among before, after gastric, and after intestinal digestion values. Different lowercase within a column indicate significant differences between control and microwave treatments ( $P<0.05$ ).*

### SONUÇ

Bu çalışmada, endüstriyel atık olan ayçiçek posası, biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda hammadde olarak kullanılırken mikrodalga uygulamasının toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteye etkisi incelenmiştir. Ayrıca, in vitro sindirim sonucunda antioksidan aktivitede oluşan değişiklikler değerlendirilmiştir. Sonuçlara göre, en yüksek antioksidan aktivite gösteren ekstrakt 1:20 hammadde:çözücü konsantrasyonunda 120 s mikrodalga uygulaması olduğu belirlenmiştir. Bahsi geçen ekstrakt ile mikrodalga uygulanmayan ekstraktın yapısal özellikleri UV-VIS spektrum ve FT-IR analizleri ile incelendiğinde, fenolik bileşiklerin varlığı kanıtlanırken mikrodalga uygulamasının fonksiyonel gruplar ve kimyasal bağlar ile değişiklik yaratmadığı tespit edilmiştir. Son olarak simüle edilmiş sindirim sonrası DPPH değerleri azalırken, TFM içerikleri ve FRAP değerleri mide sonrası azalma, bağırsak sonrası ise artış göstermiştir. Bu bulgular, ayçiçeği posasının

sürdürülebilir bir şekilde değerlendirilmesine ve mikrodalga teknolojisinin etkili bir ekstraksiyon aracı olarak kullanılmasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca, sindirim sonrası biyoaktif bileşiklerin stabilitesine dair bilgiler sunmaktadır.

### TEŞEKKÜR

Hammadde kaynağının temin edilmesi, kurutulup öğütülmesi aşamalarında yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Recep Güneş'e, FT-IR analizlerinde yardımını esirgemeyen Dr. Arş. Gör. Yavuz Derin'e, UV-VIS spektrum analizinde yardımcı olan Prof. Dr. Ayşe Avcı'ya teşekkürlerimi sunarım.

### ÇIKAR ÇATIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarın başka kurum ve kuruluşlarla çıkar ilgisi yoktur.

### KAYNAKLAR

Agatonovic-Kustrin, S., Gegechkori, V., Petrovich, D. S., Ilinichna, K. T., Morton, D. W.

- (2021). HPTLC and FTIR fingerprinting of olive leaves extracts and ATR-FTIR characterisation of major flavonoids and polyphenolics. *Molecules*, 26(22): 6892, doi: 10.3390/molecules26226892
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., Azhari, N. H. (2018). *Vernonia cinerea* leaves as the source of phenolic compounds, antioxidants, and anti-diabetic activity using microwave-assisted extraction technique. *Industrial Crops and Products*, 122: 533-544, doi:10.1016/j.indcrop.2018.06.034
- Alexandrino, T. D., da Silva, M. G., Ferrari, R. A., Ruiz, A. L. T. G., Duarte, R. M. T., Simabuco, F. M., Pacheco, M. T. B. (2021). Evaluation of some in vitro bioactivities of sunflower phenolic compounds. *Current Research in Food Science*, 4: 662-669, doi:10.1016/j.crfs.2021.09.007
- Aquino, G., Basilicata, M. G., Crescenzi, C., Vestuto, V., Salviati, E., Cerrato, M., Campiglia, P. (2023). Optimization of microwave-assisted extraction of antioxidant compounds from spring onion leaves using Box–Behnken design. *Scientific Reports*, 13(1): 14923, doi:10.1038/s41598-023-42303-x
- Avcı, A., Cerit, İ., Hamk, M., Keskin, S. Y. (2023). Improved extraction of bioactive compounds from the pollens of *Typha domingensis* with sequential conventional and ultrasound treatment. *GIDA*, 48(2): 256-270, doi:10.15237/gida.GD22129
- Batista, N. N., de Andrade, D. P., Ramos, C. L., Dias, D. R., Schwan, R. F. (2016). Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Research International*, 90: 313-319. doi:10.1016/j.foodres.2016.10.028
- Benzie, I. F. F., Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1): 70–76. doi:10.1006/abio.1996.0292
- Bitwell, C., Indra, S. S., Luke, C., Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19: e01585. doi:10.1016/j.sciaf.2023.e01585
- Bouayed, J., Hoffmann, L., Bohn, T. (2011). Total phenolics, flavonoids, anthocyanins and antioxidant activity following simulated gastrointestinal digestion and dialysis of apple varieties: Bioaccessibility and potential uptake. *Food Chemistry*, 128(1): 14-21. doi:10.1016/j.foodchem.2011.02.052
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1): 25–30. doi:10.1016/S0023-6438(95)80008-5
- Cornard, J. P., Lapouge, C., Dangleterre, L., Allet-Bodelot, C. (2008). Complex of lead (II) by chlorogenic acid: Experimental and theoretical study. *The Journal of Physical Chemistry A*, 112(50):12475-12484. doi:10.1021/jp805463p
- Gonçalves, S., Moreira, E., Andrade, P. B., Valentão, P., Romano, A. (2019). Effect of in vitro gastrointestinal digestion on the total phenolic contents and antioxidant activity of wild Mediterranean edible plant extracts. *European Food Research and Technology*, 245: 753-762. doi:10.1007/s00217-018-3197-y
- Gül, V., Öztürk, E., Polat, T. (2016). Importance of sunflower to overcome deficiency of vegetable oil in Turkey. *Alinteri Journal of Agriculture Science*, 30(1): 70-76, ISSN:1307-3311
- Hayat, K., Zhang, X., Qamar, S., Hussain, A., Tahir, M. U., Hussain, S. (2020). Microwave heating as a tool to enhance antioxidant activity and release soluble conjugates from Feutrell's Early (citrus mandarin cultivar) peels. *Journal of Food Processing and Preservation*, 44(8) e14574 doi: 10.1111/jfpp.14574
- Jain, P. K., Soni, A., Jain, P., Bhawsar, J. (2016). Phytochemical analysis of *Mentha spicata* plant extract using UV-VIS, FTIR and GC/MS technique. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8(2): 1-6, ISSN: 0975-7384
- Jakobek, L., Ištuk, J., Barron, A. R., Matic, P. (2023). Bioactive phenolic compounds from apples during simulated in vitro gastrointestinal digestion: Kinetics of their release. *Applied Sciences*, 13(14): 8434, doi:10.3390/app13148434

- Jara-Palacios, M. J., Gonçalves, S., Hernanz, D., Heredia, F. J., Romano, A. (2018). Effects of in vitro gastrointestinal digestion on phenolic compounds and antioxidant activity of different white winemaking byproducts extracts. *Food Research International*, 109: 433-439, doi:10.1016/j.foodres.2018.04.060
- Jayawardena, N., Watawana, M. I., Waisundara, V. Y. (2015). Evaluation of the total antioxidant capacity, polyphenol contents and starch hydrolase inhibitory activity of ten edible plants in an in vitro model of digestion. *Plant Foods For Human Nutrition*, 70: 71-76, doi:10.1016/j.crfs.2021.09.007
- Karamać, M., Kosińska, A., Estrella, I., Hernández, T., Dueñas, M. (2012). Antioxidant activity of phenolic compounds identified in sunflower seeds. *European Food Research and Technology*, 235: 221-230, doi:10.1007/s00217-012-1751-6
- Kocabaş, T. (2021). Trakya Bölgesi'nde üretilen ayçiçeği küspelerinin kimyasal kalitesinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Edirne, Türkiye.
- Lomascolo, A., Uzan-Boukhris, E., Sigoillot, J. C., Fine, F. (2012). Rapeseed and sunflower meal: A review on biotechnology status and challenges. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 95(5): 1105-1114, doi:10.1007/s00253-012-4250-6
- Meral, Ü. B. (2019). Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.) bitkisinin önemi ve üretimine genel bir bakış. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2(2): 58-71, doi:10.38001/ijlsb.5358897
- Monje, A. F. B., Parrado, L. X., Gutiérrez-Guzmán, N. (2018). ATR-FTIR for discrimination of espresso and Americano coffee pods. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(6): e13572.
- Nedelkov, K. V. (2023). A new approach for processing and use of sunflower meal. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 29(2): 384-389.
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 97: 67-74, doi:10.1016/j.biopha.2017.10.064
- Náthia-Neves, G., Alonso, E. (2021). Valorization of sunflower by-product using microwave-assisted extraction to obtain a rich protein flour: Recovery of chlorogenic acid, phenolic content, and antioxidant capacity. *Food and Bioprocess Technology*, 125: 57-67, doi:10.1016/j.fbp.2020.10.008
- Pavan, V., Sancho, R. A. S., Pastore, G. M. (2014). The effect of in vitro digestion on the antioxidant activity of fruit extracts (*Carica papaya*, *Artocarpus heterophyllus*, and *Annona marcgravii*). *LWT-Food Science and Technology*, 59(2): 1247-1251, doi:10.1016/j.lwt.2014.05.040
- Prado, J. M., Veggi, P. C., Náthia-Neves, G., Meireles, M. A. A. (2020). Extraction methods for obtaining natural blue colorants. *Current Analytical Chemistry*, 16(5): 504-532, doi:10.2174/1573411014666181115125740
- Rafi, M., Jannah, R., Heryanto, R., Kautsar, A. (2018). UV-Vis spectroscopy and chemometrics as a tool for identification and discrimination of four *Curcuma* species. *International Food Research Journal*, 25(2): 643-648.
- Song, X. C., Canellas, E., Asensio, E., Nerin, C. (2020). Predicting the antioxidant capacity and total phenolic content of bearberry leaves by data fusion of UV-Vis spectroscopy and UHPLC/QTOF-MS. *Talanta*, 213: 120831, doi:10.1016/j.talanta.2020.120831
- Taha, F. S., Mohamed, G. F., Mohamed, S. H., Mohamed, S. S., Kamil, M. M. (2011). Optimization of the extraction of total phenolic compounds from sunflower meal and evaluation of the bioactivities of chosen extracts. *Journal of Food Science*, 76(6): 784-791, doi:10.3923/ajft.2011.1002.1020
- Taşkın, B., Aksoylu Özbek, Z. (2020). Optimisation of microwave effect on bioactives contents and colour attributes of aqueous green tea extracts by central composite design. *Food Measure*, 14: 2240-2252, doi:10.1007/s11694-020-00471-8

- Usman, M., Nakagawa, M., Cheng, S. (2023). Emerging trends in green extraction techniques for bioactive natural products. *Processes*, 11(12): 3444. doi:10.3390/pr11123444
- U.S. Department of Agriculture. <https://fas.usda.gov/data/production/commodity/2224000>
- U.S. Pharmacopeia. Test Solutions. 2012. <http://www.pharmacopeia.cn&gt;>
- Wanjari, N. W., Jyotsna Waghmare, J. W. (2015). Phenolic and antioxidant potential of sunflower meal. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 66(6): 708–713.
- Wildermuth, S. R., Young, E. E., Were, L. M. (2016). Chlorogenic acid oxidation and its reaction with sunflower proteins to form green-colored complexes. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(5): 829–843, doi:10.1111/1541-4337.12213
- Wojdyło, A., Oszmiański, J., Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105(3): 940–94, doi:10.1016/j.foodchem.2007.04.038
- Zardo, I., de Espíndola Sobczyk, A., Marczak, L. D. F., et al. (2019). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from sunflower seed cake using response surface methodology. *Waste and Biomass Valorization*, 10(1): 33–44, doi:10.1007/s12649-017-0038-3