

FENOLİK BİLEŞİKLER, EKSTRAKSİYON METOTLARI VE ANALİZ YÖNTEMLERİ

Eylem Atak¹, Mehmet Emin Uslu^{1*}

ÖZET

Doğada bitkilerin savunma mekanizması olarak ürettiği 30.000'den fazla fenolik bileşik bulunmaktadır. Bu fenolik bileşikler sahip oldukları aromatik halkaların yapısına, sayısına, -OH grubunun yerine ve sayısına, diğer organik bileşiklerle yaptıkları bağlara göre farklılıklar gösterirler. Bu fenolik bileşiklerin 5.000-10.000 kadarını günlük olarak besinlerden almaktayız. Yapılan araştırmalar fenolik bileşiklerin antienflamatuvar, antidiyabetik, antialerjik, antimikrobiyal, antiviral, antipatojenik ve antitrombotik olmak gibi sağlık üzerinde birçok yararının olduğunu bize göstermiştir. Fenolik bileşikleri endüstride veya araştırmalarda kullanmak için öncelikle bitkilerden ekstrakte edilmesi gerekir. Birçok ekstraksiyon yöntemi vardır. Bu yöntemler fenolik maddenin yapısına göre değişiklik gösterir. Ekstraksiyon işlemi etanol, metanol, aseton, etil ester gibi çözücüler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Her bitki farklı miktarlarda fenolik bileşik üretir. Farklı bitkilerdeki total fenolik bileşikleri tanımlamak ve miktarlarını tayin etmek için çeşitli analiz yöntemleri kullanılmaktadır.

Anahtar Sözcükler: Fenolik bileşikler, Ekstraksiyon metotları, Analiz yöntemleri

ABSTRACT

There are more than 30.000 phenolic compounds produced by plants in the nature as a defense mechanism. These phenolic compounds have differences according to amount or structure of their aromatic rings, number of -OH groups, their location and their linkages with other organic compounds. We take 5.000-10.000 of these phenolic compounds daily from foods. Research has shown that phenolic compounds have many health benefits, including anti-inflammatory, antidiabetic, antiallergic, antimicrobial, antiviral, antipathogenic and antithrombotic. Phenolic compounds must first be extracted from plants for use in industry or research. There are many extraction methods. These methods vary depending on the nature of the phenolic material. Extraction is carried out using solvents such as ethanol, methanol, acetone, ethyl ester. Each plant produces phenolic compounds in different amounts. Various analytical methods are used to identify and quantify total phenolic compounds in different plants.

Keywords: Phenolic compounds, Extraction methods, Analyze methods

¹ Manisa Celal Bayar Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, Manisa.

* Öğr. Gör. Dr., emin.uslu@cbu.edu.tr, yazışmaların yapılacağı yazar.

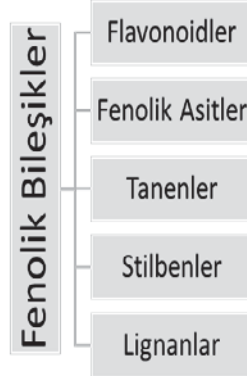
1. GİRİŞ

Fenolik bileşikler bir veya birden fazla hidroksil grubu bağlanmış benzen halkasına ve fonksiyonel gruba sahip, başlıca kaynağı olan bitkilerin sekonder metabolit olarak ürettiği bileşiklerdir. Doğadaki bütün bitkiler korunmak amaçlı birçok fenolik bileşiği farklı nitelik ve konsantrasyonda üretirler (Atak ve ark,2017). Miktarları bitkilere göre farklılık gösterebilen bu bileşikler, bitkilerde en bol bulunan sekonder metabolitlerdir (Dai ve Mumper,2010). Günümüzde araştırmalar bize 5000'den fazla fenolik bileşiğin yapısının tanımlandığını göstermektedir (Nizamlioğlu ve Nas, 2010). Bitkiler fenolik bileşikleri yoğun stres altında korunma amaçlı üretmektedir. Bununla birlikte fenolik bileşiklerin, sebzelerin/meyvelerin de dokusunda bulunup tat ve renk verme özellikleri de vardır (Atak ve ark,2017).

Canlılar üzerindeki sağlık yararları nedeniyle polifenollerin araştırılması, farmasötik ve gıda endüstrileri tarafından büyük ilgi görmüştür (Fang ve Bhandari,2010). Fenolik bileşikler sebzelerde, meyvelerde, tahıllarda, baklagillerde ve çay, kahve, bira, şarap, vb. gibi bitki kaynaklı içeceklerde bulunurlar (Dai ve Mumper,2010). Fenolik bileşikler insan sağlığında antidiyabetik, antienflamatuar, antialerjik, antimikrobiyal, antiviral, antipatojenik ve antitrombotik etki gösterir (Manach ve ark.,2004).

2. FENOLİK BİLEŞİKLERİN KİMYASAL YAPILARI

Fenolik bileşikler yapısal unsurlara ve sahip oldukları halka yapısına göre isim alırlar. Figür 1' de gösterildiği gibi polifenoller beş ana gruba ayrılırlar(Kolaç ve ark.,2017).

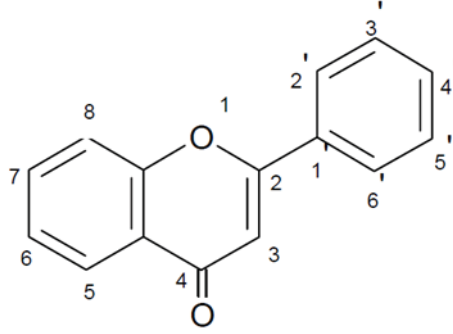


Figür 1: Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

2.1. Flavonoidler

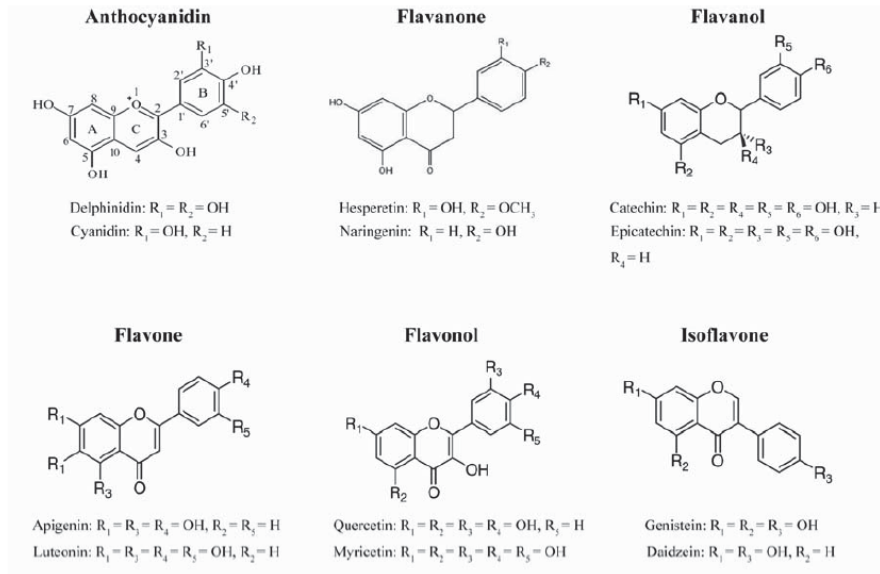
Polifenollerin en büyük grubunu oluştururlar. Figür 2' de gösterildiği gibi oksijen içeren bir piren halkası ile iki benzen halkasının bağlanmasıyla oluşan bu polifenoller bitkilerde genellikle glikozit formları halinde bulunurlar. Temel kaynakları meyve/sebze olmakla birlikte, kahve çekirdeğinde, baharatlara ve soya ürünlerinde bulunur (Güven ve ark,2010). Bitkilerin sekonder metabolitleri olan flavonoidler aminoasitler, karbonhidratlar gibi birincil metabolitlerden türetilirler. Düşük molekül ağırlığına sahip bu polifenoller bitkilerde kırmızı, yeşil, turuncu pigmentlerden sorumlu yapılardır. Epidemiyolojik, *in vivo*, *in vitro* çalışmalarla insan üzerinde etkileri kanıtlanan flavonoidlerin en etkin özelliği kardiyovasküler hastalıklarda koruyucu görev almasıdır (Birman, 2012). İnsanlar tarafından düzenli olarak kullanıldığında

kanser ve kalp hastalıkları gibi hastalıkların yayılma hızında bir azalma olduğu görülmüştür (Ignat ve ark.,2011).



Figür 2: Flavonoidin kimyasal yapısı (Kolaç ve ark.,2017)

Figür 3’ de verilen değişik flavonoidlerin oluşmasının sebepleri, bağlanan hidroksil gruplarının sayısının farklılığı, üçlü karbonun oksidasyon düzeyi ve doymamışlık derecesinden kaynaklanır (Kolaç ve ark.,2017).



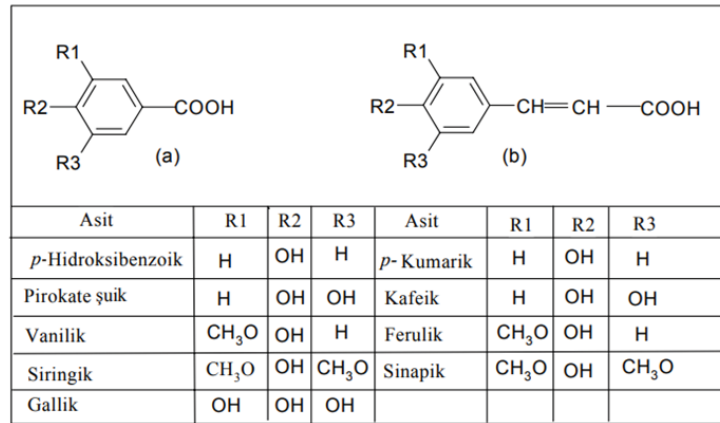
Figür 3: Farklı flavonoidlerin kimyasal yapıları (Dai ve Mumper,2010)

- **Antisyoninler:** Birçok bitkiye pembeden mora kadar değişik tonlarda renk veren maddedir. Bitkilerde tozlaşma, üreme, savunma, antioksidan etki ve UV ışınlarından korunma gibi olaylarda görev alır.
- **Flavanonollar:** Antienflamtuar ve antioksidan etkisine sahiptir. Ayrıca yapılan araştırmalar bize yumurtalık kanserinin önlenmesinde faydalı olabileceğini bildirmiştir.
- **İzoflavon:** İzoflavonlar fitoöstrojenik olarak bilinirler. Bu özelliğinden dolayı meme kanseri ve endometriozis riskini arttırdığını düşünülse de yapılan araştırmalar bize bu durumun tam tersi yönünde olduğunu gösteriyor.

- **Flavanoller (Kateşinler):** Gıdalarda en yaygın olarak bulunan gruptur. Renksizdirler ve flavonoid oluşumunda ara ürün olarak görev alırlar.
- **Flavanonlar:** Turunçgil meyvelerinde yaygın olarak bulunan bu flavanoidler, bitter ve nötral tatındaki bazı flavanonla glikozitlerinden bir halkanın açılmasıyla oluşurlar.
- **Flavonlar:** Flavob glikozitleri ve flavonlar neredeyse her bitkide bulunan sarı renge sahip bileşiklerdir. Sakinleştirici, kas gevşetici ve anksiyolitik etkiye sahiptir (Kolaç ve ark.,2017).

2.2. Fenolik Asitler

Hem bağlı hem de serbest şekilde bulunan fenolik asitler sıklıkla bağlı haldedirler. Bitki formlarına bağlı olanları ise ester bağı, eter bağı ve asetat bağları ile bağlanabilirler (İgnat ve ark.,2011). İçinde barındırdıkları –OH ve –OCH₃ gruplarına göre, hidroksisünamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olarak iki alt gruba ayrılırlar. Figür 4'te farklı fenolik asitlerin yapısı gösterilmiştir. Hidroksibenzoikler bitkilerde az miktarda bulunurlar (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010). Yapılan çalışmalar bize fenolik bileşiklerin birçok biyolojik fonksiyonu olduğunu göstermiştir (Cong ve ark.,2017).



Figür 4: farklı fenolik asit bileşikleri. a) hidrobenzoikler, b) hidrosünamikler (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010)

- ✓ **Hidroksisünamik Asitler:** Hidrosünamik asitlerde hidroksil grubuna sahip fenilpropan halkası bulunur. Hidroksil grubunun sayısına ve konumuna göre farklılık gösteren alt grupları vardır. Bu alt gruplar figür 4'te gösterilmiştir. Genellikle bağlı olarak bulunan hidrosünamik asitler çoğunlukla asit ve türevleri halindedirler. Hidrosünamik asitlerin, antimikrobiyal, anti kanserojen, antidiyabetik ve antimikrobiyal etkisinin olduğu kanıtlanmıştır (Kolaç ve ark.,2017).
- ✓ **Hidroksibenzoik Asitler:** Bitkilerde çok iz miktarda bulunan hidroksibenzoik asitler fenilmetan yapısındadır (Nizamlıoğlu ve Nas, 2010). Bu grup, hidroksisünamik asitlerin oksidasyonu ile oluşur (Kolaç ve ark., 2017).

2.3. Tanenler

Suda çözünebilir tanenler yüksek yapılı bitkilerin hemen hemen hepsinde bulunur. Protein ve diğer makro moleküllerle çapraz bağ oluşturma yeteneğine sahiptirler. 500-2000

Dalton arasında değişen molekül ağırlığına sahip tanenler, gallotanenler, kompleks tanenler, ellagitanenler ve kondense tanenler olmak üzere dört temel gruba ayrılırlar. Ayrıca çok sayıda fonksiyonel grup ve hidroksil gruba sahiptirler. Protein, mineral gibi moleküllerle kompleks oluşturarak gıdaların besin değerinde azalmaya sebep olurlar. Tanen miktarının fazlalığıyla doğru orantılı olarak tanen içeren besinlerin tüketilmesi kanser türlerinin tetiklenmesinde rol oynadığı görülmüştür (Ergezer ve Çam, 2008).

2.4. Stilbenler

İnsanların kullanabileceği çok az sayıda stilben bulunur ve stilbenlerin en yaygını resveratrol'dür. Üzüm, yer fıstığı, dut gibi 70 den fazla bitkinin yoğun stres altında salgıladığı resveratrolün insan sağlığına birçok olumlu etkisi vardır (Ignat ve ark., 2011). Antioksidan, antiviral, kardiyoprotektif, yaşlanmayı geciktirici, enfeksiyondan korunma, obeziteyi azaltma gibi birçok yararı bulunan resveratrol tıp ve eczacılık alanında sıkça kullanılan bir stilbendir (Karabulut, 2008).

2.5. Lignanlar

2 fenil-propanların oksidatif dimerizasyonu ile üretilen lignanlar stilbenlerle hemen hemen aynı ekkiye sahiptirler. Keten tohumu, yağlı tahıllarda ve tahıl tanelerinde bol miktarda bulunurlar (Cong ve ark., 2017).

3. EKSTRAKSİYON METOTLARI

Doğal ürünlere olan ilginin artmasıyla son zamanlarda fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu ile ilgili çalışmaların artmasını sağladı. Fenolik bileşiklerin tanınması, izolasyonu ve aktif kullanımı için ekstraksiyon çok önemli bir adımdır. Fenolik bileşikler için tek veya standart bir ekstraksiyon yöntemi yoktur. Elde edilmek istenilen aktif maddeye göre yöntemler ve çözücüler değişiklik gösterir (Ignat ve ark.,2011). Figür 5' de farklı ekstraksiyon teknikleri gösterilmiştir.

Fenolik bileşiklerin çözünürlüğü polimerizasyon işlemleri sırasında değişebilen, protein ve karbonhidratlar gibi diğer bitki bileşenleri ile karşılaştığında çözünmesi zor olan bir yapı oluşturan özelliktedir. Yine aynı şekilde fenolik bileşiklerin çözünürlükleri çözündüğü maddenin polaritesinden etkilenir. Bu nedenle tüm bitki bileşikleri için tek bir prosedürün olması çok zordur (Garcia-Salas ve ark., 2010).



Figür 5: Ekstraksiyon metotları

3.1. Katı-Sıvı Ekstraksiyon

Katı-sıvı ekstraksiyon yöntemi çeşitli bitkilerden fenolik bileşiklerin çıkarılmasında sıkça kullanılan ve çok basit bir yöntemdir. Genellikle etanol, aseton, metanol veya çözücü karışımlarının sulu hali farklı çözücülerle bitkilerden alınmak istenilen materyallerin doğrudan ekstraksiyonundan oluşur (Cong-Cong ve ark., 2017).

Bu ekstraksiyon metodunda katı matris içinde bulunan katıların, matrisle temas halindeki bir çözücü içerisinde göç etmesi olarak tanımlanır. Bu olayda difüzyon katsayıları, sınır tabakasındaki değişimler, konsantrasyon gradientleri gibi birçok kütle transferi faktörleri rol oynar (Ignat ve ark., 2011).

3.2. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyon

Yaygın olarak kullanılan saf organik çözücülerin çok kutuplu fenolik asitleri çözmede yetersiz kaldığı araştırmalarda anlaşıldığında çözücülerin karıştırılması metodu denendi ve daha az polar çözücüler bitki matrisinden polar olmayan yabancı bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun olduğu görüldü (Stalikas, 2007).

Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda; ekstrakt bakımından zengin çözücü ve ekstraktın kalıntılarını içeren çözücü arasındaki yoğunluktan kaynaklanan kütle transferi sonucu solvent çözücülerin birine ya da daha fazlasına karşı afinite ve seçicilik sergiler. Uygun çözücüler seçilirse ekstraksiyon çok verimli bir hal alır (Ignat ve ark., 2011).

3.3. Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyonu

Bu ekstraksiyon metodu diğer metotlara alternatif olabilen çevre dostu bir metottur. En çok kullanılan süper kritik akışkan CO₂ ' dir. Diğer kullanılan süper kritik sıvılar için azot oksit, amonyak, etan, bütan, triflorometan ve su örnek verilebilir (Ignat ve ark., 2011). Bu yöntem diğer metotlara göre daha az toksik organik madde ve zaman kullanımı için avantajlıdır. Ayrıca yüksek güvenlik ve seçiciliğe sahiptir. Fakat bu yöntemin yüksek sermaye ihtiyacı vardır (Cong-Cong ve ark., 2017).

Bu yöntemin esası, istenilen maddenin süper kritik koşullardaki bir sıvı içerisinde çözünmesi ve sonrasında basınç azaltılarak ürünü sıvıdan ayrılmasını sağlama işlemidir. Basınç azalması ile süper kritik sıvının çözünürlüğü de ayı oranda azalacağı için istenilen madde sıvıdan ayrılmış olacaktır (Çolak ve Tülek, 2003).

3.4. Diğer Ekstraksiyon Metotları

Ultrason destekli ekstraksiyon, nispeten düşük maliyetli olduğu ve karmaşık enstrümanlar gerektirmediğinden yararlı bir teknoloji olduğu için bitki endüstrisinde hem küçük hem de büyük ölçüde kullanılabilir (Dai ve Mumper, 2010). Ses dalgaları maddelerin yolculuk için ihtiyacı olan mekanik titreşimlerdir. Ses dalgaları hareket ettikçe ortam içerisinde sıkışma ve genleşme döngüleri oluştururlar. Bu döngüler molekülleri birbirinden ayırır veya birleştirirler. Böylece madde akışı gerçekleşir (Özcan, 2006).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, istenilen maddenin bitkiden çözücüye geçişini kolaylaştırmak için doğrudan mikrodalga enerjisini kullanır. Bu metot için çözünürlük, mikrodalga gücü gibi önemli olan bazı fiziksel parametreler vardır ve bunların yanı sıra çözücünün özellikleri de metodun verimliliği için ayrıca önem taşır. Çözücünün yüksek dielektrik solventler mikro dalga enerjisini daha fazla emerler (Cong-Cong ve ark.,2017).

Yüksek basınçlı solvent ekstraksiyon uygulaması, yüksek basınç ve sıcaklıkta, diğer metotlara nispeten daha az solvent kullanarak yüksek ekstraksiyon verimi elde etmede sıkça kullanılan bir metottur. Artan sıcaklık ve basınç, solventin çözünürlüğünü artırarak yayılmaz hızının artmasını sağlar. Bu duruma bağlı olarak ekstraksiyonun hızında da bir artış gözlemlenir (Yaman ve Kuleşan, 2016).

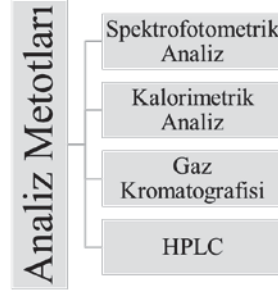
Tablo 1’de ekstraksiyon tekniklerinin avantajları ve dezavantajları verilmiştir.

Tablo 1: Ekstraksiyon metotlarının karşılaştırması (Büyüktuncel,2012 (uyarlanmıştır))

EKSTRAKSİYON TEKNİKLERİ	AVANTAJLARI	DEZAVANTAJLARI
<u>Katı-Sıvı, Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonları</u>	Fazla miktarda örnek ekstrakte edilebilir Matrikse bağlı değil Kolay uygulama Düşük maliyet Basit ekipman	Büyük miktarda malzeme kullanımı Uzun zamanda gerçekleşmesi Ekstraksiyon sonrası fazladan işlem gerektirmesi
<u>Yüksek Basınçlı Solvent Ekstraksiyon</u>	Filtrasyona ihtiyaç duyulmaması Az zaman alması Az miktarda solvent kullanımı Kolay uygulanabilirlik Uygun otomasyon koşulları	Maliyetin yüksek olması Ekstraksiyonun matrikse bağımlı olması
<u>Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon</u>	Az zaman alması Az miktarda solvent kullanımı Kurutucu ajanlara gerek duyulmaması İlgili parametrelerin kontrolü	Solventlerin mikrodalga ışınlarının absorblanma yeteneklerine göre seçilmesi Mekanizma içindeki tüm materyallerin ekstrakte edilmesi Yüksek maliyet
<u>Ses Dalgaları Destekli Ekstraksiyon</u>	Yüksek miktarda madde ekstrakte edilebilmesi Ekstraksiyon matriksine bağımlı olmaması Az zaman alması Düşük maliyete sahip olması	Yüksek miktarlarda solvent kullanılması Filtrasyona ihtiyaç duyulması
<u>Süper Kritik Sıvı Ekstraksiyonu</u>	Az zaman alması Az miktarda solvent tüketimi Toksik madde olmaması Çevre dostu olması Düşük maliyete sahip maddelerin kullanılması (CO ₂) Uygun otomasyon koşulları Parametrelerin değiştirilmesi ile yüksek seçiciliğe ulaşmak	Yüksek maliyet Matriks yapısına bağımlı olması Sıvı maddelerin ekstrakte edilmesinin zorluğu

4. ANALİZ YÖNTEMLERİ

Fenolik bileşiklerin ölçümü kimyasal yapısı ve boyutu gibi fiziksel ölçümlerin belirlenmesinde önemlidir (Cong-Cong ve ark.,2017). Fakat yapılan birçok araştırma olsa da bazı fenolik bileşiklerin yapısal nicelleştirilmesi hala çok zordur. Bu yüzden birçok analiz yöntemi var (Khoddami ve ark.,2006). Figür 6' da çeşitli analiz yöntemleri gösterilmiştir.



Figür 6 : Fenolik bileşiklerin analiz metotları

Genellikle fenolik maddelerin içerikleri ve çeşitleri farklılık gösterebileceğinden birden fazla analiz yöntemi kullanmak gerekir. Ayrıca fenolik maddelerin içerikleri; hasat sırasındaki iklim koşulları ve hasat sonrası manipülasyonlar, tarımsal süreçler, olgunluk ve tüketim zamanı gibi dış faktörlerden etkilenmektedir (Stratil ve ark., 2006).

4.1. Spektrofotometrik Analiz

Spektrofotometri, bitkilerdeki fenolik bileşiklerin analizi için hızlı ve basit bir tekniktir. (Cong-Cong ve ark.,2017). Fenolik bileşiklerinin analizinin yapılması için birçok spektrofotometrik yöntemler kullanılır. Her bir analiz yöntemi farklı prensiplere dayanır ve fenolik bileşiklerin farklı yapılarını belirlemede kullanılır (Naczki ve Shahidi,2006).

Folin-Denis ve Folin-Ciocalteu yöntemleri yıllar boyunca bitkilerdeki toplam fenolik bileşik miktarını saptamak için kullanılan yaygın spektrofotometrik testlerdendir. İki yöntem de tungsten ve molibden içeren maddelerin kimyasal indirgenmesine dayanır. Ortamda fenolik bileşik varsa bu reaksiyon sonrasında oluşan ürünler 760nm civarında mavi renkte görünürler (Khoddami ve ark.,2013).

4.2. Kolorimetrik Analiz

Organik çözücülerin, konsantre fenollerin ve sulu çözeltilerinin, hidrokarbon karışımlarının toplam fenolik bileşik içeriğinin belirlenmesinde kullanılan bir yöntemdir. Kolorimetrik analizde fonksiyonel grup, su, mineral asidi, inorganik bazları içeren hidrokarbonları etkilememle birlikte monofenoller ve difenollerin belirlenmesinde başarılı bir işlemdir (Lykken ve ark., 1946).

4.3. Gaz Kromatografisi

Gaz kromatografisi flavonoidler, fenolik asitler ve taninlerin ayrılması, tanımlanması ve nicellenmesinde uygulanan başka bir yöntemdir. Uçucu bileşikleri ayırmada kullanılan

yaygın bir teknik olan gaz kromatografisinde, fenolik bileşiklerde bulunan –OH grubu fenolik bileşiklerin erimek noktasını arttırarak uçuculuğunu düşürür (Stalikas,2007).

4.4. HPLC

Günümüzde HPLC fenolik bileşiklerin tayininde en güvenilir ve en popüler yöntemdir. Farklı bitki ekstraktlarında farklı fenolik bileşik tiplerinin hareketli fazları vardır. HPLC istenilen fenolik bileşiğin farklı türevlerini, bileşenlerini ve bozulma ürünlerini eş zamanlı analiz etmek için iyi bir yöntemdir (Dai ve Mumper, 2010).

5. KAYNAKLAR

- [1] Atak, E ,Yıldız, E ,Uslu, M . (2017), "FENOLİK BİLEŞİKLERİN ENKAPSÜLASYONU". Soma Meslek Yüksekokulu Teknik Bilimler Dergisi 2 (2017): 82-92
- [2] Birman, H. (2012). Bioactivities of plant flavonoids and the possible action mechanisms. *Journal of İstanbul Faculty of Medicine*, 75, 46-49.
- [3] Büyüktuncel, E. (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 32(2), 209-242.
- [4] Cong-Cong, X. U., Bing, W. A. N. G., Yi-Qiong, P. U., Jian-Sheng, T. A. O., & ZHANG, T. (2017). Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *Chinese journal of natural medicines*, 15(10), 721-731.
- [5] Çolak, N., & Tülek, Y. (2003). Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu. *GIDA/THE JOURNAL OF FOOD*, 28(3).
- [6] Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
- [7] Ergezer, H., & Çam, M. (2008). Tanenler: sınıflandırma, yapıları ve sağlık üzerine etkileri, Türkiye 10. Gıda Kongresi Kitabı, Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği, Yayın No, 37.
- [8] Fang, Z., Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols—a review. *Trends in Food Science& Technology*, 21(10), 510-523.
- [9] Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
- [10] Güven, E. Ç., Otkun, G. T., & Boyacıoğlu, D. (2010). Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörler. *Gıda Dergisi*, 35(5).
- [11] Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- [12] Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*, 126(4), 1821-1835.
- [13] Karabulut, A. B. (2008). Resveratrol ve Etkileri. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 28(6), 166-169.
- [14] Khoddami, A., Wilkes, M. A., & Roberts, T. H. (2013). Techniques for analysis of plant phenolic compounds. *Molecules*, 18(2), 2328-2375.
- [15] Kolaç, T., Gürbüz, P., & Yetiş, G. (2017), DOĞAL ÜRÜNLERİN FENOLİK İÇERİĞİ VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİ, İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi, 5(2),
- [16] Lykken, L., Treseder, R. S., & Zahn, V. (1946). Colorimetric Determination of Phenols. Application to Petroleum and Allied Products. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*, 18(2), 103-109.

- [17] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
- [18] Naczk, M., & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 41(5), 1523-1542.
- [19] NİZAMLIOĞLU, N. M., & Sebahattin, N. A. S. (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*, 5(1), 20-35.
- [20] Ozcan, E. (2006). Ultrasound assisted extraction of phenolics from grape pomace. Middle East Technical University, The graduate School of Natural and Applied Sciences, Ph. d., Chemical Engineering, Ankara.
- [21] Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.
- [22] Stratil, P., Klejdus, B., & Kubáň, V. (2006). Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(3), 607-616.
- [23] YAMAN, T., & KULEAŞAN, Ş. (2016). Uçucu Yağ Elde Etmede Gelişmiş Ekstraksiyon Yöntemleri. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, (1), 78-83.