

## Derleme Makale/Review Paper

### Pestisit kalıntı analizlerinin tarihçesi ve QuEChERS metodunun versiyonları

### History of pesticide residue analyses and versions of QuEChERS method

Burak Polat<sup>1\*</sup> , Osman Tiryaki<sup>1</sup> , Fadime Nisa Küçük<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bitki Koruma Bölümü, ÇANAKKALE, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Bitki Koruma ABD, ÇANAKKALE, TÜRKİYE

(Yazar sıralamasına göre/By author order)

ORCID ID: 0000-0001-9171-1024, Doç. Dr.

ORCID ID: 0000-0002-7509-8423, Prof. Dr.

ORCID ID: 0009-0008-5911-4367

\*Sorumlu yazar/Corresponding author: bpolat@comu.edu.tr

Geliş Tarihi/Received Date : 10.03.2025

Kabul Tarihi/Accepted Date : 03.09.2025

## Öz

**Amaç:** Gıda matrislerindeki pestisit kalıntılarının belirlenmesi zordur. Pestisit kalıntı analizlerinin başarısı, pestisit etken maddesinin ekstraksiyon çözeltisine geçirilebilmesine bağlıdır. Bundan dolayı ekstraksiyon verimi çok önemlidir. Ancak ekstraksiyon çözeltisine, istenmeyen bileşikler de geçerek kromatografide analiz sonucunu olumsuz etkilerler. Ekstraksiyonla küçük miktarlardaki pestisit çözücüye geçirilebilmesi önemlidir ancak güçlü ekstraksiyon yöntemleri de çok fazla istenmeyen bileşiklerin çözücüye geçmesine sebep olabilir. Bu durumda çok güçlü clean-up işlemleri kullanılmalıdır.

**Sonuç:** Geçmişte kullanılan Mills ve Luke yöntemlerinin teknik yetersizlikleri ve kısıtlı örnekler için geçerli olması, analitik kimyacıları yeni metodolojiler geliştirmeye sevk etmiştir. Bu yeni metodların ekstraksiyon ve clean-up işlemleri çok geniş ölçekteki örnek matrisleri için uygun olmalıdır ve kromatografik sisteme tek bir enjeksiyon ile farklı sınıflardan çoklu pestisiti analiz (Multi Residue Method, MRM) edilebilmelidir. Bu hedefe ulaşmak için, QuEChERS metodu geliştirilmiştir. Bu yöntem, gıdalarda çeşitli pestisit kalıntılarının analizi için kolay ve etkili bir ekstraksiyon ve clean-up yaklaşımıdır. Şimdiye kadar pestisitlerin yanı sıra akrilamid, veteriner ilaçları ve farmasötikler de dahil olmak üzere Sıvı Kromatografisi (Liquid Chromatography, LC) ve Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography, GC) ile analizlerde umut verici sonuçlar elde edilmiştir. Daha sonra teknik ihtiyaca binaen orijinal QuEChERS metodu iki farklı şekilde modifiye edilmiştir. AOAC Official Method 2007.01 resmi analiz metodu asetat tamponlama versiyonu ve European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662 ise sitrat tamponlama versiyonu olarak kabul edilmiştir. Bu her iki versiyon da günümüzde geniş bir sebze, meyve, toprak, su ve sediment örneklerinde çoklu pestisit kalıntı analizlerinde yaygın olarak ve güvenle kullanılmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** pestisit kalıntısı, QuEChERS versiyonları, Standard Method EN 15662, AOAC Official Method 2007.01

## Abstract

**Objective:** Determining pesticide residues in food matrices is difficult. The success of pesticide residue analyses depends on the ability to transfer the active ingredient into the extraction solution. Therefore, extraction efficiency is very important. However, co-extractives can also pass into the extraction solution and negatively affect the analytical results in chromatography. While it is important to transfer small amounts of pesticide into the solvent through extraction, strong extraction methods can lead to a significant amount of co-extractives entering the solvent. In such cases, strong clean-up procedures are necessary.

**Conclusion:** The technical limitations and restricted applicability of the Mills and Luke methods, used in the past, have driven analytical chemists to develop new methodologies. The extraction and clean-up procedures of these new methods should be suitable for a wide range of sample matrices and should be able to analyze multiple pesticides from different classes with a single injection into the chromatographic system (Multi Residue Method, MRM). To achieve this goal, the QuEChERS method was developed. This method provides a simple and effective approach for the extraction and clean-up of various pesticide residues in foods. Promising results have been obtained not only for pesticides but also for acrylamide, veterinary drugs, and pharmaceuticals in LC and GC analyses. Subsequently, the original QuEChERS method was modified in two different ways to meet technical needs. The AOAC Official Method 2007.01 is recognized as the acetate buffering version, while the European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662 is recognized as the citrate buffering version. Both versions are now widely and reliably used for multi-residue pesticide analysis in a broad range of vegetable, fruit, soil, water, and sediment samples.

**Keywords:** QuEChERS, pesticide residues, QuEChERS versions, Standard Method EN 15662, AOAC Official Method 2007.01

## 1. Giriş

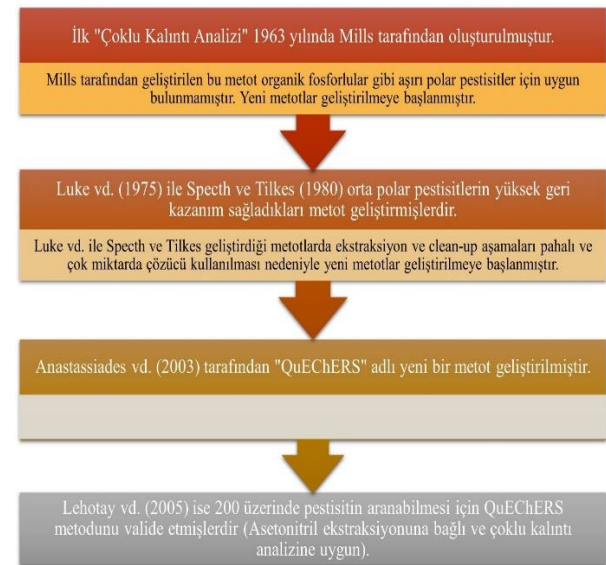
Gıda ve çevresel örneklerinde pestisit kalıntı analizi dünya çapında çok sayıda resmi ve özel laboratuvarlarda yaklaşık 40 yıldır yapılmaktadır. Kullanılan analiz yöntemlerinin tarihsel sıralaması önemlidir. Bazı kalıntı izleme laboratuvarları 2000'li yıllara kadar 1970'lerde geliştirilen analitik yöntemleri kullanmışlardır. Bu dönemlerde analiz talepleri daha az olduğundan, teknolojik imkanlara paralel olarak, yöntemler daha fazla analiz süresi ve işgücü gerektirmiştir. Modern kalıntı izleme programlarının tarımdaki son gelişmelere ve yeni mevzuata uyumlu olması beklenmektedir. Laboratuvarların tüm analitik kalitesini ve verimliliğini geliştirmek için, yeni, daha hızlı ve daha etkin analitik yaklaşımların uygulamaya konulması gerekmıştır (Anastassiades vd., 2003).

İlk pestisit analizleri 1940'lı yıllarda kolorimetrik yöntemlerle gerçekleştirilmiş ve türevlendirme işlemi ise 1944 yılında mavi renk oluşturulmuş ve bu renk kolorimetrik olarak belirlenerek DDT analizi sebzelerde yapılmıştır. Fakat bu yöntemde birçok pestisit aynı anda analiz edilememektedir. Kapsamlı pestisit kalıntı analizleri gelişmiş ülkelerde 1950'li yıllarda başlamıştır. MRM analizleri 1950'li yıllarda İnce Tabaka Kromatografisi (Thin Layer Chromatography, TLC) ile gerçekleşmiştir. Bu analiz sayesinde bir saatten daha kısa bir sürede 20 kadar pestisit analizi mümkün olmuştur. İlerleyen yıllarda dolgu kolonların kullanıldığı Gaz Kromatografisi (Gas Chromatography, GC) TLC tekniğine alternatif olarak öne çıkmaya başlamıştır (Çetinkaya Açar, 2015). Daha sonra sırasıyla Mills tarafından çoklu kalıntı analizi, Luke ile Spetch ve Tilkes ise orta polar pestisitleri için geliştirdikleri yöntem ve en son da QuEChERS yöntemi gelmektedir (Mills vd., 1963; Luke vd., 1975; Spetch ve Tilkes, 1980; Anastassiades vd., 2003).

Türkiye'de ise Ankara Zirai Mücadele İlaç ve Aletleri Enstitü Kalıntı Analiz Laboratuvarı'nın 1959 yılında faaliyete başlaması ile pestisit alanında kalıntı testleri yapılmaya başlamıştır (Tiryaki, 2016). Bu durum ülkemizde pestisit kalıntı alanında yapılan çalışmalara verilen önemi ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada, pestisit kalıntı analizinde kullanılan yöntemler kronolojik sıralamaya göre bu derlenmiştir (Şekil 1). Sonra da Anastassiades vd.

(2003) tarafından Hızlı, Kolay, Ucuz, Etkili, Sağlam ve Güvenli (QuEChERS) tekniği, meyve ve sebzelerden pestisit kalıntılarını geri kazanmak için geliştirilmiştir (Lehotay vd., 2005; Lehotay, 2007). Bu tekniğin tanıtılmasından itibaren 2014'e kadar, arama motoru kullanılarak yapılan bir literatür incelemesine göre, QuEChERS tekniğini kullanan yaklaşık 700 makale yayınlanmıştır. Bu makalelerin çoğu gıda matrislerinde çoklu pestisit kalıntı analizine odaklanmış olup, bu konu son yıllarda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. QuEChERS yaklaşımı, şu anda orijinal uygulama alanının ötesinde, pestisitler dışındaki analitlere ve gıda dışındaki matrislere, örneğin biyolojik sıvılara ve tıbbi bitkiler dahil olmak üzere yenilemeyen bitkilere hızla yayılmaktadır. Son zamanlarda, QuEChERS kavramı, sadece pestisitleri değil, toprak, tortu ve sudaki diğer çevreyle ilgili bileşikler de analiz ederek çevre uygulamalarına yayılmıştır (Bruzzoniti vd., 2014; González-Curbelo vd., 2022). Bu derleme çalışmasında pestisit kalıntılarının analizi için QuEChERS prosedürü ile ilgili yapılan çalışmalar geniş bir şekilde özetlenmiştir. Çok geniş bir örnek matrislerinde güvenle kullanılan QuEChERS tabanlı yöntemlerin değerlendirmeleri yapılmış, QuEChERS yöntemine yapılan modifikasyonlar, bu konuya ilgi duyan araştırmacılar ile düşük maliyetli yöntemler uygulamak isteyenler için bir çıkış noktası olabilir.



**Şekil 1.** Çoklu pestisit kalıntı analizlerinin tarihçesinin şematik gösterimi (Luke vd., 1975; Specht ve Tilkes, 1980; Anastassiades vd., 2003; Lehotay vd., 2005)

## 2. Pestisit kalıntı analizlerinin basamakları

### 2.1. Örnek hazırlama

Kullanılan kalıntı analiz yöntemlerinin hepsinde 4 aşama vardır. Bunlar örnek hazırlama (homojenizasyon), ekstraksiyon (pestisit ekstraksiyon çözücüsü içine geçirilmesi), clean-up (ekstraktın örnek matrisinden gelen kirliliklerden temizlenmesi, arındırılması) ve kromatografik süreçtir. Kalıntı analizlerinde numune hazırlama işlemi numunenin homojen bir duruma dönüştürülmesidir. Homojenizasyon analize alınan örneğin paçal örneği temsil etmesi açısından çok önemli bir basamaktır. Bu işlem blender ya da gelişmiş ekipmanlarla yapılmaktadır (Tiryaki, 2010).

### 2.2. Ekstraksiyon

Ekstraksiyon aşaması herhangi bir maddeden istenen bir bileşiği çeşitli çözücü ve kimyasal işlemlerle ortaya çıkartılması, çözücü içine geçirilmesidir. Herhangi bir bitkisel ürün, toprak, su, sediment ya da gıda örneğinden analizi yapılacak birleşimi (pestisit, mikotoksin vb.) çözücüye geçirmek için yapılan kimyasal bir işlem olarak tamamlanabilir. Sıvı ya da katı fazda bulunan bir ya da birçok bileşiğin değişik çözünürlük özelliklerine göre diğer bir sıvı faza alınmasıdır. Konu uzmanı olmayan araştırmacıların dediği gibi, ekstraksiyon bir şeyin özünü çıkarma ya da özütleme değildir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonunda özünü çıkarma ya da özütleme kavramları gerçek manadan çok uzaktır. Pestisit kalıntı analizlerinde ekstraksiyon basamağı ilk basamaklardan olduğu için, bunda yapılacak bir hata kalıntının sonucu katlamalı olarak azaltacak ya da eksiltecektir. Ekstraksiyon, kalıntı analizlerinin performansını etkileyen önemli bir basamaktır, analizin başarısı; pestisit ekstraksiyon çözeltisine geçirilebilmesine bağlıdır. Geri kazanımı (recovery) etkileyen önemli bir basamaktır. Bu işlemlerin verimi ya da etkinliği önemli olduğu gibi, genellikle sistematik hatanın (bias) esas kaynağıdır. Analizlerde deneysel hatalar en fazla bu basamaktan çıkmakta olup ölçüm belirsizliği olarak da bilinmektedir. Düşük ekstraksiyon verimi analitin düşük geri kazanımına neden olur. Benzeri şekilde etkin olmayan clean-up prosedürü, sadece, düşük geri kazanım oluşturmakla kalmaz, aynı zamanda, doğru olmayan analitik sonuçlara neden olan kromatografik sistemde matris etkisi oluşturur. Ekstraksiyon gücü çok yüksek olan

yöntemlerde de toprak ya da bitki örneklerinden çok fazla matris etkisi oluşturabilecek bileşikler (kirlilikler) ekstraksiyon çözücüsüne geçebilmektedir. Bundan dolayı da güçlü ya da ilave clean-up sistemleri gerekebilmektedir (Tiryaki, 2017).

Düşük konsantrasyonlardaki pestisitlerin tespit edilmesi için uygun ekstraksiyon ve clean-up yöntemlerinin yürütülmesi oldukça önemlidir. Ekstraksiyon için örnekler, yağlı numuneler, kuru numuneler ve farklı su içeriğine sahip taze meyve, sebzeler olarak üç sınıfta değerlendirilir. Bu özelliklere uygun olan ekstraksiyon metodu tercih edilir. Birçok ekstraksiyon yöntemi vardır. Bu sınırlamalar, daha yüksek verimlilik, seçicilik ve sürdürülebilirlik sunan modern ekstraksiyon yöntemlerinin keşfini ve benimsenmesini zorunlu kılmaktadır.

### 2.3. Clean-up

Ekstraksiyon sürecinde, örnek matrisinden istenmeyen bazı bileşikler (örneğin, selüloz ve yüksek molekül ağırlıklı protein gibi organik makromoleküller) çözücüye geçebilir. Bu istenmeyen bileşikler, kromatografik ayrışmada pestisit pik alanlarında artma ya da azalma şeklinde olumsuz etkiler yaratabilir. Bu etkiye matris etkisi denilmektedir. Ekstraksiyon çözücüsüne geçebilen bu arzu edilmeyen bileşiklerin (co-extractive) ekstrakttan temizlenmesi ve arındırılması işlemine "clean-up" denir. Clean-up işlemi, örnek ekstraktındaki istenmeyen bileşikleri giderir. Bu işlem, matristen kaynaklanan ve analizin yanlış sonuçlanmasına, aranan maddenin tespit edilmesini engelleyebilecek veya analiz cihazlarının kirlenmesine neden olabilecek kirliliklerin (impurity) uzaklaştırılmasını sağlar. Kromatografi öncesi ekstraktın clean-up işlemi bu nedenlerle gereklidir. Çünkü, örnek matrisinden gelen co-extract'lar, GC kılcal kolona çok zarar verebilirler, iz miktarlarda pestisit dedeksiyonu ile interferans oluşturabilirler ve matris etkisi oluşturabilirler. Clean-up işlemi ile, yağlı bileşikler, organik yağ asitleri, steroller, şekerler, non-polar bileşikler, pigment, polifenol bileşikler gibi kromatografide interferans oluşturabilecek maddelerin uzaklaştırılması sağlanır. Clean-up prosesi çok hassas bir işlemdir, çok güçlü clean-up yöntemleri ile pestisit etken maddesinin ekstrakttan uzaklaştırılması da olasıdır. Bu yönüyle de clean-

up işleminin geri kazanım çalışmalarına çok büyük etkisi bulunmaktadır (Tiryaki, 2017).

## 2.4. Kromatografi

Kalıntı analizlerinde son analitik işlem uygun kromatografik sistemin uygulanmasıdır. Analizin son aşaması olan kromatografi bir ayırıştırma tekniğidir. Kromatografi hedef bileşiği bulunduğu ortamdaki diğer bileşiklerden ayırma ve hedef bileşiğin miktarını ölçme tekniğidir. Kromatografi Rus Botanikçi Tswett tarafından 1906 yılında (petrol eteri-  $\text{CaCO}_3$ ) ilk tekniği oluşturmuştur. Kromatografi çeşitleri; gaz kromatografisi (Gas Chromatography, GC), sıvı kromatografisi (Liquid Chromatography, LC), kolon kromatografisi (Column Chromatography), ince tabaka kromatografi (Thin Layer Chromatography, TLC), süper kritik akışkan kromatografi (Supercritical Fluid Chromatography, SFC) ve kapiller elektroforezi (Capiller Elektrofoze, CE)'dir. Kromatografide iki faz bulunmakta bunlardan bir tanesi mobil faz diğeri ise sabit fazdır. Sıvı kromatografisinin kullanım sahası geniş, gaz kromatografisinin kullanım sahası dardır. Sıvı kromatografisi; doğruluk, eş zamanlı analiz, yüksek hassasiyet (ppm, ppb), zor olmayan analiz koşulları ve çok iyi tekrarlanabilirlik sağlamaktadır.

Son yıllarda geliştirilen Kütle Spektrometresi (MS) teknolojisi, MS/MS sistemlerinin kullanımını yaygınlaştırmıştır. Sıvı kromatografi-kütle spektrometresi/kütle spektrometresi (LC-MS/MS), sıvı kromatografisinin (HPLC) fiziksel ayırma yeteneklerini, kütle spektrometresinin (MS) kütle analizi yetenekleriyle birleştiren bir analitik kimya tekniğidir. LC-MS/MS tekniği sayesinde analitler hem kalitatif hem de kantitatif olarak analiz edilebilmektedir. Kromatogramda interferansların daha düşük seviyelerde görülmesi ve yüksek seçiciliği ile çok güçlü bir ayırma, tanımlama ve miktar tespiti yapılabilmektedir. LC-MS/MS yönteminin başka bir faydası ise aynı türdeki pestisitlerin teşhis ve doğrulamasını etkili bir biçimde sağlamasıdır. Bu nedenle günümüzde sağladığı avantajlar ile en fazla kullanılan cihaz LC-MS/MS'tir. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (Gas Chromatography- Mass spectrometry, GC-MS) ise çoğu pestisitte olduğu gibi polar olmayan ve oldukça uçucu maddelerin analizinde de son derecede etkili bir metot olmasına rağmen, karbamatlar ve herbisitler gibi

polar maddelerin analizinde yetersiz kalmaktadır (Yavuz ve Aksoy, 2016).

Yukarıda açıklanan analiz basamakları farklı sınıflardan pestisit ve çoklu kalıntı (MRMs) analizine uygun olmalıdır.

## 2.5. Pestisit kalıntı analizlerinde kullanılan yöntemler

### 2.5.1. Mills yöntemi

1960'larda ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) kimyageri P.A. Mills tarafından geliştirilen Mills yöntemi, ilk kayda değer Çoklu Kalıntı Yöntemidir (Multiple Residue Method, MRM). O dönemde, polar olmayan organoklorlu pestisitlerin (OC'ler) analizi ön planda olmuştur. Mills yöntemiyle, OC'ler ve diğer polar olmayan pestisitler, yağsız gıdalardan asetonitril (MeCN) kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Ekstrakte edilen bu bileşikler, su ile seyreltilmiş ve ardından polar olmayan bir çözücüye (petrol eteri) dönüştürülmüştür. Ancak, bu süreçte bazı organofosforlu insektisitler (OP'ler) gibi nispeten polar pestisitler analize uygun olmamıştır. Daha polar OP'leri ve diğer pestisitleri analiz etme ihtiyacı doğduğunda, Mills yöntemi ile ekstrakte edilemeyen bileşiklerin analizi için alternatif prosedürler aranmaya başlanmıştır (Luke vd., 1975).

### 2.5.2. Luke yöntemi

1970'li yıllarda ekstraksiyon çözücüsünü asetonitrilden (MeCN) asetona çevirerek organoklorinler, organofosfor ve organonitrojen pestisitleri kapsayacak şekilde analitik polarite aralığını genişletmek için yeni yöntemler geliştirilmiştir. Luke vd. (1975) ile Specht ve Tilkes, (1980) su fazını doyurmak için sodyum klorür eklemişler, böylece polariteyi arttırıp ve daha yüksek geri kazanımlar elde etmişler. Luke yöntemi, birkaç yıl sonra Resmi Analitik Kimyacılar Derneği'nin (Association of Official Analytical Chemists, AOAC) Resmi Yöntemi 985.22 haline gelmiştir. 1980'lerden bu yana, klorlu çözücülerin kullanımıyla ilgili çevresel ve sağlık kaygıları, diklorometanın etil asetat / sikloheksan ile değiştirildiği birçok yeni yöntemin geliştirilmesine yol açmıştır.

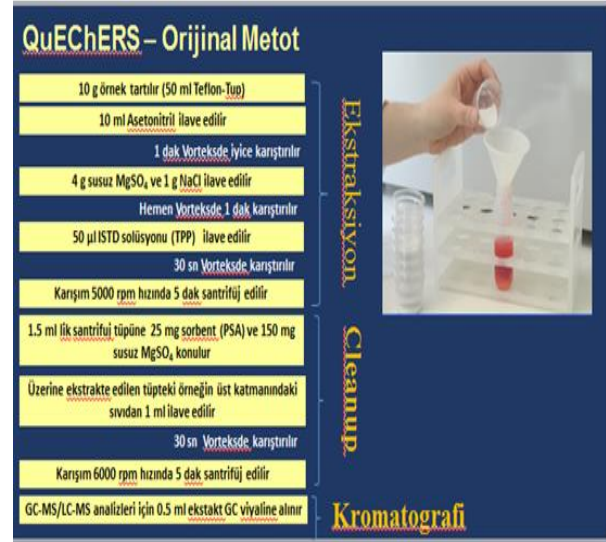
1990'larda kalıntı laboratuvarlarında , çözücü miktarı, işgücünün daha da azaltılması için; süperkritik akışkan ekstraksiyonu (Supercritical Fluid Extraction, SFE), matris katı faz dispersiyonu

(Matrix Solid-Phase Dispersion, MSPD), mikrodalga destekli ekstraksiyon (Microwave-Assisted Extraction, MAE), katı fazlı mikro ekstraksiyon (Solid-Phase Microextraction SPME), basınçlı sıvı ekstraksiyonu (Pressurized Liquid Extraction, PLE) ve hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (Accelerated Solvent Extraction, ASE) gibi alternatif ekstraksiyon yaklaşımları gündeme gelmiştir.

### 2.5.3. Orijinal QuEChERS yöntemi

Anastassiades vd. (2003), tarafından geliştirilen hızlı, kolay, ucuz, etkili, sağlam, güvenli (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) anlamlarına gelen, uygun maliyetli analiz metodu olan orijinal QuEChERS metodu pestisit kalıntı analizlerinde yenilik getirmiştir (Şekil 2). Bu yöntem ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan birinde, QuEChERS yöntemi, hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (ASE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PLE), katı-sıvı ekstraksiyonu (SLE), katı faz ekstraksiyonu (SPE), Soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik çözücü ekstraksiyonu (USE) gibi diğer ekstraksiyon yöntemleri ve Jel Geçirgenlik Kromatografisi (Gel Permeation Chromatography, GPC) clean-up'ı içeren European Norm DIN 12393 metodu karşılaştırılmıştır. ASE, MAE ve USE, Soxhlet yönteminden daha pratik, daha hızlı ve çevre dostu prosedürler olarak geliştirilmiş olsa da QuEChERS yöntemi, yüksek performansı ve belirli pestisit ve matris kombinasyonları için kolay modifiye edilebilmesi nedeniyle ilk tercih edilen olmuştur. QuEChERS yöntemi, QA/QC bazında güvenilirliği ile en iyi geri kazanımları (%60-140) sağlamasıyla öne çıkmıştır. QuEChERS metodu, en yüksek geri kazanım oranını (ortalama %72,7) gösterirken, European Norm DIN 12393 ortalama %65,7, PLE ise ortalama %63,5 geri kazanım oranı görülmüştür. USE yöntemi ise en düşük geri kazanım oranını (ortalama %57,0) vermiştir (Lesueur vd., 2008; Mentler vd., 2004; González-Curbelo vd., 2022).

Lesueur vd. (2008) yaptığı bir çalışmada, Ultrasonik Çözücü Ekstraksiyonu (Ultrasonic Solvent Extraction, USE), Jel Geçirgenlik Kromatografisi (Gel Permeation Chromatography, GPC) clean-up'ı içeren European Norm DIN 12393 metodu (DIN EN, 1998), PLE ve QuEChERS metodu karşılaştırılmıştır. QuEChERS metodu,



Şekil 2. Orijinal QuEChERS metodu

QA/QC bazında güvenilirliği ve en iyi geri kazanımları (%70-110) sağlamasıyla öne çıkmıştır. QuEChERS metodu, en yüksek geri kazanım oranını (ortalama %72,7) gösterirken, European Norm DIN 12393 ortalama %65,7, PLE ise ortalama %63,5 geri kazanım oranı göstermiştir. USE yöntemi ise en düşük geri kazanım oranını (ortalama %57,0) vermiştir (Lesueur vd., 2008; Mentler vd., 2004).

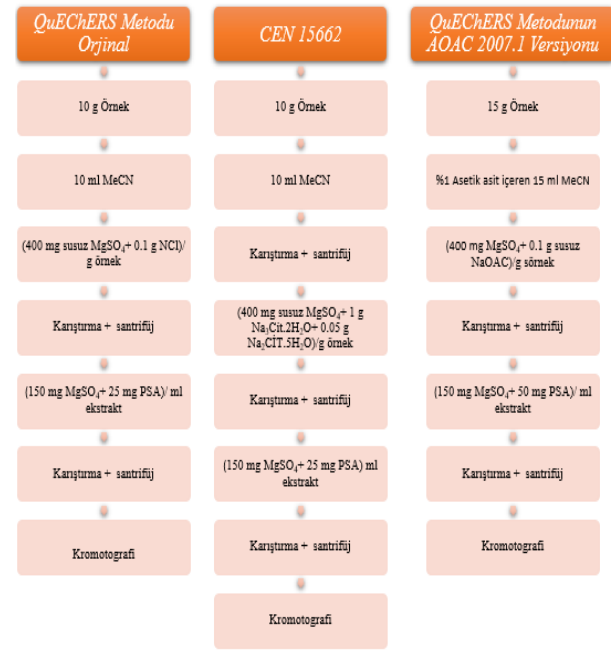
Anastassiades vd. (2003), geliştirmiş oldukları QuEChERS yöntemi çok geniş bir örnek matrisinde çoklu pestisit kalıntı analizlerinde kullanılmaktadır. Sebze ve meyvelerde pestisit kalıntı analizleri için kullanılan bu yöntem, asetonitril ekstraksiyonu ve dispersive-SPE clean-up sistemine dayanır. Bu yöntem, basit, hızlı ve ekonomik olmasıyla öne çıkar. Ekstraktın buharlaştırılması gibi birçok analitik adımı ortadan kaldırarak kısa sürede sonuç alınmasını sağlar. Analizlerde güvenilir, sağlam, hızlı, hassas ve düşük maliyetli yöntemlerin uygulanması büyük önem taşır. Bu yöntem, sadeliği, az miktarda çözücü kullanımı ve çok sayıda pestisit için birkaç adımda yüksek verimlilikle analiz edilebilmesi nedeniyle, çeşitli sebze ve meyve örneklerinde pestisit analizleri için oldukça uygundur. 2003'ten bu yana, yöntem çeşitli pestisit kalıntı analiz laboratuvarları ve araştırmacıları tarafından uyarlanmış ve doğrulanmıştır. QuEChERS yöntemi birçok ulusal ve uluslararası laboratuvar yaygın olarak kullanılmasına rağmen, kendi yerel laboratuvar koşullarımızda doğrulamaya ihtiyacı vardır. Ekstraktların LC-MS/MS ve GC-MS/MS sistemlerine uygun olması sebebiyle analizlerin hassasiyeti ve seçiciliği yüksektir. Yöntemin

modifikasyonlara karşı sağlam ve esnek olması çeşitli şartlarda uygulanabilirliğini arttırmaktadır. QuEChERS yöntemi sayesinde ekstraksiyon ve temizleme işleminde oldukça az çözücü kullanılmaktadır (Çetinkaya Açar, 2015).

Gıda maddelerindeki pestisitlerin analizine yönelik geleneksel metodolojiler sıklıkla çok adımlı prosedürler, önemli miktarda numune kullanımı ve/veya çoklu ekstrakt temizleme adımlarının uygulanmasını gerektirmektedir. Sonuç olarak, bu metodolojiler genellikle zahmetli, zaman alıcı, karmaşık, maliyetli ve önemli ölçüde israfa neden olmaktadır. Ayrıca, geleneksel yöntemler sıklıkla miktar belirlemede eksiklikler sergilemekte ve tek bir analiti veya tek bir bileşik sınıftan analitleri kapsamaktadır. Buna karşın, QuEChERS yöntemi laboratuvar cam malzemelerine olan ihtiyacı en aza indirmekte ve gereken numune hacmini azaltmaktadır. QuEChERS yönteminin daha az sayıda işlem basamağı bulunmaktadır. Karıştırma, filtreleme, büyük hacimli kantitatif transferler, buharlaştırma/yoğunlaştırma adımları veya çözücü adımları veya çözücü değişimi gerektirmez. Bu çok önemli bir husustur. Gıda matrislerindeki pestisit kalıntılarını belirlemek için, geniş geri kazanım sağladıklarından genellikle aseton ve asetonitril çözücülerini kullanılmıştır. Aseton su ile kolayca karışabilir olmasına rağmen polar olmayan çözücülerin olmadan suyun bu çözücülerden ayrılması mümkün değildir. Diğer taraftan, etil asetat su ile sadece kısmen karışabilir, bu da sudan ayırmak için polar olmayan çözücülerin eklenmesini gerektirir, ancak yüksek polariteye sahip pestisitlerin çoğu içinde ayrılmaz. Örneklerin asetonitril ekstraktı, etil asetat ve aseton ekstraktından daha az interferans madde içerir, asetonitril sudan oldukça kolay bir şekilde ayrıştırılabilmektedir. Bundan dolayı QuEChERS metodunda MeCN tercih edilen bir çözücüdür (Wilkowska ve Biziuk, 2011).

Anastassiades vd. (2003) ilk asetonitril çözücüsünü kullanarak, farklı ayırıştırma, clean-up adımları ile Mills prosedürünü basitçe değiştirmiştir. Başlangıçta QuEChERS, pestisit kalıntısı analizlerine özgü bir "yöntem" olmakla beraber sonraları çok esnek olması nedeniyle sadece pestisit kalıntıları için değil, birçok yöntemde kullanılan bir "yaklaşım" olarak gelişmiştir. QuEChERS yöntemi ile, bir santrifüj tüpü içinde çözücü (asetonitril) ile çalkalanarak iyi homojenleştirilir, su içeriği ortamdan Magnezyum

sülfat ( $MgSO_4$ ) ve Sodyum klorür ( $NaCl$ ) gibi tuzlarla uzaklaştırılır ve co-extractive'ler (ekstraksiyon çözücüsüne geçen matris bileşenleri) farklı adsorbanlar (primer/sekonder aminler, C18 vb.) tarafından tutulur (clean-up) ve analitler "dağıtıcı katı-faz ekstraksiyonu" (dSPE) ile ekstraktta kalmaktadır. Şekil 3'te orijinal QuEChERS yöntemi ve 2 resmi versiyonunun analiz basamakları ve kullanılan çözücü ile kimyasallar sırasıyla özetlenmiştir. Geri kazanım çalışması yapılacak ise örnek tartımından sonra fortifikasyon solüsyonu eklenir ve 15 dakika pestisitlerin örneğe nüfuz etmesi için beklenir.



**Şekil 3.** Orijinal QuEChERS metodu ve 2 versiyonunun işlem akış şemaları (Anastassiades vd., 2003; Lehotay vd., 2005; Anastassiades vd., 2007).

#### 2.5.4. QuEChERS yönteminin versiyonları

İleri düzey araştırmalarda, orijinal QuEChERS yönteminde bazı pestisitlerin stabilitesinin daha düşük olduğu ve/veya geri kazanım verimlerinin pH'a bağlı olduğu belirlenmiştir (Lehotay, 2007). QuEChERS yöntemini geliştiren ekip, ekstraksiyon sırasında pH'ın 3-5 aralığında tutulmasının, pH'a duyarlı bazı pestisitler (örneğin, pymetrozine, imazalil, thiabendazole) için matris yapısından bağımsız olarak kabul edilebilir düzeyde geri kazanım (>%70) sağladığını ortaya koymuştur. Bu doğrultuda, yöntemin geliştiricilerinden Anastassiades ve Lehotay, farklı modifikasyonlar üzerine çalışmalar yapmaya yönelmişlerdir. Lehotay vd. (2010) nispeten

Anastassiades vd. (2003) daha zayıf sitrat tamponlama koşullarını kullanmayı tercih etmişlerdir. Sonuç olarak Lehotay vd. (2005) ortaya koyduğu asetat tamponlama versiyonu “AOAC Official Method 2007.01” kullanılmaya başlanmıştır.

Meyve ve Sebzelerde kalıntı Analizi için Orijinal QuEChERS güçlü asetat tamponlama koşullarını geliştirerek yöntemi güncellemişlerdir (Lehotay vd., 2005). Modifikasyon sorunlu pestisitlerin analizinde (örn. folpet, diklofluanid, klorotalonil ve pymetrozine) ekstraksiyon sürecinde asetik asit (HAc) ile yapılmıştır. Metot örneğin %1’lik HAc içeren asetonitril (MeCN) ile ekstraksiyonu ve susuz  $MgSO_4$  ve sodyum asetat (NaAc) ile aynı zamanda sıvı-sıvı ayrıştırmayı içermektedir. Her gram örnek başına 1 ml %1 HAc içeren MeCN, 0,1 g susuz NaAc ve 0,4 g susuz  $MgSO_4$  ile ekstraksiyon yapılır. Santrifuj işleminden sonra clean-up işlemine geçilir. Bir kısım ekstrakt, her mililitresi için 50 mg PSA sorbenti ve 150 mg susuz  $MgSO_4$  içeren santrifuj tüpüne aktarılır. Tekrar santrifuj edilir. Daha sonraları ekstrakttaki lipid kısımlarını uzaklaştırmak için PSA ya ilaveten C18 sorbenti önerilmiştir. Bu modifiye edilen QuEChERS versiyonu analiz basamakları Şekil 3’te özetlenmiştir. Sonra da LC-MS/MS sisteminde kromatografik analizler yapılır. GC/MS analizi için çözücü toluene çevrilmelidir.

Bu modifikasyon da orijinal örneğin pH’ından bağımsız olarak buffer çözeltisi (asetik asit) kullanarak MECN ekstraktında pH<4, su fazında ise >5 olmuştur, ki bunlar geri kazanımı artırır. Bu modifiye metot farklı örnek matrislerinde 32 pestisit için değerlendirilmiş ve %95±10 geri kazanım elde edilmiştir. Lehotay vd. (2005) tarafından yapılan bu asetat tamponlama modifikasyonu, daha sonra AOAC Official Method 2007.01 resmi metodu olarak kabul edilmiş ve yayınlanmıştır (Lehotay, 2007).

Bu yöntem, Avrupa’da yaygın olarak kullanılan diğer yöntemlere kıyasla %95 oranında çözücü, %95 oranında sarf malzeme maliyeti ve %90 oranında zaman tasarrufu sağlamaktadır. Ayrıca, çok sayıda pestisit ekstrasksiyonunu mümkün kılması (MRM), çeşitli matrislerde kullanılabilmesi ve hem GC/MS/MS hem de LC-MS/MS sistemlerine uygunluğu sayesinde yüksek

seçicilik ve hassasiyet sunmaktadır. AOAC Official Method 2007.01 versiyonu çok çeşitli gruplardaki sebze ve meyvelerde güvenle kullanılmaktadır (Omeroglu vd., 2012; Randhawa vd., 2014; Polat ve Tiryaki, 2019; Polat ve Tiryaki, 2020; Polat, 2021; Azar ve Kumral, 2022; Omeroglu vd., 2022; Acoğlu ve Ömeroğlu, 2023; Balkan ve Karaağaçlı, 2023; Tiryaki ve Polat, 2023; Ünlü vd., 2023; Özbek vd., 2025).

Sitrat tamponlama versiyonu ise “European Committee for Standardization (CEN) Standard Method EN 15662” olarak kabul edilmiştir (Anastassiades vd., 2007; Lehotay, 2011). Şekil 3’te görüldüğü gibi ekstraksiyon safhasında 10 mL MeCN ve 4 g susuz  $MgSO_4$ , 1,0 g  $Na_3Cit.2H_2O$ , 0,5 g  $Na_2Cit.5H_2O$  kullanılmaktadır. Pestisit kalıntı analizlerinde en çok kullanılan bu iki versiyon, günümüzde rutin çoklu pestisit analizlerinde yaygın olarak uygulanmaktadır (Anastassiades vd., 2007).

Metodun her iki versiyonunda çok fazla laboratuvar çalışması yapılmış, farklı matrislerde, farklı seviyelerde fortifikasyon yapılmış ve çok sayıda pestisit üzerinde ve GC-MS ve LC-MS/MS sistemlerinde analizler yapılmıştır. Tablo 1’de her iki versiyonun farklılıkları özetlenmiştir. Ayrıca Tablo 2’de de pestisit kalıntılarının analizi için QuEChERS prosedürü ile ilgili yapılan çalışmalar geniş bir şekilde özetlenmiştir.

**Tablo 1.** AOAC Official Metot 2007.01 ve Standart Metot EN 15662 farkları

| Metot         | Örnek Miktarı | Çözücü                                      | Ekstrasksiyon reagentleri |
|---------------|---------------|---------------------------------------------|---------------------------|
| AOAC Official | 15 g          | 15 mL %1’lik asetik asit içeren asetonitril | 6 g susuz $MgSO_4$        |
| Metot 2007.01 |               |                                             | 1,5 g susuz sodyum asetat |
|               |               |                                             | 4 g susuz $MgSO_4$        |
| CEN Metot     | 10 g          | 10 mL asetonitril                           | 1 g $Na_3Cit.2H_2O$       |
| 15662         |               |                                             | 0,5 g $Na_2Cit.5H_2O$     |

**Tablo 2.** QuEChERS analiz metodu ile farklı kimyasal gruplardaki pestisit kalıntılarının analizi için yapılan çalışmalar

| Örnek             | Etken madde                          | Kromatografi tekniği | Geri kazanım % | LOQ, µg/kg (µg/L) | Literatür                  |
|-------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------|-------------------|----------------------------|
| Toprak            | 16 herbisit 2 fungisit 6 insektisit  | HPLC-MS/MS, GC-MS    | 27,3-121       | 0,3-125           | Lesueur vd., 2008          |
| Toprak            | 19 insektisit 1 fungisit             | GC-MS/MS             | 70-100         | 0,1-1,6           | Rashid vd., 2010           |
| Toprak            | 3 fungisit, 1 insektisit, 1 herbisit | HPLC-MS/MS           | 70-118         | 10-50             | Caldas vd., 2011           |
| Toprak            | 19 insektisit 14 fungisit 3 herbisit | GC-MS/MS             | 70-120         | 10                | Fernandes vd., 2013        |
| Toprak            | 10 herbisit 4 insektisit 3 fungisit  | HPLC-MS/MS           | 70-120         | 0,1-100           | DeOliveira vd., 2014       |
| Toprak            | 58 pestisit                          | GC-MS/MS             | 69-119         | 0,1-5             | Yu vd., 2016               |
| Toprak            | 4 herbisit                           | HPLC-MS/MS           | 80-110         | 2,4-6             | Pang vd., 2016             |
| Toprak            | 2 mollussisit                        | HPLC-MS/MS           | 90-101         | 10-200            | Dong vd., 2017             |
| Toprak            | 6 herbisit                           | GC-MS/MS             | 87-108         | 0,8-2,2           | Yang vd., 2019             |
| Biber             | 3 insektisit                         | LC-MS/MS             | 78,0-115,5     | 2-10              | Polat ve Tiryaki, 2020     |
| Hıyar             | 4 insektisit                         | LC-MS/MS             | 84,1-107       | 1-10              | Çatak ve Tiryaki, 2020     |
| Şeftali           | 2 fungisit 1 insektisit              | LC-MS/MS             | 11,4-113,6     | 1-2               | Dülger ve Tiryaki, 2021    |
| Üzüm              | 2 insektisit 1 fungisit              | LC-MS/MS             | 85,8-133,2     | 1-20              | Duman ve Tiryaki, 2022     |
| Toprak            | 94 pestisit                          | GC-MS/MS             | 70-117         | 5-14              | Slowik-Borowiec vd., 2022  |
| Limon             | 3 insektisit                         | LC-MS/MS             | 83-103         | 0,01              | Açoğlu ve Ömeroğlu, 2023   |
| Tropikal meyveler | 301 pestisit                         | LC-MS/MS, GC-MS      | 70,9119,6      | 1,8-9,9           | Balkan ve Karaağaçlı, 2023 |
| Toprak            | 1 fungisit                           | HPLC-MS/MS           | 97-102         | 0,2               | Han vd., 2022              |
| Sediment, su      | 40 insektisit 8 fungisit             | LC-MS/MS             | 60,0-110,6     | 1-20              | Top vd., 2023              |
| Toprak            | 36 fungisit                          | LC-MS/MS             | 64,2-101,8     | 1-2               | Polat ve Tiryaki, 2023     |
| Nektarin          | 12 insektisit                        | LC-MS/MS             | 65,2-115,3     | 1-5               | Serbes ve Tiryaki, 2023    |
| Kan               | 11 insektisit 1 metabolit            | UPC-Q-E Or-MS        | 78,3-119,9     | 0,05-1            | Zhang vd., 2023            |
| Toprak            | 8 herbisit                           | LC-MS/MS             | 72,1- 101,0    | 1-2               | Polat ve Tiryaki, 2024     |
| İncir             | 3 insektisit                         | LC-MS/MS             | 3,2 -119,6     | 4,1-6,9           | Yelaldı vd., 2024          |
| Kan, ürün         | 7 pestisit, 4 metabolit              | LC-QToF-MS           | 75,4- 113,5    | 0,8-7,0           | Lahane vd., 2025           |
| Toprak            | 20 insektisit                        | LC-MS/MS             | 60,5 -115,5    | 1-10              | Polat ve Tiryaki, 2025     |
| Kan               | 74 pestisit                          | HPLC-MS/MS           | 70,0- 122,4    | 0,004-0,057       | Salari vd., 2025           |

Orijinal QuEChERS yöntemi ve diğer iki versiyonunda, ekstraksiyon ve temizleme aşamalarında kullanılan kimyasalların (reaktifler ve sorbentler) her biri farklı istenmeyen bileşikleri (co-extractives) uzaklaştırır. Bu durum şu şekilde özetlenebilir:

**Ucu kapaklı C18 (Endcapped C18):** Uzun zincirli yağlı bileşikler, steroller ve non-polar interferansları uzaklaştırır.

**Grafitleştirilmiş Karbon Siyahı (Graphitized Carbon Black, (GCB):** Polifenoller, pigmentler ve diğer polar bileşikler uzaklaştırmak için kullanılır. Ancak, bu polar aromatik pestisitlerin de uzaklaştırılmasına neden olabilir.

**MgSO<sub>4</sub>:** Organik fazdan suyun uzaklaşmasını sağlar.

**Primer Sekonder Amin (Primary Secondary Amine, PSA):** Yağları, yağ asitlerini, organik asitleri, şekerleri ve bazı pigmentleri uzaklaştırır. C18 ile birlikte kullanıldığında daha fazla sterol ve yağın uzaklaşmasını sağlar.

QuEChERS yöntemi, laboratuvar koşullarına, mevcut analitik teknik ve cihazlara, analiz edilen analitin özelliklerine ve matris yapısına bağlı olarak modifikasyon yapılabilen oldukça esnek bir yaklaşımdır. Nitekim toprak örneklerinde de bu yöntemin kullanılabilirliği çeşitli araştırmacılarca ortaya konmuştur. Bu yöntemin sadece toprakta değil aynı zamanda toprak sediment ve su örneklerinde de pestisit analizlerinde etkili olduğu kanıtlanmıştır. Toprak analizleri için de Official AOAC 2007 versiyonu kullanılmaktadır (Lesueur vd., 2008; Nagel, 2009; Yang vd., 2010; Brondi vd., 2011; Temur vd., 2012; Zaidon vd., 2019; Balkan, 2021; Vickneswaran vd., 2021; Polat ve

Tiryaki, 2022; Kaur vd., 2023; Polat ve Tiryaki, 2023; Top vd., 2023; Mangold vd., 2024; Polat ve Tiryaki, 2024; Mariappan ve Tamilarasan, 2025; Polat ve Tiryaki, 2025). Ayrıca QuEChERS yöntemi günümüzde biyolojik örneklerde (kan, idrar vb.) yaygın olarak kullanılmaktadır (Iqbal vd., 2020; Zhang vd., 2023; Rivai vd., 2025). Zhang vd. (2023), insan kan örneğinde 10 adet neonicotinoid insektisit ve bir adet 6-chloronicotinic asit metaboliti için QuEChERS yönteminde geri kazanımın %78,3-119,9 olduğunu bildirmiştir.

QuEChERS analiz metodunun avantajları şöyle özetlenebilir;

- Basit ekipmanlarla kolay kullanım sağlar: QuEChERS yöntemi, karmaşık ve pahalı laboratuvar ekipmanlarına ihtiyaç duymadan uygulanabilir. Bu, yöntemin laboratuvarlarda yaygın olarak kullanılmasını kolaylaştırır.
- Asetonitril çözücüsünün personelle kontaminasyonu minimum düzeydedir: Asetonitril, QuEChERS yönteminde kullanılan ana çözücüdür. Bu yöntemde, çözücü ile doğrudan temas en aza indirildiği için laboratuvar personelinin maruz kalma riski düşer.
- Klor içermeyen çözücüler kullanılır: QuEChERS yöntemi, çevreye ve insan sağlığına daha az zararlı olan klor içermeyen çözücüler kullanır. Bu, yöntemin daha çevre dostu olmasını sağlar.
- Düşük kirlilik ve düşük maliyetle yüksek doğruluk sağlar: QuEChERS yöntemi, düşük miktarda kimyasal kullanımı ve basit prosedürleri sayesinde düşük maliyetlidir. Aynı zamanda, yüksek doğruluk ve güvenilirlik sunar.
- Hızlı analiz imkanı sunar: QuEChERS yöntemi, hızlı ve verimli bir şekilde sonuç alınmasını sağlar. Bu, özellikle yüksek numune hacimlerinde analiz yapılması gereken durumlarda büyük bir avantajdır.
- Hem polar hem de polar olmayan pestisitlerde yüksek geri kazanım oranı sağlar: QuEChERS yöntemi hem polar hem de polar olmayan pestisitlerin yüksek geri kazanım oranlarıyla analiz edilmesine olanak tanır. Bu, yöntemin geniş bir

pestisit yelpazesi için uygun olmasını sağlar.

- Farklı sınıflardan (multi-class) pestisitlerin aynı anda çoklu kalıntı analizine (MRM) uygundur: QuEChERS yöntemi, farklı kimyasal sınıflardan pestisitlerin aynı anda analiz edilmesine olanak tanır. Bu, yöntemin çok yönlülüğünü ve etkinliğini artırır.

### 3. Sonuç

Tarım ürünlerimizde pestisit kalıntıları sık sık gündeme gelmektedir. Bunun için çoklu pestisitlerin kalıntı analiz yöntemine (MRM) daha fazla dikkat edilmektedir. QuEChERS yöntemi ilk olarak meyve ve sebzelere uygulanmış ve o zamandan beri, önemli gelişmelerin çoğu diğer matrislerden önce bu matrisler için geliştirilmiştir. QuEChERS metodunun 20. yüzyılın başlarında kullanılması ile çok farklı sınıflardan pestisit kalıntı analizi alanına yenilik getirmiştir.

Şekil 3'te özetlenen 3 esas QuEChERS versiyonu, kısa çalışma süresi, basitliği ve düşük maliyeti nedeniyle sebze, meyve, toprak, sediment, su ve kan örneklerinde çok sınıflı pestisit kalıntılarının eşzamanlı analizi için başarıyla uygulanmıştır. QuEChERS yöntemi, toksik çözücüler ve kimyasallara olan ihtiyacı azalttığı ve çok daha az atık ürettiği için yeşil kimya ile de uyumludur. Ayrıca, çok çeşitli örnek kombinasyonlarına kolayca uyarlanması ile pestisitler için daha yüksek geri kazanım oranları elde edilmiştir. QuEChERS, sadece pestisitler için değil, topraktaki antibiyotikler, şarap, et ve diğer kirleticilerin tespiti gibi giderek daha fazla alanı kapsayarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bu derleme çalışmasında geleneksel analiz yöntemlerine göre (Mills, Luke ile Spetch ve Tilkes yöntemleri) QuEChERS in avantajları belirtilmiştir. QuEChERS yöntemi, oldukça esnek bir yapıya sahiptir ve laboratuvar koşullarında mevcut analitik teknikler, cihazlar, analitin özellikleri ve matris yapısı gibi faktörlere göre modifiye edilebilir. İlk olarak taze sebze ve meyveler için geliştirilen bu yöntem, küçük değişikliklerle kuru gıda örnekleri, toprak ve su matrislerindeki pestisit analizleri için de uygun hale getirilmiştir.

#### 4. Kaynaklar

- Abbott, A. P., Boothby, D., Capper, G., Davies, D. L. and Rasheed, R. K. (2004). Deep Eutectic Solvents formed between choline chloride and carboxylic acids: Versatile alternatives to ionic liquids. *Journal of the American Chemical Society*, 126(29), 9142–9147.
- Ahlawat, Y. K., Yadav, K., Samani, M. and Chaudhary, D. (2024). Harnessing In-Vitro Propagation for the Sustainable Conservation of Medicinal Plants: Challenges and Prospects, *Medicinal and Aromatic Plants*, 27–37, Retrieved from [https://doi.org/10.1007/978-3-031-60117-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-031-60117-0_3).
- Ahmad Khan, M. S. and Ahmad, I. (2019). Herbal Medicine: Current Trends and Future Prospects. *New Look to Phytomedicine: Advancements in Herbal Products as Novel Drug Leads*, 3–13.
- Ahmadi, N., Mosleh, N., Yeganeh, M., Ahmadi, N., Malakouti, S., Shahsavari, S., ... and Bagheri, K. (2024). Procedures to evaluate potential of plants as natural food preservatives: Phytochemical characterization, novel extraction technology, and safety evaluation—A comprehensive review. *Food Science & Nutrition*, 12(9), 6142–6156.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G. and Lightfoot, D. A. (2017). Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants*, 6(4), 42.
- Anastas, P. T. and Williamson, T. C. (1996). Green Chemistry: An Overview. *ACS Symposium Series*, 626, 1-17.
- Arnold, M. and Gramza-Michalowska, A. (2023). Recent Development on the Chemical Composition and Phenolic Extraction Methods of Apple (*Malus domestica*)—A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 17(9), 2519–2560.
- Asimuddin, M., Shaik, M. R., Adil, S. F., Siddiqui, M. R. H., Alwarthan, A., Jamil, K. and Khan, M. (2020). *Azadirachta indica* based biosynthesis of silver nanoparticles and evaluation of their antibacterial and cytotoxic effects. *Journal of King Saud University - Science*, 32(1), 648–656.
- Badjona, A., Bradshaw, R., Millman, C., Howarth, M. and Dubey, B. (2024). Structural, thermal, and physicochemical properties of ultrasound-assisted extraction of faba bean protein isolate (FPI). *Journal of Food Engineering*, 377, 112082.
- Baiano, A. and Fiore, A. (2024). Enzymatic-Assisted Recovery of Antioxidants from Chicory and Fennel by-Products. *Waste and Biomass Valorization*, 16, 957–969. Retrieved from <https://doi.org/10.1007/s12649-024-02723-w>
- Barani, M., Sangiovanni, E., Angarano, M., Rajizadeh, M. A., Mehrabani, M., Piazza, S., ... and Nematollahi, M. H. (2021). Phytosomes as innovative delivery systems for phytochemicals: A comprehensive review of literature. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 6983–7022.
- Benítez-Correa, E., Bastías-Montes, J. M., Nelson, S. A., Iznaga, T. B., Wong, M. P. and Muñoz-Fariña, O. (2024). Improving the Composition and Bioactivity of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) Bean Shell Extract by Choline Chloride-Lactic Acid Natural Deep Eutectic Solvent Extraction Assisted by Pulsed Electric Field Pre-Treatment. *Plant Foods for Human Nutrition*, 79(2), 351–358.
- Bitwell, C., Indra, S. Sen, Luke, C. and Kakoma, M. K. (2023). A review of modern and conventional extraction techniques and their applications for extracting phytochemicals from plants. *Scientific African*, 19, e01585 Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2023.e01585>.
- Bombana, V. B., do Nascimento, L. H., Rigo, D., Fischer, B., Colet, R., Paroul, N., ... and Toniazzo Backes, G. (2023). Extraction by maceration, ultrasound, and pressurized liquid methods for the recovery of anthocyanins present in the peel of guabiju (*Myrcianthes pungens*): Maximizing the extraction of anthocyanins from the peel of guabiju. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 36, 101264.
- Boncan, D. A. T., Tsang, S. S. K., Li, C., Lee, I. H. T., Lam, H. M., Chan, T. F. and Hui, J. H. L. (2020). Terpenes and Terpenoids in Plants: Interactions with Environment and Insects. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(19), 7382.

- Brewer, L. R., Kubola, J., Siriamornpun, S., Herald, T. J. and Shi, Y. C. (2014). Wheat bran particle size influence on phytochemical extractability and antioxidant properties. *Food Chemistry*, 152, 483–490.
- Cannavacciuolo, C., Pagliari, S., Celano, R., Campone, L. and Rastrelli, L. (2024). Critical analysis of green extraction techniques used for botanicals: Trends, priorities, and optimization strategies-A review. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 173, 117627.
- Cao, D., Qiao, X., Guo, Y. and Liu, P. (2024). Valorization of pawpaw (*Carica papaya* L.) leaves as a source of polyphenols by ionic liquid-based microwave-assisted extraction: Comparison with other extraction methods and bioactivity evaluation. *Food Chemistry: X*, 22, 101500.
- Cappellini, F., Marinelli, A., Toccaceli, M., Tonelli, C. and Petroni, K. (2021). Anthocyanins: From Mechanisms of Regulation in Plants to Health Benefits in Foods. *Frontiers in Plant Science*, 12, 748049.
- Carvalho, I. S., Cavaco, T., Carvalho, L. M. and Duque, P. (2010). Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves. *Food Chemistry*, 118(2), 384–390.
- Cassani, L., Silva, A., Carpena, M., Pellegrini, M. C., García-Pérez, P., Grosso, C., ... and Prieto, M. A. (2024). Phytochemical compounds with promising biological activities from *Ascophyllum nodosum* extracts using microwave-assisted extraction. *Food Chemistry*, 438, 138037.
- Chakka, A. K. and Babu, A. S. (2022). Bioactive Compounds of Winery by-products: Extraction Techniques and their Potential Health Benefits. *Applied Food Research*, 2(1), 100058.
- Chen, Y. and Mu, T. (2021). Revisiting greenness of ionic liquids and deep eutectic solvents. *Green Chemical Engineering*, 2(2), 174–186.
- Chen, Y. and Yu, Z. (2024). Low-melting mixture solvents: extension of deep eutectic solvents and ionic liquids for broadening green solvents and green chemistry. *Green Chemical Engineering*, 5(4), 409–417.
- Chiocchio, I., Mandrone, M., Tomasi, P., Marincich, L. and Poli, F. (2021). Plant Secondary Metabolites: An Opportunity for Circular Economy. *Molecules*, 26(2), 495. Retrieved from <https://doi.org/10.3390/molecules26020495>
- Choi, Y. H. and Verpoorte, R. (2019). Green solvents for the extraction of bioactive compounds from natural products using ionic liquids and deep eutectic solvents. *Current Opinion in Food Science*, 26, 87–93.
- Cosme, P., Rodríguez, A. B., Espino, J. and Garrido, M. (2020). Plant Phenolics: Bioavailability as a Key Determinant of Their Potential Health-Promoting Applications. *Antioxidants*, 9(12), 1263.
- Deans, B. J., Just, J., Smith, J. A. and Bissember, A. C. (2020). Development and Applications of Water-based Extraction Methods in Natural Products Isolation Chemistry. *Asian Journal of Organic Chemistry*, 9(8), 1144–1153.
- Demoliner, F., de Carvalho, L. T., de Liz, G. R., Prudêncio, E. S., Ramos, J. C., Bascuñan, V. L. A. F., ... and Block, J. M. (2020). Improving the nutritional and phytochemical compounds of a plant-based milk of sapucaia nut cake using block freeze concentration. *International Journal of Food Science & Technology*, 55(8), 3031–3042.
- Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A. and Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S1193–S1199.
- Dheyab, A. S., Bakar, M. F. A., Alomar, M., Sabran, S. F., Hanafi, A. F. M. and Mohamad, A. (2021). Deep Eutectic Solvents (DESs) as Green Extraction Media of Beneficial Bioactive Phytochemicals. *Separations*, 8(10), 176.
- El-Saadony, M. T., Yang, T., Korma, S. A., Sitohy, M., Abd El-Mageed, T. A., Selim, S., ... and Saad, A. M. (2023). Impacts of turmeric and its principal bioactive curcumin on human health: Pharmaceutical, medicinal, and food applications: A comprehensive review. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1040259.

- Elmehbad, N. Y. and Mohamed, N. A. (2020). Designing, preparation and evaluation of the antimicrobial activity of biomaterials based on chitosan modified with silver nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 151, 92–103.
- Ermış, Ö., Kasma, C., Kıbııcı, D. ve Kahveci, D. (2018). Sulu Enzimatik Ekstraksiyon ile Fındık Yağında Verim ve Kalitenin Geliştirilmesi. *Akademik Gıda*, 16(3), 301–306.
- Fagbemi, K. O., Aina, D. A., and Olajuyigbe, O. O. (2021). Soxhlet Extraction versus Hydrodistillation Using the Clevenger Apparatus: A Comparative Study on the Extraction of a Volatile Compound from *Tamarindus indica* Seeds. *The Scientific World Journal*, 1, 5961586.
- Gbashi, S., Njobeh, P., Steenkamp, P., Tutu, H. and Madala, N. (2016). The effect of temperature and methanol-water mixture on pressurized hot water extraction (PHWE) of anti-HIV analogues from *Bidens pilosa*. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 1–12.
- Gori, A., Boucherle, B., Rey, A., Rome, M., Fuzzati, N. and Peuchmaur, M. (2021). Development of an innovative maceration technique to optimize extraction and phase partition of natural products. *Fitoterapia*, 148, 104798.
- Grisales-Mejía, J. F., Álvarez-Rivera, G., Torres-Castañeda, H. G., Andrade-Mahecha, M. M., Martínez-Correa, H. A., Mendiola, J. A., ... and Ibañez, E. (2024). Hass Avocado (*Persea americana* Mill.) residues as a new potential source of neuroprotective compounds using pressurized liquid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, 204, 106117.
- Guo, T., Hao, Q., Nan, Z., Wei, C., Liu, J., Huang, F. and Wan, C. (2022). Green extraction and separation of *Dendranthema indicum* essential oil by supercritical carbon dioxide extraction combined with molecular distillation. *Journal of Cleaner Production*, 376, 134208.
- Gündüz, M. ve Çiçek, Ş. K. (2024). Fenolik bileşiklerin ekstraksiyon yöntemleri ve doğal içerik olarak kullanımı. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, 32, 37–47.
- Häckl, K. and Kunz, W. (2018). Some aspects of green solvents. *Comptes Rendus Chimie*, 21(6), 572–580.
- Hamany Djande, C. Y., Piater, L. A., Steenkamp, P. A., Madala, N. E. and Dubery, I. A. (2018). Differential extraction of phytochemicals from the multipurpose tree, *Moringa oleifera*, using green extraction solvents. *South African Journal of Botany*, 115, 81–89.
- Hernández-Reyes, A., Guzmán-Albores, J. M., De León-Rodríguez, A., Ruiz-Valdiviezo, V. M., Rodríguez-Ortiz, L. R. and Barba-De la Rosa, A. P. (2024). Toxicological and Sedative Effects of Chipilin (*Crotalaria longirostrata*) Leaf Extracts Obtained by Maceration and Supercritical Fluid Extraction. *ACS Omega*, 9(17), 18862–18871.
- Hong Geow, C., Ching Tan, M., Pin Yeap, S., Ling Chin, N., Geow, C. H., Tan, M. C., ... and Chin, N. L. (2021). A Review on Extraction Techniques and Its Future Applications in Industry. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 123(4), 2000302.
- Ingle, K. P., Deshmukh, A. G., Padole, D. A., Dudhare, M. S., Moharil, M. P. and Khelurkar, V. C. (2017). Phytochemicals: Extraction methods, identification and detection of bioactive compounds from plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 6(1), 32–36.
- Jabłonowska, M., Ciganović, P., Jablan, J., Marguí, E., Tomczyk, M. and Zovko Končić, M. (2021). *Silybum marianum* glycerol extraction for the preparation of high-value anti-ageing extracts. *Industrial Crops and Products*, 168, 113613.
- Kamal, H., Ali, A., Manickam, S. and Le, C. F. (2023). Impact of cavitation on the structure and functional quality of extracted protein from food sources – An overview. *Food Chemistry*, 407, 135071.
- Kasmi, S., Hamdi, A., Atmani-Kilani, D., Debbache-Benaida, N., Jaramillo-Carmona, S., Rodríguez-Arcos, R., ... and Guillén-Bejarano, R. (2021). Characterization of phenolic compounds isolated from the *Fraxinus angustifolia* plant and several associated bioactivities. *Journal of Herbal Medicine*, 29, 100485.

- Ketsuwan, N., Leelarungrayub, J., Kothan, S. and Singhatong, S. (2017). Antioxidant compounds and activities of the stem, flower, and leaf extracts of the anti-smoking Thai medicinal plant: *Vernonia cinerea* Less. *Drug Design, Development and Therapy*, 11, 383–391.
- Kumar, A., Nirmal, P., Kumar, M., Jose, A., Tomer, V., Oz, E., ... and Oz, F. (2023a). Major Phytochemicals: Recent Advances in Health Benefits and Extraction Method. *Molecules*, 28(2), 887.
- Kumar, M., Barbhai, M. D., Puranik, S., Radha, Natta, S., Senapathy, M., ... and Lorenzo, J. M. (2023b). Combination of green extraction techniques and smart solvents for bioactives recovery. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 169, 117286.
- Kutlu, N., Yeşilören, G., İşci, A. ve Şakıyan, Ö. (2017). Konvansiyonel Ekstraksiyona Alternatif: Yeşil Teknolojiler. *Gıda*, 42(5), 514–526.
- Lasrichan, S., Janssen, A. E. M. and Boom, R. (2024). Contribution of sequential pretreatments and enzyme-assisted extraction to rice bran protein yield improvement. *Journal of Cereal Science*, 118, 103970.
- Li, W., Fan, Y., Zhang, S., Li, J., Zhang, L. and Wu, H. (2021). Extraction of rosmarinic acid from *Perilla* seeds using green protic ionic liquids. *Microchemical Journal*, 170, 106667.
- Li, Y., Yang, Z., Jin, C., Liu, Y., Zhang, Y., Ma, X., ... and Sheng, Q. (2024). Akebia fruit: A review on its extraction, phytochemicals, bioactivities and applications. *eFood*, 5(2), e142.
- Lourenço, S. C., Moldão-Martins, M. and Alves, V. D. (2019). Antioxidants of Natural Plant Origins: From Sources to Food Industry Applications. *Molecules*, 24(22), 4132.
- Lv, J., Yu, L., Lu, Y., Niu, Y., Liu, L., Costa, J. and Yu, L. (2012). Phytochemical compositions, and antioxidant properties, and antiproliferative activities of wheat flour. *Food Chemistry*, 135(2), 325–331.
- Mabate, B. and Pletschke, B. I. (2024). Sequential and enzyme-assisted extraction of algal bioproducts from *Ecklonia maxima*. *Enzyme and Microbial Technology*, 173, 110364.
- Machado, T. de O. X., Portugal, I., Kodel, H. de A. C., Fathi, A., Fathi, F., Oliveira, M. B. P. P., ... and Souto, E. B. (2024). Pressurized liquid extraction as an innovative high-yield greener technique for phenolic compounds recovery from grape pomace. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 40, 101635.
- Mehta, D., Kuksal, K., Yadav, K., Kumar Yadav, S., Zhang, Y. and Hariram Nile, S. (2024). Ultrasound-assisted extraction and encapsulation of betalain from prickly pear: Process optimization, in-vitro digestive stability, and development of functional gummies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 108, 106975.
- Mickky, B., Elsaka, H., Abbas, M., Gebreil, A. and Shams Eldeen, R. (2024). Orange peel-mediated synthesis of silver nanoparticles with antioxidant and antitumor activities. *BMC Biotechnology*, 24(1), 66.
- Mišan, A., Nađpal, J., Stupar, A., Pojić, M., Mandić, A., Verpoorte, R. and Choi, Y. H. (2020). The perspectives of natural deep eutectic solvents in agri-food sector, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(15), 2564-2592. Retrieved from <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1650717>.
- Mollik, M., Sadiqur Rahman, M., Ali Khan, A., Malik, A., Kumar Mondal, T., Rabiul Islam, M., ... and Papadakis, M. (2024). Investigation of in-vitro hypoglycaemic activity of the different fractions of black pepper (*Piper nigrum*). *Results in Chemistry*, 11, 101780.
- Morón-Ortiz, Á., Mapelli-Brahm, P., León-Vaz, A., Benitez-González, A. M., León, R. and Meléndez-Martínez, A. J. (2024). Ultrasound-assisted extraction of carotenoids from phytoene-accumulating *Chlorella sorokiniana* microalgae: Effect of milling and performance of the green biosolvents 2-methyltetrahydrofuran and ethyl lactate. *Food Chemistry*, 434, 137437.
- Mota-Morales, J. D., Sánchez-Leija, R. J., Carranza, A., Pojman, J. A., del Monte, F. and Luna-Bárcenas, G. (2018). Free-radical polymerizations of and in deep eutectic solvents:

Green synthesis of functional materials. *Progress in Polymer Science*, 78, 139–153.

Mungwari, C. P., King'onde, C. K., Sigauke, P. and Obadele, B. A. (2025). Conventional and modern techniques for bioactive compounds recovery from plants: Review. *Scientific African*, 27, e02509.

Nguyen, T. L., Ora, A., Häkkinen, S. T., Ritala, A., Räisänen, R., Kallioinen-Mänttari, M. and Melin, K. (2023). Innovative extraction technologies of bioactive compounds from plant by-products for textile colorants and antimicrobial agents. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(20), 24973–25002.

Nisar, A., Jagtap, S., Vyavahare, S., Deshpande, M., Harsulkar, A., Ranjekar, P. and Prakash, O. (2023). Phytochemicals in the treatment of inflammation-associated diseases: the journey from preclinical trials to clinical practice. *Frontiers in Pharmacology*, 14, 1177050.

O'Connell, K. C., Almeida, M. B., Nouwairi, R. L., Costen, E. T., Lawless, N. K., Charette, M. E., ... and Landers, J. P. (2024). Microwave-assisted extraction, separation, and chromogenic detection of laced marijuana for presumptive point-of-interdiction testing. *Lab on a Chip*, 24(18), 4403–4421.

Olaniyan, M. F., Olaniyi, O. D., Olaniyan, T. B., Akpoyovwere, O. J., Tijani, A. W., and Odegbemi, O. B. (2024). Immunosuppressive phytochemicals and phytonutrients in plants in Nigeria: a systematic review. *Discover Immunity*, 1(1), 1–17.

Özdemir, M. and Torun, M. (2024). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Antioxidants From the Hazelnut Skin: Optimization and Comparison With Conventional Method. *Gıda*, 49(2), 326–341.

Özdemir, M., Ak, İ., Coşkun, S. and Ünverdi, N. (2025). Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from plants. *Gıda ve Yem Bilimi - Teknolojisi Dergisi*, 35, 1–12.

Özdere, B., Ata, Ö., Kul, Ş. M., Berk, B. B., Tavman, Ş. and Kumcuoğlu, S. (2025). Extraction of Phenolic Compounds from Pomegranate Peels by Ultrasound Assisted Extraction and

Determination of Antioxidant Activities. *Akademik Gıda*, 23(1), 47–59.

Pagliari, S., Domínguez-Rodríguez, G., Cifuentes, A., Ibáñez, E., Labra, M. and Campone, L. (2024). Pressurized liquid extraction of glucosinolates from *Camelina sativa* L. Crantz by-products: Process optimization and biological activities of green extract. *Food Chemistry: X*, 22, 101324.

Patel, K., Kumar, V., Rahman, M., Verma, A. and Patel, D. K. (2018). New insights into the medicinal importance, physiological functions and bioanalytical aspects of an important bioactive compound of foods 'Hyperin': Health benefits of the past, the present, the future. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(1), 31–42.

Pereira-Filho, R. N., Gonçalves-Júnior, W. D., dos Santos-Neto, A. G., Cunha, J. L. S., de Almeida, O. P., Andrade, L. N., ... and de Albuquerque-Júnior, R. L. C. (2024). *Himatanthus bracteatus* stem bark ethanolic extract obtained by sequential pressurized liquid extraction: Chromatographic characterization and profiling of cytotoxic, antitumoral and immunopharmacological properties. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 15(3), 319-329. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2024.06.004>

Perna, F. M., Vitale, P. and Capriati, V. (2020). Deep eutectic solvents and their applications as green solvents. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 21, 27–33.

Pimentel-Moral, S., de la Luz Cádiz-Gurrea, M., Rodríguez-Pérez, C. and Segura-Carretero, A. (2020). Recent advances in extraction technologies of phytochemicals applied for the revaluation of agri-food by-products. *Functional and Preservative Properties of Phytochemicals*, 209–239. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818593-3.00007-5>

Plotka-Wasyłka, J., de la Guardia, M., Andruch, V. and Vilková, M. (2020). Deep eutectic solvents vs ionic liquids: Similarities and differences. *Microchemical Journal*, 159, 105539.

Prasad, W., Wani, A. D., Khamrui, K., Hussain, S. A. and Khetra, Y. (2022). Green solvents, potential

alternatives for petroleum based products in food processing industries. *Cleaner Chemical Engineering*, 3, 100052.

Putra, N. R., Aziz, A. H. A., Mamat, H., Rizkiyah, D. N., Yunus, M. A. C., Irianto, I. and Qomariyah, L. (2024). Green extraction of nutmeg (*Myristica fragrans*) phytochemicals: Prospective strategies and roadblocks. *Open Agriculture*, 9(1), 20220285. Retrieved from <https://doi.org/10.1515/opag-2022-0285>

Raghunath, S., Budaraju, S., Gharibzahedi, S. M. T., Koubaa, M., Roohinejad, S. and Mallikarjunan, K. (2023). Processing Technologies for the Extraction of Value-Added Bioactive Compounds from Tea. *Food Engineering Reviews*, 15(2), 276–308.

Ramadan M. F. (2023). Cardamom (*Elettaria cardamomum*): *Production, Processing and Properties*, Publisher Springer Cham. 219–226. Switzerland.

Ranasinghe, M., Sivapragasam, N., Mostafa, H., Airouyuwa, J. O., Manikas, I., Sundarakani, B., ... and Stathopoulos, C. (2024). Valorizing date seeds in biscuits: A novel approach to incorporate bioactive components extracted from date seeds using microwave-assisted extraction. *Resources, Environment and Sustainability*, 15, 100147.

Roohinejad, S., Koubaa, M., Barba, F. J., Greiner, R., Orlien, V. and Lebovka, N. I. (2016). Negative pressure cavitation extraction: A novel method for extraction of food bioactive compounds from plant materials. *Trends in Food Science & Technology*, 52, 98–108.

Saeed, K., Jahangir Chughtai, M. F., Khaliq, A., Liaqat, A., Mehmood, T., Zubair Khalid, M. and Kasongo, E. L. M. (2024). Impact of extraction techniques and process optimization on antioxidant and antibacterial potential of *Kalanchoe pinnata* leaf extract. *International Journal of Food Properties*, 27(1), 909–926.

Şahin, S. (2019). Tailor-designed deep eutectic liquids as a sustainable extraction media: An alternative to ionic liquids. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 174, 324–329.

Şahin, N. (2024). Enhancement of oleaster (*Elaeagnus angustifolia* L.) flour properties via instant controlled pressure drop (DIC) technique. *International Journal of Food Science and Technology*, 59(10), 7629–7638.

Sai-Ut, S., Kingwascharapong, P., Mazumder, M. A. R. and Rawdkuen, S. (2024). Optimization of microwave-assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from *Careya sphaerica* Roxb. flowers using response surface methodology. *Applied Food Research*, 4(1), 100379.

Sanjai, C., Gaonkar, S. L. and Hakkimane, S. S. (2024). Harnessing Nature's Toolbox: Naturally Derived Bioactive Compounds in Nanotechnology Enhanced Formulations. *ACS Omega*, 9(43), 43302–43318.

Shirahigue, L. D. and Ceccato-Antonini, S. R. (2020). Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. *Ciência Rural*, 50(4), e20190857.

Sinan, K. I., Martinović, L. S., Peršurić, Ž., Pavelić, S. K., Etienne, O. K., Mahomoodally, M. F., ... and Zengin, G. (2020). Novel insights into the biopharmaceutical potential, comparative phytochemical analysis and multivariate analysis of different extracts of shea butter tree -*Vitellaria paradoxa* C. F. Gaertn. *Process Biochemistry*, 98, 65–75.

Sinthusamran, S., Chotphrethipong, L., Benjakul, S., Hutamekalin, P., Champoochana, N., Senphan, T. and Nalinanon, S. (2024). Pulsed electric field-assisted extraction of Djenkol (*Archidendron pauciflorum*) peel: Characterization, suppression of intracellular ROS generation and inflammatory cytokines in LPS-activated RAW264.7 macrophage cells. *Applied Food Research*, 4(1), 100428.

Spain, O., Hardouin, K., Bourgougnon, N. and Michalak, I. (2024). Enzyme-assisted extraction of red seaweed *Solieria chordalis* (C.Agardh) J. Agardh 1842—the starting point for the production of biostimulants of plant growth and biosorbents of metal ions. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14(2), 1621–1635.

- Thai, L. Q., Niwat, C., Qin, S. and Konsue, N. (2024). Supercritical carbon dioxide and ethanol-assisted extraction of bioactive compounds from Bourbon, Catimor, and Caturra coffee pulp for maximized antioxidant and therapeutic properties. *Future Foods*, 9, 100381.
- Tian, B., Pei, Y., Huang, W., Ding, J. and Siemann, E. (2021). Increasing flavonoid concentrations in root exudates enhance associations between arbuscular mycorrhizal fungi and an invasive plant. *The ISME Journal*, 15(7), 1919–1930.
- Tienda-Vazquez, M. A., Perez-Herrera, M., Carrasco-Morales, O., Tellez-Perez, C., Alonzo-Macias, M. and Cardador-Martínez, A. (2024). Techno-functional properties of *Camelina sativa* cake proteins treated with the instant controlled pressure drop (DIC) technology. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 95, 103741.
- Torres-Ortiz, D., García-Alcocer, G., Berumen-Segura, L. C. and Estévez, M. (2024). Green extraction of secondary metabolites from plants: Obstacles, current status, and trends. *Sustainable Chemistry for the Environment*, 8, 100157.
- Valisakkagari, H., Chaturvedi, C. and Rupasinghe, H. P. V. (2024). Green Extraction of Phytochemicals from Fresh Vegetable Waste and Their Potential Application as Cosmeceuticals for Skin Health. *Processes*, 12(4).
- Vats, S. (2016). Effect of Initial Temperature Treatment on Phytochemicals and Antioxidant Activity of *Azadirachta indica* A. Juss. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(3), 504–512.
- Vishwanath, R. and Negi, B. (2021). Conventional and green methods of synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, 100205.
- Yonekura-Sakakibara, K., Higashi, Y. and Nakabayashi, R. (2019). The Origin and Evolution of Plant Flavonoid Metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 10, 468057.
- Yu, M., Gouvinhas, I., Chen, J., Zhu, Y., Deng, J., Xiang, Z., ... and Barros, A. (2024). Unlocking the therapeutic treasure of pomegranate leaf: A comprehensive review on phytochemical compounds, health benefits, and future prospects. *Food Chemistry: X*, 23, 101587.
- Zaid, N. A. M., Sekar, M., Bonam, S. R., Gan, S. H., Lum, P. T., Begum, M. Y., ... and Fuloria, S. (2022). Promising Natural Products in New Drug Design, Development, and Therapy for Skin Disorders: An Overview of Scientific Evidence and Understanding Their Mechanism of Action. *Drug Design, Development and Therapy*, 16, 23–66.
- Zayed, A., M. El-Seadawy, H., Attia, E. Z., I. Rushdi, M. and Abdelmohsen, U. R. (2024). Adopting biorefinery and a circular bioeconomy for extracting and isolating natural products from marine algae. *Frontiers in Natural Products*, 3, 1425242.
- Zhang, Q. W., Lin, L. G. and Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese Medicine (United Kingdom)*, 13(1), 1–26.
- Zhang, S., Xie, H., Huang, J., Chen, Q., Li, X., Chen, X., ... and Wang, L. (2024). Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from pine needles (*Pinus elliottii*): Comprehensive insights from RSM optimization, antioxidant activity, UHPLC-Q-Exactive Orbitrap MS/MS analysis and kinetic model. *Ultrasonics Sonochemistry*, 102, 106742.