

BİTKİ KAYNAKLI FENOLİK BİLEŞİKLERİN ULTRASONİK DALGA DESTEKLİ EKSTRAKSİYONU

Özge Algan Cavuldak¹, Nilüfer Vural², R. Ertan Anlı³

¹Bülent Ecevit Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Zonguldak

²Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Ankara

³Ankara Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Ankara

Geliş tarihi / *Received*: 02.10.2015

Düzeltilerek Geliş tarihi / *Received in revised form*: 24.11.2015

Kabul tarihi / *Accepted*: 10.12.2015

Özet

Bitki kaynaklı gıdalarda yaygın olarak bulunan fenolik bileşikler doğal renklendirici ve koruyucu olarak gıda endüstrisinde geniş çaplı kullanılmaktadır. Ayrıca, serbest radikal temizleme yeteneklerine bağlı olarak kalp damar hastalıkları ve kanser gibi kronik dejeneratif hastalıkların gelişimini önlemektedir. Günümüzde biyoaktif fonksiyonlarına bağlı olarak fenolik bileşiklerin tüketimine yönelik ciddi bir eğilim söz konusudur. Bu durum güçlü antioksidan özellik gösteren polifenollerin çeşitli bitkisel materyallerden eldesi amacıyla yeni tekniklerin araştırılmasına sebep olmuştur. Geleneksel ekstraksiyonun uzun zaman alması ve çok fazla çözücüye ihtiyaç duyulması nedeniyle ultrasonik dalga destekli ekstraksiyon uygulaması son yıllarda geniş çaplı olarak araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda bitkisel materyal ile etkileşime giren ses ötesi dalgaların materyalin fiziksel ve kimyasal özelliklerini değiştirerek ekstraksiyon veriminde ve ekstrakt kalitesinde artış sağladığı ortaya konmuştur. Bu çalışmada basit, hızlı, ucuz ve çevre dostu bir teknik olan ultrasonik dalga uygulaması ile fenolik bileşiklerin çeşitli bitkisel ürünlerden ekstraksiyonunun incelendiği araştırmalar derlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Ultrasonik ses dalgası, fenolik bileşikler, ekstraksiyon.

ULTRASOUND ASSISTED EXTRACTION OF PLANT-DERIVED PHENOLIC COMPOUNDS

Abstract

Phenolic compounds which are broadly distributed in plant-derived foods have been widely used as natural colorants and preservatives in food industry. They also prevent the development of chronic degenerative diseases such as cardiovascular disease and cancer depending on the free radical scavenging ability. Nowadays, there is a serious tendency towards the consumption of phenolic compounds due to their bioactive functions. This trend provided the investigation of new techniques to extract polyphenols which have strong antioxidant properties obtained from plant materials. Recently, ultrasound assisted extraction has been widely reported since the conventional extraction is time consuming and requires large amount of solvent. The literature demonstrates that ultrasound provides increased yield extraction and quality of extracts with changing physical and chemical properties of plant material. This paper reviewed the studies on the extraction of phenolic compounds from various plant products with ultrasound which is simple, quick, inexpensive and environment friendly technique.

Keywords: Ultrasonic sound waves, phenolic compounds, extraction.

*Yazışmalardan sorumlu yazar / *Corresponding author*;

✉ ozge.ac@beun.edu.tr, ☎ (+90) 372 643 6601,

☎ (+90) 372 643 6604

GİRİŞ

Fenolik bileşikler; gıdaların renk, tat, koku gibi organoleptik özellikleri ve besinsel kalitesi üzerine etkileri, gıdalarda doğal renklendirici ve doğal antioksidan olarak alternatif kullanımı (1) ve son yıllarda sağlık üzerine olumlu etkilerinin ortaya çıkarılması nedeniyle oldukça önemli bileşiklerdir. Gıdalarda ransit tat ve aroma oluşumu, renk değişimi, besin değerinde azalma ile raf ömrünü kısaltan oksidasyonun kontrolü için yapay antioksidanların kullanımının sağlığa zararlı etkilerinden dolayı doğal antioksidanların kullanımı (2) yaygın olarak araştırılmaktadır. Bununla birlikte polifenoller serbest radikalleri temizleyerek ve oksidatif stresi azaltarak çok sayıda hastalığın oluşumunu engellemektedir. Antioksidan aktiviteleri (3) yanında antimutajenik (4), antikarsinojenik (5), antibakteriyel (6), antiviral (7) antitümör (8), antiinflamatuvar (9) özelliklere sahip olan fenolik bileşiklerin yeterli miktarda tüketiminin kanser, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıkların oluşum riskini azalttığı çok sayıda epidemiyolojik çalışma ile saptanmıştır (10, 11). Yapılan araştırmalarda bu hastalıkların azalan oranı ile meyve ve sebze tüketimi arasında açık ve önemli bir pozitif ilişki gösterilmiştir. Buna bağlı olarak son yıllarda fenolik bileşiklerin yüksek oranda bulunduğu meyve ve sebze tüketimi de artmıştır (12). Yüksek fenolik içeriğe sahip meyveler daha yüksek antioksidan kapasiteye sahiptirler (13). Bununla birlikte fenolik maddeler sadece meyve sebzelerde değil ayrıca baklagiller, tahıllar, zeytin, çikolata ve çay, şarap, bira, kahve gibi içeceklerde de bulunmaktadır. Bitkisel âlemde geniş olarak dağılmış olup bitkilerin ikincil metabolitleri olan polifenoller grubuna ait yaklaşık 8000 bileşik bulunmaktadır. Bu bileşiklerin her biri genel bir yapısal özellik göstermekte olup en az bir hidroksil grubu içeren bir veya daha fazla aromatik halkaya sahiptir. Bu halkaya fenol adı verilir. Fenolik bileşikler içerdikleri fenol halkası sayısına bağlı olarak sınıflandırılır. Başlıca grupları; flavonoidler, fenolik asitler, tanenler (hidrolize ve kondanse tanenler) ve daha az bulunan stilbenler ve lignanlardır (14).

Beslenmemizde en fazla yer alan fenolik bileşikler; fenolik asitler (benzoik ve sinamik asitler) ve flavonoidlerdir. Flavonoidler merkez C halkasındaki değişime göre flavonlar, flavonoller, flavanoller, flavanonlar, izoflavonlar ve antosiyaninler şeklinde altı alt gruba ayrılır (15). Fenolik asitler ise hidroksibenzoik ve hidroksisünamik asitler olarak incelenmektedir. Ana iskelet aynı kalsa da

aromatik halka üzerindeki hidroksil gruplarının sayısı ve yeri farklılık sağlamaktadır (16). Hidroksibenzoik asitler genel olarak C₆-C₁ yapısına sahip gallik, p-hidroksibenzoik, protokateşuik, vanilik ve şirincik asitleri içerir. Diğer taraftan hidroksisünamik asitlerin (C₆-C₃) en yaygınları; kafeik, ferulik, p-kumarik ve sinapik asittir (17). Tanenler, yüksek moleküllü bileşikler olup hidrolize tanenler ve kondense tanenler olarak gruplanmaktadır. Kondense tanenler (proantosiyanidinler) polimerik flavonoidler olup bu grupta flavan-3-ol'ler, epikateşin ve kateşin en fazla çalışılan proantosiyanidinlerdir. Hidrolize tanenler ise gallik asidin türevleridir (18).

Çoğu meyve, sebze, tahıl, çiçek ve bitkiye turuncu, kırmızı, mor ve mavi renk veren antosiyaninler sağlık üzerine yararları ve doğal gıda renklendiricisi olarak kullanımına bağlı olarak fenolik bileşiklerin dikkat çeken bir grubunu oluşturmaktadır. Bazı yapay gıda boyalarının yasaklanması nedeniyle parlak çekici renklere sahip olan ve suda kolay çözünen antosiyaninler önemli bir alternatif haline gelmiştir. Antosiyaninler gıda, ilaç ve kozmetik endüstrilerinde yüksek kullanım potansiyeline sahiptir ancak kısmi kararsızlık ve düşük ekstraksiyon yüzdelere bağlı olarak kullanımları sınırlıdır. Bu nedenle son yıllarda antosiyaninler ve diğer fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için bazı yeni ekstraksiyon teknikleri geliştirilmektedir (19).

Fenolik bileşiklerin izolasyonu, tanımlanması ve kullanımında ekstraksiyon önemli bir aşamadır. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için kullanılan klasik yöntem genellikle çözücü ekstraksiyonudur. Ancak pahalı ve sağlığa zararlı organik çözücülerin fazla miktarda kullanılması, atık sorunun ortaya çıkması, ekstrakt içinde çözücü kalması, ekstraksiyon süresinin uzun olması ve buna bağlı olarak polifenollerin kaybı gibi dezavantajları söz konusudur (1, 12). Dolayısıyla ekstraksiyon süresini kısaltan, organik çözücü tüketimini azaltarak çevre kirliliğini önleyen yeni ekstraksiyon tekniklerine olan ihtiyaç giderek artmaktadır. Bu teknikler arasında mikrodalga destekli ekstraksiyon (20), kritikaltı su ekstraksiyonu (21), süperkritik akışkan ekstraksiyonu (22), basınçlı akışkan ekstraksiyonu (23), ultrasonik ekstraksiyon (24) sayılabilir.

Bu derlemede fenolik bileşiklerin eldesinde geleneksel ekstraksiyon yöntemine kıyasla daha hassas, seçici, hızlı ve çevre dostu olması yanında yüksek ekstrakt verimi sağlaması gibi avantajları ile son yıllarda dikkat çeken ultrasonik dalga destekli ekstraksiyonun incelenmesi amaçlanmaktadır.

Gıda Teknolojisinde Ultrasonik Dalga Uygulaması

Ultrasonik ses dalgaları insan kulağının işitebileceğinin üzerindeki ses dalgalarıdır. Gıda teknolojisinde genel olarak 20 kHz ile 10 MHz frekans aralığındaki ultrasonik ses dalgası ekipmanları kullanılmaktadır (25, 26). Ultrasonik dalga uygulaması, gıda endüstrisinde düşük enerjili ve yüksek enerjili uygulama olarak iki gruba ayrılmaktadır. Bu sınıflandırmada üretilen enerji miktarı en önemli kriter olup ses gücü (W), ses yoğunluğu (W/m^2) veya ses enerji yoğunluğu ($W.s/m^3$) ile tanımlanmaktadır. Düşük enerjili ultrasonik uygulamada $1 W/cm^2$ 'den düşük ses yoğunluğu ve 100 kHz'den yüksek frekans kullanılırken, yüksek enerjili ultrasonik uygulamada $1 W/cm^2$ 'den yüksek ses yoğunluğu ve 18-100 kHz gibi daha düşük frekans aralığı kullanılmaktadır (27). Kullanımı daha eskiye dayanan yüksek frekans düşük enerjili ultrasonik uygulamada ultrasonik dalgaların geçtiği materyalin özelliklerinde fiziksel ve kimyasal değişime neden olmaz. Yüksek frekans düşük enerjili ultrasonik uygulama en yaygın olarak gıdaların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmaktadır. Düşük frekans yüksek enerjili uygulama ise gıdanın özelliklerini fiziksel veya kimyasal olarak değiştirmek amacıyla kullanılmaktadır (28). Son yıllarda gıda teknolojisinde kristalizasyon, emülsifikasyon, gaz giderme, kurutma, ekstraksiyon, filtrasyon, dondurma, homojenizasyon, et gevrekleştirme, sterilizasyon gibi çok sayıda proseste potansiyel kullanımı tanımlanan yüksek enerjili ultrasonik uygulamalar geniş çaplı ticari kullanım için gelecek vaat etmektedir (29, 30). Bunlar arasında özellikle ultrasonik ekstraksiyon günümüzde endüstriyel olarak uygulanabilir, ekonomik, basit, etkili bir alternatif yöntem olarak önerilmektedir (31, 32, 33).

Bitki Kaynaklı Örneklerden Fenolik Bileşiklerin Ultrasonik Dalga Destekli Ekstraksiyonu İçin Uygulamalar

Bitkisel dokulardan organik bileşiklerin ekstraksiyonu ultrasonik dalga kullanımı ile önemli derecede geliştirilmiştir. Ultrasonik dalganın mekanik etkileri, çözgenin hücresel materyal içine daha fazla nüfuz etmesini sağlayarak kütle transferini hızlandırmakta ayrıca hücre duvarlarının hasar görmesi ile hücre içeriğinin serbest kalmasını kolaylaştırmaktadır (29, 34, 35). Ayrıca, ultrasonik ekstraksiyonda kullanılan ılımlı koşulların çoğu biyoaktif bileşiğin yapısal/moleküler ve fonksiyonel özelliklerinde ciddi bir değişime neden olmaması özellikle ısıya duyarlı gıda bileşenleri söz konusu olduğunda

oldukça önemli hale gelmektedir (25). Son yıllarda fenolik bileşik ekstraksiyonunda ultrasonik ses dalgası kullanımını araştıran pek çok çalışma yapılmıştır. Özellikle fenolik bileşiklerce zengin çeşitli meyve ve sebzelerde ultrasonik dalga uygulaması ile ekstraksiyon denemeleri gerçekleştirilmiştir. Bu araştırmalar arasında sağlık yararlarına bağlı olarak üzüm ve üzüm ürünleri başta gelmektedir. Kırmızı üzümde toplam fenolik bileşik, kondense tanen ve antosiyanin ekstraksiyonu üzerine yapılan çalışmada klasik maserasyona alternatif olarak ultrasonik ses dalgası destekli ekstraksiyonun uygulanabilirliği araştırılmıştır. Ekstraksiyon çözücüsü olarak metanol-su karışımının kullanıldığı ultrasonik ekstraksiyon (6 dakika) ile klasik ekstraksiyona (60 dakika) kıyasla çok daha kısa sürede daha yüksek verim elde edilmiştir (36). En yaygın tüketilen meyveler arasında bulunan üzümün özellikle kabuk ve çekirdeği fenollerce zengindir. Dört çeşit kırmızı Portekiz üzümünün kabuğundan flavonoidlerin ekstraksiyonu ultrasonikasyon ile gerçekleştirilmiş, ekstraksiyon çözücüsü olarak metanol içinde hidroklorik asit kullanılmıştır. Bu işlem ile azalan ultrasonikasyon süresine bağlı olarak fenolik bileşiklerin istenmeyen bozulması engellenmiş, böylece kırmızı üzüm kabuğunda başlıca antosiyaninlerin yer aldığı flavonoid ekstraksiyonu geliştirilmiştir (37). Ghafoor ve ark. (38) tarafından Campbell Early üzüm çekirdeğinde fenolik bileşik, antosiyanin ve antioksidanların maksimum ekstraksiyonu için ultrasonik dalga kullanılarak yapılan çalışmada ise etanol konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi yanıt yüzey yöntemi (RSM) kullanılarak optimize edilmiştir. Optimum koşullar; maksimum toplam fenolik bileşik (5.44 mg GAE/100 mL) için % 53.15 etanol, 56.03 °C sıcaklık, 29.03 dakika süre; maksimum antioksidan aktivite (12.31 mg/mL) için % 53.06 etanol, 60.65 °C sıcaklık ve 30.58 dakika; maksimum toplam antosiyanin (2.28 mg/mL) için % 52.35 etanol, 55.13 °C sıcaklık, 29.49 dakika olarak belirlenmiştir. Bahsedilen koşullar altında üzüm çekirdeği ekstraktında belirlenen deneysel toplam fenolikler 5.41 mg GAE/100 mL, antioksidan aktivite 12.28 mg/mL ve toplam antosiyanin 2.29 mg/mL olarak saptanmış ve tahmin edilen değerlere uygun olduğu görülmüştür. Ekstraksiyon değişkenleri özellikle ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı tüm bileşiklerin ultrasonik dalga destekli ekstraksiyonunu yüksek oranda etkilemiş ve bileşiklerin içerikleri ile yüksek korelasyon göstermiştir.

Meyve, sebze ve çeşitli bitkilerin tarımsal ve endüstriyel atıkları doğal antioksidanların önemli bir kaynağıdır (39). Gıda sanayinde meyve ve sebzelerin işlenmesi sonunda oluşan ve yan ürün olarak adlandırılan atıklar önemli miktarda fenolik madde içermektedir. Dünya çapında yüksek miktarda gerçekleştirilen üzüm ve şarap üretimi, kabuk ve çekirdekleri de içine alan büyük miktarda tarımsal atığa neden olmaktadır (40). Son birkaç yılda şarap fabrikalarının önemli bir yan ürünü olan üzüm cibresinden polifenollerin eldesi üzerine çok sayıda çalışma yapılmıştır. Üzüm cibresinde ultrasonik ekstraksiyonun etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, ultrasonikasyon süresi, çalkalamalı sıcak su banyosunda (45°C) bekletme süresi ve çözücü bileşiminin özütleme sürecine ve elde edilen fenolik madde miktarına etkisi yanıt yüzey yöntemiyle incelenmiştir. Elde edilen ekstraktlardaki en yüksek fenolik içerik (47.2 mg GAE/g un), çözücü olarak % 30 etanol kullanıldığında, 6 dakika sonikasyon sonunda 45 °C'lik çalkalamalı su banyosunda 12 dakika bekletilerek elde edilmiştir. Ultrasonikasyon ve çalkalamalı su banyosu uygulaması ile daha kısa sürede kütle transferini artırarak fenolik bileşiklerin ekstraksiyon veriminin arttığı saptanmıştır (41). Gonzalez-Centeno ve ark. (42) tarafından gerçekleştirilen benzer bir araştırmada üzüm cibresinde fenolik bileşiklerin ve antioksidan kapasitenin ekstraksiyon oranı üzerine hem sıcaklık (20, 35, 50 °C) hem de ultrasonik dalga kullanımının etkisi araştırılmıştır. Ultrasonik işlem ile ekstraksiyon geleneksel ekstraksiyona kıyasla 20, 35 ve 50 °C'de yaklaşık 3, 4 ve 8 kat daha az süre gerektirmiştir. Daha düşük sıcaklıkta ve daha kısa sürede benzer fenolik bileşik ve antioksidan özelliklere sahip ekstraktların eldesi sağlanmıştır.

Şarap üretiminden elde edilen diğer bir yan ürün şarap tortusudur. Fermentasyon sonrası veya depolama sırasında şarap tankının tabanında oluşan şarap tortusu, şarap kalitesini geliştirmek amacıyla yıllandırma sırasında kullanılabilir. Tortu üzerinde yıllandırmanın şarabın burukluk ve acılığını azalttığı, yapı ve gövdesini geliştirdiği ve renk stabilitesini artırdığı belirtilmiştir (43, 44). Kırmızı şaraptan elde edilen şarap tortusu antosiyaninler başta olmak üzere fenolik bileşikleri yüksek oranda içermektedir. Suda çözünürlüğü, parlak çekici renkleri ve farmakolojik özelliklerine bağlı olarak antosiyaninler gıda endüstrisinde oldukça ilgi çekmektedir (45). Dolayısıyla şarap tortusundan antosiyaninleri de içeren fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu şarapçılık yan ürünlerinin ekonomik değerini artırması açısından önemli görülmektedir. Şarap tortusundan fenolik bileşiklerin ultrasonik ses dalgası destekli ekstraksiyonu ve elde edilen ekstraktların stabilitesi üzerine yapılan

çalışmada 40 kHz frekansta 48 W/L yoğunlukta çalışılmıştır. Toplam fenol ve toplam antosiyanin ekstraksiyon verimi üzerine ekstraksiyon süresi, sıcaklığı, çözücü/katı oranı ve solvent kompozisyonunun etkileri değerlendirilmiştir. Optimum koşullar altında belirlenen toplam fenolik (58.76 mg/g) ve toplam antosiyanin (6.69 mg/g) verimlerinin tahmin edilen değerlere uygun olduğu, ayrıca geleneksel maserasyona göre daha fazla miktarda toplam fenol ve toplam antosiyanin ekstrakte edildiği belirtilmiştir (46).

Gıda işleme sırasında ortaya çıkan atıkların değerlendirilmesi; çevre kirliliğini önlemesi yanında, ekonomik açıdan katma değer yaratması açısından önemlidir. Kabuk ve çekirdek artıklarından oluşan turunçgil yan ürünleri de fenolik bileşiklerin önemli bir kaynağıdır (47). Ancak fenolik bileşikler ışık, ısı ve oksijene karşı oldukça hassastır. Dolayısıyla fenolik bileşiklerin stabilitesini korumak amacıyla etkili bir ekstraksiyon yöntemi saptamak oldukça önemlidir. Fenolik bileşiklerin turunçgil kabuklarından ekstraksiyonu için birçok teknik değerlendirilmiştir. Bunlar arasında ultrasonikasyon tekniğinin incelendiği bir çalışmada, turunçgil kabuklarından sinamik asit ve benzoik asit gruplarına ait yedi adet fenolik asidin ekstraksiyon verimi üzerine süre, sıcaklık ve ultrasonik güç gibi değişkenlerin etkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda ultrasonik ekstraksiyon ile ekstraksiyon süresinde ve sıcaklıkta azalma ile fenolik asitlerin veriminde artış saptanmıştır. Bu durum bitkisel materyallerden termal olarak kararsız bileşiklerin ekstraksiyonu için özellikle avantaj sağlamaktadır. Çünkü artan ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi ile fenolik bileşiklerin veriminde azalma görülmekte, bu durumun fenolik bileşiklerin ısıl bozunması veya polimerizasyon reaksiyonlarına bağlı olabileceği düşünülmektedir (48). Cheok ve ark. (49) tarafından yapılan çalışmada tropikal bir meyve olan Mangosten (*Garcinia mangostana* L.) kabuğundan toplam antosiyanin ve toplam fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimleri, ultrasonik işlemin genlik ve süresinde değişiklik yapılarak optimize edilmiştir. 15 dakikalık sonikasyon süresi ve % 20 genlikte metanol sıvı çözücüsü kullanılarak en yüksek toplam monomerik antosiyanin (2.92 mgcy-3-glu/g kabuk tozu) kazanımı sağlanırken, 25 dakika ve % 80 genlikte etanol çözeltisi kullanılarak en yüksek toplam fenolik bileşik (245.78 mg GAE/g kabuk tozu) kazanımı elde edilmiştir. Toplam antosiyanin ve toplam fenolik veriminin diğer yöntemlere kıyasla sırasıyla % 45.6 ve % 8.8 arttığı gözlenmiştir. Dolayısıyla ultrasonik uygulamanın fenolik bileşiklere göre antosiyanin ekstraksiyonunda daha etkili olduğu ve dolayısıyla endüstride mangosten kabuk tozundan antosiyaninlerin

ekstraksiyonunda kullanılabilmesi önerilmiştir. Tahıl endüstrisinin önemli bir yan ürünü olan buğday kepeği dünya çapında büyük miktarda üretilmektedir. Buğday ve kısımlarının antioksidan özelliklerini değerlendirmek amacıyla çeşitli araştırmalar yürütülmüştür. Tahıl tanesi, kepek ve unda yapılan çalışmada kepeğin fenolik içeriği en yüksek bulunmuştur (50). Bununla birlikte buğday kepeğinden fenolik bileşiklerin verimli ekstraksiyonu üzerine sınırlı çalışma bulunmaktadır. Wang ve ark.'nın (51) buğday kepeğinde yaptıkları araştırmada ekstraksiyon süresi, sıcaklığı ve çözücü konsantrasyonu gibi parametreler yanıt yüzey yöntemi kullanılarak optimize edilmiş ve en uygun işlem % 64'lük etanolla 60 °C'de 25 dakika süreyle uygulanan ultrasonik ekstraksiyonla elde edilmiştir. Belirtilen koşullar altında deneysel toplam fenolik madde içeriği 3.12 mg gallik asit/g buğday kepeği olup, tahmin edilen içeriğe oldukça uygundur. Özellikle ekstraksiyon süresinin ekstraktların fenolik içeriğini oldukça etkilediği vurgulanmıştır.

Ultrasonik dalga destekli ekstraksiyon yüksek verimlilik, düşük enerji gereksinimi ve düşük su tüketimi nedeniyle klasik ekstraksiyon yöntemleri ile kıyaslandığında iyi bir alternatif teknik olarak karşımıza çıkmaktadır. Geleneksel soxhlet yöntemi yerine ultrasonik dalga destekli ekstraksiyon kullanımı ilaç, kimyasal ve gıda endüstrilerinde artan oranda kullanılmaktadır. Herrera ve Luque de Castro 2005 yılında çilek örneklerinden fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu üzerine yaptıkları çalışmada, benzer miktarda fenolik bileşikleri ultrasonik ekstraksiyon ile 2 dakikada, konvensiyonel yöntemle 20 saatte, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile 3 saatte elde etmiştir (52). Bir başka çalışmada kırmızı ahudududan antosiyaninlerin optimum ekstraksiyon verimini saptamak için ultrasonik ses dalgası uygulanmış ve çözücü/materyal oranı, ultrasonik güç ve ekstraksiyon süresi gibi parametreler RSM ile optimize edilmiştir. 400 W ultrasonik güçte 200 saniye süresince çözücü/örnek oranı 4/1 olarak ayarlandığında, ekstrakttaki antosiyanin oranının %78.13'e ulaştığı saptanmıştır. Ultrasonik dalga destekli ekstraksiyonun kırmızı ahudududan antosiyaninlerin ekstraksiyonu için daha hızlı ve etkili olduğu belirtilmiştir (53). Ispanak yapraklarında Altemimi ve ark. (54) tarafından yapılan araştırmada çeşitli frekans, sıcaklık, güç ve uygulama süreleri denenerek ultrasonik uygulamanın toplam fenol, toplam flavonoid ve antioksidan aktivite üzerine etkisi incelenmiştir. Optimum ekstraksiyon koşulları 37 kHz frekansta, % 50 güçte, 30 dakikada ve 40 °C sıcaklıkta gerçekleştirilen ekstraksiyon ile elde edilmiş, ekstrakte edilen fenolik bileşik miktarının arttığı görülmüştür. Ayrıca ultrasonik dalga destekli polifenol ekstraksiyonunun

kullanılan çözücü miktarının azalması ve uzun ekstraksiyon süresinden kaçınılmasına bağlı olarak düşük maliyetli bir yöntem olduğu vurgulanmıştır. Çalışmanın sonuçları ıspanaktan fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için ultrasonik dalga uygulamasının güvenilir ve uygulanabilir bir yöntem olduğunu göstermiştir.

Flavonoidlerin bir alt grubu olan izoflavonlar pek çok bitkide bulunmakta, östrojenik ve fungitoksik aktiviteleri gibi biyolojik etkilerine bağlı olarak çeşitli araştırmaların temelini oluşturmaktadır. Hızlı ve güvenilir bir teknik olduğu vurgulanan ultrasonik ekstraksiyon soya fasulyesinden izoflavonları ayırmada başarıyla kullanılmıştır. Daidzin, glisitin, genistin ve malonil genistin gibi izoflavon türevlerinin ekstraksiyonundaki verimliliğin saptanması amacıyla farklı çözücüler ve ekstraksiyon sıcaklıkları kullanılarak geleneksel ekstraksiyon ve ultrasonik ekstraksiyon karşılaştırılmıştır. 60 °C'de % 50'lik etanol:su çözeltilisiyle 20 dakika süresince uygulanan ultrasonikasyon sonucunda izoflavonlar soya fasulyesinden ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyonun verimliliği kullanılan çözücüye bağlı olarak ultrasonik dalga uygulamasıyla geliştirilmiş, etanol:su (% 50) çözeltilisi; yüksek verimlilik, düşük maliyet, düşük toksisite ve çevresel uygunluğundan dolayı en iyi çözücü olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda benzer ekstrakt verimi alınması nedeniyle ultrasonik banyonun ultrasonik proba alternatif olarak kullanılabilmesi vurgulanmıştır (35).

Ultrasonik dalga destekli ekstraksiyonda kullanılan ekipmanların satın alma ve bakım maliyetlerinin düşük olması bu yöntemin pilot çaplı uygulamalardan sonra endüstriyel kullanıma uygulanmasını önermektedir. Başlıca oleuropein ve diğer fenolik antioksidanlarca zengin zeytin yaprağından biyofenollerin ultrasonik destekli ekstraksiyonunda optimum koşullarda hedef analitlerin (oleuropein, verbacoside, apigenin-7-glukozit ve luteolin-7-glukozit) ekstraksiyonu etanol-su karışımı gibi toksik olmayan çözücülerin kullanımıyla 25 dakika içinde sağlanırken geleneksel yöntemle 24 saat sürmüştür. Bu belirgin artışın partikül bozunmasıyla katı ve sıvı faz arasında artan yüzey alanına bağlı olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca ultrasonik radyasyonun neden olduğu sıcaklıkta görülen hafif artış ile hedef analitlerin bozunmasının söz konusu olmadığı vurgulanmıştır (55). Zeytin yapraklarında yapılan diğer çalışmada kurutulmuş ve öğütülmüş yapraklardan saf su ile 30-80 °C sıcaklık aralığında ultrasonikasyon yöntemi ile ekstrakt elde edilmiş ve ekstraksiyon prosesinin kinetiği ikinci dereceden hız denklemi ile modellenmiştir. Sonuç olarak fenolik madde miktarının 60 °C sıcaklığa kadar artış gösterdiği ve deneysel verilerin kinetik modellerle uyumlu olduğu

görülmüştür. Ancak ekstraktların toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktiviteleri arasında negatif bir korelasyon olduğu, bu durumun ekstraksiyon süresinin uzamasından kaynaklanan olumsuzluklardan ileri geldiği düşünülmüştür (56). Fenolik bileşiklerin önemli diğer bir kaynağı da dünya çapında eski çağlardan beri halk arasında ilaç olarak kullanılan bazı şifalı bitkilerdir. Antioksidanlarca zengin bitkilerden elde edilen ekstraktlar fonksiyonel özelliklerine bağlı olarak oldukça ilgi çekmektedir. Çeşitli bitkilerden biyoaktif maddelerin ekstraksiyonunda en ideal ekstraksiyon koşullarının belirlenebilmesi amacıyla yapılan çalışmalar arasında avantajlarına bağlı olarak ultrasonikasyon son yıllarda tercih edilen bir yöntemdir. Wang ve ark. (57) tarafından Çin'de geleneksel tıpta kullanılan ve yüksek miktarda flavonoid içerdiği belirtilen *Inula belenium* bitkisinden fenolik bileşiklerin ultrasonik dalga destekli ekstraksiyonu üzerine yapılan çalışmada; etanol konsantrasyonu, ultrasonik süre, katı-sıvı oranı, ekstraksiyon sayısı gibi işlem parametreleri incelenmiştir. En uygun çalışma koşulları; % 30'luk etanol:su konsantrasyonu, 1:20 katı:sıvı oranı, 2 kez ekstraksiyon ve 30 dakika ekstraksiyon süresi şeklinde belirlenmiş ve bu koşullarda toplam fenolik bileşik ve klorojenik asit verimi sırasıyla 6.13 ± 0.58 ve 1.32 ± 0.17 mg/g olarak saptanmıştır. Çalışmanın sonuçları ultrason destekli ekstraksiyon yönteminin toplam fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun ve ekonomik bir yöntem olduğunu göstermiştir. Huang ve ark. (58) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, yanıt yüzey yöntemi ile *Folium eucommiae*'den flavonoidlerce zengin ekstrakt eldesi için ultrason destekli ekstraksiyonun optimizasyonu gerçekleştirilmiş ve bu yöntem ısı, mikrodalga destekli ve enzim destekli ekstraksiyon yöntemleri ile kıyaslanmıştır. Çözücü olarak % 40 etanol:su, 1:60 katı:lipit oranı ve 70 dakika ekstraksiyon ile flavonoidlerin en yüksek ekstraksiyon oranı % 17.2'ye ulaşmıştır. Bu değer ısı ile, mikrodalga destekli ve enzim destekli ekstraksiyonlara oranla daha yüksek verim sağladığı belirtilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *F. eucommiae*'nin flavonoidleri gıda endüstrisinde koruyucu antioksidan olarak ayrıca sağlık açısından oksidatif hasara karşı etkili olarak kullanılabileceği vurgulanmıştır. Ekinezya (*Echinacea purpurea* L.) ekstraktlarının veriminin araştırıldığı ayrıca antioksidan ve antimikrobiyel aktivitelerinin klasik ekstraksiyon ile kıyaslandığı bir çalışmada ise ultrasonik ekstraksiyonun *E. purpurea* L.'den elde edilen ekstrakt verimi üzerine pozitif etkisi olduğu ancak toplam fenolik bileşik ve flavonoid içeriği üzerine negatif etkisi olduğu belirtilmiştir. Bu durum bazı biyoaktif bileşiklerin sonikasyon

sırasında oluşan yüksek reaktiviteye sahip hidroksil radikalleri ile etkileşime girmesi sonucunda bozunması şeklinde açıklanmıştır (59).

SONUÇ

Sağlık yararları çok sayıda çalışma ile saptanan fenolik bileşiklerin çeşitli bitkisel materyallerden ekstrakte edilerek kullanımı gıda ve ilaç endüstrisinde oldukça ilgi çeken bir konudur. Polifenollerin ekstraksiyonu amacıyla basit, ucuz, düşük su ve çözücü tüketimine bağlı olarak çevre dostu, yüksek ekstrakt kalitesi ve verimini daha kısa sürede sağlayan ultrasonik dalga destekli ekstraksiyonun geleneksel ekstraksiyon tekniğine iyi bir alternatif olup yakın gelecekte çok daha geniş alanda kullanılabileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte, ultrasonik ekstraksiyon uygulamasında en ideal ekstraksiyon koşullarının belirlenebilmesi amacıyla akademik ve endüstriyel açıdan ileri çalışmalar yapılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Ignat I, Volf I, Popa VI. 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem*, 126, 1821-1835.
2. Maqsaad S, Benjakul S, Shahidi F. 2013. Emerging role of phenolic compounds as natural food additives in fish and fish products. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53, 162-179.
3. Sreeramulu D, Raghunath M. 2010. Antioxidant activity and phenolic content of roots, tubers and vegetables commonly consumed in India. *Food Res Int*, 43, 1017-1020.
4. Kumar S, Gautam S, Sharma A. 2013. Identification of antimutagenic properties of anthocyanins and other polyphenols from rose (*Rosa centifolia*) petals and tea. *J Food Sci*, 78 (6), 948-954.
5. Sahpazidou D, Geromichalos GD, Stagos D, Apostolou A, Haroutounian SA, Tsatsakis AM, Tzanakakis GN, Hayes AW, Kouretas D. 2014. Anticarcinogenic activity of polyphenolic extracts from grape stems against breast, colon, renal and thyroid cancer cells. *Toxicol Lett*, 230 (2), 218-224.
6. Cueva C, Mingo S, Munoz-Gonzalez I, Bustos I, Requena T, Del Campo R, Mart n-Alvarez PJ, Bartolome B, Moreno-Arribas MV. 2012. Antibacterial activity of wine phenolic compounds and oenological extracts against potential respiratory pathogens. *Lett Appl Microbiol*, 54 (6), 557-563.
7. Yang ZF, Bai LP, Huang W, Li XZ, Zhao SS, Zhong NS, Jiang ZH. 2014. Comparison of in vitro antiviral activity of tea polyphenols against influenza A and B viruses and structure-activity relationship analysis. *Fitoterapia*, 93, 47-53.

8. Sun T, Chen QY, Wu LJ, Yao XM, Sun XJ. 2012. Antitumor and antimetastatic activities of grape skin polyphenols in a murine model of breast cancer. *Food Chem Toxicol*, 50 (10), 3462-3467.
9. Kleemann R, Verschuren L, Morrison M, Zadelaar S, Erk MJ, Wielinga PY, Kooistra T. 2011. Anti-inflammatory, anti-proliferative and anti-atherosclerotic effects of quercetin in human *in vitro* and *in vivo* models. *Atherosclerosis*, 218 (1), 44-52.
10. Geybels MS, Verhage BAJ, Arts ICW, Schooten FJ, Goldbohm RA, Brandt PA. 2013. Dietary Flavonoid Intake, Black Tea Consumption, and Risk of Overall and Advanced Stage Prostate Cancer. *Am J Epidemiol*, 177 (12), 1388-1398.
11. Van Dam, RM, Naidoo N, Landberg R. 2013. Dietary flavonoids and the development of type 2 diabetes and cardiovascular diseases: review of recent findings. *Curr Opin Lipidol*, 24, 1, 25-33.
12. Garcia-Salas P, Morales-Soto A, Segura-Carretero A, Fernández-Gutiérrez A. 2010. Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15, 8813-8826.
13. Vieira FGK, Borges GDSC, Copetti C, Pietro PF, Nunes EC, Fett R. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of the apple flesh and peel of eleven cultivars grown in Brazil. *Sci Hort (Amst)*, 128, 3, 261-266.
14. Dai J, Mumper RJ. 2010. Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15, 7313-7352.
15. Tsao R. 2010. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. *Nutrients*, 2, 1231-1246.
16. Robbins RJ. 2003. Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *J Agric Food Chem*, 51, 2866-2887.
17. Bravo L. 1998. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev*, 56, 317-333.
18. Hagerman AE. 2002. Tannin Handbook, Department of Chemistry and Biochemistry, Miami University, USA.
19. Azmir J, Zaidul ISM, Rahman MM, Sharif KM, Mohamed A, Sahena F, Jahurul MHA, Ghafoor K, Norulaini NAN, Omar AKM. 2013. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J Food Eng*, 117, 4, 426-436.
20. Routray W, Orsat V. 2012. Microwave-assisted extraction of flavonoids: A review. *Food Bioprocess Tech*, 5, 409-424.
21. Aliakbarian B, Fathi A, Perego P, Dehghani F. 2012. Extraction of antioxidants from winery wastes using subcritical water. *J Supercrit Fluids*, 65, 18-24.
22. Castro-Vargas HI, Rodr guez-Varela LI, Ferreira SRS, Parada-Alfonso F. 2010. Extraction of phenolic fraction from guava seeds (*Psidium guajava* L.) using supercritical carbon dioxide and co-solvents. *J Supercrit Fluids*, 51, 319-324.
23. Santos DT, Veggi PC, Meireles MAA. 2012. Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jaboticaba skins. *J Food Eng*, 108 (3), 444-452.
24. Zou, TB, Wang M, Gan RY, Ling WH. 2011. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from mulberry, using response surface methodology. *Int J Mol Sci*, 12 (5), 3006-3017.
25. Soria AC, Villamiel M. 2010. Effect of ultrasound on the technological properties and bioactivity of food: A review. *Trends Food Sci Tech*, 21, 323-331.
26. Ergün AR, Baysal T, Bozkır H. 2013. Ultrases yöntemi ile karotenoitlerin ekstraksiyonu. *GIDA*, 38 (4), 239-246.
27. Knorr D, Zenker M, Heinz V, Lee D. 2004. Applications and potential of ultrasonics in food processing. *Trends Food Sci Tech*, 15, 261-266.
28. McClements DJ. 1995. Advances in the application of ultrasound in food analysis and processing. *Trends Food Sci Tech*, 6, 293-299.
29. Dolatowski ZJ, Stadnik J, Stasiak D. 2007. Applications of ultrasound in food technology. *Acta Sci Pol, Technol Aliment*. 6(3), 89-99.
30. Patist A, Bates D. 2008. Ultrasonic innovations in the food industry: From the laboratory to commercial production. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 9, 147-154.
31. Vilkhū K, Mawson R, Simons L, Bates D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry - A review. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 9, 161-169.
32. Chemat F, Zill-e-Huma, Khan MK. 2011. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason Sonochem*, 18, 813-835.
33. Tavman Ş, Kumcuoğlu S, Akkaya Z. 2009. Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu. *GIDA*, 34 (3), 175-182.
34. Mason TJ, Paniwnyk L, Lorimer JP. 1996. The uses of ultrasound in food technology. *Ultrason Sonochem*, 3, 253-260.
35. Rostagno MA, Palma M, Barroso CG. 2003. Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *J Chromatogr A*, 1012, 119-128.
36. Carrera C, Ruiz-Rodr guez A, Palma M, Barroso CG. 2012. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Anal Chim Acta*, 732, 100-104.

37. Novak I, Janeiroa P, Serugab M, Oliveira-Brett AM. 2008. Ultrasound extracted flavonoids from four varieties of Portuguese red grape skins determined by reverse-phase high performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Anal Chim Acta* 630, 107-115.
38. Ghafoor K, Choi YH, Jeon JY, Joo IH. 2009. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from grape (*Vitis vinifera*) seeds. *J Agric Food Chem*, 57, 4988-4994.
39. Moure A, Cruz JM, Franco D, Dom nguez JM, Sineiro J, Dom nguez H, N ñez MJ, Paraj JC. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chem*, 72, 2, 145-171.
40. OIV. 2015. Organisation internationale de la vigne et du vin. www.oiv.int. (Accessed 10 September 2015).
41. Özcan, E. 2006. Ultrasound assisted extraction of phenolics from grape pomace. Middle East Technical University. The Graduate School of Natural and Applied Sciences, Chemical Engineering, Master Thesis, Ankara, Turkey.
42. Gonzalez-Centeno MR, Comas-Serra F, Femenia A, Rossello C, Simal S. 2015. Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.): Experimental kinetics and modeling. *Ultrason Sonochem*, 22, 506-514.
43. Pérez-Serradilla JA, Luque de Castro MD. 2011. Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract. *Food Chem*, 124, 4, 1652-1659.
44. Tao Y, Wu D, Sun DW, Gorecki A, Blaszcak W, Fornal J, Jelinski T. 2013. Quantitative and predictive study of the evolution of wine quality parameters during high hydrostatic pressure processing. *Innov Food Sci Emerg Technol*, 20, 81-90.
45. Pap N, Beszedes S, Pongracz E, Myllykoski L, Gabor M, Gyimes E, Hodur C, Keiski RL. 2013. Microwave-assisted extraction of anthocyanins from black currant marc, *Food Bioprocess Tech*, 6, 2666-2674.
46. Tao Y, Wu D, Zhang QA, Sun DW. 2014. Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage. *Ultrason Sonochem*, 21, 706-715.
47. Oboh G, Ademosun AO. 2012. Characterization of the antioxidant properties of phenolic extracts from some citrus peels. *J Food Sci Technol*, 49 (6), 729-736.
48. Ma YQ, Chen JC, Liu DH, Ye XQ. 2009. Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrason Sonochem*, 16, 57-62.
49. Cheok CY, Chin NL, Yusof YA, Talib RA, Law CL. 2013. Optimization of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) extractions from mangosteen (*Garciniamangostana* Linn.) hull using ultrasonic treatments. *Ind Crop Prod*, 50, 1-7.
50. Vaheer M, Matso K, Levandi T, Helmja K, Kaljurand M. 2010. Phenolic compounds and the antioxidant activity of the bran, flour and whole grain of different wheat varieties. *Procedia Chem*, 2, 76-82.
51. Wang J, Sun B, Cao Y, Tian Y, Li X. 2008. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. *Food Chem*, 106, 804-810.
52. Herrera MC, Luque de Castro MD. 2005. Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *J Chromatogr A*, 1100, 1-7.
53. Chen F, Sun Y, Zhao G, Liao X, Hu X, Wu J, Wang Z. 2007. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrason Sonochem*, 14, 767-778.
54. Altemimi A, Choudhary R, Watson DG, Lightfoot DA. 2015. Effects of ultrasonic treatments on the polyphenol and antioxidant content of spinach extracts. *Ultrason Sonochem*, 24, 247-255.
55. Japon-Lujan R, Luque-Rodriguez JM, Luque de Castro MD. 2006. Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J Chromatogr A*, 1108, 76-82.
56. Şahin S, Bilgin M. 2012. Zeytin ağacı (*Olea europaea*) yapraklarının ultrason destekli ekstraksiyonunun incelenmesi. 10. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, UKMK-X, 3-6 Eylül, İstanbul, Türkiye, 35, 1-2.
57. Wang J, Zhao YM, Tian YT, Yan CL, Guo CY. 2013. Ultrasound-assisted extraction of total phenolic compounds from *Inula belenium*. *Scientific World J*, doi:10.1155/2013/157527.
58. Huang W, Xue A, Niu H, Jia Z, Wang J. 2009. Optimised ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems in vitro. *Food Chem*, 114, 1147-1154.
59. Stanisavljevic I, Stojicevic S, Velickovic D, Veljkovic V, Lazic M. 2009. Antioxidant and antimicrobial activities of echinacea (*Echinacea purpurea* L.) extracts obtained by classical and ultrasound extraction. *Chin J Chem Eng*, 17(3), 478-483.

GIDA



Author Instructions

GIDA (2009) 34 (1): 59-63

www.gidadernegi.org / English / The Journal of FOOD /Author Instructions

Manuscript Submission and Copyright Release Form

GIDA (2009) 34 (1): 67

www.gidadernegi.org / English / The Journal of FOOD /Manuscript Submission and Copyright Release Form

Final Check List

GIDA (2009) 34 (1): 68

www.gidadernegi.org / English / The Journal of FOOD /Final Check List

can be reached from those addresses. Authors must read carefully the author instructions and prepare the manuscript accordingly.