DOĞAL DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE AY ÇEKİRDEĞİ KABUKLARINDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONU VE BİYOERİŞİLEBİLİRLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Melek KESKİN

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOĞAL DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE AY ÇEKİRDEĞİ KABUKLARINDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONU VE BİYOERİŞİLEBİLİRLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Melek KESKİN
0009-0008-0488-9720

Doç. Dr. Senem KAMİLOĞLU BEŞTEPE
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

BURSA – 2025
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DOĞAL DERİN ÖTEKTİK ÇÖZÜCÜLER İLE AY ÇEKİRDEĞİ KABUKLARINDAN FENOLİK BİLEŞİKLERİN EKSTRAKSİYONU VE BİYOERİŞİLEBİLİRLİKLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Melek KESKİN

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Senem KAMİLOĞLU BEŞTEPE

Genellikle atık olarak ayrılan ay çekirdeği kabukları, değerli ancak yeterince kullanılamayan bir fenolik bileşik kaynağıdır. Bu çalışmanın amacı, kavrulmamış ve kavrulmuş ay çekirdeği kabuklarından fenolik bileşenleri geri kazanımını sağlamak ve elde edilen yeşil ekstraktların biyoerişilebilirliklerini değerlendirmektir. Bu amaçla, 12 farklı doğal derin ötektik çözücü (NADES) kombinasyonu kullanılarak ultrases destekli ekstraksiyon (UAE) uygulanmıştır. UPLC–ESI–MS/MS analizleri, klorojenik asidi tüm ekstraktlardaki baskın fenolik bileşik olarak belirlemiştir. Test edilen çözücüler arasında, glukoz:laktik asit (1:5) oranına sahip NADES, hem kavrulmamış hem de kavrulmuş örneklerde en yüksek biyoerişilebilir klorojenik asit düzeyini sağlamıştır. Çoğu NADES formülasyonu, etanolik ekstraktla karşılaştırıldığında, biyoerişilebilir fenolik bileşiklerin daha yüksek düzeylerde elde edilmesine olanak tanımıştır. Ancak, kavurma işlemi, biyoerişilebilir toplam fenolik madde içeriğini, antioksidan kapasiteyi ve klorojenik asit miktarını çoğu ekstraktta anlamlı düzeyde azaltmıştır. Genel olarak bulgular, NADES'lerin UAE ile birlikte kullanımının, ay çekirdeği kabuklarından fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunu ve biyoerişilebilirliğini artırmada etkili bir yöntem olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Gıda atıklarının değerlendirmesi, yeşil ekstraksiyon, *in vitro* sindirim, antioksidan kapasite, klorojenik asit
2025, xiv + 50 sayfa.

ABSTRACT

MSc Thesis

EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM SUNFLOWER SEED SHELLS WITH NATURAL DEEP EUTECTIC SOLVENTS AND EVALUATION OF THEIR BIOACCESSIBILITY

Melek KESKİN

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Prof. Senem KAMİLOĞLU BEŞTEPE

Sunflower seed shells, commonly discarded as waste, represent a valuable yet underutilized source of phenolic compounds. This study aimed to recover phenolic compounds from both unroasted and roasted sunflower seed shells using ultrasound-assisted extraction (UAE) in combination with 12 different natural deep eutectic solvents (NADES), and to assess the bioaccessibility of the resulting green extracts. UPLC–ESI–MS/MS analysis identified chlorogenic acid as the predominant phenolic compound in the extracts. Among the tested solvents, glucose:lactic acid (1:5) yielded the highest levels of bioaccessible chlorogenic acid in both unroasted and roasted samples. Most NADES formulations resulted in higher levels of bioaccessible phenolics compared to the ethanolic extract. However, roasting significantly reduced the bioaccessibility of total phenolics, antioxidant capacity, and chlorogenic acid in the majority of the extracts. Overall, the findings demonstrate the effectiveness of combining NADES with UAE to enhance the extraction and bioaccessibility of phenolic compounds from sunflower seed shells.

Key words: Food waste valorisation, green extraction, *in vitro* digestion, antioxidant capacity, chlorogenic acid
2025, xiv + 50 pages.

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez sürecim boyunca bilgi ve tecrübeleriyle bana rehberlik eden, yönlendirmeleriyle çalışmama büyük katkı sağlayan çok değerli tez danışmanım Doç. Dr. Senem KAMİLOĞLU BEŞTEPE'ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Başta sayın hocam Prof. Dr. Ömer Utku ÇOPUR olmak üzere BUÜ Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi ailesine her türlü imkanları ve destekleri için özel teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca bana destek olan ve bugünlere gelmemde katkısı olan tüm hocalarıma teşekkürlerimi ve minnettarlığımı sunarım.

Bu süreçte manevi desteğini eksik etmeyen ve her zaman yanımda olan sevgili arkadaşım Ayşenur ÖNDER'e teşekkür etmek isterim.

Son olarak hayatım boyunca yanımda olan, bana gösterdikleri sevgi ve destekleri için başta dedem Emrullah KESKİN'e, annem Ümmühan KESKİN'e, babam Ali KESKİN'e, kardeşlerim Abdullah KESKİN'e ve Muhammed Zahit KESKİN'e teşekkürlerimi sunarım. Sonsuz desteği, sabrı ve yardımları için Mahmut AYYILDIZ'a özel teşekkürlerimi sunarım.

Melek KESKİN
20/07/2025

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET viii
ABSTRACT ixx
TEŞEKKÜR x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ xiiii
ŞEKİLLER DİZİNİ xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ xiv
1. GİRİŞ 1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI 4
2.1. Ayçiçeği 4
2.2. Fenolik bileşenler 7
2.2.1. Klorojenik asit 10
2.3. Doğal Derin Ötektik Çözücüler (NADES) 12
2.4. Ultrases Destekli Ekstraksiyon 14
2.5. Biyoerişilebilirlik 17
3. MATERYAL ve YÖNTEM 19
3.1 Materyal 19
3.2. Doğal Derin Ötektik Çözücülerin (NADES) Hazırlanması 20
3.3. Doğal Derin Ötektik Çözücülerin Karakterizasyonu 21
3.3.1. pH ve yoğunluk 21
3.3.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) 22
3.4. Fenolik Bileşiklerin Ultrases Destekli Ekstraksiyonu 22
3.5. *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim Simülasyonu 23
3.6. Toplam Fenolik Madde Tayini 24
3.7. Toplam Antioksidan Kapasite Tayini 25
3.7.1. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi) tayini 26
3.7.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme aktivitesi tayini 26
3.8. Klorojenik Asidin UPLC-ESI-MS/MS ile Tanımlanması 27
3.9. İstatistiksel Analiz 28
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 29
4.1. Doğal Derin Ötektik Çözücülerin Karakterizasyonu 29
4.2. Toplam Fenolik Madde Tayini 31
4.3. Toplam Antioksidan Kapasite Tayini 34
4.4. Klorojenik Asit 39
5. SONUÇ 42
KAYNAKLAR 43
ÖZGEÇMİŞ 50

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
%	Yüzde
°C	Santrigrat Derece
dk	Dakika
g	Gram
kg	Kilogram
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
sn	Saniye
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre

Kısaltmalar	Açıklama
AB	Avrupa Birliği
BÜGEM	Bitkisel Üretim Genel Müdürlüğü
$CaCl_2$	Kalsiyum Klorür
CGA	Klorojenik Asit
CUPRAC	2,9-dimetil-1,10-fenantrolin
DPPH	2,2–difenil–1–pikrilhidrazil
EC	Avrupa Komisyonu
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
FAO	Gıda ve Tarım Örgütü
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GAE	Gallik Asit Eşdeğeri
HBA	Hidrojen Bağı Alıcısı
HBD	Hidrojen Bağı Donörü
HCl	Hidrojen Klorür
KCl	Potasyum Klorür
KH_2PO_4	Mono Potasyum Fosfat
MS	Kütle Kromatografisi
KH_2PO_4	Mono Potasyum Fosfat
NaCl	Sodyum Klorür
NADES	Doğal Derin Ötektik Çözücü
$NaHCO_3$	Sodyum Bikarbonat
TAC	Toplam Antioksidan Kapasite
TEPGE	Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü
TPC	Toplam Fenolik Madde
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UAE	Ultrases Destekli Ekstraksiyon
UPLC	Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 2.1.	Türkiye ayçiçeği üretiminde en büyük paya sahip iller……	4
Şekil 2.2.	Ayçiçeği üretiminde önemli ülkeler…….	5
Şekil 2.3.	Temsili fenolik bileşiklerin sınıflandırılması ve yapıları…….	7
Şekil 2.4.	Ay çekirdeği ürünlerinde bulunan fenolik bileşiklerin bileşim dağılımı…….	10
Şekil 2.5.	Klorojenik asitin (CGA) kimyasal yapısı…….	11
Şekil 2.6.	DES'lerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan HBA ve HBD'lerin kimyasal yapıları……	13
Şekil 2.7.	Ultrasesin kavitasyon etkisi…….	15
Şekil 3.1.	Ay çekirdeği kabukları ……	19
Şekil 3.2.	Tefal GT110838 öğütücü ……	19
Şekil 3.3.	Nüve ST 30 çalkalamalı su banyosu ……	21
Şekil 3.4.	Mettler Toledo S220 pH metre…….	22
Şekil 3.5.	Hitachi CF15RN model santrifüj……..	22
Şekil 3.6.	Agilent Cary 60 spektrofotometre ……	25
Şekil 3.7.	Gallik asit kalibrasyon eğrisi…….	25
Şekil 3.8.	Troloks kalibrasyon eğrisi (CUPRAC)…….	26
Şekil 3.9.	Troloks kalibrasyon eğrisi (DPPH)……	27
Şekil 4.1.	Sentezlenen NADES'lerin FTIR spektrumları……...	30

ÇİZELGELER DİZİNİ

			Sayfa
Çizelge	3.1.	Doğal derin ötektik çözücülerin karakterizasyonu……..	20
Çizelge	3.2.	Mide ve bağırsak elektrolit solüsyonları…….....	23
Çizelge	4.1.	Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının in vitro……. sindirim sırasında toplam fenolik madde içeriğindeki değişimler (mg GAE/kg)…….....	33
Çizelge	4.2.	Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam fenolik madde içeriğindeki değişimler (mg GAE/kg)…….	33
Çizelge	4.2.	Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam fenolik madde içeriğindeki değişimler (mg GAE/kg) (devam)…….	34
Çizelge	4.3.	Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro*…….. sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki…… (CUPRAC) değişimler (mg TE/kg)…….	36
Çizelge	4.3.	Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (CUPRAC) değişimler (mg TE/kg) (devam)……	37
Çizelge	4.4.	Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (CUPRAC)……... değişimler (mg TE/kg) ……	37
Çizelge	4.5.	Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro*……... sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (DPPH)… değişimler (mg TE/kg) …….	38
Çizelge	4.6.	Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (DPPH) değişimler (mg TE/kg)……	38
Çizelge	4.6.	Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (DPPH) değişimler (mg TE/kg) (devam)……..	39
Çizelge	4.7.	Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro*…….. sindirim sırasında klorojenik asit içeriğindeki değişimler (µg/kg)	40
Çizelge	4.7.	Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında klorojenik asit içeriğindeki değişimler (µg/kg) (devam)……	41
Çizelge	4.8.	Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında klorojenik asit içeriğindeki değişimler (µg/kg) ……	41
Çizelge	4.8.	Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında klorojenik asit içeriğindeki değişimler (µg/kg) (devam)	42

1. GİRİŞ

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) verilerine göre, dünya genelinde yıllık ay çekirdeği üretimi yaklaşık 58,5 milyon ton seviyesindedir. Türkiye; Rusya, Ukrayna, Arjantin ve Çin ile birlikte, dünya çapında önde gelen ay çekirdeği üreticileri arasında yer almaktadır (FAOSTAT, 2025). Türkiye'de hem kavrulmamış hem de kavrulmuş ay çekirdeği, yaygın olarak tüketilen popüler bir atıştırmalık olup, bu durum evsel ve endüstriyel düzeyde önemli miktarda kabuk atığının oluşmasına neden olmaktadır. Kabuklar, toplam tohum ağırlığının yaklaşık %30'unu oluşturduğundan (Petraru ve ark., 2021), küresel ölçekte yılda yaklaşık 18 milyon ton ay çekirdeği kabuğu ortaya çıkabilmektedir. Bu yan ürünün özellikle endüstriyel işlemlerinden kaynaklanan büyük bir kısmı hâlen atık olarak ayrılmaktadır. Ancak kabukların zengin fenolik bileşik içeriği, onları katma değerli ürünlere dönüştürmek açısından önemli bir potansiyele sahip kılmaktadır.

Fenolik bileşikler, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinin yanı sıra daha sürdürülebilir ve çevre dostu yeşil ekstraksiyon yaklaşımlarıyla da bitkisel kaynaklardan elde edilebilmektedir. Bu yöntemler arasında yer alan ultrases destekli ekstraksiyon (UAE), geleneksel tekniklere kıyasla önemli avantajlar sunan çevreci bir teknoloji olarak öne çıkmaktadır. UAE'nin başlıca avantajları arasında, ısıl hassasiyeti yüksek bileşiklerin daha iyi korunması, enerji tüketiminin azaltılması ve ekstraksiyon süresinin kısaltılması yer almaktadır (Mehta ve ark., 2022; Yusoff ve ark., 2022). Ultrases uygulaması, akustik kavitatasyon etkisiyle hücre duvarı geçirgenliğini artırarak çözücünün hücre içine nüfuzunu kolaylaştırır. Bu mekanizma, bitki dokularının hücresel yapısını bozarak fenolik bileşiklerin ekstraksiyon ortamına salınımını ve transferini etkin bir şekilde artırır (Akpinar Bayizit ve ark., 2023).

Fenolik bileşiklerin bitkisel materyallerden ultrases destekli ekstraksiyonu, geleneksel olarak etanol, metanol, aseton ve izopropanol gibi organik çözücülerle, çoğunlukla su ile kombinasyon halinde gerçekleştirilmiştir (Bin Mokaizh ve ark., 2024). Bu çözücüler etkili olmakla birlikte, çevresel riskler taşımakta ve son ekstraktlarda toksik kalıntıların bulunmasına yol açabilmektedir. Gıda ve gıda bileşenlerinin üretiminde ekstraksiyon çözücülerinin kullanımını düzenleyen 2009/32/EC sayılı Avrupa Birliği Direktifine

göre, gıda ürünlerinde kalan çözücü kalıntıları insan sağlığı açısından tehlike oluşturabilecek düzeylerin altında olmalıdır (Avrupa Komisyonu, 2009). Bu tür endişeleri gidermek amacıyla geliştirilen doğal derin ötektik çözücüler (NADES), çevre dostu bir alternatif çözücü sınıfı olarak ön plana çıkmaktadır.

NADES genellikle bir tuz ile moleküler bir bileşiğin belirli bir molar oranda birleştirilmesiyle oluşturulan, iyonik olmayan sistemlerdir. Bu sistemlerde bileşenlerden biri hidrojen bağı vericisi, diğeri ise hidrojen bağı alıcısı olarak işlev görür. Tipik olarak, hidrojen bağı alıcısı kolin klorür gibi bir kuaterner amonyum tuzu olurken; hidrojen bağı vericisi ise şekerler, organik asitler, polioller veya aminler gibi çeşitli kimyasal gruplardan seçilmektedir. Bu bileşenlerin uygun oranlarda bir araya getirilmesiyle, bireysel bileşenlerin erime noktalarının çok altında eriyebilen bir ötektik sistem oluşur (Gomez-Urios ve ark., 2024). Son yıllarda yapılan araştırmalar, NADES'lerin, gıda işleme yan ürünlerinden fenolik bileşenlerin ekstraksiyonunda son derece etkili olduğunu ve pek çok durumda geleneksel organik çözücülere kıyasla daha yüksek verim sağladığını göstermektedir (Benítez-Correa ve ark., 2023; Cao ve ark., 2023; Fu ve ark., 2022).

Fenolik bileşiklerin sağlıkla ilişkili faydaları, gastrointestinal sistemde serbest kalma ve emilme kapasiteleriyle doğrudan ilişkilidir; bu özellik biyoerişilebilirlik olarak tanımlanmaktadır. *In vitro* sindirim modelleri, gastrointestinal koşulları taklit etmek amacıyla yaygın olarak kullanılmakta olup, *in vivo* yöntemlere kıyasla daha hızlı, tekrarlanabilir ve etik açıdan daha uygun bir alternatif sunmaktadır (Dantas ve ark., 2023). Ancak, NADES kullanılarak elde edilen fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini değerlendiren çalışmalar hâlen sınırlı sayıdadır (Aslan Türker & Doğan, 2022; Atayoglu ve ark., 2023). Bugüne kadar, NADES ile ekstrakte edilen ay çekirdeği kabuğu fenolik bileşiklerinin biyoerişilebilirliğini değerlendiren herhangi bir yayınlanmış çalışma bulunmamaktadır. Bu bilgi eksikliğini gidermeyi amaçlayan mevcut çalışmada hem kavrulmamış hem de kavrulmuş ay çekirdeği kabuklarından fenolik bileşenlerin izolasyonu için NADES ile ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi uygulanmış ve elde edilen yeşil ekstraktların biyoerişilebilirliği değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler, bu

ekstraktların fonksiyonel gıda veya nutrasötik formülasyonlarında potansiyel kullanımını destekleyebileceğini ortaya koymaktadır.

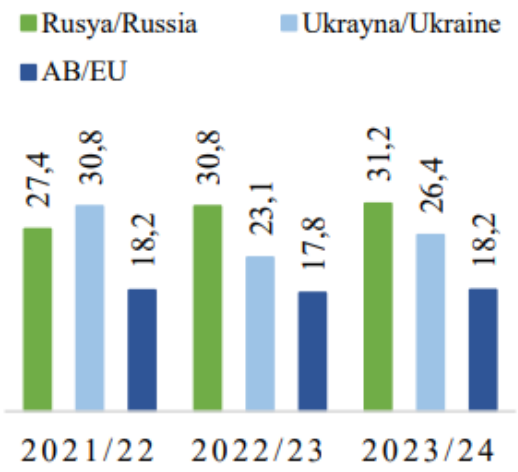
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Ayçiçeği

FAOSTAT 2023 verilerine göre, 18,1 milyon tonluk üretim ile Rusya, dünya ayçiçeği üretiminde birinci sırada yer almakta olup, Türkiye yaklaşık 2,2 milyon tonluk üretimi ile altıncı sırada bulunmaktadır (FAOSTAT, 2023). Türkiye'de 2023/24 üretim sezonunda ayçiçeği ekim alanı 952 bin hektar, toplam üretim ise 2,2 milyon ton olarak gerçekleşmiştir (TEPGE, 2024). Aynı yıl içerisinde en yüksek üretim Edirne, Adana, Tekirdağ, Kırklareli illerinde kaydedilmiş (Şekil 2.1); bu dört il, ülke toplam üretiminin yaklaşık %65'ini karşılamaktadır (BÜGEM, 2022). Türkiye'nin ayçiçeğinde kendine yeterlilik oranı ise 2022/23 sezonunda %51'e gerilemiştir (TEPGE, 2023). Küresel ölçekte değerlendirildiğinde, 2023/24 sezonunda dünya genelinde ayçiçeği ekim alanı bir önceki sezona kıyasla azalmıştır (TEPGE, 2024). Aynı sezonda dünya ayçiçeği üretiminin %75,8'i Rusya, Ukrayna ve Avrupa Birliği (AB) tarafından karşılanmaktadır (Şekil 2.2). Avrupa Birliği, 2023/24 sezonunda en büyük ithalatçı konumundayken; Çin, AB ve Rusya en büyük ihracatçılar arasında yer almıştır. Türkiye ise ayçiçeği ithalatında ikinci sırada yer almıştır (TEPGE, 2024). TÜİK 2024 Bitkisel Üretim İstatistikleri raporuna göre, Türkiye'de ayçiçeği üretimi, %0,1 oranında azalarak yaklaşık 2,2 milyon ton olarak gerçekleşmiştir. TÜİK'in 2025 yılı Bitkisel Üretim 1. Tahmini raporunda ise ayçiçeği üretiminin %4,8 oranında artarak 2,3 milyon tona ulaşması öngörülmektedir (TÜİK, 2024; 2025).



Şekil 2.1. Türkiye ayçiçeği üretiminde en büyük paya sahip iller (TEPGE, 2024)



Şekil 2.2. Ayçiçeği üretiminde önemli ülkeler (TEPGE, 2024)

Ayçiçeği (*Helianthus annuus* L.), Asterales takımına ve Asteraceae (papatyagiller) familyasına ait, *Helianthus* cinsine mensup tek yıllık otsu bir bitkidir (Binboğa Meral, 2019; Pal, 2011). Genellikle 1–2 metreye kadar boylanan ve dik gövdeli olan bitki, üst kısmından dallanma gösterir ve yaprakları almaşık dizilişlidir. Yapraklar geniş, yumurta biçiminde olup 7–30 cm uzunluğunda ve uçları genellikle hafif sivridir. Çiçek başlarının çapı doğal koşullarda 8–15 cm arasında değişmekteyken, kültür koşullarında 30–60 cm'ye kadar ulaşabilmektedir. Çiçekler, sarı renkli dilsi çiçekler ile kahverengimsi-mor tonlardaki tüpsü çiçeklerden oluşur. Tohumları ters yumurta şeklinde, yassı ve silindirik yapıdadır; ortalama olarak 1 cm uzunluğunda ve 0,6 cm genişliğindedir. Tohum rengi beyaz, siyah veya siyah çizgili olabilir. Ayçiçeği kendi kendini dölleyemez; tozlaşma büyük ölçüde böcekler aracılığıyla gerçekleşir (Pal, 2011).

Ayçiçeğinin kökeni, Kuzey Amerika'ya, özellikle Meksika'ya özgü yabani türlerden biri olan *H. lenticularis*'e dayanmaktadır ve geçmişi M.Ö. 26. yüzyıla kadar uzanmaktadır (Binboğa Meral, 2019; Pal, 2011; Weisz ve ark., 2009). Arkeolojik bulgular, ayçiçeğinin M.Ö. 3000'li yıllarda kültüre alındığını göstermektedir. 1500'lü yıllarda İspanya'ya ulaşan ayçiçeği, buradan Avrupa'ya yayılmış; 1700'lü yıllardan itibaren yalnızca süs bitkisi olarak değil, aynı zamanda yağ üretimi amacıyla da tarımı yapılmaya başlanmıştır. Türkiye'ye ise 1. Dünya Savaşı sonrasında, Romanya ve Bulgaristan'dan göç eden nüfus aracılığıyla gelmiş ve ilk olarak Trakya Bölgesinde tarımı yapılmıştır (Binboğa Meral, 2019). Günümüzde ayçiçeği; Kafkaslar, Ukrayna,

Balkanlar, Amerika, Afrika, Asya, Avustralya ve Avrupa'nın birçok bölgesinde yaygın olarak yetiştirilmektedir (Pal, 2011).

Ayçiçeği, ekonomik olarak başta yağ üretimi olmak üzere, çerezlik tüketim ve hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir (Pal, 2011; Weisz ve ark., 2009; Özcan ve ark., 2024). Bunun yanı sıra, süs bitkisi olarak da önemli bir kullanım alanına sahiptir (Zhang ve ark., 2022). Ayçiçeği tohumları; sağlıklı doymamış yağlar, protein, diyet lifi, vitaminler (B1, B5, B6, E) ve mineraller (fosfor, bakır, manganez, demir, çinko, magnezyum) ile temel amino asitler bakımından zengin bir besin profiline sahiptir. Özellikle E vitamini içeriğinin yüksek olması, ayçiçeğine anti-enflamatuvar özellik kazandırmakta ve astım ile osteoartrit gibi inflamasyonla ilişkili hastalıkların semptomlarının hafifletilmesine katkı sağlamaktadır. Ayrıca, içerdiği yüksek magnezyum düzeyleri sayesinde migren, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların riskinin azaltılmasında da etkili olabileceği bildirilmektedir. Bitkinin yapraklarında biyolojik olarak etkili bir bileşik olan annuinon A bulunmaktadır. Ayçiçeği türleri, morfolojik ve kimyasal özellikler bakımından önemli çeşitlilik göstermektedir. Bitki boyu, çiçek çapı, tohum şekli ve rengi ile yağ içeriği gibi özellikler türler arasında farklılık arz etmektedir (Pal, 2011).

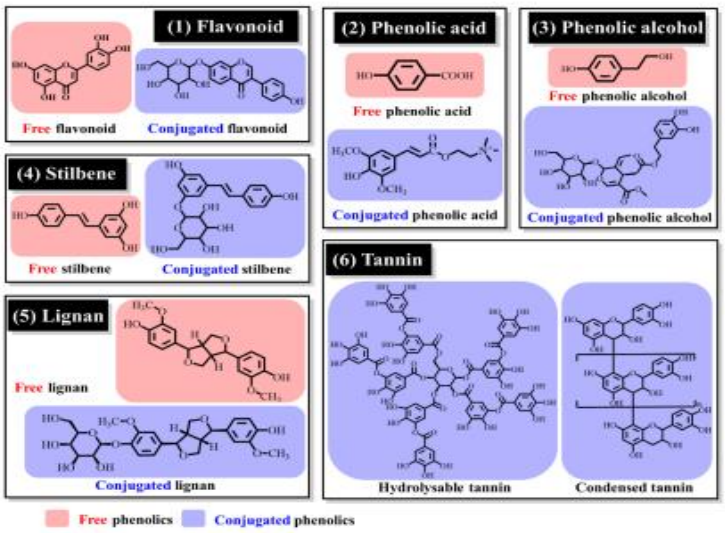
Ayçiçeği tohumlarından elde edilen yağ, küresel bitkisel yağ tüketiminin yaklaşık %10'unu oluşturmaktadır (Zhang ve ark., 2022). Tohumlar yalnızca değerli bir bitkisel yağ ve kaliteli protein kaynağı olmakla kalmayıp, aynı zamanda fenolik bileşikler açısından da zengin bir içerik sunmaktadır (Weisz ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2022). İç tohumlardaki toplam fenolik madde miktarı 2.938,8–4.175,9 mg/100 g arasında değişirken, kabuklardaki değerler 40,8–86,0 mg/100 g oranındadır. Ayçiçeğinde en yaygın olarak bulunan fenolik bileşikler arasında klorojenik asit, kafeik asit ve kinik asit yer almaktadır (Weisz ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2022). Fenolik bileşik düzeyleri, tohumun baş içindeki konumu, depolama koşullarına ve genetik çeşitliliğe bağlı olarak önemli farklılıklar gösterebilmektedir (Zhang ve ark., 2022).

Yağ çıkarımı sonrasında geriye kalan ayçiçeği küspesi, yüksek protein içeriği ve özellikle klorojenik asit gibi fenolik bileşikler bakımından zengin olması nedeniyle besleyici bir yan ürün niteliğindedir ve çoğunlukla hayvan yemi olarak

değerlendirilmektedir (Weisz ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2022). Küspe, yağı alınmış çekirdeğin yaklaşık %40-50'sini oluşturmaktadır (Weisz ve ark., 2009). Ancak bu yan ürünün sahip olduğu biyolojik potansiyelin yeterince değerlendirilmemesi, önemli bir kaynak israfına yol neden olmaktadır (Zhang ve ark., 2022).

2.2. Fenolik bileşenler

Fenolik bileşikler, bitkilerde doğal olarak bulunan ve meyveler ile sebzeler gibi bitki bazlı gıdaların önemli bir bileşenini oluşturan ikincil metabolitlerdir (López-Fernández ve ark., 2020). Bu bileşikler, bitkilerin büyüme ve gelişim süreçlerinde rol oynamanın yanı sıra duyusal özellikleri, yapısal bütünlük ve çevresel streslere karşı savunma mekanizmalarında da görev üstlenirler (Rente ve ark., 2021). Fenolik bileşikler, aromatik bir halkaya bağlı bir veya birden fazla hidroksil grubunun varlığı ile tanımlanır (Rente ve ark., 2021) ve kimyasal yapılarına göre çeşitli sınıflara ayrılırlar (López-Fernández ve ark., 2020). Şekil 2.3'te belirtilen sınıflandırmaya göre bu bileşikler; flavonoidler, fenolik asitler, fenolik alkoller, stilbenler, lignanlar, tanninler olmak üzere altı grupta incelenmektedir (López-Fernández ve ark., 2020; Zhang ve ark., 2022).



Şekil 2.3. Temsili fenolik bileşiklerin sınıflandırılması ve yapıları (Zhang ve ark., 2022)

Flavonoidler, doğada en yaygın bulunan fenolik bileşik grubudur ve bitkilerde fenilpropanoid yolu üzerinden sentezlenir (López-Fernández ve ark., 2020). Yapısal

olarak iki benzen halkasının üç karbonlu bir köprüyle bağlanmasından oluşan C_6–C_3–C_6 iskeletine sahiptirler (Lund, 2021). Flavonoidler çoğunlukla glikozillenmiş formda, yani yapılarında şeker birimleri bağlı halde bulunur (López-Fernández ve ark., 2020; Lund, 2021). Bu glikozit bağlanmaları genellikle flavonoidlerin karbon halkasındaki 3. pozisyonda gerçekleşir (Lund, 2021). Hidroksil grupları ise genellikle 4′-, 5-, 7-pozisyonlarında, zaman zaman da 3′- ve 5′-pozisyonlarında yer alır (Lund, 2021). Flavonoidler; antosiyaninler, flavonoller, flavanonlar, chalkonlar, izoflavonlar, flavonlar ve flavan-3-oller gibi alt sınıfa ayrılır (López-Fernández ve ark., 2020; Lund, 2021). Soğan, kereviz, karabuğday, elma, üzüm, kiraz, domates, şarap ve çeşitli baharatlar gibi pek çok bitkisel kaynakta yaygın olarak bulunurlar (López-Fernández ve ark., 2020).

Fenolik asitler, temel olarak benzoik asit ile sinnamik asit türevlerinden oluşan bir bileşik grubudur (López-Fernández ve ark., 2020; Alexandrino ve ark., 2021). Kumarik, ferulik ve kafeik asit gibi yaygın bileşiklerin sinamik asit türevleri olduğu bilinmektedir. Kafeik asit, meyve ve sebzelerde en yaygın bulunan fenolik asitlerden biri olup, çoğunlukla klorojenik asit formunda esterleşmiş şekilde yer alır (Alexandrino ve ark., 2021). Yüksek antioksidan aktiviteleriyle öne çıkan bu bileşikler, özellikle çilek, üzüm, nar, elma, armut, şeftali ve limon gibi meyvelerde yoğun olarak bulunmaktadır (López-Fernández ve ark., 2020).

Stilbenler, polifenoller arasında daha az yaygın olan bir alt gruptur ve karakteristik olarak 1,2-difeniletilen iskeletine sahiptirler. Üzüm, yer fıstığı, yaban mersini ve kırmızı şarap gibi çeşitli besinlerde doğal olarak bulunurlar. Lignanlar ise iki fenilpropan biriminin birleşmesiyle oluşan fenolik bileşiklerdir ve başta çavdar, buğday, narenciye ve soğan gibi bitkisel ürünlerde yer alırlar. Bu grup, yapısal özelliklerine göre temel olarak dibenzoilbutan lignanları ve furofuran lignanları olmak üzere iki ana sınıfa ayrılmaktadır (López-Fernández ve ark., 2020).

Polifenoller genellikle içeriklerindeki fenol halkalarının sayısı, bağlanma biçimi ve kimyasal özelliklerine göre sınıflandırılmakla birlikte; kaynaklarına ve biyolojik işlevlerine göre de değerlendirilebilmektedirler (López-Fernández ve ark., 2020). Gıdalarda doğal antioksidan olarak kullanılan fenolik bileşikler, yalnızca acılık, burukluk, renk, tat ve aroma gibi duyusal özelliklerin oluşumunda rol oynamakla

kalmaz; aynı zamanda lipid oksidasyonunu yavaşlatarak ürünlerin raf ömrünü uzatır ve sağlık üzerinde olumlu etkiler sağlar (Lund, 2021; Yu ve ark., 2021). Oksidatif bozulmaların, gıdalarda mikrobiyal olmayan en yaygın bozulma nedenlerinden biri olması, bu bileşiklerin sentetik antioksidanlara doğal bir alternatif olarak kullanımını teşvik etmektedir (López-Fernández ve ark., 2020).

Fenolik bileşiklerin insan sağlığı üzerindeki bu olumlu etkileri, son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarla daha belirgin bir şekilde ortaya konmuştur. Diyetle alınan bu bileşikler, özellikle oksidatif stresle ilişkili kronik hastalıkların önlenmesinde etkili olan güçlü antioksidan özellikleri sayesinde sağlık açısından büyük önem taşımaktadır. Öte yandan, tüketicilerin daha doğal ve katkısız gıdalara yönelmesi, gıda endüstrisinde sentetik katkı maddeleri yerine doğal alternatiflerin kullanımını teşvik etmektedir. Bilindiği üzere, oksidatif bozulmalar gıdalarda mikrobiyal olmayan en yaygın bozulma nedenlerinden biridir (López-Fernández ve ark., 2020). Fenolik bileşenlerin doğal kaynaklı antioksidanlar olması, sentetik antioksidanların potansiyel toksik etkilerine ilişkin artan endişeler dikkate alındığında, bu bileşiklerin tüketiciler tarafından daha kolay benimsenmesini sağlamaktadır (Zhang ve ark., 2022). Bu doğrultuda, polifenol açısından zengin doğal ekstraktların sentetik antioksidanların yerine kullanımına yönelik ilgi giderek artmaktadır. Bu yaklaşım, hem tüketici sağlığı ve güvenliği açısından daha fazla kabul görmekte hem de sürdürülebilir üretim hedefleriyle uyumlu olması nedeniyle gıda endüstrisi açısından stratejik bir avantaj sunmaktadır (López-Fernández ve ark., 2020).

Fenolik bileşikler, sahip oldukları özgün kimyasal yapıları sayesinde fonksiyonel açıdan yüksek değere sahiptir (Zhang ve ark., 2022). Bu bileşikler, oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyelerini azaltmakta ve plazmanın genel antioksidan kapasitesini artırmaktadır (Yu ve ark., 2021). Ancak, fenolik bileşiklerin sağlık üzerindeki biyolojik etkileri yalnızca antioksidan aktiviteleriyle sınırlı değildir (Rente ve ark., 2021; Yu ve ark, 2021). Yapılan araştırmalar, bu bileşiklerin anti-viral, hipoglisemik, hipolipidemik, anti-inflamatuar, nöroprotektif, antimutajenik, antikanserojenik ve antimikrobiyal gibi pek çok yararlı biyolojik etkilere sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Yu ve ark, 2021; Rente ve ark., 2021; Zhang ve ark.,

2022). Bu çok yönlü biyolojik özellikleri, fenolik bileşiklerin yalnızca gıda endüstrisinde değil, aynı zamanda kozmetik, ilaç ve nutrasötik uygulamalarda da yaygın biçimde kullanılmasına olanak tanımaktadır (Rente ve ark., 2021).

Yağlı tohumlarda, düşük molekül ağırlıklı bileşiklerden kompleks yapılı makromoleküllere kadar uzanan geniş bir fenolik bileşik yelpazesi tanımlanmış ve izole edilmiştir. Bu bileşiklerin tür ve miktar açısından farklılık göstermesi, yağlı tohumların hem fizyolojik özelliklerini hem de besin değerlerini doğrudan etkilemektedir. Fenolik bileşiklerin kompozisyonu; bitkinin türü ve genotipi başta olmak üzere, yetiştirildiği bölgenin toprak özellikleri, iklim koşulları, olgunluk seviyesi ve hasat zamanı gibi çeşitli çevresel ve genetik faktörden önemli ölçüde etkilenmektedir (Zhang, 2022). Ayçiçeği belirli fenolik bileşenler açısından zengin bir içerik sunmaktadır. Ay çekirdeğinde başlıca fenolik asidin klorojenik asit olduğu bildirilmiş olup (Weisz, 2009; Alu'datt ve ark., 2017; Zhang ve ark., 2022), buna karşın kafeik asit seviyeleri oldukça düşüktür (Alu'datt ve ark., 2017). Şekil 2.4'te ay çekirdeği ürünlerinde bulunan fenolik bileşiklerin bileşim dağılımı gösterilmiştir.

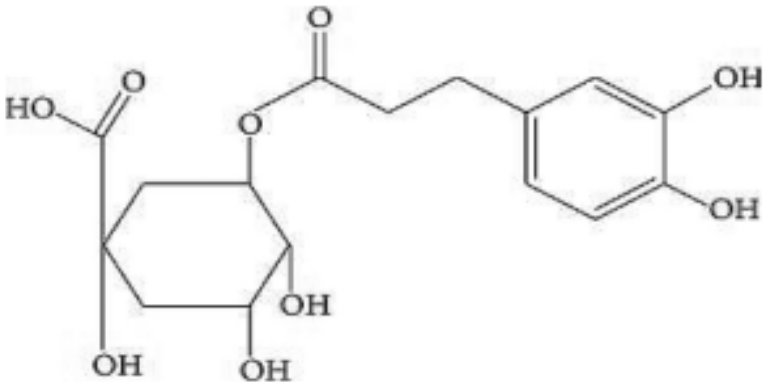
Sunflower seed	Seed	Lignan	Sesamin (0.84 ± 0.02), sesaminol (0.04 ± 0.02), sesamol (3.85 ± 0.63), sesamolinol (0.38 ± 0.09), syringaresinol (0.58 ± 0.07), conidendrin (0.02), dimethylmatairesinol (0.15), lariciresinol (0.16 ± 0.01), medioresinol (0.05 ± 0.01), pinoresinol (0.01), secoisolariciresinol (0.03 ± 0.01)
	Kernel	Free phenolic acid	Caffeic acid (19.20–26.70), ferulic acid (7.20–91.50)
		Conjugated phenolic acid	Chlorogenic acid (1945.70–3050.50), caffeoylquinic acid (36.50–51.40)
	Shell	Free phenolic acid	Caffeic acid (0.50–1.00), ferulic acid (0.30–1.00)
		Conjugated phenolic acid	Chlorogenic acid (26.60–59.10), caffeoylquinic acid (1.50–4.80)
	Oil	Conjugated phenolic acid	Chlorogenic acid (20–320)

Şekil 2.4. Ay çekirdeği ürünlerinde bulunan fenolik bileşiklerin bileşim dağılımı (Zhang ve ark., 2022)

2.2.1. Klorojenik asit

Klorojenik asitler (CGA), fenilpropanoid biyosentez yoluyla oluşan önemli bitkisel ikincil metabolitler arasında yer alır. Konjuge fenolik bileşikler sınıfında yer alan CGA'lar, aromatik halka içeren bir omurga yapısına sahiptir (Şekil 2.5) ve hidroksilasyon reaksiyonlarıyla hidroksisinamik asitler ya da kafeik asit türevlerini oluşturabilirler (He, 2025). Klorojenik asit, kafeik asit ile kinik asidin esterleşmesi

sonucu oluşur ve moleküler formülü $C_{16}H_{18}O_9$ olan bu bileşik, aynı zamanda kafeoilkinik asit olarak da bilinmektedir (Tošović ve ark., 2017; He ve ark, 2025).



Şekil 2.5. Klorojenik asitin (CGA) kimyasal yapısı (Naveed ve ark., 2018)

Klorojenik asit, özellikle kahve başta olmak üzere birçok gıdada yüksek miktarda bulunması nedeniyle, tüketicilerin sıkça maruz kaldığı başlıca polifenoller arasında yer almaktadır (Naveed ve ark., 2018). Bu molekül, lipid peroksidasyonu gibi oksidatif süreçlere karşı bitkileri koruyan güçlü antioksidan özellikler göstermektedir (Tošović ve ark., 2017). Klorojenik asitlerin gıda endüstrisinde de çeşitli önemli kullanım alanları bulunmaktadır. Örneğin, meyvelerin korunmasında, yara iyileşmesini teşvik etmek ve bozulmayı yavaşlatmak amacıyla kullanılabilmektedirler. İnsan beslenmesinde yaygın olarak bulunmaları nedeniyle, CGA'lar doğal gıda katkı maddesi ya da besin takviyesi olarak da önerilmektedir (He ve ark., 2025).

Klorojenik asitler (CGA'lar), yalnızca bitkilersel sistemlerde ve gıdalarda değil, insan sağlığı açısından da önemli antioksidan etkiler ve çeşitli farmakolojik yararlar sunmaktadır. Yapılan çok sayıda biyolojik araştırma, CGA'ların geniş bir etki yelpazesine sahip olduğunu ortaya koymuştur. bu etkiler arasında antioksidan, antihipertansif, antimutajenik, hipoglisemik (kan şekeri düşürücü), hipolipidemik (kan yağlarını azaltıcı), antiobezite, antikanser, tümör karşıtı ve nöroprotektif (sinir hücrelerini koruyucu) özellikler öne çıkmaktadır (Tošović, 2017; He ve ark., 2025). Ayrıca, CGA'ların tedavi potansiyeli antibakteriyel ve antienflamatuvar (iltihap önleyici) etkileri de kapsamaktadır (Tošović, 2017; Naveed ve ark., 2018; He ve ark., 2025).

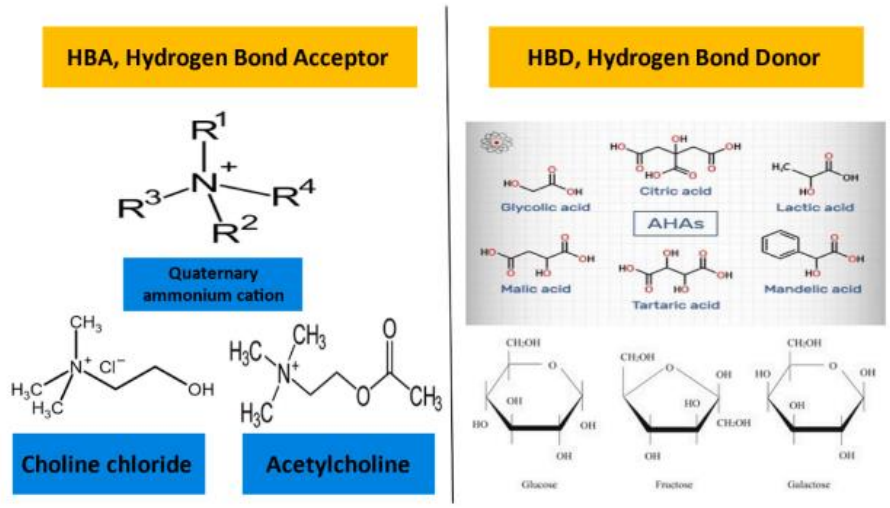
2.3. Doğal Derin Ötektik Çözücüler (NADES)

Günümüzde kimyasal işlemlerde, doğal kaynaklı bileşenlerin ekstraksiyonu, ayrılması ve saflaştırılması için çözücülere ihtiyaç devam etmektedir (Bashir ve ark., 2023). Geleneksel çözücüler genellikle uçucu organik bileşikler ve petrol türevlerinden oluşmakta olup, çoğu hem çevreye zarar vermekte hem de insan sağlığı açısından risk oluşturmaktadır. Bu nedenle, toksik olmayan, çevre dostu ve sürdürülebilir alternatif çözücülere yönelik ilgi ve talep giderek artmaktadır (Aslan Türker & Doğan, 2022; Bashir ve ark., 2023). Son yıllarda bu alanda dikkat çeken çözücüler arasında doğal derin ötektik çözücüler (NaDES) ve derin ötektik çözücüler (DES) ön plana çıkmaktadır (Benitez-Correra ve ark., 2023; Bashir ve ark., 2023).

NADES, en az iki bileşenin —bir hidrojen bağ donörü (HBD) ve bir hidrojen bağ alıcısı (HBA)— belirli şartlar altında bir araya getirilmesiyle oluşan, düşük sıcaklıklarda sıvı halde kalan ötektik karışımlardır (Bezerra ve ark., 2024; Rashid ve ark., 2023). Genellikle kuaterner amonyum tuzları, özellikle kolin klorür (ChCl) gibi bileşenler HBA olarak; amino asitler, şekerler, karboksilik asitler gibi doğal organik bileşikler ise HBD olarak kullanılmaktadır (Bertolo ve ark., 2021; Rashid ve ark., 2023). Şekil 2.6'da DES'lerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan HBA ve HBD'lerin kimyasal yapıları yer almaktadır. Bu bileşenler tek başlarına yüksek erime noktalarına sahip olmalarına rağmen, uygun oranlarda karıştırılıp ısıtıldıklarında sıvı, homojen ve şeffaf bir çözücü sistemi oluşturmaktadırlar (Bertolo ve ark., 2021; Rashid ve ark., 2023).

NADES'ler, geleneksel organik çözücülere kıyasla birçok avantaja sahiptir. Düşük toksisite, yanıcılık ve uçuculuk göstermemeleri, biyolojik olarak kolay parçalanabilir olmaları, düşük buhar basınçları, maliyet etkinlikleri ve biyouyumlu yapıları en önemli üstünlükleri arasında yer almaktadır (Bashir ve ark., 2023; Bezerra ve ark., 2024; Rashid ve ark., 2023). Ayrıca, geniş bir polarite aralığında çeşitli bileşikleri çözebilme kapasiteleri sayesinde ekstraksiyon verimliliğini önemli ölçüde artırabilmektedirler (Aslan Türker & Doğan, 2022; Bezerra ve ark., 2024). Özellikle fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda, organik çözücüler veya suya kıyasla daha yüksek performans sergileyebilmektedirler (Bezerra ve ark., 2024). Bunlara ek olarak, gıda sınıfı bileşenlerden oluşmaları sayesinde, NaDES ile elde edilen ekstraktlar nutrasötik ve

farmasötik ürünlerde saflaştırma gereksinimi olmaksızın doğrudan kullanılabilme potansiyeline sahiptir; bu durum hem işlem basamaklarını azaltmakta hem de endüstriyel uygulamalarda önemli bir avantaj sağlamaktadır (da Silva ve ark., 2021).



Şekil 2.6. DES'lerin hazırlanmasında yaygın olarak kullanılan HBA ve HBD'lerin kimyasal yapıları (Bashir ve ark., 2023)

NADES'lerin yüksek viskozitesi, ekstraksiyon işlemlerinde karşılaşılan başlıca zorluklardan biridir (Rashid ve ark., 2023; Benítez-Correa ve ark., 2023). Bu durum, işlem verimliliğini azaltabilir ve çözücünün karıştırılmasını zorlaştırarak kütle transferini olumsuz etkileyebilir. Viskozitenin azaltmak amacıyla yaygın olarak yüksek sıcaklık uygulaması veya çözücü sistemine su ilavesi tercih edilmektedir (Benítez-Correa ve ark., 2023; Rashid ve ark., 2023). Ancak yüksek sıcaklık uygulamaları, ısıya duyarlı biyoaktif bileşiklerin yapısının bozulmasına neden olabileceğinden her zaman uygun bir seçenek değildir (Rashid ve ark., 2023). Alternatif olarak, çözücüye belirli oranlarda su ilavesi viskozitenin düşürülmesinde etkili olmaktadır. Bu oran genellikle %10-30 aralığında tutulur; ancak %50'nin üzerindeki su ilavesi, ötektik yapının bozulmasına ve çözücünün kimyasal stabilitesinin kaybolmasına yol açabilir (Benítez-Correa ve ark., 2023; Rashid ve ark., 2023).

İyonik sıvılarla benzer fizikokimyasal özellikler taşıyan NADES'ler, bu sıvıların yüksek maliyet, toksisite ve biyolojik parçalanabilirlik gibi dezavantajlarına kıyasla çok daha çevre dostu ve ekonomik çözücüler olarak değerlendirilmektedir (Bashir ve ark., 2023).

Su ile karışabilirlik, viskozite ayarlanabilirliği ve çözücünün geri kazanılabilirliği gibi özellikleri sayesinde, NADES'ler endüstriyel uygulamalarda da pratik ve sürdürülebilir bir alternatif olarak öne çıkmaktadır (Bertolo ve ark., 2021; Aslan Türker & Doğan, 2022; Bashir ve ark., 2023).

Tüm bu avantajlar sayesinde NADES'ler gıda, ilaç, kozmetik ve tarım kimyasalları gibi çeşitli sektörlerde çevre dostu ve sürdürülebilir ekstraksiyon çözümleri sunmaktadır (Bashir ve ark., 2023; Rashid ve ark., 2023; Aslan Türker & Doğan, 2022; Bezerra ve ark., 2024). Özellikle temiz etiket (clean label) ürünlere yönelik artan tüketici talebi, doğal ve güvenli çözücü sistemleri olan NADES'lerin önemini ve endüstriyel uygulamalardaki potansiyelini daha da artırmaktadır (Bezerra ve ark., 2024).

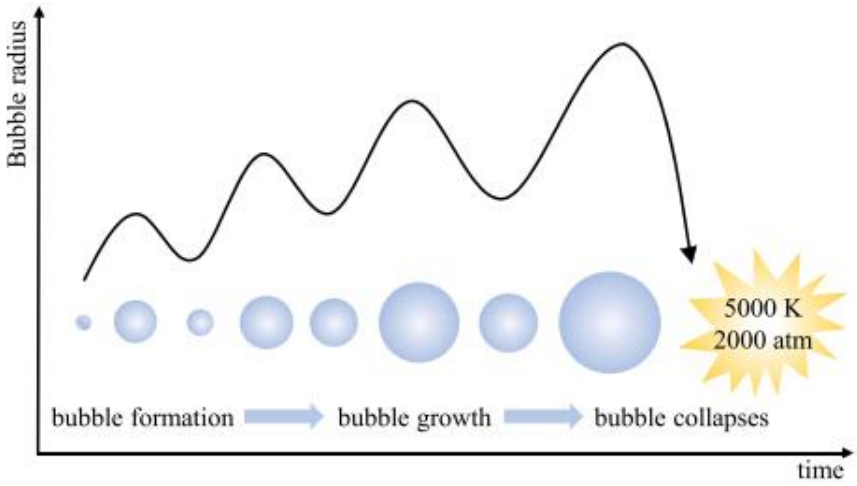
2.4. Ultrases Destekli Ekstraksiyon

Ekstraksiyon, biyoaktif bileşiklerin elde edilmesinde temel aşamalardan biridir ve bu işlem çözücü bazlı ekstraksiyon, mekanik presleme, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi çeşitli yöntemlerle gerçekleştirilebilmektedir. Ancak her yöntemin kendine özgü sınırlamaları bulunmaktadır; çözücü kullanımı gereksinimi, düşük verim, yüksek maliyet veya sulu ortam gerekliliği gibi faktörler uygulamayı kısıtlayabilmektedir. Bu bağlamda, ultrases destekli ekstraksiyon (UAE), kısa sürede, düşük enerji tüketimiyle ve düşük sıcaklık koşullarında yüksek verimli ekstrakt elde edilmesini sağlamasıyla öne çıkmaktadır (Kumar ve ark., 2021). UAE yöntemi, fenolik bileşiklerin geri kazanımında çevre dostu ve sürdürülebilir bir teknoloji olarak değerlendirilmektedir (Lima ve ark., 2025).

UAE yöntemi, DES çözücüleriyle birlikte uygulandığında, özellikle gıda işleme atıklarından biyoaktif bileşenlerin daha yüksek verimlilikle elde edilmesini sağlamaktadır. Bu yöntem, hücre duvarlarını etkili biçimde parçalayarak hücre içi faydalı bileşiklerin serbest kalmasını kolaylaştırır. Böylece, daha kısa işlem süresi, daha az çözücü kullanımı ve daha yüksek geri kazanım oranları ile çevre dostu, toksik olmayan, güvenli ve pratik bir ekstraksiyon yöntemi sunar (Bashir ve ark., 2023; Rashid ve ark., 2023). Nitekim, optimize edilmiş UAE-NADES sistemleri, su, etanol ve %30 hidroetanolik karışımlar gibi geleneksel çözücülere kıyasla toplam fenolik madde içerik

(TPC), toplam flavonoid madde içerik (TFC) ve serbest radikal giderme kapasitesi gibi kalite parametrelerinde üstün performans sergilemiştir (Rashid ve ark., 2023).

İnsan kulağının duyma sınırı olan 20 kHz'in üzerindeki frekanslarda tanımlanan ultrasonik dalgalar, elastik ortamlarda parçacıkların hareketiyle oluşan mekanik dalgalardır (Shen ve ark., 2023; Kumar ve ark., 2021). Bu yüksek frekanslı dalgaların yayılması sırasında meydana gelen akustik kavitasyon (Şekil 2.7), bitki hücrelerinin yapısını fiziksel olarak bozarak çözücünün bitki dokusuna nüfuz etmesini ve biyoaktif bileşiklerin çözünmesini kolaylaştırır (Kumar ve ark., 2021). Kavitasyon sırasında oluşan mikroskobik baloncuklarının çökmesiyle ortaya çıkan ani yüksek sıcaklık ve basınç, ekstraksiyon ortamındaki biyokimyasal reaksiyonları hızlandırmakta ve kütle transferini artırmaktadır (Kumar ve ark., 2021; Lima ve ark., 2025). Böylece fenolik bileşiklerin çözücüye daha etkin şekilde salınması sağlanır. Ultrasonik dalgalar; tıp, malzeme muayenesi, kaynak teknolojileri ve gıda işleme gibi pek çok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır (Shen ve ark., 2023). Ekstraksiyon uygulamalarında genellikle ultrasonik banyolar veya prob sistemleri tercih edilir. Ultrasonik banyolar, paslanmaz çelikten yapılmış tanklar içerisinde, bitki materyallerinin çözücü içerisinde dağıtılmasıyla çalışır. Bu sistemler ekonomik ve kullanıcı dostu olmalarına rağmen, düşük tekrarlanabilirlik ve sınırlı enerji aktarımı gibi nedenlerle ekstraksiyon verimliliği açısından bazı kısıtlamalara sahiptir (Kumar ve ark., 2021).



Şekil 2.7. Ultrasesin kavitasyon etkisi (Shen ve ark., 2023)

Gıda alanında UAE, özellikle polifenollerin ekstraksiyonunda geleneksel yöntemlere göre daha yüksek verim sağlamaktadır. Ancak, yüksek düzeyde ultrasonik enerji uygulaması, fenolik bileşiklerin yapısal bütünlüğünü olumsuz yönde etkileyebilir. Yüksek frekanslarda oluşan serbest hidroksil radikalleri, fenolik bileşiklerin oksidatif bozunmasına neden olarak biyolojik aktivitelerinin azalmasına yol açabilmektedir. Bu nedenle, ekstraksiyon verimliliği ile bileşik stabilitesi arasında bir denge kurulması adına, ultrasonik güç ve frekans parametrelerinin dikkatli bir şekilde optimize edilmesi gereklidir. Literatürde, düşük frekansların (örneğin 40 kHz altı) polifenol ekstraksiyonunda daha yüksek verim sağladığı; buna karşılık yüksek frekansların moleküler parçalanmayı artırabileceği belirtilmiştir. Bu tür parçalanmalar sonucunda moleküler ağırlığın azalması, bazı durumlarda fenolik bileşiklerin sindirim sisteminde çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını olumlu yönde etkileyebilir (Shen ve ark., 2023).

UAE'nin temel avantajlarından biri, kavitasyon etkisiyle hücre zarlarında gözeneklerin oluşması (sonoporasyon) yoluyla biyoaktif bileşiklerin hücre dışına taşınmasını kolaylaştırmasıdır. Ayrıca, ultrasonik uygulama posanın su tutma kapasitesini artırarak difüzyon ve desorpsiyon süreçlerini desteklemekte, böylece ekstraksiyon verimliliğini artırmaktadır. Bu çoklu mekanizmalar sayesinde, UAE yöntemi geleneksel ekstraksiyon tekniklerine kıyasla hem verimlilik hem de işlem süresi açısından üstünlükler sunmaktadır (Kumar ve ark., 2021). Daha kısa işlem süresi, düşük enerji gereksinimi ve toksik olmayan, genellikle su bazlı çözücülerin kullanılabilmesi gibi özellikleri, UAE'yi gıda endüstrisinde giderek artan "yeşil ekstraksiyon" yaklaşımlarına uygun bir alternatif hâline getirmektedir (Lima ve ark., 2025).

Sonuç olarak, derin ötektik çözücülerle birlikte kullanılan UAE, çevre dostu, toksik olmayan ve yüksek verim sağlayan bir yöntem olarak öne çıkmaktadır. Özellikle fenolik bileşikler başta olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşiklerin elde edilmesinde sürdürülebilir ekstraksiyon teknolojileri arasında önemli bir yere sahiptir (Bashir ve ark., 2023; Kumar ve ark., 2021; Lima ve ark., 2025; Rashid ve ark., 2023; Shen ve ark., 2023).

2.5. Biyoerişilebilirlik

Biyoerişilebilirlik, sindirim sürecinin ardından gıda matrisinden ayrılarak ince bağırsak lümeninde çözünebilen ve emilim için hazır hale gelen hedef bileşik miktarı olarak tanımlanmaktadır (Morais ve ark., 2025; Carbonell-Capella ve ark., 2014). Aynı zamanda, tüketilen besinlerden bağırsak sıvılarına geçebilen ve kimus (kıvamlı sindirim karışımı) içersinde yer alan fraksiyon şeklinde de ifade edilmektedir (Morais ve ark., 2025). Bu kavram, bileşiğin sindirimle birlikte emilime hazır hale gelmesini, bağırsak epitel hücrelerinden geçişini ve ardından bağırsak ile karaciğerde gerçekleşen ön-sistemik metabolizmayı kapsamaktadır. Ancak, bazı durumlarda yalnızca emilime dayalı tanımlar kullanıldığında, örneğin kalsiyumun safra asitlerini bağlaması gibi, emilim gerçekleşmeden oluşan yararlı etkiler göz ardı edilebilmektedir (Carbonell-Capella ve ark.,2014). Biyoerişilebilir bileşikler bağırsak bariyerini geçerek emilebilir ve sonrasında dolaşım ya da lenfatik sistem aracılığıyla taşınarak hedef dokulara ulaşabilirler (Morais ve ark., 2025).

Fenolik bileşikler, gıdalarda hem çözünmeyen (gıda matriksine bağlı) hem de çözünür (serbest veya konjuge) formlarda bulunabilmektedir. Genellikle çözünür formda bulunan fenolik bileşikler, çözünmeyen formlara kıyasla daha yüksek biyoerişilebilirliğe sahiptir ve çoğunlukla ince bağırsakta emilirler. Emilim ve biyotransformasyon süreci sonrasında oluşan metabolitler, dokulara ulaşarak çeşitli biyolojik işlevler gerçekleştirebilir. Buna karşılık, çözünmeyen fenolik bileşikler gastrointestinal sistemde sınırlı oranda emilir ve genellikle kalın bağırsağa ulaşarak burada bağırsak mikrobiyotası tarafından yoğun şekilde metabolize edilir. Bu süreçte oluşan mikrobiyal metabolitler ya emilerek sistemik etki gösterebilir ya da bağırsakta lokal (in situ) biyolojik etkiler ortaya koyabilir (de Almeida ve ark., 2020).

Biyoerişilebilirlik, molekülün büyüklüğü, glikozilasyon düzeyi, hidrofobik özellikleri, pH'ya bağlı kimyasal değişimleri, çözünürlüğü ve polifenoller ile diğer gıda bileşenleri arasındaki etkileşimler gibi pek çok faktörden etkilenmektedir (Calvo ve ark., 2025). Bu parametre genellikle in vitro sindirim modelleri kullanılarak değerlendirilir. Söz konusu modeller, mide ve ince bağırsak koşullarını taklit ederek, biyoerişilebilirliğin tahmin edilmesini sağlar. Ayrıca bazı çalışmalarda emilim aşamasını daha detaylı analiz

edebilmek amacıyla CaCo-2 hücre kültürü modellerinden de yararlanılmaktadır (Carbonell-Capella ve ark., 2014).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Materyal

Bu çalışmada kullanılan kavrulmamış ve kavrulmuş ay çekirdeği kabukları (361 çeşidi), Bursa'da faaliyet gösteren bir endüstriyel tesisten temin edilmiştir (CANAT Kurutulmuş Meyve Üretim, Gıda Sanayi ve Ticaret A.Ş.). Kavurma işlemi, 165°C'de 10 dakika süreyle bir fırın (Cesalsan CS-10, İstanbul, Türkiye) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen kabuklar (Şekil 3.1) daha sonra bir öğütücü (Tefal GT110838) ile ince toz haline getirilmiş (Şekil 3.2) ve ileri analizlerde kullanılmak üzere −20°C'de depolanmıştır.



Şekil 3.1. Ay çekirdeği kabukları



Şekil 3.2. Tefal GT110838 öğütücü

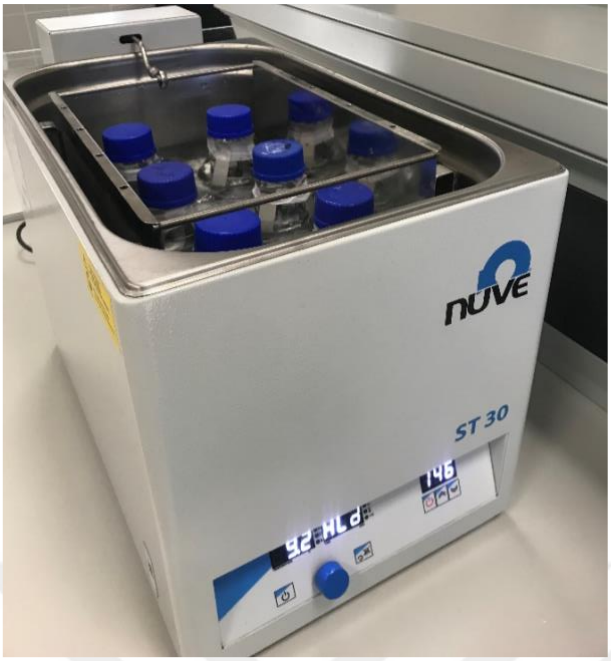
3.2. Doğal Derin Ötektik Çözücülerin (NADES) Hazırlanması

NADES hazırlığında kullanılan kimyasallar şu kaynaklardan temin edilmiştir: kolin klorür (≥%98) Sigma-Aldrich'ten (Steinheim, Almanya); laktik asit (>%90,0), sitrik asit (>%98,0) ve malik asit (>%99,0) TCI'dan (Tokyo, Japonya); gliserol (>%99,0) ve glukoz (>%98,0) ise Merck'ten (Darmstadt, Almanya) sağlanmıştır. Çözücüler, fenolik bileşiklerin ekstraksiyonuna odaklanan önceki literatür çalışmaları referans alınarak seçilen belirli molar oranlarda hazırlanmıştır (Della-Posta ve ark., 2023; Husanu ve ark., 2020; Pavlović ve ark., 2020; Rebocho ve ark., 2022; Zheng ve ark., 2022). Bileşenler birleştirilerek 80°C'de, çalkalamalı su banyosunda (Nüve ST 30, Ankara, Türkiye) tamamen çözünene kadar ısıtılmış ve homojen, berrak çözücüler elde edilmiştir (Şekil 3.3). Hazırlanan NADES'lerin viskozitesini azaltmak amacıyla %30 (v/v) oranında saf su ilave edilmiştir. Karışımlar ardından vorteks cihazında karıştırılmış ve tam çözünürlüğün sağlaması amacıyla 10 dakika süreyle ultrasonik banyoda (Elma LC30H, Darmstadt, Almanya) işlem görmüştür. Kontrol ekstraksiyon çözücüsü olarak %70 etanol çözeltisi kullanılmıştır (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Doğal derin ötektik çözücülerin karakterizasyonu

NADES	HBA	HBD	Molar oranı	Yoğunluk (g/cm^3)	pH
1	Kolin klorür	Laktik asit	1:2	1,1385	1,31
2	Kolin klorür	Laktik asit	1:1	1,1425	1,78
3	Kolin klorür	Gliserol	1:2	1,1645	3,97
4	Kolin klorür	Gliserol	1:3	1,1655	3,62
5	Kolin klorür	Glukoz	2:1	1,1650	3,55
6	Kolin klorür	Glukoz	1:1	1,1145	3,41
7	Kolin klorür	Sitrik asit	1:2	1,2780	0,41
8	Kolin klorür	Sitrik asit	1:1	1,2190	0,80
9	Kolin klorür	Malik asit	1:2	1,2485	0,67
10	Kolin klorür	Malik asit	1:1	1,2065	0,92
11	Gliserol	Laktik Asit	1:3	1,1730	1,54
12	Glukoz	Laktik Asit	1:5	1,2165	1.45

Tüm çözücüler %30 (v/v) su ile seyreltilmiştir. Sonuçlar üç ölçümün ortalaması olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.3. Nüve ST 30 çalkalamalı su banyosu

3.3. Doğal Derin Ötektik Çözücülerin Karakterizasyonu

3.3.1. pH ve yoğunluk

pH ölçümleri, bir pH metre (Mettler Toledo S220) kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.4). Her bir NADES örneğinin yoğunluğu, oda sıcaklığında 1 mL çözeltinin analitik terazi (Mettler Toledo MS3002S, Greifensee, İsviçre) kullanılarak ile tartılması yoluyla hesaplanmıştır. Yoğunluk değerleri, $\rho = m/V$ formülü kullanılarak elde edilmiştir; burada m, çözücünün kütlesini, V ise hacmini temsil etmektedir.



Şekil 3.4. Mettler Toledo S220 pH metre

3.3.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR)

NADES örneklerinin FTIR spektrumları, oda sıcaklığında bir Shimadzu IRTracer-100 spektrometre (Tokyo, Japonya) kullanılarak kaydedilmiştir. Spektral veriler 4500 ila 500 cm^{-1} dalga sayısı aralığında, 4 cm^{-1} çözünürlükle ve her spektrum için 32 taramanın ortalaması alınarak elde edilmiştir.

3.4. Fenolik Bileşiklerin Ultrases Destekli Ekstraksiyonu

Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu, Özkan (2024) tarafından bildirilen protokol temel alınarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla, 0,5 g ay çekirdeği kabuğu tozu, 10 mL NADES çözeltisi (Çizelge 3.1'de ayrıntılı olarak sunulan formülasyonlar) ile karıştırılmış ve karışım, 60°C sıcaklık ve 50 Hz frekansta 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda (Elma LC30H) işlem görmüştür. Sonikasyon işleminin ardından, örnekler, 10,000 × g'de 10 dakika süreyle Hitachi CF15RN model santrifüj (Tokyo, Japonya) kullanılarak santrifüj edilmiştir (Şekil 3.5). Elde edilen süpernatantlar temiz tüplere aktarılmıştır. Kontrol grubu için aynı ekstraksiyon koşulları altında %70 etanol çözeltisi kullanılmıştır. Tüm ekstraktlar analiz öncesine kadar 4°C'de saklanmıştır.



Şekil 3.5. Hitachi CF15RN model santrifüj

3.5. *In Vitro* Gastrointestinal Sindirim Simülasyonu

Fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğini belirlemek amacıyla, Minekus ve ark. (2014) tarafından geliştirilen protokole uygun olarak INFOGEST *in vitro* sindirim modeli uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan mide ve bağırsak elektrolit solüsyonlarının bileşimi Çizelge 3.2'de sunulmuştur. Mide sindirimi aşamasında, 10 mL ekstraktın içerisine sırasıyla 7,5 mL mide elektrolit çözeltisi, 1,6 mL pepsin (25000 U/mL), 5 mL 0,3 M $CaCl_2$ eklenmiş; ardından pH değeri 1 M HCl ile 3'e ayarlanmıştır. Karışımın toplam hacmi distile su ilavesiyle 20 mL'ye tamamlanmış ve numuneler 37°C'de çalkalayıcılı su banyosunda (Nüve ST 30; Ankara, Türkiye) 2 saat süreyle inkübe edilmiştir. Bağırsak sindirimi aşamasında, mide sindirimi tamamlanan karışıma 11 mL bağırsak elektrolit çözeltisi, 5 mL pankreatin (800 U/mL), 2,5 mL 160 mm safra çözeltisi ve distile su ilave edilerek toplam hacim 40 mL'ye tamamlanmıştır. Bu karışım da aynı şekilde 37°C'de 2 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Ek olarak, ekstrakt içermeyen ancak aynı koşullarda hazırlanan kör (blank) örnekler, sindirim sıvılarından kaynaklanabilecek etkilerin düzeltilmesinde referans olarak kullanılmıştır. Mide ve bağırsak sindirimi sonrasında her numuneden 5 mL alınarak, 20,000 × g hızda 5 dakika

süreyle santrifüjlenmiş (Hitachi CF15RN) ve elde edilen süpernatantlar ileri analizlerde kullanılmak üzere −20°C'de saklanmıştır.

Çizelge 3.2. Mide ve bağırsak elektrolit solüsyonları

Bileşenler	**Stok Konsantrasyonu (mol/L)**	**Stok Hacmi (mL)**	
		Mide elektrolit solüsyonu	**Bağırsak elektrolit Solüsyonu**
KCl	0,5	6,9	6,8
KH_2PO_4	0,5	0,9	0,8
$NaHCO_3$	1	12,5	42,5
NaCl	2	11,8	9,6
$MgCl_2(H_2O_6)$	0,15	0,4	1,1
$(NH_4)_2CO_3$	0,5	0,5	-
HCL	6	1,3	0,7

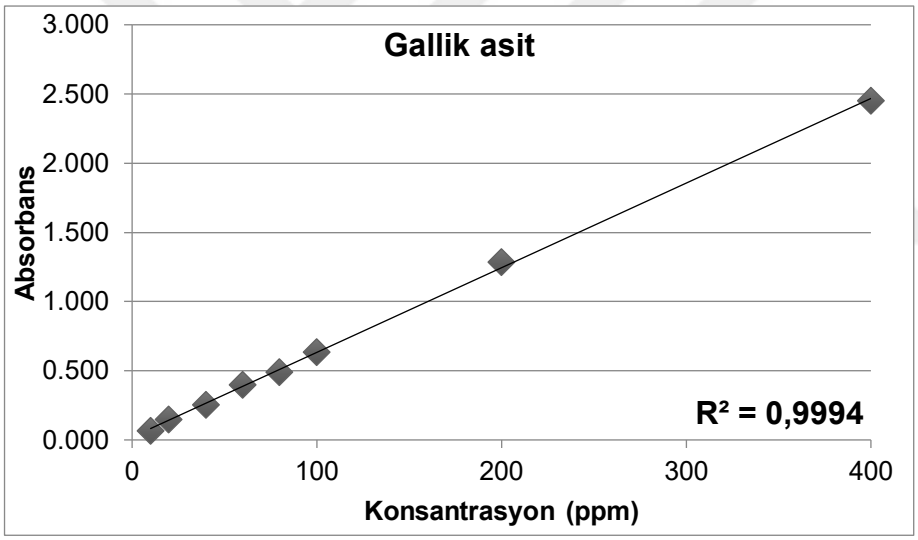
Tüm solüsyonlar distile su ile hazırlanarak, toplam hacim 400 mL' ye tamamlanmıştır.

3.6. Toplam Fenolik Madde Tayini

Ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, daha önce belirlenmiş bir yöntem izlenerek belirlenmiştir (Velioglu ve ark., 1998). 100 µL ekstrakt üzerine 0,75 mL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş ve bu karışım 5 dakika süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Ardından, karışıma 0,75 mL %6'lık sodyum karbonat çözeltisi ilave edilerek 90 dakika boyunca inkübasyona devam edilmiştir. Bu sürecin sonunda, örneklerin absorbansı 725 nm dalga boyunda, spektrofotometre (Agilent Cary 60, Santa Clara, Kaliforniya, ABD) kullanılarak ölçülmüştür (Şekil 3.6). Kantifikasyon, gallik asit ile hazırlanan bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak yapılmış (10–400 mg/L, $R^2 = 0.999$) ve sonuçlar, gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak mg GAE/kg şeklinde raporlanmıştır (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. Agilent Cary 60 spektrofotometre



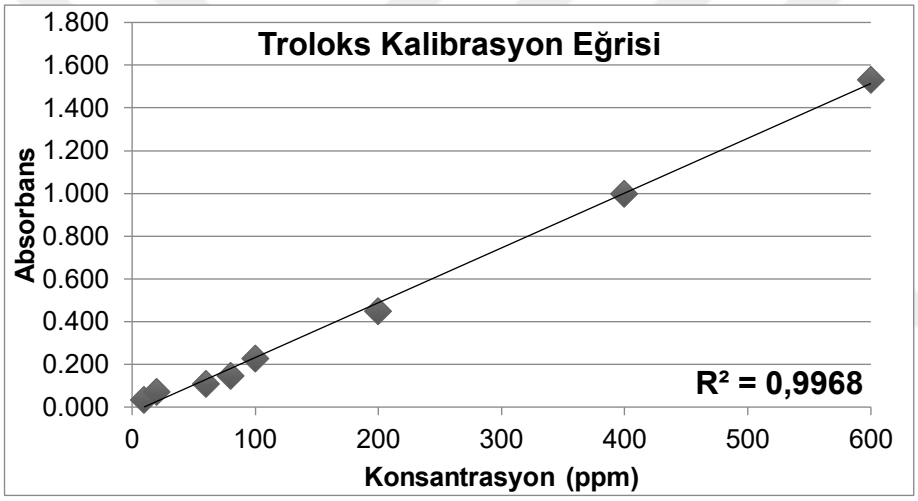
Şekil 3.7. Gallik asit kalibrasyon eğrisi

3.7. Toplam Antioksidan Kapasite Tayini

Toplam antioksidan kapasite, hem bakır iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi (CUPRAC) yöntemi (Apak ve ark., 2004) hem de 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme yöntemi (Kumaran & Karunakaran, 2006) kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.7.1. CUPRAC (bakır (II) iyonu indirgenme antioksidan kapasitesi) tayini

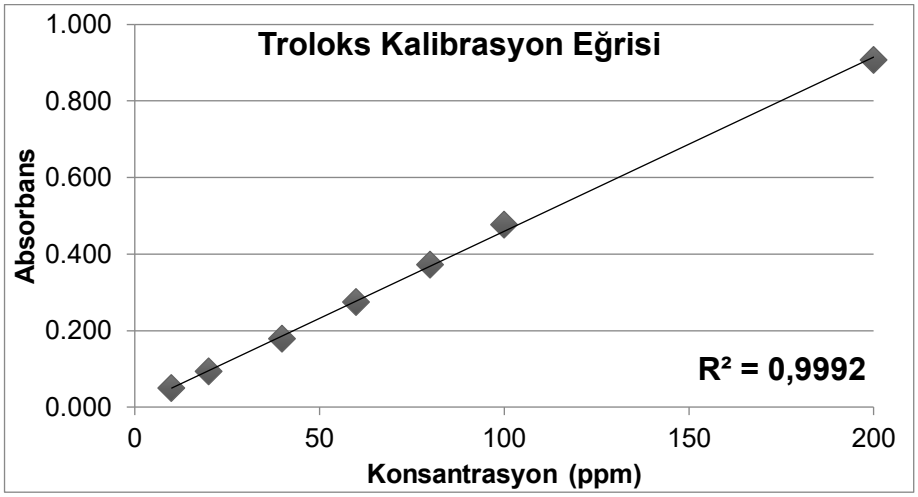
CUPRAC yöntemi, literatürde Apak ve arkadaşları (2004) tarafından belirtilen prosedüre uygun olarak uygulanmıştır. Analiz için her bir ekstrakttan 100 µL alınarak sırasıyla 1 mL 10 mM bakır (II) klorür, 1 mL 7,5 mM neokuproin, 1 mL 1 M amonyum asetat ve 1 mL distile su eklenmiş; karışımın toplam hacmi 4,1 mL'ye tamamlanmıştır. Hazırlanan karışım, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle inkübasyona bırakıldıktan sonra, absorbans değeri 450 nm dalga boyunda spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler, 1–600 mg/L aralığında hazırlanan ve R^2 değeri 0,997'nin üzerinde olan Troloks® standart eğrisi kullanılarak değerlendirilmiş ve sonuçlar, Trolox® eşdeğerleri (TE) cinsinden mg TE/kg olarak rapor edilmiştir (Şekil 3.8).



Şekil 3.8. Troloks kalibrasyon eğrisi (CUPRAC)

3.7.2. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) radikal süpürme aktivitesi tayini

DPPH yöntemi, daha önce Kumaran ve Karunakaran (2006) tarafından tanımlanan prosedüre uygun olarak uygulanmıştır. Analiz kapsamında, her bir ekstrakttan 100 µL alınarak üzerine 2 mL 0,1 mM DPPH çözeltisi (metanol içerisinde hazırlanmış) eklenmiştir. Karışım, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle inkübe edildikten sonra, absorbans değeri 517 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar, 1–600 mg/L aralığında hazırlanan ve $R^2 > 0,997$ olan Troloks® standart eğrisi kullanılarak değerlendirilmiş ve sonuçlar Troloks® eşdeğeri (TE) cinsinden mg TE/kg olarak ifade edilmiştir (Şekil 3.9).



Şekil 3.9. Troloks kalibrasyon eğrisi (DPPH)

3.8. Klorojenik Asidin UPLC-ESI-MS/MS ile Tanımlanması

Klorojenik asitin tanımlanması ve kantifikasyonu, UPLC-ESI-MS/MS sistemi (Shimadzu LC-MS/MS 8060, Kyoto, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz, daha önce raporlanmış bir yöntem izlenerek (Akpinar Bayizit ve ark., 2023) C18 analitik kolonu (3 µm parçacık boyutu, 200 Å gözenek çapı, 100 mm x 3 mm ölçülerinde) ve Shimadzu LC-MS/MS 8060 cihazı (Kyoto, Japonya) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. MS/MS sistemi, elektrosprey iyonizasyon (ESI) kaynağında hem pozitif hem de negatif iyon modlarında, çoklu reaksiyon izleme (MRM) yöntemiyle çalıştırılmıştır. Verilerin değerlendirilmesinde Shimadzu LabSolution yazılımı (Kyoto, Japonya) kullanılmıştır. Cihaza ait çalışma parametreleri şu şekildedir: nebulizasyon gazı (N_2) akışı 3,0 L/dakika, kurutma gazı (N_2) akışı 10,0 L/dakika, arayüz voltajı 4,0 kV, desolvasyon hattı sıcaklığı 250°C, arayüz sıcaklığı 300°C ve ısı bloğu sıcaklığı 400°C'dir. Analiz öncesinde 0,22 µm membran filtreden geçirilen 10 µL ekstrakt, mobil faz A olarak %0,1 formik asit içeren ultra saf su (MQ) ve mobil faz B olarak %0,1 formik asit içeren asetonitril ile 0,4 mL/dakika akış hızında sisteme enjekte edilmiştir. Uygulanan gradyan programı şu şekilde gerçekleşmiştir: başlangıçta %20 B; 0,0–0,5 dakika arası izokratik %20 B; 0,5–7,0 dakika arası %20'den %50 B'ye lineer geçiş; 7,0–12,0 dakika arası %50'den %95 B'ye lineer artış; 12,0–12,1 dakika arası %95'ten %20 B'ye geri dönüş ve 12,1–15,0 dakika arası izokratik %20 B. Kolon sıcaklığı

40°C'de, otomatik örnekleyici ise 10°C'de sabit tutulmuştur. Sonuçlar mikrogram/kilogram (µg/kg) şeklinde raporlanmıştır.

3.9. İstatistiksel Analiz

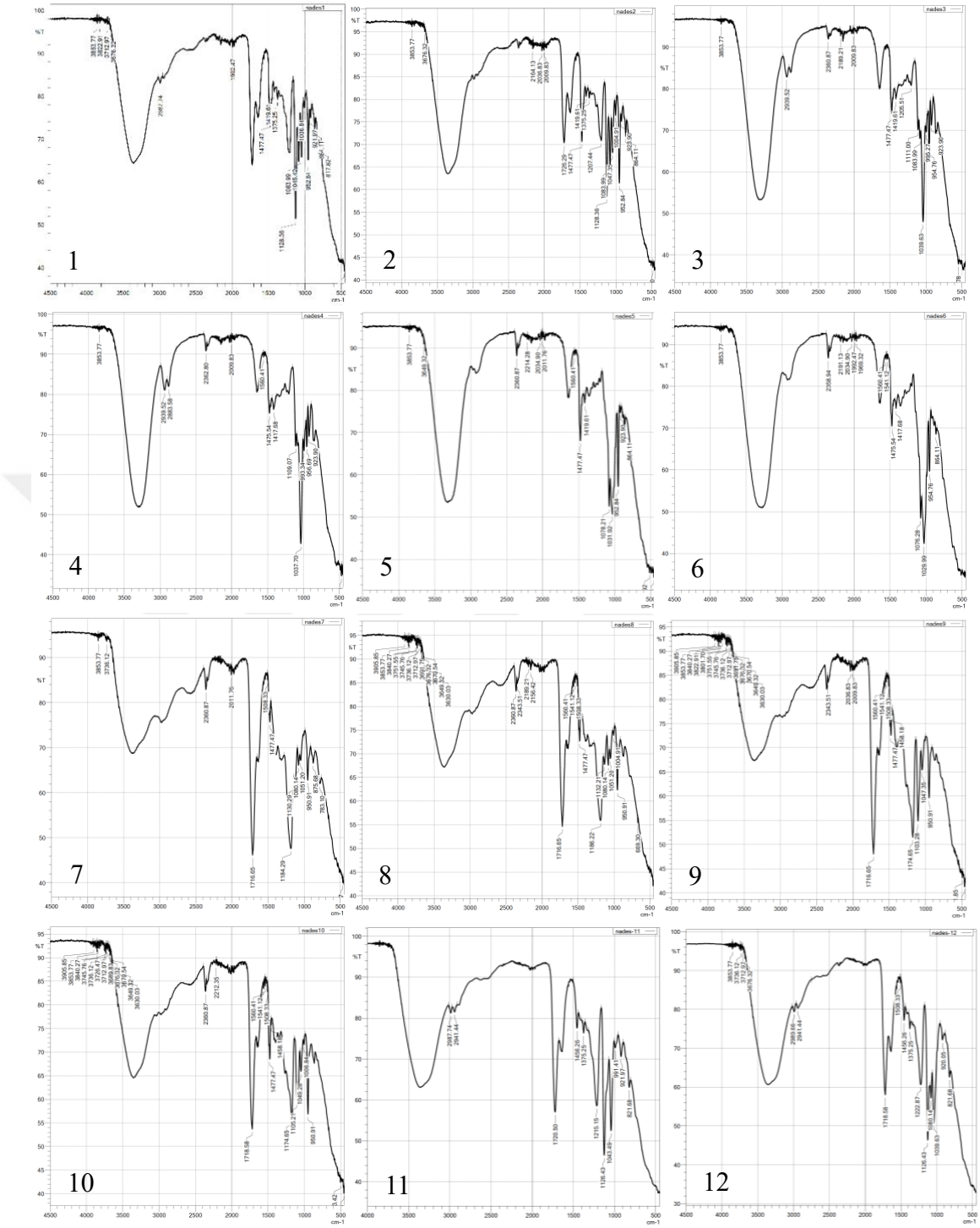
Tüm analizler üç paralel tekrarla gerçekleştirilmiş olup, sonuçlar ortalama değerler ve bunlara ait standart sapmalar şeklinde sunulmuştur. İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS yazılımı (Chicago, IL, ABD) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gruplar arasındaki farkları değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulanmış ve Tukey'in post hoc testi ile sonuçlar karşılaştırılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Doğal Derin Ötektik Çözücülerin Karakterizasyonu

Hazırlanan doğal derin ötektik çözücülerin pH değerleri, kolin klorür:sitrik asit (1:2) (NADES 7) için 0.41'den, kolin klorür:gliserol (1:2) (NADES 3) için 3.97'ye arasında değişiklik göstermektedir (Çizelge 3.1). NADES'in pH değeri, çözücü sistemi ile hedef bileşikler arasındaki moleküler etkileşimleri doğrudan etkilediğinden, ekstraksiyon sürecinde kritik bir rol oynamaktadır. Önceki çalışmalar, fenolik bileşiklerin nötr formda daha verimli ekstrakte edildiğini ve bu durumun, çözücü pH'sının fenolik bileşiklerin pKa değerinin altında olması durumunda gerçekleştiğini göstermiştir (Bertolo ve ark., 2021). Yoğunluk açısından değerlendirildiğinde, hazırlanan NADES'lerin birbirinden farklı değerlere sahip olduğu görülmektedir. En düşük yoğunluk kolin klorür:glukoz (1:1) (NADES 6) için 1.1145 g/cm³, en yüksek yoğunluk ise kolin klorür:sitrik asit (NADES 7) için 1.2780 g/cm³ olarak ölçülmüştür. Bu sonuçlar, NADES'lerin çoğunlukla suya kıyasla daha yüksek yoğunluklara sahip olduğunu ve literatürde bildirilen şekilde ortam sıcaklığında 1.0 ile 1.35 g/cm³ aralığında yoğunluk değerleri sergilediğini doğrulamaktadır (Saini ve ark., 2022).

Hazırlanan NADES'lerin fonksiyonel grup karakterizasyonu, Şekil 4.1'de gösterildiği üzere FTIR analizi ile gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar, bileşenlerin homojen çözeltiler oluşturduğunu ve belirgin hidrojen bağı içeren moleküllerarası etkileşimlerin varlığını doğrulamıştır. Bu durum, özellikle 3000–3500 cm^{-1} aralığında gözlemlenen, hidroksil gruplarının gerilme titreşimlerine karşılık gelen geniş absorpsiyon bantlarıyla desteklenmiştir. Hidroksil fonksiyonel gruplarının varlığı, NADES'lerin diğer moleküllerle hidrojen bağı kurabilme kapasitesini ortaya koymakta olup, bu özellik söz konusu çözücülerin doğal kaynaklardan biyoaktif bileşiklerin ekstraksiyonunda etkinli bir araç olarak kullanılabileceğini göstermektedir (Maimulyanti ve ark., 2023).



Şekil 4.1. Sentezlenen NADES'lerin FTIR spektrumları. (1) Kolin klorür:laktik asit (1:2), (2) Kolin klorür:laktik asit (1:1), (3) Kolin klorür:gliserol (1:2), (4) Kolin klorür:gliserol (1:3), (5) Kolin klorür:glukoz (2:1), (6) Kolin klorür:glukoz (1:1), (7) Kolin klorür:sitrik asit (1:2), (8) Kolin klorür:sitrik asit (1:1), (9) Kolin klorür:malik asit (1:2), (10) Kolin klorür:malik asit (1:1), (11) Gliserol:laktik asit (1:3), (12) Glukoz:laktik asit (1:5)

4.2. Toplam Fenolik Madde Tayini

Ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının toplam fenolik madde içerikleri, 12 farklı NADES formülasyonu kullanılarak ultrases destekli ekstraksiyon (UAE) yöntemiyle elde edilmiş ve etanolik ekstrakt ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2). Sindirim öncesi analizlerde, kavrulmamış örneklerde en yüksek toplam fenolik madde içeriği gliserol:laktik asit (1:3) (NADES 11) ile elde edilirken, kavrulmuş örneklerde bu değer glukoz:laktik asit (1:5) (NADES 12) ile elde edilmiştir. Buna karşılık, kolin klorür:malik asit içeren sistemlerle (NADES 9 ve 10) yapılan ekstraktlarda fenolik bileşik tespit edilmemiştir. NADES 11 ve 12'nin, kolin klorür bazlı sistemlere kıyasla daha yüksek ekstraksiyon verimi göstermesi, çeşitli fiziko-kimyasal özelliklerle ilişkilendirilebilir. Şeker ve poliol temelli bu çözücüler, fenolik bileşiklerle daha güçlü hidrojen bağları oluşturulmasını kolaylaştıran çok sayıda hidroksil ve karboksil grubu içermektedir; bu durum da çözünürlüğü artırmaktadır. Ayrıca, genellikle daha düşük viskoziteye sahip olmaları sayesinde ekstraksiyon sırasında kütle transferi daha etkin şekilde gerçekleşmektedir. Bu çözücülerin polaritelerinin sulu ortamlara yakın olması da, fenolik asitler gibi polar biyoaktif bileşiklerin geri kazanımında önemli bir avantaj sağlamaktadır (Hikmawanti ve ark., 2021).

Hem kavrulmamış hem de kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu örneklerinde, NADES 11 ve NADES 12 kullanılarak elde edilen ekstraktlar, etanolik ekstraktlara kıyasla daha yüksek toplam fenolik madde içeriği göstermiştir. Bu sonuçlar, brokoli yaprakları (Cao ve ark., 2023) ve elma posası (Rashid ve ark., 2023) üzerinde gerçekleştirilen önceki çalışmalarla örtüşmekte olup, belirli NADES formülasyonlarının geleneksel çözücülere kıyasla daha yüksek ekstraksiyon verimliliği sağlayabildiğini desteklemektedir. Buna ek olarak, kavurma işleminin genellikle toplam fenolik madde içeriğini azalttığı gözlemlenmiştir; ancak bu durum NADES 12 ve etanol ile hazırlanan ekstraktlar için geçerli olmamıştır. Benzer şekilde, kavurma işlemi sonrası fenolik madde içeriğinin azaldığına dair bulgular, kahve çekirdekleri üzerine yapılan bir çalışmada da rapor edilmiştir (Wu ve ark., 2022).

Kavrulmamış ayçiçeği kabuğu ekstraktlarında, sindirilmemiş örneklere kıyasla gastrik sindirim sonrasında toplam fenolik madde içeriğinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir

($p < 0,05$). Ancak bu artış, NADES 11 ile hazırlanan ekstraktlar için geçerli olmamış; bu grupta istatistiksel olarak anlamlı bir değişim tespit edilmemiştir. Buna karşın, kavrulmuş örneklerden elde edilen ekstraktlar gastrik sindirime karşı daha değişken tepkiler göstermiştir. Kavrulmamış örneklerde gastrik sindirim süresince gözlenen toplam fenolik madde içeriğindeki artış, bağlı fenolik bileşiklerin asidik ortamda serbest hale gelmesiyle ilişkilendirilebilir. Ayrıca mide ortamının düşük pH düzeyi, fenolik öncül bileşiklerin daha basit fenolik yapılara hidrolizini kolaylaştırarak toplam fenolik madde içeriğinin artmasına katkı sağlayabilir (Cheng ve ark., 2023).

Bağırsak sindirimi, kavrulmamış ekstraktların çoğunda toplam fenolik madde içeriğinde ilave bir artışa yol açmıştır. Buna karşın, kavrulmuş örneklerin büyük bir bölümünde fenolik bileşikler artık tespit edilememiştir. Kavrulmamış örneklerde gözlenen bu sürekli artış, enzimatik olarak bağlı fenolik bileşiklerin serbest bırakılması ve bağırsak ortamının alkali pH'sının fenolik konjugatların hidrolizini teşvik etmesiyle açıklanabilir (Xiao ve ark., 2022). Diğer yandan, kavrulmuş örneklerde fenolik bileşiklerin azalması veya tamamen kaybolması, ısıya duyarlı bileşiklerin parçalanması ile kavurma sırasında oluşan çözünmeyen ya da polimerize ürünlerin varlığıyla ilişkili olabilir. Bu şekilde yapısı değişen fenolik bileşikler, bağırsak koşullarında daha fazla bozunabilir ya da analitik olarak tespit edilemeyecek düzeylere inebilir (Grzelczyk ve ark., 2022).

Kavrulmamış örnekler arasında, kolin klorür:glukoz (1:1) (NADES 6) ile elde edilen ekstrakt, en yüksek biyoerişilebilir toplam fenolik madde içeriğini göstermiştir. Benzer şekilde, kavrulmamış örneklerde NADES 1, 2, 10, 11 ve 12 hariç çoğu NADES ekstraktı, etanolik ekstrakta kıyasla %26 ila %178 oranında daha yüksek düzeyde biyoerişilebilir fenolik bileşik içermiştir. Bununla birlikte, bazı istisnalar dışında kavurma işlemi, fenolik bileşiklerin biyoerişilebilirliğinde anlamlı bir azalmaya yol açmıştır.

Toplam fenolik madde tayininde kullanılan Folin–Ciocalteu yöntemi, yalnızca fenolik bileşiklere özgü olmaması nedeniyle bazı sınırlamalara sahiptir. Özellikle sitrik asit ve basit şekerler gibi indirgen özellik gösteren bileşikler yönteme müdahale edebilir ve ölçümlerin olduğundan yüksek çıkmasına neden olabilir (Çapanoğlu ve ark., 2022). Bu

sınırlamayı aşmak ve daha doğru bir değerlendirme yapılabilmek amacıyla, için klorojenik asit miktarı UPLC–ESI–MS/MS yöntemi ile kantitatif olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.1. Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam fenolik madde içeriğindeki değişimler (mg GAE/kg)

Çözücü	Sindirilmemiş	Mide Sindirimi	Bağırsak Sindirimi
KAVRULMAMIŞ			
NADES 1	$152.0 \pm 11.5^{gh,C}$	$270.0 \pm 20.3^{fgh,B}$	$2156.0 \pm 19.1^{fg,A}$
NADES 2	$95.0 \pm 7.6^{h,B}$	$173.5 \pm 15.5^{gh,B}$	$520.6 \pm 89.7^{h,A}$
NADES 3	$1088.6 \pm 45.8^{d,C}$	$2596.1 \pm 188.6^{ab,B}$	$5061.3 \pm 163.5^{cd,A}$
NADES 4	$1309.2 \pm 102.7^{cd,C}$	$2581.9 \pm 145.4^{abc,B}$	$5033.8 \pm 376.8^{cd,A}$
NADES 5	$672.2 \pm 37.6^{e,C}$	$2046.2 \pm 155.4^{d,B}$	$4475.6 \pm 551.4^{d,A}$
NADES 6	$1409.3 \pm 275.9^{c,C}$	$2852.8 \pm 244.3^{a,B}$	$9809.6 \pm 496.4^{a,A}$
NADES 7	$454.5 \pm 78.7^{ef,C}$	$1595.4 \pm 118.4^{e,B}$	$7022.4 \pm 223.6^{b,A}$
NADES 8	$377.7 \pm 44.2^{fg,B}$	$642.2 \pm 80.3^{f,B}$	$5803.2 \pm 334.7^{c,A}$
NADES 9	nd	$527.7 \pm 69.9^{fg,B}$	$4417.4 \pm 42.0^{d,A}$
NADES 10	nd	$87.7 \pm 11.6^{h,B}$	$2550.3 \pm 286.1^{f,A}$
NADES 11	$2625.8 \pm 89.7^{a,A}$	$2441.5 \pm 155.1^{bc,A}$	$1729.3 \pm 112.7^{g,B}$
NADES 12	$1853.5 \pm 39.9^{b,B}$	$2212.9 \pm 120.3^{cd,A}$	$1378.7 \pm 36.4^{g,C}$
Etanol	$1507.5 \pm 54.3^{c,C}$	$1974.0 \pm 17.7^{d,B}$	$3516.0 \pm 32.6^{e,A}$

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütun içinde farklı küçük harfler ve aynı satır içinde farklı büyük harfler, istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($p < 0,05$). nd: tespit edilemedi.

Çizelge 4.2. Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam fenolik madde içeriğindeki değişimler (mg GAE/kg)

Çözücü	Sindirilmemiş	Mide Sindirimi	Bağırsak Sindirimi
KAVRULMUŞ			
NADES 1	$52.2 \pm 0.3^{c,A}$	$18.0 \pm 2.6^{d,B}$	nd
NADES 2	$2.9 \pm 1.0^{c,A}$	$0^{d,B}$	nd

Çizelge 4.2. Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam fenolik madde içeriğindeki değişimler (mg GAE/kg) (devam)

NADES 3	$45.0 \pm 6.3^{c,B}$	$61.6 \pm 6.1^{d,A}$	nd
NADES 4	$30.5 \pm 4.7^{c,B}$	$61.9 \pm 2.6^{d,A}$	nd
NADES 5	$59.4 \pm 11.1^{c,A}$	$25.8 \pm 9.0^{d,B}$	nd
NADES 6	$58.7 \pm 11.3^{c,A}$	$50.3 \pm 10.3^{d,A}$	nd
NADES 7	$11.9 \pm 2.6^{c,B}$	$105.5 \pm 28.7^{d,A}$	nd
NADES 8	$17.9 \pm 6.9^{c,A}$	$24.5 \pm 0.6^{d,A}$	nd
NADES 9	nd	nd	nd
NADES 10	nd	nd	nd
NADES 11	$2455.7 \pm 125.2^{b,B}$	$3160.2 \pm 23.9^{b,A}$	$2754.4 \pm 254.3^{c,AB}$
NADES 12	$3302.0 \pm 140.9^{a,B}$	$3757.6 \pm 83.3^{a,A}$	$3288.6 \pm 122.7^{b,B}$
Etanol	$2393.7 \pm 53.3^{b,B}$	$2473.7 \pm 99.0^{c,B}$	$3746.2 \pm 94.9^{a,A}$

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütun içinde farklı küçük harfler ve aynı satır içinde farklı büyük harfler, istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($p < 0,05$). nd: tespit edilemedi.

4.3. Toplam Antioksidan Kapasite Tayini

Ultrases destekli ekstraksiyon (UAE) yöntemiyle 12 farklı NADES formülasyonu kullanılarak hazırlanan ayçiçeği kabuğu ekstraktlarının toplam antioksidan kapasitesi CUPRAC ve DPPH yöntemleri ile değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlar etanolik ekstrakt ile karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.3, Çizelge 4.4, Çizelge 4.5, Çizelge 4.6). CUPRAC analizi sonuçlarına göre, sindirim öncesinde kavrulmamış örnekler arasında kolin klorür:glukoz (1:1) (NADES 6) ve kolin klorür:gliserol (1:2) (NADES 3) kullanılarak elde edilen ekstraktlar en yüksek toplam antioksidan kapasiteyi göstermiştir; ancak bu değerler, istatistiksel olarak etanolik ekstraktan anlamlı şekilde farklı bulunmamıştır ($p > 0,05$). Öte yandan, kavrulmuş örneklerde en yüksek antioksidan kapasite etanolik ekstrakta ait olarak belirlenmiştir.

DPPH analiz sonuçları, kavrulmamış örneklerde kolin klorür:malik asit (1:2) (NADES 9) ve kolin klorür:sitrik asit (1:2) (NADES 7) ile hazırlanan ekstraktların en yüksek

antioksidan aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Kavrulmuş örneklerde ise, NADES 7 ve 9'a ek olarak kolin klorür:sitrik asit (1:1) (NADES 8) ile elde edilen ekstraktlar da yüksek antioksidan kapasite göstermiştir. Özellikle, bu NADES formülasyonlarıyla hazırlanan ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri etanolik ekstraktlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur ($p <$ 0,05). Toplam fenolik madde içeriği bulgularının aksine, kavurma işlemi bazı örneklerde toplam antioksidan kapasitenin korunmasına hatta artırılmasına katkı sağlamıştır. Bu eğilim, kavurmanın fenolik bileşikler ve antioksidan aktivite üzerindeki etkilerini inceleyen kahve çekirdeklerine yönelik önceki bir çalışmayla da paralellik göstermektedir (Wu ve ark., 2022).

CUPRAC analiz sonuçlarına göre, gastrik sindirim hem kavrulmamış hem de kavrulmuş örneklerde toplam antioksidan kapasiteyi ya azaltmış ya da istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Buna karşılık, DPPH analizinde çoğu örnekte toplam antioksidan kapasitenin arttığı gözlemlenmiştir. Bu artış, düşük pH koşullarında kompleks antioksidan bileşiklerin hidrolize uğrayarak daha basit türevler veya bozunma ürünleri oluşturması ve bu türevlerin daha yüksek antioksidan aktivite göstermesiyle açıklanabilir. Ayrıca, fenolik olmayan bazı bileşiklerin de toplam antioksidan kapasiteye katkı sağladığı düşünülmektedir. Bağırsak sindirimi sonrasında ise CUPRAC analiz sonuçları örnekler arasında değişkenlik göstermiştir. DPPH analizine göre ise çoğu örnekte toplam antioksidan kapasitenin azaldığı belirlenmiştir. Bu azalma, fenolik bileşiklerin alkali bağırsak ortamında bozunması veya farklı bileşiklere dönüşmesiyle ilişkili olabilir.

CUPRAC analiz sonuçlarına göre, hem kavrulmamış hem de kavrulmuş örneklerde en yüksek biyoerişilebilir antioksidan düzeyi etanolik ekstraklarda saptanmıştır. Bununla birlikte, kavrulmamış örneklerde, kolin klorür:gliserol (1:2) (NADES 3) ve kolin klorür:glukoz (2:1) (NADES 5) kullanılarak elde edilen ekstraktlar, etanolik ekstraktla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir ($p >$ 0,05). Öte yandan, DPPH analizleri kavrulmamış örneklerde NADES 7, 8 ve 9'un en yüksek biyoerişilebilir antioksidan düzeylerine sahip olduğunu ortaya koymuştur. Kavrulmuş örnekler arasında ise en yüksek biyoerişilebilir antioksidan kapasite NADES 9 ile elde

edilmiştir. Ayrıca DPPH verileri, kavrulmamış örneklerde kolin klorür:gliserol ve kolin klorür:glukoz formülasyonları dışında kalan, neredeyse tüm NADES ekstraktlarının etanolik ekstrakta kıyasla anlamlı derecede (%39–603) daha yüksek biyoerişilebilir antioksidan içerdiğini göstermiştir ($p < 0,05$). Toplam fenolik madde içeriği bulguları ile uyumlu olarak, kavurma işleminin genel olarak örneklerin antioksidan biyoerişilebilirliğini azalttığı belirlenmiştir.

CUPRAC ve DPPH analizlerinden elde edilen sonuçlar arasındaki farklılıklar, bu iki yöntemin temel çalışma prensiplerinden kaynaklanmaktadır. CUPRAC yöntemi, bakır (II) iyonlarının indirgenmesine dayanır ve hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanları belirlemede etkilidir. Buna karşılık, DPPH yöntemi kararlı bir serbest radikalin süpürülmesine esas alır ve özellikle lipofilik bileşiklere karşı daha yüksek seçicilik gösterir (Capanoglu ve ark., 2022). Ayrıca, ekstraksiyonda kullanılan çözücü sistemleri ile analizde kullanılan reaktifler arasındaki etkileşimler, ölçülen antioksidan aktivite üzerinde önemli bir etkiye sahip olabilir. Bu etkileşimler, farklı NADES formülasyonlarıyla elde edilen ekstraktların iki farklı analiz yöntemiyle değerlendirilmesi sonucunda oluşan sıralama farklılıkları açıklayabilir.

Çizelge 4.3. Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (CUPRAC) değişimler (mg TE/kg)

Çözücü	Sindirilmemiş	Mide Sindirimi	Bağırsak Sindirimi
KAVRULMAMIŞ			
NADES 1	$1002.8 \pm 13.4^{e,A}$	$801.5 \pm 57.7^{cd,B}$	$873.8 \pm 112.3^{def,AB}$
NADES 2	$784.1 \pm 18.3^{f,A}$	$597.7 \pm 98.5^{de,A}$	$677.4 \pm 154.3^{e,A}$
NADES 3	$1835.9 \pm 134.6^{ab,A}$	$1575.6 \pm 82.0^{a,B}$	$1797.4 \pm 42.0^{ab,AB}$
NADES 4	$1625.1 \pm 69.4^{c,A}$	$1488.9 \pm 29.4^{ab,A}$	$1517.4 \pm 147.7^{bc,A}$
NADES 5	$1716.4 \pm 53.8^{bc,A}$	$1654.6 \pm 314.7^{a,A}$	$1882.5 \pm 231.9^{ab,A}$
NADES 6	$1940.2 \pm 88.9^{a,A}$	$1352.5 \pm 79.3^{ab,C}$	$1666.1 \pm 18.7^{bc,B}$
NADES 7	$1311.5 \pm 44.9^{d,A}$	$1319.2 \pm 20.0^{ab,A}$	$1285.6 \pm 129.1^{cd,A}$
NADES 8	$1416.4 \pm 90.0^{d,A}$	$1501.3 \pm 108.0^{ab,A}$	$1568.7 \pm 76.0^{bc,A}$
NADES 9	$1233.3 \pm 39.0^{d,A}$	$1139.2 \pm 193.0^{bc,AB}$	$781.0 \pm 186.8^{def,C}$
NADES 10	$1227.1 \pm 80.0^{d,A}$	$933.5 \pm 99.5^{cd,B}$	$1194.3 \pm 140.3^{cde,AB}$

Çizelge 4.3. Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (CUPRAC) değişimler (mg TE/kg) (devam)

NADES 11	$482.5 \pm 35.6^{h,A}$	$243.8 \pm 50.8^{d,B}$	$695.3 \pm 133.8^{ef,A}$
NADES 12	$505.4 \pm 16.8^{h,A}$	$305.4 \pm 73.0^{d,B}$	$652.3 \pm 90.8^{f,A}$
Etanol	$1794.9 \pm 85.7^{abc,AB}$	$1542.8 \pm 108.3^{a,B}$	$2247.6 \pm 404.5^{a,A}$

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütun içinde farklı küçük harfler ve aynı satır içinde farklı büyük harfler, istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($p < 0,05$). nd: tespit edilemedi.

Çizelge 4.4. Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (CUPRAC) değişimler (mg TE/kg)

Çözücü	**Sindirilmemiş**	**Mide Sindirimi**	**Bağırsak Sindirimi**
KAVRULMUŞ			
NADES 1	$1051.3 \pm 84.5^{d,A}$	$749.4 \pm 68.8^{ef,B}$	$466.1 \pm 166.2^{d,B}$
NADES 2	$868.9 \pm 46.2^{de,A}$	$380.2 \pm 64.9^{g,B}$	$32.3 \pm 12.1^{e,C}$
NADES 3	$2061.7 \pm 51.6^{b,A}$	$1146.9 \pm 70.3^{cd,B}$	$1286.6 \pm 177.6^{b,B}$
NADES 4	$1580.5 \pm 8.2^{c,A}$	$920.2 \pm 88.2^{e,B}$	$936.9 \pm 78.5^{c,B}$
NADES 5	$2285.4 \pm 298.9^{b,A}$	$1259.2 \pm 15.2^{bc,B}$	$1314.3 \pm 141.2^{b,B}$
NADES 6	$2096.6 \pm 47.0^{b,A}$	$1339.2 \pm 93.7^{bc,B}$	$1434.3 \pm 138.3^{b,B}$
NADES 7	$992.6 \pm 40.6^{de,A}$	$911.0 \pm 110.8^{e,A}$	$665.1 \pm 87.8^{cd,B}$
NADES 8	$1102.5 \pm 22.9^{d,A}$	$953.1 \pm 95.1^{de,A}$	$787.2 \pm 44.5^{cd,B}$
NADES 9	$1546.4 \pm 48.9^{c,A}$	$1412.0 \pm 74.7^{b,A}$	$644.6 \pm 89.4^{cd,B}$
NADES 10	$1593.0 \pm 65.1^{c,A}$	$1329.0 \pm 46.0^{bc,B}$	$457.9 \pm 22.7^{d,C}$
NADES 11	$674.1 \pm 19.3^{e,A}$	$509.4 \pm 52.3^{g,B}$	$716.4 \pm 64.7^{cd,A}$
NADES 12	$787.7 \pm 50.7^{de,A}$	$582.3 \pm 24.6^{fg,B}$	$756.9 \pm 38.5^{cd,A}$
Etanol	$3574.1 \pm 215.3^{a,A}$	$2771.5 \pm 63.1^{a,B}$	$2318.4 \pm 206.4^{a,C}$

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütun içinde farklı küçük harfler ve aynı satır içinde farklı büyük harfler, istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($p < 0,05$). nd: tespit edilemedi.

Çizelge 4.5. Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (DPPH) değişimler (mg TE/kg)

Çözücü	Sindirilmemiş	Mide Sindirimi	Bağırsak Sindirimi
KAVRULMAMIŞ			
NADES 1	$1421.4 \pm 23.5^{c,B}$	$1728.9 \pm 13.9^{bc,A}$	$1143.2 \pm 89.4^{c,C}$
NADES 2	$1382.1 \pm 49.4^{c,B}$	$2002.3 \pm 148.0^{b,A}$	$904.9 \pm 70.9^{cd,C}$
NADES 3	$430.4 \pm 54.0^{d,B}$	$1103.2 \pm 60.5^{e,A}$	$370.4 \pm 37.7^{fg,B}$
NADES 4	$325.5 \pm 73.1^{d,B}$	$984.3 \pm 52.4^{e,A}$	$267.2 \pm 37.2^{g,B}$
NADES 5	$390.6 \pm 41.1^{d,B}$	$1469.5 \pm 78.4^{cd,A}$	$514.8 \pm 41.1^{efg,B}$
NADES 6	$334.9 \pm 44.3^{d,C}$	$1209.8 \pm 27.3^{de,A}$	$449.2 \pm 41.8^{fg,B}$
NADES 7	$1932.0 \pm 356.4^{ab,B}$	$2925.2 \pm 70.4^{a,A}$	$2278.8 \pm 49.6^{a,B}$
NADES 8	$1783.6 \pm 199.0^{bc,C}$	$3277.4 \pm 35.0^{a,A}$	$2206.9 \pm 124.4^{a,B}$
NADES 9	$2224.9 \pm 88.4^{a,B}$	$2928.1 \pm 44.2^{a,A}$	$2203.4 \pm 98.6^{a,B}$
NADES 10	$1729.4 \pm 235.4^{bc,A}$	$2064.9 \pm 355.2^{b,A}$	$1939.7 \pm 174.1^{b,A}$
NADES 11	$701.3 \pm 55.5^{d,A}$	$243.5 \pm 85.2^{f,B}$	$743.2 \pm 85.9^{de,A}$
NADES 12	$611.3 \pm 62.9^{d,A}$	$593.0 \pm 41.7^{f,A}$	$622.6 \pm 120.0^{ef,A}$
Etanol	$691.3 \pm 36.2^{d,A}$	$522.6 \pm 85.2^{f,B}$	$324.3 \pm 9.6^{g,C}$

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütun içinde farklı küçük harfler ve aynı satır içinde farklı büyük harfler, istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($p < 0,05$). nd: tespit edilemedi.

Çizelge 4.6. Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (DPPH) değişimler (mg TE/kg)

Çözücü	Sindirilmemiş	Mide Sindirimi	Bağırsak Sindirimi
KAVRULMUŞ			
NADES 1	$1819.1 \pm 68.0^{c,B}$	$2528.1 \pm 157.9^{cde,A}$	$818.2 \pm 192.2^{de,C}$
NADES 2	$1756.3 \pm 47.1^{c,B}$	$2374.2 \pm 270.4^{cdef,A}$	$898.2 \pm 44.3^{cde,C}$
NADES 3	$776.3 \pm 98.2^{e,B}$	$1970.1 \pm 348.4^{ef,A}$	$235.3 \pm 98.0^{f,B}$
NADES 4	$635.8 \pm 54.7^{e,B}$	$2367.8 \pm 244.0^{def,A}$	$500.8 \pm 50.4^{ef,B}$
NADES 5	$731.3 \pm 41.7^{e,B}$	$2473.0 \pm 245.0^{cde,A}$	$22.6 \pm 7.6^{f,C}$

Çizelge 4.6. Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında toplam antioksidan kapasitesindeki (DPPH) değişimler (mg TE/kg) (devam)

NADES 6	$756.5 \pm 61.8^{e,B}$	$1791.6 \pm 409.9^{efg,A}$	$40.9 \pm 2.6^{f,C}$
NADES 7	$2509.4 \pm 220.2^{a,B}$	$3638.8 \pm 72.2^{ab,A}$	$1038.2 \pm 161.7^{cd,C}$
NADES 8	$2635.6 \pm 96.7^{a,B}$	$3960.9 \pm 156.4^{a,A}$	$1880.0 \pm 439.4^{ab,C}$
NADES 9	$2434.2 \pm 114.8^{ab,B}$	$3155.9 \pm 450.6^{bc,A}$	$2332.1 \pm 15.7^{a,B}$
NADES 10	$2189.0 \pm 85.4^{b,B}$	$2927.5 \pm 400.1^{bcd,A}$	$1844.6 \pm 213.0^{b,B}$
NADES 11	$831.3 \pm 111.6^{e,A}$	$1012.6 \pm 26.5^{g,A}$	$1069.5 \pm 170.4^{cd,A}$
NADES 12	$724.5 \pm 155.1^{e,C}$	$1033.4 \pm 90.9^{g,B}$	$1339.1 \pm 55.7^{c,A}$
Etanol	$1279.5 \pm 95.8^{d,B}$	$1609.5 \pm 75.8^{fg,A}$	$1019.7 \pm 10.2^{cd,C}$

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütun içinde farklı küçük harfler ve aynı satır içinde farklı büyük harfler, istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($p < 0,05$). nd: tespit edilemedi.

4.4. Klorojenik Asit

Ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının UPLC–ESI–MS/MS analizi, klorojenik asidi baskın fenolik bileşik olarak tanımlamıştır (Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8). Bu bulgu, klorojenik asidin ayçiçeği tohumu yan ürünlerinde başlıca polifenol olduğunu bildiren önceki çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (De Oliveira Filho & Egea, 2021; Girotto ve ark., 2024). Sindirim öncesi değerlendirmede, kavrulmamış örnekler arasında en yüksek klorojenik asit içeriği kolin klorür:gliserol (1:2) (NADES 3) ile hazırlanan ekstraktta tespit edilmiş olup, bu değer etanolik ekstrakta kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Bu bulgu, NADES'lerin klorojenik asit ekstraksiyonunda etanole kıyasla daha yüksek verim sağladığını ortaya koyan literatür bulgularıyla da örtüşmektedir (Bezerra ve ark., 2024).

Buna karşılık, kavrulmuş örnekler arasında glukoz:laktik asit (1:5) (NADES 12) ile hazırlanan ekstrakt, NADES formülasyonları içinde en yüksek klorojenik asit içeriğine sahip olmuştur; bu bulgu, toplam fenolik madde içerikleriyle de uyumludur. Ancak etanolik ekstrakt, NADES 12'ye kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek klorojenik asit içeriği göstermiştir ($p < 0,05$). Kavrulma işlemi, klorojenik asit

seviyelerinde belirgin bir azalmaya neden olmuş ve birçok ekstraktta bu bileşik tespit edilemez hale gelmiştir. Benzer şekilde, kahve çekirdekleri üzerinde yapılan çalışmalarda da kavurmanın klorojenik asidi termal bozunmaya uğratarak kinik asit ve kafeik asit gibi türev bileşiklerin oluşumuna neden olduğunu göstermiştir (Mehaya & Mohammad, 2020).

Klorojenik asit içeriği gastrik ve intestinal sindirim sonrası farklı eğilimler göstermiş olsa da, kavrulmuş örneklerin büyük çoğunluğunda gastrik sindirim ardından genel bir artış gözlemlenmiştir. Bu artış, kavurma sırasında oluşan bağlı ya da modifiye klorojenik asidin asidik mide ortamında serbest hale gelmesi ve düşük pH koşullarında bozunma ürünlerinin hidrolize uğrayarak tespit edilebilir türev bileşiklere dönüşmesiyle açıklanabilir.

Glukoz:laktik asit (1:5) (NADES 12), hem kavrulmamış hem de kavrulmuş örneklerde en yüksek biyoerişilebilir klorojenik asit düzeyini sağlamıştır. Kavrulmamış örneklerde, kolin klorür:laktik asit (NADES 1 ve 2), gliserol:laktik asit (NADES 11) ve NADES 12 ile elde edilen ekstraktlardaki biyoerişilebilir klorojenik asit miktarları, etanolik ekstrakta kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Benzer şekilde, kavrulmuş örneklerde NADES 1, 3, 4, 11 ve 12 ile hazırlanan ekstraktlar, etanolik ekstrakta göre anlamlı düzeyde daha yüksek biyoerişilebilir klorojenik asit içeriği sergilemiştir. Toplam fenolik madde içeriği ve toplam antioksidan kapasitede bulgularıyla paralellik gösteren bu sonuçlar, kavurma işleminin genellikle klorojenik asit biyoerişilebilirliğinde belirgin bir azalmaya neden olduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 4.7. Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında klorojenik asit içeriğindeki değişimler (µg/kg)

Çözücü	Sindirilmemiş	Mide Sindirimi	Bağırsak Sindirimi
KAVRULMAMIŞ			
NADES 1	$6000.7 \pm 249.4^{de,A}$	$2715.1 \pm 116.4^{ef,C}$	$3899.8 \pm 136.6^{c,B}$
NADES 2	$3097.3 \pm 122.0^{g,A}$	$1571.2 \pm 55.4^{g,B}$	$2910.0 \pm 159.0^{d,A}$
NADES 3	$11624.5 \pm 134.4^{a,A}$	$4232.2 \pm 234.8^{d,B}$	$1893.0 \pm 88.0^{ef,C}$

Çizelge 4.7. Kavrulmamış ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında klorojenik asit içeriğindeki değişimler (µg/kg) (devam)

NADES 4	$6763.2 \pm 120.1^{d,A}$	$2576.8 \pm 112.3^{f,B}$	$794.4 \pm 30.5^{h,C}$
NADES 5	$5006.9 \pm 64.6^{f,A}$	$3044.0 \pm 151.3^{e,B}$	$1624.4 \pm 40.7^{fg,C}$
NADES 6	$5255.4 \pm 84.7^{ef,A}$	$3034.0 \pm 158.1^{ef,B}$	$667.6 \pm 24.3^{h,C}$
NADES 7	$270.3 \pm 13.0^{h,C}$	$810.3 \pm 10.9^{h,B}$	$1402.0 \pm 11.3^{g,A}$
NADES 8	$771.3 \pm 41.5^{h,C}$	$1396.4 \pm 21.2^{g,B}$	$1884.0 \pm 106.9^{ef,A}$
NADES 9	$32.8 \pm 0.4^{h,C}$	$201.2 \pm 19.2^{i,B}$	$536.4 \pm 8.5^{h,A}$
NADES 10	$466.8 \pm 16.4^{h,C}$	$689.4 \pm 21.8^{h,B}$	$1291.2 \pm 66.8^{g,A}$
NADES 11	$8888.0 \pm 146.4^{c,B}$	$10591.7 \pm 180.6^{a,A}$	$5452.2 \pm 43.3^{b,C}$
NADES 12	$4861.1 \pm 190.8^{f,B}$	$5292.1 \pm 65.2^{c,B}$	$11760.6 \pm 141.1^{a,A}$
Etanol	$10030.8 \pm 549.5^{b,A}$	$6104.8 \pm 57.7^{b,B}$	$2085.0 \pm 4.2^{e,C}$

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütun içinde farklı küçük harfler ve aynı satır içinde farklı büyük harfler, istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($p < 0,05$). nd: tespit edilemedi.

Çizelge 4.8. Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında klorojenik asit içeriğindeki değişimler (µg/kg)

Çözücü	**Sindirilmemiş**	**Mide Sindirimi**	**Bağırsak Sindirimi**
KAVRULMUŞ			
NADES 1	nd	$180.8 \pm 7.2^{e,B}$	$351.3 \pm 11.0^{d,A}$
NADES 2	nd	$112.6 \pm 6.6^{ef,B}$	$197.8 \pm 8.0^{ef,A}$
NADES 3	$196.9 \pm 6.1^{d,C}$	$597.4 \pm 32.5^{c,A}$	$452.6 \pm 23.6^{c,B}$
NADES 4	$81.6 \pm 2.7^{e,B}$	$562.6 \pm 29.0^{c,A}$	$468.5 \pm 30.8^{c,A}$
NADES 5	$93.2 \pm 2.5^{e,C}$	$198.0 \pm 10.9^{e,A}$	$133.4 \pm 5.0^{fg,B}$
NADES 6	$182.3 \pm 3.1^{d,B}$	$360.8 \pm 18.4^{d,A}$	$174.4 \pm 10.4^{fg,B}$
NADES 7	nd	nd	nd
NADES 8	nd	nd	nd
NADES 9	nd	nd	nd
NADES 10	nd	nd	114.6 ± 28.5^{g}

Çizelge 4.8. Kavrulmuş ay çekirdeği kabuğu ekstraktlarının *in vitro* sindirim sırasında klorojenik asit içeriğindeki değişimler (µg/kg) (devam)

NADES 11	$497.0 \pm 16.2^{c,C}$	$1217.4 \pm 38.0^{b,B}$	$1549.9 \pm 20.8^{b,A}$
NADES 12	$1031.3 \pm 0.1^{b,C}$	$2440.6 \pm 38.2^{a,B}$	$3317.9 \pm 15.8^{a,A}$
Etanol	$2355.8 \pm 65.7^{a,A}$	$1141.9 \pm 72.4^{b,B}$	$259.2 \pm 11.1^{e,C}$

Sonuçlar ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. Aynı sütun içinde farklı küçük harfler ve aynı satır içinde farklı büyük harfler, istatistiksel olarak anlamlı farkları temsil etmektedir ($p < 0,05$). nd: tespit edilemedi.

5. SONUÇ

Bu çalışma, ay çekirdeği kabuklarından fenolik bileşiklerin geri kazanımında doğal derin ötektik çözücülerin (NADES) ultrases destekli ekstraksiyon ile birlikte kullanımının etkinliğini ortaya koymuştur. Test edilen çözücüler arasında, glukoz: laktik asit (1:5) ve gliserol: laktik asit (1:3) kombinasyonları, özellikle klorojenik asit açısından en yüksek ekstraksiyon verimliliğini göstermiştir. Çoğu NADES ekstraktı, etanolik ekstrakt ile karşılaştırıldığında daha yüksek toplam fenolik madde içeriği, toplam antioksidan kapasite ve biyoerişilebilirlik sergilemiştir. Ancak, kavurma işlemi genellikle bu parametrelerde azalmaya neden olmuştur. Uygulanan *in vitro* sindirim modeli, fenolik bileşiklerin gastrointestinal koşullar altındaki stabilitesi ve salınımına ilişkin önemli bilgiler sağlamış; NADES bazlı ekstraktların fonksiyonel gıda veya nutrasötik ürünlerde kullanım potansiyelini desteklemiştir. Gelecek çalışmalarda, her bir NADES sistemi için ekstraksiyon parametrelerinin optimize edilmesine ve geri kazanım veriminin maksimize edilmesi hedeflenmelidir. Ayrıca, NADES çözücülerinin gıdaya yönelik uygulamalarda sitotoksisite ve güvenlik açısından kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır. NADES ekstraktlarının gerçek gıda matrislerine entegre edildiğinde stabilite ve fonksiyonelliklerinin değerlendirilmesi, bu çözücülerin pratik uygulamalara entegrasyonu açısından kritik bir adımdır.

KAYNAKLAR

Akpinar Bayizit, A., Bekar, E., Unal, T. T., Celik, M. A., Acoglu Celik, B., Koc Alibasoglu, E., Sahin Dilmenler, P., Yolci Omeroglu, P., Copur, O. U., & Kamiloglu, S. (2023). Investigating the effect of harvest season on the bioaccessibility of bee pollen polyphenols by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *European Food Research and Technology*, *249*, 2529–2542. https://doi.org/10.1007/s00217-023-04316-8

Alexandrino, T. D., da Silva, M. G., Ferrari, R. A., Ruiz, A. L. T. G., Duarte, R. M. T., Simabuco, F. M., Bezerra, R. M. N., & Pacheco, M. T. B. (2021). Evaluation of some in vitro bioactivities of sunflower phenolic compounds. *Current Research in Food Science, 4*, 662–669. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.07.014

Alu'datt, M. H., Rababah, T., Alhamad, M. N., Al-Mahasneh, M. A., Almajwal, A., Gammoh, S., Ereifej, K., Johargy, A., & Alli, I. (2017). *A review of phenolic compounds in oil-bearing plants: Distribution, identification and occurrence of phenolic compounds*. *Food Chemistry, 218*, 99–106. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.057

Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., & Karademir, S. E. (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, Using Their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(26), 7970–7981. https://doi.org/10.1021/jf048741x

Aslan Türker, D., & Doğan, M. (2022). Ultrasound-assisted natural deep eutectic solvent extraction of anthocyanin from black carrots: Optimization, cytotoxicity, in-vitro bioavailability and stability. *Food and Bioproducts Processing*, *132*, 99–113. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2022.01.002

Atayoglu, A. T., Sözeri Atik, D., Bölük, E., Gürbüz, B., Ceylan, F. D., Çapanoğlu, E., Atayolu, R., Paradkar, A., Fearnley, J., & Palabiyik, I. (2023). Evaluating bioactivity and bioaccessibility properties of the propolis extract prepared with l-lactic acid: An alternative solvent to ethanol for propolis extraction. *Food Bioscience*, *53*, 102756. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102756

Bashir, I., Dar, A. H., Dash, K. K., Pandey, V. K., Fayaz, U., Shams, R., Srivastava, S., & Singh, R. (2023). Deep eutectic solvents for extraction of functional components from plant-based products: A promising approach. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, *33*, 101102. https://doi.org/10.1016/J.SCP.2023.101102

Benítez-Correa, E., Bastías-Montes, J. M., Acuña-Nelson, S., & Muñoz-Fariña, O. (2023). Effect of choline chloride-based deep eutectic solvents on polyphenols extraction from cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells and antioxidant activity of extracts. *Current Research in Food Science*, *7*, 100614. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100614

Bertolo, M. R. V., Martins, V. C. A., Plepis, A. M. G., & Bogusz, S. (2021). Utilization of pomegranate peel waste: Natural deep eutectic solvents as a green strategy to recover valuable phenolic compounds. *Journal of Cleaner Production*, *327*, 129471. https://doi.org/10.1016/J.JCLEPRO.2021.129471

Bezerra, F. de S., Ramos, G. S. M., Carvalho, M. G. de O., & Koblitz, M. G. B. (2024). Natural deep eutectic solvents characteristics determine their extracting and

protective power on chlorogenic acids from sunflower meal. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, *37*, 101430. https://doi.org/10.1016/J.SCP.2024.101430

Bin Mokaizh, A. A., Nour, A. H., & Kerboua, K. (2024). Ultrasonic-assisted extraction to enhance the recovery of bioactive phenolic compounds from Commiphora gileadensis leaves. *Ultrasonics Sonochemistry*, *105*, 106852. https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2024.106852

Binboğa Meral, Ü. (2019). Ayçiçeği (Helianthus annuus L.,) Bitkisinin Önemi ve Üretimine Genel Bir Bakış. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology, 2*(2), 58–71. https://doi.org/10.38001/ijlsb.535889

BÜGEM. (2022). Ayçiçeği Bülteni. https://www.tarimorman.gov.tr/BUGEM/Belgeler/B%C3%BCltenler/MAYIS%202022/Ay%C3%A7i%C3%A7e%C4%9Fi%20May%C4%B1s%20%20B%C3%BClteni.pdf

Cao, Y., Song, Z., Dong, C., Ni, W., Xin, K., Yu, Q., & Han, L. (2023). Green ultrasound-assisted natural deep eutectic solvent extraction of phenolic compounds from waste broccoli leaves: Optimization, identification, biological activity, and structural characterization. *LWT*, *190*, 115407. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.115407

Calvo, L. G., Celeiro, M., Lores, M., Abril, A. G., & de Miguel, T. (2025). Assessing the effect of gastrointestinal conditions and solubility on the bioaccessibility of polyphenolic compounds from a white grape marc extract. *Food Chemistry*, *480*, 143810. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2025.143810

Capanoglu, E., Kamiloglu, S., Cekic, S. D., Baskan, K. S., Avan, A. N., Uzunboy, S., & Apak, R. (2022). Antioxidant Activity and Capacity Measurement. In H. M. Ekiert, K. G. Ramawa, & J. Arora (Eds.), *Plant Antioxidants and Health* (pp. 709–773). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-78160-6_22

Carbonell-Capella, J. M., Buniowska, M., Barba, F. J., Esteve, M. J., & Frígola, A. (2014). Analytical methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds from fruits and vegetables: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 13*(2), 155–171. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12049

Cheng, M., He, J., Gu, Y., Wu, G., Tan, L., Li, C., Xu, F., & Zhu, K. (2023). Changes in Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Artocarpus heterophyllus Lam. (Jackfruit) Pulp during In Vitro Gastrointestinal Digestion. *Antioxidants*, *13*(1), 37. https://doi.org/10.3390/antiox13010037

da Silva, D. T., Smaniotto, F. A., Costa, I. F., Baranzelli, J., Muller, A., Somacal, S., Monteiro, C. S. A., Vizzotto, M., Rodrigues, E., Barcia, M. T., & Emanuelli, T. (2021). Natural deep eutectic solvent (NADES): A strategy to improve the bioavailability of blueberry phenolic compounds in a ready-to-use extract. *Food Chemistry*, *364*, 130370. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.130370

Dantas, A. M., Fernandes, F. G., Magnani, M., & da Silva Campelo Borges, G. (2023). Gastrointestinal digestion assays for evaluating the bioaccessibility of phenolic compounds in fruits and their derivates: an overview. *Food Research International*, *170*, 112920. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112920

de Almeida, S. S., da Costa, G. B. M., Barreto, M. S., Freire, D. M. G., Lobo, L. A., Domingues, R. M. C. P., Moura-Nunes, N., Monteiro, M., & Perrone, D. (2020).

Bioaccessibility and gut metabolism of phenolic compounds of breads added with green coffee infusion and enzymatically bioprocessed. *Food Chemistry*, *333*, 127473. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.127473

De Oliveira Filho, J. G., & Egea, M. B. (2021). Sunflower seed byproduct and its fractions for food application: An attempt to improve the sustainability of the oil process. *Journal of Food Science*, *86*(5), 1497–1510. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15719

Della-Posta, S., Gallo, V., Ascrizzi, A. M., Gentili, A., De Gara, L., Dugo, L., & Fanali, C. (2023). Development of a green ultrasound-assisted procedure for the extraction of phenolic compounds from avocado peel with deep eutectic solvents. *Green Analytical Chemistry*, *7*, 100083. https://doi.org/10.1016/j.greeac.2023.100083

European Commission. (2009). Directive 2009/32/EC of the European Parliament and of the Council of 23 April 2009 on the approximation of the laws of the Member States on extraction solvents used in the production of foodstuffs and food ingredients. *Official Journal of the European Union*, *L141*, 3–11.

FAOSTAT. (2023). *Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. Crops. Retrieved from: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize*

FAOSTAT. (2025). *Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database. Crops. Retrieved from: http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize*

Fu, X., Belwal, T., He, Y., Xu, Y., Li, L., & Luo, Z. (2022). UPLC-Triple-TOF/MS characterization of phenolic constituents and the influence of natural deep eutectic solvents on extraction of Carya cathayensis Sarg. peels: Composition, extraction mechanism and in vitro biological activities. *Food Chemistry*, *370*, 131042. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131042

Girotto, F., Merlino, M., Giovanelli, G., Condurso, C., & Piazza, L. (2024). Unveiling the potential of micronized dehulled sunflower press-cake: a breakthrough in sustainable plant-based protein-rich sport beverages. *International Journal of Food Science and Technology*, *59*(7), 4784–4796. https://doi.org/10.1111/ijfs.17208

Gomez-Urios, C., Puchades-Colera, P., Frigola, A., Esteve, M. J., Blesa, J., & Lopez-Malo, D. (2024). Natural deep eutectic solvents: A paradigm of stability and permeability in the design of new ingredients. *Journal of Molecular Liquids*, *412*, 125864. https://doi.org/10.1016/j.molliq.2024.125864

Grzelczyk, J., Szwajgier, D., Baranowska-Wójcik, E., Budryn, G., Zakłos-Szyda, M., & Sosnowska, B. (2022). Bioaccessibility of coffee bean hydroxycinnamic acids during in vitro digestion influenced by the degree of roasting and activity of intestinal probiotic bacteria, and their activity in Caco-2 and HT29 cells. *Food Chemistry*, *392*, 133328. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133328

He, Y., Mao, S., Zhao, Y., & Yang, J. (2025). *Research advances in the synthesis, metabolism, and function of chlorogenic acid*. *Foods, 14*(11), 1914. https://doi.org/10.3390/foods14111914

Hikmawanti, N. P. E., Ramadon, D., Jantan, I., & Mun'im, A. (2021). Natural Deep Eutectic Solvents (NADES): Phytochemical Extraction Performance Enhancer

for Pharmaceutical and Nutraceutical Product Development. *Plants*, *10*(10), 2091. https://doi.org/10.3390/plants10102091

Husanu, E., Mero, A., Rivera, J. G., Mezzetta, A., Ruiz, J. C., D'Andrea, F., Pomelli, C. S., & Guazzelli, L. (2020). Exploiting Deep Eutectic Solvents and Ionic Liquids for the Valorization of Chestnut Shell Waste. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, *8*(50), 18386–18399. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c04945

Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, *70*, 105325. https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2020.105325

Kumaran, A., & Karunakaran, R. J. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activity of an aqueous extract of *Coleus aromaticus*. *Food Chemistrsy*, *97*(1), 109–114. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2005.03.032

Lima, L., Pereira, A. I., Vaz, C. B., Ferreira, O., Dias, M. I., Heleno, S. A., Calhelha, R. C., Barros, L., & Carocho, M. (2025). Optimization of heat and ultrasound-assisted extraction of Eucalyptus globulus leaves reveals strong antioxidant and antimicrobial properties. *Food Chemistry*, *479*, 143755. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2025.143755

López-Fernández, O., Domínguez, R., Pateiro, M., Munekata, P. E. S., Rocchetti, G., & Lorenzo, J. M. (2020). Determination of polyphenols using liquid chromatography–tandem mass spectrometry technique (LC–MS/MS): A review. *Antioxidants, 9*(6), 479. https://doi.org/10.3390/antiox9060479

Lund, M. N. (2021). *Reactions of plant polyphenols in foods: Impact of molecular structure*. *Trends in Food Science & Technology, 112*, 241–251. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.056

Maimulyanti, A., Nurhidayati, I., Mellisani, B., Amelia Rachmawati Putri, F., Puspita, F., & Restu Prihadi, A. (2023). Development of natural deep eutectic solvent (NADES) based on choline chloride as a green solvent to extract phenolic compound from coffee husk waste. *Arabian Journal of Chemistry*, *16*(4), 104634. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2023.104634

Mehaya, F. M., & Mohammad, A. A. (2020). Thermostability of bioactive compounds during roasting process of coffee beans. *Heliyon*, *6*(11), e05508. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05508

Mehta, N., S, Jeyapriya., Kumar, P., Verma, A. K., Umaraw, P., Khatkar, S. K., Khatkar, A. B., Pathak, D., Kaka, U., & Sazili, A. Q. (2022). Ultrasound-Assisted Extraction and the Encapsulation of Bioactive Components for Food Applications. *Foods*, *11*(19), 2973. https://doi.org/10.3390/foods11192973

Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., … Brodkorb, A. (2014). A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food – an international consensus. *Food & Function*, *5*(6), 1113–1124. https://doi.org/10.1039/C3FO60702J

Morais, R. A., Polmann, G., Ferreira, S. R. S., & Block, J. M. (2025). In vitro simulated gastrointestinal digestion and its influence on the bioaccessibility and bioactivity of phenolic compounds from Buritirana (Mauritiella armata) pulp, shells, and

seeds. *Food Research International*, *206*, 116036. https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2025.116036

Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X., Modarresi-Ghazani, F., WenHua, L., & XiaoHui, Z. (2018). Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *97*, 67-74. https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2017.10.064

Özcan, M. M., Yılmaz, F. G., Uslu, N., Akçay Kulluk, D., Dursun, N., & Yılmaz, H. (2024). Determination of bioactive compounds, phenolic contents, fatty acid and biogenic element profiles of the seeds of sunflower (Helianthus annuus L.) genotypes, *Food and Humanity*, *2*, 100222. https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.100222

Özkan, G. (2024). Valorization of artichoke outer petals by using ultrasound-assisted extraction and natural deep eutectic solvents (NADES) for the recovery of phenolic compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *104*(5), 2744–2749. https://doi.org/10.1002/jsfa.13158

Pal, D. (2011). Sunflower (Helianthus annuus L.) Seeds in Health and Nutrition. *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, 1097-1105. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10130-6

Pavlović, N., Jokić, S., Jakovljević, M., Blažić, M., & Molnar, M. (2020). Green Extraction Methods for Active Compounds from Food Waste—Cocoa Bean Shell. *Foods*, *9*(2), 140. https://doi.org/10.3390/foods9020140

Petraru, A., Ursachi, F., & Amariei, S. (2021). Nutritional Characteristics Assessment of Sunflower Seeds, Oil and Cake. Perspective of Using Sunflower Oilcakes as a Functional Ingredient. *Plants*, *10*(11), 2487. https://doi.org/10.3390/plants10112487

Rashid, R., Mohd Wani, S., Manzoor, S., Masoodi, F. A., & Masarat Dar, M. (2023). Green extraction of bioactive compounds from apple pomace by ultrasound assisted natural deep eutectic solvent extraction: Optimisation, comparison and bioactivity. *Food Chemistry*, *398*, 133871. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133871

Rebocho, S., Mano, F., Cassel, E., Anacleto, B., Bronze, M. do R., Paiva, A., & Duarte, A. R. C. (2022). Fractionated extraction of polyphenols from mate tea leaves using a combination of hydrophobic/ hydrophilic NADES. *Current Research in Food Science*, *5*, 571–580. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.03.004

Rente, D., Paiva, A., & Duarte, A. R. (2021). *The role of hydrogen bond donor on the extraction of phenolic compounds from natural matrices using deep eutectic systems*. *Molecules, 26*(8), 2336. https://doi.org/10.3390/molecules26082336

Saini, A., Kumar, A., Panesar, P. S., & Thakur, A. (2022). Potential of deep eutectic solvents in the extraction of value-added compounds from agro-industrial by-products. *Applied Food Research*, *2*(2), 100211. https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100211

Shen, L., Pang, S., Zhong, M., Sun, Y., Qayum, A., Liu, Y., Rashid, A., Xu, B., Liang, Q., Ma, H., & Ren, X. (2023). A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, *101*, 106646. https://doi.org/10.1016/J.ULTSONCH.2023.106646

TEPGE. (2023). Tarım Ürünleri Piyasaları Raporu. https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2023-Temmuz%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/AY%C3%87%C4%B0%C3%87E%C4%9E%C4%B0%20T%C3%9CP%20HAZ%C4%B0RAN%202023-TEPGE.pdf

TEPGE. (2024). Tarım Ürünleri Piyasaları Raporu. https://arastirma.tarimorman.gov.tr/tepge/Belgeler/PDF%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1/2024-Temmuz%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Raporu/Ay%C3%A7i%C3%A7e%C4%9Fi%20Tar%C4%B1m%20%C3%9Cr%C3%BCnleri%20Piyasalar%C4%B1%20Raporu%20Temmuz-2024-v5.pdf

Tošović, J., Marković, S., Dimitrić Marković, J. M., Mojović, M., Milenković, D., & Amić, D. (2017). Antioxidative mechanisms in chlorogenic acid. *Food Chemistry, 237*, 390–398. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.025

TÜİK. (2024). Türkiye İstatistik Kurumu. https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-Istatistikleri-2024-53447

TÜİK. (2025). Türkiye İstatistik Kurumu. https://data.tuik.gov.tr/Bulten/Index?p=Bitkisel-Uretim-1.Tahmini-2025-53940

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(10), 4113–4117. https://doi.org/10.1021/jf9801973

Weisz, G. M., Kammerer, D. R., & Carle, R. (2009). Identification and quantification of phenolic compounds from sunflower (*Helianthus annuus* L.) kernels and shells by HPLC-DAD/ESI-MS^n. *Food Chemistry, 115*(2), 758–765. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.074

Wu, H., Lu, P., Liu, Z., Sharifi-Rad, J., & Suleria, H. A. R. (2022). Impact of roasting on the phenolic and volatile compounds in coffee beans. *Food Science & Nutrition*, *10*(7), 2408–2425. https://doi.org/10.1002/fsn3.2849

Xiao, J., Li, A., Tang, Y., Li, D., Yang, P., & Cheng, H. (2022). Bound phenolics release from dried bamboo shoots prepared by different processes during *in vitro* gastrointestinal digestion: bioaccessibility and bioactivity. *International Journal of Food Science & Technology*, *57*(11), 7047–7056. https://doi.org/10.1111/ijfs.16016

Yu, X., Yu, L., Ma, F., & Li, P. (2021). Quantification of phenolic compounds in vegetable oils by mixed-mode solid-phase extraction isotope chemical labeling coupled with UHPLC-MS/MS. *Food Chemistry*, *334*, 127572. https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.127572

Yusoff, I. M., Mat Taher, Z., Rahmat, Z., & Chua, L. S. (2022). A review of ultrasound-assisted extraction for plant bioactive compounds: Phenolics, flavonoids, thymols, saponins and proteins. *Food Research International*, *157*, 111268. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111268

Zhang, Y., Xiao, H., Lv, X., Wang, D., Chen, H., & Wei, F. (2022). *Comprehensive review of composition distribution and advances in profiling of phenolic compounds in oilseeds*. *Frontiers in Nutrition, 9*, 1044871. https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1044871

Zheng, B., Yuan, Y., Xiang, J., Jin, W., Johnson, J. B., Li, Z., Wang, C., & Luo, D. (2022). Green extraction of phenolic compounds from foxtail millet bran by ultrasonic-assisted deep eutectic solvent extraction: Optimization, comparison and bioactivities. *LWT*, *154*, 112740. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112740