

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DEĞİŞİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN SAHİL ÇAMI KABUK
TANENİ VERİMİ VE KİMYASAL BİLEŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nur SARIALAN

Orman Ürünleri Anabilim Dalı

OCAK 2018

BURSA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ❖ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DEĞİŞİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN SAHİL ÇAMI KABUK
TANENİ VERİMİ VE KİMYASAL BİLEŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Nur SARILAN
(152081102)**

Orman Ürünleri Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Oktay GÖNÜLTAŞ

OCAK 2018

BTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 152081102 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Nur SARIALAN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "Değişik Ekstraksiyon Yöntemlerinin Sahil Çamı Kabuk Taneni Verimi ve Kimyasal Bileşimi Üzerine Etkisi" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Yrd. Doç. Dr. Oktay GÖNÜLTAŞ**
Bursa Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Sami İMAMOĞLU**
Bursa Teknik Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Hasan ÖZDEMİR
Düzce Üniversitesi

Savunma Tarihi : 05 Ocak 2018

FBE Müdürü : **Doç. Dr. Murat ERTAŞ**
Bursa Teknik Üniversitesi/...../.....

İNTİHAL BEYANI

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belgelediğimi, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Nur SARIALAN

İmzası:

X X X X X

ÖNSÖZ

“Değişik Ekstraksiyon Yöntemlerinin Sahil Çamı Kabuk Taneni Verimi ve Kimyasal Bileşimi Üzerine Etkisi” adlı bu çalışma Bursa Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Ürünleri Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın hazırlanmasında, bana bilgi desteğiyle her daim yardımcı olan, beni yetiştiren, orman ürünleri kimyasını sevdiren ve bu yolda ilerlememde beni teşvik eden ve tüm kariyerim boyunca her zaman örnek alacağım danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Oktay GÖNÜLTAŞ’a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

115R069 nolu Değişik Ekstraksiyon Yöntemlerinin Kabuk Taneni Verimi ve Kimyasal Bileşimi Üzerine Etkisi adlı TÜBİTAK projesi kapsamında gerçekleştirdiğim bu çalışma için TÜBİTAK’a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen, birikimlerinden yararlandığım Sayın Hocam Prof. Dr. Ramazan KURT’a saygılarımı sunar, teşekkürü borç bilirim.

Çalışmalarında beni hep destekleyip yanımda olan canım aileme sonsuz teşekkürlerimi ve minnettarlığımı sunarım.

Aralık 2017

Orman Mühendisi Nur SARILAN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
SEMBOLLER	ix
ÇİZELGE LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÖZET	xii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1 Kabuk	2
1.1.1 Kabuğun anatomik yapısı.....	3
1.1.2 Kabuğun kimyasal yapısı	3
1.1.2.1 Temel bileşenler	3
1.1.2.2 Ekstraktif maddeler	4
1.1.3 Kabuğun kullanım alanları	7
1.2 Tanen	7
1.2.1 Tanenlerin kimyası ve sınıflandırılması.....	8
1.2.1.1 Hidrolize tanenler	8
1.2.1.2 Kondanse tanenler	10
1.2.2 Endüstriyel tanen üretimi	12
1.2.3 Tanenlerin kullanım alanları	14
1.2.3.1 Tanenin biyobazlı tutkal üretiminde kullanımı	14
1.2.3.2 Tanenin boya üretiminde kullanımı	14
1.2.3.3 Tanenin sepi maddesi olarak kullanımı.....	15
1.2.3.4 Tanenlerin odun koruma alanında kullanımı	16
1.2.3.5 Tanenlerin biyolojik aktivitesi	16
1.2.3.6 Tanenin diğer kullanım alanları	17
1.3 Ekstraksiyon Yöntemleri	17
1.3.1 Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu	17
1.3.2 Sokslet ekstraksiyonu	18
1.3.3 Ultrases destekli ekstraksiyon	19
1.3.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon	20
1.3.5 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu	21
1.3.6 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu.....	22
1.3.7 Diğer ekstraksiyon yöntemleri	23
1.4 Sahil Çamının Özellikleri	24
2. LİTERATÜR ÖZETİ	25
3. MATERYAL VE YÖNTEM	29
3.1 Materyal Temini ve Örnek Hazırlama.....	29
3.2 Sahil Çamı Kabuğunda Temel Analizler	29

3.2.1 Kül tayini.....	29
3.2.2 Ekstraktif maddelerin belirlenmesi	30
3.2.2.1 Sıcak su çözünürlüğü	30
3.2.2.2 Sikloheksan, alkol-sikloheksan ve alkol çözünürlüğü.....	30
3.2.3 %1 NaOH çözünürlüğü	30
3.2.4 Lignin tayini	31
3.2.5 Holoselüloz tayini	31
3.2.6 α - selüloz tayini	32
3.3 Ekstraksiyon Yöntemleri.....	33
3.3.1 Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu.....	33
3.3.2 Sokslet ekstraksiyonu.....	33
3.3.3 Ultrases destekli ekstraksiyon	34
3.3.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon	34
3.4 Elde Edilen Ekstraktlarda Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi.....	35
3.4.1 Stiasny sayısı tayini.....	35
3.4.2 Toplam fenol tayini	36
3.4.3 Butanol- HCl yöntemi ile kondanse tanen tayini	37
3.4.4 DNS indirgen şeker tayini	38
3.5 FTIR Analizi	39
4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR	40
4.1 Sahil Çamı Kabuğunda Temel Analiz Sonuçları	40
4.2 Sahil Çamı Kabuğunda Ekstraksiyon Verimi ve Stiasny Sayısı	41
4.2.1 Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu.....	41
4.2.2 Sokslet ekstraksiyonu.....	41
4.2.3 Ultrases destekli ekstraksiyon	42
4.2.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon	45
4.3 Sahil Çamı Kabuğunda Fenolik Bileşik Tayin Sonuçları	46
4.3.1 Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu.....	46
4.3.2 Sokslet ekstraksiyonu.....	47
4.3.3 Ultrases destekli ekstraksiyon	48
4.3.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon	51
4.4 FTIR Analizi	52
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	57
KAYNAKLAR	59
ÖZGEÇMİŞ.....	66

KISALTMALAR

ATR	: Attenuated total reflectance
CE	: Siyanidin Ekivalenti
DMTA	: Dinamik Mekanik Termal Analiz
DNS	: Dinitrosalisilik Asit
FAO	: Dünya Çevre ve Tarım Örgütü
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrofotometre
GAE	: Gallik Asit Ekivalenti
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MAE	: Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon
KSÇE	: Klasik Sulu Çözelti Ekstraksiyonu
O.G.M.	: Orman Genel Müdürlüğü
RSM	: Tepki Yüzey Metadojisi
SCWE	: Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
SFE	: Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu
TAPPI	: Technical Association of the Pulp and Paper Industry
UAE	: Ultrases Destekli Ekstraksiyon
UMAE	: Ultrases ve Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon
UV	: Ultraviyole

SEMBOLLER

° C	: Santigrat Derece
atm	: Atmosfer
C	: Karbon
Ca	: Kalsiyum
cm²	: Santimetrekare
cm³	: Santimetreküp
dk.	: Dakika
g	: Gram
GAE	: Gallik asit ekivalenti
GHz	: GigaHertz
H₂SO₄	: Sülfirik asit
HBr	: Hidrobromik asit
HCl	: Hidroklorik asit
K	: Kelvin
K	: Potasyum
KHz	: KiloHertz
M	: Mol
m³	: Metreküp
Mg	: Magnezyum
mg	: Miligram
MHz	: MegaHertz
ml	: Mililitre
Mn	: Mangan
Na₂CO₃	: Sodyum karbonat
NaOH	: Sodyum hidroksit
OH	: Hidroksit
pH	: Hidrojenin gücü
sa.	: Saat
SK	: Sahil çamının klasik sulu çözelti ekstraksiyonu
SM	: Sahil çamının mikrodalga destekli ekstraksiyonu
SS	: Sahil çamının sokslet ekstraksiyonu
SU	: Sahil çamının ultrases destekli ekstraksiyonu
W	: Watt

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 : Dünyadaki ticari tanenler ve kökenleri .	13
Çizelge 3.1 : Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu parametreleri.	33
Çizelge 3.2 : Sokslet ekstraksiyonu parametreleri.	34
Çizelge 3.3 : Ultrases destekli ekstraksiyon parametreleri.	34
Çizelge 3.4 : Mikrodalga destekli ekstraksiyon parametreleri.	35
Çizelge 4.1 : Sahil çamı kabuğu kül ve çözünürlük değerleri (%).	40
Çizelge 4.2 : Sahil çamı kabuğu ardışık solvent çözünürlük değerleri.	40
Çizelge 4.3 : Sahil çamı kabuğu temel bileşenleri (%).	41
Çizelge 4.4 : Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu sonuçları.	41
Çizelge 4.5 : Sokslet ekstraksiyonu sonuçları.	42
Çizelge 4.6 : Ultrases destekli ekstraksiyon sonuçları (1:10).	43
Çizelge 4.7 : Ultrases destekli ekstraksiyon sonuçları (1:20).	44
Çizelge 4.8 : Mikrodalga destekli ekstraksiyon sonuçları.	45
Çizelge 4.9 : Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu fenolik analiz sonuçları.	47
Çizelge 4.10 : Sokslet ekstraksiyonu fenolik analiz sonuçları.	47
Çizelge 4.11 : UAE'da 1:10 kabuk örnekleri fenolik analiz sonuçları.	48
Çizelge 4.12 : UAE'da 1:20 kabuk örneklerinde fenolik analiz sonuçları.	50
Çizelge 4.13 : MAE'da fenolik analiz sonuçları.	51

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1 : Lignan ve neolignan yapısı	5
Şekil 1.2 : Stilben türevleri	5
Şekil 1.3 : Sahil çamında bulunan terpen türevleri.....	6
Şekil 1.4 : Hidrolize tanen yapıtaşları	9
Şekil 1.5 : Gallo tanen formülü	9
Şekil 1.6 : Ellag tanenleri	10
Şekil 1.7 : Bazı kondanse tanen bileşikleri.....	11
Şekil 1.8 : Flavanoid türevleri	11
Şekil 1.9 : Sokslet düzeneği.....	18
Şekil 1.10 : Ultrases destekli ekstraksiyon sistemi.....	20
Şekil 1.11 : Açık ve kapalı kap sistemi.....	21
Şekil 1.12 : Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi	22
Şekil 1.13 : Basınçlı sıvı ekstraksiyon sistemi	23
Şekil 3.1 : Sahil çamı kabuğu ve öğütülmüş kabuk örneği.....	29
Şekil 3.2 : Lignin tayini	31
Şekil 3.3 : Holoselüloz tayini	32
Şekil 3.4 : α - selüloz tayini	33
Şekil 3.5 : Stiasny sayısı tayini.....	36
Şekil 3.6 : Toplam fenol tayini	36
Şekil 3.7 : Gallik asit standart eğrisi.....	37
Şekil 3.8 : Butanol – HCl yöntemi ile kondanse tanen tayini.....	38
Şekil 3.9 : Glikoz standart eğrisi.....	38
Şekil 4.1 : Ekstraksiyon yöntemlerine göre FTIR spektrumlarının karşılaştırması...	52
Şekil 4.2 : KSÇE ile elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları	53
Şekil 4.3 : MAE 0:100 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları .	54
Şekil 4.4 : MAE 80:20 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları .	54
Şekil 4.5 : UAE 0:100 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları ..	55
Şekil 4.6 : UAE 20:80 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları ..	55
Şekil 4.7 : UAE 40:60 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları ..	55
Şekil 4.8 : UAE 60:40 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları ..	56
Şekil 4.9 : UAE 80:20 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları ..	56

DEĞİŞİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMLERİNİN SAHİL ÇAMI KABUK TANENİ VERİMİ VE KİMYASAL BİLEŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Ülkemizde ormancılık faaliyetleri sonucunda ve ahşap levha üreten sanayi kuruluşlarında üretim prosesi sonucunda önemli miktarda atık durumunda kabuk ortaya çıkmaktadır. Yakılmak dışında değerlendirilmeyen bu atık kabukların tanen bakımından zengin olduğu bilinmektedir. Yapılan ön denemeler sonucunda sahil çamı kabuklarının yüksek oranda tanen içerdiği belirlenmiştir. Sahil çamının özellikle hızlı büyüyen bir tür olması ve O.G.M. tarafından endüstriyel plantasyonlarda en çok tercih edilen tür olması nedeni ile çalışma kapsamında tanen kaynağı olarak tercih seçilmiştir.

Bu çalışmada Yalova Armutlu Bölgesinden alınan *Pinus pinaster* (Sahil Çamı) kabuklarının çeşitli ekstraksiyon yöntem ve parametreleriyle ekstraktların hazırlanmasına ve analizlerinde kabuk ekstraktındaki tanen verimine öncelik verilmiştir.

Çalışma kapsamında değişik ekstraksiyon metotlarının sahil çamı kabuğundan tanen eldesinde ekstrakt verimi ve elde edilen tanenin kimyasal bileşimi üzerine etkisi incelenerek ekstraksiyon aşaması optimize edilmeye çalışılmıştır. Değişik parametreler kullanılarak klasik sulu çözelti ekstraksiyonu, sokslet ekstraksiyonu, ultrases destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri uygulanmıştır. Ekstraksiyon sonrasında elde edilen fenolik ekstraktların kimyasal bileşimi stiasny sayısı yöntemi, toplam fenol tayini, proantosiyanın (butanol-HCl) yöntemi ile belirlenmiştir. Ayrıca DNS indirgen şeker yöntemi ile tanen ekstraktı içerisindeki safsızlık miktarı da belirlenmiştir. Her ekstraksiyon çeşidi için ayrı ayrı FTIR spektrometre ölçümü alınmıştır.

Sahil çamı kabuk taneni için en yüksek verim ve tanen içeriği geleneksel yöntemlere kıyasla gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerinde bulunmuştur. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyon kıyaslandığında ise aynı kabuk:çözücü oranlarında mikrodalga destekli ekstraksiyonda daha yüksek verim ve stiasny değerleri elde edilmiştir. Ayrıca yapılan ekstraksiyonlarda en yüksek solvent tüketim miktarı sokslet ekstraksiyonu ve klasik sulu çözelti ekstraksiyonunda olmuştur. Sokslet ekstraksiyonu ve klasik sulu çözelti ekstraksiyonu uzun zamanlı ekstraksiyon süresi gerektiği için gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerine göre dezavantajlıdır.

Son yıllarda biyo bazlı malzemelerin üretiminde kullanımı giderek artmaktadır. Bu yenilenebilir biyopolimerin üretiminde ekstraksiyon aşaması kritik önemdedir. Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu esnasında yüksek ekstraksiyon sıcaklığı ve uzun ekstraksiyon süresi ekstrakt verimini artırırken kabuk tanenlerinde kondenzasyona, termal bozunmaya, yüksek safsızlık ve oksidatif etki gibi olumsuz sonuçlara neden olmaktadır. Proje kapsamında çalışılması planlanan ekstraksiyon tekniklerinin sahil çamı kabuk taneni ekstraksiyonunda kullanılmasıyla ekstraksiyon aşamasının optimize edilerek yüksek ekstrakt verimi ve saflığı, daha az solvent ve kimyasal

sarfıyatı, düşük enerji tüketimi değerlerine ulaşılması hedeflenmiştir. Tezin başarı ile tamamlanmasıyla sahil çamı için optimum ekstraksiyon yöntemi ve parametreleri ortaya konularak atık durumundaki kabukların lke ekonomisine kazandırılması amalanmıştır.

Anahtar kelimeler: Tanen, sahil amı, ekstraksiyon, ultrases, mikrodalga, FTIR.



EFFECT OF DIFFERENT EXTRACTION METHODS ON YIELD OF MARITIME PINE BARK TANNIN AND ITS CHEMICAL COMPOSITION

SUMMARY

As a result of forestry activities in our country and in industrial company about producing wood paneling, a considerable amount of waste arises as a result of the production process. It is known that these waste barks which are not evaluated apart from burning are rich in tannins. As a result of the preliminary studies, it has been determined that the coastal crustaceans contain tannins at high levels. The coastal pine is a particularly fast-growing species, and O.G.M. as the most preferred species for industrial plantations, it was chosen as a source of tannin within the scope of the project.

In this study, the extracts of *Pinus pinaster* (Maritime Pine) bark from Yalova Armutlu Region were given priority and the analysis of the extracts with the various extraction methods and parameters gave priority to the tannin yield especially in the bark extract.

Within the scope of the study, the extraction stage was tried to be optimized by examining the effect of various extraction methods on the chemical composition of the obtained tannin extract and the yield of tannin from the pine bark. Classic aqueous solution extraction, soxlet extraction, ultrasound assisted extraction and microwave assisted extraction methods were applied using different parameters. The chemical composition of the phenolic extracts obtained after extraction was determined by the method of stiasny number, total phenol determination, proanthocyanidin (butanol-HCl) method. On the other hand the amount of impurities in the tannin extract was also determined by the DNS reducing sugar method. Optimum extraction parameters were measured in FTIR spectrometry for each extraction type separately.

The highest yield and high tannin content values for maritime pine species were obtained by microwave assisted extraction and ultrasonic assisted extraction, which is one of the advanced extraction techniques compared to conventional aqueous extraction and soxhlet extraction methods. Compared with microwave assisted extraction and ultrasonic assisted extraction, higher yield and stiasny values were found in microwave assisted extraction at the same bark and solvent ratios. This is also true of phenolic compound ratios. Soxhlet extraction and conventional aqueous solution extraction are disadvantageous compared to advanced extraction methods because of the high amount of solvent use and long time duration of extraction. Ultrasonic assisted extractions and microwave assisted extractions can be performed in a short time.

Extraction techniques planned to be studied within the scope of the project are used in crustal tannic extraction to optimize the extraction stage to achieve higher extract yield and purity, less solvent and chemical consumption and lower energy consumption values. With the successful completion of the thesis, the optimum

extraction method and parameters for the coastal pine have been put forward and it has been aimed to gain the barks of the waste state to the economy of the country.

Keywords: Tannin, pinus pinaster, extraction, ultrasound, microwave, FTIR.



1. GİRİŞ

İki veya daha fazla karışımdan, bir maddeyi ya da safsızlığı solvent yardımıyla sabit sıcaklık ve basınçla ayırma prosesine ekstraksiyon denir. Ayrılması istenen karışım, sıvı bileşenlerden oluşuyorsa “sıvı-sıvı ekstraksiyonu”; katı örnekten bir ya da birden fazla bileşen solvent yardımıyla ayrılacaksa “katı-sıvı ekstraksiyonu” olarak tanımlanmaktadır. Katı-sıvı ekstraksiyonu, doğal ve biyolojik örneklerde kullanılır. Katı maddelerin ekstraksiyonunda, örneğin difüzlenmesi yavaş olduğundan örnek önce öğütülerek toz haline getirilmektedir. Toz haline gelen örnek önceki haline kıyasla solventle daha çabuk etkileşir (Perry vd. 1985; Geankoplis, 1983). Ekstraksiyon işlemi, gıda endüstrisinde, uçucu yağ elde etmede, petrol endüstrisinde yağ kalitesini arttırmada ve bitkisel kaynaklardan elde edilmesi istenilen kimyasal bileşenlerin ayrılmasında ve seperasyon gibi işlemlerde kullanılmaktadır.

İnsanlık tarihinde ekstraksiyon tekniğinin kullanımı M.Ö. 2700’ler de Çin Medeniyetinde, İmparator Chin-Nong zamanından beri bilinmektedir. Ekstraksiyon işlemi analitik proseslerin önemli bir parçasıdır. En eski yöntemlerden biri olan sokslet sisteminin icadı da 1879 yıllarına dayanır. Günümüz teknolojisinde halen sokslet ekstraksiyonu kullanılmaya devam etmesine rağmen gelişmiş tekniklere ilgi artmaktadır. Bu durumun ana nedeni, modern ekstraksiyon tekniklerinde organik solvent tüketiminin azalmasıdır. Çünkü klasik yöntemler fazla solvent tüketimine yol açtığı gibi solventin geri dönüşümünü de sağlayamadığından çevre üzerinde olumsuz etkiye sahiptirler (Benthin vd. 1999; Tavman vd. 2009). Bunların yanında, ekstraksiyon süresinin kısılması, enerji tüketiminin azalması, ekstrakt veriminin artması bu yöntemlerin diğer önemli avantajları arasındadır. Teknolojideki gelişmelere paralel olarak, ekstraksiyon sürecinin temel anlayışında da ilerleme kaydedilmiştir. Günümüzde biyoaktif fenolik bileşiklerin izole edilmesinde, solvent miktarı azaltılmış ve örnek hazırlama maliyetleri de düşürülmüştür. Ayrıca son yıllarda, toksik kirleticilerin çevreye ve insan sağlığına risk oluşturduğuna dair toplum bilinci de artmıştır. Bu sebeplerden dolayı klasik ekstraksiyon yöntemleri yerine mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon, basınçlı sıvı

ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu gibi gelişmiş teknikler kullanılmaya başlanmıştır. Gelişmiş yöntemlerin tamamının ortak noktası ekstraksiyon süresinin kısılmasıyla birlikte ekstrakt veriminin artmasıdır. Yüksek sıcaklık ve basınç altında çalışma imkanı da sağlayan bu ekstraksiyon teknikleri aynı zamanda çevre dostu yöntemlerdir (Khoddami vd. 2013).

Kabuk, kimyasal bileşikleri içinde bulunduran heterojen bir dokudur. Atık durumda olan ürünlerden geri dönüşüm ile yeni ürünler elde edilmesi çevre ve toplum için oldukça önemlidir. Çevre duyarlılığının artmaya başladığı son yıllarda, kabuk gibi yenilenebilir atıklar hakkında birçok çalışma yapılmaya başlanmıştır. Bu önemli atık biyokütle kaynağından, çeşitli ekstraksiyon yöntemleri ile biyobazlı ürünler elde etmek mümkündür. Kurt ve Mengeloğlu (2006), Türkiye'nin ortalama kabuk oranını %12,5 olarak belirtmiş ve buna göre Türkiye'deki birincil ve ikincil orman ürünleri endüstrisindeki kabuk artıklarının 2 milyon m³ civarında olduğu hesaplanmıştır.

Bu çalışmada Yalova Armutlu bölgesindeki endüstriyel sahil çamı plantasyonunda üretim kesimleri sonucu ortaya çıkan kabuklar, dört farklı ekstraksiyon yöntemi ve değişik ekstraksiyon parametreleriyle ekstrakte edilmiştir. Elde edilen ekstraktların kimyasal bileşimi analitik yöntemlerle belirlenip farklı ekstraksiyon yöntemleri ve parametrelerinin tanen verimi ve fenolik bileşim üzerine etkisi incelenmiştir.

1.1 Kabuk

Orman ürünleri işleyen sanayi kuruluşlarından ve orman işletmelerinde üretim kesimleri sonucunda ortaya çıkan kabuk, aslında ekonomiye katkı sağlayabilecek önemli bir biyokütledir. Orman ürünleri endüstrisinde; kabuğun ekstraktif madde içeriği oduna oranla daha fazla olması nedeniyle işleme zorluğuna ve işleme makinalarında korozyona neden olması, nem almasının kolay olması, direncinin oduna göre oldukça düşük olması, kötü görünümü, yüzey işlemleri yapılamaması gibi sebeplerden dolayı kabuk tercih edilmez. Orman işletmelerinde ise tomruklardan soyulan kabuk, ormanda ölü örtü olarak bırakılmakta ya da orman köylüsüne yakacak olarak verilmektedir. Oysa kabuk yakılmayıp biyobazlı polimerlerin eldesinde hammadde olarak kullanılırsa hem yakıldıktan sonra ortaya çıkan zararlı gazların meydana getirdiği çevre kirliliği önlenmiş olur, hem de bu muazzam biyokütle kaynağı ekonomiye kazandırılmış olur.

1.1.1 Kabuğun anatomik yapısı

Ağaç kambiyumunun dış tarafında kalan kısma kabuk denir. Bu dokunun dış görüntüsü ağacın yaşına göre farklılık göstermektedir (Bozkurt ve Erdin, 2013). Gövdenin odundan sonra en önemli ikincil dokusu kabuktur. Kabuk, ağaç türü ve yetiştirme koşullarına göre değişim göstermekle birlikte gövde hacminde %10-20 oranında yer tutmaktadır. Dallardaki kabuk oranı ise daha yüksek olup %20-35 arasındadır (Fengel ve Wegener, 1984). Kabuk, genç gövdelerde dışa doğru sekonder floem, primer floem, korteks ve epiderminin birleşmesiyle oluşmaktadır. Ağacın yaşı ilerledikçe bu yapı sadece sekonder floem ve peridermin birleşmesinden meydana gelmektedir. Peridermin yaşam süresi türlere göre değişim göstermektedir. Bu süre çam türlerinde kısa olurken, huş türlerinde uzun süre devam eder. Kavakta ise periderm her yıl kendini yenilemektedir (Özdemir, 2010).

Kabuk; dalların, gövdenin, köklerin, kambiyumun dış tabakasıdır ve heterojen özelliktedir. Kompleks bir yapıya sahip olan bu dokunun üç ana görevi vardır. Bunlar, besin maddesinin yapraklardan taşınmasına yardım etmek, iç kambiyum tabakasının kurumasını önlemek ve abiyotik, biyotik zararlara karşı ağacı korumaktır (Sakai, 2001).

1.1.2 Kabuğun kimyasal yapısı

Kabuktan etkin faydalanabilmek için anatomik yapı kadar kimyasal yapının da çok iyi bilinmesi gerekir. Kabuğun kimyasal yapısı türler arasında değiştiği gibi iç ve dış kabukta dahi farklılık göstermektedir. Bu önemli yapının kimyasal bileşenleri dört ana gruba ayrılabilir: Polisakkaritler (selüloz, polyoz, pektin maddeleri), lignin ve polifenoller, hidroksi asit kompleksleri (suberin) ve ekstraktif maddeler (yağlar, fitosteroller, reçine asitleri, mumlar, tanenler, terpenler ve flavonoidler) (Rowell vd. 2005). İç kabuktan dış kabuğa doğru gidildikçe ekstraktif madde ve polisakkarit bileşimi azalırken polifenolik bileşenler ve lignin oranı ise artmaktadır (Fengel ve Wegener, 1984).

1.1.2.1 Temel bileşenler

Odundaki gibi kabuk polisakkaritleri içinde glukoz ana bileşendir ve türlere göre değişim göstermekle birlikte bu oran %16-41 arasındadır. İç kabuktaki glukoz oranı dış kabuğa göre fazladır. Kabuktaki glukoz dışındaki şekerlerin oranı %10'dan azdır

(Fengel ve Wegener, 1989). Sıcak su ekstraksiyonu yapılmış kabuk örnekleri %5 civarında şeker fraksiyonu içermektedir. Ekstraksiyon ile elde edilen şeker, fruktoz ve glukozdur. Bu yapıların miktarları mevsimlere göre değişiklik göstermektedir. Serbest şeker miktarı ilkbaharda düşük orandadır fakat giderek artarak sonbaharda maksimuma ulaşır. Kabukta az miktarda galaktoz, ksiloz, manoz, sukrozda bulunmaktadır (Rowell vd. 2005).

Kabuk selülozları, tıpkı kristal kafeslere benzer. Odunun selüloz yapısında böyledir fakat kabuk selülozunun (selüloz I) kristalite derecesi odun selülozundan daha düşüktür (Fengel ve Wegener, 1989).

Pektinler, iç kabukta paraneşim hücre duvarlarında yüksek konsantrasyonda bağlayıcı göreviyle bulunur. L-arabinofuranoz ve D-galaktopranoz genellikle pektin maddesinin küçük bir parçasıdır. Ayrıca metil esterlerinde de pektine rastlamak mümkündür (Rowell vd. 2005).

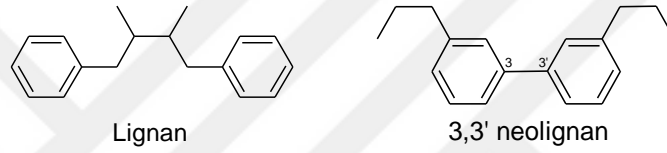
Liflerin hücre duvarları ve siklereit hücreleri ligninleşmiştir. Periderm hücreleri ve ritidom, lignin reaksiyonu verir. Kabukların lignin içeriği ancak alkali ekstraksiyonu sonrası belirlenebilir. Bu işlem yapılmadığı takdirde hidrolizle çözünmeyen polifenoller lignin miktarının olması gerekenden daha yüksek bulunmasına neden olabilir. Kabuk lignini, polifenol ve ekstraktif içermediğinden sklereit hücreleri öğütüldükten sonra eleme ve yüzdürme ile kolayca diğer hücrelerde ayrılır. Bazı ağaç kabuklarının sülfat ligninlerinin degradasyonu incelendiğinde, yapraklı ağaçların kabuk ligninlerindeki guayasil oranı aynı ağacın odunundaki guayasil miktarından daha fazla bulunmasına karşılık, iğne yapraklı ağaç kabuklarındaki p-hidroksibenzaldehit oranı aynı ağacın odunlarına kıyasla daha fazladır. Odun ve kabuk ligninlerinin yapısı benzerdir. Sadece kimyasal bileşenleri farklı oranlardadır (Fengel ve Wegener, 1989).

1.1.2.2 Ekstraktif maddeler

Kabuk ekstraktifleri, lipofilik ve hidrofilik ekstraktifler olarak ikiye ayrılır. Lipofilik ve hidrofilik ekstraktiflerin toplam miktarı kabuğun kuru ağırlığının %20-40'ını oluşturmaktadır (Sjöström, 1981). Kabukta ekstraktif maddelerin ve fenolik bileşiklerin miktarı oduna kıyasla daha yüksektir. Kabuktaki ekstraktif maddeler türe, yetişme ortamına, çözücü oran ve türüne göre değişmektedir. Aynı tür içinde bile ekstraktif madde miktarı değişiklik gösterebilir. Yine de kabukta odundan daha fazla

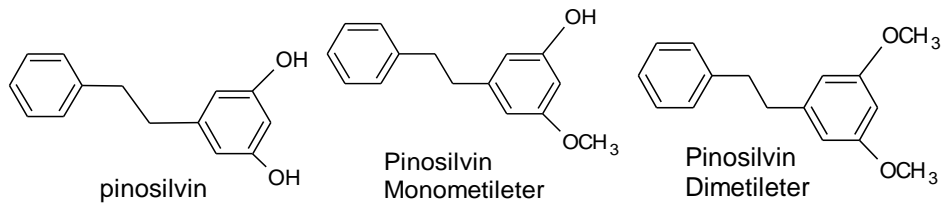
ekstraktif madde vardır. Sıcak su ile kateşin, gallokateşin, monomerik flavanlar, flavonlar, di-,tri- ve oligomerik flavonoidler, stilbenler ekstrakte edilebilir. Alkali ekstraksiyonlarda ise polifenolik asitler ve flavanoidler ekstrakte edilir. Kateşin ve cis-izomereik epikateşin metanol ekstraksiyonu ile elde edilirken vaks, yağ, terpenler ve onların bileşikleri benzen, hegzan ve eter gibi çözücülerle ekstrakte edilebilir (Fengel ve Wegener,1984). Kabukta bulunan birçok bileşik odunda bulunmadığı için odunun analiz yöntemleri doğrudan kabuk için kullanılamaz (Rowell vd. 2005).

Lignanlar ve neolignanlar birçok ağacın kabuk ve odununda bulunan antioksidan özellik gösteren fenil propanoid türü bileşiklerdir. Bitkilerde bulunan temel lignanlar matairesinol, sekoizolarisiresinol, larisiresinol ve izolarisiresinoldür (Perez vd. 2012). Şekil 1.1’de lignan ve neolignan yapısı gösterilmiştir.



Şekil 1.1 : Lignan ve neolignan yapısı

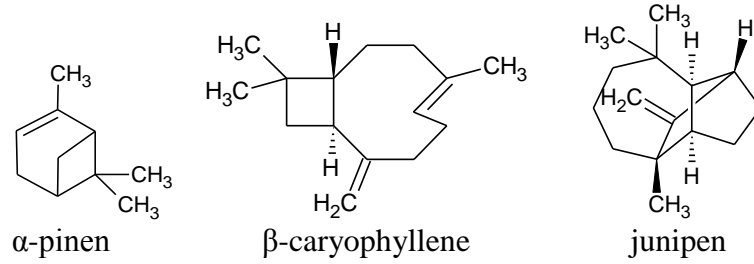
Stilbenler çoğunlukla flavanoidlerle birlikte görülürler ve çoğu zaman C₂-C₆-C₂ iskelet yapısına sahiptir. Stilbenlerin, sinamik asit esterleri koenzim A’dan oluştuğu düşünülmektedir. Bu polifenol türü, oksidasyona ve polimerizasyona karşı hassastırlar. Bu yüzden bitkilere koyu renk vermektendirler (Norin,1989). Şekil 1.2’de stilben türevleri gösterilmiştir.



Şekil 1.2 : Stilben türevleri

Terpenler, bitkilere kendine has kokusunu veren iki ya da beş karbonlu izopren (2-metil-1,3-butadien) birimlerinden oluşan bileşiklerdir. Düz ya da halkalı yapıda olabilir ve çeşitli fonksiyonel grupları içerebilirler. Monoterpenlerin en yaygınları göknar ve çamlarda bulunan α - ve β -pinenlerdir (Rowell vd. 2005). Zolfaghari ve Iravani (2011)’nin yaptığı bir çalışmada sahil çamı kabuğundan elde edilen yağda α -pinen oranı %63,9, β -caryophyllene %14,3 ve junipen %7,5 bulunmuştur. Sahil çamında bulunan terpen türevleri Şekil 1.3’te gösterilmiştir. Terpenler, odun ve

ibrelerinden su buharı destilasyonu ile izole edilebilirler (Balaban, 2003). Terpenoidler ise reçine kanallarında, odunun patolojik sızıntısında ve mantar hücrelerinde bulunur (Sjöström, 1981).



Şekil 1.3 : Sahil çamında bulunan terpen türevleri

Polifenoller, her molekülde birden fazla benzen halkası içeren bileşiklerdir. Kabuktaki polifenoller flavan türevlerinden oluşmaktadır ve göre üçe ayrılır. Bunlar; düşük ağırlığa sahip proantosiyanidinler, kondanse tanenler ve yüksek molekül ağırlıklı polifenolik asitlerdir (Fengel ve Wegener, 1989). Proantosiyanidinler, birçok ağaçta kabuk taneni olarak ana bileşendir. Kondanse tanenlerde benzer yapıda olmasına rağmen molekül ağırlıkları daha fazladır. Kondanse tanenler, sıcak suda çözünebilir maddelerdir (Gönültaş, 2013). Polifenolik asitler, sadece 100°C'deki %1'lik NaOH çözeltisi ile ekstrakte edilebilirken; proantosiyanidinler metanol, sıcak su ve etil asetat, kondanse tanenler sıcak su ve etil alkol gibi çözücülerle ekstrakte edilebilmektedir (Fengel ve Wegener, 1989).

Süberin dış kabuktaki çözünür olmayan polimerik maddelerde ve mantar hücrelerinde bulunmaktadır. Kabuğun kimyasal bileşimi incelendiğinde odundan en büyük farkı polifenoller ve süberinin daha yüksek oranda bulunmasıdır. Kabuktaki süberin maddesinden sabunlaştırılma işlemiyle fenolik asitler elde edilebilir. Bu ekstraktif maddeyi saf polimer olarak elde etmek zor olsa da sabunlaştırmak mümkündür. Süberin ve süberinle birleşik halde bulunan polimerlerin ana görevi bitkinin nem kaybını ve gaz difüzyonunu önleyen bariyer tabakasını oluşturmaktır. Ayrıca yaralanmış dokularda da süberin birikmesi görülür (Fengel ve Wegener, 1989).

Kabuk, içerisinde oduna göre daha fazla asidik bileşen barındırdığından daha asidik yapıdadır. Ayrıca kabuk anorganik madde miktarı olarak oduna kıyasla daha zengindir (Martin ve Gray, 1971). Çam türlerinin kabukları Ca, Mg ve Mn içerir. Kambiyum odunun kimyasal içeriğine göre daha düşük miktarda Mg ve Mn içerirken

Ca içeriği ise daha yüksektir. Kabuk kül bileşiminde ise en çok görülen elementler sırasıyla Ca, K ve Mg 'dur (Fengel ve Wegener, 1989).

1.1.3 Kabuğun kullanım alanları

Kabuktan faydalanmanın ilk örneği yakıt olarak kullanılmasıdır. Kabuğun yanması sonucu ortaya çıkan kül, su arıtma işlemlerinde kullanılmaktadır (Tenney, 1970; Koch ve Mullen, 1971). Ayrıca kabuk briket haline getirilerek soba ve şöminelerde ısınma amaçlı kullanılmaktadır.

Kabuk çok eski yıllardan beri farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Yiyecekleri saklamak ve korumak amacıyla üretilen malzemeler kabuktan türetilip yapılmıştır. Tanen, reçine, lateks ürünler, tutkal, tatlandırıcı gibi maddeler kabuktan elde edilebilir. Kabuktaki kinin, sıtma önleyici ilaç yapımında ve yohimbin diyabet hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra tatlandırıcı olarak kullanılan tarçın, kabuğa en iyi örnektir (Dönmez ve Dönmez, 2013).

Kabuğun binalarda ses izolasyonu ve ısı yalıtımı için kullanılmasının nedeni kabuğun oduna göre ısıyı daha az iletmesidir. Bunların yanı sıra kabuk zehirli ok üretimi, rekreasyon alanlarında peyzaj uygulamaları, golf sahaları, kayak pisti gibi alanlarda örtü maddesi (malç) olarak, petrolün sebep olduğu deniz kirliliğini absorbe edici olarak kullanımı mevcuttur (Harkin ve Rowe, 1971).

Kabuğun lif levha ve yonga levha üretiminde kullanılması levha özelliklerini genel olarak olumsuz etkilemektedir. Yüksek oranda tutkal ilavesiyle kabuğun olumsuz etkileri azaltılabilir de, bu işlem ekonomik olmamaktadır (Özdemir, 2010).

Kabuklar ayrıca kompost gübre yapımında da kullanılabilir. Kabuk, organik bir madde olduğu için kontrollü biyolojik bozunma ile kolayca kompost maddeye dönüşebilmektedir. Kompost maddeler sıcaklık, nem ve oksijen faktörleri dengede tutularak kapalı ortamda çürütülerek oluşturulmaktadır (Türüdü, 1993; Eghball ve Lesoing, 2000).

1.2 Tanen

Tanen yüzyıllardır kullanılan ve birçok farklı tanımı olan fenolik bileşiklerdir. Eski bir dil olan Keltçe'de tanenin anlamı "tabaklama=taneng" ten gelmektedir. Çünkü tanen yüzyıllardır ham deriyi tabaklamak amacıyla kullanılmaktadır. Tanenler farklı

bitkilerin, yaprak, kök, kabuk, meyve ve tohumlarda bulunabilen ekstraktiflerdir. Farklı kokuları, ağızda buruk bir tat bırakan yapıları vardır. Renkleri açık kahverengiden beyaza kadar değişiklik göstermektedir (Khanbabaee ve Ree, 2001). Tanenler, amorf yapıda tanecikler ya da farklı büyüklükte kümeler halinde sitoplazmaya yayılmış durumda ve erimiş şekilde hücre içinde bulunabilirler. Ayrıca mantar dokularında da tanen bulunduğu bilinmektedir (Bisanda vd. 2003).

Smith (1972)'e göre tanen 500-3.000 molekül ağırlığı arasında değişiklik gösteren ve proteinler, alkaloid, jelatin ile çöken suda çözünür bileşiklerdir. Haslam (1989), ise tanenleri polifenol olarak tanımlamış ve molekül ağırlıklarının 20.000 civarında olduğunu belirtmiştir.

1.2.1 Tanenlerin kimyası ve sınıflandırılması

Haslam (1989), tanenleri iki strüktürel yapıya göre sınıflandırmıştır: Gallaoil ve heksahidroksidifenol esterler ve bunların türevleri ile kondanse proantosiyanidinler. İlk grubu da kendi içinde sınıflandırarak:

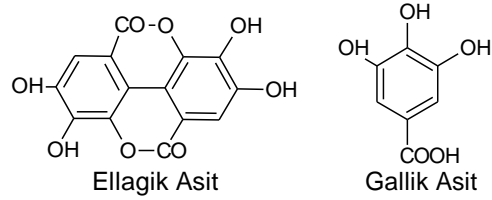
- Basit esterler
- Depsit metabolitler (gallotanen)
- Heksahidroksidifenol ve dehidroheksahidroksidifenol esterler (ellag taneni)
 - D-glukozun 4C1 komformasyonu
 - D-glukozun 1C4 komformasyonu
 - D-glukozun açık zincirli türevi
- Monomerlerin dimer ve oligomerleri

Khanbabaee ve Ree (2001), tanenleri; ellag tanenleri, gallotanenler, kompleks tanenler ve kondanse tanenler olmak üzere dört temel gruba ayırmıştır. Gross (1999); Goel vd. (2005)'e göre ise tanenler; moleküler yapılarına göre, hidrolize olabilen tanenler ve kondanse tanenler olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

1.2.1.1 Hidrolize tanenler

Gallik asit; digallik asit ve ellagik asitin monosakkaritler ve D-glukoz ile oluşturduğu esterlerdir. Bu ester bağları; asit, alkali ve enzimlerle hızlıca hidrolize olurlar. Hidroliz sonunda gallo tanenler gallik asit; ellag tanenler ise ellagik asit verirler

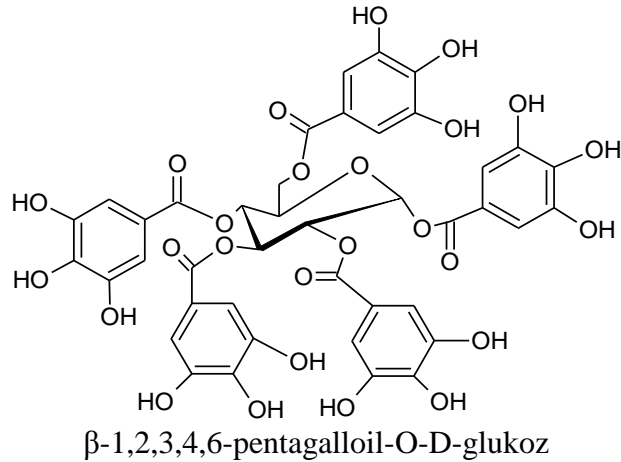
(Balaban, 2003). Hidrolize tanenler formaldehite karşı düşük reaktiviteye sahiptir. Bu yüzden biyotutkal yapımında kullanılmaları zordur. Ayrıca hidrolize tanenlerin dünyadaki sınırlı üretiminden dolayı bu grup tanenlere ilgi düşüktür (Pizzi, 1983). Şekil 1.4' te hidrolize tanen yapıtaşları gösterilmiştir.



Şekil 1.4 : Hidrolize tanen yapıtaşları

Gallo tanenleri

Beş adet gallik asitin glikoz ile esterleşmesiyle gallo tanenler oluşur (Harvey, 2001). En basit hidrolize tanen olan bu yapılar glukozun poligalloil esterleri durumundadırlar. Poligalloil meta- veya para- depsit bağlarından oluşur. Bu bağlar alifatik ester bağlarına göre daha kolay hidrolize olurlar. Gallo tanenin kuvvetli asitlerle hidrolizinden gallik asit ve şekerler oluşur. Ticari tannik asit, sumak gallerinden, *Quercus infectoria* gallerinden ya da sumak yapraklarından elde edilen karışımdan elde edilir (Balaban, 2004). Şekil 1.5'te gallo tanen formülü gösterilmiştir.

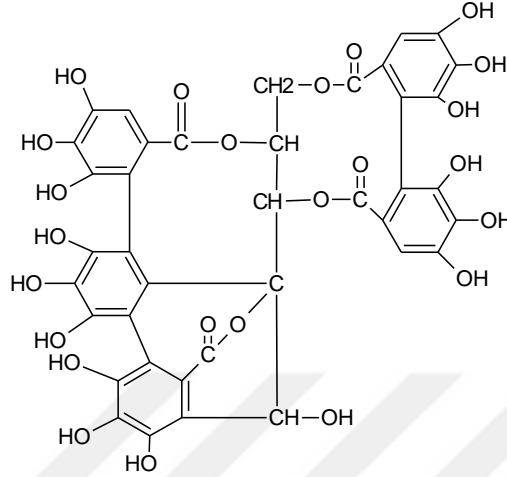


Şekil 1.5 : Gallo tanen formülü

Ellag tanenleri

Galloil gruplarının oksidatif birleşmesiyle gallo tanenler ellag tanenlerine dönüşürler. Ellag tanenleri asidik ortamda hidrolize edildiğinde, ellagik asit ve ellagik aside benzer yapılar oluşmaktadır. Ellag tanenleri, glikoz hidroksilleriyle esterleşen

grupları ya da farklı galloiller arasında kovalent bağlar ile köprüleşmiştir. (Özdemir, 2009) Ellag tanenleri glukoz ile bağlanması C₄/C₆ ya da C₂/C₃ nolu atomlara gerçekleşir (Fengel ve Wegener, 1984). Şekil 1.6'da ellag taneni formülü gösterilmiştir.

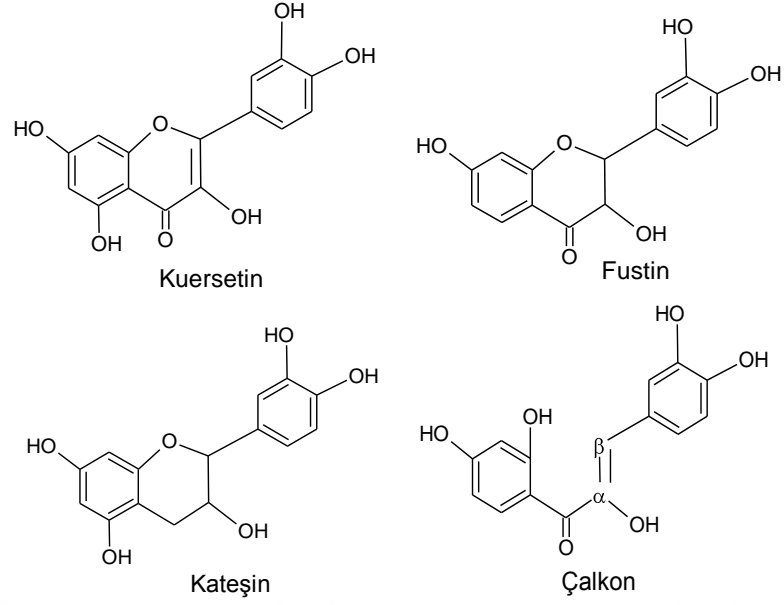


Kastelagin / Veskalagin

Şekil 1.6 : Ellag tanenleri

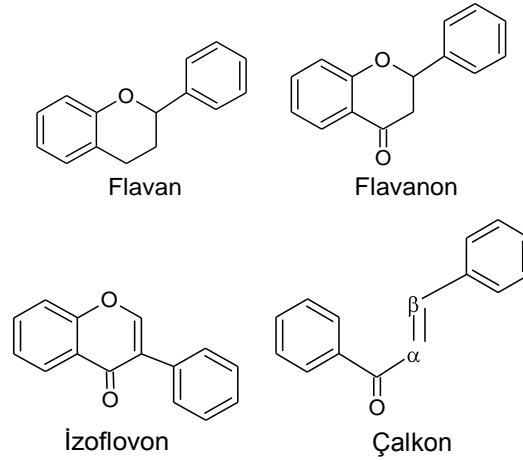
1.2.1.2 Kondanse tanenler

Kondanse tanenler flavanoid birimlerinden oluşan, ana bileşenleri kateşin ve lökoantosiyandin olan bileşiklerdir (Balaban, 2003). Tekrarlanan birimler C₄- C₆ ya da C₄-C₈ bağlarıyla bağlanır. Kondanse tanenler (proantosiyandinler) polihidroksi-flavan-3-oligomerleri ve polimerleri C-C bağları ile flavanol ünitelerine bağlanan polimerlerdir. Formaldehit, flavanoid yapılarının doğal yapısı nedeniyle kondanse tanenlerle çapraz bağ yaparak tepkimeye girmektedir (Yuso vd. 2001). Dünyada her yıl yaklaşık 200.000 ton ticari tanen üretilmekte ve bu miktarın %90'dan fazlası kondanse tanenlerdir (Pizzi, 2006). Azot içeren asitler ve monoflavonoidlerin konsantrasyonu, ekstraktın kimyasal ve fiziksel özelliklerini etkilemektedir. Bazı karbonhidratlar ekstraktın viskozitesini düşürürken, hidrokolloid sakızlar viskoziteyi artırır. Bu özellikler tanenin kondenzasyon derecesine bağlı kalmadan değişim göstermektedir (Pizzi, 1983). Düşük polimerizasyon derecesine sahip tanenler polar solventlerle çözünürken, yüksek polimerizasyon derecesine sahip tanenler seyreltik alkali çözeltilerde çözünürler (Rowell vd. 2005). Renkli öz odunlarda bulunan ekstraktiflerin çoğu flavanoid ve türevleridir (Balaban, 2003). Şekil 1.7'de odunda bulunan bazı kondanse tanen bileşikleri gösterilmiştir.



Şekil 1.7 : Bazı kondanse tanen bileşikleri

Kondanse tanenler 3 ile 8 flavanoid birimi içermektedir. Bu yapı biflavanoidlerde de benzerdir (Fengel ve Wegener, 1989). Flavonoidler, yapılarına göre flavon, flavan, flavanon ve izoflavon olarak ayrılırlar. Açık piron halkası bulunanlar ise çalkonlar olarak adlandırılırlar. Flavon türevlerinin farklı birçok odun türünde bulunduğu bilinmektedir (Balaban, 2003). Şekil 1.8’de yapılarına göre flavanoid türevleri gösterilmiştir.



Şekil 1.8 : Flavanoid türevleri

Monoflavonoidler; kateşin, lökoantosiyanidin, flavonollar, flavanonlar, çalkonlar gibi en çok bilinen flavonoid birimlerinden oluşmaktadır. *Pinus pinaster*, *Pinus slyvestris*, *Pinus radiata* türlerinde kondanse tanenler baskın olarak floroglisinonol A ile kateşol B halkalarından meydana gelmektedir (Pizzi, 1983). Çalkonlar, tüm

flavonoidlerin yapıtaşlarını oluşturan doymamış ketonlardır. Flavonlardan halka açılması ile kolayca elde edilirler (Hafizoğlu, 1982; Umezawa, 2001).

Biflavonoidler (proantosiyandinler), kondenzasyon reaksiyonunun birinci basamağında oluşurlar. Ligninden sonra en geniş dağılıma sahip polifenollerdir. Ağaç kabuklarında bulunduğu gibi çeşitli bitkisel gıdalarda da bulunmaktadır. Bu yüzden farmakolojik çalışmalarda birçok farklı kullanımı mevcuttur (Pizzi, 1983). Biflavonoidlerin ekstrakt olarak elde edilmesi için sulu-organik çözücüler, aseton ve metanol gibi solventler kullanılabilir (Kahkonen vd. 2001).

Tri-tetraflavonoidlerin kondenzasyon reaksiyonunda rezorsinol ve floroglisinol birimleri arasında başlangıçta meydana gelen 4-8 bağından sonra rezorsinol birimleri arasında 4-6 bağları olduğu belirlenmiştir (Pizzi, 1983).

1.2.2 Endüstriyel tanen üretimi

Endüstriyel tanen üretiminde genelde gelişmiş teknikler yerine basit metotlar kullanılmaktadır. Otoklav adı verilen kapalı tank sistemiyle gerçekleştiren işlemlerde elde edilen çözelti ters akım sistemi ile diğer tanka aktarılmaktadır. Ekstraksiyon işleminde her tür için ekstraksiyon sıcaklığı, çözücü çeşidi ve çözücü oranı değişiklik göstermektedir.

Çam ve pekan tanenlerinde ekstraksiyon sıcaklığı tanenin yapısının bozulmaması ve endüstriyel fenolik materyal veriminin düşmemesi için 70°C'nin üstüne çıkmamalıdır. Sıcaklığın yükselmesi ekstrakt verimini arttırmasına rağmen tanenin yapısında bozunmalara neden olur (Pizzi ve Stephanou, 1994). Tanen ekstraksiyonunda sülfütlü su kullanılması verimi arttırıcı etki gösterir. Organik çözücü kullanarak da yüksek verim elde etmekte mümkündür ancak maliyetin yükselmesi ve ekstraksiyon yapılan fabrikaların basit teknolojilerle çalışıyor olması üretici tarafından kabul görmemesine neden olmuştur. Çam türleri kabukları tanence zengin olsa da ekstraksiyon veriminin düşük olmasının sebebi ise ekstraktlardaki tanen ve tanen türevi maddelerin otokondanse özelliğinin yüksek olması ve ekstraksiyon işlemini engellemesidir (Pizzi ve Stephanou, 1994). Dünyadaki ticari tanenler ve kökenleri Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1 : Dünyadaki ticari tanenler ve kökenleri (Gönültaş ve Balaban, 2012).

Bilimsel Adı	Ticari Adı	Kullanılan Kısım	Kökeni
Schinopsis balance	Kebraho Taneni	Odun	Arjantin
Acacica mearnsii	Mimoza Taneni	Kabuk	Güney Afrika ve Brezilya
Quercus sp.	---	Kabuk	Tanzanya
Acacia sp.	Akasya Taneni	Kabuk	Şili
Eucalyptus sp.	---	Kabuk	Brezilya
Salix caprea	Söğüt Taneni	Kabuk	Tanzanya
Acacia sp.	Akasya Taneni	Kabuk	Tanzanya
Acacia mangium	Mimoza Taneni	Kabuk	Malezya
Carya illinoensis	Pekan Cevizi Taneni	Meyve	Kuzey Amerika
Tsuga heterophylla	Hemlock Kabuk Ekstraktı	Kabuk	Kanada
Castanea sativa	Kestane Ekstaktı	Odun	İtalya
Schinopsis balansae	Kebraho Taneni	Odun	Güney Amerika
Schinopsis lorentzii			Arjantin
			Paraguay
			Peru
Caesalpinia spinosa	Tara Taneni	Tohum Zarfı	Güney ve Kuzey Amerika
Uncaria gambir	Gambir Ekstraktı	Dal ve Yaprak	Çin, Hindistan, Malezya, Endonezya
Terminalia chebula	Mirobalan Ekstraktı	Meyve	Hint Adaları
Rhizophara sp.	Mangrov Ekstraktı	Kabuk	Nijerya
Rhus sp.	Sumak Ekstraktı	Yaprak	Güney Avrupa
Pinus sp.	Çam Kabuk Ekstraktı	Kabuk	
Vitis vinifera	Üzüm Çekirdeği Taneni	Meyve	Fransa

Türkiye’de tanen üretimi yapılan fabrikalar genellikle deri tabaklama için meşe palamudundan üretilen valeks taneni üzerinde yoğunlaşmıştır. Salihli’de Artu Kimya Sanayi A.Ş. ve Balaban Palamut İşletmesi valeks üretimi yapmaktadır. Şili’de Ditecco Ltd. firması kebraho ve çam kabuklarından, Avustralya’da Bondtte Co. Ltd. akasya kabuklarından mimoza tanenini endüstriyel olarak üretilip pazarlamaktadır. Kuzey Amerika’da Kanada tsugası kabuğundan, Çek Cumhuriyeti’nde ve Almanya’da ladin kabuğundan tanen üretimi mevcuttur.

1.2.3 Tanenlerin kullanım alanları

Ham deriyi tabaklamak amacıyla yüzyıllardır kullanılan tanen, günümüzde pek çok alanda kullanılmaktadır. Tanen, sürdürülebilirlik ve çevre dostu uygulamaların başladığı bugünlerde önemli miktardaki kabuk atığından elde edilebilecek ve insanlığa yarar sağlayabilecek çok önemli bir polifenoldür. Tanen, biyobazlı tutkal yapımında, boya yapımında, derinin tabaklanması için sepi maddesi olarak, su arıtımında polielektrolit olarak kullanımında, odun koruyucu olarak ve hatta tıp eczacılık alanında bile kullanılmaktadır. Bu denli geniş kapsamlı kullanım alanı olan bileşiğin öneminin anlaşılması birçok alanda açığı kapatacak, yeni çözümler sunacak ve çevreye zararı olmadan atık madde olarak düşünen kabuğun geri dönüşümü sağlanmış olacaktır.

1.2.3.1 Tanenin biyobazlı tutkal üretiminde kullanımı

Ahşap levha üretiminde formaldehit bazlı tutkallar yerine biyobazlı çevreci tutkal kullanımı için uzun yıllardır çalışmalar yapılmaktadır. Fenol formaldehit tutkalı üretiminde kullanılan petrolden elde edilen sentetik fenol yerine ucuz maliyetli yenilenebilir kaynaklardan elde edilen polimerlerin tutkal üretiminde kullanılması önem kazanmıştır.

Tanen bazlı biyotutkal üretiminde viskozite, pH değeri, katı madde miktarı ve kullanılan formaldehit miktarı önemli kriterlerdir. Tanen tutkalları fenol formaldehit tutkallarına göre tanenin formaldehite karşı yüksek reaktivitesinden dolayı daha hızlı sertleşir. Ayrıca bu kısa sertleşme süresiyle orman ürünleri fabrikalarında üretim kapasitesi arttırılabilir ve kurutma giderleri minimuma indirilebilir. Tanen biyobazlı yenilenebilir atık durumunda olduğundan çevre kirliliğine de neden olmazlar (Ayla, 1978). Ayrıca tanen ekstraktlarının içindeki tanen olmayan bileşiklerin varlığı tutkalların rutubete karşı dayanıklılığını azaltmaktadır (Pizzi, 1983).

1.2.3.2 Tanenin boya üretiminde kullanımı

Tanen çoğunlukla karakteristik renklere sahip olup, tantalumla oluşturduğu renk sarı, niobyum ile oluşturduğu renk portakal kırmızısıdır. Tanen renkleri, negatif yüklü tanen partiküllerinin pozitif yüklü sulu oksit partiküllerini çekmesiyle oluşmaktadır (Walton, 1966).

Tanenler sülfüre dayanıklı boya yapımında da kullanılabilir. Hidrolize tanenler sülfür bileşiklerine daha dayanıklıdır. Gallik asit demir tuzlarıyla renkli metal kompleksleri oluşturduğundan mürekkep yapımında da kullanılabilir. Ayrıca haki renkli kumaş, halı dokuma gibi pamuk ipliği kullanılan eşyalarda demir tannatı bağlanıp daha sonra asidik bikromatla oksitlenerek renklendirme sağladığı bilinmektedir (Kedlaya, 1971).

Tanen bazlı boyalar ile renklendirilen kumaşlar antimikrobiyal etkiye ve UV ışınlarına daha dayanıklıdır. Bunların yanında flavanoid bazlı tanenlerin gıda boyası olarak kullanılması da mümkündür. Bu gıda boyalarının koroner kalp hastalıkları ve kanser riskini azalttığı ayrıca besin değerlerini yükselttiği bilinmektedir (Shahid vd. 2013).

1.2.3.3 Tanenin sepi maddesi olarak kullanımı

Bitkisel kaynaklı tabaklama yöntemlerinde kullanılan tanen çok eski zamanlardan beri kullanılmaktadır. Tanenler organik ve doğal tabaklama maddeleri oldukları için günümüzde de oldukça önemlidir. Bitkisel tanenler astringent özelliğindedir. Bu deri tabaklamada, tabaklama maddesinin deri maddesine hızla bağlanmasını ifade etmektedir. Genellikle kestane, meşe palamudu, mazı, sumak, mirobalam gibi hidrolize tanenler ile kebraho, mangrov, gambir, mimoza gibi kondanse tanenler sepi maddesi olarak kullanılmaktadır. Bitkisel deri tabaklama işlemi ilk kez Babiller tarafından yapıldığı öne sürülmektedir. Eskiden çukur ve kuyuların içine atılan deriler, konsantrasyonu yavaş yavaş arttırılan tanenli su ekstraktıyla muamele edilirdi. Deriler bu eski yöntemle 3 ile 5 ay arasında çukur ve kuyularda tutulup tabaklanırdı. Günümüzde %20-40 tanen içeren ekstrakt ile deriler dolap sisteminde çevrilerek 2 sa. içinde tabaklanmaktadır. (Dikmelik, 2013).

Tabaklama maddesi, derinin temelini oluşturan kolajenin reaktif grupları arasına girerek çapraz bağlar meydana getirme kabiliyetinde ve suda eriyebilir özellikte olmalıdır. Tanenin deriye difüzyonu sağlandıktan sonra fiksasyon işlemi başlar. Bu işlem sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu, asit miktarı, tanen konsantrasyonu, partikül büyüklüğü ve viskozite gibi etmenlere göre değişiklik göstermektedir (Dikmelik, 2013).

1.2.3.4 Tanenlerin odun koruma alanında kullanımı

Doğal odun koruyucular arasındaki en önemlilerinden biri olan tanenler, odunun dayanıklılığını olumlu yönde etkilemektedir. İlk kez *Rhagium inquisitor* üzerinde etkisi araştırılmıştır. Tanenin bu konuda kullanılmasına neden olan ise derinin bitkisel emprenye maddeleri ile insektisitlerden korunmasıdır. Bu konuda uzun yıllardır araştırmalar yapılmış tanen ekstraktifleriyle emprenye edilmiş odunlarda larva gelişimlerinin önleniği saptanmıştır. Ayrıca tanen kullanılarak termitlerin zararına karşıda daha dayanıklı ahşap malzemeler elde edilmiştir. Bunun sebebinin tanenin buruk tadının olması ve onun böceklere karşı itici ve zehirli etki göstermesi söylenebilir (Şen vd. 2002).

1.2.3.5 Tanenlerin biyolojik aktivitesi

Çeşitli kabuk fenolik ekstraktları antifungal özellikleriyle, şarap üretiminde fermantasyon sırasında laktik asit üreterek çözeltilinin bozulmasına neden olabilecek bakterilerin gelişimini önlemektedir. Ayrıca bazı kabuk ekstraktlarının da şarabın berraklaşmasında önemli rolü vardır (Umezawa, 2001).

Pinus pinaster ve *Pinus radiata* kabuk ekstraktlarının yapısında barındırdıkları kateşinin anti radikal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (Jerez vd. 2004). *Taxus spp.* (porsuk) türü kabuklarından elde edilen taksol, kanser tedavilerinde kemateropik ajan olarak kullanılmaktadır (Umezawa, 2001). Proantosiyandinler, tıbbi olarak kullanılan bitkilerin çoğunda etken maddedir. Sarıçam ekstraktiflerinin proinflamatuvar üretimini önlediği belirlenmiştir (Karonen vd. 2004).

Hypericum perforatum bitkisinde bulunan kateşin, antioksidan, antimikrobiyal etkilere sahiptir (Başer, 2002). Tanenlerin DNA hasarlarına karşı koruyucu bir etkiye sahip oldukları da bildirilmiştir (Banerjee vd. 2005).

Yeşil çayın tanen oranı oldukça yüksektir. Bu bitkinin çayının bol miktarda tüketilmesi mide kanserine neden olan tümörlerin oluşumunu engellediği yönünde bulgular belirlenmiştir (Kono vd. 1988).

Bunun yanı sıra ellag tanenleri, kan pıhtılaştırıcı ve kan basıncı düşürücü olarak da kullanılmaktadır. Tanenler; yılan, böcek sokmalarında panzehir olarak kullanıldığı gibi insülin salgılanmasını düzenleyici, bağışıklık sistemini düzenleyici gibi faydaları mevcuttur (Kuppusamy ve Das, 1993).

Sögütün kurutulmuş dal ve kabuklarından elde edilen tanen yatıştırıcı, kuvvet verici, ateş düşürücü, peklilik yapıcı ve antiromatizmal etkilere sahiptir (Baytop, 1984). Albuminin tanenlerle çöktürülmesiyle elde edilen tannalbin, bağırsak antiseptiği ve peklilik yapıcı etkilere sahiptir. Formol ve tanenin birleştirilmesiyle oluşan tannoform, alkol ya da alkali çözeltilerde eritilerek anstiseptik ve yara kurutucu olarak kullanılır (Aydın ve Üstün, 2007).

1.2.3.6 Tanenin diğer kullanım alanları

Metal yüzeylerin korozyona karşı korunmasında kullanılan boyalarda kurşun oksit gibi toksik maddeler bulunmaktadır. Bu maddeler çevreye zararlıdır. Yerine ikame olarak tanen bazlı korozyon inhibitörler kullanılabilir. Çünkü tanenler biyodegrade olabilen nontoksik organik bileşiklerdir. Tanen bazlı korozyon inhibitörleri, kırmızı kurşuna alternatif olarak kullanılabilmektedir (Favre ve Landolt, 1993).

Tanenlerin su arıtmada polielektrolit olarak kullanılması hakkında çalışmalar yapılmıştır. Ancak bu çalışmalar tanenlerin aktivitelerine, hangi bitkiden alındığına, o bitkinin kimyasal bileşenlerine ve modifiye edilebilirliğine göre değişmektedir (Özacar ve Şengil, 1998).

Tanenler, değerli ekstraktları flotasyon yöntemiyle çöktürebilmektedir. Bu konuda kebraho tanenleri kullanılmış olup, düşük tenörlü demir, kurşun ve tungsten maddeleri elde edilmiştir (Kedlaya, 1971).

1.3 Ekstraksiyon Yöntemleri

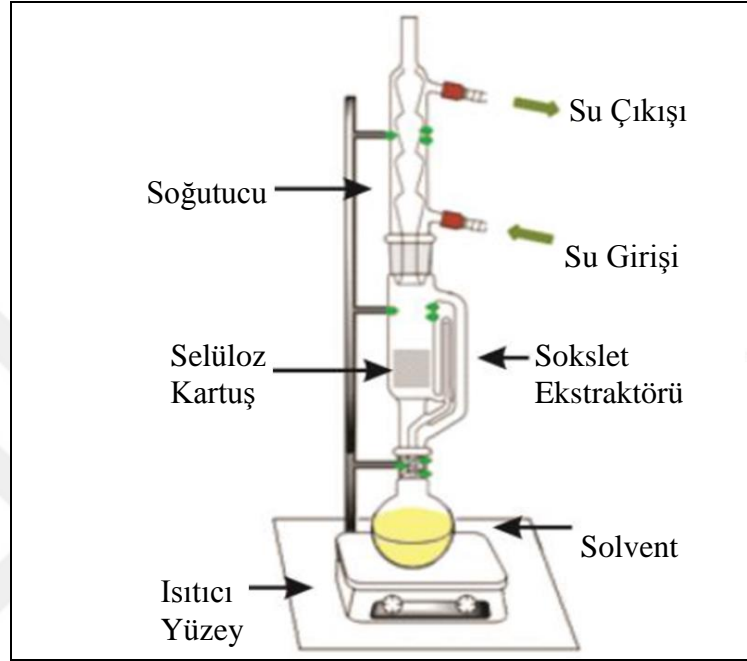
1.3.1 Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu

Su, yüksek sıcaklıklara ısıtılırken, yüzey gerilimi, viskozitesi ve polaritesi giderek azalır. Isıtılan su bu nedenle suda az çözünür olan organik maddeleri bile belirli bir matrinden çıkararak ekstrakte olmalarını sağlar. Ancak ekstraksiyon işleminde sıcak suyun kullanılmasıyla ısıl olarak kararsız ve hidrolitik etkiye hassas olan bileşikleri parçalayabilir. Bu yüzden ekstraksiyon işleminde farklı ekstraksiyon sıcaklıkları denenerek optimum sıcaklık parametresinin belirlenmesi gereklidir (Bogialli, 2008).

Klasik sulu çözelti ekstraksiyonda en önemli dezavantaj ekstraksiyon için oldukça uzun süre gerekmesidir. Bu durum sonucu olarak enerji tüketimi yüksektir. Ayrıca klasik ekstraksiyon yöntemlerinde solvent tüketimi fazladır.

1.3.2 Sokslet ekstraksiyonu

Sokslet ekstraksiyonu kapalı sistemli, basit ve en eski ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Sokslet ekstraksiyonu ısıtma sistemi, soğutucu sistemi, sokslet ekstraktöründen oluşmaktadır. Şekil 1.9'da sokslet düzeneğinin bölümleri gösterilmektedir (Chen vd. 2004).



Şekil 1.9 : Sokslet düzeneği (Guntero vd. 2017)

Sokslet, katı-sıvı ekstraksiyonu için uygundur. Isıyla birlikte buharlaşan solvent damlaya damlaya katı maddeyi ıslatır. Belirli bir sıvı seviyesine geldiğinde sifonlama devreye girmektedir. Katı maddenin içinden süzülen solvent ekstraktiflerle tekrar cam balona geri dönmektedir. Ekstraksiyon bu şekilde sirkülasyon içindedir.

Ekstraktif maddeler solvent balonundayken sadece solvent buharlaştığı için her seferinde temiz olarak damlamaya devam etmektedir. Sokslet ekstraksiyonunda, ekstraksiyon süresi genellikle 3-24 sa. arasında değişmektedir. Sokslet ekstraksiyonunda karşılaştırma yapabilmek için sifonlama sayısı ve ekstraksiyon süresi dikkate alınmalıdır (Kellner ve Otto, 2004). Sokslet diğer ekstraksiyon yöntemleriyle karşılaştırıldığında daha yavaştır. Dorta vd. (2013)'nin yaptığı bir çalışmada mikrodalga destekli ekstraksiyon ve sokslet ekstraksiyonu karşılaştırıldığında aynı verimi elde etmek için sokslette 2 sa. gerekirken mikrodalga destekli ekstraksiyon için sadece 30 dk. yeterli olmuştur. Ayrıca sokslet ekstraksiyonunda diğer yöntemlere göre daha çok solvent kullanılmaktadır.

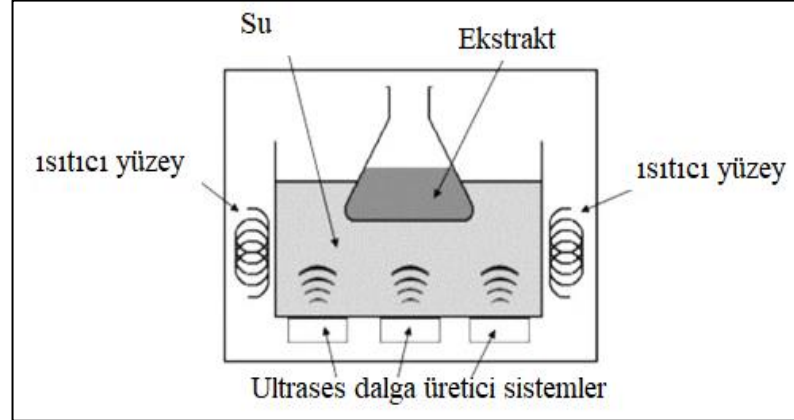
Sokset ekstraksiyonundan her ne kadar yüksek verim değerleri elde edilebilse de çevreye zararı olabilecek yüksek miktarda solvent kullanılıyor olması, tehlikeli organik çözücülerin kullanılma ihtiyacı, uzun ekstraksiyon süresi, ışık, hava ve yüksek sıcaklığa bağlı olarak örnekte meydana gelen degradasyon önemli dezavantajlardır (Khoddami vd. 2013).

1.3.3 Ultrases destekli ekstraksiyon

Ultrases, insanın işitmesinin ötesinde özel bir ses dalgası türüdür. Kimya da bu terim 20 KHz ile 100 MHz frekans aralığını kastedilmektedir. Tıpkı diğer dalgalar gibi ultraste sıkışma ve genişleme oluşturarak ortamdan geçer ve kavitasyon oluşturur. Kavitasyon ultrases sistemindeki kabarcıkların üretimi, büyümesi ve çökmesi anlamına gelir. Enerjinin büyük bir miktarı, kabarcıkların ısınarak kinetik enerjiye dönüşmesiyle üretilmektedir. Bu kabarcıklar 5000 K sıcaklık, 1000 atm. basınç ve ısıtma, soğutma hızı 1010 K/s'nin üzerindedir. Ultrases destekli ekstraksiyonda numunenin nem içeriği, öğütölme derecesi, parçacık büyüklüğü ve solvent çeşidi, etkin bir ekstraksiyon için en önemli faktörlerdir. Ultrases destekli ekstraksiyonda, ekstraksiyon süresinin azalması, az enerji ve çözücüyle daha fazla verim alınması önemli avantajdır. Ayrıca solventin maddeye karışımı ve enerji iletimi daha hızlıdır (Azmir vd. 2013). 20 KHz'den daha yüksek frekanslara sahip olan ultrases dalgası, sıvı solventler kullanarak katı materyallerden organik ve anorganik bileşiklerin ekstraksiyonunu kolaylaştırır. Sonikasyon, örnek yakınında kavitasyon kabarcıkları sağlayan ses dalgalarının üretilmesi işlemidir. Bu işlemle örneğin hücre duvarları bozulur ve hücrenin içeriği serbest kalır. Ultrases destekli ekstraksiyon endüstriyel amaçlar için uygundur (Khoddami vd. 2013).

Ultrases yardımıyla yapılan ekstraksiyon, bitkinin içerisindeki biyoaktif maddelerin çıkarılmasında diğer yöntemlere göre daha başarılıdır. Fenolik bileşiklerin ultrases destekli ekstraksiyon işlemiyle izole edilmesinde başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Tüm bunların yanı sıra bazı bileşikler ultrases destekli ekstraksiyondan etkilenip yapısında bozunmalar meydana gelebilir. Yüksek ekstraksiyon verimi elde edebilmek için parametrelerinin optimize edilmesi gerekmektedir. Bunun için Tepki Yüzey Metodjisi (RSM), olası etkileşimler araştırmak ve süreçlerdeki değişkenleri optimize etmek için uygulanan matematiksel ve istatistiksel bir tekniktir. Bu teknik ekstraksiyon için en uygun koşulları araştırmak ve deney süresinin uzayıp

kısalmasını belirlemek için etkili olmuştur (Kuo vd. 2014). Şekil 1.10'da ultrases destekli ekstraksiyon sistemi gösterilmiştir.



Şekil 1.10 : Ultrases destekli ekstraksiyon sistemi (Samaram vd. 2013)

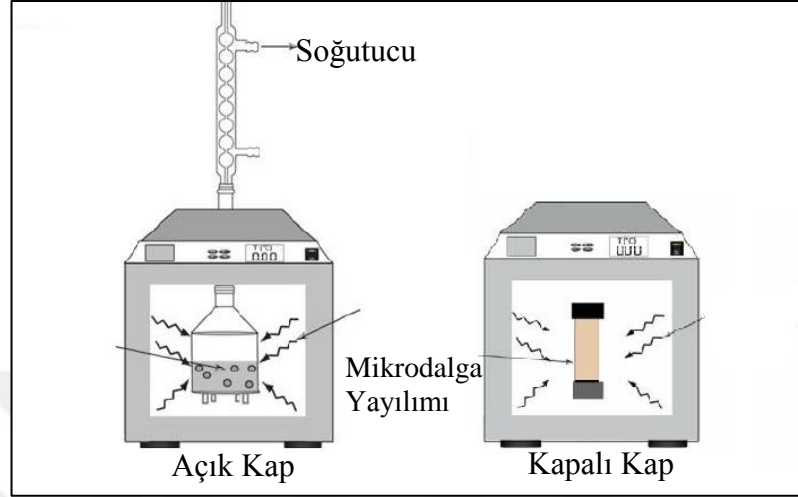
1.3.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Mikrodalgalar, 300 MHz ile 300 GHz frekans aralığında elektromanyetik alanlardır. Bu alanlarda elektrik alanı ile manyetik alan dik ve iki salınımlıdır. Mikrodalga sistemleri, polar maddeleri doğrudan ısıtma etkisine dayanır. Elektromanyetik enerji, ortamdaki iyon akışıyla basınç oluşturarak ısıyı oluşturmaktadır. İyonlar sık sık değişik yörüngelere kayarak moleküller arasında çarpışmalar meydana getirmektedir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon, bozunmanın az olduğu organik ve organometalik bileşikler elde etmek için seçici bir tekniktir. Ayrıca yeşil ekstraksiyon tekniği olarak bilinmektedir. Çünkü organik solvent ve enerji kullanımı bu yöntemde oldukça azdır (Azmir vd. 2013).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi, geleneksel ekstraksiyon yönteminden daha gelişmiş seviyededir. Çünkü matrisi termal degrade olmadan dahili ve harici olarak ısıtılır. Bu yüzden fonksiyonel bileşikler verimli ve korunabilir halde ekstrakte edilebilir. Mikrodalga ekstraksiyonunun çalışma prensibi, hücrelerin içindeki nemin mikrodalga etkisiyle ısıtılarak buharlaştırıp hücre duvarı üzerinde baskı oluşturması üzerinedir. Bu duvar baskı sonucu parçalanarak çözücüyle karışmaktadır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile ekstraksiyon süresi oldukça kısa olmasına rağmen verim yüksektir. Bu yöntem tohumlardaki polifenollerin %90'ından fazlasını birkaç dakika içinde çıkarabilir (Li vd. 2011).

Mikrodalga ekstraksiyonu kapalı ve açık sistem olarak ikiye ayrılır. Kapalı sistemlerde çözücü atmosfer basıncında kaynama noktasının üzerine kadar ısıtılır.

Böylece ekstraksiyon hızı ve verimliliği artar. Bu tür sistemlerde sıcaklık kontrolüne izin verilmektedir. Açık kap sistemlerinde ise atmosfer basıncında ekstraksiyon yapılmaktadır ve ekstraksiyon sıcaklığına dışarıdan müdahale edilememektedir (Camel, 2000). Şekil 1.11’de açık ve kapalı sistemler gösterilmiştir.



Şekil 1.11 : Açık ve kapalı kap sistemi (Li vd. 2013)

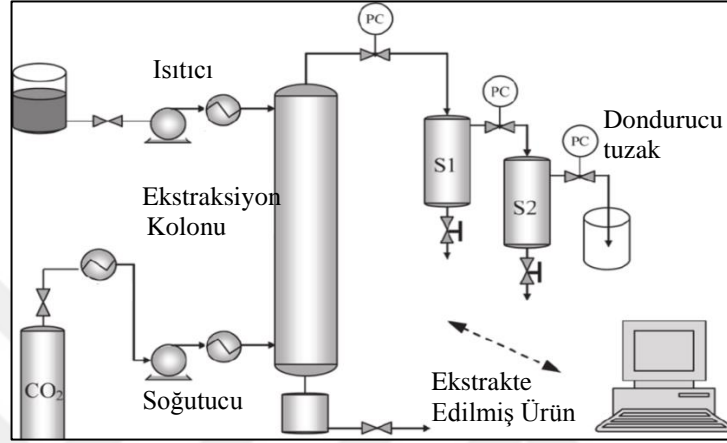
Mikrodalga destekli ekstraksiyonlarda solvent seçerken kaynama noktaları, mikrodalga dağılımı ve dielektrik özellikleri dikkate alınmalıdır. Asetonitril, su, etanol, aseton, metanol ve 2-prapanol bu yöntemde en çok kullanılan solventlerdir. Polifenoller, hidroksi gruplarından dolayı mikrodalga enerjisini emebilen dipollerdir. Bu nedenle mikrodalga destekli ekstraksiyon polifenollerin ekstrakte edilmesinde kullanılmaktadır (Khoddami vd. 2011).

1.3.5 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu modern ekstraksiyon tekniklerinden olsa da keşfi 1879’a dayanmaktadır. Geçmişten günümüze birçok sanayi bu tekniği kullanmakta ve özellikle de kafeinsiz kahve hazırlama endüstrilerinde tercih edilmektedir. Süperkritik durumda, gazın ve sıvının spesifik özellikleri ortadan kalkmaktadır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunu etkileyen faktörler; verim, sıcaklık, basınç, partikül boyutu, nem içeriği, karbondioksit akış hızı ve solvent besleme oranıdır (Azmir vd. 2013).

Yöntemde akışkanın sıcaklığı ve basıncı kritik noktaların üzerine çıktığında ekstraksiyon başlamaktadır. En çok kullanılan solventleri, metan, karbon dioksit, etan, propan, amonyak, etanol, benzen ve sudur. Karbondioksit, süperkritik akışkan ekstraksiyonunda kullanılan en yaygın solventtir. Çünkü kimyasal olarak kararlıdır,

nispeten düşük toksisiteye sahiptir ve yanıcı değildir. Fakat karbondioksit polar fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için uygun değildir. Bu uygunsuzluğu azaltabilmek için ekstraksiyona etanol, metanol, etil asetat, aseton gibi polar solventler eklenmektedir. Birçok fenolik bileşik için 50-600 atmosfer basınç, 20-35°C sıcaklık ve 5 ile 180 dk. sürede en yüksek verim elde edilmektedir (Khoddami vd. 2013). Şekil 1.12' de süperkritik ekstraksiyon sistemi gösterilmiştir.



Şekil 1.12 : Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi (Torres vd. 2009)

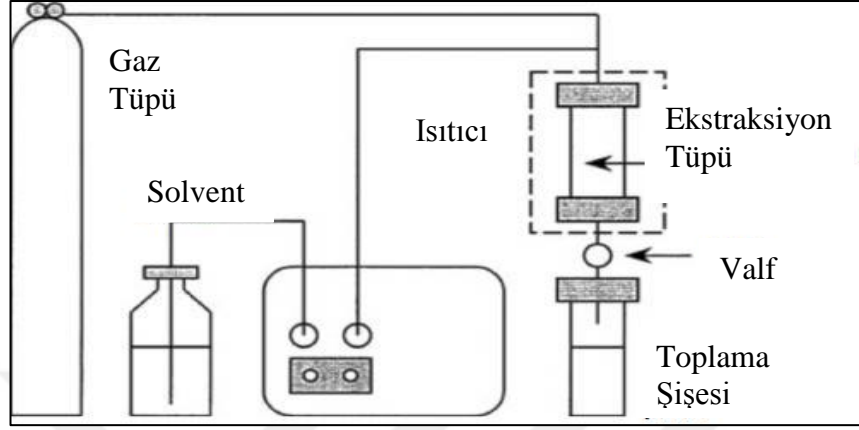
Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, geleneksel organik solvent ekstraksiyonlarına alternatif olabilecek çevre dostu bir ekstraksiyon tekniğidir. Bu yöntem ile çevreye zararlı solvent gereksinimi azaltılabilir, ekstraksiyon zamanı düşerken ekstrakt süperkritik akışkanlardan ayrıştırılabilir. Ayrıca ekstrakt bileşiklerinin bozulması ve safsızlıkların ekstraktlara karışması engellenmektedir. Bu ekstraksiyon yönteminin avantajları çoktur fakat oldukça yüksek yatırım maliyeti gerektiren pahalı bir yöntemdir (Khoddami vd. 2013).

1.3.6 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu

Basınçlı sıvı ekstraksiyonu aynı zamanda hızlandırılmış sıvı ekstraksiyonu, geliştirilmiş solvent ekstraksiyonu ve yüksek basınçlı solvent ekstraksiyonu olarak da bilinmektedir. Bu ekstraksiyon yönteminde, solventin kaynama noktasının ötesinde sıvı kalabilmesi için yüksek bir basınç uygulanmaktadır. Yüksek basınç, ekstraksiyonu kolaylaştırmaktadır. Böylece basınç sayesinde çözünürlük arttığı gibi az miktarda solvent kullanılmaktadır (Azmir vd. 2013).

Çözücülerin viskozitesi ve yüzey gerilimi basınçlı sıvı ekstraksiyonunda azalmakta ve buna bağlı olarak da ekstraksiyon hızı artmaktadır. Diğer gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri gibi basınçlı sıvı ekstraksiyonu da çevre dostudur. Ekstraksiyon, farklı

bitki materyallerinin biyoaktif bileşiklerinin çıkarılması için oldukça başarılı bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda kateşin, epikateşin, kafeik asit, klorojenik asit, miksetin bileşiklerinin ekstraksiyonunda oldukça etkili olduğu görülmüştür (Azmir vd. 2013). Şekil 1.13'te basınçlı sıvı ekstraksiyon sistemi gösterilmektedir.



Şekil 1.13 : Basınçlı sıvı ekstraksiyon sistemi (Poole vd. 2016)

1.3.7 Diğer ekstraksiyon yöntemleri

Soksetek modife edilmiş bir sokslet ekstraksiyon metodudur. Soksete göre organik solventi daha az tüketilir ve ekstraksiyon süresi daha kısadır. Ayrıca solventin geri dönüşümü de mümkündür (Khoddami vd. 2013).

İki güçlü radyasyon tekniğinin birleştirilmesi (ultrases ve mikrodalga), biyoaktif bileşiklerin çıkarılması için yeni ve etkin bir ekstraksiyon türüdür. Mikrodalga destekli ekstraksiyonla ultrases destekli ekstraksiyonun önemli avantajlarının birleşmesiyle oluşturulan ultrases mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi ekstraksiyon süresini azaltıp çok yüksek verimle sonuçlanabilecek güçlü bir tekniktir (Khoddami vd. 2013).

Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu, bitkilerden fenoliklerin çıkarılması için ortak organik çözücüler kullanan otomatik bir tekniktir. Azot muamelesi altında yüksek sıcaklık ve basınç prensibiyle çalışmaktadır. Çözücü bitkinin fenolik bileşiklerine hızla nüfuz etmektedir. Geleneksel yöntemlerle karşılaştırıldığında çözücü miktarı ve ekstraksiyon zamanı oldukça düşüktür (Khoddami vd. 2013).

Sıralı alkali ekstraksiyonu, bitkiden serbest ve bağlı fenolik bileşikleri çıkarmak için kullanılmaktadır. Serbest fenolikler su, saf organik veya sulu organik çözücü kullanılarak azot atmosferi altında su banyosunda 20 dk. boyunca ekstrakte edilmektedir. Atık katı madde daha sonra hidrolize edilmektedir. Ekstrakt pda

sıcaklığı altında karanlık ortamda azot muamelesiyle 1 sa. boyunca NaOH ile yıkanmaktadır. Alkali ekstraktın pH'ı 2'ye ulaşması için HCl ilave edilerek santrifüj işlemi yapılmaktadır (Khoddami vd. 2013).

Bitki örneklerinin enzimatik işlemi, fenolik maddelerin elde edilmesi için uygun başka bir yöntemdir. Enzim ilavesiyle fenolik hücre duvar bağları parçalanıp fenolik ekstraksiyonu sağlanmaktadır (Khoddami vd. 2013).

1.4 Sahil Çamının Özellikleri

Sahil çamı Batı Akdeniz ülkelerinin ağacıdır. Fransa ve Portekiz'in Atlantik sahillerinden başlayıp Yunanistan'a kadar uzanır (Anşin ve Özkan, 1993). Sahil çamı Türkiye'ye ilk getirilen yabancı türlerden biridir. Hızlı büyümesi ve kuraklığa dayanıklı olması sebebiyle kültürü yapılmaktadır. Sahil çamının en belirgin özelliği besin maddesince fakir topraklarda yetişebilmesidir. Ülkemizde doğal olarak yetişmeyen sahil çamı özellikle kumul bölgelerde ağaçlandırma çalışmalarında 100 yılı aşkın süredir kullanılan bir türdür (Saatçioğlu, 1969). Çok hızlı gelişmesi ve kuraklığa oldukça dayanıklı olması sebebiyle birçok ülkede geniş plantasyonları bulunmaktadır. Ülkemizde hızlı gelişen ağaç türlerinden endüstriyel plantasyon kurma fikirleri, 1950 yıllarında başlamıştır. Öncelikle sahil çamı ve radiata çamı olmak üzere hızlı gelişen iğne yapraklı ağaç türleri ithal edilmiş ve deneme alanları kurulmuştur (Tunçtaner, 2007). Ülkemizde toplam sahil çamı ağaçlandırmaları O.G.M. 2006 verilerine göre 77.091 hektardır. Özellikle son yıllarda endüstriyel ağaçlandırma çalışmalarında en çok tercih edilen sahil çamının odunu reçine bakımından oldukça zengindir. Bu özellikleri ile reçine üretiminde kullanılması mümkündür. Kabuk örneklerimizin alındığı Yalova Armutlu bölgesinde 10.000 adet sahil çamı üzerinde asit-pasta yöntemiyle reçine üretim çalışması yapılmıştır. Ağaç başına yaklaşık 1200 g verim elde edilmiştir (Deniz, 2013).

Bunların yanında sahil çamı kabuğunun yüksek oranda tanen içerdiği birçok araştırmacı tarafından bildirilmektedir (Vazquez vd. 2001; Chupin vd. 2015).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Sahil çamı ile ilgili yapılan bir çalışmada alınan kabukların kül içeriği %1,20 ve pH değeri 4,5 bulunmuştur. Toplam ekstrakt oranı %11,40; glikoz %51,80; mannoz %13,40; ksiloz %26,10; galaktoz %4,10 ve arabinoz %4,60 oranında hesaplanmıştır. Lignin ve hidrolize edilemeyen fenolik asitlerin içeriği ise %43,70 ve polisakkaritler %41,70'dir (Nunes vd. 1996).

Jerez vd. (2004)'nin yaptığı çalışmada sahil çamı kabuğunun polifenoliklerce zengin olduğu ve insan sağlığına zararı olmadığı, kozmetik ve ilaç endüstrisinde kullanılabileceği belirtilmiştir. Ayrıca ekonomik değerinin uygunluğu ve yüksek verim için en iyi ekstraksiyon yönteminin bulunması gerektiğine değinmiştir.

Sahil çamı kabuğunda yapılan çalışmada kabuktaki çözünme oranının oduna göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Holoselüloz miktarı %41,15, α -selüloz miktarı %23,56; %1 NaOH çözünürlüğü %33,12'dir (Durmaz vd. 2016).

Sahil çamı ekstraktı, çeşitli flavanoid türleri içeren polifenol bileşikler bakımından oldukça zengin bir ağaç türüdür. Sahil çamıyla yapılan bir çalışmada sıcaklık, ekstraksiyon süresi, kabuk - çözücü oranı incelenmiş, 5-50°C'de yüksek fenolik değerleri elde edilmiştir. HPLC analizinde fraksiyon olarak kateşin, epikateşin, dihidrokateşin, epikateşine rastlanmıştır (Jerez vd. 2004).

Özellikle çam ve meşe kabuğu tanen bileşimi açısından oldukça zengindir. Chupin vd. (2013)'nin yaptığı çalışmada son dönemin çevre dostu ekstraksiyon yöntemlerinden olan mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon ile sahil çamı tanen analizleri yapılmış toplam fenol, kondanse tanen ve stiasny sayısının %1 NaOH ve %5'lik NaOH çözeltilerin tanen veriminin daha iyi olduğunu bulmuşlardır.

Son yıllarda bitkilerden biyoaktif fenolik bileşiklerin izole edilmesinde yeni ekstraksiyon tekniklerinin uygulandığı çalışmaların hızla arttığı görülmektedir. Khoddami vd. (2013), kabuk, yaprak ve tohumlar ile çalışarak düşük ekstraksiyon süresi, toksik kirletici, organik solvent tüketimi ve kolay uygulama gibi avantajları

olan ultrases destekli ekstraksiyon (UAE), mikrodalga destekli ekstraksiyon (MAE), ultrases-mikrodalga destekli ekstraksiyon (UMAE), süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE), kritik altı su ekstraksiyonu (SCWE) ve yüksek hidrostatik basınç tekniği gibi alternatif ekstraksiyon tekniklerinin bitki fenoliklerinin ekstraksiyonunda kullanıldığını bildirmektedir.

Aspe ve Fernandez (2011) tarafından *Pinus radiata* kabuk fenolik ekstraktiflerinin klasik sıcak su ekstraksiyonu, sokslet ekstraksiyonu, ultrases destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak tek ve birden fazla ekstraksiyon aşamasıyla bu yöntemlerin ekstraksiyon verimi ve elde edilen kabuk ekstraktiflerinin toplam fenol miktarı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre tek aşamalı ekstraksiyonlarda elde edilen en yüksek tanen içeriği sırasıyla; sokslet, mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon, klasik ekstraksiyon şeklindedir. Birden fazla ekstraksiyon aşaması uygulandığında sadece ultrases destekli ve mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemlerinde daha başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon sisteminin monteri çamı kabuk fenolikleri için en basit ve hızlı metot olduğu ortaya konulmuştur.

Tıbbi bir bitki olan *Polygonum cuspidatum* bitkisinin kök kısımlarında bulunan fenolik bileşiklerin incelendiği çalışmada ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi ekstraksiyon sıcaklığı, etanol konsantrasyonu ve ultrases gücü gibi değişkenlerin piceid, resveratrol ve emodin gibi bileşiklerin ekstraksiyon verimi üzerine etkisi incelenmiş ve ekstraksiyon aşaması optimize edilmiştir. Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlara göre her üç bileşik içinde 120 W ultrases güç seviyesinde en iyi sonuçların elde edildiği; piceid için etanol konsantrasyonunun düşmesi ve ekstraksiyon sıcaklığının 70°C'ye çıkmasıyla ekstraksiyonu veriminin arttığı; resveratrol bileşiği için %60 etanol konsantrasyonunun altında ekstraksiyon sıcaklığından etkilenmeksizin verimin düştüğünü en yüksek verimin %60 etanol konsantrasyonu ve 70°C'de elde edildiği; fenolik emodin bileşiği için %70 etanol konsantrasyonu ve 70°C'de maksimum değere ulaşıldığı bildirilmektedir (Kuo vd. 2014).

Dorta vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi kullanılarak mango tohum fenoliklerinin ekstraksiyon aşaması optimize edilmeye çalışılmıştır. Söz konusu çalışmada aseton:su oranı, solvent katı madde oranı, ekstraksiyon aşaması sayısı, ekstraksiyon süresi ve pH gibi faktörlerin etkisi

incelenmiştir. Çalışma sonucunda en yüksek fenolik bileşik içeriği (tanenler ve proantosiyanidinler) üç aşamalı ekstraksiyon, 50:50 aseton:su karışımı, 1:30 katı madde:solvent oranı, 10 dk. ekstraksiyon süresi ve pH 8,0'da elde edilmiştir.

Sakız ağacı (*Pistacia lentiscus*) yaprakları toplam fenolik bileşiği veriminin klasik ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak bu yöntemlerin ekstraktın toplam fenolik madde miktarı üzerindeki etkisi incelenmiştir. Değişik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlarda fenolik bileşik miktarı toplam fenol yöntemine göre belirlenmiş ve gallik asit eşdeğeri olarak verilmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre en yüksek toplam fenolik madde içeriği mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde %46 etanol içeriği, 60 dk. ekstraksiyon süresi, 28:1 sıvı:katı oranında 185,69 mg GAE olarak belirlenmiştir (Dahmoune vd. 2014).

Brahim vd. (2014) tarafından üzüm posası polifenollerini incelendiği çalışmada klasik sulu çözelti ekstraksiyon ve mikrodalga reaktör ekstraksiyonu yöntemleri kullanılarak optimize edilmiştir. Her iki ekstraksiyon tekniği için 60-120°C reaksiyon sıcaklığı, 5-20 dk. reaksiyon süresi, %0-2,5 Na₂CO₃ konsantrasyonu ekstraksiyon değişkenleri olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre optimum ekstraksiyon şartları mikrodalga reaktör ekstraksiyonunda 100°C ekstraksiyon sıcaklığı 8 dk. ekstraksiyon süresi ve %2,5 Na₂CO₃ konsantrasyonunda elde edilmiştir.

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon ve klasik solvent ekstraksiyon yöntemlerinin *Myrtus communis* yaprakları polifenollerinin ekstraksiyonunda karşılaştırılmalı olarak kullanıldığı bir diğer çalışmada ekstraksiyon aşaması optimize edilmeye çalışılmıştır. Söz konusu ekstraksiyon yöntemleri için etanol konsantrasyonu, mikrodalga gücü, ekstraksiyon süresi ve çözücü katı oranı değişkenler olarak incelenmiştir. Optimum ekstraksiyon şartları mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde %42 etanol konsantrasyonu, 500 W mikrodalga gücü, 62 saniye ekstraksiyon süresinde 32 ml/g solvent katı madde oranında elde edilmiştir (Dahmoune vd. 2015).

Üzüm çekirdekleri polifenollerin mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemi kullanılarak ekstraksiyonu ve ekstraksiyon şartlarının optimize edildiği bir diğer çalışmada alkol konsantrasyonu, çözücü katı madde oranı, ekstraksiyon süresi ve

sıcaklığı, mikrodalga gücü gibi değişkenlerin ekstraktın polifenol içeriği üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elde edilen ekstraktların polifenol bileşiminin toplam fenol yöntemine göre incelendiği çalışmada, %70 etanol konsantrasyonu, 40:1 sıvı katı oranı ve 2 dk. ekstraksiyon süresi, 60°C sıcaklık ve 125 W mikrodalga gücünde elde edilmiştir (Li vd. 2011).

Picea abies kabuk polifenollerinin ekstraksiyonunda ultrases destekli ekstraksiyon yöntemi kullanıldığı bir diğer çalışmada ekstraksiyon süresi, sıcaklık ve etanol konsantrasyonu gibi değişkenlerin ekstrakt verimi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Değişik yöntemlerle elde edilen ekstraktların fenolik bileşik içeriği toplam fenol yöntemine göre folin-ciocalteu reaktifi kullanılarak belirlenmiştir. Ekstrakttaki en yüksek polifenol içeriği 60 dk. ekstraksiyon süresi, 54°C ekstraksiyon sıcaklığı ve %70 etanol konsantrasyonunda elde edilmiştir (Ghitescu vd. 2015).

Ghasemzadeh vd. (2014) tarafından yapılan çalışmada köri (*Murraya koenigii L.*) yaprak flavonoidlerinin incelendiği çalışmada, ultrases destekli ekstraksiyon yönteminin ekstraktın flavonoid bileşimi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Ekstraksiyon aşaması ultrases gücü, sıcaklık ve metanol konsantrasyonu değişken olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda ekstrakttaki kateşin, mirisetin ve kuersetin için en yüksek verim 145,49 W ultrases gücü, 55,9°C ekstraksiyon sıcaklığı ve %80 metanol konsantrasyonunda elde edilmiştir (Ghasemzadeh vd. 2014).

Ultrases ekstraksiyonu ile klasik ekstraksiyonun karşılaştırıldığı bir tez çalışmasında *Quercus macrolepis* türündeki meşe ağaçlarının palamutlarından valeks adı verilen tanen üretilmiştir. Klasik ekstraksiyonda verim 90°C 8 saatte en yüksek %53,6 bulunurken, ultrases ekstraksiyon yönteminde 100 W güç ile 8 saatte ekstraksiyon ile %62,8 verim elde edilmiştir (Kılıçarıslan, 2011).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal Temini ve Örnek Hazırlama

Çalışmada kullanılan sahil çamı kabuk örnekleri Yalova Orman İşletme Müdürlüğündeki Armutlu bölgesi endüstriyel sahil çamı plantasyonundan temin edilmiştir. Kabuk örnekleri içerisindeki ahşap parçaları ve diğer safsızlıklar temizlenerek oda sıcaklığında birkaç hafta laboratuvarında bekletilip %10-15 rutubete kadar kurumaları sağlanmıştır. Kuruyan kabuk örnekleri öğütmeye uygun ebatlarda parçalanmıştır. Örnekler, Fritsch 19 laboratuvar tipi değirmende öğütülüp nem almayacak şekilde cam kavanozlarda ekstraksiyona hazır halde bekletilmiştir. Şekil 3.1’de bu çalışmada kullanılan kabuk ve öğütülmüş kabuk örneği gösterilmiştir.



Şekil 3.1 : Sahil çamı kabuğu ve öğütülmüş kabuk örneği

3.2 Sahil Çamı Kabuğunda Temel Analizler

3.2.1 Kül tayini

Öğütülmüş kabuk örneğinde kül tayini TAPPI T 211 om-85’e göre yapılmıştır. Kül tayini Nabertherm LT-9-11-P330 model kül fırını ile yapılmıştır. Kül fırını önceden ısıtılıp 575°C’ye getirilmiş porselen krezeler sabit ağırlığa gelene kadar bekletilmiştir. Daha sonra nem miktarı bilinen öğütülmüş kabuklardan 4-5 g hava kurusu örnek krezelere tartılıp bunzen beki üzerinde duman çıkışı sona erene kadar

ön yakma işlemi yapılmıştır. Sonrasında örnekler kül fırınında 575°C’de sabit ağırlık elde edilene kadar bekletilmiş, sabit ağırlık elde edildiğinde kül miktarı başlangıçtaki tam kuru kabuk ağırlığına oranlanarak hesaplanmıştır.

3.2.2 Ekstraktif maddelerin belirlenmesi

3.2.2.1 Sıcak su çözünürlüğü

Sıcak su çözünürlüğü TAPPI T 207 om-88 standardına göre yapılmaktadır. Bu tavin ile kabuktaki, tanen, organik asit, anorganik bileşikler, tuzlar, boyar maddeler, fenolik bileşikler ve zamklar belirlenmektedir. Erlene önceden nem miktarı belirlenmiş öğütülmüş kabuk materyalinden 2-3 g alınarak üzerine 100 ml sıcak su eklenmektedir. Geri soğutucu ile 100°C’de 3 sa. sıcak su banyosunda bekletilerek 2 numaralı kroze ile süzülüp krozeler 105±2°C etüvde kurutulmaktadır. Ağırlık kaybından gidilerek sıcak su çözünürlüğü yüzdesi bulunmaktadır.

3.2.2.2 Sikloheksan, alkol-sikloheksan ve alkol çözünürlüğü

Analiz TAPPI T 204 om-88 standardına göre yapılmaktadır. Kabukta bulunan vakslar, yağlar, düşük molekül ağırlığındaki karbonhidratlar, tuzlar, reçineler, uçucu olmayan hidrokarbonlar bu çözünürlük yöntemi ile belirlenmektedir. Üç aşamalı gerçekleştirilen analizde tam kuru ağırlığı 5-6 g olan kabuk örnekleri için birinci aşamada 150 ml sikloheksan, ikinci aşamada 1 hacim (50 ml) %95’lik etanol ile 2 hacim (100 ml) sikloheksan, üçüncü aşamada ise 150 ml etanol kullanılmaktadır. Sokslet sisteminde yapılan bu analizde ilk sifonlamadan itibaren her aşamada 5-6 sa. ekstraksiyona devam edilmektedir. Süre bittiğinde örnekler 50°C’deki etüvde bekletilerek ağırlığı önceden alınmış uçurma balonundaki örneği solventi rota evaporatörde tamamen buharlaştırılmaktadır. Kalıntı madde miktarından gidilerek hesaplama yapılmaktadır (Browning, 1967).

3.2.3 %1 NaOH çözünürlüğü

%1 NaOH çözünürlüğü TAPPI T-212 om-88’ e göre belirlenmiştir. 2 g tam kuru kabuk örneğine 100 ml %1’lik NaOH çözeltisi eklenerek 97-100°C sıcaklıktaki su banyosunda 1 sa. bekletilmiştir. Süre sonunda örnek daha önceden ağırlığı alınmış porozitesi 2 olan krozeden geçirilip, 200 ml saf su ile yıkanmaktadır. Ardından vakumsuz ortamda 25 ml %10’luk asetik asitten geçirilip tekrar 200 ml saf su ile

örnek yıkanmaktadır. Örnek $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ etüvde kurutulmuştur. Tartım sonunda meydana gelen ağırlık kaybından gidilerek çözünen madde miktarı hesaplanmıştır. Bu yöntemle kabuğun yapısında bulunan düşük molekül ağırlıklı karbonhidratlar, parçalanmış selüloz ve polyozlar belirlenmektedir. Odunun çözünürlüğü, mantar çürümesi veya ısı, ışık, oksidasyon gibi faktörlerin etkisiyle degradasyonun derecesini gösterir.

3.2.4 Lignin tayini

Kabuk örneklerindeki lignin miktarı Runkel yöntemine göre belirlenmiştir. Lignin tayini siklohegzan, alkol-siklohegzan, alkol ekstraktından alınan örnekten yapılmıştır. Yöntemde, 1 g tam kuru örnek üzerine 50 ml %72'lik H_2SO_4 ve 5 ml %40'lik HBr'den oluşan asit karışımı ilave edilmiştir. Cam bagetle karıştırılan örneklerin üzeri saat camı ile kapatılıp 2 sa. oda sıcaklığında bekletilmiş ve ara ara karıştırılmıştır. Süre sonunda 200 ml saf su ilave edilen örnekler kaynatılmıştır. Önceden $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de sabit ağırlığa getirilmiş siyah bant filtre kağıdından süzülüp içindeki asit tamamen uzaklaştırılana kadar kaynar saf su ile yıkanmıştır. Örnekler etüvde kurutulularak kalıntı miktarından gidilip lignin yüzdesi hesaplanmıştır. Şekil 3.2'de lignin tayini gösterilmektedir.



Şekil 3.2 : Lignin tayini

3.2.5 Holoselüloz tayini

Ekstrakte edilmiş örnekte ligninin uzaklaştırılması sonucu geriye kalan kalıntı holoselüloz örnekleri tüm polisakaritleri ifade etmektedir. Bu yüzden holoselüloz tayinin diğer adı delignifikasyon olarak adlandırılmaktadır. Jayme (1942); Wise vd. (1946) tarafından geliştirilmiş sodyum klorit yöntemine göre holoselüloz tayini

yapılmıştır. Bu yöntemle asetik asidin etkisiyle aktif yükseltgen olan klor, sodyum kloritten ayrılmaktadır. Lignin yükseltgenerek çözültüye geçmektedir. Karbonhidratlar bu işlemde değişime uğramayarak holoselüloz olarak kalmaktadır. Alkol, alkol-siklohegzan, siklohegzan ekstraksiyonundan çıkan materyalden 5 g tam kuru örnek ağırlığı geniş ağızlı erlene konulmuştur. 100 ml kaynamış saf su, 5 ml sodyum klorit karışımına 0,8 ml asetik asit eklenip hacim 150 ml'ye tamamlanmıştır. Karışım örneğe eklendikten sonra 65°C sirkülasyonlu banyoda ağızlarına ters çevirilmiş erlen kapatılmış şekilde bekletilmiştir. Her saat başı 5 ml sodyum klorit ve 0,8 ml asetik asit eklenerek toplam 5 saatte analiz bitirilmiştir. Daha önce ağırlığı alınmış cam krozelerde süzülen örnekler buzlu su ile yıkanıp hava kurusu hale getirilmiştir. Örneklere nem tayini yapılarak başlangıçtaki tam kuru maddeden gidilip holoselüloz verimi hesaplanmıştır. Şekil 3.3'te holoselüloz tayini gösterilmiştir.



Şekil 3.3 : Holoselüloz tayini

3.2.6 α - selüloz tayini

Odunun alkalilerle muamelesiyle çözünen maddeler hemiselülozlardır. Seyreltik alkali çözelti ekstraksiyonuyla hemiselülozlar uzaklaştırılır ve NaOH çözeltisinde çözülmeyen kısım α - selüloz olarak bilinir (Fengel ve Wegener, 1984). Holoselüloz tayininden elde edilen materyalden yapılan α - selüloz tayini TAPPI 203 om-99'e göre belirlenmiştir. Bu yöntemde 1,5 g holoselüloz örneği 300 ml'lik behere alınarak üzerine 100 ml %17,5'luk NaOH çözeltisi eklenip cam bagetle karıştırılmış ve oda sıcaklığında 30 dk. bekletilmiştir. Süre sonunda 100 ml saf su behere ilave edilmiştir. 30 dk. daha bekletildikten sonra önceden ağırlığı bilinen krozeden süzülmüştür. Bol saf su ve %10'luk asetik asit iyice emdirilmiş tekrar saf su ve ardından aseton

geçirilmiştir. Daha sonra örnek $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'deki etüvde kurutulup tartım alınıp ağırlık farkından giderek hesaplama yapılır. Şekil 3.4'te α - selüloz tayini gösterilmiştir.



Şekil 3.4 : α - selüloz tayini

3.3 Ekstraksiyon Yöntemleri

3.3.1 Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu

Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Kullanılacak çözeltiler, kabuk:çözücü oranı, ekstraksiyon sıcaklığı ve ekstraksiyon sürelerini içeren parametreler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 : Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu parametreleri.

Çözelti	Kabuk: Çözücü Oranı	Ekstraksiyon Sıcaklığı ($^{\circ}\text{C}$)	Ekstraksiyon Süresi (dk.)
Su	1:8	70	30
			60
		100	30
			60
%2 Na_2SO_3 + %0,50 Na_2CO_3	1:8	70	30
			60
		100	30
			60

3.3.2 Sokslet ekstraksiyonu

Kabuk örneklerinde sokslet ekstraksiyonu etanol, aseton, metanol çözücü olarak kullanılarak her bir çözücü için 3 sa. ve 6 sa. ekstraksiyon denemeleri yapılmıştır. Sokslet ekstraksiyon parametreleri Çizelge 3.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 3.2 : Sokslet ekstraksiyonu parametreleri.

Çözücü	Çözücü miktarı (ml)	Ekstraksiyon Süresi (sa.)
Etanol		
Metanol	200	3
Aseton		
Etanol		
Metanol	200	6
Aseton		

3.3.3 Ultrases destekli ekstraksiyon

Ultrases destekli ekstraksiyon Bandelin Digitech DL 510 H ultrasonik banyo kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon yöntemine ait parametreler Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.3 : Ultrases destekli ekstraksiyon parametreleri.

Çözücü (Etanol:Su)	Ultrases Frekansı (KHz)	Ekstraksiyon Süresi (dk.)	Kabuk:Çözücü Oranı	Sıcaklık (° C)
		5		
0:100	35	10	1:10 ve 1:20	40-50-60
		15		
		20		
		5		
20:80	35	10	1:10 ve 1:20	40-50-60
		15		
		20		
		5		
40:60	35	10	1:10 ve 1:20	40-50-60
		15		
		20		
		5		
60:40	35	10	1:10 ve 1:20	40-50-60
		15		
		20		
		5		
80:20	35	10	1:10 ve 1:20	40-50-60
		15		
		20		

3.3.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Ekstraksiyon Siemens mikrodalga sisteminde gerçekleştirilmiştir. Ekstraksiyon süresi çözeltilinin kaynama süresidir. Ekstraksiyon parametreleri Çizelge 3.4'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4 : Mikrodalga destekli ekstraksiyon parametreleri.

Çözücü (Etanol:Su)	Mikrodalga Gücü (W)	Kabuk:Çözücü Oranı
0:100		
20:80		
40:60	90	1:10 ve 1:20
60:40		
80:20		
0:100		
20:80		
40:60	180	1:10 ve 1:20
60:40		
80:20		
0:100		
20:80		
40:60	360	1:10 ve 1:20
60:40		
80:20		
0:100		
20:80		
40:60	600	1:10 ve 1:20
60:40		
80:20		
0:100		
20:80		
40:60	900	1:10 ve 1:20
60:40		
80:20		

3.4 Elde Edilen Ekstraktlarda Fenolik Bileşiklerin Belirlenmesi

3.4.1 Stiasny sayısı tayini

Çözeltideki toplam kondanse tanen miktarının belirlenmesinde kullanılan bir yöntem olan stiasny sayısı tayini için 50 ml %4'lük sulu ekstrakt çözeltisi alınmaktadır. Bu çözeltiye 10 ml %37'lik formaldehit ve 5 ml konsantre HCl eklenip reaksiyona sokulmaktadır. Karışım manyetik karıştırıcıda geri soğutucu altında tutulmaktadır. Kaynama başladığında 30 dk. daha reaksiyona devam edilmektedir. Süre sonunda çözelti daha önce tam kuru ağırlığı belirlenmiş porozitesi 3 olan krozelerden vakum altında süzülüp ve 500 ml kaynar su ile yıkanmaktadır. Krozeler, 105±2°C'deki etüvde kurutulmaktadır. Kütle kaybından giderek stiasny sayısı belirlenmektedir (Yazaki ve Hillis, 1977). Stiasny düzeneği Şekil 3.5'te gösterilmiştir.



Şekil 3.5 : Stiasny sayısı tayini

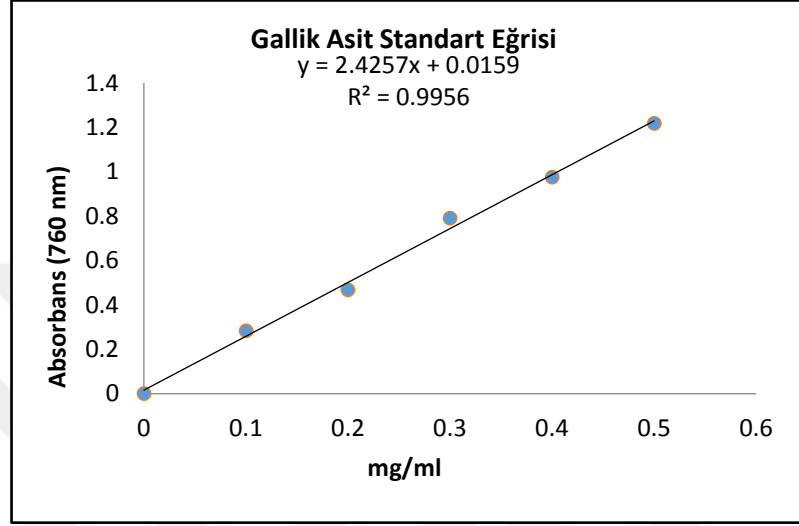
3.4.2 Toplam fenol tayini

Konsantrasyonu bilinen ekstrakt 10 ml balon jojelere alınarak üzerine 2 damla 6 molarlık HCl eklenip çalkalanmaktadır. Ayırma hunisine aktarılan örneğin üzerine 10 ml dietil eter eklenip eter-su fazının ayrılması sağlanmaktadır. Bu işlem 3 kere tekrarlanıp toplamda 30 ml dietil eter kullanılmaktadır. Ayrılan eter fazı rota evaporatörde uçurulup kalan ekstrakt üzerine 5 ml metanol eklenmektedir (Singleton ve Rossi, 1965). Eter fazı ve su fazı için ayrı ayrı analiz yapılmaktadır. Hazırlanan ekstraktan 0,5 ml alınır ve üzerine 2,5 ml folin reaktifi eklenip 5 dk. bekletilmektedir. Süre sonunda 2 ml Na_2CO_3 çözeltisi eklenerek 5 dk. 50°C 'deki su banyosunda bekletilip aynı koşullarda hazırlanmış blanka karşı $\lambda:760 \text{ nm}$ 'de absorbansı ölçülmektedir. Şekil 3.6'da toplam fenol eter fazı ayırma ve analizi gösterilmiştir.



Şekil 3.6 : Toplam fenol tayini

0,1; 0,2; 0,3; 0,4 ve 0,5 mg/ml aralığında 5 konsantrasyonda gallik asit içeren çözelti ile standart eğri oluşturulmuştur ($R^2 = 0,9956$). Örneklerdeki toplam fenol miktarı, gallik asit standart eğrisinden elde edilen formülde ($y=2,4257x+0,0159$) absorbans değerlerinin yerine konulması ile hesaplanmıştır. Örneklerdeki seyreltme, çözelti hacmi ve başlangıçtaki ekstrakt ağırlığı göz önüne alınarak sonuçlar mg/g GAE ekstrakt olarak verilmiştir. Gallik asit standart eğrisi Şekil 3.7’de gösterilmiştir.



Şekil 3.7 : Gallik asit standart eğrisi

3.4.3 Butanol- HCl yöntemi ile kondanse tanen tayini

Sulu ekstrakt örneğinden 0,5 ml teflon kapaklı şişeye alınıp, üzerine 5 ml antosiyanidin reaktifi eklenmektedir. Şişenin ağzı basınç olmaması için gevşek bırakılmalıdır. 95°C su banyosunda 15 dk. bekletilmektedir. Süre sonunda teflon kapaklı şişe soğutularak aynı şekilde hazırlanmış blanka karşı $\lambda:530$ nm’de ölçülmektedir. Sonuçlar siyanidin ekivalenti olarak ifade edilmektedir (Govindarajan ve Mathew, 1965). Butanol-HCl yönteminde sonuçlar aşağıdaki formülle hesaplanmıştır (3.1).

$$A = \varepsilon \times b \times c \quad (3.1)$$

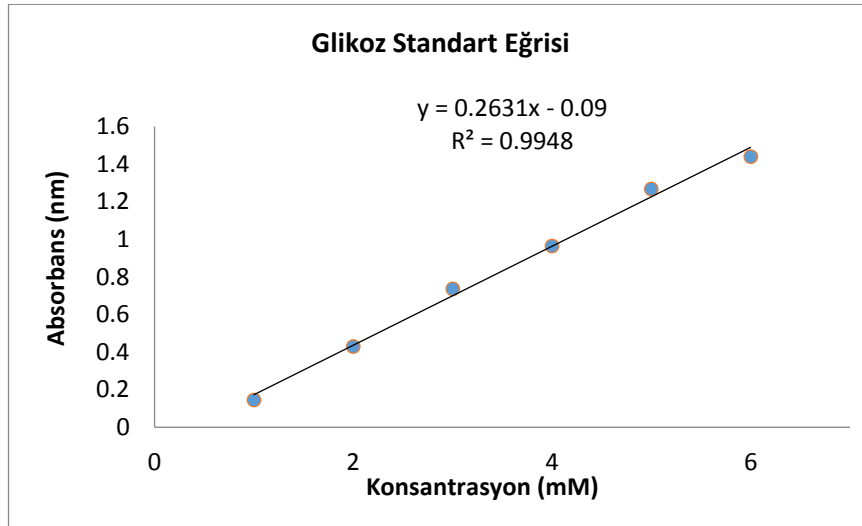
Denklem 3.1’de, A: absorbansı değerini, ε : molar absorpsiyon katsayısını (L/mol.cm), b: yol (cm), c: derişim (mol/L)’ ü göstermektedir. Ayrıca $\varepsilon_{mol} = 34700$ (Fuleki ve Francis, 1968) ve $M=290$ g/mol ‘dür. Şekil 3.8’de Butanol-HCl yöntemi ile kondanse tanen tayini gösterilmiştir.



Şekil 3.8 : Butanol – HCl yöntemi ile kondanse tanen tayini

3.4.4 DNS indirgen şeker tayini

1 ml ekstrakte edilmiş örnek deney tüpüne alınıp üzerine 1,5 ml DNS reaktifi eklenmektedir. Deney tüpü 100°C kaynar su banyosunda 5 dk. bekletildikten sonra oda sıcaklığındaki banyoda 10 dk. bekletilerek örneğin soğuması beklenmektedir. Süre sonunda çözeltiye 7,5 ml saf su eklenmekte ve çözelti aynı koşullarda hazırlanmış blanka karşı 540 nm’de ölçülmektedir (Miller, 1959; Hu vd. 2008). Ölçüm yapılan örneklerde serbest şeker miktarı Şekil 3.9’da verilen standart eğri yardımıyla hesaplanmıştır.



Şekil 3.9 : Glikoz standart eğrisi

3.5 FTIR Analizi

Toz tanen örnekleri, 50°C'de ki etüvde 12 sa. boyunca kurutulmuştur. Ardından örneklerinin yapısındaki fonksiyonel grupları incelemek amacıyla, FTIR spektrumları Bruker Tensor 37 cihazında ATR modülü kullanılarak alınmıştır. 4000-400 cm^{-1} dalga boyu aralığında, 4 cm^{-1} çözünürlükte, 32 ölçüm şeklinde yapılmıştır. Elde edilen spektrumlar Bruker OPUS 7.2 yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

Bu çalışmada Yalova Armutlu bölgesinde üretim kesimlerinden çıkan artık sahil çamı kabuk örneklerinde; daha önceki bölümde anlatılan temel kimyasal analiz yöntemleri, elde edilen ekstraktlardaki fenolik bileşiklerin analizi ve FTIR analizi ile elde edilen sonuçlar bu bölümde verilmiştir.

4.1 Sahil Çamı Kabuğunda Temel Analiz Sonuçları

Sahil çamı kabuğu kül ve çözünürlük değerleri Çizelge 4.1’de gösterilmiştir. Bu değerler literatürde bulunan değerlere uygundur. Durmaz vd.(2016)’ya göre kül 1,31; sıcak su çözünürlüğü 13,55; %1 NaOH çözünürlüğü 33,12’dir. Aradaki farkın örneğin orjin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Bulunan sahil çamı kül değeri literatürlerdeki kızılçam kül değerleriyle benzerlik gösterirken; çözünürlük değerleri benzerlik göstermemektedir.

Çizelge 4.1 : Sahil çamı kabuğu kül ve çözünürlük değerleri (%).

Örnek	Kül	Sıcak Su	%1 NaOH
Sahil Çamı	1,15	6,15	37,24

Sahil çamı kabuğu ardışık solvent çözünürlük değerleri Çizelge 4.2’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 : Sahil çamı kabuğu ardışık solvent çözünürlük değerleri.

Örnek	Siklohegzan (I)	Etanol-Siklohegzan (II)	Etanol (III)	Toplam (I+II+III)
Sahil Çamı	1,06	2,99	9,11	13,16

Vazquez vd. (1997)’de yaptığı bir çalışmaya göre sahil çamı kabuk holoselüloz değeri 44,02 bulmuştur. Bu sonucun orjin farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir. Pinto (2004)’e göre sahil çamı odununun α -selüloz değeri %44’tür. Bu da gösteriyor ki sahil çamı kabuğunun α -selüloz değeri odununa kıyasla düşüktür. Odun ve kabuk arasındaki klason lignin değerleride farklılık göstermektedir. Odunda bulunan %26,60’lık lignin değeri, kabukta 46,02’ye yükselmiştir. Lignin değerleri

literatür sonuçlarıyla benzer çıkmıştır. Çizelge 4.3 'te sahil çamı kabuğu temel bileşenleri (%) gösterilmiştir.

Çizelge 4.3 : Sahil çamı kabuğu temel bileşenleri (%).

Örnek	Lignin	%1 NaOH Çözünürlüğü Sonrası Lignin	Holoselüloz	α -selüloz
Sahil Çamı	46,02	26,08	41,85	25,82

4.2 Sahil Çamı Kabuğunda Ekstraksiyon Verimi ve Stiasny Sayısı

4.2.1 Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu

Klasik sulu çözelti ekstraksiyonundan elde edilen verim ve stiasny sonuçları Çizelge 4.4'te gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde sulu ekstrakt verimi 8,40'tan 9,27'ye kadar düştüğü, stiasny değerlerinin 109,52 değerinden 99,93'e kadar düştüğü görülmüştür. Bu durumun sebebi artan ekstraksiyon sıcaklığı ve süre ile kabuğun yapısında bulunan monomerik yapıdaki karbonhidratların çözünerek çözeltiliye nüfuz etmesidir. Ayrıca artan sıcaklığın kondenzasyon reaksiyonlarına sebep olmasıdır. Sahil çamı kabuğunun sodyum sülfid ve sodyum karbonat içeren sulu ekstraktlarının sonuçları incelendiğinde 70°C sıcaklıkta 30 dk. ekstraksiyon süresinde 13,18 ekstrakt verimi belirlenirken 100°C sıcaklık 60 dk. ekstraksiyon süresinde 16,15'e kadar yükselmiştir. Aynı örneklerin stiasny sayısı değerleri incelendiğinde 99,95 değeri belirlenmiştir.

Çizelge 4.4 : Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu sonuçları.

Örnek	Çözelti	Kabuk: Çözücü Oranı	Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)	Ekstraksiyon Süresi (dk.)	Verim (%)	Stiasny Sayısı
SK1	Su	1:8	70	30	8,40	109,52
SK2			60	8,92	104,23	
SK3			100	30	9,29	100,80
SK4			60	9,27	99,93	
SK5	%2Na ₂ SO ₃ + %0,50Na ₂ CO ₃	1:8	70	30	13,18	94,05
SK6			60	13,52	94,55	
SK7			30	15,64	99,43	
SK8			100	60	16,15	99,95

4.2.2 Sokslet ekstraksiyonu

Sokslet ekstraksiyonundan elde edilen verim ve stiasny değerleri Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Etanol ekstraksiyonunda en yüksek değerler 6 sa. ekstraksiyon süresinde 15,41 verim ve 93,25 stiasny değerleri elde edilmiştir. Aseton

ekstraksiyonunda 6 saatlik ekstraksiyon 3 sa. parametresine göre daha yüksek verim değerleri bulunmuştur. Metanol ekstraksiyonunda etanol ekstraksiyonuna benzer verim değerleri belirlenirken en yüksek verim 6 sa. ekstraksiyonundadır. Metanol 6 sa. ekstraksiyonunda stiasny değerleri diğer parametrelere kıyasla daha düşüktür.

Çizelge 4.5 : Sokslet ekstraksiyonu sonuçları.

Örnek	Çözelti	Ekstraksiyon Süresi (sa.)	Verim (%)	Stiasny Sayısı
SS1	Etanol	3	11,48	96,35
SS2		6	15,41	93,25
SS3	Aseton	3	15,07	77,40
SS4		6	37,93	84,25
SS5	Metanol	3	12,20	80,35
SS6		6	14,49	61,85

4.2.3 Ultrases destekli ekstraksiyon

Ultrases destekli ekstraksiyonu 1:10 kabuk oranında elde edilen verim ve stiasny değerleri Çizelge 4.6'da, 1:20 kabuk örneği sonuçları ise Çizelge 4.7'de verilmiştir. Ultrases destekli ekstraksiyon verim ve stiasny sayısı değerleri incelendiğinde 0:100 etanol:su çözücü oranında, verim değerleri artan sıcaklık değerleri ve ekstraksiyon süresine paralel olarak yükseltmiştir. En yüksek verim değeri, 60° C ekstraksiyon sıcaklığı ve 15 dk. parametresinde bulunmuştur. Bu değer 9,03'tür. 20:80 etanol:su çözücü oranındaki parametrelerinde en yüksek verim ve stiasny değerleri yine 60° C'de bulunmuştur. Ekstraksiyon çözeltisinde etanol oranının artmasıyla (40:60 ve 60:40) ekstraksiyon verimi ve stiasny değerlerinde önemli bir değişiklik olmadığı görülmektedir. 80:20 etanol:su çözeltili ekstraktların verim ve stiasny sayılarında ise ufak bir düşüş meydana gelmiştir. Sıcaklık derecesinin artışı ve çözücüdeki etanol miktarının artışıyla doğru orantılı olarak verim yükselmiştir. Yapılan çalışmada ultrases destekli ekstraksiyon, klasik sulu çözelti ekstraksiyonu ve sokslet ekstraksiyona göre bariz şekilde daha verimli sonuçlar vermiştir. Ghitescu vd. (2005)'nin yaptığı bir çalışmada *Picea abies* kabuk fenollerinin ekstraksiyonunda ultrases yöntemi ekstraksiyonunu kullanılmıştır. En yüksek değeri %70 etanol konsantrasyonunda bulunmuştur ve bu değer sahilçamı kabuki ekstraktları için en yüksek verimin 80:20 etanol çözücüsü bulunmasını doğrular niteliktedir.

Çizelge 4.6 : Ultrases destekli ekstraksiyon sonuçları (1:10).

Çözücü (Etanol:Su)	Ultrases Frekans (KHz)	Kabuk:Çözücü Oranı	Sıcaklık (°C)	Örnek	Ekstraksiyon Süresi (dk.)	Verim (%)	Stiasny Sayısı	
0:100	35	1:10	40	SU1-1	5	6,30	97,90	
				SU1-2	10	6,44	101,90	
				SU1-3	15	6,13	102,63	
				SU1-4	20	6,58	103,15	
			50	SU1-5	5	6,74	107,58	
				SU1-6	10	7,53	103,45	
				SU1-7	15	8,34	104,75	
				SU1-8	20	7,61	109,02	
				SU1-9	5	8,36	102,73	
				60	SU1-10	10	8,76	104,85
					SU1-11	15	9,03	103,58
					SU1-12	20	8,56	110,63
SU2-1	5	12,08	102,63					
40	SU2-2	10	12,21	102,81				
	SU2-3	15	12,51	102,74				
	SU2-4	20	12,47	103,11				
	SU2-5	5	12,17	103,19				
20:80	35	1:10	50	SU2-6	10	12,07	103,21	
				SU2-7	15	12,63	103,27	
				SU2-8	20	12,80	102,81	
				SU2-9	5	13,01	105,08	
			60	SU2-10	10	13,62	105,04	
				SU2-11	15	13,71	105,66	
				SU2-12	20	13,87	105,21	
				SU3-1	5	11,42	102,27	
				40	SU3-2	10	11,45	105,53
					SU3-3	15	11,27	107,63
					SU3-4	20	11,81	102,73
					SU3-5	5	12,43	103,23
40:60	35	1:10	50	SU3-6	10	12,17	102,48	
				SU3-7	15	12,58	104,70	
				SU3-8	20	13,21	103,55	
				SU3-9	5	12,61	104,78	
			60	SU3-10	10	13,18	106,12	
				SU3-11	15	13,65	101,32	
				SU3-12	20	13,91	104,82	
				SU4-1	5	11,35	101,10	
				40	SU4-2	10	11,48	101,21
					SU4-3	15	11,37	101,39
					SU4-4	20	11,52	101,52
					SU4-5	5	11,38	101,27
60:40	35	1:10	50	SU4-6	10	11,18	101,48	
				SU4-7	15	12,07	101,83	
				SU4-8	20	11,73	101,48	
				SU4-9	5	12,07	102,18	
			60	SU4-10	10	12,10	102,61	
				SU4-11	15	12,27	102,59	
				SU4-12	20	12,21	102,53	
				SU5-1	5	11,99	100,68	
				40	SU5-2	10	11,73	100,58
					SU5-3	15	12,16	101,43
					SU5-4	20	12,45	102,02
					SU5-5	5	12,23	105,87
80:20	35	1:10	50	SU5-6	10	12,48	105,71	
				SU5-7	15	12,71	106,08	
				SU5-8	20	12,98	106,48	
				SU5-9	5	12,12	107,73	
			60	SU5-10	10	11,98	106,14	
				SU5-11	15	12,54	107,91	
				SU5-12	20	13,01	106,75	

1:10 kabuk çözücü oranı ile 1:20 kabuk çözücü oranı sonuçları incelendiğinde ekstrakt veriminde belirgin bir artış gözlenmezken, elde edilen sonuçlar 1:10 kabuk çözücü oranı sonuçlarına benzerdir. Fakat stiasny değerlerinde ufak bir düşüş gözlenmiştir. Bu durum sonucunda enerji ve solvent tüketimi, elde edilen ekstrakt

suyunun giderilmesindeki dezavantajlarda göz önüne alınarak 1:10 çözücü oranında yapılan ekstraksiyonların daha uygun olduğu düşünülmüştür.

Çizelge 4.7 : Ultrases destekli ekstraksiyon sonuçları (1:20).

Çözücü (Etanol:Su)	Ultrases Frekans (KHz)	Kabuk:Çözücü Oranı	Sıcaklık (°C)	Örnek	Ekstraksiyon Süresi (dk.)	Verim (%)	Stiasny Sayısı	
0:100	35	1:20	40	SU6-1	5	6,10	94,33	
				SU6-2	10	6,21	102,21	
				SU6-3	15	6,44	103,41	
				SU6-4	20	6,80	105,97	
				SU6-5	5	7,12	99,12	
				SU6-6	10	7,50	102,41	
			50	SU6-7	15	8,18	103,21	
				SU6-8	20	8,42	103,52	
				SU6-9	5	8,03	100,55	
				60	SU6-10	10	8,27	101,27
					SU6-11	15	8,91	102,14
					SU6-12	20	9,07	102,87
20:80	35	1:20	40	SU7-1	5	12,17	102,91	
				SU7-2	10	12,54	102,97	
				SU7-3	15	12,33	102,84	
				SU7-4	20	12,41	103,14	
				SU7-5	5	12,31	103,28	
				SU7-6	10	12,54	103,40	
			50	SU7-7	15	12,71	103,48	
				SU7-8	20	12,93	103,42	
				SU7-9	5	13,06	105,01	
				60	SU7-10	10	13,41	106,11
					SU7-11	15	13,84	106,03
					SU7-12	20	13,71	105,21
40:60	35	1:20	40	SU8-1	5	11,56	103,14	
				SU8-2	10	11,71	103,70	
				SU8-3	15	11,42	103,82	
				SU8-4	20	11,93	105,02	
				SU8-5	5	12,21	104,71	
				SU8-6	10	12,79	104,98	
			50	SU8-7	15	13,21	105,12	
				SU8-8	20	13,16	105,42	
				SU8-9	5	12,74	104,71	
				60	SU8-10	10	13,01	105,12
					SU8-11	15	13,76	106,28
					SU8-12	20	13,81	106,23
60:40	35	1:20	40	SU9-1	5	11,44	101,91	
				SU9-2	10	11,08	101,54	
				SU9-3	15	11,54	102,27	
				SU9-4	20	11,69	102,13	
				SU9-5	5	11,42	103,18	
				SU9-6	10	11,62	103,41	
			50	SU9-7	15	11,38	103,63	
				SU9-8	20	11,91	103,71	
				SU9-9	5	12,01	103,20	
				60	SU9-10	10	11,97	102,78
					SU9-11	15	12,15	102,56
					SU9-12	20	12,26	103,41
80:20	35	1:20	40	SU10-1	5	11,46	100,28	
				SU10-2	10	11,65	102,05	
				SU10-3	15	11,38	101,95	
				SU10-4	20	11,74	102,39	
				SU10-5	5	11,85	100,85	
				SU10-6	10	12,23	102,24	
			50	SU10-7	15	12,07	102,01	
				SU10-8	20	12,12	102,58	
				SU10-9	5	12,07	101,42	
				60	SU10-10	10	12,54	102,14
					SU10-11	15	13,11	103,30
					SU10-12	20	13,15	103,12

4.2.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyon sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon sonuçları incelendiğinde verim ve stiasny değerlerinde artan mikrodalga gücüne paralel olarak artış gözlenmiştir. En yüksek verim ve stiasny sayısı değerlerinin 360 W mikrodalga gücünde elde edildiği hesaplanmıştır. 600 W ve 900 W mikrodalga gücünde verim değerlerinde artış olmazken stiasny değerlerinde küçük düşüşler meydana gelmiştir.

Çizelge 4.8 : Mikrodalga destekli ekstraksiyon sonuçları.

Mikrodalga Gücü (W)	Kabuk:Çözücü Oranı	Örnek	Çözücü (Etanol:Su)	Verim (%)	Stiasny Sayısı
90	1:10	SM1-1	0:100	22,14	103,12
		SM1-2	20:80	30,88	105,40
		SM1-3	40:60	28,51	102,91
		SM1-4	60:40	27,08	103,32
		SM1-5	80:20	31,60	103,90
	1:20	SM1-6	0:100	23,27	103,41
		SM1-7	20:80	32,12	104,90
		SM1-8	40:60	29,57	103,56
		SM1-9	60:40	28,14	103,74
		SM1-10	80:20	31,88	102,93
180	1:10	SM2-1	0:100	23,64	102,74
		SM2-2	20:80	31,46	104,90
		SM2-3	40:60	28,77	101,93
		SM2-4	60:40	27,33	104,95
		SM2-5	80:20	31,17	105,45
	1:20	SM2-6	0:100	24,18	103,12
		SM2-7	20:80	31,68	104,37
		SM2-8	40:60	29,42	103,75
		SM2-9	60:40	27,91	103,29
		SM2-10	80:20	32,03	101,75
360	1:10	SM3-1	0:100	24,19	104,10
		SM3-2	20:80	31,57	104,95
		SM3-3	40:60	29,58	102,33
		SM3-4	60:40	27,23	106,20
		SM3-5	80:20	31,40	106,80
	1:20	SM3-6	0:100	24,48	102,71
		SM3-7	20:80	30,98	104,18
		SM3-8	40:60	29,32	104,12
		SM3-9	60:40	26,99	105,64
		SM3-10	80:20	31,25	105,90
600	1:10	SM4-1	0:100	25,03	105,60
		SM4-2	20:80	30,74	105,75
		SM4-3	40:60	28,71	101,68
		SM4-4	60:40	27,33	105,65
		SM4-5	80:20	31,44	104,15
	1:20	SM4-6	0:100	24,53	102,71
		SM4-7	20:80	32,16	104,25
		SM4-8	40:60	28,91	103,12
		SM4-9	60:40	28,07	102,17
		SM4-10	80:20	32,23	103,97
900	1:10	SM5-1	0:100	24,78	104,12
		SM5-2	20:80	30,93	105,70
		SM5-3	40:60	28,51	104,38
		SM5-4	60:40	27,05	103,80
		SM5-5	80:20	31,49	104,10
	1:20	SM5-6	0:100	24,07	104,27
		SM5-7	20:80	31,11	105,92
		SM5-8	40:60	28,53	104,52
		SM5-9	60:40	28,21	104,71
		SM5-10	80:20	30,99	105,82

Farklı mikrodalga gücü ile yapılan ekstraksiyonlarda örnek grupları için, kabuk: çözücü oranı 1:20'de 1:10'a göre verim değerlerinde küçük artışlar belirlenirken stiasny sayısı değerlerinde artış görülmemektedir. Ekstraksiyon çözeltisindeki etanol:su oranının verim ve stiasny sayısı üzerine etkisi incelendiğinde, aynı ekstraksiyon şartlarına sahip gruplar içerisinde en düşük verim değerleri 0:100 etanol su oranına sahip örneklerde belirlenirken genel olarak en yüksek verim değerleri 20:80 etanol:su oranına sahip ekstraksiyon örneklerinde belirlenmiştir. Dahmoune vd. (2014)'te yaptığı bir çalışmayla toplam fenolik bileşiklerin verimine ekstraksiyon tekniklerinin farklılığını araştırmıştır. Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyonu karşılaştırmıştır. En yüksek verimi mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde bulmuştur. Bu çalışmada bulunan mikrodalga destekli ekstraksiyon verimi değerleri literatür çalışmalarıyla uyum göstermektedir.

4.3 Sahil Çamı Kabuğunda Fenolik Bileşik Tayin Sonuçları

4.3.1 Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu

Klasik sulu çözelti ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktlara yapılan toplam fenol tayini, butanol-HCl tayini ve DNS indirgen şeker tayini sonuçları Çizelge 4.9'da verilmiştir. Sahil çamı sulu kabuk ekstraktı toplam fenol tayini için ayırma hunisinde dietil eter kullanılarak eter ve su fazı olarak iki faza ayrılmak istenmiştir. Ancak söz konusu örnekte faz ayrımı gerçekleşmemiştir. Toplam fenol tayini sulu faz sonuçları incelendiğinde, ekstraksiyon çözeltisi olarak sıcak su kullanıldığında, 70°C ekstraksiyon sıcaklığı 30 dk. ekstraksiyon süresinde, 49,02 değeri belirlenirken ekstraksiyon süresi 60 dk.ya çıktığında, bu değer 44,25'e düşmüştür. Sodyum sülfid ve sodyum karbonat içeren ekstraksiyon çözeltisi ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda ise, sıcak su ekstraksiyonuna göre daha düşük toplam fenol tayini değerleri belirlenmiştir. Butanol-HCl yöntemiyle proantosiyanidin miktarı tayininde ise sulu çözelti ekstraksiyonu grupları arasında önemli bir fark belirlenememiştir. Sodyum sülfid ve sodyum karbonat içeren çözelti ekstraksiyonunda daha yüksek değerler belirlenmiştir. Örneklerdeki indirgen şeker miktarı sonuçları incelendiğinde ekstraksiyon süresinin artmasıyla ekstraktlardaki safsızlık olan şeker miktarında artış belirlenmiştir. Yine sodyum sülfid ve sodyum karbonat içeren çözelti

ekstraksiyonlarında sulu çözelti ekstraksiyonuna göre daha düşük değerler elde edilmiştir.

Çizelge 4.9 : Klasik sulu çözelti ekstraksiyonu fenolik analiz sonuçları.

Örnek No	Çözelti	Ekstraksiyon Sıcaklığı (°C)	Ekstraksiyon Süresi (dk.)	Toplam Fenol Tayini (mg/g GAE)		Proantosiyanidin (mg/g CE)	DNS İndirgen Şeker Tayini (mg/g)
				Eter Fazı	Su Fazı		
SK1	Su	70	30		49,02	30,28	25,82
SK2			60	Faz ayrılmadı	44,25	29,83	27,57
SK3		100	30		48,76	29,59	24,36
SK4			60		48,32	29,16	28,48
SK5	%2 Na ₂ SO ₃ + %0,50 Na ₂ CO ₃	70	30		35,02	30,88	20,58
SK6			60	Faz ayrılmadı	34,86	30,84	22,06
SK7		100	30		36,03	30,26	21,49
SK8			60		36,34	34,03	26,73

4.3.2 Sokslet ekstraksiyonu

Sokslet ekstraksiyonundan elde edilen ekstraktlara yapılan toplam fenol tayini, butanol-HCl tayini ve DNS indirgen şeker tayini sonuçları Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10 : Sokslet ekstraksiyonu fenolik analiz sonuçları.

Örnek No	Çözelti	Ekstraksiyon Süresi (sa.)	Toplam Fenol Tayini (mg/g GAE)		Proantosiyanidin (mg/g CE)	DNS İndirgen Şeker Tayini (mg/g)
			Eter Fazı	Su Fazı		
SS1	Etanol	3		28,44	26,22	24,01
SS2		6		29,39	24,20	24,82
SS3	Aseton	3	Faz ayrılmadı	30,78	28,19	27,27
SS4		6		35,28	33,98	25,98
SS5	Metanol	3		27,68	28,08	22,17
SS6		6		34,06	26,60	26,19

Sahilçamı sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda toplam fenol tayini için eter ve su fazı ayırım işlemi sonucunda faz ayırımı meydana gelmediğinden dolayı eter fazında tayin yapılamamıştır. Sulu faz sonuçları incelendiğinde en yüksek değerler aseton ekstraksiyonuyla elde edilmiştir. Ayrıca her üç solvent ekstraksiyonu için ekstraksiyon süresinin 3 saatten 6 saate çıkmasıyla toplam fenol değerlerinde artış olduğu ortaya konulmuştur. Proantosiyanidin miktarları incelendiğinde, sokslet ekstraksiyonu için en yüksek değerler aseton ekstraksiyon 6 sa. örneğinde belirlenirken, en düşük değerler ise 27,68 ile metanol ekstraksiyonu 3 sa. örneğinde (SS5) belirlenmiştir. DNS indirgen şeker tayini sonuçlarına göre, aseton ekstraksiyonu 3 sa. (SS3) örneğinde 27,27 ile en yüksek değer belirlenmiştir.

4.3.3 Ultrases destekli ekstraksiyon

Sahilçamı kabuk örneğine ait ultrases destekli ekstraksiyon fenolik bileşik ve DNS indirgen şeker tayini sonuçları Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12’de verilmiştir.

Çizelge 4.11 : UAE'da 1:10 kabuk örnekleri fenolik analiz sonuçları.

Çözücü (Etanol:Su)	Sıcaklık (°C)	Örnek No	Toplam Fenol Tayini (mg/g GAE)		Proantosiyanidin (mg/g CE)	DNS İndirgen Şeker Tayini (mg/g)
			Eter Fazı	Su Fazı		
0:100	40	SU1-1	0,73	17,05	22,57	19,86
		SU1-2	0,71	21,46	22,74	20,74
		SU1-3	0,76	21,05	23,72	21,15
	50	SU1-4	0,77	21,31	22,39	21,63
		SU1-5	0,82	27,21	20,65	21,83
		SU1-6	0,90	27,61	24,39	21,56
		SU1-7	0,96	28,26	24,21	20,72
		SU1-8	0,95	29,03	22,02	22,92
		SU1-9	1,67	19,14	25,07	19,18
		SU1-10	1,66	21,93	25,56	20,40
		SU1-11	1,43	24,31	26,51	21,87
		SU1-12	1,34	25,55	26,60	21,76
20:80	40	SU2-1	3,12	27,64	33,17	19,73
		SU2-2	3,38	29,30	35,16	18,34
		SU2-3	3,61	28,71	34,45	18,55
	50	SU2-4	3,49	27,33	34,34	18,82
		SU2-5	4,02	28,81	34,57	19,15
		SU2-6	3,82	28,52	34,22	18,91
		SU2-7	4,18	29,43	35,32	19,17
		SU2-8	4,76	29,77	35,13	19,08
		SU2-9	4,12	31,48	37,78	20,16
		SU2-10	4,39	32,08	38,50	21,08
		SU2-11	4,42	31,83	38,56	20,38
		SU2-12	4,58	32,67	38,71	20,27
40:60	40	SU3-1	3,78	37,57	36,19	23,33
		SU3-2	3,90	32,79	36,83	24,90
		SU3-3	3,95	31,98	38,04	24,78
	50	SU3-4	4,01	36,21	39,66	24,48
		SU3-5	4,77	25,68	35,69	23,60
		SU3-6	4,91	26,41	36,74	25,03
		SU3-7	5,32	27,05	37,62	24,96
		SU3-8	5,61	27,33	36,05	25,36
		SU3-9	3,90	29,21	35,55	20,88
		SU3-10	4,12	31,72	39,35	22,44
		SU3-11	5,08	33,44	40,37	24,76
		SU3-12	5,29	35,40	40,25	26,25
60:40	40	SU4-1		36,19	35,17	26,18
		SU4-2		37,14	36,08	26,01
		SU4-3		37,38	35,83	25,89
	50	SU4-4		37,50	36,45	25,53
		SU4-5		39,12	37,12	24,81
		SU4-6	Faz ayrılmadı	39,16	38,04	25,39
		SU4-7		39,48	37,93	25,17
		SU4-8		39,25	38,43	25,33
		SU4-9		38,47	37,81	23,42
		SU4-10		39,11	38,32	23,41
		SU4-11		38,82	38,80	23,54
		SU4-12		37,12	39,46	23,11
80:20	40	SU5-1		39,39	34,20	27,55
		SU5-2		38,18	35,49	28,24
		SU5-3		38,30	37,11	28,53
	50	SU5-4		37,46	38,34	29,14
		SU5-5		37,57	34,91	21,22
		SU5-6	Faz ayrılmadı	38,12	36,49	20,83
		SU5-7		38,36	37,62	21,46
		SU5-8		37,05	39,75	23,67
		SU5-9		37,09	35,45	23,87
		SU5-10		38,42	37,82	23,68
		SU5-11		38,71	38,21	23,55
		SU5-12		38,53	40,25	23,40

Ekstraksiyonda kullanılan etanol oranının artması ve ekstraksiyon sıcaklığı ile süresinin yükselmesi toplam fenol tayini sonuçlarını olumlu etkilemiştir. 60:40 ve 80:20 etanol:su oranındaki çözücü gruplarında toplam fenol tayininde eter fazı ayrılmamıştır. Örneklerdeki proantosiyanidin miktarı sonuçları incelendiğinde 0:100 etanol:su çözücü oranında 20,65-26,60 arasında değişen değerler elde edilirken, ekstraksiyon çözeltisinde etanol oranının artmasıyla bu değerlerde artış meydana gelmektedir. En yüksek proantosiyanidin miktarı değerleri 40:60 etanol:su oranına sahip ekstraksiyon çözeltisinde belirlenmiş daha sonra ekstraksiyon çözeltisinde etanol oranının artmasıyla (60:40 ve 80:20) proantosiyanidin miktarında artış olmamıştır. DNS indirgen şeker tayini sonuçlarına göre 1:10 kabuk çözücü oranında, 40:60, 60:40 ve 80:20 etanol:su oranına sahip çözeltiler kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda daha yüksek değerler belirlenmiştir. 80:20 etanol:su oranına sahip çözelti ile 40°C ekstraksiyon sıcaklığına sahip örnekler 1:10 kabuk çözücü oranı için en yüksek DNS değerlerine sahiptir.

Sahilçamı kabuğu ultrases destekli ekstraksiyonu 1:20 kabuk çözücü oranına sahip örneklerin fenolik bileşik ve DNS indirgen şeker tayini sonuçları incelendiğinde kabuk:çözücü oranının 1:10'dan 1:20'ye yükselmesiyle 0:100 ve 20:80 etanol:su oranına sahip çözücü ekstraksiyonlarında toplam fenol tayini eter ve su fazlarında, proantosiyanidin tayini sonuçlarında düşüş meydana geldiği görülmektedir. DNS indirgen şeker tayini sonuçlarında ise kabuk:çözücü oranının 1:10'dan 1:20'ye yükselmesiyle; 40:60 etanol:su oranına sahip çözücü ekstraksiyonlarında özellikle ekstraksiyon sıcaklığının 40°C ve 50°C olduğu gruplardan belirlenen değerlerde düşüş, 60:40 etanol:su oranına sahip çözücü ekstraksiyonların ekstraksiyon sıcaklığının 50°C ve 60°C olduğu gruplarda artış, 80:20 etanol:su oranına sahip çözücü ekstraksiyonların her üç ekstraksiyon sıcaklığına sahip gruplarında artış belirlenmiştir. 1:10 kabuk çözücü ekstraksiyonlarında en yüksek toplam fenol tayini ve proantosiyanidin miktarı değerleri 40:60, 60:40 ve 80:20 etanol:su çözücü oranında belirlenmiştir. 1:20 kabuk çözücü oranına sahip ekstraksiyonlarda ise 40:60 etanol:su çözücü oranında 60°C ekstraksiyon sıcaklığında en yüksek proantosiyanidin miktarı görülmektedir. Diğer ultrases destekli ekstraksiyon sonuçlarına benzer olarak ekstraksiyon sıcaklığı ve süresinin artmasıyla toplam fenol tayini ve proantosiyanidin miktarında artış meydana gelmektedir. 1:20 kabuk çözücü

oranına sahip ekstraksiyon örneklerinde en yüksek DNS indirgen şeker tayini sonuçları 80:20 etanol:su oranına sahip ekstraksiyon çözeltilerinde belirlenmiştir. Söz konusu değerler artan reaksiyon süresi ve sıcaklığıyla artmaktadır.

Çizelge 4.12 : UAE'da 1:20 kabuk örneklerinde fenolik analiz sonuçları.

Çözücü (Etanol:Su)	Sıcaklık (°C)	Örnek No	Toplam Fenol Tayini (mg/g GAE)		Proantosiyanidin (mg/g CE)	DNS İndirgen Şeker Tayini (mg/g)
			Eter Fazı	Su Fazı		
0:100	40	SU6-1	0,74	18,72	21,21	19,72
		SU6-2	0,71	20,94	21,38	19,83
		SU6-3	0,75	21,06	21,71	20,34
	50	SU6-4	0,76	21,20	21,95	21,02
		SU6-5	0,80	20,69	21,42	20,75
		SU6-6	0,82	20,82	21,38	20,42
		SU6-7	0,76	21,31	21,64	20,61
		SU6-8	0,73	21,48	21,72	20,54
		SU6-9	0,77	20,48	22,02	21,02
		SU6-10	0,78	21,08	22,64	21,87
		SU6-11	0,71	21,53	22,87	21,68
		SU6-12	0,67	21,94	23,04	22,11
20:80	40	SU7-1	2,90	23,41	28,65	20,18
		SU7-2	2,54	23,72	27,92	19,71
		SU7-3	2,62	23,89	28,32	19,55
	50	SU7-4	2,78	24,31	28,41	19,83
		SU7-5	3,42	24,54	29,79	19,46
		SU7-6	3,81	25,87	29,80	19,78
		SU7-7	3,93	24,70	30,18	19,54
		SU7-8	4,17	25,19	30,49	20,01
		SU7-9	3,97	25,79	31,74	20,11
		SU7-10	4,11	25,86	32,41	19,70
		SU7-11	4,58	26,13	31,88	19,18
		SU7-12	4,83	26,40	32,05	20,43
40:60	40	SU8-1	5,14	34,87	29,45	22,67
		SU8-2	5,48	36,43	29,81	21,18
		SU8-3	5,13	35,14	30,24	21,45
	50	SU8-4	5,64	35,76	30,43	21,76
		SU8-5	5,38	36,71	31,71	21,95
		SU8-6	5,21	36,18	32,60	21,08
		SU8-7	5,79	36,65	33,43	22,28
		SU8-8	5,34	37,48	34,59	22,13
		SU8-9	5,41	36,84	35,14	22,57
		SU8-10	5,62	37,82	35,46	21,44
		SU8-11	5,70	36,49	36,18	20,98
		SU8-12	5,73	38,18	36,71	22,80
60:40	40	SU9-1		35,11	31,82	24,73
		SU9-2		36,87	31,55	24,86
		SU9-3		36,64	32,62	25,14
	50	SU9-4		37,12	33,27	26,31
		SU9-5		36,65	33,64	25,78
		SU9-6	Faz ayrılmadı	37,91	33,73	25,89
		SU9-7		37,22	34,08	26,18
		SU9-8		36,43	34,29	25,81
		SU9-9		35,72	34,11	27,15
		SU9-10		36,48	34,18	27,38
		SU9-11		37,16	34,43	28,27
		SU9-12		37,39	34,37	28,60
80:20	40	SU10-1		36,99	31,43	28,56
		SU10-2		37,35	31,59	29,18
		SU10-3		37,22	31,04	30,47
	50	SU10-4		36,06	31,19	31,46
		SU10-5		36,66	30,12	29,76
		SU10-6	Faz ayrılmadı	36,43	31,22	30,18
		SU10-7		36,31	31,56	31,59
		SU10-8		36,51	31,41	32,65
		SU10-9		36,17	32,43	30,61
		SU10-10		37,25	32,67	31,38
		SU10-11		37,10	32,89	32,27
		SU10-12		36,83	32,92	32,14

4.3.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon

Mikrodalga destekli ekstraksiyonu 1:10 ve 1:20 kabuk oranında elde edilen ekstraktlara yapılan toplam fenol tayini, butanol-HCl tayini ve DNS indirgen şeker tayini sonuçlarının Çizelge 4.13'te verilmiştir.

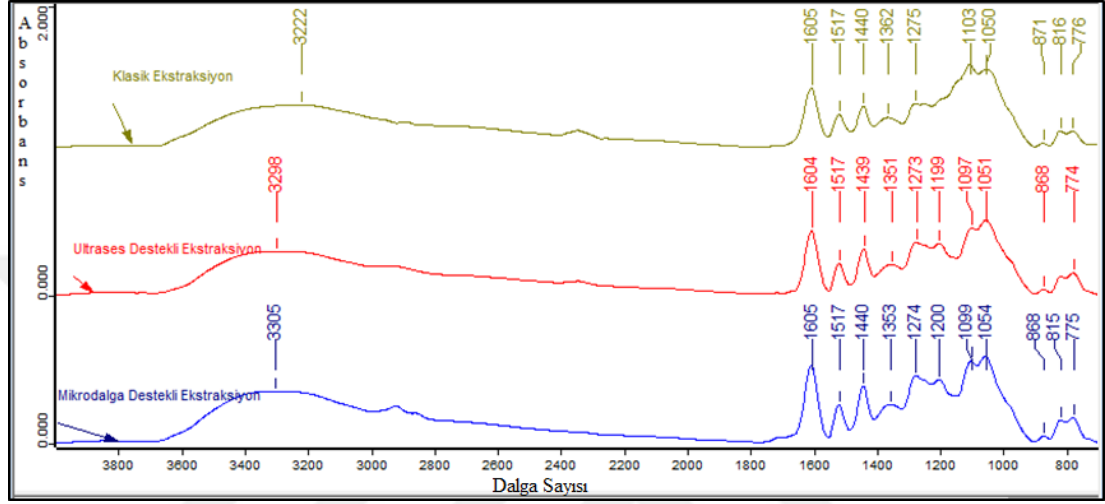
Çizelge 4.13 : MAE'da fenolik analiz sonuçları.

Mikrodalga Gücü (W)	Kabuk: Çözücü Oranı	Örnek No	Çözücü (Etanol:Su)	Toplam Fenol Tayini (mg/g GAE)		Proantosiyanidin (mg/g CE)	DNS İndirgen Şeker Tayini (mg/g)	
				Eter Fazı	Su Fazı			
90	1:10	SM1-1	0:100		37,49	33,45	18,41	
		SM1-2	20:80		38,47	34,25	18,50	
		SM1-3	40:60		38,12	34,28	18,73	
		SM1-4	60:40		37,45	34,02	19,06	
		SM1-5	80:20	Faz ayrılmadı	35,29	36,77	18,63	
	180	1:20	SM1-6	0:100		36,58	36,81	18,51
			SM1-7	20:80		37,90	36,74	18,77
			SM1-8	40:60		37,21	37,48	19,62
			SM1-9	60:40		36,80	37,06	19,67
			SM1-10	80:20		38,65	37,50	19,84
360		1:10	SM2-1	0:100		32,49	34,72	18,72
			SM2-2	20:80		33,93	35,83	19,04
			SM2-3	40:60		34,64	35,43	18,41
			SM2-4	60:40		35,94	35,57	19,93
			SM2-5	80:20	Faz ayrılmadı	36,95	35,81	18,56
	600	1:20	SM2-6	0:100		33,71	36,18	19,10
			SM2-7	20:80		33,72	36,51	19,37
			SM2-8	40:60		34,83	37,83	19,18
			SM2-9	60:40		35,13	37,55	19,39
			SM2-10	80:20		35,16	37,19	19,78
900		1:10	SM3-1	0:100		36,45	35,16	18,55
			SM3-2	20:80		38,78	35,72	18,70
			SM3-3	40:60		39,16	37,61	18,45
			SM3-4	60:40		40,34	38,06	18,61
			SM3-5	80:20	Faz ayrılmadı	41,86	37,45	19,04
	900	1:20	SM3-6	0:100		37,15	36,62	18,47
			SM3-7	20:80		39,08	37,79	18,63
			SM3-8	40:60		39,83	37,43	18,13
			SM3-9	60:40		40,87	37,15	18,74
			SM3-10	80:20		41,24	37,65	19,45
900		1:10	SM4-1	0:100		38,65	35,76	18,51
			SM4-2	20:80		39,62	35,94	18,77
			SM4-3	40:60		38,11	36,24	19,53
			SM4-4	60:40		37,30	35,74	19,99
			SM4-5	80:20	Faz ayrılmadı	40,12	36,83	19,70
	900	1:20	SM4-6	0:100		37,73	36,34	18,42
			SM4-7	20:80		37,92	36,51	19,31
			SM4-8	40:60		38,16	37,22	19,54
			SM4-9	60:40		39,10	37,07	19,73
			SM4-10	80:20		40,64	37,86	20,08
900		1:10	SM5-1	0:100		35,41	35,34	18,17
			SM5-2	20:80		36,26	35,85	18,09
			SM5-3	40:60		37,37	35,70	18,21
			SM5-4	60:40		38,88	35,48	18,13
			SM5-5	80:20	Faz ayrılmadı	41,01	36,57	18,29
	1:20	SM5-6	0:100		37,24	35,47	18,76	
		SM5-7	20:80		38,82	35,46	18,90	
		SM5-8	40:60		39,66	36,17	18,41	
		SM5-9	60:40		39,58	36,43	18,54	
		SM5-10	80:20		41,40	36,16	18,97	

Toplam fenol tayini su fazı sonuçları ekstraksiyonda uygulanan mikrodalga gücünün artışıyla 360 W'a kadar artış gösterirken daha sonra önemli bir artış gözlenmemektedir. Kabuk çözücü oranının sonuçlar üzerine etkisi incelendiğinde

1:20 kabuk:çözücü oranının 1:10'a göre hafif artış meydana getirdiği belirlenirken aynı örneklerde DNS indirgen şeker tayin sonuçlarında da artış görülmektedir. Örneklerdeki proantosiyanidin miktarı sonuçları incelendiğinde en yüksek değerler 360 W mikrodalga gücünde belirlenmiştir.

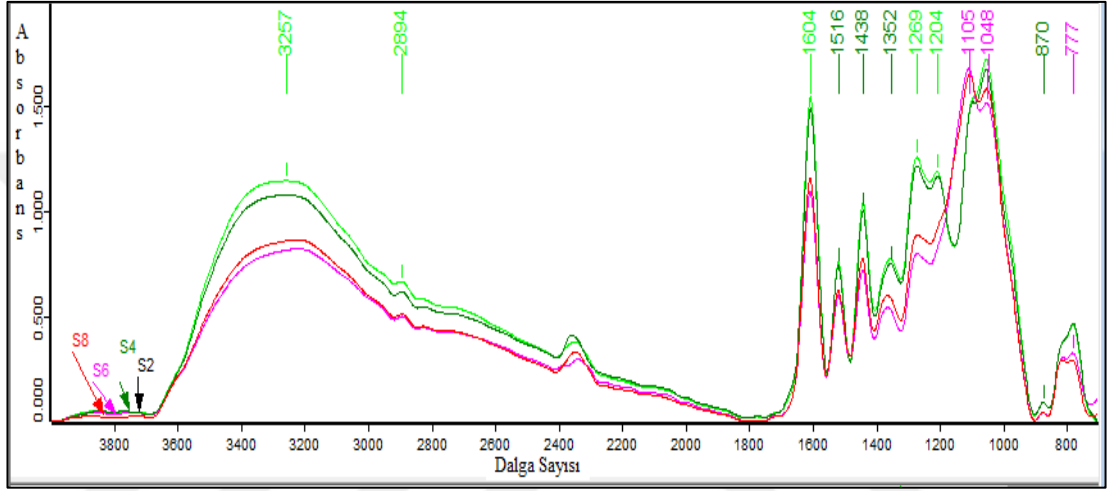
4.4 FTIR Analizi



Şekil 4.1 : Ekstraksiyon yöntemlerine göre FTIR spektrumlarının karşılaştırması

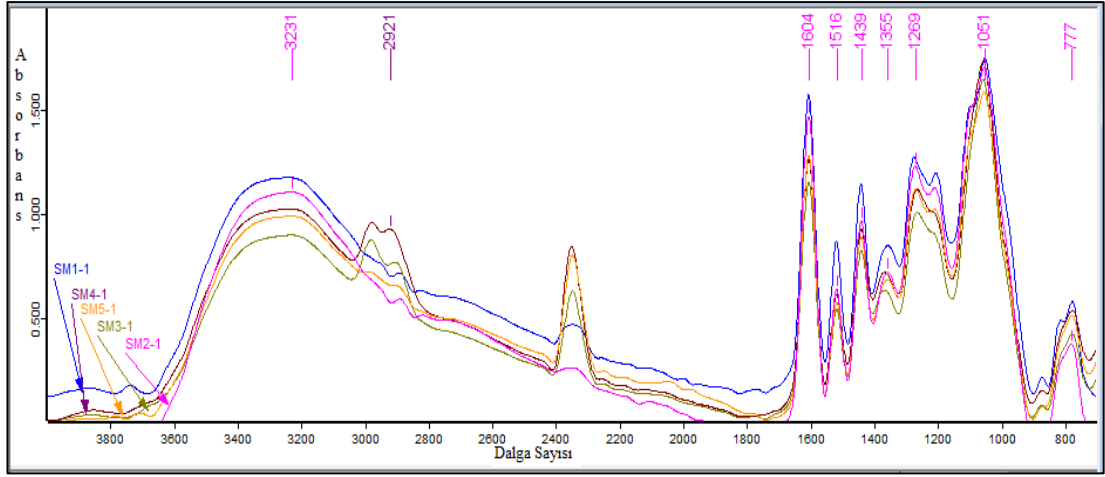
Şekil 4.1'de ekstraksiyon yöntemlerine göre elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları karşılaştırılmıştır. 3400-3200 cm^{-1} pik aralığındaki bant tanenlerde OH geriliminde görülebilir (Fernandez ve Agosin, 2007). Ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen tanen FTIR spektrumlarının tümünde bu aralıktaki piklere rastlanmıştır. 1604 cm^{-1} piki tüm örneklerde görülmüştür. Ancak bazı örneklerde pik şiddeti ufak artış ve azalış göstererek 1605 cm^{-1} ve 1604 cm^{-1} 'e kaymıştır. 1604 cm^{-1} piki aromatik -C=C- bağının varlığını gösterebilir (Pardeshi vd. 2013). Bu pikin kondanse tanenler için karakteristik olduğu söylenebilir. Tüm ekstraksiyon yöntemlerinden elde edilen tanenlerde gözlenen 1517 cm^{-1} pikinin kateşin birimlerinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Ricci vd. 2015). 1441 cm^{-1} piki metil ve metilen gruplarında deformasyon titreşimi olarak belirlenebilir. Bu pikler tüm örneklerde mevcut olup tanen ekstraktlarında metilat fonksiyonel gruplarının varlığı söylenebilir (Ricci vd.2015; Iswantini vd. 2012). 1440-1460 cm^{-1} pik aralığı ayrıca sahil çamının proantosiyanidin içerdiğini gösterebilir (Ogata ve Nakato, 2005). Kondanse tanenlerde bulunan piran halkasının C-O-C gruplarının simetrik gerilimi 1279 cm^{-1} 'de görülmektedir (Ricci vd. 2015; Kamal vd. 2010). Ancak bazı örneklerde bu pikte düşüşler meydana gelmiş ve pik 1277 cm^{-1} ve 1278 cm^{-1} pikine

kaymıştır. $1050-1165\text{ cm}^{-1}$ aralığı asimetrik C-O ve O gerilimi olduğunda ortaya çıktığı düşünülmektedir (Socrates, 2000; Ping vd. 2012). 864 cm^{-1} piki aromatik C-H bağında düzlem dışı eğilmenin varlığını gösterebilir (Pardeshi vd. 2013). Bu pik ekstraksiyon gruplarında düşük artış ve azalışlarla gözlenmektedir. 818 cm^{-1} piki tüm örneklerde kateşin aromatik-CH gerilimi olarak tanımlanırken 774 cm^{-1} gallokateşin için kullanılabilir (Ricci vd. 2015; Robb vd. 2002). Ayrıca $770-776\text{ cm}^{-1}$ bölgesi tanen ekstraktlarında C=C halkası bulunduğunu gösterebilir ve bu pik aralığı tannik asit için karakteristiktir (Ricci vd. 2015).

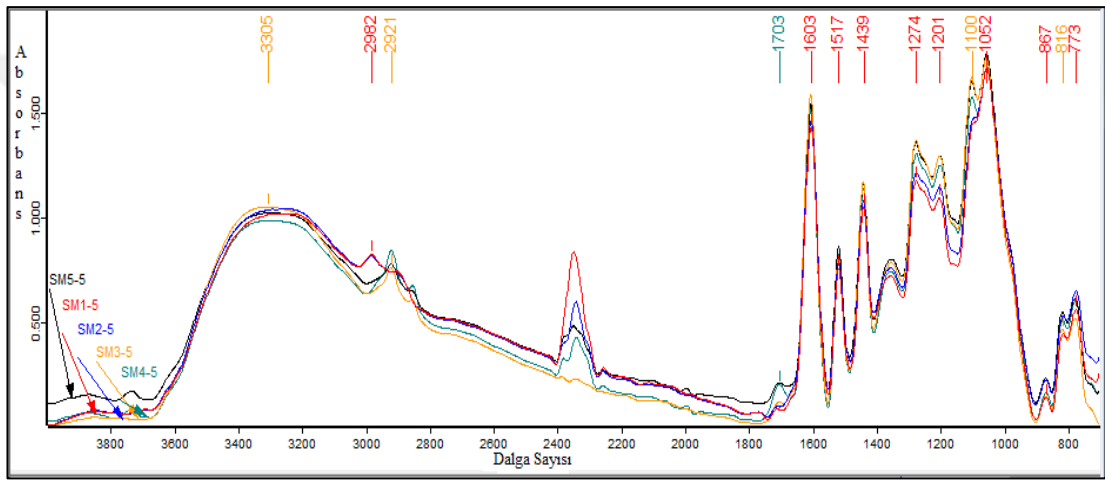


Şekil 4.2 : KSCE ile elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları

Şekil 4.2’ de klasik sulu çözelti ekstraksiyonu ile elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları gösterilmiştir. Sodyum karbonat ve sodyum sülfid ile yapılan ekstraksiyon örneklerinin (SK6-SK8) pikleri sadece su ile ekstraksiyon yapılmış örneklere (SK2-SK4) göre farklılık göstermektedir. 1105 cm^{-1} piki sodyum karbonat ve sodyum sülfidli örneklerde belirlenmiştir. Bu pikin karboksil gruplarını temsil ettiği ve C-O gerilimini, OH defarmasyonunu gösterdiği söylenebilir (Ricci vd. 2015). Sodyum sülfid ve sodyum karbonatlı ekstrakt tanenlerinin parmak izi bölgesinde belirgin şekilde görülen 1204 cm^{-1} piki ile C-O bağında benzen gerilimi olduğunu belirlenebilir. (Fan vd. 2012).

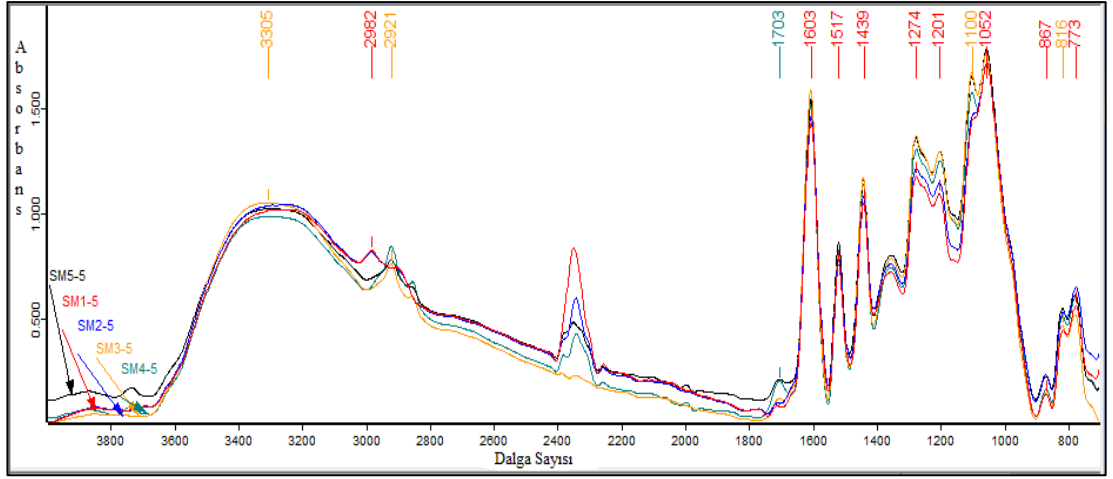


Şekil 4.3 : MAE 0:100 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları

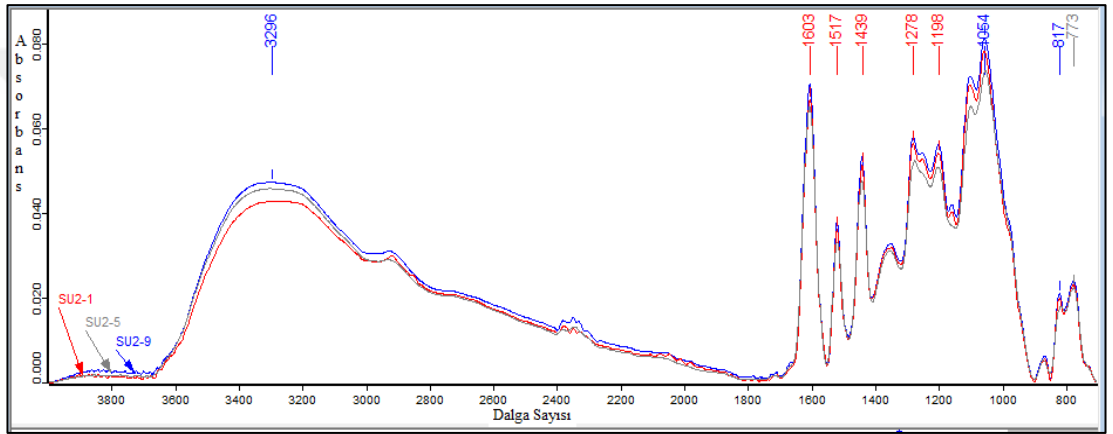


Şekil 4.4 : MAE 80:20 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları

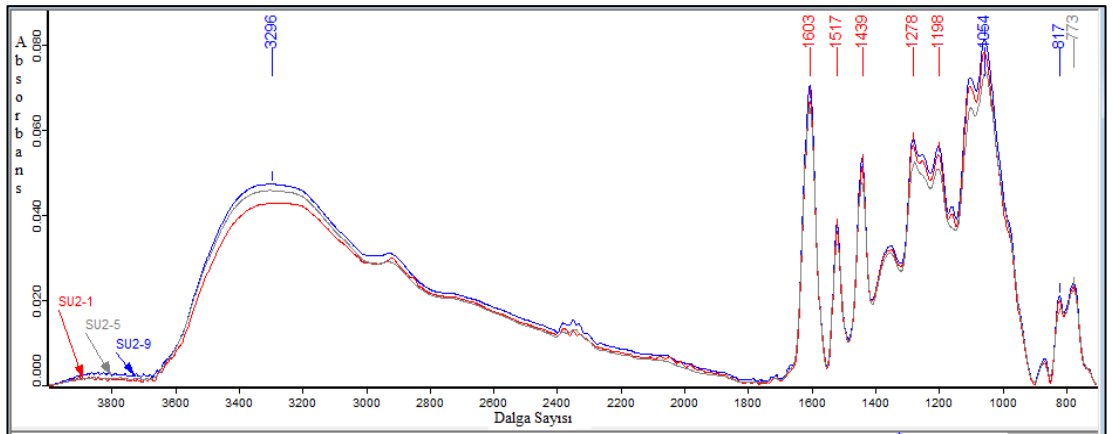
Şekil 4.3 ve Şekil 4.4 Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile elde edilen tanenlerin FTIR spektrumlarını göstermektedir. 3400-3200 cm^{-1} pik aralığındaki tanenlerin OH gerilimi 80:20 çözücü oranıyla elde edilen tanenlerde artış göstermiştir. 1703 cm^{-1} pikinin bulunması ile tanen ekstraktlarının -COOH grubunda güçlü iki hidrojen bağı içerdiği söylenebilir (Nie vd. 2005). Bu pik etanollü örneklerde mevcut iken su ile yapılan mikrodalga ekstraksiyonlarında ortaya çıkmamıştır.



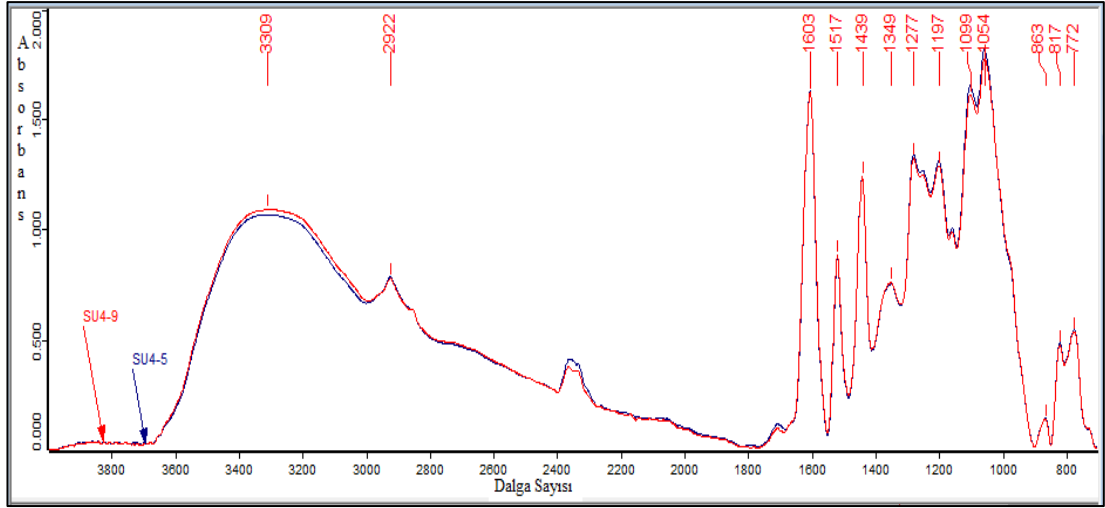
Şekil 4.5 : UAE 0:100 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları



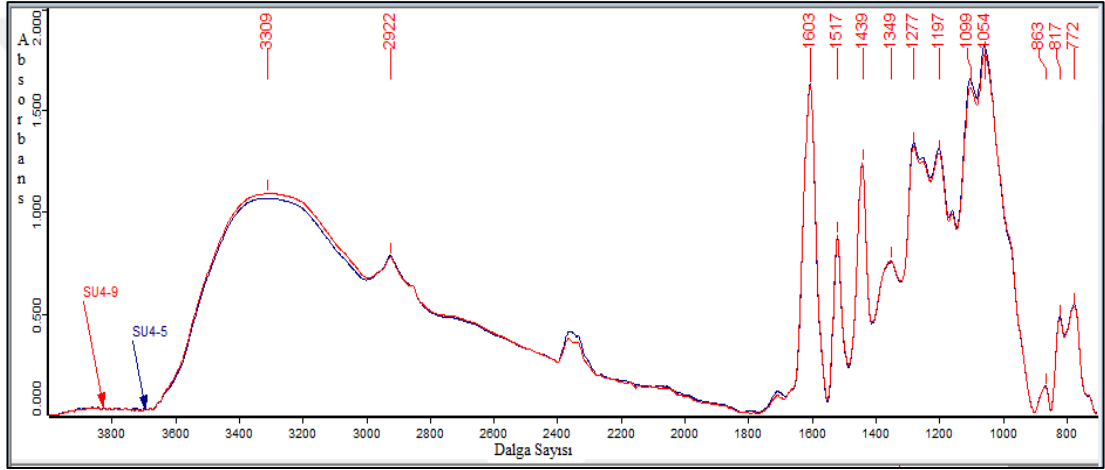
Şekil 4.6 : UAE 20:80 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları



Şekil 4.7 : UAE 40:60 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları



Şekil 4.8 : UAE 60:40 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları



Şekil 4.9 : UAE 80:20 çözücü oranında elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları

Ultrases destekli ekstraksiyon ile elde edilen tanenlerin FTIR spektrumları Şekil 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8 ve Şekil 4.9’da gösterilmiştir. 3200-3400 cm^{-1} pik aralığındaki OH gerilimi ekstraksiyondaki etanol çözücü miktarı arttıkça azalmıştır. Parmak izi bölgesindeki 1604 cm^{-1} , 1277 cm^{-1} , 1054 cm^{-1} ve 1439 cm^{-1} piki çözücü oranı değişmesine rağmen farklılık göstermemiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sahil çamı kabuğu için en yüksek ekstrakt verimi ve yüksek tanen içeriği değerleri klasik sulu çözelti ekstraksiyonu ve sokslet ekstraksiyonu yöntemlerine kıyasla gelişmiş ekstraksiyon tekniklerinden olan mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyonlarda elde edilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon ile ultrases destekli ekstraksiyon karşılaştırıldığında ise aynı kabuk ve çözücü oranlarında mikrodalga destekli ekstraksiyonunda daha yüksek verim ve stiasny değerleri bulunmuştur. Fenolik bileşik oranlarına bakıldığında da bu durum benzerdir.

Sahilçamı kabuğu örneğinin dört değişik ekstraksiyon metoduna göre verim ve stiasny sayıları değerlendirildiğinde klasik sulu çözelti ekstraksiyonunda farklı örneklerde maksimum 9,27 verim ve 109,52 stiasny sayısı değeri, sodyum sülfid ve sodyum karbonat içeren çözelti ekstraksiyonunda 16,15 maksimum verim ve 99,95 stiasny sayısı değerleri belirlenmiştir. Sokslet ekstraksiyonunda verim ve stiasny sayısı değerleri klasik ekstraksiyon yöntemi etanol ekstraksiyonunda benzer değerlerde iken aseton ekstraksiyonunda daha yüksek verim değerleri elde edilirken stiasny sayısı değerlerinde önemli düşüş görülmekte, metanol ekstraksiyonunda hem verim hem de stiasny sayısı değerleri daha düşük olmaktadır. Ultrases destekli ekstraksiyon 1:10 ve 1:20 kabuk:çözücü oranında 20:80 ve 40:60 etanol:su çözücü oranlarında en yüksek verim ve stiasny sayısı değerleri elde edilmektedir. 40°C ekstraksiyon sıcaklığı ve 5 dakika ekstraksiyon süresinde bile elde edilen bu değerler klasik sulu çözelti ekstraksiyonu sonuçlarına benzerdir. Sahilçamı kabuk örneği mikrodalga destekli ekstraksiyonu ile 90 W mikrodalga gücünde bile sahilçamı için çalışma kapsamındaki en yüksek verim değerleri belirlenmiştir. Sahilçamı örneği için mikrodalga destekli ekstraksiyonda optimum değerler 360 W mikrodalga gücünde 1:10 kabuk çözücü oranında belirlenmiştir. Sahilçamı örneğinde fenolik bileşik ve DNS indirgen şeker tayini sonuçlarına göre ekstraksiyon yöntemleri karşılaştırıldığında, proantosiyanidin miktarı artan sırayla sokslet ekstraksiyonu, klasik ekstraksiyon, ultrases destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli

ekstraksiyon şeklindedir. DNS indirgen şeker tayini sonuçlarına göre de en düşük değerler buna bağlı olarak safsızlık miktarı en yüksek tanen ekstraktı mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemiyle elde edilmiştir.

Sokset ekstraksiyonu ve klasik sulu çözelti ekstraksiyonu, yüksek miktarda solvent kullanımı ve uzun zamanlı ekstraksiyon süresi gerektirdiği için gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerine göre dezavantajlıdır. Ultrases destekli ekstraksiyon ve mikrodalga destekli ekstraksiyon ile kısa sürede ekstraksiyon işlemi yapılabilir.

Bilindiği üzere organik kimya endüstrisinde hammadde olarak petrol ve türevleri kullanılmaktadır. Bu ürünlerin gelecek yıllar içinde tükenecek olması kaçınılmaz bir gerçektir. Ayrıca petrol atıkları çevre içinde tehdit oluşturmaktadır. Ancak organik bir polimer olan kabuktan elde edilecek ürün ve yan ürünleri, petrol türevi ürünlere ikame olarak kullanmak mümkündür. Yapılan bu çalışmalarla atık olarak görülen kabuk ile çevre dostu hammadde üretmek mümkün olacaktır.

Ülkemizde orman işletmeleri ve ahşap işleyen endüstrilerden ortaya çıkan kabuğun ülkeye geri kazandırılması için ayrı bir yan kol kuruluşları kurulmalıdır. Ülkemizin kabuk potansiyeli ile ilgili istatistiksel bilgiler ortaya konulmalı ve kabuktan elde edilen ürünler üretilip bu ürünler gün geçtikçe iyileştirilmelidir.

Yüksek verim ve düşük maliyetle elde edilebilecek olan kabuk taneni ekstraktifleri, tıp ve eczacılık, kimya, boya endüstrisi, deri sanayisi gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ancak tanenlerin ekstraksiyon koşulları optimize edilerek enerji ve solvent kullanımı en aza indirilerek düşük miktarda yüksek verimle yararlanma sağlanabilir. Ekstraksiyon sonrası kalan artık kabuklar ise park bahçe düzenlemesinde kullanılabilir. Bu çalışmayla klasik sulu çözelti ekstraksiyonu ve sokset ekstraksiyonu gibi klasik yöntemler ile gelişmiş ekstraksiyon yöntemlerinden olan mikrodalga destekli ekstraksiyon ve ultrases destekli ekstraksiyon yöntemleri kıyaslanıp çeşitli denemeler yapılarak sahil çamı kabuk örnekleri için ekstraksiyon aşaması optimize edilmeye çalışılmıştır.

KAYNAKLAR

- Anşin, R. & Özkan, C.** (1993). *Tohumlu Bitkiler*, K.T.Ü. Orman Fak. Genel Yayın No: 167, Trabzon.
- Aspe, E. & Fernández, K.** (2011). The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark, *Industrial Crops and Products*, 34, 838-843.
- Aydın, S. & Üstün, F.** (2007). Tanenler kimyasal yapıları, farmakolojik etkileri, analiz yöntemleri, *İstanbul Üniv. Vet. Fak. Dergisi*, 33, 23-31.
- Ayla, C.** (1978). Tanen- Formaldehit Yapıştırıcıları, Yurdumuz Açısından Önemi, *Pinus brutia* Kabuk Ekstraktı İle Yapılan Ön Çalışmalar, *İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 28, 1, 234-256.
- Azmir, J., Zaidul, M., Rahman, M., Sharif, K., Mohamed, A., Sahena, F.** (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review, *Journal of Food Engineering*, 117, 426-436.
- Balaban, M.** (2003). *Orman ürünleri kimyası ders notları*, Basılmamış.
- Balaban, M.** (2004). Identification of the main phenolic compounds in wood of *Ceratonia siliqua* by GC-MS, *Phytochemical Analysis*, 15, 385-393.
- Banerjee, A., Dasgupta, N., De, B.** (2005). In vitro study of antioxidant activity of *Syzgium cumini* fruit. *Food Chemistry*, 90, 727-733.
- Başer, C.H.** (2002). Fonksiyonel gıdalar ve nutrasötikler. 14. *Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı*, Bildiriler, Eskişehir, 29-31 Mayıs.
- Baytop, T.** (1984). *Türkiye' de Bitkilerle Tedavi (Geçmişte ve Bugün)*. İstanbul Üniversitesi Yayınları No:3255, Eczacılık Fakültesi No:40, 1984.
- Benthin, B., Danz, H., Hamburger, M.** (1999). Pressurized liquid extraction of medicinal plants, *Journal of Chromatography*, 2, 211-219.
- Bisanda, E., Ogola, W.O., Tesha, J.V.** (2003). Characterization of tannin resin blends for particle board applications, *Cement & Concrete Composites*, 25, 593-598.
- Bogialli, S., D'Ascenzo, G., Corcia, A., Lagana, A., Nicolardi, S.** (2008). A simple and rapid assay based on hot water extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry for monitoring quinolone residues in bovine milk, *Food Chemistry*, 108, 354-360.
- Bozkurt, Y. & Erdin, N.** (2013). *Odun Anatomisi*, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi, İstanbul.
- Brahim, M., Gambier, F., Brosse, N.** (2014). Optimization of polyphenols extraction from grape residues in water medium, *Industrial Crops and Products*, 52, 18-22.

- Browning, B.L.** (1967). *Methods of Wood Chemistry*. Interscience Publishers, New York, London, Sydney.
- Camel, V.** (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 19, 229-248.
- Chupin, L., Maunu, S.L., Reynaud, S., Pizzi, A., Charrier, B., Bouhtoury, F.C.** (2015). Microwave assisted extraction of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark: Impact of particle size and characterization, *Industrial Crops and Products*, 65, 142-149.
- Chupin, L., Motillon, C., Bouhtoury, C.E., Pizzi, A., Charrier, B.** (2013). Characterisation of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark tannins extracted under different conditions by spectroscopic methods, FTIR and HPLC, *Industrial Crops and Products*, 49, 897– 903.
- Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., Madani, K.** (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from *Myrtus communis* L. Leaves, *Food Chemistry*, 166, 585-595.
- Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini, H., Cherbal E., Madani, K.** (2014) Pistacia lentiscus leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction, *Industrial Crops and Products*, 61, 31-40.
- Deniz, İ** (2013). Odun Dışı Orman Ürünleri Endüstrisi Ders Notları, KTÜ Orman Fakültesi, Trabzon.
- Dikmelik, Y.** (2013). *Deri Teknolojisi*. İzmir: Torbalı.
- Dorta, E., Lobo, M.G., Gonzales, M.** (2013). Optimization of Factors Affecting Extraction of Antioxidants from Mango Seed, *Food Bioprocess Technol*, 6, 1067-1081.
- Dönmez, İ. & Dönmez, Ş.** (2013). Ağaç kabuğunun yapısı ve yararlanma imkanları. *SDÜ Orman Fakültesi Dergisi*, 14, 156-162.
- Durmaz, S., Kuştaş, S., Özgenç, Ö., Yıldız, Ü.C.** (2016). Bazı Odun Kabuklarının Kimyasal Analizi, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4, 438-442.
- Eghball, B. & Lesoing, G.W.** (2000). Viability of weed seeds following manure windrow composting, *Compost Sci. Util.* 8, 46-53.
- Fan, M., Dai, D., Huang, B.** (2012). *Fourier Transform Infrared Spectroscopy for Natural Fibres*, Fourier Transform, Materials Analysis, Shanghai, China.
- Favre, M. & Landolt, D.** (1993). The Influence of Gallic Acid on the Reduction of Rust on Painted Steel Surfaces, *Corros Science*, 34, 1481-1494.
- Fengel, D. & Wegener, G.** (1984). *Wood: Chemistry, Ultrastructure and Reactions*. De Gruyter, Berlin.
- Fernandez, K. & Agosin, E.** (2007). Quantitative analysis of red wine tannins using Fourier transform mid-infrared spectrometry, *J. Agr. Food Chemistry*, 55, 7294–7300.
- Fuleki, T. & Francis, F.J.** (1968). Quantitative Methods for Antocyanins, *Food Science*, 33, 72-77.
- Geankoplis C.J.** (1983). *Transport Processes and Unit Operations*, Allyn and Bacon Inc., Boston.

- Ghasemzadeh A., Jaafar H., Karimi, E., Rahmat, A.** (2014). Optimization of ultrasound-assisted extraction of flavonoid compounds and their pharmaceutical activity from curry leaf (*Murraya koenigii L.*) using response surface methodology, *Complementary and Alternative Medicine*, 14, 318-321.
- Ghitescu, R.E., Volf, I., Carausu, C., Buhlmann, A.M., Gilca, L.A., Popa, V.I.** (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark, *Ultrasonics Sonochemistry*, 22, 535-541.
- Goel, G., Puniya, A.K., Singh, K.** (2005). Interaction of gut microflora with tannins in feeds, *Naturwissenschaften*, 92, 497-503.
- Govindarajan, V.S. & Mathew, A.G.** (1965). Anthocyanidins from Leucoanthocyanidins, *Phytochemistry*, 4, 985-988.
- Gönültaş, O.** (2013). *Doğu Ladini (Picea orientalis) ve Meşe (Quercus spp.) Kabukları Tanenin Biotutkal Üretiminde Kullanılması*, (Doktora Tezi), İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Gönültaş, O. & Balaban Uçar, M.** (2012). Fıstıkçamı (*Pinus pinea*) kabuğunun tanen bileşimi, *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, Özel Sayı: 80-84.
- Gross, G.G.** (1999). Enzymes in biosynthesis of Hydrolyzable Tannins, *Comprehensive natural product chemistry*, 3, 43-60.
- Guntero, V.A., Mancini, P.M., Kneeteman, M.N.** (2017). Introducing Organic Chemistry Students to the Extraction of Natural Products Found in Vegetal Species, *World Journal of Chemical Education*, 5, 142-147.
- Hafizoğlu, H.** (1982). *Orman Ürünleri Kimyası. Cilt:1 Odun Kimyası*. K.T.Ü. Orman Fakültesi. Trabzon.
- Harkin, J.M. & Rowe, J.W.9** (1971). Bark and its possible uses. USDA *Forest Service Research Note*. U.K.
- Harvey, D.J.** (2001). Identification of protein-bound carbohydrates by mass spectrometry, *Proteomics*, 1, 311-328.
- Haslam, E. & Cai, Y.** (1994). Plant polyphenols (vegetable tannins): gallic acid metabolism, *Nat. Prod. Rep.*, 11, 41-66.
- Haslam, E.** (1989). *Plant polyphenols*, Cambridge University Press: Cambridge U.K.
- Hu, R., Lin, L., Liu, T., Ouyang, P., He, B., Liu, S.** (2008). Reducing sugar content in hemicellulose hydrolysate by DNS method: a revisit, *Journal of Biobased Materials and Bioenergy*, 2, 156-161.
- Iswantini, D., Ramdhani, T.H. & Darusman, L.K.** (2012). In vitro inhibition of celery (*Apium graveolens L.*) extract on the activity of xanthine oxidase and determination of its active compound, *Indonesian Journal of Chemistry*, 12, 247-254.
- Jayme, G.** (1942). Preparation of cellulose with sodium chlorite, *Cellulosechemie*, 20, 43-49.
- Jerez, M., Pinelo, M., Sineiro, J., Nunez, M.J.** (2004). Influence of Extraction Conditions on Phenolic Yields from Pine Bark: Assessment of Procyanidins Polymerization Degree by Thiolytic, *Food Chemistry*, 94, 406-414.

- Kahkonen, M.P., Hopia, A., Heinonen, M.** (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity, *Journal Agricultural Food Chemistry*, *49*, 4079-4161.
- Kamal, S.S.K., Sahoo, P.K., Vimala, J., Premkumar, M., Ram, S., Durai, L.** (2010). A novel green chemical route for synthesis of silver nanoparticles using *Camellia sinensis*, *Acta Chimica Slovenica*, *57*, 808–812.
- Karonen, M., Hamamainen, M., Nieminen, R., Klika, K. D., Loponen, J., Ovcharenko, V. V., Moilanen, E., Pihlaja, K.** (2004). Phenolic extractives from Bark of *Pinus Sylvestris* L. and their effects on inflammatory mediators nitric oxide and prostaglandin, *J. Agric. Food Chem.*, *52*, 7532-7570.
- Kedlaya, K.J.** (1971). Chemistry and Technology of Vegetable Tannins, *Leather Science*, *18*, 75-87.
- Kellner, A., Otto, M., Widmer, H.M.** (2004). Sample Preparation, in *Analytical Chemistry: Modern Approach to Analytical Science*, 506-508.
- Khanbabaee, K. & Ree, T.** (2001). Tanens: Classification and definition, *Nat. Prod. Rep.*, *18*, 641–649.
- Khoddami, A., Ghazali, H.M., Yassoralipour, A., Ramakrishnan, Y, Ganjloo, A.** (2011). Physicochemical Characteristics of Nigella Seed (*Nigella sativa* L.) Oil as Affected by Different Extraction Methods, *J am Oil Chemistry Society*, *88*, 533-540.
- Khoddami, A., Wilkes, M.A., Roberts, T.H.** (2013). Techniques for Analysis of Plant Phenolic Compounds, *Molecules*, *18*, 2328-2335.
- Kılıçarıslan, Ç.** (2011). *Ultrasound Yöntemi ile Meşe Palamudundan Tanen Ekstraksiyonu ve Ekstraktın Tabaklayıcı Özelliklerine Etkisinin Araştırılması*, (Yüksek Lisans Tezi). Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.
- Koch, P. & Mullen, J.F.** (1971). Bark from southern pine may find as fuel. *Forest Ind.*, *98*, 36-37.
- Kono, S., Ikeda, M., Tokudome, S., Kuratsume, M.** (1988). A case-control study of gastric cancer and diet in northern kyushu, *Jap. J. Cancer Res.*, *79*, 1067-1074.
- Kuo, C.H., Chen, B.Y., Liu, Y.C., Chang, C.M., Deng, T.S., Chen, J.H., Shieh, C.J.** (2014). Optimized Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Polygonum cuspidatum*, *Molecules*, *19*, 67-77.
- Kuppusamy, U. & Das, N.P.** (1993). Protective effects of tannic acid and related natural compounds on *Crotalus adamanteus* subcutaneous poisoning in mice, *Pharmacol Toxicol*, *72*, 290-295.
- Kurt, R. & Mengeloğlu, F.** (2006). Potential utilization of bark residues in Turkey, *1st International Non-wood Forest Products Symposium*, Trabzon, November 1-4.
- Li, Y., Skouroumounis, G.K., Elsey, G.M., Taylor, D.K.** (2011). Microwave-assistance provides very rapid and efficient extraction of grape seed polyphenols, *Food Chemistry*, *129*, 570-578.
- Li, Y., Tixier, A., Vian, M., Chema, F.** (2013). Microwave-Assisted Extraction of Antioxidants and Food Colors, *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds*, *5*, 103-125.
- Martin, R.E. & Gray, G.R.** (1971). pH of southern pine barks, *Forest Product Journal*, *21*, 49-52.

- Miller, G.L.** (1959). Use of DNS reagent for determination of reducing sugars, *Analytical Chemistry*, 31, 426-428.
- Nie, B., Stutzman, J. Xie, A.** (2005). A Vibrational Spectral Marker for Probing the Hydrogen-Bonding Status of Protonated Asp and Glu Residues, *Biophysical Journal*, 88, 2833-2847.
- Norin, T.** (1989). Stilbenes, coniooids, and other polyaryl natural products, *Natural Products of Woody Plants I*, 5, 512-533.
- Nunes, E, Quilho, T., Pereira, H.** (1996). Anatomy and Chemical Composition of Pinus Pinaster Bark, *IAWA Journal*, 17, 141-149.
- Ogata, T. & Nakano, Y.** (2005). Mechanisms of gold recovery from aqueous solutions using a novel tannin gel adsorbent synthesized from natural condensed tannin, *Water Res.*, 39, 4281–4286.
- Özacar, M. & Şengil, A.** (1998). Tanin Kimyası ve Teknolojisi, *SAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 1, 79-85.
- Özdemir, H.** (2010). *Endüstride Önemli İbrelı Ağaç Kabuklarından Tanen Üretimi ve Üretilen Tanenlerin Lif Levhada Tutkal Olarak Değerlendirilmesi*. (Doktora tezi). İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Pardeshi, S., Dhodapkar, R., and Kumar, A.** (2013). Quantum chemical density functional theory studies on the molecular structure and vibrational spectra of Gallic acid imprinted polymers. *Spectrochim. Acta A*, 116, 562–573.
- Perez, M., Blustein, G., Garcia, M., Amo, B., Stupak, M.** (2012). Cupric tannete: A low copper content antifouling pigment, *Progress in Organic Coatings*, 55, 311-315.
- Perry, R.H. & Green, D.** (1985). *Perry's Chemical Engineers' Handbook*, 6th ed., Mc Graw Hill., New York.
- Ping, L., Gambier, F., Pizzi, A., Guo, Z.D., Brosse, N.** (2012). Wood adhesives from agricultural by products: Lignin and tannins for the elaboration of particleboards, *Cellulose Chemistry and Technology*, 46, 457–462.
- Pinto, I.** (2004) Raw Material characteristics of Maritime Pine (*P.pinaster* Ait.) and their influence on simulated sawing yield, *Helsinki University of Technology Department of Forest Products Technology*, 533, 114-118.
- Pizzi, A & Stephanou, A.** (1994). Fast vs. Slow-reacting non-modified tannin extracts for exterior particleboard adhesives, *Holz als Roh-und Werkstoff*, 52, 218-222.
- Pizzi, A.** (1983). Tannin-based Wood Adhesives, Chapter 4 in *Wood Adhesives Chemistry and Technology*, Marcel Dekker, New York, 177-246.
- Pizzi, A.** (2006). Recent developments in eco-efficient bio-based adhesives for wood bonding: opportunities and issues, *J. Adhesion Sci. Technologies*, 20, 829-846.
- Poole, C., Mester, Z., Miro, M., Bjergaard, S.** (2016). Glossary of terms used in extraction, *Pure Appl. Chemistry*, 88, 517-558.
- Ricci, A., Olejar, K.J., Parpinello, G.P., Kilmartin, P.A., Versari, A.** (2015). Application of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy in the Characterization of Tannins, *Applied Spectroscopy Reviews*, 50, 407-442.

- Robb, C.S., Geldart, S.E., Seelenbinder, J.A., Brown, P.R.** (2002). Analysis of green tea constituents by HPLC-FTIR, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 25, 787–801.
- Rowell, R.M.** (2005). *Handbook of wood chemistry and wood composites*, CRC Press, United States.
- Saatçioğlu, F.** (1969). *Silvikültürün Biyolojik Esasları ve Prensipleri*, İ.Ü Orman Fakültesi Dergisi, 138, 323-326.
- Sakai, K.** (2001). *Chemistry of Bark In: Wood and Celulosic Chemistry*, 243-274, New York, Basel.
- Samaram, S., Mirhosseini, H., Tan, C.P., Ghazali, H.M.** (2013). Ultrasound-assisted extraction and solvent extraction of papaya seed oil: Crystallization and thermal behavior, saturation degree, color and oxidative stability, *Industrial Crops and Products*, 52, 702-708.
- Shahid, M., Islam, S., Mohammad, F.** (2013). Recent advancements in natural dye applications: A review, *Journal of Cleaner Production*, 53, 310-331.
- Singleton, V.L. & Rossi, J.A.** (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic phosphotungstic Acid Reagents, *American Journal Of Enology And Viticulture*, 16, 144-158.
- Sjöström, E.** (1981). *Wood Chemistry Fundamentals and Applications*. Academic Pres Inc, San Diego, California, USA.
- Smith B.** (1972). Detection and Determination of Ellagitannins, *Phytochemistry*, 11, 1153-1156.
- Socrates, G.** (2000). *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts*, 3rd ed. John Wiley & Sons: Chichester, UK.
- Şen S., Hafızoğlu H., Kanat M.** (2002). Bazı Bitkisel Ekstraktların ve Tanenlerin İnsektisit Olarak Odun Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 5, 86-98.
- TAPPI T-203 om-99 standarts on alpha-beta and gamma-cellulose in pulp.** (1983). Atlanta Georgia.
- TAPPI T-204 om-88 standarts on solvent extractives of wood and pulp.** (1992). Atlanta Georgia.
- TAPPI T-207 om-88 standarts on water solubility of wood and pulp.** (1992). Atlanta Georgia.
- TAPPI T-211 om- 85 standarts on ash in wood and pulp.** (1992). Atlanta Georgia.
- TAPPI T-212 om-88 standarts on one percent sodium hydroxide solubity of wood and pulp.** (1992). Atlanta Georgia.
- Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., Akkaya, Z.** (2009). Ultrasound-assisted extraction of antioxidant materials from by-products of plant food processing. *Journal of Food*, 34, 3, 175-182.
- Tenney, M.W.** (1970). Fly-ash utilization. *Compost Sci.*, 11, 25, 237-268.
- Torres, C.F, Torrelo, F.J, Senorans, F.J., Reglero, G.** (2009). Supercritical fluid fractionation of fatty acid ethyl esters from butteroil, *J Dairy Sci.*, 92, 1840-1845.

- Tunçtaner, K.** (2007). *Orman Genetiği ve Ağaç Islahı*, Türkiye Ormancılar Derneği Eğitim Dizisi.
- Türüdü, A.** (1993). *Bitki Besleme ve Gübreleme Tekniği*. KTÜ Basımevi, Yayın No:171, Trabzon.
- Umezawa, T.** (2001). *Chemistry of extractives*, In Wood and Cellulosic Chemistry, New York-Basel: Marcel Dekker.
- Vazquez, G., Alvarez, J.G., Freire, S., Suevos, F.L., Antorrena, G.** (2001). Characteristics of Pinus pinaster bark extracts obtained under various extraction conditions, *Holz als Roh- und Werkstoff*, 59, 451-456.
- Vazquez, G., Antorrena, G., Gonzalez, J.** (1994). Studies the composition of Pinus Pinaster foliage, *Bioresource Technology*, 51, 83-87.
- Walton, H.F.** (1966). *Principles and Methods of Chemical analysis* 2nd Edition, New Delhi.
- Wise, L.E., Murphy, M., D'addieco, A.A.** (1946). Chlorite holocellulose, its fractionation and beaning on summative wood analysis and studies on the hemicellulose, *Pap. Trade J.*, 122, 35-43.
- Yazaki, Y. & Hillis, W.E.** (1977). Polyphenolic Extractives of Pinus radiata Bark, *Holzforschung*, 31, 20-25.
- Yuso, M., Lagel, M.C., Pizzi, A., Fierro, V., Celzard, A.** (2014). Structure and properties of rigid foams derived from quebracho tannin, *Materials and Design*, 63, 208-212.
- Zolfaghari, B. & Iravani, S.** (2011). Essential Oil Constituents of the Bark of Pinus pinaster from Iran, *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 3, 15, 348-351.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Nur SARIALAN
Doğum Tarihi ve Yeri : 22.01.1990 BURSA
E-posta : nursarialan@gmail.com



ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2014, Bartın Üniversitesi, Orman Fakültesi, Orman Mühendisliği

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 115R069-Değişik Ekstraksiyon Yöntemlerinin Kabuk Taneni Verimi ve Kimyasal Bileşimi Üzerine Etkisi, Tubitak Projesi, Proje Bursiyeri, 2015-2016.
- Tanen Ekstraktiflerinin Doğal Bir Ahşap Koruyucu Madde Olarak Antifungal Özelliklerinin Değerlendirilmesi, BTÜ BAP Projesi, Araştırmacı, 2015-2016.

DİĞER ESERLER, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Gönültaş, O. ve Sarialan, N.** (2017). Phenolic composition of bark tannin from Taurus Cedar (*Cedrus libani*), *Kastamonu University Journal of Forestry Faculty*, 17, 4, 594–602.