

**SÜPERKRİTİK KARBON DİOKSİT EKSTRAKSİYON METODU  
İLE ATIK ÇAY LİFLERİ VE SAPLARINDAN  
KAFEİN ELDESİ**

**Hacer İÇEN**

**DOKTORA TEZİ  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EYLÜL 2008  
ANKARA**

Hacer İÇEN tarafından hazırlanan SÜPERKRİTİK KARBON DİOKSİT EKSTRAKSİYON METODU İLE ATIK ÇAY LİFLERİ VE SAPLARINDAN KAFEİN ELDESİ adlı bu tezin Doktora Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Metin GÜRÜ

Tez Danışmanı, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hamza YILMAZ

Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Prof. Dr. Metin GÜRÜ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Ahmet YAŞAR

Kimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Mübeccel ERGUN

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. Ayşe MURATHAN

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Tarih: 11/09/2008

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTAN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## **TEZ BİLDİRİMİ**

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Hacer İÇEN

**SÜPERKRİTİK KARBON DİOKSİT EKSTRAKSİYON METODU İLE ATIK  
ÇAY LİFLERİ VE SAPLARINDAN KAFEİN ELDESİ**  
(Doktora Tezi)

**Hacer İÇEN**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Eylül 2008**

**ÖZET**

Kafein ( $C_8H_{10}O_2N_4$ ) temel yapısını pürinin oluşturduğu bir alkaloiddir. Çay, kahve, kola nut, mate (Paraguay çayı) ve az miktarda kakaoda bulunur. Kafein en çok kolalı içeceklerde, uyarıcı ve kas gevşetici etkisinden dolayı da ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

Kafein, sentetik metotlarla ve çay, kahve gibi bazı bitkilerden ekstraksiyonla olmak üzere iki yöntemle elde edilmektedir. Çayda kuru maddede kütlece % 3-4, çay saplarında yaklaşık % 1 oranında kafein bulunmaktadır. Yapılan deneysel çalışmada; hiçbir ekonomik değeri olmayan çay bitkilerinin sap ve lif atıkları kullanılmıştır. Süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu metodu ile çay atıklarından kafein ekstrakte edilmiş ve HPLC ile kantitatif analizi yapılmıştır.

Deneysel çalışmalar sonucunda; ekstraksiyon süresi 420 dakika, karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, sıcaklık  $60^{\circ}C$ , basınç 250 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,202 mm maksimum kafein verimini sağlayan optimum şartlar olarak tespit edilmiştir. Deneysel olarak belirlenen optimum şartlarda; çay saplarından 15,20 mg kafein/g kuru atık çay oranında kafein elde edilmiştir. İkinci çözücü etkisini incelemek için etanol kullanılmış ve optimum şartlar; etanol/ CO2 oranı 5,23 g

etanol/100 g CO<sub>2</sub>, ekstraksiyon süresi 180 dakika, sıcaklık 65 °C, basınç 250 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,202 mm olarak belirlenmiş ve bu şartlarda 14,95 mg kafein/g kuru atık çay oranında kafein elde edilmiştir. Etanol ilavesi ile daha kısa sürede daha fazla kafein ekstrakte edilebildiği gözlenmiştir. Ayrıca kütle transfer katsayısı için matematiksel model geliştirilmiştir. Basınç 250 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,202 mm, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika sabit tutularak gerçekleştirilen deneyler sonucunda 60°C için kütle transfer katsayısı  $k_L=2,078.10^{-8}$  m/dakika, aynı sabit şartlarda kütlece %5 etanol, %95 CO<sub>2</sub> ile ekstraksiyon tekrarlandığında  $k_L=3,724.10^{-8}$  m/dakika olarak hesaplanmıştır. Dolayısıyla etanol kullanıldığında kütle transfer katsayısının yaklaşık 1,8 kat arttığı gözlenmiştir.

**Bilim Kodu** : 912.1.023

**Anahtar Kelimeler** : Kafein, süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu, atık çay

**Sayfa Adedi** : 109

**Tez Yöneticisi** : Prof. Dr. Metin GÜRÜ

**OBTAINING CAFFEINE THROUGH WASTE TEA FIBER AND STALKS  
BY MAKING USE OF THE SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE  
EXTRACTION METHOD**

**(Ph.D. Thesis)**

**Hacer İÇEN**

**GAZİ UNIVERSITY  
INSTITUTE OF SCIENCES AND TECHNOLOGY**

**September 2008**

**ABSTRACT**

**Caffeine ( $C_8H_{10}O_2N_4$ ) is an alkaloid which is formed through its basic structure, purine. The ingredients are tea, coffee, cola, nut, mate ( Paraguay tea) and cacao on a limited scale. Caffeine is mostly used in drinks with cola and commonly utilized in the medicine industry for its activating and muscle relaxant effect.**

**Caffeine is obtained by two methods; through synthetic methods or through extraction of some plants like tea and coffee. In the dry element of tea, there is 3-4% caffeine in the mass and approximately 1% in the tea stalks. In this experimental study, the wastes of tea fibers and stalks, which do not have any economic value, are used. By making use of the supercritical carbon dioxide extraction method, caffeine is extracted from the tea wastes and quantitative analysis is realized through HPLC.**

**At the end of the experimental studies, the optimum conditions that provide maximum caffeine production are determined as extraction period 420 minutes, flow rate of carbon dioxide 11 g/ min, temperature 60°C, pressure 250 bar,**

mean particle size 0,202 mm. In these optimum conditions which are detected through experiments, caffeine is obtained from the tea leaves in the proportion of 15,20 mg caffeine/g dry waste tea. Ethanol is added in order to analyse the effect of the co-solvent and the optimum conditions are identified as ethanol/CO<sub>2</sub> ratio 5,23 g ethanol/100 g CO<sub>2</sub>, extraction period 180 minutes, temperature 65 °C, pressure 250 bar, mean particle size 0,202 mm and in these conditions caffeine is obtained in the proportion of 14,95 mg caffeine/g dry waste tea. It is observed that more caffeine can be extracted in a shorter period with the addition of ethanol. Additionally a mathematical model has been developed concerning the mass transfer coefficient. At the results of the experiments which are realized under fixed circumstances as; pressure 250 bar, mean particle size 0,202 mm, CO<sub>2</sub> flow rate 10 g/min, mass transfer coefficient for 60°C is calculated as  $k_L=2,078.10^{-8}$  m/min; and on repeating the extraction at the same fixed conditions with %5 ethanol and %95 CO<sub>2</sub> by weight, it is calculated as  $k_L=3,724.10^{-8}$  m/min. Consequently it has been observed that mass transfer coefficient is increases approximately 1.8 times when ethanol is utilized.

Science Code : 912.1.023  
Key Words : Caffeine, supercritic carbondioxide extraction, waste tea  
Number of Pages : 109  
Advisor : Prof. Dr. Metin GÜRÜ

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca değerli bilgi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren danıőman hocam Prof. Dr. Metin GÜRÜ' ye, yine kıymetli tecrübelerinden faydalandığım hocalarım Prof. Dr. Mübeccel ERGUN ve Prof. Dr. Ahmet YAŞAR' a özverilerini esirgemeyen mesai arkadaşlarıma ve Birim Amirim, Sağlık Bakanlığı Proje Direktörü Adnan YILDIRIM'a, manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan sevgili aileme teşekkür ederim.

Ayrıca 2001K120590 no'lu DPT projesine ve 06/2006-18 no'lu Gazi Üniversitesi BAP projesine teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
ÖZET .....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvii
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİ VE LİTERATÜR ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. Çay Bitkisi.....	4
2.1.1. Yeşil çayın kimyasal yapısı.....	5
2.1.2. Çay teknolojisi.....	8
2.1.3. Siyah çayın kimyasal yapısı.....	10
2.2. Kafein.....	11
2.2.1. Kafeinin kimyasal özellikleri.....	15
2.2.2. Kafeinin fiziksel özellikleri.....	15
2.2.3. Kafeinin kullanım alanları.....	19
2.2.4. Kafeinin sağlık üzerine etkileri .....	20
2.2.5. Kafeinin üretim metotları.....	25
2.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu.....	32
2.3.1. Süperkritik akışkan.....	32
2.3.2. Süperkritik akışkanların özellikleri.....	33

**Sayfa**

2.3.3. Süperkritik akışkanın seçimi .....	33
2.3.4. Süperkritik akışkanların çözme gücü.....	35
2.3.5. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu.....	37
2.3.6. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun avantajları.....	38
2.3.7. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun dezavantajları.....	40
2.3.8. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunu ile bitkilerden kafein ekstraksiyonu.....	40
3. DENEYSEL ÇALIŞMA.....	59
3.1. Numune Hazırlama .....	59
3.2. Cihazlar .....	59
3.3. Deneysel Metodu ve Kimyasal Maddeler.....	59
3.3. Parametreler .....	61
4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA .....	63
4.1. Süperkritik Karbon Dioksit Ekstraksiyonu Sonuçları.....	63
4.1.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi.....	63
4.1.2. Karbon dioksit akış hızının etkisi .....	65
4.1.3. Sıcaklık etkisi.....	67
4.1.4. Basıncın etkisi.....	69
4.1.5. Tanecik büyüklüğünün etkisi .....	71
4.2. Süperkritik Karbon Dioksit+Etanol Ekstraksiyonu Sonuçları.....	72
4.2.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi.....	74
4.2.2. Sıcaklık etkisi.....	76
4.2.3. Basıncın etkisi.....	77

**Sayfa**

4.2.4. Tanecik büyüklüğünün etkisi .....	79
4.3. Optimum Şartlarda Elde Edilen Kafein Miktarları .....	80
4.4. Kütle Transfer Katsayısı İçin Matematiksel Model Geliştirilmesi .....	81
4.4.1. Matematiksel model geliştirilmesi için süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu sonuçları .....	82
4.4.2. Matematiksel model geliştirilmesi için süperkritik karbon dioksit+etanol ekstraksiyonu sonuçları .....	85
5. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE ÖNERİLER .....	89
5.1. Süperkritik CO <sub>2</sub> Ekstraksiyonu ile Kafein Eldesi İçin Belirlenen Optimum Şartlar .....	89
5.2. Süperkritik CO <sub>2</sub> +Etanol Ekstraksiyonu ile Kafein Eldesi İçin Belirlenen Optimum Şartlar .....	89
5.3. Kütle Transfer Katsayısı Sonuçları ve Değerlendirilmesi .....	91
KAYNAKLAR .....	92
EKLER .....	97
EK-1 Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi .....	98
EK-2 Kromatografi cihazı (HPLC) .....	103
EK-3 Standart çözeltilere ait kromatogram .....	105
EK-4 Kalibrasyon doğrusu .....	106
EK-5 Örnek kromatogram (Basınç 200 bar, sıcaklık 55 °C, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika, süre 60 dakika) .....	107
EK-6 Örnek kromatogram (Basınç 200 bar, sıcaklık 55 °C, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika, süre 480 dakika) .....	108
ÖZGEÇMİŞ .....	109

## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Genç çay sürgünlerindeki önemli bileşenlerin yaklaşık yüzdeleri .....	6
Çizelge 2.2. Suda çözünen siyah çay bileşenlerinin bazıları .....	11
Çizelge 2.3. Kafeinli bitkilerin içerdikleri kafein miktarları .....	13
Çizelge 2.4. Bazı içeceklerdeki kafein miktarları .....	14
Çizelge 2.5. Çay bitkisinin değişik yapraklarında bulunan kafein miktarları.....	14
Çizelge 2.6. Kafeinin değişik sıcaklıklardaki çözünürlüğü .....	16
Çizelge 2.7. Kafeinin bazı halojenli hidrokarbonlardaki çözünürlüğü .....	17
Çizelge 2.8. Kafeinin diğer organik çözücülerdeki çözünürlüğü .....	18
Çizelge 2.9. Toz kafeinin özellikleri .....	20
Çizelge 2.10. Akışkanların fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması .....	33
Çizelge 2.11. Bazı süperkritik akışkanların fizikokimyasal özellikleri .....	34
Çizelge 2.12. Süperkritik CO <sub>2</sub> 'nin değişik sıcaklık ve basınçtaki yoğunluk ve viskoziteleri .....	37
Çizelge 3.1. Parametreler ve çalışma aralıkları .....	62
Çizelge 4.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi (sıcaklık 55 °C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika) .....	64
Çizelge 4.2. Karbon dioksit akış hızının etkisi (sıcaklık 55 °C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika).....	66
Çizelge 4.3. Sıcaklık etkisi (karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika) .....	68
Çizelge 4.4. Basınç etkisi (karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, sıcaklık 60 °C, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm,	

<b>Çizelge</b>	<b>Sayfa</b>
Çizelge 4.5. Tanecik büyüklüğünün etkisi (Sıcaklık 60°C, basınç 250 bar, karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, ekstraksiyon süresi 420 dakika).....	71
Çizelge 4.6. Etanol etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, sıcaklık 50°C, basınç 250 bar, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika, ekstraksiyon süresi 120 dakika) .....	73
Çizelge 4.7. Ekstraksiyon süresinin etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, sıcaklık 50°C, basınç 250 bar, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> )).....	75
Çizelge 4.8. Sıcaklık etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, basınç 250 bar, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> ), ekstraksiyon süresi 180 dakika).....	76
Çizelge 4.9. Basınç etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, Sıcaklık 65°C, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> ), ekstraksiyon süresi 180 dakika).....	78
Çizelge 4.10. Farklı sıcaklıklarda zamana göre değişen kafein konsantrasyonları (mg/L).....	82
Çizelge 4.11. Farklı sıcaklıklarda zamana göre değişen kafein konsantrasyonları (mg/L).....	86
Çizelge 5.1. Süperkritik CO <sub>2</sub> ekstraksiyonu için deneysel olarak belirlenen optimum şartlar.....	89
Çizelge 5.2. Süperkritik CO <sub>2</sub> +Etanol ekstraksiyonu için deneysel olarak belirlenen optimum şartlar.....	90

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.1. Pürin, ksantin, teofilin, teobromin ve kafeinin yapı fomülleri .....	12
Şekil 2.2. Kafeinin kafeidine dönüşme reaksiyonu .....	15
Şekil 2.3. Ürik asitten kafein sentezi .....	26
Şekil 2.4. Siyanoasetik asitten kafein sentezi .....	27
Şekil 2.5. Saf bir madde için sıcaklık-basınç diyagramı.....	32
Şekil 2.6. CO <sub>2</sub> 'nin indirgenmiş yoğunluk değerinin indirgenmiş sıcaklık ve indirgenmiş basınçla değişimi.....	36
Şekil 2.7. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sisteminin şematik gösterimi.....	38
Şekil 2.8. Toplam CO <sub>2</sub> ' miktarına karşı ekstrakte edilen toplam kafein miktarı (CO <sub>2</sub> akış hızı 1,2-1,8 g/dakika).....	41
Şekil 2.9. Toplam CO <sub>2</sub> ' miktarına karşı ekstrakte edilen toplam tiyofilin miktarı (CO <sub>2</sub> akış hızı 1,2-1,8 g/dakika) .....	42
Şekil 2.10. Toplam CO <sub>2</sub> ' miktarına karşı ekstrakte edilen toplam tiyobromin miktarı (CO <sub>2</sub> akış hızı 1,2-1,8 g/dakika) .....	42
Şekil 2.11. Toplam CO <sub>2</sub> ' miktarına karşı ekstrakte edilen toplam kafein miktarı (CO <sub>2</sub> akış hızı 1,2-1,8 g/dakika, 70°C, 255 bar).....	43
Şekil 2.12. Kafeinin farklı sıcaklık ve basınçlarda süperkritik karbon dioksit içerisindeki çözünürlükleri.....	44
Şekil 2.13. Ekstraksiyon süresine karşı ekstrakte edilen kafein miktarı (0,9-1,2 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı, 70°C sıcaklık, 255 bar basınç).....	45
Şekil 2.14. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (400 bar basınç, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	46
Şekil 2.15. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (100 bar basınç, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	46
Şekil 2.16. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (70°C sıcaklık, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı).....	47

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.17. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (400 bar basınç, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	47
Şekil 2.18. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (100 bar basınç, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	48
Şekil 2.19. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (70°C sıcaklık, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	48
Şekil 2.20. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (70°C sıcaklık, 200 bar basınç, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	49
Şekil 2.21. Ekstraksiyon süresine karşı guarana Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (70°C sıcaklık, 200 bar basınç, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	49
Şekil 2.22. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (40°C sıcaklık, 400 bar basınç).....	50
Şekil 2.23. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (70°C sıcaklık, 400 bar basınç).....	50
Şekil 2.24. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (400 bar basınç, 9,4 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	51
Şekil 2.25. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (40°C sıcaklık, 5,7 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı) .....	51
Şekil 2.26. Ekstraksiyon veriminin sıcaklıkla değişimi (300 bar basınç, 543,7 µm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı (4,6 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> ), zaman 120 dakika).....	52
Şekil 2.27. Ekstraksiyon veriminin basınçla değişimi (70°C sıcaklık, 543,7 µm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı (4,6 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> ), zaman 120 dakika).....	53
Şekil 2.28. Ekstraksiyon veriminin karbon dioksit akış hızıyla değişimi (70°C sıcaklık, 300 bar basınç, 543,7 µm tanecik büyüklüğü, zaman 120 dakika) .....	53
Şekil 2.29. Ekstraksiyon veriminin ekstraksiyon süresi ile değişimi (70°C sıcaklık, 300 bar basınç, 236,5 µm tanecik büyüklüğü 11,5 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı (4,6 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> )).....	54

<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 2.30. Ekstraksiyon veriminin ekstraksiyon süresi ile değişimi (70°C sıcaklık, 300 bar basınç, 5,5-17,4 mm tanecik büyüklüğü 11,5 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı (4,6 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> )).....	55
Şekil 2.31. Su ilavesinin ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi (0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı, 300 bar, 70°C, 120 dakika).....	56
Şekil 2.32. Etanol ilavesinin ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi (0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı, 300 bar, 70°C, 120 dakika).....	56
Şekil 2.33. Sıcaklığın ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi (0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı, (4,6 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> ) 300 bar, 120 dakika) .....	57
Şekil 2.34. Basıncın ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi (0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO <sub>2</sub> akış hızı, (4,6 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> ), 70°C, 120 dakika) .....	58
Şekil 3.1. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu sistemi akım şeması.....	61
Şekil 4.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi (sıcaklık 55 °C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika) .....	65
Şekil 4.2. Karbon dioksit akış hızının etkisi (sıcaklık 55 °C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika).....	67
Şekil 4.3. Sıcaklık etkisi (karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika) .....	69
Şekil 4.4. Basınç etkisi (karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, sıcaklık 60 °C, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika) .....	70
Şekil 4.5. Tanecik büyüklüğünün etkisi (Sıcaklık 60°C, basınç 250 bar, karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, ekstraksiyon süresi 420 dakika).....	72



<b>Şekil</b>	<b>Sayfa</b>
Şekil 4.6. Etanol etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, sıcaklık 50°C, basınç 250 bar, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika, ekstraksiyon süresi 120 dakika) .....	74
Şekil 4.7. Ekstraksiyon süresinin etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, sıcaklık 50°C, basınç 250 bar, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> )).....	75
Şekil 4.8. Sıcaklık etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, basınç 250 bar, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> ), ekstraksiyon süresi 180 dakika).....	77
Şekil 4.9. Basınç etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, Sıcaklık 65°C, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO <sub>2</sub> ), ekstraksiyon süresi 180 dakika).....	79
Şekil 4.10. E <sub>b</sub> denge kesrinin zamana bağlı değişimi .....	83
Şekil 4.11. ln(1-E <sub>b</sub> )'nin zamana karşı değişimi.....	84
Şekil 4.12. Alıkonma süresinin sıcaklıkla değişimi.....	84
Şekil 4.13. E <sub>b</sub> fraksiyonel dönüşümün zamana bağlı değişimi .....	86
Şekil 4.14. ln(1-E <sub>b</sub> )'nin zamana karşı değişimi.....	87
Şekil 4.15. Alıkonma süresinin sıcaklıkla değişimi.....	87

## SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

<b>Simgeler</b>	<b>Açıklama</b>
<b>A</b>	Tanecik yüzey alanı (m <sup>2</sup> )
<b>C<sub>A</sub></b>	t zamanındaki A'nın konsantrasyonu (mg/L)
<b>C<sub>As</sub></b>	Tanecik yüzeyinde A'nın konsantrasyonu (mg/L)
<b>E<sub>b</sub></b>	Denge kesri
<b>ρ</b>	Yoğunluk (kg/m <sup>3</sup> )
<b>ρ<sub>c</sub></b>	Kritik yoğunluk (kg/m <sup>3</sup> )
<b>k<sub>L</sub></b>	Kütle transfer katsayısı (m/dakika)
<b>N<sub>A</sub></b>	Ak1 (kg/m <sup>2</sup> ·dakika)
<b>P</b>	Basınç (bar, MPa)
<b>P<sub>c</sub></b>	Kritik basınç (bar, MPa)
<b>t</b>	Zaman (dakika)
<b>T</b>	Sıcaklık (°C, K)
<b>T<sub>c</sub></b>	Kritik sıcaklık (°C, K)
<b>τ</b>	Alıkonma zamanı (dakika)

### Kısaltmalar

<b>LD<sub>50</sub></b>	Oral toksik doz
<b>MLD</b>	Minimum Lethal Dose (minimum öldürücü doz)
<b>TS</b>	Türk Standartları
<b>TÜİK</b>	Türkiye İstatistik Kurumu
<b>USP</b>	United States Pharmacopeia

## 1. GİRİŞ

Kafein ( $C_8H_{10}N_4O_2$ ); çay, kahve ve kakaoda bulunan, temel yapısını pürinin oluşturduğu bir alkoloiddir. Kafein gıda sektöründe yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle kolalı içecekler en yaygın kullanım alanıdır. Ayrıca uyarıcı ve kas gevşetici etkisinden dolayı ilaç sektöründe de kullanılmaktadır.

Kafein üretimi, sentetik reaksiyonlarla ve bitkilerden ekstraksiyon yoluyla olmak üzere iki metotla gerçekleştirilmektedir. Sentetik metotlarla üretimi, ürik asitten sentezi ve Traube Sentezi ile yapılmaktadır. Ayrıca kakao, çay ve kahve gibi bitkilerden de kafein elde etmek mümkündür. Günümüzde kafeinin büyük bir bölümü kafeinsiz kahve üretiminin yan ürünü olarak elde edilmektedir. Doğrudan kahve veya çay kullanılarak kafein üretilmesinde, bitki tekrar kullanılamadığından maliyet yüksek olmaktadır. Özellikle çaydan üretiminde kafein elde edildikten sonra çay, aromasını büyük ölçüde kaybettiğinden tekrar içecek olarak kullanılamamaktadır. Kafeinsiz çay ya da kahve üretiminde de, önemli kriter içeceğin aroma ve bileşenler açısından kalitesi olduğundan, gerekli şartlar bu özelliklere göre oluşturmakta, dolayısıyla kafein eldesi ikinci planda kalmaktadır. Kafeinin yan ürün olarak elde edilmesi durumunda kafein verimi, bitkiden doğrudan kafein ekstraksiyonuna göre daha düşüktür.

Ülkemiz dünya çay üretiminde %6 ile beşinci sıradadır. Türkiye İstatistik Kurumu 2007 yılı verilerine göre yılda 1 192 004 ton yaş çay yaprağı (217 541 ton kuru çay yaprağı) siyah çay üretiminde kullanılmaktadır [1]. Koşullara uygun olarak hasat edilen çayda atık madde oranı ortalama %4 iken, ülkemizde ise bu oranın en iyimser bir tahminle %10 olduğu belirtilmektedir. Dolayısıyla yılda yaklaşık 21 750 ton kuru çay yaprağı ve sapı çay üretiminde kullanılamamakta ve atılmaktadır.

Çay atıklarında bulunan kafein miktarları yaklaşık %1-3 arasında değişmektedir. Ülkemizde çay atıklarının araştırılması 1960 yıllarına kadar gider. Hindistan ve Japonya gibi çay atıklarından ticari olarak kafein üreten ülkelere bilgi alışverişi

yapılmış ve kafein üretimi tesisinin Türkiye’ de kurulması için ön fizibilite çalışmaları bir Hindistan firması ile yapılmıştır. Çalışmalar bu safhada kalmış ve konunun üzerinde ileriki yıllarda ilgilenilmemiştir. Birçok üniversite ve fakülteler çayda kafeinin belirlenmesi araştırmalarında bulunmuşlar, fakat bu girişimler ticari olarak çay atıklarından kafein üretimini amaçlamamıştır.

1974-1975 yıllarında Sezik, Türk çay atıklarının kafein yönünden ticari değerlendirilmesi için çalışma yapmış, proje Çay Kurumu ve Türkiye Bilimsel ve Teknik Araştırma Kurumu’ca desteklenmiştir. Proje sonucunda;

- Ülkemiz çay sanayiinde atıkların gerçek miktarının tam belirlenmiş olmadığı,
- Endüstriyel kafein üretimi için pilot tesisin kurulması,
- Kafein tesisinin Çay-Kur Genel Müdürlüğü tarafından kurulması gerektiğini,
- Kafein üretim tesisinin kurulması ile ilaç ve meşrubat sanayinin kafein yönünden dışa bağımlılıktan kurtulabileceğini belirtmiştir.

1979-1980 yıllarında Marmara Bilimsel ve Endüstriyel Araştırma Enstitüsü ile Çay Kurumu Genel Müdürlüğü arasında yapılan sözleşme ile çay atıklarından kafein eldesini gerçekleştirmek üzere proje geliştirilmiştir. Proje sonucunda; Türkiye’ de sentetik kafein üretiminin hammadde ithali nedeniyle ekonomik olmadığı, çay tarımı atıklarının Türkiye’ nin ihtiyacını karşılayacak kadar kafein içerdiği ve ekonomik olarak üretilebileceği belirtilmiştir. 1982 yılında Çay Kurumu Genel Müdürlüğü çay atıklarından kafein imal edecek proses için uluslararası bir ihale açmış ve ihaleyi bir Alman firma kazanmıştır, fakat bu proje gerçekleştirilmemiştir. 1992 yılında bu konu ‘‘Kafein+Doğal Gübre Üretimi Entegre Tesisleri’’ olarak tekrar gündeme gelmiş fakat hayata geçirilememiştir.

Deneysel çalışmalarda, çay üretiminde kullanılmayan, çay bitkilerinin sap ve lif atıkları, kafein eldesinde hammadde olarak kullanılmıştır. Bu atıkların hiçbir ekonomik değeri yoktur ve sadece yakacak ya da hayvan yemi olarak değerlendirilmektedir. Türkiye İstatistik Kurumu 2007 yılı verilerine göre yılda ithal edilen kafein miktarı 67 169 kg

ve değeri 728 487 \$' dır [2]. Sadece ay fabrikası atıkları değerlendirilerek kafein üretebilecek bir proses kurulduğunda, tümü ithalat yoluyla karşılanan kafein ihtiyacının bu şekilde giderilmesi mümkün olacaktır.

## 2. GENEL BİLGİ VE LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

### 2.1. Çay Bitkisi

Çay, çaygiller (Theaceae) familyasından küçük bir ağaç olan *Camellia Sinensis*'e verilen addır. Çay bitkisinin derimsi ve kenarları dişli yaprakları vardır. Olgun bir çay yaprağı, çayın çeşidine göre farklılık gösterir; uzunluğu 3,8-25 cm arasında değişir. Çiçekleri beyaz renkli ve hoş kokuludur. Meyve üç gözlü kapsül şeklindedir.

Çay bitkisi, botanikte Angiosperm çiçek açanlar bölümünden Dikotiledon sınıfından ve Theaceae ya da *Camellia* familyasındadır. Çay bitkisinin, botanikçiler tarafından genellikle kabul edilen bilimsel adı, *Camellia Sinensis (L.) O. Kuntze'* dir. Çay bitkisinin, morfolojik farklılıklar gösteren üç çeşide sahip olduğu hususunda botanikçiler görüş birliği içindedir. Bunlar; Çin Çayı, Assam Çayı ve Kamboçya Çayıdır. Ülkemizdeki çay ekim alanlarında, her üç tipin de örnekleri olduğu bilinmektedir. Aynı çaylıkta bile, birden çok melezin yan yana bulunabildiği gözlenmiştir. Aslında Doğu Karadeniz çaylarının kökeni olan Gürcistan çayları, Çin çayı karakteri yüksek olan melezlerdir. Zaten, bölgedeki iklim şartları, Assam ve Kamboçya tiplerinin verimli olarak yetiştirilmesine elverişli değildir.

Çay, Çin kökenli olduğuna inanılan bir bitkidir. Başlangıçta ilaç olarak kullanılan çay, giderek yaygınlaşmış milattan sonra 6. yüzyılda gündelik bir içecek haline gelmiştir. Çin'den; önce Hindistan ve Japonya'ya, daha sonra da Seylan, Güney- Doğu Asya, Pakistan, İran ve Rusya'ya yayılan çay; 20. yüzyılın ilk çeyreğinde, Kenya, Tangonika, Rodezya, Nyazaland, Uganda, Mozambik gibi Afrika ülkelerinde yetiştirilmeye başlanmıştır [3-5].

Yurdumuzda çay yetiştirme denemeleri ilk defa 1888-1892 tarihleri arasında, Japonya'dan getirilen çay tohumları ile Bursa'da yapılmıştır. Çayın yetişmesi için gerekli ekolojik şartlar bulunmadığından bu denemeden başarılı sonuç alınamamıştır. 1917 yılında Ali Rıza Erten, Batum ve çevresinde çay yetiştirdiğini dikkate alarak, Rize

ve çevresinde de çay yetiştirilebileceğini saptamıştır. 1924 yılında Rize'de; Rusya'dan getirilen tohum ve fidanlarla ilk çay yetiştirme denemeleri yapılmıştır. 1940 yılında çıkarılan 3788 sayılı kanunla ülkemiz çaycılığı güvenceye kavuşmuştur. Böylece, ilk çay fabrikası 1947 yılında Rize'de kurulmuştur [7].

Günümüzde, Doğu Karadeniz Bölgesi'nin, Hopa'dan Ordu'ya kadar uzanan, 15-20 km genişliğinde uzun bir sahil şeridinde çay tarımı yapılmaktadır. Türkiye İstatistik Kurumu 2007 yılı verilerine göre yılda 76 625 hektar alanda 1 192 004 ton yaş çay yaprağı (217 541 ton kuru çay yaprağı) elde edilmiştir [1].

Ülkemiz dünya çay üretiminin % 6'sını gerçekleştirmekte; Hindistan, Çin, Sri Lanka ve Rusya'dan sonra beşinci sırada yer almaktadır. Kişi başına 2,2 kg'ı aşan yıllık tüketim ile Hindistan, Çin, Rusya, İngiltere, İrlanda, Irak ve Kuveyt'ten sonra gelmektedir [7].

### **2.1.1. Yeşil çayın kimyasal yapısı**

Çay üretimi için, bitkinin dal uçlarındaki sürgünler koparılır ve işlenir. Yeşil çay yaprağının kimyasal bileşimi yaşı ile yakından ilgili olduğu için, daha çok sayıda bulunan sürgünler, çay kalitesini bozarlar. Çünkü, işleme basamağında meydana gelen kimyasal olaylar ve sonuç olarak mamül çayın bileşimi, yeşil yaprağın yapısına bağlıdır. "İki buçuk yaprak" terimi ile adlandırılan ideal çay sürgünlerinin kimyasal bileşimi; coğrafi duruma, iklime, ışık görme şansına ve toprağın besleyiciliğine göre değişebileceği gibi, sürgün verme mevsimi ile de yakından ilgilidir. Çizelge 2.1'de Assam çayının iki buçuk yaprak tanımına uygun sürgünlerin kimyasal bileşimi verilmiştir [4, 5].

Fenolik maddeler (polifenoller), çayın en çok dikkat çeken bileşenleridir. Flavanoller, flavonoller ve flavonol glikozitler, flavandioller ve fenolik asitler olmak üzere 4 ana grup altında toplanırlar. Çayın işlenmesinde büyük önem taşıyan ve miktarca en fazla bulunan (% 20) flavanoller kateşinler ve gallokateşinler ile birlikte bunların gallatları

oluşturmaktadır. Çay bitkisinde genç yapraktan yaşlıya doğru gidildikçe polifenollerin miktarı azalır. Nitelikli çay üretimi için körpe çay yaprakları ile tomurcuğun kullanılmasının temel nedeni de bu olgudur. Wickremasighe genç yapraktan yaşlıya doğru gidildikçe polifenollerin miktarının % 25 ile % 35 arasında değiştiğini belirtmiştir [3].

Çizelge 2.1. Genç çay sürgünlerindeki önemli bileşenlerin yaklaşık yüzdeleri [4, 5]

Bileşen	% Miktarı (Kuru madde üzerinden)
<u>Soğuk Suda Çözünenler</u>	
Flavanoller : Epigallokateşin gallat	9-13
Epigallokateşin	3-6
Epikateşin gallat	3-6
Epikateşin	1-3
Gallokateşin	1-2
Kateşin	1-2
Flavonoller ve flavonol glikozitler	3-4
Flavondioller (Leucoantosiyonidler)	2-3
Fenolik asitler: Teogallin	2
Diğerleri	2
Fenolik maddeler toplamı	~ 30
Kafein	3-4
Amino asitler: Theanin	2
Diğerleri	2
Karbonhidratlar	4
Organik asitler	0,5
<u>Sıcak Suda Kısmen Çözünenler</u>	
Polisakkaritler: Nişasta	2-5
Diğerleri	12
Protein	15
Kül (İnorganik maddeler)	5
<u>Suda Çözünmeyenler</u>	
Selüloz	7
Lignin	6
Lipidler	3
Pigmentler	0,5
<u>Uçucu Maddeler</u>	0,01-0,02



Çayın, bir içecek olarak yaygınlaşması, yapısındaki alkaloid miktarının yüksekliği ile ilgili olabilir. Çünkü kahve ve kakaonun yapılarında da alkaloid vardır. Bu alkaloidlerin en yaygın olan kafeinin çaydaki varlığı ilk olarak 1827'de Oudry tarafından keşfedilmiştir [4]. Bu konu ile ilgili geniş bilgi Bölüm 2.2'de verilecektir.

Proteinler ve amino asitler, kuru madde üzerinden çayın yaklaşık %15-23' ünü oluşturur. Bu proteinlerin büyük bir kısmı suda çözünmez. Bitkilerde rastlanan yaygın amino asitler çayda da mevcuttur. Bunlara ek olarak, çaya özgü bir amino asit olan "theanin" de teşhis ve izole edilmiştir. 8-N-etil glutamin yapısında olan bu maddenin yeşil çay yaprağındaki miktarı %2 dolayındadır. Yeşil çaydaki proteinler, "soldurma" denilen işlem basamağında, yapraktaki peptidaz enziminin etkisi ile kısmen parçalanırlar ve serbest amino asitlerin miktarında önemli artışlar olur. Theanin miktarında böyle bir artışın görülmemesi, bu maddenin, önemli ölçüde peptitleşmediğini düşündürmektedir. Genel olarak, çay fermentasyonunda meydana gelen polimer karakterli polifenolik maddeler proteinlerle kompleksleşerek çöktükleri için; yaprakta aşırı miktarda protein ve amino asit bulunması çayın kalitesini olumsuz yönde etkiler.

Çayda bulunan karbonhidratları; sakkaroz, fruktoz, maltoz, glikoz, arabinoz, riboz, rafinoz ve ramnoz şekerleri oluşturur. Yapraktaki toplam miktarları % 4 dolayında olan bu bileşiklerin, çay işlenirken, bir yandan polifenolik maddelerle etkileşerek kısmen harcandıkları, bir yandan da çay aromasına katkıda buldukları bildirilmiştir.

Bitkisel dokularda çok yaygın bir madde olan nişastanın da, çayda % 1-5 arasında bulunduğu bilinmektedir. Çayın yaklaşık olarak % 12'sini oluşturan pektin ve benzeri maddeleri ile pentozonlar da karbonhidrat sınıfından bileşiklerdir.

Klorofil, diğer bitkiler gibi çayda da bulunur. Yeşil yapraklardaki klorofil oranı, % 0,5 dolayındadır. Bu bileşik hidrofob karakterli olduğundan, sudaki çözünürlüğü çok azdır. Bu nedenle, çay demleri üzerinde önemli bir etkisi yoktur. Fakat, demden geriye kalan posanın rengi, klorofilin parçalanma derecesi ve dolayısıyla işlemin uygunluğu

ile yakından ilgilidir. Çünkü, klorofilin A ve B ile karakterize edilen iki ayrı formu da, işleme sırasında parçalanarak phaephytin A ve phaephytin B adı verilen iki ayrı renkli maddeye dönüşürler.

Bir başka pigment sınıfı olan karotenoidler, taze çay sürgünlerinin yaklaşık % 0,05' ini oluşturur. Bu maddeler, yeşil çay yapraklarının işlenip siyah çaya dönüşmeleri esnasında parçalanarak, çayın içimi üzerinde önemli olduğu bilinen aroma maddelerine dönüşürler.

Siyah çay yapraklarının % 4-8 arasında kül içerdiği bilinmektedir. Çay işleme basamaklarında, su kaybı dışında önemli bir kütle değişimi olmadığından, yeşil çaydaki kül miktarının da bu düzeyde olduğu söylenebilir.

Çay yapraklarında, buraya kadar sayılan bileşik gruplarının yanı sıra, her bitkide bulunan lignin, yağ asidi ve mum türünden lipidler bulunur [4, 5].

### **2.1.2. Çay teknolojisi**

Çay bitkisinin körpe yaprakları ile tomurcuğunun değişik yöntemlerle işlenmesi sonucu, siyah ve yeşil çay üretilir. Siyah çay ile yeşil çayın üretimleri arasında en önemli ayrım, siyah çay üretiminde fermantasyonun uygulanmış olmasıdır. Fermantasyona tabi tutulmayan yeşil çayın bardaktaki rengi yeşil, ayva sarısıdır. Yeşil çay, Çin ve Japonya başta olmak üzere, bunlara komşu ülkeler ile Cezayir, Fas ve Tunus' ta içilir. Siyah çay ise anılan ülkeler dışındaki tüm ülkelerde yaygındır. Dünya çay endüstrisi ve ticaretin yaklaşık % 97' sini siyah çay oluşturur.

Dünyada siyah çay üretiminde, Ortodoks, Triturator, C.T.C ve Rotorvan yöntemleri uygulanmaktadır. Yurdumuzda siyah çay Ortodoks yöntemine göre üretilir. Bu yöntemine göre, fabrikaya gelen yeşil çay yaprakları bekletilmeden, 14-18 saat süre ile soldurma işlemine tabi tutulur. Soldurma işlemi, açık havada gölgede, güneş enerjisi ile sağlanabilir. Ayrıca bu işlemin döner kurutma silindirlerinde, kuru sıcak hava

üflenerek gerçekleştirilmesi de mümkündür. Soldurmada amaç, çay yapraklarında % 76 civarında olan su miktarını % 60 dolayına düşürmektir. Kimyasal açıdan, bu işlem sırasında meydana gelen en önemli olay, proteinlerin, yapraktaki peptidaz enziminin etkisi ile kısmen parçalanarak serbest amino asitlere dönüşmesidir. Ayrıca kafein ve çözünebilir karbonhidrat miktarlarında yükselme olur ve hücre zarlarının geçirgenliği artar.

Soldurulmuş çay yaprakları kıvrırma işlemine tabi tutulur. Uygulanan basınç altında, yaprakların kırılmadan kıvrılması sağlanır. Kıvrırma esnasında, basınç nedeniyle bitki hücreleri parçalanır ve özsu dışarı çıkar. Elemek suretiyle kıvrılan materyal ayrılır. Kıvrırma, 24-26 °C oda sıcaklığında ve % 85-95 bağıl nemde yapılır.

Siyah çay üretiminde, fermantasyon en önemli işlemdir. Bu aşamada, polifenol oksidaz enziminin yardımıyla polifenoller, havanın oksijen ile yükseltgenirler. Ortodoks yönteminde fermantasyon, ortalama 26°C sıcaklıkta, % 85-95 bağıl nemde ve yaklaşık 3,5 saat süre içerisinde gerçekleştirilir. Çayın rengi ve aroması büyük ölçüde, fermantasyonun uygun şekilde yapılmasına bağlıdır. Fermantasyon anında meydana gelen biyokimyasal ve kimyasal değişimler sonucu, çay yapraklarının rengi bakır kırmızısına dönüşür.

Fermantasyonu tamamlanmış çay yaprakları, kurutma fırınlarında 88-95°C' da 20-24 dakika süre ile kurutulur. Kurutma anında ortamda bulunan enzimler, bakteriler, mantarlar ve mikroorganizmalar etkisiz hale dönüşürler ve çayda nem oranı % 3-4'e düşer. Fırından çıkan ve sıcaklığı 84°C'un üstünde olan çayın, kısa sürede soğutulması gerekir. Aksi halde, çok yanık tat alır ve niteliği bozulur. Soğuma esnasında nem oranı % 6'ya kadar yükselir. Daha sonra, eleme, harmanlama ve paketleme işlemleri yapılmak suretiyle, siyah çay tüketiciye ulaştırılır [3-5].

#### **2.1.4. Siyah çayın kimyasal yapısı**

Yeşil çay, siyah çaya dönüşürken bir seri kimyasal yapı değişikliğine uğrar. Bu değişiklikler sonunda, flavanollerin % 90' ı, flavandiollerin tamamı, flavonollerin % 20' si, fenolik asitlerin bir kısmı harcanır. Ayrıca karotenoidler ve yağ asitleri gibi bazı az miktardaki bileşenleri de parçalanarak uçucu aroma maddelerine dönüşürler. Serbest amino asitler de, bir yandan proteinlerin parçalanmaları sonucu artarken bir yandan da kompleks oksidasyon ürünlerinin yapısına katılarak veya parçalanıp uçucu aroma maddelerine dönüşerek azalır.

Sonuç olarak, elde edilen siyah çayın kimyasal bileşimi, yeşil çayınkinden farklı ve karmaşıktır. Piyasaya sunulan işlenmiş çaylardaki suda çözünebilir toplam madde miktarı % 32-45 arasında değişir. Bu maddelerin başlıcaları, çaydaki yaklaşık yüzdeleri ile birlikte Çizelge 2.2.'de verilmiştir.

Yeşil çaydaki alkolooidler, çayın işleme basamaklarında önemli bir değişikliğe uğramaz. Bitkinin yapısındaki nükleik asitlerin parçalanması sonucu, alkolooid miktarında, az da olsa bir artış olur. Bu bileşiklerin çaydaki başlıca temsilcisi kafeindir. Kuru madde üzerinden miktarı % 3-4 civarında olan kafeinden başka 60 ppm düzeyinde teobromin ve 1,5 ppm düzeyinde teofilin bulunmuştur [4].

Kafein, çay demlerinde, kısmen serbest, kısmen de theaflavinlerle kompleksleşmiş halde bulunur. Roberts'a göre, kafein-theaflavin kompleksi çayın çeşni ile yakından ilgilidir. Çay kalitesinin böyle bir kompleksin oluşumundan etkilendiği kabul edilmez. Kafein konsantrasyonu ile kalite arasında doğrudan bir ilişkinin bulunmayışı için de bir açıklama bulunabilir. Söz konusu kompleksin 1:1 oranında oluştuğu dikkate alınrsa, eşit yüzdelerde kafein ve theaflavin içeren bir çay deminde, moleköl ağırlığı 194 olan kafeinin yaklaşık üçte biri, 564 moleköl ağırlıklı theaflavinin tümünü kompleksleştirmeye yeter. Theaflavin ve kafeinin çaydaki yüzdeleri (sırasıyla % 1-2 ve % 3-4) birbirine yakın olduğuna göre, kafein miktarı arttıkça kompleks miktarı artmaz, yani kalitede bir değişme gözlenmez [4, 7].

Çizelge 2.2. Suda çözünen siyah çay bileşenlerinin başlıcaları [4, 5]

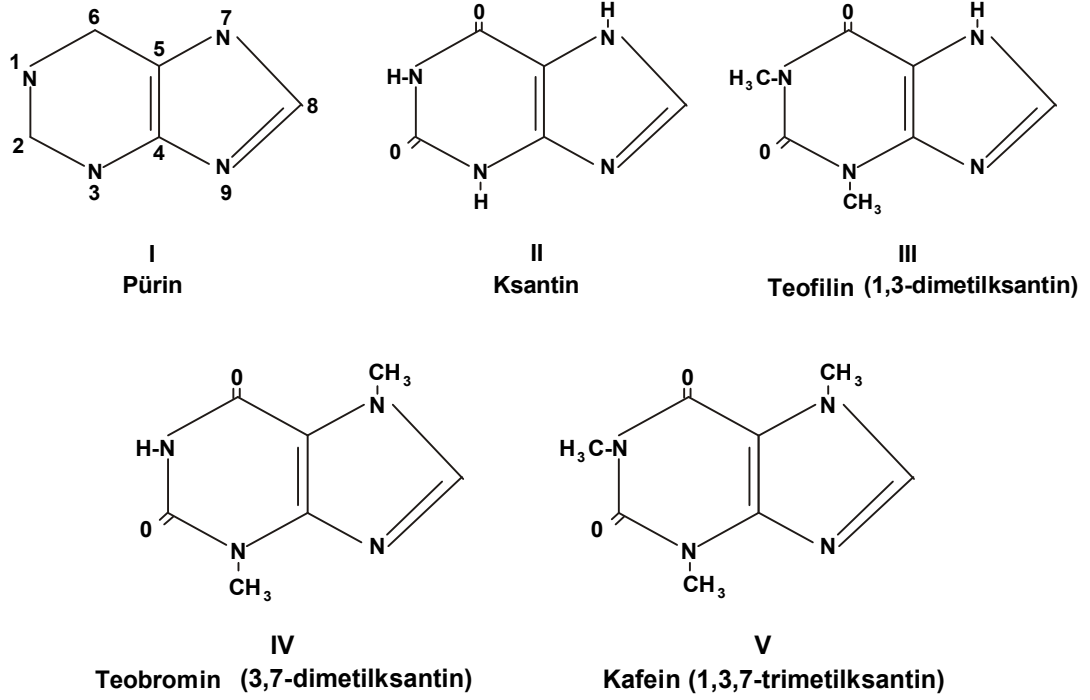
Bileşen	% Miktarı (Kuru madde üzerinden)
<u>Suda çözünenler</u>	
Oksitlenmemiş flavanoller	1-3
Flavonoller ve flavonol glikozitler	2-3
Fenolik asitler	4
Theaflavinler	1-2
Diğer fenolik maddeler (Thearubiginler, vb.)	7-17
Kafein	3-4
Amino asitler ve peptitler	5
<u>Kısmen çözünenler</u>	
Protein	15
Polisakkarit	14
Mineral maddeler (kül)	4,5-9
Aroma maddeleri	eser

## 2.2. Kafein

Kafein (V), temel yapısını pürinin oluşturduğu bir grup alkaloidin ticari anlamda en önemli olan üyesidir. Pürin (I) grubunun diğer üyeleri ksantin (II) teofilin (III) ve theobromindir (IV). Pürin nükleoproteinlerin en önemli yapı taşıdır. Şekil 2.1'de pürin, ksantin, teofilin, teobromin ve kafeinin yapı formülleri verilmiştir.

Kafein, özellikle çay, kahve, mate (Paraguay Çayı, *İlex Paraguariensis*) ve kola nutta bulunur. Daha az miktarda kakaoda mevcuttur. Kafein ilk olarak Runge tarafından 1820 yılında kahve çekirdeğinden izole edilmiştir. 1827 yılında Oudry çayda kafein bulunduğunu keşfetmiştir. Kafeinin yapısı E. Fischer tarafından açıklığa kavuşturulmuştur. 1861 yılında Fischer ve Strecker, metilksantin, teofilin ve

teobrominin metilasyonu ile kafein sentezlemiştir. Bu sentez yöntemi bazı modifikasyonlarla halen kullanılmaktadır [5,8].



Şekil 2.1. Pürin, ksantin, teofilin, teobromin ve kafeinin yapı formülleri

Kuru maddede kütlece olmak üzere kahvede % 1-2, çayda % 3-4 oranında kafein bulunmaktadır. Kafeinli bitkilerin içerdikleri kafein miktarları Çizelge 2.3'te verilmiştir. Konsantrasyonlarına göre değişmek üzere çözeltilerindeki yaklaşık kafein miktarları ise Çizelge 2.4'te verilmiştir [9].

Çizelge 2.3. Kafeinli bitkilerin içerdikleri kafein miktarları [4, 5]

Bitki Adı	Şekli	% Kafein (Kütlece)
Kahve	Tohum	1,1-2,0
Guarana	Tohum	4,0
Kola nut	Tohum	1,5
Paraguay çayı	Yaprak	5,3
Çay	Tomurcuk	4,7
Çay	Yaprak	3-4

Çizelge 2.4. Bazı içeceklerdeki kafein miktarları [9]

İçecek	Kafein Miktarı
Kahve	85 mg/150 mL
Kafeinsiz kahve	3 mg/ 150 mL
Çay	30 mg/ 150 mL
Kola	18 mg/180 mL
Kakao/Sıcak Çikolata	4 mg/150 mL

Çay bitkisinde genç yapraktan yaşlı yaprağa doğru gidildikçe kafein muhtevası azalır (Çizelge 2.5). Yaşlı yapraklarda ve sapta kafein miktarı önemli derecede azdır. Cloughley, çay bitkisinin kafein muhtevasının; sürgün dönemlerine, genetik özelliklere, toprak koşullarına ve kültürel önlemlere göre değiştiğini belirlemiştir. Çay yapraklarında en fazla kafein, çay hasadının, hızlı büyümenin yoğun olduğu dönemde

saptanmıştır. Cloughley bu dönemde kafein miktarının tomurcukta % 5,9 olduğunu, bu miktarın yaprak yaşına göre azaldığını ve sap kısmında % 0,8'e düştüğünü saptamıştır [10]. Suzuki tarafından yapılan çalışmada da, değişik dönemlerde çay çiçeğinin kafein içeriği belirlenmiştir. Bu çalışmaya göre; çay çiçeğindeki kafein miktarının en yüksek olduğu dönem Ekim ayı ortaları olup, bir çiçekteki kafein miktarı 1180 µg olarak belirlenmiştir [11].

Çizelge 2.5. Çay bitkisinin değişik yapraklarında bulunan kafein miktarı [10, 11]

Yapraklar	% Kafein (Kuru maddede)
Tomurcuk	4,7
1. Yaprak	4,2
2. Yaprak	3,5
3. Yaprak	2,9
4. Yaprak	2,5
5. Yaprak	1,7

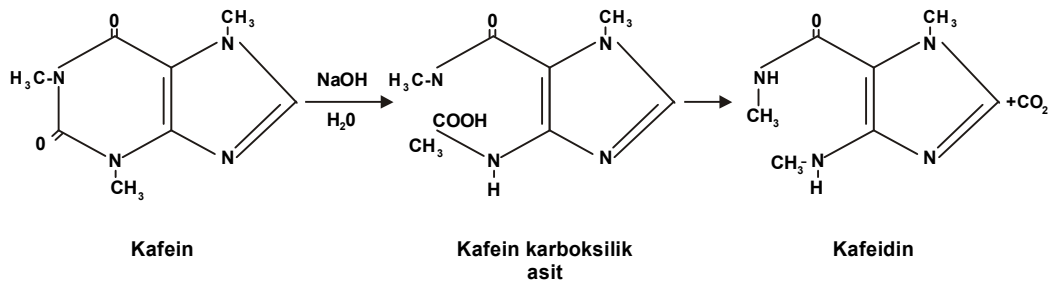
Türk çaylarındaki kafein miktarını; Kaptan % 2,7-5,0, Yurdagel % 2,8-3,9, Yılmaz % 3,1-3,8 ve Öksüz % 3,4-4,1 olarak belirlemişlerdir. Yabancı kökenli çaylar üzerinde çalışan Smith ve Rees kafein miktarını Sri Lanka çaylarında % 2,8, Assam çayında % 3,6, Darjeeling çayında % 4,2 olarak belirlemişlerdir [3, 12, 13]. Weerasinghe ve arkadaşları Sri Lanka çaylarında kafein miktarının % 2,0-4,2 arasında değiştiğini saptamışlardır [14]. Werkhoven Hindistan çaylarında kafein miktarının % 2,1-5,1 olduğunu belirlemiştir [15]. Türk Standartlarına göre siyah çayda kafein miktarı kuru maddede en az % 1,5 olmalıdır [16].



### 2.2.1. Kafeinin kimyasal özellikleri

Klorlu su kafeini, dimetilhaloksan (1,3-dimetil- 2,4,5,6 (1H,3H)-pirimidin tetran) ve metilüre olarak ayrıştırır. 80°C' taki klor, kafeini 8-klorokafeine dönüştürür. Bu bileşiğin çinko ile indirgenmesinde, kafein geri kazanılır. 100°C'ta aşırı klor kullanılırsa 8-kloro-7-klorometil-1,3-dimetilksantin elde edilir. Bu bileşimde çinko ile indirgenmesiyle teofilin (III) elde edilir. Teofilin (III) metil iyodür ile reaksiyona sokulması kafeini (V) oluşturur. Aşırı klor, tüm N-metil gruplarının -N-CH<sub>2</sub>Cl'ye dönüşmesinde ve bunların indirgenmesinden de ksantin (II) elde edilmesinde kullanılır.

Seyreltik alkaliler, kafeini kafeidin karboksilik asite dönüştürür (pirimidin halkası açılır). Bu asidik ürünün ısıtılmasıyla aşağıda gösterildiği gibi kafeidin oluşur (Şekil 2.2) [8].



Şekil 2.2. Kafeinin kafeidine dönüşme reaksiyonu

### 2.2.2. Kafeinin fiziksel özellikleri

Kafein beyaz kristal halindedir ve sudan kristalize edildiği zaman, beyaz ipeksi iğnecikler şeklinde bir monohidrattır. Süblümlenmesi sonucunda altıgen prizmalar oluşturur. Anhidrit kafeinin molekül ağırlığı 194,19'dur ve kafein 237°C'ta erir. Süblümlenme atmosfer basıncında 178°C'de ve 15 mmHg basınç altında 89°C'ta bozunma olmadan gerçekleşir. Yoğunluğu 19°C' ta 1,23'tür. Kafein monohidrat 100°C' ta anhidrit formuna dönüşür [17,18].

Doymuş kafein çözeltisi turnusola göre cam elektrot gibi daha hassas pH ölçüm yöntemlerine göre nötrdür. Bunun sebebi, 25 °C'taki  $K_a$  iyonizasyon sabiti  $1,0 \times 10^{-14}$  ve 19°C' taki  $K_b = 0,7 \times 10^{-14}$  değerleri ile suyun değerlerine çok yakın olmasıdır.

Su, yüksek sıcaklıklarda kafein için iyi bir çözücüdür. Düşük sıcaklıklarda ise, kafeinin organik çözücülerdeki çözünürlüğü, sudaki çözünürlüğünden daha fazladır. Kloroform ve metilen klorür kafein için en iyi iki organik çözücüdür.

Kafeinin değişik sıcaklıklarda sudaki çözünürlüğü Çizelge 2.6, bazı halojenli hidrokarbonlardaki çözünürlüğü Çizelge 2.7 ve diğer organik çözücülerdeki çözünürlüğü Çizelge 2.8'de verilmiştir.

Çizelge 2.6. Kafeinin değişik sıcaklıklarda sudaki çözünürlüğü [5, 8]

Sıcaklık (°C)	g kafein/100 g H <sub>2</sub> O
0	0,60
15	1,00
20	1,46
25	2,13
30	2,80
40	4,64
50	6,75
60	9,70
70	13,50
80	19,23
100	50,00

Çizelge 2.7. Kafeinin bazı halojenli hidrokarbonlardaki çözünürlüğü [5, 8]

Çözücü	Sıcaklık (°C)	g kafein/100 g çözücü
Kloroform	8	11,80
	25	12,50
	61,2 (KN)*	15,63
Metilen klorür	33	9,89
Dikloretilen	15	1,82
	25	1,83
Trikloretillen	15	0,76
	29	1,52
	67	3,09
	85	3,73
Karbontetraklorür	18	0,09
	20	0,26
	76,7 (KN)*	0,70

\*KN: Kaynama noktası

Çizelge 2.8. Kafeinin diğer organik çözücülerdeki çözünürlüğü [5, 8]

Çözücü	Sıcaklık (°C)	g kafein/100 g çözücü
Benzen	18	0,91
	25	1,16
	30,5	1,23
	80,1 (KN)*	5,29
Eter	18	0,12
	25	0,27
	34,5 (KN)*	0,30
Aseton	25	2,04
	30,5	2,32
Metil alkol	25	1,14
Etil alkol	25	1,52
	60	5,04
Etil asetat	18	0,73
	77 (KN)*	4,18

\* KN: Kaynama noktası

Değişik çözücülerle karşılaştırıldığında, klorlu hidrokarbonlar alkoloidler için daha yüksek bir çözücülük potansiyeline sahiptir. Bunlar genellikle apolar veya zayıf polar çözücülerdir. Metilen klorür gibi bazı çözücüler bir dereceye kadar polar çözücü akivitesi gösterebilir. Örneğin süstitüe olmamış hidrokarbonların çoğu klorohidrokarbonlar içinde tüm oranlarda çözüldüğü halde, gliserin ve laktik asit gibi polaritesi yüksek olan türevler klorohidrokarbonlar içerisinde ancak hafifçe çözünebilirler. Donör merkezler içeren organik bileşikler, hidrojen içeren halojenli hidrokarbonlarda, tamamen halojenlenmiş hidrokarbonlara oranla genellikle çok daha fazla çözünürler. Çünkü tam halojenlenmemiş hidrokarbonlarda çözücüyle çözünen arasında  $C-H \leftarrow O$  ve  $C-H \leftarrow N$  tipindeki hidrojen bağları oluşabilir. Böylece

tamamen metillenmiş pürin olan kafein, kloroform içinde kısmen metillenmiş türev olan teobromin veya teofilinden çok daha fazla çözünür. Teobrominin asidik amid hidrojeni (1 pozisyonunda azota bağlıdır) aynı tipte bir başka molekülün azot veya oksijenine bağlanır ve böylece kloroformun daha az asidik olan hidrojeniyle birleşmeyi önler. Kloroform katı organik bileşikler için karbontetraklorürden daima iyi bir çözücüdür. Kafein için de birçok durumda çözücü olarak kloroform kullanılır. Trikloretilen endüstriyel uygulamalarda en çok kullanılan ikinci çözücüdür [8, 17, 18].

### **2.2.3. Kafeinin kullanım alanları**

Kafeinin en yaygın kullanım alanı gıda sektörüdür. Kafeinin % 70'i alkolsüz içeceklerin ve enerji içeceklerinin üretiminde kullanılmaktadır. Türk Gıda Kodeksi Alkolsüz İçkiler Tebliği' ne göre kolada maksimum 150 mg/L, Enerji İçecekleri Tebliği' ne göre de enerji içeceklerinde 350 mg/L kafein bulunabilir [19, 20].

Kafeinin ikinci önemli kullanım alanı ise ilaç endüstrisidir. Kafein ilaç endüstrisinde saf halde ya da karışım olarak kullanılır. En çok kafein-sodyum benzoat, kafein-sodyum salisilat ve kafein-sitrat şeklinde kullanılmaktadır.

Kafein; ilaç üretiminde kullanılacaksa USP (United Stated Pharmacopeia), gıdalarda kullanılacaksa Food Chemical Codex sınıfında olmalıdır. USP, Food Chemical Codex ve International Pharmacopeia' ya göre toz kafeinin özellikleri Çizelge 2.9'da verilmiştir [21-23].

Çizelge 2.9. Toz kafeinin özellikleri [21-23]

Spesifikasyonlar	USP	Food Chemical Codex	International Pharmacopeia
Kafein, %	98,5-101,0	98,5-101,0	98,5-101,0
Arsenik, ppm, en çok	-	3	-
Ağır metaller, ppm, en çok	20	20	-
Kurşun, ppm, en çok	-	10	-
Kurutmada kayıp, en çok			
monohidrat	8,5	8,5	5-9
anhidr	0,5	0,5	0,5
Kurutma sonrası			
Erime Noktası (°C)	235-237,5	235-237,5	236
Kül, % , en çok	0,1	0,1	0,1

#### 2.2.4. Kafeinin sağlık üzerine etkileri

Kafein tüketimi kişi başına günde yaklaşık 4-7 mg/kg'dır. Ülkelere, yaşa, alışkanlıklara göre değişmekle beraber, genel olarak, kafeinin % 55'i çayla, % 43'ü kahveyle, % 2'si kolalı içeceklerle alınmaktadır. Hamile bayanlarda ve 18 yaşından küçüklerde günlük tüketimin % 1 mg/kg'dan fazla olmaması önerilmektedir [9, 24, 25].

##### Kısa dönem etkileri

Kafein, sinir sistemini yoran bir kimyasal maddedir. Kana mideden karışır ve etkileri 15 dakika sonra hissedilir hale gelir. Kafeinin kısa dönemde yaygın olarak hissedilen etkileri, vücudun enerji seviyesinin artması, uyanık ve dinç olma, keyif ve rahatlık hislerinde artıştır. Alınan kafein miktarının sadece yarısının atılması 6 saat sonra gerçekleşebilmektedir. Bu durum, kafeinin etki süresini uzatmakta ve etki alanını genişletmektedir. Kafeinin diğer etkileri; kan basıncını, nabız atışını hızlandırmak, kas

hareketlerini yavaşlatmak, kan damarlarını daraltmak (bu durum el ve ayakları soğumasına sebep olur), nefes almayı kolaylaştırmak ve mide asit seviyesini yükseltmektir. Bu durum, vücudun stres altında verdiği tepkilere yakındır. Beyne giden kan damarlarının daralması beyne giden kan akışını azaltır ve beynin bunu bir tehdit olarak algılamasını ve vücudu korumak için atağa geçmesini sağlar. Bu durumda, uykunun ertelenmesine, stres hormonlarının ise yükselmesine sebep olur. Vücut daha aktif ve atak hale gelir.

### Uzun dönem etkileri

Kafeinin uzun vadede insan sağlığı üzerine ciddi derecede yıkıcı bir etkisi bulunmamaktadır. Kafeinin, kan basıncını arttırıcı etkisine rağmen kalp hastalığına yol açma riskinin yüksek olmadığı, fakat yüksek dozda kafein alımının yüksek tansiyona ve düzensiz kalp atışlarına yol açabileceği belirtilmektedir. Yapılan araştırmalar kafein ile kanser oluşumu arasındaki bağı da zayıf olduğunu ortaya koymuştur .

### Kafeinin hamilelik üzerine etkileri

Günde ortalama 150-300 mg kafein kullanan hamile bir kadının, normalden düşük kiloda bir bebek doğurma ihtimali iki kat artmaktadır. Ayrıca günlük kafein kullanım miktarı 300 mg' dan (ortalama 3 bardak kahve) fazla olan hamile bir kadının erken doğum yapma ve normalin altında kiloya sahip bebek doğurma ihtimali oldukça yükselmektedir. Bazı araştırmalar, yüksek miktarda kafein kullanımının, düşük riskini de arttırdığını ortaya koymaktadır.

### Kafeinin bedensel etkileri

Kafeinin etki mekanizması, beyne giden kan damarlarını daraltmak, böylece beynin savunma tepkisi olarak uyanık ve aktif kalmasını sağlamak, aynı zamanda adrenalini salgılatarak ve dopamin depolarını harekete geçirerek insana kısa süreli bir mutluluk ve keyif hali sağlamaktır. Adrenalinin etkisi, uyanıklık ve aktifliğin

artması, dopaminin etkisi de beyindeki keyif merkezlerinin uyarılması ve pozitif bir ruh halinin sağlanmasıdır.

Kafeinin kısa dönem etkilerinden olan uyanıklık, aktiflik ve keyifli olma hali, kafeinin sürekli ve düzenli kullanılması halinde uzun dönemde bağımlılık oluşmasına sebebiyet verebilmektedir. Kafeinin uzun dönem etkileri, mide asitlerinin artması, ülser oluşumu ve idrar miktarının artması ile vücuttan elektrolitlerin fazla atılmasıdır.

### Kafeinin ruh hali üzerine etkisi

Kafeinin ruh hali üzerine olan olumlu etkileri (keyifli ve mutlu olma hali, enerjik ve aktif hissetmek, sosyalliğin artması vb.) alınan kafeinin miktarına ve alan kişinin kafeine olan bağımlılık ve bağımsızlık derecesine orantılı olarak değişmektedir. Kafeini fazla tüketmeyen, aralıklı olarak alan kişilerde az miktarda alınan kafein (100-200 mg) bile pozitif etkiler oluşturmakta fakat düzenli kafein kullananlarda bu miktar fazla etki sağlamamaktadır.

### Uyku ve kafein

Kafein; uykuyu geciktirir, toplam uyku süresini azaltır, normal uyku safhalarında değişikliğe yol açar ve en önemlisi uyku kalitesini düşürür. Vücut, alınan kafeinin yarısını 6 saat sonra attığından, kafein alınan gün, uykunun gelmesi mümkün olmakta ama derin bir uyku uyuma şansı düşmekte ve uyku kalitesi düşmektedir. Bu durum, bir kısır döngü halinde bir önceki gece uykusunu tam olarak alamamış bir kişiyi, bir sonraki gün daha fazla kafein tüketmeye yönlendirmektedir.

### Kafein ve bağımlılık

Ruh halini ve davranışları etkilemek, değiştirmek amacıyla kullanılan “psiko-aktif” maddelerden biri olan kafein, fiziksel ve psikolojik bağımlılığa yol açmaktadır. Düzenli olarak günlük 100 mg kafein alımı bile bağımlılık yaratmak için yeterlidir. Sosyal bir



alışkanlığa dönüşen kafein kullanımı, keyif ve enerji verici etkileriyle bir çok kişinin hayatında bağımlılığa kadar ulaşmıştır. Yetişkinlerde kafein, en çok çay ve kahveyle, gençlerde ise kafeinli gazlı içecekler sayesinde tüketilmektedir.

### Kafein yoksunluk belirtileri

Yan etkilerin ortaya çıkış şekli, sayısı ve etkinliği günlük alınan kafein miktarıyla orantılı olarak değişmektedir. Düzenli olarak kullanılan kafeinin kesilmesiyle ortaya çıkan ve en yaygın olarak rastlanan yoksunluk belirtileri şunlardır:

- Baş ağrısı
- Yorgunluk, halsizlik
- Uykusuzluk/uykulu olma hali (esneme, sersemlik)
- Konsantrasyon eksikliği
- Motivasyon ve dikkat eksikliği, düşük performans
- Huzursuzluk, mutsuzluk, can sıkıntısı
- Depresyon, üzüntü, endişe, isteksizlik, sinirlilik
- Nezle ve benzeri belirtiler (mide bulantısı, kusma, eklem ağrıları vb.)
- Düşünsel aktivitede ve hafızada yavaşlık

### Kafein Zehirlenmesi

Yapılan araştırmalarda, oral toksik doz ( $LD_{50}$ ) sıçanlarda 200 mg/kg, kobaylarda 230 mg/kg, tavşanlarda 246 mg/kg ve farelerde 127 mg/kg olarak bulunmuştur. Ayrıca minimum öldürücü doz (MLD, minimum lethal dose) 290-350 mg/kg olarak verilmiştir. İnsanlarda ise günlük kafein alımının 80 mg/kg' ı bulması halinde, bulantı, kusma, çarpıntı, kasılma gibi zehirlenme belirtileri ortaya çıkar. Müdahale edilmemesi durumunda düzensiz kalp atımları ve koma gelişir. İnsanlar için günde 10 g kafein alımının, yaklaşık 150-200 mg/kg, ölümlü sonuçlanabileceği açıklanmıştır [4, 5, 26, 27].

### Çaydaki kafeinin etkileri

Çayda bulunan kafeinin yaklaşık % 80' i deme geçer. Buna göre 5-6 bardak çay içen bir kimse ortalama 300 mg kafein alıyor demektir. Bu miktar İngiliz Eczacılık Kodeksi'nce kabul edilen (653 mg kafein) günlük dozun yarısından azdır. Ancak çaydaki kafeinin özel fizikokimyasal durumu nedeniyle, çay içildiği zaman vücudun kafeine karşı direnci daha fazla olmakta, tolerans sınırı yükselmektedir. Kafein ve kafeinden oluşan metabolik maddeler, vücuttan metil ürik şeklinde atılmaktadır.

Kafein, beyin dahil vücuttaki kılcal damarların önemli derecede genişlemesine neden olur. Özellikle beyindeki kılcal damarların genişlemesi ise kan hareketinin hızlanmasına, insanların canlılık kazanmasına ve yorgunluğu atmalarına yol açar. Bir grup gönüllü üzerinde yapılan denemeler, çay içenlerin matematik problemlerini zihinsel olarak daha kolay çözülediklerini, sözlü soruları daha kolay anlayıp cevapladıklarını ortaya koymuştur. Gençlerden yaşlılara kadar her yaştaki insanlar üzerinde yapılan denemeler, çayın zihinsel yorgunluğun giderilmesinde etkili olduğunu göstermiştir.

Çayın mide fizyolojisi, özellikle asidik mide sıvılarının salgılanması üzerine etkileri de araştırılmıştır. Yıllardan beri, dünyadaki çay tiryakileri, çayın mideyi rahatlatıcı etki yaptığını, midede asit salınımını arttırmadığını, gaz üretmediğini ve hazımsızlığa da neden olmadığını açıklamışlardır. Saf kafein çözültisi mide salgılarını arttırmasına rağmen, çay aksi bir etki göstermektedir. Çay içerisinde bulunan thearubigin kafein ile tepkimeye girerek kafeinin mide üzerindeki etkilerini önlemektedir. Midenin asidik ortamında bu tepkime geçerliliğini sürdürmektedir. Ancak, midede bazik bir ortamın oluşması ya da bazik tepkimeli bir madde ile kasılması, kafeinin bileşikden bağımsız şekle dönüşerek kana geçmesine sebep olmaktadır.

Çayın, ateşi düşürdüğü ve baş ağrılarını giderdiği inancı, çayda bulunan kafeinin, beyin ve derideki kılcal damarları genişletmesi ile açıklanmıştır. Derinin yüzeyine yakın yerlerdeki kılcal damarların genişlemesi vücut sıcaklığının düşmesine sebep olur. Çayın

başığrısını gidermesi ise, beyindeki kılcal damarların genişlemesi sonucu, kan basıncının düşmesi ve ağrının ortadan kalkması şeklinde açıklanmıştır [27].

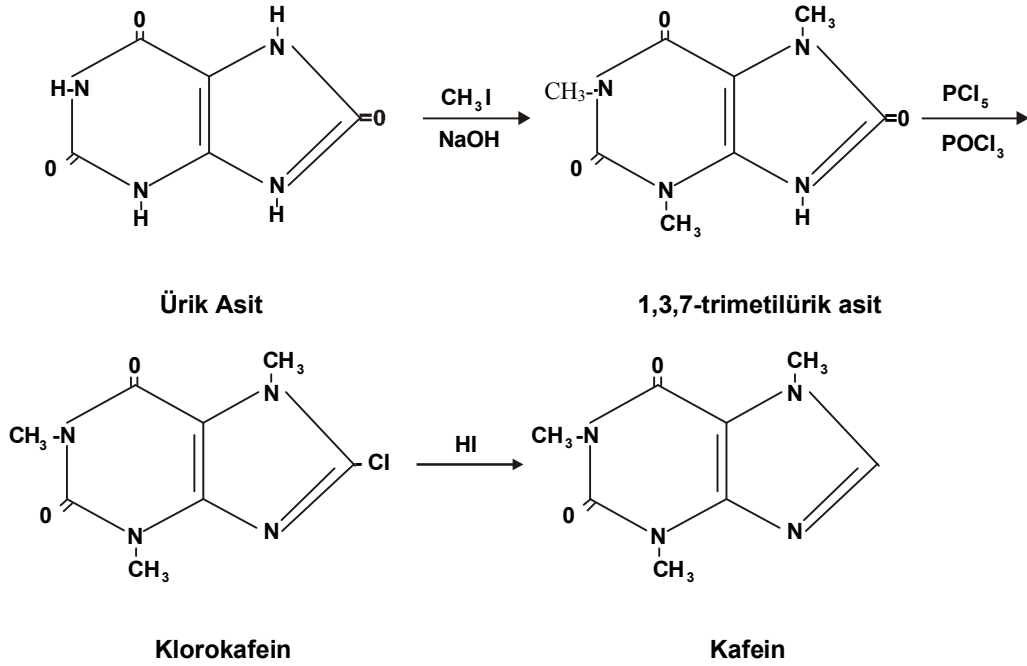
### **2.2.5. Kafein üretim metotları**

1945'ten önce, sentetik kafeinin çoğu, kakao kabuğu ve kakao atıklarından çıkartılan theobrominin metillenmesiyle üretilirdi. Sonra kakaodan yapılan kafein üretimi düşmüş ve bunun yerini çay atıklarından elde edilen kafein almıştır. Kolalı içeceklerde kafein kullanımına bağlı olarak kafein talebindeki artış neticesinde, kafeinsiz kahveler piyasaya sürülmüş ve bunlardan yan ürün olarak kafein elde edilmiştir. Günümüzde kafein, bitkilerden ekstraksiyonla ve sentetik yöntemlerle olmak üzere iki grupta gerçekleştirilmektedir [5, 8].

#### 2.2.5.1. Sentetik yöntemlerle kafein eldesi

##### *i. Ürik asitten kafein sentezi*

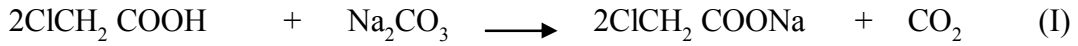
Ürik asit bazik (NaOH) ortamda metil iyodür ile etkileştirilerek 1,3,7-trimetilürik asit oluşur.  $PCl_5$  kullanılarak klorokafein ve HI ile reaksiyonu sonucu kafein elde edilir. Reaksiyonlar Şekil 2.3'de verilmiştir [18].



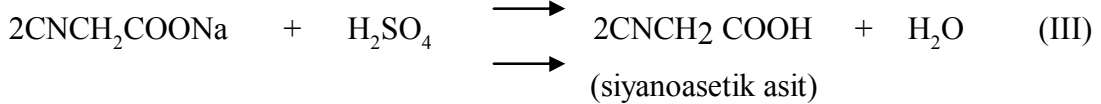
Şekil 2.3. Ürik asitten kafein sentezi

*ii. Kloroasetik asitten kafein sentezi (Traube Sentezi)*

Sentetik kafeinin büyük bölümü, 1900'lü yıllarda geliştirilen klasik Traube sentezinin modifikasyonu ile elde edilmektedir. Kloroasetik asit, sodyum karbonat kullanılarak nötrale edilir (I). Ürün sodyum siyanat ile (II), daha sonra da sülfürik asitle reaksiyona sokularak siyanoasetik asit elde edilir (III).

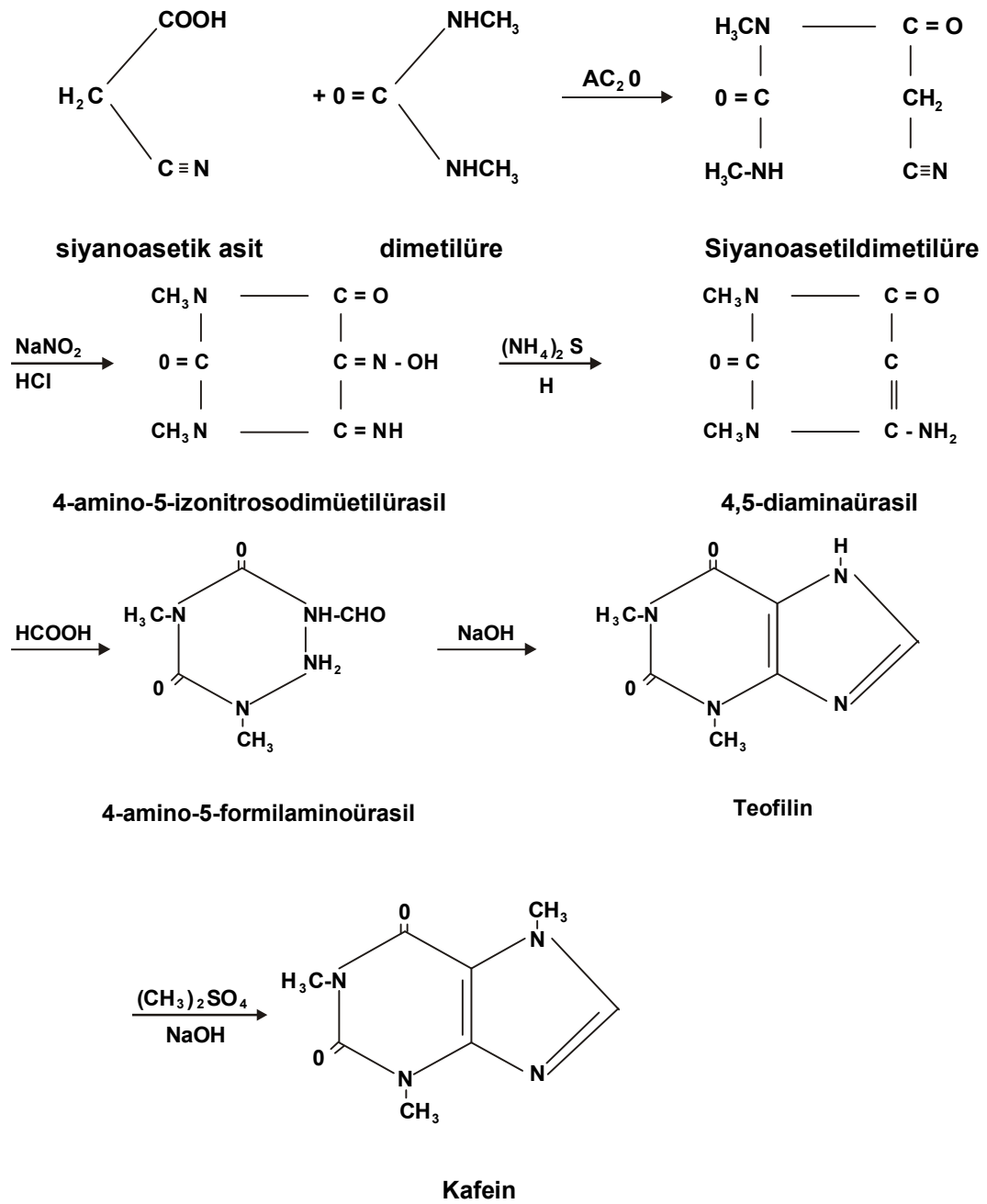


(kloroasetik asit)



Siyanoasetik asit, dimetilüre ve asetik anhidrit ile etkileştirilerek siyanoasetildimetilüre elde edilir. Siyanoasetildimetilüre kostik eklenerek (pH:9) alkalileştirilir ve bu noktada zincir kapanmaya başlar. Sodyum nitrit ve 6 N hidroklorik asit ilavesi ile 4-amino-5-

izonitrosodimetilürasil üretilir. Elde edilen kristaller yeniden çözelti haline getirilir ve yavaş yavaş amonyum sülfür eklenir. Elde edilen 4,5-diaminoürasil soğutulup santrifüj edildikten sonra formik asit ile indirgenir. Oluşan 4-amino-5-formilaminoürasil süzülür, sodyum hidroksit ilavesi ile tyofiline, bu da dimetil sülfat ile kafeine dönüştürülür (Şekil 2.4) [8, 18].



Şekil 2.4. Siyanoasetik asitten kafein sentezi

### *iii. Kakaodaki teobrominden kafein sentezi*

Kakao atıkları, kabuk kırıkları, kırık taneler öğütülür, nemlendirilir ve kireç kaymağı ile karıştırılır. Karışım su ile liç edilir, süzüntü toplanıp konsantre edilir. Elde edilen teobromin, metil sülfat ve alkali ile reaksiyona sokularak kafeine dönüştürülür. Kafein sudan kristalize edilerek saflaştırılır [4, 8].

### Bitkilerden ekstraksiyon metodu ile kafein eldesi

Bitkilerden kafein eldesi, çay ve kahve gibi kafes içeren bitkilerden ekstraksiyon işle gerçekleşmektedir. Ekstraksiyon işlemi, organik çözücülerle ve süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon olmak üzere iki grupta incelenebilir.

#### *i. Organik çözücülerle bitkilerden kafein ekstraksiyonu*

##### Kahveden organik çözücülerle kafein ekstraksiyonu

Kahvenin fizyolojik etkisinin çoğu, içerisindeki kafeine bağlıdır. En yaygın olarak kullanılan kahve çeşitleri Coffea Arabica ve Coffea Canephora, sırasıyla % 1 ve % 2 oranlarında kafein içerir. Normal bir fincan kahvede 60-120 mg kafein bulunmaktadır. Hazır kahvelerde kafein miktarı işlem nedeniyle bir miktar düşüğünden bunlardaki kafein miktarı 40-100 mg arasındadır. Kahveden kafeinin ayrılması, 1900' lü yılların başında organik çözücüler kullanılarak Roselius ve Wimmer tarafından geliştirilmiştir. 1912 yılında Roselius, New Jersey New Brunswick'de bir kafein ayırma tesisi kurarak ürettiği kafeinsiz kahveyi Kaffee Hag adıyla pazarlamıştır. 1955' lerde Nestle ve diğer firmalarda kafeinsiz kahve üretimine girmişlerdir. Ticari olarak üretilen kafeinsiz kahvelerde kafein ayırma işlemi, kahveye tadını ve kokusunu veren kavurma işleminden önce yeşil çekirdek halinde iken uygulanır.

Çizelge 2.7 ve Çizelge 2.8'de görüldüğü gibi kafeinin çözüldüğü çok sayıda çözücü mevcuttur. Hangi çözücünün kullanılacağına seçimi, maliyetine, ayrılmasının kolaylığına ve geri kazanım oranına, kafeinin özelliklerine ve çözücünün toksik etkilerine göre yapılmaktadır. Başlangıçta benzen (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>) kullanılmakta iken, klorlu hidrokarbonların daha düşük fiyatlarla ortaya çıkmaları sonucu yerini kloretilen ve metilenklorüre bırakmıştır. Bunların yanında çözücü olarak florlu hidrokarbonların, sıvı ve süperkritik karbon dioksitin ve yenilenebilir esterlerin kullanıldığına da rastlamak mümkündür.

Ekstraksiyon öncesinde yeşil kahve çekirdeklerinin nemlendirilmesi gerekir. Su, yeşil çekirdekleri yumuşatarak hücreli yapılarını açmak ve kafeinin serbest kalması için gereklidir.

Yeşil kahve çekirdeklerinden organik çözücü kullanılarak kafein ekstraksiyonunun temel basamakları şöyledir: İlk kolonda, kahve çekirdeklerinin nem oranını % 16-18 düzeyine çıkartmak için 30 dakika buhar verilir. Bunun ardından kahve çekirdeğinin kütlesine göre, nem oranı % 40 düzeyine çıkarılır. Nemlendirilen çekirdeklerdeki kafein, metilen klorür ya da trikloretilen çözücülerini kullanılarak 50-115°C arasındaki sıcaklıklarda ekstrakte edilir. Kafeini alınan çekirdekler kolondan boşaltılarak kurutulur. Kafein içeren çözücü, içindeki kafein ve diğer çözünebilir maddelerden ayrılır ve tekrar kullanılmak üzere geri kazanılır [8].

#### Çaydan organik çözücülerle kafein ekstraksiyonu

Ticari olarak çaydan kafein üç şekilde üretilir:

Birinci yöntemde; çay kireç ile karıştırılarak su ile liç edilir. Elde edilen ekstrakt süzülür, konsantre edilir ve kristallendirilir. Elde edilen ham kafein, su içerisinde çözülerek, aktif karbon ile siyah rengi giderilir, kristallendirilerek saf kafein elde edilir. İkinci yöntemde; çay alkali hale getirilip halojenli çözücüler kullanılarak kafein ekstrakte edilir. Theofilin ve çay içerisindeki diğer maddeler, organik çözücülerde

çözünmediğinden iyi kalitede kafein elde edilir. Son saflaştırma işleminde renk gidermek için aktif karbon kullanılır. Üçüncü yöntem göre; nemlendirilmiş çay yaprakları kloroform ile ekstrakte edilir. Bu yöntemde çay yapraklarının nemlendirilmesi çok önemli bir adımdır ve dikkatle kontrol edilmesi gerekir. Çay içindeki kafeinin çözünmesini ve difüzyon yöntemiyle çözücünün kafeini ekstrakte edebilmesini sağlar [4].

Çaydan kafein alınırken; kahvede olduğu kadar aroma ve tat kayıplarından kaçınmak mümkün değildir. Tat ve aroma bileşenleri kafein ayrılması işleminden sonra tekrar yüklenir. Genellikle çayın kafeininin alınması, oksidasyon ve kurutma işlemlerinden sonra siyah çay üzerinden yürütülür. Kafeini alınmış çayın büyük bir kısmı Avrupa ve Kuzey Amerika ülkelerinde üretilir ve aynı zamanda tüketilir. Kafeini alınmış çay kuru tartıda genellikle % 0,1' den daha az kafein içerir [4].

Bu konuda yapılan çalışmalardan bazıları şöyledir:

Hu ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; çay çeşitlerinin, kalitesinin, dış şartların ve çözücünün, verime ve elde edilen kafein ile polifenollerin saflığı üzerine etkileri araştırılmıştır. Ekstrakte edici çözücü olarak % 95 alkol kullanılmıştır. Kafein verimi ve saflığı farklı kalitedeki çaylarda sırasıyla % 0,81-1,60 ve % 82,34-89,60 olarak bulunmuştur [28].

Onami ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ekstraksiyon maddesi olarak diklormetan-alkalinli su karışımı kullanılmıştır [29].

Murray ve Hansen ise, diklormeton ve kloroformun önemli derecede toksik olduğunu belirtmiştir. Kullanılacak çözücünün, suyla karışmaması, toksik etkisinin düşük olması, ucuz ve kafein çözünürlüğünün yüksek olması gerektiğini savunmuş, fakat bu kriterlerin tamamını karşılayan organik bir çözücü belirlenememiştir. Alternatif olarak 1-propanolun kullanılabileceği öne sürülmüştür [30].



El-Din ve Raila tarafından yapılan çalışmada, Hint çaylarından kafeinsiz çay üretmek için kafeini uzaklaştırmışlar ve çözücü olarak etanol ve kloroform kullanmışlardır [31].

Çay çözeltilerinin kinetiği ve dengeleriyle ilgili çalışmalar da mevcuttur. Price ve Spiro; kafein, theaflavin ve theobromin ekstraksiyon hızları üzerine yaprak büyüklüğü ve yaprak orjininin etkisini araştırmışlar ve yaprak büyüklüğünün çay çözümlerinin kinetik özellikleri üzerine önemli etkisi olduğu sonucuna varmışlardır [32, 33]. Bir başka çalışmalarında, ekstraksiyon suyunun pH ve tuz içeriğinin çay ekstraksiyonu üzerine etkisini incelemişler ve denge çay çözeltilerinde theaflavin konsantrasyonunun asit ortamda arttığı sonucuna varmışlardır [34]. Hız sabitleri tuz (NaCl, KCl, CaCl<sub>2</sub>) eklendiğinde azaldığını, fakat elektrolit varlığında arttığını gözlemişlerdir. 25°C da hız sabitleriye kafein çözümlülükleri arasında yakın paralellikler bulmuşlardır [35]. Spiro ve arkadaşları birinci derece hız sabitlerinden çay yapraklarıyla kafein arasındaki difüzyon katsayısının aynı sıcaklıkta sudaki kafein difüzyon katsayısından daha küçük olduğunu göstermişler ve böylece yapraktan kafein difüzyonunun çay ekstraksiyonu sırasında büyük ölçüde engellendiği sonucuna varmışlardır [36, 37].

Gürü ve İçen yaptıkları çalışmada, atık çay lifleri ve saplarından kafein eldesi için optimum liçing şartlarını belirlemişlerdir. Çay atıklarından kafeini su ile liç ederek, kloroformla ekstrakte etmişler ve su ile kristallendirerek saflaştırmışlardır. Optimum şartları 200 rpm karıştırma hızı, 18,5 mL su/g çay su/çay oranı, 98,5°C sıcaklık, 16 dakika liçing süresi, 0,250-0,355 mm tanecik büyüklüğü olarak belirlemiş ve bu şartlarda çay liflerinden % 1,156 çay saplarından ise % 0,916 oranında kafein elde etmişlerdir [38].

## *ii. Süperkritik akışkanlarla bitkilerden kafein ekstraksiyonu*

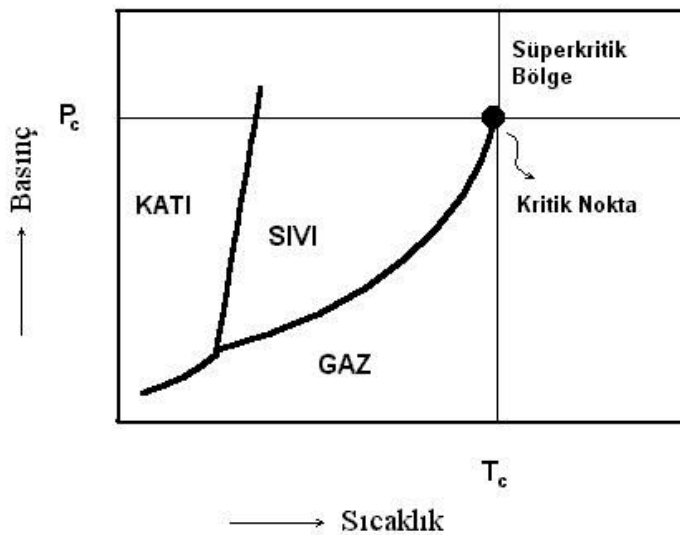
Süperkritik akışkanlarla bitkilerden kafein ekstraksiyonu Bölüm 2.3.8'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

### 2.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Bu bölümde süperkritik akışkanlar, fizikokimyasal özellikleri, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile bitkilerden kafein ekstraksiyonu hakkında bilgi verilmiştir.

#### 2.3.1. Süperkritik akışkan

Bir maddenin katı, sıvı ve gaz olmak üzere 3 hali bulunmaktadır. Maddenin sıcaklığı kritik sıcaklığının ( $T_c$ ), basıncı ise kritik basıncının ( $P_c$ ) üzerine çıkartıldığında yeni bir bölge ortaya çıkar bu bölge süperkritik bölge, bu bölgedeki akışkan ise süperkritik akışkan olarak tanımlanır. Saf bir madde için sıcaklık-basınç diyagramı Şekil 2.5'de verilmiştir [39].



Şekil 2.5. Saf bir madde için sıcaklık-basınç diyagramı

#### 2.3.2. Süperkritik akışkanların özellikleri

Süperkritik akışkanların fizikokimyasal özellikleri dikkate alındığında, süperkritik akışkanlar gaz ve sıvı arasında yer alır. Bu özellik süperkritik akışkanların daha etkin

bir çözücü olmasını sağlamaktadır. Çizelge 2.10'da sıvı, gaz ve süperkritik akışkanların çeşitli fizikokimyasal özellikleri verilmiştir [39].

Çizelge 2.10. Akışkanların fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması [39]

Özellik	Sıvı	Süperkritik Akışkan	Gaz
Yoğunluk (kg/m <sup>3</sup> )	600-1600	200-1000	1
Viskozite (kg/m.s)	1,0x10 <sup>-3</sup>	1,0x10 <sup>-4</sup>	1,0x10 <sup>-5</sup>
Difüzyon Katsayısı (m <sup>2</sup> /s)	1,0x10 <sup>-9</sup>	1,0x10 <sup>-7</sup>	1,0x10 <sup>-4</sup>

Çizelge 2.10'da belirtilen özellikler dikkate alındığında, süperkritik akışkanların yoğunlukları sıvılarınkine, viskozite ve difüzyon katsayıları gazlarınkine benzemektedir. Yoğunluğun artması ile süperkritik akışkanların çözme güçlerini arttırmakta ve gazlara göre daha fazla madde çözebilmektedirler. Süperkritik akışkanlar; sıvılara göre daha kolay taşınır ve katıların içine kolaylıkla difüzlenererek ekstrakte edilecek maddeyi gazlara göre daha kolay bulunduğu yapıdan ekstrakte edebilmektedirler.

### 2.3.3. Süperkritik akışkanın seçimi

Doğal maddelerin süperkritik akışkan ekstraksiyonunda kullanılacak akışkanın seçimi ürün seçimliliği ve verimliliği açısından önemlidir. Süperkritik akışkanların seçiminde; faz davranışı, çözünürlük, güvenlik, yanıcılık ve pahalılık gibi faktörler sürecin termodinamik özelliklerini, ekonomik fizibilitesini ve emniyet önlemlerini etkiler. Çizelge 2.11'de süperkritik akışkan ekstraksiyonunda en çok kullanılan maddelerin kritik sıcaklık, basınç ve yoğunluk değerleri verilmiştir [39].

Çizelge 2.11. Bazı süperkritik akışkanların fiziksel özellikleri [39]

Çözücü	$T_c$ (K)	$P_c$ (MPa)	$\rho_c$ (kg/m <sup>3</sup> )
Etilen	282,5	5,0	220
Karbon dioksit	304,3	7,4	470
Etan	305,4	4,9	200
Propan	369,9	4,3	220
Amonyak	405,4	11,3	240
n-pentan	469,6	3,4	240
Metanol	512,7	8,1	270
Toluen	591,8	4,1	290
Su	647,7	22,1	320

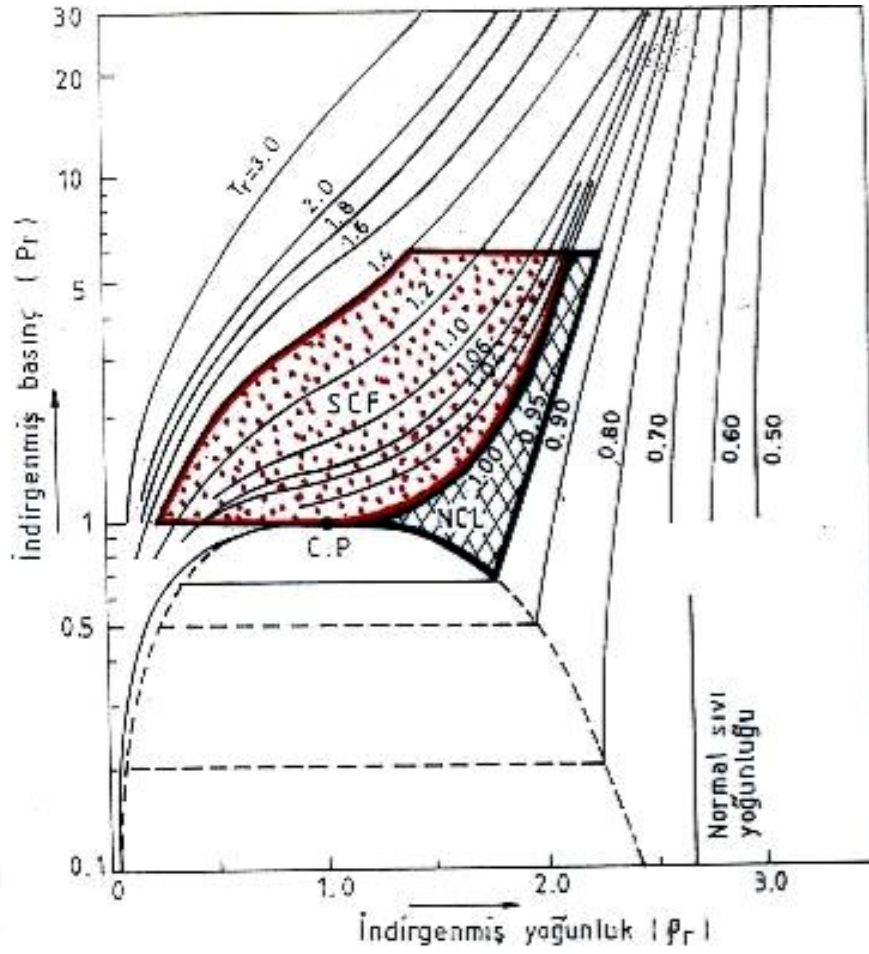
Çizelge 2.11 incelendiğinde; amonyak, n-pentan, metanol ve toluenin kritik sıcaklıkları yüksek olduğundan, sıcaklığa duyarlı olan doğal maddelerin ekstraksiyonu için uygun çözücü olmadıkları görülmektedir. Karbon dioksit; kritik sıcaklığının ( $T_c=304,3$  K) ve basıncının ( $P_c=7,4$  MPa) düşük olması, yanıcı ve toksik olmaması, diğer organik çözücülere göre çevreye zarar vermemesi özelliklerinden dolayı tercih edilen bir çözücüdür. Ayrıca karbondioksitin ekstraksiyon sonunda sistemden kolaylıkla ayrılması ve geride atık bırakmaması ekstraksiyon işlemi sonunda ikinci bir ayırma işlemini gerektirmemektedir. Karbon dioksit, endüstride amonyak sentezi ve fermentasyon işlemlerinin yan ürünü olarak bol miktarda üretilmektedir. Doğada saf ve ucuz olarak bulunabilen bir başka madde sudur. Suyun süperkritik akışkan olarak kullanım alanı, sahip olduğu yüksek kritik sıcaklık ( $T_c=647,7$  K) değeri nedeniyle sınırlıdır [39].

#### 2.3.4. Süperkritik akışkanların çözme gücü

Süperkritik bir akışkanın çözme gücü o akışkanın yoğunluğuna bağlıdır. Süperkritik CO<sub>2</sub>'in yoğunluğu, kritik sıcaklık ve basınç değerlerine yakın bölgede basınç ve

sıcaklıkla belirgin bir şekilde değişmektedir. CO<sub>2</sub>'in yoğunluğu oda şartlarında 2,0 kg/m<sup>3</sup> iken kritik noktada 470 kg/m<sup>3</sup>' tür. Bu durumda; CO<sub>2</sub>'in oda koşullarında çözme gücü oldukça düşükken, kritik noktada oldukça yüksektir. Süperkritik akışkanların sıcaklık ve basınçtaki küçük değişiklikleri akışkanın yoğunluğunun değişmesine neden olur. Bu özellik süperkritik akışkanların çözme güçlerini etkiler. Şekil 2,6'da CO<sub>2</sub>'nin indirgenmiş yoğunluk değerinin indirgenmiş sıcaklık ve indirgenmiş basınçla değişimi verilmiştir.

Şekil 2.6'da iki bölge görülmektedir. Şekilde süperkritik akışkan (SCF) bölgesi, süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon işlemlerinin uygulandığı en uygun sıcaklık ve basınç değerlerini göstermektedir. Kritik altı bölgede (NCL) ise akışkanın sıcaklık ve basınç değerlerinin kritik sıcaklık ve basınç değerlerine oldukça yakın olduğu görülmektedir. Bazı süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyon uygulamalarında bu bölgenin süperkritik akışkan ekstraksiyonu için belirtilen bölgeye göre ekstraksiyon verimliliğinin yüksek olduğu bildirilmektedir [39].



Şekil 2.6. CO<sub>2</sub>'nin indirgenmiş yoğunluk değerinin indirgenmiş sıcaklık ve indirgenmiş basınçla değişimi

Süperkritik CO<sub>2</sub> 'nin değişik sıcaklık ve basınçtaki yoğunluk ve viskoziteleri Çizelge 2.12'de verilmiştir. Sabit sıcaklıkta basıncın artmasıyla süperkritik CO<sub>2</sub> 'nin yoğunluğu ve viskozitesi artmaktadır; ancak sabit basınçta, sıcaklığın artmasıyla yoğunluk ve viskozite değerlerinin düştüğü ve sıcaklık ve basınçtaki küçük değişikliklerin süperkritik CO<sub>2</sub> 'nin fizikokimyasal özelliklerinde önemli değişiklikler yaptığı görülmektedir.

CO<sub>2</sub> 'nin çözüme gücünü etkileyen diğer bir parametre de polaritesidir. CO<sub>2</sub> 'nin polar özeliği, zayıf polaritedeki çözücülere benzemektedir ve bu nedenle apolar çözücüler grubunda yer alır; ancak karbonun dört kutuplu moleküler yapısı nedeniyle alkoller, esterler, aldehitler gibi organik polar maddeleri sınırlı oranda da olsa çözebilmektedir.

CO<sub>2</sub>'nin düşük dielektrik sabiti nedeniyle oluşan zayıf polaritesini artırmak için polaritesi yüksek maddeler eklenebilmektedir. Bu tür maddeler, yardımcı çözücü ya da ikinci çözücü olarak adlandırılmaktadır [39, 40].

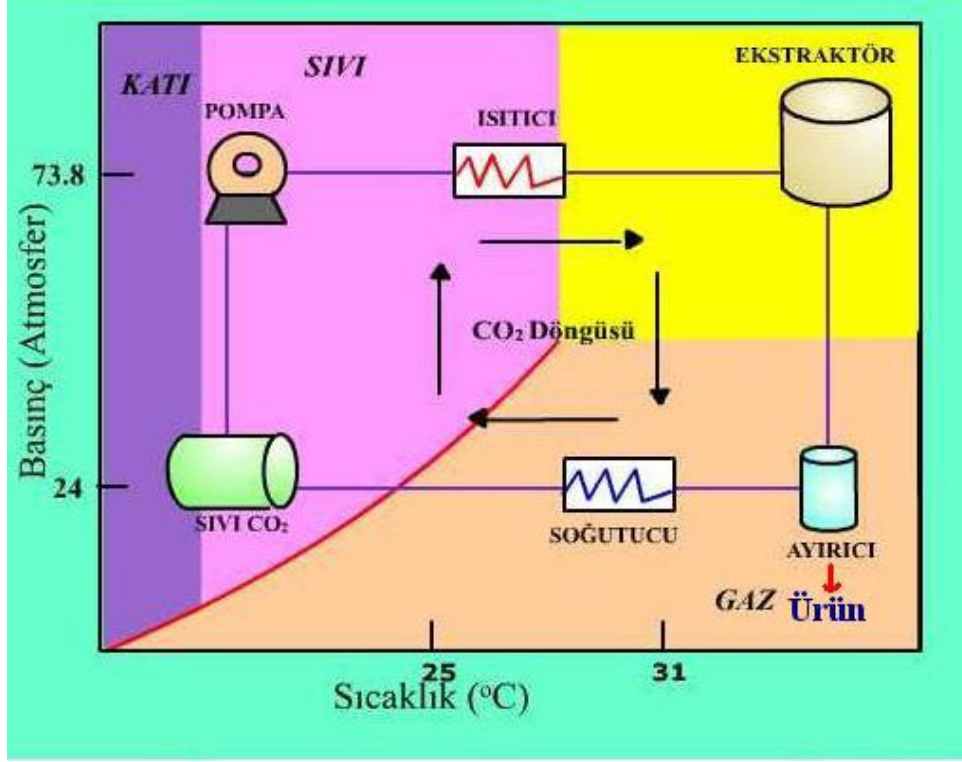
Çizelge 2.12. Süperkritik CO<sub>2</sub> 'nin değişik sıcaklık ve basınçtaki yoğunluk ve viskoziteleri [40]

Basınç (MPa)	Sıcaklık (K)	Yoğunluk (kg/m <sup>3</sup> )	Viskozite (kg/m.s)
24,5	313,0	879,5	8,2x10 <sup>-5</sup>
	328,0	806,2	6,9x10 <sup>-5</sup>
	343,0	730,0	5,7x10 <sup>-5</sup>
17,6	313,0	814,6	7,0x10 <sup>-5</sup>
	328,0	712,5	5,4x10 <sup>-5</sup>
	343,0	599,1	4,1x10 <sup>-5</sup>
10,8	313,0	676,1	4,7x10 <sup>-5</sup>
	328,0	379,4	2,7x10 <sup>-5</sup>
	343,0	283,6	2,4x10 <sup>-5</sup>

### 2.3.7. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Süperkritik akışkan ekstraksiyon sisteminin şematik gösterimi Şekil 2.7'de verilmiştir. Sistemdeki sıvı CO<sub>2</sub> önce bir pompa ile istenilen basınç değerine getirilir. Buradan bir ısıtıcıya gönderilen akışkan istenilen sıcaklık değerine ısıtılır. Böylece süperkritik sıcaklık ve basınç değerlerine getirilmiş olan akışkan sıcaklığı sabit tutulan bir ekstraktöre gönderilir. Ekstraktörde bulunan madde ile temas sonucu, süperkritik CO<sub>2</sub>'de çözünen karışım bir ayırıcıya alınır ve basıncı düşürülür. Basıncının düşürülmesi sırasında çözme gücünü kaybeden akışkan üründen ayrılır. Ayırıcıdan alınan CO<sub>2</sub> gazının geri kazanımı için bir soğutucuda sıcaklığı düşürülmektedir.

Soğutucudan çıkan sıvı CO<sub>2</sub> tekrar sisteme beslemek üzere sıvı CO<sub>2</sub> tüpünden alınan akımla karıştırılır. Elde edilen ürün ayırıcının altından toplanır.



Şekil 2.7. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sisteminin şematik gösterimi

### 2.3.6. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun avantajları

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, sahip olduğu avantajlar nedeniyle, geleneksel çözücü ekstraksiyon yöntemlerine alternatiftir. Başlıca avantajları şunlardır:

- Süperkritik akışkanlar nispeten düşük viskozite ve yüksek difüzyon katsayısına sahiptir. Bundan dolayı gözenekli katı maddelerin içerisine sıvı çözücülerden daha hızlı girmekte ve dolayısıyla ekstraksiyon daha kısa sürede gerçekleşmektedir.



- b. Süperkritik akışkanın ekstraktöre sürekli olarak beslenmesi, ekstraksiyon işlemlerinde yürütücü kuvvetin artmasına neden olur, bu da kütle aktarım hızını arttırır.
- c. Süperkritik akışkanların çözme güçleri sıcaklık ya da basınç değerlerindeki küçük değişimler ile büyük ölçüde değişmektedir. Bu özellik ürün seçimliliğini ve verimliliğini etkiler. Ayarlanabilir çözme gücü süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve süperkritik akışkan kromatografi uygulamaları için önemli bir avantajdır.
- d. Süperkritik akışkanlar ile ekstraksiyon işlemi sona erdiğinde, basıncın düşürülmesi ile akışkan, çözünen maddeden kolaylıkla ayrılabilir. Bu yöntemde üründe çözücü kalıntısı kalmamakta ve yeni bir saflaştırma işlemine gereksinim duyulmamaktadır.
- e. Organik çözücü ekstraksiyonu uygulamalarına göre daha az çözücü harcanması ve özellikle süperkritik akışkanlarla gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde CO<sub>2</sub> kullanılması, çevreye daha duyarlı işlemler ortaya koymuştur.
- f. Isıya duyarlı bileşiklerin ayırma ve saflaştırma süreçleri için süperkritik akışkan ekstraksiyonu en etkin yöntemdir.
- g. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda kullanılan akışkanlar inert çözücülerdir. Bu özellik, süperkritik koşullarda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde herhangi bir hidroliz, oksidasyon ya da bozunma tepkimesinin gözlenmemesini sağlamaktadır.
- h. Doğal ürünler bileşimlerinde düşük miktarlarda bulunan değerli endüstriyel ürünlerin ayırma işlemlerinde süperkritik akışkan ekstraksiyonu etkin bir süreçtir.
- i. Sistem doğrudan bir kromatografik analiz cihazına bağlanabilir ve elde edilen ekstraktın analizi çevrimiçi (on-line) olarak yapılabilir.
- j. Süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon süreçlerinde kullanılan akışkan ekstraktöre tekrar geri beslenebilir ve çözücü kaybı azaltıldığından ekonomik bir ayırma sürecidir [41].

### 2.3.7. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun dezavantajları

Süperkritik akışkanlarla ayırma işlemlerinin yüksek basınçta (>80 bar) gerçekleşmesinden dolayı yüksek yatırım maliyeti ve yüksek enerji gereksinimi gibi birkaç dezavantajı vardır. Bir başka dezavantajı ise, en saf CO<sub>2</sub> tüplerinin içeriğinde bile varolan %1-2 'lik oksijenin, antioksidanlar gibi oksijene hassas bileşikler ile tepkimeye girip az miktarda da olsa bozunmalarına neden olmasıdır [41].

### 2.3.8. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile bitkilerden kafein ekstraksiyonu

Bu konuda yapılan çalışmalardan bazıları şöyledir:

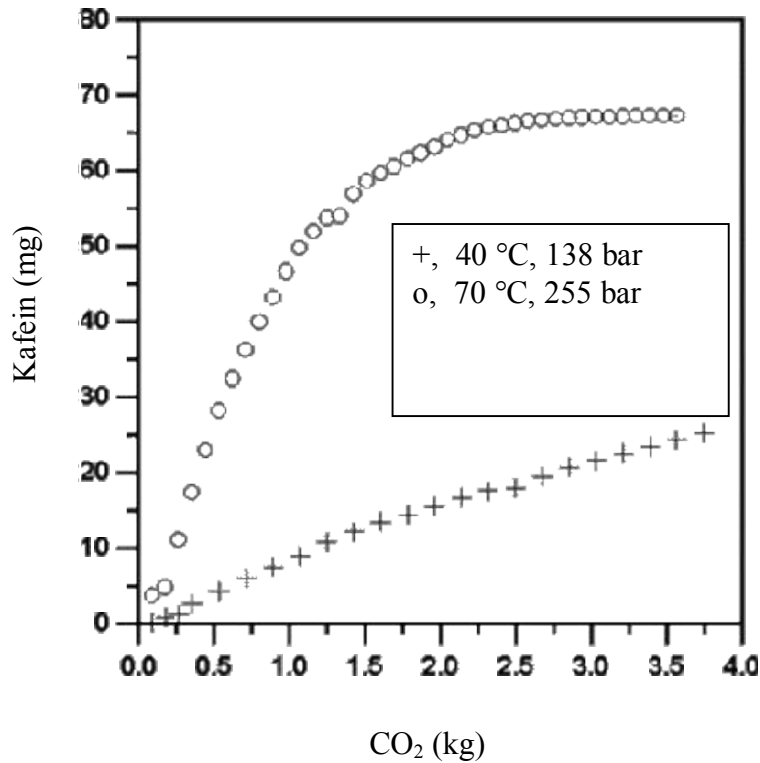
1986 yılında Udayasankar ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada süperkritik karbon dioksit kullanılarak kahveden kafein ekstraksiyonu için optimum şartlar belirlenmiştir. 260 bar basınçta 50°C sıcaklıkta süperkritik karbon dioksit ve yüksek basınç ekstraktörü kullanılmıştır. Süperkritik karbon dioksit için difüzyon katsayısı ise  $2,55 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{dakika}$  olarak tespit edilmiştir [42].

1992 yılında Peker ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu yöntemiyle kahve çekirdeklerinden kafein ekstrakte edilmiştir. Kafein alev iyonizasyon dedektörü tayin edilmiştir. Kafein veriminin, yeşil kahve çekirdeklerinin nem oranının artmasıyla, suyla doyurulmuş karbon dioksit kullanıldığında, sıcaklık ve basınçla arttığı görülmüştür. Kafeinin su ve süperkritik karbon dioksit arasında kütle transferi ve lineer itici güç yaklaşımına dayanan bir matematiksel model oluşturulmuştur [43].

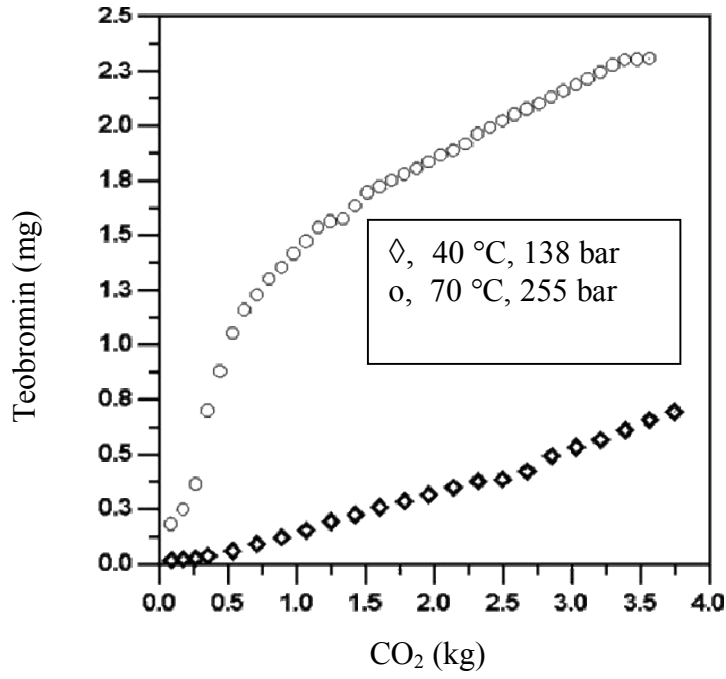
Wang ve Xiao ise yaptıkları çalışmada süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu ile çaydan elde ettikleri kafeini CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> ile saflaştırmışlardır. Sonuçta % 95,16 saflıkta % 0,55 oranında kafein elde etmişlerdir [44].

Saldana ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Paraguay Çayı'ndan (*Ilex paraguariensis*, maté tea) süperkritik karbon dioksit ile kafein, teofilin ve teobromin

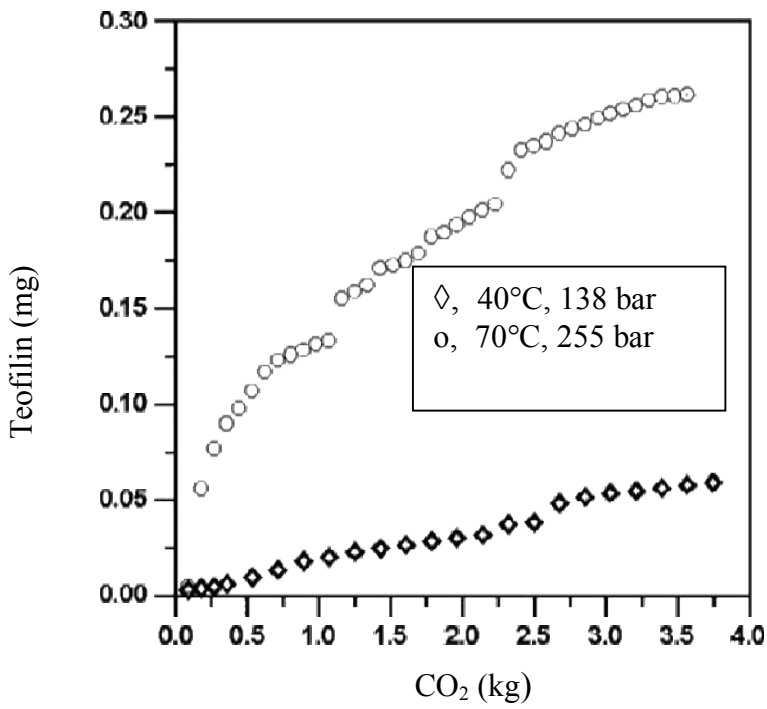
ekstrakte edilmiştir. Deneyler doğal çay yaprakları ile işlenmiş çay yaprakları üzerinden yürütülmüştür. 1,2-1,8 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı, 40°C- 138 bar ve 70°C - 255 bar sıcaklık ve basınç şartlarında deneyler tekrarlanarak toplam CO<sub>2</sub> miktarı ekstrakte edilen toplam madde miktarına karşı grafiğe geçirilmiştir. (Şekil 4.1) 1,5 kg CO<sub>2</sub> kullanıldığında 70°C sıcaklık ve 255 bar basınç şartlarında toplam ekstrakte edilen kafeinin %84,5'i, teobrominin %70,4'ü teofilinin de %67,3'ü toplanmıştır. Dolayısıyla karbon dioksitin kafein için teofilin ve teobrominden daha yüksek seçicilik gösterdiği bulunmuştur. 70°C - 255 bar 'da ekstrakte edilen kafein miktarı 40°C- 138 bar 'da ekstrakte edilen kafein miktarının 2,7 katıdır. Bu oran teobromin için 3,4, teofilin için 4,6'dır. 70°C - 255 bar 'da 9 g kuru çay yaprağından 67,27 mg kafein, 2,33 mg teobromin ve 0,27 mg teofilin elde etmişlerdir. Çalışmaya ait grafikler Şekil 2.8, 2.9 ve 2.10'da verilmiştir.[45].



Şekil 2.8. Toplam CO<sub>2</sub> miktarına karşı ekstrakte edilen toplam kafein miktarı (CO<sub>2</sub> akış hızı 1,2-1,8 g/dakika)

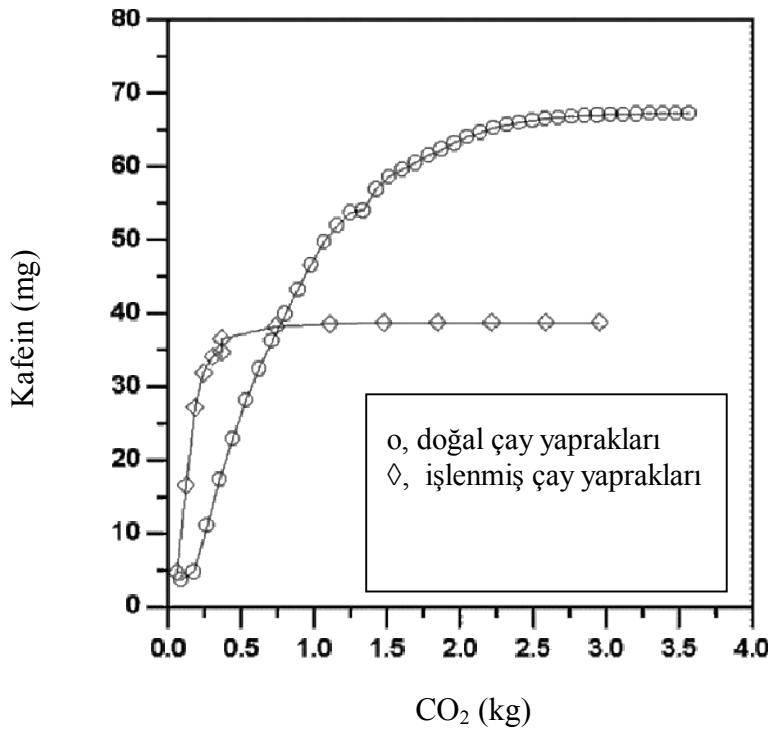


Şekil 2.9. Toplam CO<sub>2</sub> miktarına karşı ekstrakte edilen toplam teobromin miktarı (CO<sub>2</sub> akış hızı 1,2-1,8 g/dakika)



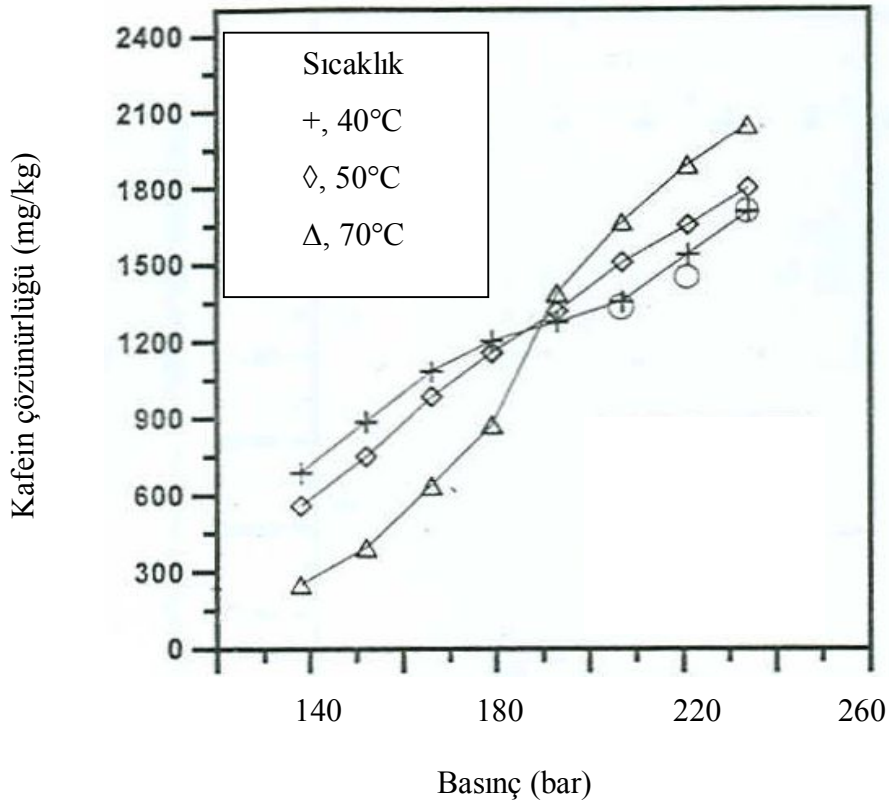
Şekil 2.10. Toplam CO<sub>2</sub> miktarına karşı ekstrakte edilen toplam teofilin miktarı (CO<sub>2</sub> akış hızı 1,2-1,8 g/dakika)

Ayrıca deneyler 70°C sıcaklık 255 basınçta doğal çay yaprakları (su içeriği %60) ve ticari öğütülmüş çay yaprakları (su içeriği %10) ile tekrarlanmıştır. Ticari çaydan kafein ekstraksiyonunda kafein miktarı başlangıçta çok hızlı artış göstermiş fakat daha sonra hemen hemen sabit kalmıştır. Bu ilk basamaklardaki yüksek ekstraksiyon hızının kütle transfer direncinin olmamasından kaynaklandığı düşünülmüştür. Doğal çay yapraklarında ise ekstraksiyona devam ettikçe kafein miktarının artış göstermeye devam ettiği görülmüş ve bunun da yüksek su içeriğinden kaynaklandığı belirtilmiştir (Bkz. Şekil 2.11).



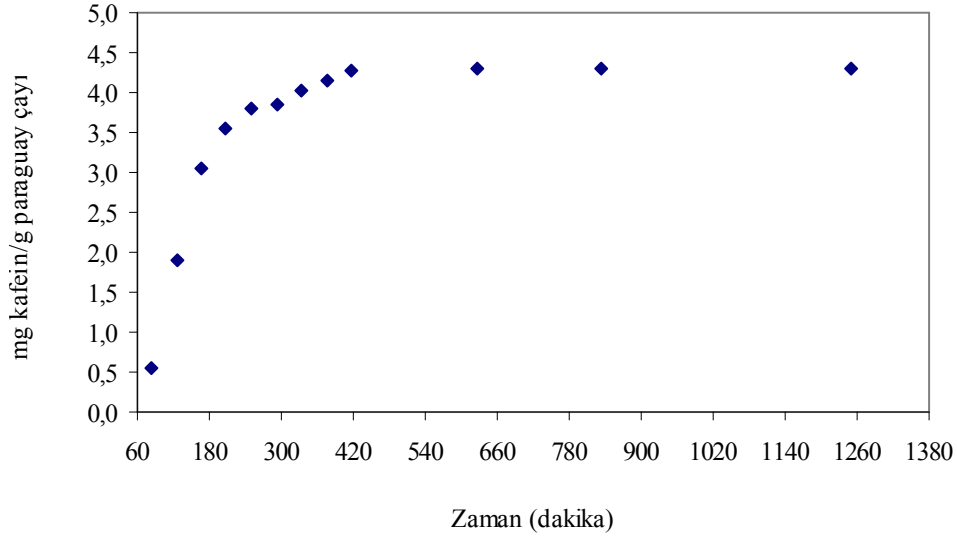
Şekil 2.11. Toplam CO<sub>2</sub> miktarına karşı ekstrakte edilen toplam kafein miktarı (CO<sub>2</sub> akış hızı 1,2-1,8 g/dakika, 70°C, 255 bar)

1999 yılında Saldana ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada da metilksantinlerin (kafein, teofilin, teobromin) 40 - 70° C sıcaklık ve 140 - 240 bar basınç aralığında süperkritik karbon dioksit içerisindeki çözünürlüklerini incelemiştir. Kafeinin çözünürlüğünde 190 bar basınca kadar sıcaklık etkisinin etkin olduğu, 190 bar basınçtan daha yüksek basınçlarda ise basıncın etkisinin sıcaklığın etkisinden daha fazla olduğu görülmüştür. Teofilin ve teobrominin süperkritik karbon dioksit içerisindeki çözünürlüklerinin basınç ve sıcaklık arttıkça arttığı görülmüştür.



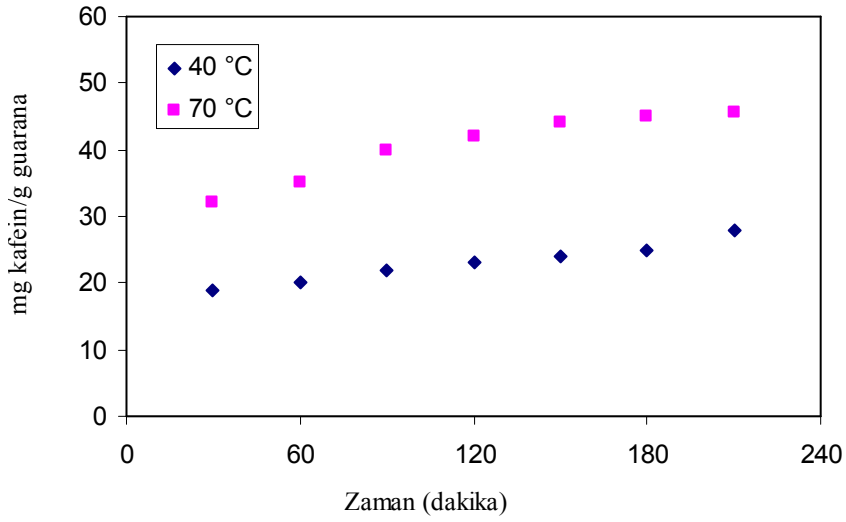
Şekil 2.12. Kafeinin farklı sıcaklık ve basınçlarda süperkritik karbon dioksit içerisindeki çözünürlükleri

Aynı çalışmada Paraguay Çayı'ndan (mate tea) metilksantinler ekstrakte edilmiştir. 70° C sıcaklık, 255 bar basınç ve 0,9-1,2 g/dak CO<sub>2</sub> akış hızında çalışılmışlardır. Ekstrakte edilen kafein miktarının zamanla değişimi Şekil 2.13'de verilmiştir. Şekil 2.13'den de anlaşılacağı üzere 7 saatten daha uzun ekstraksiyon sürelerinde ekstrakte edilen kafein miktarındaki artışın çok yavaşladığı görülmüştür [46].

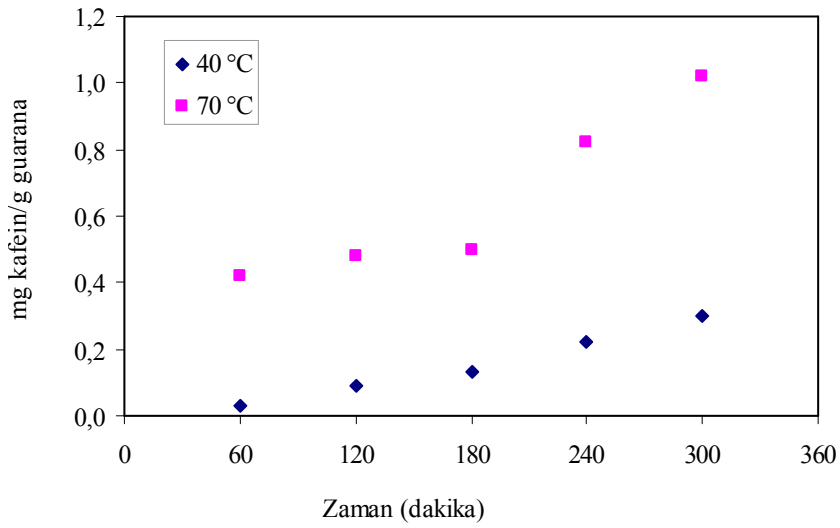


Şekil 2.13. Ekstraksiyon süresine karşı ekstrakte edilen kafein miktarı  
(0,9-1,2 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı, 70°C sıcaklık, 255 bar basınç)

2002 yılında Saldana ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; guarana çekirdeklerinden, paraguay çayından ve kakaodan metilksantinler ekstrakte edilmiştir. Deneyle 100, 200 ve 400 bar basınç, 40°C - 70°C sıcaklık ve 5,7 g/dakika karbon dioksit akış hızı şartlarında gerçekleştirilmiştir. Sonuçlara ilişkin grafikler Şekil 2.14, 2.15, 2.16, 2.17, 2.18 ve 2.19'da verilmiştir. Ayrıca %5 ve %10 etanol ikinci çözücü olarak eklendiğinde guarana çekirdekleri ve Paraguay Çayı'ndan elde edilen kafeinin zamanla değişim grafikleri Şekil 2.20 ve 2.21'de verilmiştir. 200 bar basınç ve 70°C sıcaklık şartlarında 145. dakikada Paraguay Çayı'ndan elde edilen kafein miktarları, sadece CO<sub>2</sub>, %5 etanol ve %10 etanol kullanıldığında sırasıyla 2,46, 3,32 ve 6,11 mg kafein/g Paraguay Çayı'dır. 200 bar basınç ve 70°C sıcaklık şartlarında 115. dakikada guarana çekirdeklerinden elde edilen kafein miktarları, sadece CO<sub>2</sub>, %5 etanol ve %10 etanol kullanıldığında sırasıyla 26,03, 27,77 ve 35,84 mg kafein/g guarana'dır [47].

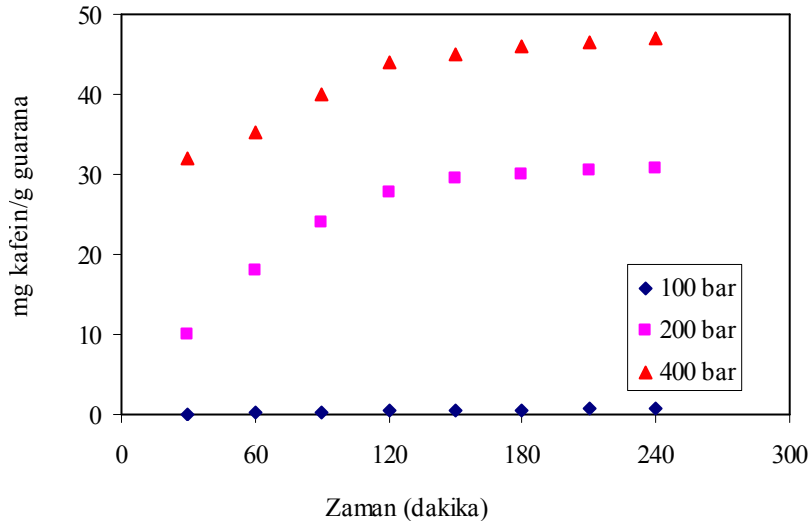


Şekil 2.14. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (400 bar basınç, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)

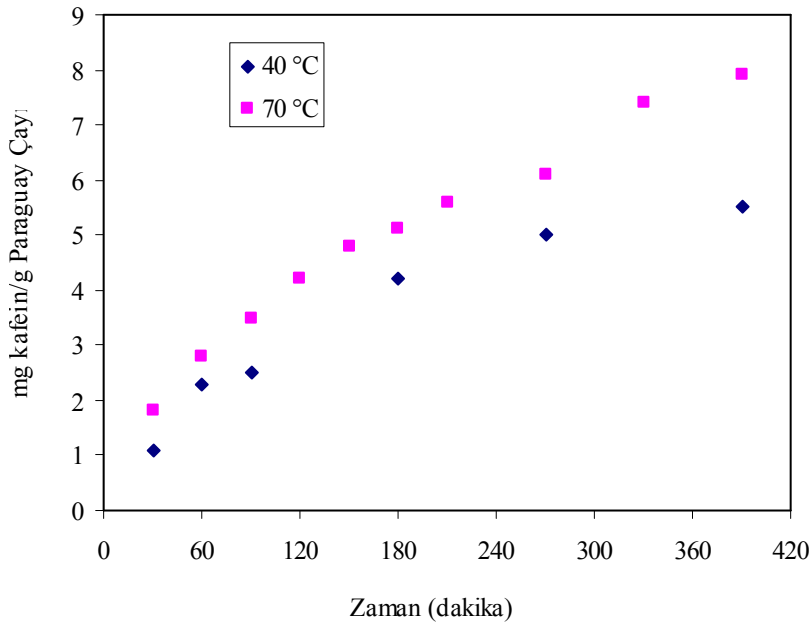


Şekil 2.15. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (100 bar basınç, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)

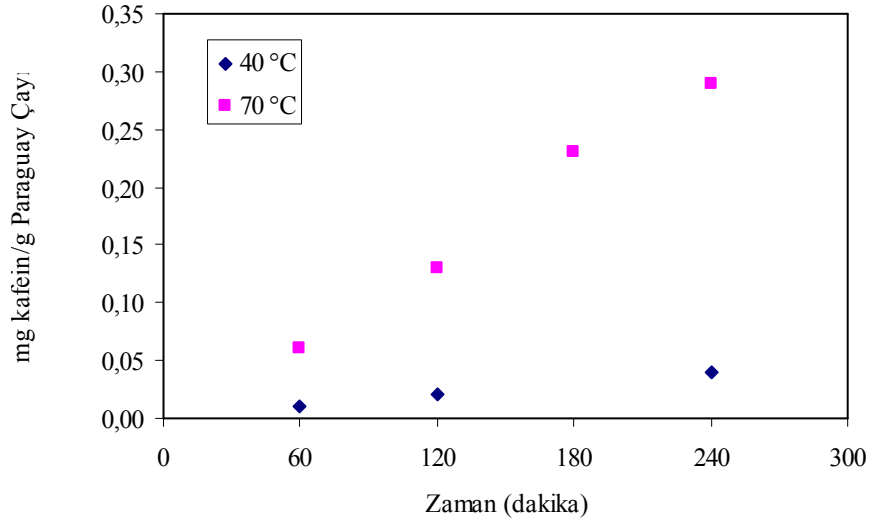




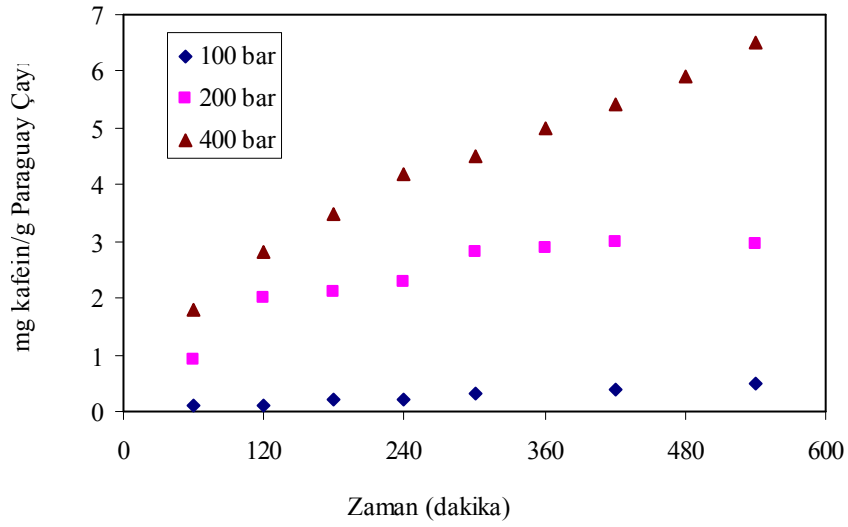
Şekil 2.16. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (70°C sıcaklık, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)



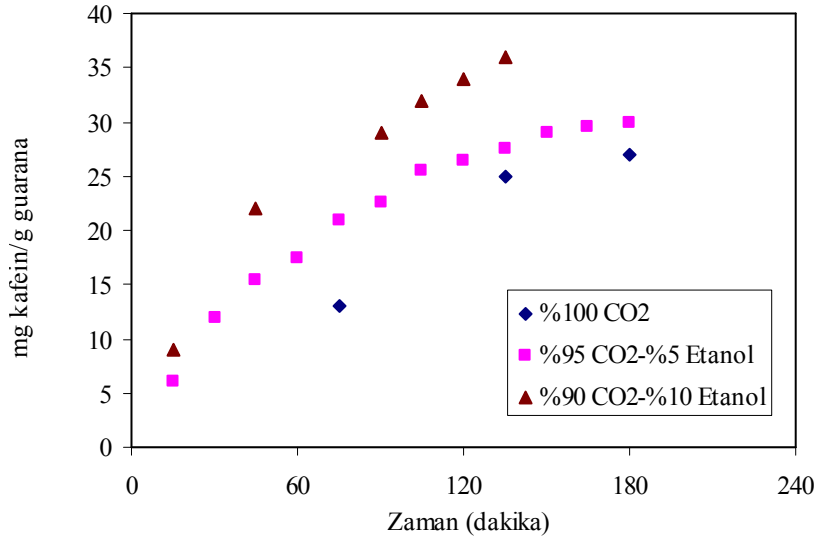
Şekil 2.17. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (400 bar basınç, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)



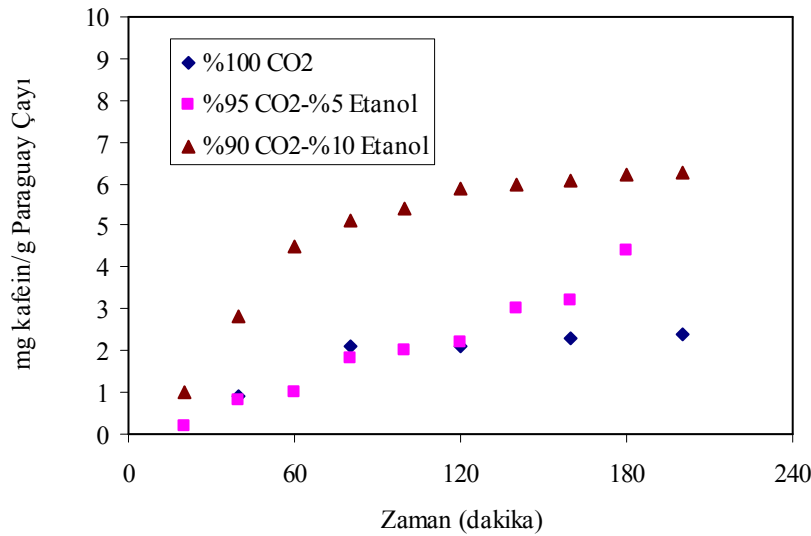
Şekil 2.18. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (100 bar basınç, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)



Şekil 2.19. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (70 °C sıcaklık, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)

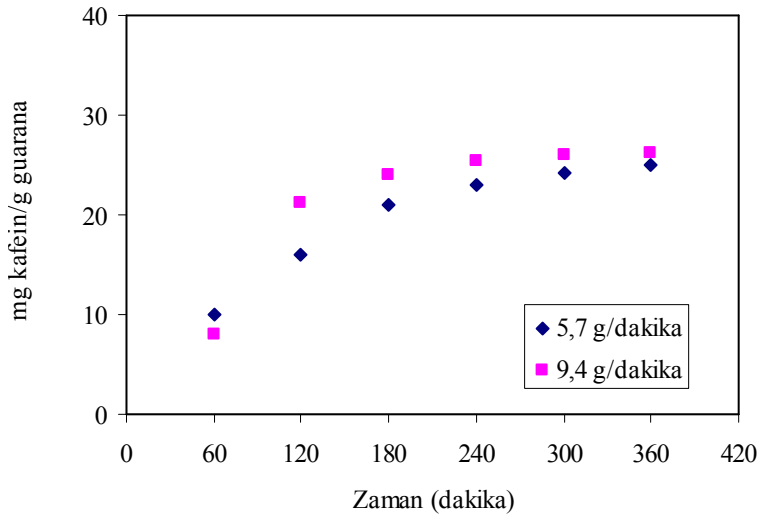


Şekil 2.20. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (70°C sıcaklık, 200 bar basınç, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)

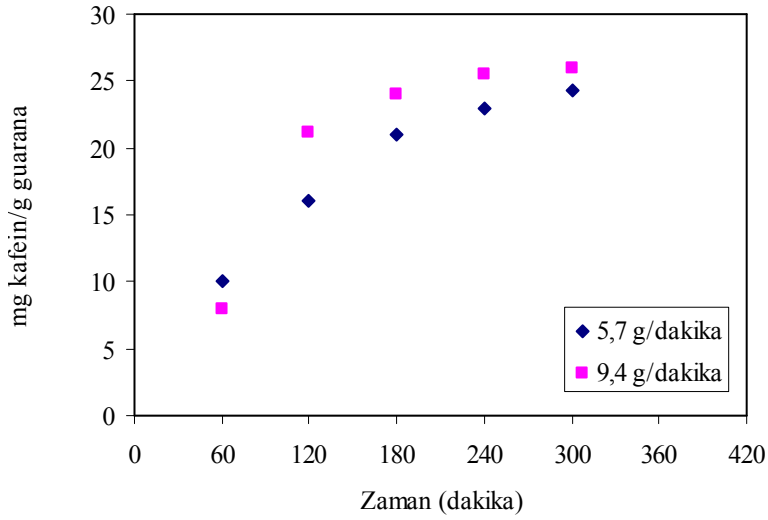


Şekil 2.21. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (70 °C sıcaklık, 200 bar basınç, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)

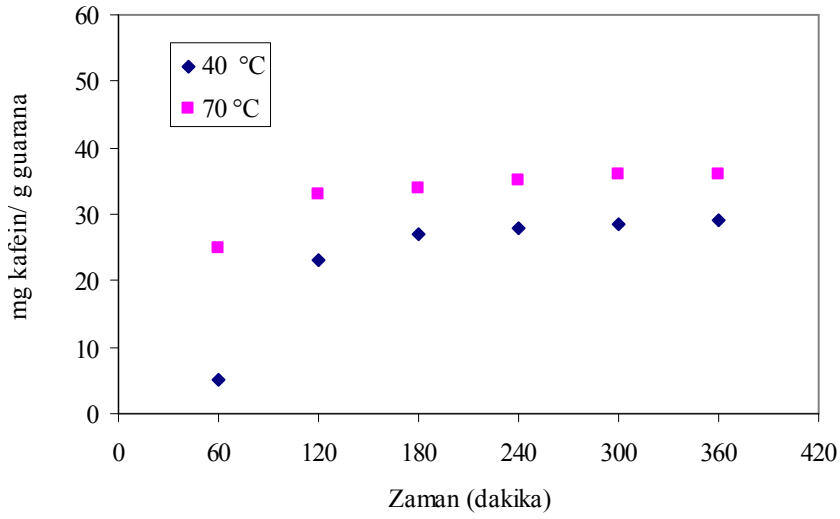
2002 yılında Saldana ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada guarana çekirdeklerinden kafein ekstrakte edilmiştir. Çalışmalar 40 -70 °C sıcaklık, 5,7-9,4 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı ve 100, 200 ve 400 bar basınç şartlarında yapılmıştır. Çalışmaya ilişkin grafikler Şekil 2.22, 2.23, 2.24 ve 2.25 te verilmiştir [48].



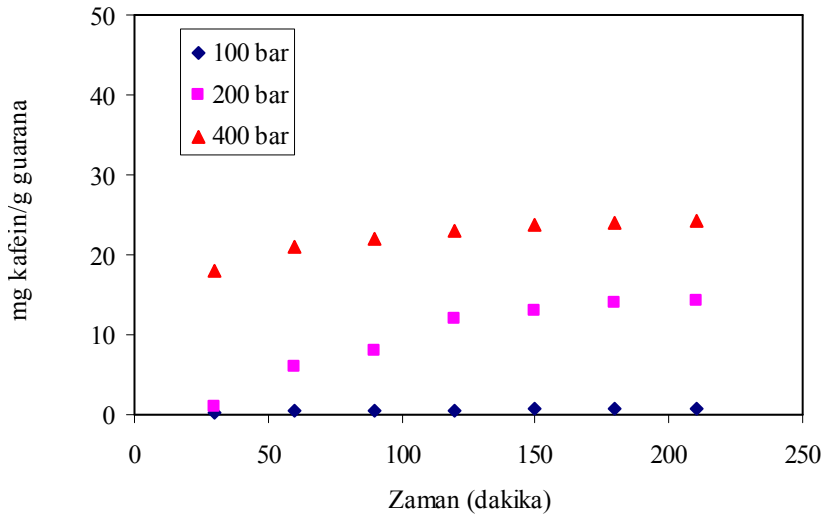
Şekil 2.22. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (40°C sıcaklık, 400 bar basınç)



Şekil 2.23. Ekstraksiyon süresine karşı guarana çekirdeklerinden ekstrakte edilen kafein miktarı (70°C sıcaklık, 400 bar basınç)



Şekil 2.24. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (400 bar basınç, 9,4 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)

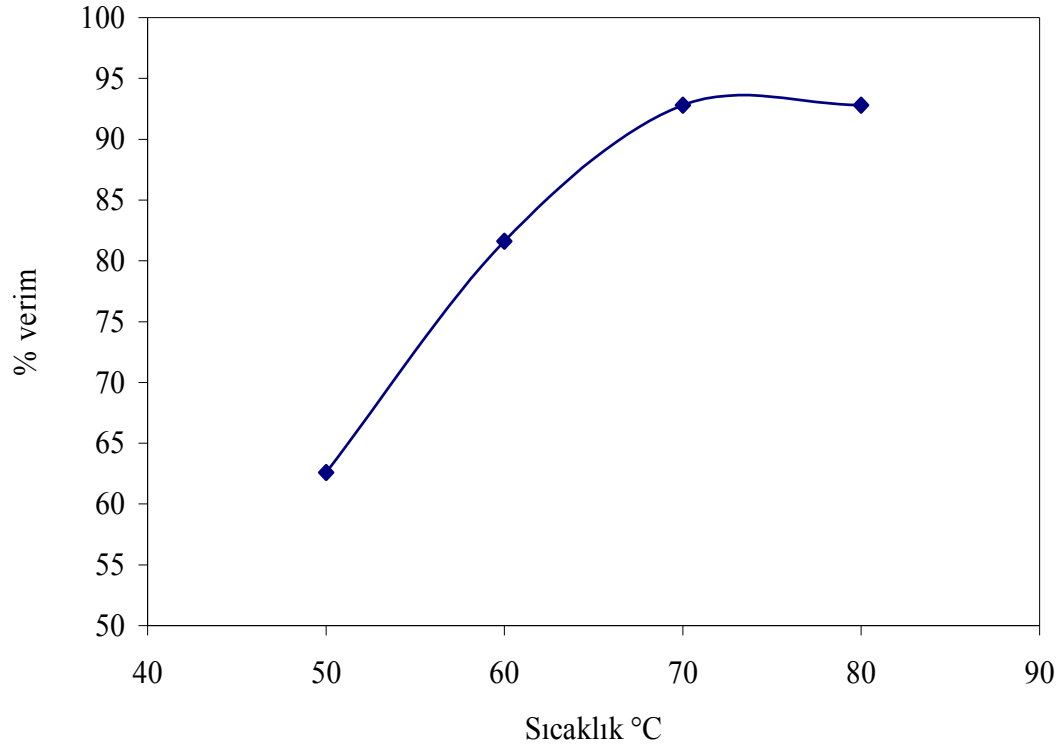


Şekil 2.25. Ekstraksiyon süresine karşı Paraguay Çayı'ndan ekstrakte edilen kafein miktarı (40°C sıcaklık, 5,7 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı)

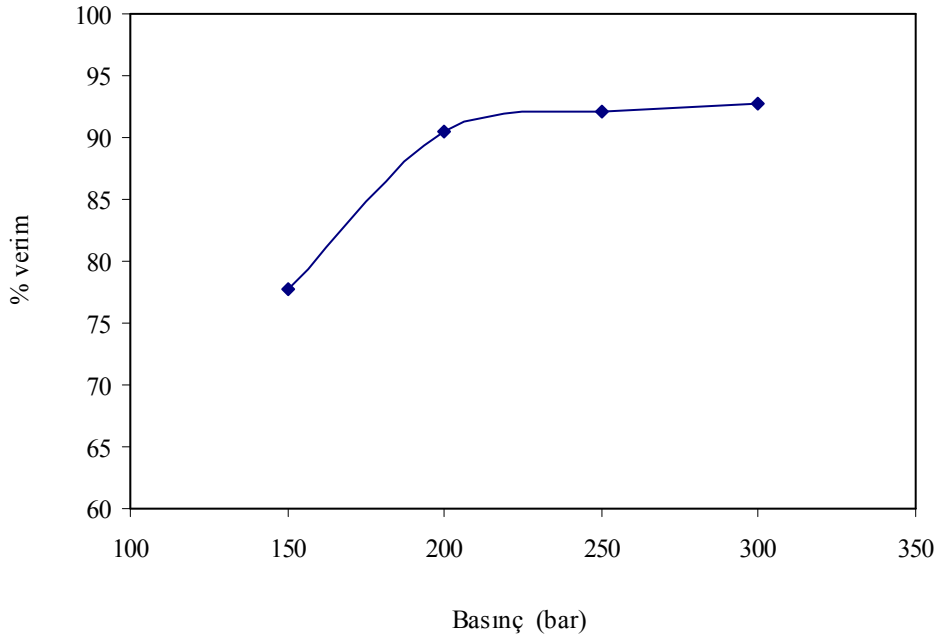
2005 yılında Kopcak ve Mohamed yaptıkları çalışmada kafeinin karbon dioksit/co-solvent karışımındaki çözünürlüğünü incelemiştir. %5 etanol - %95 CO<sub>2</sub>, %10 etanol - %90 CO<sub>2</sub> ve %5 izopropanol - %95 CO<sub>2</sub> karışımları içerisinde 50°C ile 70°C sıcaklık ve 152 bar ile 300 bar basınç aralığında kafeinin çözünürlüğü belirlenmiştir. Etanol ya da izopropanol eklenmesi kritik sıcaklık ve basıncı yükseltmiştir. Örneğin saf karbon dioksitin kritik basıncı 74 bar kritik sıcaklığı 31°C iken, %10 etanol - %90 CO<sub>2</sub> karışımının kritik basıncı 105 bar kritik sıcaklığı 53°C'dir. Etanol ve izopropanol

eklendiğinde kafein çözünürlüğünün saf karbon dioksit içerisindeki çözünürlüğünden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. %10 etanol içeren karışımdaki kafeinin çözünürlüğü saf karbon dioksit içerisindeki çözünürlüğünün 8 katıdır [49].

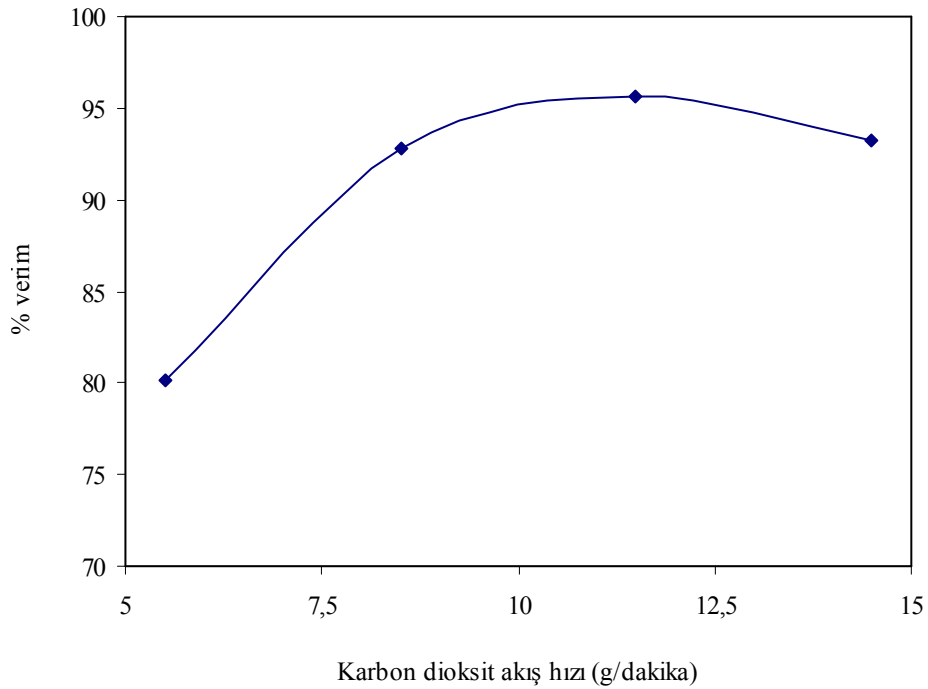
2007 yılında Park ve arkadaşları süperkritik ekstraksiyon metodu ile yeşil çaydan kafeini uzaklaştırmışlardır. Çalışmalarını 150–300 bar basınç ve 50–80°C sıcaklık aralığında tekrarlayarak sıcaklık ve basıncın verime etkisini incelemişlerdir. İkinci çözücü olarak %95'lik etanol (4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>) kullanmışlardır. Söz konusu çalışmaya ait grafikler aşağıda verilmiştir.



Şekil 2.26. Ekstraksiyon veriminin sıcaklıkla değişimi ( 300 bar basınç, 543,7 µm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı (4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>), zaman 120 dakika)

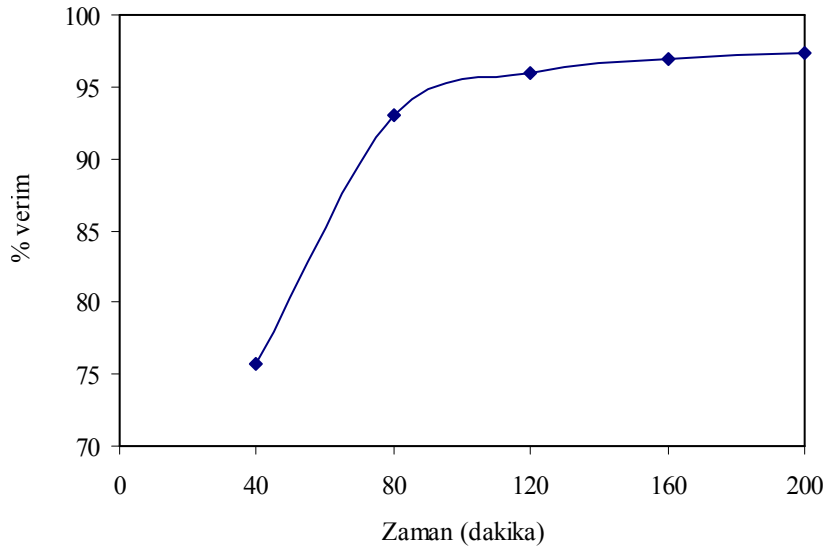


Şekil 2.27. Ekstraksiyon veriminin basınçla değişimi (70°C sıcaklık, 543,7  $\mu\text{m}$  tanecek büyüklüğü, 8,5 g/dakika  $\text{CO}_2$  akış hızı (4,6 g etanol/100 g  $\text{CO}_2$ ), zaman 120 dakika)



Şekil 2.28. Ekstraksiyon veriminin karbon dioksit akış hızı ile değişimi (70°C sıcaklık, 300 bar basınç, 543,7  $\mu\text{m}$  tanecek büyüklüğü, zaman 120 dakika)

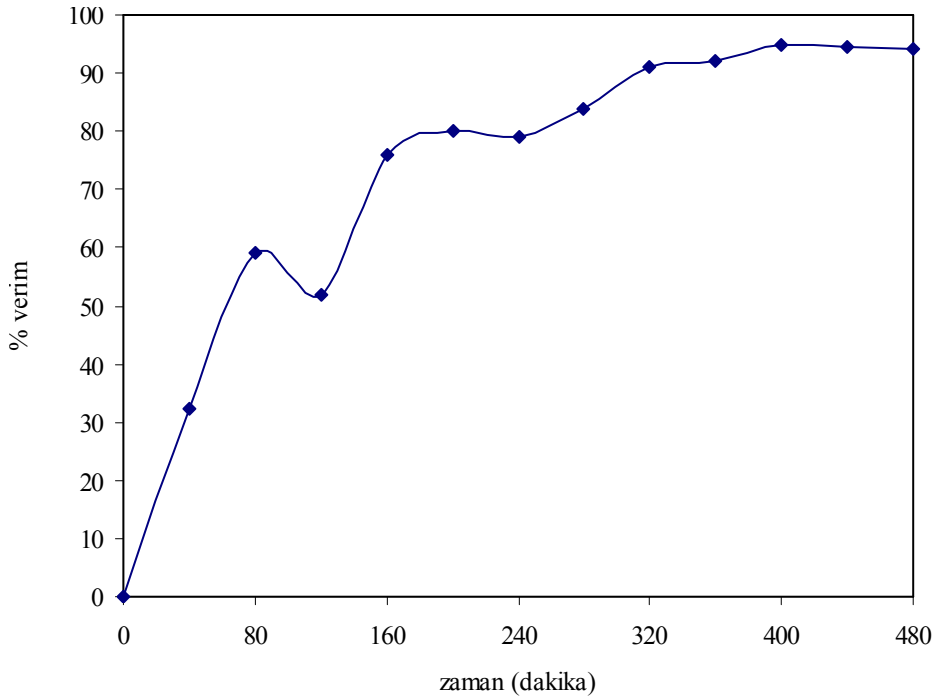
Ekstraksiyon süresinin verime etkisini ise iki farklı tanecik büyüklüğü ile incelemiştir. (300 bar basınç, 70 °C sıcaklık, 11,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı (4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>), İlk olarak verilen şartlarda 236,5 µm tanecik büyüklüğünde 40, 80, 120, 160 ve 200 dakika çalışmışlardır.



Şekil 2.29. Ekstraksiyon veriminin ekstraksiyon süresi ile değişimi (70°C sıcaklık, 300 bar basınç, 236,5 µm tanecik büyüklüğü, 11,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı (4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>))

İkinci olarakta aynı şartlarda 5,5–17,4 mm tanecik büyüklüğünde numune ile çalışmışlardır, söz konusu grafik Şekil 2.30'da verilmiştir.

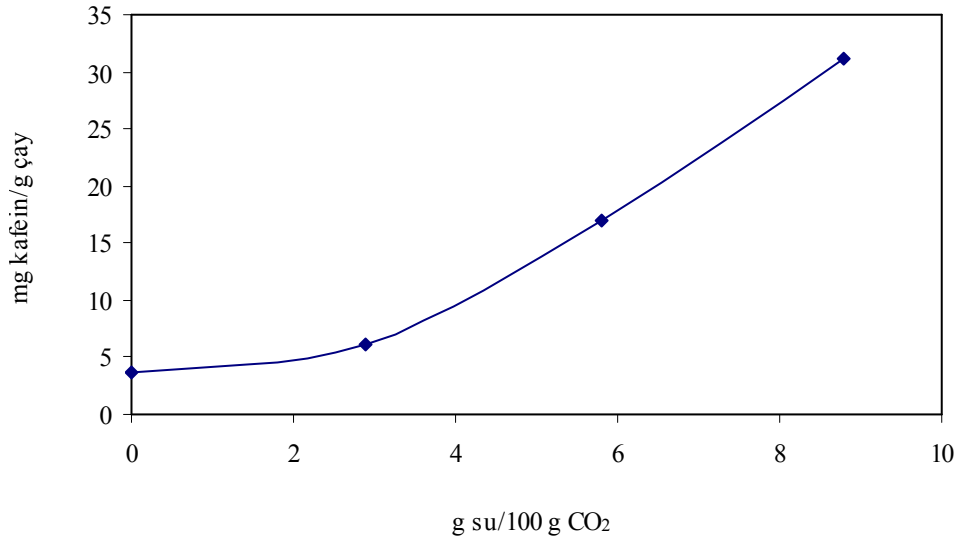




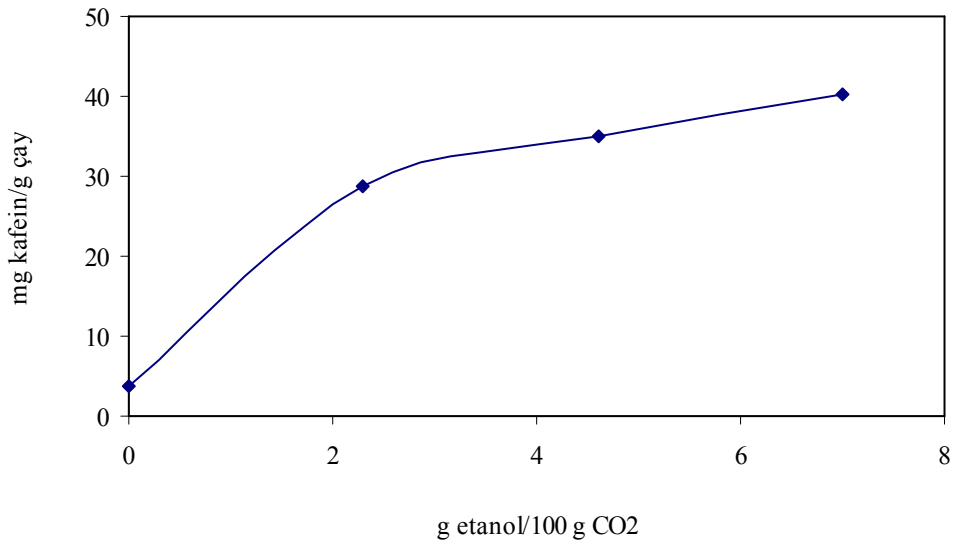
Şekil 2.30. Ekstraksiyon veriminin ekstraksiyon süresi ile değişimi (70 °C sıcaklık, 300 bar basınç, 5,5-17,4 mm tanecik büyüklüğü, 11,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı (4,6g etanol/100g CO<sub>2</sub>))

Grafiklerden de görüldüğü üzere tanecik büyüklüğü arttıkça aynı verime ulaşabilmek için çok daha uzun ekstraksiyon süresi gerekmektedir. Örneğin 40. dakikada 236,5 µm tanecik büyüklüğü ile çalışıldığında verim %75,7 iken 5,5–17,4 mm tanecik büyüklüğü ile çalışıldığında verim %32,3 tür [50].

2007 yılında Park ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada da yeşil çay ile çalışılmış ikinci çözücü olarak su ve etanol kullanılmış ve elde edilen kafein miktarına etkisi incelenmiştir. Çalışmaya ilişkin grafikler Şekil 2.31, 2.32, 2.33, 2.34 ve 2.35 te verilmiştir [51].



Şekil 2.31. Su ilavesinin ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi  
(0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı, 300 bar, 70 °C,120 dakika)

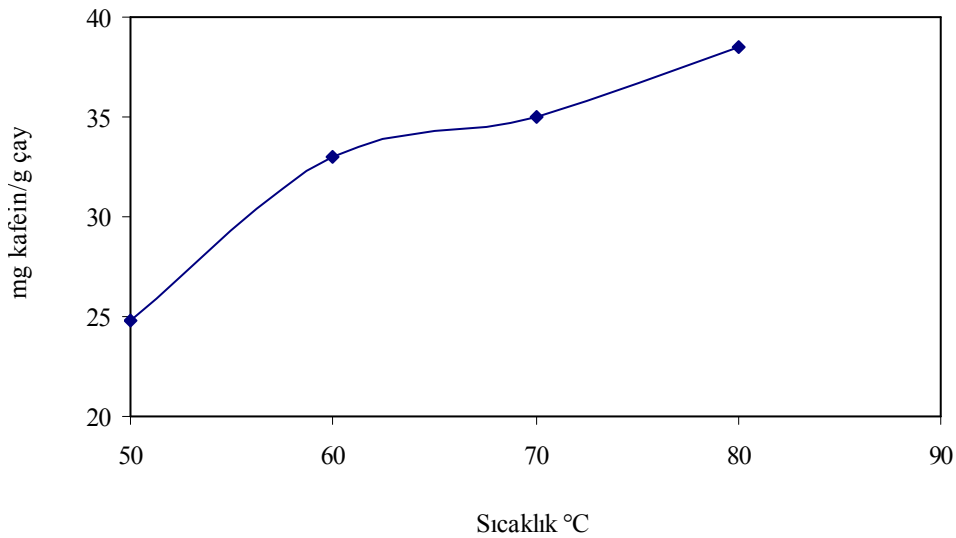


Şekil 2.32. Etanol ilavesinin ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi  
(0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı, 300 bar, 70°C,120 dakika)

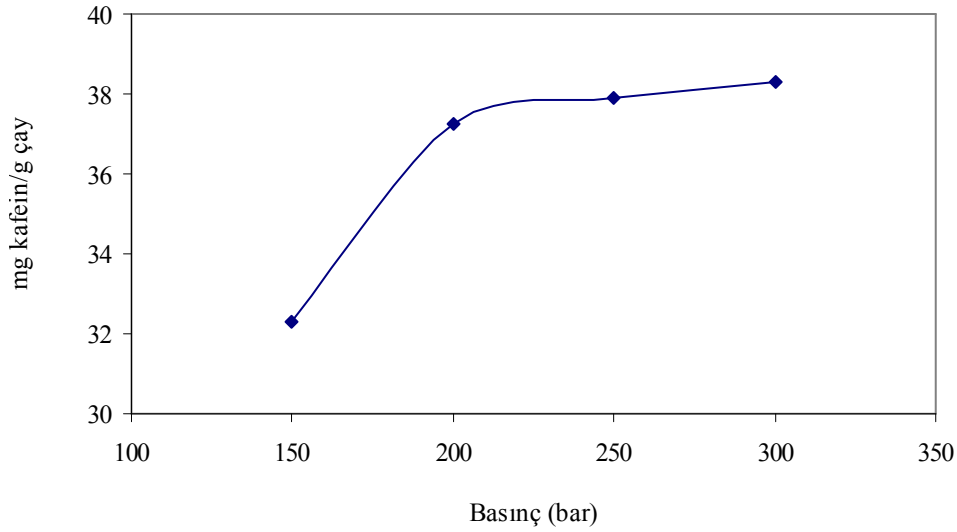
Şekil 2.31'den görüldüğü üzere ekstrakte edilen kafein miktarı kullanılan suyun miktarıyla oldukça etkin bir artış göstermiştir. Örneğin hiç su kullanılmadan söz konusu şartlarda 3,7 mg kafein/g kuru yeşil çay elde edilirken 2,9 g su/100g CO<sub>2</sub>

şartlarında bu miktar 6,2 olup, 8,8 g su/100g CO<sub>2</sub> şartlarında ise 16,9'a yükselmektedir. Şekil 2.32'de ise etanol ilavesinin etkisi görülmektedir. Etanol kullanıldığında en düşük konsantrasyon olan 2,3 g etanol/100g CO<sub>2</sub> şartlarında bile ekstrakte edilen kafein miktarı hiç etanol ve su kullanılmayan şartlarda ekstrakte edilen kafein miktarının yaklaşık 7,5 katı kadardır. Etanol varlığı en düşük konsantrasyonda dahi verimi oldukça arttırmıştır, etanol konsantrasyonu arttıkça ekstrakte edilen kafein miktarının da artmaya devam ettiği gözlenmiştir.

Aynı çalışmada sıcaklık ve basıncın etkisinde incelenmiş olup ilgili grafikler aşağıda verilmiştir.



Şekil 2.33. Sıcaklığın ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi (0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı, (4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>) 300 bar,120 dakika)



Şekil 2.34. Basıncın ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi (0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı, (4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>) 70°C, 120 dakika)

1996 yılında Mehr ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada süperkritik karbon dioksit ile guarana çekirdeklerinden kafein ekstrakte etmişlerdir. 55°C sıcaklık ve 200 bar basınçta guarana çekirdeklerinde kafeinin etkin difüzyon katsayısı  $0,46 \times 10^{-7} \text{ cm}^2/\text{s}$  olarak bulmuşlardır [52].

Esmelindro ve arkadaşları ise Paraguay Çayı'nda işlenmeden önce, ön ısıtma sonrası, kurutma sonrası ve depolamanın 5. ve 21. gününde süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu ile kafein miktarlarını tespit etmişlerdir. Çalışmaları 100-200 bar basınç ve 15-55°C sıcaklık aralığında yapmışlardır [53].

Brudi ve arkadaşları ise karbon dioksit ve su sisteminde bazı organik maddelerin (kafein, vanilin v.b.) dağılma katsayılarını incelemişlerdir. Deneyleri 80-300 bar basınç ve 40-60°C sıcaklık aralığında yapmışlardır [54,55].

Süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu ile yapılmış incelenen literatür çalışmalarının tamamında kafein direkt olarak bitkilerden ekstrakte edilmiştir. Yaptığımız deneysel çalışmada ise kafein çay atıklarından ekstrakte edilmiştir. Dolayısıyla daha önce yapılan çalışmalara göre farklılık arz etmektedir.

### **3. DENEYSEL ÇALIŞMA**

#### **3.1. Numune Hazırlama**

Deneysel çalışmalarda Rize Çay-Kur Çay Fabrikası'nda siyah çayın işlenmesi sona erdikten sonra atılan ve üretimde kullanılmayan çay sapları ve lifleri kullanılmıştır.

Numuneler ilk olarak, 1,00 mm çaplı deliklere sahip eleği olan Retsch marka bitki öğütme makinasında öğütülmüştür. Daha sonra sırasıyla 0,710 mm, 0,500 mm, 0,355 mm ve 0,250 mm elekler kullanılarak elek analizine tabi tutulmuştur. Malvern Mastersizer boyut analizi cihazı ile ortalama tanecik büyüklükleri hesaplanmıştır. Farklı büyüklükteki numuneler 100–105 °C etüvde 2 saat kurutularak sabit tartıma getirilmiştir.

#### **3.2. Cihazlar**

Süperkritik ekstraksiyon cihazı Applied Separations' Spe-ed SFE firm modelidir. Cihaz pompa, fırın içerisinde ekstraksiyon ünitesi ve toplama ve kontrol üniteleri olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Ayrıca ikinci çözücü kullanabilmek için sisteme ikinci bir modifiye pompa dahil edilmiştir. [24] HPLC Cihazı Dionex P680 HPLC Pompa ve UVD 170U dedektörden oluşmaktadır. Cihazların teknik özellikleri ve fotoğrafları Ek 1'de verilmiştir.

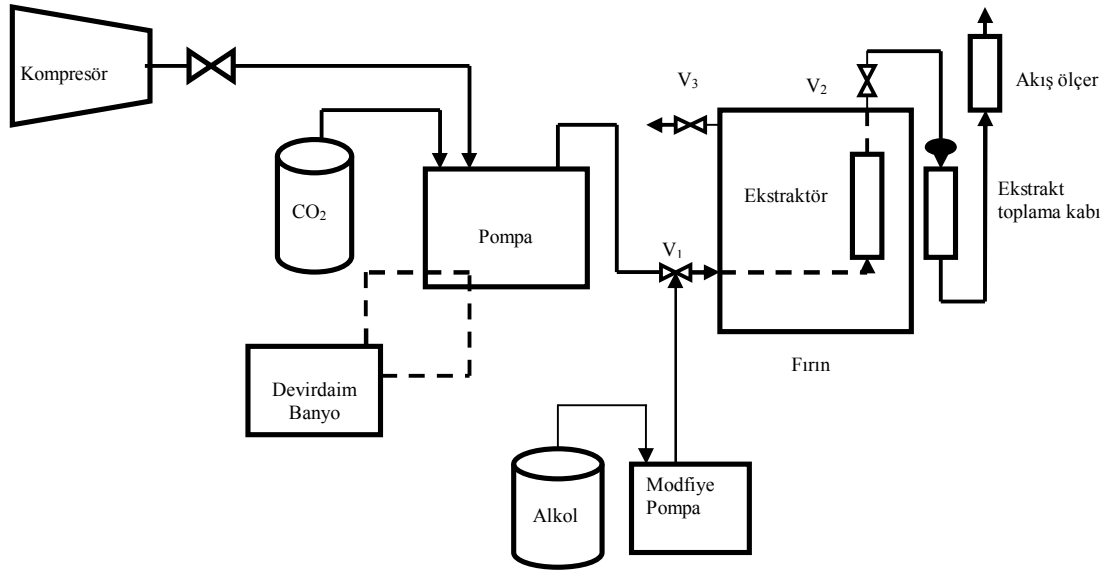
#### **3.3. Deney Metodu ve Kimyasal Maddeler**

Deneyleerin tüm aşamasında deiyonize su ve yüksek saflıkta kimyasallar kullanılmıştır.

- Kafein % 99,99 saflıkta (Merck)
- Karbon dioksit %99,9 (Oksan)
- Asetonitril %99,99 (Merck)

- Etanol %99,99 (Merck)

5 g kurutulmuş çay atıkları 10 mL su ile ıslatılarak 24 mL hacimli ekstraktöre yerleştirilmiştir. Ekstraktördeki en ufak kaçak numune kaybına neden olacağı ve çalışmayı güçleştireceği için ekstraktörün kapakları özel contalarıyla kapatılarak kaçak yapması engellenmiş ve fırın içerisindeki bölümüne yerleştirilmiştir. Ayrıca bağlantı elemanları da kaçak yönünden köpük ile kontrol edilmiştir. Şekil 3.1’de görüldüğü üzere deney sistemi sifonlu CO<sub>2</sub> tüpü, kompresör, pompa, devirdaim banyo, modifiye pompa, fırın ve ekstraktör, ekstrakt toplama kapları ve akış ölçerden oluşmaktadır. V<sub>1</sub> (giriş vanası) açık, V<sub>2</sub> (çıkış vanası) ve V<sub>3</sub> (sistemdeki çözücüyü boşaltma vanası) kapalı olarak sistem çalıştırılmıştır. Fırın ısıtılarak ekstraktörün istenilen sıcaklığa ulaşması sağlanmıştır. Pompa yardımıyla da CO<sub>2</sub> istenilen basınca kadar sıkıştırılır, sonra V<sub>2</sub> vanası açılarak ekstraksiyon işlemine başlanmıştır. Çıkış vanası ısıtılarak (130-135°C) CO<sub>2</sub>’in katı faza geçerek sistemi tıkanması önlenmiştir. Sistem kesikli olarak çalıştırılmış, işlem boyunca ekstrakt numune kabında toplanmıştır. İstenilen süre sonunda V<sub>1</sub> ve V<sub>2</sub> vanaları kapatılıp V<sub>3</sub> vanası açılarak sistem içerisindeki CO<sub>2</sub> uzaklaştırılmış ve işlem sonlandırılmıştır. İkinci çözücü (etanol) ile yapılan deneylerde modifiye pompa kullanılmıştır. Toplanan ekstrakt 100 mL sıcak su ile çözülerek vakum altında filtre kağıdından süzülmüştür. Süzüntü su ile 10 kat seyreltilerek HPLC cihazında analiz edilerek kafein miktarı hesaplanmıştır. HPLC cihazında 4,6 x 150 mm boyutlarında Acclaim 120 C18, 3 µm kolon kullanılmıştır. Öncelikle 12,5, 25, 50 ve 100 ppm konsantrasyonlarında standart kafein çözeltileri hazırlanmış ve kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir. Mobil faz olarak %30 asetonitril %70 su kullanılmıştır. Analizler 0,8 mL/dakika akış hızında 272 nm’ de ve 138 bar basınçta yapılmıştır.



Şekil 3.1. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi akım şeması

### 3.4. Parametreler

Deneysel çalışmalarda, ekstraksiyon süresi, CO<sub>2</sub> akış hızı, sıcaklık, basınç, tanecik büyüklüğü ve etanol ilavesinin ekstrakte edilen kafein miktarına etkisi incelenmiştir. Parametrik çalışma, süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ve süperkritik CO<sub>2</sub> + etanol ekstraksiyonu olmak üzere iki grupta yapılmıştır. Çizelge 3.1’de verilen çalışma şartları aralıklarında deneyler tekrarlanarak optimum şartlar belirlenmiştir.

Çizelge 3.1. Parametreler ve çalışma aralıkları

Parametreler	Çalışma aralığı
Ekstraksiyon süresi, dakika	60-600
CO <sub>2</sub> akış hızı, g/dakika	6-12
Sıcaklık, °C	50-70
Basınç, bar	150-300
Tanecik büyüklüğü, mm	0-0,710
Etanol/CO <sub>2</sub> oranı, g/100 g CO <sub>2</sub>	1,05-6,44



## **4. DENEY SONUÇLARI VE TARTIŞMA**

Sonuçlar süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ve ikinci çözücü (etanol) etkisi olmak üzere iki set halinde verilmiştir. Ayrıca son bölümde kütle transfer katsayısı ile ilgili modellemeye ait sonuçlar verilmiştir.

### **4.1. Süperkritik Karbon Dioksit Ekstraksiyonu Sonuçları**

Deneyleerde 0,387 mm ortalama tanecik büyüklüğünde olan atık çay saptarı kullanılmıştır. İlk olarak zaman parametresi incelenmiştir. 5 g kuru çay saptarından elde edilen kafein miktarı çizelge ve grafiklerde mg kafein/g kuru atık çay olarak ifade edilmiştir.

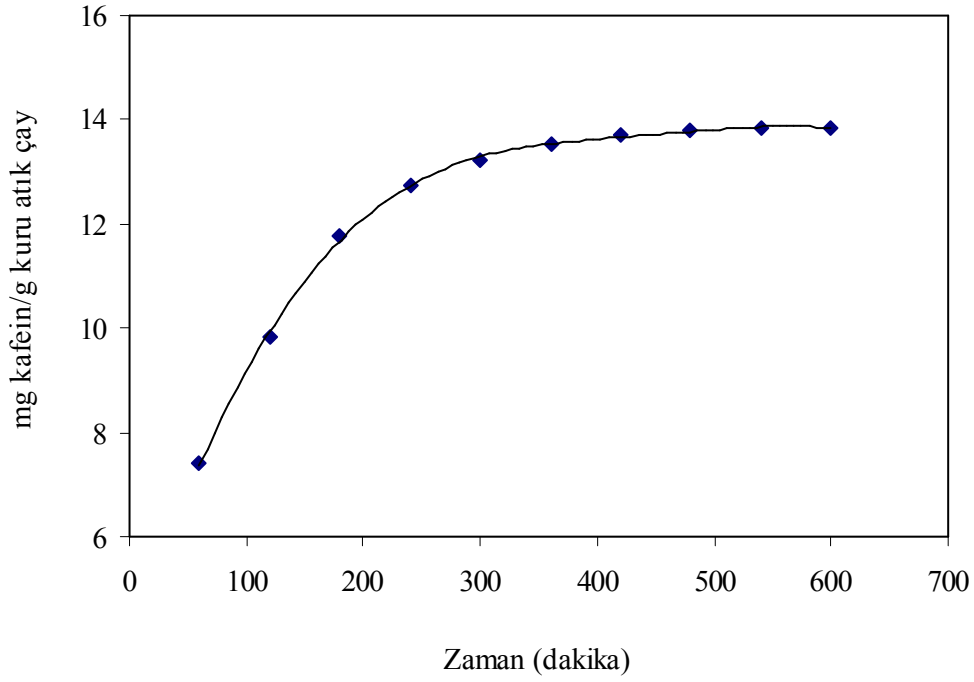
#### **4.1.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi**

İlk olarak ekstraksiyon süresinin etkisi araştırılmıştır. Bu sette su miktarı, sıcaklık, basınç, tanecik büyüklüğü ve karbon dioksit akış hızı sabit tutulurken, ekstraksiyon süresi değiştirilmiştir. Literatürdeki değerlerden yararlanılarak su miktarı 10 mL, sıcaklık 55°C, basınç 200 bar, tanecik büyüklüğü 0,387 mm, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika olarak sabit tutulmuştur. Kafein miktarının zamana göre değişimi Çizelge 4.1'de verilmiştir .

Çizelge 4.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi (sıcaklık 55 °C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika )

Zaman (dakika)	mg kafein/kuru atık çay
60	7,40
120	9,85
180	11,79
240	12,75
300	13,21
360	13,53
420	13,71
480	13,79
540	13,82
600	13,84

Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1’de görüldüğü üzere 60 dakika ekstraksiyon sonunda elde edilen kafein oranı 7,80 mg kafein/g kuru atık çay iken 420 dakika sonunda 13,71 mg kafein/g kuru atık çay’ a kadar çıkmaktadır. 420. dakikadan sonra artış çok yavaşlamaktadır. Bu nedenle bundan sonraki deneylerde optimum ekstraksiyon süresi 420 dakika olarak alınmıştır. Saldana ve arkadaşları tarafından 1999 yılında Paraguay Çayı’ndan yapılan çalışmada da 420. dakikadan sonra ekstrakte edilen kafein miktarındaki artışın oldukça azaldığı gözlenmiştir [46].



Şekil 4.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi (sıcaklık 55 °C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika )

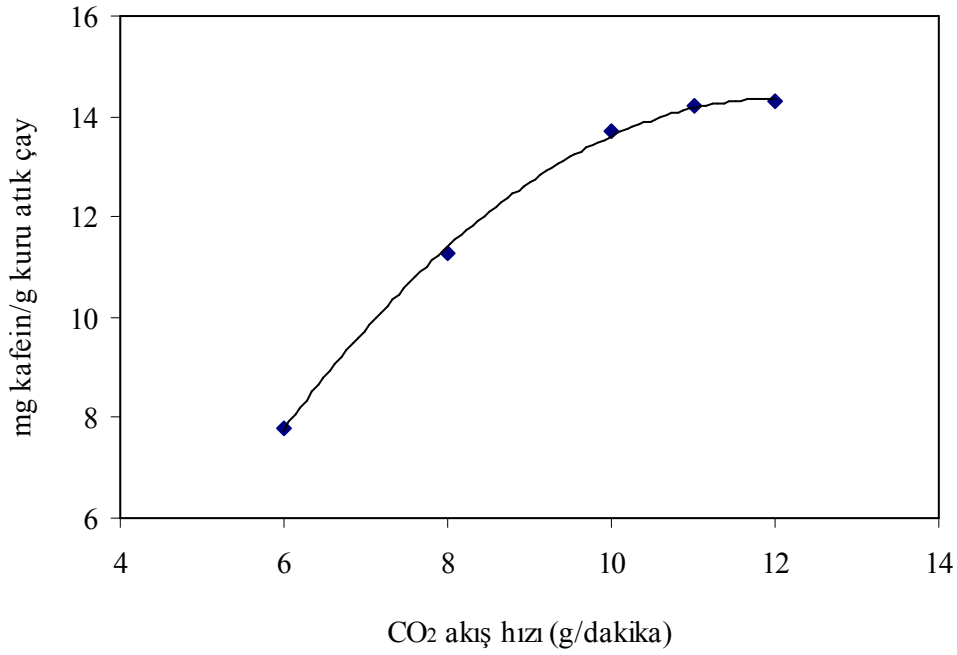
#### 4.1.2. Karbon dioksit akış hızının etkisi

Bu aşamada literatürden yararlanılarak belirlenen sıcaklık, basınç, tanecik büyüklüğü ile deneysel olarak kaydedilen ekstraksiyon süresi sabit tutulurken, karbon dioksit akış hızı değiştirilmiştir. 5 g kurutulmuş numune 10 mL su ile ıslatılarak hazırlanmıştır. Sıcaklık 55 °C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika olarak sabit tutulmuştur. Karbon dioksit akış hızına karşılık kaydedilen kafein miktarları Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Karbon dioksit akış hızının etkisi (sıcaklık 55°C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika)

CO <sub>2</sub> akış hızı g/ dakika	mg kafein/kuru atık çay
6	7,81
8	11,27
10	13,71
11	14,22
12	14,29

Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2 de görüldüğü üzere 6 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızında 7,81 mg kafein/g kuru atık çay ekstrakte edilebilirken 12 g/dakika akış hızında bu değer % 14,29 mg kafein/g kuru atık çay'a kadar yükselmiştir. Akış hızı artıka ekstrakte edilen kafein miktarının arttığı gözlenmektedir. Yüksek akış hızlarında verimdeki artışın giderek azaldığı görülmektedir. 2007 yılında Park ve arkadaşları tarafından yeşil çay ile yapılan çalışmada da optimum akış hızı 11,5 g/dakika olarak bulunmuştur [51]. Sonuçlar bu değerlerle paralellik göstermektedir. 11 g/dakika ve 12 g/dakika akış hızlarındaki ekstrakte edilen kafein miktarı çok yakın olduğundan bundan sonraki deneylerde akış hızı 11 g/dakika olarak alınmıştır. Deneysel sonuçlar, daha fazla CO<sub>2</sub> akışının kafein ekstraksiyonuna önemli bir katkı sağlamadığını göstermektedir.



Şekil 4.2. Karbon dioksit akış hızının etkisi (sıcaklık 55°C, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika)

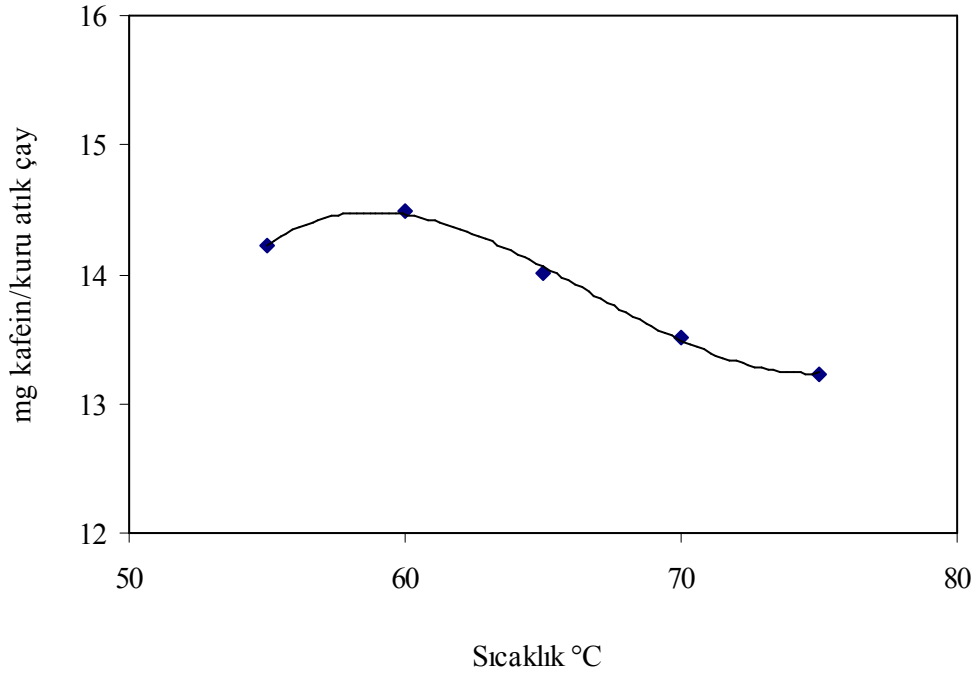
#### 4.1.3. Sıcaklık etkisi

Bu aşamada literatürden yararlanılarak belirlenen basınç, tanecik büyüklüğü ile deneysel olarak kaydedilen karbon dioksit akış hızı ve ekstraksiyon süresi sabit tutulurken sıcaklık değiştirilmiştir. 5 g kurutulmuş numune 10 mL su ile ıslatılmıştır. Karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika olarak sabit tutularak ve sıcaklığın etkisi incelenmiştir. Değişik sıcaklıklarda kaydedilen kafein miktarları Çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Sıcaklık etkisi (karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika)

Sıcaklık °C	mg kafein/kuru atık çay
55	14,22
60	14,49
65	14,01
70	13,52
75	13,23

Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3'te görüldüğü üzere sıcaklık 60°C ye kadar arttırıldığında ekstrakte edilebilen kafein miktarının arttığı fakat 60°C den yüksek sıcaklıklarda düşüş gösterdiği gözlenmiştir. Benzer çalışmalarda sıcaklıkla verimin arttığı ama yüksek sıcaklıklarda artışın çok azaldığı hatta sabit kaldığı gözlenmektedir. Belirtildiği üzere numune hazırlanırken 10 mL su ile ıslatılmaktadır. Düşük sıcaklıklarda çalışıldığında deney sonunda numunenin hala ıslak olduğu gözlenirken, yüksek sıcaklıklarda çalışıldığında ise deney sonunda numunenin tamamen kuruduğu gözlenmiştir. Çalışmamızda yüksek sıcaklıklardaki düşüşün sebebinin, başlangıçta numuneyi ıslatmak için kullanılan suyun uzaklaşmasından kaynaklandığı ve yüksek sıcaklık artışıyla yoğunluktaki azalmanın daha baskın etkide olduğu düşünülmektedir. 2000 yılında Saldana ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Paraguay çayı kullanılmış, %10 ve % 60 su içeriği olan numunelerle çalışılmış ve aynı şartlarda % 10 su içeren numunede kafein verimi %22 civarında iken % 60 su içeren numunede verim yaklaşık % 69 civarında bulunmuştur [48]. Dolayısıyla numunedeki su içeriğinin verime katkısı çok büyüktür. Bundan sonraki deney setlerinde sıcaklık 60°C olarak sabit tutulmuştur.



Şekil 4.3. Sıcaklık etkisi (karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika)

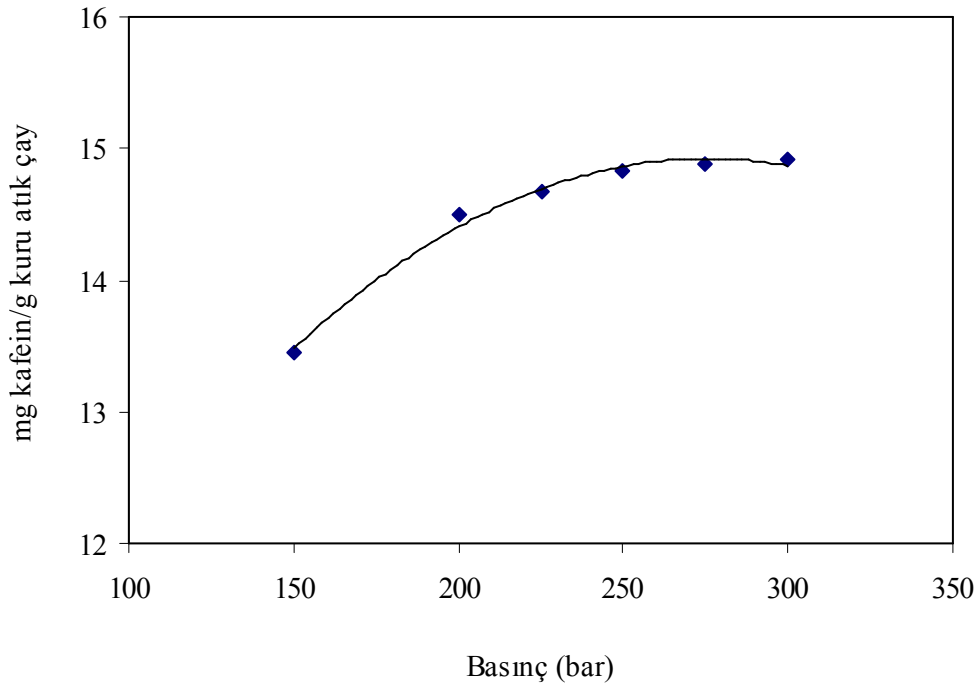
#### 4.1.4. Basınç etkisi

Bu aşamada literatürden yararlanılarak belirlenen ortalama tanecik büyüklüğü ile deneysel olarak belirlenen karbon dioksit akış hızı, sıcaklık, ve ekstraksiyon süresi sabit tutulurken basınç değiştirilmiştir. 5 g kurutulmuş numune 10 mL su ile ıslatılmıştır. Karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, sıcaklık 60°C, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 480 dakika olarak sabit tutulmuştur. Değişen basınç değerlerine göre elde edilen kafein miktarları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4'te görüldüğü üzere basınç arttıkça ekstrakte edilen kafein miktarı artmaktadır, ancak 250 bar'dan sonra artış çok düşüktür. Çok yüksek basınçlarda kritik şartlardan uzaklaşıldığı için basınç etkisinin azaldığı gözlenmektedir. Bu nedenle bundan sonraki deneylerde basınç 250 bar olarak sabit alınmıştır.

Çizelge 4.4. Basınç etkisi (karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, sıcaklık 60 °C, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika)

Basınç (bar)	mg kafein/kuru atık çay
150	13,45
200	14,49
225	14,67
250	14,83
275	14,88
300	14,91



Şekil 4.4. Basınç etkisi (karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, sıcaklık 60 °C, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika)

#### 4.1.5. Tanecik büyüklüğünün etkisi

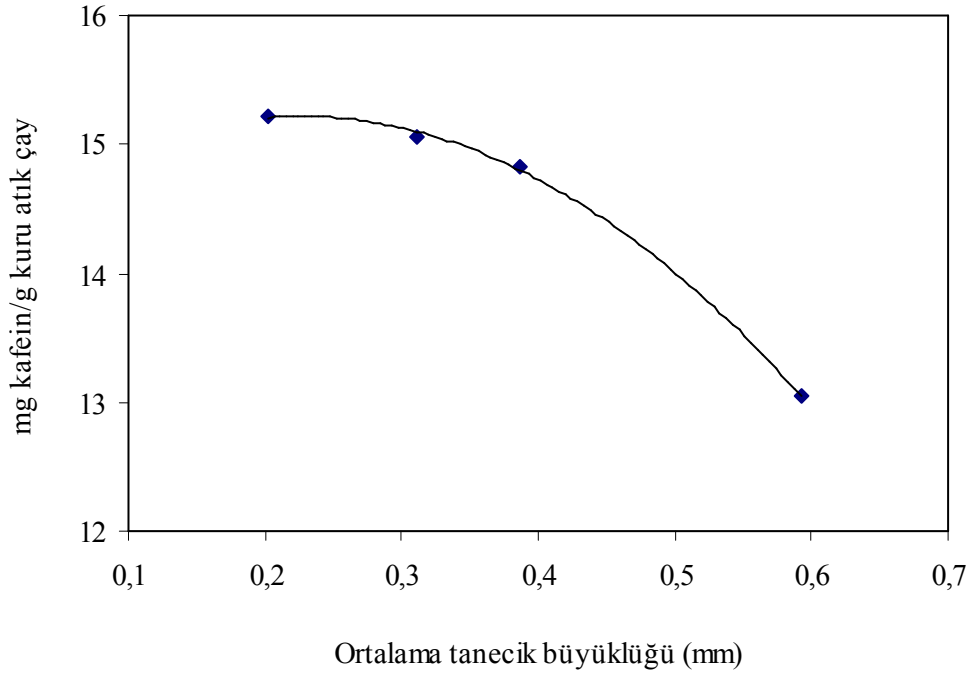


Bu aşamada deneysel olarak tayin edilen karbon dioksit akış hızı, sıcaklık, basınç ve ekstraksiyon süresi sabit tutulurken ortalama tanecik büyüklüğü değiştirilmiştir. 5 g kurutulmuş numune 10 mL su ile ıslatılmıştır. Karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, sıcaklık 60°C, basınç 250 bar, ekstraksiyon süresi 480 dakika olarak alındı. Ortalama tanecik büyüklüğüne göre ekstrakte edilen kafein miktarının değişimi Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. Tanecik büyüklüğünün etkisi (Sıcaklık 60°C, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 11 g/dakika, ekstraksiyon süresi 420 dakika)

Tanecik büyüklüğü (mm)	mg kafein/kuru atık çay
0,202	15,22
0,311	15,06
0,387	14,83
0,592	13,05

Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5'te görüldüğü üzere tanecik büyüklüğü azalması ile ekstraksiyon verimi artmaktadır. Bunun nedeni; tanecik boyutu küçüldükçe hücreler daha kolay parçalanır ve çay içerisindeki çözünür maddelerin, dolayısıyla kafeinin çözücü faza geçmesi kolaylaşmaktadır. Ayrıca küçük boyutlu tanecikler çözücü ile temas eden katı yüzey alanının artmasını ve kafeinin katı içinde kısa mesafede yüzeye ulaşmasını sağladığı düşünülmektedir. En küçük ortalama tanecik büyüklüğü olan 0,202 mm optimum değer olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.5. Tanecik büyüklüğünün etkisi (Sıcaklık 60°C, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 11 g/dakika, ekstraksiyon süresi 420 dakika)

Gürü ve İçen tarafından 2004 yılında yapılan çalışmada çay atıklarından organik çözücülerle kafein ekstrakte edilmiş ve tanecik büyüklüğü küçüldükçe ekstrakte edilen kafein miktarının arttığı gözlenmiştir [38]

Park ve arkadaşları tarafından 2007 yılında yapılan çalışmada tanecik büyüklüğü arttıkça aynı verime ulaşabilmek için çok daha uzun ekstraksiyon süresi gerektiği tespit edilmiştir. Örneğin 40. dakikada 236,5 µm tanecik büyüklüğü ile çalışıldığında verim %75,7 iken 5,5–17,4 mm tanecik büyüklüğü ile çalışıldığında verim %32,3'tür [50].

#### 4.2. Süperkritik Karbon Dioksit+Etanol Ekstraksiyonu Sonuçları

Bu sette karbon dioksit ile birlikte sisteme ikinci bir çözücü beslendiğinde ekstrakte edilebilen kafein miktarındaki değişim incelenmiş ve optimum şartlar belirlenmiştir. İkinci çözücü olarak %99,99 saflıkta etanol kullanılmış ve modifiye pompa ile istenilen akış hızlarında sisteme sürekli olarak gönderilmiştir.

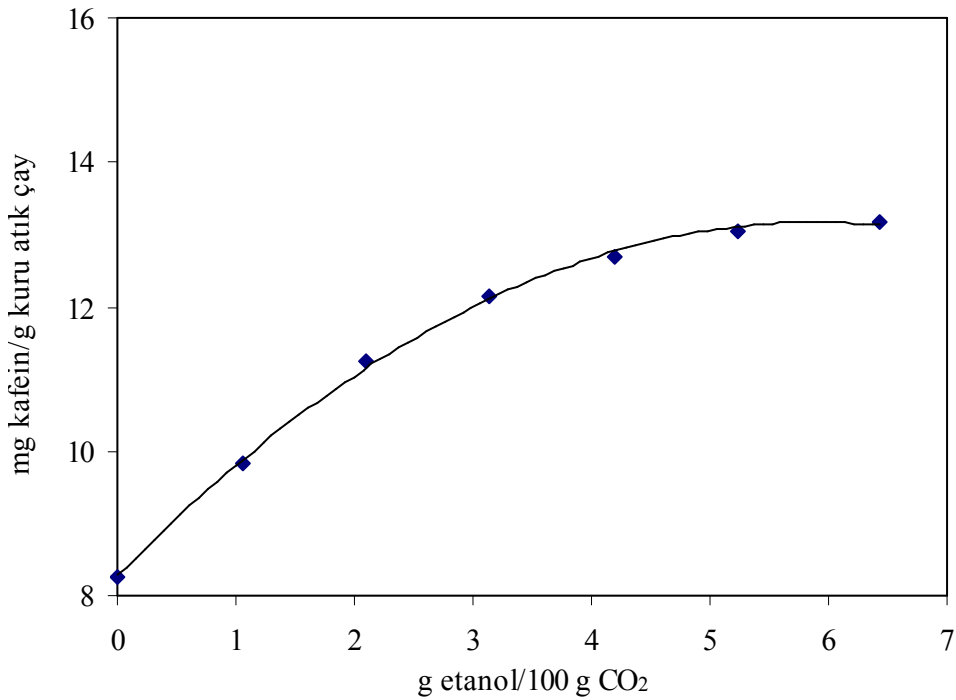
İlk olarak etanol akış hızı değiştirilerek deneyler tekrarlanmıştır. 5 g kurutulmuş numune 10 mL su ile ıslatılmıştır. Ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, sıcaklık 50°C, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 10g/dakika, ekstraksiyon süresi 120 dakika olarak sabit tutulmuş ve etanolün etkisi incelenmiştir. Etanol / CO<sub>2</sub> oranıyla ekstrakte edilen kafein miktarının değişimi Çizelge 4.6'da verilmiştir.

Çizelge 4.6. Etanol etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, sıcaklık 50°C, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika, ekstraksiyon süresi 120 dakika)

g etanol/100 g CO <sub>2</sub>	mg kafein/kuru atık çay
0	8,26
1,05	9,82
2,09	11,24
3,14	12,16
4,19	12,68
5,23	13,05
6,44	13,18

Çizelge 4.6 ve Şekil 4.6'da görüldüğü üzere etanol varlığı ekstrakte edilen kafein miktarını çok hızlı arttırmıştır. Sadece CO<sub>2</sub> ile yapılan deneyde belirtilen şartlarda 8,26 mg kafein/g kuru atık çay elde edilirken bu oran en düşük etanol/CO<sub>2</sub> oranı olan 1,05 g etanol/100g CO<sub>2</sub> kullanıldığında 9,82 mg kafein/g kuru atık çay olarak hızlı bir artış göstermiştir. Etanol polar bir çözücü olup daha kısa sürede daha fazla kafeini çözerek çözücü fazına geçmesini sağlamakta ve dolayısıyla daha kısa sürede ekstrakte edebilmeyi sağlamaktadır. Daha önceki çalışmalarımızda benzer şartlarda yaklaşık 6–7 saatte ekstrakte edilebilen kafein, toplam akış hızına göre kütlece %5 Etanol+%95

CO<sub>2</sub> (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub> ) etanol kullanıldığında 2 saatte ekstrakte edilebilmektedir. Böylece ekstraksiyon süresini düşürmek enerji ihtiyacını da azaltacağından ekonomik olarak önemlidir. 5,23 g etanol/100g CO<sub>2</sub>' den daha yüksek etanol/ CO<sub>2</sub> oranlarında artışın çok yavaşladığı gözlenmiş ve sonraki deneylerde optimum etanol/ CO<sub>2</sub> oranı 5,23 g etanol/100g CO<sub>2</sub> olarak alınmıştır.



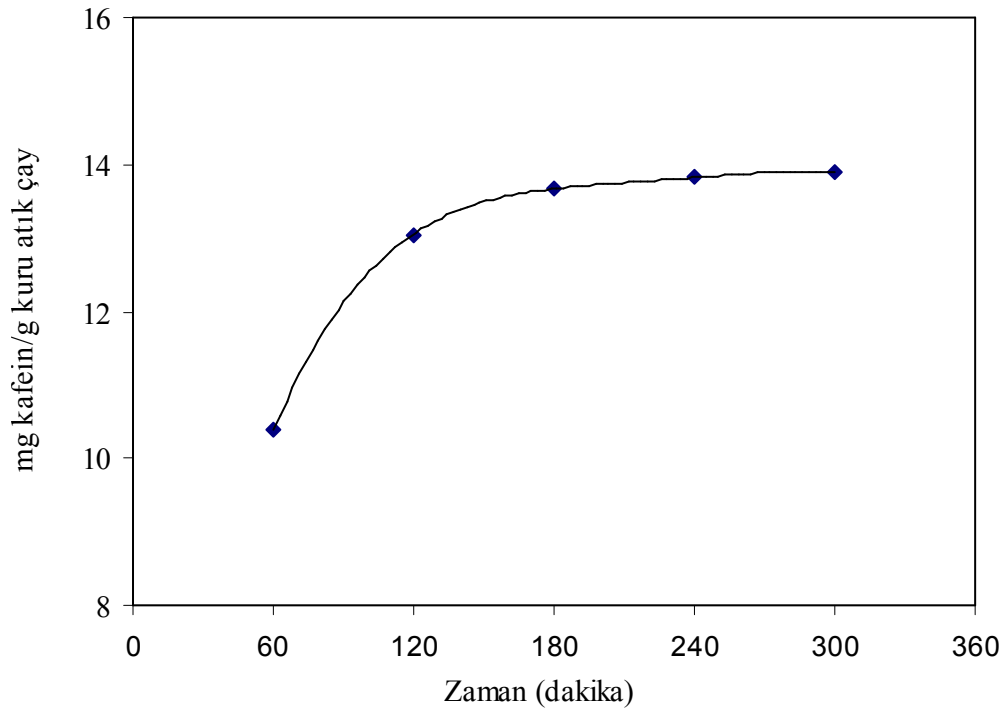
Şekil 4.6. Etanol etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, sıcaklık 50°C, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika, ekstraksiyon süresi 120 dakika)

#### 4.2.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi

Bu sette ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika, (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>), sıcaklık 50°C olarak sabit alınmış ve ekstraksiyon süresinin etkisi incelenmiştir, ekstraksiyon süresine karşı ekstrakte edilen kafein miktarları Çizelge 4.7'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Ekstraksiyon süresinin etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, basınç 250 bar, sıcaklık 50°C, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>))

Zaman (dakika)	mg kafein/kuru atık çay
60	10,39
120	13,05
180	13,67
240	13,82
300	13,90



Şekil 4.7. Ekstraksiyon süresinin etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, basınç 250 bar, sıcaklık 50°C, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>))

Çizelge 4.7 ve Şekil 4.7’de görüldüğü üzere ekstraksiyon süresi arttıkça ekstrakte edilen kafein miktarı da artmaktadır, 180. dakikaya kadar artış daha hızlı olup 180.

dakikadan sonra artış yavaşlamaktadır. Bundan sonraki setlerde ekstraksiyon süresi 180 dakika olarak sabit tutulmuştur.

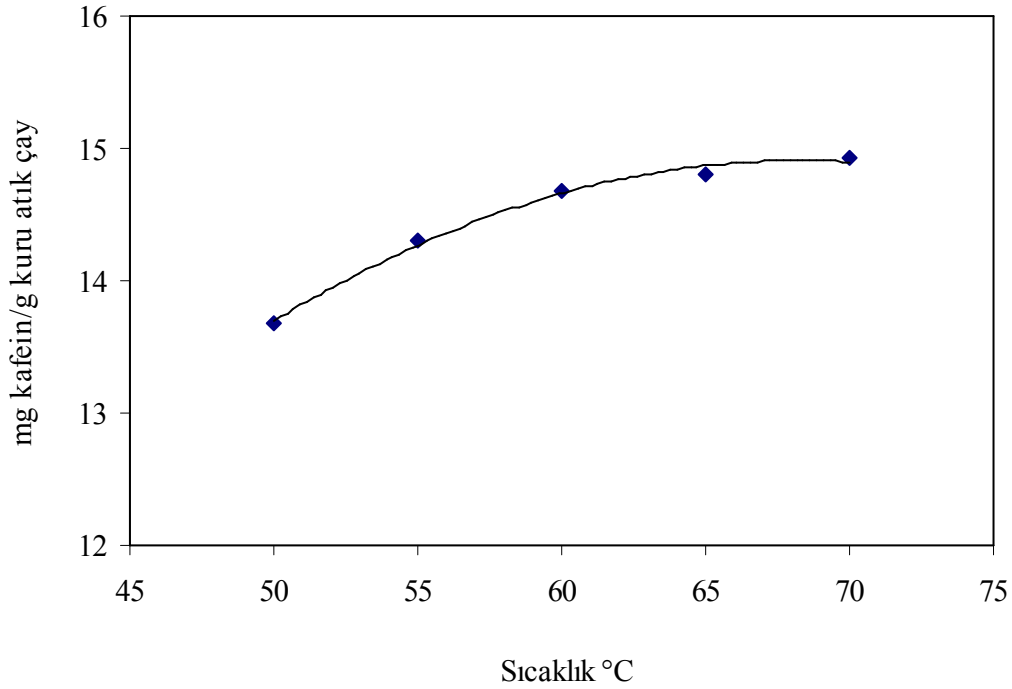
2007 yılında Park ve arkadaşları tarafından yeşil çay ile yapılan çalışmada da 160. dakikada kafeinin yaklaşık %97'sini ekstrakte edebilmişlerdir (70°C sıcaklık, 300 bar basınç, 236,5 µm tanecik büyüklüğü, 10 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı (4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>)) [51].

#### 4.2.2. Sıcaklık etkisi

Bu sette ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub> ), ekstraksiyon süresi 120 dakika olarak sabit tutularak ve sıcaklık etkisi incelenmiştir. Değişik sıcaklıklarda kaydedilen kafein miktarları Çizelge 4.8'de verilmiştir.

Çizelge 4.8. Sıcaklık etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub> ) ekstraksiyon süresi 180 dakika)

Sıcaklık °C	mg kafein/kuru atık çay
50	13,67
55	14,31
60	14,68
65	14,80
70	14,93



Şekil 4.8. Sıcaklık etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı (10 g/dakika, 5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>) ekstraksiyon süresi 180 dakika)

Çizelge 4.8 ve Şekil 4.8’de görüldüğü üzere sıcaklık arttıkça ekstrakte edilen kafein miktarı artış göstermektedir, 65°C den sonra sıcaklığın etkisinin azaldığı gözlenmektedir. Bundan sonraki setlerde sıcaklık 65°C olarak sabit alınmıştır. Park ve arkadaşları tarafından 2007 yılında yapılan çalışmada da yeşil çaydan kafein ekstrakte edilmiş ve ikinci çözücü olarak 4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub> kullanılmıştır. Benzer çalışmada 50°C’de ekstrakte edilen kafein oranı 24,5 mg kafein/g yeşil çay iken bu değer 70°C’ de 35,0 80°C de ise 37,8 mg kafein/g yeşil çay’a ulaşmıştır. (Şekil 2.34)

#### 4.2.3. Basınç etkisi

Bu sette ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika, (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>) sıcaklık 65°C, ekstraksiyon süresi 180 dakika olarak sabit tutulmuş ve basıncın etkisini incelenmiştir, Değişen basınç değerlerine göre elde edilen kafein miktarları Çizelge 4.9’da verilmiştir.

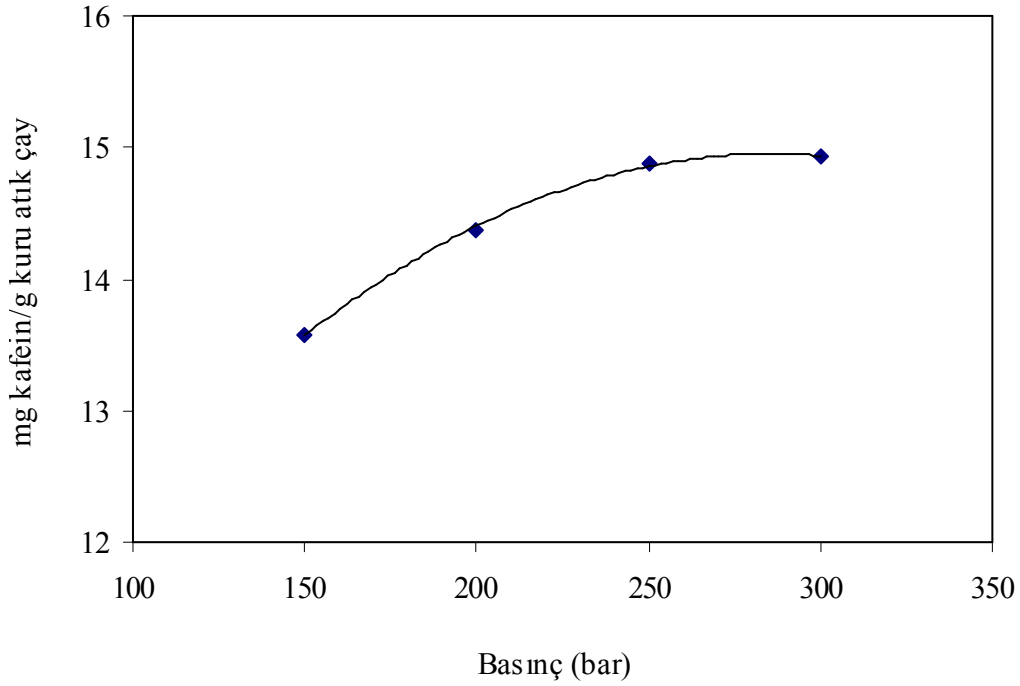
Çizelge 4.9. Basınç etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, ekstraksiyon süresi 180 dakika, sıcaklık 65°C, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika (5,23 g

etanol/100 g CO<sub>2</sub> ))

Basınç (bar)	mg kafein/kuru atık çay
150	13,58
200	14,38
250	14,88
300	14,93

Sabit sıcaklıkta basınç artışı ile karbon dioksitin yoğunluğu artmakta ve kafeinin çözünürlüğü artmaktadır. Çizelge 4.9 ve Şekil 4.9'da görüldüğü üzere basıncın 250 bara kadar artışında ekstrakte edilebilen kafein miktarının da artışı hızlı olmaktadır, ancak 250 bar'dan sonra basıncın etkisi daha yavaştır, dolayısıyla bundan sonraki sette kullanılmak üzere optimum basınç değeri 250 bar olarak alınmıştır. Kocak ve arkadaşları tarafından 2005 yılında yapılan çalışmada kafeinin süperkritik karbon dioksit ve karbon dioksit + etanol karışımları içerisindeki çözünürlükleri ve etanolün ikinci çözücü etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada da belirtildiği üzere basıncın artışı ile etanolün etkisi de artmaktadır ancak bu artış yüksek basınçlarda oldukça azalmaktadır [7].





Şekil 4.9. Basınç etkisi (ortalama tanecik büyüklüğü 0,311 mm, ekstraksiyon süresi 180 dakika, sıcaklık 65°C, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub> ))

Ayrıca 2007 yılında Park ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada (0,425-0,710 mm tanecik büyüklüğü, 8,5 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı, (4,6 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>) 70°C,120 dakika) 200 bar'dan sonra ekstrakte edilen kafein miktarındaki artışın oldukça yavaşladığı gözlenmiştir [51].

#### 4.2.4. Tanecik büyüklüğünün etkisi

Etanol ile yapılan deneylerde, en küçük ortalama tanecik büyüklüğü olan 0,202 mm'lik taneciklerin sürüklenmesi ve çalışma güçlüğünden dolayı 0,311 mm ortalama tanecik büyüklüğündeki numuneler kullanılmıştır. Belirlenen optimum şartlarda (ekstraksiyon süresi 180 dakika, sıcaklık 65°C, basınç 250 bar, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub> )) ortalama 0,202 mm tanecik büyüklüğü ile yapılan çalışmada kafein miktarı 14,95 mg kafein/g kuru atık çay bulunmuştur. Tanecik büyüklüğü arttıkça ekstrakte edilebilen kafein miktarı azaldığından diğer tanecik büyüklüklerinde çalışılmamıştır.

#### 4.2. Optimum Şartlarda Elde Edilen Kafein Miktarları

Süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu çalışmalarında deneysel olarak belirlenen (420 dakika ekstraksiyon süresi, 11 g/dakika CO<sub>2</sub> akış hızı, 60°C sıcaklık, 250 bar basınç ve 0,202 mm ortalama tanecik büyüklüğü) optimum şartlarda atık çay saplarından kütlece % 1,520 (15,20 mg kafein/g kuru atık çay), çay liflerinden ise %1,916 (19,16 mg kafein/g kuru atık çay) oranında kafein ekstrakte edilmiştir. Ayrıca süperkritik karbon dioksit+etanol ekstraksiyonu çalışmalarında deneysel olarak belirlenen (180 dakika ekstraksiyon süresi, akış hızı 10 g/dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub>) CO<sub>2</sub> akış hızı, 65°C sıcaklık, 250 bar basınç ve 0,202 mm ortalama tanecik büyüklüğü) optimum şartlarda atık çay saplarından kütlece % 1,495 (14,95 mg kafein/g kuru atık çay), çay liflerinden ise %1,892 (18,92 mg kafein/g kuru atık çay) oranında kafein ekstrakte edilmiştir. Görüldüğü üzere sadece süperkritik CO<sub>2</sub> kullanıldığında 420 dakikada ekstrakte edilen kafeini, kütlece %5 etanol eklendiğinde yaklaşık 180 dakikada ekstrakte edebilmek mümkün olmuştur. Etanol varlığı ekstraksiyon süresini oldukça kısaltmıştır, bu da enerji ihtiyacını azaltacağı için maliyet açısından önemlidir.

Türk çayları üzerinde yapılan çalışmalar incelendiğinde; kafein miktarlarını (kütlece), Kaptan % 2,7-5,0, Yurdagel % 2,8-3,9, Öztin % 3,45, Yılmaz % 3,1-3,8, Öksüz % 3,4-4,1 olarak belirlemişlerdir [3, 12, 13]. Yabancı kökenli çaylar üzerinde çalışan Smith ve Rees kafein miktarını Sri Lanka çaylarında % 2,8, Assam çayında % 3,6, Darjeeling çayında % 4,2 olarak belirlemişlerdir [14]. Weerasinghe ve arkadaşları Sri Lanka çaylarında kafein miktarını % 2,0-4,2, Werkhoven Hindistan çaylarında % 2,1-5,1 arasında değiştiğini saptamışlardır [15]. Gürü ve İçen ise klasik metotla atık çay saplarından %0,916, atık çay liflerinden ise %1,156 oranında kafein ekstrakte etmişlerdir [38].

Dolayısıyla atık çay saplarından elde edilen kafein miktarı, doğrudan çay yaprakları üzerinden yürütülen çalışmalarla karşılaştırıldığında, miktarın önemli olduğu görülmektedir. Ayrıca çay saplarından ve liflerinden organik çözücülerle yapılan

çalışmayla karşılaştırıldığında, süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile daha yüksek verim elde edilmiştir.

#### 4.4. Kütle Transfer Katsayısı İçin Matematiksel Model Geliştirilmesi

Kütle transfer hızı, kütle transfer katsayısına, tanecik yüzey alanına ve konsantrasyon farkına bağlıdır. Bu durumda A çözüneninin (kafein) V hacmindeki suya kütle transfer hızı,

$$N_A A = k_L A (C_{As} - C_A) \quad (4.1)$$

N<sub>A</sub> birim zamanda birim alanda ekstrakte edilen kafein miktarı, A partikül yüzey alanı, k<sub>L</sub> kütle transfer katsayısı, C<sub>As</sub> A maddesinin yüzeydeki konsantrasyonu ve C<sub>A</sub> ise t zamanında çözeltideki A konsantrasyonu olarak tanımlanır. Kütle denklığıne göre A'nın çözeltiye geçiş hızı,

$$V \frac{dC_A}{dt} = k_L A (C_{As} - C_A) \quad (4.2)$$

Eş. 4.2 t=0 dan t=t ye kadar integre edilirse,

$$\int_{C_{A0}}^{C_A(t)} \frac{dC_A}{C_{As} - C_A} = \frac{k_L A}{V} \int_0^t dt \quad (4.3)$$

Ekstraksiyon periyodu boyunca yüzey konsantrasyonunun çok fazla değişmediği kabul edilirse,

$$\frac{C_{As} - C_A(t)}{C_{As} - C_{A0}} = \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \quad (4.4)$$

Burada

$$\tau = \frac{V}{k_L A} \quad (4.5)$$

Alıkonma süresi olarak tanımlanır [55].

#### 4.4.1. Matematiksel model geliştirilmesi için süperkritik karbon dioksit ekstraksiyonu sonuçları

5 g kurutulmuş çay sapları 10mL su ile ıslatılarak numune hazırlandı. Basınç 250 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,202 mm, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika olarak sabit tutulup, çay saplarından kafein farklı sıcaklıklarda ve farklı ekstraksiyon sürelerinde 100 mL hacimde suya süperkritik karbon dioksit ile ekstrakte edilerek sonuçlar Çizelge 4.10'da verilmiştir.

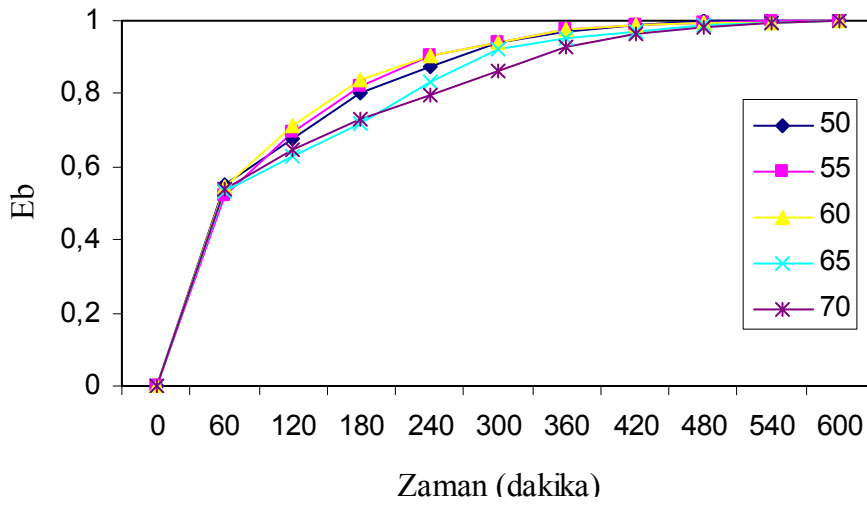
Çizelge 4.10. Farklı sıcaklıklıklarda zamana göre değişen kafein konsantrasyonları (mg/L)

Sıcaklık (°C)	Zaman (dakika)									
	60	120	180	240	300	360	420	480	540	600
50	291,2	360,7	427,6	465,9	497,9	514,8	524,5	529,8	530,7	531,2
55	360,0	482,5	569,5	627,5	650,5	673,5	682,5	687,5	691,0	692,0
60	390,4	511,5	600,2	650,1	675,8	698,5	710,1	711,8	713,4	717,2
65	353,4	416,5	475,1	551,3	612,0	631,4	641,3	655,2	659,2	661,9
70	320,1	382,8	431,9	471,2	512,3	550,1	571,3	582,0	589,0	592,3

Biyokimyasal proseslerde genellikle denge kesirli olarak ifade edilir. Denge kesri  $E_b$  ise şöyle tanımlanabilir:

$$E_b = \frac{C_A(t) - C_{A0}}{C_A(t \rightarrow \infty) - C_{A0}} \quad (4.6)$$

Burada  $C_A(t)$  t zamanındaki sudaki kafein konsantrasyonu,  $C_{A0}$  t=0 anındaki kafein konsantrasyonu (başlangıç konsantrasyonu),  $C_A(t \rightarrow \infty)$  işlem sonundaki kafein konsantrasyonu (nihai konsantrasyon) olarak tanımlanır. Fraksiyonel dönüşümler, değişik sıcaklıklarda ve sabit su hacminde zamanın bir fonksiyonu olarak Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10.  $E_b$  denge kesrinin zamana bağlı değişimi

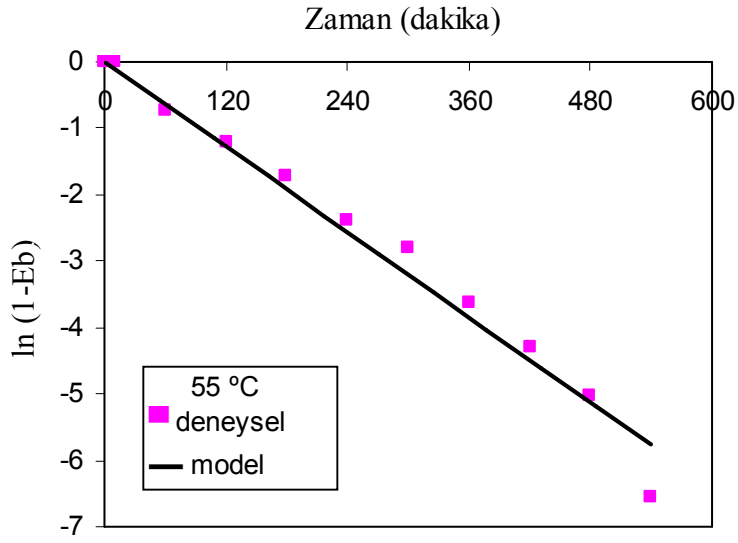
Eş.4.4'ün her iki tarafı 1 den çıkarılırsa ve sonuç denklemde  $t=0$  ve  $t=\infty$  yazılırsa

$$E_b = 1 - \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right) \quad (4.7)$$

ve buradan

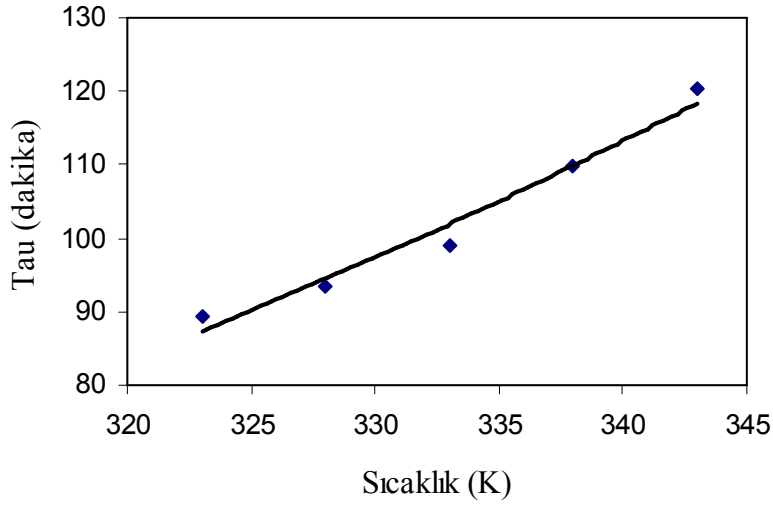
$$\ln(1 - E_b) = -(t/\tau) \quad (4.8)$$

Eş. 4.8 de görüldüğü üzere  $\ln(1 - E_b)$  zamanın lineer fonksiyonudur ve eğim alıkonma süresinin tersini vermektedir ( $1/\tau$ ). Eş. 4.8 den faydalanılarak 50, 55, 60, 65 ve 70° C için alıkonma süreleri hesaplandı. Şekil 4.11'de 55°C sıcaklık için çizilen grafik örnek olarak verilmiştir.



Şekil 4.11.  $\ln(1-E_b)$ 'nin zamana karşı değişimi

Her sıcaklık için aynı işlemler tekrarlanarak sıcaklık ile alıkonma süresi grafiğe geçirilmiş ve Şekil 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.12. Alıkonma süresinin sıcaklıkla değişimi

Şekil 4.12'ye göre alıkonma süresinin sıcaklığa bağlı değişimini ifade eden korelasyon,

$$\tau = a.T^b$$

(4.9)

olarak ifade edilir, burada;

$$a= 2.10^{-11}$$

$$b=5,0615$$

olarak bulunmuştur.

Burada  $\tau$  (alınma süresi) dakika T (sıcaklık) ise K'dir.

Eş 4.5 de tanımlandığı üzere istenilen sıcaklık için  $\tau$  değerleri yerine konarak  $k_L$ , kütle transfer katsayısı hesaplanabilmektedir. Örneğin 60°C için; su hacmi 100 mL, taneciğin birim yüzey alanı ise deneysel olarak bulunan 9,72 m<sup>2</sup>/g olarak alındığında kütle transfer katsayısı;

$$k_L= 2,078.10^{-8} \text{ m/dakika}$$

olarak hesaplanmıştır.

#### **4.4.2. Matematiksel model geliştirilmesi için süperkritik karbon dioksit+etanol ekstraksiyonu sonuçları**

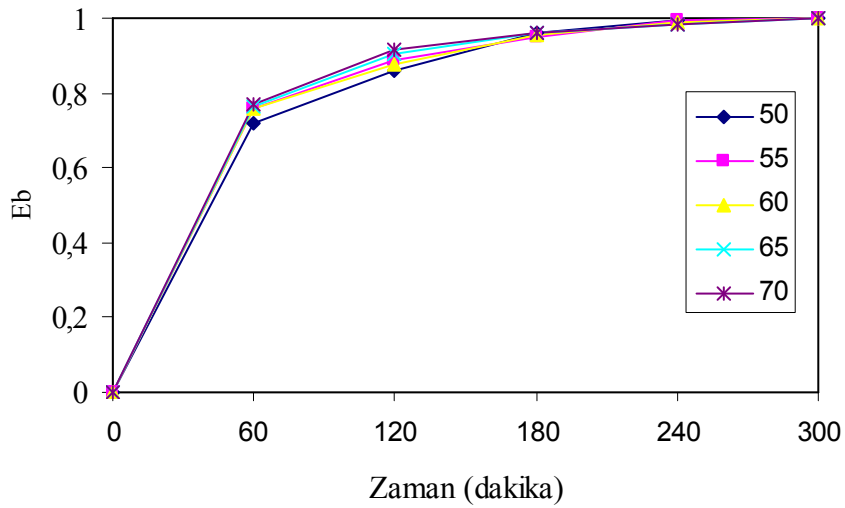
Kütle transfer katsayısının hesaplanabilmesi için bir önceki setteki deneyler etanol kullanılarak tekrarlanmış ve kütle transfer katsayısı hesaplanmıştır.

5 g kurutulmuş çay sapları 10 mL su ile ıslatılarak numune hazırlanmıştır. Basınç 250 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,202 mm, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub> ) olarak sabit tutulup, çay saplarından kafein farklı sıcaklıklarda ve farklı ekstraksiyon sürelerinde 100 mL hacimde suya süperkritik karbon dioksit ve etanol ile ekstrakte edilerek sonuçlar çizelge 4.11'de verilmiştir.

Çizelge 4.11. Farklı sıcaklıklarda zamana göre değişen kafein konsantrasyonları (mg/L)

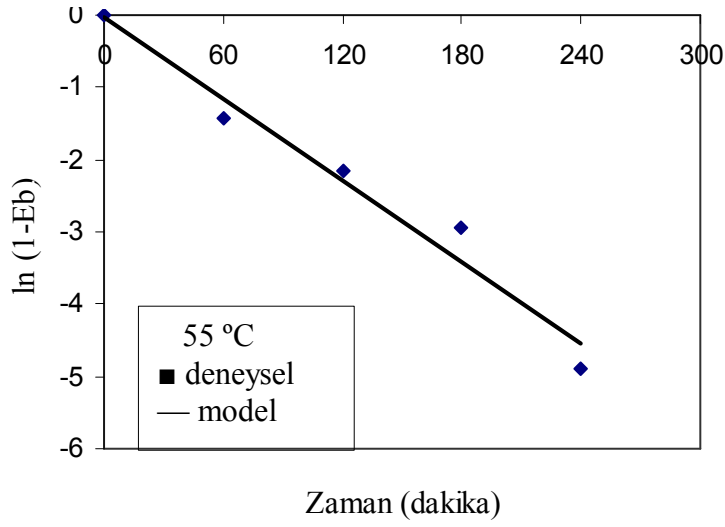
Sıcaklık °C	Zaman (dakika)				
	60	120	180	240	300
50	462,10	552,20	616,50	639,00	642,60
55	524,30	612,50	655,70	686,80	692,00
60	547,60	633,20	687,90	713,80	722,10
65	558,20	661,10	703,30	720,10	732,20
70	569,30	680,20	711,50	727,20	741,50

Bölüm 4.4.1’de verilen yöntem izlenerek grafikler oluşturulmuş, buradan da alıkonma süresi ve kütle transfer katsayısı hesaplanmıştır.

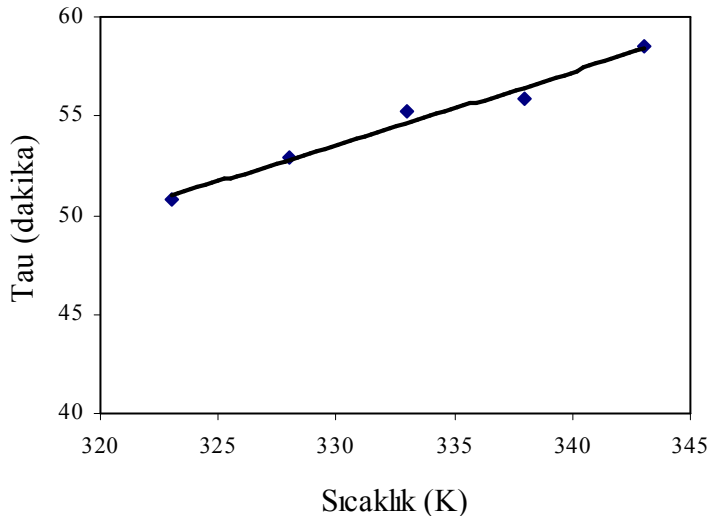


Şekil 4.13.  $E_b$  fraksiyonel dönüşümün zamana bağlı değişimi





Şekil 4.14.  $\ln(1-E_b)$ 'nin zamana karşı değişimi



Şekil 4.15. Alıkonma süresinin sıcaklıkla değişimi

Şekil 4.15'ye göre alıkonma süresinin sıcaklığa bağlı değişimini ifade eden korelasyon,

$$\tau = a.T^b \quad (4.10)$$

olarak ifade edilir, burada;

$$a= 1.10^{-11}$$

$$b= 2,2487$$

olarak bulunmuştur.

Burada  $\tau$  (alınma süresi) dakika T (sıcaklık) ise K'dir.

Eş 4.5 de tanımlandığı üzere istenilen sıcaklık için  $\tau$  değerleri yerine konarak  $k_L$ , kütle transfer katsayısı hesaplanabilmektedir. Örneğin 60°C için; su hacmi 100 mL, taneciğin birim yüzey alanı ise deneysel olarak bulunan 9,72 m<sup>2</sup>/g olarak alındığında kütle transfer katsayısı;

$$k_L= 3,724.10^{-8} \text{ m/dakika}$$

olarak hesaplanmıştır.

Sonuçlardan görüldüğü üzere aynı şartlarda kütle transfer katsayısının, kütlece %5etanol-%95 CO<sub>2</sub> kullanıldığında sadece CO<sub>2</sub> ile kullanıldığı durumdan yaklaşık 1,8 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir

## 5. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE ÖNERİLER

### 5.1. Süperkritik CO<sub>2</sub> Ekstraksiyonu ile Kafein Eldesi İçin Belirlenen Optimum Şartlar

Yapılan çalışma, bir optimizasyon çalışmasıdır. Süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile en fazla kafeinin ekstrakte edilebildiği optimum şartlar Çizelge 5.1' de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu için deneysel olarak belirlenen optimum şartlar

Parametre	Optimum Sonuç
Ekstraksiyon süresi	420 dakika
CO <sub>2</sub> akış hızı	11 g/dakika
Sıcaklık	60°C
Basınç	250 bar
Ortalama tanecik büyüklüğü	0,202 mm

Çizelge 5.1 de verilen şartlarda çay saplarından 15,20 mg kafein/g kuru atık çay, çay liflerinden 19,16 mg kafein/g kuru atık çay oranlarında kafein elde edilmiştir.

### 5.2. Süperkritik CO<sub>2</sub>+Etanol Ekstraksiyonu ile Kafein Eldesi İçin Belirlenen Optimum Şartlar

Yapılan çalışma, bir optimizasyon çalışmasıdır. Süperkritik CO<sub>2</sub>+etanol ekstraksiyonu ile en fazla kafeinin ekstrakte edilebildiği optimum şartlar Çizelge 5.2' de verilmiştir.

Çizelge 5.2. Süperkritik CO<sub>2</sub> +etanol ekstraksiyonu için deneysel olarak belirlenen

## optimum şartlar

Parametre	Optimum Sonuç
Etanol/CO <sub>2</sub> hızı	5,23 g/100 g CO <sub>2</sub>
Ekstraksiyon süresi	180 dakika
Sıcaklık	65°C
Basınç	250 bar
Ortalama tanecik büyüklüğü	0,202 mm

Çizelge 5.2 de verilen şartlarda çay sapslarından 14,95 mg kafein/g kuru atık çay, çay liflerinden 18,92 mg kafein/g kuru atık çay oranlarında kafein elde edilmiştir.

Yapılan deneysel çalışmada çay fabrikalarında değerlendirilemeyen, çay üretiminde kullanılmayan yaşlı çay yapraklarından oluşan lifler ve çay sapsarı kullanılmıştır. Kullanılan hammaddenin hiçbir ekonomik değeri yoktur. Hammaddenin kolaylıkla temin edilebilirliği açısından çay fabrikalarının bulunduğu bölgede ülkemiz kafein ihtiyacını karşılamak üzere bu çalışmanın endüstriye kazandırılması uygun görülmektedir. Türkiye İstatistik Kurumu verilerine göre yılda 1 192 004 ton yaş çay yaprağı (217 541 ton kuru çay yaprağı), siyah çay üretiminde kullanılmakta ve bu miktarın yaklaşık % 10'u kullanılmayan çay lifleri ve sapsarı olarak atılmaktadır. Yılda çay üretiminden 21 750 ton atık çıktığı ve yapılan deneysel çalışmalara göre çay atıklarının ortalama kütlece % 1,5 kafein içerdiği dikkate alınırsa, bu hammaddeden yaklaşık 326 ton kafein elde edilebilir. Türkiye İstatistik Kurumu'nun 2007 yılı istatistiklerine göre yılda 67 169 kg kafein ithal edilmektedir. Dolayısıyla sadece çay fabrikası atıkları değerlendirilerek kafein üretebilecek bir proses kurulduğunda, Türkiye'nin kafein ihtiyacının yaklaşık 5 katını elde etmek mümkün olacaktır.

### 5.3. Kütle Transfer Katsayısı Sonuçları ve Değerlendirilmesi

Bölüm 4.4’de ayrıntıları verildiği üzere basınç 250 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,202 mm, CO<sub>2</sub> akış hızı 10 g/dakika dakika (5,23 g etanol/100 g CO<sub>2</sub> ) sabit şartlarda 60°C için kütle transfer katsayısı;

Sadece süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile,  $k_L = 2,078 \cdot 10^{-8}$  m/dakika

Süperkritik CO<sub>2</sub>+etanol ekstraksiyonu ile,  $k_L = 3,724 \cdot 10^{-8}$  m/dakika

olarak bulunmuştur.

Sonuçlardan görüldüğü üzere aynı şartlarda kütle transfer katsayısının, kütlece %5etanol-%95 CO<sub>2</sub> kullanıldığında sadece CO<sub>2</sub> ile kullanıldığı durumdan yaklaşık 1,8 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durum etanol kullanıldığında daha kısa sürede daha fazla kafeinin ekstrakte edilebileceğini göstermektedir. Böylece enerji ihtiyacı azalacağından işletme maliyeti düşecektir.

## KAYNAKLAR

1. “Tarımsal Yapı (Üretim, Fiyat, Değer) 2005”, *T.C. Başbakanlık Türkiye İstatistik Kurumu, TÜİK Matbaası* , Ankara, 7 (2007).
2. İnternet : Türkiye İstatistik Kurumu “2007 Maddelere Göre Dış Ticaret”  
<http://www.tuik.gov.tr> (2008).
3. Kaçar, B., “Çay ve Çay Topraklarının Kimyasal Analizleri 1. Çay Analizleri” , *Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Çay-Kur Yayını*, Ankara, (14):231-273 (1991).
4. Hilton, P.J., “Encyclopedia of Industrial Chemical Analysis” , *Interscience Publishers, John Willey and Sons*, U.S.A., 18: 457-513 (1973)
5. Kirk- Othmer, “Encyclopedia of Chemical Technology 3rd Ed.”, U.S.A, (1): 566, (22): 628-643 (1983).
6. “VI. Beş Yıllık Kalkınma Planı, Çay Sanayi” , *Ö.İ.K. Raporu, Devlet Planlama Teşkilatı*, Ankara, 9-15 (1991).
7. Owuar, O. P., Chavanji, A. M., “Caffeine contents of clonal tea: Seasonal variations and effects of plukcing standarts under Kenyan conditions” , *Food Chemistry*, 20: 225-233 (1986).
8. Mc Ketta, J., Cunningham, W.A., *Mc Ketta Encyclopedia of Chemical Processing and Desing*, U.S.A., (5): 424-440 (1977).
9. Barone, J. J., Roberts H. R., “Caffeine consumption” , *Food Chem. Toxic.*, 2 (34): 119-129 (1996).
10. Cloughley, J. B., “Factors influencing the caffeine content of black tea. Part I. The effect of field variables” , *Food Chemistry*, 9 (4): 269-276 (1982).
11. Suzuki, T., “Purine alkaloids in camellia sinensis flowers” , *Argic. Biol. Chem.*, 49 (9): 2803-2805 (1985).
12. Yılmaz, H., “Doğu karadeniz çaylarının kimyasal bileşimi” , Doktora Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi*, 104-107 (1982).
13. Smith, R. F., Rees, D. I., “The spectrophotometric determination of caffeine in tea products with special reference to coffee and chicory mixtures” , *Analyst*, 188: 316-321 (1963).

14. Weerasinghe, D. K., Fernanda, R. S. S., Chandradasa, P. B., 1982, "A convenient rapid estimation of caffeine in tea, *Tea Quarterly*, 51 (4): 175-179 (1982).
15. Werkhoven, J., "Tea Processing, 3rd Printing" , *FAO Agricultural Services Bulletin 2*, Rome, 196 (1978).
16. TS 4600, "Siyah Çay, UDK 633-72" , *Türk Standartları Enstitüsü*, Ankara, 7 (1991).
17. Elvers, B., Howkins, S., Russey,W., "Ulmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry" , A22: 383 (1985).
18. Fessenden, R. J., "Organic Chemistry" , *Brooks/Cole Publishing Company Pacific Grave*, California, 912-913 (1990).
19. "Alkolsüz İçkiler Tebliği, Tebliğ No: 98/24" , *30.10.1998 tarih ve 23508 sayılı Resmi Gazete* (1998).
20. "Enerji İçecekleri Tebliği, Tebliğ No: 2004/11" , *09.03.2004 tarih ve 25397 sayılı Resmi Gazete* (2004).
21. Patricia, T., "The United States Pharmacopia", *Harvard Health Letter*, U.S.A, 85 (1990).
22. Committee on Food Chemical Codex, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, "The Foods Chemical Codex", *National Academies Press*, Washington D.C., 98-100 (1986).
23. "The International Pharmacopoeia, 3rd Ed." , *World Health Organization*, Geneva, Switzerland, 85-86 (1980).
24. Quinlon, P., Lane, J., Moore, K. L., Aspen, J., Rycroft, J. A., O'Brien, D. C., "The acute physiological and mood effects of tea and coffee: The role of caffeine level" , *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 66: 19-28 (2000).
25. Ashton, C.H., "Caffeine and health" , *Br. Med. J.*, 295: 1293-1294 (1987).
26. Watson, R.R., "Caffeine: Is it dangerous to health?" , *Am. J. Health Prom.*, 2 (4): 13-22 (1988).
27. Dulbecco, R., "Encyclopedia of Human Biology" , *The Salk Institute*, California, 2: 67-79 (1991).
28. Hu, Q., Jiang, M., Zhu, J., "Research on technology of extraction of tea caffeine and polyphenols" , *Tianron Chanusu Yanjiu Yu Kaifa*, 9 (2): 63-66 (1997).

29. Onami, T., Kanazawa, H., "A simple method for isolation of caffeine from black tea leaves: Use a dichloromethane-alkaline water mixture as an extractant", *Journal of Chemical Education*, 73: 556-557 (1996)
30. Murray, S. D., Hansen, P. J., "The extraction of caffeine from tea" , *Journal of Chemical Education*, 72: 851-852 (1995).
31. El-Din, A. M. M. N., Abu-Raiia, S.H., "Technological study on the production of tea." *Egypt. J. Food Sci.* 23 (3): 241-245 (1995).
32. Price, W. E., Spiro, M., "Kinetics and equilibria of tea infusion: Theaflavin and caffeine concentrations and partition constants in several whole teas and sieved fractions" , *J. Sci. Food Agric.*, 36: 1303-1308 (1985a).
33. Price, W. E., Spiro, M., "Kinetics and equilibria of tea infusion: Theaflavin and caffeine concentrations and partition constants in several whole teas and sieved fractions" , *J. Sci. Food Agric.*, 36: 1309-1314 (1985b).
34. Spiro, M., Price, W.E., "Kinetics and equilibria of tea infusion: Part 6: The effects of salts and of pH on the concentrations and partition constants of theaflavins and caffeine in Kopchorua Pekoe fannings" , *Food Chemistry*, 24: 51-61 (1987).
35. Spiro, M., Price, W.E., "Kinetics and equilibria of tea infusion: Part 7: The effects of salts and of pH on the rate of extraction of caffeine from Kapchorua Pekoe fanning" , *Food Chemistry*, 25: 49-59 (1987)
36. Spiro M., Jaganyi, D., Broom, M. C., "Kinetics and equilibria of tea infusion: Part IX: The rates and temperature coefficients of caffeine extraction from Green Chun Mee and Black Assam Bukial Teas" , *Food Chemistry*, 45 (5): 333-335 (1992).
37. Spiro, M., Jaganyi, D., Broom, M.C., "Kinetics and equilibria of tea infusion: Part XII: Equilibrium and kinetics study of mineral ion extraction from Black Assam Black Bukial and Green Chun Mee Teas, *Food Chemistry*, 54 (4): 393-396 (1995).
38. Gürü, M., İçen, H., "Obtaining of caffeine from Turkish Tea fiber and stalk wastes" , *Bioresource Thecnology*, 94: 17-19 (2004).
39. McHugh, M.A., Krukonis, V.J., "Supercritical Fluid Extraction Principles and Practice, 2<sup>nd</sup> Ed." , *McGraw Hill*, Butterwort-Heinemann, Boston Mass, 5-18 (1994).



40. Roy, B. C., Goto, M., Hirose, T., "Extraction of ginger oil with supercritical carbon dioxide: Experiments and modelling" , *Ing. Eng. Chem. Res.*, 35: 607-612 (1996).
41. Lang, Q., Wai, M. C., 2001, "Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies-a practical review" , *Talanta*, 53: 771-782 (2001).
42. Udayasankar, K., Manohar, B., Chakkalingam A., "A note on supercritical carbon dioxide decaffeination of coffee" , *J. of Food Sci. and Tech.*,23: 326-328 (1986).
43. Peker, H., Srinivason, M. P., Smith, J. M., McCay, B. J., "Caffeine extraction rates from coffee beans with supercritical carbon dioxide, *AIChE Journal*, 38 (5): 761-770 (1992).
44. Wang, X., Xiao, W., "Extaction of caffeine from tea by supercritical carbon dioxide" , *Chaye Kexue*, Chinese, 18 (1): 65-69 (1998).
45. Saldana, M. D. A, Mohamed, R. S., Mazzafera, P., "Supercritical carbon dioxide extraction of methylxanthines from mate tea leaves, *Braz. J. Chem. Eng.*,17 (3): 251-259 (2000).
46. Saldana, M. D. A., Mohamed, R. S., Baer, M. G., Mazzafera, P., "Extraction of purine alkaloids from mate (*Ilex Paraguariensis*) using supercritical CO<sub>2</sub>" , *J. Agric. Food. Chem.*, 47: 3804-3808 (1999).
47. Saldana, M. D. A., Mohamed, R. S., Zetzl, C., Brunner, G., "Extraction of methylxanthines from guarana seeds, mate leaves, and cocoa beans using supercritical carbon dioxide and ethanol", *J. Agric. Food. Chem.*, 50: 4820-4826 (2002).
48. Saldana, M .D .A., Mohamed, R. S., Zetzl, C., Brunner, G., "Decaffeination of guarana seeds in a microextraction column using water-saturated CO<sub>2</sub>" , *J. of Supercritical Fluids*, 22: 119-127 (2002).
49. Kopcak, U., Mohamed, R. S., "Caffeine solubility in supercritical carbon dioxide/co-solvent mixtures" , *J. of Supercritical Fluids*, 34: 209-214 (2005).
50. Park, H. S., Choi, H. K., Lee, S. J., Park, K. W., Choi, S. G., Kim, K. H., 2007, "Effect of mass transfer on the removal of caffeine from green tea by supercritical carbon dioxide" , *J. of Supercritical Fluids*, 42: 205-211 (2007).
51. Park, H. S., Lee, J. H., Shin M. H., Lee, K. W., Lee, H., Kim, Y. S., Kim, K. O., Kim, K. H., 2007, "Effects of cosolvents on the decaffeination of green tea by supercritical carbon dioxide" , *Food Chemistry*, 105: 1011-1017 (2007).

52. Mehr C. B., Biswal R. N., Collins J. L., "Supercritical carbon dioxide extraction from guarana" , *J of Supercritical Fluids*, 9: 185-191 (1996).
53. Brudi, K., Dahmen, N., Schmieder, H., "Partition coefficients of organic substances in two-phase mixtures of water and carbon dioxide at pressures of 8 to 30 MPa and temperatures of 313 to 333 K" , *J. of Supercritical Fluids* , 9: 146-151 (1996).
54. Wagner, K. D., Brudi, K., Dahmen, N., Schmieder, H., "Partition coefficients of aromatic organic substances in two-phase mixtures of water and carbon dioxide at pressures of 8 to 30 MPa and temperatures of 313 to 333 K. Part II" , *J. of Supercritical Fluids*, 15: 109-116 (1999).
55. Makascioğlu, F. Y., Gündüz, U., Uysal, B.Z., "Caffeine extraction from Turkish Black Tea", *14 th International Congress of Chemical and Process Engineering*, Praha (2000)

**EKLER**

## EK-1 Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi

Kullanılan cihaz Applied Separations' Spe-ed SFE firm modelidir.



Şekil 1.1. Süperkritik akışkan ekstraksiyon cihazı

Deneyleerde kullanılan cihazın fotoğrafı Şekil 1.1'de verilmiştir. Cihaz pompa, fırın içerisinde ekstraksiyon birimi ve toplama ve kontrol birimleri olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır.

## EK-1 (Devam) Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi

### *i. Pompa*

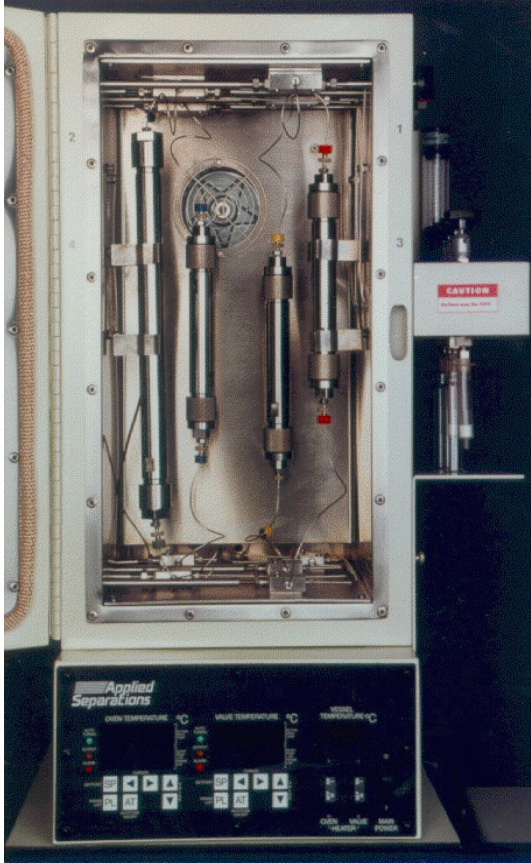


Şekil 1.2. Pompa

- Basınç : En az 690 bar
- Pompalama sistemi durdurma sınırı : En az 758 bar
- Gaz akış hızı : En az 1 mL/dakika ile 400 mL/dakika aralığında ayarlanabilmektedir.
- Çözücü akış hızı : En az 0 mL/dakika ile 10 mL/dakika aralığında ayarlanabilmektedir.
- Pompa basıncı ayarlanabilmektedir.
- Korozif gaz ve sıvılarla kullanıma uygundur.
- Soğutucu ceketini üzerinde montelidir.

## EK-1 (Devam) Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi

### ii. Fırın ve Ekstraksiyon Birimi



Şekil 1.3. Fırın ve ekstraksiyon ünitesi

- Isıtıcı gücü en az 4000 W 'tır.
- Sıcaklık aralığı: Ortam sıcaklığından 200°C 'a kadar ayarlanabilmektedir.
- Rakamsal göstergelidir, ayarlanan ve ulaşılan değerler rakamsal ekranından izlenebilmektedir.
- Üniteye istenildiğinde en az iki adet seperatör bağlanabilir.
- Üniteye istenildiğinde numune kabına herhangi bir modifikasyon yapılmadan numune karıştırıcısı takılabilir.
- Sistem kontrolü, PID (Proportional Integral Derivative) kontrol modülü ile yapılmaktadır.

### EK-1 (Devam) Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi

- Numunenin yerleştirildiği kabın hacmi en az 1 L olup, bu kabın içerisinde 24 mL, 100 mL, 300 mL, 500 mL ve 1 L' lik numune kapları kullanılabilir.

#### *iii. Ekstrakt Toplama ve Kontrol Birimleri*



Şekil 1.4. Ekstrakt toplama ve kontrol birimleri

- Ekstrakt toplama kabı cam veya paslanmaz çeliktir.
- Ekstraktörden ekstrakt toplama kabına kadar olan kısmın sıcaklığı sınırlayıcı ayarlanabilmektedir.
- Sınırlayıcı vanası akış hızı 1mL/dakika – 500 mL/dakika arasında ayarlanabilmektedir.

### EK-1 (Devam) Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi

- Sınırlayıcı sıcaklık kontrolü PID kontrollüdür.
- Aşırı sıcaklık yükselmelerinde ısınma otomatik olarak PID yardımıyla durdurulabilmektedir.





Şekil 2.1. HPLC Cihazı

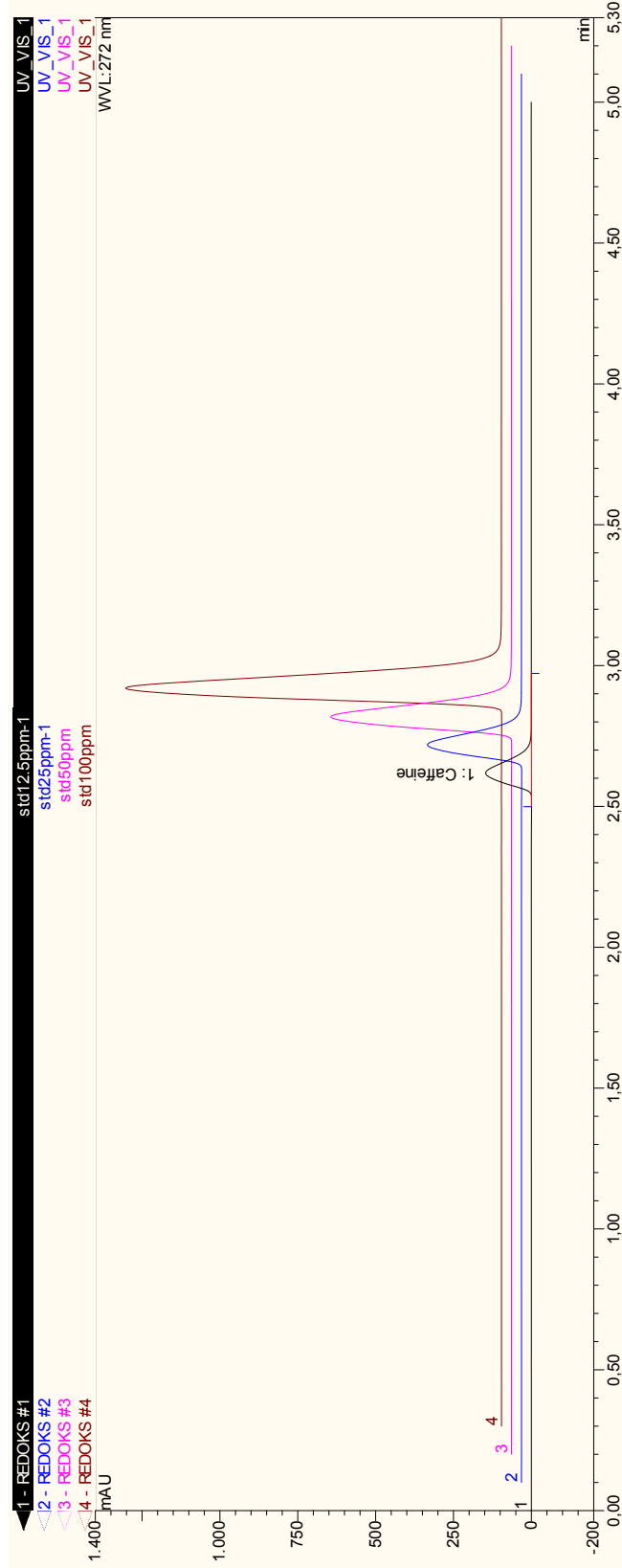
Elde edilen kafein HPLC cihazı ile analiz edildi. Dionex P680 HPLC Pompa ve UVD 170U dedektörden oluşan HPLC cihazının özellikleri şöyledir:

- Cihaz tek başına kullanılabildiği gibi ekstraksiyon sistemine seri bağlanarak ekstrakte edilen maddeler direkt sistemde analiz edilebilmektedir.
- Cihaz pompa, UV-vis dedektör, enjeksiyon sistemi, yazılım, bilgisayar, printer, kafein analizlerinde kullanmak üzere 2 adet kolon, 2 adet enjektör, 4 adet çözücü giriş filtresi ve bağlantılarından oluşmaktadır.
- Pompa sistemi çift pistonlu ve seri bağlantılıdır.

## EK-2 (Devam) Kromatografi cihazı (HPLC)

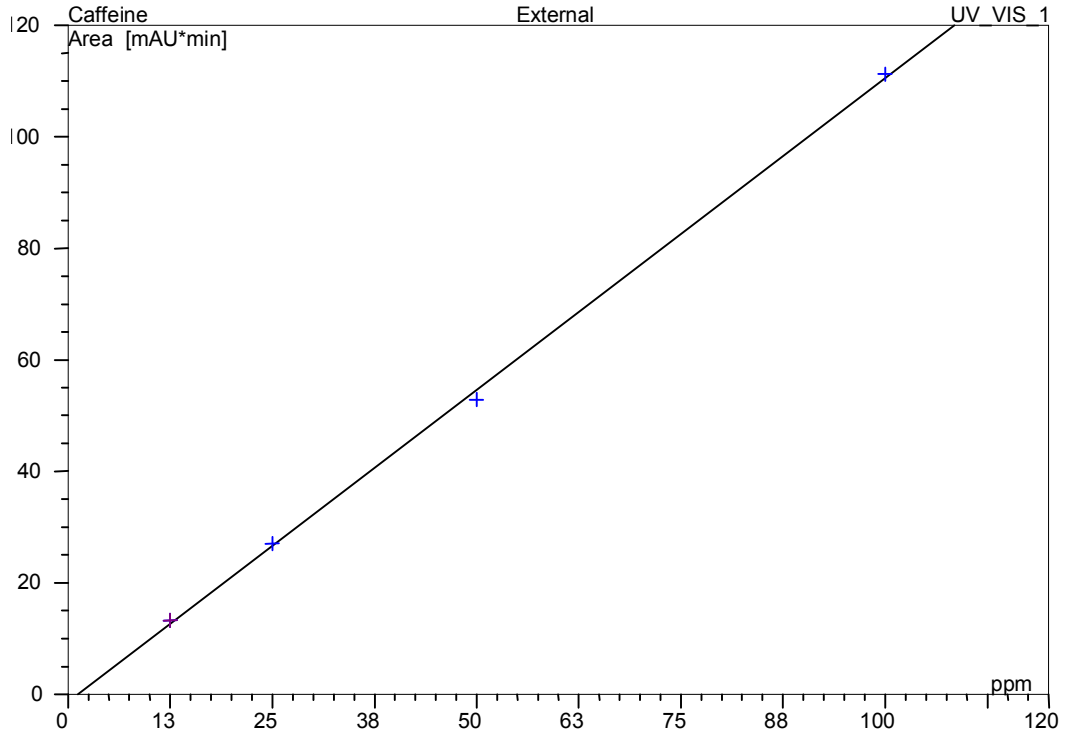
- Akış aralığı 1-10 000  $\mu\text{L}/\text{dak}$  arasında 1  $\mu\text{L}$  aralıklarla ayarlanabilmektedir.
- Pompa basıncı 0-400 bardır.
- Her iki piston da aynı anda akış vermektedir.
- Piston motoru akış hızı kararlılığı 0,01  $\mu\text{L}$  (10 nL) 'dir
- Pompa delay hacmi en fazla 400  $\mu\text{L}$  'dir.
- Çalışma süresince ve çalışma öncesi ve sonrası pompa piston uçlarını yıkayan peristaltik pompası vardır.
- Mikroişlemci kontrollü olup, hem mikroişlemciden hem de bilgisayardan kontrol edilebilmektedir.
- UV-vis dedektör diodarray olup ve aynı anda 4 ayrı dalgaboyunda çalışabilmektedir.
- Dalgaboyu aralığı 200-595 nm arasındadır.
- Dedektör spektral band genişliği 1,9-400 nm arasında veya daha geniş bir aralıkta seçilebilir .
- Dalgaboyu doğruluğu UV bölgede  $\pm 0,5$  nm ve görünür bölgede  $\pm 1,5$  nm'dir
- Holmiyum oksit ile otomatik dalgaboyu kalibrasyonu yapabilmektedir.
- Işık kaynağı tüm bölgede döteryumdur.
- Dedektör akış hücresi 10 uL 'dir
- Dedektör gürültüsü 5 uAU/saat den küçüktür.
- Dedektör kayması 500 uAU/saat den küçüktür.
- Cihazda enjeksiyon yapılıncaya analiz otomatik olarak başlar.
- Yazılım programı pompa, dedektör, otomatik örnekleyici gibi tüm parçaları kontrol edebilmektedir.
- Yazılım, kromatogramlar üzerinde değişiklik yapmaya izin verir.
- Yazılım windows işletim sistemi altında çalışabilmektedir.
- Yazılım aynı anda 6 ayrı sistemi kontrol edebilmektedir.
- Rapor formatı kullanıcı isteğine göre düzenlenebilmektedir.

## EK-3 Standart çözeltilere ait kromotogram



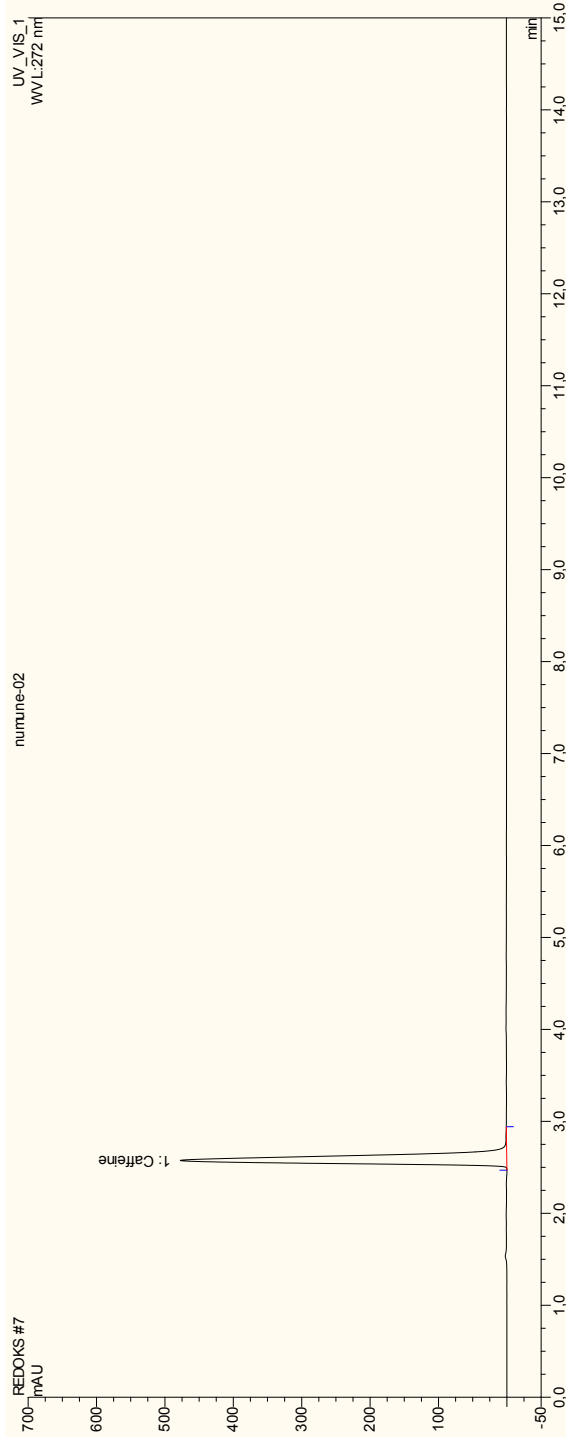
Şekil 3.1 Standart çözeltilere ait kromotogram

## EK-4 Kalibrasyon doğrusu



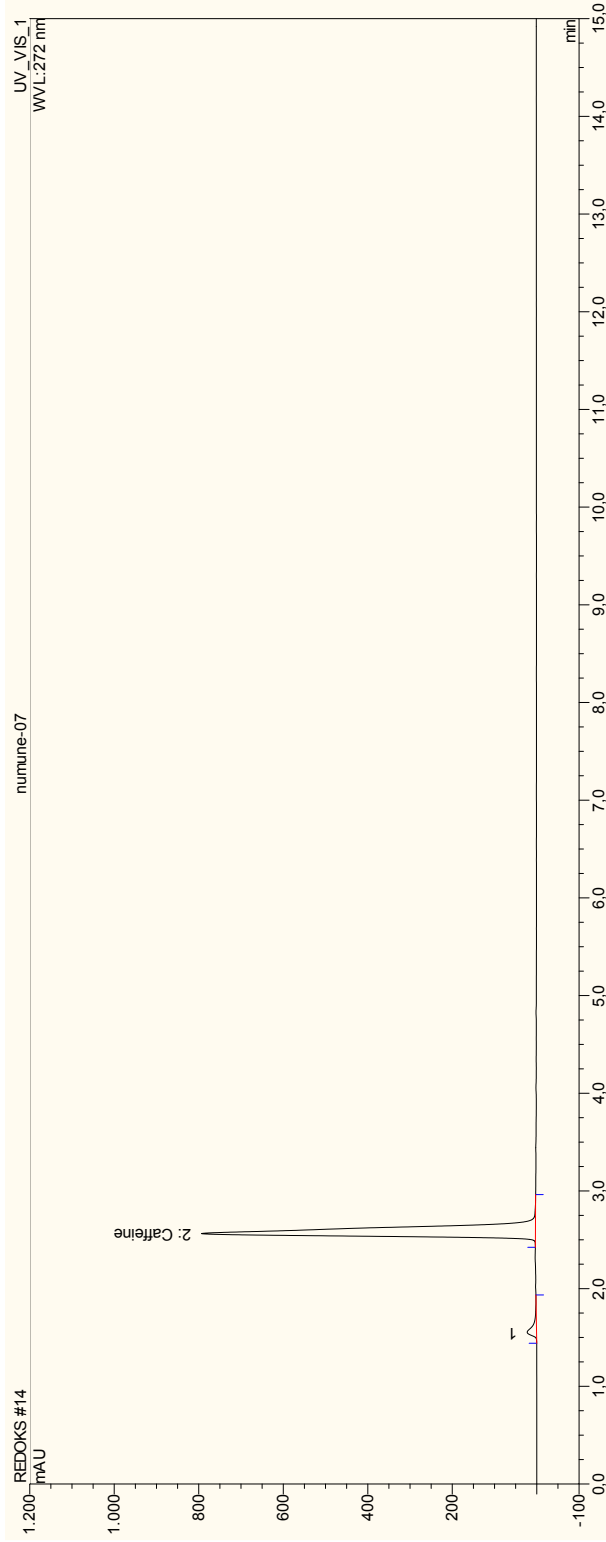
Şekil 4.1. Kalibrasyon doğrusu

EK-5 Örnek kromotogram (Basınç 200 bar, sıcaklık 55 °C, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika, süre 60 dakika)



Şekil 5.1. Örnek kromotogram (Basınç 200 bar, sıcaklık 55°C, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika, süre 60 dakika)

EK-6 Örnek kromotogram (Basınç 200 bar, sıcaklık 55 °C, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika, süre 480 dakika)



Şekil 6.1. Örnek kromotogram (Basınç 200 bar, sıcaklık 55°C, karbon dioksit akış hızı 10 g/dakika, süre 480 dakika)

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : İÇEN, Hacer

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri : 13.07.1974 Adapazarı

Medeni hali : Bekar

Telefon : 0 (505) 242 79 53

Faks : 0 (312) 432 08 18

e-mail : [hacericen@hotmail.com](mailto:hacericen@hotmail.com).

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Kimya Mühendisliği Bölümü	2002
Lisans	Gazi Üniversitesi /Kimya Mühendisliği Bölümü	1997
Lise	Bolu Sağlık Meslek Lisesi	1992

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2004-2008	Sağlık Bakanlığı, Proje Yönetim Destek Birimi	Memur
2000-2004	Ankara Fizik Ted.Eğ. Arş. Hastanesi	Hemşire
1998-2000	Çankırı Devlet Hastanesi	Hemşire
1996-1998	Özel Yaşam Hastanesi	Hemşire
1992-1996	Türkiye Yüksek İhtisas Hastanesi	Hemşire

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

- Gürü, M., İçen, H., "Obtaining of caffeine from Turkish Tea fiber and stalk wastes", Bioresource Thecnology, 94: 17-19 (2004).

### Hobiler

Resim, takı tasarımı, tenis