

**PORTAKAL ve LİMON POSASINDAKİ FENOLİK
MADDELERİN SÜPERKRİTİK AKIŞKAN
EKSTRAKSİYONU**

MEMDUHA ERGÜT

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KİMYA MÜHENDİSLİĞİ
ANA BİLİM DALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Danışman
Yrd. Doç. Dr. Onur DÖKER**

**MERSİN
TEMMUZ – 2015**

Memduha ERGÜT tarafından Yrd. Doç. Dr. Onur DÖKER danışmanlığında hazırlanan "Portakal ve Limon Posasındaki Fenolik Maddelerin Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu" başlıklı bu çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Prof. Dr. Ahmet Murat GİZİR

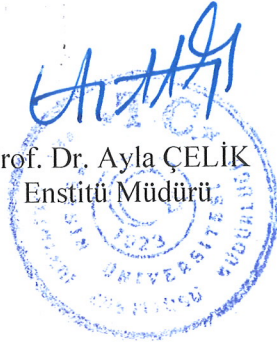
Prof. Dr. Uğur SALGIN

Yrd. Doç. Dr. Onur DÖKER



Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 14/09/2015 tarih ve 2015.23/864 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ayla ÇELİK
Enstitü Müdürü



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, çizelge ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

PORTAKAL ve LİMON POSASINDAKİ FENOLİK MADDELERİN SÜPERKRİTİK AKIŞKAN EKSTRAKSİYONU

Memduha ERGÜT

ÖZ

Sunulan tez çalışması kapsamında, meyve suyu üretim aşamasında atık olarak meydana gelen portakal ve limon posalarından süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi ile fenolik ekstraktların eldesi amaçlanmıştır. Limon ve portakal posasındaki fenolik maddelerin SC-CO₂ ekstraksiyon sürecinde ekstraksiyon verimini etkileyen; ekstraksiyon süresi, sıcaklık (40 – 60°C), basınç (100 – 200 bar) ve yardımcı çözücü etkisi (%25 (v/v), etanol) gibi temel işletme parametrelerinin etkisi araştırılmıştır. Süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen deneysel verilerin karşılaştırılması amacıyla metanol kullanılarak Soxhlet ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile limon posasından elde edilen fenolik ekstrakt verimi % 38.2 g ekstrakt /g kuru posa olarak saptanmıştır. Portakal posaları için ise 16 h ve 25 h işletim süresi sonunda ekstraksiyon verimleri sırasıyla % 37.63 ve % 38.164 g ekstrakt/ g kuru posa olarak belirlenmiştir.

SFE sürecinde limon posaları için en yüksek ekstraksiyon verimi, yardımcı çözücü kullanılmadan, 100 bar ve 40°C'de % 0.645 g ekstrakt/ g kuru posa olarak saptanmıştır. Ayrıca, en yüksek ekstraksiyon verimine yardımcı çözücü etanol varlığında % 3.460 g ekstrakt/g kuru posa olarak 100 bar 50°C koşullarında ulaşılmıştır. Portakal posalarının SFE sürecinde en yüksek ekstraksiyon verimi, yardımcı çözücü etanol ile, 200 bar - 40°C işletim koşullarında % 2.784 g ekstrakt /g kuru posa olarak belirlenmiştir.

SFE ve Soxhlet ekstraksiyon süreçleri sonunda limon posasından elde edilen ekstraktların; toplam fenolik madde içeriği, flavonoid madde içeriği ve antioksidan aktiviteleri sırasıyla, 778.75 – 1164.71 ve 8790 µg GAE/g kuru posa; 3.31 – 3.93 ve 28.46 mg kuersetin/g kuru posa; 2.003 – 2.415 ve 23.80 µmol trolox /g kuru posa olarak belirlenmiştir.

SFE ve Soxhlet ekstraksiyon süreçleri sonunda portakal posasından elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriği, flavonoid madde içeriği ve antioksidan aktiviteleri ise sırasıyla, 1268.69 – 1839.54 ve 9599.42 µg GAE/g kuru posa; 3.49 – 4.53 ve 19.67 mg kuersetin/g kuru posa ve 3.067 – 3.369 ve 25.74 µmol trolox /g kuru posa olarak hesaplanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu, Süperkritik CO₂, Portakal ve limon posası, Atıkların Değerlendirilmesi, Fenolik Maddeler

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Onur DÖKER, Mersin Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı

SUPERCritical FLUID EXTRACTION OF PHENOLIC COMPOUNDS FROM ORANGE and LEMON POMACES

Memduha ERGÜT

ABSTRACT

In the scope of presented thesis study, it was aimed that extraction of phenolic extracts by supercritical fluid extraction from orange and lemon pomaces which are discarded as waste in juice industry. In the supercritical CO₂ extraction of phenolic compounds from lemon and orange pomaces, the effect of main process parameters affecting extraction yield, such as extraction time, temperature (40 – 60°C), pressure (100 – 200 bar) and co-solvent effect (25 % (v/v), ethanol) were investigated. To compare experimental data obtained by supercritical fluid extraction method, Soxhlet extractions were performed using methanol. The phenolic extract yield obtained by Soxhlet extraction was detected as 38.2 % g extract /g dry pomace for lemon pomace. Extraction yield obtained for orange pomace was also determined as 37.63 % and 38.164 % g extract /g dry pomace at the end of 16 h and 25 h extraction time, respectively.

In SFE process, highest extraction yield was determined as 0.645 % g extract /g dry pomace for lemon pomace, without using cosolvent at 100 bar and 40°C. In addition, the maximum extraction yield obtained with ethanol as a cosolvent was reached 3.460 % g extract / g dry pomace at the conditions of 100 bar, 50°C. In SFE process of orange pomace highest extraction yield was determined as 2.784 % g extract/ g dry pomace with cosolvent ethanol at 200 bar, 40°C operating conditions.

Total phenolic contents, flavonoid contents and antioxidant activities of extracts obtained from lemon pomaces by SFE and Soxhlet extraction processes were determined as, 778.75 – 1164.71 and 879 µg GAE/g dry pomace, 3.31 – 3.93 and 28.46 mg quercetin/g dry pomace, 2.003 – 2.415 and 23.80 µmol trolox /g dry pomace, respectively.

Total phenolic contents, flavonoid contents and antioxidant activities of extracts obtained from orange pomaces by SFE and Soxhlet extraction processes were assessed as, 1268.69 – 1839.54 and 9599.42 µg GAE/g dry pomace, 3.49 – 4.53 and 19.67 mg quercetin/g dry pomace, 3.067 – 3.369 and 25.74 µmol trolox /g dry pomace, respectively.

Key Words: Supercritical Fluid Extraction, Supercritical CO₂, Lemon and Orange Pomace, Reuse of Wastes, Phenolic Compounds

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Onur DÖKER, Department of Chemical Engineering, University of Mersin

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmam süresince; tez çalışmalarımın yanı sıra sosyal yaşantımda da bilgi ve tecrübelerinden yararlanma olanağı bulduğum, çok değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Onur DÖKER'e teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans tez çalışmalarımın yürütülmesinde altyapı konusunda destek olan ve manevi desteğini eksik etmeyen Kimya Mühendisliği Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Ayla ÖZER'e ve değerli bölüm hocalarıma teşekkür ederim.

Süperkritik akışkan ekstraksiyon deneylerinin yürütülmesinde laboratuvarını açarak, araştırma olanağı sağlayan ve deneysel çalışmalarım sırasındaki en büyük sıkıntıyı aşmama vesile olan, Mersin Üniversitesi Kimya Bölümü, Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. A. Murat GİZİR'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca destek ve yardımlarından dolayı Arş. Gör. Özkan GÖRMEZ ve Arş. Gör. Erdal YABALAK'a teşekkür ederim.

Analizlerim konusunda değerli öneri ve bilgilerinden yararlanma fırsatı bulduğum Sayın Yrd. Doç. Dr. Salih AKSAY'a ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Habip TOKBAŞ'a, yine desteklerinden dolayı sevgili çalışma arkadaşım Arş. Gör. Deniz UZUNOĞLU'na teşekkür ederim.

Yüksek lisans çalışmamı ekonomik açıdan destekleyen Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni her konuda destekleyen, emek veren ve sevgilerini hiçbir zaman esirgemeyen canım aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Memduha ERGÜT

Temmuz, 2015

İÇİNDEKİLER

ÖZ.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
EKLER DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	6
2.1. FENOLİK BİLEŞİKLER.....	6
2.1.1. Flavonoidler	6
2.1.2. Fenolik Asitler.....	10
2.2. GIDA ENDÜSTRİSİ ATIKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ	12
2.3. SÜPERKRİTİK AKIŞKAN TEKNOLOJİSİ	26
2.3.1. Süperkritik Akışkan	26
2.3.2. Süperkritik Akışkanların Özellikleri	27
2.3.3. Süperkritik Akışkan Seçimi	29
2.3.4 Süperkritik Akışkanların Çözme Gücü	32
2.3.5. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu.....	36
2.3.6. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonun Avantaj ve Dezavantajları.....	39
2.3.7. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Sürecinde Ürün Verimine Etki Eden Temel İşletme Parametreleri	40
2.3.7.1. Basınç.....	41
2.3.7.2 Sıcaklık.....	41
2.3.7.3 Tanecik büyüklüğü.....	42
2.3.7.4. Çözücü akış hızı	42
2.3.7.5 Yardımcı çözücü türü ve derişimi	43
2.3.8. Süperkritik Akışkan Teknolojisi Uygulama Alanları	44
2.4. ANALİZ YÖNTEMLERİ.....	49
2.4.1. Spektroskopik Teknikler	49
2.4.1.1. Folin – Ciocalteu Toplam Fenolik Madde Tayin Yöntemi	49
2.4.1.2. Toplam Flavonoid İçeriği Tayin Yöntemleri	50
2.4.1.3. DPPH Radikali Söndürücü Aktivite Yöntemi	50
2.4.2.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	51
2.5. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	54

3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	63
3.1. MATERYAL	63
3.2. YÖNTEM.....	64
3.2.1. Örneklerin hazırlanması	64
3.2.1.1. Posaların kurutulması.....	64
3.2.1.2. Posaların nem içeriği.....	64
3.2.1.3. Elek analizi.....	65
3.2.2. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu	65
3.2.2.1. Soxhlet ekstraksiyonu	65
3.2.2.2. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu	66
3.2.3. Ekstraktların Analizi.....	68
3.2.3.1. Toplam fenolik madde tayini.....	69
3.2.3.2. Toplam flavonoid madde tayini.....	69
3.2.3.3. Antioksidan aktivite tayini.....	69
4.BULGULAR ve TARTIŞMA.....	71
4.1. SOXHLET EKSTRAKSİYONU.....	71
4.2. SÜPERKRİTİK AKIŞKAN EKSTRAKSİYONU.....	74
4.2.1. Limon Posasının Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Sürecine İşletme Parametrelerinin Etkisi.....	74
4.2.1.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi.....	74
4.2.1.2. Sıcaklığın etkisi.....	75
4.2.1.3. Yardımcı çözücü etkisi.....	78
4.2.2. Limon Posasının SFE Sürecinde Yardımcı Çözücü Olarak Etanol Kullanılması Durumunda Sıcaklık ve Basıncın Ekstraksiyon Verimine Etkisi.....	80
4.2.2.1. Basıncın etkisi.....	80
4.2.2.2. Sıcaklığın etkisi.....	86
4.2.3. Portakal Posasının SFE Sürecinde Yardımcı Çözücü Olarak Etanol Kullanılması Durumunda Basıncın Ekstraksiyon Verimine Etkisi.....	91
4.3. EKSTRAKTLARIN TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİKLERİ.....	94
4.3.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Süreci İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde İçerikleri.....	95
4.3.2. Soxhlet Ekstraksiyon Yöntemi İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde İçerikleri.....	99
4.4. EKSTRAKTLARIN TOPLAM FLAVONOİD MADDE MİKTARLARI.....	101
4.4.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Süreci İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Flavonoid Madde Miktarları.....	101

4.4.2. Soxhlet Ekstraksiyon Yöntemi İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Flavonoid Madde Miktarları.....	106
4.5. EKSTRAKTLARIN ANTİOKSİDAN AKTİVİTELERİ.....	107
4.5.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Süreci İle Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri.....	107
4.5.2. Soxhlet Ekstraksiyon Yöntemi İle Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri.....	112
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	113
KAYNAKLAR.....	117
EKLER.....	128
ÖZGEÇMİŞ.....	133

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2. 1. Flavonoidlerin moleküler yapısı.....	7
Şekil 2.2. Hesperidinin kimyasal yapısı.....	9
Şekil 2.3. Hidroksibenzoik asitlerin kimyasal yapıları.....	11
Şekil 2.4. Hidroksisinnamik asitlerin kimyasal yapıları.....	11
Şekil 2.5. Turunçgilin anatomisi.....	19
Şekil 2.6. Portakal meyvesinin kesiti.....	20
Şekil 2.7. Karbondioksit ve su için sıcaklık-basınç faz diyagramı.....	26
Şekil 2.8. CO ₂ 'nin indirgenmiş yoğunluk değerinin indirgenmiş sıcaklık ve indirgenmiş basınçla değişimi.....	33
Şekil 2.9. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi için basitleştirilmiş akım şeması.....	37
Şekil 2.10. Katı materyallerin SFE süreciyle elde edilen ekstraksiyon eğrileri.....	38
Şekil 2.11. DPPH molekülünün radikal ve radikal olmayan formları.....	51
Şekil 3.1. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi.....	67
Şekil 4.1. Limon posasının SOX sürecinde ekstraksiyon veriminin tanecik büyüklüğü ile değişimi.....	72
Şekil 4.2. Portakal posasının SOX sürecinde ekstraksiyon veriminin süre ile değişimi (tanecik büyüklüğü, >100 µm).....	73
Şekil 4.3. Limon posasının SFE sürecinde, % verimin ekstraksiyon süresi ile değişimi (T = 40°C, P = 100 bar).....	75

Şekil 4.4. Limon posasının SFE sürecinde, düşük işletme basıncında % verimin sıcaklık ile değişimi (P = 100 bar).....	76
Şekil 4.5. Limon posasının SFE sürecinde, yardımcı çözücünün % verime etkisi (% 25 (v/v) etanol, T = 40°C, P = 100 bar).....	79
Şekil 4.6. Limon posasının SFE sürecinde düşük işletme sıcaklığında, % verimin basınç ile değişimi (T = 40°C, % 25 (v/v) etanol).....	82
Şekil 4.7. Limon posasının SFE sürecinde, orta işletme sıcaklığında % verimin basınç ile değişimi (T = 50°C, % 25 (v/v) etanol).....	84
Şekil 4.8. Limon posasının SFE sürecinde, yüksek işletme sıcaklığında % verimin basınç ile değişimi (T = 60°C, % 25 (v/v) etanol).....	85
Şekil 4.9. Limon posasının SFE sürecinde, düşük işletme basıncında % verimin sıcaklık ile değişimi (P = 100 bar, % 25 (v/v) etanol).....	88
Şekil 4.10. Limon posasının SFE sürecinde, orta işletme basıncında % verimin sıcaklık ile değişimi (P = 150 bar, % 25 (v/v) etanol).....	89
Şekil 4.11. Limon posasının SFE sürecinde, yüksek işletme basıncında % verimin sıcaklık ile değişimi (P = 200 bar, % 25 (v/v) etanol).....	90
Şekil 4.12. Portakal posasının SFE sürecinde, düşük işletme sıcaklığında % verimin basınç ile değişimi (T= 40°C, % 25 (v/v) etanol).....	91
Şekil 4.13. Gallik asit kalibrasyon doğrusu grafiği.....	94
Şekil 4.14. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin farklı işletme basınçlarında sıcaklık ile değişimi.....	96
Şekil 4.15. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin farklı işletme sıcaklıklarında basınç ile değişimi.....	97
Şekil 4.16. Portakal posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin 40°C işletme sıcaklığında basınç ile değişimi.....	99
Şekil 4.17. Kuersetin kalibrasyon doğrusu grafiği.....	101
Şekil 4.18. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarının farklı işletme basınçlarında sıcaklık ile değişimi.....	103
Şekil 4.19. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarının farklı işletme sıcaklıklarında basınç ile değişimi.....	104
Şekil 4.20. Portakal posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarının 40°C işletme sıcaklığında basınç ile değişimi.....	105

Şekil 4.21. Trolox kalibrasyon doğrusu grafiği.....	107
Şekil 4.22. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin farklı işletme basınçlarında sıcaklık ile değişimi.....	109
Şekil 4.23. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin farklı işletme sıcaklıklarında basınç ile değişimi.....	110
Şekil 4.24. Portakal posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin 40°C işletme sıcaklığında değişen basınç değerleri ile değişimi.....	111
Şekil E.1. Limon posası örneklerinin Soxhlet ekstraksiyon sürecinde kullanılan metanol ve saf metanolün FTIR spektrumları.....	131
Şekil E.2. Portakal posası örneklerinin Soxhlet ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan metanolün ve saf metanolün FTIR spektrumları.....	132



EKLER DİZİNİ

Sayfa

Ek-1. Verim değerlerinin hesaplanması.....	128
Ek-2. Nem ve Uçucu Bileşen İçeriği Hesaplamaları.....	129
Ek-3.Örneklerin Toplam Fenolik Madde, Flavonoid Madde ve Antioksidan Aktivitelerinin Kalibrasyon Doğruları Aracılığıyla Belirlenmesi.....	130
Ek-4. FTIR Spektrumları.....	131



SİMGELER ve KISALTMALAR

ABTS	: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
BHA	: Bütillendirilmiş hidroksianisol
BHT	: Bütillendirilmiş hidroksitoluen
Cgallik asit	: Gallik asit konsantrasyonu (mg/L, µg /mL)
D_{AB}	: Difüzyon katsayısı
DMP	: 2,2-dimethoxypropane
DSC	: Differential scanning calorimetry, Diferansiyel taramalı kalorimetre
DPPH	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EPA	: Environmental Protection Agency, Çevre Koruma Ajansı
FAO	: Food and Agriculture Organization, Gıda ve Tarım Örgütü
FCR	: Folin-Ciocalteu ayıracağı
FRAP	: Ferrik indirgeyici antioksidan aktivitesi
GC	: Gaz kromatografisi
GRAS	: Generally Recognized As Safe, Genellikle güvenilir olarak tanımlanan
HPLC	: Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
LC	: Sıvı kromatografisi
m_ç	: Ekstraktın toplandığı çözücü miktarı (mL)
m_{eks}	: Ekstrakte edilen madde miktarı (g)
m_{kuru posa}	: Başlangıçta alınan posa örneği miktarı (g kuru posa)
m_y	: Örnek miktarı (g kuru posa)
NCL	: Kritik altı bölge
PG	: Propilgallatlar
P_c	: Kritik basınç
SCF	: Supercritical Fluids, Süperkritik akışkanlar
SC-CO₂	: Supercritical carbondioxide, Süperkritik karbondioksit
SFE	: Supercritical Fluid Extraction, Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
T_c	: Kritik sıcaklık
TBHQ	: Tert-bütil hidroksikininon
TLC	: İnce-tabaka kromatografisi

T_r : Yüksek sıcaklık
 V_{eks} : Verim (g ekstrakt/g kuru posa)
 ρ : Yoğunluk
 μ : Viskozite



1. GİRİŞ

Son yıllarda fonksiyonel gıdalara karşı; kan basıncını düşürme, antioksidan ve anti-inflamatuvar etki göstermeleri bakımından fizyolojik yararlarına ek olarak besinsel değerleri ve enerji verici özellikleri nedeniyle, gittikçe artan bir ilgi söz konusudur. Fonksiyonel gıda, bir veya daha fazla fizyolojik fonksiyonda yararlı etki yaratan, birçok önemli hastalığa yakalanma riskini önleyen ya da geciktiren gıdalar olarak tanımlanabilir. Fonksiyonel gıdalara ek olarak son zamanlarda nutrasötikler olarak adlandırılan, gıdalardan türetilmiş ürünlerin yeni türleri geliştirilmiştir. Bu ürünler, genellikle gıda katkıları olarak, tablet ve hap formlarında pazara sunulmaktadır [Herrero vd., 2006]. Bu nedenle nutrasötik ve fonksiyonel gıda terimleri sık olarak birbirlerinin yerine kullanılmalarına rağmen nutrasötik, hem alışla gelmiş hem de farklı (tablet, kapsül, vs.) gıda ve gıda bileşenlerini tarif ederken, fonksiyonel gıda geleneksel gıda formlarını ifade etmektedir. Fonksiyonel gıdalar, doğal antioksidanlar ve lifli yapılar gibi fitokimyasallardan oluşmaktadır. Fitokimyasallar (bitki kimyasalları, biyoaktif bileşikler); karbonhidrat, yağ ve protein gibi makrobesinler olarak bilinen ve sağlığımız için gerekli olan onüç adet vitamin ve onyediyet adet mineralin dışındaki bitkisel kaynaklı, çoğunlukla polifenollerden oluşan ve insan yaşamı için gerekli olan bileşiklerdir [Şahin, 2011]. Tüm gıdaların, 5000 ve 25000 arasında bireysel fitokimyasal madde içerdiği öngörülmektedir [Acosta-Estrada vd., 2014]. Özellikle meyve ve sebzelerde bulunan fitokimyasallar, insan vücudundaki serbest radikaller ile birleşerek, hücreleri zararlı radikallerin saldırılarından korumaktadır. Serbest radikaller insan organizmasındaki yağlar, proteinler ve nükleik asitler gibi çeşitli moleküllerde oksidatif hasara neden olmakta ve kanser, kardiyovasküler düzensizlik, astım, diyabet gibi çok sayıda dejeneratif hastalığa ve yaşlanmaya yol açmaktadır [Kalinowska vd., 2014]. Epidemiyolojik çalışmalar meyve ve sebze tüketimi ile kanser, kardiyovasküler rahatsızlıklar, diyabet ve alzheimer gibi kronik hastalıkların önlenmesi arasında önemli, pozitif yönde bir ilişki olduğunu göstermektedir [Abeyasinghe vd., 2007]. Bu yönde yapılan bilimsel çalışmalardan 206 adet insan epidemiyolojik çalışması ve 22 adet hayvan denemesine ait bilimsel makale derlendiğinde; mide, yemek borusu, gırtlak, yutak, akciğer, pankreas, kolon ve endometrium kanserinde meyve ve sebze tüketiminin koruyucu etkisi olduğu kanıtlanmıştır [Selen İşbilir, 2008]. Bu nedenle koruyucu

etkilerinden ötürü polifenoller (fenolik bileşikler) gibi antioksidanlarca zengin gıdaların tüketilmesi son derece önemlidir [Kalinowska vd., 2014]. Polifenoller bitkisel kaynaklı matrikslerde mikroorganizma ve güçlü ultraviyole (UV) radyasyonuna karşı bir savunma mekanizması olarak sentezlenmektedir. Fenolik bileşiklerin; yapıları, hidrojen – verici potansiyelleri ve metal iyonları ile şelat oluşturma yetenekleri bakımından in vitro testlerde çok güçlü antioksidan aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir [Martinez, 2007].

Antioksidan bileşikler, özellikle gıda endüstrisinde, lipid oksidasyonundan kaynaklanan acılığın giderilmesi, toksik bileşiklerin oluşmasının önlenmesi veya azaltılması, besinsel kalitenin sürdürülmesi ve gıdanın raf ömrünü uzatılması amacıyla yağ içeren ürünlere katkı maddesi olarak ilave edilmektedir. Bu amaçla, bütillendirilmiş hidroksitoluen (BHT), bütillendirilmiş hidroksianisol (BHA), propilgallatlar (PG), tert-bütül hidroksikininon (TBHQ) gibi sentetik antioksidanlar gıda katkı maddesi olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır. Ancak sentetik antioksidanların toksik etki göstermeleri ve bundan dolayı kullanımlarına sınırlandırmalar getirilmesi, yüksek üretim maliyetleri ve artan tüketici bilinci sentetik antioksidanların yerine doğal antioksidanların kullanılma çabası yönündeki araştırmaları hızlandırmıştır [Moure vd., 2001, Martinez, 2007, Balasundram vd., 2006]. En çok çalışılan fenolik antioksidan kaynakları arasında; meyve ve sebzeler, tohumlar, tahıllar ve çay yaprakları gösterilebilir. Tarımsal ve endüstriyel atıklar yenilenebilir, ucuz ve ulaşılması oldukça kolay fenolik antioksidan kaynaklarıdır. Bu ucuz ve alternatif doğal antioksidan kaynaklarının klasik ekstraksiyon metotlarıyla elde edilmesinde, ekstraksiyon süresinin uzun olması, düşük seçicilik, ekstraksiyon veriminin düşük olması, çok miktarda toksik çözücü kullanımı, ekstraktın çözücü kalıntısı içermesi ve ışık, oksijen ve ısıya oldukça duyarlı bileşiklerin ekstraksiyon sürecinde otooksidasyon ve kimyasal degradasyonun önüne geçilememesi gibi bir takım sorunlar mevcuttur [Herrero vd., 2006]. Bundan dolayı son yıllarda, daha az enerji tüketimi, CO₂ emisyonu için yasal gereklilikleri karşılamak, daha az toksik kalıntı, yan ürünlerin daha etkin şekilde kullanımı, daha kaliteli ve güvenli son ürün elde etmek amacıyla çevresel etkileri minimuma indirgenmiş alternatif teknolojik süreçlerin gelişmesi yönünde artan bir ilgi vardır. Yüksek basınç teknolojisi, karakteristik özelliklere sahip tamamen yeni ürünlerin ortaya çıkmasına olanak

sağlayan, çeşitli süreçlerin önünü açacak, oldukça yeni bir araç işlevi görmektedir [Knez vd., 2014]. Bu alanda süperkritik akışkanlar (SCF, Supercritical Fluids) ile yürütülen süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE, Supercritical Fluid Extraction), Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA, Environmental Protection Agency, USA) tarafından belirlenen standartlara uygunluğu nedeniyle “yeşil kimya, *green techniques*” olarak kabul edilmesi açısından ayrıcalıklı pozisyonundadır [Azmir vd., 2013].

Süperkritik akışkanlar düşük viskozite ve oldukça yüksek difüzyon hızları nedeniyle sıvılardan daha iyi taşınım özellikleri göstermektedirler. Böylelikle katı materyaller içerisine daha rahat yayınabilmekte ve ekstraksiyon veriminde artış sağlamaktadırlar. Süperkritik akışkanların temel karakteristiklerinden biri de basınç ya da sıcaklık değişimiyle akışkanın yoğunluğunun modifiye edilebilme olanağıdır. Süperkritik akışkanların çözme gücü yoğunlukları ile doğrudan ilişkili olduğundan, ekstraksiyon basıncının değiştirilmesi ile akışkanın çözme gücü ayarlanabilmektedir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun diğer ekstraksiyon metodlarına göre en önemli üstünlüğü kademeli olarak basıncın azaltılmasıyla çözücünün ekstraksiyon işleminden sonra üründen kolaylıkla ayrılması ve böylelikle ürünün çözücü kalıntısı içermemesidir. SFE işlemlerinde genellikle güvenilir olarak tanımlanan GRAS statüsündeki çözücüler kullanılmaktadır. Bu çözücüler arasında süperkritik karbondioksit (SC-CO₂) ekstraksiyon süreçlerinde düşük kritik sıcaklık (T_c=31.2°C) ve basınca (P_c=7.4 MPa) sahip olmasından dolayı ısıya duyarlı doğal bileşiklerin ekstraksiyon işlemlerinde en çok kullanılan süperkritik akışkandır. SC-CO₂ ucuz ve yüksek saflıkta eldesinin yanında inert, tutuşmaz, geri dönüşümlü ve çevre dostu özelliklerinden dolayı ekstraksiyon işlemlerinin güvenli ve verimli olmasını sağlamaktadır.

Bu tez çalışmasında Mersin’de bulunan Anadolu Etap Gıda San. ve Tic. A.Ş. meyve suyu fabrikasından temin edilen, portakal ve limonun meyve suyu üretim sürecinde atık olarak meydana gelen; kabuk, albedo ve dilim zarlardan oluşan posalar hammadde olarak kullanılmıştır. Bu yan ürünlerden oluşan posalar, aromatik fraksiyonlar ve antioksidan bileşikler gibi meyve suyu üretimi sırasında tamamen ekstrakte edilemeyen değerli maddeleri bulundurmalarından dolayı yüksek ticari

öneme sahiptir. Portakal ve limon posası gibi turunçgil yan ürünleri fenolik bileşik gruplarından biri olan doğal bir flavonoid kaynağı olarak değerlendirilmektedir. Turunçgil meyvesinin yaklaşık yarısını oluşturan narenciye kabuklarının meyvede en yüksek derişimde flavonoid içeren kısım olduğu belirtilmektedir [Benelli vd., 2010]. Turunçgil kabuklarının özellikle naringin, hesperidin, narirutin ve neohesperidin olmak üzere karakteristik flavanone glikozitler açısından zengin olduğu bildirilmektedir [Khan vd., 2014]. Gorinstein ve ark. tarafından yürütölen bir çalışmada limon, portakal ve greyfurt kabuklarındaki toplam fenolik içeriğın soyulmuş meyvelerden oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir [Gorinstein vd., 2001]. Birçok araştırmacı farklı köken ve çeşitlerdeki portakal ve limonun kabuklarının olduğu kadar, meyve suyu ve yenilebilir kısımlarının ekstraktlarındaki polifenoller başta olmak üzere antioksidan özellik gösteren bileşikleri saptamışlardır.

Sürelili yayınlarda özellikle portakal ve limonun meyve suyu endüstrisinde atık olarak çıkan posasından, sürelili yayınlara göre dünya pazarında 200 milyon dolar değeri olan ve yüksek antioksidan içeriğı kanıtlanan polifenollerin süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi ile eldesi üzerine çalışma bulunmamaktadır. Ancak, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile farklı türlerdeki turunçgil ve portakal, kabuk ve çekirdeklerinin polifenol içeriğı üzerine oldukça sınırlı sayıda, birkaç tane çalışma mevcuttur. Literatürde portakal posasının SFE sürecine ilişkin tek çalışma, Benelli ve arkadaşları (2010) tarafından portakal posasından portakal yağı eldesi üzerine olup, yağın toplam fenolik içeriğı belirlenmiştir. Limondan ise, süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile polifenollerin eldesine dair herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Türkiye 3.6 milyon ton turunçgil üretimiyle dünyada 9. sırada yer almaktadır. 2013 yılı verilerine göre ölkemizde en çok üretilen turunçgil 1.78 milyon ton üretimiyle portakal olurken, 726 bin ton üretim payı ile limon üçüncü sıradadır. Üretilen turunçgillerin yaklaşık % 33'ünün meyve suyu üretiminde kullanıldığı ve turunçgil kabuklarının meyvenin toplam ağırlığının yaklaşık yarısını oluşturduğu varsayılırsa, sadece portakal ve limon bazında yaklaşık 400 bin ton kabuğun meyve suyu endüstrisi atığı olarak çıktığı görölmektedir. Dünya çapında ise turunçgil atıklarının yıllık 15 milyon ton olduğu belirtilmektedir. Bu değerler göz önüne

alındığında portakal ve limonun ülkemizde ve dünyada çok miktarda tüketilmesi nedeniyle atık durumda çok miktarda posanın varlığı ve bu posaların etkili bir şekilde değerlendirilmemesi sonucu doğrudan doğaya atıldıklarında yüksek oranda su içermelerinden kaynaklı mikrobiyal bozulmalar çevre kirliliği yaratmakta aynı zamanda ticari önemi ve sağlık üzerine oldukça önemli faydaları bulunan polifenoller gibi biyoaktif bileşiklerin kaybına neden olmaktadır. Portakalın 170'den fazla biyoaktif bileşik içerdiği bilinmektedir [Wang vd., 2007].

Bu tez çalışmasının amacı, portakal ve limonun meyve suyu üretim aşamasında atık olarak ele geçen posalarından portakal ve limona özgü fenolik bileşiklerin SC-CO₂ ekstraksiyonu ile ekstrakte edilerek değerlendirilme koşullarının incelenmesidir. Bu amaçla posaların içerdiği fenolik bileşiklerin SC-CO₂ ekstraksiyon sürecine etki eden; ekstraksiyon süresi, işletme sıcaklığı, işletme basıncı ve yardımcı çözücü gibi parametrelerin ekstraksiyon verimine etkisi sistematik bir biçimde araştırılmıştır. Elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriği Folin – Ciocalteu yöntemine göre, toplam flavonoid içeriği Alüminyum Klorür/Sodyum Nitrit yöntemi ile belirlenirken ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH radikali söndürücü aktivite yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular ışığında meyve suyu endüstrisi atıkları olan portakal ve limon posasının, atıkların değerlendirme alanının bulunmasının beraberinde; gıda, nutrasötik, kozmetik, farmasötik ve diğer endüstrilerde kullanılmak üzere düşük maliyetli ve kolay erişilebilirliğe sahip çok önemli bir hammadde kaynağı olabileceği konusunda olumlu katkıları olacağı ayrıca; gıda ve ilaç bileşimlerinde yer alan ticari değeri yüksek polifenolik ekstraktların elde edilerek ülkemiz ekonomisine önemli katkıda bulunulacağı düşünülmektedir. Ayrıca bu ucuz ve antioksidanlarca zengin atıklardan, BHA ve BHT gibi toksik etkisi bilinen, özellikle karaciğere zarar veren ve kanserojen olan sentetik katkı maddelerinin yerini alabilecek ekstraktların süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile eldesinde süreç parametrelerinin etkisinin aydınlatılarak, bu konuda yapılacak olan diğer çalışmalara ve araştırmalara da katkı sağlanması yine bu tez çalışmasının hedefleri arasındadır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. FENOLİK BİLEŞİKLER

Bitkilerdeki biyoaktif bileşikler genellikle sekonder metabolitler olarak üretilmektedir. Tek hücreli bir bakteriden milyon sayıda hücresi olan bitkilere kadar yaşayan her canlı, hayatta kalmak ve varlığını sürdürebilmek için çeşitli kimyasal bileşikleri işlemektedir. Biyolojik sistemlerdeki tüm bileşikler iki geniş kısma ayrılmaktadır. Bunlardan primer metabolitler, büyüme ve gelişmede görev alan karbonhidratlar, aminoasitler, proteinler ve yağlar gibi kimyasal bileşiklerdir. Sekonder metabolitler ise genellikle büyümenin belirli bir evresinde üretilen hayati fonksiyonu olmasına rağmen büyüme üzerinde etkisi olmayan ve bazı mikroorganizmaların sınırlandırılmış belirli taksonomik grupları tarafından üretilen bileşiklerdir. Sekonder metabolitler, bitkilerin hayatta kalma ve etkileşim halinde oldukları çevredeki bölgesel zorlukların üstesinden gelebilmeleri için onlara yardımcı olurlar [Azmir vd., 2013].

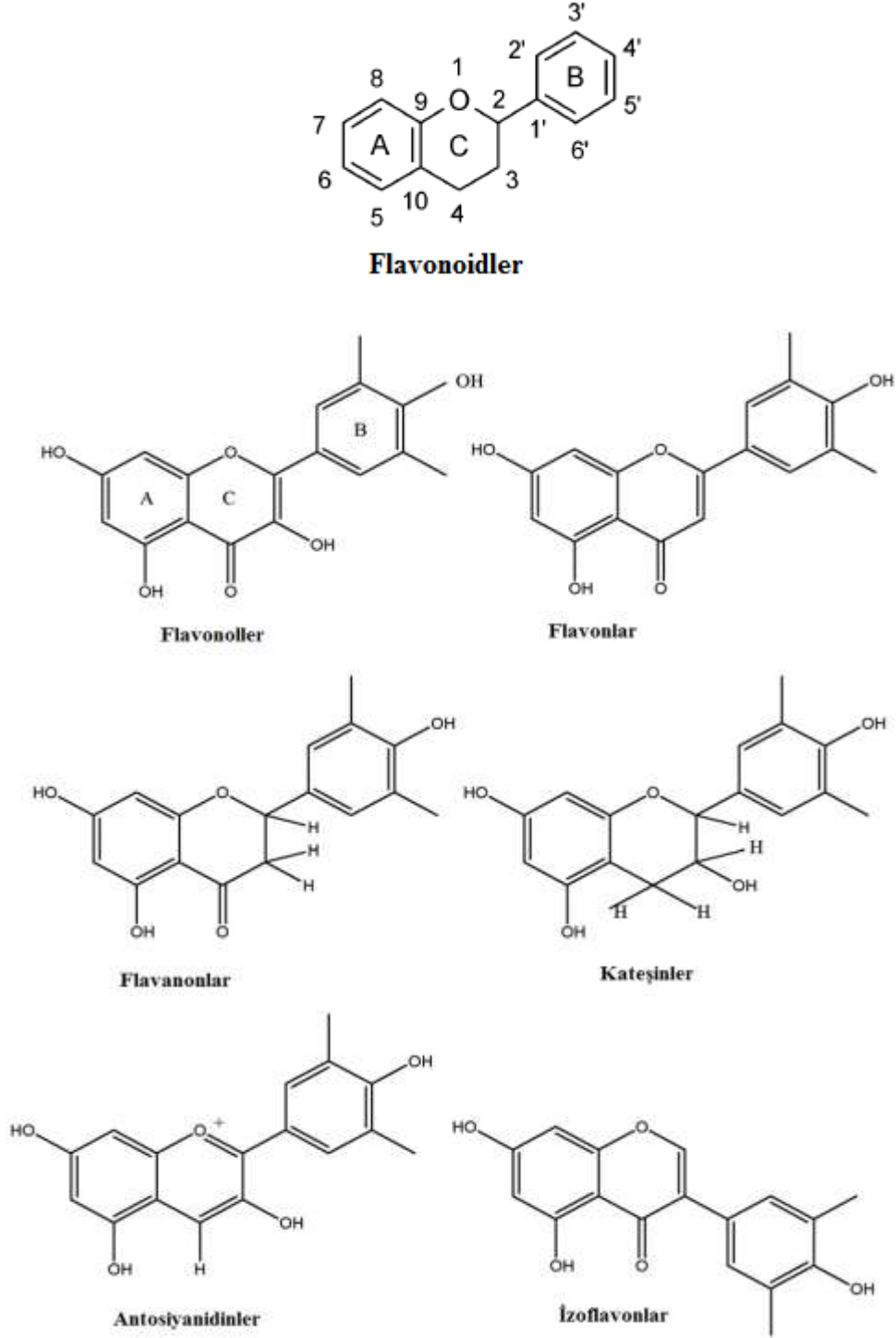
Fenolik bileşikler, bitkilerdeki renk oluşumu, polenleşme, UV radyasyonuna ve patojenlere karşı korunmadan sorumlu, sekonder bileşiklerin ana sınıflarından biridir. Bu bileşikler gıdalarda renk ve buruk tat gibi duyusal özelliklere katkıda bulunmaktadır. Fenolik bileşikler bir aromatik halka ile bir veya daha fazla hidroksil grup ve fonksiyonel türev (esterler, metil esterler ve glikozitler gibi) taşıyan monomerik, oligomerik veya polimerik bileşikler olarak adlandırılmaktadır [Martinez, 2007].

Polifenoller yapılarına göre flavonoidler ve fenolik asitler olarak iki ana gruba ayrılmaktadır.

2.1.1. Flavonoidler

Flavonoidler doğada bulunan 8000 fenolik bileşenin yarısından fazlasına tekabül etmekte ve bitki polifenollerinin en geniş grubunu oluşturmaktadır. Flavonoidler, 15 karbon atomu içeren, düşük molekül kütleli, C₆-C₃-C₆ (difenilpropan) formunda iki fenil halkasının propan zinciri ile birleşmesi ile oluşan bileşiklerdir [Balasundram vd., 2006]. Flavonoidler moleküler yapılarına göre;

flavonoller, flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, antosiyanidinler ve flavanoller (kateşinler ve proantosiyanidinler) olmak üzere altı sınıfa ayrılmaktadırlar. Flavonoidlerin genel yapısı Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2. 1. Flavonoidlerin moleküler yapısı [Tripoli vd., 2007, Crozier vd., 2009].

Flavonlar, meyvelerde çok miktarda bulunmamakla birlikte genellikle tahıllarda ve şifalı otlarda bulunmaktadır. Flavonların yaygın temsilcileri apigenin ve luteolindir. Apigenin ve glikozitleri tahıl tanelerinde, bazı şifalı otlarda ve sebzelerde bulunmaktadır. Luteolin ise temel olarak tahıllarda ve şifalı otlarda bulunmaktadır. Maydanoz apigenin ve kirisin içermektedir [Peterson ve Dwyer, 1998]. Başlıca flavon kaynakları kırmızı biber, kereviz ve zeytindir [Erlund, 2004]. Diğer flavon türlerinden polimetoksilli flavonlar; tangeretin, nobiletin ve sinensetin, flavon glikozitler; diosmin ve izorhoifolin ise turuncgil kabuklarında bulunmaktadır [Erişim, 2015 (a)].

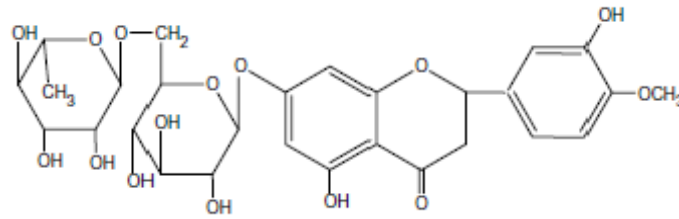
Flavonoller (3- hidroksiflavon), flavonun 3 no'lu C atomuna bir hidroksil grubunun bağlanmasıyla oluşurlar. En önemli temsilcileri; kuersetin, glikozitlenmiş kuersetin (rutin), kamferol, mirisetin ve izoramnetindir. Kuersetin tüm meyve ve sebzelerde bulunmakla beraber; kuersetin glikozitleri (rutin), sebzelerde ve çeşitli sebzelerin yapraklarında yaygın olarak görülmektedir. Kamferol meyvelerde ve yapraklı sebzeler arasında en sık rastlanan flavonoldür. Kamferol ayrıca çilek, şifalı otlar, baklagiller ve köklü sebzelerde yer almaktadır. İzoramnetin, soğan ve armutta bulunmaktadır. Mirisetin çilek, mısır ve çayda bol miktarda mevcuttur. Flavonoller ve glikozitleri baskın olarak meyvelerin derisinde bulunmaktadır [Peterson ve Dwyer, 1998].

Flavanoller, flavonoidlerin C halkasında bulunan C-4'teki karbonil grubunun mevcut olmaması durumunda oluşmaktadır. En önemlileri kateşin ve epikateşin'dir. Kateşin ve epikateşinin gallik asitle kombinasyonları sonucu kateşin ve epikateşin gallatlar meydana gelmektedir. Flavanoller, monomer formda kateşinler, polimer formda proantosiyanidinler olarak bulunmaktadır [Rice - Evans vd., 1995]. Kateşinler gıdalarda yaygın olarak bulunan flavonoid grubunu oluşturmaktadırlar. Hem kimyasal hem de enzimatik olarak hava oksijeni ile kolaylıkla kondanse olarak proantosiyanidinleri oluştururlar. Bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan proantosiyanidinler; (-)-epikateşin ve (+)-kateşin kombinasyonlarından oluşan dimerlerdir [Nizamlıoğlu ve Nas, 2010]. Flavanoller, özellikle yeşil ve siyah çayda, kırmızı şarapta çok miktarda bulunmaktadır [Rice - Evans vd., 1995].

Flavanonlar, flavonoidlerin genel yapısındaki 4 nolu karbon atomuna doymuş üçlü karbon halkası ve oksijen atomu bağlanmasıyla oluşmaktadır. Genellikle 7 nolu karbon atomundaki bir disakkarit ile glikozit yapıya kavuşurlar. Flavanonlar turunçgillerde en yüksek derişimde bulunmakla beraber domates ve nane gibi bazı aromatik bitkilerde de bulunmaktadır [Ignat vd., 2011].

Turunçgil meyvelerinde yukarıda bahsedilen gruplara göre 60 tipin üzerinde flavonoid belirlenmiştir. Turunçgil flavanonları glikozit veya aglikon (şeker olmayan) formlarında bulunmaktadır. Aglikon formlar arasında naringenin ve hesperetin en önemlileridir. Glikozit formları ise neohesperidositler ve rutinoidler olmak üzere ikiye ayrılır. Neohesperidositler; naringin, neohesperidin ve neeriositrin acı tada sahipken, rutinoidler hesperidin, narirutin ve didimin tatsızdır. Flavanonlar genellikle diglikozit formda bulunmakta ve turunçgillere özgü tadı vermektedirler [Tripoli vd., 2007].

Hesperidin, portakal limon ve diğer turunçgil türlerindeki temel flavanon olup damar geçirgenliği etkileyerek, kılcal damar direncini artırmakta ve analjezik ve anti-inflamatuvar etki göstermektedir. Ayrıca, kanser gelişiminde rol oynayan serbest radikalleri söndürme aktivitesinden dolayı etkili bir antioksidandır [Del Río vd., 2004]. Hesperidin kimyasal yapısı Şekil 2.2’de görülmektedir [Abeysinghe vd., 2007].



Şekil 2.2. Hesperidin kimyasal yapısı

İzoflavonlar, flavonların izomeri olup, kimyasal yapıları C-4 ve C-7 karbon atomlarındaki hidroksil gruplarının pozisyonları nedeniyle östrojenlere benzerlik göstermektedir. Flavonlar çok sayıda bitki ve bitki-türevli gıdalarda hem doğal “aglikon” formunda hem de asetil-, malonil-, β -glikozit formlarda bulunmaktadır. Sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle damar tıkanıklığı ve kanser gibi yaygın

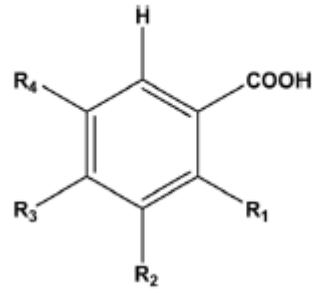
hastalıkların tedavisinde ve önlenmesinde kullanılmaktadırlar. Bazı fizyolojik özellikleri yapılarının β -östradiollere benzerliği ile ilişkilendirilmekte ve genellikle “fitoöstrojen” olarak tanımlanmaktadır [Ignat vd., 2011]. İzoflavonlar yaygın olarak baklagillerde, özellikle soya fasulyesinde ve soya ürünlerinde oldukça fazla miktarda bulunmaktadır. En önemli temsilcileri genistein ve daidzein olarak bilinmektedir [Erlund, 2004].

Antosiyanidinler pH'a bağlı olarak kırmızı, mor veya mavi görünümlü suda çözünebilen pigmentlerdir. Antosiyaninler yaprak, kök, gövde, çiçekler ve meyveler olmak üzere tüm bitki dokularında bulunmaktadır [Ignat vd., 2011]. Antosiyaninler başlıca erik, elma, patlıcan, çilek ve birçok üzüm çeşidinde bulunmaktadır [Peterson ve Dwyer, 1998]. Antosiyanidinler (şeker olmayan, aglikon) antosiyaninlerin temel yapısıdır. Antosiyanidinler oksijen içeren heterosiklik C halkasına bağlı ve karbon-karbon köprüsü ile üçüncü bir aromatik B halkasına bağlı aromatik bir A halkasından oluşur. Antosiyanidinler glikozit formda (bir şeker grubuna bağlanmış) bulduklarında antosiyanin olarak tanımlanmaktadır. Bitkilerde en sık pelargonidin, siyanidin, peonidin, delfinidin, petunidin ve malvidin olmak üzere altı adet antosiyanidine rastlanmaktadır [Ignat vd., 2011].

2.1.2. Fenolik Asitler

Fenolik asitler, bitkilerde bağlı veya serbest halde bulunan besinsel fenollerin yaklaşık üçte birini oluşturmaktadır. Bağlı fenolik asitler çeşitli bitki bileşenlerine ester, eter ya da asetal köprüleri aracılığı ile bağlantılı olabilirler. Fenolik asitlerin farklı formları, farklı ekstraksiyon koşullarına ve bozunma hassasiyetine karşı değişen şartlara neden olmaktadır. Fenolik asitler, hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler olmak üzere iki ana alt gruptan oluşmaktadır. Hidroksi benzoik asitler yapılarındaki hidroksi ve metoksi gruplarının yerleşimi ve sayılarına göre çeşitlenirler [Ignat vd., 2011].

Hidroksibenzoik asitlerin önemli temsilcileri genellikle $C_6 - C_3$ yapısına sahip; gallik asit, p-hidroksibenzoik asit, protokateşuik asit, vanilik ve şiringik asittir [Ignat vd., 2011]. Şekil 2.3'de hidroksibenzoik asitlerin kimyasal yapıları verilmiştir [Kökyar, 2012].

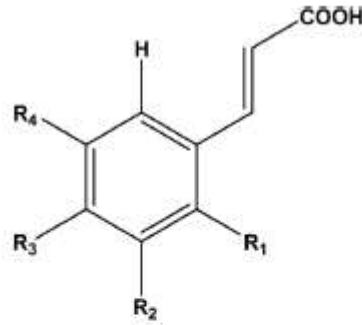


Hidroksibenzoik asitler

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Gallik asit	H	OH	OH	OH
Protokateşuik asit	H	OH	OH	H
Vanilik asit	H	OCH ₃	OH	H

Şekil 2.3. Hidroksibenzoik asitlerin kimyasal yapıları

Hidrosinamik asitler, üç karbon yan zincirli (C₆ – C₃) aromatik bileşiklerdir. En önemli temsilcileri kafeik, ferulik, p-kumarik ve sinapik asitlerdir [Ignat vd., 2011]. Şekil 2.4'te hidroksisinnamik asitlerin kimyasal yapısı görülmektedir [Kökyar, 2012].



Hidroksisinnamik asitler

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
p-Kumarik asit	H	H	OH	H
Kafeik asit	H	OH	OH	H
Ferulik asit	H	OCH ₃	OH	H
Sinapik asit	H	OCH ₃	OH	OCH ₃

Şekil 2.4. Hidroksisinnamik asitlerin kimyasal yapıları

2.2. GIDA ENDÜSTRİSİ ATIKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

Son 10 yılda gıda atıklarının oluşumu çok ciddi birer sosyal, ekonomik ve çevresel problem olarak nitelendirilmektedir. Gıda ürünlerinin bozulması, yalnızca çevresel zararları hafifletmek için değil, aynı zamanda küresel gıda güvenliğini geliştirmek ve gıda zincirlerindeki kaynakların kullanımını açısından da kaçırılmış bir fırsat olarak gösterilmektedir. Tarım ve hayvancılık, hasat sonrası ambalajlama, depolama, işleme, dağıtım ve tüketim aktiviteleri gıda tedarik zinciri boyunca atık oluşumuna neden olmaktadır. Gıda ve Tarım Örgütü'nün (Food and Agriculture Organization, FAO) 2014 verilerine göre dünyada insan tüketimi için üretilen tüm gıda maddelerinin yaklaşık üçte biri atık olarak kaybolmakta ve bu değer yılda yaklaşık 1.6 milyon tona ulaşmış durumdadır. Bu değer % 54'lük dilimi üretim, ambalajlama ve depolama sürecinde ve diğer % 46'luk payı ise işleme, dağıtım ve tüketim gibi endüstriye giriş işlemleri sonrasındaki adımlarda gerçekleşmektedir. Kütle bazında yaklaşık % 30 tahıl, % 40 – 50 hasat kökü, meyve ve sebzeler, % 20 yağlı tohumlar, et ve tavuk ürünleri ve % 35 balık atık olarak kaybolmaktadır [Viganó vd., 2015].

Sıvı, katı ve gaz kalıntılarında oluşan bu atıklar, yeryüzünde bulunan en bol, ucuz ve yenilenebilir kaynaklardır. Bu atıkların çoğu kirlilik problemlerine neden olabilmekte ve uygun şekilde bertaraf edilmediklerinde çevresel açıdan risk teşkil etmektedirler. Gıda atıklarının çürüme süreci metan gibi sera etkisi yaratan gazların ve yer altı sularını, içme suyu kaynaklarını ve toprağı kirleten sıvıların (çamur) oluşumuna neden olmaktadır. Gıda endüstrisinde fosil yakıtların kullanımından kaynaklanan ve atmosfere salınan gazlar; sera etkisi, ozon tabakasında incelme ve asit yağmurları gibi problemlere yol açmanın yanı sıra hava kalitesini düşürmekte ve özellikle solunumla ilgili sağlık problemlerine yol açmaktadır [Viganó vd., 2015].

Atıkların tekrar kullanımının faydaları sadece çevresel amaçlı değildir. Endüstriyel gıda atıklarının etkin kullanımını amaçlayan tekniklerin uygulamaları, ekonomik değeri düşük veya hiç olmayan bu metaryallere değer katabilme potansiyeline sahiptir. Bu nedenle gıda atıklarının değerlendirilmesi son yıllarda özel ilgi görmektedir. Atıkların gıda ingrediyesi ve ilaç bileşeni olarak dönüştürülmesine

yönelik çalışmalar sürdürülmektedir. İlave olarak literatürde gıda atıklarının polifenoller, yağ asitleri ve karotenoitler gibi, antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, antiviral ve nöro sedatif aktivite gösteren sağlığa yararlı, yüksek besin değerine sahip birçok önemli bileşiğin kaynağı olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur. Ayrıca gıda atıklarının biyoetanol, biyodizel ve hidrojen gibi yakıt üretiminde de kullanımını rapor eden çalışmalar bulunmaktadır [Viganó vd., 2015].

Meyve ve sebzelerin endüstriyel işleme süreci, meyve suyu (taze ve konsantre), püre, dondurulmuş pulp (meyve özü), mayalanmış içecekler, jeller, şekerler, dondurma gibi birçok ürünün üretimini kapsamaktadır. Taze bir meyvenin işlendikten sonra tüm ağırlığının % 30 – 40'ı (w/w yaş bazda) geriye atık olarak çıkmaktadır. Atıkların türü uygulanan sürece ve meyvenin türüne bağlı olmakla beraber genellikle kabuk, çekirdek ve posadan oluşmaktadır. Meyve atıklarındaki ticari değeri olan bileşiklerin geri kazanımına yönelik birçok çalışma yürütülmesine rağmen hayvan yemi ve gübre olarak kullanımları günümüzde hala yaygındır [Viganó vd., 2015].

Meyve ve sebze atıklarının kimyasal bileşimi atıklardan daha iyi bir şekilde yararlanıma imkân vermektedir. Bu atıklar mineraller, vitaminler, şekerler, aromatik bileşikler, karotenoitler, fenolik bileşikler ve lifler gibi değerli bileşiklerin kaynağıdır. Bu bileşiklerin birçoğu çevresel olumsuzluklara karşı bitkilerin kendilerini korumalarında görev almaları için bitki sekonder metabolizmasında sentezlenmektedir ve insan beslenmesinde; antioksidan, antikanser, antiinflamatuvar, antiviral ve nöro sedatif aktivitelerden sorumlu biyoaktif bileşikler olarak tanımlanmaktadır [Viganó vd., 2015].

Biyoaktif bileşikler arasında polifenoller diğer adıyla fenolik bileşikler ve karotenoitler dünya pazarında önemli yere sahiptir. Polifenollerin 2012 yılında global pazar değeri 200 milyon dolar, karotenoitlerin ise 2010 yılında 1.07 milyon dolar olarak belirlemiş ve 2015 yılında 1.2 milyon dolara ulaşmasının beklendiği belirtilmiştir [Wijngaard vd., 2012].

Biyoaktif bileşiklerin geri kazanımı, geniş çapta yeni ticari ürünlerle birlikte ikincil süreçlerde, geleneksel olarak kullanılan ingrediyenlerin yerini alacak ya da

yeni ürünlerde kullanılacak ham metaryallerin eldesini sağlayacaktır [Viganó vd., 2015].

Biyoaktif bileşiklerden karotenoidler, gıda endüstrisinde yaygın biçimde kullanılan doğal renk maddeleridir. Karotenoidlerin bir alt grubundan olan β -karoten; meyve, sebze ve deniz ürünleri gibi doğal kaynaklardan elde edilebilmekte ve asetilenden ucuz bir şekilde sentetik olarak da üretilebilmektedir. Ancak doğal ürünlerin tüketimine karşı artan yoğun tüketici ilgisi ve bilinci toksik etkileri bilinen sentetik renklendirici ve katkı maddelerinin yerine antioksidatif, antioksidan, anti-inflamatuvar, antikanserojen ve antibakteriyel özellikleri olan bileşiklerin ekstraksiyonu yönündeki çalışmaları hızlandırmıştır. β -karotenin, yüksek provitamin-A içeriği, renklendirme özelliği (sarı, turuncu, kırmızı) ve antioksidatif özellikleri sebebiyle özellikle cilt, karaciğer ve bazı kanser türlerini önlediği, kalp krizi riskini azalttığı ve ülser inhibitörü olduğu belirtilmiştir [Şanal vd., 2004].

Şanal ve arkadaşları, meyve suyu üretim sürecinde atık olarak ele geçen kayısı posasından, β -karotenin SC-CO₂ ile ekstrakte edilerek değerlendirme koşullarının belirlenmesini amaçlamışlar ve posanın nem içeriği, kurutma metodu, tanecik büyüklüğü, işletme sıcaklık ve basıncı, CO₂ akış hızı, ekstraksiyon hücresi geometrisi, örnek miktarı, ve 2,2-dimethoxypropane (DMP) eklenmesinin verime etkisi incelenmiştir. Vakum etüv ve liyofilizatörde kurutulan örnekler klasik çözücü ekstraksiyonu ve SC-CO₂ ekstraksiyon yöntemlerine tabi tutulmuştur. SC-CO₂ ekstraksiyon deneyleri tanecik büyüklüğü 75 – 600 μ m aralığında olan dondurularak kurutulmuş örneklere uygulanmış, 313 – 333 K sıcaklık ve 30.4 – 50.7 MPa basınç koşullarının ekstraksiyon verimine etkisi araştırılmıştır. SC-CO₂ ekstraksiyon deneyleri sonucunda en yüksek ekstraksiyon verimi (88 μ g/g kuru posa), 1 g posadan 90 min işletim süresi sonunda 40.5 MPa basınç, 328 K sıcaklık, 1 mL/min CO₂ akış hızında, posaya 4 mL 2,2-dimethoxypropane (DMP) eklenerek elde edilmiştir. Sonuçlar klasik çözücü ekstraksiyonu ile kıyaslandığında SC-CO₂ ekstraksiyonu ile klasik ekstraksiyona göre iki kat daha kısa sürede, daha az miktarda toksik olmayan çözücü kullanılarak 31 kat daha az maliyetle β -karoten elde edilebileceği vurgulanmıştır [Şanal vd., 2004].

Elma, dünyada yıllık üretimi 2011 yılı itibariyle 76.1 milyon tona ulaşan bir meyvedir. Son tahminlere göre yıllık üretilen elma miktarının % 70 – 75'i taze olarak tüketilirken yaklaşık sadece % 25 – 30'u değer katılmış ürünlere dönüştürülmektedir. Bu değer % 65'i meyve suyu üretimini karşılarken, geri kalan miktar elma şarabı, püre, reçel ve kullanıma hazır elma ürünlerine işlenmektedir. Elmanın % 75'i yenilebilir etli kısımdan oluşmasına rağmen meyve suyuna işlendikten sonra geride kalan posanın % 95'i kabuk ve % 2 – 4'ü çekirdeklerden, % 1'i saptan oluşmaktadır. Dünyada yıllık atık olarak ortaya çıkan elma posası 3,600,000 tonu aşmış durumdadır. Şimdiye kadar, elma posası yüksek su içeriği nedeniyle (> % 70) ve ıslak atık metaryalin mikrobiyal bozunma ihtimalinin oldukça yüksek olmasından dolayı hayvan yemi olarak kullanılmıştır. Endüstriyel açıdan pahalı bir kurutma gerektirmesine rağmen elma posası değerli ve ucuz bir pektin ve polifenol kaynağı olmanın yanı sıra malik asit, sakkaritler (fruktoz, glukoz, sorbitol) ve çekirdekten elde edilen; doymamış yağ asitleri, karotenoitler, tokoferoller ve sarı pigmentler gibi ticari değeri yüksek bileşiklerin ham maddesi olma görevini de üstlenebilmektedir [Kammerer vd., 2014].

Wang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada turunçgil kabuklarından ve elma posasından subkritik su ekstraksiyonu ile pektin eldesi çalışılmıştır. Ekstraksiyon işleminde herhangi bir asit ya da alkali eklenmeden elde edilen pektinin; fizikokimyasal, reolojik, jelleşme özellikleri ve antioksidan aktiviteleri araştırılmış ve ekstraksiyon sıcaklığının bu özelliklere etkisi incelenmiştir. Turunçgil kabuğu ve elma posasından ekstrakte edilen maksimum pektin verimi sırasıyla % 21.95 ve % 16.68 olarak belirlenmiştir. FTIR spektrumlarında belirgin farklılıklar gözlenmezken, DSC analizleri pektinin endotermik özelliklerinin ekstraksiyon sıcaklığından etkilenirken, ekzotermik özelliklerinin, kendi yapısından ve ham metaryalden etkilendiğini göstermiştir. Ayrıca turunçgil kabuk ve elma posasından üretilen pektin DPPH radikalinin % 60'ından fazlasını ve % 80 ABTS radikalini in vitro koşullarda indirgemiş ve oldukça yüksek olmak üzere, sırasıyla % 76.4 ve % 45.23, HT-29 (kolon kanseri hücresi) üreme inhibisyon oranı göstermiştir [Wang vd., 2014].

Üzüm dünya çapında yıllık üretimi portakal üretimine yaklaşan ve 2011 verilerine göre yaklaşık 69 milyon ton olan önemli bir meyvedir. Üretilen üzümün yaklaşık % 80'i şarap endüstrisinde kullanılmakta geri kalan büyük bir kısmı ise posa olarak çıkmaktadır ve bunun yılda 10 milyon tonu aştığı bildirilmektedir. Üzüm posası etanol, tartarat, malat, sitrit asit, üzüm çekirdeği yağı, hidrokolloid ve besinsel lif gibi çok geniş çapta ticari değeri yüksek ürünün geri kazanım potansiyeli sunmaktayken son 10 yılda fenolik bileşiklerin önemli bir kaynağı olarak da ön plana çıkmaktadır. Kırmızı üzüm posaları doğal gıda pigmentlerinden antosiyanin kaynağı, üzüm çekirdekleri ise yüksek içerikli sofralık yağ eldesi için endüstriyel kullanım alanı bulmaktadır [Kammerer vd., 2014].

Farías-Campomanes ve arkadaşları, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile üzüm posasından fenolik bileşiklerin geri kazanımında büyük ölçekli işletimin gerçekleştirilmesi için gerekli ekonomik fizibilitenin belirlenmesinin amaçlandığı çalışmada, çözücü olarak % 10 (w/w) etanol içeren SC-CO₂ kullanarak, 313 K ve 20 – 35 MPa basınç koşullarında deneysel çalışmalar yürütmüşlerdir. SC-CO₂/etanol ekstraksiyon süreci ile klasik ekstraksiyon metodlarından daha yüksek derişimde fenolik ekstraktlar elde etmişlerdir. Ekstrakte edilen bileşiklerin nitel analizi ince-tabaka kromatografisi (TLC) ve HPLC analizleriyle aydınlatılmış ve ekstrakt bileşiminde; sirinjik, vanilik, gallik, p-hidroksibenzoik, protokateşüik, p-kumarik asitler ve kuersetin belirlenmiştir. Sürecin ekonomik değerlendirmesi, hedeflenen fenolik madde derişiminin yaklaşık 23 g/kg ekstrakt üretimi olduğu, 0.5 m³ kapasiteli endüstriyel bir SFE tesisinin, üretim maliyetinin 133.16 \$/kg olacağını göstermiştir [Farías-Campomanes vd., 2013].

Türkiye ve Rusya başta olmak üzere dünyanın pek çok yerinde yetiştirilmekte ve FAO, 2012 verilerine göre dünya'da üretimi yılda yaklaşık 1.2 milyon tona ulaşan vişnenin % 99'u meyve suyu, reçel veya konserve vişne gibi ürünlere işlenerek tüketilmektedir. Vişnenin bu ürünlere işlenmesi sırasında büyük oranda vişne çekirdeği atık materyal olarak ortaya çıkmaktadır [Yılmaz ve Gökmen, 2013].

Yılmaz ve Gökmen (2013) tarafından yürütülen çalışmada, vişne çekirdeklerinin kimyasal kompozisyonu incelenmiş ve yağ, protein ve besinsel lif kaynağı olarak gıda endüstrisinde potansiyel olarak değerlendirilebilir bir yan ürün olabileceği vurgulanmıştır. Geleneksel hekzan ekstraksiyonu ve SC-CO₂ ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen vişne çekirdeklerinin % 17.0 yağ, % 29.3 protein ve % 30.3 besinsel liften oluştuğu belirtilmiştir. Vişne çekirdeğinin palmitik asit (% 6.4), stearik asit (% 1.2), oleik asit (% 46.3), linoleik asit (% 41.5) ve linolenik asit (% 4.6) içerdiği bulunmuştur. Çalışmada kullanılan ekstraksiyon tekniğinin vişne çekirdeği yağ asidi bileşimine önemli derecede etkisinin olmadığı belirtilmiştir. Çözücü olarak hekzan kullanıldığı ekstraksiyon sürecinde ekstrakte edilen toplam tokoferol ve beta karoten miktarının, SC-CO₂ ekstraksiyon sistemiyle geri kazanılandan fazla olduğu belirlenmiştir. Her iki ekstraksiyon tekniğinde de etanolün yardımcı çözücü olarak kullanılması ile ekstrakte edilen ürünün toplam fenolik madde, antioksidan kapasitesinde ve beta karoten miktarında artış olduğu belirtilmiştir [Yılmaz ve Gökmen, 2013].

Benzer şekilde ayçiçeği sofralık yağ üretimi için yıllık olarak yetiştirilen en önemli dört bitkiden biri olup, 2012 yılı verilerine göre yıllık global üretimi 37.4 milyon ton olarak belirlenmiştir. Ayçiçeğinden mekanik pres yöntemiyle ve hekzan ekstraksiyonu ile yağ eldesinden sonra geriye kalan kekten elde edilen ayçiçeği küspesi şimdiye dek en çok hayvan yemi olarak kullanılmıştır. Ancak bu küspenin % 4'lük bir kısmının polifenol olduğu belirlenmiştir [Kammere vd., 2014].

2.2.1. Turunçgil Atıkları Oluşumu ve Değerlendirilmesi

Turunçgiller, Rutaceae (Sedef otugiller) familyasının Citrus cinsine ait portakal, limon, mandalina, greyluft, turunç, bergamot gibi tanınmış türlerden oluşan ve tazeleyici hoş kokuları, susuzluk giderme etkileri ve günlük alınması gereken C vitamini gereksinimini karşılamalarıyla bilinen meyvelerdir [Ledesma- Escobar ve Luque de Castro, 2014].

Ülkemizde yetiştirilen bazı turunçgil türleri ve bu türlerin Latince isimleri Çizelge 2.1'de verilmiştir [Gök, 2012].

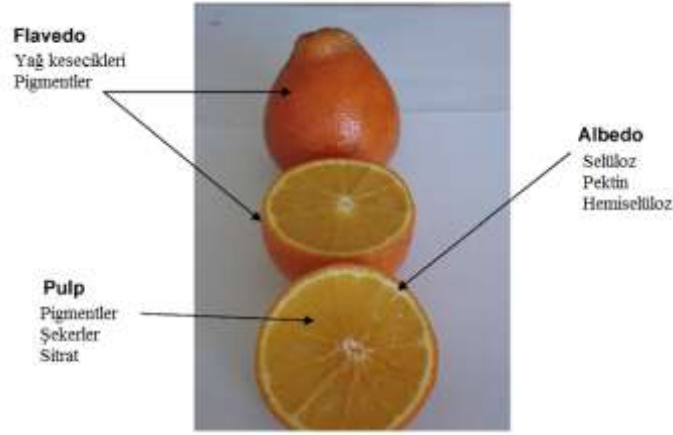
Çizelge 2.1. Turunçgil Türlerinin Latince İsimleri

Portakal	<i>C. sinensis</i>
Limon	<i>C.limon</i>
Lime (Misket limonu)	<i>C. aurantifolia</i>
Mandalina	<i>C. reticulata</i>
Greyfurt	<i>C. paradisi</i>
Turunç	<i>C. aurantium</i>
Bergamot	<i>C. bergamia</i>
Şadok (Pomelo)	<i>C. maxima</i>
Ağaç kavunu	<i>C. medica</i>
Kamkat	<i>C. fortunella</i>

Turunçgiller, dünyada yıllık üretimi yaklaşık 131 milyon tona ulaşmış, en önemli temsilcileri portakal (68 milyon ton), limon (15 milyon ton), mandalina (27 milyon ton) ve greyfurt (8 milyon ton) olan dünyada en bol yetiştirilen meyve ağaçlarıdır. Bu meyveler taze pazarda ve gıda endüstrisinde yüksek ticari değer taşımaktadır [Ledesma- Escobar ve Luque de Castro, 2014, Erişim, 2015 (b)].

Turunçgiller; askorbik asit, karotenoidler (likopen ve β -karoten), limonoidler, flavanonlar (naringin ve rutinoidler), B vitamini kompleksi ve fonksiyonel gıdalar olarak anahtar rol oynayan ilgili besin elementlerini (tiamin, riboflavin, nikotinik asit/niasin, pantotenik asit, piridoksin, folik asit, biotin) içermeleri nedeniyle insan beslenmesinde önemli bir yere sahiptir [Ledesma-Escobar ve Luque de Castro, 2014].

Bir turunçgilin anatomisi Şekil 2.5’de ve portakal meyvesinin kesiti Şekil 2.6’da gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Turunçgilin anatomisi [Ramful vd., 2010].

Turunçgil kabukları, flavedo (epikarp) ve albedo (mezokarp) denen iki katmandan oluşmaktadır [Ramful vd., 2010]. Flavedo, kloroplast ya da kromoplast gibi pigmentlerce zengin olan bir çeşit parankima dokusudur. Yeşil, sarı ya da turuncu renkli, aralarında ortalama büyüklüğü 10 ile 100 µm arasında değişen yağ bezeleri bulunan bir yapıdır. Eğer kabuk yüksek basınç uygulanarak sıkıştırılır, bir darbe etkisinde kalır veya yüzeye iğne gibi bir cisim sokulursa, hücrelerin basınç altında tuttuğu yağ damlacıkları turgor basıncını yenerek hücre dışına çıkar. Flavedo katmanının en dışında; yani, meyvenin yüzeyinde epidermisi; yağmura, su kaybına ve mantar enfeksiyonlarına karşı koruyarak doğal bir bariyer görevi gören ince bir mum filmi bulunur. Flavedonun hemen altında; adeta devamı şeklinde, beyaz renkte, kalın bir katman olan albedo ise daha iri hücrelerden oluşmaktadır. Burada besin maddeleri ve suyu taşıyan damarlar yer almaktadır. Endocarp (pulp, meyve özü) ise radyal olarak yerleştirilmiş çok ince duvarlarla çevrili dilimlerden (segmentlerden) oluşan meyvenin yenilebilir kısmıdır. Dilimler parankim hücrelerinin yan yana gelmesiyle, içinde meyve suyu bulunan keseciklerden oluşan bir yapı göstermektedir. Dilim içinde üst üste yığılı meyve suyu keseciklerini, yüksek molekül kütleli metaryalden oluşmuş bir dilim zarı sarar. Dilimlerin etrafında dizildiği eksenin ortasına gelen bölgede dilimler içerisinde turunçgil çeşidine bağlı olarak çekirdekler veya çekirdek izleri bulunur. Meyve olgunlaştıkça yine çeşide bağlı olarak meyve eti ile kabuğun sıkı bağlantısı pektolitik enzimlerin etkisi ile gevşer [Kökyar 2012, Gök 2012].



Şekil 2.6. Portakal meyvesinin kesiti

FAO verilerine göre, 2012 yılı itibariyle türlere göre turunçgil üretimi dünyada yaklaşık 9 milyon hektar alanda 131 milyon ton olup, toplam üretimin % 52'sini portakal % 12'sini limon, % 21'ini mandalina ve % 6'sını greyluft oluşturmaktadır [Erişim, 2015 (b)].

Turunçgil yetiştiriciliği dünyada 40° kuzey enlemleri ile 40° güney enlemi arasında yapılmaktadır. Türkiye 36°- 42° kuzey enlemleri arasında yer aldığından turunçgil yetiştirilebilmesi bakımından en üst kuzey sınırında yer aldığı söylenebilir. Bu nedenle Türkiye'nin kuzeyindeki ülkeler turunçgil yetiştiriciliği için elverişli koşullara sahip değildir [Boyanay, 2013].

Dünya turunçgil üretiminde 2012 FAO verilerine dayanarak; Çin, Brezilya ve ABD ilk üç sırada olup, Türkiye 104 bin hektar alanda 3,6 milyon ton üretimiyle 9. sırada yer almaktadır.

Türkiye'de yıllara göre turunçgil üretimi Çizelge 2.2'te verilmiştir. Çizelgeden görüldüğü gibi ülkemizde turunçgil üretimi son 25 yılda % 150 oranında artmıştır.

Çizelge 2.2. Türkiye’de yıllara göre turunçgil üretimi (Bin ton)

Yıllar	Toplam	Portakal	Mandalina	Limon	Greyfurt	Turunç
1990	1,474	735	345	357	33	4
1995	1,782	842	453	418	65	4
2000	2,222	1,070	560	460	130	2
2005	2,913	1,445	715	600	150	3
2006	3,220	1,536	791	710	180	3
2007	2,989	1,427	744	652	163	3
2008	3,027	1,427	756	672	168	3
2009	3,514	1,690	846	784	191	3
2010	3,572	1,711	859	787	214	2
2011	3,614	1,730	872	790	219	2
2012	3,475	1,661	875	710	227	2
2013	3,681	1,781	942	726	229	3
2014*	3,787	1,774	1,056	725	229	2

Kaynak: TÜİK

Türkiye’de 2013 yılı itibariyle en fazla portakal üretilmekte (% 48.4), onu mandalina (% 25.6), limon (% 19.7) ve greyfurt (% 6.2) izlemektedir (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Türkiye’de türlere göre turunçgil üretimi (2013)

Türler	Alan		Üretim	
	Hektar	Payı (%)	Ton	Payı (%)
Portakal	54,759	43.0	1,781,258	48.4
Mandalina	38,692	30.4	942,226	25.6
Limon	27,425	21.5	726,283	19.7
Greyfurt	6,420	5.0	228,799	6.2
Diğer	47	0.0	2,592	0.1
Toplam	127,343	100.0	3,681.158	100.0

Kaynak: TÜİK

Turunçgil işleme endüstrisi, narenciye meyvelerinin besinsel değeri ve kendilerine özgü tatları bakımından çokça tüketilmelerinden ötürü, uzun yıllar boyunca meyve suyu ve esansiyel yağ üretimine odaklanmıştır. Dünyada üretilen turunçgilin % 33’ünün meyve suyu üretiminde kullanıldığı bilinmektedir. Turunçgil kabukları meyvenin toplam ağırlığının % 50 – 60’ına tekabül eden primer atık olarak ortaya çıkmakta ve çok büyük bir kirlilik kaynağı haline dönüşmektedir. Turunçgil veya narenciye atığı olarak adlandırılan bu katı atığın, dünya çapında yılda yıllık 15 milyon ton olduğu hesaplanmıştır. Bu nedenle, bu kalıntıya gerekli şekilde atık

yönetiminin uygulanması turunçgil endüstrisi için sürekli bir sorundur [Ledesma-Escobar ve Luque de Castro, 2014].

Bu ciddi kirlilik problemini önlemek amacıyla, hala potansiyel ekonomik değeri olan yan ürünlerin kimyasal bileşimi ve belirlenen bileşiklerin faydalı, değer katılmış ürünlere dönüştürülmesine ilişkin çok sayıda çalışma geliştirilmektedir [Ledesma- Escobar ve Luque de Castro, 2014].

Son zamanlarda turunçgillerin, beslenme ve sağlığa yararları ya da hastalık riskini azaltmaları ile ilişkileri hakkında daha derin bilgi edinmek amacıyla farklı kısımlarında bulunan biyoaktif bileşiklerin ekstrakte edilmesi ve belirlenmesi yönünde çalışmalara ağırlık verilmektedir. Turunçgil kabuklarında bulunan şekerler, pektin, karotenoitler, flavonoidler, C vitamini, folik asit ve esansiyel yağlar gibi doğal ürünler gıda endüstrisinde ve insan sağlığının korunmasında oldukça yararlı olarak gösterilmektedir [Abad-García vd., 2012, Ledesma- Escobar ve Luque de Castro, 2014].

Bu yöndeki araştırmalarda fenolik bileşiklere ve daha özel olarak flavonoidlere, birçok epidemiyolojik ve tedavi çalışmalarının, bu bileşiklerin tüketilmesinin farklı türlerdeki kanser ve kardiyovasküler hastalık riskini azalttığı; bu nedenle antioksidan, anti-inflamatuvar ve radikal söndürücü aktiviteye sahip olduklarını göstermesinden dolayı özel ilgi gösterilmektedir [Gorinstein vd., 2001, Ledesma- Escobar ve Luque de Castro, 2014].

Turunçgil kabuklarında bulunan pektin, gıda endüstrisinde reçel ve jölelerin hazırlanmasında kıvamlaştırma ve jelleştirme ajanı olarak kullanılmakta ve aynı zamanda ilaç endüstrisinde anti-diyare ve detoksifiye ilaçların hazırlanmasında katkı maddesi olarak görev almaktadır. Pektin, son zamanlarda kontrollü ilaç salımı potansiyel uygulamalarındaki süspansiyonların hazırlanmasında da kullanılmaya başlanmıştır [Masmoudi vd., 2008, Ledesma- Escobar ve Luque de Castro, 2014].

2.2.1.1. Meyve Suyu Endüstrisi Atığı: Portakal ve Limon Posası

Portakal Latince ismiyle *Citrus Sinensis L. Osbeck* olarak bilinen, güzel kokulu turunçgiller sınıfından bir meyvedir. Anavatanı Çin olan portakal, daha sonra başta İspanya ve tüm Akdeniz ülkeleri ile Güney Afrika ve Amerika gibi sıcak bölgelerde üretilmeye başlanmıştır [Erişim, 2008 (a)]. Portakalın bir tür olmayıp şadok ile mandalınanın hibriti olduğu yönünde bir düşünce vardır [Erişim, 2015 (c)].

Limon ise yine (*Citrus limon (L.) Burm. f.*) Latince ismiyle bilinen, ılıman iklimin hakim olduğu tüm ülkelerde çeşitli türleri yetiştirilen, ağaçları küçük olan ve yaprak dökmeyen turunçgil sınıfından bir meyvedir. Limonun Anavatanı Hindistan'ın kuzeyi ve Çin'in güneyidir. Asitlik derecesi yüksek Akdeniz tipi limon ise M.Ö. 3000'li yıllarda bugünkü Irak sınırları içerisinde yetişmiştir [Erişim, 2008 (b)]. Limonun turunç (*Citrus aurantium*) ve ağaç kavunu (*Citrus medica*) hibriti olduğu kabul edilmektedir [Erişim, 2015 (d)].

Daha önce belirtildiği gibi, Türkiye'de ve dünyada portakal ve limon üretimi oldukça yüksektir. Portakal ve limonun taze olarak tüketiminin yanı sıra meyve suyu üretimi esnasında kabuğuyla birlikte çok fazla miktarı posa haline dönüştürülmektedir. Portakal ve limon dahil olmak üzere turunçgil posaları kuru bazda % 60 – 65 kabuk, % 30 – 35 dilim, dilim zar, meyve suyu kesecikleri ve eksen parçalarından oluşmakta ve % 0 – 10 çekirdekten oluşmaktadır. [Pascual ve Carmona, 1980].

Portakal ve limon, özellikle flavanoidler başta olmak üzere fenolik bileşikler, besinsel ve besinsel olmayan; vitaminler, mineraller, besinsel lif, esansiyel yağlar ve karotenoidler bakımından zengin birçok önemli doğal kimyasal bileşikler içerir. Çizelge 2.4'te limonun, Çizelge 2.5'te portakalın temel besinsel içeriği ve diğer bileşenlerin derişimi verilmiştir.

Çizelge 2.4. Limonun temel besin içeriği [González-Molina vd., 2010].

Temel bileşenler	g/100g
Enerji	29 kcal
Karbonhidrat	6.52
Protein	1.1
Doymuş yağ	0.039
Sitrik asit	5 – 6 g/ml
Toplam yağ	0.3
Besinsel lif	2.8
Vitaminler	mg/100g
Vitamin A (retinol)	0.003
Vitamin B ₁ (tiamin)	0.04
Vitamin B ₂ (riboflavin)	0.02
Vitamin B ₃ (niasin)	0.1
Vitamin B ₆ (piridoksin)	0.08
Vitamin B ₉ (folik asit)	53
Vitamin C (askorbik asit)	0.0106
Mineraller	mg/100g
Kalsiyum	26
Demir	0.6
Bakır	iz miktarda
Magnezyum	8
Fosfor	16
Potasyum	138
Selenyum	iz miktarda
Sodyum	2
Çinko	0.06

Çizelge 2.5. Portakalın temel besin içeriği [Erişim, 2015 (c)].

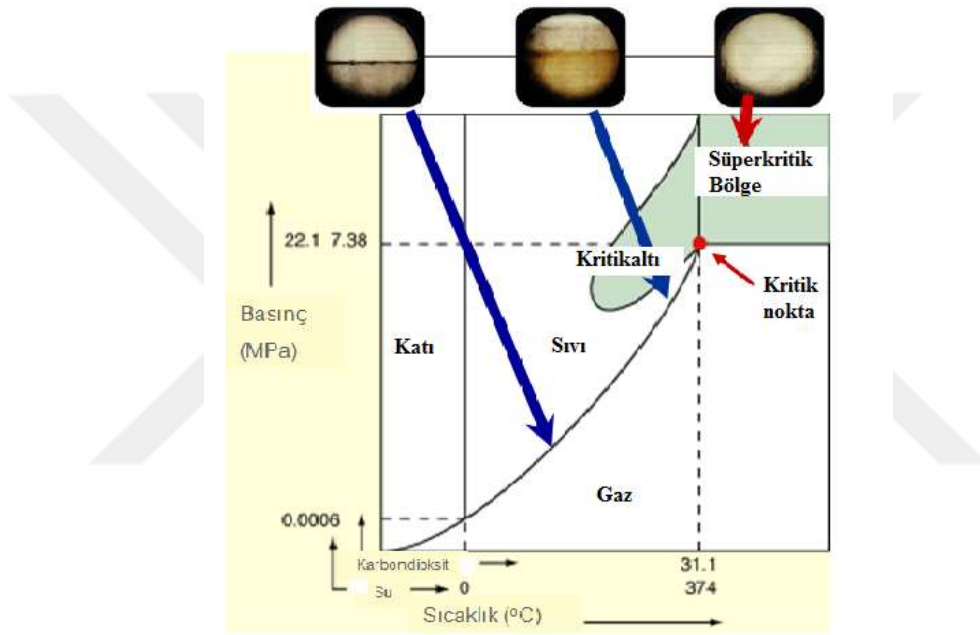
Temel bileşenler	g/100g
Enerji	46 kcal
Karbonhidrat	11.54
Protein	0.7
Yağ	0.21
Besinsel lif	2.4
Vitaminler	mg/100g
Vitamin B ₁ (tiamin)	0.1
Vitamin B ₂ (riboflavin)	0.04
Vitamin B ₃ (niasin)	0.4
Vitamin B ₅ (pantotenik asit)	0.25
Vitamin B ₆ (piridoksin)	0.051
Vitamin B ₉ (folik asit)	17
Vitamin C (askorbik asit)	45
Mineraller	mg/100g
Kalsiyum	43
Demir	0.09
Magnezyum	10
Fosfor	12
Potasyum	169
Çinko	0.08

Portakal ve limonun sağlığa olumlu etkileri içeriklerindeki doğal antioksidan özellikleri nedeniyle C vitamini ve flavonoidlerden kaynaklanmaktadır [González-Molina vd., 2010]. Portakal fenolik madde içeriği açısından değerlendirildiğinde; hesperetin ve naringenin aglikonları ve onların glikozitleri olan hesperidin ve naringine ek olarak narirutin, didimin gibi flavanonları, apigenin ve luteolin gibi flavonları, kamferol, mirisetin ve kuersetin gibi flavonollerini içermektedir [Bhagwat vd., 2014, Erişim, 2015 (a)]. Limon ise; eriositrin, hesperidin, naringin, neohesperidin, neoeriositrin, gibi flavanonları, apigenin, luteolin, diosmetin ve diosmin gibi flavonları; rutin, kuersetin, kamferol, mirisetin gibi flavonollerini yapısında barındırmaktadır. Portakal ve limonun içeriğinde özellikle hidrosisinnamik asitler; ferulik, kafeik, sinapik ve p-kumarik asitin baskın olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle portakal ve limon posalarının fenolik içeriğinin belirlenmesi, sağlık açısından ve çeşitli endüstri kollarında ticari potansiyeli olan yan ürünlerin değerlendirilmesi açısından önem kazanmaktadır [González-Molina vd., 2010, Gorinstein vd., 2001, Wang vd., 2007, Bocco vd., 1998].

2.3. SÜPERKRİTİK AKIŞKAN TEKNOLOJİSİ

2.3.1. Süperkritik Akışkan

Saf bir maddenin sıcaklığı ve basıncı, kendi kritik sıcaklığından (T_c) ve kritik basıncından (P_c) büyük veya eşitse, o madde süperkritik akışkan (SCF), içinde bulunduğu bölge ise süperkritik bölge olarak tanımlanır. Karbondioksit ve su için sıcaklık-basınç faz diyagramı ve karbondioksitin süperkritik oluşum süreci Şekil 2.7’de verilmiştir.



Şekil.2.7. Karbondioksit ve su için sıcaklık-basınç faz diyagramı [Döker, 2007]

Şekilde verilmiş olan diyagramda üçlü nokta adı verilen noktada süblimleşme, erime ve kaynama süreçlerini belirten üç eğri bulunmaktadır. Bu eğriler ayrıca maddenin gaz, sıvı ve katı halde buldukları bölgeleri tanımlamaktadır [Taylor, 1996]. Üçlü nokta ile kritik nokta arasında kalan buhar basıncı (kaynama) eğrisi olup, bu eğri üzerinde madde sıvı ve gaz halde bulunmaktadır [Avşar, 2008]. Buhar basıncı eğrisi üzerinde ileriye doğru hareket edilecek olursa, sıcaklık ve basınç artar. Isıl genleşmeler nedeniyle sıvı fazın yoğunluğu azalırken, basıncın artmasından dolayı gaz fazın yoğunluğu artmaya başlar. Nihayetinde iki fazın yoğunlukları birbirine eşit olur, gaz ve sıvı fazlar arasındaki farklar kaybolur ve eğri bir kritik noktaya gelir [Clifford,1999]. Doygun

sıvı ile doymuş buharın tüm fiziksel özelliklerinin aynı olduğu bu konuma kritik nokta adı verilir. Kritik noktadaki sıcaklık değeri kritik sıcaklık, basınç ise kritik basınç olarak adlandırılır. Bir madde için kritik sıcaklık, basınç ne olursa olsun, bu sıcaklığın yukarısında maddenin sıvı fazda bulunamayacağı sıcaklık; kritik basınç ise o maddenin kritik sıcaklığındaki buhar basıncı olarak tanımlanabilir.

Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan süperkritik akışkanlar kritik basınç ve sıcaklığına getirildiğinde iki fazlı sistemden homojen tek fazlı sisteme geçmektedir. Süperkritik akışkan uygulamalarında sıklıkla kullanılan karbondioksitin süperkritik oluşum süreci Şekil 2.1’de görülmektedir. Kritik noktanın altında, düşük sıcaklıkta, gaz ve sıvı fazlar belirgin olarak ayırt edilmekte ve fazları ayıran menisküs rahatlıkla görülebilmektedir. Sıcaklık ve basıncın artması ile iki faz arasındaki yoğunluk farkı azalmakta ve menisküs çizgisinin belirginliği azalmaktadır. Kritik sıcaklık ve basınç değerlerine ulaşıldığında ise menisküs tamamen kaybolmakta, sıvı ve gaz fazlar ayırt edilememektedir [Clifford, 1999]. Bu noktada karbondioksit süperkritik akışkan formunu almaktadır. Sıcaklık ve basınç azaldıkça tersinir süreç gerçekleşir ve faz ayrımı tekrar gözlenmeye başlanır.

2.3.2. Süperkritik Akışkanların Özellikleri

Herhangi bir süreç tasarım ve geliştirme aşamalarında olduğu gibi süperkritik akışkan ekstraksiyon tekniğini kullanarak ekonomik ve yüksek verimde ayırma yapabilmek için sistemi etkileyen fizikokimyasal özelliklerin bilinmesi gerekir. Süperkritik akışkanların makroskopik görünümü homojen ve tek fazlı bulanık bir sistem olduğu için, kritik noktada gaz ve sıvının yoğunluğu aynı olmasına rağmen süperkritik akışkanlar spesifik bir faz göstermezler, bu durum sıvı fazdan gaz faza sürekli bir değişim olarak ifade edilebilir [Pasquali vd., 2008; Philippot vd., 2014]. Esasında, süperkritik akışkanların fizikokimyasal özellikleri gaz ve sıvı özellikleri arasında yer almaktadır. Çizelge 2.6’da sıvı, gaz ve süperkritik akışkanların taşınım ve fizikokimyasal özellikleri verilmiştir.

Çizelge 2.6. Akışkanların taşınım ve fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması [Brunner, 2005].

Akışkan	Yoğunluk, ρ (kg/m^3)	Difüzyon katsayısı, D_{AB} (m^2/s)	Viskozite, μ (kg/ms)
Gaz P = 1 atm, T = 15 – 30°C	0.6 - 2.0	$(0.1 - 0.4) \times 10^{-4}$	$(0.6 - 2.0) \times 10^{-5}$
Sıvı P = 1 atm, T = 15 – 30°C	600 – 1600	$(0.2 - 2.0) \times 10^{-9}$	$(0.2 - 3.0) \times 10^{-3}$
Süperkritik akışkan P=P _c ; T≈T _C P= 4P _c ; T≈T _C	200 – 500 400 – 900	0.7×10^{-7} 0.2×10^{-7}	$(1 - 3) \times 10^{-5}$ $(3 - 9) \times 10^{-5}$

Süperkritik akışkanların yoğunlukları sıvı özelliklerine benzer olup, viskozite ve difüzyon katsayıları ise gaz ve sıvı özellikleri arasında değişmektedir. Bu karakteristik özelliklerin spesifik kombinasyonu, süperkritik akışkanları birçok uygulama için mükemmel bir çözücü ve ortam haline getirmektedir. Ayrıca süperkritik akışkanlar yüzey gerilimi göstermemekte ve mükemmel ısı transfer özelliklerine sahip olduklarından, çevreye duyarlı ısı transfer akışkanı olarak kullanımlarına çalışılmaktadır [Taberner vd., 2012, Knez vd., 2014]. Süperkritik akışkanların en önemli özelliği yoğunluk, viskozite, difüzyon katsayısı ve yüzey gerilimi gibi fizikokimyasal ve taşınım özelliklerinin basınç ve sıcaklığa oldukça duyarlı olmasıdır. SCF'lerin yüksek çözme gücü yoğunlukları ile ilişkili olduğundan basınç ve sıcaklığın kritik nokta etrafında hafifçe değiştirilmesiyle bir maddenin çözünürlüğü istenilen değere ayarlanabilir. Sabit sıcaklıkta süperkritik akışkanların yoğunlukları basınç artışı ile artarken, sabit basınçta sıcaklık artışı ile azalmaktadır.

Genellikle, sabit basınç altında, sıcaklık arttıkça ekstrakte edilmek istenilen maddenin süperkritik akışkan içindeki çözünürlüğü artmaktadır. Ancak basınçlandırılmış sistemlerde birbirleri ile rekabet eden iki faktör, sıcaklığın etkisini kompleks hale getirmektedir: Sıcaklık arttıkça çözünenin buhar basıncı artmakta ve süperkritik akışkan içindeki çözünürlüğünün artmasına katkıda bulunmaktadır; diğer yandan sıcaklığın artması çözücü yoğunluğunun azalmasına neden olduğundan,

çözünen maddenin SCF içindeki çözünürlüğünü azaltmaktadır. Bu davranış, cross - over etki (retrograde behavior) olarak bilinmekte, gıda ve doğal ürünlerdeki bileşenlerin, farmasötik ve aromatik/poliaromatik bileşenlerin ve petrol kökenli akışkanların yer aldığı farklı süperkritik akışkan teknolojisi platformlarında gözlenmektedir [Machado vd., 2013].

Süperkritik akışkanlar, sıvı çözücülerden daha uygun kütle transferine neden olacak yüksek difüzyon katsayısına, düşük viskoziteye ve yüzey gerilimine sahiptir. Böylece süperkritik akışkanlar difüzyon katsayılarının yüksek ve viskozitelerinin düşük olmasından dolayı normal akışkanlara göre katılara daha hızlı nüfuz edebilmektedir. Düşük viskozite değeri, SFE uygulamalarında yüksek akış hızlarında çalışma olanağı sağlamakla beraber, süperkritik koşullarda gerçekleştirilen ayırma süreçlerinde; sistemdeki basınç düşmesini, kütle aktarım hızını ve kapasitesini etkilemektedir [Çalımlı, 2005]. Yüksek difüzyon katsayısı gözeneklerdeki kütle aktarım dirençlerinin kırılmasına neden olmaktadır. Bunun yanısıra SC-CO₂ düşük yüzey gerilimine sahip olduğundan gözenekli katılara daha iyi nüfuz etmekte ve kütle aktarım hızındaki artış ile ekstraksiyon süresini kısaltarak diğer ekstraksiyon metotlarına göre daha etkili olmakta ve işlemin daha kısa sürede gerçekleşmesini sağlamaktadır [Kayan, 2009].

2.3.3. Süperkritik Akışkan Seçimi

Süperkritik akışkan seçiminde yalnızca ılımlı kritik sıcaklık ve basınç değerleri değil, aynı zamanda güvenlik ve düşük maliyetli işletimin sağlanması en genel geçer kriterlerdir. Bunların yanısıra SFE uygulamalarında sürecin etkinliği ve seçimliliği kullanılan çözücüye oldukça bağlı olduğundan, çözücü seçiminde; akışkanın faz davranışı, çözünürlük, çevreye hassasiyet, yanıcı ve patlayıcı özellik göstermemesi, toksik olmaması, ucuz ve inert olması gibi özelliklerinin de dikkate alınması son derece önemlidir. Çizelge 2.7’de SFE süreçlerinde yaygın olarak kullanılan çözücülerin kritik sıcaklık, basınç ve yoğunluk değerleri verilmiştir.

Çizelge 2.7. Çözücü olarak kullanılan bazı süperkritik akışkanların kritik özellikleri [Akgün, 1999; Gündoğdu 2007]

Çözücü	T _c (K)	P _c (MPa)	ρ _c (kg.m ⁻³)
Metan	190.6	4.60	162
Etilen	282.4	5.03	218
Klortriflor metan	302.0	3.92	579
Karbondioksit	304.2	7.38	468
Etan	305.4	4.88	203
Propilen	365	4.62	233
Propan	369.8	4.24	217
Amonyak	405.6	11.3	235
Dietil eter	467.7	3.64	265
n- Hekzan	507.5	3.01	230
n-Pentan	469.6	3.37	237
Aseton	508.1	4.70	278
Metanol	512.6	8.09	272
Benzen	562.1	4.89	302
Toluen	591.7	4.11	292
Piridin	620.0	5.63	312
Su	647.3	22.0	322

Çizelge 2.7. incelendiğinde bazı süperkritik akışkanların kritik sıcaklık ve basınç değerleri ortam koşullarına daha yakınken bazılarınınkinin de oldukça yüksek olduğu görülmektedir. Yüksek kritik sıcaklık, özellikle gıda ve farmasötik alanlarındaki endüstriyel işlemler sırasında, genellikle ısıya oldukça duyarlı ve ticari açıdan değerli olan doğal maddelerin yapısının bozulmasına neden olmaktadır. Bu nedenle amonyak, dietil eter, n-hekzan, n-pentan, aseton, metanol, benzen, toluen, piridin ve suyun kritik sıcaklığının yüksek olması, bu çözücülerin ısıya duyarlı bileşiklerin ekstraksiyon süreçleri için kullanımlarının uygun olmadığını göstermektedir. Yüksek kritik basınç ise akışkanın süperkritik hale geçmesi için verilmesi gereken enerji miktarını arttırmaktadır.

Etan, etilen ve propan gibi apolar çözücüler büyük kütleli hidrokarbonlar ve hidrokarbon polimerler için alternatif çözücüler olabilmesine rağmen parlayıcı ve toksik özellik göstermeleri, kullanımlarında dezavantaj yaratmaktadır. Doğada saf ve ucuz bulunabilen suyun süperkritik akışkan olarak kullanımı ise yüksek kritik sıcaklık (T_c= 647.3 K) değeri nedeniyle sınırlı olmasıyla beraber doğal korozif etkisi

de kullanımını kısıtlamıştır. Süperkritik koşullardaki su, oksijen gibi gazları çözebildiği için hidrotermal sentezlerde ve zehirli atık suların oksidasyonunda tercih edilmektedir [Yılmaz, 2009]. Ayrıca kimyasal reaksiyonlarda yer alan SCF'lere gün geçtikçe artan ilginin göstergesi olarak, özellikle süperkritik su; atık ve istenmeyen yan ürünlerin gideriminde kullanılmakta ve enerji taşıyıcı bileşikler (bio-yağlar ve hidrojen ve metan gibi sabit gazlar) gibi değer katılmış ürünler oluşturabileceği düşünülmektedir [Knez vd., 2014].

Hekzan gibi organik çözücüler ise özellikle yağ ekstraksiyonda büyük çapta yer tutmasına rağmen son zamanlarda organik çözücü kalıntısı içermeyen doğal ve fonksiyonel ürünlere karşı artan yoğun tüketici ilgisi ve beraberindeki sağlık, güvenlik ve çevre konularındaki endişeler, kullanımlarına yasal kısıtlamalar getirmiştir [Temelli, 2009].

SC-CO₂, ılımlı kritik basınç (7.38 MPa) ve oldukça düşük kritik sıcaklığa (304.2 K) sahip olması nedeniyle şüphesiz en yaygın kullanılan süperkritik akışkandır; ayrıca buharlaşma ısısı küçük olduğundan, özellikle kritik noktaya yakın bölgede düşük enerjiye ihtiyaç duymakta, dolayısıyla T_c ve P_c değerlerine kolaylıkla ulaşılabilir. Çevresel herhangi bir problem yaratmaz, ucuz olup, yanıcı, korozyif ve toksik değildir [Valcárcel ve Tena., 1997; Şahin, 2011]. SC-CO₂ ucuz ve kolaylıkla yüksek saflıkta eldesinin mümkün olması gibi avantajlarının yanı sıra, düşük kritik sıcaklığı nedeniyle buhar distilasyonu ile saflaştırılması mümkün olmayan ve termal bozunmaya yatkın bileşiklerin ekstraksiyon işlemlerinde en sık kullanılan süperkritik akışkandır. Bu nedenle SC-CO₂ yüksek saflıkta ürün eldesinin çok önemli olduğu gıda, boya, farmasötik ve kozmetik endüstrileri için ideal çözücü pozisyonundadır [Vasapollo vd., 2004]. Ekstraksiyon işlemlerinde SC-CO₂ kullanımının getirdiği avantajlar arasında,

- Düşük molekül kütleli hidrokarbon ve oksijenli organik bileşiklerde kolay karışabildiği için iyi bir çözücü olması
- Sudaki çözeltilerden organik maddelerin kolaylıkla ekstrakte edilmesi
- Diğer organik çözücülerle karşılaştırıldığında yüksek uçuculuk özelliği sayesinde, geride kalıntı bırakmadan sistemden kolaylıkla

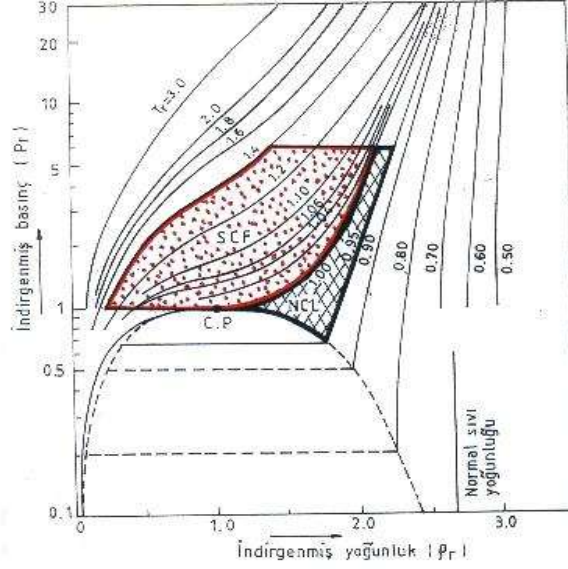
ayrılarak, ekstraksiyon sonunda ek bir ayırma işlemi gerektirmemesi, sisteme yeniden çevrilmesinin kolay olması gibi faz dengesi özellikleri de sıralanabilir [Şahin, 2011].

SFE uygulamalarında gösterdiği üstün özelliklerinin gölgesinde SC-CO₂'nin tek dezavantajı, apolar yapıda olmasından dolayı, özellikle polar bileşenlerin ekstraksiyon uygulamalarında sınırlamalar getirebilmesidir. Bu nedenle 1990'lı yıllarda polar bileşikleri ekstrakte etmek amacıyla polar süperkritik akışkanların kullanılması düşüncesiyle hareket edilmiş, serbest karboksilik asitlerin ve steroidlerin ekstraksiyonunda N₂O, taksol ekstraksiyonunda ise Freon-22 başarılı biçimde kullanılmıştır. Ancak sonraları, bu akışkanların güvenlik ve çevresel endişeleri tetikleyen yöndeki olumsuz özellikleri nedeniyle uygulamaları kısıtlanmıştır. N₂O toksik ve patlama riski taşımakta, Freon-22 ise ozon tabakasını inceltmesi nedeniyle artık ticari olarak bulunmamaktadır [Lang ve Wai, 2001].

SC-CO₂'nin polaritesinin arttırılmasının en etkili ve basit yolu çözücüye, yardımcı çözücü (modifier, entrainer, co-solvent) olarak adlandırılan etanol, metanol gibi polar maddelerin belli oranlarda eklenebilmesidir.

2.3.4 Süperkritik Akışkanların Çözme Gücü

SCF'lerin çözme gücü, yoğunluklarına oldukça bağlıdır. SC-CO₂'nin yoğunluğu, kritik sıcaklık ve basınç değerlerine yakın bölgede sıcaklık ve basınç ile önemli ölçüde değişmektedir. CO₂'nin çözme gücü oda koşullarında düşük ($\rho = 2.0 \text{ kg/m}^3$) olmasına karşın, kritik noktada oldukça yüksektir ($\rho = 470 \text{ kg/m}^3$). Şekil 2.8'de CO₂'nin indirgenmiş yoğunluk değerinin indirgenmiş sıcaklık ve basınçla değişimi verilmiştir.



Şekil 2.8. CO₂'nin indirgenmiş yoğunluk değerinin indirgenmiş sıcaklık ve indirgenmiş basınçla değişimi

Şekil 2.8'deki grafik incelendiğinde grafik üzerinde iki bölge görülmektedir. SCF bölgesi, süperkritik akışkanların endüstriyel kullanım bölgesi; NCL ise kritik altı bölge olup, bazı SCF uygulamalarında istenilen ürün verimi ve seçiciliğine bağlı olarak tercih edildiği bildirilmektedir [Döker, 2002].

Grafikten, süperkritik akışkanın çözme gücünü ayarlamak amacıyla sıvıya yakın yoğunluk değerlerine ulaşılması gerektiği görülmektedir. Yüksek sıcaklık değerlerinde ($T_r = 1.4$), yoğunluğun artmasını sağlamak amacıyla daha yüksek basınç değerlerine çıkmak gerekmektedir. Yüksek sabit basınçlarda ise, sıcaklığın düşürülmesi ile de benzer değişim sağlanabilir.

SC-CO₂'nin çeşitli sıcaklık ve basınç değerlerindeki fizikokimyasal özellikleri Çizelge 2.8'de verilmiştir. Sabit sıcaklıkta, basıncın artmasıyla SC-CO₂'nin yoğunluğu ve viskozitesi artmaktadır. Sabit basınç koşullarında ise sıcaklık arttıkça, yoğunluk ve viskozite değerlerinin düştüğü görülmekte; bu sebeple, sıcaklık ve basınçtaki küçük değişikliklerin SC-CO₂'nin fizikokimyasal özellikleri üzerinde önemli değişiklikler yaptığı sonucuna varılmaktadır.

Çizelge 2.8. Süperkritik CO₂'nin çeşitli sıcaklık ve basınçlardaki fizikokimyasal özellikleri [Döker, 2002].

Basınç (MPa)	Sıcaklık (K)	Yoğunluk(kg.m ⁻³)	Viskozite (kg/ms)
24.5	313.0	879.5	8.2x10 ⁻⁵
	328.0	806.2	6.9x10 ⁻⁵
	343.0	730.0	5.7x10 ⁻⁵
17.6	313.0	814.6	7.0x10 ⁻⁵
	328.0	712.5	5.4x10 ⁻⁵
	343.0	599.1	4.1x10 ⁻⁵
10.8	313.0	676.1	4.7x10 ⁻⁵
	328.0	379.4	2.7x10 ⁻⁵
	343.0	283.6	2.4x10 ⁻⁵

SC-CO₂, apolar çözücüler grubunda yer almakta ve hidrokarbonlar gibi apolar bileşiklerin ekstraksiyonunda uygun çözücü özellikleri göstermektedir. Bununla beraber, yapısındaki karbonun dört kutuplu moleküler yapısı sayesinde, alkol, ester, eter, aldehit ve keton gibi kısmen polar bazı bileşikleri de sınırlı olsa da çözebilmektedir [Çalıklı, 2003].

SC-CO₂'nin çözme gücü birkaç kuralla özetlenebilir.

- Apolar ya da kısmen polar bileşikler SC-CO₂ içinde çözünebilir.
- SC-CO₂'nin çözme gücü, düşük molekül kütleli bileşikler için yüksek iken, molekül kütlesi arttıkça düşmektedir.
- SC-CO₂ ortalama molekül kütleli oksijenli organik bileşenlere karşı yüksek afinite göstermektedir.
- Serbest yağ asitleri ve bunların gliseridleri ve pigmentler SC-CO₂ içinde düşük çözünürlük göstermektedir.
- Protein, polisakkarit, şeker ve mineraller SC-CO₂ içerisinde çözünmemektedir.
- SC-CO₂ uçuculuğu düşük, molekül kütlesi yüksek ve/veya oldukça polar yapıdaki bileşikleri basınç artışıyla beraber artan çözme gücüne bağlı olarak ayırabilmektedir [Brunner, 2005].

SC-CO₂ polaritesinin düşük olması nedeniyle karatenoid maddeler gibi apolar yapıdaki bileşiklerin ekstraksiyonunda en etkili çözücü iken, fenolik asitler ve flavonoidler gibi kısmen polar özellikteki polifenolik bileşiklerin ekstraksiyon süreçlerinde çözme gücü düşmektedir. Bu nedenle, genellikle daha polar bir ortam yaratmak amacıyla SC-CO₂ içerisine belli oranlarda yardımcı çözücü eklenmektedir. Yardımcı çözücü eklenmesiyle SC-CO₂'nin kritik sıcaklığı artmaktadır. Sıcaklık ve basınç değerlerinin artışı oluşan yeni karışımın süperkritik fazda olmasını sağlayamazsa karışım kritik altı bölgede kalır ve yardımcı çözücünün, çözünürlüğe katkısı yetersiz olur. Bu nedenle yardımcı çözücünün etkinliği süperkritik fazdaki derişimine bağlıdır [Wijngaard vd., 2012].

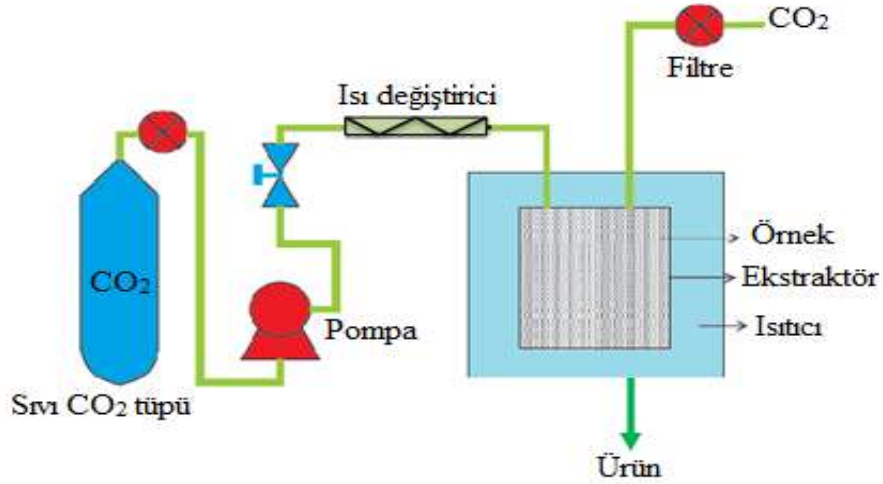
Doğal ürünlerin SFE sürecinde en az 17 yardımcı çözücü kullanılmaktadır. Çizelge 2.9'da SFE platformlarında kullanılan yaygın çözücüler verilmiştir. Bunlar içinde metanol, etanol, asetonitril, aseton, su, etil eter ve diklorometan en çok kullanılan polar yardımcı çözücülerdir [Rawson vd., 2012]. Metanol CO₂ ile % 20 oranında karışabilmesi nedeniyle etkin bir polar çözücüdür. Yüksek derişimlerdeki metanolün çözücü ve matris arasındaki bağları bozduğu düşünülmektedir. SCF uygulamalarında sıklıkla kullanılan etanol ise metanol kadar polar olmamasına karşın daha az toksik etki göstermesi, diğer alkollere göre ucuz olması ve American Food and Drug Administration tarafından "GRAS" statüsünde (generally recognized as safe) değerlendirilmesinden dolayı özellikle gıda, kozmetik, farmasötik ve nutrasötik endüstrilerinde daha iyi bir seçenektir [Lang ve Wai, 2001, Galanakis, 2012]. Bitkisel kaynaklı matrislerin SCF işlemlerinde literatürde yer alan 166 makalenin datarlarından elde edilen sonuçlara göre yardımcı çözücü yer alan çalışmaların % 53'ünde etanol, % 21'lik diliminde ise metanol kullanılmıştır [De Melo vd., 2014].

Çizelge 2.9. SFE uygulamalarında karbondioksiti modifiye etmek için kullanılan yaygın çözücüler [Modey vd., 1996].

Yardımcı Çözücü	T _c (K)	P _c (atm)	Molekül kütlesi (g/mol)	Dielektrik sabiti	Polarite indeksi
Metanol	239.4	79.9	32.04	32.7	5.1
Etanol	243	63	46.07	24.3	4.3
Propan-1-ol	263.5	51	60.10	20.33	4.0
Propan-2-ol	235.1	47	60.10	19.3	3.9
Hekzan-1-ol	336.8	40	102.18	13.3	3.5
2- Metoksietanol	302	52.2	76.10	16.93	5.5
Tetrahidrofuran	267	51.2	72.11	7.58	4.0
1,4 - Dioksan	314	51.4	88.11	2.25	4.8
Asetonitril	275	47.7	41.05	37.5	5.8
Diklorometan	237	60	84.93	8.93	3.1
Kloroform	263.2	54.2	119.38	4.81	4.1
Propilen karbonat	352	-	102.09	69.0	6.1
N,N- Dimetilasetamid	384	-	87.12	37.78	6.5
Dimetilsülfoksit	465	-	78.13	46.68	7.2
Formik asit	307	-	46.02	58.5	-
Su	374.1	217.6	18.01	80.1	10.2
Karbon disülfid	279	78	76.13	2.64	-

2.3.5. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, gözenekli katı yapılarıdaki istenilen ürün veya ürünlerin süperkritik koşullardaki bir çözücü içinde çözünmesi ve daha sonra çözücünün atmosfer koşullarına ya da belirli basınç koşullarına getirilerek, ürünün akışkandan ayrılması olarak tanımlanabilir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu süreçlerinde, ılımlı süperkritik özelliklere sahip olması nedeniyle uygulamaların yaklaşık % 98'inde CO₂ kullanılmaktadır [Pasquali vd., 2008, De Castro vd., 2000]. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sisteminin şematik gösterimi Şekil 2.9'da verilmiştir.



Şekil 2.9. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi için basitleştirilmiş akım şeması [Rawson vd., 2012].

SC-CO₂ ile gerçekleştirilen bir ekstraksiyon işleminde sırasıyla;

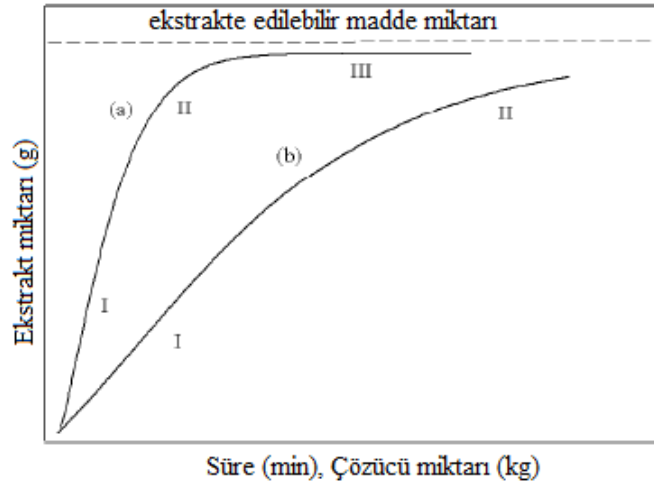
1. Sistemdeki sıvı CO₂ önce bir pompa ile istenilen basınç değerine ayarlanır. İşletme basıncı genellikle kritik basınç değerinin üzerindedir.
2. CO₂'nin sıcaklığı bir ısı değiştiriciden geçirilerek işletme sıcaklığına getirilir. İşletme sıcaklığı da genellikle kritik sıcaklık değerinin üzerindedir.
3. Süperkritik sıcaklık ve basınç değerlerine getirilmiş olan CO₂ yüksek basınca dayanıklı ve sıcaklığı sabit tutulan bir ekstraktöre beslenir.
4. Ekstraktör ünitesinde SC-CO₂ istenilen ürünü çözer.
5. Ekstraktör çıkışında basıncın düşürülmesi ile çözme gücünü kaybeden CO₂ üründen kendiliğinden ayrılır.
6. Çözücünden ayrılan ürün/ürünler ekstraktör ünitesi çıkışından saf bir şekilde alınabilir.
7. Basıncı düşürülen CO₂, ekstraksiyon sürecinde tekrar kullanılmak istenilirse bir kompresör yardımıyla basıncı artırılarak sisteme geri beslenebilir.

2.3.6. Katı Yapılarda Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Katı metaryallerdeki bileşenlerin ekstraksiyonu, katı matriks ve sisteme sürekli şekilde beslenen çözücü akış hızı arasındaki etkileşim yoluyla gerçekleşmektedir. Süreç boyunca, çözünen maddenin akışkan fazdaki derişimi artarken, katı fazdaki ekstrakte edilebilir bileşik miktarında düşüş olmaktadır. Her bir

katı taneciğin içindeki bu bileşiklerin derişimi, yüzeyde yavaşça azalarak, ekstraksiyon sürecinin gerçekleşmesi için gerekli derişim gradyeninin oluşmasını sağlar. Süreç boyunca gerçekleşen derişim farklılıkları; ekstraksiyon kinetiği, katı materyalin özellikleri ve işletme koşullarına göre değiştirilebilen süperkritik akışkanın çözme gücüne bağlıdır.

Gözenekli katı yapılardan istenilen ürünlerin SFE sürecinde ekstrakte edilen ürün miktarı, ekstraksiyon süresi veya kullanılan çözücü (SC-CO₂) miktarının fonksiyonu olarak çizildiğinde Şekil 2.10'da verilen iki şematik ekstraksiyon eğrisi elde edilir.



Şekil 2.10. Katı materyallerin SFE süreciyle elde edilen ekstraksiyon eğrileri

Eğrilerin ilk bölgesi (I) lineerdir ve hızlı ekstraksiyon sürecinin gözlemlendiği, çözünürlük kontrollü bölgeyi temsil etmektedir. Bu bölgede ekstraksiyon hızı sabit olup, ekstrakte edilen madde miktarı sabit kalır ve kütle transferinde daha çok konvektif (yığın) aktarımlar etkilidir. Ekstraksiyon eğrisinin lineer bölgesindeki derişim gradyenleri, düşük çözücü akış hızı kullanıldığında, süperkritik akışkanın çözünen madde ile doyunluğa ulaşmasının sağlandığı varsayımı yapılarak denge çözünürlüğü olarak da ifade edilebilir. İkinci bölge (II) azalan ekstraksiyon periyodunu (geçiş bölgesi) temsil etmekte ve ekstraksiyon hızının düşüşü ile karakterize edilmektedir. Ekstraksiyon hızının belirlenmesinden, katı fazdaki difüzyon ve konveksiyon mekanizmaları sorumludur. Son olarak sadece (a) eğrisinde gösterilen üçüncü bölge (III), sürecin sonunu göstermektedir. Bu bölgede katı

materyal tüketilir ve katı fazda difüzyon süreci hakimdir. Maksimum ekstraksiyon verimi, Şekil 2.10'da kesikli çizgi ile belirtildiği üzere, matriks içinde bulunan toplam ekstrakte edilebilir madde miktarı ile limit değerine ulaşır [Danielski, 2007].

2.3.6. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonun Avantaj ve Dezavantajları

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, sahip olduğu bir takım üstünlükler nedeniyle klasik çözücü ekstraksiyon yöntemlerine alternatif bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. Bu avantajlar şu şekilde sıralanabilir [Lang vd., 2001, De Castro vd., 2000, Sahena vd., 2009].

- Süperkritik akışkanların sıcaklık ve basınç değerlerinin değiştirilmesi ile çözme gücü/seçimlilik oranının ayarlanabilmesi, özellikle fraksiyonlu ayırma işlemlerinde esneklik sağlar.
- SFE süreçlerinde organik çözücü kullanma ihtiyacı en aza indirildiği için, çevreye uyumlu bir tekniktir.
- SCF'lerin düşük viskozite ve yüksek yayınlılık karakteristikleri sayesinde gözenekli katı matrislere sıvılardan daha iyi nüfuz etmeleri nedeniyle ekstraksiyon işleminin daha kısa sürede gerçekleşmesi sağlanır.
- Ekstraksiyon sonrası basıncın düşürülmesi ile çözücü ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılabilir, ürün çözücü atığı içermez ve çözücünün uzaklaştırılması için gerekli maliyet ortadan kalkar.
- SFE işlemlerinde süperkritik çözücünün ekstraktöre sürekli beslenmesi ile yürütücü kuvvet ve dolayısıyla kütle aktarım hızının artmasıyla verimli bir ekstraksiyon süreci sağlanır.
- SFE tekniği, düşük sıcaklıklarda çalışma imkânı sunduğu için ısıya duyarlı bileşiklerin ayırma işlemlerinde etkin bir süreçtir.
- SFE süreci, ticari olarak değerli olan ve matriks içinde oldukça düşük miktarlarda bulunan doğal bileşiklerin ayrılmasında ve saflaştırma işlemlerinde oldukça etkilidir.
- Klasik katı-sıvı ekstraksiyon yöntemlerinde 20 – 100 g örnek gerekirken SFE metotlarında 0.5 – 1.5 g örnek ile çalışılabilmektedir.

- SCF işlemlerinde kullanılan CO₂ gibi çözücüler inert olduğundan ekstraksiyon işlemlerinde hidroliz, oksidasyon veya bozunma tepkimeleri gözlenmemektedir.
- SFE metodunun en cazip özelliklerinden biri de direkt olarak kromatografik tekniklere bağlanması ile uçuculuğu yüksek bileşiklerin kolaylıkla ekstrakte edilmesini ve kantitatif tayinin yapılmasını sağlamasıdır. SFE tekniği; TLC, LC, GC, dolgulu kolon SFC ve kapiler SFC gibi kromatografik cihazlara başarılı biçimde bağlanmaktadır [Sahena vd., 2009, Radcliffe vd., 2000].

Süperkritik akışkan ekstraksiyon süreçlerinin birçok avantajının yanında, çok fazla olmamakla beraber birkaç dezavantajı bulunmaktadır. Bu dezavantajlar aşağıda belirtilmiştir [Reverchon ve De Marco, 2006, Sunarso ve Ismadji, 2009].

- SFE süreçlerinin verimi ve etkinliği katı matriksin yapısı ile ilişkili olduğundan kullanılacak çözücü seçimi; uygulama alanına ve ekstrakte edilecek maddeye göre değişiklik göstermektedir.
- Yüksek basınç koşullarında çalışılmasının gerektirdiği tehlikeler nedeniyle, güvenlik sistemi için uygun izolasyon ekipmanlarının gerekliliği zorunludur.
- Klasik ekstraksiyon yöntemleri ile kıyaslandığında ilk yatırım maliyeti ve enerji gereksinimi yüksek bir tekniktir.

Ancak, genellikle süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci için operasyon planı tasarlamak oldukça ucuzdur ve bir kez belirli bir SFE süreç modülü laboratuvar ölçekte başarılı şekilde işletildikten sonra, kolaylıkla ölçek büyütme basamaklarından geçirilerek ticari boyuta taşınabilir.

2.3.7. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Sürecinde Ürün Verimine Etki Eden Temel İşletme Parametreleri

Süperkritik akışkan ekstraksiyon sürecinin, göz önüne alınması gereken temel yönlerinden biri optimum işletme koşullarının belirlenmesidir. Ekstraksiyon sürecinin etkinliğini ve seçimliliğini etkileyen farklı parametrelerin optimum

değerlerinin kullanılması, hedeflenen bileşiğin ekstraksiyon veriminde veya geri kazanımında büyük ölçüde artış sağlamaktadır [Xu vd., 2011].

2.3.7.1. Basınc

Basıncın artmasıyla, süperkritik akışkanın yoğunluğu artmakta dolayısıyla çözme gücü artmaktadır. Böylece ekstrakte edilecek metaryalin süperkritik akışkan içindeki çözünürlüğü artmaktadır. Bu durumda basıncın artmasıyla verimin arttığı belirtilmektedir [Bashipour ve Ghoreishi, 2012, Döker 2010, Kamali vd., 2014, Gelmez vd., 2008, El Marsni vd., 2011, Akgün vd., 2000]. Burada karşılaşılan diğer bir durum ise basıncın artmasıyla ekstraksiyon veriminde önemli bir değişim gözlenmemesine rağmen, başlangıç ekstraksiyon hızının artması sonucu ekstraksiyon süresinin kısalmasıdır [Özkal vd., 2005].

2.3.7.2. Sıcaklık

Sıcaklığın artmasıyla kütle aktarım katsayısının ve etkin yayınlılık katsayısının artması, tanecik içi ve tanecik dışı kütle aktarım dirençlerini azaltmaktadır. Diğer yandan SC-CO₂'nin yoğunluğunun azalması ile çözme gücünün düşmesine rağmen, doyumluk derişiminde artma olmaktadır. Bunun sonucu olarak, tanecik içi ve tanecik dışı kütle aktarım kısıtlamalarının azalması ve doyumluk derişiminin artması ekstraksiyon sürecine pozitif etki yaparken, kütle aktarımına karşı dirençlerin artması süreci negatif yönde etkilemektedir. Bu nedenle düşük basınçlarda sıcaklık artışı ile sürece etki eden pozitif kuvvetlerin etkisi, negatif kuvvetlerin etkisinden büyük olduğundan ekstraksiyon verimi artarken, yüksek basınçlarda ise sıcaklığın artmasıyla negatif kuvvetlerin etkisi pozitif kuvvetlerin etkisinden daha büyük olacağından ekstraksiyon veriminde azalma olmaktadır [Döker, 2002]. Bu etki, daha önce belirtildiği gibi SFE süreçlerinde cross-over etki olarak tanımlanmaktadır. Cross-over izotermi, literatürde farklı katı matrisler için birçok araştırmacı tarafından da belirlenmiştir [Benelli vd., 2010, Kitzberger vd., 2007, Salgın 2007, Rosso Comim vd., 2010, Duba ve Fiori., 2015, Machmudah vd., 2008].

2.3.7.3 Tanecik Büyüklüğü

Süperkritik akışkan ekstraksiyon sürecinin etkinliği; katı matriksin tanecik büyüklüğü, şekli, yüzey alanı ve gözenekliliği gibi faktörlere de bağlı olması nedeniyle çözünen madde ve matriksin aktif bölgeleri arasındaki spesifik etkileşimler sıkı işletim koşulları gerektirebilmektedir [Sunarso ve Ismadji 2009]. Bu nedenle tanecik büyüklüğü, iç kütle transfer dirençleri ile kontrol edilen ekstraksiyon süreçlerinde belirleyici rol oynamaktadır [Wang ve L.Weller, 2006]. Tanecik büyüklüğü küçüldükçe, tanecik içindeki kütle aktarım dirençleri azaldığı ve difüzyon yolu kısaldığı için, katı tanecik içine difüzlenen SC-CO₂ katı matriks içinde daha rahat yayılabilmekte ve istenilen maddeyi kolaylıkla ekstrakte edebilmektedir [Döker, 2002]. Ek olarak, öğütme işlemi sonucu, daha küçük taneciklerin oluşumu spesifik yüzey alanını arttırmakta ve matriksin hücre duvarlarının kırılması nedeniyle yapıdaki bileşikler daha erişilebilir hale getirmektedir [Döker, 2010, Özkal vd., 2005]. Ancak tanecik büyüklüğü çok küçük olduğunda ise ekstraksiyon kolonunda kanallaşma problemleri yaşanabilmektedir. Çözücünün ekstraksiyon kolonu içerisinde düzenli bir akış profili sergileyememesi ve ekstrakte edilecek materyal ile etkileşime girememesi, sürecin verim ve etkinliğinde kayıplara neden olmaktadır. Genellikle SFE işlemlerinde ortalama çapı yaklaşık 0.25 – 2.0 mm arasında değişen tanecikler kullanılmaktadır. Optimum tanecik büyüklüğü, matriksteki su içeriği ve tanecikler arasında birleşmeye neden olarak kolon boyunca düzensiz ekstraksiyona yol açabilen, ekstrakte edilebilir sıvı bileşikler değerlendirilerek seçilmelidir. Bunlara ek olarak, öğütme işlemi ile çok küçük taneciklerin eldesi, uçucu bileşiklerin kaybına neden olmaktadır [Reverchon ve De Marco, 2006].

2.3.7.4. Çözücü Akış Hızı

SFE süreçleri çözünürlük kontrollü ve desorpsiyon kontrollü olmak üzere iki mekanizma ile açıklanmaktadır. Çözünürlük kontrollü süreçlerde, çözücü akış hızının azalması ile ekstraktörde kalma süresi artacağından, çözücünün istenilen madde ile etkileşimi artar. Dolayısıyla ürünün çözünürlüğünün artmasına bağlı olarak ekstraksiyon verimi artmaktadır.

Desorpsiyon kontrollü süreçlerde ise katı tanecik etrafını saran film tabakasının kütle aktarımına karşı direnç oluşturması durumunda, çözücü akış hızının artması ekstraktör içinde türbülanslar oluşturarak, katı ile akışkan arasındaki film kalınlığını azaltmakta bu durumda verim artmaktadır; ancak aynı etki katı ve akışkan arasındaki etkileşim süresini kısaltmakta ve verim azalmaktadır. Bu sebeple, çözücü akış hızının sürece etkisi katı madde yapısı ile yakından ilgilidir. Film tabakası kütle aktarımına karşı direnç oluşturmaması durumunda ise çözücü akış hızının ekstraksiyon verimine etkisi olmamaktadır [Döker, 2002, Çalimli, 2007].

2.3.7.5 Yardımcı Çözücü Türü ve Derişimi

Süperkritik akışkanların çözme gücünün artırılması amacıyla ekstraksiyon sistemine belirli derişimlerde, yardımcı çözücü beslenebilir. CO₂ apolar yapısından dolayı polar yapıdaki bileşikler için iyi bir çözücü olmadığından; metanol, etanol, aseton gibi organik çözücülerin eklenmesiyle CO₂'nin çözme gücü ve ekstraksiyon verimi artırılmaktadır.

Ancak literatürde apolar özellikte ve yapısında aromatik halka içermeyen organik bileşiklerin yardımcı çözücü olarak kullanıldığı ortamlarda çözünürlük değerini birkaç yüz kat arttırdığı belirtilmekte ve saf haldeki SCF'nin kritik basınç değerinden daha yüksek bir yardımcı çözücünün düşük miktarlarda bile olsa karışımın kritik basıncının ve dolayısıyla çözme gücünün artmasına neden olmasından ötürü, polar yapıdaki bir bileşiğin çözünürlüğünü arttırmak için seçilen yardımcı türünün özellikle polar özellikte olması gerekmediği de belirtilmektedir [Çalimli, 2005].

Yardımcı çözücünün ekstraksiyon verimine etkisi; SC-CO₂'nin polarite, yoğunluk veya viskozitesinin değişimi; yardımcı çözücünün karışabilirliği, çözünen madde ve SC-CO₂'nin çözünürlüğü; SC-CO₂ ve matriks arasındaki moleküller arası etkileşim; çözünen madde ve yardımcı çözücü arasındaki moleküler etkileşim ile aynı zamanda ayırma işleminde seçiciliğin sağlanması; çözünen madde ve katı matriks arasındaki bağların kopması ile ilgili olduğu belirtilmektedir. Yardımcı

çözücülerin kullanımı; çözünürlüğü, taşınım özelliklerini değiştirmekte ve matriksteki tanecik içi dirençleri azaltmaktadır. Ancak yardımcı çözücü varlığında çözünürlüğün artması, bileşenler arasındaki moleküller arası etkileşimler özellikle hidrojen bağları ile ilişkili olduğundan yardımcı çözücünün etkisi, süperkritik fazdaki derişimine bağlıdır [Rawson vd., 2012].

CO₂'ye yardımcı çözücü eklendiğinde, oluşan yeni karışımın kritik sıcaklığı yükselmekte ve bu durum; ekstraksiyonun 40 – 60°C sıcaklık aralığındaki süperkritik bölgede gerçekleşmesi halinde eklenebilir yardımcı çözücü miktarını sınırlandırmaktadır. Etanol, gıda endüstrisinde kullanımına izin verilen bir yardımcı çözücüdür. Çizelge 2.10'da CO₂'ye belirli derişimlerde etanol eklenmesi ile elde edilen çözücü karışımlarının kritik sıcaklık ve basınç koşulları verilmiştir.

Çizelge 2.10. CO₂ – etanol karışımlarının kritik sıcaklık ve basınç değerleri

Etanol derişimi (% wt)	T _c (°C)	P _c (MPa)
0	31.1	7.38
5	42.5	7.32
10	53.7	7.27
14	62.8	7.22
17	69.5	7.19
20	76.1	7.15
100	243.3	6.13

Çizelge incelendiğinde CO₂'ye % 5 oranında etanol eklendiğinde karışımın kritik sıcaklığının 42.5°C olduğu görülmektedir. Ayrıca 20 MPa (bu değer karışımın kritik basıncının üzerinde herhangi bir değer olabilir), 50°C, yardımcı çözücü olarak % 5 etanol kullanılan işletme koşullarında ekstraksiyon süperkritik bölgede yapılırken, 20 MPa, 40°C ve % 5 etanol varlığındaki işletim koşullarında kritik altı (subkritik) bölgede çalışılmaktadır. Bu nedenle 40 – 60°C sıcaklık aralığında, yüksek derişimlerde etanol kullanımı (% 14 – 20) ekstraksiyon sürecinin kritik altı koşullarda gerçekleştirilmesi gerektiğini göstermektedir [Adil vd., 2007].

2.3.8. Süperkritik Akışkan Teknolojisi Uygulama Alanları

Süperkritik akışkanlar bilim ve teknolojik açıdan, çok geniş bir yelpazede potansiyel öneme sahiptir. Son yıllarda, Almanya başta olmak üzere USA ve Japonya'da süperkritik akışkan teknolojisi uygulamalarına yönelik yoğun araştırmalar yürütülmektedir. Süperkritik akışkanlar başta SC-CO₂ olmak üzere ayırma ve saflaştırma süreçlerinin yanı sıra kromatografi, polimerizasyon ve fraksiyonlama, elyaf üretimi, liflerin boyanması, tanecik tasarımı, biyoteknoloji, yağların modifikasyonu, topraktan ağır metallerin giderimi, suların arıtılması gibi çok geniş farklı uygulamalarda, kullanım alanına sahiptir [Dinçer vd., 2007, Marr ve Gamse 2000].

Doğal ürünlerin SCF teknolojisi süreçleri, son 20 yıl boyunca geniş çaplı araştırma alanı olarak karşımıza çıkmaktadır. CO₂ ve su en çok kullanılan süperkritik akışkanlardır. Son zamanlarda bu eğilim, propan ve argon gibi geleneksel olmayan süperkritik akışkanlar ile yer değiştirme yönünde ilerleme göstermektedir. Propan oldukça seçici bir çözücü olması nedeniyle, son zamanlarda birçok SFE uygulamasında yer almıştır. Ancak, yüksek tutuşma özelliği CO₂ ile kıyaslandığında en önemli dezavantajıdır [Knez vd., 2014].

Ekstraktif alanda, süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile kahve ve çaydan kafeinin uzaklaştırılması (genellikle diklorometan kullanılarak), şerbetçi otundan bazı acılık veren maddelerin uzaklaştırılması, bitkisel kaynaklardan yağ asitlerinin, aroma ve tat verici bileşiklerin izolasyonu gibi gıda endüstrisine yönelik ilk büyük ölçekteki endüstriyel uygulamalar Almanya'da geliştirilmiştir. [Ramsey vd., 2009, Danielski 2007]. Tütünden nikotin uzaklaştırılması ilk olarak 1970'lerde gündeme gelmiş ve bu amaçla kurulan endüstriyel tesis kapasitesi 2004 yılına kadar yaklaşık 64000 litreye ulaşmıştır [Danielski, 2007]. Türkiye'de ise süperkritik akışkan teknolojisi kullanan ilk tesis, Set Tarım Ürünleri Ltd. Şti. tarafından buğdaydan ruşeym elde etmek amacıyla Aydın'da kurulmuştur [Seyitoğlu Kocabaş, 2008].

2007 yılına kadar, çoğunlukla Avrupa, Japonya, USA ve diğer Asya ülkelerinde dağılım gösteren, farklı endüstriyel tesisler için tasarlanmış 100 litreden daha büyük hacimli toplam sayısı yaklaşık 100 ekstraksiyon tankı dizayn edilmiştir. Aslında mevcut durumda dünya üzerinde toplam ekstraksiyon tankı hacmi $> 0.5 \text{ m}^3$ olan 150'den fazla SFE tesisi bulunmaktadır [Del Valle, 2015]. Çizelge 2.11'de dünya çapında pilot ve endüstriyel ölçekteki süperkritik akışkan teknolojisi uygulamaları özetlenmiştir [Danielski, 2007].

Çizelge 2.11. Pilot ve endüstriyel ölçekte temel SCF uygulamaları (2004 yılına kadar)

Uygulama	Çözücü	Gelişme durumu
Kahve ve çaydan kafeinin uzaklaştırılması	CO ₂	Endüstriyel tesisler (USA ve Almanya)
Şerbetçi otu reçinesi	CO ₂	Endüstriyel üniteler (Avustralya, UK, USA ve Almanya)
Baharatlar	CO ₂	Endüstriyel üniteler (Fransa, Almanya, İsviçre ve Japonya)
Aroma/esansiyel yağlar	CO ₂	Laboratuvar ve pilot ölçekler
Bitkisel yağlar	CO ₂	Pilot tesisler
Hazır gıdalardan yağın uzaklaştırılması	CO ₂	Pilot tesisler
Nikotin uzaklaştırılması	CO ₂	Endüstriyel tesisler (USA)
Farmasötik bitkiler	CO ₂	Endüstriyel (Japonya) ve pilot (Almanya) ölçekte
Çevresel uygulamalar	CO ₂	Pilot ölçekte
Çamur arıtımı	Propan	Endüstriyel tesisler (USA)

Süperkritik akışkan teknolojisi hali hazırda doğal metaryallerdeki bileşiklerin ekstraksiyonu, polimerizasyon işlemleri ve biyokatalitik reaksiyonlarda sıklıkla kullanılmaktadır.

Vitaminler, aroma vericiler, doğal pigmentler ve esansiyel yağlar, hayvan dokuları ve mikroalgler gibi bir çok doğal ve ticari değeri yüksek ürün, organik çözücü kullanımının ve yüksek sıcaklık koşullarının önüne geçmesi bakımından geleneksel ayırma metotlarına alternatif bir süreç olan süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile özütlenmektedir [Knez vd., 2014, Del Valle, 2015]. Bunlara ek olarak çeşitli bitki matriksleri biyoaktif ve fonksiyonel bileşik kaynağı olarak

kullanılmaktadır. SFE metodu ile ekstrakte edilen ve fonksiyonel özellik gösteren farklı bileşikler arasında antioksidanlar en çok çalışılan bileşikler olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bileşikler lipid peroksidasyonuna karşı kullanımlarından dolayı gıda (nutrasötikler) ve ilaç teknolojisinde önemli bir rol oynamaktadır [Machado vd., 2013].

Polimerizasyon süreçlerinde SC-CO₂ sağlık ve çevreye zararlı geleneksel bileşiklerin yerini alan kompozitlerin mikronizasyonu ve polimerleşme sırasında köpükleştirme ajanı ve çözücü, anti-çözücü olarak kullanılmaktadır. Süperkritik akışkanların kimyasal ve biyokimyasal reaksiyonlarda yer alması, çoğunlukla enerji ve ham metaryal tüketimini azaltarak, daha az atık ve toksik yan etkileri indirgenmiş ürünlerin eldesi ve böylelikle çevreye verilen zararın etkisinin düşürülmesi amacıyla uçucu organik çözücülerin yerini alması yönündeki büyük istekten doğmuştur.

Süperkritik kurutma ve temizleme, sıvıların uzaklaştırılması ya da yapılarını değiştirmeden katılardan safsızlıkların gideriminde kullanılmaktadır. Süperkritik kurutma aerojellerin üretiminde, mikro-elektromekanik sistemlerde ve taramalı elektron mikroskopu için biyolojik numunelerin hazırlanmasında kullanılırken, süperkritik temizleme mikro elektronik alanında uygulanmaktadır.

Son yıllarda süperkritik akışkanlar enerji alanında farklı uygulamalar için önerilmektedir. SC-CO₂'nin gelecek kuşak, çevre dostu ısı transfer akışkanı olarak değerlendirilmeye başlanmasıyla beraber, mobil iklimlendiricilerde ve ısı pompası sistemlerinde soğutucu olarak kullanımına yönelik çalışmalar yürütülmektedir [Knez vd., 2014].

Çizelge 2.12'de süperkritik akışkan ortamında gerçekleştirilen uygulamalar özetlenmiştir.

Çizelge 2.12. Süperkritik akışkan teknolojisi uygulamaları [Dinçer vd., 2007].

GIDA	<ul style="list-style-type: none">• Çay ve kahveden kafeinin giderilmesi• Tütünden nikotin ve katranın uzaklaştırılması• Yağlı çekirdeklerden yağ ekstraksiyonu• Aroma ekstraktlarının hazırlanması• Kolesterolün uzaklaştırılması• Narenciye sularının acılığının giderilmesi• Yağ ve aromaların fraksiyonlanması• Şerbetçi otu ekstraktı eldesi• Tütün hücresi genişmesi• Reçel sterilizasyonu (Japonya)
ECZACILIK	<ul style="list-style-type: none">• Doğal ürünlerden aktif bileşenlerin ekstraksiyonu• Biyokimyasal karışımların ayrılması• Tanecik tasarımı, yüksek basınç mikronizasyonu ve püskürtmeli kurutma (toz halinde aktif madde üretimi) : * RESS *SAS *GAS *SEDS• Kristalizasyon (kaplama)• Yüksek basınç sterilizasyonu
POLİMER	<ul style="list-style-type: none">• Polimerizasyon, polimerik köpüklerin üretimi, polimer aşılama• Polimerlerin fraksiyonlanması• Kaplama• Polimer işleme
MALZEME	<ul style="list-style-type: none">• İmplant malzemelerin tasarımı• Mikro ve nanotaneceklerin tasarımı• Aerojel eldesi• Otofretaj (yüksek basınç dizel yakıt enjeksiyonu borularının muamelesi)• Su jetiyle kesme/temizleme
KİMYASAL İŞLEMLER	<ul style="list-style-type: none">• Düşük buhar basınçlı yağların fraksiyonlanması veya saflaştırılması• Seramik işleme• Aktif karbon rejenerasyonu• Polar ve polar olmayan bileşenlerin ayrılması
ÇEVRE	<ul style="list-style-type: none">• Sulu çözeltilerden organik atıkların uzaklaştırılması• Süreç akımlarından toksik malzemelerin uzaklaştırılması• Topraktan ağır metallerin uzaklaştırılması
HİDROKARBON İŞLEMLERİ	<ul style="list-style-type: none">• Kömür sıvılaştırma• Kömürden ve bitümden gazlaşabilir maddeler ve yağların ekstraksiyonu• Yağlardan asfaltın uzaklaştırılması, Kalıntı ekstraksiyonu• Jeolojik oluşumlardan yağ ve gaz kazanımı
YÜZEY İŞLEMLERİ	<ul style="list-style-type: none">• Tekstil boyama (polietilen elyafları)• Tekstil temizleme ve kuru temizleme
REAKSİYON	<ul style="list-style-type: none">• Fischer-Tropsch sentezi• Hidrojenasyon (çeşitli sentez reaksiyonları; ilaçlar)• Alkilleme• Oksidasyon (SC-H₂O oksidasyonu)• Transesterifikasyon (biyodizel)• Biyoreaksiyonlar• Hidroformülasyon
ANALİTİK	<ul style="list-style-type: none">• SCF Kromatografisi

2.4 ANALİZ YÖNTEMLERİ

2.4.1. Spektroskopik Teknikler

UV/vis spektrofotometrik metot, uygulaması kolay, hızlı, rutin laboratuvar analizlerinde elverişli ve düşük maliyetli olması bakımından kolorimetrik reaksiyonlarda sıklıkla kullanılmaktadır. Bitki ekstraktlarındaki polifenollerin görünür bölge spektroskopisi ile miktarlarının tayin edilebilmesi için spesifik redoks reaktifleri ile reaksiyona girerek renkli kompleks oluşturmaları gerekmektedir [Blainski vd., 2013]. Bu nedenle UV/vis metodu ile kolorimetrik değerlendirme, referans bir madde kullanımı gerektirmekte ve daha sonra bitki ekstraktındaki fenolik hidroksil grupların toplam derişimini belirlenebilmektedir.

2.4.1.1. Folin – Ciocalteu Toplam Fenolik Madde Tayin Yöntemi

Folin-Ciocalteu ayırıcı (FCR) temelli yöntem veya toplam fenolik (ya da fenol) yöntem olarak bilinen bu yöntem orijinal olarak protein analizi için tasarlanmıştır. Daha sonra Singleton ve Rossi (1965) tarafından şaraptaki toplam fenollerini ölçmek amacıyla geliştirilen bu yöntem ile bitkisel numunelerdeki fenolik madde miktarları belirlenebilmektedir. Folin-Ciocalteu fenol reaktifi fosfomolibdik asit ve fosfotungstik asit karışımından oluşmaktadır. Yöntem fenol reaktifindeki fosfomolibdik asit ile fenolik bileşikler arasındaki reaksiyon sonucu oluşan mavi renkli kompleksin 750 – 765 nm'deki absorbansının UV spektrometresinde ölçülmesine dayanmaktadır. Standart bileşik olarak genellikle gallik asit kullanılmakta ve sonuçlar gallik asit eşdeğeri (mg/L) olarak verilmektedir. Fenolik bileşikler sadece alkali ortamda (pH=10) fenol reaktifi ile reaksiyona girmektedir. Bu nedenle ortamın bazikliği sodyum karbonat çözeltisinin eklenmesiyle sağlanmaktadır.

Yöntemin dezavantajı, folin reaktifinin fenolik bileşikler için spesifik olmaması nedeniyle fenolik olmayan aromatik aminler, sülfür dioksit, askorbik asit, Cu (I) ve Fe (II) gibi bir çok bileşik tarafından da indirgenbilmesidir. Bu nedenle bu yöntem esasında örneğin indirgenme kapasitesini ölçmektedir. Bundan ötürü yöntem son zamanlarda toplam indirgeyici kapasitenin ölçülmesinde kullanılmakta

ve bitki ekstraktının toplam fenolik madde miktarı ile antioksidan aktivitesi arasında lineer bir ilişkinin olması nedeniyle, ekstraktın antioksidan aktivitesi hakkında da bilgi vermektedir [Albayrak vd., 2010, Blainski vd., 2013, Osman ve Tantaway, 2013].

2.4.1.2. Toplam Flavonoid İçeriği Tayin Yöntemleri

- Alüminyum Klorür/Potasyum Asetat Spektrofotometrik Yöntemi

Alüminyum klorür, flavon ve flavonol grubu bileşiklerin C-4 keto grubu ve C-3 veya C-5 hidroksil gruplarından biriyle kararlı Al-Flavon veya Al-Flavonol kompleksleri oluşturmaktadır. Buna ek olarak alüminyum, flavonoid grubu bileşiklerin A- ya da B- halkalarındaki orto-dihidroksi gruplarıyla da kararsız kompleksler oluşturmaktadır [Kalita vd., 2013].

Alüminyum Klorür/Potasyum Asetat Spektrofotometrik yönteminin esası; etanol, alüminyum (III) klorür çözeltisi ve potasyum asetat çözeltilerinin karıştırılmasından sonra, üzerine flavonoid çözeltisinin (flavon, flavonol veya izoflavon bileşikleri) ilave edilmesi ve bu işlemi takip eden 30 dakika sonunda referansa karşı 415 nm'de absorpsiyon değerlerinin ölçülmesine dayanmaktadır.

- Alüminyum Klorür/Sodyum Nitrit Yöntemi

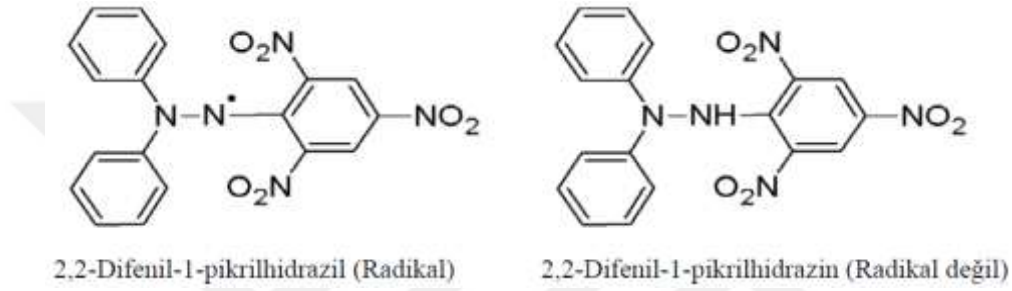
Jia Zhishen ve arkadaşları tarafından rapor edilen $AlCl_3/NaNO_2$ yönteminde toplam flavonoid içeriği, alüminyum klorür ve sodyum nitrit ayraçları kullanılarak, alkali ortamda meydana gelen pembe renkli flavonoid- alüminyum kompleksinin 510 nm dalga boyundaki absorpsiyon değerleri ile belirlenmektedir.

$AlCl_3/KAc$ ve $AlCl_3/NaNO_2$ yöntemlerinde, toplam flavonoid içerikleri, genellikle kuersetin eşdeğeri olarak hesaplanmaktadır [Tütem, 2011].

2.4.1.3. DPPH Radikali Söndürücü Aktivite Yöntemi

DPPH değerlendirmesi basit ve hassas bir metot olması nedeniyle doğal ürünlerin antioksidan aktivitesinin değerlendirilmesi çalışmalarında popüler olarak kullanılmaktadır. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ticari olarak elde edilebilen

stabil organik nitrojen radikalidir. DPPH radikali (DPPH·) eşlenmemiş azot atomu nedeniyle mor-menekşe renklidir. DPPH çözültisi, hidrojen atomu verebilen maddenin (antioksidanın) oksijen atomu ile reaksiyona girdiğinde başlangıçtaki mor rengi, radikalın indirgenmesiyle kaybolarak sarı renkli forma dönüşmektedir. Reaksiyon, absorplanan hidrojen atomları sayısına göre stokiyometrik gerçekleşmektedir. Bu nedenle antioksidan etki, 517 nm'deki UV absorbansının azalışı sabitlenene kadar takip edilerek kolaylıkla belirlenebilmektedir. Şekil 2.52'te DPPH molekülünün radikal ve radikal olmayan formları gösterilmiştir.



Şekil 2.11. DPPH molekülünün radikal ve radikal olmayan formları [Albayrak vd., 2010, Lewis, 2012].

DPPH'nin renginin sarıya dönüşmesi antioksidan derişimi ile orantılıdır ve başlangıçtaki DPPH derişiminin % 50 azalmasına neden olan antioksidan derişimi, "antiradikal etkinlik" olarak ifade edilmekte olup EC₅₀ (mg/ml) olarak simgelenmektedir. EC₅₀ değeri son zamanlarda antioksidan aktiviteyi ölçmek için daha yaygın kullanılan bir parametredir [Prior vd., 2005].

2.4.2. Kromotografik Teknikler

2.4.2.1. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC), analitik ayırma tekniklerinin arasında en yaygın kullanılanıdır. Yöntemin bu kadar yaygın olmasının nedenleri arasında, duyarlılığı, doğru kantitatif tayinlere kolaylıkla uygulanabilir olması, uçucu olmayan türlerin veya sıcaklığa duyarlı bileşiklerin ayrılması için uygun olması ve sanayinin; kimya, biyokimya, biyoteknoloji, farmakoloji, kimya mühendisliğini içeren bir çok bilim dalının birinci derecede ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uygulanabilirliğidir [Skoog vd., 1998].

HPLC’de ayırma normal faz ve ters faz olmak üzere iki şekilde yürütülmektedir. Normal faz durumunda, silikajel gibi polar bir sabit faz ve apolar hareketli faz olarak ise n-hekzan veya tetrahidrofuran gibi apolar çözücüler kullanılmaktadır. Silikajelin polar olan –OH uçları dolgu maddesine polar özellik kazandırmaktadır. Polaritesi yüksek olan analit, sabit fazla daha fazla etkileşmekte ve kolonu daha geç terk etmektedir. Apolar olanlar ise polar olanlara göre daha az tutunduğu için kolondan daha önce ayrılmaktadır [Skoog vd., 1998, Şahin, 2011].

Ters faz sıvı kromatografisi (RP-HPLC), sabit fazın apolar, hareketli fazın polar olduğu kromatografi türüdür [Özçimder ve Demirci, 2004]. Apolar sabit faz olarak genellikle C₈ ve C₁₈ dolgu maddeleri kullanılmaktadır.

Fenolik yapıların karakterizasyonu RP–HPLC ile belirlenmektedir. Aglikon ve glikozitlerin analizi için mobil faz olarak genellikle asetonytril/su ve metanol/su karışımları kullanılmaktadır. Çözücü sistemine % 5’e kadar asetik, formik veya sitrik asit gibi zayıf asitlerin eklenmesi fenol grupların iyonlaşmasının önüne geçerek, flavanon glikozitlerin ve aglikonların daha iyi ayırımını sağlamaktadır. Dedektör olarak yaygın olarak UV-vis, diot array ve fotodiot array dedektörler kullanılmaktadır. UV spektrumlarına göre flavanonlar 270 – 295 nm aralığında çok güçlü bir absorpsiyon piki ve 320 nm’de omuz verirken, flavonlar 280 nm’de ve 320 – 360 nm aralığında iki güçlü absorbans piki vermektedir [González-Molina vd., 2010]. Portakal ve limonun çeşitli kısımlarındaki fenolik bileşiklerin HPLC ile analitik olarak belirlenmesine yönelik literatürdeki bazı çalışmalar ve koşulları Çizelge 2.13’de sunulmuştur.

Çizelge 2.13. Portakal ve limonun çeşitli kısımlarındaki fenolik bileşiklerin karakterizasyonunda kullanılan analitik amaçlı HPLC sistemleri

Kaynak	Dedektör	Kolon Tipi	Kolon Boyutu	Mobil Faz	Elüsyon
Ramful vd., 2010	Diot array (DAD)	Waters Spherisorb ODS-2, 5µm part., 80Å	150 x 4.6mm	A , Su/Asetonitril (90:10, v/v; pH 2.35) B , Asetonitril	Gradient
Russo vd.,2014	Fotodiot array (PDA)	Ascentis Express C18, 2.7 µm part. (Supelco).	150 × 4.6 mm	A , Su/Formik asit (99.9:0.1, v/v) B , Asetonitril/Formik asit (99.9:0.1, v/v)	Gradient
Abeyasinghe vd., 2007	UV	ODS C18	150 × 4.6 mm	A , 75 mM Sitrik asit ve 25 mM Amonyum asetat içeren ultra saf Su B , Metanol	İzokratik
Boukroufa vd., 2014	Fotodiot array (PDA)	RP-18 end-capped 5µm part. + guard kolon RP-18, 5 µm part.	250 x 4mm + guard kolon: 4 x 4mm	A , %0.5 Asetik asit çözeltisi B ,%100 Asetonitril	Gradient
Cano vd., 2008	Fotodiot array (PDA)	RP-C18 Tracer Excel 5µm, 120 ODS B	250 x 4.6mm	A , Asetonitril B , %0.6 Asetik asit çözeltisi	Gradient
Chen vd., 2011	UV-Vis	C18, 5 µm part.	250 x 4.6 mm	A , Metanol B , %9 Asetik asit çözeltisi	Gradient
Huang vd., 2009	UV-Vis	Hypersil C18 kolon	250 x 4.6 mm	A , %2 Asetik asit çözeltisi B , %0.5 Asetik asit - Asetonitril (50:50, v/v)	Gradient
Wang vd., 2008	UV	LiChrospher 100 RP-18, 5 µm part.	250 x 4.0 mm	A , %2 Asetik asit çözeltisi B , %0.5 Asetik asit (Sulu) - Asetonitril (50:50, v/v)	Gradient
Kelebek vd., 2008	Diot array (DAD)	Beckman Ultrasphere ODS,5 µm + ön kolon,5 µm part.	250 x 4.6 mm ön kolon: 4.6 ×10 mm	A , Su /Formik asit (95:5;v/v) B ,Asetonitril /çözücü A (60:40; v/v)	İzokratik ve Gradient
Bocco vd., 1998	UV + Fotodiot array (PDA)	Hypersyl ODS (5 µm part.)	250 x 4.6 mm	A , Su B , Asetonitril	Gradient
Del Río vd., 2004	Diot array (DAD)	C18 µ-Bondapak, 5 µm part.	250 x 4 mm	Su, Metanol, Asetonitril, Asetik asit	İzokratik gradient programı

2.5. KONU İLE İLGİLİ ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Sürelili yayınlarda, portakal ve limon başta olmak üzere birçok turunçgil çeşidinin özellikle meyve suyu endüstrisinde işlendikten sonra atık olarak meydana gelen yan ürünlerindeki ticari değeri yüksek fenolik bileşiklerin ve bu biyoaktif bileşiklerin beslenme ve sağlığa yararları, hastalık riskini azaltmaları ile ilişkileri hakkında daha ayrıntılı bilgi edinmek amacıyla farklı kısımlarındaki bileşiklerin SC-CO₂ ekstraksiyonu ve diğer ekstraksiyon teknikleri ile eldesi, belirlenmesi ve aynı zamanda antioksidan aktivitelerinin tayini üzerine ilişkin literatür özeti aşağıda sunulmuştur.

Benelli (2010) ve arkadaşları, portakal suyu endüstrisinde yan ürün olarak ortaya çıkan ve içeriğinde ticari açıdan değerli birçok madde bulunduran portakal posasından gıda, kozmetik, farmasötik ve benzeri endüstrilerde hammadde kaynağı olarak değerlendirilmesinin araştırılması doğrultusunda, portakal yağı eldesi üzerine yürüttükleri çalışmada; süperkritik akışkan ekstraksiyonunun yanı sıra farklı çözücülerle Soxhlet, ultrasonik ekstraksiyon ve su buharı distilasyonu gibi alternatif ekstraksiyon yöntemlerini uygulamışlardır. Süreçler; ekstaksiyon verimi, DPPH, Folin-Ciocalteu ve β-karoten ağartma yöntemleri aracılığıyla biyolojik aktiviteleri ve mikro seyreltme yöntemi aracılığıyla belirlenen antimikrobiyal aktiviteleri açısından kıyaslanmıştır. Ekstrakt içinde bulunan bileşenlerin kimyasal profili GC-MS analizleri ile aydınlatılmıştır. Çalışmada çözücü olarak SC-CO₂ yardımcı çözücü olarak ise etanol kullanılan SFE sürecinde 313.15 – 323.15 K sıcaklık ve 100 – 300 bar basınç aralığında çalışılmış, süreci tanımlayan matematiksel model araştırılmıştır. SFE sürecinde en yüksek ekstrakt verimi 50°C, 250 bar, 17 ± 2 g/min sabit çözücü akış hızı ve % 8 (w/w) etanol derişimindeki işletme koşullarında 5 h ekstraksiyon süresi sonunda 3.0 ± 0.6 (% w/w) olarak belirlenmiştir. Ayrıca en yüksek ekstraksiyon verimleri, diğer ekstaksiyon yöntemleri (% 0.0191 ± 0.07 – 30 ± 2, w/w) ile kıyaslandığında Soxhlet metodu (% 1.12 ± 0.04 – 39.7 ± 0.6, w/w) ile elde edilmiştir. SFE ve düşük basınç ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen portakal posası ekstraktlarının antioksidan kapasiteleri belirlenmiş ve sentetik bir antioksidan madde olan BHT (bütillenmiş hidroksitoluen) ve ticari soğuk sıkma portakal yağı ile karşılaştırılmıştır. SFE sürecinde en yüksek fenolik madde içeriği 300 bar/40°C ve

250 bar/50°C işletme koşullarında % 2 ve % 5 (w/w) yardımcı çözücü kullanılarak sırasıyla (36±2 mg GAE/g, 35±4 mg GAE/g ve 35±1 mg GAE/g) bulunmuştur.

250 bar/50°C'de (% 2, % 5 ve % 8) yardımcı çözücü eşliğinde elde edilen SFE ekstraktlarının, antioksidan potansiyeli bakımından istatistiksel olarak BHT antioksidan potansiyeline eşit olduğu sonucuna varılmış ve aynı zamanda ticari soğuk sıkma portakal yağına uygulanan antioksidan aktivite yöntemlerinde iyi sonuçlara ulaşamadığı belirtilmiş ve antioksidan bileşiklerin ekstraksiyonu için SFE tekniğinin yüksek bir potansiyele sahip olduğu vurgulanmıştır. GC-MS sonuçlarına göre portakal posası yağında bulunan ana bileşenler l-limonen, palmitik ve oleik asit, n-butil benzensülfonamid ve β-sitosterol olarak belirlenmiştir.

Abeyasinghe (2007) ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada iki mandalina türü (*Citrus unshiu*, *Citrus reticulata*), bir portakal türü (*Citrus sinensis*) ve Çin'e özgü bir hibrit tür (*Citrus changshanensis*) turunçgilin, meyve suyu kesecikleri (JS), segment zar (SM) ve segment (Seg) olmak üzere farklı yenilebilir dokularının biyoaktif bileşenleri ve ferrik indirgeyici antioksidan aktivitesi (FRAP) ile toplam antioksidan kapasite içeriği araştırılmıştır. Fenolik bileşikler % 80 metanol/su (v/v) ile hazırlanmış 1.2 M, 5 ml HCl ile ekstrakte edilmiş olup; toplam fenolik madde, toplam flavanoid madde ve flavanon içeriği belirlenmiştir. HPLC analizleri ile naringin ve hesperidin olmak üzere iki adet flavanon belirlenmiş olup, seçilen turunçgil türlerinin farklı yenilebilir kısımlarındaki naringin ve hesperidin miktarında çarpıcı derecede değişiklikler olduğu ifade edilmiştir. Naringin sadece C. Changshanensis türünde belirlenmiş ve JS, Seg ve SM kısımlarında sırasıyla 19.3, 75.9 ve 492 mg/100 g FW bulunmuştur. SM kısmının naringin içeriğininin toplam fenolik içeriğin % 53.7'sini oluşturması nedeniyle C. Changshanensis türünün SM kısmında bulunan ana fenolik bileşenin naringin olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca hesperidin C. Changshanensis türünün JS ve Seg kısımları hariç seçilen tüm türlerin yenilebilir dokularında bulunmuştur. Deneysel sonuçlar hesperidin Citrus unshiu, Citrus reticulata ve Citrus sinensis türlerinde toplam fenolik içeriğin % 18.5 – 38.5'ini oluşturduğunu göstermiş ve bu türlerde bulunan ana fenolik bileşenin hesperidin olduğu sonucuna varılmıştır [Abeyasinghe vd., 2007].

Portakal suyu üretiminden sonra geride kalan portakal kabuklarının çözücü içermeyen, çevreci bir yaklaşımla biyo-dönüşümü üzerine yürütülen bir çalışmada; çözücü olarak, heksojen bir çözücü yerine sadece süreçten geri dönüşüm ile sağlanan endojen su kullanılarak, yüksek ekstraksiyon verimleri sağlayan mikrodalga ve ultrason destekli ekstraksiyon süreçleri ile esansiyel yağ, polifenol ve pektin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Esansiyel yağ ekstraksiyonu Mikrodalga Hidrodifüzyon ve Gravity (MHG) yöntemi ile optimize edilmiş ve buhar distilasyonu ile karşılaştırılmıştır. Ekstraksiyon verimlerinde belirgin bir farklılık belirlenmemiş olup, MHG ve buhar distilasyonu için sırasıyla % 4.22 ± 0.03 ve % 4.16 ± 0.05 verim elde edilmiştir. Esansiyel yağ ekstraksiyonundan sonra kabuktan elde edilen atık su, MHG ekstraksiyonu kalıntılarından polifenol ve pektin ekstraksiyonu için çözücü olarak kullanılmıştır. Polifenollerin ekstraksiyonu klasik ekstraksiyon ve ultrasonik ekstraksiyon ile gerçekleştirilmiş ve süreç değişkenlerinin ultrason destekli ekstraksiyon üzerine etkilerini araştırmak için Yanıt Yüzey Yöntemi (RSM) kullanılarak merkezi kompozit dizayn (CCD) yaklaşımı uygulanmıştır. İstatiksel analizler, 50.02 mgGA/100 g dm polifenol verimi elde etmek için optimum koşulların, ultrason gücü 0.956 W/cm^2 ve sıcaklığı 59.83°C olduğunu göstermiştir. Toplam fenolik içerik, Folin Ciocalteu metoduna göre belirlenmiş ve klasik ekstraksiyon ve ultrasonik ekstraksiyon süreçlerinde sırasıyla 41.23 ve 58.55 mg GA/100 g dm verim gözlenmiş; klasik ekstraksiyon ile kıyaslandığında, ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile toplam fenolik içerik veriminin % 30 arttığı belirtilmiştir. Bu durum HPLC analizleri ile de desteklenmiş ve her iki ekstraksiyon sürecinde de portakalda bulunan ana flavanon glikozitlerin narirutin ve hesperidin olduğu sonucuna varılmış ve klasik ekstraksiyon ile 1.18 mg/g dm hesperidin, 0.11 mg/g dm narirutin; ultrasonik ekstraksiyonda ise 1.45 mg/g dm hesperidin, 0.55 mg/g dm narirutin ekstrakte edilmiştir. Pektin klasik ve mikrodalga destekli ekstraksiyon ile ekstrakte edilmiş ve bu teknik ile mikrodalga gücü 500 W iken sadece 3 min işletim süresinde % 24.2 maksimum verim elde edilirken, klasik ekstraksiyon ile 120 min sonunda % 18.32 verim elde edilmiştir. Araştırmacılar çalışma sonucunda 100 kg portakaldan 20 kg kabuk, 346 g esansiyel yağ, 11.71 g gallik asit eşdeğeri polifenol, 4.83 kg pektin ve 43.3 kg portakal suyu elde edildiğini vurgulamışlardır [Boukroufa vd., 2015].

Khan ve ark. (2010) portakal (*Citrus sinensis L.*) kabuğundan polifenollerin özellikle flavanon glikozitlerin ultrason destekli ekstraksiyon sürecini incelemişlerdir. İstatiksel analizler; sıcaklık 40°C, sonikasyon gücü 150 W ve çözücü olarak 4:1 (etanol/su) oranının optimum koşullar olduğunu göstermiştir. Ayrıca 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 ve 2.5 cm² tanecik büyüklüğündeki portakal kabukları ile yapılan ön çalışmalarda sırasıyla % 3.44, % 3.65, % 4.32, % 4.41 ve % 4.38 verim elde edilmiş ve ekstraksiyon deneylerinde 2.5 cm² tanecik büyüklüğü, optimum değer olarak seçilmiştir. Klasik ve ultrason destekli ekstraksiyon teknikleri ile yürütülen karşılaştırmalı deneylerde optimum koşullarda gerçekleştirilen ultrason destekli ekstraksiyon ile en yüksek, toplam fenolik içerik (275.8 mg gallik asit eşdeğeri /100 g FW), flavanon derişimi (70.3 mg naringin ve 205.2 mg hesperidin/100 g FW) ve ekstraksiyon verimine (%10.9) ulaşılmıştır. Klasik ekstraksiyon sürecinde ise sırasıyla 50.9 ve 144.7 mg/100 g FW naringin ve hesperidin ekstrakte edilmiş, % 8.6 ekstraksiyon verimi kaydedilmiştir. Araştırmacılar, ekstraksiyon kinetiği üzerine yürüttükleri çalışmalar sonucunda her iki sürecin ekstraksiyon hız sabitini ve aktivasyon enerjisini belirlemişler ve toplam fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunun, ultrason altında ($k = 0.10 (\pm 0.01) \text{ min}^{-1}$) klasik prosedüre ($k = 0.03 (\pm 0.01) \text{ min}^{-1}$) göre 3 kat daha hızlı gerçekleştiğini ve bu durumu destekler biçimde ultrasonik ekstraksiyon sürecinin aktivasyon enerjisinin, (6.34 kJ/mol) klasik ekstraksiyon sürecine göre daha küçük olduğunu vurgulamışlardır. Ayrıca ekstraktların antioksidan aktivitesi DPPH ve ORAC testleri ile belirlenmiş ve ultrasonik ekstraksiyon tekniğinin sentetik antioksidan maddelerin yerini alabilecek antioksidan içerik bakımından zengin bitki ekstraktlarının hazırlanmasında çevre dostu bir süreç olduğu belirtilmiştir [Khan vd., 2010].

Japonya'ya özgü bir hibrit tür olan ve yuzu olarak bilinen (*Citrus ichangensis x C. Reticulata var. Austrera*) turunçgil kabuklarındaki flavonoidlerin süperkritik karbondioksit (SC-CO₂) ekstraksiyon süreciyle eldesinin incelendiği bir çalışma; 30 MPa basınç, 80 – 160°C sıcaklık koşullarında yürütülmüştür. Çalışmada yardımcı çözücü olarak % 0 – 100 derişiminde etanol - su karışımı kullanılmış, SC-CO₂ ve yardımcı çözücü akış hızı sırasıyla, 3.0 ve 0.2 mL/min değerlerinde sabit tutulmuştur. Yuzu flavedo kısımlarından, SC-CO₂ ekstraksiyonu ile 60°C, 20 MPa işletim koşullarında esansiyel yağ kazanıldıktan

sonra geride kalan kalıntı dondurularak kurutulmuş, öğütülmüş ve 170 – 450 µm tanecik büyüklüğünde sınıflandırılmıştır. Toplam flavonoid miktarının belirlenmesi amacıyla, 0.1 g numune % 50 metanol/DMSO çözeltisiyle (metanol/DMSO=1/1, v/v) ekstrakte edilmiştir. Flavonoidlerin ekstraksiyonunda yardımcı çözücü etkisinin belirlenmesi amacıyla, farklı oranlarda etanol- su karışımları kullanılmıştır. Naringin ve hesperidinin yapısında şeker grupları bulunması nedeniyle diğer flavanoidlere göre daha polar oldukları belirtilmiş ve etanol içine su eklendiğinde bu iki flavanoidin daha iyi ekstrakte edildiği bildirilmiştir. Phloretin veriminin ise su eklenmesi ile belli oranda artmasına rağmen, su derişiminin % 20'den % 50'ye artması ile verimde yaklaşık % 15 azalma meydana geldiği belirtilmiştir. Tangeretin verimi ise etanol derişimi ile artma eğilimi göstermiş ve bu durum tangeretin yapısında birçok metil grupları bulunmasından dolayı polaritesinin daha düşük olması ile ilişkilendirilmiştir. Sıcaklığın flavanoid verimine etkisi 30 MPa basınçta 80, 120 ve 160°C sıcaklık değerlerinde yardımcı çözücü olarak sadece su kullanılarak araştırılmıştır. Naringin ve hesperidin derişimi, sıcaklık artışıyla artmış ve flavonoid glikozitlerin sadece çevre dostu (green solvent) çözücülerle ekstakte edilebileceğinin altı çizilmiştir. Ancak yüksek sıcaklıklarda flavonoid yapısının bozulması nedeniyle 160°C'de ekstraksiyon veriminin oldukça düştüğü belirtilmiştir [Suetsugu vd., 2013].

Yu ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, SC-CO₂ ekstraksiyon tekniği ile greyluft (*Citrus paradisi Macf.*) tohumlarından limonin ve limonin-17-β-D-glukopiranozit (LG) gibi önemli limonoidler ve flavonoid naringin ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon iki aşamada gerçekleştirilmiştir. 1. aşamada çözücü olarak sadece SC-CO₂ kullanılarak 34.5 MPa, 41.4 MPa ve 48.3 MPa basınç; 40, 50 ve 60°C sıcaklık; 20, 40 ve 60 min ekstraksiyon sürelerinde çalışılarak limonoid aglikonlar, 2. aşamada ise aynı basınç ve sıcaklık değerlerinde SC-CO₂ ve yardımcı çözücü olarak % 10, % 20 ve % 30 oranlarında etanol kullanılarak limonoid glikozitler ve naringin ekstrakte edilmiştir. Çözücü akış hızı tüm deneylerde, 5 L/min olacak şekilde sabit tutulmuştur. En yüksek limonin verimine (6.3 mg/g tohum), 48.3 MPa basınç, 50°C sıcaklık ve 60 min ekstraksiyon süresi koşullarında ulaşılırken, en yüksek LG verimi (0.62 mg/g tohum), 41.4 MPa basınç, 60°C sıcaklık, 40 min ekstraksiyon süresi ve % 30 etanol derişiminde elde edilmiştir.

Maksimum naringin verimi ise 41.4 MPa basınç, 50°C sıcaklık ve % 20 etanol derişiminde, 40 min ekstraksiyon süresi sonunda 0.2 mg/g tohum olarak belirlenmiştir [Yu vd., 2007].

Giannuzzo ve arkadaşlarının taze ve kurutulmuş greyluft (Citrus paradisi L.) kabuklarından naringin eldesini amaçladıkları çalışmada, SC-CO₂ ekstraksiyon süreci ile ulaşılan ekstraksiyon verimi; maserasyon, reflux ve Soxhlet olmak üzere alternatif klasik ekstraksiyon metotlarıyla kıyaslanmıştır. Maserasyon ekstraksiyonu 100 ml etanol:su (70:30 v/v) kullanılarak oda sıcaklığında (22 – 25°C) 30 h, reflux ekstraksiyonu aynı çözücü ve sıcaklık koşullarında 3 h işletme süresinde yürütülmüştür. Soxhlet ekstraksiyon deneyleri ise 200 ml etanol kullanılarak 8 h süre ile gerçekleştirilmiştir. SC-CO₂ ekstraksiyonu ile taze kabuklardan maksimum naringin verimi (14.4 g/kg), 95 bar basınç, 58.6°C sıcaklık ve yardımcı çözücü olarak % 15 etanol derişiminde, 45 min ekstraksiyon süresi koşullarında elde edilmiştir. Aynı koşullarda kurutulmuş kabuklardan 6.8 g/kg naringin ekstrakte edildiği belirtilmiştir. Bu verim değerlerinin, maserasyon (11.1 g/kg - 24h) ve reflux (13.5 g/kg -3h) metotlarından yüksek, Soxhlet (15.2 g/kg -8h) metoduna oldukça yakın olduğu rapor edilmiştir. Yöntemlerin ekstraksiyon seçiciliğinin benzer olmasına karşın, SC-CO₂ ekstraksiyonunun daha az çözücü gerektirdiği ve daha kısa ekstraksiyon sürelerinde çalışma imkanı sağladığı vurgulanmıştır [Giannuzzo vd., 2003].

Ramful ve ark. tropik bir ülke olan Maritus'ta yetişen 21 çeşit turunçgil kültürünün pulp kısımlarının toplam çözünebilir madde, (TSS, total soluble solids), titre edilebilir asitlik (TA, titratable acidity), polifenol bileşimi ve C vitamini içeriğini belirlemişlerdir. 500 mg dondurularak kurutulmuş turunçgil pulp tozuna 5 ml % 80 metanol eklenerek vortekslenmiş ve bir gece boyunca 4°C'de bırakılmıştır. 4500 rpm'de 15 min santrifüj işlemi uygulandıktan sonra berrak üst faz alınmış, geride kalan kalıntıya 5 ml % 80 metanol çözeltisi eklenerek aynı prosedür uygulanmıştır. Ardından arta kalan kalıntı üzerine son hacim 12 mL olacak şekilde 2 mL % 80 metanol eklenmiştir. Üç ekstraksiyon aşamasında elde edilen üst fazlar bir araya getirilerek toplam fenolik ve flavonoid madde miktarı araştırılmıştır. Ekstraktların toplam fenolik içeriği 406.3 ± 14 – 1694 ± 19 µg/g yaş kütle (FW)

değerleri arasında, toplam flavonoid içeriği $133 \pm 6 - 965 \pm 7 \mu\text{g/g FW}$ ve C vitamini içeriği $166 \pm 19 \mu\text{g/mL} - 677 \pm 22 \mu\text{g/mL}$ olarak belirlenmiştir. Meyvenin tatlılık derecesinin bir ölçüsü kabul edilen TSS/TA oranı, pummelo (*Citrus maxima*) kültürü pulplarında en yüksek iken, limon pulpları en düşük değeri sergilemişlerdir. Pulp ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri değerlendirilmiş ve toplam fenolik içeriği troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC), ferik indirgeyici antioksidan kapasite (FRAP) ve hipokloroz asit süpürücü aktivite (HOCl) değerlendirmeleriyle ilişkilendirilmiştir. Araştırmacılar gösterdikleri antioksidan aktivitelerine dayanarak bir portakal, tangor, kamkat, klamondin ve pummelo türleri, iki mandalina ve tangelo türleri olmak üzere dokuz turunçgil meyvesinin flavanon, flavanol ve flavon seviyelerini HPLC yöntemi ile belirlemişlerdir. Hesperidin ($6.89 \pm 0.06 - 26.98 \pm 0.07 \text{ mg/g FW}$) ve narirutinin ($0.27 \pm 0.01 - 20.91 \pm 0.10 \text{ mg/g FW}$) pulp ekstraktlarında bulunan diğer flavonoid glikozitler ile kıyaslandığında daha yüksek derişimlerde bulunduğu bildirilmiştir. Naringinin ise sadece pummelo pulp ekstraktlarında bulunduğu rapor edilmiştir [Ramful vd., 2011].

Ramful ve ark. yine Maritusta yetişen 21 çeşit turunçgil meyvesinin flavedo kısımlarının toplam fenolik, flavonoid ve C vitamini içeriğini ve FRAP, TEAC ve HOCl yöntemleri ile antioksidan aktivitesini değerlendirmişlerdir. En yüksek antioksidan aktivite gösteren birer portakal, klementin, tangor ve pummelo kültürü, iki tangelo ve iki mandalina kültürü olmak üzere dokuz turunçgil meyvesinin flavanon, flavanol ve flavon seviyeleri HPLC ile belirlenmiş ve antioksidan aktiviteleri bakır - fenantrolin ve demir bağlama teknikleriyle değerlendirilmiştir. Hesperidin pummelo kültüründe belirlenemezken, diğer tüm flavedo ekstraktlarında en yüksek seviyede bulunmuştur. Hesperidin derişimi $83 \pm 0.06 - 234 \pm 1.73 \text{ mg/g FW}$ aralığında saptanırken, poncirin, didimin, diosmin, isorhoifolin ve narirutin tüm ekstraktlarda naringin ise sadece bir mandalina kültüründe saptanmıştır. Ekstraktların antioksidan aktivite yöntemleri ile belirlenen DNA koruyucu yeteneği ve metal bağlama özelliklerinin yüksek olduğu belirtilerek turunçgil meyvelerinin flavedo kısımlarının, koruyucu özellik göstermesi nedeniyle fonksiyonel gıdaların gelişiminde fenolik antioksidan kaynağı potansiyelinin olduğu ifade edilmiştir [Ramful vd., 2010].

Toledo-Guillen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada biyomedikal araştırmalarda önemli bir yeri olan flavonoidlerin portakal kabuğundan süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmesi amaçlanmıştır. Portakal kabuğu ekstraktlarında, flavanon glikozitler hesperidin ve narirutin; polimetoksi flavonlar (PMFs); sinensetin, nobiletin, tetrametilskutelerin ve tangeretin belirlenmiştir. SCF ekstraksiyon süreci ile özütlenen flavonoid ekstraktlar organik çözücü ekstraksiyonu (metanol : dimetil sülfoksit, 1:1 v/v) ile kıyaslanmıştır. SCF ekstraksiyon süreci ile 27.5 MPa, 323 K ve % 23 etanol (w/w) koşullarında klasik çözücü ekstraksiyonu ile elde edilenden iki katı PMFs verimine ulaşılmış ve daha polar ve daha yüksek molekül kütleli bileşikler olan flavanon glikozitlerin ekstraksiyonunda organik çözücü ekstraksiyonunun daha etkili olduğu belirtilirken, PMFs gibi daha az polar yapıda olan flavonoidlerin ekstraksiyonunda ise SCF yönteminin oldukça etkin ve seçici olduğu sonucuna varılmıştır [Toledo- Guillen vd., 2010].

Russo ve ark. limonun endüstriyel süreçten geçtikten sonra meydana gelen çekirdek, kabuk, pulp ve atık su olmak üzere tüm yan ürünlerindeki biyoaktif moleküllerin dağılımını belirlemişlerdir. Araştırmacılar limon yan ürünlerinin, özellikle flavonlar, flavanonlar, fenolik asitler, limonoidler, karotenoitler, kumarinler, furokumarinler, polimetoksi flavonlar ve besinsel lif vb. gibi son derece zengin biyoaktif moleküller içermesine rağmen bertaraf edilmek üzere gönderildiğini vurgulamışlardır. Flavonoidleri, karotenoitleri, limonoidleri ve oksijenli heterosiklik bileşenleri ekstrakte etmek için tüm örnekler, çözücü (metanol, etanol, etil asetat ve petrol eteri) ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Analizler HPLC/PDA/MS tekniği ile yapılmıştır. Analizlenen tüm örneklerde flavanonlar, hesperidin ve eriositrin; flavonlar apigenin 6,8-di-C-glukozit ve diosmetin 6,8-di-C-glukozit en fazla miktarda bulunan bileşikler olarak saptanmıştır. Limon çekirdeklerinde en fazla sayıda bileşen belirlenirken, posada kantitatif olarak en yüksek biyoaktif bileşik miktarı (6737 mg/kg) bulunmuştur. En yüksek fenolik asit miktarı çekirdeklerde belirlenmiş ve çekirdeklerin gallik asit, p-kumarik asit ve protokateşik asit saptanan tek yan ürün olduğu bildirilmiştir. Tüm örneklerde p-hidroksibenzoik asit en çok bulunan benzoik asit türeviyken, sinamik asit konsantre limon suyunda, kafeik asit çekirdekte, sinapik asit kabuk ve pulp kısımlarında en yüksek miktarda bulunan fenolik asitler olduğu rapor edilmiştir. Tüm limon yan ürünleri oldukça sarı renkli

olmasına rağmen, örneklerde karoten ve ksantofil madde belirlenememiş, bu durum; bu bileşiklerin endüstriyel işleme ve depolama süreçlerinde izomerizasyon ve oksidasyon sonucu kimyasal bozunmaya uğramış olmalarından kaynaklanıyor olabileceği belirtilmiştir [Russo vd., 2014].

Lee ve ark. *Citrus depressa* Hayata turunçgil kabuklarından süperkritik akışkan ekstraksiyonu ile iki polimetoksiflavon (PMFs) nobiletin ve tangeretin eldesinde, ürün verimine etki eden yardımcı çözü türü, bileşimi (etanol-su yüzdesi) ve yüzdesi, ekstraksiyon koşulları; sıcaklık, basınç, CO₂ akış hızı ve tanecik büyüklüğünün etkisini araştırmışlardır. Nobiletin ve tangeretin içeriği HPLC ile belirlenmiştir. Yardımcı çözücü etkisinin incelenmesi amacıyla sulu etanol ve metanol çözeltileri (alkol/su – 85/15, v/v) kullanılmış ve sulu etanol çözeltilisinin nobiletin ve tangeretin seçimli ekstraksiyonunda en uygun çözücü olduğu belirlenmiştir. Ayrıca sulu metanol çözeltisi kullanıldığında, HPLC kromatogramlarından hesperidin gibi daha polar bileşikler ekstrakte edildiği gözlenmiştir. Ekstraksiyon verimi ve kinetiğini kıyaslamak amacıyla SFE sürecine paralel olarak klasik katı-sıvı ekstraksiyonu ve Soxhlet ekstraksiyon deneyleri yürütülmüştür. SFE süreci ile en yüksek tangeretin ve nobiletin verimine (15.58 mg/g kuru kabuk) 80°C sıcaklık, 30 MPa basınç, 3 mL/min CO₂ akış hızı, 0.375 mm tanecik büyüklüğü, % 9.1 yardımcı çözücü (etanol/su-85/15 v/v) yüzdesi koşullarında ve 80 min ekstraksiyon süresi sonunda ulaşılmıştır. SFE süreci ile elde edilen nobiletin ve tangeretin miktarının katı-sıvı ekstraksiyonu (14.56 mg/g kuru kabuk) ve Soxhlet ekstraksiyonundan (14.34 mg/g kuru kabuk) özütlenen miktarlara göre yaklaşık % 7 daha fazla olduğu aynı zamanda SFE süreciyle kazanılan ekstraktların saflığının (% 35.3), katı-sıvı ekstraksiyon prosedürüne (% 4.9) göre yaklaşık % 7.2 kat daha yüksek olduğunun altı çizilmiştir [Lee vd., 2010].

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. MATERYAL

Tez çalışması kapsamında, meyve suyu endüstrisinde atık materyal olarak açığa çıkan limon (*Citrus limon (L.) Burm. F*) ve portakal (*Citrus Sinensis L. Osbeck*) posalarından, antioksidan aktivite gösteren fenolik bileşiklerin çevre dostu bir ekstraksiyon yöntemi olan süperkritik akışkan ekstraksiyonu süreci ile eldesine yönelik yürütülen deneysel çalışmalarda kullanılan limon ve portakal posaları, Anadolu Etap Gıda San. ve Tic. A.Ş. (Mersin) meyve suyu fabrikasından sağlanmıştır. İşletmeden alınan posalar, düşük yoğunluklu ağzı kilitli polietilen poşetlere konularak Mersin Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü altyasındaki soğuk hava deposunda -23°C’de muhafaza edilmiştir.

SFE sürecinde, süperkritik akışkan olarak % 99.9 saflıkta CO₂ (Linde) ve yardımcı çözücü olarak % 99.5 saflıkta etanol (Merck); Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilen organik çözücü ekstraksiyon işlemlerinde ise çözücü olarak % 99 saflıkta metanol (Merck) kullanılmıştır.

Analizlerde; toplam fenolik madde tayini için Folin Ciocalteu fenol reaktifi (2 N, Merck), sodyum karbonat (Merck); antioksidan aktivite tayini için DPPH reaktifi (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil, Sigma-Aldrich), toplam flavonoid madde tayini için sodyum nitrit, alüminyum klorit ve sodyum hidroksit (Merck) reaktifleri ve çözücü olarak etanol ve metanol (HPLC düzey, ≥ 99.9%, Merck) kullanılmıştır.

Standartlar; gallik asit, kuersetin ve trolox analitik saflıkta olup Sigma - Aldrich'ten satın alınmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Örneklerin Hazırlanması

3.2.1.1. Posaların kurutulması

Tez çalışması kapsamında kullanılan posalar, bir gün önceden soğuk hava deposundan çıkarılarak, +4°C’de çalışan buzdolabında bekletilmiştir. Çözümleri sağlanan posalar oda sıcaklığında, direkt güneş ışığından uzakta ve gölgede muhafaza edilerek yaklaşık 2 – 3 gün kurutulduktan sonra matris gözeneklerinde bulunan nemin tümüyle uzaklaştırılması amacıyla 40°C’de etüvde 6 – 7 h boyunca kurutma işlemine devam edilerek örneklerin tamamen kurumaları sağlanmıştır. Ayrıca fabrikadan temin edilen limon posalarının, portakal posalarına nazaran daha az endüstriyel işlem sürecinden geçmiş olmaları nedeniyle kurutma işlemi öncesi, limon posa içeriğindeki kabuklar, bir bıçak yardımıyla daha homojen küçük parçalara ayrılmış ve kurutma yüzey alanının artırılması sağlanmıştır.

3.2.1.2. Posaların nem içeriği

Ekstraksiyon öncesi, limon ve portakal posalarının nem içeriğinin belirlenerek hesaplamaların kuru temel üzerinden ifade edilebilmesi amacıyla deneysel çalışmalarda kullanılacak örneklerin nem içeriği belirlenmiştir.

Öncelikle portakal posasının içerdiği nem miktarının belirlenmesi amacıyla daha önceden etüvde 105°C’de sabit tartıma getirilen 4 adet cam petri kabına ince bir katman oluşturacak şekilde yaklaşık 35 ve 40 g posa alınmış ve “3.2.1 Örneklerin Hazırlanması” bölümünde belirtilen koşullarda bir ön kurutma işlemine tabi tutulmuştur. Daha sonra örnekler 40°C’deki etüvde (Elektro.mag, M420-P, Türkiye) her 3 h’de bir tartılmış ve kurutma işlemi sabit tartıma getirilinceye kadar sürdürülmüştür.

Limon posasının nem içeriği, portakal posasında olduğu gibi 105°C’de sabit tartıma getirilen 4 adet cam petri kabına yaklaşık 25 g örnek alınarak aynı şekilde belirlenmiştir. Portakal posasının nem içeriği kütlece % 88.65 ± 0.365 , limon posasının ise % 78.56 ± 0.84 olarak saptanmıştır. Limon posası örneklerinin nem içeriği hesabı Ek-2’de sunulmuştur.

3.2.1.3. Elek analizi

Kurutulmuş posalar, belirli tanecik büyüklüklerine sınıflandırılmadan önce laboratuvar tipi bir blendırda (Waring commercial) öğütme işlemine tabi tutulmuştur. Öğütme işlemi sırasında, örneklerin un şekline gelmesinin ve blendırın çalışma esnasında çok fazla ısınmasından dolayı örnekler yapışkanlık kazandırarak tekrar nem kapmalarına sebep olmasının önüne geçilmesi amacıyla, öğütme işlemi esnasında blendırda en yüksek hızda ve işlemin verimli bir şekilde gerçekleşmesini sağlayacak biçimde olabildiğince kısa sürede çalışılmaya dikkat edilmiştir.

Kurutulmuş ve öğütülmüş posa örneklerine 100, 224, 355 ve 500 µm gözenekliliğe sahip bir elek serisi kullanılarak Fritsch marka elek cihazı ile sınıflandırma işlemi uygulanmıştır. Elek analizi sonunda belli tanecik büyüklüklerine göre ayrılan örnekler, kilitli polietilen poşetlere konularak oda sıcaklığında, karanlıkta ve kapalı bir ortamda saklanmıştır.

3.2.2. Fenolik Bileşiklerin Ekstraksiyonu

3.2.2.1. Soxhlet ekstraksiyonu

Limon ve portakal posalarındaki fenolik bileşiklerin süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile eldesinde ekstraksiyon verimlerinin kıyaslanması amacıyla Soxhlet ekstraksiyon cihazı (Kex 100 F) ile >100, 100 – 224, 224 – 355, 355 – 500 µm tanecik büyüklük aralığındaki posalar kullanılarak gerçekleştirilen organik çözücü ekstraksiyon sürecinde çözücü olarak % 99 saflıkta 150 mL metanol kullanılmıştır. Kurutulmuş ve öğütülmüş posalardan yaklaşık 5 g örnek alınarak, metanolün kaynama noktasında yürütülen Soxhlet ekstraksiyon deneylerinde, limon posası için 8 h işletim süresinde, her bir tanecik büyüklük aralığı için 3 tekrar

yapılırken; Soxhlet ekstraksiyon yönteminin standart bir metot olması nedeniyle portakal posası için $> 100 \mu\text{m}$ tanecik büyüklüğündeki örnekler kullanılarak 16 h işletim süresinde 3 tekrarlı ve yine aynı tanecik büyüklüğünde 25 h süre ile 2 tekrarlı deneyler yapılmıştır.

Ekstraksiyon sürecinde kullanılan metanol, elde edilen fenolik ekstraktlardan vakum altında çalışan laboratuvar ölçekli bir döner buharlaştırıcı (Büchi, Rotavapor R-II Model, İsviçre) kullanılarak uzaklaştırılmış ve bu işlem sonucunda elde edilen ekstrakt miktarı gravimetrik olarak hesaplanmıştır. Soxhlet ekstraksiyon sürecinde fazla miktarda çözücü kullanımından kaçınabilmek ve geri kazanılan çözücünün bir sonraki ekstraksiyon işlemlerinde tekrar kullanılabilirliğinin irdelenmesi amacıyla belirli aralıklarla Soxhlet ekstraksiyonu sonrası geri kazanılan metanol ve kullanılmamış metanol örneklerinin Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrometre (FTIR), (Perkin Elmer, FT-IR/FIR/NIR, ATR) analizi yapılmış, spektrumlar karşılaştırılarak, ekstraksiyon işlemleri sonrası ele geçen çözücünün saf olarak geri kazanıldığı ispatlanmıştır. Bu nedenle deneysel çalışmalarda, Soxhlet ekstraksiyon deneylerinde; taze metanol üzerine, belirli miktarda ekstraksiyon işlemi sonrası geri kazanılan metanol de eklenerek çözücü sarfiyatı azaltılmıştır.

3.2.2.2. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında limon ve portakal posalarının süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci, Teledyne ISCO 260 D yüksek basınç şırınga pompa sistemi ve Teknosem marka TF R400 programlanabilir fırından oluşan süperkritik akışkan ekstraksiyon sisteminde incelenmiştir. Şekil 3.1'de gösterilen ekstraksiyon sisteminde 0 – 517 bar olmak üzere yüksek basınç sağlayabilen iki şırınga pompa ve kontrol ünitesi yer almaktadır. Her bir pompa, 266 mL iç hacme sahip, ayrı ayrı kullanıldıklarında 0.001 – 107 mL/min aralığında akış sağlayabilmektedir. Ekstraksiyon işlemleri 250 x 4.6 mm boyutlarındaki bir HPLC kolonunda gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi

Posaların SFE sürecinde, süperkritik akışkan olarak yüksek saflıkta CO₂ ve yardımcı çözücü kullanılarak gerçekleştirilen deneylerde ise etanol kullanılmıştır. Tüm deneysel çalışmalarda, ekstraksiyon hücresine 100 µm tanecik büyüklüğüne sahip posa örneklerinden yaklaşık 2 g konulduktan sonra, hücrenin giriş ve çıkışları frit ve cam yünü ile kapatılmış ve ekstraksiyon hücresi fırının içine monte edilmiştir. Sıvı CO₂ tüpünden alınan CO₂, yüksek basınç şırınga pompa yardımıyla beslenerek, ekstraksiyon hücresinin istenilen işletme basınç değerine ulaşması sağlanmıştır. Daha sonra fırın istenilen sıcaklık değerine ayarlanarak, ekstraksiyon hücresi işletme sıcaklığına getirilmiştir.

Deneyler limon posası örnekleri için sadece SC-CO₂ kullanıldığı durumlarda 100 bar basınçta 40, 50 ve 60°C sıcaklık koşullarında, yardımcı çözücü olarak etanol kullanıldığı süreçlerde ise 100, 150 ve 200 bar basınç; 40, 50 ve 60°C sıcaklık değerlerinde çalışılmıştır. Yardımcı çözücü olarak kullanılan etanol, ekstraksiyon hücresinin içerisine ilave edilmiştir. Portakal posasının SFE süreci 40°C sıcaklık ve 100, 150 ve 200 bar basınç parametrelerinde, yardımcı çözücü etanol eşliğinde yürütülmüştür. Her iki posanın SFE sürecinde optimum işletim süresinin belirlenmesine yönelik denemeler yapılmış; bu denemeler sonucunda 3.5 h'lik işletme süresi boyunca statik olarak çalışılmıştır. SFE ekstraksiyon sürecinin kinetiğinin daha iyi anlaşılması ve ekstrakte edilen fenolik madde miktarının hesaplanabilmesi amacıyla ilk 2 h sonunda ve sonraki 1.5 h sonunda çıkış vanası

yardımıyla örnekler alınmıştır. Örnekler 50°C de etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. Kurutma işleminin sonunda ekstrakte edilen fenolik madde miktarı gravimetrik olarak belirlenmiştir. Deneyle her bir parametre için 2 kez tekrar edilmiş ve aritmetik ortalama değerleri kullanılmıştır. Ekstraksiyon verim değerlerinin hesaplanmasına yönelik eşitlik E-1’de sunulmuştur.

3.2.3. Ekstraktların Analizi

3.2.3.1. Toplam fenolik madde tayini

Ekstraktların toplam fenolik madde analizi spektrofotometrik Folin-Ciocalteu yöntemine (Slinkard ve Singleton 1977) göre tayin edilmiştir.

Bu yöntemle göre, SC-CO₂ ekstraksiyonu ve Soxhlet metodu ile elde edilen ekstrakt örneklerinden 100 µL alınarak bir tüpe konulmuştur. Üzerine 7900 mL distile su ve 500 µL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiş ve vorteks (ViseMix VM-10) ile karıştırıldıktan sonra 2 min oda sıcaklığında, karanlıkta inkübasyona bırakılmıştır. Daha sonra karışıma 1.5 mL % 20’lik (w/v) NaCO₃ çözeltisinden eklenerek tekrar vortekslenmiştir. Na₂CO₃ çözeltisinin eklenmesinin nedeni reaksiyonun bazik ortamda gerçekleşmesidir. Elde edilen karışım yine oda sıcaklığında, karanlıkta 2 h bekletildikten sonra oluşan mavi renkli çözeltilerin absorbansı UV- spektrofotometrede (Chebios, Optimum-one Uv&Vis, İtalya), 765 nm dalga boyunda metanole (köre) karşı okunmuştur.

Bu analiz için 5 g/L standart gallik asit çözeltisi kullanılarak bu stok çözeltiden farklı derişimlerdeki dilüsyonlar ile üç tekrarlı çalışılarak bir kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir. Sonuçlar elde edilen eğrinin regrasyon eşitliğinden yararlanılarak gallik asit eşdeğeri üzerinden µg GAE/g kuru posa olarak ifade edilmiştir.

Her bir örnek için spektrometrik ölçümler iki kez tekrarlanmış olup, toplam fenolik içerik iki tekrarlı ölçümlerin ortalaması alınarak belirtilmiştir.

3.2.3.2. Toplam flavonoid madde tayini

Ekstraktların toplam flavonoid miktarı Alüminyum Klorür/Sodyum Nitrit yöntemine göre spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Uygun oranda seyreltilmiş 500 µL ekstrakt örneği içinde 4 mL distile su bulunan bir tüpe aktarıldıktan sonra üzerine 0.3 mL % 5'lik sulu NaNO₂ çözeltisi eklenerek karışım vortekslenmiştir. 5 min beklendikten sonra karışıma 0.3 mL % 10'luk sulu AlCl₃ çözeltisi eklenmiştir. AlCl₃ eklendikten 1 min sonra 2 mL, 1 M NaOH eklenerek tüpteki toplam hacim distile su ile 10 mL'ye tamamlanmış, elde edilen karışım tekrar vortekslenildikten sonra 510 nm'deki absorbansı suya karşı okunmuştur [Kim vd., 2003].

Her bir örnek için spektrometrik ölçümler iki kez tekrarlanmış olup, sonuçlar iki tekrarlı ölçümlerin ortalaması alınarak gösterilmiştir.

Ekstraktların toplam flavonoid miktarı belirli derişim aralıklarında üç tekrarlı çalışılarak hazırlanan kuersetin standart eğrisine göre hesaplanmış, sonuçlar kuersetin eşdeğeri üzerinden mg kuersetin /g kuru posa olarak ifade edilmiştir.

3.2.3.3. Antioksidan aktivite tayini

Ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemine göre spektrofotometrik olarak Tuberoso vd., (2007) tarafından önerilen metod modifiye edilerek belirlenmiştir. Bu yöntem, DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) radikalinin hidrojen atomu vermeye yatkın olan bileşikler ile indirgenmesi sonucu çözeltinin ilk andaki mor renginin belli oranda kaybolması ve bu oranın belirlenmesi amacıyla çözeltinin absorbansının spektrofotometrik olarak ölçülmesi esasına dayanmaktadır.

Bu yönteme göre metanol ile 80 µM DPPH çözeltisi taze olarak hazırlandıktan sonra her bir Soxhlet ve SFE ekstraktı örneği için, 50 µL örnek alınarak üzerine 2 mL DPPH reaktifi eklenmiş ve daha sonra her bir karışım vortekslenerek iyice karıştırıldıktan sonra karanlıkta 30 min bekletilmiştir. İşlem sonunda her bir örneğin metanole karşı UV spektrofotometresinde 517 nm'deki absorbansları ölçülmüştür. Örneklerin ölçümleri iki kez tekrarlanmış olup, sonuçlar ölçümlerin aritmetik ortalamaları alınarak belirlenmiştir.

Ekstrakt örneklerinin antioksidan aktivitelerinin Trolox eşdeğeri antioksidan aktivite (TEAC, mmol/L) şeklinde ifade edilebilmesi amacıyla 1mM standart Trolox çözeltisinden belirli derişim aralıklarında dilüsyonlar ile üç tekrarlı ölçümler sonucunda standart bir Trolox kalibrasyon doğrusu elde edilmiş ve sonuçlar kuru posa olarak ifade edilmiştir.

DPPH çözeltisi ışığa karşı oldukça hassas olduğundan bozunmaması amacıyla daima karanlıkta saklanmış ve çözeltinin hazırlandığı balon jojenin etrafı alüminyum folyo ile sarılmıştır.

Ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid madde içerikleri ve antioksidan aktivitelerinin elde edilen kalibrasyon doğrularının regresyon eşitliği yardımıyla belirlenmesine yönelik örnek olarak, toplam fenolik madde içeriği için kullanılan eşitlik E-2'de sunulmuştur.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi ile meyve suyu endüstrisinde atık olarak meydana gelen limon ve portakal posalarından antioksidan aktivite gösteren fenolik ekstraktların elde edildiği bu çalışmada, temel işletme parametrelerinin ekstraksiyon süreci üzerindeki etkileri incelenmiş, ekstraktların toplam fenolik içeriği, toplam flavonoid içeriği ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Süreç sonunda elde edilen sonuçlar, Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile yapılan deney sonuçlarıyla karşılaştırılmıştır.

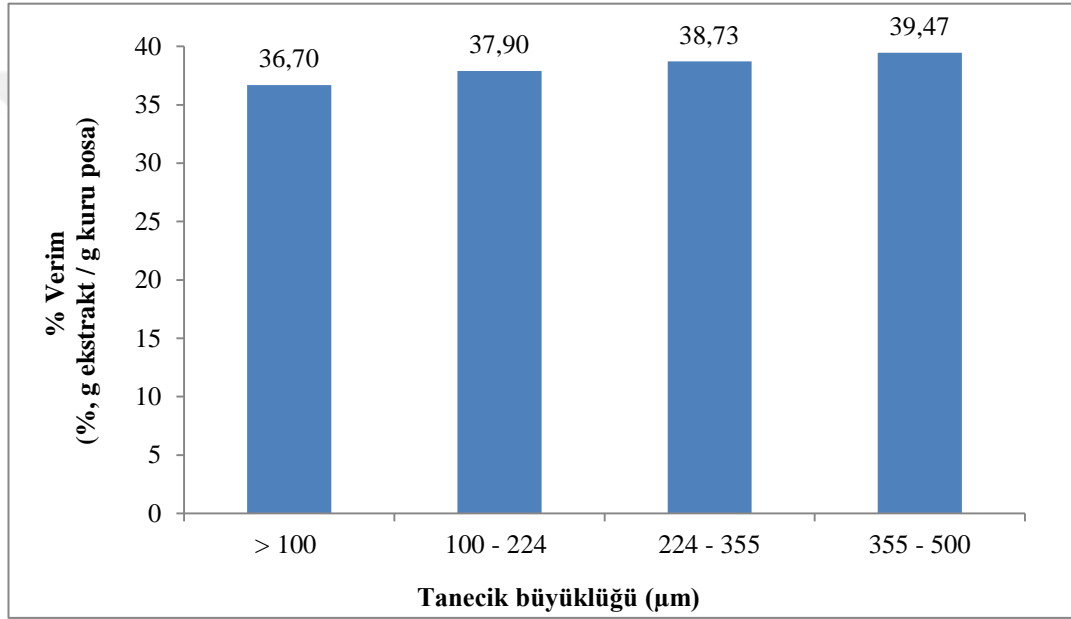
4.1. SOXHLET EKSTRAKSİYONU

Süperkritik akışkan ekstraksiyon sürecinin etkinliğinin; ekstraksiyon verimi, ekstraktların toplam fenolik ve flavonoid madde içeriği ve antioksidan aktivite potansiyeli aracılığıyla değerlendirilebilmesi ve ekstraksiyon sonuçlarının karşılaştırılması amacıyla çözücü olarak saf metanolün kullanıldığı Soxhlet ekstraksiyon süreci, limon posası için her bir tanecik büyüklüğünde 8 h süre ile gerçekleştirilmiş ve her bir işlem 3 kez tekrarlanarak, elde edilen verim değerlerinin aritmetik ortalaması alınmıştır. Portakal posasının Soxhlet (SOX) ekstraksiyon işlemleri ise >100 µm tanecik büyüklüğündeki örnekler kullanılarak, 16 h süre ile 3 kez tekrarlanarak yürütülmüştür. Buna ek olarak, portakal posasının Soxhlet ekstraksiyon sürecinde, ekstraksiyon süresinin, verim üzerindeki etkisini incelemek amacıyla aynı tanecik büyüklüğündeki örneklerle, 25 h ekstraksiyon süresinde 2 tekrarlı deneyler gerçekleştirilmiştir.

Literatürde turunçgil polifenollerini ekstrakte etmek ve polifenol oksidaz aktiviteyi azaltmak için en uygun çözücülerin metanol gibi polar çözücüler ve bu çözücülerin su ile uygun karışımlarının olduğu belirtilmektedir. Ayrıca fenolik asitlerin ekstraksiyon süreçlerinde yine çoğunlukla metanol ve DMSO gibi çözücülerin kullanıldığı bildirilmektedir [González-Molina vd., 2010]. Bu nedenle tez çalışması kapsamında SOX deneyleri, polarite indeksinin oldukça yüksek olmasından dolayı metanol ile yürütülmüştür. Yüksek polarite indeksi, dielektrik sabiti ve kohezif enerji çözücü molekülleri ve çözünen maddenin polar bileşikleri

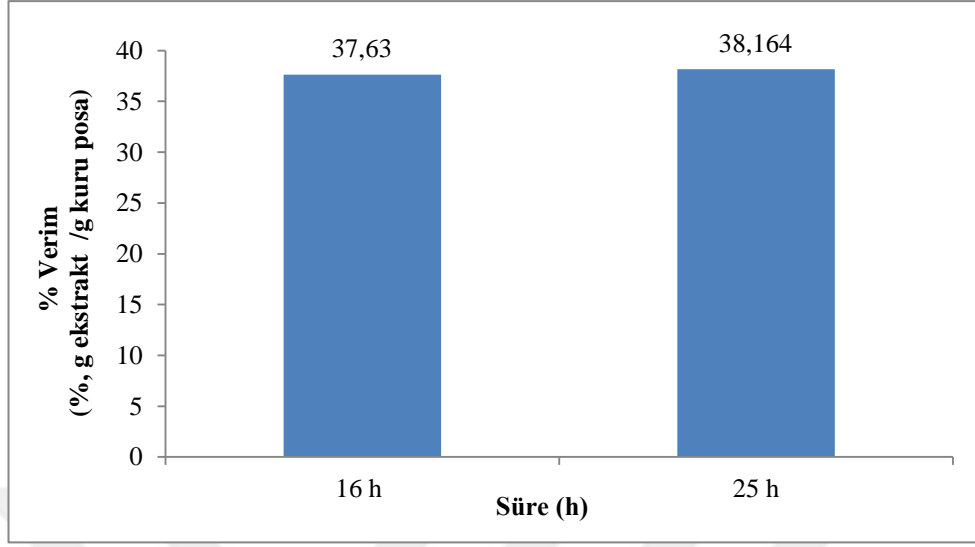
arasında güçlü bir bağ kurulmasını sağlayarak, polar bileşiklerin çözünmesini sağlamaktadır [Benelli vd., 2010].

Soxhlet ekstraksiyon işlemleri sonucunda limon posası için her bir tanecik büyüklük aralığında ($>100 \mu\text{m}$, $100 - 224 \mu\text{m}$, $224 - 355 \mu\text{m}$, $355 - 500 \mu\text{m}$) ekstraksiyon verimleri sırası ile % 36.70 g ekstrakt/g kuru posa, % 37.90 g ekstrakt/g kuru posa, % 38.73 g ekstrakt/g kuru posa, % 39.47 g ekstrakt/g kuru posa olarak belirlenmiştir (Şekil 4.1). Limon posalarından elde edilen fenolik ekstrakt içeriği kuru temel üzerinden kütlece % 38.2 ± 1.18 olarak saptanmıştır.



Şekil 4.1. Limon posasının SOX sürecinde % verimin tanecik büyüklüğü ile değişimi

Portakal posası için ise 16 h ve 25 h işletim süresi sonunda ekstraksiyon verimleri sırasıyla % 37.63 g ekstrakt/g kuru posa ve % 38.164 g ekstrakt/g kuru posa olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, SOX ekstraksiyon işlemleri sonucunda her iki posa örneği için oldukça yüksek verim değerlerine ulaşıldığı görülmektedir.



Şekil 4.2. Portakal posasının SOX sürecinde % verimin süre ile değişimi (tanecik büyüklüğü, >100 µm)

Portakal posasının Soxhlet ekstraksiyon sürecinde ekstraksiyon süresinin verime etkisinin gösterildiği Şekil 4.2 incelendiğinde, 16 h ekstraksiyon süresi ile 25 h ekstraksiyon süresi sonunda elde edilen ekstrakt miktarında önemli bir değişim gözlenmemektedir. Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile ekstraksiyon işlemlerinde; çözünen madde – çözücü etkileşimi ve sistemde sadece saf çözücü resirkülasyonu bulunmasından dolayı yüksek ekstraksiyon verimlerine ulaşılmasının mümkün olmasına rağmen, ekstraksiyon süresinin oldukça uzun olması ve çok miktarda organik çözücü kullanımını gerektirmesi yöntemin en belirgin dezavantajları olarak gösterilebilir. Bu nedenle portakal posasının SOX sürecinde 25 h ekstraksiyon süresi sonunda, sistemi kontrol eden etkin kütle aktarım mekanizmasının difüzyon olması nedeniyle verimde belirgin bir artış söz konusu olmamıştır. Uzun ekstraksiyon sürelerinde, çözücünün kaynama noktasında gerçekleştirilen Soxhlet ekstraksiyon işlemleri, hedeflenen bileşiğin termal bozunmasına yol açarak yapısının bozulmasına neden olabilmektedir [Wang ve Weller, 2006]. Bu nedenle portakal posasındaki fenolik bileşiklerin eldesi için 25 h ekstraksiyon süresinin oldukça uzun olduğu ve tez çalışması kapsamında incelenen ekstraksiyon süreleri baz alındığında 16 h'lik ekstraksiyon süresinin yeterli olduğu görülmektedir.

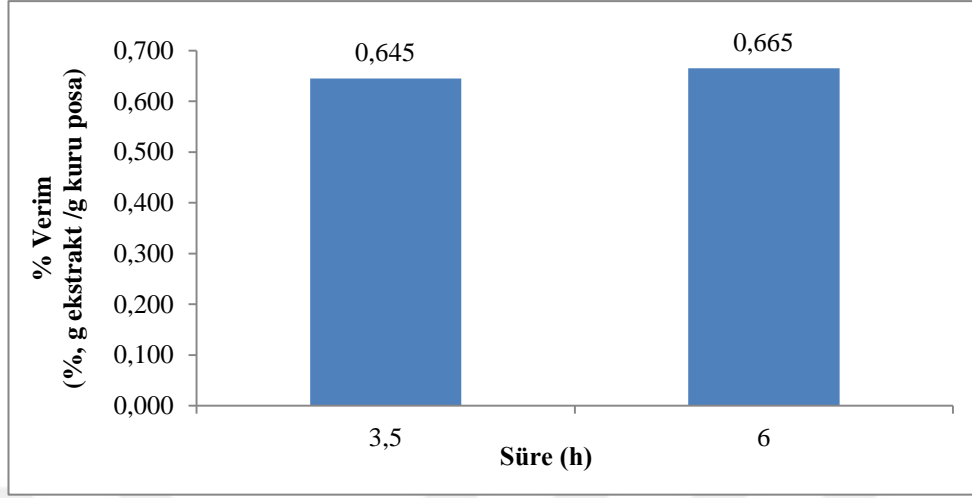
Limon ve portakal posalarının SOX sürecinde çok miktarda çözücü kullanımının önüne geçilebilmesi amacıyla; süreç sonunda evaporasyon aşamasından sonra ele geçen ve belirli miktarlarda taze çözücü üzerine eklenerek kullanılan metanolün ve kullanılmamış metanolün belirli zaman aralıklarında yapılan FTIR analizlerinin sonuçları Şekil Ek-1, Şekil Ek-2’de sunulmuştur. Saf ve kullanılmış metanolün FTIR diyagramları incelendiğinde süreçten kazanılan metanolün yapısında herhangi bir değişim olmadığı görülmektedir. Böylelikle SOX süreci sonunda çözücünün geri kazanılarak tekrar kullanımı fazla miktarlarda organik çözücü kullanımının getirdiği maliyet üzerinde olumlu etkiler yaratabileceği sonucuna varılmıştır.

4.2. SÜPERKRİTİK AKIŞKAN EKSTRAKSİYONU

4.2.1. Limon Posasının Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Sürecine İşletme Parametrelerinin Etkisi

4.2.1.1. Ekstraksiyon süresinin etkisi

Limon posasından fenolik maddelerin süperkritik akışkan ekstraksiyon sürecinde ekstraksiyon süresinin ürün verimine etkisi, 100 – 224 µm tanecik büyüklüğündeki örnekler kullanılarak; 40°C sıcaklık, 100 bar basınç ve kesikli işletim koşullarında incelenmiştir. SC-CO₂ ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde, elde edilen fenolik ekstrakt miktarının ekstraksiyon süresi ile değişimi Şekil 4.3’te verilmektedir.



Şekil 4.3. Limon posasının SFE sürecinde, % verimin ekstraksiyon süresi ile değişimi (T = 40°C, P = 100 bar)

Şekil 4.3 incelendiğinde, 3.50 h ve 6 h süre ile gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde 3.50 h sonunda kütlece % 0.645 ± 0.00 g ekstrakt /g kuru posa, 6 h statik işletim süresi sonunda ise % 0.665 ± 0.096 g ekstrakt /g kuru posa değerlerine ulaşıldığı ve bu ekstraksiyon süreleri sonunda ekstrakte edilen ürün miktarında önemli bir değişim olmadığı görülmektedir.

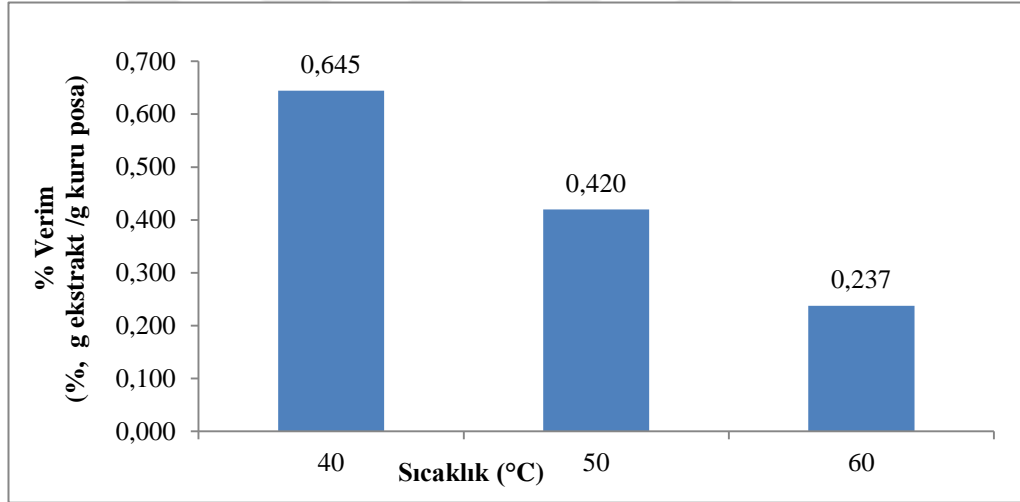
Ekstraksiyon süresi, kullanılan matriks türü ve yapıdaki istenilen madde miktarı ile yakından ilişkilidir. Bu nedenle, posa içeriğindeki fenolik bileşiklerin 3.5 h kesikli ekstraksiyon süresi sonunda SC-CO₂ içerisindeki doygunluk derişimine ulaşmalarından dolayı 6 h ekstraksiyon süresi sonunda elde edilen ekstrakt veriminde belirgin bir artış saptanmamış ve limon posasındaki fenolik bileşiklerin ekstraksiyon sürecinde ekstrakt verimine etki eden diğer ayırma parametrelerinin etkisi 3.5 h olarak belirlenen optimum ekstraksiyon süresinde incelenmiştir.

4.2.1.2. Sıcaklığın etkisi

SFE işlemlerinde, süperkritik akışkanın çözme gücü yoğunluğunun fonksiyonu olduğundan sıcaklık ve basınç başta olmak üzere temel işletme parametrelerine bağlı olarak yoğunluğun artması ekstraksiyon verimi üzerinde pozitif etki yaparken, süperkritik akışkanın viskozite, difüzyon katsayısı ve kütle aktarım

katsayısı gibi fizikokimyasal özellikleri iç ve dış kütle aktarımlarına karşı direnç oluşturmaktadır. Bu durumda ekstraksiyon verimi, tanecik içi ve tanecik dışı kütle aktarım dirençlerinin artması veya azalmasına bağlı olarak süreci etkileyen negatif ve pozitif yöndeki kuvvetlerden hangisinin baskın olduğuna ve süperkritik akışkanın yoğunluğunun değişimine bağlı olarak değişmektedir.

Limon posasının SC-CO₂ ekstraksiyon sürecinde ürün verimine etki eden temel ayırma parametrelerinden biri olan sıcaklığın etkisi 100 – 224 µm tanecik büyüklük aralığındaki örnekler ile 40, 50 ve 60°C sıcaklık ve 100 bar basınç koşullarında incelenmiştir. Düşük basınç koşullarında yürütülen ekstraksiyon deneylerinde sıcaklığın % verime etkisi Şekil 4.4'te; SC-CO₂'nin yoğunluğunun, % verimin, çözücü miktarı ve fenolik maddelerin SC-CO₂ içerisindeki çözünürlüğünün sıcaklık ile değişimi ise Çizelge 4.1'de sunulmuştur.



Şekil 4.4. Limon posasının SFE sürecinde, düşük işletme basıncında % verimin sıcaklık ile değişimi (P = 100 bar)

Şekil 4.4 incelendiğinde sıcaklık arttıkça % verimde belirgin bir azalış görülmektedir. 100 bar basınç ve 3.5 h işletim süresi sonunda; 40, 50 ve 60°C sıcaklık değerleri için % verimler sırasıyla; % 0.645 ± 0.00 g ekstrakt /g kuru posa, % 0.420 ± 0.021 g ekstrakt/g kuru posa ve % 0.237 ± 0.018 g ekstrakt /g kuru posa olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Limon posasının SFE sürecinde SC-CO₂'nin yoğunluğunun, % verimin, çözücü miktarı ve fenolik maddelerin SC-CO₂ içerisindeki çözünürlüğünün sıcaklık ile değişimi

Basınç (Bar)	Sıcaklık (°C)	SC-CO ₂ yoğunluğu (kg/m ³)	% Verim (t = 3.5 h)	Çözücü miktarı (g)	Çözünürlük (g ekstrakt/kg CO ₂)
100	40	627	0.645 ± 0.000	2.414	5.344
	50	402	0.420 ± 0.021	1.548	5.426
	60	301	0.237 ± 0.018	1.159	4.098

Sabit basınç altında; sıcaklık artışı ile SC-CO₂'nin yoğunluğu azalırken, difüzyon katsayısı artmakta, viskozitesi ise azalmaktadır. Difüzyon katsayısının artması ve viskozitenin azalması SC-CO₂'nin katı matriks içinde gözeneklere daha kolay difüzlenmesini sağlayarak moleküler aktarımı kolaylaştırmakta ve gözeneklerdeki kütle aktarım dirençlerinin kırılmasına neden olarak ekstraksiyon sürecini pozitif yönde etkilemektedir. Öte yandan Çizelge 4.1'de 100 bar sabit basınçta, sıcaklık artışıyla beraber SC-CO₂'nin yoğunluğunun ve buna bağlı olarak kolona gönderilen çözücü miktarının belirgin biçimde azaldığı görülmektedir. SC-CO₂'nin yoğunluğunun ve çözücü miktarının azalması ile, SC-CO₂'nin polar özellik gösteren fenolik bileşikleri çözme gücündeki düşüş ise süreç üzerinde negatif etki yapmaktadır. Bu durumda 100 bar sabit basınçta sıcaklığın artmasıyla, ekstraksiyon sürecini etkileyen negatif kuvvetlerin etkisi, pozitif kuvvetlerin etkisinden daha büyük olduğundan ürün veriminde azalma gözlenmiştir. Limon posasındaki polar özellik gösteren fenolik maddelerin SC-CO₂ içerisindeki çözünürlüklerinin birbirine yakın olmasına rağmen % verimde azalış saptanmasının nedeni statik koşullarda çalışılan SFE ekstraksiyon sürecinde, kolona gönderilen kütleli SC-CO₂ miktarının sabit olmamasından kaynaklanmaktadır.

4.2.1.3. Yardımcı çözücü etkisi

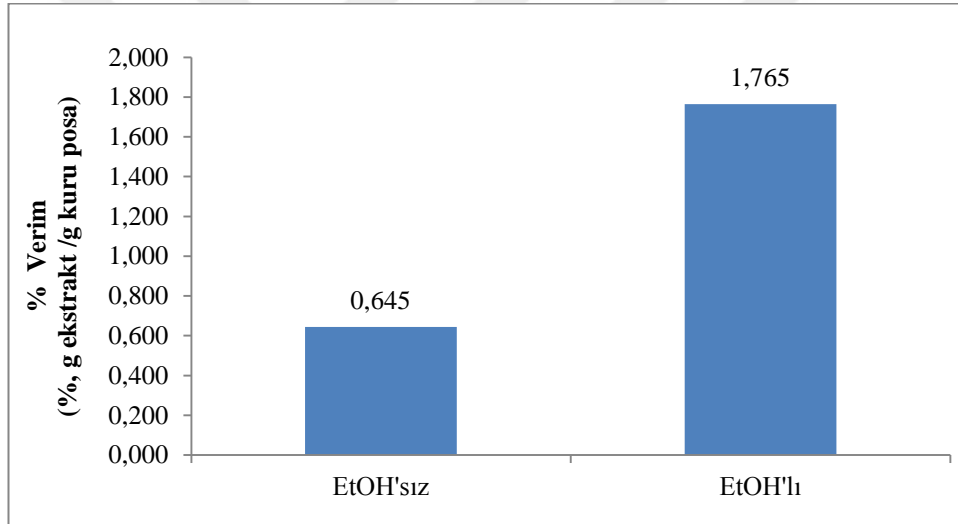
SFE süreçlerinde ekstraksiyon sıcaklık ve basıncına bağlı olarak SCF'nin yoğunluğu ve çözme gücü ayarlanabilmektedir. SCF'nin ayarlanabilir çözme gücü, istenilen ekstraksiyon ürünlerinin seçimli olarak ayrılmasına imkan vermektedir. Ancak doğal kaynaklarda bulunan; endüstriyel ve farmakolojik öneme sahip bir çok ürün polar yapıda olduğundan SC-CO₂'nin apolar yapısı bu ürünlerin SFE tekniği ile ekstrakte edilmesine kısıtlamalar getirmektedir. Bu nedenle SC-CO₂'nin fenolik bileşikler gibi polar bileşikleri çözme gücünün ve ekstraksiyon veriminin artırılması amacıyla ekstraksiyon sistemine, ortamın polaritesini arttıracak yönde belirli oranlarda ve derişimlerde metanol, etanol, aseton gibi yardımcı çözücüler eklenebilmektedir.

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında limon posasındaki fenolik bileşiklerin SFE işlemlerinde ekstraksiyon verimine etki eden; ekstraksiyon süresi ve ekstraksiyon sıcaklığı gibi temel işletme parametrelerinin etkisi apolar özellik gösteren SC-CO₂ ortamında incelenmiştir. Sabit basınçta, sıcaklığın ekstraksiyon verimine etkisinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda çözücü olarak sadece SC-CO₂ kullanıldığı koşullarda ürün veriminin % 0.237 – 0.645 aralığında anlamlı değerlerde olmasına karşın oldukça düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle saptanan bu bulgular, limon ve portakal posalarındaki fenolik bileşiklerin SFE işlemlerinde, ekstrakt veriminin artırılması için SC-CO₂'e ek olarak yardımcı bir çözücünün kullanılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur.

Adil ve arkadaşlarının, elma ve şeftali posasındaki polifenollerin kritik altı (karbondioksit + etanol) ekstraksiyon süreci ile eldesini amaçladıkları çalışmada yardımcı çözücü olarak kütlece % 14 – 20 oranında etanol kullanılmış ve hidroksisinnamik asitler ve (p-kumarik asit, kafeik asit ve ferulik asit), kumarik asit izomerlerinin (o-, m-, p- kumarik asitler) yardımcı çözücü olmadan SC-CO₂ içerisinde kısmen çözünebildikleri, ancak; kuersetin, kateşin, epikateşin ve resveratrolün SC-CO₂ içerisindeki çözünürlüğünün artırılması için ekstraksiyon sürecine % 5 – 30 oranında etanol eklenmesi gerektiğini belirtmişlerdir [Adil vd., 2007].

Tez çalışması kapsamında etanol; gıda endüstrisinde kullanımına izin verilen, polarite indeksi yüksek, ucuz ve güvenilir bir çözücü olması nedeniyle yardımcı çözücü olarak seçilmiştir. Limon posası örneklerinin SFE sürecinde, yardımcı çözücünün % verime etkisi; 100 bar basınç, 40°C sıcaklık ve 3.5 h ekstraksiyon süresi koşullarında çözücü olarak SC-CO₂+etanol kullanıldığında ulaşılan % verim ile aynı işletme koşullarında çözücü olarak sadece SC-CO₂ kullanılarak elde edilen % verim değeri kıyaslanarak belirlenmiştir.

Şekil 4.5'te 40°C, 100 bar koşullarında SC-CO₂ ekstraksiyonu ve % 25 (v/v) oranında etanol kullanılarak gerçekleştirilen ekstraksiyon deneyleri sonucunda elde edilen ekstraksiyon verimleri görülmektedir.



Şekil 4.5. Limon posasının SFE sürecinde, yardımcı çözücünün % verime etkisi (% 25 (v/v) etanol, T = 40°C, P = 100 bar)

Şekil 4.5 incelendiğinde, SC-CO₂'e yardımcı çözücü olarak etanol eklenmesi durumunda ürün veriminde göze çarpan derecede bir artış görülmektedir. Çözücü olarak sadece SC-CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen deneyler sonucunda % 0.645 ± 0.00 g ekstrakt/g kuru posa, % verim değerine ulaşılrken; süperkritik akışkan olarak SC-CO₂+etanol karışımının kullanıldığı şartlarda % verim, % 1.765 ± 0.290 g ekstrakt/g kuru posa olarak saptanmıştır.

40°C sıcaklık ve 100 bar basınç işletme koşullarında saf SC-CO₂'in yoğunluğu 627 kg/m³ iken aynı koşullarda SC-CO₂'e % 25 (v/v) etanol eklenmesi ile oluşan yeni SC akışkanın yoğunluğu 893 kg/m³'tür. Bu nedenle deneysel çalışmalar sonucunda % verimde gözlenen bu artışın SC-CO₂'e polar yapıdaki etanolün eklenmesi ile oluşan yeni SC akışkanın yoğunluğunun saf SC-CO₂'in yoğunluk değerinden daha yüksek olması nedeniyle polar yapıdaki fenolik bileşikler çözme gücündeki artıştan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, ekstraksiyon işlemlerinde yardımcı çözücünün varlığı işletme şartlarına bağlı olarak SC akışkanın taşınım özelliklerinin değişmesi sonucu gözeneklerdeki tanecik içi dirençlerin kırılmasına neden olarak, ekstrakte edilen fenolik madde miktarında artışa sebep olmuştur. Ayrıca SC-CO₂'e % 25 (v/v) oranında etanol eklenmesi ile oluşan karışımın kritik sıcaklık ve basıncı sırasıyla T_c = 97.94°C ve P_c = 69.29 bar olup, SC-CO₂'nin T_c = 31.2°C ve P_c = 72.8 bar değerleriyle karşılaştırıldığında, kritik sıcaklığının yüksek, basıncının ise biraz daha düşük olduğu görülmektedir. Bu nedenle portakal ve limon posasındaki fenolik maddelerin SFE sürecinin yakın kritik altı bölgede incelendiği görülmektedir.

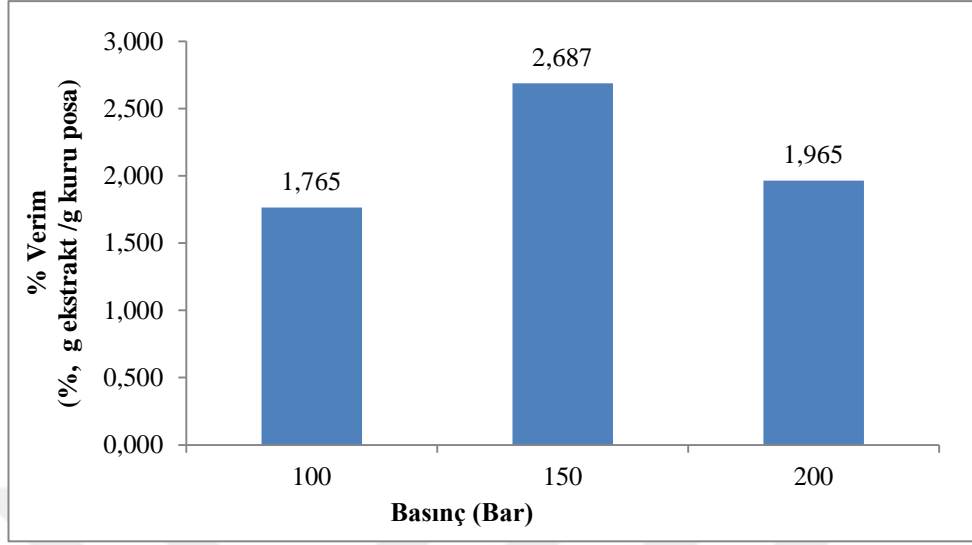
4.2.2. Limon Posasının SFE Sürecinde Yardımcı Çözücü Olarak Etanol Kullanılması Durumunda Sıcaklık ve Basıncın Ekstraksiyon Verimine Etkisi

4.2.2.1. Basıncın etkisi

Limon posası fenolik bileşiklerinin SC-CO₂+etanol karışımının süperkritik akışkan olarak kullanıldığı ekstraksiyon sürecinde işletme basıncının ekstraksiyon verimine etkisi 3 farklı işletme sıcaklığında, 100 – 224 µm tanecik büyüklüğündeki örneklerle statik koşullarda incelenmiştir. 100, 150 ve 200 bar basınç koşullarında gerçekleştirilen SFE süreçlerinde ekstraksiyon verimi düşük (40°C), orta (50°C) ve yüksek (60°C) işletme sıcaklığı koşullarında 3.5 h ekstraksiyon süresince incelenmiş ve % verimin farklı işletme sıcaklıklarında işletme basıncına bağlı olarak değişimi sırasıyla Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de; SC-CO₂+etanol'ün yoğunluğunun, % verimin, çözücü miktarı ve fenolik maddelerin SCF içerisindeki çözünürlüğünün basınç ile değişimi ise Çizelge 4.2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.2. Limon posasının SFE sürecinde SC-CO₂+etanol'ün yoğunluğunun, % verimin, çözücü miktarı ve fenolik maddelerin SCF içerisindeki çözünürlüğünün farklı işletme sıcaklıklarında basınç ile değişimi

Sıcaklık (°C)	Basınç (Bar)	SCF yoğunluğu (kg/m ³)	% Verim	Çözücü miktarı (g SCF)	Çözünürlük (g ekstrakt/kg çözücü)
40	100	893	1.765 ± 0.290	3.438	10.267
	150	901	2.687 ± 1.743	3.469	15.495
	200	909	1.965 ± 0.219	3.500	11.230
50	100	864	3.460 ± 1.014	3.326	20.803
	150	876	2.819 ± 0.127	3.373	16.723
	200	884	1.845 ± 0.085	3.403	10.842
60	100	836	2.898 ± 1.043	3.219	18.005
	150	853	2.800 ± 0.650	3.284	17.052
	200	859	1.694 ± 0.00	3.307	10.251



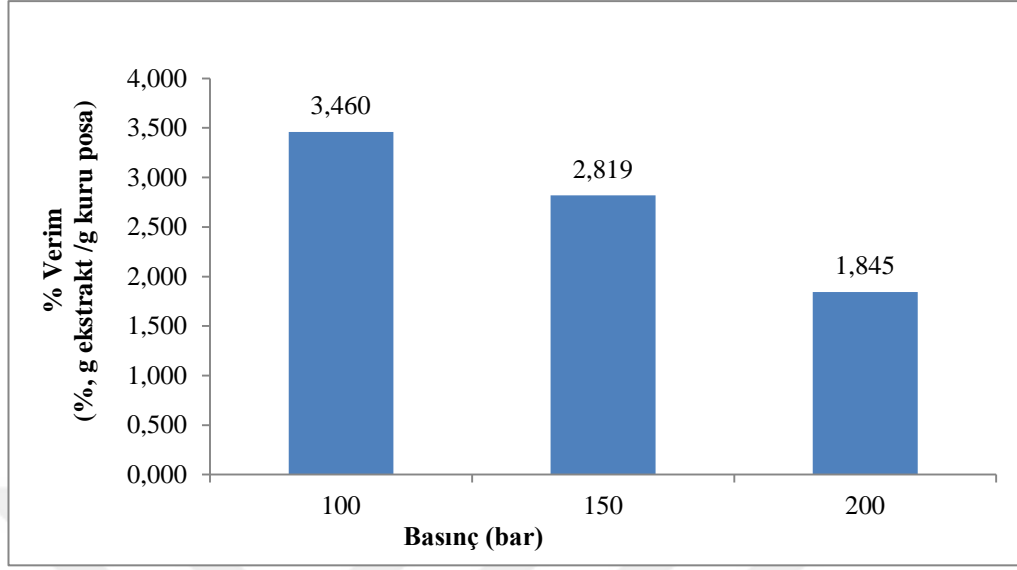
Şekil 4.6. Limon posasının SFE sürecinde düşük işletme sıcaklığında, % verimin basınç ile değişimi (T = 40°C, % 25 (v/v) etanol)

Şekil 4.6 incelendiğinde, % veriminin önce arttığı ve 150 bar basınçta maksimum verim değerine ulaşıldığı, daha sonra ise verimde azalışın söz konusu olduğu görülmektedir. 40°C sabit sıcaklıktaki çalışma şartlarında basınç 100 bar'dan 150 bar'a çıktığında % verim, $1,765 \pm 0,290$ g ekstrakt/g kuru posa değerinden $2,687 \pm 1,278$ g ekstrakt/g kuru posa değerine ulaşmış ve ürün veriminde % 52.84 artış gözlenmiştir. 200 bar işletme basıncında ise % $1,965 \pm 0,219$ g ekstrakt/g kuru posa ekstraksiyon verimi elde edilmiş ve verimde 150 bar basınçta elde edilen verim değerine göre % 33.78 düşüş, 100 bar basınç koşuluna göre ise % 11.36 artma gözlenmiştir. Bu sonuçlar irdelendiğinde 40°C sabit sıcaklıkta 100 bar basınçtan 150 bar basınç değerine arttırılması ile Çizelge 4.2'de görüldüğü gibi SCF'nin yoğunluğunun ve çözücü miktarının artmasına bağlı olarak çözme gücü artmış ve ekstrakte edilen fenolik madde miktarında artış gözlenmiştir. SCF'nin yoğunluğundaki artış, basınç 100 bar'dan 200 bar koşullarına getirildiği durumda, 100 bar'dan 150 bar koşullarına arttırılmasıyla elde edilen yoğunluk değerinden daha yüksek olmasına rağmen, basınç 100 bar işletme koşulundan 200 bar koşullarına getirildiğinde ekstraksiyon veriminde gözlenen artış, 100 bar işletme koşulundan 150 bar basınç değerine getirildiğinde ulaşılan artış değerinden düşüktür.

Sabit sıcaklıkta basınç arttırıldığında, SCF'nin yoğunluğu artmaktadır. Diğer taraftan; viskozite ve difüzyon katsayısı gibi taşınım özellikleri işletme parametrelerine bağlı olarak iç ve dış kütle aktarım kısıtlamalarına negatif veya pozitif yönde etki etmekte ve sistemde direnç parametreleri olarak rol oynamaktadırlar. Sabit sıcaklıkta basıncın artmasıyla SCF'nin viskozitesi artmakta, difüzyon katsayısı azalmaktadır. SCF'nin viskozitesinin artması ve difüzyon katsayısının azalmasının sonucu olarak matriks ve akışkan arasındaki iç etkileşimler azalmakta ve süperkritik akışkanın matriks gözeneklerine nüfuz etmesi zorlaşmaktadır. Bu durumda, tanecik içi ve tanecik dışı kütle aktarımlarına karşı dirençler artmakta ve sürece etkiyen negatif kuvvetler artmaktadır; ancak yoğunluğun artmasıyla beraber, SCF'nin çözme gücü ve fenolik maddelerin SCF içindeki çözünürlüklerinin artması ise süreci pozitif yönde etkilemektedir. Ekstraksiyon veriminde gözlenen artış ya da azalış, sistemi etkileyen pozitif ve negatif kuvvetlerden hangisinin daha güçlü olduğuna göre değişmektedir [Döker, 2002].

Deneysel veriler incelendiğinde, 40°C düşük sıcaklık koşullarında basınç 100 bar'dan 150 bar çalışma koşullarına getirildiğinde yoğunluktaki artış, sürece etkiyen negatif kuvvetlerin etkisini yenecek düzeyde ve daha baskın bir etki olduğundan % verimde önemli seviyede bir artış yakalanmıştır. Ancak 200 bar basınç koşullarında SCF'nin yoğunluk değerinin artmasına rağmen yüksek basınç koşullarında viskozite ve difüzyon katsayısının azalmasının etkisiyle iç ve dış kütle aktarım dirençlerinin artmasının neden olduğu negatif kuvvetlerin etkisi süreç üzerinde daha baskın olduğundan, ekstraksiyon veriminde 150 bar basınç koşuluna göre azalış görüldüğü sonucuna varılmıştır. Deneysel çalışmalar, 40°C sıcaklıkta gerçekleştirilen, limon posasındaki fenolik maddelerin ekstraksiyon sürecinde en uygun işletme basıncının en yüksek % verimin elde edildiği 150 bar basınç değeri olduğunu göstermiştir.

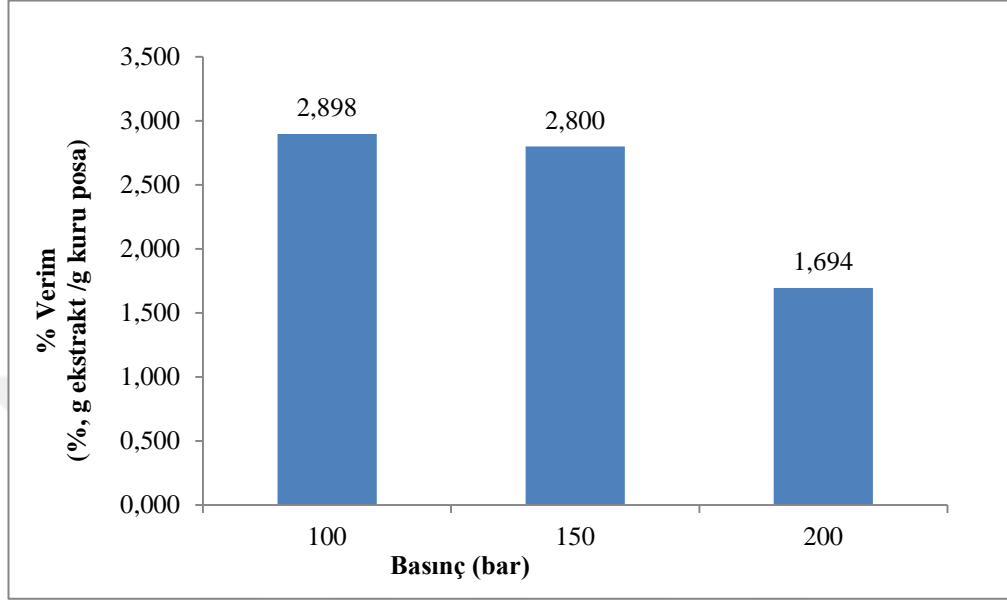
Orta sıcaklık (50°C) koşullarında yürütülen SFE süreçlerinde ekstraksiyon veriminin 100, 150 ve 200 bar basınç şartlarına göre değişimi Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. Limon posasının SFE sürecinde, orta işletme sıcaklığında % verimin basınç ile değişimi (T = 50°C, % 25 (v/v) etanol)

Orta sıcaklık (50°C) koşullarında basınç arttıkça % verimde azalma görülmektedir. 50°C sabit sıcaklıkta 100 bar basınç değerinde % 3.460 ± 1.014 g ekstrakt/g kuru posa ekstraksiyon verimi elde edilirken, 150 bar basınçta ise % verimde yaklaşık % 18.50 azalma kaydedilmiş ve % 2.819 ± 0.127 g ekstrakt/g kuru posa değerine ulaşılmıştır. 200 bar basınç koşullarında ise % 1.845 ± 0.085 g ekstrakt/g kuru posa verim elde edilirken, 150 bar basınç koşullarında ulaşılan % verim değerine göre % 34.57 azalma olduğu görülmektedir. Sonuçlar değerlendirildiğinde 50°C sıcaklıkta 100 bar'ın üzerindeki basınç koşullarının ekstraksiyon verimini olumsuz yönde etkilediği görülmektedir. Orta işletme sıcaklığı koşullarında basınç artışı ile süperkritik akışkanın yoğunluğu ve çözücü miktarı artmakta, difüzyon katsayısı azalmakta viskozitesi ise artmaktadır. % verimde basınç artışı ile gözlenen bu azalışın nedeninin, orta sıcaklık değerinde basıncın artmasıyla yoğunluktaki artıştan kaynaklanan ekstraksiyon sürecine etkiyen pozitif etkinin, kütle aktarımına karşı artan dirençlerin üstesinden gelebilecek kadar büyük olmamasından kaynaklandığı gösterilebilir.

Yüksek sıcaklık (60°C) koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon süreçlerinde ekstraksiyon veriminin 100 – 200 bar basınç ile değişimi Şekil 4.8’de görülmektedir.



Şekil 4.8. Limon posasının SFE sürecinde, yüksek işletme sıcaklığında % verimin basınç ile değişimi (T = 60°C, % 25 (v/v) etanol)

Şekil 4.8 incelendiğinde basınç 100 bar’dan 150 bar koşullarına getirildiğinde % verimde önemli bir değişim gözlenmezken, 200 bar koşullarında çarpıcı biçimde düşüş görülmektedir. 60°C sabit sıcaklıkta, 100 bar basınç koşullarında elde edilen verim değeri % 2.898 ± 1.043 g ekstrakt/g kuru posa, 150 bar’da % 2.800 ± 0.650 g ekstrakt/g kuru posa ve 200 barda % 1.694 ± 0.00 g ekstrakt/g kuru posa olarak bulunmuştur. 200 bar basınç koşulunda gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi sonucunda 100 bar basınçta elde edilen verim değerine göre % 41.54 oranında daha düşük verim değerine ulaşılmıştır. Yüksek sıcaklık koşullarında süperkritik akışkanın yoğunluğundaki artış, düşük ve orta sıcaklık koşullarında gözlenen artış değerinden daha düşük olmakla beraber basınç arttıkça yoğunluk ve çözücü miktarı artmakta ve bu artışa bağlı olarak süperkritik akışkanın istenilen maddeyi çözme gücü artmaktadır. Basınç 100 bar’dan 150 bar basınç koşullarına getirildiğinde süreç sonunda elde edilen % verim değerlerinin birbirine oldukça yakın olmasının nedeninin, basınç artışıyla sistemi negatif yönde etkileyen dirençlerin etkisi ile süperkritik akışkanın yoğunluğunun artmasının yaptığı

pozitif etkinin birbirini dengelemesi, ancak negatif kuvvetlerin biraz da olsa daha etkili olması sonucu verimde çok düşük miktarda azalışa neden olduğu söylenilebilir. 200 bar basınç koşullarında ise yüksek sıcaklıklarda basıncın artmasına bağlı olarak viskozite ve difüzyon katsayısındaki değişimlerin yapmış olduğu dirençlerin etkisinin 100 bar ve 150 bar işletme koşullarına göre daha fazla artmasından dolayı süreci etkileyen negatif kuvvetlerin etkisi, yoğunluk artışından kaynaklanan pozitif kuvvetlerin etkisinden çok daha büyük olduğundan % verim azalmıştır. Bu sonuçlara göre 60°C sıcaklıkta limon posasından fenolik ekstraktların SFE sürecinde en uygun işletme basıncının 100 bar ve 150 bar olduğu, 150 bar basıncın üzerine çıkıldığı işletme şartlarının % verimi olumsuz yönde etkilediği sonucuna varılabilir. SFE süreçlerinde işletme parametrelerinin işletme maliyeti üzerindeki etkisi göz önüne alındığında ise limon posası örneklerinin ekstraksiyon işlemlerinde düşük işletme basıncı olan 100 bar koşullarında çalışmanın, yüksek basınç koşullarına göre daha avantajlı olacağı söylenilebilir.

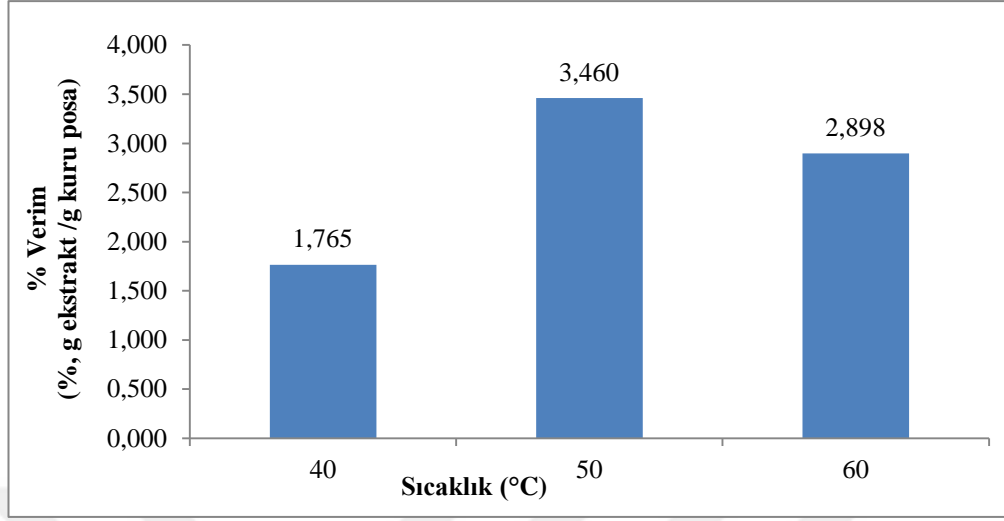
4.2.2.2. Sıcaklığın etkisi

Limon posası içeriğindeki fenolik bileşiklerin SFE yöntemi ile eldesinde işletme sıcaklığının ekstraksiyon verimine etkisi 40, 50 ve 60°C olmak üzere 3 farklı işletme sıcaklığında, 3.5 h ekstraksiyon sürecinde 100 – 200 µm tanecik büyüklüğündeki örneklerle düşük (P=100 bar), orta (P=150 bar) ve yüksek (P=200 bar) basınç koşullarında incelenmiştir. Farklı işletme basınçlarında sıcaklığın ekstraksiyon verimine etkisi sırasıyla Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de SC-CO₂+etanol’ün yoğunluğunun, % verimin, çözücü miktarı ve fenolik maddelerin SCF içerisindeki çözünürlüğünün sıcaklık ile değişimi ise Çizelge 4.3’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Limon posasının SFE sürecinde SC-CO₂+etanol'ün yoğunluğunun, % verimin, çözücü miktarı ve fenolik maddelerin SCF içerisindeki çözünürlüğünün farklı basınçlarda sıcaklık ile değişimi

Basınç (Bar)	Sıcaklık (°C)	SCF yoğunluğu (kg/m ³)	% Verim	Çözücü miktarı (g SCF)	Çözünürlük (g ekstrakt/kg SCF)
100	40	893	1.765 ± 0.290	3.438	10.267
	50	864	3.460 ± 1.014	3.326	20.803
	60	836	2.898 ± 1.043	3.219	18.005
150	40	792	2.491 ± 1.278	3.049	17.628
	50	711	2.820 ± 0.127	2.737	20.604
	60	613	2.800 ± 0.650	2.360	23.728
200	40	849	1.965 ± 0.219	3.269	12.023
	50	793	1.845 ± 0.085	3.053	12.086
	60	733	1.694 ± 0.000	2.822	12.013

Düşük basınç (100 bar) koşullarında ekstraksiyon veriminin sıcaklık ile değişiminin verildiği Şekil 4.9 incelendiğinde sıcaklık arttıkça % verimde öncelikle önemli oranda bir artış, daha sonra ise azalış olduğu görülmektedir. 40°C sıcaklıktaki deneysel çalışmalarda % 1.765 ± 0.290 g ekstrakt/g kuru posa % verim elde edilirken, 50°C sıcaklıkta verimde % 96 artış gözlenmekte ve 40°C sıcaklık koşullarında ulaşılan verim değerinin yaklaşık 2 katı % 3.460 ± 1.014 g ekstrakt/g kuru posa değerine ulaşıldığı görülmektedir. 60°C sıcaklık koşullarına çıkıldığında ise ekstraksiyon veriminde bir düşme eğilimi gözlenmiş ve % 2.898 ± 1.043 g ekstrakt/g kuru posa % verim elde edilmiştir.



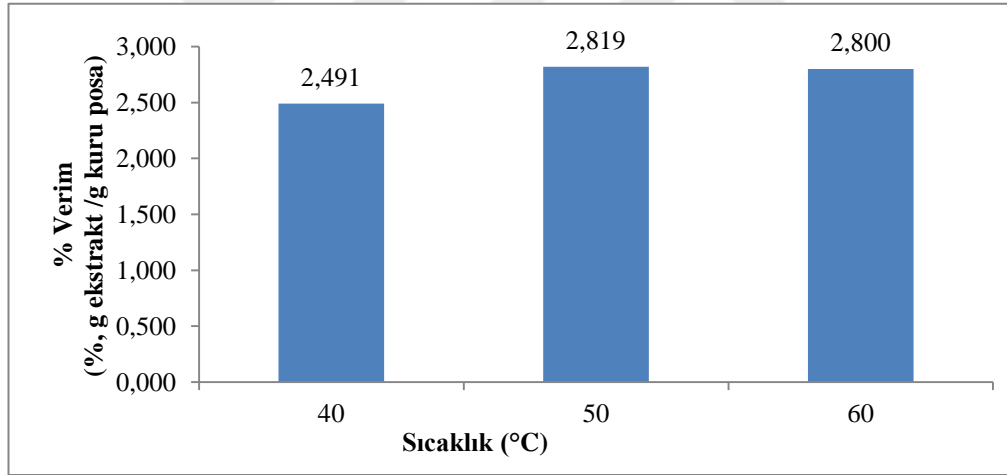
Şekil 4.9. Limon posasının SFE sürecinde, düşük işletme basıncında % verimin sıcaklık ile değişimi (P = 100 bar, % 25 (v/v) etanol)

Sabit basınç altında sıcaklığın artmasıyla beraber süperkritik akışkanın yoğunluğu azalmakta ve hedeflenen bileşikleri çözme gücü azalmaktadır, fakat bu işletme şartlarında istenilen bileşiklerin doygunluk derişiminin artması ile yoğunluktaki azalış telafi edilmektedir. Bu durum dikkate alındığında düşük basınç koşullarında sıcaklık artışına bağlı olarak süperkritik akışkanın yoğunluğundaki azalışın süreç üzerindeki negatif etkisinin tolere edildiği sonucuna varılabilir. Aynı zamanda sıcaklığın artmasıyla beraber sistemi etkileyen direnç parametreleri olan viskozite azalmakta ve difüzyon katsayısı artmaktadır. Böylece süperkritik akışkanın kolon içerisinde daha rahat ilerleyerek, ekstrakte edilmesi istenilen maddeler ile etkileşiminin artması sonucu süreç üzerinde kısıtlayıcı rol oynayan tanecik içi ve dışı kütle aktarım dirençleri azalmaktadır.

Deneysel sonuçlar irdelendiğinde, 100 bar sabit basınç altında sıcaklık 40°C'den 50°C sıcaklık değerine arttırıldığında % verimde gözlenen bu artışın, SCF'nin yoğunluğunun ve çözücü miktarının azalmasına karşın sıcaklık artışıyla fenolik maddelerin çözünürlük değerlerinin artması ve süreç üzerindeki dirençlerin azalması sonucu gerçekleştiği düşünülebilir. 100 bar düşük basınç, 60°C yüksek sıcaklık koşullarında ise ekstraksiyon veriminde azalma eğilimi göze çarpmaktadır.

Sıcaklıktaki artış ile beraber kütle aktarım dirençlerinin daha fazla azalması sonucu % veriminde artış beklenmesine rağmen, sistem üzerindeki bu pozitif kuvvetlerin etkisi, yüksek sıcaklıklarda süperkritik akışkanın yoğunluğunun, çözme gücünün ve çözücü miktarının azalmasının süreç üzerindeki negatif etkisini yenecek kadar güçlü olamamış ve 100 bar, 50°C koşullarına göre fenolik maddelerin çözünürlük değerinde % 13.45 azalma gözlenirken % verimde % 16.24 azalma kaydedilmiştir. Limon posasından fenolik maddelerin ekstraksiyon sürecinde düşük basınç koşullarında en uygun çalışma sıcaklığının maksimum % verimin elde edildiği 50°C olduğu görülmektedir.

Orta basınç (150 bar) değerinde gerçekleştirilen ekstraksiyon sürecinde ise sıcaklığın verim üzerindeki etkisi Şekil 4.10'da verilmiştir. Şekil 4.10 incelendiğinde 150 bar işletme basıncında sıcaklığın % verim üzerinde fazla bir değişime neden olmadığı görülmektedir.

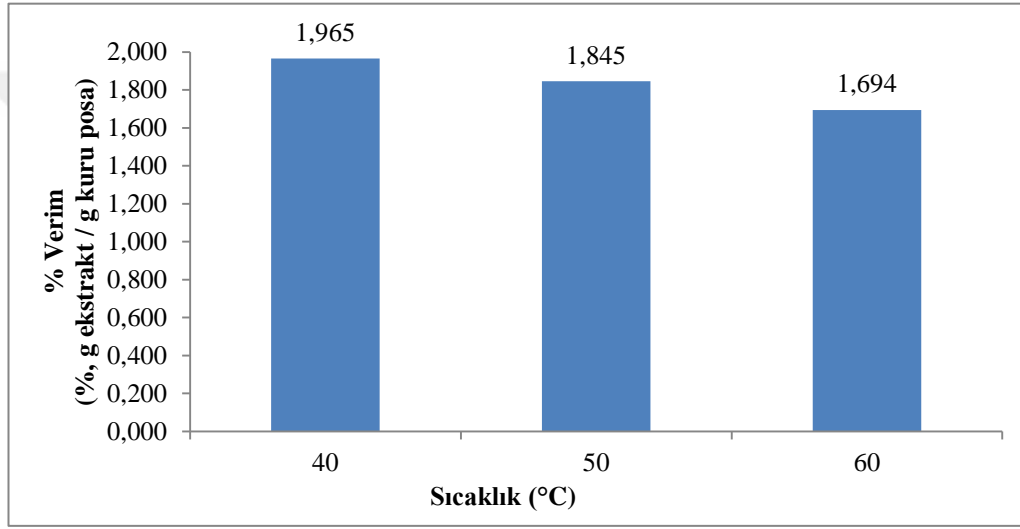


Şekil 4.10. Limon posasının SFE sürecinde, orta işletme basıncında % verimin sıcaklık ile değişimi (P = 150 bar, % 25 (v/v) etanol)

150 bar sabit basınçta; 40°C sıcaklıkta % 2.491 ± 1.278 g ekstrakt/g kuru posa, 50°C sıcaklıkta % 2.820 ± 0.127 g ekstrakt/g kuru posa ve 60°C sıcaklıkta % 2.800 ± 0.650 g ekstrakt/ g kuru posa ekstraksiyon verim değerlerine ulaşılmıştır. Çizelge 4.3 incelendiğinde sıcaklık arttıkça SCF'nin yoğunluğunda ve çözücü miktarında belirgin bir azalma olduğu görülmektedir. 150 bar sabit basınçta yürütülen deneysel çalışmalarda sıcaklık 40°C'den 50°C sıcaklığa getirildiğinde,

sıcaklık artışıyla tanecik içi ve tanecik dışı kütle aktarım dirençlerinin azalmasının süreç üzerindeki etkisinin süperkritik akışkanın yoğunluğundaki azalıştan biraz daha büyük olmasından dolayı % verimde % 13 oranında bir artış olmuştur. Sıcaklığın 60°C'ye yükselmesi ile ise ekstraksiyon veriminde fazla bir değişim olmamıştır. Bu durumun, ekstraksiyon sürecini etkileyen pozitif ve negatif kuvvetlerin etkisinin birbirini dengelemesinden kaynaklandığı öne sürülebilir.

Yüksek basınç (200 bar) işletme koşulunda ise % verimin sıcaklık ile değişimi Şekil 4.11'de görülmektedir.



Şekil 4.11. Limon posasının SFE sürecinde, yüksek işletme basıncında % verimin sıcaklık ile değişimi (P = 200 bar, % 25 (v/v) etanol)

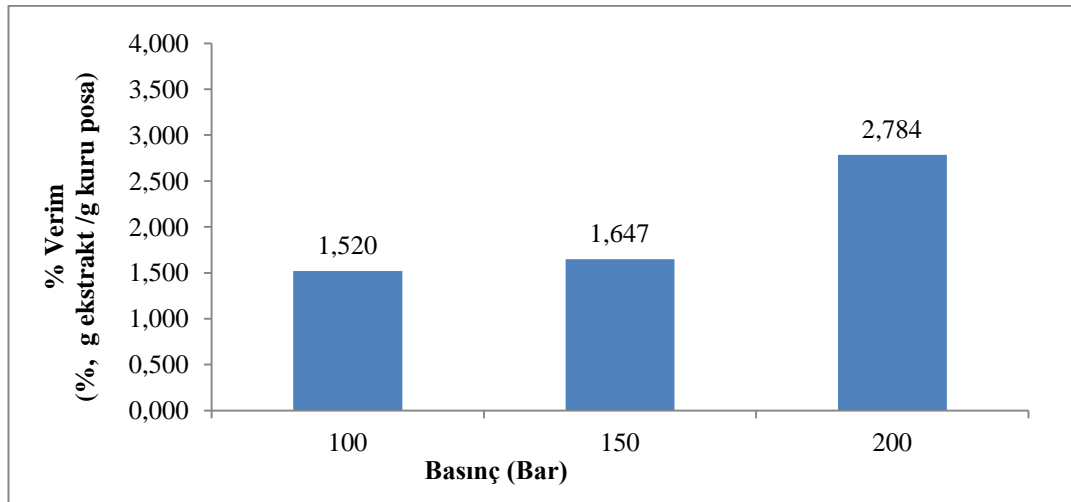
Şekil 4.11'de görüldüğü gibi sıcaklık arttıkça ekstraksiyon veriminde düşüş gözlenmektedir. 200 bar sabit sıcaklık koşullarında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemlerinde 40°C sıcaklıkta % 1.965 ± 0.219 g ekstrakt/g kuru posa % verim elde edilirken, 50°C sıcaklıkta ekstraksiyon veriminde % 6.10 oranında azalış gözlenmiş ve % 1.845 ± 0.085 g ekstrakt/g kuru posa ve sıcaklığın 60°C olduğu ekstraksiyon sürecinde ise ekstraksiyon verimi 50°C sıcaklıkta ulaşılan ekstraksiyon verimine göre % 8.18 oranında düşüş göstererek % 1.694 ± 0.000 g ekstrakt/ g kuru posa ekstraksiyon verimine ulaşılmıştır.

Yüksek basınçlarda sıcaklık arttıkça, süperkritik akışkanın yoğunluğundaki ve çözücü miktarındaki azalmadan dolayı (Çizelge 4.3) sistem üzerindeki negatif

kuvvetlerin etkisi artmaktadır. Öte yandan yüksek basınç değerlerinde sıcaklık artışıyla beraber akışkanın viskozitesi azalmakta, difüzyon katsayısı ise düşük ve orta basınç değerlerinde gözlenen artıştan daha düşük olmakla beraber yine artma eğilimindedir. Bunun sonucu olarak yüksek basınç değerlerinde sıcaklığın artmasıyla iç ve dış kütle aktarım dirençlerinin azalması ve istenilen bileşiklerin doygunluk derişiminin artmasının neden olduğu pozitif kuvvetlerin etkisi, negatif kuvvetlerin etkisini yenecek güçte olmadığından sıcaklık artışıyla beraber % verimde düşük oranlarda bir azalma gözlenmektedir.

4.2.3. Portakal Posasının SFE Sürecinde Yardımcı Çözücü Olarak Etanol Kullanılması Durumunda Basıncın Verime Etkisi

Portakal posasından süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyon sürecinin incelendiği deneysel çalışmalar; 40°C düşük sıcaklık koşulunda 100, 150 ve 200 bar olmak üzere 3 farklı basınç değerinde 100 – 224 µm tanecik büyüklüğündeki örnekler ile 3.5 h kesikli işletim süresinde yardımcı çözücü olarak etanol kullanıldığı işletme şartlarında yürütülmüştür. 40°C sabit sıcaklık altında ekstraksiyon veriminin basınç ile değişimi Şekil 4.12’de gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Portakal posasının SFE sürecinde, düşük işletme sıcaklığında % verimin basınç ile değişimi (T= 40°C, % 25 (v/v) etanol)

SC-CO₂+etanol'ün yoğunluğunun, % verimin, çözücü miktarı ve fenolik maddelerin SCF içerisindeki çözünürlüğünün basınç ile değişimi Çizelge 4.4'te görülmektedir.

Çizelge 4.4. Portakal posasının SFE sürecinde SC-CO₂+etanol'ün yoğunluğunun, % verimin, çözücü miktarı ve fenolik maddelerin SCF içerisindeki çözünürlüğünün düşük işletme sıcaklığında basınç ile değişimi

Sıcaklık (°C)	Basınç (Bar)	SCF yoğunluğu (kg/m ³)	% Verim	Çözücü miktarı (g SCF)	Çözünürlük (g ekstrakt/kg SCF)
40	100	893	1.520 ± 0.085	3.438	8.842
40	150	901	1.647 ± 0.081	3.469	9.499
40	200	909	2.784 ± 1.173	3.500	15.916

Deney sonuçları değerlendirildiğinde, basınç 100 bar'dan 150 bar koşullarına getirildiğinde % verimde hafif bir artış olurken, basınç 200 bar koşullarına çıkarıldığında ise % verimde ciddi derecede bir artışın söz konusu olduğu görülmektedir. 40°C işletme basıncında 100, 150 ve 200 bar basınç değerlerinde sırasıyla % 1.520 ± 0.085 g ekstrakt/ g kuru posa, % 1.647 ± 0.081 g ekstrakt/g kuru posa ve % 2.784 ± 1.173 g ekstrakt/ g kuru posa % verim değerlerine ulaşılmıştır. Basınç 100 bar işletme basıncına getirildiğinde verimde % 8.35 artış görülürken, 150 bar'dan 200 bar koşuluna arttırıldığında ise ekstraksiyon veriminde % 69.03 artış yakalanmıştır.

Düşük işletme sıcaklıklarında basıncın artmasıyla ekstraksiyon veriminde artma gözlenmektedir. Bu sonuçlar irdelendiğinde, sabit sıcaklıkta basınç arttıkça süperkritik akışkanın yoğunluğu artmakta ve beraberinde çözme gücü artmaktadır. Öte yandan basınç artışına bağlı olarak süperkritik akışkanın difüzyon katsayısı azalırken, viskozitesi artmaktadır. Süperkritik akışkanın taşınım özelliklerinde görülen bu değişimlerin sonucu olarak akışkanın kolon içerisinde ilerlemesi ve katı matris içerisine difüzenmesi zorlaşmakta ve tanecik içi ve dışı kütle aktarımlarına karşı dirençler artmaktadır.

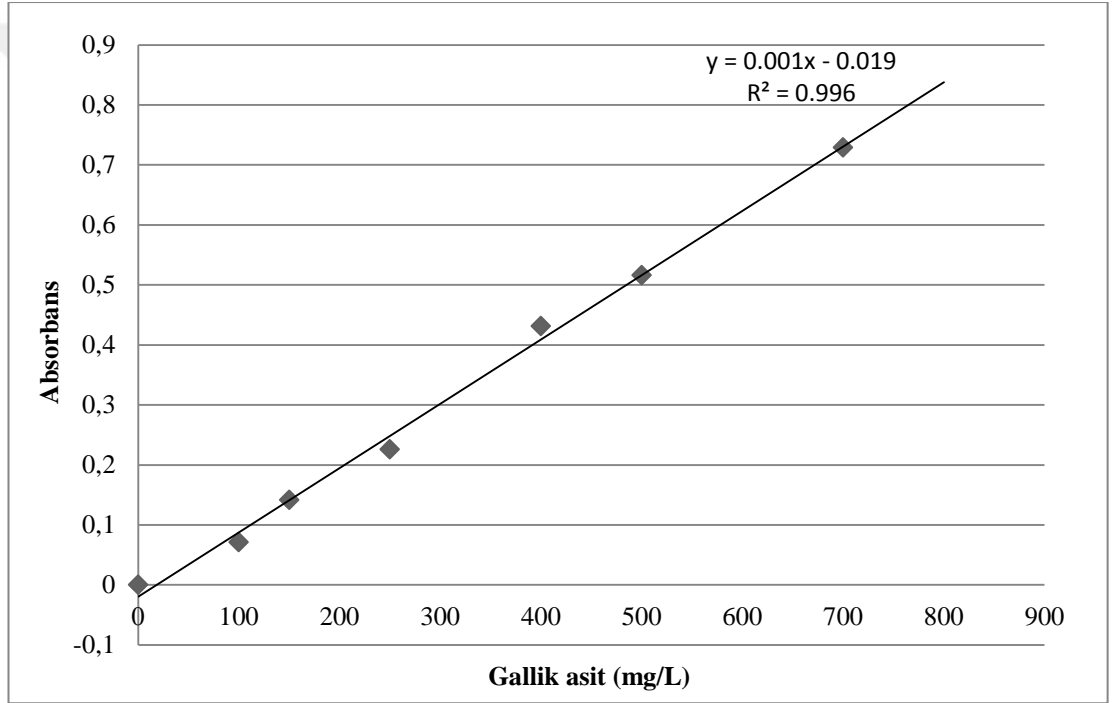
Şekil 4.12 incelendiğinde 40°C sabit sıcaklıkta işletme basıncı 100 bar'dan 150 bar'a çıkarıldığında ekstraksiyon veriminde gözlenen düşük miktardaki artışın, 50 bar

basınç artışıyla beraber, çözücü miktarındaki ve süperkritik akışkanın çözme gücündeki artıştan kaynaklanan pozitif kuvvetin etkisinin, kütle aktarımına karşı artan dirençlerin etkisinden kaynaklanan negatif kuvvetleri aşması sonucunda gerçekleştiği söylenilebilir. Basınç 200 bar koşullarına getirildiğinde, süperkritik akışkanın yoğunluğundaki artışın etkisi, artan tanecik içi ve dışı kütle aktarım dirençlerinin etkisinden baskın olduğundan birbiri ile yarışan bu iki durum sonucunda sistem üzerindeki pozitif kuvvetlerin etkisi, negatif kuvvetlerin etkisinden çok daha büyük olduğundan ekstraksiyon veriminde belirgin bir artış olduğu sonucuna varılmıştır.



4.3. EKSTRAKTLARIN TOPLAM FENOLİK MADDE İÇERİKLERİ

Limon ve portakal posalarından süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve Soxhlet ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriği 100 – 700 mg/L derişim aralığında hazırlanan standart gallik asit çözeltilisinin kalibrasyon doğrusunun regrasyon eşitliğinden ($y = 0.001x - 0.019$, $R^2 = 0.996$) faydalanılarak hesaplanmış ve μg gallik asit eşdeğeri (GAE) olarak ifade edilmiştir. Toplam fenolik içeriğin belirlenmesi için hazırlanan gallik asit standart eğrisi Şekil 4.13'te gösterilmiştir.



Şekil 4.13. Gallik asit kalibrasyon doğrusu grafiği

4.3.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Süreci ile Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Limon ve portakal posalarından SFE yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri sırasıyla Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6’da sunulmuştur.

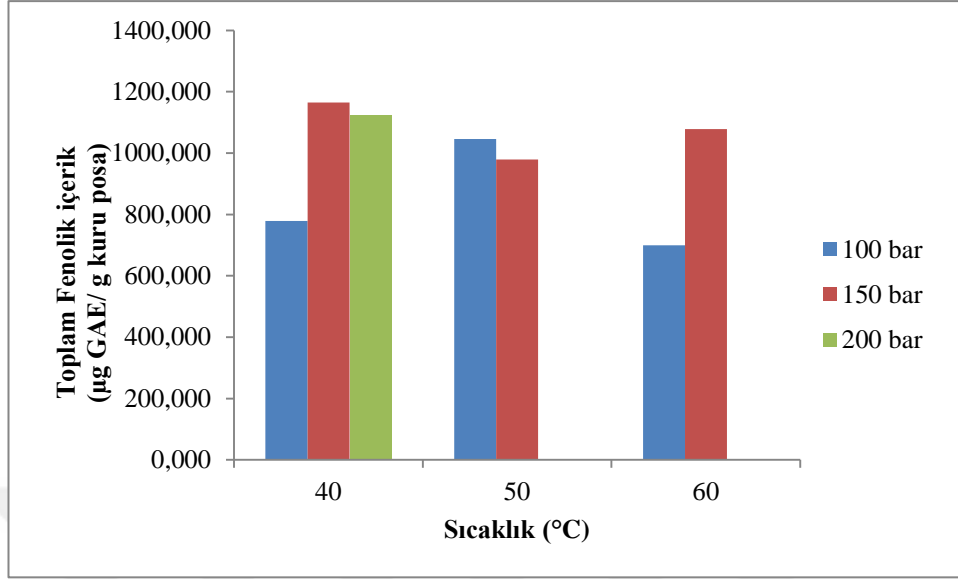
Çizelge 4.5. Limon posası ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği

Yöntem	İşletme Koşulları	Toplam fenolik içerik (μg GAE/g kuru posa)
SFE	40°C, 100 bar	778.75
SFE	50°C, 100 bar	1046.25
SFE	60°C, 100 bar	699.79
SFE	40°C, 150 bar	1164.71
SFE	50°C, 150 bar	978.65
SFE	60°C, 150 bar	1078.43
SFE	40°C, 200 bar	1122.33

Çizelge 4.6. Portakal posası ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriği

Yöntem	İşletme Koşulları	Toplam fenolik içerik (μg GAE/g kuru posa)
SFE	40°C, 100 bar	1268.69
SFE	40°C, 150 bar	1811.25
SFE	40°C, 200 bar	1839.54

Limon posasından SC-CO₂ ve yardımcı çözücü etanol eşliğinde yürütülen süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriğinin farklı sıcaklık ve basınç ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişimi sırasıyla Şekil 4.14 ve Şekil 4.15’de verilmiştir.



Şekil 4.14. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin farklı işletme basınçlarında sıcaklık ile değişimi

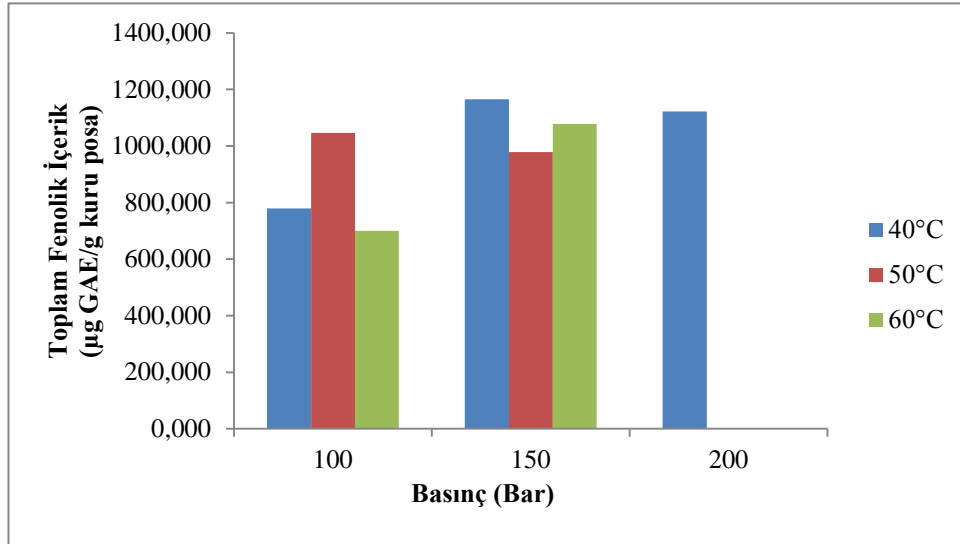
Limon posası ekstraktlarının düşük işletme basıncında (100 bar), 40 – 60°C işletme sıcaklıklarına bağlı olarak fenolik madde içeriğinin değişiminin görüldüğü Şekil 4.14 incelendiğinde, ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinde sıcaklık artışı ile beraber önce belirgin oranda bir artış, daha sonra ise düşük oranda bir azalış eğiliminin olduğu görülmektedir. Deneysel sonuçlar değerlendirildiğinde, sıcaklığın 40°C’den 50°C’ye arttırılmasının, toplam fenolik madde içeriğinde artışa neden olarak sürece olumlu etkisinin olduğu ancak 60°C sıcaklık koşulunda toplam fenolik madde içeriğinin 40°C işletme sıcaklığında elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriğinden daha düşük olması nedeniyle 100 bar işletme basıncında optimum sıcaklık değerinin 50°C olduğu ve bu sıcaklık değerlerinin üzerinde çalışıldığında fenolik madde içeriğinin düştüğü görülmektedir. Benzer durum Adil ve arkadaşlarının elma posasının subkritik (CO₂ + etanol) ekstraksiyonu ile fenolik bileşiklerin ekstraksiyon sürecini inceledikleri çalışmada da gözlenmiş ve araştırmacılar 50°C ekstraksiyon sıcaklığının üzerindeki sıcaklıklarda ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinde azalma kaydettiklerini belirtmişler ve bu durumun yüksek sıcaklıklarda fenolik bileşiklerin degradasyonundan kaynaklanabileceğini ifade etmişlerdir [Adil vd., 2007].

Orta basınç (150 bar) koşullarında ise sıcaklığın toplam fenolik madde içeriği üzerinde baskın bir etkisinin olmadığı görülmektedir. En yüksek toplam fenolik madde içeriği 40°C sıcaklıkta elde edilirken, 50°C sıcaklıkta düşük miktarda bir azalış, 60°C koşullarında ise tekrar bir artış söz konusudur. Ancak her 3 sıcaklık değerinde de elde edilen toplam fenolik madde içeriklerinin birbirine çok yakın olduğu görülmektedir. Ayrıca limon posasının SFE sürecinde, 150 bar basınç koşullarında sıcaklığın % verimde de önemli bir değişime yol açmadığı görülmüştür.

200 bar basınç değerinde sıcaklığın ekstraksiyon verimine etkisinin araştırıldığı deneysel çalışmalarda sıcaklık arttıkça ekstraksiyon veriminin azaldığı kaydedilmiş olup, en yüksek ekstraksiyon veriminin gözlendiği 40°C işletme sıcaklığında toplam fenolik içerik 150 bar 40°C ve 150 bar 60°C koşullarında elde edilen toplam fenolik madde miktarları arasında bulunmuştur.

Sonuç olarak en yüksek toplam fenolik madde içeriği 150 bar 40°C işletme koşullarında elde edilmiştir.

Limon posası ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğinin 40 – 60°C sıcaklıklarda basınç ile değişimi Şekil 4.15’de verilmiştir.



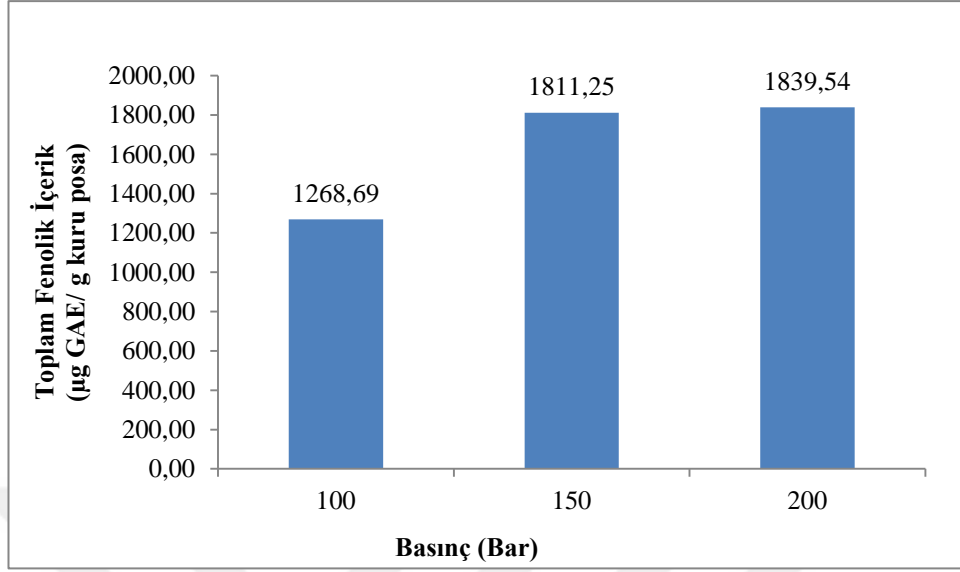
Şekil 4.15. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin farklı işletme sıcaklıklarında basınç ile değişimi

Limon posası ekstraktlarının düşük işletme sıcaklığında (40°C), 100 – 200 bar işletme basınçlarına bağlı olarak fenolik madde içeriğinin değişiminin görüldüğü Şekil 4.15 incelendiğinde, ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinde basınç artışı ile beraber önce belirgin oranda bir artış, daha sonra ise düşük oranda bir azalış eğiliminin olduğu görülmektedir. Düşük işletme sıcaklığında süperkritik akışkanın çözme gücünün artması ile basınç 100 bar koşulundan 150 bar çalışma basıncına getirildiğinde % verimdeki artış ile beraber elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinde de artış olmuştur. 200 bar basınç koşullarında ise toplam fenolik madde miktarında 150 bar basınç koşulunda elde edilen değere göre düşük miktarda bir azalma görülmektedir. 40°C işletme sıcaklığında basıncın 100 – 150 bar basınç aralığında baskın bir etkisi olduğu görülmektedir.

50°C işletme sıcaklığında basınç 100 bar'dan 200 bar'a arttırıldığında ekstraksiyon veriminin düşmesine bağlı olarak, toplam fenolik madde içeriğinde de azalma görülmüştür.

60°C sıcaklık değerinde ise basınç değerinin 100 bar'dan 150 bar'a getirilmesi ile toplam fenolik madde miktarında önemli ölçüde bir artış saptanmıştır. Bu işletme koşullarında ekstraksiyon veriminde belirgin bir değişim olmamasına rağmen toplam fenolik madde miktarının artmasının nedeni, basınç arttıkça toplam ekstrakt miktarının değişmemesine rağmen SFE sürecinin seçiciliğinin yüksek olmasından dolayı ve SC-CO₂ + etanol karışımı arasındaki etkileşimine bağlı olarak toplam fenolik madde içeriğine katkıda bulunan yüksek fenolik özellik gösteren polar bileşikler çözme gücünün artmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Portakal posasından süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriğinin 40°C sıcaklık ve 100 – 200 bar basınç koşullarına göre değişimi Şekil 4.16'da verilmiştir.



Şekil 4.16. Portakal posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriğinin 40°C işletme sıcaklığında basınç ile değişimi

Portakal posası ekstraktlarının toplam fenolik madde içeriğinin 40°C işletme sıcaklığında basınç artışı ile arttığı görülmektedir. Basınç 100 bar'dan 150 bar işletme basıncına çıkarıldığında toplam fenolik madde içeriğinde önemli derecede bir artış gözlenirken 200 bar basınç koşullarında 150 bar basınç değerinde elde edilen toplam fenolik madde miktarına göre daha az oranda bir artış olduğu görülmektedir. 40°C sabit sıcaklıkta işletme basıncının artmasına bağlı olarak toplam fenolik madde miktarında gözlenen bu artışın, SCF'nin çözme gücündeki artış ile polar yapıdaki fenolik bileşikler çözme gücünün artmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

4.3.2. Soxhlet Ekstraksiyon Yöntemi İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Fenolik Madde İçerikleri

Limon ve portakal posası örneklerinin fenolik madde ekstraksiyon işlemlerinde çözücü olarak saf metanolün kullanıldığı Soxhlet ekstraksiyon sürecinde sırasıyla 8 h ve 16 h işletme süreleri sonunda elde edilen ekstraktların toplam fenolik içerikleri Çizelge 4.7'te sunulmuştur.

Çizelge 4.7. Soxhlet ekstraksiyon metodu ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri

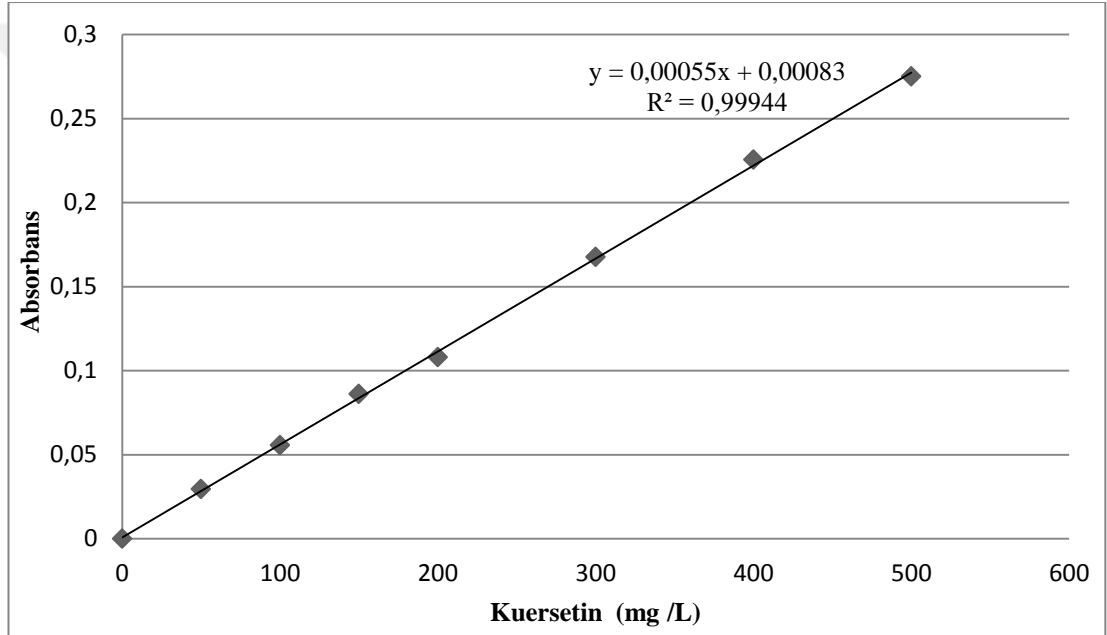
Soxhlet Ekstraksiyonu	Toplam fenolik içerik (μg GAE/g kuru posa)
Limon	8790.00
Portakal	9599.42

Soxhlet ekstraksiyon süreci sonucunda elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriğinin süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içeriğine göre oldukça fazla olduğu görülmektedir. Bu durum, Soxhlet ekstraksiyon sürecinde polaritesi yüksek bir çözücü olan metanolün kullanılması ile polar özellik gösteren fenolik bileşiklerin SFE metoduna göre ekstraksiyon veriminin fazla olmasından kaynaklanmaktadır.

Literatürde Gorinstein ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, soyulmuş limon ve portakalın toplam fenolik içeriği klorejenik asit eşdeğeri olarak sırasıyla 164 ± 10.3 ve 154 ± 10.2 mg/100 g taze örnek olarak belirlenmiştir [Gorinstein vd, 2001]. Wang ve arkadaşları ise sekiz turunçgil türünün yenilebilir kısımlarının toplam fenolik içeriğini belirledikleri çalışmada limonun (75.9 ± 3.87 mg/g db, gallik asit eşdeğeri) en yüksek fenolik içeriğe sahip olduğunu saptamışlar, geleneksel ismiyle adlandırılan Liucheng portakal türünün ise 37.3 ± 1.53 mg GAE/g dm toplam fenolik madde içeriğine sahip olduğunu belirlemişlerdir [Wang vd., 2007]. Portakal posası yağının süperkritik akışkan ekstraksiyon sürecinin incelendiği Benelli ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada ise toplam fenolik madde içeriği, farklı çözücüler kullanılarak yapılan Soxhlet ekstraksiyon işlemlerinde $6 \pm 2 - 45 \pm 2$ mg GAE/g ve SFE sürecinde $9 \pm 2 - 36 \pm 2$ mg GAE/g olarak saptanmıştır. Tez çalışması kapsamında elde edilen veriler değerlendirildiğinde Soxhlet ekstraksiyon işlemlerinde elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriği literatürdeki sonuçlara yakın olmakla beraber SFE süreci ile elde edilen ekstraktların düşük olduğu görülmektedir. Bu durum, turunçgil tür, iklim ve toprak yapısına bağlı olmakla beraber, çalışılan işletme koşullarına bağlı olarak ekstraksiyon verimine göre de değişmektedir.

4.4. EKSTRAKTLARIN TOPLAM FLAVONOİD MADDE MİKTARLARI

Limon ve portakal posalarından süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve Soxhlet ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları 0 – 500 mg/L derişim aralığında hazırlanan standart kuersetin çözeltisinin kalibrasyon doğrusunun regrasyon eşitliğinden ($y = 0.00055x + 0.00083$, $R^2 = 0.99944$) yararlanılarak hesaplanmış ve sonuçlar mg kuersetin/g kuru posa şeklinde ifade edilmiştir. Toplam flavonoid içeriğın belirlenmesi amacıyla hazırlanan kuersetin kalibrasyon doğrusu Şekil 4.17’te gösterilmiştir.



Şekil 4.17. Kuersetin kalibrasyon doğrusu grafiği

4.4.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Süreci İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Flavonoid Madde Miktarları

Limon ve portakal posalarından SFE yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları sırasıyla Çizelge 4.8 ve Çizelge 4.9’da sunulmuştur.

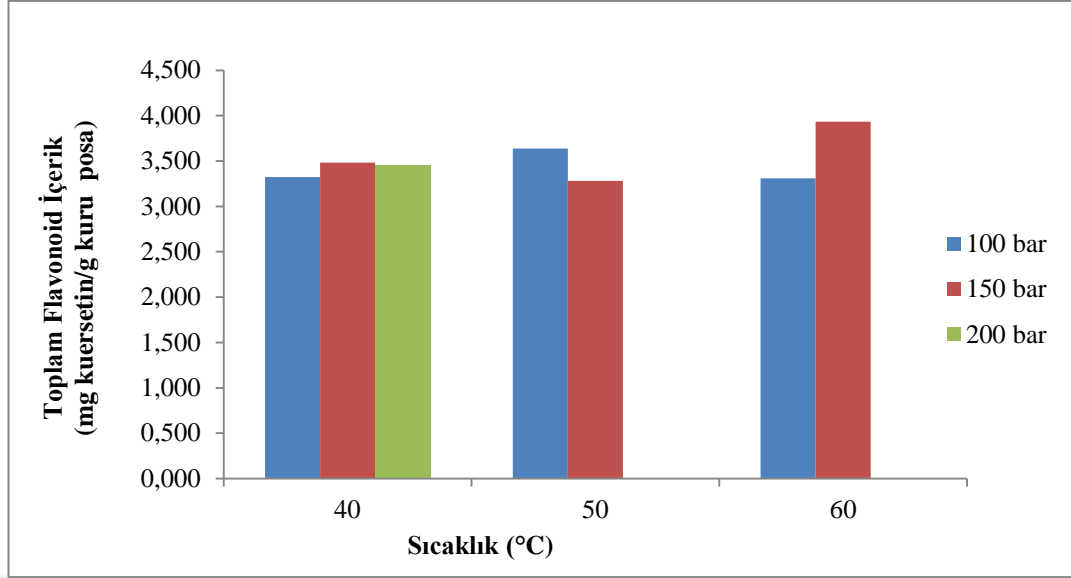
Çizelge 4.8. Limon posası ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı

Yöntem	İşletme Koşulları	Toplam flavonoid madde miktarı (mg kuersetin / g kuru posa)
SFE	40°C, 100 bar	3.32
SFE	50°C, 100 bar	3.64
SFE	60°C, 100 bar	3.31
SFE	40°C, 150 bar	3.48
SFE	50°C, 150 bar	3.28
SFE	60°C, 150 bar	3.93
SFE	40°C, 200 bar	3.45

Çizelge 4.9. Portakal posası ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı

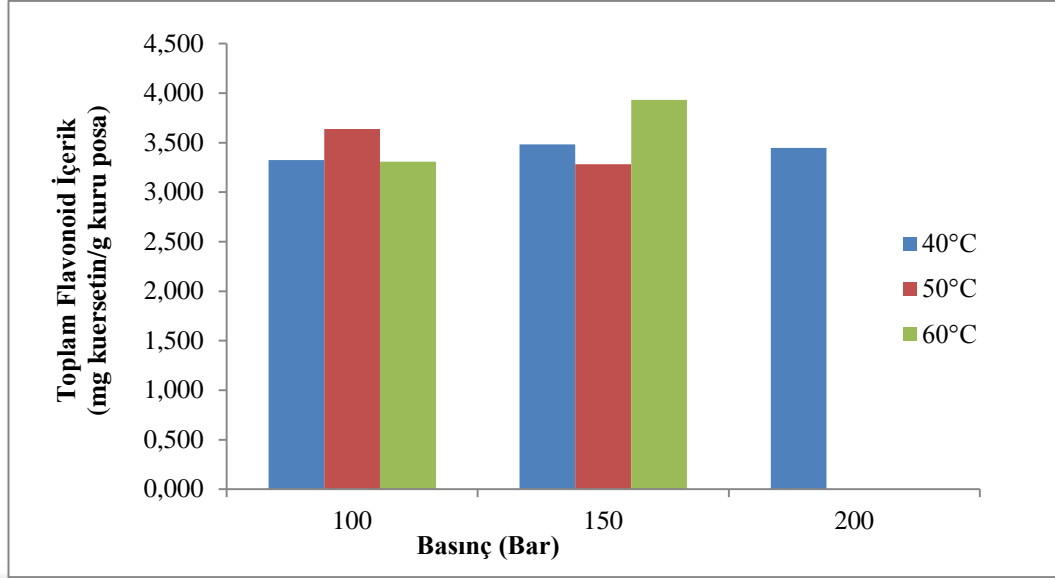
Yöntem	İşletme Koşulları	Toplam flavonoid madde miktarı (mg kuersetin / g kuru posa)
SFE	40°C, 100 bar	4.53
SFE	40°C, 150 bar	4.03
SFE	40°C, 200 bar	3.49

Limon posası ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarının sıcaklık ve basınç ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişimi sırasıyla Şekil 4.18 ve Şekil 4.19’da sunulmuştur.



Şekil 4.18. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarının farklı işletme basınçlarında sıcaklık ile değişimi

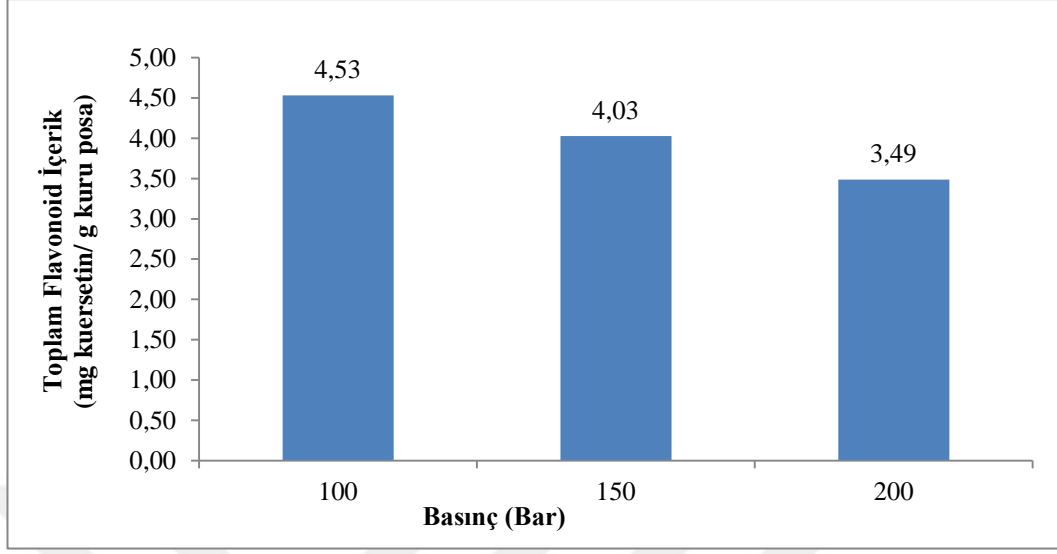
Şekil 4.18 incelendiğinde limon posası ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarının değişimi üzerinde sıcaklığın önemli bir etkisinin olmadığı görülmektedir. 100 bar sabit basınçta, sıcaklık 40°C'den 50°C'ye arttıkça flavonoid madde miktarında yaklaşık % 10 oranında bir artış olduğu görülmekte, sıcaklık 60°C'ye çıkarıldığında ise yaklaşık 40°C sıcaklık koşulunda elde edilen toplam flavonoid madde miktarına ulaşılmaktadır. Orta basınç (150 bar) işletme koşullarında ise 40°C ve 50°C sıcaklık değerlerinde birbirine oldukça yakın kuersetin eşdeğeri olarak tanımlanmış toplam fenolik madde miktarı saptanırken 60°C sıcaklık koşulunda toplam flavonoid madde miktarında 50°C sıcaklık koşullarına göre yaklaşık % 20 oranında bir artış bulunmuştur. 150 bar sabit basınç altında sıcaklığın toplam flavonoid madde miktarı üzerindeki değişim profili ile aynı işletme koşullarında elde edilen % verimin değişim profili benzerlik göstermektedir. 200 bar 40°C işletme parametrelerinde ise 100 bar - 40°C ve 150 bar - 40°C koşullarında elde edilen toplam flavonoid madde miktarları ile yakın sonuçlar bulunmuştur. Sonuç olarak farklı basınç koşullarında, işletme sıcaklığının değişimi ile limon posası ekstraktlarından elde edilen flavonoid madde miktarında çok önemli bir değişim olmadığı sonucuna varılabilir.



Şekil 4.19. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarının farklı işletme sıcaklıklarında basınç ile değişimi

Limon posası ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarının basınç ile değişimi incelendiğinde 40°C işletme sıcaklığında basıncın flavonoid madde miktarı üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı görülmektedir. 50°C sıcaklık koşulunda ise basınç artışıyla beraber toplam flavonoid madde miktarında azalma olduğu görülmektedir. 60°C sıcaklık koşulunda ise basınç arttıkça toplam flavonoid madde miktarında artış yakalanmıştır. Benzer değişim profili aynı işletme koşullarında % ekstraksiyon veriminde de gözlenmesi süreç üzerindeki etkilerin aynı olduğunun göstergesidir.

Portakal posasından süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde içeriğinin 40°C sıcaklık ve 100 – 200 bar basınç koşullarına göre değişimi Şekil 4.20’de verilmiştir.



Şekil 4.20. Portakal posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarının 40°C işletme sıcaklığında basınç ile değişimi

Portakal posası ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarının basınç ile değişimini gösteren Şekil 4.20 incelendiğinde basıncın artmasıyla toplam flavonoid madde miktarının azaldığı görülmektedir. Aynı işletme koşullarında basınç arttıkça ekstraksiyon veriminde artış gözlenirken (Şekil 4.12), toplam flavonoid madde miktarının azalmasının nedeni, basınç artışı ile SCF'nin yoğunluğunun ve çözme gücünün artmasına rağmen, polaritesi oldukça yüksek flavonoid bileşikleri çözme gücünün yetersiz kalması şeklinde yorumlanabilir.

4.4.2. Soxhlet Ekstraksiyon Yöntemi İle Elde Edilen Ekstraktların Toplam Flavonoid Madde Miktarları

Limon ve portakal posalarından Soxhlet ekstraksiyon sürecinde sonunda elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları Çizelge 4.10’da sunulmuştur.

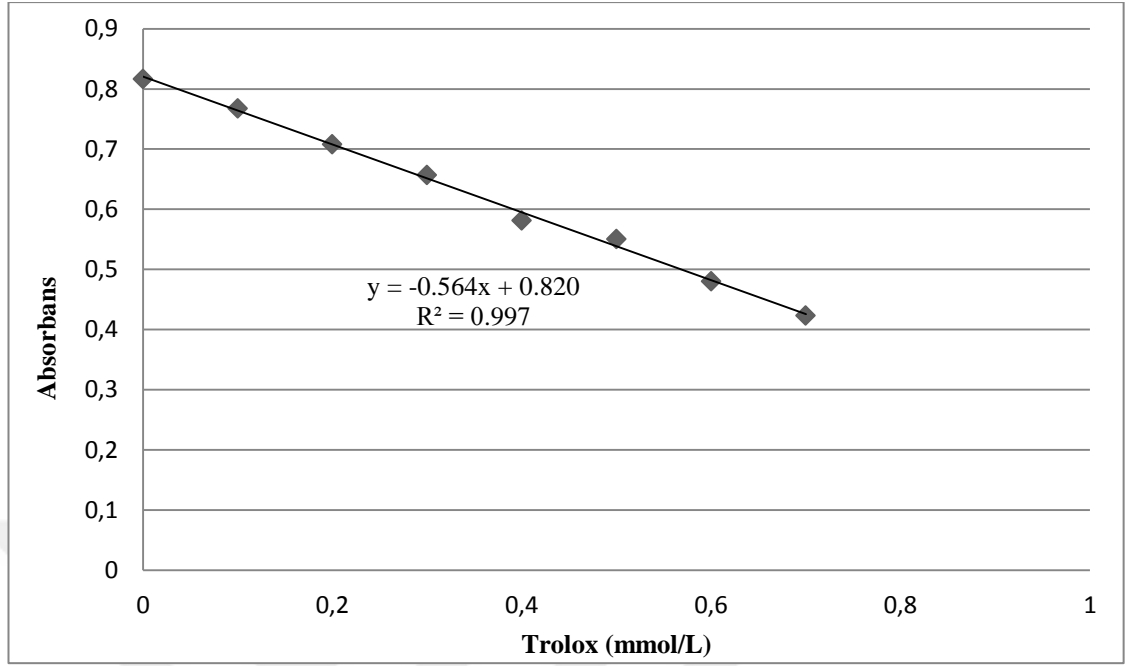
Çizelge 4.10. Soxhlet ekstraksiyon metodu ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarları

Soxhlet Ekstraksiyonu	Toplam flavonoid madde miktarı (mg kuersetin / g kuru posa)
Limon	28.46
Portakal	19.67

Çizelge 4.10’deki veriler değerlendirildiğinde Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarının SFE süreci ile elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde içeriğine göre oldukça fazla olduğu görülmektedir. Ayrıca limon posası ekstraktlarının toplam flavonoid madde miktarı açısından portakal posalarına göre daha zengin olduğu görülmektedir.

4.5. EKSTRAKTLARIN ANTIÖKSİDAN AKTİVİTELERİ

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında limon ve portakal posalarından süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve Soxhlet yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri DPPH yöntemine göre belirlenmiş ve sonuçlar 0 – 0.7 mmol/L derişim aralığında hazırlanan standart trolox çözeltisi kalibrasyon doğrusu aracılığıyla trolox eşdeğeri antioksidan aktivite (TEAC, $\mu\text{mol trolox/g kuru posa}$) şeklinde ifade edilmiştir. Ekstraktların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan trolox kalibrasyon doğrusu Şekil 4.21’de verilmiştir.



Şekil 4.21. Trolox kalibrasyon doğrusu grafiği

4.5.1. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Süreci İle Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri

Limón ve portakal posalarından SFE yöntemi ile elde edilen ekstraktların trolox eşdeğeri antioksidan aktiviteleri sırasıyla Çizelge 4.11 ve Çizelge 4.12’de sunulmuştur.

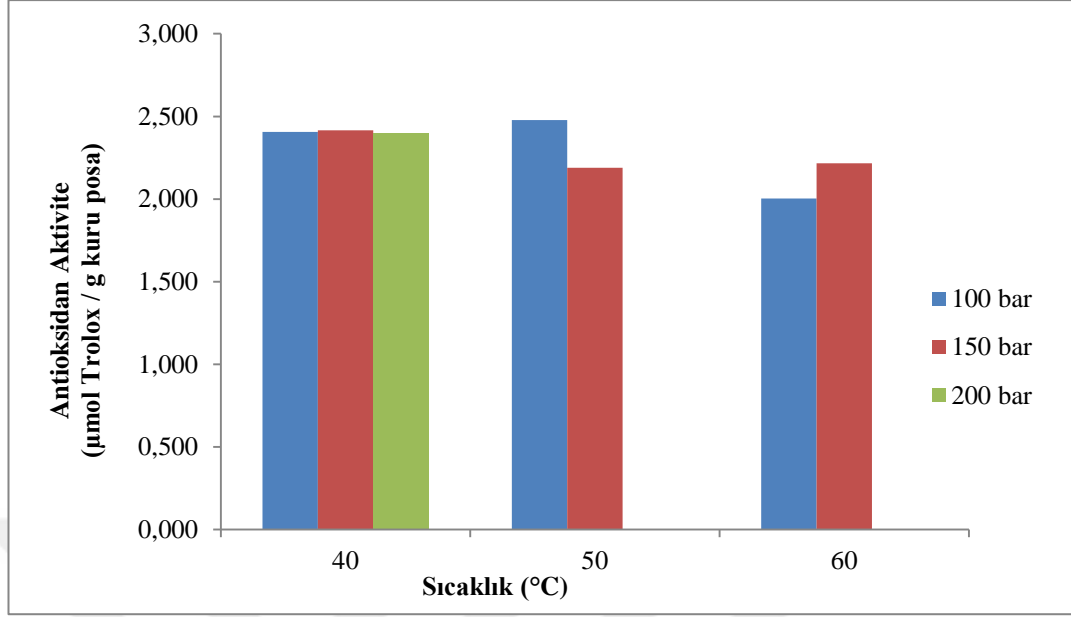
Çizelge 4.11. Limon posası ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri

Yöntem	İşletme Koşulları	Antioksidan Aktivite (μmol trolox /g kuru posa)
SFE	40°C, 100 bar	2.407
SFE	50°C, 100 bar	2.478
SFE	60°C, 100 bar	2.003
SFE	40°C, 150 bar	2.415
SFE	50°C, 150 bar	2.189
SFE	60°C, 150 bar	2.216
SFE	40°C, 200 bar	2.398

Çizelge 4.12. Portakal posası ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri

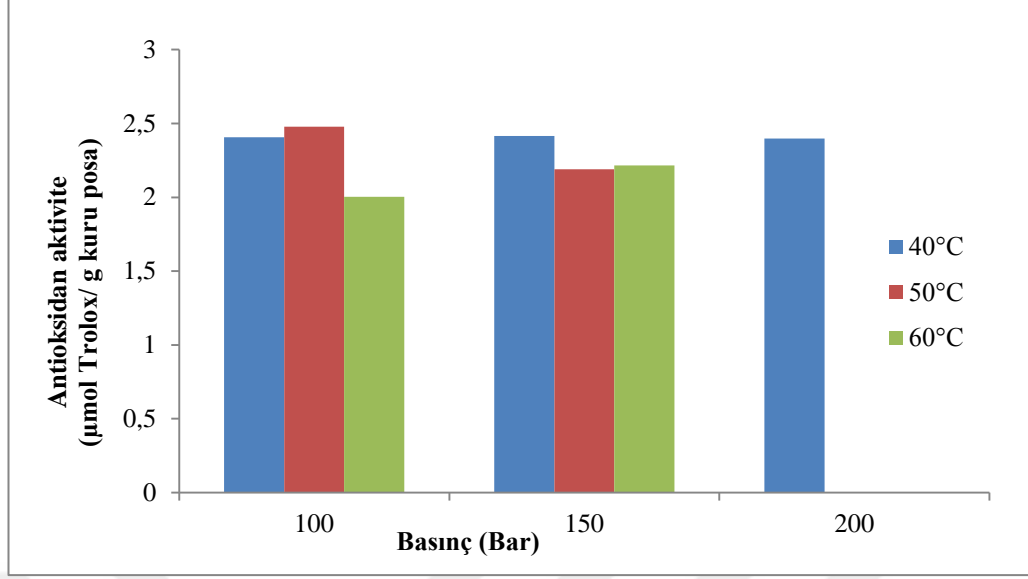
Yöntem	İşletme Koşulları	Antioksidan Aktivite (μmol trolox /g kuru posa)
SFE	40°C, 100 bar	3.067
SFE	40°C, 150 bar	3.369
SFE	40°C, 200 bar	3.239

Süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile elde edilen limon posası ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin sıcaklık ve basınç ekstraksiyon koşullarına bağlı olarak değişimi sırasıyla Şekil 4.21 ve Şekil 4.22’de sunulmuştur.



Şekil 4.22. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin farklı işletme basınçlarında sıcaklık ile değişimi

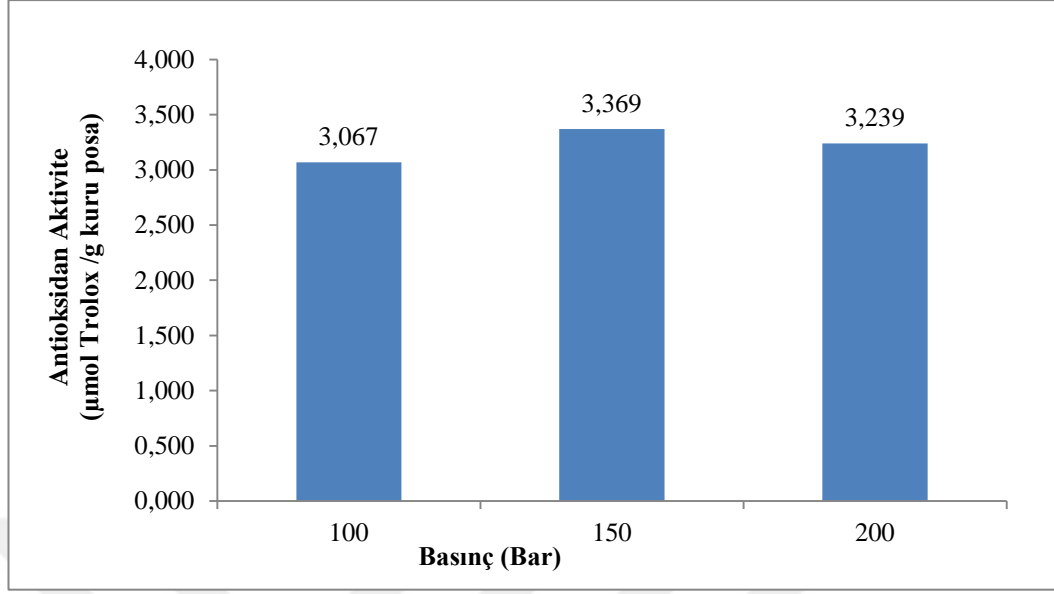
Süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile elde edilen limon posası ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin 100 – 200 bar basınç koşullarında sıcaklık ile değişimi incelendiğinde 100 bar işletme basıncında ekstraktların antioksidan aktivitesinde sıcaklık arttıkça önce artış, daha sonra ise azalış olduğu görülmektedir. 150 bar basınç koşullarında ise yine aynı eğilim görülmekte ve 200 bar 40°C işletme koşullarında ekstrakte edilen özütlerin antioksidan aktivitelerinin 40°C sabit basınç altında 100 ve 150 bar basınç koşullarında elde edilen ekstraktlarla yaklaşık aynı antioksidan aktivite gösterdiği görülmektedir. Deneysel sonuçlar değerlendirildiğinde 3 farklı basınç koşulunda değişen sıcaklıklara bağlı olarak birbirine yakın antioksidan aktivite gösteren ekstraktların elde edildiği saptanmıştır. Ekstraktların çalışma şartlarına göre antioksidan aktivitelerinde görülen küçük değişimlerin ekstraksiyon verimine bağlı olarak artan ya da azalan fenolik bileşik miktarı ile ilişkili olduğu düşünülebilir.



Şekil 4.23. Limon posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin farklı işletme sıcaklıklarında basınç ile değişimi

Limón posası ekstraktlarının antioksidan aktivitelerinin 40, 50 ve 60°C işletme sıcaklıklarında basınç ile değişimi incelendiğinde 40°C sabit sıcaklıkta basıncın antioksidan aktivite üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı görülmektedir. 50°C işletme sıcaklığında basınç arttıkça elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesinde düşüş, 60°C işletme sıcaklığında ise basınç arttıkça elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitesinde artış gözlenmektedir. 50°C ekstraksiyon sıcaklığında gözlenen bu durum % verimin azalması ile (Şekil 4.7) ekstrakte edilen fenolik madde miktarının azalmasının, 60°C sıcaklık koşulunda basınç 100 bar'dan 150 bar koşuluna getirildiğinde ise ekstraksiyon veriminde önemli bir değişim olmamasına rağmen SFE sürecinin seçiciliği nedeniyle antioksidan fenolik madde derişiminin artması sonucu gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

Portakal posasından süperkritik akışkan ekstraksiyon süreci ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin 40°C sıcaklık ve 100 – 200 bar basınç koşullarına göre değişimi Şekil 4.23'de verilmiştir.



Şekil 4.24. Portakal posasından SFE yöntemi ile edilen ekstraktların antioksidan aktivitelerinin 40°C işletme sıcaklığında değişen basınç değerleri ile değişimi

Şekil 4.23 incelendiğinde portakal posalarının 40°C sabit sıcaklıkta basınç 100 bar'dan 150 bar'a getirildiğinde ekstraktların antioksidan kapasitesinde artış olmakta basınç 200 bar'a çıkarıldığında ise antioksidan aktivite değerlerinde küçük bir azalış olduğu görülmektedir. Genel anlamda basınç artışı ile ekstraktların antioksidan aktivitelerinde çok büyük bir değişim gözlenmemektedir.

4.5.2. Soxhlet Ekstraksiyon Yöntemi İle Elde Edilen Ekstraktların Antioksidan Aktiviteleri

Limon ve portakal posalarından Soxhlet ekstraksiyon süreci sonunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri Çizelge 4.13'te sunulmuştur.

Çizelge 4.13. Limon ve portakal posalarından Soxhlet ekstraksiyon süreci sonunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri

Soxhlet Ekstraksiyonu	Antioksidan Aktivite ($\mu\text{mol trolox /g kuru posa}$)
Limon	23.80
Portakal	25.74

Çizelge 4.13 incelendiğinde limon ve portakal posalarının antioksidan aktivitelerinin birbirine oldukça yakın olduğu ve SFE yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinden yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile SFE ekstraksiyonuna göre oldukça yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmesinden ve metanolün polar yapıdaki fenolik bileşikleri daha çok çözmesinden dolayı gerçekleştiği belirtilebilir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Yüksek lisans tez çalışması kapsamında süperkritik akışkan ekstraksiyon yöntemi ile meyve suyu endüstrisinde çok miktarda atık olarak ele geçen limon ve portakal posalarından bir çok endüstri kolunda, önemli birer hammadde kaynağı olabilecek, düşük maliyetli ve kolay erişilebilirliğe sahip fenolik ekstraktların eldesinin amaçlandığı bu çalışmada, temel işletme parametrelerinin ekstraksiyon süreci üzerindeki etkileri incelenmiş, elde edilen ekstraktların toplam fenolik içeriği, toplam flavonoid içeriği ve antioksidan aktivitesi belirlenmiştir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu süreci sonunda elde edilen veriler, Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen deney sonuçlarıyla karşılaştırılmış olup; sonuçlar toplu olarak aşağıda sunulmuştur.

- i. Süperkritik akışkan ekstraksiyon işlemleri öncesi limon ve portakal posalarının içerdiği nem miktarı sırasıyla kütleye % 78.56 ± 0.840 ve % 88.65 ± 0.365 g nem/g kuru posa şeklinde gravimetrik olarak belirlenmiştir.
- ii. Limon ve portakal posalarının çözücü olarak %99 saflıkta metanol ile gerçekleştirilen Soxhlet ekstraksiyon işlemleri sonucunda % verim değerleri limon posası için, kuru temel üzerinden kütleye % 38.2 ± 1.18 g ekstrakt/g kuru posa ve portakal posası için ise 16 h ve 25 h işletim süresi sonunda sırasıyla % 37.63 g ekstrakt/g kuru posa ve % 38.164 g ekstrakt/g kuru posa olarak belirlenmiştir.
- iii. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu sürecinde, işletme süresinin % verime etkisi $100 - 224 \mu\text{m}$ tanecik büyüklüğündeki limon posası örnekleri kullanılarak araştırılmış ve 40°C , 100 bar çalışma şartlarında 3.5 ve 6 h süren kesikli ekstraksiyon deneyleri sonucunda sırasıyla kütleye % 0.645 ± 0.00 g ekstrakt/g kuru posa ve % 0.665 ± 0.096 g ekstrakt/g kuru posa ekstraksiyon verimlerine ulaşılmış ve bu ekstraksiyon süreleri sonucunda ulaşılan % verimlerde önemli bir değişim olmadığı görülmüş; bu nedenle süreci etkileyen diğer ayırma parametrelerinin etkisi 3.5 h olarak belirlenen optimum işletme süresinde belirlenmiştir.

- iv. Sıcaklığın % verime etkisinin araştırıldığı deneysel çalışmalar, 100 – 224 µm tanecik büyüklüğündeki limon posası örnekleri ile 40, 50 ve 60°C sıcaklık değerlerinde 100 bar basınç koşullarında yürütülmüş olup, sıcaklık arttıkça % verimde önemli derecede bir azalış görülmüştür. 100 bar basınç ve 3.5 h işletim süresi sonunda; 40, 50 ve 60°C sıcaklık değerleri için % verimler sırasıyla; % 0.645 ± 0.00 g ekstrakt/g kuru posa, % 0.420 ± 0.021 g ekstrakt/ g kuru posa ve % 0.237 ± 0.018 g ekstrakt/ g kuru posa olarak saptanmıştır.
- v. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sürecinde, % verime yardımcı çözücünün etkisi limon posası örnekleri ile; 100 bar basınç, 40°C sıcaklık ve 3.5 h ekstraksiyon süresi koşullarında SC-CO₂'e hacimce % 25 oranında etanol eklenmesi durumunda ekstraksiyon veriminde gözlenen değişim incelenerek belirlenmiştir. Sadece SC-CO₂ kullanılarak gerçekleştirilen deneyler sonucunda % 0.645 ± 0.00 g ekstrakt/g kuru posa % verim elde edilirken; süperkritik akışkan olarak SC-CO₂+etanol karışımının kullanıldığı şartlarda % verim değeri % 1.765 ± 0.290 g ekstrakt/g kuru posa olarak saptanmıştır.
- vi. Süperkritik akışkan olarak SC-CO₂+etanol karışımının kullanıldığı ekstraksiyon işlemlerinde limon posası örnekleri için temel işletme parametreleri olan sıcaklık ve basıncın etkisi 40 – 60°C sıcaklık ve 100 – 200 bar basınç koşullarında incelenmiştir.
- vii. Yardımcı çözücü etanol eşliğinde yürütülen limon posası örneklerinin süperkritik akışkan ekstraksiyonu sürecinde, basıncın % verime etkisi araştırılmış ve düşük (40°C) işletme sıcaklığında en uygun işletme basıncının en yüksek verimin elde edildiği 150 bar basınç değeri olduğu saptanmıştır. Orta (50°C) işletme sıcaklığında 100 bar basınç değerinde, yüksek (60°C) işletme sıcaklığında ise yine 100 bar basınçta maksimum % verime ulaşılmıştır. Sonuç olarak en yüksek % verime (% 3.460 ± 1.014 g ekstrakt/g kuru posa) 100 bar ve 50°C işletme koşullarında ulaşılmıştır.
- viii. Limon posası örneklerinin süperkritik akışkan ekstraksiyonu sürecinde, sıcaklığın % verime etkisinin incelendiği deneysel çalışmalarda en yüksek % verime, düşük (100 bar) basınç koşullarında 50°C, orta (150 bar) basınç

koşullarında 50°C ve yüksek (200 bar) basınç koşullarında ise 40°C işletme sıcaklık değerlerinde ulaşılmıştır.

- ix. Portakal posasının SFE süreci 100 – 224 µm tanecik büyüklüğündeki örnekler ile 40°C düşük işletme sıcaklığında 100 – 200 bar basınç değerlerinde, yardımcı çözücü olarak etanol kullanılarak 3.5 h statik işletme süresinde yürütülen deneyler ile aydınlatılmıştır. Deneysel sonuçlar 40°C sabit sıcaklık koşulunda basınç arttıkça % verimde artış olduğunu göstermiş ve en yüksek ekstraksiyon verimi 40°C ve 200 bar işletme parametrelerinde % 1.965 ± 0.219 g ekstrakt/g kuru posa olarak saptanmıştır.
- x. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu işlemleri sonunda limon posasından elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri işletme koşullarına bağlı olarak 778.75 – 1164.71 µg GAE/g kuru posa değerleri arasında değişmektedir. En yüksek fenolik madde miktarı 40°C ve 150 bar koşullarında 1164.71 µg GAE/g kuru posa olarak elde edilmiştir. Portakal posası ekstraktlarının toplam fenolik madde miktarı ise 1268.69 – 1839.54 µg GAE/g kuru posa olarak saptanmış ve en yüksek toplam fenolik içerik 40°C ve 200 bar koşullarında bulunmuştur.
- xi. Soxhlet ekstraksiyon işlemleri sonucunda limon ve portakal posalarının toplam fenolik madde içeriği sırasıyla 8790 ve 9599.42 µg GAE/g kuru posa olarak saptanmıştır.
- xii. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu işlemleri sonunda limon posasından elde edilen ekstraktların toplam flavonoid madde miktarı işletme koşullarına bağlı olarak 3.31 – 3.93 mg kuersetin/g kuru posa değerleri arasında değişmektedir. En yüksek flavonoid madde miktarı 60°C ve 150 bar koşullarında 3.93 mg kuersetin/g kuru posa olarak elde edilmiştir. Portakal posasının toplam flavonoid madde miktarı ise 3.49 – 4.53 mg kuersetin/g kuru posa olarak saptanmış ve en yüksek toplam flavonoid madde miktarı 40°C ve 100 bar koşullarında elde edilmiştir.
- xiii. Soxhlet ekstraksiyon süreci sonucunda elde edilen limon ve portakal posası ekstraktlarındaki toplam flavonoid madde miktarı sırasıyla 28.46 ve 19.67 mg kuersetin/g kuru posa olarak bulunmuştur.

- xiv. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve Soxhlet ekstraksiyon süreçleri ile limon ve portakal posalarından elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri trolox eşdeğeri antioksidan aktivite olarak ifade edilmiş olup, SFE süreci sonunda elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri limon posası örnekleri için 2.003 – 2.415 μmol trolox /g kuru posa olarak bulunmuş ve en yüksek trolox eşdeğeri antioksidan aktivite gösteren ekstraktlar 40°C ve 150 bar koşullarında elde edilmiştir. Portakal posası ekstraktlarının antioksidan aktivitesi ise işletme koşullarına bağlı olarak 3.067 – 3.369 μmol trolox/g kuru posa olarak saptanmış ve en yüksek antioksidan aktivite gösteren ekstraktlar 40°C ve 150 bar koşullarında elde edilmiştir.
- xv. Soxhlet ekstraksiyon süreci sonucunda elde edilen limon ve portakal posası ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri sırasıyla 23.80 ve 25.74 μmol trolox/g kuru posa olarak bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- Abad-García, B., Garmón-Lobato, S., Berrueta, L. A., Gallo, B., Vicente, F., “On line characterization of 58 phenolic compounds in Citrus fruit juices from Spanish cultivars by high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection coupled to electrospray ionization triple quadrupole mass spectrometry,” *Talanta*, 99: 213 – 224. (2012).
- Abeysinghe, D. C., Li, X., Sun, C., Zhang, W., Zhou, C., Chen, K., “Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species”, *Food chemistry*, 104 (4) : 1338-1344, (2007).
- Acosta-Estrada, B. A., Janet A., G-U., Sergio O. S.-S., “Bound phenolics in foods, a review.” *Food chemistry*, 152: 46 – 55, (2014).
- Adil, I. H., Cetin, H. I., Yener, M. E., Bayındırlı, A. “Subcritical (carbon dioxide+ ethanol) extraction of polyphenols from apple and peach pomaces, and determination of the antioxidant activities of the extracts,” *The journal of supercritical fluids*, 43 (1): 55 – 63 (2007).
- Akgün, M., “Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonunda Termodinamik ve Taşınım Özelliklerinin İncelenmesi”, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 100 s., (1999).
- Albayrak, S., Sağdıç, O., Aksoy, A., “Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler,” *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri, Enstitüsü Dergisi*, 26 (4): 401 – 409, (2010).
- Avşar, G., “Orijinal Nitelikte Florlanmış Fosfin ve Rodyum (I) Komplekslerinin Sentezi ve Süperkritik Karbondioksit Ortamında Hidrojenasyon Reaksiyonlarında Kullanımı” Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 205 s., (2008).
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Omar, A. K. M., “Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review”, *Journal of Food Engineering*, 117 (4): 426 – 436, (2013).
- Balasundram, N., Sundram, K., Samman, S., “ Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses”, *Food chemistry*, 99 (1): 191 – 203, (2006).
- Bashipour, F., and Ghoreishi, S. M., “Experimental optimization of supercritical extraction of β -carotene from *Aloe barbadensis* Miller via genetic algorithm”, *The Journal of Supercritical Fluids*, 72: 312 – 319, (2012).

- Benelli, P., Riehl, C. A. S., Smania Jr. A., Smania, E. F. A. and Ferreira, S. R. S., “Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition”, *Journal of Supercritical Fluids*, 55: 132 – 141, (2010).
- Bhagwat, S., Haytowitz, D. B., Holden, J. M. USDA database for the flavonoid content of selected foods, Release 3.1. Beltsville: US Department of Agriculture, 03 – 1, (2014).
- Blainski, A., Lopes, G. C., De Mello, J. C. P., “Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L.” *Molecules*, 18 (6): 6852 – 6865, (2013).
- Bocco, A., Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C., “Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46 (6): 2123 – 2129, (1998).
- Boukroufa, M., Boutekedjiret, C., Petigny, L., Rakotomanomana, N., Chemat, F., “Bio-refinery of orange peels waste: A new concept based on integrated green and solvent free extraction processes using ultrasound and microwave techniques to obtain essential oil, polyphenols and pectin”, *Ultrasonics sonochemistry*, 24: 72 – 79, (2015).
- Boyanay, K., “Turunçgil Yapraklarından Çeşitli Ayırma Yöntemleri İle Uçucu Yağ Eldesi ve Bileşiminin İncelenmesi”, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 115 s., (2013).
- Brunner, G., “Supercritical fluids: technology and application to food processing,” *Journal of Food Engineering*, 67 (1): 21 – 33, (2005).
- Cano, A., Medina, A., Bermejo, A., “Bioactive compounds in different citrus varieties. Discrimination among cultivars,” *Journal of Food Composition and Analysis*, 21 (5): 377 – 381, (2008).
- Chen, M. L., Yang, D. J., Liu, S. C. “Effects of drying temperature on the flavonoid, phenolic acid and antioxidative capacities of the methanol extract of citrus fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) peels,” *International Journal of Food Science & Technology*, 46 (6): 1179 – 1185, (2011).
- Clifford, T., “Fundamentals of Supercritical Fluids”, Oxford University Press, New York, 210 s., (1999).
- Crozier, A., Jaganath, I. B., Clifford, M. N., “Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health”, *Natural product reports*, 26 (8): 1001 – 1043 , (2009).
- Çalıklı, A., “Susam Yağının Süperkritik Akışkanlar ile Ekstraksiyonu Matematik Modelleme” BAP Sonuç Raporu, Ankara Üniversitesi, (2007).

- Çalimli, A., “ İkincil Bitki Metaboliti Kapsidiolün Süperkritik CO₂ Ekstraksiyonu ve Matematik Modelleme”, Tübitak MİSAG-211, (2005).
- Çalimli, A., “Kayısı ve Vişne Suyu Üretimindeki Atıkların Değerlendirilmesi” BAP Sonuç Raporu, Ankara Üniversitesi, (2003).
- Danielski, L., “Extraction and Fractionation of Natural Organic Compounds from Plant Materials with Supercritical Carbon Dioxide”, Technical University of Hamburg, PhD thesis, 179 p., (2007).
- De Castro, M. L., and Jiménez-Carmona, M. M., “ Where is supercritical fluid extraction going?”, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 19 (4): 223 – 228. (2000).
- De Melo, M. M. R., Silvestre, A. J. D., Silva, C. M., “Supercritical fluid extraction of vegetable matrices: applications, trends and future perspectives of a convincing green technology,” *The Journal of Supercritical Fluids*, 92: 115 – 176, (2014).
- Del Rio, J. A., Fuster, M. D., Gómez, P., Porras, I., Garcia-Lidón, A., Ortuño, A., “Citrus limon: a source of flavonoids of pharmaceutical interest,” *Food Chemistry*, 84 (3): 457 – 461, (2004).
- Del Valle, J. M., "Extraction of natural compounds using supercritical CO₂: Going from the laboratory to the industrial application," *The Journal of Supercritical Fluids*, 96: 180 – 199, (2015).
- Dinçer, S., Acaralı , N. B., Uzun, İ. N., Deniz, S., “A Second Option in Special Separation Operations: Supercritical Fluid Processes”, *Journal of Engineering and Natural Sciences*, 25 – 2, (2007).
- Döker, O., “Doğal Maddelerin Dolgulu Kolon Ekstraktörde Süperkritik CO₂ ile Ekstraksiyonunun Modellenmesi”, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 147 s., (2002).
- Döker, O., “RESS Süreci ile Eritromisin Tanecikleri Oluşumu,” Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 89 s., (2007).
- Döker, O., Salgın, U., Yıldız, N., Aydoğmuş, M., Çalimli, A., “Extraction of sesame seed oil using supercritical CO₂ and mathematical modeling,” *Journal of Food Engineering*, 97 (3): 360 – 366. (2010).
- Duba, K. S., and Fiori, L., “Supercritical CO₂ extraction of grape seed oil: Effect of process parameters on the extraction kinetics,” *The Journal of Supercritical Fluids*, 98: 33 – 43, (2015).
- El Marsni, Z., Casas, L., Mantell, C., Rodríguez, M., Torres, A., Macias, F. A., Varela, R. M., “Potential allelopathic of the fractions obtained from sunflower leaves using supercritical carbon dioxide,” *The Journal of Supercritical Fluids*, 60: 28 – 37, (2011).

- Erişim, 2008 (a), “Bahçecilik: Limon yetiştiriciliği”, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi (MEGEP), Ankara
- Erişim, 2008 (b), “Bahçecilik: Portakal yetiştiriciliği”, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi (MEGEP), Ankara
- Erişim, 2015 (a) : http://fdocgrower.com/wp-content/uploads/2010/11/Flavonoids_Orange_1.pdf (27.04.2015)
- Erişim, 2015 (b), “Türkiye’de Turunçgil Üretimi, Dış Ticareti ve Sorunları” TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, e-kütüphane.
- Erişim, 2015 (c) : <http://tr.wikipedia.org/wiki/Portakal> (11.03.2015)
- Erişim, 2015 (d) : <http://tr.wikipedia.org/wiki/Limon> (11.03.2015)
- Erlund, I., “Review of the flavonoids quercetin, hesperetin, and naringenin. Dietary sources, bioactivities, bioavailability, and epidemiology,” Nutrition Research, 24 (10): 851 – 874, (2004).
- Fariás-Campomanes, A. M., Rostagno, M. A., A. Meireles, M. A., “Production of polyphenol extracts from grape bagasse using supercritical fluids:Yield, extract composition and economic evaluation”, Journal of Supercritical Fluids 77: 70– 78, (2013).
- Galanakis, C. M., “Recovery of high added-value components from food wastes: conventional, emerging technologies and commercialized applications,” Trends in Food Science & Technology, 26 (2): 68 – 87, (2012).
- Gelmez, N., Kıncal, N. S., Yener, M. E., “Optimization of supercritical carbon dioxide extraction of antioxidants from roasted wheat germ based on yield, total phenolic and tocopherol contents, and antioxidant activities of the extracts,” The Journal of Supercritical Fluids, 48 (3): 217 – 224, (2009).
- Giannuzzo, A. N., Boggetti, H. J., Nazareno, M. A., Mishima, H. T., “Supercritical fluid extraction of naringin from the peel of Citrus paradisi”, Phytochemical Analysis, 14 (4): 221 – 223, (2003).
- González-Molina, E., Domínguez-Perles, R., Moreno, D. A., García-Viguera, C., “Natural bioactive compounds of Citrus limon for food and health. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis,” 51 (2): 327 – 345, (2010).
- Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Park, Y. S., Haruenkit, R., Lojek, A., Číž, M., Trakhtenberg, S., “Comparison of some biochemical characteristics of different citrus fruits,” Food Chemistry, 74 (3): 309 – 315, (2001).

- Gök, A., “Turunçgillerden Farklı Yöntemlerle Uçucu Yağ Elde Edilmesi ve Kimyasal Bileşiminin İncelenmesi” İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 150 s., (2012).
- Gündoğdu, M., “Pistacia Türlerinin Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu ve Yağ Asitlerinin GC-MS İle Tayini”, Kafkas Üniveritesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 74 s., (2007).
- Herrero, M., Alejandro C., Elena I., "Sub-and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review." Food chemistry, 98: 1136 – 148, (2006).
- Huang, Y. S., and Ho, S. C., “Polymethoxy flavones are responsible for the anti-inflammatory activity of citrus fruit peel,” Food Chemistry, 119 (3): 868 – 873, (2010).
- Ignat, I., Volf, I., Popa, V. I., “A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables,” Food Chemistry, 126 (4): 1821 – 1835, (2011).
- Kalinowska, M., Bielawska, A., Lewandowska- Siwkiewicz, H., Priebe W., Lewandowski, W., “Apples: Content of phenolic compounds vs. variety, part of apple and cultivation model, extraction of phenolic compounds, biological properties”, Plant Physiology and Biochemistry, 84: 169 – 188 (2014).
- Kalita, P., Tapan, B. K., Pal, T. K., Kalita, R., “Estimation of total flavonoids content (TFC) and anti oxidant activities of methanolic whole plant extract of *Biophytum sensitivum* Linn,” Journal of Drug Delivery and Therapeutics, 3(4): 33 – 37 , (2013).
- Kamali, H., Golmakani, E., Golshan, A., Mohammadi, A., Sani, T. A., “Optimization of ethanol modified supercritical carbon dioxide on the extract yield and antioxidant activity from *Biebersteinia multifida* DC”, The Journal of Supercritical Fluids, 91: 46 – 52, (2014).
- Kammerer, D. R., Kammerer, J., Valet, R., Carle, R., “Recovery of polyphenols from the by-products of plant food processing and application as valuable food ingredients,” Food Research International, 65: 2 – 12, (2014).
- Kayan, B., “*Taxus Baccata L*’nin Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri İle Ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Verimlerinin Karşılaştırılması”, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 165 s., (2009).
- Kelebek, H., Canbas, A., Selli, S. “Determination of phenolic composition and antioxidant capacity of blood orange juices obtained from cvs. Moro and Sanguinello (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) grown in Turkey”, Food Chemistry, 107 (4): 1710 – 1716, (2008).

- Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A. S., Dangles, O., Chemat, F., “Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel,” *Food Chemistry*, 119 (2): 851 – 858, (2010).
- Khan, M. K., Huma, Z. E., Dangles, O., “A comprehensive review on flavanones, the major citrus polyphenols”, *Journal of Food Composition and Analysis* 33: 85–104, (2014).
- Kim, D. O., Jeong, S. W., Lee, C. Y., “Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums”, *Food chemistry*, 81 (3): 321 – 326, (2003).
- Kitzberger, C. S. G., Smânia, A., Pedrosa, R. C., Ferreira, S. R. S., “Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*) extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids,” *Journal of food engineering*, 80 (2): 631 – 638, (2007).
- Knez, Ž., Markočič, E., Leitgeb, M., Primožič, M., Hrnčič, M. K., Škerget, M., “Industrial applications of supercritical fluids: A review,” *Energy*, 77: 235 -243, (2014).
- Korkmaz, H., “Kabak Çekirdeği Yağ Asitlerinin Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu”, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 130 s., (2011).
- Kökyar, N., “Portakal Suyu Endüstrisi Atıklarından Fenolik Bileşiklerin Derişiklendirilmesi”, *İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 105 s., (2012).
- Lang, Q., and Wai, C. M., “Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—a practical review”, *Talanta*, 53 (4): 771 – 782, (2001).
- Ledesma-Escobar, C. A. and Luque de Castro, M. D., “Towards a comprehensive exploitation of citrus”, *Trends in Food Science & Technology*, 39: 63 – 75, (2014).
- Lee, Y. H., Charles, A. L., Kung, H. F., Ho, C. T., Huang, T. C., “Extraction of nobiletin and tangeretin from *Citrus depressa* Hayata by supercritical carbon dioxide with ethanol as modifier”, *Industrial Crops and Products*, 31 (1): 59 – 64, (2010).
- Lewis, M. J., “15.3b Natural Product Screening: Anti-oxidant Screen for Extracts”, (2012).
- Machado, B. A. S., Pereira, C. G., Nunes, S. B., Padilha, F. F., Umsza-Guez, M. A., “Supercritical fluid extraction using CO₂: main applications and future perspectives,” *Separation Science and Technology*, 48 (18): 2741 – 2760, (2013).

- Machmudah, S., Kondo, M., Sasaki, M., Goto, M., Munemasa, J., Yamagata, M., “Pressure effect in supercritical CO₂ extraction of plant seeds,” *The Journal of Supercritical Fluids*, 44 (3): 301 – 307, (2008).
- Marr, R., and Gamse, T., “Use of supercritical fluids for different processes including new developments—a review,” *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 39 (1): 19 – 28, (2000).
- Martínez, J. L., “Supercritical Fluid Extraction of Nutraceuticals and Bioactive Compounds”, CRC Press, United States Of America, 402 s., (2007).
- Masmoudi, M., Besbes, S., Chaabouni, M., Robert, C., Paquot, M., Blecker, C., Attia, H., “Optimization of pectin extraction from lemon by-product with acidified date juice using response surface methodology,” *Carbohydrate polymers*, 74 (2): 185 – 192, (2008).
- Modey, W. K., Mulholland, D. A., Raynor, M. W., “Analytical supercritical fluid extraction of natural products”, *Phytochemical Analysis*, 7 (1): 1 – 15, (1996).
- Moure, A., Cruz, J. M., Franco, D., Domínguez, J. M., Sineiro, J., Domínguez, H., Parajó, J.C., “Natural antioxidants from residual sources”, *Food Chemistry*, 72 (2): 145 – 171, (2001).
- Nizamlioğlu, N. M. and Nas, S., “Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri,” *Electronic Journal of Food Technologies*, 5 (1): 20 – 35, (2010).
- Osman, I. H., and Tantaway, A. A., “Antioxidant activity and protective effects of commercial propolis on gentamicin induced nephrotoxicity in rabbits-in vitro study,” *Turkish journal of biochemistry-türk biyokimya dergisi*, 38 (4): 409 – 415, (2013).
- Özcimder M., Demirci, A., “Gaz ve Sıvı Kromatografileri”, Bilim Yayıncılık, Kırıkkale, (2004).
- Özkal , S.G., Yener , M.E., Bayındırlı, L., Mass Transfer Modeling of Apricot Kernel Oil Extraction with Supercritical Carbon Dioxide, *Journal of Supercritical Fluids*, 35: 119–127, (2005).
- Pascual, J. M., and Carmona, J. F. “Composition of citrus pulp,” *Animal Feed Science and Technology*, 5 (1): 1 – 10, (1980).
- Pasquali, I., Bettini, R., Giordano, F., “Supercritical fluid technologies: an innovative approach for manipulating the solid-state of pharmaceuticals,” *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60 (3): 399 – 410, (2008).
- Peterson, J. and Dwyer, J., “Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity,” *Nutrition Research*, 18 (12): 1995 – 2018, (1998).

- Philippot, G., Elissalde, C., Maglione, M., Aymonier, C. “Supercritical fluid technology: A reliable process for high quality BaTiO₃ based nanomaterials,” *Advanced Powder Technology*, 25(5): 1415-1429, (2014).
- Prior, R. L., Wu, X., Schaich, K., “Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements,” *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(10): 4290 – 4302, (2005).
- Radcliffe, C., Maguire, K., Lockwood, B., “Applications of supercritical fluid extraction and chromatography in forensic science,” *Journal of biochemical and biophysical methods*, 43(1): 261 – 272, (2000).
- Ramful, D., Bahorun, T., Bourdon, E., Tarnus, E., Aruoma, O. I., “Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application”, *Toxicology*, 278(1): 75 – 87. (2010).
- Ramful, D., Tamus, E., Aruoma, I. O., Bourdon, E., Bahorun, T., “Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps,” *Food Research International* 44: 2088–2099, (2011).
- Ramsey, E., Qiubai, S., Zhang, Z., Zhang, C., Wei, G., “Mini-review: green sustainable processes using supercritical fluid carbon dioxide,” *Journal of Environmental Sciences*, 21 (6): 720 – 726, (2009).
- Rawson, A., Tiwari, B. K., Brunton, N., Brennan, C., Cullen, P. J., O'Donnell, C. P., “Application of supercritical carbon dioxide to fruit and vegetables: extraction, processing, and preservation,” *Food Reviews International*, 28 (3): 253 – 276, (2012).
- Reverchon, E., and De Marco, I. “Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter,” *The Journal of Supercritical Fluids*, 38(2): 146 – 166, (2006).
- Rice-evans, C. A., Miller, N. J., Bolwell, P. G., Bramley, P. M., Pridham, J. B., “The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids,” *Free radical research*, 22(4): 375 – 383, (1995).
- Rosso Comim, S. R., Madella, K., Oliveira, J. V. and Ferreira, S. R. S., “Supercritical fluid extraction from dried banana peel (*Musa spp.* genomic group AAB): Extraction yield, mathematical modeling, economical analysis and phase equilibria”, *Journal of Supercritical Fluids*, 54(1): 30 – 37, (2010).
- Russo, M., Bonaccorsi, I., Torre, G., Saró, M., Dugo, P., Mondello, L., “Underestimated sources of flavonoids, limonoids and dietary fibre: Availability in lemon’s by-products”, *Journal of Functional Foods*, 9: 18–26, (2014).

- Sahena, F., Zaidul, I. S. M., Jinap, S., Karim, A. A., Abbas, K. A., Norulaini, N. A. N., Omar, A. K. M., “Application of supercritical CO₂ in lipid extraction—a review,” *Journal of Food Engineering*, 95 (2): 240 – 253, (2009).
- Salgın, U., “Extraction of jojoba seed oil using supercritical CO₂ + ethanol mixture in green and high-tech separation process,” *The Journal of Supercritical Fluids*, 39 (3): 330 – 337, (2007).
- Selen İşbilir, Ş., “Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi”, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 132 s., (2008).
- Seyitoğlu Kocabaş, N., “Süperkritik Karbondioksit (CO₂) Ortamında Üçlü Faz Diyagramlarının İncelenmesi” Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü, Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 128 s., (2008).
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A., “Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents,” *American journal of Enology and Viticulture*, 16 (3): 144 – 158, (1965).
- Skoog, A. D., Holler F. J., Nieman A.T., “Principles of Instrumental Analysis” (Çeviri: Kılıç, E., Köseoğlu, F., Yılmaz, H.), Ankara, (1998).
- Slinkard, K., Singleton, V. L. “Total phenols analysis: Automation and comparison with manual Methods,” *American Journal of Enology and Viticulture*, 28: 49 – 55, (1977).
- Suetsugu, T., Iwai, H., Tanaka, M., Hoshino, M., Quitain, A., Sasaki, M., Goto, M., “Extraction of citrus flavonoids from peel of citrus junos using supercritical carbon dioxide with polar solvent”, *Chemical Engineering and Science*, 1(4): 87 – 90, (2013).
- Sunarso, J., and Ismadji, S., “Decontamination of hazardous substances from solid matrices and liquids using supercritical fluids extraction: a review,” *Journal of hazardous materials*, 161 (1): 1 – 20, (2009).
- Şahin, S., “Zeytin ağacı yapraklarından Süperkritik –CO₂ ile Ekstrakt Eldesi ve Bileşimindeki Oleuropein Miktarının İncelenmesi”, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 212 s., (2011).
- Şanal, İ. S., Güvenç, A., Salgın, U., Mehmetoğlu, Ü., Çalimli, A., “Recycling of apricot pomace by supercritical CO₂ extraction”, *Journal of Supercritical Fluids*, 32: 221–230, (2004).
- Taberero, A., del Valle, E. M. M., Galán, M. A., “Supercritical fluids for pharmaceutical particle engineering: Methods, basic fundamentals and modelling,” *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 60: 9 – 25, (2012).

- Taylor, L. T., "Supercritical Fluid Extraction", John Wiley & Sons, Canada, 181 s., (1996).
- Temelli, F., "Perspectives on supercritical fluid processing of fats and oils, Journal of Supercritical Fluids", 47: 583 – 590, (2009).
- Toledo- Guillén, A. R., Higuera- Ciapara, I., García- Navarrete, G., Fuenta, J. C., "Extraction of Bioactive Flavonoid Compounds from Orange (*Citrus sinensis*) Peel Using Supercritical CO₂", Journal of Biotechnology, 150S: S1–S576, (2010).
- Tripoli, E., La Guardia, M., Giammanco, S., Di Majo, D., Giammanco, M., "Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review", Food chemistry, 104 (2): 466 – 479, (2007).
- Tuberoso, C. I., Melis, M., Angioni, A., Pala, M., & Cabras, P., "Myrtle hydroalcoholic extracts obtained from different selections of *Myrtus communis* L.", Food Chemistry, 101 (2): 806 – 811, (2007).
- TÜİK, Bitkisel Üretim İstatistikleri Veritabanı, 2014.
- Tütem E., "Bitkisel Gıdaların Toplam Antioksidan Kapasiteleri ve Başlıca Fenolik Bileşenleri", ppt, 2011.
- Valcárcel, M., Tena, M. T., "Applications of supercritical fluid extraction in food analysis," Fresenius' journal of analytical chemistry, 358 (5): 561 – 573. (1997).
- Vasapollo, G., Longo, L., Rescio, L., Ciurlia, L., "Innovative supercritical CO₂ extraction of lycopene from tomato in the presence of vegetable oil as co-solvent", The Journal of supercritical fluids, 29 (1): 87 – 96, (2004).
- Viganó, J., Machado, A. P. F., Martinez, J., "Sub- and supercritical fluid technology applied to food waste processing", 96: 272 – 286, (2015).
- Wang, L., Weller, C.L., "Recent advanced in extraction of nutraceuticals from plants," Trends in Food Science & Technology, 17: 300-312, (2006).
- Wang, X., Chen, Q., Lü, X., "Pectin extracted from apple pomace and citrus peel by subcritical water", Food Hydrocolloids, 38: 129 – 137, (2014).
- Wang, Y. C., Chuang, Y. C., Hsu, H. W., "The flavonoid, carotenoid and pectin content in peels of citrus cultivated in Taiwan," Food chemistry, 106 (1): 277 – 284, (2008).
- Wang, Y. C., Chuang, Y. C., Ku, Y. H., "Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan," Food chemistry, 102 (4): 1163 – 1171, (2007).

- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N., “Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin,” *Food Research International*, 46 (2): 505 – 513, (2012).
- Xu, L., Zhan, X., Zeng, Z., Chen, R., Li, H., Xie, T., Wang, S., “Recent advances on supercritical fluid extraction of essential oils”, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5 (9): 1196 – 1211, (2011).
- Yılmaz, C. and Gökmen, V., “Compositional characteristics of sour cherry kernel and its oil as influenced by different extraction and roasting conditions”, *Industrial Crops and Products*, 49: 130 – 135, (2013).
- Yılmaz, C., “Vişne Çekirdeği Atıklarının Gıda İngrediyeni Olarak Değerlendirilmesi” *Hacettepe Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 74 s., (2013).
- Yılmaz, Ö., “Aspir (*Carthamus tinctorius* L.) Tohumunun Süperkritik CO₂ Ekstraksiyonu”, *Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 139 s., (2009)
- Yu, J., Dandekar, D. V., Toledo, R. T., Singh, R. K., Patil, B. S., “ Supercritical fluid extraction of limonoids and naringin from grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) seeds”, *Food Chemistry*, 105 (3): 1026 – 1031, (2007).
- Zhishen, J., Mengcheng, T., Jianming, W., “The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals,” *Food Chem.*, 64: 555 – 5, (1999).

EKLER

Ek-1 % Verim değerlerinin hesaplanması

Limon ve portakal posalarının süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve Soxhlet ekstraksiyon süreçlerinde verim; % verim olarak %, (g ekstrakt / g kuru posa) olarak tanımlanmıştır. Ekstraksiyon işlemleri sonucunda elde edilen fenolik ekstrakt miktarları gravimetrik olarak belirlenmiştir.

$$\% V_{\text{eks}} = \frac{m_{\text{eks}}}{m_{\text{kuru posa}}} \times 100 \dots \dots \dots (E1)$$

Burada;

V_{eks} : Verim (g ekstrakt /g kuru posa)

m_{eks} : Ekstrakte edilen madde miktarı (g)

$m_{\text{kuru posa}}$: Başlangıçta alınan posa örneği miktarı (g kuru posa)

Ek-2 Nem ve Uçucu Bileşen İçeriği Hesaplamaları

Limon posası örneklerinin % nem ve uçucu bileşen içeriği hesabı aşağıda verilmiştir. Portakal posası örneklerinin nem içeriği de aynı şekilde gravimetrik olarak belirlenmiştir.

1. petri kabı

$$\% \text{ nem içeriği} = \frac{\text{g nem}}{\text{g kuru posa}} = \frac{20.1622}{25.9978} \times 100 = 77.55$$

2. petri kabı

$$\% \text{ nem içeriği} = \frac{\text{g nem}}{\text{g kuru posa}} = \frac{19.9495}{25.1350} \times 100 = 79.37$$

3. petri kabı

$$\% \text{ nem içeriği} = \frac{\text{g nem}}{\text{g kuru posa}} = \frac{19.7442}{25.2100} \times 100 = 79.13$$

4. petri kabı

$$\% \text{ nem içeriği} = \frac{\text{g nem}}{\text{g kuru posa}} = \frac{19.8967}{25.4413} \times 100 = 78.20$$

Ortalama nem içeriği

$$\text{Ortalama nem içeriği} = \frac{77.55+79.37+79.13+78.20}{4} \times 100 = \% 78.56 (\pm 0.84)$$

Ek-3 Örneklerin Toplam Fenolik Madde, Flavonoid Madde ve Antioksidan Aktivitelerinin Kalibrasyon Doğruları Aracılığıyla Belirlenmesi

Limon ve portakal posası örneklerinden SFE ve Soxhlet yöntemi ile elde edilen ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri, toplam flavonoid madde miktarları ve antioksidan aktiviteleri kalibrasyon doğruları denklemlerinin regresyon eşitliğinden faydalanılarak aşağıdaki toplam fenolik içeriğin belirlenmesi için verilen eşitliğin kullanımına benzer olarak hesaplanmıştır.

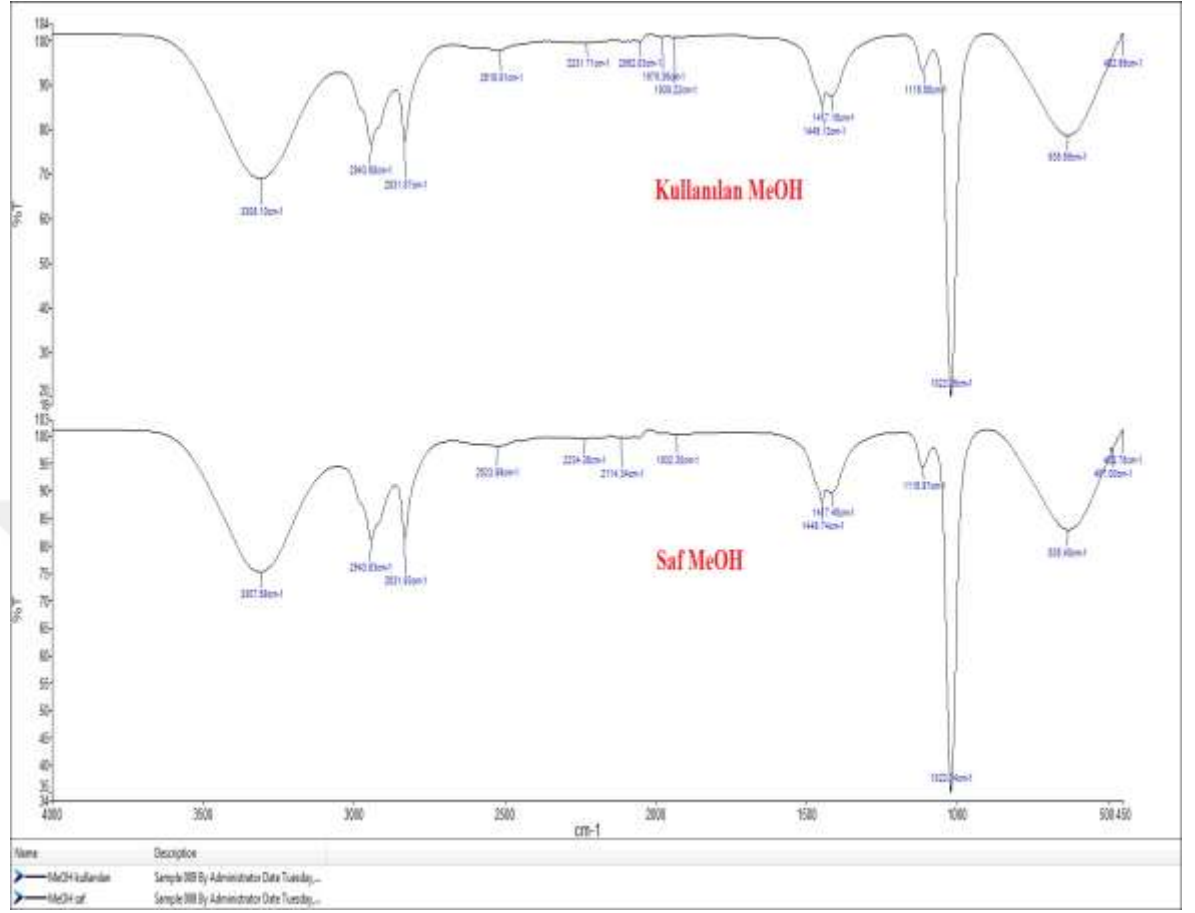
$$GAE = C_{\text{gallik asit}} \times \frac{m_c}{m_y} \times \text{Seyreltme faktörü} \dots \dots \dots (E2)$$

m_c = Ekstraktın toplandığı çözücü miktarı (mL)

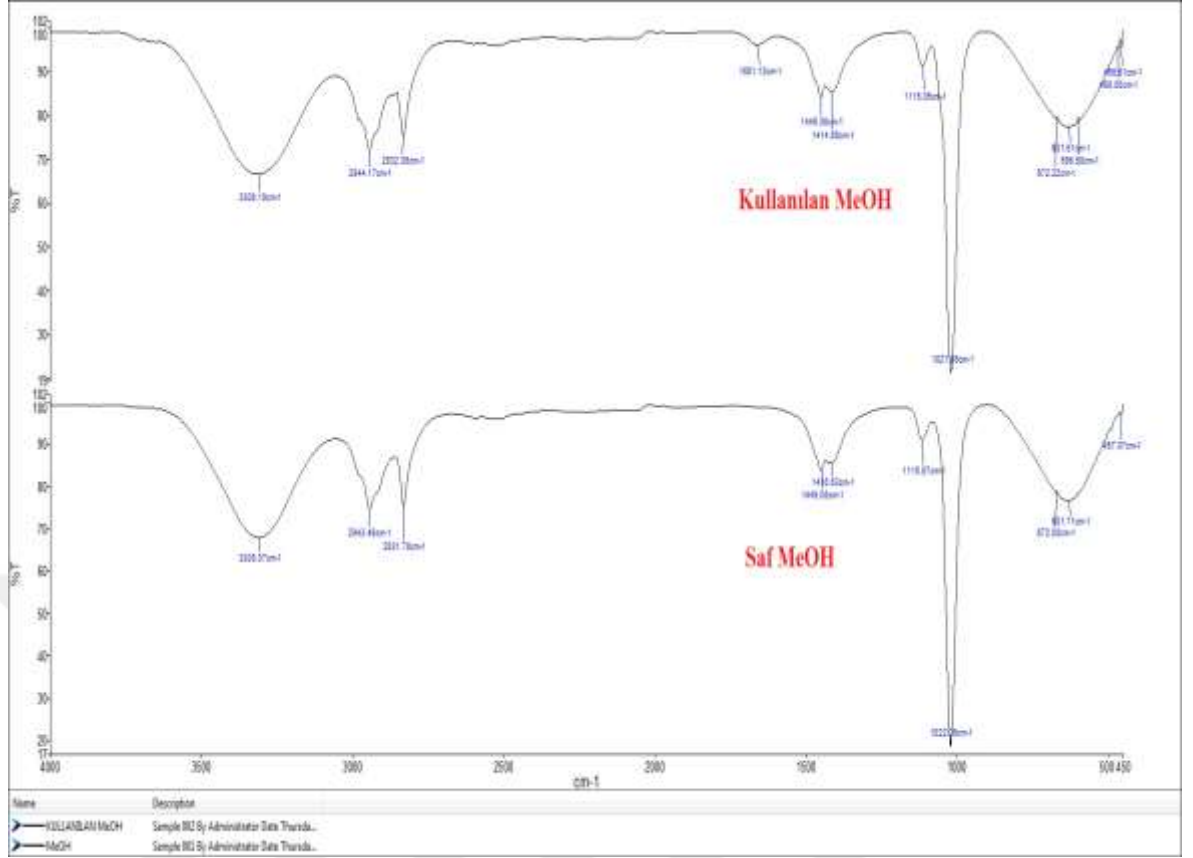
m_y = Örnek miktarı (g kuru posa)

$C_{\text{gallik asit}}$ = Gallik asit konsantrasyonu (mg/L, μg /mL)

Ek-4 FTIR Spektrumları



Şekil E. 1. Limon posası örneklerinin Soxhlet ekstraksiyon sürecinde kullanılan metanol ve saf metanolün FTIR spektrumları



Şekil E. 2. Portakal posası örneklerinin Soxhlet ekstraksiyon işlemlerinde kullanılan metanolün ve saf metanolün FTIR spektrumları

ÖZGEÇMİŞ VE ESERLER LİSTESİ

Adı Soyadı: Memduha ERGÜT

Doğum Tarihi: 17/01/1989

Öğrenim Durumu: Yüksek Lisans

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lise	Fen Bilimleri	Kongre Lisesi (Y.D.A)	2003-2007
Lisans	Kimya Mühendisliği	Cumhuriyet Üniversitesi	2008-2012
Yüksek Lisans	Kimya Mühendisliği	Mersin Üniversitesi	2013-2015

(Varsa) Görevler:

Görev Unvanı	Görev Yeri	Yıl
Araştırma Görevlisi	Mersin Üniversitesi	12.2013-Devam ediyor

ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)

1. ERGÜT, M., DÖKER, O., “Supercritical Fluid Extraction of Phenolic Compounds from Lemon and Orange Pomaces”, 1st International Conference on Green Chemistry and Sustainable Technologies, (30 Eylül – 3 Ekim, 2015), İzmir/Türkiye (incelemede).