

TC
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANA BİLİM DALI

PİSTACIA TÜRLERİNİN SÜPERKRİTİK AKIŞKAN EKSTRAKSİYONU
VE YAĞ ASİTLERİNİN GC-MS İLE TAYİNİ

Mahir GÜNDOĞDU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Yard. Doç. Dr. Fikret AKDENİZ

HAZİRAN 2007
KARS

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmada Pistasia türlerinin süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve yağ asitlerinin GC-MS ile tayini araştırılmıştır.

Tez çalışmam boyunca bana her türlü desteği sağlayan, çalışmamın her aşamasında yakın ilgisini esirgemeyen, bilgi ve önerileri ile beni her konuda yönlendiren danışman hocam, Sayın Yard. Doç. Dr. Fikret AKDENİZ'e, ve tezin hazırlanması sürecinde yine katkılarını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. İsmail ÇAKMAK ve Sayın Doç. Dr. Sabri ULUKANLI'ya ayrıca Fırat YILDIZ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman desteğini ve yardımlarını aldığım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kars-2007

Mahir GÜNDOĞDU

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Mahir GÜNDOĞDU'nun yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "*Pistacia türlerinin süperkritik akışkan ekstraksiyonu ve yağ asitlerinin GC-MS ile tayini*" adlı bu çalışma yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ile kabul edilmiştir.

...../...../2007

Adı-Soyadı	İmza
Başkan :.....
Üye :.....
Üye :.....
Üye :.....

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/...../2007 tarih ve/..... Sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Vahit ALİŞOĞLU
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
ÖZET	III
ABSTRACT	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VII
RESİMLER DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yağlı Tohumlu Bitkilerin Dünyadaki Durumu	3
2.2. Yağlı Tohumlu Bitkilerin Türkiye'deki Durumu	5
2.3. Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon	7
2.3.1. Süperkritik akışkanların tanımı ve özellikleri	7
2.3.2. Süperkritik akışkanların avantajları	11
2.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Tekniği, Uygulaması ve İlgili	13
2.4.1. Akışkan materyaller ve düzenleyiciler (modifiyerler)	14
2.4.2. Numune hazırlama	17
2.4.3. Ekstraksiyon şartları	19
2.4.4. Ekstrakt toplama metodları	22
2.4.5. On-line fraksiyonlama ve kromatografik metodlarla birleştirme	23
2.5. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonunun Uygulandığı Farklı	25
Çalışma Alanları	25
2.5.1. Fosil yakıtlar	25
2.5.2. Çevresel numuneler	25
2.5.3. Doğal ürünler ve ilaçlar	26
2.5.4. Katı ve sıvı yağlar	26
2.5.5. Tat ve koku verici maddeler	28
3. DENEYSEL KISIM	29
3.1. Materyal ve Metod	29
3.1.1. Numune hazırlanması	29
3.1.2. Orijinal odun analizleri	29
3.1.2.1. Lignin ve selüloz tayinleri	29
3.1.2.2. Nem, kül, uçucu madde ve sabit karbon tayinleri	29
3.1.2.4. Numunenin ve bittim yağının üst ısı değeri	30

3.1.3. Geleneksel yöntemle bittim yağının ekstraksiyonu	30
3.1.3.1. Yağın serbest yağ asidi yüzdesi	30
3.1.4. Soxhlet ekstraksiyonu	31
3.1.5. Süperkritik akışkan ve subkritik çözücü ekstraksiyonları	31
3.1.6. Ekstraktların GC-MS analizine hazırlanması ve analizi	33
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	35
4.1. Orijinal Odun Analizlerinden Elde Edilen Bulgular	35
4.2. Geleneksel Yöntemle Bittim Yağı Ekstraksiyonu Deneylerinden Elde Edilen Bulgular	35
4.3. Soxhlet Ekstraksiyonu Deneylerinden Elde Edilen Bulgular	36
4.4. Süperkritik ve Subkritik Ekstraksiyonlardan Elde Edilen Bulgular	37
4.4.1 Sıcaklığın ekstraksiyon verimine etkisi	38
4.4.2. Ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimine etkisi	41
4.5. GC-MS Analizi Bulguları	44
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	45
6. KAYNAKLAR	49
EKLER	56
7. ÖZGEÇMİŞ	62

ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye'nin özellikle Doğu ve Güney Doğu Anadolu Bölgelerinde doğal olarak yetişen yabani bir yağlı tohum bitkisi olan *Pistacia* (bıttım) türlerinin tohumlarından geleneksel metodlar, soxhlet metodu ile süperkritik akışkan ve subkritik çözücü ekstraksiyonu yoluyla yağ ekstrakte edildi. Kullanılan ekstraksiyon tekniklerinin verimi ve etkililikleri karşılaştırıldı. Çalışmada çözücü olarak n-hekzan, aseton ve metanol kullanıldı. Elde edilen yağ, metil esterlerine çevrilerek GC-MS analizine tabi tutuldu. Böylelikle bıttım tohumu yağının yağ asidi içeriği belirlendi.

Soxhlet ekstraksiyonlarında en yüksek verim n-hekzan ile yapılan deneylerden elde edildi (% 50,4). Bunu % 47,6 ile aseton ve % 21,5 ile metanol ile yapılan ekstraksiyonlar izledi.

Süperkritik ve subkritik ekstraksiyon deneylerinde en yüksek verim yüzdelerine süperkritik aseton ve n-hekzan deneylerinde ulaşıldı (sırasıyla % 50,5 ve % 49,8). Bu değerleri süperkritik metanol ekstraksiyonu % 22,0 ile takip etti. Bu sonuçlara göre n-hekzan ve aseton'un yağ ekstraksiyonu için metanol'e göre daha uygun çözücüler oldukları bulundu. Subkritik ekstraksiyonların da geleneksel metodlara göre daha etkili olduğu görüldü. Sıcaklık ve ekstraksiyon süresinin genel olarak verimi artırdığı bulundu. En uygun ekstraksiyon süresinin 30 dakika olduğu tespit edildi.

GC-MS analizleri de, bıttım yağının % 67,25 oleik asit, % 16,13 palmitik asit, % 13,23 linoleik asit ve % 3,39 stearik asit içerdiğini ortaya koydu. Bıttım yağı % 80,48 oranında doymamış yağ asitlerinden, % 19,52 oranında doymuş yağ asitlerinden oluşmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Pistacia* türleri tohumları, geleneksel ekstraksiyon, soxhlet ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyon, subkritik ekstraksiyon, GC-MS analizi

ABSTRACT

Supercritical fluid extraction of *Pistacia* species and determination of fatty acid content by GC-MS analysis

In this study, *Pistacia* (bittum) species' seeds, a kind of wild oilseed plant that naturally grown in Turkey's Eastern and South-Eastern Regions, was subject to extraction by using conventional, Soxhlet and supercritical fluid extraction techniques, and their extraction yields and efficiencies were compared. n-Hexane, acetone and methanol were used as extraction solvents. Oil obtained from *Pistacia* seeds was transesterified to its fatty acid methyl esters and then introduced into the GC-MS system. Thus, fatty acid content of the oil was determined.

In Soxhlet extractions, maximum extraction yield was obtained from n-hexane extractions with 50,4 % yield. This value followed by acetone and methanol extractions, with the value of 47,6 % and 21,5 %, respectively. In supercritical and subcritical extractions, maximum yield values were obtained in acetone and n-hexane extractions (50,5 % and 49,8 %, respectively). Supercritical methanol extraction yield was only 22,0 %. It was found out that, n-hexane and acetone were more suitable solvents than methanol to achieve oil extractions from oil seeds. It was also found that subcritical extractions were more effective than conventional techniques. In general, when extraction temperature and time increased, extraction yields also increased. Optimum extraction time was determined as 30 min.

GC-MS analyses showed that, extracted oil was consist of 67,25 % oleic acid, 16,13 % palmitic acid, 13,23 % linoleic acid and 3,39 % stearic acid. Thus, oil was also consist of 80,48 % unsaturated, 19,52 % saturated fatty acids.

Key Words: *Pistacia* species' seeds, conventional extraction, Soxhlet extraction, supercritical extraction, subcritical extraction, GC-MS analysis

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. CO ₂ 'e ait basınç-sıcaklık diyagramı. P _c : Kritik Basınç (bar); T _c : Kritik Sıcaklık (Kelvin); C _p : Kritik Nokta; T _p : Üçlü Nokta (Bu noktada madde katı, sıvı ve gaz karışımıdır).....	8
Şekil 3.1. Süperkritik akışkan deneylerinde kullanılan otoklavın teknik resmi	32
Şekil 4.1. n-Hekzan için sıcaklığa karşılık ekstraksiyon verimi grafiği (t = 30 dk)	39
Şekil 4.2. Aseton için sıcaklığa karşılık ekstraksiyon verimi grafiği (t = 30 dk) ..	39
Şekil 4.3. Metanol için sıcaklığa karşılık ekstraksiyon verimi grafiği (t = 30 dk)	40
Şekil 4.4. n-Hekzan için ekstraksiyon süresine karşılık ekstraksiyon verimi grafiği	42
Şekil 4.5. Aseton için ekstraksiyon süresine karşılık ekstraksiyon verimi grafiği	42
Şekil 4.6. Metanol için ekstraksiyon süresine karşılık ekstraksiyon verimi grafiği	43

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1.Dünya yağlı tohumlu bitkilerin ekiliş, üretim ve verim değerleri (3).	4
Çizelge 2.2.Türkiye yağlı tohumlu bitkilerin ekiliş, üretim ve verim değerleri (3)	6
Çizelge 2.1. Süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı çözücülerin özellikleri	10
Çizelge 4.1. Orijinal odun analizlerinden elde edilen bulgular	35
Çizelge 4.2. Soxhlet ekstraksiyonlarından elde edilen verim yüzdeleri	36
Çizelge 4.3. Süperkritik ve subkritik n-hekzan, aseton ve metanol ekstraksiyonlarından elde edilen verim yüzdeleri (tam kuru numune üzerinden yüzde)	37
Çizelge 4.4. Bıttım yağının yağ asidi bileşim yüzdesi (toplam yağ asitleri metil esterleri üzerinden)	44

RESİMLER DİZİNİ

Resim 2.1. Sıvı CO₂'nin sıcaklık etkisiyle faz dönüşümü:9

1. GİRİŞ

Bitkisel yağların etkili, verimli bir şekilde üretimi ve kullanılmaları hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkeler açısından önem arz etmektedir. Bitkisel yağ üretiminde genellikle yenilebilir olan zeytinyağı, ayçiçeği yağı, mısır yağı, soya yağı vs. gibi türlere ağırlık verilse de, bunların haricinde kalan ve genelde isimleri fazla bilinmeyen pek çok değişik yağ bitkileri veya daha doğru bir deyimle bitkisel yağ kaynakları bulmak mümkündür. Örneğin, üzüm çekirdekleri şarap endüstrisindeki katı atıklarının yaklaşık % 15'ini oluşturur. Bu atık genellikle ya yakılır ya da hayvan gübresi olarak kullanılır. Oysa yaklaşık % 85-90 doymamış yağ asidi oranı, üzüm çekirdeği yağını yüksek kaliteli bir besinsel yağ veya gıda katkı maddesi yapmaktadır. Günlük diyetle alınacak böyle bir yağ, trombozis'in önlenmesi, kardiovasküler hastalıkların giderilmesi, kandaki kolesterol seviyesinin azaltılması, kan damarlarının genişlemesi ve otonomik sinirlerin düzenlenmesi açısından etkili özellikler sergilemektedir (1). Diğer yandan kauçuk tohumu yağı gibi bitkisel yağlardan transesterifikasyon işlemiyle üretilen ester türü yakıtlar (biyodizel) gittikçe dizel yakıtlara uygun bir alternatif haline gelmektedirler (2). Çünkü bitkisel kaynaklı yağlar yenilenebilirler, yerel olarak üretilebilirler ve çevre dostudurlar. Pratik olarak kükürt içermezler, depolama güçlükleri yoktur ve mükemmel yağlama özellikleri vardır. Bundan da ötesi, bitkisel yağ üretimi yapılan bitki ve ağaçlar, yandıklarında atmosfere verdiklerinden daha fazla miktarda karbondioksidi fotosentezleri sırasında atmosferden alırlar. Yani diğer bir deyimle, bitkisel yağ kökenli yakıt kullanımı, güncel problemlerimizden biri olan "küresel ısınma" olayına sebep olan sera gazlarının en önemlisi sayılan karbondioksit'in atmosferdeki konsantrasyonunun artışına ekstra bir katkı getirmez, tam tersi azaltabilir. Ülke içinde dizel yakıt yerine bitkisel kaynaklı yakıt tüketimi, bu ürünlere bağlı dış ödemeler dengesini ana petrol ihracatçısı ülkeler için bile olumlu yönde etkileyecektir. Bu tür projeler özellikle gelişmekte olan ülkeleri belli ölçülerde rahatlatabilecektir. Bitkisel yağların çeşitli avantajları arasında belki en önemlilerinden birisi, uzun vadede petrol kökenli yakıtların yerine kullanılabilme potansiyelleridir (2).

Yukarıda verilen yağ kaynaklarına pek çok ilaveler yapılabilir. Her ülke kendi iklim koşullarına uygun nitelikte yağ bitkilerini belirleyip yetiştirebilir. Örneğin kanola (kolza), aspir, haşhaş, pamuk tohumu (çiğit), yer fıstığı ve susam bu grup içinde değerlendirilebilecek bir çok bitki türünden sadece birkaçıdır. Bunlardan özellikle kanola bitkisi dünyada gittikçe artan bir ölçüde ilgi görmekte ve Amerika Birleşik Devletleri'nden Hindistan'a kadar pek çok ülkede önemli miktarlarda yetiştirilmektedir (3).

Türkiye, hemen her çeşit bitkiye uygun iklim koşullarına sahip olmakla birlikte yağ bitkisi üretiminde genellikle ayçiçeği, pamuk, soya, zeytin, mısır ilk sıraları almaktadır. Bunları çok daha az üretim değerleriyle haşhaş, kanola ve palm yağı takip etmektedir (3). Oysa ülkemizde bunlara ilave olarak yerel olarak üretilip kullanılan başka yağ kaynağı bitkiler de vardır. Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde doğal olarak yetişen ve yağı çıkarılıp çeşitli amaçlarla kullanılan yabani fıstık türleri (*Pistacia*) bunlardan biridir. Yöresel isimlerinden birisi "Bıttım" ya da "Buttum" olan bu bitkilerin tohumlarını yöre halkı çeşitli maksatlarla kullanmaktadır. Özellikle bu tohumlardan çıkarılan yağdan üretilen sabunlar piyasada "Bıttım" sabunu olarak bilinmekte ve kozmetikte kullanılmaktadır (4, 5).

Yağlı tohum çekirdeklerinden yağın çıkarılması için kullanılan geleneksel metodlar, tüm materyalin kesikli çalışan bir hidrolik preste preslenmesi ya da öğütülüp ısıtıldıktan sonra çekirdeklerin vida tipi preslerden geçirilmesinden ibarettir. Fakat her ikisi de ekonomik değildir (6). Günümüzde bu teknikler büyük ölçüde, çekirdeklerin veya tohumların döner değirmenlerde tamamen kırıldıktan ve ısıtıldıktan sonra bir çözücü yardımıyla (genellikle hekzan) ekstraksiyonları şeklinde uygulanan teknikle yer değiştirmiş durumdadırlar. Daha sonra elde edilen bu ham yağ nötralize edilir, aktif karbon ve kil kullanılarak rengi giderilir ve nihayetinde de vakum altında kokusu giderilir. Bu ekstraksiyon metodunun verimi yüksektir ancak ekstraksiyon basamağının tamamlanması için uzun zaman (birkaç saat) gerektirmektedir (1).

Son yıllarda yağlı tohum çekirdeklerinden yağ ekstraksiyonu için organik çözücü kullanmayan alternatif metodlar önerilmektedir. Örneğin sıcak su ekstraksiyonu (7) ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SAE) gibi (8-10). Sıcak su ekstraksiyonu yöntemi, güvenlik ve fiyatlar açısından sorunsuzdur fakat çok etkisizdir, ayrıca deemülsifikasyon, buharlaştırma vs. gibi basamaklar gerektirir. Diğer yandan geleneksel çözücü ekstraksiyonu tekniği ile karşılaştırıldığında SAE da benzer verim ve yağ kalitesi ortaya koymaktadır. Bundan da ötesi, distilasyon yoluyla çözücü uzaklaştırılması, arkasından uygulanan yağ rafinasyonu gibi işlem basamakları da ortadan kaldırılmış olur (10). Bu yöntemin en büyük dezavantajı ise yüksek toplama ve işletme maliyetleridir. Bu nedenle yine son yıllarda ilgi görmeye başlayan süper-ısıtılmış çözücü ekstraksiyonu da bu maksatla uygulanabilen tekniklerden biridir (1).

Bu tez çalışmasının amacı, güney ve güneydoğu bölgelerimizde yöre halkının özellikle sabun yapımında çokça kullandığı *Pistacia* türlerinin tohumlarından yağın, süperkritik ve subkritik (çözücünün kritik sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda yapılan uygulamalar için kullanılır) n-hekzan, aseton ve metanol ekstraksiyonları ile çıkarılması ve bu tekniklerin geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine uygun alternatifler olduğunu ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yağlı Tohumlu Bitkilerin Dünyadaki Durumu

Dünyada yağlı tohumlu bitkiler tarımında; soya fasulyesi, yerbıstığı, ayçiçeği, kolza (kolza), mısır, zeytin, susam, palmiye tohumu, yağ keteni, aspir, hindistan cevizi ve hintyağı bitkileri anlaşılmaktadır. Çizelge 2.1.'de yağlı tohumlu bitkilerin dünya ekiliş, üretim ve verim değerleri verilmiştir.

Çizelge 2.1. Dünya yağlı tohumlu bitkilerin ekiliş, üretim ve verim değerleri (3).

Yağ Bitkileri		2000	2001	2002	2003
Ayçiçeği	Ekiliş (1000 ha)	20960	17656	19536	22333
	Üretim (1000 ton)	26313	20348	24173	27740
	Verim (kg/da)	125,5	115,3	123,7	124,2
Soya	Ekiliş (1000 Ha)	74372	76834	78842	83696
	Üretim (1000 ton)	161413	176794	180729	189234
	Verim (kg/da)	217,0	230,1	229,2	226,1
Pamuk	Ekiliş (1000ha)	31939	34587	30725	32168
	Üretim (1000 ton)	53022	60674	52875	56097
	Verim (kg/da)	166,0	175,4	172,1	174,4
Yer Fıstığı	Ekiliş (1000 ha)	24090	24041	24105	26463
	Üretim (1000 ton)	34984	36083	33303	35658
	Verim (kg/da)	145,2	150,1	138,2	134,8
Susam	Ekiliş (1000 ha)	7293	7468	6771	6566
	Üretim (1000 ton)	2883	3184	2966	2943
	Verim (kg/da)	39,5	42,6	43,8	44,8
Kolza	Ekiliş (1000 ha)	25823	22553	22485	22944
	Üretim (1000 ton)	39511	35925	34044	36146
	Verim (kg/da)	153,0	159,3	151,4	157,5
Aspir	Ekiliş (1000 ha)	882	871	757	743
	Üretim (1000 ton)	673	594	572	648
	Verim (kg/da)	76,3	68,2	75,6	87,2

Çizelge 2.1'den de görüleceği üzere, dünya yağlı tohumlu bitkilerin üretiminde 189,2 milyon ton ile soya fasulyesi ilk sırada yer alırken, çiiğit 56,1 milyon ton ile 2., kolza 36,2 milyon ton ile 3., yerfıstığı 35,6 milyon ton ve ayçiçeği 27,7 milyon ton ile 4 ve 5. sıralarda yer almaktadır. 2000-2003 yılları arasında dünyada son dört yıl içerisinde soyanın ekim alanı yaklaşık 10 milyon ha, üretimi 30 milyon ton artmıştır. Ayrıca, ayçiçeği ve yerfıstığında 2 milyon ha'lık bir artış gerçekleşmiştir. Bununla birlikte kolzanın ekim alanında 3 milyon ha azalmayla

yaklaşık 3 milyon ton'luk üretim azalması olmuştur. Ekim alanı bakımından ise ilk sırayı soya fasulyesi almakta olup, bunu sırası ile pamuk (çiğit), yerfıstığı, kolza, ayçiçeği ve susam izlemektedir. Soya fasulyesinin ekim alanında ve üretiminde periyodik olarak yıldan yıla artış gösterdiği gözlenmektedir. Ayrıca susam veriminde de düzenli bir artış söz konusudur (3).

2.2. Yağlı Tohumlu Bitkilerin Türkiye'deki Durumu

TÜİK verilerine göre 1999 yılından itibaren, yağlı tohumlu bitkilere ayrılan alan, toplam ekim alanı içerisinde azalmaktadır. 1999 yılında 1505 milyon ha olan yağlı tohumlu bitkiler ekim alanı, 2000 yılında 1319 milyon ha'a düşmüştür. 2001 ve 2002 yıllarında ise sırasıyla 1335 milyon ha ve 1429 milyon ha ekim alanı ile artış göstermesine rağmen, 2003 yılında 1373 milyon ha'a gerilemiştir. Bu azalma kolza ve haşhaş dışındaki diğer tüm yağlı tohumlarda belirgin olarak gözlenmiştir. Özellikle son üç yılda kolza ekim alanında periyodik bir artış gözlenmektedir (3).

Yağlı tohum üretim değerlerinin verildiği Çizelge 2.2.'ye baktığımızda, 1999 yılında toplam yağlı tohum üretimi 2298 bin ton iken, 2000 yılında 2253 bin tona ulaşmıştır. Fakat 2001 yılında 2170 bin ton üretimi ile bir gerileme gözlenmektedir. Bunun nedeni olarak ayçiçeği ve yerfıstığının hem ekim alanındaki hem de verimdeki azalış gösterilebilir. Üretim 2002 yılında 2515 bin ton'a ve 2003 yılında ise 2359 bin ton'a ulaşmıştır. Üretimdeki bu artışın nedeni özellikle ayçiçeği, soya ve çiğitteki verim artışına bağlı olarak meydana geldiği gözlenmiştir.

Çizelge 2.2. Türkiye yağlı tohumlu bitkilerin ekiliş, üretim ve verim değerleri (3).

Ürün		1999	2000	2001	2002	2003
Ayçiçeği	Ekiliş (ha)	595000	542000	51000	550000	545000
	Üretim (ton)	950000	800000	650000	850000	800000
	Verim (kg/da)	159,7	147,6	127,5	154,5	146,8
Pamuk (Çiğit)	Ekiliş (ha)	719294	654177	684665	721077	629610
	Üretim (ton)	1157583	1295066	1353888	1457122	1307920
	Verim (kg/da)	160,9	198,0	197,7	202,1	207,7
Soya	Ekiliş (ha)	24000	15000	17000	25500	27000
	Üretim (ton)	66000	44500	50000	75000	85000
	Verim (kg/da)	275,0	296,7	294,1	294,1	314,8
Haşhaş	Ekiliş (ha)	87194	27555	45836	50741	97121
	Üretim (ton)	31332	11564	21436	19000	52000
	Verim (kg/da)	35,9	42,0	46,8	37,4	53,6
Yerfıstığı	Ekiliş (ha)	28000	28300	27000	33000	28000
	Üretim (ton)	75000	78000	72000	90000	85000
	Verim (kg/da)	267,9	275,6	266,7	272,7	303,6
Susam	Ekiliş (ha)	51000	50900	50000	48000	44000
	Üretim (ton)	28000	23800	23000	22000	22000
	Verim (kg/da)	54,9	46,8	46,0	45,8	50,0
Kolza	Ekiliş (ha)	187	82	290	550	2800
	Üretim (ton)	330	187	650	1500	6500
	Verim (kg/da)	176,5	228,0	224,1	272,7	232,1
Aspir	Ekiliş (ha)	50	30	35	40	250
	Üretim (ton)	50	18	25	25	170
	Verim (kg/da)	100,0	60,0	71,4	62,5	68,0
TOPLAM	Ekiliş (ha)	1505646	1319247	1335816	1429818	1376991
	Üretim (ton)	2308577	2253448	2171314	2514827	2358780

Elde edilen ürün veriminin yüksek olması kadar, bu ürünün en kısa zamanda ekonomik, verimli ve etkili bir şekilde işlenmesi de büyük önem taşımakta, bu nedenle de dünyada yağlı tohumlu bitkilerden yağın çıkarılmasına yönelik pek çok araştırma ve geliştirme faaliyetleri gerçekleştirilmektedir. Bunlardan en çok ilgi görenlerden bir tanesi de süperkritik akışkanlarla yağ ekstraksiyonu yöntemidir (8-10).

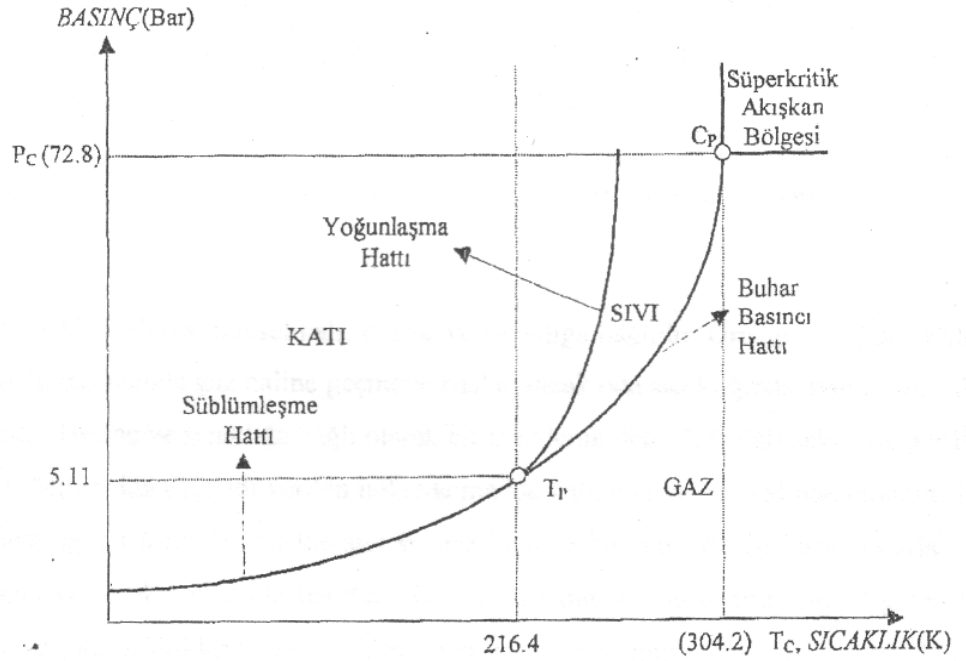
2.3. Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon

Son yıllarda, gerek bir numune hazırlama tekniği olarak ve gerekse de bir termal dönüşüm tekniği olarak süperkritik akışkan ekstraksiyonu'na (SAE) karşı artan bir ilgi gözlenmektedir. Süperkritik gazlarla ekstraksiyon üzerine ilk kantitatif gözlemler 1880'de Hannay tarafından (11), süperkritik gazlarda çeşitli inorganik tuzların çözünürlüğü araştırılırken gerçekleştirilmiştir. 1959'da ABD'de Elgin ve Weinstock sıkıştırılmış gazlarla organik bileşiklerin dehidrasyonu için bir metod önermişlerdir (12).

2.3.1. Süperkritik akışkanların tanımı ve özellikleri

Süperkritik akışkan, sıcaklığı ve basıncı kendi kritik basıncının üstünde olan, gaza benzeyen, içinde bulunduğu kabı doldurup onun şeklini alan, bastırılabilen (sıkıştırılabilen) bir akışkan olarak tanımlanmaktadır (13). Süperkritik akışkan bir sıvı değildir, fakat sıvıya benzer bir yoğunluğa (0,1-1 g/ml) ve çözücü gücüne sahiptir.

Kritik sıcaklık, bu sıcaklığın yukarısında gaz halindeki her hangi bir maddenin basıncını artırmak suretiyle sıvılaştırılmasının mümkün olmadığı sıcaklıktır. Kritik basınç ise kritik sıcaklıktaki bir gazın sıvılaştırılması için gereken basınçtır (13). Açıklayıcı bir örnek olarak CO₂ in faz diyagramı Şekil 2.1.' de verilmiştir. Kritik sıcaklık ve basınç değerlerinin yukarısında kalan bölge "süperkritik bölge" olarak tanımlanır.

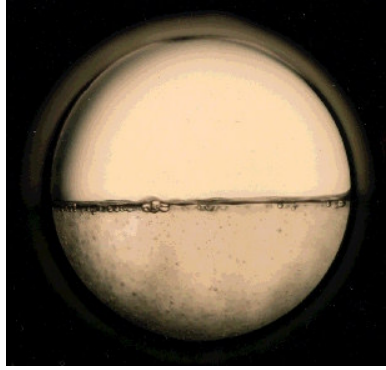


Şekil 2.1. CO₂'e ait basınç-sıcaklık diyagramı. Pc: Kritik Basınç (bar); Tc: Kritik Sıcaklık (Kelvin); Cp: Kritik Nokta; Tp: Üçlü Nokta (Bu noktada madde katı, sıvı ve gaz karışımıdır).

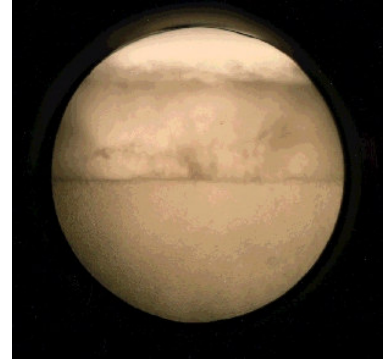
Maddelerin fiziksel hali, basınç ve sıcaklığa bağlıdır. Örneğin, su 100 °C'de 760 mmHg basıncında gaz haline geçmeye başlar ancak oda sıcaklığında aynı basınç altında sıvıdır. Basınç ve sıcaklığa bağlı olarak bir maddenin değişik fazları Şekil 2.1.'de görüldüğü gibi üçlü nokta (T_p) adı verilen noktada madde katı, sıvı ve gaz halinde bulunur. Buhar basıncı eğrisi üzerinde madde sıvı ve gaz halinde bulunur. Buhar basıncı eğrisi, kritik basınç ve kritik sıcaklıkla belirlenmiş "Süperkritik Bölgede" sona erer. Bu bölgede madde sıvı ve gaz özelliklerini taşır. Dolayısıyla kritik noktanın üzerinde basit bir kimyasal madde ya da bileşik ne sıvı ne de gaz olarak kabul edilmeyip yalnızca "akışkan" olarak kabul edilir. Sıcaklığın yükselmesi ve kritik sıcaklığa yaklaşılması ile birlikte sıvı yüzey eğrisinde yayılma ve dağılma olmakta (Resim 2.1b,c), kritik sıcaklığın üzerinde ise yalnızca bir akışkan fazı oluşmaktadır (Resim 2.1d). Doygun sıvı ile doymuş buharın tüm fiziksel özelliklerinin de aynı olduğu konuma kritik nokta adı verilir. Kritik noktada tümüyle ortadan kalkan sıvı faz yalnızca üçlü nokta ile kritik nokta

sıcaklıkları arasında bulunmaktadır. Kritik noktadaki sıcaklığa "kritik sıcaklık (T_c)", bu sıcaklığa karşılık gelen basınç değerine "kritik basınç (P_c)", molar hacmine "kritik hacim (M_c)" ve yoğunluğuna da "kritik yoğunluk (δ_c)" adı verilir. Kritik sıcaklık noktasında ve üzerinde ayırma yüzeysiz (faz ayırım yüzeyi ya da menisküs) tek sabit bir akışkan faz ortaya çıkar (14).

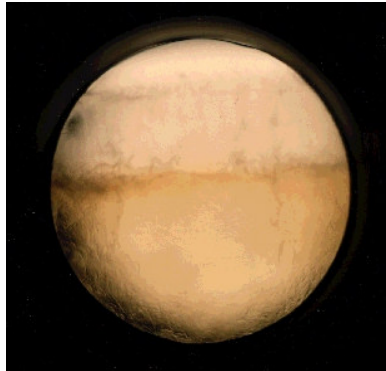
Kapalı bir kapta bulunan sıvı karbon dioksitin sıcaklık etkisiyle nasıl süperkritik akışkana dönüştüğü Resim 2.1.'de (a, b, c, d) görülmektedir (15).



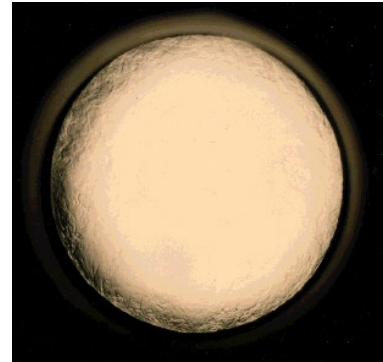
Resim 2.1(a)



Resim 2.1(b)



Resim 2.1(c)



Resim 2.1(d)

Resim 2.1. Sıvı CO_2 'nin sıcaklık etkisiyle faz dönüşümü:

(a) Kapalı kapta bulunan sıvı CO_2 'nin oluşturduğu faz ayırım çizgisi (menisküs) açıkça görülmektedir; (b) sıcaklık arttıkça menisküs kaybolmaya yüz tutmaktadır; (c) Daha yüksek sıcaklıklara çıkıldığında gaz ile sıvı yoğunlukları gittikçe birbirine yaklaşmaktadır (d) Nihayet kritik sıcaklığa ulaşıldığında

menisküs tamamen ortadan kalkar ve ortamda tek bir faz kalır: süperkritik akışkan (CO₂) Süperkritik akışkanlar, gazlara benzer kütle transferi özelliklerine ve sıvılara benzer çözücü özelliklerine sahiptirler. Yüksek girişkenlik kabiliyetleri onlara katı yapılarına derinlemesine etki etme yeteneği kazandırır ve sıvılara benzer yoğunlukları da istenen maddeleri numune yapısından çözüp almalarına imkan tanır. Yoğunlukları gazların yoğunluklarınının 100-1000 katı civarındadır. Süperkritik sıvılar sıkıştırılabilirler ve basınçlarındaki küçük bir değişiklik yoğunluklarında ve bileşenleri çözme kabiliyetlerinde belirgin bir değişmeye sebep olur. Hemen hemen bir yüzey gerilimine sahip olmadıklarından dolayı küçük gözenekli materyallere de kolayca etki edebilirler. Ek olarak, oldukça düşük viskoziteleri de istenilen akış özelliklerini sağlar (13).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu çözücüsü olarak önerilen maddelerin sayısı oldukça sınırlıdır. Sıklıkla bu amaçla kullanılan maddelerden bazıları Çizelge 2.1' de verilmiştir (16):

Çizelge 2.1. Süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı çözücülerin özellikleri

Akışkan	Kritik Sıcaklık (°C)	Kritik Basınç (atm)	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Kritik Hacim (cm³/mol)	Dipol Moment (debye)	Kritik Yoğunluk (g/ml)
Metan (CH ₄)	-82,4	46,6	16,4	99,2	0,0	0,160
Etan (C ₂ H ₆)	32,4	49,5	30,07	148,3	0,0	0,204
Propan (C ₃ H ₈)	96,8	43,1	44,09	203,0	0,0	0,219
n-Bütan (C ₄ H ₁₀)	155,2	38,5	58,12	255,0	0,0	0,225
n-Pentan (C ₅ H ₁₂)	196,6	34,1	72,15	304,0	0,0	0,230
n-Hekzan ((C ₆ H ₁₄)	234,4	30,5	86,18	370,0	0,0	0,230
Aseton (CH ₃ -CO-CH ₃)	235,1	47,6	58,08	209,0	2,9	0,242
Metanol (CH ₃ OH)	240,1	82,0	32,04	118,0	1,7	0,246
Etanol (CH ₃ CH ₂ OH)	243,2	62,2	46,07	167,1	1,7	0,275
Karbon dioksit (CO ₂)	31,1	74,8	44,01	93,9	0,0	0,472
Amonyak (NH ₃)	132,4	115,0	17,03	72,5	1,5	0,211
Nitroz oksit (N ₂ O)	36,6	73,4	44,01	97,4	0,2	0,445
Su (H ₂ O)	374,4	224,1	18,02	57,1	1,8	0,281
Kloroform (CHCl ₃)	263,4	54,4	119,38	238,9	1,1	0,525
Benzen (C ₆ H ₆)	562,2	49,5	78,11	259	0,0	0,298
Sikloheksan (C ₆ H ₁₀)	560,5	43,9	82,15	-	0,6	0,265

Kritik sıcaklığı CO₂'in kritik sıcaklığından büyük olan çözücüler, örneğin toluen, piridin, su, kömür ve yakıt işleme endüstrisinde uygulama imkanı bulmuştur (17). Dolayısıyla bu çözücülerle ekstraksiyon 500-700 K arası

sıcaklıklarda gerçekleştirilebilmektedir. Bu sıcaklık aralığında yüksek molekül ağırlıklı materyallerin ılımlı pirolizi gerçekleşir. Süperkritik ortam aynı zamanda kondenzasyon ve polimerizasyon reaksiyonlarını önleyecek bir seyreltici gibi davranır.

2.3.2. Süperkritik akışkanların avantajları

Hawthorne, numunelerin ekstraksiyonunda süperkritik akışkan kullanılmasının sebeplerini şöyle sıralamaktadır (18):

“Süperkritik sıvılar bazen "süper çözücüler" olarak kabul edilmelerine rağmen çözücülük güçleri sıvı çözücülerinkine karşılaştırıldığında bunun doğru bir yaklaşım tarzı olmadığı görülür. Süperkritik akışkanların çözücü güçleri sadece yoğunlukları artırıldığında sıvılarınkine yaklaşır. Yoğunlukla bir organik bileşiğin sıvı çözücülerdeki maksimum çözünürlüğü, süperkritik akışkanlarda olduğundan daha yüksektir. Süperkritik akışkanların çözücü gücü bakımından sıvı çözücülere karşı bir üstünlüğü olmamasına rağmen, sahip oldukları diğer karakteristik özellikleri onları analitik ekstraksiyon için oldukça cazip hale getirmektedir.

- Süperkritik akışkanlarla ekstraksiyon hızlıdır. Kütle transferi sınırlamaları bir ekstraksiyonda hızı tayin etmektedir. Süperkritik akışkanlar, sıvı çözücülere nazaran bir derece daha yüksek çözünen diffüzyon hızına (10^{-4} 'e karşı 10^{-5} cm²/s) ve bir derece daha düşük bir viskoziteye (10^{-4} ' e karşı 10^{-3} Ns/m²) sahip olduklarından dolayı çok daha iyi kütle transfer karakteristiklerine sahiptirler. Kantitatif süperkritik akışkan ekstraksiyonları genellikle 10-60 dk da tamamlanırlar, oysa sıvı ekstraksiyon süreleri bir kaç saatten bir kaç güne kadar değişebilmektedir.

- Bir süperkritik akışkanın çözücü kuvveti kolaylıkla kontrol edilebilir. Bir sıvının çözücü kuvveti, reaksiyon şartları ne olursa olsun esasen sabittir, fakat bir süperkritik akışkanın çözücü gücü, ekstraksiyon için kullanılan sıcaklık ve basınç değerlerine bağlıdır. Bu durum, ekstraksiyon basıncını değiştirerek (daha dar bir kapsam için sıcaklığı) ekstraksiyonu özel bir bileşik sınıfı için optimize

edebilmemize imkan verir. Bu karakteristik, farklı basınçlarda tek bir numunenin ekstraksiyonu biçiminde gerçekleştirilen sınıf seçmeli ekstraksiyonlara da imkan verir.

- Bir çok süperkritik akışkan oda şartlarında gaz halindedir. Sıvı çözücü ekstraktları, eser organik maddelerin tayininden önce bir konsantrasyon basamağına ihtiyaç duyarlar, ki bu basamak ek zaman gerektirir ve daha yüksek uçuculuğa sahip maddelerin kaybına sebep olabilir. Bunun tersine, süperkritik akışkanlar oda şartlarında çoğunlukla gaz olduklarından, ekstraksiyondan sonraki konsantrasyon basamakları büyük ölçüde basitleştirilmiş ve süperkritik ekstraksiyon basamağının bir sonra gelen kromatografik çalışma ortamı ile doğrudan birleştirilmesi kolaylaşmıştır.

- Süperkritik akışkanlar ilave pratik avantajlara sahiptirler. Çoğu nispeten inert, saf, toksik olmayan ve ucuza temin edilebilecek maddelerdir. CO₂ ve N₂O gibi akışkanlar nispeten düşük kritik sıcaklıklara (sırasıyla 31°C ve 36°C) sahip olduklarından, süperkritik akışkan ekstraksiyonu, sıcaklığa karşı duyarlı maddelerin ekstraksiyonu için düşük sıcaklıklarda da gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca sıvı atık çözücülerin oluşumu ve laboratuvar personelinin toksik çözücülerle teması azaltılmış ya da tamamen önlenmiş olur.”

Bunlara ilave olarak süperkritik akışkan ekstraksiyonu tekniğinin sahip olduğu bir takım avantajlarda söz konusudur. SAE genellikle düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilir ve bu nedenle sıcaklığa duyarlı bileşikler için uygun bir teknik olabilir. Ayrıca bu şekilde yeni doğal bileşiklerin keşfine de gidilebilir. Örneğin, SAE’u ginger bitkisini ekstrakte etmek için kullanıldığında hidroliz, oksidasyon, bozunma ve yeniden düzenlenme gibi istenmeyen reaksiyonlar etkili bir şekilde önlenmiş olur. Bu yüzden klasik hidrodistilasyonda ortaya çıkan kalite değerlendirilmesindeki güçlükler SAE’da bertaraf edilmiş olur (19). Sıvı-katı ekstraksiyonlarında genellikle 20-100 g’lık numune miktarlarıyla çalışılırken, SAE’da 0,5-0,15 g gibi çok az miktarda numune gerekir. Sadece 1,5g taze bitki numunelerinden 100’den fazla uçucu ve yarı uçucu bileşiğin ekstrakte edilebileceği ve gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) ile tayin

edilebileceği, kullanılan numune miktarının, bunların 80'den fazlasının tam bir miktar tayinin yapılabilmesi için gerekli miktarlarda olduğu rapor edilmektedir (20). SAE'nda çevreye zararlı organik çözücü ya hiç kullanılmaz ya da çok az kullanır. Bir SAE metodu, tipik sıvı-katı ekstraksiyon metodu onlarca ya da yüzlerce mililitre organik çözücü gerektiriyorken, ya birkaç ml organik çözücü gerektirir ya da hiç gerektirmez (21). SAE değişik ölçeklerdeki sistemlere uygulanabilir. Örneğin, analitik ölçekten (1 gramdan az madde miktarlarından birkaç grama kadar) preparatif ölçeğe (birkaç yüz g kadar numune) (22), pilot tesis ölçeğine (kilolarca numune) (23) ve endüstriyel ölçeğe kadar (yüz kilolarca veya tonlarca ham madde) (24) değişik boyutlarda uygulama imkanı bulmaktadır.

Yukarıda açıklanan avantajlarına ilave olarak SAE'nun geleneksel ekstraksiyon metotlarına göre bir diğer avantajı da, ekstraksiyon işlemleri ve mekanizmasına ait daha fazla bilgi sağlayabilmesidir. Herhangi bir araştırmacı böyle bir bilgiyi ekstraksiyon etkililiğini kantitatif olarak görmek ve değerlendirmek ve daha sonrada işlemleri buna göre optimize etmek için kullanılabilir (25).

2.4. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Tekniği, Uygulaması ve İlgili

Parametreler

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SAE) yapısı itibariyle basit bir işlemdir. Süperkritik akışkan deney numunesini içeren yüksek basınçlı, termostatlı kaba pompalama sistemiyle aktarılır ve ekstraksiyon hücresinden çıkan analit içeren akışkan uygun bir analit toplama cihazında biriktirilir. Ancak tekniğin uygulanışında dikkat edilmesi gereken bazı hususlar sırasıyla aşağıda verilmiştir.

2.4.1. Akışkan materyaller ve düzenleyiciler (modifiyerler)

Süperkritik akışkan olarak çalışılan tüm gaz ve sıvılar içerisinde CO₂, düşük kritik sabitleri (T_c= 31,1°C ; P_c= 72,88 atm), zehirli olmaması, yanıcı olmaması, yüksek saflıkta ve düşük maliyetle elde edilebilmesi nedeniyle SAE için en yaygın şekilde kullanılan akışkan olarak göze çarpmaktadır. Süperkritik CO₂ bir taraftan sahip olduğu büyük kuadropol momenti nedeniyle alkoller, esterler, aldehytler ve ketonlar gibi orta derecede polar bazı bileşikler çözabiliyor iken öbür taraftan örneğin hidrokarbonlar gibi polar olmayan bileşiklerin ekstraksiyonu için de iyi çözücü özelliklerine sahiptir (25).

Polar bileşiklerin ekstraksiyonu için polar süperkritik akışkan materyaller dikkate alınır. Bitki numunelerinden polar bileşiklerin SAE için başarılı bir şekilde kullanılmakta olan böyle iki materyalden biri Freon-22 (klorodiflorometan) (26) ve diğeri nitroz oksit (N₂O) tir (27). Birincisi serbest karboksilik asitlerin ve steroidlerin ekstraksiyonu için kullanılmış iken ikincisi taxol'ün ekstraksiyonu için kullanılmıştır. Bununla birlikte bu ikisinin uygulamaları güvenlik ve çevresel hassasiyet dikkate alındığında sahip oldukları istenmeyen özellikler sebebiyle kısıtlanmaktadır. N₂O patlamalara, Freon-22 ise üst atmosfer katmanlarında ozonda bozulmalara sebep olduğu için artık ticari olarak kullanılmamaktadırlar.

Polar bileşiklerin etkili ekstraksiyonları için süperkritik ve süper-ısıtılmış su kullanılan çalışmalar da mevcut olmakla birlikte, suyun sıcaklığa duyarlı bileşiklerin ekstraksiyonları için uygun olmaması, ekstraksiyon kabının içindeki oksijenin tamamen boşaltılmaması halinde yüksek sıcaklıkta korozif etki yapması, dolayısıyla ekstraksiyon kabına, ünitesine zarar vermesi nedeniyle pek tercih edilmemektedir (28).

Yukarıda açıklanan sebeplerden dolayı, süperkritik akışkan ekstraksiyonlarında doğrudan polar bir çözücü kullanmak yerine, apolar bir çözücüye (ki son zamanlarda CO₂ çok kullanılmaktadır) belli molar oranlarda polar bir çözücü ilave etmek suretiyle çözücünün polaritesinde bir artış sağlama yoluna gidilmiştir. Çözücünün polaritesini değiştirmek amacıyla kullanılan bu katkı çözücülerine “düzenleyici” ya da çok bilinen adıyla “modifiyer” denir. Her hangi bir araştırmacı bir modifiyer seçerek ya da daha basitinden bir modifiyerin molar oranını değiştirmek suretiyle akışkanların özelliklerini kontrol edebilir. Genellikle küçük bir miktar sıvı modifiyer ilavesi ekstraksiyon etkinliğini artırabilir ve sonuçta da ekstraksiyon zamanını azaltabilir. Örneğin, aromatik bitkilerden esansiyel yağları ekstrakte etmek için 2,5 ml’lik bir SAE hücresinde 500mg lık numuneye sadece 0,5ml CH₂Cl₂ ilave etmek, ekstraksiyon etkililiği 4 saatlik bir hidrodistilasyondan elde edilenle eşdeğerde kalmak suretiyle ekstraksiyon zamanını 90 dakikadan 30 dakikaya düşürülebilir (29).

En azından 17 modifiyer, doğal ürünlerin süperkritik akışkan ekstraksiyonlarında kullanılmıştır (30). Tüm modifiyerler içinde, etkili bir polar modifiyer olması ve CO₂ ile % 20’ye kadar karışabilir özellikte olması nedeniyle metanol en yaygın kullanılan materyallerden biridir. Yüksek yüzdelerdeki metanol’ün, çözünen ile bitki yapıları arasındaki bağı kopartabileceğine inanılmaktadır (31). Metanol kadar polar olmasa da etanol, düşük toksisitesi nedeniyle doğal ürünlerin SAE’da daha iyi bir seçim olabilir. Çeşitli çalışmalarda etanol, bitkilerden değişik organik bileşiklerin SAE’nda modifiyer olarak başarıyla uygulanmıştır (27, 32). Örneğin, bitkisel materyallerden linuroon’un SAE’da etanol daha etkili bir modifiyer iken diuron’un SAE’da metanol daha etkili bir modifiyer işlevi görmektedir (32).

Modifiyerlerin tiplerini ve oranlarını değiştirmek suretiyle bir araştırmacı farklı ekstraksiyon sonuçları elde edebilir. Örneğin, bir çalışmada limon otunun SAE’nda basamaklı bir işlem gerçekleştirildi (33). Ekstraksiyon önce % 10 ve

30'luk hekzan ile arkasından % 10 ve 20'lik aseton ile ve nihayetinde de % 10'luk metanol ile gerçekleştirildi. Sonuçta, % 10 hekzan-modifiyeli CO₂ ile yapılan ekstraksiyon sonucunun, buhar ekstraksiyonundan elde edilenle benzer olduğu ; % 30 hekzan ile yapılan ekstraksiyon sonucunun, hekzan ile yapılan Soxhlet ekstraksiyonunun sonucu ile benzerlikler taşıdığı görülmüştür. Aseton modifiyeli CO₂'nin ilave bileşikler ekstrakte edilebileceği ve % 10 metanol modifiyeli CO₂'nin ise seçici olmadığı ortaya konmuştur.

Bir sıvı modifiyeri SAE sistemine bağlamak için üç yöntem vardır; ikinci bir pompa kullanmak, bir tüpte önceden karıştırılmış akışkanlar kullanmak ve doğrudan bağlama. Diğer iki metod ile karşılaştırıldığında doğrudan bağlama yani sıvı modifiyeri ekstraksiyon hücresine doğrudan ilave etme metodu en basit ve en ekonomik yoldur. Bu yöntem aynı zamanda daha az mekanik ve tekrar üretilebilirlik problemi ortaya çıkarır (34, 35). Bununla birlikte doğrudan bağlama metodu kullanılırsa, araştırmacının her iki akışkanın süperkritik halde bulunduğundan emin olması gerekir (30). Doğrudan hücreye bağlama metodunun bir diğer problemi de, dinamik ekstraksiyon basamağının daha en başlarında modifiyerlerin çoğunun ekstraksiyon hücresinin dışına sızmasıdır. Bu durum büyük ölçüde tam olmayan sonuçlar ortaya koyacaktır ve ekstraksiyonların tekrarlanmasını gerektirecektir (36).

Sıvı bir modifiyer kullanıldığında, çözücünün numune yapısını değiştirmesine müsaade edebileceğinden dolayı statik bir ekstraksiyon genellikle gereklidir. Numunenin yapısına ve çözünen konsantrasyonuna bağlı olarak, uygun bir statik ekstraksiyon zamanı bir durumdan diğer duruma değişir. Örneğin mısırdan β-karoten ekstrakte etmek için, 20 dakikalık bir statik ekstraksiyon gereklidir. Ancak aynı ekstraksiyon yeşil yapraklı bitkilerde gerçekleştirilirse, 10 dakikadan az bir zaman gerektirir ve bu süre yeterlidir (36). Bununla birlikte bitkisel dokulardan yağ asitlerinin ve sterollerin SAE'da 5-10 dakikalık statik ekstraksiyon, ekstraksiyonda bir artışa sebep olmamıştır [26]. Benzer olarak, A ve B michellaminlerinin ekstraksiyonu için metanol modifiyeli CO₂ kullanıldığında 5 dk'dan 60 dk'ya kadar bir statik periyot ekstraksiyonunda her hangi bir artış

meydana getirmedir (37). Bu durumun, böyle bir ekstraksiyonun kinetik olarak sürdürülmediğinin bir göstergesi olduğuna inanılmıştır. Sonuç olarak ta bir statik ekstraksiyon basamağı gerekmeyecektir.

Modifiyer kullanmanın bir dezavantajı zayıf seçiciliğe yol açmasıdır. Örneğin klorofiller ve mumsu materyaller gibi daha yüksek safsızlık oluşturan bileşikler, istenen bileşiklerle ekstrakte edilebilirler (34). Gerçekte modifiyerler, bütün SAE işlemlerinde gerekli ve yardımcı değildirler. Ashraf-Khorassani ve arkadaşları (38), kava köklerinden kava laktonlarını ekstrakte etmek için saf CO₂ kullandılar. Verim, bir sıvı-katı ekstraksiyon metodu kullanılarak elde edilen değer % 90'ından büyük iken, % 15 etanol'ün ilavesi her hangi bir verim artışına yol açmamıştır.

2.4.2. Numune hazırlama

Doğal ürünlerin SAE'da, eğer istenen bileşikler uçucu veya kararsız ise taze bitki materyalleri sıklıkla kullanılır. Taze bir numune ekstrakte edildiği zaman, içerdiği yüksek nem, buz oluşumuna bağlı olarak sınırlayıcının (vana veya musluk) blokajlanması gibi mekanik güçlüklerle sebep olabilir. Bu tür problemlerden sakınmak için basit ama etkili bir yol numuneyi susuz Na₂SO₄ ile karıştırmaktır. Susuz Na₂SO₄; 1- süperkritik akışkanlarla numuneler arasında daha iyi bir temas sağlayabilmesi 2- boş hacim etkilerini azaltabilmesi ve 3- nemi etkili bir şekilde tutabilmesi nedeniyle SAE sonuçlarını iyileştirebilir (39). Bununla birlikte diğer araştırmacılar, taze numunelerin SAE'da nemin tutulması için silika jelin daha iyi bir seçenek olduğuna inanmaktadırlar (40). Taze ginger numunelerinin ekstraksiyonu için SAE hücresine yüklenmeden önce kaba fakat küçük granüle selit (30-60 mesh) ile karıştırıldığında iyileşmiş SAE sonuçları da gözlenmiştir (19).

Su, süperkritik CO₂ de sadece % 0,3 oranında çözünür olmasına rağmen ekstraksiyonda önemli bir rol oynayabilir (41). Eğer ekstraksiyon kabında fazlalık su kalmış ise, suda çözünürlüğü yüksek olan çözünenler su fazına geçmeye meyilli olabilirler ve bu yüzden de SAE geri kazanımı düşük düzeylerde kalabilir (42). Tablet halinde bir çift atomlu toprak (diatomaceous earth) materyali olan Hydromatrix, SAE de suyu absorplamak için kullanılabilir diğer bir kurutma maddesidir (39).

Bazen, kuru bitkiler SAE için tercih edilirler. Bir bitkisel materyal için kurutma işlemleri verimi ve ekstraktların kalitesini etkileyebilir. Ibáñez ve arkadaşları (43), rosemary için üç farklı kurutma yöntemi araştırdılar: 1- dondurarak kurutma; 2- 45 °C'de sabit tartıma gelinceye kadar fırında-kurutma ve 3- sabit tartıma gelinceye kadar 35 °C'de vakumlu döner buharlaştırıcı ile kurutma. Rosemary esansiyel yağlarının en yüksek miktarına numunenin dondurularak kurutulduğu metotta ulaşıldı. Bunu 45 °C'de fırında kurutma ve vakumlu döner buharlaştırıcı metodları izledi. Bununla birlikte, antioksidan aktiviteleri açısından, ortam sıcaklığında ve hava akımının olduğu bir yerde kurutmak daha iyi sonuçlar ortaya koymuştur.

Tatmin edici bir SAE işlemi için numune parçacığı boyutu kritik bir faktördür. Büyük parçacıklar, işlem difüzyon-kontrollü olabileceği için ekstraksiyonun uzun sürmesine neden olurlar (44). Güzel bir örnek basil yapraklarının SAE'sidir. Numune parçacık boyutu 0,55 mm iken, tatmin edici bir ekstraksiyon için 5 saatlik süre yeteri kadar uzun değildir. Eğer numuneler 0,17 mm'lik parçacık boyutuna kadar öğütülürse tam bir ekstraksiyon için 2 saat yeterli olmaktadır (23). Gerçekte, numuneyi toz haline getirmek ekstraksiyonu hızlandırılabilir ve etkililiği artırabilir fakat aynı zamanda da düzgün bir akış sağlama işlemlerinde bir takım güçlüklerle sebep olur. Akış hızı probleminin üstesinden gelmenin bir etkili yolu numuneyi küresel cam veya deniz kumu gibi diğer inert maddelerle birlikte paketlemektir. Bu inert parçacıklar numuneyi, katı, geçirgen olmayan bir tabakaya preslenmekten kurtarır ve böylece numune

yatağının istenilen geçirgenliğe sahip olması sağlanır. SAE hücresinin giriş kısmının sonuna yerleştirilmiş bir metal filtre de düzgün bir akış hızı sağlanmasına yardımcı olacaktır ve akışkan akışının parçalanmasını önleyecektir (45).

2.4.3. Ekstraksiyon şartları

Başarılı bir SAE için, deneylerden önce çeşitli faktörler dikkate alınmalıdır. Bu faktörler, numune tipini, numune hazırlama metodunu, akışkan tipini, modifier seçimini, akışkan besleme metodunu ve basınç, sıcaklık, akış hızı ve ekstraksiyon süresinden ibaret ekstraksiyon koşullarını içerir.

Bitkisel ekstraksiyonların çoğu hallerinde, çözünenin matriks yapısının dışına doğru difüzyonu genellikle sınırlayıcı basamaktır (44). Bir bileşiğin numune yapısından difüzyon hızı aşağıdaki üç faktörden etkilenebilir; 1- Matriks çıkışlarının süperkritik akışkan molekülleri tarafından tıkanmasından, (bu durum matriksin çözünenler açısından cazibesini azaltır), 2- çözünenlerin süperkritik akışkanda çözünmesinden (bu, doğrudan akışkan yoğunluğu ile ilişkilidir), ve 3- özellikle yüksek kaynama noktalı çözünenlerin uçuculuğunu etkileyebilen sıcaklık etkilerinden (32, 39).

Hedeflenen bileşiğin süperkritik akışkandaki çözünürlüğü, ekstraksiyon etkililiğini belirleyen ana bir faktördür. Çözünürlük iki faktörün toplamıyla kontrol edilir; sıcaklığın bir fonksiyonu olan maddenin uçuculuğu ve akışkan yoğunluğunun bir fonksiyonu olan süperkritik akışkanın çözücü etkisi (30). Hidroksil grupları gibi polar fonksiyon guruplarının sayısı çözünenlerin uçuculuğunu etkileyebilir ve böylece onların süperkritik CO₂ ile ekstrakte edilebilirliklerini tayin eder. Örneğin, Stahl ve arkadaşları (46), üç hidroksil gurubu içeren steroidler'i 300 bar'ın altında ekstrakte etmede başarılı olurlarken, dört hidroksil gurubu veya üç hidroksil bir karboksil gurubu veya bir fenolik

hidroksil ve iki başka hidroksil gurubu içeren steroidleri ekstrakte etmede aynı başarıyı gösteremediler.

Weathers ve arkadaşları (42) paprika'dan β -karotenin SAE'nunda, basıncın 338 bar'dan 250 bar'a inmesiyle akışkan yoğunluğunun düşmesine bağlı olarak ekstraksiyon etkililiğinin büyük ölçüde azaldığını gözlediler. Bununla birlikte, Choi ve arkadaşları, *Schisandra chinensis*'ten elde edilen schisandrol A, schisandrol B, schisandrin A, schisandrin B ve schisandrol C gibi lignanların SAE'da, eğer reaksiyon zamanı yeteri kadar uzun ise (örneğin 30 dak / 100 mg bitki meteryali) süperkritik CO₂'in sıcaklık (40-80 °C) ve basınç (135-340 bar) değerlerinin, hedeflenen lignanların ekstraksiyon verimleri üzerine fark edilebilir bir etkisinin olmadığını ortaya koydular. Fakat ekstraksiyon zamanı 6 dk olduğunda, arta basınçla birlikte lignanların verimi büyük ölçüde artmıştır (47).

Genel olarak, ekstraksiyonlarda hedeflenen bileşiklere diğer bileşik gruplarının karışmaması istenir. Bunun için en uygun ekstraksiyon noktası, aynı zamanda diğer bileşiklerin ekstraksiyonlarının en aza indirildiği nokta olan, istenen bileşiklerin ekstraksiyon akışkanında çözüldüğü noktanın hemen üstü veya civarı olan bölgedir. Bir SAE prosesi için iyi bir seçicilik değeri ortaya koymada akışkan yoğunluğunun dikkatli kontrolü önemlidir. Örneğin *archangelica off.* Hoffm.'ın meyvelerinden esansiyel yağ asitlerinin SAE'da, optimum sıcaklıkta (60 °C), CO₂ yoğunluğu 0,3 g/ml seviyesinde tutulduğunda, istenenlerin haricinde hiçbir bileşiğin ekstrakte edilmediği görülmüştür (48). Eğer uçucu bileşikler ekstrakte edilecekse, 80 g/ml'den daha yükseğe kadar artan CO₂ yoğunluğu bu bileşikler için daha düşük bir verim ortaya koyacak ve önemli miktarlarda trigliserid materyalininde birlikte ekstrakte olmasına sebep olacaktır. Bu da ekstrakt kalitesini düşürecek ve tıkanma problemlerini ortaya çıkaracaktır (19, 49). 40 °C ve 80 atm'nin, bir diterpenoid olan geranil geraniol'ün, triterpenoid olan limonoid sedrelon'un ekstrakte olmasına imkân vermeden SAE'nu için uygun olduğu da rapor edilmiştir (50). Rosemary, marjoram ve basil yapraklarının esansiyel yağlarının SAE'nu için optimum şartlar 40-50 °C ve 80-100 bar aralığı olarak tespit edilmiştir (23).

Akışkan yoğunluğunu kontrol etmek suretiyle, ekstraktların fonksiyonlanması da gerçekleştirilebilir. Örneğin, antioksidan aktif bileşikler olan karnosik asit, karnosol, epirosemanol ve isorosemanol'ün rosemary yapraklarından iki basamaklı bir SAE'nu, oleoresin'i farklı antioksidan aktiviteli ve esansiyel yağ bileşenli iki fraksiyona ayırabilir (43). Bu çalışmanın ilk basamağı 40 °C'de ve 100 bar basınçta, ikinci basamağı ise 60 °C ve 400 bar basınçta gerçekleştirilmiştir. Her iki basamakta da önce 5 dk'lık statik ve hemen arkasından 30 dk'lık dinamik ekstraksiyonlar uygulanmıştır.

Ekstraksiyon sonuçlarının değerlendirilmesi ve ekstraksiyonların optimizasyonu için SAE işlemlerinde iç standartlar da kullanılmaktadır (19, 51). Fakat, doğal olan ve ortama dışarıda ilave edilmiş bileşikler matriks yapısına farklı ilgi gösterdiklerinden dolayı bu metot tartışmalıdır. Doğal bileşikler genellikle tüm bitki yapısına dağılmış olarak bulunurken, dışardan ilave edilen standartlar sadece yüzey kısımlarda toplanmış gibi görünmektedir. Bu yüzden dışarıdan ilave edilen bileşiklerin yüksek oranda geri kazanımı, tam anlamıyla doğal bileşiklerin de yüksek oranda geri kazanıldığı anlamına gelmez ve SAE metodunun diğer metotlarla karşılaştırılmasına ihtiyaç duyulabilir (34).

Organik materyallerdeki yüksek nem içeriklerine bağlı olarak bitki numunelerinin SAE'larında tıkanma çok sık karşılaşılan bir mekanik problemdir. Susuz Na₂SO₄ ve silika jel ekstraktlardan nemi absorplamak için etkili kurutucu maddelerdendir. Sınırlayıcıyı (vana veya musluk) uygun bir sıcaklığa kadar ısıtmak, ekstrakte edilmiş bileşiklerin birikiminden sakınmak anlamında tıkanma problemlerini ortadan kaldıracak diğer bir etkili yöntemdir (34). Hali hazırda kullanılan daha etkili bir yol ise, organik bileşiklerin çözünürlüğünü arttırmak için yüksek konsantrasyonda bir sıvı modifiyer (düzenleyici) kullanılmaktadır. Bu şekilde etkili bir biçimde toplama kaplarına aktarılabilirler (52). Örneğin, taksanların *Taxus baccata*'dan SAE'da, metanol konsantrasyonu % 5'ten daha

yüksek olduğunda, sınırlayıcılar (elekler olabilir) vaksımsı materyaller tarafından kolaylıkla tıkanmamaktadır (52).

Fazla kullanılmayan bir teknik de, yerinde transesterifikasyon ve sıcaklığa dayanıklı bileşiklerin ekstraksiyonudur (53). SAE'nu işleminin statik periyodu boyunca yerinde transesterifikasyon uygulanmaması durumunda, analitik GC koşulları altında termal izomerizasyona uygulanabilecek bileşikler miktar tayinini tamamıyla güç duruma sokarlar.

2.4.4. Ekstrakt toplama metodları

Doğal ürünlerin SAE'da yaygın olarak kullanılan bir metot, ekstraktı CH_2Cl_2 (34) veya etil asetat gibi (39) sıvı bir çözücü içinde tutulmaktır. Soğutma şartları altında bir akışkanın genleşmesi süresince, farklı biriktirme çözücüleri farklı biriktirme etkileri ortaya koymuşlardır. Örneğin toplama kabı $-8\text{ }^\circ\text{C}$ 'ye soğutulduğunda CH_2Cl_2 ve aseton, metanol ve n-hekzan'a göre uçucu bileşikler açısından yine daha yüksek geri kazanım değerleri ortaya koymaktadır (35). Metanol-buz ($-15\text{ }^\circ\text{C}$) veya aseton-kuru buz ($-60\text{ }^\circ\text{C}$) içinde tutma ile kıyaslandığında, uçucu bileşikleri sıvı azot içinde tutmak en etkili yol olarak bulunmuştur (51). Tutucu çözücü sıvısının derinliği de toplama sonuçlarını etkileyebilir. Dar bir toplama kabında bulunan aynı miktar çözücü geniş bir kaptan bulunandan çok daha etkilidir (35).

Katı ortamda tutmak, ekstrakt toplamak için kullanılan diğer bir yaygın yoldur. Oktadesilsilika (ODS) tuzakları $15\text{ }^\circ\text{C}$ 'de hoplardan (bir çeşit tırmanıcı bitki) esansiyel yağları ve acı kısımları biriktirmek için kullanılmakta, SAE'den sonra ise geri kalan uçucu bileşikler geri kazanım için aseto-nitrilden geçirilmektedir (54). Düşük sıcaklıkta ($15\text{ }^\circ\text{C}$) bir ODS katı tuzağı üzerinde biriktirilmiş uçucu bileşiklerin hemen ardından daha yüksek bir sıcaklıkta ($45\text{ }^\circ\text{C}$)

bir organik çözücü ile yıkanıp alınmasının da etkili olduğu bulunmuştur (20). Katı ortamda tutmanın bir avantajı, seçici yıkama ile birleştirilmiş seçici tuzaklama yoluyla seçiciliğin daha ileri düzeylere taşınabilmesidir. Örneğin, polar bileşikler bir silika-jel kolonda tutulabilirler ve daha sonra uygun bir çözücü yardımıyla yıkanıp alınabilirler (51). Ancak, katı tuzaklama metodunun bir takım dezavantajları da vardır. Örneğin uygun şekilde seçilmeyen bir sıvı modifiyer, istenen bileşiklerin katı tutucudan modifiyer ile yıkanıp alınması neticesinde önemli kayıplara neden olabilir. Yıkama işleminin düzgün seçilmemiş çözücülerle yapılması istenmeyen reaksiyonlara da sebep olabilir (36).

Uçuculuğu yüksek bileşikler için off-line SAE-GC birleşik sistemi iyi bir alternatif yoldur. Ibáñez ve arkadaşları (43) özel bir numune toplama yöntemi önerdiler. Burada bir cam bağlantı adaptörlü Perkin-Elmer programlı buharlaştırıcısını (PTV, 100 x 1mm i.d.), sıvı CO₂ kullanarak -25 °C'ye kadar soğutulabilen bir soğutma ceketiyle çevrili paslanmaz çelikten bir muhafaza içine yerleştirdiler. Cam bağlantı her iki ucundan cam yünü ile doldurulmuş ve bu ikisinin arasında da yüksek oranda uçuculuğu olan bileşiklerin toplanması amacıyla absorbant olarak GasChrom 220 (80/100mesh) kullanılmıştır. Ekstraksiyondan sonra, bağlantı kısmını GC enjektörüne yerleştirdiler. Sıcaklığın yükselmesiyle birlikte desorpsiyon meydana gelmiş ve yüksek oranda uçuculuğu olan bileşikler için önemli oranda yüksek geri kazanım değerleri elde edilmiştir.

2.4.5. On-line fraksiyonlama ve kromatografik metodlarla birleştirme

On-line fraksiyonlama SAE'nun diğer bir avantajıdır. SAE şartlarının manipülasyonu ile, ekstrakte edilen bileşiklerin iki ya da daha fazla gruba ayrılması mümkündür. Örneğin Blanch ve grubu (55), Thymus mastichina L.'nin SAE'nda az ve orta derecede uçucu fraksiyonların elde edilmesinde iki on-line ayırma kabı (sıcaklık ve basınç sırasıyla 50 °C, 150 bar ve 25 °C, 50 bar olarak ayarlandı) ve uçucu bileşiklerin toplanması için de adsorbent olarak 22,5 mg'lık

Tenax TA plakanın kullanıldığı cam tipi bir PTV kullandılar. Birinci ve ikinci fraksiyonlar çözücü yıkamasıyla geri kazanılıyorken, cam bağlantıda tutulan üçüncü fraksiyon analiz için doğrudan bir GC'ne gönderildi. Tutulan materyalin desorpsiyonu ve kapiler kolon'a transferi enjektör sıcaklığının 350 °C'ye yükseltilmesiyle sağlandı. Bu prosedür özellikle kompleks numunelerin analizinde faydalıdır ve uçucu bileşiklerin kaybı minimize edilebilir.

SAE'nun bir kromatografik metod ile on-line birleştirilmesi uçucu bileşiklerin analizi için uygun bir kromatografik methodur. Smith ve arkadaşları (51), uçucu bileşiklerin tutulabilmesi için kriyojenik odaklama (< -10 °C) gerektiğini buldular. Yani uçucu bileşikler düşük bir sıcaklıkta biriktirilip zenginleştirilirler ve daha sonra sıcaklığın yükseltilmesi ile buharlaştırılırlar. On-line SAE-GC (Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu-Gaz Kromatografisi) birleştirilmiş tekniğine ilaveten, SAE-SFC (Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu-Süperkritik Akışkan Kromatografisi), SAE-FTIR (Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu-Fourier Transform Infrared Spektroskopisi) ve SAE-MS (Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu-Kütle Spektroskopisi) nin de içinde bulunduğu diğer bazı on-line birleştirilmiş teknikler de rapor edilmiştir (30).

Ramsey ve arkadaşları (56), hedeflenen bileşiklerin analizi için yüksek dereceli bir tanımlama ortaya koymak açısından UV/VİS diode array tayin ünitesi ile birleşmiş bir on-line birleşik SAE-LC-MS (Süperkritik Akışkan ekstraksiyonu-Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektroskopisi) sistemi rapor ettiler. On-line birleştirme için yüksek basınçlı bir yönlendirici valf kullandılar ve ilaçları ppb düzeylerinde başarılı bir şekilde tayin ettiler.

On-line birleştirme teknikleri, uçucu bileşikler için etkililik ve otomasyona elverişlilik gibi açılardan değerini ortaya koymasına rağmen maalesef bazı dezavantajları da içermektedir. Bunlar 1- numune boyutu sınırlı olabilir; 2- kromatografik sistem yüksek oranda tutulan bileşenler nedeniyle kirlenmiş olabilir. 3- homojen olmayan numunelerde analiz edilen küçük miktarlar numunenin tamamını temsil etmeyebilir; 4- bir off-line (ayrık) sistemde analiz

basamağı ekstraksiyona bağı olmadığından (51), SAE için optimum şartları tespit etmek, ayarlamak daha kolaydır.

2.5. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonunun Uygulandığı Farklı Çalışma Alanları

SAK (Süperkritik akışkan kromatografisi) esas olarak düşük uçucu özellikli, termal olarak kararlı ve/veya HPLC tekniği ile ayrılamayan bileşiklerin tayini için alternatif bir metot olarak gelişmiştir. SAE ise daha geniş bir numune yelpazesine uygulanmıştır. Bu uygulama alanlarından en önemlileri aşağıda özetlenmiştir.

2.5.1. Fosil yakıtlar

Kömür ve kömür türevli numuneler çoğunlukla SAE'na tabi tutulmuştur. Lanças PAH'ların kömürden izole edilmesi için, ardışık analizlerde açık tüplü GC/MS kullanarak, statik ve dinamik SAE uygulamıştır (57). Hem statik hem de dinamik modların uygun olduğu görülmekle beraber, dinamik ekstraksiyonların daha hızlı ve daha yüksek verim sağladığı gözlemlenmiştir. Mauldin, karbonize baca külünden pirenlerin çıkarılması amacıyla, metanollü Soxhlet ekstraksiyonu, toluenli sonikasyon (ön aşamada asitle muamele ederek ve etmeden), kesikli toluen ekstraksiyonu ve SAE kullanmış ve bu metodların etkililiklerini karşılaştırmıştır (58). Hem CO₂ hem de izobütan SAE'ları sonikasyon ve Soxhlet metodlarıyla elde edilenlere benzer geri kazanımlar sağlamışlardır.

2.5.2. Çevresel numuneler

Çevresel ana materyallerin her biri, (toprak ve çökeltisi, hava ve su) çoğunlukla toprak ve çökelti numunelerine önem verilerek süperkritik akışkanlarla ekstrakte edilmiştir. Burk, kum ve topraktan çeşitli bileşik sınıflarına ait organik

maddeleri eser miktarlarda ekstrakte ederek, bu sonuçları Soxhlet ekstraksiyonundan elde edilen sonuçlarla karşılaştırdı (59). Dooley ve arkadaşları, DDT ve PCB'lerle kirlenmiş yüzeysel toprak numunelerini % 5 modifiyer (toluen, aseton, metanol, asetik asit ve dietilamin) içeren süperkritik karbon dioksit ile 313 K sıcaklık ve 101 bar basınçta ekstrakte ettiler (60). Kullanılan modifiyerlerin çoğu saf CO₂'e göre ekstraksiyon oranlarını büyük ölçülerde artırmakla birlikte, metanol numunelerden uzaklaştırılan toplam DDT miktarlarını %50-80 oranlarından % 95'e çıkarmış ve DDT ile PCB'lerin ekstraksiyon hızlarını üstel olarak bir derece artırmıştır. Metanol'ün, hidrojen bağı yapabilme yeteneğinin, topraktaki organik materyalle (humik asitler, fulvik asitler, polisakkaritler) daha iyi etkileşim kurmasına sebep olduğu, bu nedenle de muhtemelen en iyi çözücü olduğu ifade edilmiştir.

2.5.3. Doğal ürünler ve ilaçlar

SAE'nin diğer bir büyüyen uygulama alanı da doğal ürünlerin ve ilaçların ekstraksiyonudur. Randolph biyoteknoloji alanında SAE nin kullanılmasıyla, süper kritik akışkan kullanmanın avantaj ve dezavantajlarını yeniden gözden geçirmiş ve süper kritik akışkanların kullanılması için düzenek tasarımı hakkında fikir vermiştir (61). King hem SAE hem de açık tüplü SAK uygulamalarını doğal ürünlere üzerinde denedi (62). Tek tohum parçaları ve tek canlı böcekler gibi küçük numuneler, doğrudan bileştirilmiş SAE/SAK ile analiz edilebilmiştir.

2.5.4. Katı ve sıvı yağlar

Katı ve sıvı yağların tohumlardan, gıda maddelerinden ve diğer maddelerden ekstraksiyonu, hem endüstriyel hem de analitik ölçek bazında çok iyi yapılmaktadır. Wells trigliseritlerin ekstraksiyonu için süperkritik propanı kullanırken (63), Sakaki mantar yağlarının SAE için CO₂, N₂O, CHF₃, ve SF₆ yi

karşılaştırdı. 60 °C’de ve 24,5 MPa’da ‘*mortieralla romanniana angulispora*’ dan elde edilen ekstaktlara ait yağ çözünlüklerinin N₂O’de % 2,3; CO₂’de % 0,48; CHF₃’de % 0,0099 ve SF₆’da % 0,0012 olduğunu gözlemlemiştir (64). Bu yağlar için 40-80 °C’de ve 15,7 ve 29,4 MPa aralığında N₂O sürekli olarak CO₂ den daha büyük çözücü güç göstermiştir. Serbest yağ asitlerinin ve digliseritlerin, trigliseritler ve sterol esterlerinden çok daha kolay ekstrakte edildiği tespit edilmiştir. Tilly, bitkisel yağlardan trigliseritleri ekstrakte etmek için süperkritik CO₂ kullandı (65). Trigliseritlerin çözünlüğünün hem çözücü yoğunluğuna hem de çözünenin uçuculuğuna bağlı olduğu bulunmuş ve değişik molekül ağırlıklı trigliseritler için minimal seçicilik değerleri gözlenmiştir.

SAE kullanarak numunelere ait yağ bileşimlerinin karakterizasyonu bir çok çalışmada yapılmıştır. Favati, γ -linolenik asidi geri kazanmak için akşam çuha çiçeği yağını ekstrakte etti (66). Goncalves ve çalışma grubu ise zeytinyağlarından asidin giderilmesi için SAE kullanımını keşfetti (67). Değişik şartlar altında elde edilen süper kritik CO₂’deki triolein, zeytin kabuğu yağı ve serbest yağ asitlerinin çözünlüğü; SAE’nun zeytinyağından serbest yağ asitlerini gidermede kullanılabileceğini göstermiştir.

Rossi ve çalışma grubu, toz haline getirilmiş yumurta sarılarından kolesterol ve okside olmuş türevlerini uzaklaştırarak, SAE’nun gıdaların besinsel kalitesini geliştirmek amacıyla ham maddelerden veya termal işlem sırasında oluşmuş türevlerden potansiyel olarak tehlikeli içeriklerin elimine edilmesi için kullanılabileceği savını ortaya koymuşlardır (68). Bu grup ekstraksiyon kinetiğini hem CO₂ ile hem de metanol modifiyeli CO₂ ile inceledi. Bazı okside olmuş türevlerin oluşumu ve ekstraksiyonu tartışılmıştır. Ong ve çalışma grubu hem yumurta sarısından hem de kan serumundan kolesterol ekstrakte etmişlerdir. Sonuçları Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilenlerle karşılaştırmışlardır (69).

2.5.5. Tat ve koku verici maddeler

SAE'nun uygulandığı diğer bir alan ise tat ve koku verici maddelerdir. Tat ve parfüm endüstrisi için doğal ham maddelerin ekstraksiyonu Pellerin tarafından gözden geçirilmiştir (70). Nykanen ve çalışma grubu, tat verici bileşiklerin '*Angelica archangelica*' kök yağlarından izolasyonunda SAE metoduyla buhar destilasyonunu karşılaştırdılar (71). 40 °C'de CO₂ kullanarak monoterpenoidlerin maksimum verimi 100 bar basınıda sağlanırken, uçucuların en yüksek toplam veriminin 200 bar basınıda olduğu bulunmuştur. Miles ve Quimby soğan, sarmısak ve in sarmısağındaki sülfür bileşiklerini tespit etmek için doğrudan birleştirilmiş bir SAE/GC atomik emisyon dedektör sistemini kullandılar (72). Hem tat bileşiklerini hem de sülfür içeren pestisitleri ölçtüler.

Ondarza ve Sanchez bir Meksika baharatı olan '*Origanum vulgare*' yaprakları ve '*Pimpinelle anisum*' tohumlarının ekstraksiyonu için buhar destilasyonu ile CO₂ SAE'nunu karşılaştırdılar (73). Her iki baharat için de SAE ile elde edilmiş maddenin buhar damıtma ürününe göre daha iyi bir aromayla sonuçlandığını tespit ettiler. SAE ile elde edilen yağların esas olarak oksijenli hidrokarbonlardan oluştuğunu ve doğal aromaları maskeleyecek veya azaltabilecek monoterpenlerden yoksun olduğunu buldular.

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Materyal ve Metod

3.1.1. Numune hazırlanması

Çalışmada kullanılan 'bıtım tohumları' Siirt yöresindeki ticari satış noktalarından elde edildi. Tohumlar 105 ± 5 °C'de 48 saat süre ile kurutulduktan sonra bir değirmen yardımı ile yaklaşık 0,3 mm parçacık büyüklüğüne kadar öğütüldüler ve kullanılarına kadar bir desikatör içinde saklandılar.

3.1.2. Orijinal odun analizleri

Ekstraksiyon deneylerine başlamadan önce lignoselülozik materyallere uygulanabilen bazı analizler bıtım tohumu numunesine de uygulanmıştır. Bu analizler ve ilgili standartlar aşağıda verilmiştir.

3.1.2.1. Lignin ve selüloz tayinleri

Bıtım numunelerinin lignin ve selüloz tayinleri sırasıyla ASTM D1106-96 (74) ve Kurschner-Hoffner nitrik asit metoduna göre (75) yapıldı.

3.1.2.2. Nem, kül, uçucu madde ve sabit karbon tayinleri

Numunenin nem, kül, uçucu madde tayinleri sırasıyla ASTM E871-82, ASTM D1102-84, ASTM E872-82 standartlarına göre yapıldı (76-78). Sabit karbon yüzdesi ise nem, kül ve uçucu madde yüzdeleri toplamının 100'den çıkarılmasıyla fark olarak bulundu.

3.1.2.3. Ekstraktif madde tayini

Numunenin etanol-toluen çözünürlüğü ASTM D1107-96 standardına göre hesaplandı (79).

3.1.2.4. Numunenin ve bittim yağının üst ısı değeri

Bittim numunesinin üst ısı değeri ASTM E711-87 standardına göre (80), yağının üst ısı değeri ise ASTM D240-02 standardına göre (81) hesaplandı.

3.1.3. Geleneksel yöntemle bittim yağının ekstraksiyonu

Yukarıdaki şekilde hazırlanan bittim tohumu numunesinin yörede ev üretimlerinde kullanılan geleneksel metodla yağı çıkartıldı. Bunun için numune geniş bir kaba alındı ve üzerine yeteri kadar sıcak saf su ilave edildi. Elektrikli bir ısıtıcı ile ısıtılan karışım sürekli olarak karıştırıldı ve yoğunluk farkından dolayı yüzeye çıkan yağ ayrı bir biriktirme kabına alındı. Bu işleme artık gözle görülebilir bir seviyede yağ elde edilemeyinceye kadar devam edildi. Ayrı bir kaba alınan yağ içeriğindeki tortulardan arındırılmak üzere kaba filtre kağıdından süzüldü. Daha sonra bir ayırma hunisine alınarak içeriğindeki suyun ayrılması sağlandı. Elde edilen yağ susuz Na_2SO_4 ile kurutuldu ve verimi hesaplandı.

3.1.3.1. Yağın serbest yağ asidi yüzdesi

Geleneksel yöntemle elde edilen yağın serbest yağ asidi yüzdesi hesaplandı. Yağ asitlerinin gliserin esteri olarak tarif edilen doğal yağların hemen hemen hepsi az veya çok serbest yağ asitlerini ve bunlarla birlikte bir miktar da oksitlenmiş yağ asitlerini ve reçine asidini içerirler. Bunların toplamına “serbest yağ asitleri” adı verilir. Yağ endüstrisinde yağın “asit derecesi” denilen ve yağ kalitesinin birimlerinden biri olan bu değer, yağ asitleri bütününe miktarından başka bir şey değildir (82).

Bunun için bittim yağından yaklaşık 10 g yağ numunesi mg hassasiyetle tartılarak bir erlene alındı. Üzerine 100-150 ml kadar etil eter-etanol (1:1) karışımı ilave edilerek çözüldü. Etil eter-etanol karışımı daha önceden 0,0891 N alkollü KOH çözeltisine karşı fenolftalein varlığında nötralleştirildi. Elde edilen nihai çözelti 0,0891 N alkollü KOH ile ortama % 1'lik alkollü fenolftalein ilave edilerek titre edildi. Dönüm noktasındaki KOH sarfiyatı kaydedildi. Serbest yağ asidi yüzdesi oleik asit cinsinden

$$\text{Serbest yağ asidi yüzdesi} = \frac{V \cdot 0,0891}{M} \cdot 0,282 \cdot 100$$

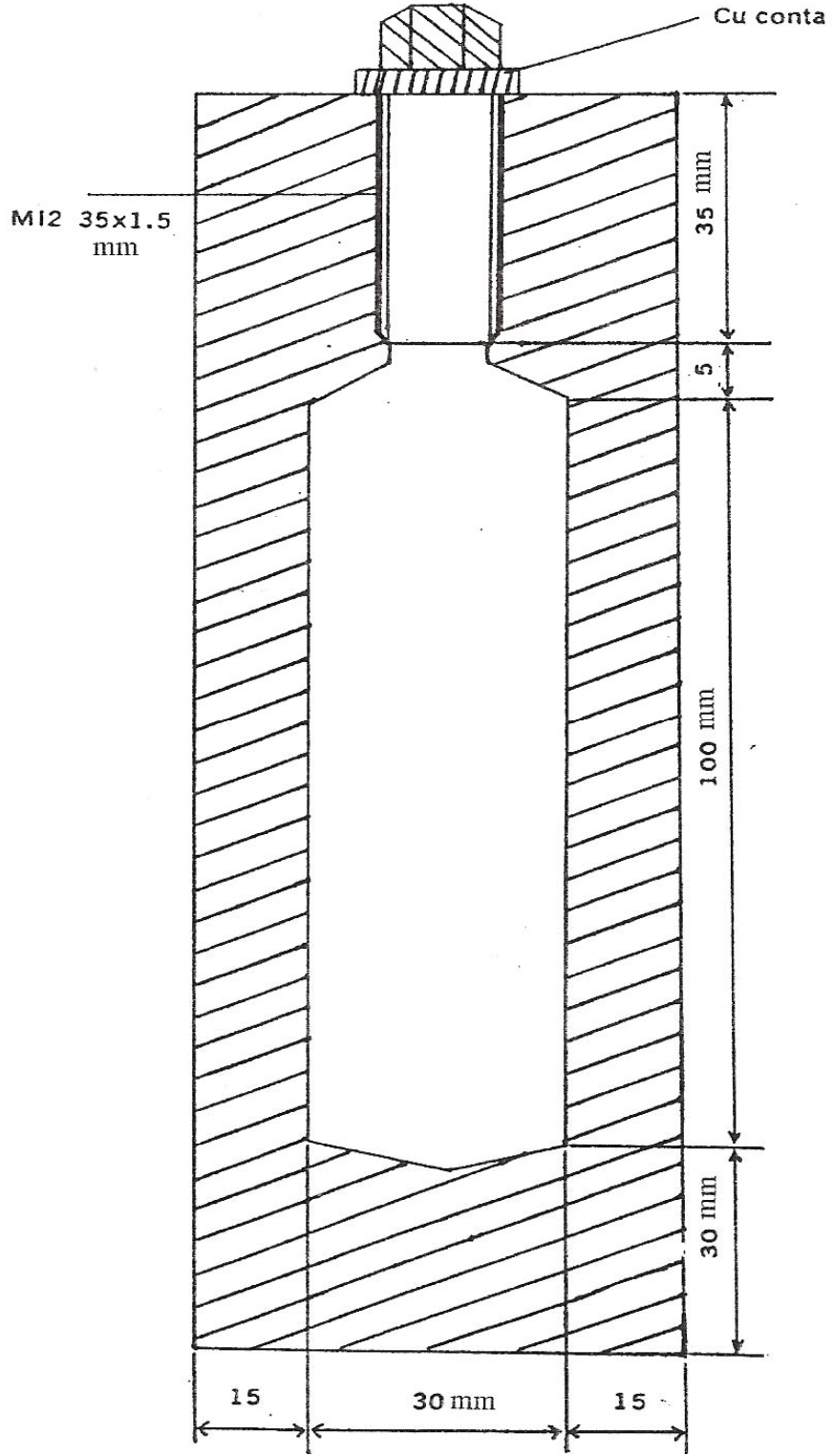
eşitliğinden hesaplandı. Burada V : 0,0891 N alkollü KOH sarfiyatını (ml), M : yağ numunesinin kütesidir (Oleik asidin 1 meg'ı 0,282 g'dır).

3.1.4. Soxhlet ekstraksiyonu

Bittim tohumlarının toplam yağ içeriğini bulmak için Soxhlet ekstraksiyonu uygulandı. Bu amaçla, muhtemel yapışmalardan sakınmak için 10 g kum (organik içeriği uzaklaştırmak için önceden dietil eterle yıkanmış, kurutulmuş ve elenmiş) ile 5 g numune karıştırılarak ekstraksiyon kartuşuna yerleştirildi ve 100 ml n-hekzan (Merck) kullanılarak 9 saat süre ile ekstrakte edildi (yaklaşık 54 sifon). Ekstraksiyon üç kez tekrarlandı ve sonuçların ortalaması alındı. Elde edilen ekstraktlar bir döner buharlaştırıcıda konsantre edilerek susuz Na_2SO_4 ilave etmek suretiyle kurutuldular.

3.1.5. Süperkritik akışkan ve subkritik çözücü ekstraksiyonları

Ekstraksiyonlar için çözücü olarak n-hekzan, aseton ve metanol seçildi. Her üç çözücü de Merck kalitesinde kullanıldı. Ekstraksiyonlar, 75 ± 1 ml hacminde 316 no paslanmaz çelikten el yapımı bir otoklavda gerçekleştirildi. Kullanılan el yapımı otoklavın teknik resmi şekil 3.1.'de verilmiştir. Ekstraksiyon ortamının sıcaklığı bir termočift yardımıyla kontrol edildi.



Şekil 3.1. Süperkritik akışkan deneylerinde kullanılan otoklavın teknik resmi

Soxhlet ekstraksiyonlarında olduğu gibi bu ekstraksiyonlarda da tüm parametreler için gerçekleştirilen deneyler üç kez tekrarlanarak sonuçlar bunların ortalaması olarak verildi. Süperkritik ve subkritik ekstraksiyon deneylerinde 1 g numune 10 ml çözücü ile karıştırılarak otoklava konuldu ve otoklav içindeki hava azot ile değiştirildi. Otoklav bir silindirik fırına yerleştirilmek suretiyle istenilen sıcaklıkta önceden belirlenen süreler boyunca ısıtıldı. n-Hekzan'ın kritik sıcaklığı 234,4 °C, asetonun kritik sıcaklığı 235,1 °C ve metanol'ün kritik sıcaklığı 240,1 °C olduğu için süperkritik ekstraksiyon deneyleri bu sıcaklığın üstünde, subkritik ekstraksiyon (sıcak hekzan ve süper ısıtılmış hekzan) deneyleri ise bu sıcaklığın altında belirlenen sıcaklıklarda gerçekleştirildi. Elde edilen süperkritik ve subkritik n-hekzan, aseton ve metanol ekstraktları soxhlet ekstraksiyonunda anlatıldığı şekilde konsantre edilerek kurutuldu ve ekstraksiyon verimleri hesaplandı.

3.1.6. Ekstraktların GC-MS analizine hazırlanması ve analizi

Soxhlette n-hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağın yağ asidi içeriğini belirlemek için ekstraktın GC-MS analizi gerçekleştirildi. Ekstraktlar GC-MS analizine gönderilmeden önce, içeriklerindeki yağ asitleri (ki genellikle gliseridler halindedirler) yağ asidi metil esterlerine (YAME) çevrilmek suretiyle türevlendirildi. Yağ asidi metil esterleri, yağın sodyum metilat ile transesterifikasyonundan elde edildi (1). Bu amaçla, 1 ml sodyum metilat'ın metanoldeki çözeltisi ile 2 ml ekstrakt karıştırıldı ve 5 dakika boyunca bir çalkalayıcıda kuvvetli bir şekilde çalkalandı. Ardından yine 5 dk süre ile 4000 devir/dk'da santrifüjlenerek fazlar birbirinden ayrıldı. Üstteki ester fazı alınarak kurutuldu ve GC-MS analizleri için saklandı.

YAME'nin GC-MS analizleri, Agilent 5973 network model bir cihazda gerçekleştirildi. Transesterifikasyondan elde edilen yağ asidi metil esterleri 1/10 oranında seyreltildi ve bu çözeltiden alınan 1,0 µl hacmindeki miktar splitless moda çalıştırılan cihaza enjekte edildi. Sıcaklık, dakikada 3 °C'lik bir artış hızı

ile 60 dk'da 60 °C'den 240 °C'ye çıkarıldı. Taşıyıcı gaz helyum'un akış hızı 1,3 ml/dk, enjektör sıcaklığı 250 °C ve MS sıcaklığı 230 °C idi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Orijinal Odun Analizlerinden Elde Edilen Bulgular

Numunenin lignin, selüloz, nem, kül, uçucu madde, sabit karbon, ekstraktif madde ve üst ısı değerleri yüzde olarak çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Orijinal odun analizlerinden elde edilen bulgular

Analiz	Sonuç
Lignin*	28,7
Selüloz*	17,4
Nem**	2,1
Kül*	3,1
Uçucu madde*	88,3
Sabit karbon*(fark olarak)	6,5
Ekstraktif madde*	49,8
Üst ısı değeri (Numune için)(MJ/kg)	28,0
Üst ısı değeri (Yağ için)(MJ/kg)	38,4

*Tam kuru numune üzerinden yüzde

**Orijinal numune üzerinden yüzde

Çizelge 4.1’e bakıldığında ilk göze çarpan değerler uçucu madde ve ekstraktif madde değerlerinin yüksekliğidir. Ancak numunenin normal bir odunsu yapı olmayıp, bir yağlı tohum numunesi olduğu dikkate alınırsa bu yüksek değerlerin normal olduğu kabul edilmelidir. Ayrıca yağın üst ısı değeri de orijinal numunenin üst ısı değerinden daha yüksektir. Bu da normal olmakla birlikte orijinal numunenin üst ısı değerinin normal bir lignoselülozik materyale (ki genellikle 15,0-18,0 MJ/kg civarlarında bir değer sergilerler) oranla oldukça yüksek olması gözden kaçırılmamalıdır. Bu değerlerin yüksek olmasında muhtemelen numunenin zengin yağ ve uçucu madde içeriği rol oynamaktadır.

4.2. Geleneksel Yöntemle Bıttım Yağı Ekstraksiyonu Deneylerinden Elde Edilen Bulgular

Her şeyden önce bu yöntemle yapılan yağ ekstraksiyonunun tekrarlanabilir sonuçlar ortaya koymadığını belirtmek gerekir. Bu yöntemde ekstraksiyon verimi

ekstraksiyonu gerçekleştiren kişinin yeteneğine ve sabrına büyük ölçüde bağlıdır. Ayrıca çok zaman ve enerji tüketen bir yöntem olduğu da bir gerçektir. En iyi ekstraksiyon verimleri % 15-20 civarında elde edilebilmiştir. Bu da oldukça düşük verimle çalışıldığını göstermektedir.

Elde edilen ham yağın serbest yağ asidi içeriği % 2,81 olarak bulunmuştur. Bu değer diğer bazı yağ bitkilerinden elde edilen ham yağların serbest yağ asidi içerikleriyle karşılaştırıldığında düşük bir değer olarak kabul edilebilir. Örneğin aynı değer ham kauçuk tohumu yağında % 17 (2), ham jatropha yağında ise % 14'tür (83).

4.3. Soxhlet Ekstraksiyonu Deneylerinden Elde Edilen Bulgular

Numunenin çözücü olarak n-hekzan, aseton ve metanol kullanılarak gerçekleştirilen soxhlet ekstraksiyonlarından elde edilen değerler çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Soxhlet ekstraksiyonlarından elde edilen verim yüzdeleri

Ekstraksiyon	% Verim*
Soxhlet (n-hekzan, 9 saat-54 sifon)	50,4
Soxhlet (aseton, 9 saat-54 sifon)	47,6
Soxhlet (metanol, 9 saat-54 sifon)	21,5

*Tam kuru orijinal numune üzerinden yüzde

Çizelge 4.2'ye bakıldığında aynı şartlar altında en yüksek verimin n-hekzan ile elde edildiği görülmektedir. Polar olmayan bir çözücü olduğu için bu sonucun normal olduğu söylenebilir. Aseton ekstraksiyonundan da oldukça yüksek bir değer elde edilmiştir. Bu da asetonun çok düşük polariteye sahip olmasıyla açıklanabilir. Metanol ekstraksiyonundan elde edilen verim değerinin n-hekzan ve aseton'a oranla çok daha düşük bir değer ortaya koyması da aynı gerekçelerle izah edilebilir. Metanol'ün diğer iki çözücüye oranla nispeten yüksek olan polaritesi, ekstraksiyon veriminin düşük olmasında başlıca rol oynamıştır.

4.4. Süperkritik ve Subkritik Ekstraksiyonlardan Elde Edilen Bulgular

Süperkritik ve subkritik ekstraksiyon deneylerinden elde edilen verim yüzdeleri toplu olarak çizelge 4.3'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. Süperkritik ve subkritik n-hekzan, aseton ve metanol ekstraksiyonlarından elde edilen verim yüzdeleri (tam kuru numune üzerinden yüzde)

Sıcaklık (°C)	Çözücü											
	n-Hekzan				Aseton				Metanol			
	10'	20'	30'	40'	10'	20'	30'	40'	10'	20'	30'	40'
65 (70)*	-	-	28,4	-	-	-	43,0	-	-	-	18,2	-
110 (115)*	-	-	39,2	-	-	-	47,7	-	-	-	18,4	-
155 (160)*	-	-	44,5	-	-	-	48,4	-	-	-	19,4	-
200 (205)*	-	-	47,6	-	-	-	47,6	-	-	-	18,9	-
245 (250)*	34,3	42,0	49,8	46,6	45,7	44,6	50,5	50,0	14,7	16,8	22,0	19,8

*Dk olarak ekstraksiyon süresi

* Parantez içindeki sıcaklık değerleri metanol için geçerlidir

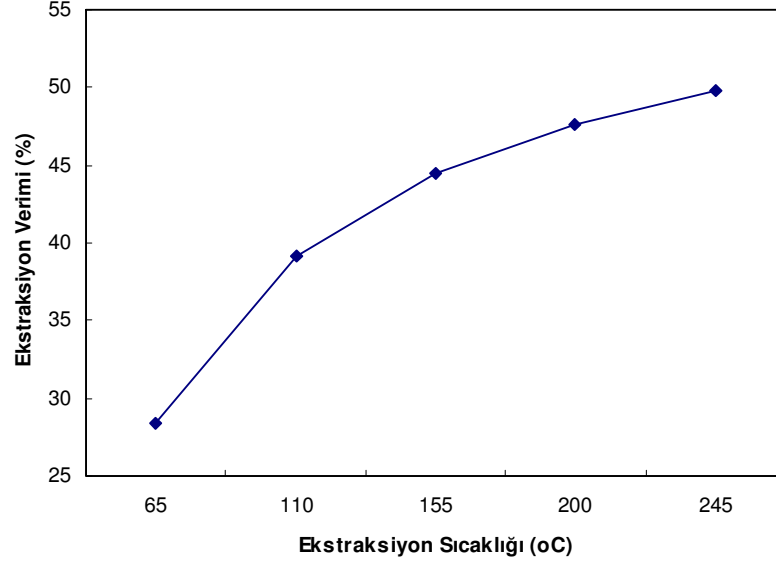
Çizelge 4.3'e bakıldığında ekstraksiyonların 30 dk ve 245 °C (Metanol için 250 °C) değerleri temel alınarak gerçekleştirildiği görülmektedir. Bunun için öncelikle her çözücünün kritik sıcaklığının üzerinde bir sıcaklık seçilmiş (ki bu değer n-hekzan ve aseton için 245 °C ve metanol için de 250 °C'dir) ve dört farklı ekstraksiyon süresi boyunca (10, 20, 30 ve 40 dk) ekstraksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerden elde edilen en yüksek verim değerinin elde edildiği süre sabit tutularak (ki bu değer de her üç çözücü için 30 dk'lık süredir) farklı sıcaklıklarda, sıcaklığın ekstraksiyona etkisini incelemek amacıyla eşit aralıklı beş farklı sıcaklıkta deneyler tekrar edilmiştir. Bu değerler n-hekzan ve aseton için 65, 110, 155, 200, 245 °C ve metanol için ise bu değerlerin 5 °C üzeri olan 70, 115, 160, 205 ve 250 °C'dir. Metanol için sıcaklığın daha yüksek seçilmesinin sebebi bu çözücünün kritik sıcaklığının 240,1 °C olup n-hekzan ve asetonun kritik sıcaklık değerlerinden (sırasıyla 234,4 ve 235,1 °C) yaklaşık 5 °C daha yüksek olmasıdır.

Çizelge 4.3'e göre, en yüksek ekstraksiyon verimlerine 30 dk'lık ekstraksiyon süresi ve 245 °C (metanol için 250 °C)'lik ekstraksiyon sıcaklığı değerlerinde ulaşıldı. Ayrıca elde edilen bu en yüksek ekstraksiyon değerleri soxhlet değerleri ile karşılaştırıldığında şunlar söylenebilir. Süperkritik ekstraksiyon sonuçları soxhlet sonuçlarına oldukça yakın hatta aseton ve metanol çözücülerinde az da olsa daha iyi sonuçlar ortaya koymuşlardır. n-Hekzan deneylerinde soxhlet ekstraksiyonundan % 50,4'lık bir değer elde edilirken, aynı çözücü ile gerçekleştirilen süperkritik ekstraksiyondan % 49,8 değeri elde edilmiştir. Aseton ve metanolla yapılan soxhlet deneylerinden sırasıyla % 47,6 ve % 21,5 değerleri elde edilirken bu çözücülerle yapılan süperkritik ekstraksiyon deneylerinden sırasıyla % 50,5 ve % 22,0 değerleri elde edilmiştir. Ancak süperkritik ekstraksiyon deneylerindeki bazı sonuçların soxhletten daha yüksek çıkmasında, aşırı yüksek basınç ve sıcaklığın numune yapısını parçalaması (termal kraking) sonucu düşük molekül ağırlıklı bazı bileşiklerin oluşumu ve bunların da numunedeki yağ ile birlikte ekstrakte olabilmesi etkisinin rol oynayabileceği unutulmamalıdır. Ancak yine de bu etkinin sınırlı olduğu düşünülmektedir. Bu açıdan bakıldığında hemen hemen aynı ekstraksiyon verimlerine soxhlette 9 saat gibi uzun bir süre sonunda ulaşılırken, bu değere süperkritik ekstraksiyonlarda sadece 30 dakika gibi çok kısa bir süre sonunda ulaşılmaktadır. Buradan da süperkritik ekstraksiyonun çok daha az zaman ve kimyasal çözücü tükettiği sonucu çıkarılabilir.

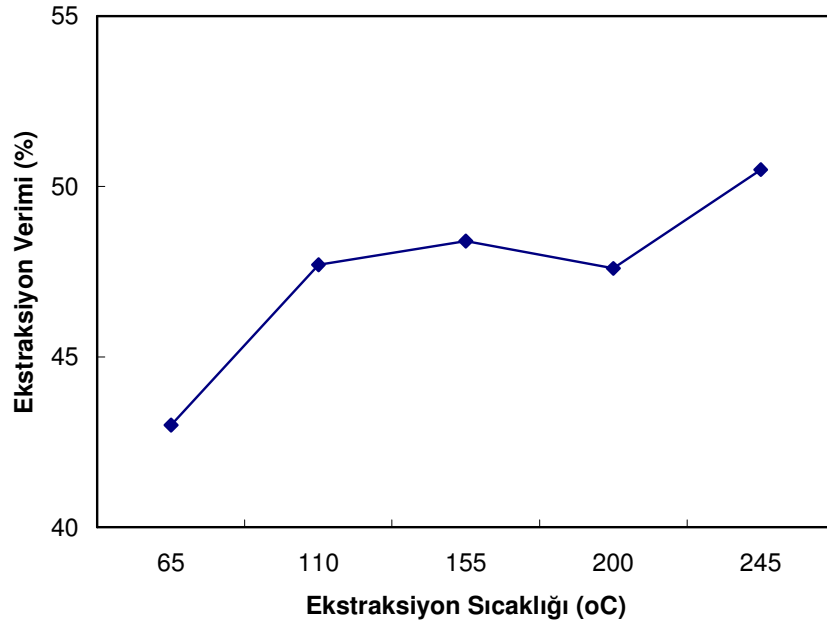
Çizelge 4.3'teki değerlerden çizilen sıcaklık-% verim ve zaman-% verim grafikleri sıcaklığın ve zamanın ekstraksiyon verimini nasıl etkilediği sorusunu cevaplamaya yardımcı olabilir.

4.4.1 Sıcaklığın ekstraksiyon verimine etkisi

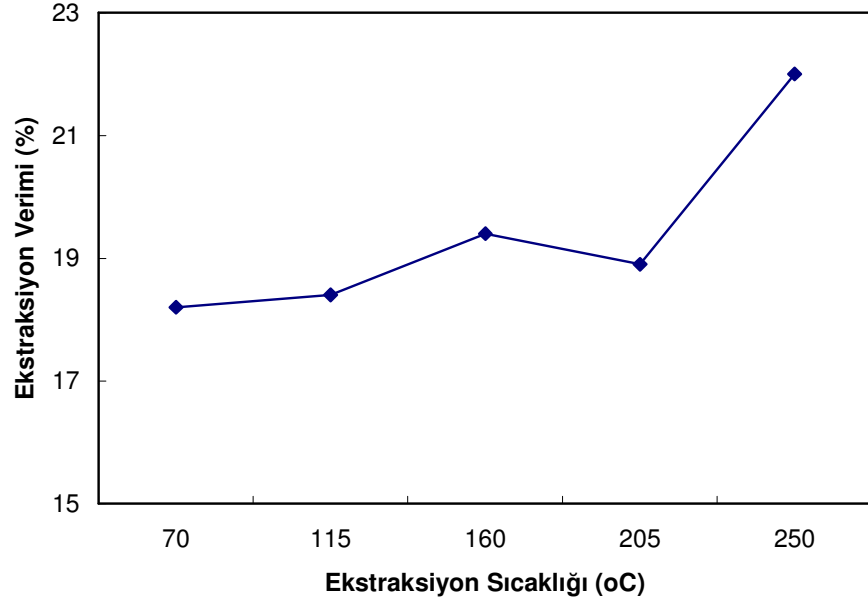
Sıcaklığın ekstraksiyon verimlerine etkisini incelemek amacıyla üç farklı çözücü için çizilen sıcaklık-% verim grafikleri aşağıdadır.



Şekil 4.1. n-Hekzan için sıcaklığa karşılık ekstraksiyon verimi grafiği (t = 30 dk)



Şekil 4.2. Aseton için sıcaklığa karşılık ekstraksiyon verimi grafiği (t = 30 dk)



Şekil 4.3. Metanol için sıcaklığa karşılık ekstraksiyon verimi grafiği (t = 30 dk)

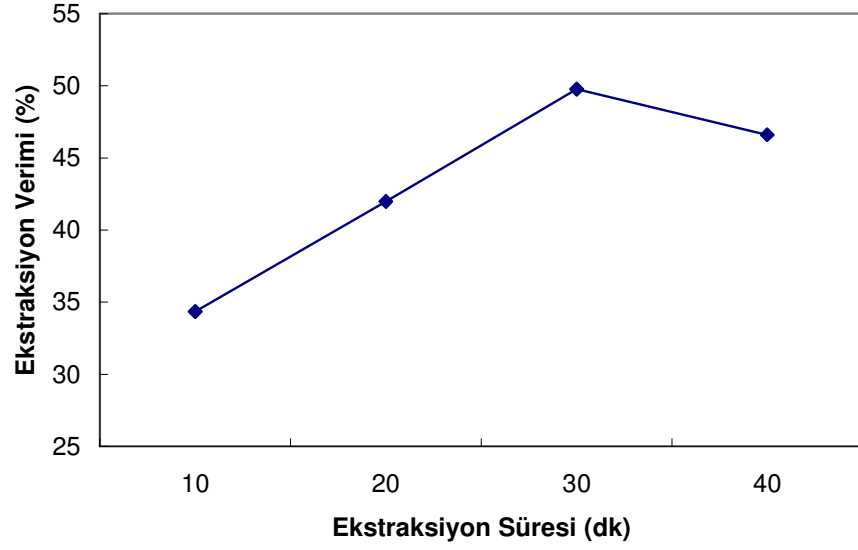
Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3'e bakıldığında en yüksek ekstraksiyon verimlerine n-hekzan ve aseton için 245 °C'de, metanol için ise 250 °C'de ulaşılmıştır. Yani diğer bir deyimle çözücülerin kritik sıcaklıklarının üzerinde gerçekleştirilen ekstraksiyonlar en yüksek verim değerlerini ortaya koymuşlardır. n-Hekzan, aseton ve metanol için bu verim değerleri sırasıyla % 49,8; % 50,5 ve % 22,0 dır. Metanol ekstraksiyonlarının maksimum değeri dahi n-hekzan ve aseton ekstraksiyonlarının minimum değerlerinden daha düşüktür (n-hekzanda bu değer % 28,4 iken asetonunda % 43'tür). Bu da n-hekzan ve aseton'un metanole göre çok daha düşük olan polarlığı ile açıklanabilir. Bu yüzden yağ ekstraksiyonları için n-hekzan ve aseton'un daha kullanışlı çözücüler olduğu söylenebilir. Aseton ve metanol için çizilen grafiklerdeki düşüş gösteren bölgeler haricinde genel olarak sıcaklığın ekstraksiyon verimini artırdığı söylenebilir. Düşüş gösteren bu bölgelerin reaksiyon ortamı şartlarındaki anlık bazı değişimlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ancak bunların araştırılması ayrı bir çalışma konusu teşkil etmektedir. N-Hekzan ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlardan elde

edilen verilerin daha düzenli bir artış gösterdikleri ortadadır. Bu açıdan bakıldığında yağ ekstraksiyonları için n-hekzan diğer çözücülere oranla daha uygun bir çözücüdür denilebilir. Bu durum soxhlet değerlerinden de görülebilir. Tam ekstraksiyon değerleri olarak kabul edilen soxhlet ekstraksiyon değerlerine bakıldığında, en yüksek verim n-hekzan ile gerçekleştirilen ekstraksiyonlarda elde edilmiştir: % 50,4. Bunu sırasıyla aseton (% 47,6) ve metanol (% 21,5) izlemiştir.

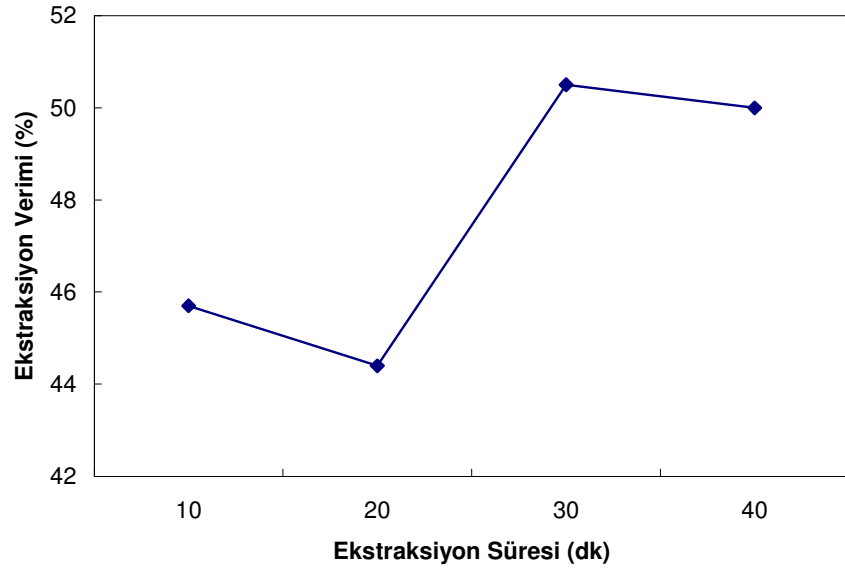
Kritik sıcaklıkların altında gerçekleştirilen subkritik ekstraksiyonlardan da oldukça yüksek değerler elde edilmiştir. Örneğin subkritik n-hekzan ekstraksiyonunda, 155 °C'de ve 30 dk'da maksimum değer (soxhlet değerinin maksimum değer olduğu kabul edilerek) % 88,3'ü ekstrakte edilebilmiş iken, 65 °C sıcaklık ve 30 dk sürede subkritik aseton ekstraksiyonunda maksimum değer % 90,3'ü; 115 °C sıcaklık ve 30 dk sürede subkritik metanol ekstraksiyonunda ise maksimum değer % 85,6'sı ekstrakte edilebilmiştir. Bu da kritik sıcaklığın altında gerçekleştirilen ekstraksiyonların da geleneksel ekstraksiyon metodlarından çok daha verimli olabileceğini ortaya koymaktadır. İşletme maliyeti ve teknolojisi daha pahalı olan süperkritik akışkan ekstraksiyonu sistemlerine alternatif olarak, daha düşük sıcaklıklarda çalışılabilen ve çok daha düşük işletme giderlerine sahip subkritik ve sıcak-çözücü ekstraksiyonları sistemleri dünyada da giderek artan bir ilgi görmektedirler (1).

4.4.2. Ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimine etkisi

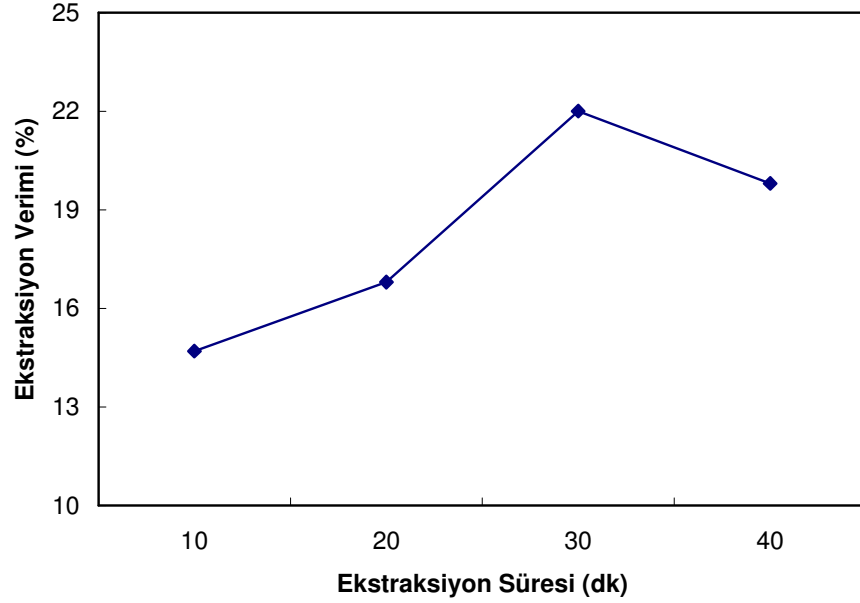
Ekstraksiyon süresinin ekstraksiyon verimine etkisini ölçmek amacıyla, en yüksek verimin elde edildiği sıcaklıkta (n-hekzan ve aseton için 245 °C, metanol için 250 °C), ekstraksiyon süresi olarak 10, 20, 30 ve 40 dk seçilerek deneyler tekrar edildi. Elde edilen sonuçlardan çizilen grafikler şekil 4.4, şekil 4.5 ve şekil 4.6'da verilmiştir.



Sekil 4.4. n-Hekzan için ekstraksiyon süresine karşılık ekstraksiyon verimi grafiği
(T = 245 °C)



Sekil 4.5. Aseton için ekstraksiyon süresine karşılık ekstraksiyon verimi grafiği
(T = 245 °C)



Sekil 4.6. Metanol için ekstraksiyon süresine karşılık ekstraksiyon verimi grafiği
(T = 250 °C)

Bu grafiklere bakıldığında en yüksek verim yüzdelerinin 30 dk'lık ekstraksiyonlardan elde edildiği rahatlıkla görülebilmektedir. n-Hekzan ile yapılan soxhlet ekstraksiyonundan elde edilen verimin % 98,8'i sadece 30 dk'da süperkritik n-hekzan ekstraksiyonu ile elde edilebilmiştir. Aseton ve metanolde bu değerler % 100'dür. Ekstraksiyon zamanı arttıkça verimde meydana gelen hafif düşüş zaman ve sıcaklığın ortak etkisiyle açıklanabilir. Uzun süreli ekstraksiyonlarda ekstraksiyonun sonlarına doğru trigliseridlerden serbest yağ asidi oluşumunun (hidroliz) gerçekleştiği iyi bilinmektedir (10). Bu serbest asitler sodyum metilat ile esterleştirilemezler, sadece transesterifikasyon oluştururlar. Bu nedenle de kantitatif tayinleri yapılamaz (84).

4.5. GC-MS Analizi Bulguları

Bölüm 3.1.6’da anlatıldığı şekilde elde edilen yağ asidi metil esterlerinin (YAME) GC-MS ile analizinden elde edilen sonuçlara göre yağın kompozisyonu Çizelge 4.4.’te verilmiştir. GC-MS analizine ait orijinal veriler Ek-1 de sunulmuştur.

Çizelge 4.4. Bıttım yağının yağ asidi bileşim yüzdesi (toplam yağ asitleri metil esterleri üzerinden)

Yağ Asidi (C sayısı:çift bağ sayısı)	%
Palmitik (16:0)	16,13
Stearik (18:0)	3,39
Palmitoleik (16:1)	-
Oleik (18:1)	67,25
Linoleik (18:2)	13,23
Linolenik (18:3)	-

Çizelge 4.4’ten de görüldüğü gibi ‘bıttım tohumu’ yağı en fazla sırasıyla oleik asit (% 67,25), palmitik asit (% 16,13), linoleik asit (% 13,23) ve az miktarda da stearik asit (% 3,39) içermektedir. Yine görüleceği üzere yağ asitlerinin büyük bir kısmı doymamış yağ asitlerinden (% 80,48) oluşmaktadır. % 19,52’lik kısım ise doymuş yağ asitlerinden oluşmaktadır. Bu durum bıttım tohumu yağını, nispeten düşük serbest yağ asidi oranı da dikkate alındığında önemli bir besinsel yağ kategorisine sokabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, ülkemizin özellikle Güneydoğu Anadolu ve Akdeniz bölgelerinde doğal olarak yetişen ve bölge halkı tarafından çeşitli maksatlarla kullanılan *pistacia* (bıtım) türlerinin tohumlarından geleneksel yöntemler ve soxhlet ekstraksiyonunun yanı sıra, süperkritik akışkan ve subkritik akışkan ekstraksiyonu gibi yeni ve modern yöntemlerle yağ ekstraksiyonu gerçekleştirildi. Elde edilen ekstraksiyon verimleri sıcaklık ve ekstraksiyon süreleri açısından karşılaştırıldı. Ayrıca eski ve yeni yöntemlerin de bir karşılaştırması yapıldı. Elde edilen yağın yağ asidi içeriği GC-MS birleşik analiz metodu kullanılarak analiz edildi.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar şu şekilde sıralanabilir:

- 1- Ekstraksiyona tabi tutulan materyal yüksek ekstraktif madde ve uçucu madde içeriğine sahiptir. Bu değerler sırasıya % 49,8 ve % 88,3'tür. Bu nedenle de üst ısı değeri diğer lignoselülozik maddelerden daha yüksektir (28 MJ/kg).
- 2- Geleneksel ekstraksiyon metodunun verimi oldukça düşük (%15-20) düzeyde ve deney sonuçlarının tekrarlanabilirliği zayıftır.
- 3- Elde edilen yağın serbest yağ asidi yüzdesi (% 2,81) çok yüksek bir değer değildir.
- 4- Yapılan soxhlet ekstraksiyonlarında en yüksek verim n-hekzan ile elde edilmiştir (% 50,4). Bunu sırasıyla aseton (% 47,6) ve metanol izlemiştir (% 21,5).
- 5- Süperkritik ve subkritik ekstraksiyonlarda en yüksek verim, 245 °C ve 30 dakika sürede süperkritik aseton ekstraksiyonundan elde edilmiştir (% 50,5). Bunu aynı sıcaklık ve sürede süperkritik n-hekzan ekstraksiyonu (% 49,8) ve 250 °C ve 30 dakika sürede süperkritik metanol ekstraksiyonu (% 22,0) izlemektedir.

- 6- Hem soxhlet hem de süperkritik ve subkritik ekstraksiyon sonuçlarına bakıldığında, yağlı tohumlardan yağ ekstraksiyonu için metanol'ün çok da uygun bir çözücü olmadığı söylenebilir.
- 7- Yapılan deneylerde süperkritik ekstraksiyonlar için en uygun ekstraksiyon süresinin 30 dakika olduğu tespit edilmiştir. Bu da literatürdeki verilerle uyumludur (18).
- 8- Süperkritik ekstraksiyonlar soxhlet'e göre çok daha az numune ve çözücü ile çalışılabilmesine imkan tanır. Örneğin soxhlet deneylerinde 15-20 g düzeylerinde numune, 150-200 ml civarında çözücü kullanılması gerekmişken, bu değerler süperkritik ekstraksiyon deneylerinde 1-2 g numune ve 10 ml kadar çözücü şeklindedir. Bu durum da literatür bilgileri ile uyumlu olup (20), bu durum süperkritik ekstraksiyona çevresel problemler ve atık sorunları dikkate alındığında geleneksel metodlara göre önemli bir avantaj sağlamaktadır.
- 9- Süperkritik ekstraksiyonlar soxhlet ve geleneksel metodlara göre çok hızlıdır. Örneğin yapılan deneylerde aynı ekstraksiyon verimlerine soxhlette 9 saatte ulaşılırken bu süre süperkritik ekstraksiyonlarda 30 dakikaya düşmektedir. Bu bilgi de literatürle uyum halindedir (18).
- 10- Sıcaklığın yükselmesi ekstraksiyon verimlerini genelde artırmaktadır. Sıcaklığın yükselmesiyle beraber ekstraksiyon verimlerinde en düzenli artış n-hekzan ile yapılan ekstraksiyonlarda elde edilmiştir.
- 11- n-Hekzan, süperkritik ekstraksiyonlarda ortaya koyduğu kararlı verim değerleri ve soxhlet ekstraksiyonunda sergilediği üstün performansı nedeniyle, yağlı tohumlardan yağ ekstrakte etmede aseton ve metanol'e göre daha uygun bir çözücü seçeneğidir.
- 12- Çözücülerin kritik sıcaklıklarının altında gerçekleştirilen subkritik ekstraksiyonlar da oldukça dikkate değer sonuçlar ortaya koymuşlardır. Örneğin n-hekzan deneylerinde 155 °C'de ve 30 dk'da maksimum değer (soxhlet değeri) % 88,3'ü; aseton deneylerinde 65 °C'de ve 30 dk'da maksimum değer % 90,3'ü ve metanol

deneylerinde de 115 °C'de ve 30 dk'da maksimum değerin % 85,6'sı ekstrakte edilebilmiştir. Dikkat edilirse bu değerler kullanılan çözücülerin kritik sıcaklıklarının oldukça altında olan değerlerdir. Bu da az bir verim kaybıyla beraber, ekstraksiyonlar için çok daha az enerji harcaması anlamına gelmektedir.

- 13- GC-MS analizlerinde bittim tohumu yağının en fazla oleik asit (% 67,25) içerdiiği, bunu sırasıyla palmitik asit (% 16,13), linoleik asit (% 13,23) ve stearik asit'in (% 3,39) gittikçe azalan yüzdelerle izlediği belirlenmiştir. Yağ, % 80,48 oranında doymamış yağ asitlerinden, % 19,52 oranında da doymuş yağ asitlerinden oluşmaktadır. Bu durum bittim yağını besinsel açıdan önemli kılmaktadır. Ancak bu değerlerin kullanılan bittim numunesindeki bittim cinsi karışım oranlarından, hasat mevsiminden ve numunelerin toplandığı bölgenin genel iklim şartlarından etkilenebileceği unutulmamalıdır. Çünkü bu çalışmada kullanılan bittim tohumları tek bir türe ait değil, birkaç türün karışımı halinde elde edilmiştir. Bittim tohumu türlerinin ayrı ayrı konu edildiği benzer çalışmalar yapılabilirse her bir türe ait yağ asidi içeriği, hasat mevsimi ve genel iklim ve yetişme şartları gibi parametreler kontrol edilerek tayin edilebilir.

Sonuç olarak, süperkritik ekstraksiyon tekniği, ekstraksiyonun çok daha kısa zamanda tamamlanabilmesi, çok az çözücü sarfedilmesi ve spektroskopik analiz teknikleriyle birleştirilebilmesi ve bunlara ilaveten diğer bölümlerde anlatılan bir çok avantajları sayesinde geleneksel ekstraksiyon teknikleri üzerine büyük bir avantaja sahiptir denebilir.

Ne var ki, süperkritik ekstraksiyon sistemleri henüz küçük ölçekli endüstriyel kuruluşlar açısından yeterince basit olmayıp, kurulum ve çalıştırma masrafları da istenilen düzeyde değildir. Bu anlamda bu tür işletmeler için subkritik ekstraksiyon teknikleri, özellikle de süper ısıtılmış n-hekzan ekstraksiyonu (n-hekzan'ın kaynama noktasının üzerine kadar ısıtıldığı ancak

basınç düzenlemesiyle hala sıvı halde kaldığı ekstraksiyon) teknikleri önerilmektedir (1). Bu çalışmada gerçekleştirilen subkritik n-hekzan ve aseton deneylerinin ümit verici sonuçlarından yola çıkılarak, Güney Doğu Anadolu Bölgemizde 'bıttım' tohumu yağından sabun yapımı ile uğraşan üreticiler için, geleneksel tekniklerden çok daha verimli ve uygulaması da basit olan süper-ısıtılmış hekzan ve sıcak hekzan ekstraksiyon sistemlerinin iyi birer alternatif teknik olarak değerlendirilebileceği söylenebilir.

6. KAYNAKLAR

1. Luque-Rodríguez, J.M., Luque de Castro, M.D. and Pérez-Juan, P., **“Extraction of fatty acids from grape seed by superheated hexane”**, *Talanta*, 68: 126-130 (2005).
2. Ramadhas, A.S., Jayaraj, S. and Muraleedharan, C., **“Biodiesel production from high FFA rubber seed oil”**, *Fuel*, 84:335-340 (2005).
3. Kolsarıcı, Ö., Gür, A., Başalma, D., Kaya, M.D. ve İşler, N., **“Yağlı tohumlu bitkiler üretimi”**, *Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi I. Cilt*, Ankara, 409- 429 (2005).
4. Atlı, H.S., Arpacı, S., Karadağ, S., Kaşka, N., Özgüven, A.I., Eskalen, A., Küsek, M. ve Danıştı, L., **“Pistacia khinjuk Stocks'un Pistacia Cinsinin Değişik Türleri Arasında Kontrollü Melezleme Yolu ile Sulu Koşullardaki Antepfıstıkları İçin Anaç Islahı”**, TÜBİTAK Proje No: TARP-2190, Fıstık Araştırma Enstitüsü, Gaziantep, (1999).
5. Baytop, T., **“Türkiyede Bitkiler ile Tedavi”**, İstanbul Üniversitesi Yayın No:3255, İstanbul, (1984)
6. Hojerová, J., **“Olej z hroznových semenok v kozmetike. Grape Seed oil in cosmetics”**, *Vinohrad*, 41 (6), 6-7 (2003).
7. Sineiro, J., Domínguez, H., Núñez, M.J., **“Pepitas de uva como fuente de aceite y proteína”**. *Alimentación, Equipos y Tecnología*. 14 (4): 49-56 (1995).
8. Palma, M., Taylor L.T, Varela, R.M, Cutler, S.J., and Cutler, H.G., **“Fractional Extraction of Compounds from Grape Seeds by Supercritical Fluid Extraction and Analysis for Antimicrobial and Agrochemical Activities”**, *J. Agric and Food Chem*, 47, 5044-5048 (1999).
9. Cao, X., Ito, Y., **“Supercritical fluid extraction of grape seed oil and subsequent separation of free fatty acids by high-speed counter-current chromatography”**, *J. Chromatogr. A*, 1021, 117 (2003).
10. Molero Gómez, A., Pereyra López, C., and Martínez de la Ossa, E., **“Recovery of Grape Seed Oil by Liquid and Supercritical Carbon Dioxide Extraction: A Comparison with Conventional Solvent Extraction”**, *Chem. Eng. J.* 61, 227–231 (1996).
11. Hannay J.B., Hogarth J., **“On the solubility of solids in gases”**, *Proc.Royal.Soc. (London)*., 30, 178-188 (1880)

12. Elgin, J.C., Weinstock, J.J., **“Phase equilibrium at elevated pressures in ternary systems of ethylene and water with organic liquids. Salting out with a supercritical gas”** *J. Chem.Eng. Data*, 4, 3–12 (1959).
13. Majors, R.E., **“Supercritical Fluid Extraction-An Introduction”**, *LC-GC Magazine of Separation Science*, 9 (2), 78 (1991).
14. Skoog, D.A., Holler, F.J. ve Nieman T.A. ,**“Enstrümantal Analiz İlkeleri 7.Baskı”**, Çeviri Editörleri: Kılıç, E., Köseoğlu, F. ve Yılmaz, H., *Bilim Yayınları*, Ankara, 768 (1998).
16. Tehrani, J., **“Successful Supercritical Fluid Extraction Strategies”**, *American Laboratory*, 25 (2), 40HH-40MM (1993).
17. Brignole, E.A., **“Supercritical Fluid Extraction, Fluid Phase Equilibria”**, 29, (1986), 133-144
18. Hawthorne, S.B., **“Analytical-Scale Supercritical Fluid Extraction”**, *Analytical Chemistry*, 62(11), 633A-642A (1990).
19. Bartley, J.P., Foley, P., **“Supercritical fluid extraction of Australian-grown ginger (*Zingiber officinale*)”**, *J. Sci. Food. Agric.*, 66, 365 (1994).
20. Henning, J.A., Core, R.J., Gardea-Torresdey, J.L., **“Extracting volatile compounds from single plants using supercritical fluid extraction”**, *Crop. Sci.*, 34, 1120 (1994).
21. Otterbach, A., Wenclawiak, B.W., **“Ultrasonic/soxhlet/supercritical fluid extraction kinetics of pyrethrins from flowers and allethrin from paper strips”**, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 365, 472 (1999).
22. Fuh, M.R.S., Pan, W.H., Chuo, C.M., **“Preparative supercritical fluid extraction of essential oils from *Syzygium Aromaticum* (glove bud)”**, *Am. Lab.*, 27, 36 (1995).
23. Reverchon, E., Donsi, G., Osseo, L.S., **“Modeling of supercritical fluid extraction from herbaceous matrices”**, *Ind. Eng.Chem. Res.*, 32, 2721 (1993).
24. Reverchon, E., Sesti-Osseo, L., **“Comparison of process for the supercritical carbon dioxide extraction of oil from soybean seeds”**, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71 (9), 1007-1012 (1994).
25. Lang, Q., Wai, C.M., **“Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies-a practical review”**, *Talanta*, 53, 771-782 (2001).

26. Klink, G., Buchs, F.O., Gulacar, F.O., “**Supercritical fluid extraction of fatty acids and sterols from plant tissues and sediments**”, *Org. Geochem.*, 21, 437 (1994)
27. Vandana, V., Teja, A.S., Zalkow, L.H., “**Supercritical Extraction and HPLC analysis of taxol from *Taxus brevifolia* using Nitrous Oxide and Nitrous Oxide + Ethanol Mixtures**”, *Fluid Phase Equilb.*, 116, 162 (1996).
28. Basile, A., Jiménez-Carmona, M.M., Clifford, A.A., “**Extraction of rosemary by superheated water**”, *J. Agric. Food Chem.*, 46, 5205 (1998).
29. Vilegas, J.H.Y., Lanças, F.M., Vilegas, W., Pozetti, G.L., “**Comparison of hydrodistillation and supercritical fluid extraction for the determination of essential oils in aromatic plants**”, *Phytochem. Anal.*, 4, 230 (1993).
30. Modey, W.K., Mulholland, D.A., Raynor, M.W., “**Analytical supercritical fluid extraction of natural products**”, *Phytochem. Anal.*, 7, 1 (1996).
31. Bicchi, C., Rubiolo, P., Frattini, C., Sandra, P., David, F., “**Off-line supercritical fluid extraction and capillary gas chromatography of pyrrolizidine alkaloids in *Senecio* species**”, *Nat. Prod.*, 54, 941 (1991).
32. Wheeler, J.R., McNally, M.E., “**Supercritical fluid extraction and chromatography of representative agricultural products with capillary and microbore columns**”, *J. Chromatogr. Sci.*, 27 (9), 534–539 (1989).
33. Sargenti, S.R., Lanças, F.M., “**Supercritical fluid extraction of *cymbopogon citratus* (DC.) Stapf**”, *Chromatographia*, 5/6, 285 (1997).
34. Hawthorne, S.B., Riekkola, M., Serenius, K., Holm, Y., Hiltunen, R., Hartonen, K., “**Comparison of hydrodistillation and supercritical fluid extraction for the determination of essential oils in aromatic plants**”, *J. Chromatogr.*, 634, 297 (1993).
35. Sanagi, M.M., Hung, W.P., Yasir, S.M., “**Supercritical fluid extraction of pyrazines in roasted cocoa beans. Effect of pod storage period**”, *J. Chromatogr. A.*, 785, 361 (1997).
36. Marsili, R., Callahan, D., “**Comparison of a liquid solvent extraction technique and supercritical fluid extraction for the determination of α - and β -carotene in vegetables**”, *J. Chromatogr. Sci.*, 31, 422 (1993).
37. Ashraf-Khorossani, M., Taylor, L.T., “**Supercritical fluid extraction of michellamines A and B from *ancistrocladus korupensis* leaves**”, *Anal. Chim. Acta*, 347, 305 (1997).

38. Ashraf-Khorassani, M., Taylor, L.T., Martin, M., “*Supercritical fluid extraction of Kava lactones from Kava root and their separation via supercritical fluid chromatography*”, *Chromatographia*, 5/6, 287 (1999).
39. Miller, K.G., Poole, C.F., Chichila, T.M.P., “*Solvent-assisted supercritical fluid extraction for the isolation of semivolatile flavor compounds from the cinnamons of commerce and their separation by series-coupled column gas chromatography*”, *J. HRC*, 18, 461-471 (1995).
40. Polesello, S., Lovati, F., Rizzolo, A., Rovida, C., “*Supercritical fluid extraction as a preparative tool for strawberry aroma analysis*”, *J. HRC*, 16, 555 (1993).
41. Lehotay, S.J., “*Supercritical fluid extraction of pesticides in foods*”, *J. Chromatogr. A*, 785, 289 (1997).
42. Weathers, R.M., Beckholt, D.A., Lavella, A.L., Danielson, N.D., “*Comparison of acetals as in situ modifiers for the supercritical fluid extraction of β -carotene from paprika with carbon dioxide*”, *J. Liq. Chromatogr. Rel. Technol.*, 22, 241 (1999).
43. Ibáñez, E., López-Sebastián, S., Ramos, E., Tabera, J., Reglero, G., “*Analysis of highly volatile components of foods by off-line SFE/GC*”, *J. Agric. Food Chem.*, 45, 3940 (1997).
44. Modey, W.K., Mulholland, D.A., Raynor, M.W., “*Application of a dynamic extraction model to the supercritical fluid extraction of the limonoid cedrelone from Cedrela tona*”, *J. Chromatogr. Sci.*, 34, 320 (1996).
45. Chun, M., Shin, H., Lee, H., “*Supercritical fluid extraction of paclitaxel and Baccatin III from needles of Taxus cuspidata*”, *Supercrit. Fluids*, 9, 192 (1996).
46. Stahl, E., Glatz, A., “*Extraction of natural substances with supercritical gases. X: Qualitative and quantitative determination of solubilities of steroids in supercritical carbon dioxide*”, *Fette Seifen Anstruich*, 9, 346 (1984).
47. Choi, Y.H., Kim, J., Jeon, S.H., Yoo, K.P., Lee, H.K., “*Optimum SFE condition for lignans of Schisandra chinensis fruits*”, *Chromatographia*, 9/10, 695 (1998).
48. Gawdzik, J., Mardarowicz, M., Wolski, T., “*Supercritical fluid extraction of essential oils from the fruits of Archangelica off. Hoffm. and their characterization by GC/MS*”, *J. HRC*, 19, 237 (1996).

49. Birtigh, A., Johannsen, M., Brunner, G., **“Supercritical fluid extraction of oil-palm components”**, *J. Supercrit. Fluids*, 8, 46 (1995).
50. Modey, W.K., Mulholland, D.A., Mahomed, H., **“Analysis of extracts from Cedrela toona (Meliaceae) by off-line and on-line supercritical fluid extraction-capillary gas chromatography”**, *J. Microcolumn Sep.*, 8, 67 (1994).
51. Smith, R.M., Burford, M.D., **“Optimization of supercritical fluid extraction of volatile constituents from a model plant matrix”**, *J. Chromatogr.*, 600, 175 (1992).
52. Heaton, D.M., Bartle, K.D., Rayner, C.M., Clifford, A.A., **“Application of supercritical fluid extraction and supercritical fluid chromatography to the production of taxanes as anti-cancer drugs”**, *J. HRC*, 16, 666 (1993).
53. Ibáñez, E., Oca, A., de Murga, G., López-Sebastián, S., Tabera, J., Reglero, G., **“Supercritical fluid extraction and fractionation of different preprocessed rosemary plants”**, *J. Agric. Food Chem.*, 47, 1400 (1999).
54. Verschuere, M., Sandra, P., David F., **“Fractionation by SFE and microcolumn analysis of the essential oil and the bitter principles of hops : Flavors and fragrances”**, *J.chromatogr. Sci.*, 30, 388 (1992).
55. Blanch, G.P., Caja, M.M., del Castillo, M.L.R., Santa-Maria, G., Herraiz, M., **“Fractionation of extracts by spercritical fluid extraction and direct introduction in capillary gas chromatography using a programmable temperature vaporizer”**, *J. Chromatogr. Sci.*, 37, 407-410 (1999).
56. Ramsey, E.D., Minty, B., Rees, A.T., **“Drugs in water : Analysis at the part-per-billion level using direct supercritical fluid extraction of aqueous samples coupled on-line with ultraviolet-visible diode-array liquid chromatography-mass spectrometry”**, *Anal. Commun.*, 9, 261 (1997).
57. Lanças, F.M., Matta, M.H.R, Hayasida, L.J., Carrilho, E.J., **“Supercritical fluid extraction of PAHS from coal with off-line CGC-MS analysis”**, *High Resolut. Chromalogr.*, 14, 633-635 (1991).
58. Mauldin, R.F., Vienneau, J.M., Wehry, E.L., Mamantov, G., **“Supercritical fluid extraction of vapor-deposited pyrene from carbonaceous coal stack ash”**, *Talanta*, , 37, 1031-1036 (1990).
59. Burk, R.C., Kruus, P., Ahmad, I., Crawford, G.J., **“Supercritical Fluid Extraction Of Trace Organics From Solids”**, *Environ. Sci. Health Part B*, B25, 553-567 (1990).

61. Randolph, T. W., "**Supercritical fluid extractions in biotechnology**", *Trends Biotechnol.*, , 8, 78-82 (1990).
62. King, J.W.J., "**Applications of capillary supercritical fluid chromatography-supercritical fluid extraction to natural products**", *Chromatogr. Sci.*, , 28, 9-14 (1990).
63. Wells, P.A.; Foster, N.R.; Liong, K.K.; Chaplin, R.P., "**Supercritical fluid extraction of triglycerides**", *Sep. Sci. Technol.*, 25, 139-154 (1990).
64. Sakaki, K., Yokochi, T., Suzuki, O., Hakuta, T.J., "**Supercritical fluid extraction of fungal oil using CO₂, N₂O, CHF₃, and SF₆**", *Am. Oil Chem. Soc.*, 67, 553-557 (1990).
65. Tilly, K.D., Chaplin, R.P., Foster, N.R., "**Supercritical fluid extraction of the triglycerides present in vegetable oils**", *Sep. Sci. Technol.*, 25, 357-367 (1990).
66. Favati, F., King, J.W., Mazzanti, M.J., "**Supercritical carbon dioxide extraction of evening primrose oil**", *Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 422-427 (1991).
67. Goncalves, M., Vasconcelos, A.M. P., Gomes de Azevedo, E.J.S., Chaves das Neves, H.J., Nunes da Ponte, M.J., "**On the application of supercritical fluid extraction to the deacidification of olive oils**", *Am. Oil Chem. Soc.*, 68, 474-480 (1991)
68. Rossi, M., Schiraldi, A., Spedicato, E., "**Supercritical fluid extraction of cholesterol and its oxidized products from eggs: preliminary experiments**", *Dev. food Sci.*, 24, 855-863 (1990).
69. Ong, C.P., Ong, H.M., Li, S.F.Y., Lee, H.K.J., "**The Extraction of Cholesterol from Solid and Liquid Matrices Using Supercritical CO₂**", *Microcolumn Sep.*, 2, 69-73 (1990).
70. Pellerin, P., "**Supercritical fluid extraction of natural raw materials for the flavor and perfume industry**", *Pedum. Flavor.*, 16, 37-39 (1991).
71. Nykanen, I., Nykanen, L., Alkio, M. J., "**Composition of angelica root oils obtained by supercritical CO₂ extraction and steam distillation**", *Essent. Oil Res.*, 3, 229-236, (1991).
72. Miles, W.S., Quimby, B.D., "**Characterization of sulfur compounds in spices using SFE-GC-AED**", *Am.Lab.*, ,22,28F,28H,28J, 28L (1990).
73. Ondarza, M., Sanchez, A., "**Steam Distillation and Supercritical. Fluid Extraction of Some Mexican Spices**", *Chromatographia*, 30, 16-19 (1990).

74. ASTM D1106-96(2007), "**Standard test method for acid-insoluble lignin in wood**", American Society for Testing and Materials (ASTM), Philadelphia, (2007).
75. Browning, B.L., "**Methods of Wood Chemistry**", Vol. II., Interscience/Wiley, New York, (1967).
76. ASTM E871-82(2006), "**Standard test method for moisture analysis of particulate wood fuels**", American Society for Testing and Materials (ASTM), Philadelphia, (2006).
77. ASTM D1102-84(2007), "**Standard test method for ash in wood**", American Society for Testing and Materials (ASTM), Philadelphia, (2007).
78. ASTM E872-82(2006), "**Standard test method for volatile matter in the analysis of particulate wood fuels**", American Society for Testing and Materials (ASTM), Philadelphia, (2006).
79. ASTM D1107-96(2007), "**Standard test method for ethanol-toluene solubility of wood**", American Society for Testing and Materials (ASTM), Philadelphia, (2007).
80. ASTM E711-87(2004), "**Standard test method for gross calorific value of refuse-derived fuel by the bomb calorimeter**", American Society for Testing and Materials (ASTM), Philadelphia, (2004).
81. ASTM D240-02(2007), "**Standard test method for heat of combustion of liquid hydrocarbon fuels by bomb calorimeter**", American Society for Testing and Materials (ASTM), Philadelphia, (2007).
82. Alpar, S.R., Hakdiyen, M.İ., Bigat, T., "**Sınai kimya analiz metodları**", 6. Baskı, *Birsen Kitabevi Yayınları*, İstanbul, (1982).
83. Tiwari, A.K., Kumar, A., Raheman, H., "**Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: An optimized process**", *Biomass and Bioenergy*, 31, 569–575 (2007).
84. Christie, W.W., "**In: Advances in lipid methodology II**", (W.W. Christie Ed.), *Oily Pres*, Dundee, (1993).

EKLER

EK-1:

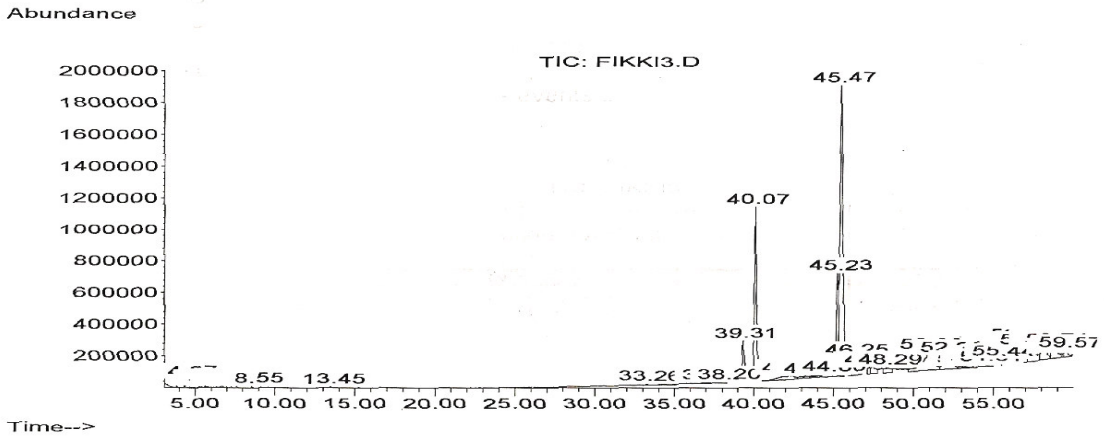
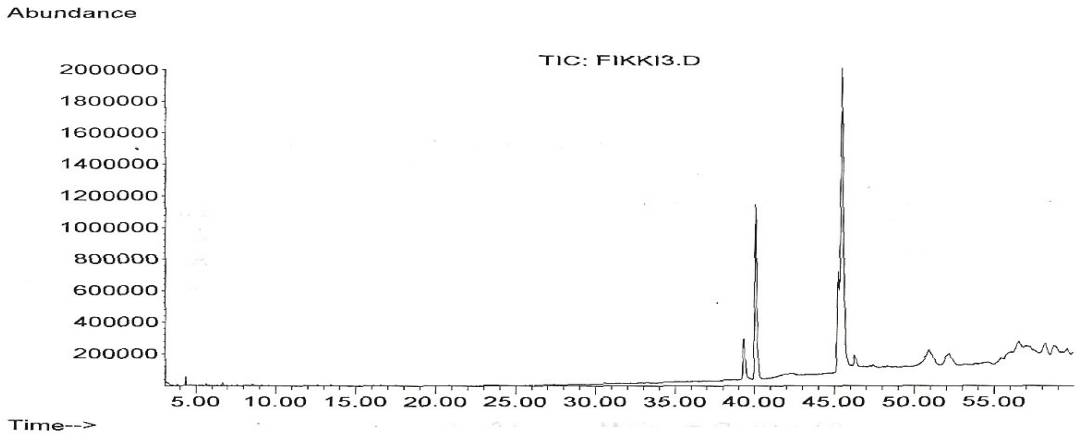
**Bıtım Tohumu Yağının GC-MS Analizinden Elde Edilen Kromatogramlar
ve Kütüphane Taraması Sonuçları**

Information from Data File:

File: C:\MSDCHEM\1\DATA\FIKKI3.D
 Operator: AHM
 Date Acquired: 13 Mar 2006 11:56
 Method File: AHMET
 Sample Name: fikki3
 Misc Info:
 Vial Number: 1

Search Libraries: C:\Database\PMW_Tox3.l Minimum Quality: 60
 C:\Database\wiley7n.l Minimum Quality: 30
 C:\Database\Pest.l

Unknown Spectrum: Apex
 Integration Events: Chemstation Integrator - events.e



PK#	RT	Area%	Library/ID	Ref#	CAS#	Qual
1	4.37	0.17	C:\Database\wiley7n.l			
			.ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo...	32184	000080-56-8	96
			(1S)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1...	32415	007785-26-4	96
			.ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo...	32180	000080-56-8	96
2	5.64	0.07	C:\Database\wiley7n.l			
			.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene...	31858	000123-35-3	96
			.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene...	31857	000123-35-3	90
			.beta.-Pinene	32207	000127-91-3	90

3 6.68 0.13 C:\Database\wiley7n.l
Limonene 31980 000138-86-3 96
Bornylene \$\$ Bicyclo[2.2.1]hept... 32102 000464-17-5 93
dl-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-m... 31999 000138-86-3 90

4 7.59 0.05 C:\Database\wiley7n.l
.gamma.-Terpinene \$\$ 1,4-Cycloh... 31950 000099-85-4 94
1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-... 31954 000099-85-4 94
.ALPHA.-PINENE, (-)- \$\$ Bicyclo... 32187 000080-56-8 93

5 8.55 0.07 C:\Database\wiley7n.l
.ALPHA.-TERPINOLENE \$\$ Cyclohex... 32030 000586-62-9 97
.ALPHA.-TERPINOLENE \$\$ Cyclohex... 32039 000586-62-9 96
.ALPHA.-TERPINOLENE \$\$ Cyclohex... 32042 000586-62-9 96

6 13.45 0.06 C:\Database\Pest.l
No matches found

7 33.26 0.08 C:\Database\wiley7n.l
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 58
Thiosulfuric acid (H2S2O3), S-(... 56420 002937-53-3 58
Cyclopentadecanone, 2-hydroxy- 174133 004727-18-8 53

8 37.23 0.22 C:\Database\wiley7n.l
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 81
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228695 000112-80-1 68
Cyclopentadecanone, 2-hydroxy- 174133 004727-18-8 68

9 38.20 0.10 C:\Database\PMW_Tox3.l
Linoleic acid ... 2551 000060-33-3 83
Cyclotetradecane ... 2354 000295-17-0 49
2-Ethyl-3-methyl-1-butene ... 3824 007357-93-9 22

10 39.31 3.51 C:\Database\wiley7n.l
9-Hexadecenoic acid, methyl ester 211103 001120-25-8 99
9-Hexadecenoic acid, methyl est... 211104 001120-25-8 99
9-Hexadecenoic acid, methyl est... 211106 001120-25-8 99

11 40.06 13.10 C:\Database\PMW_Tox3.l
Palmitic acid ME ... 1801 000112-39-0 98
Pentadecanoic acid ME ... 3036 007132-64-1 50
Myristic acid ME ... 1141 000124-10-7 35

12 42.26 2.15 C:\Database\wiley7n.l
Cyclopropaneoctanal, 2-octyl- 226313 056196-06-6 96
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 96
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228693 000112-80-1 90

13 43.22 0.60 C:\Database\PMW_Tox3.l
Linoleic acid ... 2551 000060-33-3 86
Cyclotetradecane ... 2354 000295-17-0 43
Oleic acid ME ... 2667 000112-62-9 40

14 43.63 0.22 C:\Database\wiley7n.l
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 99
9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ tr... 228773 000112-79-8 97
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228693 000112-80-1 97

15 44.80 0.88 C:\Database\wiley7n.l
9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ tr... 228773 000112-79-8 97
9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 95
9-Octadecenoic acid, (E)- 228774 000112-79-8 90

16 45.23 7.14 C:\Database\PMW_Tox3.l
 Linoleic acid ME ... 1068 002566-97-4 70
 Bornyl salicylate ... 1403 000560-88-3 9
 Tranexamic acid ME ... 5680 000000-00-0 9

17 45.47 33.35 C:\Database\PMW_Tox3.l
 Oleic acid ME ... 2667 000112-62-9 98
 Cyclotetradecane ... 2354 000295-17-0 18
 Stearyl alcohol ... 2356 000112-92-5 10

18 46.25 2.75 C:\Database\PMW_Tox3.l
 Stearic acid ME ... 970 000112-61-8 97
 Myristic acid ME ... 1141 000124-10-7 70
 Lauric acid ME ... 2666 000111-82-0 37

19 47.21 0.64 C:\Database\wiley7n.l
 9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ tr... 228773 000112-79-8 95
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 91
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228693 000112-80-1 91

20 47.40 1.22 C:\Database\wiley7n.l
 9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ tr... 228773 000112-79-8 95
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 95
 Oleic Acid \$\$ 9-Octadecenoic ac... 228688 000112-80-1 94

21 48.29 1.26 C:\Database\wiley7n.l
 Cyclopropaneoctanal, 2-octyl- 226313 056196-06-6 95
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 95
 9-Octadecenoic acid, (E)- 228774 000112-79-8 87

22 50.92 7.19 C:\Database\wiley7n.l
 3-Methyl-5-(2',6',6'-trimethylc... 148798 000000-00-0 46
 2,4-Dimethyl-3-nitrobicyclo[3.2... 110821 000000-00-0 42
 2-Methyl-E,E-3,13-octadecadien-... 226326 000000-00-0 25

23 52.20 3.83 C:\Database\wiley7n.l
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 98
 Nonacosane \$\$ n-Nonacosane 336999 000630-03-5 95
 Octacosane \$\$ n-Octacosane 329266 000630-02-4 94

24 53.17 0.57 C:\Database\wiley7n.l
 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)... 226100 000060-33-3 93
 Octadec-9-enoic acid 228692 000000-00-0 93
 9-Octadecenoic acid, (E)- 228774 000112-79-8 93

25 53.84 0.21 C:\Database\PMW_Tox3.l
 Cyclotetradecane ... 2354 000295-17-0 70
 Linoleic acid ... 2551 000060-33-3 45
 Cyclohexadecane ... 2355 000295-65-8 37

26 54.02 0.07 C:\Database\wiley7n.l
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 96
 9-Octadecenoic acid, (E)- 228774 000112-79-8 94
 Cyclohexane, 1-(1,5-dimethylhex... 226376 056009-20-2 90

27 54.61 0.69 C:\Database\PMW_Tox3.l
 Linoleic acid ... 2551 000060-33-3 78
 Cyclotetradecane ... 2354 000295-17-0 51
 Cyclohexadecane ... 2355 000295-65-8 38

28 55.44 0.96 C:\Database\wiley7n.l
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 94

9-Octadecenoic acid, (E)- 228774 000112-79-8 70
 HEPTADECENE-(8)-CARBONIC ACID-(1) 228686 000000-00-0 70

29 56.53 7.40 C:\Database\wiley7n.l
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 90
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228695 000112-80-1 83
 9-Octadecenal, (Z)- \$\$ Olealdeh... 208774 002423-10-1 53

30 56.99 1.74 C:\Database\wiley7n.l
 Cyclopropaneoctanal, 2-octyl- 226313 056196-06-6 96
 9-Octadecenal, (Z)- \$\$ Olealdeh... 208774 002423-10-1 94
 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)... 226100 000060-33-3 91

31 57.14 3.47 C:\Database\wiley7n.l
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228695 000112-80-1 90
 9-Octadecenal, (Z)- \$\$ Olealdeh... 208774 002423-10-1 80
 9-Octadecenoic acid (Z)-, 2,3-d... 303305 000111-03-5 70

32 58.21 2.68 C:\Database\PMW_Tox3.l
 Clionasterol -H2O ... 5626 000000-00-0 95
 Xipamide isomer-1 3ME ... 3083 000000-00-0 10
 Topiramate TMS ... 5710 000000-00-0 6

33 58.73 2.43 C:\Database\PMW_Tox3.l
 Clionasterol -H2O ... 5626 000000-00-0 92
 Xipamide isomer-1 3ME ... 3083 000000-00-0 10
 Ethaverine-M (HO-) ME ... 3713 000000-00-0 9

34 59.30 0.19 C:\Database\wiley7n.l
 9-Octadecenoic acid, (E)- \$\$ tr... 228773 000112-79-8 72
 1H-Benzocyclohepten-7-ol, 2,3,4... 148497 006892-80-4 58
 HEPTADECENE-(8)-CARBONIC ACID-(1) 228686 000000-00-0 55

35 59.57 0.81 C:\Database\wiley7n.l
 HEPTADECENE-(8)-CARBONIC ACID-(1) 228686 000000-00-0 83
 9-Octadecenoic acid, (E)- 228774 000112-79-8 83
 9-Octadecenoic acid (Z)- (CAS) ... 228694 000112-80-1 64

Mon Mar 13 15:55:21 2006

7. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Ardahan ili Göle ilçesinde doğdu. İlk, orta ve lise öğretimini Kars'ta tamamladı. 1999 yılında girdiği Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü'nden 2004 yılında Kimyager olarak mezun oldu. Aynı yıl içerisinde Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Öğrenimine başladı.