



**YAĞLI TOHUMLARDAN SÜPERKRİTİK KARBON DİOKSİT
YÖNTEMİYLE İLAÇ ETKEN BİLEŞENLERİNİN ÖZÜTLENMESİ**

Levent NURALIN

**DOKTORA TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2018

Levent NURALIN tarafından hazırlanan “YAĞLI TOHURLARDAN SÜPERKRİTİK KARBON DİOKSİT YÖNTEMİYLE İLAÇ ETKEN BİLEŞENLERİNİN ÖZÜTLENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Metin GÜRÜ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Prof. Dr. Mübeccel ERGUN

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. Ali SİNAĞ

Kimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. İbrahim TÜKENMEZ

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. Emine BAYRAKTAR

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 11 / 01 / 2018

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Levent NURALIN

11 / 01 / 2018

YAĞLI TOHUMLARDAN SÜPERKRİTİK KARBON DİOKSİT YÖNTEMİYLE İLAÇ ETKEN BİLEŞENLERİNİN ÖZÜTLENMESİ

(Doktora Tezi)

Levent NURALIN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2018

ÖZET

Bilim adamları, çeşitli bitkilerde 5000'in üzerinde flavonoid bileşiğini karakterize etmişlerdir. Flavonoidler, polifenollerin alt gurubu olup bitkiler tarafından sentezlenen en büyük gruptur. Flavonoidler antioksidan antimikrobiyal, antiviral ve antibakteriyel özelliklere sahiptirler. Bu özellikler laboratuvar çalışmaları ile kanıtlanmıştır. Günümüzde anti kanser amaçlı olarak önleyici tedavilerde sıklıkla kullanılmaktadır. Quercetin rutin ve kaempferol (QRK) bileşikler dikkat çekici flavonoidlerdir. Bu flavonoidlerin miktarsal tayini için ekonomik değeri olmayan iğde çekirdeği, ayva çekirdeği ve kıvılcım kozalağı kullanılmıştır. Bu çalışma süperkritik şartlarda CO₂'in çözücü olarak kullanıldığı özütleme çalışmasıdır. Bu çalışmada süperkritik özütlemeye önemli değişkenler olarak bilinen özütleme süresi, basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO₂ akış hızı ve yardımcı çözücü olarak etanolün etkisinin özüt miktarı ve toplam QRK miktarları üzerine etkileri araştırılmıştır. İdealize edilen çalışma sonuçlarına göre kıvılcım kozalağında tespit edilen en yüksek özüt ve QRK miktarı kendi çalışma koşullarında sırasıyla 72,28 mg/g ve 7,95 µg/g olarak tespit edilmiştir. İdealize edilen çalışma sonuçlarına göre iğde çekirdeğinde tespit edilen en yüksek özüt ve QRK miktarı kendi çalışma koşullarında sırasıyla 66,51 mg/g ve 4,84 µg/g olarak tespit edilmiştir. İdealize edilen çalışma sonuçlarına göre ayva çekirdeğinde tespit edilen en yüksek özüt ve QRK miktarı kendi çalışma koşullarında sırasıyla 212,40 mg/g ve 6,47 µg/g olarak tespit edilmiştir.

Bilim Kodu : 91202

Anahtar Kelimeler : Flavonoidler, süperkritik CO₂, özütleme, kıvılcım kozalağı, iğde çekirdeği, ayva çekirdeği

Sayfa Adedi : 125

Danışman : Prof. Dr. Metin GÜRÜ

EXTRACTION OF ACTIVE PHARMACEUTICAL COMPONENTS FROM OILY
SEEDS BY SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE METHOD

(Ph. D. Thesis)

Levent NURALIN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

January 2018

ABSTRACT

Scientists have been characterized over 5.000 flavonoid compounds in the various plants. Flavonoids are the biggest group which synthesized by plants and they are subgroup of polyphenols. Flavonoids have antioxidant, antimicrobial, antiviral and antibacterial properties. These properties were proved by laboratory studies. Nowadays flavonoids are in use as preventive treatment for anticancer applications. Quercetin rutin and kaempferol (QRK) compounds are remarkable flavonoids. The quantities of these flavonoids were analyzed from Turkish pine cone (*pinus brutia* pine cone), oleaster (*Elaeagnus angustifolia*) and quince (*Cydonia oblonga*) seeds as unvalued economical sources. This study is extraction study in which carbon dioxide were used as solvent at supercritical conditions. In this study, the effects of extraction time, pressure, temperature, particle size, carbon dioxide flow rate and ethanol as co-solvent that are known as important parameters on supercritical extraction, on quantity of oil amounts and total QRK amounts were investigated. The idealized results indicate that the quantities of oil and QRK extracted from Turkish pine cone (*pinus brutia* pine cone) were optimum with amounts of 72.28 mg/g and 7.95 µg/g respectively at their optimum conditions. The idealized results indicate that the quantities of oil and QRK extracted from oleaster (*Elaeagnus angustifolia*) were optimum with amounts of 66.51 mg/g and 4.84 µg/g respectively at their optimum conditions. The idealized results indicate that the quantities of oil and QRK extracted from quince (*Cydonia oblonga*) were optimal with amounts of 212.40 mg/g and 6.47 µg/g respectively at their optimum conditions.

Science Code : 91202

Key Words : Flavonoids, supercritical CO₂, extraction, pine cone, oleaster seeds, quince seeds.

Page Number : 125

Supervisor : Prof. Dr. Metin GÜRÜ

TEŞEKKÜR

Kıymetli bilgi ve deneyimleriyle çalışmalarına ışık tutan ve desteklerini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Metin GÜRÜ'ye, tecrübeleri ve önerileri ile yol gösteren doktora tez izleme komitesi üyeleri hocalarım; Prof. Dr. Mübeccel ERGUN'a ve Prof. Dr. Ali SİNAĞ'a teşekkürler ederim.

Özel hayatımda olduğu gibi çalışma hayatımda da manevi desteği ile hep yanımda olan sevgili eşim refika-i hayatım Esma NURALIN'a ve hayatım boyunca maddi manevi destekleriyle beni yalnız bırakmayan babam Abdullah NURALIN'a annem Necmiye NURALIN'a ve kardeşlerime teşekkürler ederim.

Desteklerini daima hissettiğim kıymetli Prof. Dr. Atilla MURATHAN'a ve bazı analizler konusunda yardımcı olan Sayın Ar. Gör. Dr. Pınar ACAR'a teşekkür ederim.

Bu çalışmayı 06-2016/11 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

Tüm bu imkânları bana nasip eden yüce yaradanımız, Allahımıza hamd ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. İĞDE, AYVA VE KIZILÇAM.....	3
2.1. İğde.....	3
2.1.1. İğdenin besin değeri.....	4
2.1.2. İğdenin farmakolojik özellikleri.....	5
2.2. Kızılçam.....	6
2.2.1. Kızılçam kozalağının farmakolojik özellikleri.....	7
2.3. Ayva.....	8
2.3.1. Ayvanın besin değeri.....	8
2.3.2. Ayvanın farmakolojik özellikleri.....	9
3. GENEL BİLGİ VE LİTERATÜR ARAŞTIRMASI.....	11
3.1. Antioksidan Maddeler.....	14
3.1.1. Doğal antioksidanlar.....	15
3.1.2. Yapay antioksidanlar.....	16
3.1.3. Antioksidanların sınıflandırılması.....	18

	Sayfa
3.1.4. Uçucu yağlar.....	18
3.2. Süperkritik Akışkan ve Özütleme İşlemi.....	19
3.2.1. Süperkritik akışkan.....	19
3.2.2. Süperkritik akışkanların çözme gücü.....	24
3.2.3. SCCO ₂ işleminde nem miktarının etkisi.....	29
3.2.4. SCCO ₂ işleminde parçacık büyüklüğünün etkisi.....	30
3.2.5. SCCO ₂ işleminde ekstraksiyon süresinin etkisi.....	30
3.2.6. SCCO ₂ işleminde sıcaklığın etkisi.....	30
3.2.7. SCCO ₂ işleminde basıncın etkisi.....	30
3.2.8. Süperkritik akışkan ile özütlemenin avantajları.....	31
3.2.9. Süperkritik akışkan ile özütlemenin dezavantajları.....	32
4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	33
4.1. Malzemeler ve Kimyasallar ile Kullanım Amaçları.....	33
4.2. Kullanılan Cihazlar.....	33
4.3. Çalışılan Deneysel Değişkenler.....	35
4.4. Çalışma Aralıkları Planlaması.....	35
4.5. Numunelerin Hazırlanması.....	36
4.6. Özütlerin Eldesi.....	37
4.7. Özütlerin Analizi.....	38
4.8. Numunelerin Çözülmesi.....	38
4.9. Numunelerin Süzülmesi.....	39
4.10. Analiz Yönteminin Oluşturulması.....	39
5. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA.....	41
5.1. Kızılçam Kozalağı Çalışmaları.....	41

	Sayfa
5.1.1. Kızılçam kozalağı için özüt miktarı eniyileme.....	41
5.1.2. Kızılçam kozalağında özüt ve QRK verimleri parametrik irdelenmesi....	45
5.1.3. Kızılçam kozalağı için QRK miktarı eniyileme.....	51
5.1.4. Kızılçam kozalağının zamana karşı özüt ve QRK miktar değişimi.....	52
5.1.5. Yardımcı çözücü etanolün kızılçam kozalağı özütlemelerine etkisi.....	54
5.2. İğde Çekirdeğine Ait Çalışmalar.....	56
5.2.1. İğde çekirdeği için özüt miktarı eniyileme.....	56
5.2.2. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK verimlerinin parametrik irdelenmesi.....	59
5.2.3. İğde çekirdeğinde en yüksek QRK miktarı için yapılan çalışmalar.....	65
5.2.4. İğde çekirdeğindeki özüt ve QRK miktarının zamana karşı değişimleri...	65
5.2.5. Yardımcı çözücü etanolün iğde çekirdeği özütlemelerine etkisi.....	67
5.3. Ayva Çekirdeğine Ait Çalışmalar.....	69
5.3.1. Ayva çekirdeği için özüt miktarı eniyileme.....	69
5.3.2. Ayva çekirdeğindeki özüt ve QRK verimlerinin parametrik irdelenmesi.	73
5.3.3. Ayva çekirdeğinde en yüksek QRK miktarı için yapılan çalışmalar.....	79
5.3.4. Ayva çekirdeğinin zamana karşı özüt ve QRK miktarları değişimleri.....	79
5.3.5. Yardımcı çözücü etanolün ayva çekirdeği özütlemelerine etkisi.....	81
5.4. Kızılçam Kozalağı, İğde ve Ayva Numuneleri SEM Görüntüleri.....	83
5.4.1. Kızılçam kozalağı SCCO ₂ işlemi öncesi ve sonrası SEM görüntüleri.....	83
5.4.2. İğde çekirdeği SCCO ₂ işlemi öncesi ve sonrası SEM görüntüleri.....	84
5.4.3. Ayva çekirdeği SCCO ₂ işlemi öncesi ve sonrası SEM görüntüleri.....	86
5.5. Kızılçam Kozalağı, İğde ve Ayva Numuneleri BET Analizleri.....	87
5.5.1. Kızılçam kozalağı BET analizi.....	88
5.5.2. İğde çekirdeğine ait BET analizi.....	90

Sayfa

5.5.3. Ayva çekirdeğine ait BET analizi.....	92
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	95
6.1. Kızılçam Kozalağı Özüt ve QRK Eniyilemeye Ait Sonuçlar.....	96
6.2. İğde Çekirdeği Özüt ve QRK Eniyilemeye Ait Sonuçlar.....	97
6.3. Ayva Çekirdeği Özüt ve QRK Eniyilemeye Ait Sonuçlar.....	97
KAYNAKLAR.....	101
EKLER.....	107
EK-1. Çalışma boyunca yapılan kalibrasyonlardan bazıları.....	108
EK-2. Kızılçam kozalağı, iğde ve ayva numunelerine ait örnek kromatogramlar.....	115
EK-3. HPLC cihazındaki bir örnek çalışmaya ait ayrıntılı program.....	117
EK-4. Flavonoidlerin örnek HPLC analiz metodu.....	119
EK-5. HPLC ile fenolik içeriklerin analiz yöntemi.....	120
ÖZGEÇMİŞ.....	124

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Akışkanların fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması.....	21
Çizelge 3.2. Bazı çözücülerin kritik sıcaklık, basınç ve yoğunlukları.....	22
Çizelge 3.3. Süperkritik CO ₂ 'in değişik T ve P deki yoğunluk ve viskoziteleri.....	26
Çizelge 3.4. SCCO ₂ uygulamalarının bazı kullanım alanları.....	27
Çizelge 5.1. Kızılçam kozalağının özütleme suresine göre özüt miktarları.....	41
Çizelge 5.2. Kızılçam kozalağı numunesi özüt miktarı eniyilemeye ait veriler.....	43
Çizelge 5.3. Kızılçam kozalağı numunelerindeki QRK miktarları.....	44
Çizelge 5.4. Kızılçam kozalağı özüt miktarı ve QRK miktarına basınç etkisi verileri.....	45
Çizelge 5.5. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına sıcaklık etkisi verileri.....	47
Çizelge 5.6. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına parçacık boyutu etkisi.....	48
Çizelge 5.7. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına CO ₂ akış hızı etkisi.....	50
Çizelge 5.8. Kızılçam kozalağında en yüksek QRK miktarı çalışma verileri.....	51
Çizelge 5.9. Bir kızılçam kozalağı için zamana karşı özüt miktarı ölçümleri.....	52
Çizelge 5.10. Kızılçam kozalağı için zamana karşı toplam QRK miktarları.....	53
Çizelge 5.11. Kızılçam kozalağında etanol yüzdelere göre QRK miktarları.....	55
Çizelge 5.12. İğde çekirdeğinin özütleme süresine göre özüt miktarları.....	56
Çizelge 5.13. İğde çekirdeğine ait özüt miktarı eniyilemeye verileri.....	58
Çizelge 5.14. İğde çekirdeği özüt miktarı eniyileme çalışmalarındaki QRK miktarı.....	59
Çizelge 5.15. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının sıcaklıkla değişimi.....	60
Çizelge 5.16. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının basınçla değişimi.....	61
Çizelge 5.17. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının parçacık boyutu verileri.....	62
Çizelge 5.18. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının CO ₂ akışı ile değişimi.....	63
Çizelge 5.19. İğde çekirdeğine ait en yüksek QRK miktarı çalışma veriler.....	65

Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.20. İğde çekirdeğinde zamana karşı özüt miktarı değişimi.....	66
Çizelge 5.21. İğde çekirdeğinde zamana karşı QRK miktarı değişimi.....	66
Çizelge 5.22. İğde çekirdeğinden etanollü özütlemeye QRK miktarları.....	68
Çizelge 5.23. Ayva çekirdeğinden alınan özüt miktarlarının zamanla değişimi.....	69
Çizelge 5.24. Ayva çekirdeğinden özüt miktarı eniyilemeye ait veriler.....	71
Çizelge 5.25. Ayva çekirdeğinden özüt miktarı eniyilemedeki QRK miktarları.....	72
Çizelge 5.26. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının basınçla değişimi.....	73
Çizelge 5.27. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının sıcaklıkla değişimi.....	74
Çizelge 5.28. Ayva çekirdeği özüt ve QRK miktarına parçacık boyutu etkisi.....	76
Çizelge 5.29. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarına CO ₂ akışı hızı etkisi.....	78
Çizelge 5.30. Ayva çekirdeğinde QRK miktarı eniyileme verileri.....	79
Çizelge 5.31. Ayva çekirdeğinde özüt miktarının zamanla dağılımı.....	80
Çizelge 5.32. Ayva çekirdeğinde QRK nın zamanla değişimi.....	81
Çizelge 5.33. Ayva çekirdeğinden etanollü özütlemeye QRK miktarları.....	82
Çizelge 5.34. SCCO ₂ işlemi öncesi ve sonrası toplu BET sonuçları.....	87
Çizelge 6.1. Kızılçam kozalağı, iğde ve ayva için en iyi SCCO ₂ şartları ve QRK lar.....	95
Çizelge 6.2. Kızılçam kozalağı yöntem, süre, basınç ve QRK miktarları.....	96
Çizelge 6.3. İğde çekirdeği yöntem, süre, basınç ve QRK miktarları.....	97
Çizelge 6.4. Ayva çekirdeği yöntem, süre, basınç ve QRK miktarları.....	98

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. İğde bitkisi ve meyvesi.....	3
Şekil 2.2. İğde çekirdeği.....	4
Şekil 2.3. Kızılçam kozalağı.....	6
Şekil 2.4. Ayva meyvesi ve çekirdekleri.....	9
Şekil 3.1. Dört temel flavonoid grubunun moleküler yapısı.....	16
Şekil 3.2. Gıdalarda kullanılan suni fenolik antioksidan yapıları.....	17
Şekil 3.3. Antioksidan bileşenlerin sınıflandırılması (Wootton, 2001).....	18
Şekil 3.4. Saf bir maddenin basınç-sıcaklık diyagramı (Çengel ve Boles, 1994).....	20
Şekil 3.5. CO ₂ 'nin indirgenmiş yoğunluğunun indirgenmiş T ve P ilişkisi.....	25
Şekil 4.1. Retsch marka bitki değirmeni.....	33
Şekil 4.2. Kompresör, CO ₂ tüpü, soğutucu, fırın ve pompalı süperkritik sistemi.....	34
Şekil 4.3. Dionex marka UV dedektörlü HPLC cihazı ve bilgisayarı.....	35
Şekil 4.4. Süperkritik akışkan özütleme sistemi akım şeması.....	38
Şekil 5.1. Kızılçam kozalağından zamana karşı alınan özüt miktarları.....	42
Şekil 5.2. Kızılçam kozalağı özüt miktarı ve QRK miktarına basınç etkisi.....	46
Şekil 5.3. Kızılçam kozalağı özüt miktarı ve QRK miktarına sıcaklığın etkisi.....	47
Şekil 5.4. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına parçacık boyutu etkisi.....	49
Şekil 5.5. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına CO ₂ akış hızı etkisi.....	50
Şekil 5.6. Bir kızılçam kozalağı için zamana karşı özüt miktarı grafiği.....	52
Şekil 5.7. Kızılçam kozalağı için zamana karşı toplam QRK miktarı değişimi.....	53
Şekil 5.8. Kızılçam kozalağından QRK özütlemesinde etanol yüzdesi etkisi.....	55
Şekil 5.9. İğde çekirdeğinden zamana karşı alınan özüt miktarları.....	57
Şekil 5.10. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarı ile sıcaklık ilişkisi.....	60
Şekil 5.11. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarı ile basınç ilişkisi.....	61

Şekil	Sayfa
Şekil 5.12. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarına parçacık boyutunun etkisi.....	62
Şekil 5.13. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarına CO ₂ akış hızının etkisi.....	64
Şekil 5.14. İğde çekirdeğinde zamana karşı özüt miktarı değişim grafiği.....	66
Şekil 5.15. İğde çekirdeği numunesinde zamana karşı QRK miktarı değişimi.....	67
Şekil 5.16. İğde çekirdeğinden QRK özütlemesinde etanol yüzdesi etkisi.....	69
Şekil 5.17. Ayva çekirdeğinden zamana karşı alınan özüt miktarları.....	70
Şekil 5.18. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarlarının basınçla değişimi.....	73
Şekil 5.19. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarlarının sıcaklıkla değişimi.....	74
Şekil 5.20. Sıcaklık etkisi (İçen ve Gürü, 2009).....	76
Şekil 5.21. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarlarına parçacık boyutu etkisi.....	77
Şekil 5.22. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarına CO ₂ akış hızı etkisi.....	78
Şekil 5.23. Ayva çekirdeğinde özüt miktarının zamanla değişimi.....	80
Şekil 5.24. Ayva çekirdeğinde QRK miktarının zamanla değişimi.....	81
Şekil 5.25. Ayva çekirdeğinden QRK özütlenmesinde etanol yüzdesi etkisi.....	83
Şekil 5.26. Kızılçam kozalağı SCCO ₂ işlemi öncesi (a) 250 kat, (b) 1000 kat.....	84
Şekil 5.27. Kızılçam kozalağı SCCO ₂ işlemi sonrası (a) 250 kat, (b) 1000 kat.....	84
Şekil 5.28. İğde çekirdeği SCCO ₂ işlemi öncesi (a) 250 kat, (b) 1000 kat.....	85
Şekil 5.29. İğde çekirdeği SCCO ₂ işlemi sonrası (a) 250 kat, (b) 1000 kat.....	85
Şekil 5.30. Ayva çekirdeği SCCO ₂ işlemi öncesi (a) 250 kat, (b) 1000 kat.....	86
Şekil 5.31. Ayva çekirdeği SCCO ₂ işlemi sonrası (a) 250 kat, (b) 1000 kat.....	86
Şekil 5.32. Kızılçam kozalağı SCCO ₂ işlem görmemiş numune BET verileri.....	88
Şekil 5.33. Kızılçam kozalağı SCCO ₂ işlemi görmüş numuneye ait BET verileri.....	89
Şekil 5.34. İğde çekirdeği SCCO ₂ işlemi görmemiş numune BET verileri.....	90
Şekil 5.35. İğde çekirdeği SCCO ₂ işlemi görmüş numuneye ait BET verileri.....	91

Şekil	Sayfa
Şekil 5.36. Ayva çekirdeği SCCO ₂ işlemi görmemiş numune BET verileri.....	92
Şekil 5.37. Ayva çekirdeği SCCO ₂ işlemi görmüş numuneye ait BET verileri.....	93
Şekil 5.38. Ayva çekirdeği % 8 etanol ile SCCO ₂ sonrası BET analizi.....	94

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklamalar

CP	Kritik nokta
D	Difüzyon katsayısı, (m ² s ⁻¹)
P	Basınç (bar, MPa)
P_c	Kritik basınç (bar, MPa)
T	Sıcaklık (°C, K)
T_c	Kritik sıcaklık, (°C)
t	Zaman (min)
t	Alıkonma zamanı (min)
η	Viskozite, (μPa s)
ρ	Yoğunluk (kg/m ³)
ρ_c	Kritik yoğunluk (kg/m ³)

Kısaltmalar

Açıklamalar

CYM	Cevap Yüzey Metodu
HPLC UV	UV Dedektörlü Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
LC-MS	Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
MKT	Merkezi Kompozit Tasarım
RSM	Respons Surface Method
SCCO₂	Süperkritik karbon dioksit
SCF	Süperkritik akışkan
SFE	Süperkritik akışkan ekstraksiyonu
TS	Türk Standartları
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
USP	United Stated Pharmacopeia

1. GİRİŞ

Flavonoid ve fenolik bileşikleri içeren sebze ve meyvelerin düzenli ve yüksek miktarlarda alınmaları insanlarda kanser riskini düşürücü etkiye sahiptir. Flavonoidler, kansere karşı farklı etki mekanizmalarına sahiptir. Flavonoidler, kanser hastalıklarına neden olan serbest radikalleri baskılamada, zararlarını engellemede, kontrolsüz hücre artışının engellenmesinde, hücre dönüşümünün askıya alınmasında, anormal hücrelerin ölümü sürecinde, kan damarlarının çoğalımının baskılanmasında, antioksidasyon ve çoklu ilaç direncinin azaltılmasında ve tüm bu mekanizmaların kombinasyonu için etkin bileşiklerdir. Vauzour, Rodriguez, Corona, Oruna, Spencer (2010). DNA’da hasara neden olan serbest radikaller antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilirler. Serbest radikaller, insan vücudunda, oksitleyici gerilim (oksidatif stres), DNA hasarı, hızlı yaşlanma, kanser gelişimi ve birçok hastalığa neden olan durumları meydana getirmektedir. (Husain ve Kumar, 2012; Halliwell, 2012). Çalışmamızda temel bileşik olarak belirlediğimiz quercetin flavonoidlerin çok aktif ve diğer flavonoidlerin aktivitesini artıran öncül bir flavonoid olarak tespit edilmiştir. Quercetin, hücrelerde serbest oksijen radikallerinin oluşumunu önler ve lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar. Crespy, Morand, Manach, Besson, Demigne, Remesy (1999). Ayrıca antibakteriyel, antiviral, antioksidan, antienflamatuar, antikarsinojenik etkileri vardır. Coşkun, Kanter, Korkmaz, Oter (2005). Çalışmamızda amaçladığımız diğer bileşik olan ve flavonoidlerin en yaygınlarından olan kaempferol için birçok çalışmada kaempferol içeren beslenmenin kronik hastalık riskini özellikle kanser riskini azaltan yararlı etkilere sahip olduğunu göstermiştir. Kaempferolün kanser gelişimini sağlayan serbest radikallere karşı vücudun antioksidan savunmasını artırdığı bilinmektedir. (Chen A. ve Chen Y., 2013). Rutin trihidrat, çalışmamızda araştırdığımız diğer bir bileşiktir. Rutin, diğer adıyla P1 vitamini ise dolaşım sağlığı için önemli bir vitamindir. Zayıf damarlardan kaynaklanan kanamaların durdurulmasında önemlidir. P1 vitamini varis ve cilt morarması tedavilerinde de etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Rutin vitamininin kullanım yerleri arasında; eklemlerde şişme ve iltihaplanmalarda, ani düşük riskine karşı, astımda ve alerjik durumlarda fayda sağlayabilmektedir. D vitamini ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Bu çalışmada amaç farmakolojik açıdan değerli olan bu bileşiklerin ekonomik değeri olmayan kıvılcık kozalağı, ıgde çekirdeğı ve ayva çekirdeğinde varlığının ve miktarlarının araştırılmasıdır. Bu doğrultuda çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

2. İĞDE, AYVA VE KIZILÇAM

2.1. İğde

İğde ismi (Latincesi *Elaeagnus*) meyvesi ve ağacı türüne verilen isimdir. İğde bitkisi Türkiye'nin her yerinde tüm iklim şartlarında ve tüm toprak tiplerinde yetiştirilebilen ve aynı zamanda sanayi ve trafik kaynaklı kirlilikler ile kirli havaya da dayanıklı bir bitki türüdür. Türkiye'de özellikle Güneydoğu ve İç Anadolu bölgesinde yetişir.

İğde bitkisi azot elementini kökünde depolayabildiği için verimsiz topraklarda dahi yetişebilmektedir. Kurak iklimlerde yetişebildiği için kumlu bölgelerde erozyona karşı koruyucu bitki olarak da yetiştirilmektedir.



Şekil 2.1. İğde bitkisi ve meyvesi



Şekil 2.2. İğde çekirdeği

Geleneksel tıpta böbrek rahatsızlığı olan kişilerin bolca yemeleri tavsiye edilmektedir. İğde zeytinimsi çekirdekli ve sarı-kahverengi renkte bir meyvedir. Meyveleri yazın geç dönemlerinde ve sonbaharın ilk dönemlerinde olgunlaşır.

Yaygın kültüre alınmış türlerinden biri kuş iğdesidir (*Elaeagnus angustifolia*) ve bunların aşılı çeşitleri iri meyveli olup sultan iğdesi ismiyle tanınır. Dünyada özellikle Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'ya yayılmış çok çeşitli iğde türleri bulunmaktadır. En önemli diğer bilinen türlerden ikisi Japon iğdesi (*Elaeagnus umbellata*) ve *Elaeagnus multiflora* (Gumi-Kırmızı iğde) olarak sayılabilir. Türkiye'de özellikle karasal iklime sahip olan pek çok yerde yetiştirilebilmektedir. (Tülek 2003).

2.1.1. İğdenin besin değeri

Son zamanlarda iğdeye olan ilginin nedeni üzüksü meyvelerin vitamin ve besin yönünden çok zengin olmasıdır. Meyve 10 farklı vitaminin yanında iz elementlerini, meyve asitlerini, şeker ve yağları içerir. İğde, proteinler bakımından çok zengindir ve 18 aminoasit içerir. Meyve suyunda 25 kimyasal element, kalsiyum, demir ve manganez vardır. İğde flavonoidler bakımından da zengindir ve ayrıca hatırı sayılır miktarda suda çözünebilir vitaminler içerir.

İğdedeki flavonoidler ve yağlar, tıbbi amaçla kullanılan iki temel maddedir. Bazen flavonoid özütü yağ özütü ile karıştırılır ve ilaç olarak kardiyovasküler hastalıkların iyileştirilmesinde kullanılmıştır. Yağ kesiminin içinde doymamış yağ asitlerinin varlığı önemli miktardadır.

İğde meyvesi eşi bulunmaz bir bileşime sahiptir. Bu bileşimdeki her bir madde tabiatta ayrı ayrı ve farklı bitkilerde bulunurlar. Birçok fenolik grubun yanında, vitamin C, E ve karotenoidler gibi. İğde kızılıcığa benzeyen, tatlı, içi beyaz un gibi olan bir meyvedir. C vitamini açısından oldukça zengindir. İğde vitamin C bakımından dünyadaki en yüksek orana sahip 4. meyve (Kuşburnu, kırmızı acı biber, tatlı kırmızıbiberden sonra gelir), vitamin E bakımından 2. sırada yer alır, beta-karoten oranı da oldukça yüksektir. Beta-karoten meyveye rengini veren maddedir ve sarı renkten kırmızı ve portakal rengine kadar değişik türleri olabilir. Bütün bu maddeler doğal antioksidanlar olarak sınıflandırılır ve vücudun savunma mekanizması için çok önemlidir.

2.1.2. İğdenin farmakolojik özellikleri

Bağırsak bozukluklarını ve ağız pasını gidermek için de kullanılmıştır. (Tülek 2003). İğde vücuda kuvvet verir, soğuk algınlığı ve gribe karşı etkilidir, öksürüğü ve ishali keser, kusmayı önler, bağırsak bozukluklarına ve idrar zorluğuna iyi gelir, böbreklere faydalıdır, egzama şikâyetlerini azaltır. Böbrek ve bağırsak rahatsızlıklarında etkili olduğu geleneksel tıpta bilinmektedir.

- Bu türün meyveleri vitamin ve mineral açısından çok zengindir. Özellikler A, C, E vitaminleri ve flavonoidler açısından değerli birer besin kaynağıdır.
- Çekirdeğinin yağı ile yapılan macun nezle ve bronşite iyi gelir
- Çiçeğinin suyu ateşli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır
- Vücuda direnç katar, soğuk algınlığı ve grip gibi kronik kış hastalıklarına karşı koruyucudur.
- Önemli yağ asitlerini içerir
- Kansere yakalanma ihtimalini azalttığı, kanserin büyüme hızını yavaşlattığı belirlenmiştir.
- İshali durdurucu etkisi vardır.
- Çiğ de yenebilir, çorbalara aroma olarak da eklenebilir.
- Meyvesinden jel ya da şerbet de yapılabilir.
- Gastrit vb mide problemi olanların tüketmeleri tavsiye edilir. 2003 Yılında etnofarmakoloji dergisinde yayınlanan bir araştırmaya göre iğdenin özünden elde edilebilecek iğde suyu antiülserojenik etkiye sahiptir.

2.2. Kızılçam

Kızılçam (*Pinus brutia* Ten.), çamgiller (Pinaceae) familyasından *Pinus* L. cinsine ait bir türdür. Doğu Akdeniz Havzasına özgü, elverişli yetiştirme ortamlarında Bu ağaçlar 20-25 m. boy ve 60-65 cm. çapa kadar büyüeyebilen iğne yapraklı bir ağaç türüdür. Akdeniz ikliminin meşhur türlerinden olup tipik bir ışık ağacıdır. Kurak koşullara son derece dayanıklı, çok farklı toprak koşullarında başarıyla yetişen ve yetiştirilen, Türkiye'nin de önemli ve hızlı gelişen ağaç türlerindendir. Sadece Türk ormancılığında değil, yabancı kaynaklarda da son dönemde Türk Çamı - Türk Kızılçamı olarak kullanımı yaygınlaşmaktadır. Terpenoidler, flavonoidler, lignanlar, fenoller ve bazı diğer bileşikler içerir. (Sarıbaş ve Ekici 2004)



Şekil 2.3. Kızılçam kozalağı

Kızılçam dünyada en geniş yayılışını Türkiye'de yapmaktadır. Türkiye'de başta Akdeniz, Ege ve Marmara sahil ve sahil ardı bölgelerde ve ek olarak Karadeniz bölgesi'nde de yer yer doğal kızılçam topluluklarına rastlanmaktadır. Türkiyede iğne yapraklı ormanlar içerisinde % 42,44'lük payıyla ilk sırayı alan kızılçam, ülke genel orman alanının % 25,58'lik kısmını oluşturmaktadır (TC. Orman Genel Müdürlüğü teknik bülten, 2011: 291).

Kızılçamın yayılışı kuzey yarımkürede 15-45 doğu boylamları ile 32-45 Kuzey enlemleri arasında kalan bölgelerde yer almaktadır. Genel yayılışını, Güney Ege Adaları, Türkiye,

Kıbrıs, Lübnan, Ürdün, Kuzey Irak, Batı Suriye, Kırım ve batı Kafkasyada yapmaktadır.

Deniz seviyesinden başlayarak tek ağaç olarak 1525 m'ye kadar olan yükseltilere çıkan Kızılçam Doğu Akdeniz'in bir türü olarak kabul edilmektedir.

2.2.1. Kızılçam kozalağının farmakolojik özellikleri

Gelişimi hızlı bir tür olarak ele alınan ve Türkiye'de doğal olarak yetişen kızılçam ile ilgili birçok araştırmacı değişik (morfolojik, teknolojik, kimyasal) açılardan incelemelerde bulunmuştur.

Kızılçamın odunu inşaat malzemesi, ambalaj sandığı, tel direği, maden direği, çit kazığı, döşeme, travers, tarım aletleri, mobilya yapımında kullanılmaktadır. Kağıt sanayinde önemli bir ham madde olup, kabukları tanen üretiminde değerlendirilmektedir. (Erten ve Taşkın, 1985) Uçucu yağların kimyasal bileşiminde α -Pinene, Camphene β -Pinene, D-Limonene, β Phellandrene, 1,4-Methenoazulene, Caryophyllene, trans-Verbenol, α -Caryophyllene, α -Phellandren-8-ol, Caryophyllene oxide bulunmaktadır (Ulukanlı, 2014).

Geleneksel tıpta kullanım alanı olarak Kızılçam kozalağının olgunlarının kaynatılarak suyunun içilmesi ile aşağıdaki faydalar görülmektedir.

- Çam kozalaklarında bulunan pinen solunum kaynaklı sorunların tedavisinde kullanılmıştır.
- Öksürme, bronşit, boğaz ağrıları, nefes darlığı gibi sorunları tedavi edicidir.
- Akciğeri temizler, nefes almada çekilen rahatsızlıkları giderir.
- Bağışıklık sistemini güçlendirir.
- Hastalık yayıcı mikroplara karşı vücudun daha dinç kalmasını sağlar.
- Psikolojik sorunlardan kaynaklı salgılanan hormonlarda kişinin daha rahat hissetmesini sağlamaktadır.
- İnsan metabolizmasını düzene sokar, uyku sorunlarına çözüm getirir.
- Odaklanma kabiliyetini artırır.

2.3. Ayva

Türkiyede hemen hemen tüm bölgelerde yetişebilen bir bitkidir. Meyvesi kadar kabuğu ile de insan sağlığı için farklı pek çok faydası bulunan ayva, soğuk kış ayları için ideal besin kaynağıdır. Vücutta meydana gelen çok sayıda sorunda hem iyileştirici hem de önleyici bir tür doğal tedavi yöntemi olarak yaprağı çekirdeği meyvesi kullanılmaktadır.

Latince Cydonia Oblonga olarak bilinen ayvanın üretimi, ülkemizde diğer dünya ülkelerine nazaran birinci sırada gerçekleştirilmektedir. Ayva yurt dışına ihraç edilen meyvelerden birisidir.

2.3.1. Ayvanın besin değeri

Ortalama 250 gram ağırlığına sahip olan bir ayva, yaklaşık 150 kalori değerindedir ve ağırlığına göre benzer meyveler ile karşılaştırıldığında oldukça düşük kalorili bir meyve olarak da nitelendirilebilmektedir. Özellikle diyet dönemindeki kişiler için ayvanın düşük kalorisi sayesinde ideal bir meyve öğünü olabileceğinden rahatlıkla bahsedilebilir.

Ayva yapısında toplamda 30 gram şeker, 1 gram protein ve 5 gram da lif bulunduran ayva, içerdiği lif değeri ile bağırsak hareketlerini güçlendirerek diyetlerde meydana gelen kabızlığın önüne de geçtiği bilinen bir meyvedir. Ayvada pektin maddesi olduğu, suda çözünmediği ve cilt bakımında kullanıldığı yaygın şekilde bilinmektedir.



Şekil 2.4. Ayva meyvesi ve çekirdekleri

Ayva meyvesinde yaklaşık olarak 40 mg'a kadar C vitamini bulunur ve bu miktar bir insanın günlük alması gereken C vitamini ihtiyacının neredeyse yarısına yakındır. Bu nedenle tamamen doğal yollarla C vitamini kaynağı olarak alınabilecek bir meyvedir.

2.3.2. Ayvanın farmakolojik özellikleri

Ayvanın insan vücudunu toksinlere karşı koruyan birçok antioksidan madde içerdiği tespit edilmiştir. Bu sayede çeşitli hastalıkların önünü açan serbest radikalleri dengeler ve oksidatif strese karşı insan vücudunu koruyarak zayıf düşmesini engeller. Bu sayede yaşlanmayı geciktiren meyvelerden biridir. Ayva, normal bir sindirim için kritik önem taşıyan besin lifi bakımından oldukça zengindir. Besin lifleri vücudun sindirim sisteminin temizlenebilmesi için ayrıca kabız ve ishalden korunmak için gereklidir. Yeterince besin lifi almak bağırsakları korurken hemoroit gibi rahatsızlıkların görülme oranını düşürür. Yetişkin kadınlar için günde 25 gram, erkekler içinse 38 gram besin lifi tüketilmesi önerilmektedir. Günümüz beslenme koşullarında genellikle bu değerlerde lifli gıda alımına özen gösterilmemektedir. Ayva geleneksel olarak mide ve bağırsak rahatsızlıklarında kullanılmakta olan bir meyvedir. Ayva aynı zamanda daha sağlıklı ve düzgün çalışan bir sindirim sistemi için lif kaynağı olarak tüketilebilmektedir.

Ayva suyu ve ayva yaprağının antibakteriyel özellik göstermesi de vücuda istenmeden alınan bakterilerden kaynaklı bağırsak bozulmalarına da etkili ve temizleyici bir rol oynadığını göstermektedir. Bu özelliği nedeni ile de içerdiği suda çözünen ve bağırsaktaki suyu emebilen pektin lifi ile de bağırsak içi akışı yavaşlatarak ishal tedavisinde etkili olmaktadır.

Ayva potasyum içeriği bakımından zengin gıdalardandır. Tüketilmesi kan basıncı seviyesinin kontrol altında tutmaya, dolayısı ile tansiyon rahatsızlıklarına iyi gelmektedir. Her gün taze meyve ve sebze yemek yüksek tansiyonun düşürülmesine yardımcı olur. 1 orta boy ayvada yaklaşık 180 mg potasyum bulunur ve bu miktar günlük potasyum ihtiyacının yaklaşık %5'ine karşılık gelir. Yapılan araştırmalar yeterince potasyum alınması ile vücudun böbrek taşı oluşturma riskinin önemli oranda azalttığını ortaya koymaktadır. Ayva ve ayva yaprağı kolesterolün düşürülmesinde etkilidir.

Ayvadan ve yaprağından elde edilen özütün yüksek oranda antioksidan içermesi damar tıkanıklığından korunmakta kullanımının yaygın hale gelmesini sağlamıştır. Ayvanın dilimlenerek ağrıyan eklemlere sürerek ağrıyı hafiflettiği geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Ayva dilimi veya ayva suyunun cilt yaraları tedavide etkili olduğu bilinmektedir. Göz ağrılarında da gözler üzerine ince ayva dilimleri koyularak 10 dakika beklenmesi ağrı tedavisi için önerilmektedir. Ayva suyu ve ayva çayının öksürüğe iyi geldiği de bilinmektedir.

3. GENEL BİLGİ VE LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Planlanan çalışma için uygulanacak deneysel yöntem ve analiz koşulları için aşağıdaki kaynaklardan yararlanılmıştır. Literatür incelendiğinde kızılcım, iğde ve ayva için yapılan çalışmaların genellikle sulu özütlemelerle veya geleneksel çözücülerle soxhlet ekstraksiyonu tekniği ile özüt eldesi sonrası toplam fenolik madde, toplam flavonoid içerik veya toplam antioksidan kapasitelerin araştırılması şeklinde olduğu görülmektedir. Bu çalışmalara ait notlar ve değişik miktarsal veriler aşağıda verilmektedir. Özütleme yönteminin süperkritik CO₂ olduğu çalışmalarla ilgili bitkisel kaynaklar oldukça azdır. Kızılcım kozalağı, iğde ve ayva çekirdek numunelerinden özütlenen bazı flavonoidlerin miktarsal analiz çalışmaları daha önce yapılmamış çalışmalardır. Flavonoid içeriği ve miktarının, özütleme yöntemiyle büyük değişiklikler gösterebildiği bilinmektedir. Önemli avantajlara sahip olan SCCO₂ özütleme yöntemi ile çalışmanın planlanması ve yapılması amaçlanmıştır. Kızılcım kozalağı iğde ve ayva bitkilerinin ülkemizde yaygın bulunması sebebiyle özütleme çalışması bu kaynaklar gözetilerek planlanmıştır. Bu bitkisel kaynakların SCCO₂ özütleme tekniği ile alınan özütlerdeki bazı flavonoidlerin miktarlarının tespiti HPLC cihazı ile miktarsal analizlerinin yapılmasıyla gerçekleştirilmiştir.

Pero Lund ve Leanderson'a (2009) göre 50 yıldır ayvada bulunan hippurik/quinik asidin biyolojik faydasının olmadığına inanılmasına karşın yaptıkları çalışma ile bağırsaklarda üretilen ve DNA tamiri ile bir tür kanser hücrelerini inhibe eden iki bileşik olan nikotinamit ve triptofan maddelerinin oluşumlarını desteklediği ve üretimlerini artırdığını tespit etmişlerdir. Üre analizi ile tespit edilen hippurik/quinik asit miktarı ile bağırsak florasında üretilen nikotinamit ve triptofan maddeleri hakkında bilgi sahibi olunmaktadır.

Carvalho, Silva B. ve Silva R.'a (2010) göre ayva, yaprağı, püresi, çekirdeği ve kabuğu bakımından fenolik içeriği sebebiyle kolon ve böbrek kanser hücrelerinin gelişimini baskılamakta etkin olduğu bulunmuştur. Ayvanın metanol ekstraktında fenolik içeriklerden kafeilkuinik asit (caffeoylquinic acide) çekirdeğinden hariç yaprağı ve meyvesinde bulunmuştur. Ayva yapraklarından alınan özütlerin derişime bağlı olarak kolon kanseri hücrelerinin gelişimini baskıladığı ancak böbrek kanserine etkisinin olmadığı görülmüştür. Meyve ve çekirdek özütlerinin ise kolon kanserine etki göstermemesine karşın böbrek kanserinin gelişimini baskılayıcı güçlü etki gösterdiği tespit edilmiştir. Bu çalışmalarda anti kanser ajanı olarak ayvanın kullanışlı olduğunu vurgulamaktadırlar.

Hur, Soh, Kim ve diğerlerine (2001) göre quinic asit içeren geleneksel Çin tıbbında kullanılan bir bitkinin içerdiği quinic asit türevlerinin zehirlenmeye maruz bırakılmış sinir hücresi uzantılarını onardığını mikroskopik olarak tespit ettikleri çalışmaları mevcuttur. Yazarlar ilgili muamelenin deney hücrelerinde bir azalmaya sebep olmadığını, quinic asit türevlerinin Alzheimer hastalığında tedavi edici (terpötik) ajan olarak kullanılabileceğini ortaya koymuşlardır.

Parvan, Sajjadi ve Minaiyan'a (2017) göre sıçanlarda yapılan çalışmalarında indomethacin isimli ilacın kullanımında ortaya çıkan ülseratif mide rahatsızlıklarına karşı ayvanın sulu ekstraktının ve sulu alkoldeki ekstraktlarının mideyi koruduğunu göstermişlerdir.

Mirmohammadlu, Hosseini ve Mohammad'a (2015) göre streptozotocin maddesini kullanarak pankreasta beta hücre hasarı ile diyabet hastası haline getirilmiş sıçanlarda yüksek lipit seviyesinin düşürülmesinde (antihyperlipidemic) yüksek kolesterolde ve karaciğer sağlığının korunmasında ayvanın sulu özütünün etkili olduğunu serum analizlerinde gördükleri ALT, ALP, LDL-C ve HDL-C sonuçlarına göre gözlemlemişlerdir.

Fernandez, Casas, Mantell, Rodríguez ve Martínez de la Ossa'a (2012) göre hint kirazı yapraklarından süperkritik CO₂ ve süperkritik altı su özütleme yöntemlerini kullanarak elde ettikleri numuneler için uygun şartları 55 °C sıcaklık ve 100 bar basınçta CO₂ yanında yardımcı çözücü olarak ise % 20 etanol olarak bulmuşlardır. Süperkritik altı su özütlemesi ile yaptıkları çalışma ile CO₂ ve etanol karışımı özütlemeden daha yüksek verimine ulaştıklarını belirtmişlerdir. Özütlerde HPLC yöntemi ile ana polifenollerin miktarsal analizini yapmışlar ve antioksidan aktiviteyi çalışmışlardır. Çalışmalarında süperkritik altı su özütlemesinde, 100 g yaprak başına 1365 mg mangiferin ve 409 mg quercetin bulmuşlar, ve 100 bar, 55 °C taki SCCO₂ özütlerinde ise en çok 184 mg mangiferin ve 231 mg quercetin elde etmişlerdir.

Yalçın ve Söğüt'e (2014) göre Anadolu'da yerleşik iğde türünün oksijen radikal absorban kapasitesi için iğdenin yaprak kabuk ve çekirdeğinden etanol/aseton, etanol/su ve metanol/su karışımları kullanarak aldıkları ekstraktların analizi ile toplam antioksidan kapasitesi için her üç iğde bileşeninde de antioksidan varlığını tespit etmişlerdir. Analizlerini ORAC (Oxygen radical absorbance capacity) yöntemlerinden ORAC-EY (ORAC-eosin y) ve ORAC - FL (ORAC - Fluorescein) yöntemleriyle gerçekleştirmiş ve sonuçlarını kıyaslamışlardır. İğde

çekirdeği ve yaprağı için etanol/aseton çözücüsünün verimi artırdığını ve iğde çekirdeğinin 2 yöntemle analizinde sırasıyla 274 $\mu\text{M/g}$ ve 255 $\mu\text{M/g}$ antioksidana sahip olduklarını toplam antioksidan kapasite olarak tespit etmişlerdir.

Samaneh, Dehghan ve Esfahlan'a (2015) göre, İran'da 7 farklı bölgeye ait iğde çeşidinin kabuk, iç ve çekirdeklerinde toplam fenoller ve toplam flavonoidleri çalıştıkları araştırmalarında toplam fenoller spektrometrik Folin-Ciocalteu yöntemiyle Quercetin eşdeğeri (QE) cinsinden hesaplamışlar, toplam flavonoid miktarlarını ise Quercetin eşdeğeri (QE) miktarı olarak bulmuşlardır. Toplam fenolikler için, çekirdekte 2,14 ile 6,26 mMQ/mg Ekstrakt değerine, iç (meyve) kısmı için 0,14 ile 1,54 nMQ/mg Ekstrakt değerine ve kabuklar için ise 0,12 ile 2,59 mMQ/mg Ekstrakt değerine ulaşmışlardır. En yüksek fenolik içeriğe çekirdeğin sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı şekilde toplam flavonoid için çekirdekte 4,7 ile 17,6 mMQ/mg Ekstrakt değerine, iç kısmında ise 0,62 ile 1,90 mMQ/mg Ekstrakt değerine ve kabuk kısmı için ise 0,64 ile 1,13 mMQ/mg Ekstrakt değerine ulaşmışlardır. Yine en yüksek flavonoid içeriğinin çekirdekte bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Binsheng, Hengyi, JunMa, Xiling, Dong, Qiusheng ve Du'ya (2014) göre, iğde yapraklarından elde ettikleri özütlerin myocardial ischemia (koroner damar tıkanması ya da daralmasında oluşan kalp kasında kan yetersizliğidir) ve reperfusion injury (kalpte yeterli kan alamamaktan kaynaklı doku hasarındır) karşı koruyucu etkisini, hayvan deneyleri ile çalışmışlardır. Kalp kasının koroner damar tıkanıklığından kaynaklı oksidatif stres altında olduğu durumlarda 0,5 mg/mL ve 1,0 mg/mL önceden hazırlanmış iğde yaprağı özütü işleminden sonra kontrol gurubuna göre enfraktüs (ölü doku) miktarının azaldığını görmüşlerdir. SOD (super oksit dismutazının) aktivitesinin arttığını, malondialdehit (MDA) ve protein karbonil içeriğinin benzer hasarlı kalp kası dokusundaki kontrol gurubuna göre azaldığını gözlemlemişlerdir. Aynı çalışma ile iğde yaprağı özütünün oksidatif stres durumlarında kalp kası hasarlarını önlemede etkili olduğunu göstermişlerdir.

Audrey, B, Séverine, Michel, Fernando ve Pascale'e (2015) göre elma kabuğundan fenoliklerin SCCO_2 özütlemesi işlemi ile çalışılmıştır. Bu çalışmada 30 g golden cinsi elma kabuğu kullanmışlar ve bu numuneyi 75:25 mol oranında CO_2 ve etanol ile 250 bar 50°C de özütlemişlerdir. Antioksidan kapasiteyi 30 g için 5-6 mg askorbik asit eşdeğeri/g özüt olarak bulmuşlardır.

Karmelita, Rinaldi, Bambang ve Raymond R.'ya (2014) göre börölce ve fıstıktan yüksek protein düşük yağ içeren diyet ürün edilebilir. Bunun için bu materyallerden SCCO₂ yöntemiyle özütleme işlemi gerçekleştirmişlerdir. Çalışmalarını 250-350 bar arasında 4 ila 60 °C arasında ve 10-20 g/min CO₂ akış hızı aralığında parametrik çalışmalar ile gerçekleştirmişlerdir. Çalışma sonunda 250 bar 60 °C ve 10 g/min CO₂ akış hızını börölce için % 5,4 verim ile ve 350 bar 60 °C ve 15 g/min CO₂ akış hızını fıstık bazlı diyet ürünü için % 48,5 verimle eldesinde ideal şartlar olarak bulmuşlardır.

Bo, Yun-Heng, Yi-Ren ve Wei-Dong'a (2013) göre İngilterenin kuzeyinde bulunan 80 farklı çeşit çam ve Çinde 20 farklı çeşit çam bitkisi türü bulunduğunu belirtmişlerdir. Çam türlerinde bulunan biyolojik aktivite ve kimyasal içerik ile ilgili makalelerinde geleneksel Çin tıbbında kanser, acı ve romatizma tedavilerinde çam türlerinden istifade edildiğini bildirmişlerdir. Yazarlar daha önce yapılan çalışmaları taramış ve 43 flavonoid bileşenin ve 36 fenol bileşenin çam türlerinde yapılan analizlerde tespit edildiğini vurgulamışlardır.

Juanjuan Yi, Wang, Bai, Yu, Jing ve Zuo'a (2015) göre Kore çamı araştırma konusudur. Kore çamında bulunan polifenoller, yüzey cevap metoduyla, % 28,1 düzeyinde saflaştırmışlar. 7 farklı kanser türü ile bu polifenoller muamele etmişlerdir. Çalışılan kanser türleri arasında kolon, cilt, göğüs, akciğer, sinir sistemi gibi türler bulunmaktadır. Ayrıca yaptıkları analizler ile catechin, methyl quercetin, o-vanillin, luteolin ve coronaric asit bileşenlerini Kore çamında tespit etmişlerdir. Yazarlar bu maddelerden dolayı Kore çamının hazır bir polifenol kaynağı olduğunu ve yöntemleri ile fonksiyonel gıda uygulamalarında etkili bir ajan olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Wieslaw, Anna, Piotr, Ana, Francisco ve Tava'ya (2002) göre Asya ve Avrupada yaygın olarak bulunan sarıçamlar araştırılmıştır. Bunlar üzerinde yaptıkları çalışmada taxifolin, taxifolin 3-O-glucoside, quercetin, quercetin 3-O-glucoside ve 3-O-glucoside. tespit etmişler ve bu maddelerin miktarlarının yükseltilmeye çalışıldıkça düşüş gösterdiğini belirtmişlerdir.

3.1. Antioksidan Maddeler

Antioksidan maddeler; bitkisel kaynakların ürettiği ve canlı organizmalarda birçok faydalı işlevi bulunan maddelerdir. Canlı organizmalar aldıkları besinleri sindirme esnasında okside

olan bileşikler serbest radikalleri oluşturur ve bu serbest radikaller organizmanın birçok fonksiyonunda DNA hasarı sinir hücrelerinde tahribat gibi zararlar verirler. Canlıların bu serbest radikallerden kurtulmak için onları inhibe edecek oksitleyici etkilerini azaltacak bu maddelere ihtiyaçları bulunmaktadır. Yaratıcının kurduğu bu ihtiyaç ve yaşam ilişkisinde canlının yaşamlarını sürdürmesi, bünyelerinde ürettikleri enzimlerin aktif hale gelmesi, lipid protein ve genetik yapılarının uygun şekilde oluşum ve çalışmasında, aktif yeterli savunma sistemine sahip olmasında doğru beslenme en önemli etkenlerdendir.

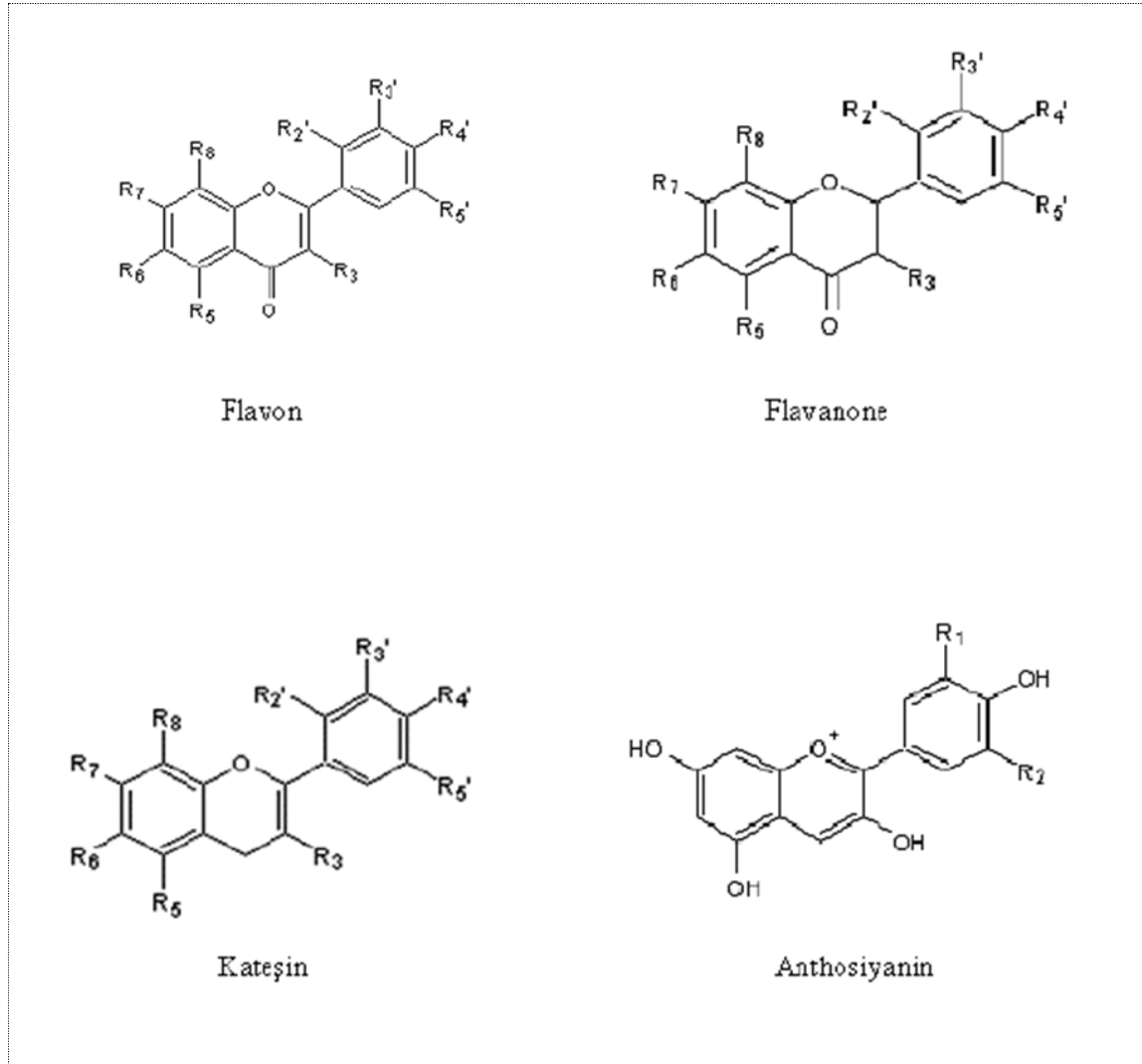
Kırmızı renkli meyve sebzelerde bolca bulunan antioksidanlar çaylarda bulunan polifenoller, soya bitkisinde ve turuncgillerde bulunan flavonoidler, kakaoda bulunan siyanidin (cyanide) gibi maddelerdir. Bu maddeler oksitleyici etkiyi azalttığı için kanser oluşumunu önlemeye yardımcı olmaktadır.

3.1.1. Doğal antioksidanlar

Doğal antioksidanlar bitkilerin farklı kısımlarında bulunabilir. Meyve, sebze, baharat, tohum, yaprak, kök ve ağaç kabuklarında doğal antioksidan kaynağı potansiyeli olduğu yapılan birçok araştırma sonucunda bildirilmiştir. Antioksidanlar keten, ayçiçeği, soya, pamuk ve kanola gibi tohum yağlarında bulunmaktadır. Doğal antioksidanların en temel bileşikler fenolik bileşiklerdir. Ayrıca önemli doğal antioksidan grupları tokoferol, flavonoidler ve fenolik asitler çoğu bitkinin yapısında yaygın olarak bulunmaktadır (Naczki ve Shahidi, 2006).

Fenolik antioksidanlar, doğal antioksidanların en önemli gruplarındandır. Bitkilerin yaprak, dal, kök, çiçek meyve gibi kısımlarında bulunmaktadır. Bu gruplar polifenolik bileşenlerdir. Yaygın olan bitkisel fenolik antioksidanlar ise flavonoidler, tokoferoller, kumarinler, sinamik asitler ve tabiki fenolik asitlerdir. Bunların besinlerdeki oksitlenebilen maddeleri oksidasyondan korumakla görevli bileşenlerdir.

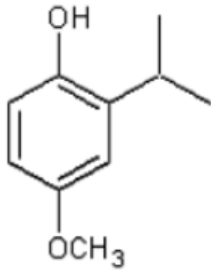
Flavonoidler pek çok sebze ve meyvede hatta geleneksel olarak yenilmeyen bitkilerde de bulunan maddeler olup bu bitkilere sarı, kırmızı ve mavi tonlarında renk veren pigmentlerin başlıca kaynağını oluşturan kuvvetli antioksidan özellikteki polifenollerdir. Meyvenin korunmasında da görev yaptıkları için kabuklarında yoğun miktarda bulunurlar. Şekil 3.1 de dört temel antioksidan grubuna ait molekül yapıları verilmiştir Nijveldt ve diğerleri (2001).



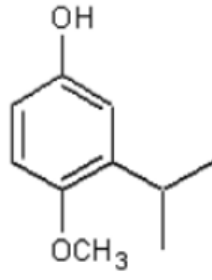
Şekil 3.1. Dört temel flavonoid grubunun moleküler yapısı

3.1.2. Yapay antioksidanlar

Yapay antioksidanlar, gıda maddelerinin ömürlerinin uzatılması ve okside olmamaları için kullanılmaktadır. Ticari ürün olarak kullanılan başlıca yapay antioksidan yapıları Şekil 3.2 de verilmiştir (Yanishlieva, 2001).

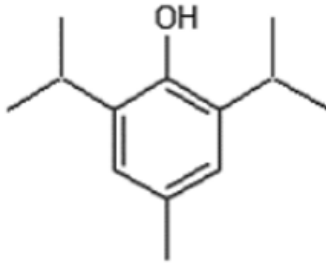


(3-BHA)

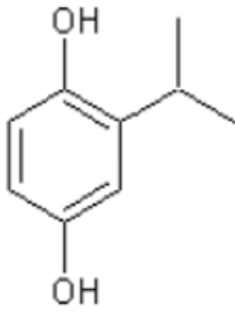


(2-BHA)

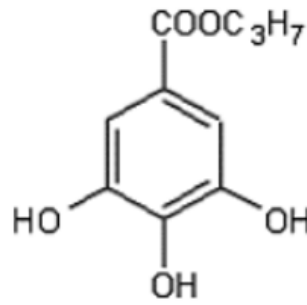
Butillenmiş hidroksi anisol türleri (BHA)



Butillenmiş hidroksi
anisol yapısı
(BHA)



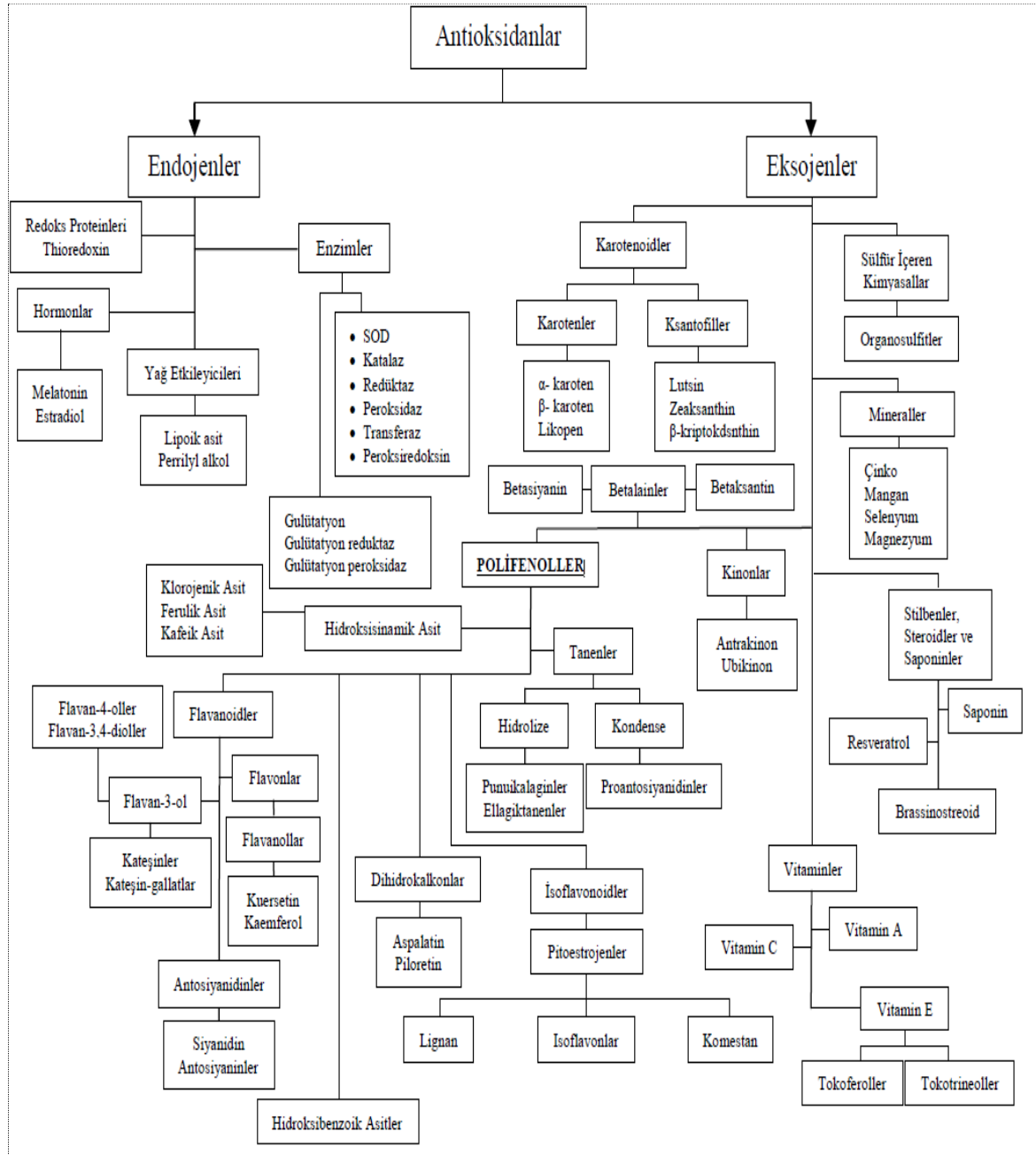
Tersiyer butil hidrokinon (TBHQ)



Propil gallat (PG)

Şekil 3.2. Gıdalarda kullanılan suni fenolik antioksidan yapıları

3.1.3. Antioksidanların sınıflandırılması



Şekil 3.3. Antioksidan bileşenlerin sınıflandırılması (Wootton, 2001)

3.1.4. Uçucu yağlar

Bitki bünyesinde bulunan bu yağlar aromatik ve farmakolojik özelliklerine göre gruplandırılırlar. Uçucu yağlar tat ve koku özelliklerine göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılırlar.

- Aromatika (çok kokan ve ağız tadına uygun olan),
- Aromatika-aroma (kokan ve acı tada sahip olanlar)
- Aromatika-acria (kokan ve keskin tada sahip olanlardır) şeklinde üçe ayrılırlar.

Bu özellikteki uçucu yağlar Çin tarçını, Ceylan tarçını, karanfil, anason, küçük Hindistan cevizi, rezene ve kekik gibi bitkilerden elde edilmektedir (Cellat, 2011).

Bu grupta genellikle tedavi amaçlı olarak kullanılan uçucu yağlar yer alır ve alternatif tıbbın gelişmesi ve önem kazanmasıyla da bu yağların önemi artmıştır.

Farmakolojik etkilerine göre uçucu yağlar romatizma gidermekte, öksürük tedavisinde, iltihap tedavisinde, hijyen amaçlı dezenfektan gibi amaçlarla kullanılabilir (Cellat, 2011). Uçucu yağlar bulundukları bitki kısımlarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılırlar.

- Köklerinden faydalanılan : Karaturp, kırmızı turp gibi.
- Gövdelerinden faydalanılan : Zencefil, tarçın gibi.
- Yapraklarından faydalanılan : Nane, kekik, mercankös, maydanoz, defne gibi.
- Soğan yapısında olan : Mutfak soğanı, sarımsak gibi.
- Çiçeklerinden faydalanılan : Karanfil gibi.
- Meyvelerinden faydalanılan : Kimyon, anason, karabiber, kırmızı biber, vanilya gibi.
- Tohumlarından faydalanılan : Hardal, küçük Hindistan cevizi gibi.

3.2. Süperkritik Akışkan ve Özütleme İşlemi

3.2.1. Süperkritik akışkan

Maddeler katı, sıvı ve gaz hallerde bulunmaktadır. Ancak gazlar kritik sıcaklıklarının üzerinde ısıtılır ve basınç uygulanırsa süperkritik faz adı verilen dördüncü bir faza geçerler. Bir maddenin kritik sıcaklığı (T_c), o sıcaklığın üzerinde ne kadar basınç uygulanırsa uygulansın sıvılaştırılamayacağı maksimum sıcaklıktır. Bu sıcaklıktaki basınç da kritik basınçtır (P_c). Sıvı ve gaz evrelerin aynı özellikleri aldığı noktaya “kritik nokta”, bu nokta

üzerindeki bölge de “Süperkritik bölge” adını alır. Kritik sıcaklık (T_c), buhar ve sıvı fazlarının dengede olduğu en yüksek sıcaklık; kritik basınç (P_c) ise bu sıcaklık basıncıdır.



Şekil 3.4. Saf bir maddenin basınç-sıcaklık diyagramı (Çengel ve Boles, 1994)

Şekil 3.4 ten anlaşılacağı gibi,

- Üçlü nokta ile kritik nokta arasında kalan bölgede madde sıvı
- Buharlaşma eğrisi altındaki kısımda madde gaz halinde
- Süblimleşme eğrisi üzerindeki kısımda ise madde katıdır
- P_c ve T_c noktalarının üzerindeki tüm P ve T noktalarında ise madde, süperkritik akışkan olarak tanımlanmaktadır.

Bir saf madde, basınç (P) ve sıcaklık (T) değerlerinin o maddeye has kritik sıcaklığı olan (T_c) ve kendi kritik basıncı olan (P_c) değerlerine eşit ya da büyük olması halinde o madde “süperkritik akışkan” olarak tanımlanmaktadır.

Şekil 3.4 te saf bir madde için basınç ve sıcaklık diyagramından süperkritik akışkan bölgesi gösterilmiştir. Sıvı, gaz ve süperkritik akışkanlara ait bazı fizikokimyasal özellikler tablo halinde Çizelge 3.1 de verilmiştir (McHugh ve Krukonis, 1994).

Çizelge 3.1. Akışkanların fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması

ÖZELLİK	SIVI	SÜPERKRİTİK AKIŞKAN	GAZ
Yoğunluk (kg/m^3)	600 - 1600	200 – 1000	1
Viskozite (kg/m.s) $\times 10^5$	100	10	1
Difüzyon Katsayısı (m^2/s)	$1,0 \times 10^{-9}$	$1,0 \times 10^{-7}$	$1,0 \times 10^{-4}$

Çizelge 3.1 de görüldüğü gibi süperkritik akışkan, sahip olduğu yoğunluk, viskozite ve difüzyon katsayısı gibi fiziksel özellikler açısından gaz ve sıvı özellikleri arasında yer almaktadır.

Süperkritik akışkanların fiziksel ve taşınım özellikleri sıvı ve gazlarınkilere benzerlik gösterir. Çözme güçleri ise sıvılarınki gibi yüksektir. Difüze olma potansiyelleri gaz fazındaki değerlerden daha düşük ancak sıvılarınkinden daha yüksek değerlerdedir (Balaban, 1989). Süperkritik akışkanların, çözücülükte sıvıların ve difüzyonda gazların özelliklerini taşıyor olması, bunları çözücü olarak kullanışlı hale getirmektedir.

Süperkritik akışkanların viskozitesinin düşük olması, katılar içerisine daha kolay difüzlenmeyi ve yüksek difüzyon katsayısı ile, amaçlanan özütleme işlemlerinin veya reaksiyonların gerçekleşmesinde daha etkili olmasını sağlar.

Özütleme işlemlerinde çözücü olarak süperkritik akışkanın kullanımı diğer ve geleneksel organik çözücülere göre özütlemenin daha hızlı olmasını temin etmektedir (Nakamura, Chi, Yamada ve Yano, 1986).

Çizelge 3.2. Bazı çözücülerin kritik sıcaklık, basınç ve yoğunlukları

ÇÖZÜCÜ	KRİTİK SICAKLIK T_c (°C)	KRİTİK BASINÇ P_c (atm)	KRİTİK YOĞUNLUK d_c (g/cm ³)
Metan	-83,2	45,40	0,162
Etilen	9,3	49,64	0,218
Ksenon	16,6	57,63	1,113
Klorometan	28,9	38,68	0,579
<i>Karbon dioksit</i>	<i>31,06</i>	<i>72,83</i>	<i>0,468</i>
Etan	32,3	48,16	0,203
Propilen	91,9	45,59	0,233
Propan	96,7	41,84	0,217
Amonyak	132,5	111,52	0,235
Dietileter	194,6	35,92	0,265
n-Pentan	196,5	33,26	0,237
Aseton	235,0	46,40	0,278
Metanol	239,5	79,84	0,272
Benzen	289,0	48,26	0,302
Toluen	318,6	40,56	0,292
Pridin	346,9	55,56	0,312
Su	374,2	217,11	0,322

Çizelge 3.2 incelendiğinde bazı süperkritik akışkanların kritik sıcaklık ve basınç değerleri ortam koşullarına daha yakınken bazılarınınkinin de oldukça yüksek olduğu görülmektedir.

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

Etan, etilen ve propan gibi apolar çözücüler büyük kütleli hidrokarbonlar ve hidrokarbon polimerler için alternatif çözücüler olabilmesine rağmen, parlayıcı ve toksik özellik göstermeleri, kullanımlarında dezavantaj yaratmaktadır. Doğada saf ve ucuz bulunabilen suyun süperkritik akışkan olarak kullanımı ise yüksek kritik sıcaklık ($T_c = 647,3 \text{ K}$) değeri ve sınırlı olmasıyla beraber doğal korozif etkisi nedeniyle kullanımı kısıtlıdır.

Süperkritik koşullardaki su, oksijen gibi gazları çözebildiği için hidrotermal sentezlerde ve zehirli atık suların oksidasyonunda tercih edilmektedir. Ayrıca kimyasal reaksiyonlarda yer alan süperkritik akışkanlara gün geçtikçe artan ilginin bir göstergesi, özellikle süperkritik suyun atık ve istenmeyen yan ürünlerin gideriminde kullanılmasıdır. Enerji taşıyıcı bileşikler (bio-yağlar ve hidrojen ve metan gibi gazlar) gibi değerli ürünler oluşturabileceği düşünülmektedir.

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

Süperkritik CO_2 , düşük kritik basınç ($7,38 \text{ MPa}$) ve oldukça düşük kritik sıcaklığa ($304,2 \text{ K}$) sahip olması nedeniyle şüphesiz en yaygın kullanılan süperkritik akışkandır. Ayrıca buharlaşma ısısı küçük olduğundan, özellikle kritik noktaya yakın bölgede düşük enerjiye ihtiyaç duymakta, dolayısıyla T_c ve P_c değerlerine kolaylıkla ulaşılabilir. Çevresel herhangi bir problem yaratmaz, ucuz olup, yanıcı, korozif veya toksik değildir.

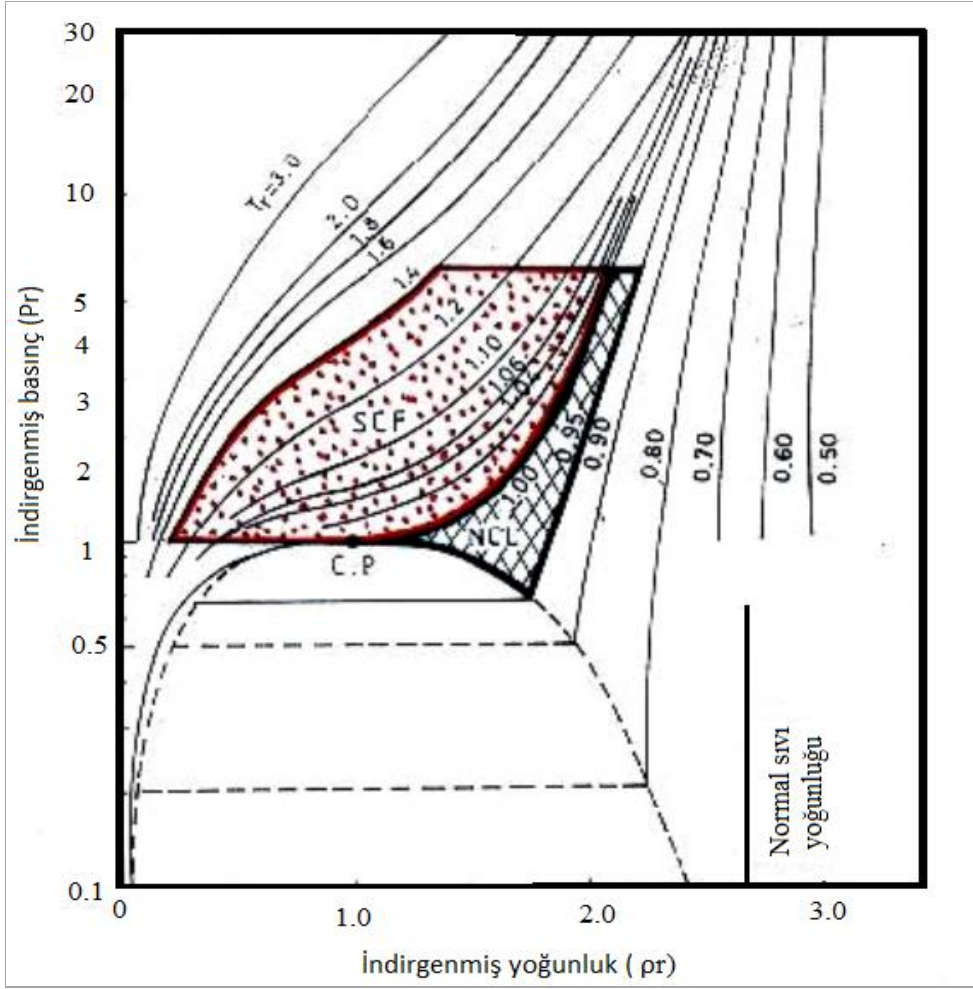
Süperkritik CO_2 ucuz ve kolaylıkla yüksek saflıkta eldesinin mümkün olması gibi avantajlarının yanı sıra, düşük kritik sıcaklığı nedeniyle buhar distilasyonu ile saflaştırılması mümkün olmayan ve termal bozunmaya yatkın bileşiklerin ekstraksiyon işlemlerinde en sık kullanılan süperkritik akışkandır. Bu nedenle süperkritik CO_2 , yüksek saflıkta ürün eldesinin çok önemli olduğu gıda, boya, farmasötik ve kozmetik endüstrileri için ideal çözücü pozisyonundadır.

3.2.2. Süperkritik akışkanların çözme gücü

Süperkritik akışkanların çözme gücü o akışkanın belli bir sıcaklık ve basınçtaki yoğunluğuna bağlıdır. Süperkritik şartlardaki CO₂'in yoğunluğunda kritik sıcaklık ve basınç değerlerine yaklaştıkça belirgin değişiklikler olur. CO₂'in bilinen yoğunluğu oda şartlarında 2,0 kg/m³ olmasına rağmen kritik basınç ve sıcaklıkta 470 kg/m³ değerine ulaşır. Böylece CO₂'in oda şartlarında çözme gücü düşük iken, kritik noktada çözücü gibi davranabilen bir madde olur. Süperkritik akışkanlarda sıcaklık ve basınç değerlerindeki küçük değişiklikleri bile akışkan yoğunluğunun değişmesine sebep olurlar. Böylece süperkritik akışkanların çözme güçleri değişiklik gösterir.

Karbon dioksit için indirgenmiş sıcaklık ve indirgenmiş basınçla değişen indirgenmiş yoğunluk değerleri Şekil 3-5'te verilmiştir. İlgili Şekilden görülebileceği gibi iki bölge bulunmaktadır. İlk bölge süperkritik akışkan bulunan (Şekil 3.5'te SCF) bölgesi, süperkritik akışkanlarla özütleme işlemlerinin yapılabilirdiği en uygun sıcaklık ve basınç değer aralıklarını göstermektedir.

Bazı süperkritik CO₂ ekstraksiyon çalışmalarında kritik altı bölgede (Şekil 3.5) akışkanın sıcaklık ve basınç değerlerinin kritik sıcaklık ve basınç değerlerine oldukça yakın olması nedeniyle, bu bölgenin süperkritik akışkan ekstraksiyonu için belirtilen bölgeye göre ekstraksiyon verimliliğinin yüksek olabildiği bildirilmektedir. Şekil 3.5 (McHugh ve Krukoniş, 1994).



Şekil 3.5. CO₂'nin indirgenmiş yoğunluğunun indirgenmiş T ve P ilişkisi

Süperkritik CO₂'in farklı sıcaklık ve basınçlardaki yoğunluk ve viskozite değerleri Çizelge 3.3'te görülmektedir. Sabit sıcaklıkta basıncın artışıyla süperkritik CO₂'nin yoğunluğunun ve viskozitesinin arttığı görülmektedir. Sabit basınç altında, sıcaklığın artışı ile gaz faza geçişler arttığı için yoğunluk değerinde düşüş olduğu görülmektedir. Aynı zamanda sıcaklık ve basınçtaki küçük değişikliklerin fizikokimyasal özellikler bakımından süperkritik CO₂ te önemli değişikliklere neden olduğu görülmektedir. Polarite ise CO₂'nin çözme gücünü etkileyen diğer değişkendir. CO₂'nin polar özeliği, zayıf polaritedeki çözücüler gibidir. Bu sebeple SCCO₂ apolar çözücüler grubuna girmektedir. Karbon atomunun dört kutuplu moleküler yapısı sebebiyle aldehitleri, esterleri, alkolleri vb organik polar maddeleri düşük te olsa belirli oranda çözebilmektedir. CO₂'nin polar maddeleri de çözmesi istendiğinde düşük dielektrik sabiti sebebiyle oluşan zayıf polaritesini artırmak için polaritesi daha yüksek olan çözücüler eklenebilmektedir. Bu tür eklenen maddelere, yardımcı çözücü denilmektedir. (McHugh ve Krukonis, 1994).

Çizelge 3.3. Süperkritik CO₂'in değişik T ve P deki yoğunluk ve viskoziteleri

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

Çizelge 3.3 Roy, Goto, ve Hirose, (1996). Ayırma işlemlerinden özel olarak uygulanan iki yöntemden ilki membrandan geçirmek ve ikincisi süperkritik akışkan ile ayırma işlemidir. Bu işlemleri geleneksel uygulamalardan ayıran özellikleri verimleri ve işlem sürelerindeki kısalık olarak dikkat çekmektedir. Membran ile ayırmalarda homojen veya heterojen malzemeler kullanılmıştır.

Süperkritik akışkan ile ayırma uygulamalarında ise kritik şartların üzerindeki seçici ve üstün ayırma güçleri ile kısa zamanda seçici ayırma işlemi gerçekleştirilebilmesi dikkat çekmektedir. Süperkritik akışkan uygulamaları, bilimsel ve teknolojik açıdan hızla gelişmekte olan alanlardan biri olmaktadır. Günümüzde, aktif madde özütlemeye gibi katma değeri yüksek ürünlerin eldesi işlemleri başta olmak üzere Almanya, Amerika ve Japonya'da bu konuyla ilgili çalışmalar gittikçe yoğunlaşmaktadır.

Seçici çözücülük veya çözünürlüğünün ayarlanmasına olanak veren bu uygulama ile başta karbon dioksitin kullanıldığı çalışmalar olarak süperkritik akışkanlar ile saflaştırma, ayırma, polimerizasyon, basamaklı fraksiyonlama, nanoteknoloji alanında tanecik tasarımı ve

üretimi, biyoteknolojik birçok uygulama, yağların reformlanması, suların arıtımı gibi çok farklı uygulamalarda gittikçe gelişen kullanım alanı oluşmaktadır.

Süperkritik özütleme işlemi için ilk kurulum maliyeti kısmen yüksektir. Uygulamaya ait diğer değişkenler ise uygulama maliyeti, özüt saflığı, katkı içeriği veya katkısız ürün eldesi, ürün ticari değeri kıyaslanarak bu yöntem kimi özel ürünler için kullanışlı tercih edilen bir yöntem olmaktadır. Bitkilerden aktif maddelerin doğal yollarla ve solvent kalıntısız özütlenmesi bu uygulamaların başında gelmektedir. Toplumsal bilinçlenme arttıkça insanlar zararlı kalıntılar içermeyen bitkisel ilaçlara ve doğal gıda takviyesi olan ürünlere ilgi göstermektedirler.

Çizelge 3.4. SCCO₂ uygulamalarının bazı kullanım alanları

GIDA	Çay ve kahveden kafeinin giderilmesi Tütünden nikotin ve katranın uzaklaştırılması Yağlı çekirdeklerden yağ ekstraksiyonu Aroma ekstraktlarının azaltılması Kolesterolün uzaklaştırılması Narenciye sularının acılığının giderilmesi Yağ ve aromaların fraksiyonlanması Şerbetçi otu ekstraktı eldesi Tütün hücresi genleşmesi Reçel stabilizasyonu (Japonya)
ECZACILIK	Doğal ürünlerden aktif bileşen ekstraksiyonu Biyokimyasal karışımların ayrılması Tanecik tasarımı, yüksek basınç mikro organizasyonu ve püskütmeli kurutmada (toz halinde aktif madde üretimi: *RES *SAS *GAS *SESD) Kristalizasyon (Kaplama) Yüksek basınçlı sterilizasyon
POLİMER	Polimerizasyon, polimerik köpüklerin üretimi, polimer aşılama Polimerlerin fraksiyonlanması Kaplama Polimer işleme

Çizelge 3.4. (devam) SCCO₂ uygulamalarının bazı kullanım alanları

MALZEME	İmplant malzemelerin tasarımı Mikro ve nano taneciklerin tasarımı Aerojel eldesi Otofretaj (yüksek basınç dizel yakıt enjeksiyon borularının muamelesi) Su jetiyle kesme/temizleme
KİMYASAL İŞLEMLER	Düşük buhar basınçlı yağların fraksiyonlanması veya saflaştırılması Seramik işleme Aktif karbon rejenerasyonu Polar ve polar olmayan bileşiklerin ayrılması
ÇEVRE	Sulu çözeltilerden organik atıkların uzaklaştırılması Süreç akımlarından toksik malzemelerin uzaklaştırılması Topraktan ağır maddelerin uzaklaştırılması
HİDROKARBON İŞLEMLERİ	Kömür sıvılaştırma Kömürden ve bitümden gazlaşabilir maddeler ve yağların ekstraksiyonu Kalıntı ekstraksiyonu Jeolojik oluşumlardan yağ ve gaz kazanımı
YÜZEY İŞLEMLERİ	Tekstil boyama (polietilen elyafları) Tekstil temizleme ve kuru temizleme
REAKSİYON	Fischer-Tropsch Sentezi Hidrojenasyon (çeşitli sentez reaksiyonları, ilaçlar) Alkilleme Oksidasyon Transesterifikasyon (biyodizel) Biyoreaksiyonlar Hidroformülasyon
ANALİTİK	SCF Kromatografisi

Ekstraksiyon işlemlerinde süperkritik CO₂ kullanımının getirdiği avantajlar arasında, düşük molekül kütleli hidrokarbonlar ve oksijenli organik bileşiklere kolay karışabildiği için iyi bir çözücü olması da sayılabilir. Ayrıca sudaki çözeltilerden organik maddelerin kolaylıkla

ekstrakte edilmesi, diğer organik çözücülerle karşılaştırıldığında yüksek uçuculuk özelliği sayesinde, geride kalıntı bırakmadan sistemden kolaylıkla ayrılarak, ekstraksiyon sonunda ek bir ayırma işlemi gerektirmemesi, sisteme yeniden çevrilmesinin kolay olması gibi faz dengesi özellikleri de sıralanabilir.

Süperkritik akışkan ekstraksiyon uygulamalarında gösterdiği üstün özelliklerinin gölgesinde SCCO_2 'nin tek dezavantajı, apolar yapıda olmasından dolayı, özellikle polar bileşenlerin ekstraksiyon uygulamalarında sınırlamalar getirebilmesidir. Bu nedenle 1990'lı yıllarda polar bileşikler ekstrakte etmek amacıyla polar süperkritik akışkanların kullanılması düşüncesiyle hareket edilmiş, serbest karboksilik asitlerin ve steroidlerin ekstraksiyonunda N_2O , taksol ekstraksiyonunda ise Freon-22 başarılı biçimde kullanılmıştır. Ancak sonraları, bu akışkanların güvenlik ve çevresel endişeleri tetikleyen yöndeki olumsuz özellikleri nedeniyle uygulamaları kısıtlanmıştır. N_2O , toksik ve patlama riski taşımakta, Freon-22 ise ozon tabakasını inceltmesi nedeniyle artık ticari olarak bulunmamaktadır. SCCO_2 'nin polaritesinin arttırılmasının en etkili ve basit yolu çözücüye, yardımcı çözücü (modifier, entrainer, co-solvent) olarak adlandırılan etanol, metanol gibi polar maddelerin belli oranlarda eklenebilir olmasıdır.

3.2.3. SCCO_2 işleminde nem miktarının etkisi

Bitkisel kaynaklardan bileşenlerin SCCO_2 ekstraksiyonu ile özütlenmelerinde, su miktarı ve aktivitesi bileşenlerin birbirleri ile olan etkileşimleri üzerinde etkili olan en önemli faktördür. Bitki dokularında bulunan nem, SCCO_2 ile girişim yaparak süperkritik ekstraksiyonu etkileyebilmektedir. Bu etki, örnek matriksinde değişikliğe neden olarak SCCO_2 'nin numuneye difüzyonunu da bir bariyer oluşturarak engelleyebilir. Bu yüzden meyve ve sebze örnekleri SCCO_2 işleminden önce kurutulmalıdır.

Bitkideki nemin tamamen uzaklaştırılması için numuneler etüvde veya derin dondurucuda kurutulmalıdır. Numune bünyesindeki suyu tamamen tutmak için örnekler hidromatriks ve 2,2-dimetoksi-propan (DMP) gibi adsorbentler kullanılarak da kurutulabilir. Birçok çalışmada ekstraksiyon veriminin azalan nem miktarına karşın arttığı gözlemlenmiştir (Atanur, 2008).

3.2.4. SCCO₂ işleminde parçacık büyüklüğünün etkisi

Parçacık boyutu ekstraksiyon verimini etkileyen en önemli değişkenlerden biridir. Büyük tanecik boyutlarından özütlemeye SCCO₂ işlemi difüzyon basamağının kontrol ettiği bir özütleme olduğu için ekstraksiyon süresi istenmeyen şekilde uzamaktadır. Numunenin çok küçük tanecik boyutlarında özütlenmesi ise ekstraksiyon hızını ve verimini arttırmakla birlikte numune içinde kanallar açılması ile düzenli bir akışı engelleyebilmektedir. Bu sebeplerden dolayı ekstraksiyon işlemleri genellikle belirli bir boyut aralığındaki parçacıklar ile gerçekleştirilir (Atanur, 2008).

3.2.5. SCCO₂ işleminde ekstraksiyon süresinin etkisi

Ekstraksiyon süresi numunenin gözenek yapısına hedeflenen özütlerin çözünürlüğüne materyalin türüne, matriks içerisinde çözünen maddenin derişimine, CO₂ akış hızına ve diğer işlem koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Atanur, 2008).

3.2.6. SCCO₂ işleminde sıcaklığın etkisi

Süperkritik akışkanın sıcaklığının artırılması süperkritik akışkanın yoğunluğunun azalmasına neden olur, dolayısı ile çözücü moleküllerinin etkileşimleri düşer (başka bir deyişle çözücü moleküllerinin arasındaki mesafeyi artırmış olur). Çözücü - çözücü etkileşiminin düşmesi, çözücü - çözünen etkileşiminin artmasını sağlar. Bu sayede ekstraksiyon kapasitesi de artar. Ayrıca sıcaklık artışı, çözünen madde veya maddelerin buhar basınçlarını arttırdığından, sıcaklıkla ekstraksiyon verimi genel olarak artmaktadır. Fakat birçok molekülün buhar basıncı sıcaklık artışıyla kayda değer şekilde artmaz (Atanur, 2008).

3.2.7. SCCO₂ işleminde basıncın etkisi

SCCO₂ işleminde basıncın artışı, CO₂'in yoğunluğunu artmasına ve sıvı gibi davranmasına neden olmakta ve CO₂'in çözme gücünün artmasını sağlamaktadır.

Basınç ve sıcaklığın aktif madde miktarına etkisinin tespit edildiği bir çalışmada, kafein bileşiği için 190 bar'a kadar basınç arttıkça kafein miktarının basınçla arttığını bulmuşlardır.

Kafein miktarının, 40 °C, 50 °C ve 70 °C lerde yaptıkları çalışmalarda sıcaklık artışı ile azaldığını gözlemlemişlerdir Saldana, Mohamed ve Mazzafera (2000). Basınç artışı çözücünün gözenekli yapılara daha çok nüfuz etmesini sağlayacağı için daha çok özüt elde edilmesini sağlamaktadır.

3.2.8. Süperkritik akışkan ile özütlemenin avantajları

Lang ve Wai'a (2001) göre süperkritik akışkan ile özütlemenin üstünlüklerini aşağıdaki gibi derlemişlerdir.

- ✓ Süperkritik akışkanlar oldukça düşük viskoziteye, oldukça yüksek difüzyon hızına sahiptirler. Bu özelliğinden dolayı sıvı çözücülerden daha etkin bir şekilde gözenekli katıların içerisine nüfuz edebilir. Bu da daha hızlı kütle aktarımının olmasını sağlar. Mesela sıvı-katı özütlemesi saatlerce veya günlerce sürerken bu süre süperkritik akışkan özütlemesinde kısa süreye indirilebilir.
- ✓ Süperkritik akışkan özütlemesinde örneklere sürekli olarak taze akışkan temas ettirilir ve bunun sonucunda daha verimli bir özütlenme olması sağlanır.
- ✓ Süperkritik akışkan özütlemesinde basınç ve sıcaklık değiştirilerek akışkanın çözme gücü değiştirilebilir. Böylelikle daha yüksek seçiciliğe ulaşılabilir. Bitkiler gibi karmaşık örneklerin özütlenmesinde akışkanın çözme gücünün ayarlanması yararlı olmaktadır. Buna örnek olarak pervane çiçeğinin yapraklarından yüzden fazla alkaloid bileşiği arasından vindolinin seçici özütlenmesi verilebilir.
- ✓ Süperkritik karbon dioksit çözücüsünde çözünen madde basınç azaltılarak kolayca ayrılabilir. Dolayısıyla vakit alan ve uçucu bileşiklerin kaybına neden olan örnek toplama işlemine gerek duyulmaz.
- ✓ Süperkritik akışkan özütlemesi genellikle düşük sıcaklıklarda gerçekleştiğinden ısı ile bozulan bileşiklerin özütlenmesinde ideal bir tekniktir. Böylelikle yeni doğal bileşiklerin keşfine olanak sağlar. Mesela zencefilin özütlenmesinde süperkritik akışkan kullanıldığında hidroliz, oksidasyon, bozunma gibi istenmeyen reaksiyonlar etkin bir biçimde önlenir.
- ✓ Sıvı-katı özütlemesinde 20–100 g örnek gerekirken, süperkritik akışkan özütlemesinde bu miktar 0,5-1,5 gramdır. Sadece 1,5 gram taze bitki örneğinden yüzden fazla uçucu ve yarı uçucu bileşik özütlenbildiği ve gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi ile belirlendiği belirtilmiştir.

- ✓ Süperkritik akışkan özütlemesinde çevreye zararlı organik çözücüler ya hiç kullanılmaz ya da çok az miktarlarda kullanılmıştır. Katı-sıvı özütlemesinde 10-100 ml organik çözücü gerekirken süperkritik akışkan özütlemesinde sadece birkaç ml gerekir veya hiç gerekmez.
- ✓ Süperkritik akışkan özütleme sistemi doğrudan bir kromatografik analiz cihazına bağlanabilir.
- ✓ Büyük ölçekli süperkritik akışkan özütleme işleminde akışkan (genellikle CO₂), geri kazanılabilir ve kullanılabilir, bu da artık oluşumunu engeller.
- ✓ Süperkritik akışkan özütlemesinde değişik ölçekte sistemler kullanılabilir. Mesela analitik ölçekte 1 gramdan daha az veya birkaç gram, pilot ölçekte yüzlerce gram, büyük endüstriyel ölçeklerde tonlarca hammadde kullanılabilir.

3.2.9. Süperkritik akışkan ile özütlemenin dezavantajları

Süperkritik akışkanların kullanıldığı ayırma işlemlerinde süperkritik şartların saptanması için yüksek basınçlara çıkılması gerekliliğinden (genellikle 80 bar ve üzeri) dolayı yüksek ilk yatırım maliyetleri ve yüksek enerji ihtiyacı duyulmaktadır. Bunlar yöntemin dezavantajlarıdır.

Diğer bir dezavantaj ise, SCF olarak kullanılacak maddelerin safsızlıklar içermesidir. Örneğin en saf CO₂ tüpleri bile içerdiği % 0,5-2'lik oksijen molekülleri nedeniyle antioksidanların bu oksijenle reaksiyona girerek radikalleri bağlama özelliklerini kaybetmelerine, dolayısıyla toplamda antioksidan miktarının azalmasına neden olmaktadır (Lang ve Wai, 2001).

4. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

4.1. Malzemeler ve Kimyasallar ile Kullanım Amaçları

- ✓ İğde çekirdeği ve kızılçam kozalağı hammadde olarak kullanılmıştır.
- ✓ Karbon dioksit (% 99,9 saflıkta) özütleyici çözücü olarak kullanılmıştır.
- ✓ Quercetin standardı miktersal analiz için standart olarak kullanılmıştır.
- ✓ Kaempferol standardı miktersal analiz için standart olarak kullanılmıştır.
- ✓ Rutin standardı miktersal analiz için standart olarak kullanılmıştır.
- ✓ MN Chromafil Xtra marka 0,20 µm lik PTFE tipte filtre.
- ✓ Sigma aldrich marka HPLC saflığında asetonitril.
- ✓ Sigma aldrich marka HPLC saflığında etanol.
- ✓ Merck marka HPLC saflığında metanol.
- ✓ SGE marka 250 µL lik HPLC manuel sıvı enjektörü.

4.2. Kullanılan Cihazlar

Bitki öğütme değirmeni, iğde çekirdeklerinin ve kızılçam kozalaklarının çalışma aralığına uygun boyutlara küçültülmesinde kullanılmıştır. Şekil 4.1 ilgili laboratuvardan alınmıştır.



Şekil 4.1. Retsch marka bitki değirmeni

Elek seti ve sallama cihazı, öğütülen materyalin farklı boyutlara göre ayrılmasında kullanılmıştır. Sonuçlar iki elek arası ortalama parçacık boyutu esas alınarak verilmiştir.

SEM cihazı, iğde çekirdeği ayva çekirdeği ve kızılçam kozalağı numunelerinin süperkritik özütleme işlemi öncesi ve sonrasında ayrılan numunelerden eniyileme işlemi sonrasında verimin yüksek olduğu şartlar belirlenerek ayrılan numunelerin elektron mikroskobu görüntüleri alınmasında kullanılmıştır. Jeol marka JSM- 6360 LV model cihaz kullanılmıştır.

BET cihazı, iğde çekirdeği ayva çekirdeği ve kızılçam kozalağı numunelerinin süperkritik özütleme işlemi öncesi ve sonrasında ayrılan numunelerden eniyileme işlemi sonrasında verimin yüksek olduğu şartlar belirlenerek ayrılan numunelerin Quantachrome Nova 220 e model BET cihazı ile 5 saat 90 °C de degas işlemi sonrasında analiz verileri kaydedilmiştir.

İlgili laboratuvardan alınan, SCCO₂ cihazı, yüksek basınç pompası, soğutucu, modifiye sıvı pompası ve fırından oluşan sistem resmi Şekil 4.2 de verilmiştir. Numuneler fırın içerisine 24, 100, 500 mL hacimli silindirik reaktörler ile yüklenebilmektedir. Numune miktarı 5 g olarak alınmıştır. Çalışmalar boyunca 24 mL lik reaktör kullanılmıştır. Sistem yarı kesikli tipte olup reaktör iki ucundan vidalı kapaklıdır. Numuneler reaktör içinde cam pamukları arasına yerleştirilerek kapatılıp fırın ünitesine yüklenir.



Şekil 4.2. Kompresör, CO₂ tüpü, soğutucu, fırın ve pompalı süperkritik sistemi

Şekil 4.3 te verilen HPLC cihazı, seçilmiş flavonoidlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesinde kullanılmıştır. Şekil 4.3 ilgili laboratuvardan alınmıştır.



Şekil 4.3. Dionex marka UV dedektörlü HPLC cihazı ve bilgisayar

4.3. Çalışılan Deneysel Değişkenler

Bağımsız değişken olarak özütlenme verimine etki eden

- Sıcaklık,
- Basınç,
- CO₂ akış hızı,
- Tanecik büyüklüğü

Bağımlı değişkenler olarak

- Özütlenen yağ miktarı,
- Quercetin, rutin ve kaempferol flavonoidlerinin miktarları alınmıştır.

4.4. Çalışma Aralıkları Planlaması

Basınç çalışma aralığı : 160-240 bar

Sıcaklık aralığı : 35-65 °C

- Parçacık boyut aralığı : ortalama kabulü ile 0,30 mm 0,55 mm ve 0,85 mm şeklinde üç boyutta seçilmiştir.
- Karbon dioksit akış hızı : 3 ila 7 L/min arasında üç farklı CO₂ debisi şeklinde seçilerek uygulanmıştır.

Bu parametrik çalışmalar, önem sırasına göre önce basınç eniyileme sonra sıcaklık eniyileme sonra parçacık boyutu eniyileme ve son olarak CO₂ akış hızı eniyileme şeklinde çalışılmıştır.

4.5. Numunelerin Hazırlanması

Deneylerde kullanılan Kızılçam kozalağı Ankara Gölbaşındaki kızılçam ormanından toplanarak alınmıştır. Deneylerde kullanılan iğde meyvesi ise Afyon bölgesinden dalından toplanmak suretiyle temin edilmiştir. Ayva çekirdekleri ise Gazi Üniversitesi mediko sosyal tesislerinden alınarak temin edilmiştir. İğde ve ayvaların çekirdekleri çıkartıldıktan sonra, kızılçam kozalakları iğde ve ayva çekirdekleri 30 °C ta sabit tartıma gelmeleri için ışıksız ortamda Nüve marka etüv içerisinde bir gün bekletilmiştir. Kurumalarının ardından plastik kaplara alınarak bekletilmişlerdir. Numunelerin nem içeriğinin, süperkritik özütleme verimine olumsuz etkide bulunduğu bilinmektedir. Doğal bileşiklerin SCCO₂ ekstraksiyonlarında, su aktivitesi bileşenlerin birbirleri ile olan etkileşimleri üzerinde rol oynayan en önemli faktördür. Bitki dokularında bulunan su, SCCO₂ ile girişim yaparak SFE'yi etkileyebileceği gibi, örnek matriksinde değişikliğe neden olarak SCCO₂'nin difüzyonunu da engelleyebilir. Bu yüzden meyve ve sebze örnekleri SCCO₂ işleminden önce kurutulmuşlardır. Nemin tamamen uzaklaştırılması için örnekler etüvde veya derin dondurucuda kurutulmuştur Majdi, Barzegar, Jabbari, ve Agha (2012). Nemin kaynaklanan sorunları tamamen gidermek için örneklerde 32 hidromatriks ve 2,2-dimetoksi-propan (DMP) gibi adsorbentlerde kullanılabilir. Pek çok çalışmada ekstraksiyon veriminin azalan nem ile arttığı gözlenmiştir.

Özütleme öncesindeki numune hazırlama işlemlerinde kurutulan numuneler önce çeneli kırıcıda kırılmış daha küçük boyutlar için bitki değirmeninde öğütülmüştür. Bitki değirmeninden sonra daha küçük boyutlara inebilmek için kahve değirmeninde tekrar öğütülmüş ve istenen boyutlara inmesi sağlanmıştır. Daha sonra elek seti kullanılarak farklı elekler yardımıyla boyutlarına göre üç farklı boyda sınıflandırılmıştır.

Özütleme işlemi sonrasında elde edilen özütlerin HPLC cihazında analizi öncesinde numune şişelerindeki özütlerin etanol ile 3 defa yıkanarak alınması işlemi ve uygun PTFE filtre kullanılarak süzildükten sonra HPLC cihazına enjeksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir.

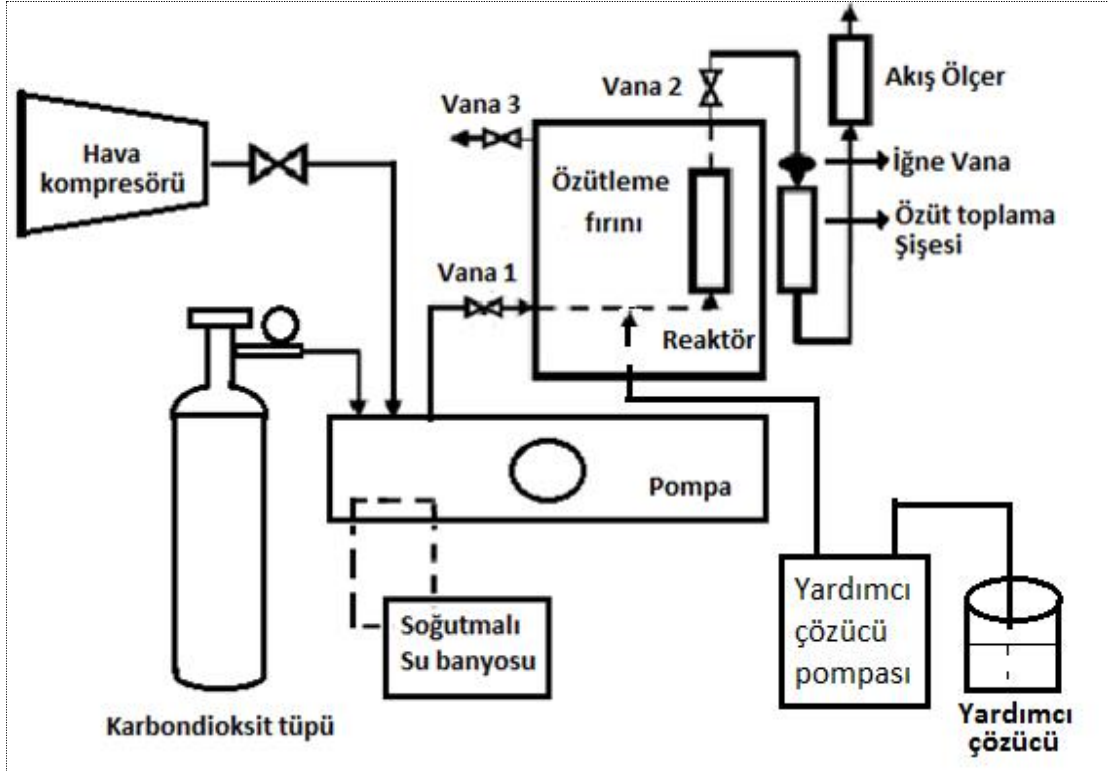
Özütleme sonrasında uygun ilk ve son numunelerin SEM cihazı görüntüleri için numune hazırlanmasında iletken olmayan bitkisel toz numunelerin Au-Pd kaplama ile kaplanması işlemleri jeol marka SEM cihazı kaplama aksesuarı ile 3 katlı olarak ve 180 er saniye süre ile kaplanması işlemleri gerçekleştirilmiştir.

4.6. Özütlerin Eldesi

Tohumlardaki yağ özütleme işlemi süperkritik şartlardaki karbon dioksitin çözücü olarak kullanıldığı laboratuvarımızda bulunan Applied separation cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sisteme sifonlu CO₂ tüpünden sıvı CO₂, kompresörden basınçlandırma havası, hava pompası ile basınçlandırma, devridaim banyo sistemi ile de pompa ünitesine gelerek CO₂ in basınçlandırılması işleminde kullanılan hava pompalaması esnasında oluşan ısının uzaklaştırılması sağlanmıştır. Fırında istenen sıcaklığa getirilen ve 24 mL hacimli olan ekstraktörden özütlenen maddeler toplama kaplarına alınmıştır. Sisteme bağlı akış ölçer ise istenen CO₂ miktarının numuneden sürekli geçirilmesini kontrol etmekte kullanılmıştır.

Toplanan özütler darası alınmış toplama şişelerine alınmış ve 2 saatlik özütleme işlemi sonrasında alınan özüt miktarlarının ağırlıklarının ölçülmesi gerçekleştirilmiştir. Numune şişesine numune çıkış sıcaklığının mümkün olduğunca katı CO₂ oluşturmayacak kadar sıcak ve çıkış akımının numune kaybına neden olmaması ve buharlaşmayı kolaylaştırmaması içinde olabildiğince soğuk tutulması dengesi gözetilmiştir. Çıkış CO₂ sıcaklığı yaklaşık 0 °C ila 5 °C arasında tutulmaya çalışılmıştır.

Şekil 4.4 'te verilen sistem şemasını gösterir resim özgün hazırlanmıştır.



Şekil 4.4. Süperkritik akışkan özütleme sistemi akım şeması

4.7. Özütlerin Analizi

Elde edilen özütler aranan flavonoidlerin tamamının da iyi çözündüğü bir çözücü kullanılarak miktersal analizleri yapılmak üzere HPLC cihazına verilmiştir.

4.8. Numunelerin Çözülmesi

Muhtemel çözücüler Su, Etanol, DMSO (Dimetil sülfoksit) ve DMF (Dimetil formamit) dir ancak aranan flavonoidlerin bazıları su ortamında çözünmemekte veya az çözündüğünden organik çözücü tercih edilmiştir. Quercetin, kaempferol ve rutin bileşikleri farklı çözücülerde farklı miktarlarda çözünmektedirler. Çözücü olarak yüksek çözücülüğe sahip ve diğerlerinden organik çözücü kalıntısı bakımından daha az zararlı olan etanol tercih edilmiştir. Numuneler numune toplama şişesinden ardışık olarak 1'er ml etanol eklenerek toplamda 3 ml etanol ile çözme temizleme ve kalıntı bırakmama şeklinde yıkanarak alınmış ve derin dondurucuda depolanmıştır. Böylelikle SCCO₂ özütleme cihazına bağlanan numune toplanan şişelerde numune kalmaması amaçlanmıştır.

4.9. Numunelerin Süzülmesi

İğde çekirdeği özütlerinin 3 ml etanoldeki numunelerinin bulanık olduğu gözlenmiş ve HPLC cihazına verilmeden önce MN Chromafil Xtra marka 0,20 µm lik PTFE tipteki filtrelerden geçirilerek süzölmüşlerdir.

4.10. Analiz Yönteminin Oluşturulması

HPLC cihazında mevcut kolon kullanılarak literatürden bulunan flavonoid analiz yöntemlerinden değişik yöntemler ile bileşenlerin analizine çalışılmış ancak standart maddelere ait piklerin birbiri üzerinde omuzlu olarak çıkması, topluca büyük bir veya birkaç pik şeklinde çıkması, analiz başında solvent piki ile bütünleşik ve ölçülemez şekillerde çıkması nedenleri ile yöntem oluşturulamamıştır. Her üç bileşeninde içinde olduğu standart çözeltilerin matriks etkisi ve karışabileceği ya da ayırlamadığı değerlendirilerek bunun yerine her bir bileşiğin farklı konsantrasyonlardaki standart çözeltileri hazırlanarak deneyler tekrarlanmışsa da numunelerin enjeksiyonunda numune matriksi içinde de yine omuzlu ve iç içe piklerin görülmesi tek bileşenli kalibrasyon işlemini kullanılamaz hale getirmiştir. Bu nedenle bileşenlerin tek tek analizlerinden vazgeçilerek çoklu kalibrasyon çalışmaları sürdürölmüştür.

İsokratik çalışmalar boyunca deiyonize saf su ve asetonitril mobil fazlar olarak değişik oranlarda verilmiş ancak ideal ayırma ulaşılamamıştır, başka yöntemlerden aynı mobil fazlar ile gradient (basamaklı) çalışma yöntemleri uygulanmış A ve B oranları ve akış yüzdeleri değiştirilmiş farklı birçok konfigürasyon denenmiş ancak yine de ideal ayırma ulaşılamamıştır. Mobil fazlara yine literatürde uygulanan flavonoid ayırma yöntemlerinden olan asetik asit ilavesi esas alınarak hem isokratik hem gradiyent çalışmalar tekrarlanmış ancak yine ideal ayırma ulaşılamamıştır. Literatürden yeni mobil faz karışımları yeni gradiyent çalışma programları deneyerek piklerin ayrı ayrı geldiği miktarsal çalışmaların sağlıklı yapılacağı bir yöntem oluşturmaya çalışılmıştır. HPLC kolonunun ayırım gücü sorunu olabileceği düşünölerek Ascentis express C18 10 cm x 3 mm 2,7 µm tipte yeni kolon temin edilerek çalışmalar tekrarlanmıştır. Bu çalışmalar 3 ay kadar sürmesi ve 250 kadar HPLC analizi yapılması sonrasında nihayet A mobil fazının % 0,1 oranında formik asit içerdiği Deiyonize saf su ve B mobil fazının % 75 asetonitril ve % 25 metanol olarak

uygulanmıştır. Aşağıda ayrıntıları verilen gradiyent çalışma programı ile her bir standart maddenin piklerinin ayrıldığı verimli HPLC yöntemi oluşturulmuştur.

Çalışmalar oda sıcaklığında, A ve B taşıyıcı fazları sabit toplam 0,5 ml/min akışı hızında ve 256 nm dalga boyunda başarıyla uygulanmıştır.

Gradiyent (basamaklı) çalışma programı;

A (Deiyonize su % 99,9 ve Formik asit % 0,1)

B (% 75 Asetonitril ve % 25 Metanol) için

t: 0 dakika	% 80 A
	% 20 B
t: 5 dakika	% 60 A
	% 40 B
t: 10 dakika	% 30 A
	% 70 B
t: 15 dakika	% 80 A
	% 20 B
t: 20 dakika	program sonu

A ve B çözücüsünden yukardaki karışım oranları ile mobil faz beslemesi yapılmış program ise piklerin ayrılması için toplam 20 dakikalık süre şeklinde uygulanmıştır.

Bu analiz yöntemi ile quercetin rutin ve kaempferol kalibrasyon standartlarını çalışabildiğimiz lineer (doğrusal) aralık olarak öncelikle 0,05 ppm ile 50 ppm aralığındaki 0,05 ppm, 0,2 ppm, 2 ppm, 5 ppm 10 ppm, 20 ppm ve 50 ppm şeklinde toplam 7 noktada çalışılmış daha sonra özütlerdeki aktif madde miktarlarının 10 ppm'i geçmemesinden dolayı kalibrasyon aralığı 0,05 ppm, 0,2 ppm, 1 ppm, 2 ppm 5 ppm ve 10 ppm olarak yeniden çalışılmıştır.

Bu kalibrasyon grafiklerinin r^2 değerleri, quercetin için 0,9916 rutin için 0,9969 kaempferol için 0,9905 şeklinde hesaplanmıştır. Bazı kalibrasyon çalışmaları ekler kısmında verilmiştir. Numunelere ait çalışmalar ve standart maddelere ait çalışılmalarda kalibrasyonda esas alınan pik alanlarına göre ppm cinsinden standartlardaki ve numunelerdeki aktif madde konsantrasyonları hesaplanmıştır.

5. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

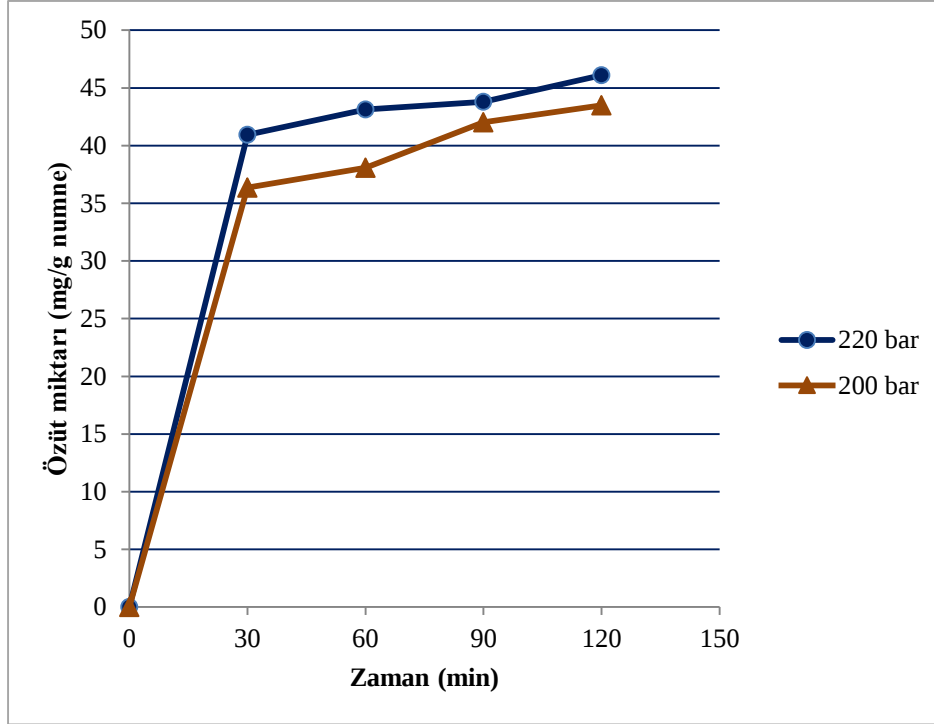
5.1. Kızılçam Kozalağı Çalışmaları

5.1.1. Kızılçam kozalağı için özüt miktarı eniyileme

Bu bölümde Kızılçam kozalağından elde edilen özüt miktarlarının basınç, sıcaklık parçacık boyutu, karbon dioksit akış hızı ve özütleme süresi parametrelerinden nasıl etkilendiği incelenmiştir. Elde edilen bulgular zamanla değişen özüt miktarı verisi bulunan Çizelge 5.1 ile başlanarak aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 5.1. Kızılçam kozalağının özütleme suresine göre özüt miktarları

Zaman (min)	200 bar Özüt miktarı (mg/g)	220 bar Özüt miktarı (mg/g)
0	0	0
30	36,36	40,94
60	38,08	43,14
90	42,02	43,80
120	43,50	46,10



Şekil 5.1. Kızılçam kozalağından zamana karşı alınan özüt miktarları

Kızılçam kozalağı için özütleme süresinin tayin edilmesi amacıyla iki farklı basınçta yapılan çalışmalarda her 30 dakikada bir alınan ölçümler sonucunda elde edilen özüt miktarlarını gösterir grafik Şekil 5.1 de verilmiştir. Bu çalışmalar sıcaklığın 35 °C, CO₂ akış hızının 5 ml/min olduğu ve parçacık boyutunun 0,55 mm olduğu şartlarda yapılmıştır.

Bu grafikten de anlaşılacağı üzere özütleme süresinin verime etkisi genellikle ilk 50 dakikanın içerisinde maksimuma yaklaşmaktadır. Yapılan çalışmalarda QRK maddelerinin özüt içinde geliş zamanları incelendiğinde yaklaşık % 93 lük kısmının ilk 90 dakika içinde geldiği tespit edildiği için aktif maddelerin yüksek miktarlarda elde edilebilmesi için her bir numune için deney süresi 120 dakika olarak belirlenmiştir.

Kızılçam kozalakları için özüt miktarının en çok olması prensibi ile parametrik eniyileme yapılmış ve deneysel veriler Çizelge 5.2 de verilmiştir. Bu çalışmalar esnasında başlangıçta sabit alınan bağımsız parametreler literatüre uygun olarak 140 bar, 35 °C, 5 L/min CO₂ akış hızı, 0,55 mm parçacık boyutu 120 dakika özütleme süresi şeklindedir.

Çizelge 5.2. Kızılçam kozalağı numunesi özüt miktarı eniyilemeye ait veriler

Numune kodları	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ debi miktarları	Özüt miktarı (mg/g)
KÇ1	140 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	34,92
KÇ2	160 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	38,08
KÇ3	180 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	42,46
KÇ4	200 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	43,50
KÇ5	220 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	46,10
KÇ6	35 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	38,08
KÇ7	45 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	32,56
KÇ8	55 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	28,90
KÇ 9	65 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	27,08
KÇ 10	0,30 mm, 35 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂	70,24
KÇ 11	0,55 mm, 35 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂	48,08
KÇ 12	0,85 mm, 35 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂	38,52
KÇ 13	3 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	48,12
KÇ 14	5 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	69,52
KÇ 15	7 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	72,28

KÇ kodlu Kızılçam kozalağına ait en yüksek özüt miktarı için çalışma şartlarının 220 bar, 35 °C, 0,30 mm boyut ve 7 L/min CO₂ olduğu görülmüştür. Özüt miktarı eniyileme ile en yüksek 72,28 mg/g özüt değerine KÇ 15 kodlu numunede ulaşılmıştır.

Özüt miktarı eniyileme sırasında alınan numunelerin her biri HPLC cihazında analize tabi tutulmuş, bu numunelerdeki toplam QRK miktarları hesaplanmış ve Çizelge 5.3 te verilmiştir.

Çizelge 5.3. Kızılçam kozalağı numunelerindeki QRK miktarları

Numune kodları	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ debi miktarları	Özüt içindeki toplam QRK miktarı (µg/g)
KÇ1	140 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	2,37
KÇ2	160 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	3,51
KÇ3	180 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	4,36
KÇ4	200 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	4,48
KÇ5	220 bar 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	4,26
KÇ6	35 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	4,11
KÇ7	45 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	3,06
KÇ8	55 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	2,57
KÇ 9	65 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	2,77
KÇ 10	0,30 mm, 35 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂	5,64
KÇ 11	0,55 mm, 35 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂	4,11
KÇ 12	0,85 mm, 35 °C, 220 bar 5 L/min CO ₂	1,87
KÇ 13	3 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	6,03
KÇ 14	5 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	4,99
KÇ 15	7 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	4,93

Çizelge 5.2 ve 5.3'ten görülebileceği gibi QRK miktarlarının yüksek çıktığı numuneler ile özüt miktarının yüksek çıktığı numuneler aynı numuneler değildir.

Bu hesaplamalara göre toplam QRK nın en yüksek olduğu 6,033 µg/g değerine 220 bar basınçta 35 °C sıcaklıkta 0,30 mm parçacık boyutunda ve 3 L/min CO₂ akış hızında elde edilen KÇ 13 kodlu numunede rastlanmıştır.

Bağımsız değişkenler olan basınç sıcaklık parçacık boyutu ve CO₂ debisine göre özüt ve QRK toplamalarına ait alınan analiz verileri incelendiğinde QRK miktarının yüksek olması talep edildiğinde özüt miktarı eniyilemesinin yeterli olmadığı görülmektedir. Yalnız sıcaklık

ve parçacık boyutu parametrelerinde özüt verimi ile QRK veriminin paralellik gösterdiği basınç parametresinde kısmen paralelliğin sürdüğü ve CO₂ akış hızı parametresinde ise paralelliğin gerçekleşmediği görülmektedir. QRK miktar artırımı için farklı uygun şartların gerekliliği anlaşılmıştır.

5.1.2. Kızılçam kozalağında özüt ve QRK verimlerinin parametrik irdelenmesi

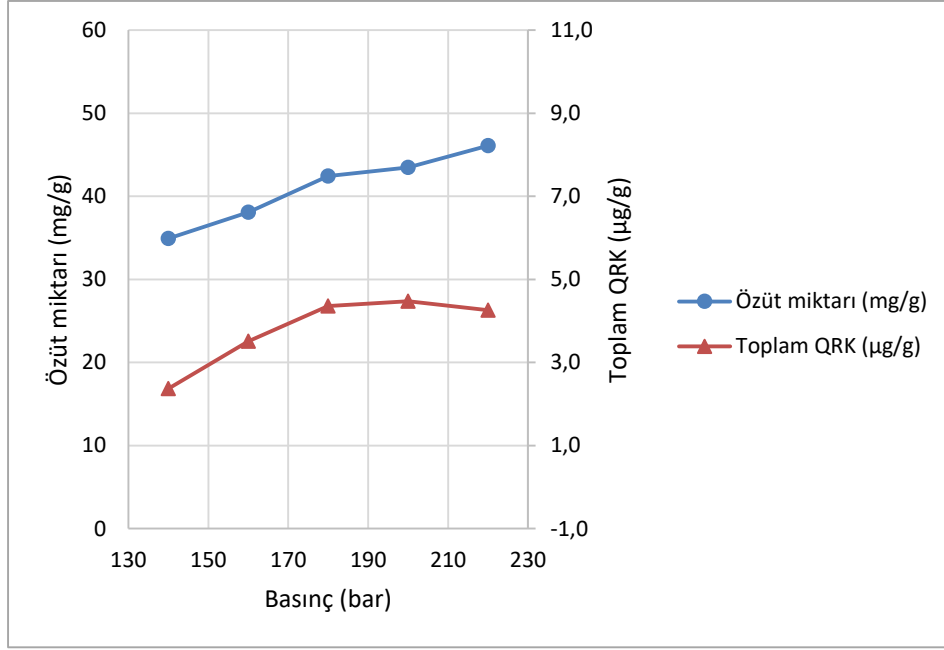
Bağımsız parametrelerin kızılçam kozalağındaki toplam özüt miktarının ve toplam QRK miktarlarını nasıl etkilediğine ilişkin çalışmalara basınç ilişkisi ile başlandı.

Özüt miktarı ve QRK toplamaları ile basınç değişimi verileri Çizelge 5.4 te verilmiştir. Çalışmalar 35 °C, 5 L/min CO₂ akış hızı, 0,55 mm parçacık boyutu ve 120 dakika özütleme süresi şartları sabit tutularak gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 5.4. Kızılçam kozalağı özüt miktarı ve QRK miktarına basınç etkisi verileri

Basınç (Bar)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
140	34,92	2,37
160	38,08	3,51
180	42,46	4,36
200	43,5	4,48
220	46,1	4,26

Özüt miktarı ve QRK toplamaları ile basınç ilişkisi Şekil 5.2 deki grafik ile verilmiştir.



Şekil 5.2. Kızılçam kozalağı özüt miktarı ve QRK miktarına basınç etkisi

Basıncın artması ile özüt miktarının genellikle artması literatürde sürekli karşılaşılan ve gözlenen bir durumdur. Yüksek basınçlarda CO₂ yoğunluğunun artışı ile çözme etkisinin arttığı bilinmektedir. İçen tarafından 2008 yılında yapılan çalışmada kafeinin süperkritik karbon dioksit özütlemesinde basınç artışı ile kafein miktarındaki artışın giderek azaldığı ve belli bir basınçtan sonra ürün miktarına katkısının olmadığı görülmüştür. (İçen, 2008).

Basınç artışı ile 140 bardan 220 bar'a kadar düzenli olarak özüt miktarında artış gerçekleşmiştir.

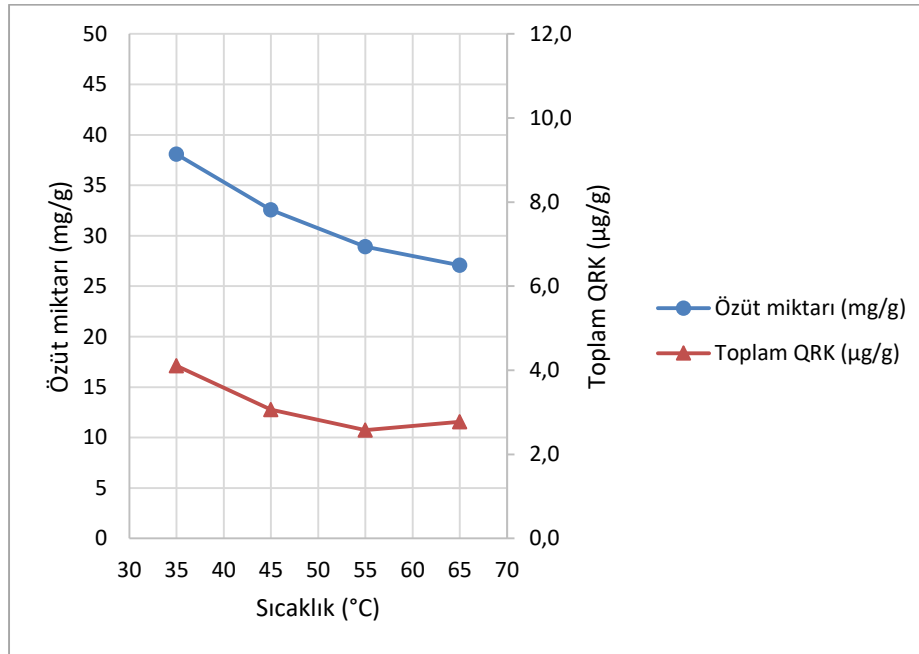
Basınç artışı ile özüt içerisinde bulunan QRK maddeleri toplam miktarı ise 140 ila 200 bar arasında % 88,6 lık artış göstermiş basınç artışı ile genellikle artmaya devam etmiştir. 200 bardan sonra 220 bar çalışmasında basınç artışına rağmen QRK miktarında kayda değer bir yükseliş gözlenmemiştir.

Özüt miktarının en yüksek olduğu 220 bar basınçta deneylere devam edilmiş ve sıcaklık değişkeninin özüt miktarına ve QRK miktarına etkisi Çizelge 5.5 ve Şekil 5.3 te verilmiştir.

Çizelge 5.5. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına sıcaklık etkisi verileri

Sıcaklık (°C)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
35	38,08	4,11
45	32,56	3,06
55	28,90	2,57
65	27,08	2,77

Çizelge 5.5 te verilen çalışmalarda basıncın 220 bar, CO₂ akış hızının 5 L/min, parçacık boyutunun 0,55 mm ve özütleme süresinin 120 dakika olduğu şartlar sabit tutulmuştur.



Şekil 5.3. Kızılçam kozalağı özüt miktarı ve QRK miktarına sıcaklığın etkisi

Özüt miktarının en yüksek gerçekleştiği çalışma şartları 35 °C sıcaklık, 220 bar basınç, 5 L/min CO₂ akış hızı, 0,55 mm parçacık boyutu ve 120 min özütleme süresi olarak bulunmuştur. Sıcaklık artışı ile kızılçam kozalağının özüt miktarında ve QRK miktarlarında azalış olduğu gözlenmektedir. Sıcaklık eniyileme için yapılan bu çalışma sonucu 35 °C de yüksek özüt verimi nedeni ile çalışmalara bu sıcaklıkta devam edilmiştir.

Özüt miktarının sıcaklık artışı ile azaldığını teyit eden bir çalışma şeftali çekirdekleri için yapılmış ve süperkritik karbon dioksit ile yaptıkları özütleme çalışmasında sıcaklık artışının

özütlenen özüt miktarını azalttığını tespit etmişlerdir. (Vicente, Cabanas, Renuncio ve Pando 2009)

Sıcaklık yükseldikçe düşen CO₂ yoğunluğu nedeniyle çözünürlük azalmakta bu nedenle özüt miktarında ve aktif madde miktarlarında düşüş gözlenmektedir. Bu durum, literatürde sıklıkla rastlanan bir durumdur. SCCO₂ yöntemi ile çay artıklarından kafein eldesi çalışmasında, sıcaklığın artmasıyla kafein miktarında düşüş olduğu tespit edilmiştir (İçen ve Gürü, 2009). Yine SCCO₂ yöntemi ile deve dikeninden silibin özütlemesi konusundaki çalışmada, sıcaklık artışının silibin miktarında düşüşe neden olduğu gözlemlenmiştir (Çelik ve Gürü, 2015).

Miktarı çok düşük olan bileşiklerin bitkilerden SCCO₂ yöntemiyle özütlenmesinde düşük sıcaklıklarda daha yoğun olan CO₂ in çözücü etkisi ile aktif madde ve özüt çözünürlüğü artışı ile verimin arttığı bilinmektedir.

Diğer yandan sıcaklık artışı özütlenecek bileşiklerin buhar basınçlarının artmasını sağlayarak bu bileşiklerin akışkan faza difüze olmalarını kolaylaştırabilmektedir. Sıcaklık artışının bu şekilde bileşenlerin yapılarına ve buhar basınçlarına göre bileşen verimini artırma veya buhar basıncı düşük olan büyük moleküller için verimi azaltma etkisi görülmektedir.

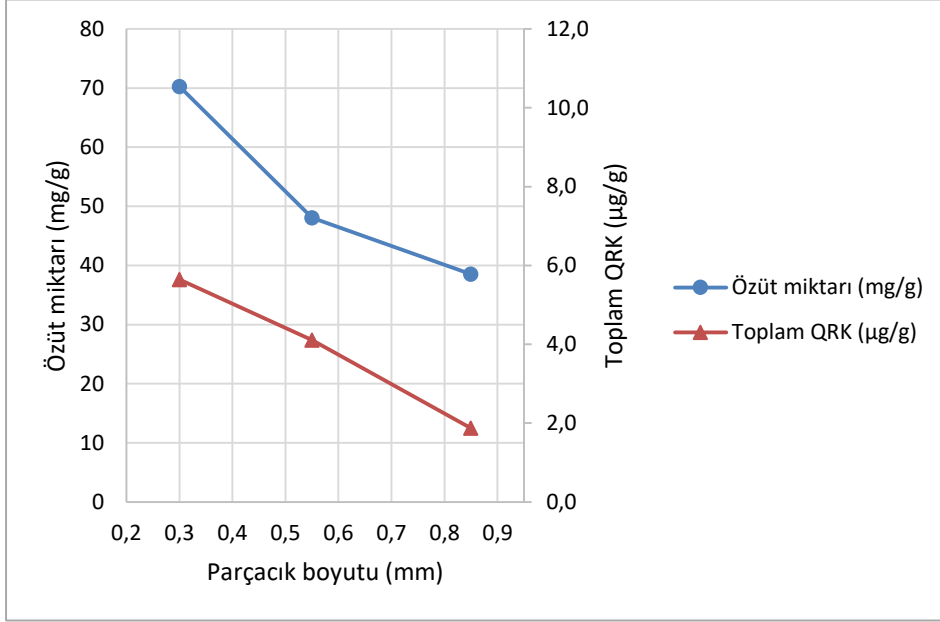
Parçacık boyutunun toplam QRK miktarı ve toplam özüt miktarına etkisi veriler Çizelge 5.6 da verilmiştir.

Çizelge 5.6. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına parçacık boyutu etkisi

Parçacık boyutu (mm)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
0,30	70,24	5,64
0,55	48,08	4,11
0,85	38,52	1,87

Çizelge 5.6 da verilen çalışmalarda 220 bar, 35 °C, 5 L/min CO₂ akış hızı ve 120 dakika özütleme süresi şartları sabit tutulmuştur.

Parçacık boyutunun toplam QRK miktarı ve toplam özüt miktarına etkisi Şekil 5.4 te verilmiştir.



Şekil 5.4. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına parçacık boyutu etkisi

Parçacık boyutunun küçültülmesi numunenin yüzey alanının arttığı dolayısı ile dış kütle aktarım dirençlerinin azalttığı için boyut küçültme ile yapıdaki özüt ve QRK nın çözücüye daha kolay ulaşması sağlanmış olmaktadır.

Parçacık boyutunun küçülmesi özüt ve QRK verimlerinde önemli derecede etkin bulunmuştur. Küçük parçacık boyutu ile yapılan çalışmanın büyük parçacık boyutluya yapılan çalışmaya oranla QRK veriminde % 201,6 lık artış görülmüştür. Bu durum parçacık içi difüzyonun özütleme işlemini kontrol eden basamak olduğunu parçacık boyutunun küçülmesi ile kütle aktarım dirençlerinin azaldığını difüzyonun arttığını göstermektedir.

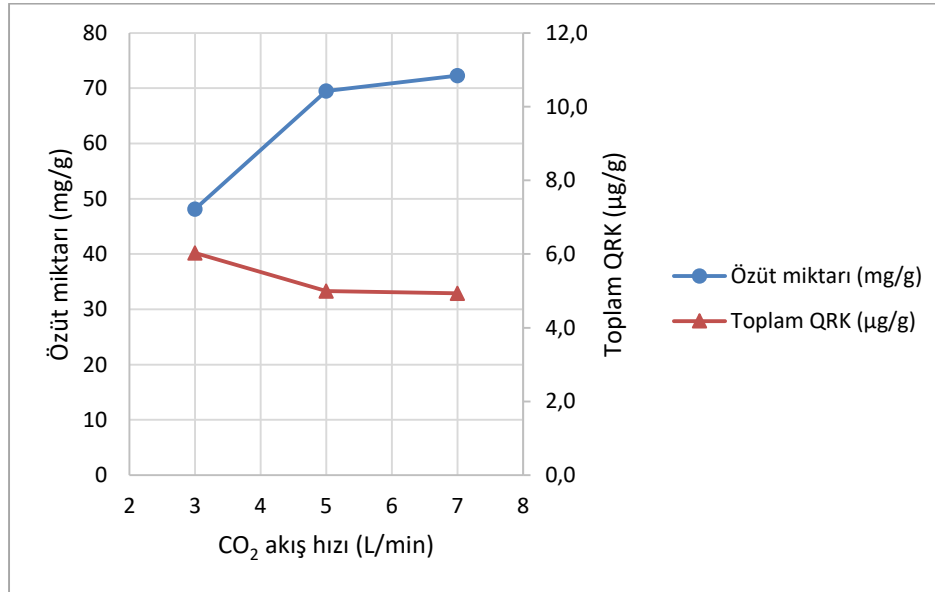
Parçacık boyutunun özütleme işlemine etkisi süreli yayınlardan incelendi. Tanecik boyutu küçüldükçe yüzey alanı artışı olduğu, esansiyel yağların çözücüye daha fazla geçtiği ve kütle transfer dirençlerinin azaldığı, böylece özütleme veriminin arttığı bilinmektedir. Yer fıstığından süperkritik CO₂ ile yağ eldesi çalışması ile tanecik boyutunun küçüldükçe yüzey alanının ve dolayısıyla özütleme veriminin arttığı bulunmuştur. (Revechon ve Marrone, 2001). Parçacık boyutu küçüldükçe verimin yükselmesi, literatürdeki benzer sonuçlarla uyumludur. Deneylere küçük parçacık boyutu olan 0,30 mm ile devam edilmiştir.

Karbon dioksit akış hızının toplam QRK miktarı ve toplam özüt miktarına etkisi için Çizelge 5.7 ve Şekil 5.5 teki grafik verilmiştir.

Çizelge 5.7. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına CO₂ akış hızı etkisi

Karbon dioksit debisi (L/min)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
3	48,12	6,03
5	69,52	4,99
7	72,28	4,93

Çizelge 5.7 de verilen çalışmalarda 220 bar, 35 °C, 0,55 mm parçacık boyutu ve 120 dakika özütleme süresi şartları sabit tutulmuştur.



Şekil 5.5. Kızılçam kozalağı özüt ve QRK miktarına CO₂ akış hızı etkisi

CO₂ akış hızı süreci iki şekilde etkiler. CO₂ akış hızının artması özütleme haznesi içindeki girdapların artmasına, katı ile akışkan arasındaki film kalınlığının azalmasına neden olmaktadır. Bu durum sonucunda verim artmaktadır. Akış hızı daha da artırsa aynı etki katı ve akışkan arasında etkileşim süresini kısaltmakta ve verimi düşürebilmektedir. Çözücü akış hızının sürece etkisi, katı madde yapısı ile yakından ilgilidir.

Özüt veriminde, CO₂ akış hızı 3 ten 5 L/min CO₂ ye çıkarıldığında verim atışı olmasına rağmen 5 L/min CO₂ değerinden 7 L/min CO₂ değerine çıkarıldığında kayda değer bir artış gerçekleşmemektedir. Bahse konu iki durumla da özüt verimindeki çalışmada karşılaşılmıştır. Ancak QRK maddelerinin miktarlarının $\mu\text{g/g}$ olarak birimlendirilmesine dikkat edilirse özüt içerisindeki QRK miktarı oldukça düşüktür.

CO₂ akış hızı artışıyla gerçekleşen QRK miktarındaki düşüş için, zaten düşük miktartlı olan QRK bileşiklerinin CO₂ akış hızının artışı ile ürün toplama kabından CO₂ uzaklaşırken gaz akımı ile bünyesine aldığı aktif maddelerden dolayı olduğu düşünülmektedir.

Literatür çalışmalarından Jojoba tohum yağının süperkritik karbon dioksit özütlemesi çalışmasında CO₂ akış hızının artırılması ile başlangıç özütleme hızının arttığı, ancak özütleme veriminde kaydadeğer bir değişimin olmadığı da belirtilmiştir (Salgın, 2007).

5.1.3. Kızılçam kozalağı için QRK miktarı eniyileme

QRK miktarının en çok olması prensibine göre basıncın, sıcaklığın, parçacık boyutunun ve CO₂ debisinin en yüksek olduğu şartlar Çizelge 5.3 den incelenmiş ve bu şartların 200 bar, 35 °C, 0,3 mm parçacık boyutu ve 3 L/min lik CO₂ debisi şeklinde olduğu tespit edilmiştir. Bu şartlara ait yeni çalışma planlanmış ve analizlenerek toplam QRK miktarı hesaplanarak Çizelge 5.8 de verilmiştir.

Çizelge 5.8. Kızılçam kozalağında en yüksek QRK miktarı çalışma verileri

Numune kodu	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ debi miktarları	Özüt miktarı (mg/g)	Quercetin ($\mu\text{g/g}$)	Rutin ($\mu\text{g/g}$)	Kaempferol ($\mu\text{g/g}$)	Toplam Q R K ($\mu\text{g/g}$)
KÇ-QRK-OPT	200 bar, 35 °C, 0,3 mm, 3 L/min CO ₂	47,14	2,68	2,16	2,52	7,35

Süperkritik karbon dioksit özütlemesi yöntemiyle kızılçam kozalağından elde edilen QRK toplam miktar değeri bu planlanan yeni çalışma şartları ile daha da yükselmiştir. QRK miktarı eniyileme ile özüt miktarı eniyileme verileri kıyaslandığında QRK toplamı için özüt

eniyilemede ulaşılan 6,033 $\mu\text{g/g}$ değeri yanında QRK eniyileme çalışmasında % 21,8 lik bir artışla 7,351 $\mu\text{g/g}$ QRK içeriği tespit edilmiştir.

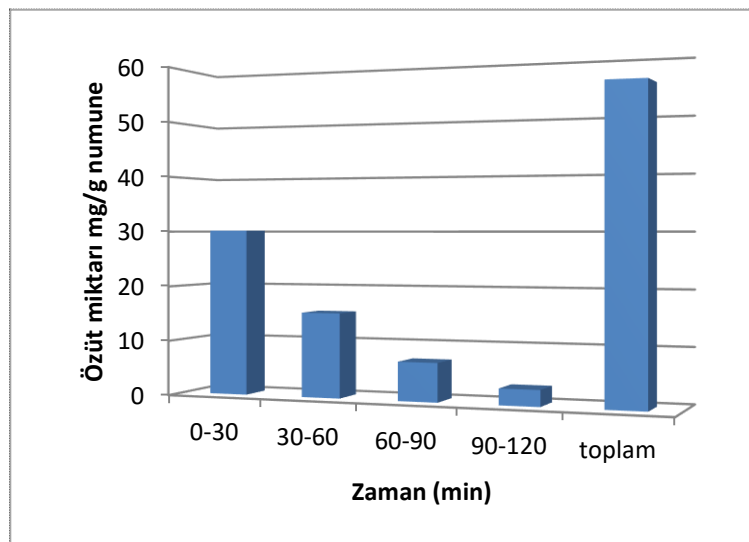
5.1.4. Kızılçam kozalağının zamana karşı özüt ve QRK miktar değişimi

Kızılçam kozalağındaki QRK miktarı için eniyilenmiş şartların belirlenmesinden sonra, aynı şartlarda özüt ve QRK miktarları için zamana karşı madde miktarları değişiminin araştırıldığı deneyler yapılmış ve kaydedilen değerler Çizelge 5.9 ve Şekil 5.6 da verilmiştir.

Tek bir numune için 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda ayrı ayrı dört ara numune alınmış ve bu numuneler tek tek analiz edilerek eniyilenmiş deney şartları çalışması zamana karşı olarak tekrarlanmıştır. Bu çalışmalar QRK miktarının en yüksek olduğu çalışma şartları olan 200 bar, 35 °C, 0,3 mm ve 3 L/min CO₂ koşullarında yapılmıştır.

Çizelge 5.9. Bir kızılçam kozalağı için zamana karşı özüt miktarı ölçümleri

Zaman (min)	Özüt miktarı (mg/g)
0-30	30,18
31-60	15,35
61-90	6,99
91-120	2,92
Toplam	55,44



Şekil 5.6. Bir kızılçam kozalağı için zamana karşı özüt miktarı grafiği

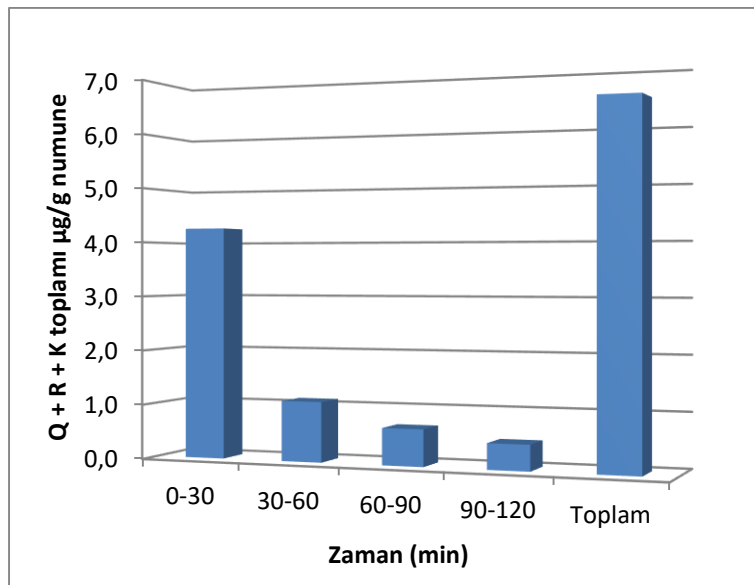
Kızılçam kozalağından alınan özüt miktarının doğrusala yakın biçimde zamanla azaldığı ve ilk 90 dakikalık sürede toplanan özüt miktarının, 120 dakikalık çalışma süresinde toplanan miktarın % 94,7 si olduğu tespit edilmiştir. Çalışma süresinin 120 dakika olarak çalışılmasının özüt miktarı eniyileme çalışması için uygun olduğu bulunmuştur.

Çizelge 5.10. Kızılçam kozalağı için zamana karşı toplam QRK miktarları

Zaman (min)	Toplam Q R K ($\mu\text{g/g}$)
0-30	4,26
31-60	1,10
61-90	0,67
91-120	0,47
Toplam	6,50

Kızılçam kozalağından alınan dört numuneden ölçülen QRK miktarlarının zamanla değişiminin incelenmesi ile doğrusala yakın biçimde zamanla azaldığı QRK miktarı izlenmektedir.

Özüt miktarına benzer şekilde ilk 90 dakikada toplanan özüt miktarının 120 dakikalık çalışma süresinde toplanan miktarın % 92,9'u olduğu tespit edilmiştir. Çalışma süresinin 120 dakika olarak belirlenmesi QRK miktar çalışmaları için de uygun bulunmuştur.



Şekil 5.7. Kızılçam kozalağı için zamana karşı toplam QRK miktarı değişimi

5.1.5. Yardımcı çözücü etanolün kızılçam kozalağı özütlemelerine etkisi

Kızılçam kozalağı numunelerinden sırasıyla özüt eldesi, özütlerde QRK miktarlarının analiz yoluyla hesaplanması ve daha yüksek QRK miktarına ulaşabilmek için QRK miktarının optimize edildiği çalışmalar gerçekleştirildikten sonra aynı numuneden yardımcı çözücü olarak etanolün kullanıldığı çalışma planlanarak farklı etanol yüzdeleri için SCCO₂ işlemi ile QRK içeriği miktarı tespit edilmesi çalışması gerçekleştirildi.

Bu çalışma için QRK eniyilemesinde elde edilen 200 bar, 35 °C, 0,3 mm parçacık boyutu ve 3 L/min CO₂ akış hızı bağımsız değişken verileri kullanılarak % 2, % 5, % 8 etanol oranlarında SCCO₂ işlemleri tekrarlanmış ve sonuçlar Çizelge 5.3 te verilmiştir.

Süperkritik karbon dioksit yardımcı çözücü olarak verilen etanolün besleme miktarları gerekli hesaplamalar sonrası;

% 2 etanol için 0,14 mL/min etanol,

% 5 etanol için 0,36 mL/min etanol,

% 8 etanol için 0,60 mL/min etanol olarak bulunmuştur.

Bu uygulama, yüksek basınç sıvı pompası ile monte edilmiş olan SCCO₂ düzeneğine etanol beslenerek gerçekleştirilmiştir.

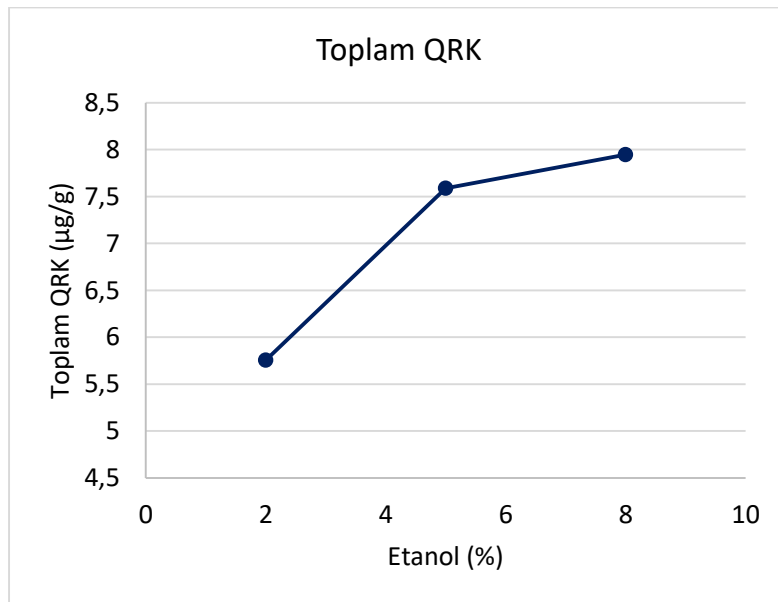
Elde edilen özüt etanol karışımlarının sıvı hacimleri ölçülerek konsantrasyonlarından miktar hesaplarına geçilirken gerekli hacim düzeltmeleri yapılmıştır ve Çizelge 5.11 de ve Şekil 5.8 de toplam QRK sonuçları verilmiştir.

Çizelge 5.11. Kızılcım kozalağında etanol yüzdelere göre QRK miktarları

Numune kodları	V numune (mL)	Quercetin ($\mu\text{g/g}$)	Rutin ($\mu\text{g/g}$)	Kaempferol ($\mu\text{g/g}$)	Toplam QRK ($\mu\text{g/g}$)	Toplam ortalama QRK ($\mu\text{g/g}$)
KÇLN opt %2 EtOH	2,50	0,07	2,47	3,09	5,63	5,76
KÇLN opt %2 EtOH 2	2,50	0,18	2,75	2,95	5,88	
KÇLN opt % 5 EtOH	3,95	4,35	0,00	3,56	7,91	7,60
KÇLN opt % 5 EtOH 2	3,95	4,28	0,00	3,00	7,28	
KÇLN opt % 8 EtOH	4,10	0,00	4,37	3,66	8,03	7,95
KÇLN opt % 8 EtOH 2	2,50	0,00	3,58	4,28	7,86	

Etanol miktarındaki değişim ile elde edilen QRK miktarı arasındaki değişimi gösteren grafik Şekil 5.6 da verilmiştir.

Tekrarlı yapılan analizler sonucunda tespit edilen QRK miktarının QRK eniyileme ile elde edilen 7,351 $\mu\text{g/g}$ değerinden % 8 etanol eklenerek gerçekleştirilen SCCO₂ çalışması ile % 8,2 artışla 7,95 $\mu\text{g/g}$ değerine ulaştığı tespit edilmiştir. Yardımcı çözücü ilavesinin QRK bileşiklerinin özütlenmesini artırdığı literatüre uygun şekilde tespit edilmiştir.



Şekil 5.8. Kızılcım kozalağından QRK özütlenmesinde etanol yüzdesi etkisi

Literatür incelendiğinde yardımcı çözücü ilavesi ile özütleme işleminin verimi arttırdığı görülmektedir. Soya küspesinin kullanıldığı süperkritik karbon dioksit ile özüt eldesi çalışmasında özütlenen yağların verimine sıcaklık, basınç ve etanol yardımcı çözücüsü etkisini incelemişler ve etanol katkısının verimi arttırdığını görmüşlerdir Quitain, Oro, Katoh, Moriyoshi (2006).

Kafeinin süperkritik karbon dioksit içerisindeki çözünürlüğü ile Etanol ve izopropanol yardımcı çözücü eklenerek yapılan özütlemelerde çözünürlüğünün değişimini inceledikleri çalışmalarında %10 etanol içeren karışımdaki kafeinin çözünürlüğünün süperkritik karbon dioksit içerisindeki çözünürlükten 8 kat fazla olduğunu görmüşlerdir (Kopcak ve Mohamed, 2005).

5.2. İğde Çekirdeğine Ait Çalışmalar

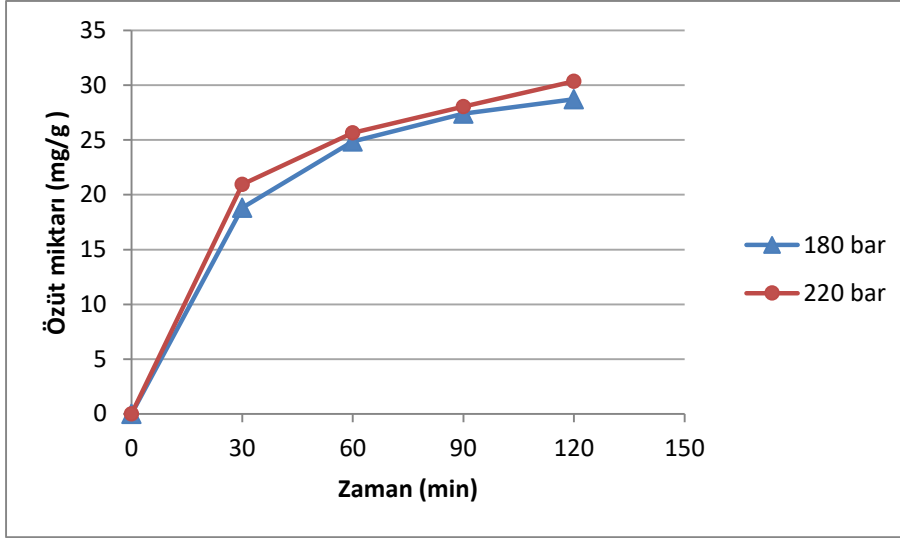
5.2.1. İğde çekirdeği için özüt miktarı eniyileme

Özüt miktarı eniyileme çalışmalarında toplam özütleme süresinin tayini için, iki farklı basınçta zamana karşı özüt toplam miktarları ölçülmüş ve alınan veriler Çizelge 5.12 de verilmiştir.

Çizelge 5.12. İğde çekirdeğinin özütleme süresine göre özüt miktarları

Zaman (min)	180 bar Özüt miktarı (mg/g)	220 bar Özüt miktarı (mg/g)
0	0	0
30	18,81	20,94
60	24,88	25,66
90	27,41	28,04
120	28,71	30,38

İğde çekirdeği için Çizelge 5.12 deki çalışmalar, sıcaklığın 35 °C, CO₂ akış hızının 5 L/min olduğu ve parçacık boyutunun 0,85 mm olduğu şartlarda çalışılmıştır.



Şekil 5.9. İğde çekirdeğinden zamana karşı alınan özüt miktarları

Farklı iki basınçta çalışılan numuneden her 30, 60, 90 ve 120 dakikada tartımlar alınarak elde edilen özüt miktarlarını zamanla değişen miktarları Şekil 5.9 de verilmiştir.

Şekil 5.9 dan da görüleceği üzere 100. dakikadan sonra özüt verimi oldukça yavaşlamaktadır bununla birlikte aradığımız flavonoidler bakımından kaybın az olması amacıyla deney süresi kızıлчаam kozalağı çalışmasına paralel olarak 120 dakika olarak belirlenmiştir.

Süperkritik karbon dioksit özütlemesi yöntemiyle iğde çekirdeğinden en çok özüt elde edilmesi için yapılan eniyilemeye ait veriler, numune kodları ile çalışma şartları Çizelge 5.13 te verilmektedir. Bu çalışmalar esnasında literatüre uygun olarak başlangıç özütleme koşulları 180 bar, 35 °C, 7 L/min CO₂ akış hızı, 0,85 mm parçacık boyutu 120 dakika süre şeklindedir.

Çizelge 5.13. İğde çekirdeğine ait özüt miktarı eniyilemeye verileri

Numune kodları	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ akış hızı miktarları	Özüt miktarı (mg/g)
AFYİ1	180 bar, 35 °C, 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	28,72
AFYİ2	200 bar 35 °C, 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	29,87
AFYİ3	220 bar 35 °C, 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	30,37
AFYİ4	240 bar 35 °C, 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	30,51
AFYİ6	35 °C, 220 bar 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	32,44
AFYİ7	45 °C, 220 bar 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	28,55
AFYİ8	55 °C, 220 bar 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	26,06
AFYİ9	65 °C, 220 bar 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	25,18
AFYİ14	0,30 mm 35 °C, 220 bar 7 ml/min CO ₂	65,89
AFYİ15	0,55 mm 35 °C, 220 bar 7 ml/min CO ₂	54,01
AFYİ16	0,85 mm 35 °C, 220 bar 7 ml/min CO ₂	30,37
AFYİ10	3 ml/min CO ₂ 0,30 mm 35 °C, 220 bar	29,74
AFYİ11	5 ml/min CO ₂ 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	30,15
AFYİ12	7 ml/min CO ₂ 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	32,44

AFYİ kodlu Afyon iğdesi için yapılan özüt miktarı eniyileme çalışması ile 220 bar, 35 °C 0,3 mm boyut ve 7 L/min CO₂ akış hızı parametrelerinde 65,89 mg/g özüt değeri ile en yüksek değer elde edilmiştir.

Afyon iğdesi için yapılan özüt miktarı eniyileme çalışmaları sonrasında alınan bütün numuneler tek tek HPLC cihazında analiz edilerek her bir özütteki quercetin, rutin ve kaempferol miktarları analiz edilmiş ve toplam QRK değerleri Çizelge 5.14 de verilmiştir.

Çizelge 5.14. İğde çekirdeği özüt miktarı eniyileme çalışmalarındaki QRK miktarı

Numune kodları	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ akış hızı miktarları	Özüt içindeki toplam QRK miktarı (µg/g)
AFYİ1	180 bar, 35 °C, 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	0,88
AFYİ2	200 bar 35 °C, 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	0,74
AFYİ3	220 bar 35 °C, 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	0,69
AFYİ4	240 bar 35 °C, 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	0,86
AFYİ6	35 °C, 220 bar 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	1,40
AFYİ7	45 °C, 220 bar 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	1,39
AFYİ8	55 °C, 220 bar 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	1,33
AFYİ9	65 °C, 220 bar 7 L/min CO ₂ , 0,85 mm	2,46
AFYİ14	0,30 mm 35 °C, 220 bar 7 ml/min CO ₂	2,74
AFYİ15	0,55 mm 35 °C, 220 bar 7 ml/min CO ₂	2,40
AFYİ16	0,85 mm 35 °C, 220 bar 7 ml/min CO ₂	0,64
AFYİ10	3 ml/min CO ₂ 0,30 mm 35 °C, 220 bar	2,06
AFYİ11	5 ml/min CO ₂ 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	2,95
AFYİ12	7 ml/min CO ₂ 0,30 mm, 35 °C, 220 bar	1,74

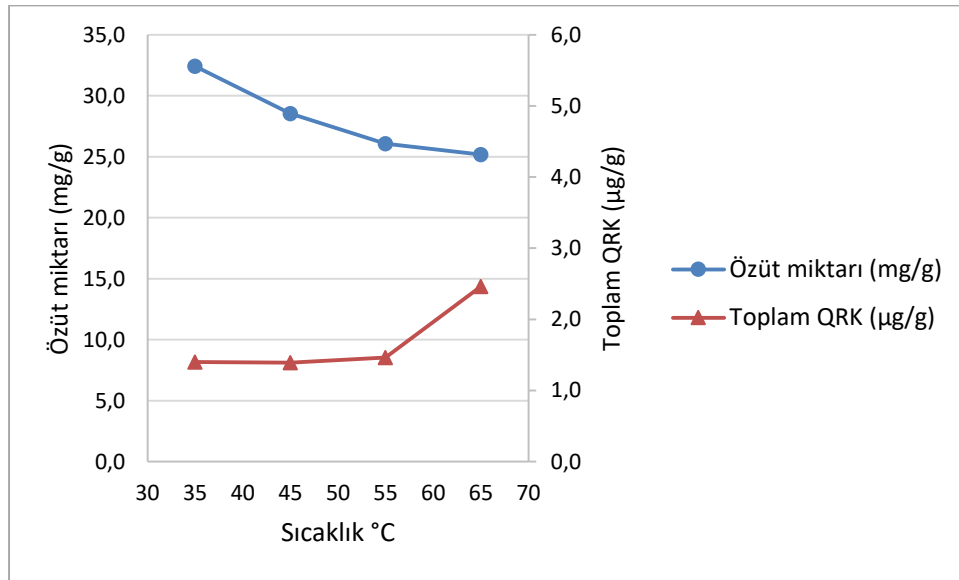
Özütlerdeki en yüksek QRK'nın AFYİ 11 kodlu numuneden 220 bar basınçta 35 °C 0,3 mm boyut ve 5 L/ min CO₂ akış hızında yapılan çalışma ile elde edildiği ve 2.95 µg/g olduğu görülmüştür.

5.2.2. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK verimlerinin parametrik irdelenmesi

Bağımsız parametrelerin iğde çekirdeğindeki toplam özüt miktarını ve toplam QRK miktarlarını nasıl etkilediğine ilişkin değerlendirme çalışmalarına sıcaklık ilişkisi ile başlandı ve deneysel veriler Çizelge 5.15 te verildi. Bu çalışmaya ait grafik ise Şekil 5.10 ile verilmiştir.

Çizelge 5.15. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının sıcaklıkla değişimi

Sıcaklık (°C)	Özüt miktarı (mg/g)	Quercetin (µg/g)	Rutin (µg/g)	Kaempferol (µg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
35	32,44	0,73	0,27	0,40	1,40
45	28,55	0,46	0,00	0,93	1,39
55	26,06	0,49	0,00	0,97	1,46
65	25,18	1,12	0,20	1,15	2,47



Şekil 5.10. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarı ile sıcaklık ilişkisi

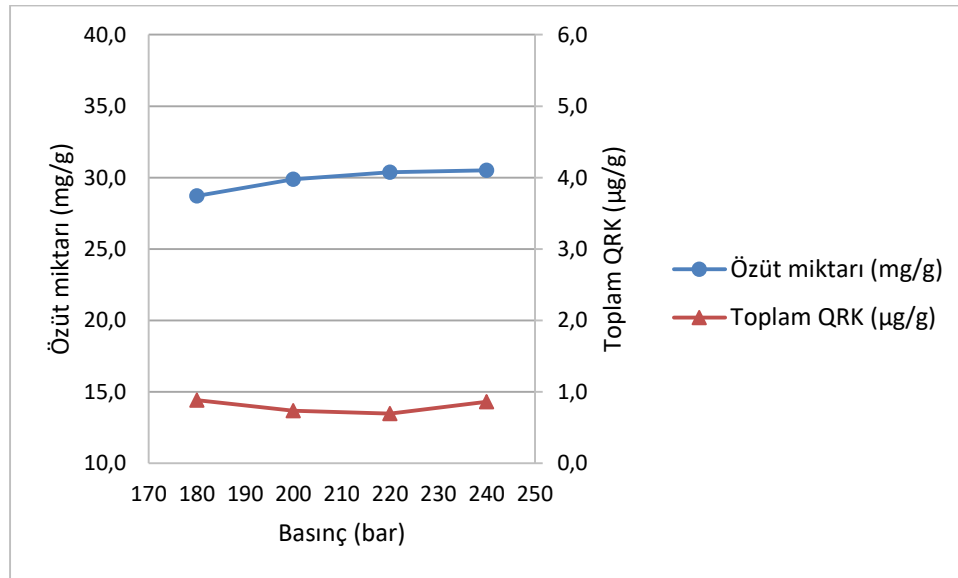
İğde çekirdeklerinin sıcaklık artışı ile içerdikleri özüt ve QRK maddelerinin miktarsal değişimi incelendiğinde sıcaklık artışıyla özüt miktarının azalmasına karşın QRK miktarının 55 °C ye kadar kararlı kaldığı 55 °C den 65 °C ye çıkıldığında % 69,2 oranında arttığı görülmektedir. Sıcaklık artışı ile hem özüt miktarında hem de aktif madde miktarlarında azalma gözlenmesi literatürde karşılaşılan bir durumdur. SCCO₂ yöntemi ile çay artıklarından kafein eldesi çalışmasında sıcaklığın artmasıyla kafein miktarında düşüş olduğunu tespit edilmiştir (İçen ve Gürü, 2009). Yine SCCO₂ yöntemi ile deve dikeninden silibin özütlemesi konusundaki çalışmada sıcaklık artışının silibin miktarında düşüşe neden olduğu gözlemlenmiştir (Çelik ve Gürü, 2015).

Bu çalışmada QRK miktarının sıcaklık artışı ile artma nedeni araştırıldığında sıcaklığın 55 °C den 65 °C ye artışı esnasında quercetin miktarının Çizelge 5.15'ten görülebileceği şekilde

0,49 $\mu\text{g/g}$ dan 1,12 $\mu\text{g/g}$ 'a yükselmesi olduğu anlaşılmaktadır. QRK bileşenlerinden iğde çekirdeğinde bulunduğu bilinen quercetin sıcaklık artışı ile özüt içindeki miktarının artması ve QRK toplam miktarını artırması bu durumu açıklamaktadır. Literatür incelendiğinde iğde çekirdeğinden SCCO₂ yöntemi ile quercetin miktarının optimize edildiği çalışmada quercetin miktarının en yüksek olduğu sıcaklık 65 °C olarak bulunmuştur Nuralın, Tosun, Erol, Akgün ve Gürü (2017). Özüt miktarı ve QRK toplamaları ile basınç ilişkisi Çizelge 5.16 ve Şekil 5.11 deki grafik ile verilmiştir.

Çizelge 5.16. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının basınçla değişimi

Basınç (Bar)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K ($\mu\text{g/g}$)
180	28,72	0,89
200	29,87	0,74
220	30,37	0,69
240	30,51	0,87



Şekil 5.11. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarı ile basınç ilişkisi

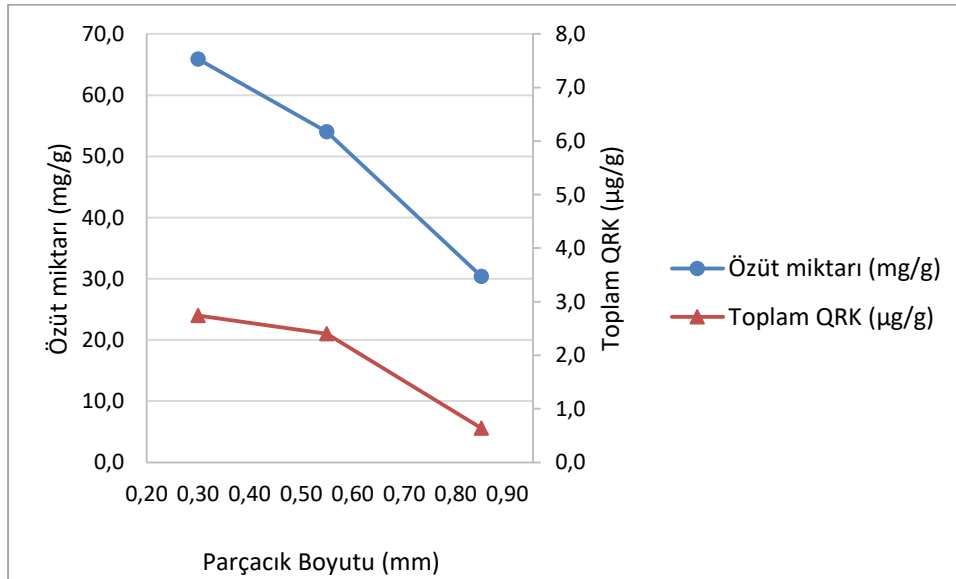
Şekil 5.11 den görülebileceği gibi iğde çekirdeği numunesi için basınç artışı özüt miktarında 180 bardan 240 bara çıkmak ile ancak % 6,2 oranında bir artışa neden olmuştur. QRK miktarında ise basıncın iğde çekirdeği numunesi için çokta etkili olmadığı, yatay bir seyir izlendiği görülmüştür. Enerji maliyetleri ve çalışma kolaylığı açısından verimin yüksek

olduğu basınç seçilmiştir. 180 bar basınca ait çalışmada QRK veriminin en yüksek değer olan 0,89 µg/g olması nedeniyle de deneylere 180 bar basınçta devam edilmiştir.

İğde çekirdeğindeki toplam özüt miktarının ve toplam QRK miktarının parçacık boyutu ile nasıl değiştiği Çizelge 5.17 de ve Şekil 5.12 deki grafikte verilmiştir. Bu çalışmada başlangıç şartları 180 bar, 35 °C, 7 L/min CO₂ ve 120 dakika şeklindedir.

Çizelge 5.17. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının parçacık boyutu verileri

Parçacık boyutu (mm)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
0,30	65,89	2,74
0,55	54,01	2,40
0,85	30,37	0,64



Şekil 5.12. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarına parçacık boyutunun etkisi

İğde çekirdeğinde parçacık boyutunun küçülmesi ile özüt ve QRK çözünme yüzey alanının arttığı dolayısı ile dış kütle aktarım dirençlerinin azaldığı bilinmektedir. Boyut küçültme ile yapıdaki özüt ve QRK'nın çözücüye daha kolay ulaşması sağlanmış olur.

Parçacık boyutunun küçülmesinin özüt ve QRK verimlerinde önemli derecede etkin olarak tespit edilmiştir. Bu durum parçacık içi difüzyonun özütleme işlemi kontrol eden basamak

olduğunu gösterir. Küçük parçacık boyutu ile yapılan çalışmanın büyük parçacık boyutluya oranla QRK veriminde % 331 lik artış olduğu hesaplanmıştır.

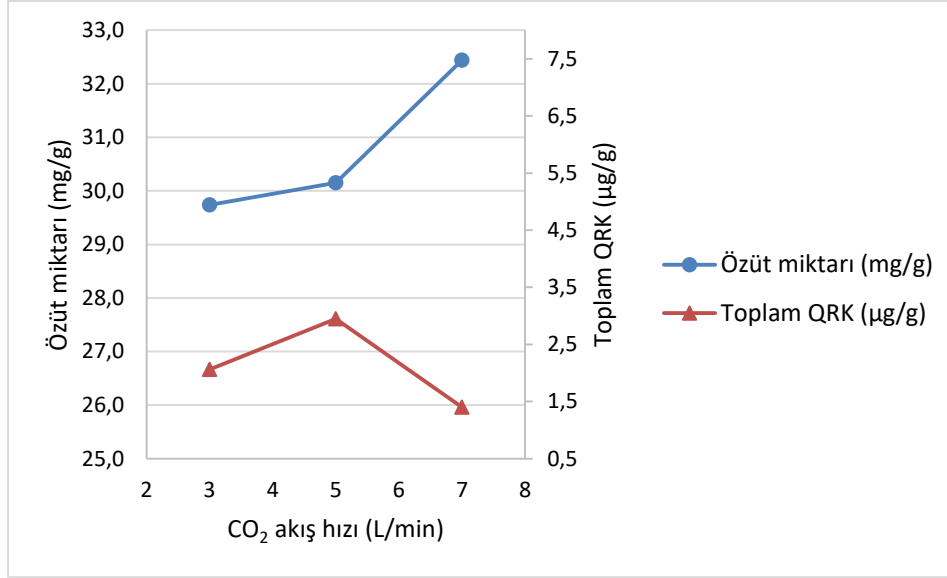
Parçacık boyutunun özütleme işlemine etkisi süreli yayınlardan incelendi. Tanecik boyutu küçüldükçe yüzey alanı artışı olduğu, esansiyel yağların çözücüye daha fazla geçtiği ve kütle transfer dirençlerinin azaldığı, böylece özütleme veriminin arttığı bilinmektedir.

Yer fıstığından süperkritik CO₂ ile yağ eldesi çalışması ile tanecik boyutunun küçüldükçe yüzey alanının ve dolayısıyla özütleme veriminin arttığı bulunmuştur (Revechon ve Marrone, 2001). Parçacık boyutunun verime etkisi konusunda verilerin, literatürdeki benzer sonuçlarla ve kızılçam kozalağına ait bulunan sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir. Deneylere küçük parçacık boyutu ile devam edilmiştir.

İğde çekirdeğindeki toplam özüt miktarının ve toplam QRK miktarının CO₂ akış hızı ile nasıl değiştiğine ilişkin veriler Çizelge 5.18 de ve değişim grafiği Şekil 5.13 te verilmiştir.

Çizelge 5.18. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının CO₂ akışı ile değişimi

Karbon dioksit debisi (L/min)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
3	29,74	2,06
5	30,15	2,95
7	32,44	1,40



Şekil 5.13. İğde çekirdeğinde özüt ve QRK miktarına CO₂ akış hızının etkisi

İğde çekirdeğine ait çalışmalardan CO₂ akış hızının özüt ve QRK miktarına nasıl etki ettiği araştırıldığında, CO₂ akış hızının artması özütleme haznesi içindeki girdapların artmasına, katı ile akışkan arasında film kalınlığının azaltılmasına neden olmaktadır. Bu durumun sonucunda verim toplam özüt miktarı bakımından artmaktadır. Akış hızı arttıkça aynı etki katı ve akışkan arasında etkileşim süresini kısaltmakta ve verimi azaltmaktadır. Çözücü akış hızının sürece etkisi katı madde yapısı ve reaktör içinde oluşan girdaplar nedeniyle özütleme yollarının çokluğu ile yakından ilgilidir.

CO₂ akış hızı 3 ten 5 L/min CO₂ ye çıkarıldığında verim atışı olmasına rağmen 5 ten 7 L/min CO₂ değerine arttırıldığında QRK miktarında düşüş gerçekleşmektedir. QRK maddelerinin miktarlarının µg/g olarak birimlendirilmesine dikkat edilirse özüt miktarı ile QRK miktarı 5 L/min CO₂ değerleri kıyaslandığında özüte oranla yaklaşık 10 000 de bir oranındandır. QRK miktarının 5 L/ min den 7 L/min CO₂ akışına çıkıldığında % 53,5 lik azalışla 1,40 µg/g değerine inmesi, CO₂ akış hızının artışı ile ürün toplama kabından CO₂ uzaklaşırken gaz akımı ile bünyesine aldığı aktif maddelerin bir kısmının bu akımla uzaklaşmasından dolayı olduğu düşünülmektedir.

Literatüre bakıldığında Jojoba tohum yağının süperkritik karbon dioksit özütlemesi çalışmasında CO₂ akış hızının artması ile başlangıç özütleme hızının arttığı ve ancak özütleme veriminde kayda değer bir değişimin olmadığı gibi sonuçlarda alınmıştır (Salgın, 2007).

5.2.3. İğde çekirdeğinde en yüksek QRK miktarı için yapılan çalışmalar

Toplam QRK miktarının en yüksek olması için yapılan çalışmada her bir parametrede QRK toplamının nasıl değiştiği incelenmiştir. 180 bar basınçta en yüksek QRK miktarı olan 0,883 µg/g değerine, 65 °C de 2,464 µg/g değerine, 5 L/min CO₂ akış hızında 2,953 µg/g ve 0,3 mm parçacık boyutunda çalışıldığında 2,742 µg/g değerleri ile en yüksek değerlere ulaştığı görülmüştür. Bu verilerin alındığı P, T, parçacık boyutu ve CO₂ akış hızı değerleri olan 180 bar, 65 °C, 0,3 mm parçacık boyutu ve 5 L/min CO₂ akış hızı şartlarında toplam QRK'nın en yüksek eldesi amaçlı özütleme işlemi yeni bir numune için gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 5.19. İğde çekirdeğine ait en yüksek QRK miktarı çalışma verileri

Numune kodu	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ debi miktarları	Özüt miktarı (mg/g)	Quercetin (µg/g)	Rutin (µg/g)	Kaempferol (µg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
AFY-QRK-OPT	180 bar, 65 °C, 0,3 mm, 5 L/min CO ₂	62,96	1,36	0,96	0,95	3,27

En verimli olan yeni koşullarda yapılan SCCO₂ özütlemesi ve ardından yapılan HPLC analizi sonucunda elde edilen QRK toplam miktarının, özüt eldesi çalışmalarında bulunan en yüksek QRK değeri olan 2,953 µg/g değerinden % 10,7 oranında daha yüksek bir değer olan 3,27 µg/g değerine ulaştığı görülmüştür.

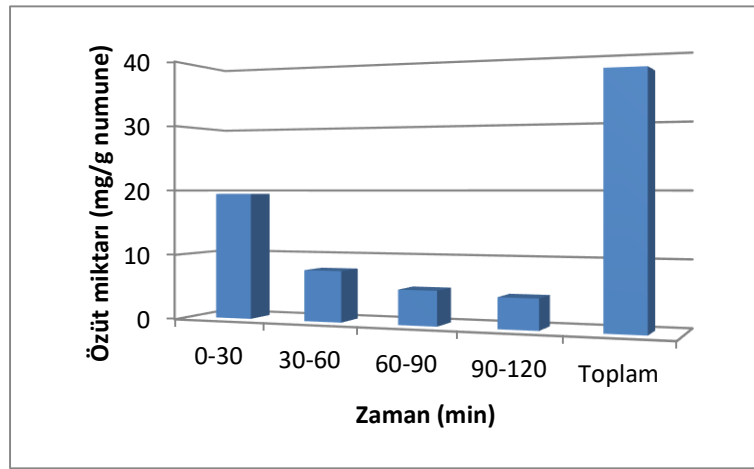
5.2.4. İğde çekirdeğindeki özüt ve QRK miktarlarının zamana karşı değişimleri

İğde çekirdeğindeki QRK miktarı için eniyilenmiş şartların belirlenmesinden sonra, özüt ve QRK miktarları için zamana karşı alınan çalışma süresi ve verim değerlendirme deneyleri yapılmış ve özüt miktarları için alınan veriler Çizelge 5.20 de ilgili grafik ise Şekil 5.14 te verilmiştir.

Tek bir numune için 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda ayrı ayrı dört ara numune alınmış ve bu numuneler tek tek analiz edilerek eniyilenmiş deney şartları çalışması zamana karşı olarak tekrarlanmıştır. Bu çalışma daha önce tespit edilen QRK miktarı eniyileme çalışma şartları olan 180 bar, 65 °C, 0,30 mm, 5 L/min CO₂ koşullarında yapılmıştır.

Çizelge 5.20. İğde çekirdeğinde zamana karşı özüt miktarı değişimi

Zaman (min)	Özüt miktarı (mg/g)
0-30	19,45
31-60	7,80
61-90	5,26
91-120	4,61
Toplam	37,12

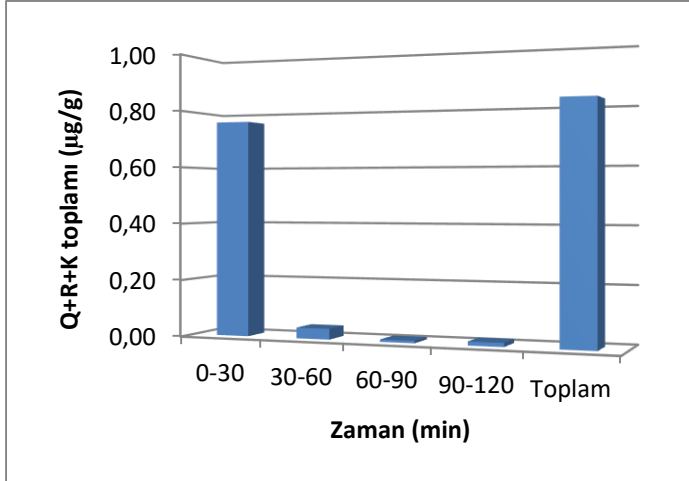


Şekil 5.14. İğde çekirdeğinde zamana karşı özüt miktarı değişim grafiği

QRK miktarları için alınan veriler Çizelge 5.21 de ilgili grafik ise Şekil 5.15 te verilmiştir.

Çizelge 5.21. İğde çekirdeğinde zamana karşı QRK miktarı değişimi

Zaman (min)	Toplam Q R K ($\mu\text{g/g}$)
0-30	0,762
31-60	0,037
61-90	0,008
91-120	0,014
Toplam	0,821



Şekil 5.15. İğde çekirdeği numunesinde zamana karşı QRK miktarı değişimi

Quercetin, rutin ve kaempferol bileşikleri toplamının özütlerle birlikte gelme süreleri ilk 30 dakikada % 92,8 i, ilk 60 dakikada % 97,3 ü şeklindedir. 60. dakikadan sonra gelen miktar % 2,65 olup bu değerlendirme ile endüstriyel uygulamalarda Quercetin, Rutin ve Kaempferol eldesi için üretim planlamalarında işlemin 60 dakikada sonlandırılması işletme maliyetlerinin düşürülmesi için uygun olacaktır.

5.2.5. Yardımcı çözücü etanolün iğde çekirdeği özütlemelerine etkisi

İğde çekirdeği numunelerinden sırasıyla özütlerin elde edilmesi, her bir özütte QRK miktarlarının analizler ile hesaplanması ve daha yüksek QRK miktarına ulaşabilmek için QRK miktarı eniyilemesi çalışması gerçekleştirildikten sonra aynı numuneden yardımcı çözücü olarak etanolün kullanıldığı çalışma planlanarak SCCO₂ işleminin farklı etanol yüzdelğinde yardımcı çözücü ile QRK miktar artışı araştırılmıştır.

Bu çalışma için QRK eniyilemesinde elde edilen çalışma şartları olan 180 bar, 65 °C, 0,3 mm parçacık boyutu ve 5 L/min CO₂ akış hızı parametreleri kullanılarak % 2, % 5, % 8 etanol oranlarında SCCO₂ işlemleri tekrarlanmış ve sonuçlar Çizelge 5.22 de verilmiştir.

Önceki çalışmalarda % 100 olarak numuneye verilen CO₂ yerine farklı oranlarda etanol beslemesi miktarları gerekli hesaplamalar sonrasında;

% 2 etanol için 0,14 mL/min etanol,

% 5 etanol için 0,36 mL/min etanol,

% 8 etanol için 0,60 mL/min etanol olarak bulunmuştur.

Bu uygulama yüksek basınç sıvı pompası ile monte edilmiş olan SCCO₂ düzeneğine etanol beslenerek gerçekleştirilmiştir.

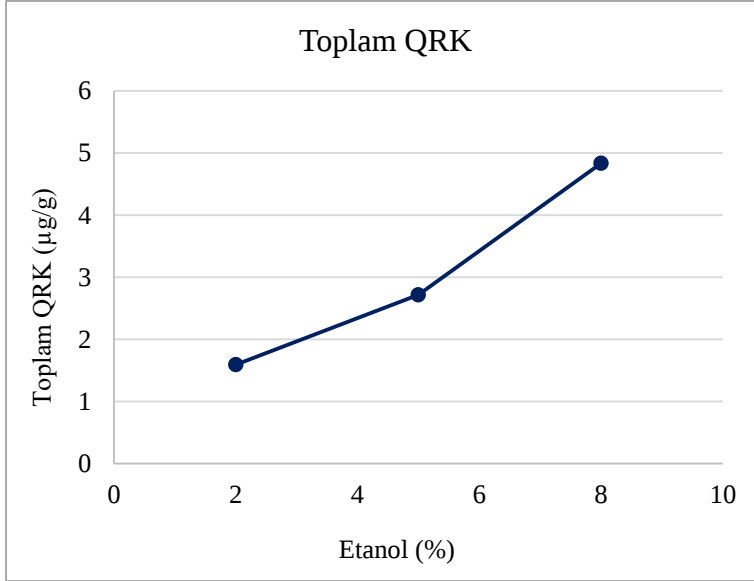
Elde edilen özüt etanol karışımlarının sıvı hacimleri ölçülerek derişimlerinden miktar hesaplarına geçilirken gerekli hacim düzeltmeleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Çizelge 5.22 de ve Şekil 5.16 da toplam QRK değerleri olarak verilmiştir.

Çizelge 5.22. İğde çekirdeğinden etanollü özütlemde QRK miktarları

Numune kodları	V Numune hacmi (mL)	Quercetin (µg/g)	Rutin (µg/g)	Kaempferol (µg/g)	Toplam QRK (µg/g)	Toplam ortalama QRK (µg/g)
Bi AFY LN opt% 2 EtOH	2,5	0,66	0,025	1,16	1,85	1,595
Bi AFY LN opt% 2 EtOH 2	2,5	0,31	0,025	1,01	1,35	
Bi AFY LN opt% 5 EtOH	2,7	1,83	0	0,81	2,64	2,72
Bi AFY LN opt% 5 EtOH 2	2,7	1,97	0	0,83	2,80	
Bi AFY LN opt% 8 EtOH	6,3	1,15	0,022	2,8	3,97	4,835
Bi AFY LN opt% 8 EtOH 2	6,3	1,19	0,025	4,38	5,60	

Etanol ilaveli çalışmadaki QRK miktarının daha önce çalışılan özüt miktarı eniyilemesi ile elde edilen en yüksek değer olan 2,95 µg/g değerinden % 63,7 oranında ve QRK eniyilemesi çalışması ile elde edilen en yüksek değer olan 3,27 µg/g değerinden % 47,8 oranında artışla 4,84 µg/g değerine ulaştığı tespit edilmiştir.

Etanol miktarına bağlı olarak QRK miktarı değişimini gösterir grafik Şekil 5.16 da verilmiştir.



Şekil 5.16. İğde çekirdeğinden QRK özütlemesinde etanol yüzdesi etkisi

Yardımcı çözücü olarak, polar özellikli etanol eklenerek gerçekleştirilen SCCO₂ çalışması ile gerçekleştirilen bu çalışmalarda analizler sonucunda toplam QRK veriminin arttığı görülmüştür.

5.3. Ayva Çekirdeğine Ait Çalışmalar

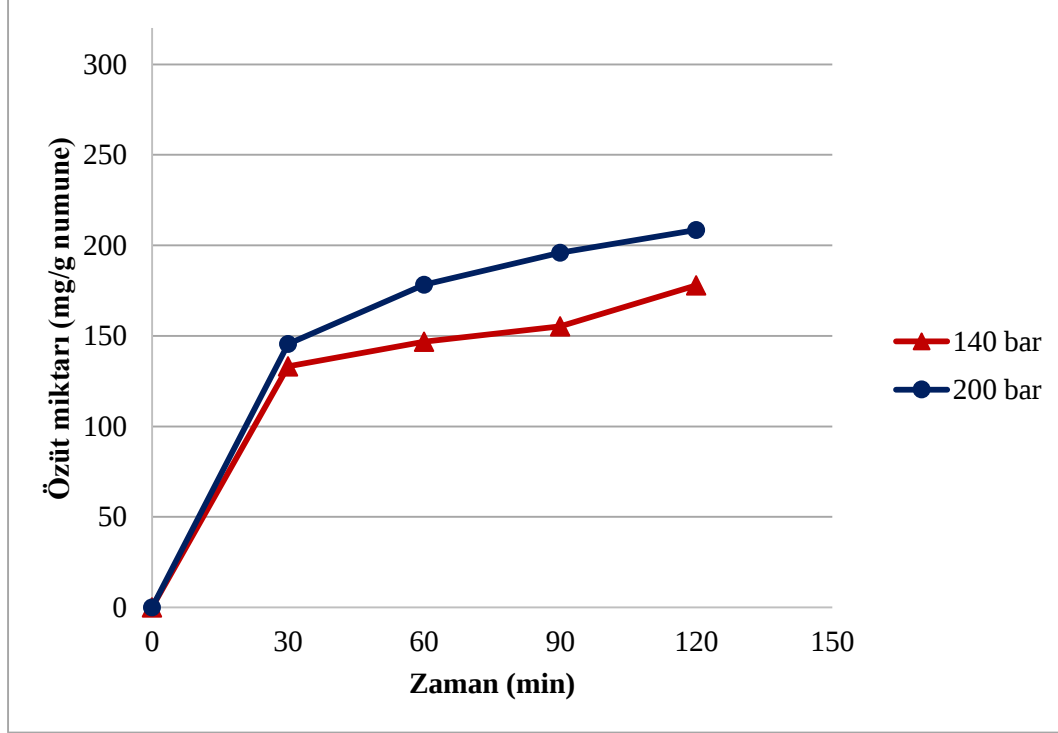
5.3.1. Ayva çekirdeği için özüt miktarı eniyileme

Özüt miktarı eniyilemede özütleme süresinin özüt miktarı üzerine etkisi için öncelikle farklı basınçlarda zamana karşı özüt miktarı ölçülmüştür ve Çizelge 5.23 te verilmiştir.

Çizelge 5.23. Ayva çekirdeğinden alınan özüt miktarlarının zamanla değişimi

Zaman (min)	140 bar Özüt miktarı (mg/g)	200 bar Özüt miktarı (mg/g)
0	0	0
30	133,14	145,62
60	146,80	178,18
90	155,28	195,98
120	177,90	208,56

Özütleme suresinin özüt miktarı üzerine etkisi için yapılan çalışmaya ait grafik Şekil 5.17 de verilmiştir.



Şekil 5.17. Ayva çekirdeğinden zamana karşı alınan özüt miktarları

Ayva çekirdeğinden iki farklı numune için 140 ve 200 bar basınçlarda zamana karşı özütler alınmıştır. Sıcaklığın 35 °C, CO₂ akış hızının 5 L/min olduğu ve parçacık boyutunun 0,55 mm olduğu şartlarda numunelerden her 30, 60, 90 ve 120 dakikalık sürelerde alınan birer numuneye ait özüt miktarları Şekil 5.17 de verilmiştir. Şekil 5.17 den de görüleceği üzere 100 dakikanın üzerinde çalışmanın sürdürülmesi özütleme verimini önemli ölçüde artırmamaktadır.

Çalışma süresi belirlenmesi için araştırdığımız flavonoidlerin yüksek miktarda elde edilebilmelerini temin için deney süresi diğer çalışmalara paralel şekilde yine 120 dakika olarak belirlenmiştir.

Ayva çekirdekleri için Süperkritik karbon dioksit özütlemesi yöntemiyle iğde çekirdeğinden en çok özüt elde edilmesi için yapılan eniyileme çalışmalarına ait veriler, numune kodları ile çalışma şartları Çizelge 5.24 te verilmektedir.

Bu çalışmalar esnasında başlangıhta sabit alınan bağımsız parametreler literatüre uygun olarak 140 bar, 35 °C, 5 L/min CO₂ akış hızı, 0,55 mm parçacık boyutu şeklindedir. Özütleme suresi için kızılçam kozalağı ve iğde çekirdeğinde yapılan çalışmalara paralel olarak 120 dakikalık süre ile deneylere devam edilmiştir.

Çizelge 5.24. Ayva çekirdeğinden özüt miktarı eniyilemeye ait veriler

Numune kodları	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ debi miktarları	Özüt miktarı (mg/g)
ALN 1	140 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	187,66
ALN 2	160 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	188,24
ALN 3	180 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	193,42
ALN 4	200 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	196
ALN 5	220 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	195,32
ALN 6	35 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	196
ALN 7	45 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	186,54
ALN 8	55 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	184,2
ALN 9	65 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	169,34
ALN 10	0,30 mm, 35 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂	212,4
ALN 11	0,55 mm, 35 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂	184,2
ALN 12	0,85 mm, 35 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂	143
ALN 13	3 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 200 bar	191,06
ALN 14	5 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 200 bar	131,44
ALN 15	7 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 200 bar	167,56

ALN kodlu ayva çekirdeğine ait özüt miktarı eniyileme ile ALN 10 numunesinde 212,40 mg/g özüt değerine ulaşılmıştır.

Ayva çekirdeğinde özüt eniyileme sonrası alınan her bir özüt numunesindeki toplam QRK miktarları HPLC cihazında analiz edilmiş ve toplam QRK miktarları Çizelge 5.25 de verilmiştir.

Çizelge 5.25. Ayva çekirdeğinden özüt miktarı eniyilemedeki QRK miktarları

Numune kodları	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ debi miktarları	Özütteki toplam QRK miktarı (µg/g)
ALN 1	140 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,115
ALN 2	160 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,117
ALN 3	180 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,120
ALN 4	200 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,103
ALN 5	220 bar, 35 °C, 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,083
ALN 6	35 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,103
ALN 7	45 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,110
ALN 8	55 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,178
ALN 9	65 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂ , 0,55 mm	0,123
ALN 10	0,30 mm, 35 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂	0,200
ALN 11	0,55 mm, 35 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂	0,178
ALN 12	0,85 mm, 35 °C, 200 bar 5 L/min CO ₂	0,169
ALN 13	3 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 200 bar	0,058
ALN 14	5 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 200 bar	0,051
ALN 15	7 L/min CO ₂ , 0,30 mm, 35 °C, 200 bar	0,091

En yüksek QRK miktarı yine ALN 10 numunesinde 0,2 µg/g olarak tespit edilmiştir.

Ayva çekirdeğinden özüt eniyileme işlemi sonrası alınan numunelere ait özüt miktarlarının ve toplam QRK miktarlarının bağımsız parametreler ile nasıl değiştiği incelenmiş ve grafikler halinde değerlendirilmiştir.

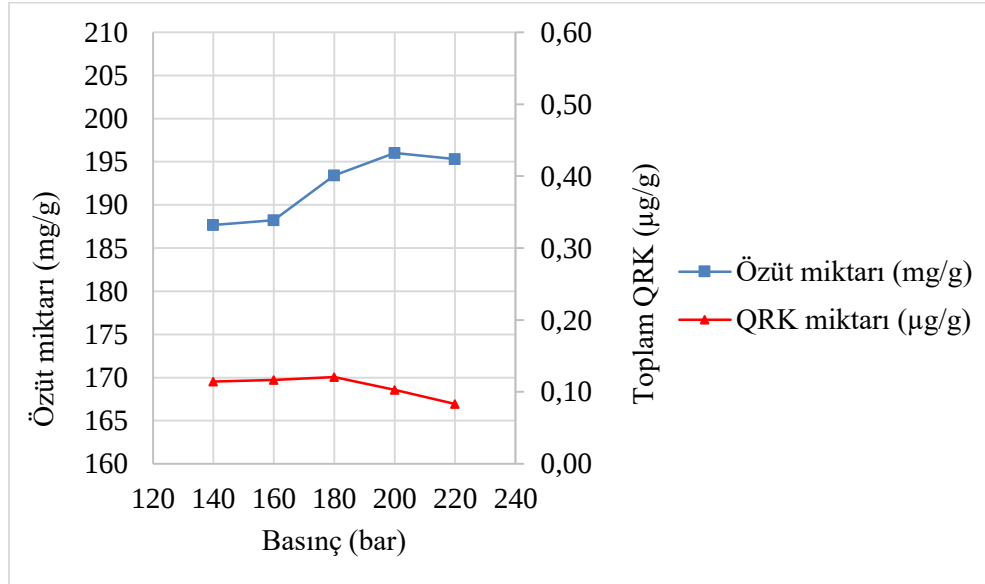
5.3.2. Ayva çekirdeğindeki özüt ve QRK verimlerinin parametrik irdelenmesi

Bağımsız parametrelerin ayva çekirdeğindeki toplam özüt miktarının ve toplam QRK miktarlarını nasıl etkilediğine ilişkin çalışmalara diğer çalışmalarla paralel şekilde basınç ilişkisi ile başlandı.

Özüt miktarı ve QRK toplamaları ile basınç ilişkisi Çizelge 5.26 da ve Şekil 5.18 deki grafik ile verilmiştir.

Çizelge 5.26. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının basınçla değişimi

Basınç (Bar)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K ($\mu\text{g/g}$)
140	187,66	0,115
160	188,24	0,117
180	193,42	0,120
200	196,00	0,103
220	195,32	0,083



Şekil 5.18. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarlarının basınçla değişimi

Ayva çekirdeği özütlenmesinde basıncın artması ile özüt miktarının genellikle artması literatürde sürekli karşılaşılan ve gözlenen bir durumdur 160 bardan 200 bar'a kadar düzenli olarak özüt miktarında artış beklendiği şekilde gerçekleşmiş sonrasında yatay bir seyir

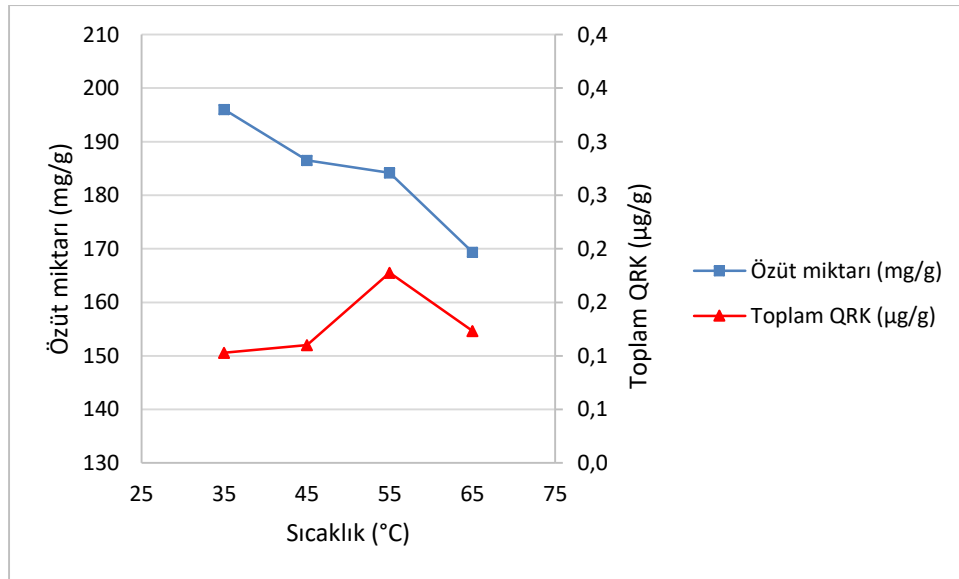
izlemiştir. Basınç artışı ile özüt içerisinde bulunan QRK maddeleri toplam miktarı ise 180 bar'a kadar kısmen artış göstermiş 180 bar dan sonra kısmen azalış göstermiştir. Ayva çekirdeğinde QRK miktarının genel olarak basınç ile kayda değer şekilde etkilenmediği görülmüştür.

İçen tarafından 2008 yılında yapılan çalışmada kafeinin süperkritik karbon dioksit özütlemesinde basınç artışı ile kafein miktarındaki artışın giderek azaldığı ve belli bir basınçtan sonra ürün miktarına katkısının olmadığı görülmüştür (İçen, 2008).

Ayva çekirdeğinde toplam QRK miktarı ve toplam özüt miktarına sıcaklığın etkisi Çizelge 5.27 de ve Şekil 5.19 daki grafik ile verilmiştir.

Çizelge 5.27. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarının sıcaklıkla değişimi

Sıcaklık (°C)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
35	196,00	0,103
45	186,54	0,110
55	184,20	0,178
65	169,34	0,123



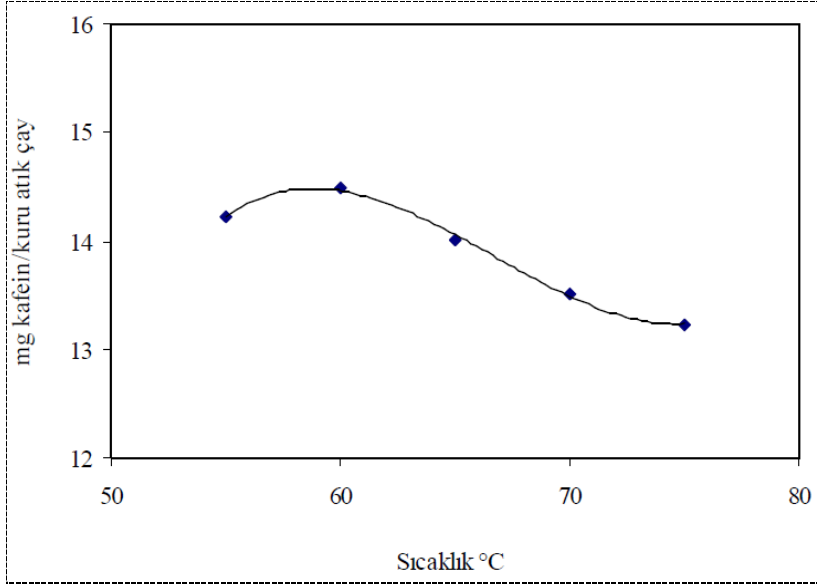
Şekil 5.19. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarlarının sıcaklıkla değişimi

Ayva çekirdeğinden SCCO₂ yöntemi ile özütlenen özüt ve toplam QRK miktarlarına sıcaklığın etkisi Şekil 5.19 da verilen grafik incelendiğinde özüt miktarının sıcaklık artışı ile düzenli olarak azaldığı görülmektedir. Özüt miktarının 35 °C den 65 °C ye çıkıldığında en yüksek değer olan 196,00 mg/g dan % 13,6 lık düşüş ile 164,34 değerine düştüğü görülmüştür.

Literatür incelendiğinde Ekinci yaptığı çalışmada şeftali çekirdeklerinden özüt ve Beta-sitesterol tayini çalışmasında sıcaklığın 40 °C dan 55 °C a artışı sırasında benzer bir özüt miktarı azalması tespit edilmiştir (Ekinci ve Gürü, 2014). Sıcaklığın artması yoğunluğun azalmasına dolayısı ile çözünürlüğün azalmasına neden olduğu için özüt miktarındaki azalmalar literatürden bilinmektedir.

Sıcaklık ile QRK miktarının etkileşimleri incelendiğinde belli bir optimum sıcaklığında (55 °C) en yüksek QRK değerine ulaştığı ve daha sonra 65 °C de tekrar QRK miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Literatüre bakıldığında Beta-sitesterol'ün sıcaklıkla artışıyla bir optimumda (40 °C de) en yüksek değerini verdiği ve daha sonra miktarının azaldığı görülmektedir (Ekinci ve Gürü, 2014).

İçen 2009 da yaptığı çalışmada, SCCO₂ yöntemi ile atık çay lifleri ve saplarından kafein eldesi çalışması sırasında sıcaklıkla kafein miktarının değişimi çalışmasında 60 °C de en yüksek değerini veren ve sıcaklık artışı ile kafein miktarının azaldığı bir çalışmayı gerçekleştirmiştir (Şekil 5.20). Çalışma şartları, karbon dioksit akış hızı 11 g/dakika, basınç 200 bar, ortalama tanecik büyüklüğü 0,387 mm, ekstraksiyon süresi 420 dakika alınmıştır (İçen ve Gürü, 2009).



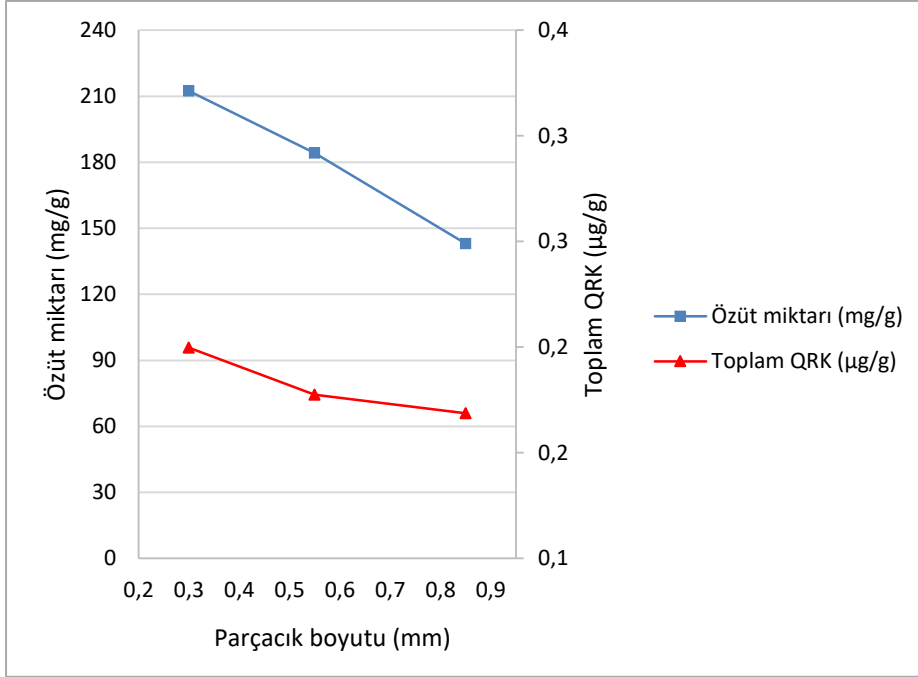
Şekil 5.20. Sıcaklık etkisi (İçen ve Gürü, 2009)

Ayva çekirdeğinde toplam QRK miktarı ve toplam özüt miktarına parçacık boyutunun etkisi

Çizelge 5.28 de ve Şekil 5.21 deki grafik ile verilmiştir.

Çizelge 5.28. Ayva çekirdeği özüt ve QRK miktarına parçacık boyutu etkisi

Parçacık boyutu (mm)	Özüt miktarı mg/g	Toplam Q R K µg/g
0,3	212,4	0,20
0,55	184,2	0,18
0,85	143,0	0,17



Şekil 5.21. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarlarına parçacık boyutu etkisi

Ayva çekirdeğinden özüt ve QRK tayininde parçacık boyutunun miktarlara etkisi incelendiğinde genel olarak parçacık boyutu küçüldükçe verimlerin arttığı görülmektedir.

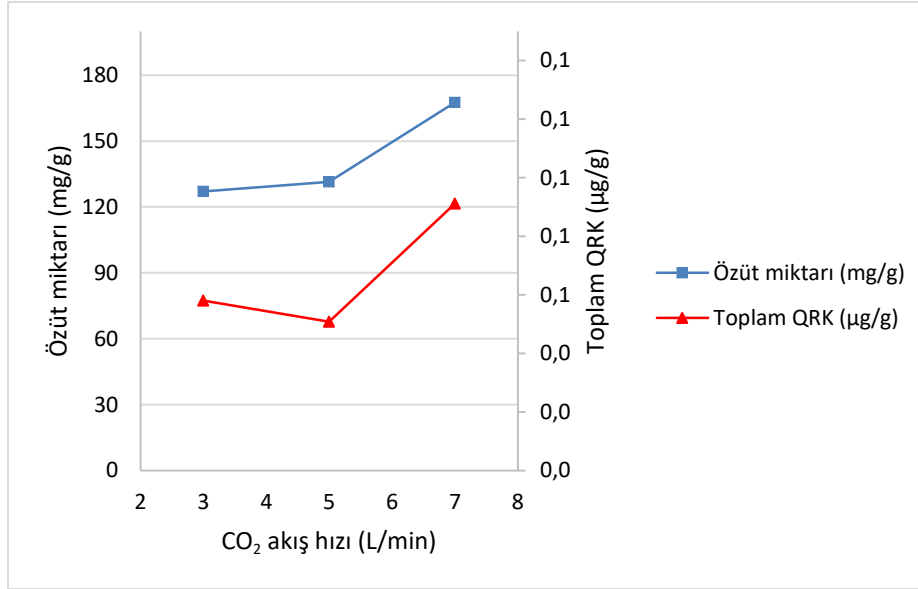
Parçacık küçülmesi ile temas yüzey alanının arttığı, dolayısı ile dış kütle aktarım dirençlerinin azaldığı bilinmektedir. Boyut küçültme işlemi ile yapıdaki özüt ve QRK'nın çözücüye daha kolay ulaşması sağlanmış olmaktadır. Parçacık boyutunun küçülmesi özüt ve QRK verimlerinde önemli derecede etkin bulunmuştur. Bu durum parçacık içi difüzyonun özütleme işlemini kontrol eden basamak olduğunu gösterir. Küçük parçacık boyutu ile yapılan çalışmanın büyük parçacık boyutluya yapılan çalışmaya oranla özüt veriminde % 48,3 lük artış sağladığı ve QRK veriminde ise % 18,2 lik artış sağladığı kaydedilmiştir.

Parçacık boyutunun özütleme işlemine etkisi süreli yayınlardan incelendi. Tanecik boyutu küçüldükçe yüzey alanı artışı olduğu, esansiyel yağların çözücüye daha fazla geçtiğini ve kütle transfer dirençlerinin azaldığı, böylece özütleme verimi artışı gözlenmektedir. Yer fıstığından süperkritik CO₂ ile yağ eldesi çalışması ile tanecik boyutunun küçüldükçe yüzey alanının ve dolayısıyla özütleme veriminin arttığını bulunmuştur (Revechon ve Marrone, 2001). Parçacık boyutunun verime etkisi konusunda verilerin, literatürdeki benzer sonuçlarla uyumlu olduğu görülmektedir. Deneylere küçük parçacık boyutu ile devam edilmiştir.

Ayva çekirdeğinde toplam QRK miktarı ve toplam özüt miktarına CO₂ akış hızının etkisi Çizelge 5.29 da ve Şekil 5.22 deki grafik ile verilmiştir.

Çizelge 5.29. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarına CO₂ akışı hızı etkisi

Karbon dioksit debisi (L/min)	Özüt miktarı (mg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
3	127,06	0,058
5	131,44	0,051
7	167,56	0,091



Şekil 5.22. Ayva çekirdeğinde özüt ve QRK miktarına CO₂ akış hızı etkisi

Şekil 5.22 incelendiğinde ayva çekirdeğinden özüt eldesinde CO₂ akışının artırılması ile özüt miktarının 127,06 dan 167,56 ya % 31,8 oranında arttığı tespit edilmiştir. QRK miktarının ise CO₂ akış hızı arttıkça kısmen küçük bir düşüşte olsa toplamda % 56,8 lik ciddi bir oranda arttığı tespit edilmiştir. Literatür incelendiğinde SCCO₂ yöntemi ile atık çay lifleri ve saplarından kafein eldesi çalışması sırasında CO₂ akış hızı artırımında kafein miktarının düzenli olarak arttığı tespit edilmiştir (İçen ve Gürü, 2009).

Ayrıca literatürde Jojoba tohumu yağının süperkritik karbon dioksit özütlemesi çalışmasında CO₂ akış hızının artması ile başlangıçta özütleme hızının arttığı ve ancak genel olarak özütleme veriminde kayda değer bir değişimin olmadığı belirtilmiştir (Salgın, 2007). Özüt

miktarının CO₂ akış hızı artışı ile arttığını veya değişmediğini gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur.

5.3.3. Ayva çekirdeğinde en yüksek QRK miktarı için yapılan çalışmalar

Özüt eniyileme deneylerindeki veriler incelendiğinde QRK miktarının en yüksek olduğu parametreler için, basıncın 180 bar, sıcaklığın 55 °C, parçacık boyutunun 0,3 mm ve CO₂ akış hızının ise 7 L/min olduğu görülmektedir. Bu parametreler Çizelge 5.25 ten, Şekil 5.18 ve Şekil 5.19 dan görülebilmektedir.

Bu yeni parametrik şartların uygulandığı QRK miktarının artışının beklendiği yeni çalışmaya ait veriler Çizelge 5.30 da verilmiştir.

Çizelge 5.30. Ayva çekirdeğinde QRK miktarı eniyileme verileri

Numune kodu	Basınç, sıcaklık, parçacık boyutu, CO ₂ debi miktarları	Quercetin (µg/g)	Rutin (µg/g)	Kaempferol (µg/g)	Toplam Q R K (µg/g)
ALN Opt QRK	180 bar 55 °C 0,3 mm boyut, 7 L/min CO ₂	0,025	0,055	0,163	0,243

Bu yeni çalışma sonucu alınan özüt numunesindeki QRK toplam miktarı HPLC cihazı kullanılarak hesaplanmıştır. QRK miktarının özüt eniyileme çalışmasındaki en yüksek değer olan 0,2 µg/g dan beklendiği şekilde 0,243 µg/g değerine % 21,5 oranında artarak yükseldiği gözlenmiştir.

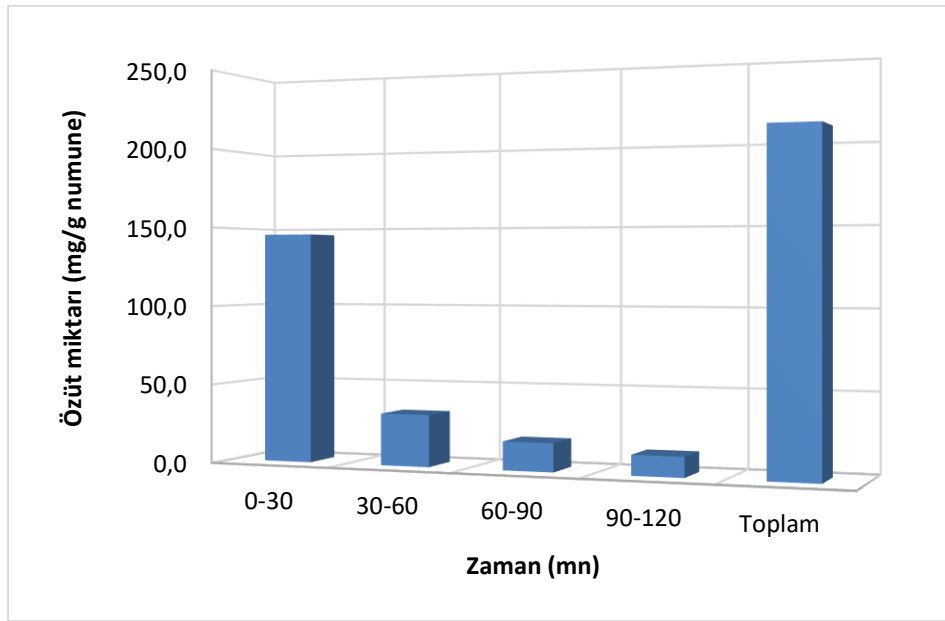
5.3.4. Ayva çekirdeğinin zamana karşı özüt ve QRK miktarları değişimleri

Ayva çekirdeğindeki QRK miktarı için eniyilenmiş şartların belirlenmesinden sonra, aynı numunenin özüt ve QRK miktarları için zamana karşı alınan çalışma süresi ve verim gözlemlenmesi deneyleri yapılmış ve alınan veriler Çizelge 5.31 de ve Şekil 5.23 te verilmiştir. Tek bir ayva çekirdeği numunesi için 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda ayrı ayrı dört numune alınmış ve bu numuneler tek tek analiz edilerek eniyilenmiş deney şartları çalışması zamana karşı olarak tekrarlanmıştır. Bu çalışma için çalışma koşulları, daha önce

tespit edilen QRK miktarının en yüksek elde edildiği çalışma şartları olan 180 bar, 55 °C, 0,3 mm, 7 L/min CO₂ olarak alınmıştır.

Çizelge 5.31. Ayva çekirdeğinde özüt miktarının zamanla dağılımı

Zaman (min)	Özüt miktarı (mg/g)
0-30	145,62
31-60	32,56
61-90	17,80
91-120	12,58
Toplam	208,56



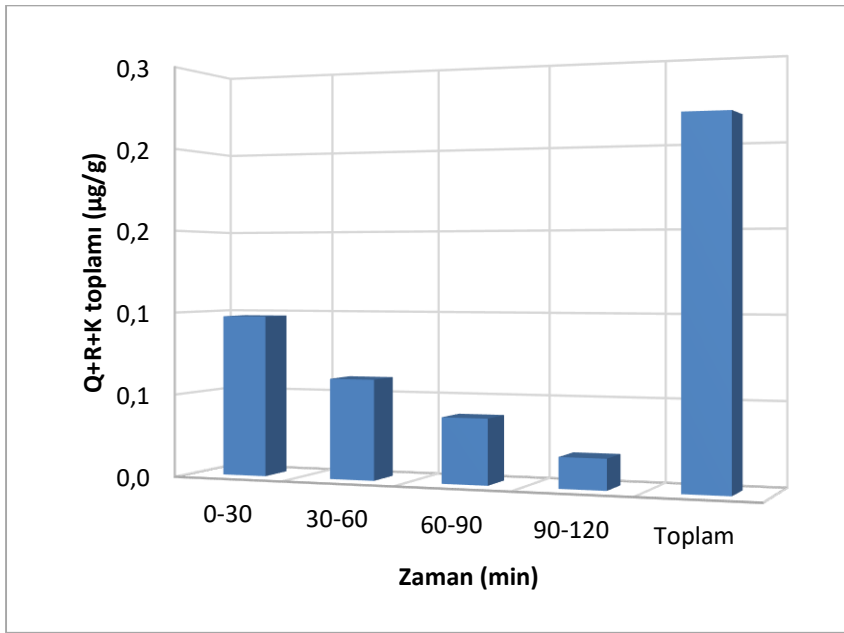
Şekil 5.23. Ayva çekirdeğinde özüt miktarının zamanla değişimi

Ayva çekirdeğinden zamana karşı özüt elde edilmesi çalışmasında ilk 90 dakika sürede toplam özütün % 94 ünün toplandığı kalan % 6 lık miktarın ise 120. dakikaya kadar toplandığı tespit edilmiştir.

Zamana karşı QRK toplam miktarı gelişimini gösteren veriler Çizelge 5.32 ve ilgili grafik ise Şekil 5.24 te verilmiştir.

Çizelge 5.32. Ayva çekirdeğinde QRK'nın zamanla değişimi

Zaman (min)	Toplam Q R K ($\mu\text{g/g}$)
0-30	0,10
31-60	0,06
61-90	0,04
91-120	0,02
Toplamlar	0,22



Şekil 5.24. Ayva çekirdeğinde QRK miktarının zamanla değişimi

Ayva çekirdeğinde bulunan QRK toplamının zamana karşı geliş miktarları incelendiğinde QRK toplamının ilk 90 dakikada % 91,6'sının toplandığı kalan % 8,4'lük kısmın ise 120. dakikada toplandığı görülmüştür.

5.3.5. Yardımcı çözücü etanolün ayva çekirdeği özütlemelerine etkisi

Ayva çekirdeği numunelerinden sırasıyla özüt eldesi, özütlerde QRK miktarlarının hesaplanması, QRK miktarı eniyileme çalışması, zamana bağlı çalışmalar gerçekleştirildikten sonra aynı cins numuneden yardımcı çözücü olarak etanolün kullanıldığı çalışma planlanarak farklı etanol yüzdeleri için QRK'nın en yüksek olduğu deney şartlarında SCCO₂ özütlemeleri planlanmış ve çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Bu çalışma için 0,243 µg/g QRK değerine ulaşılan çalışma parametreleri olan 180 bar, 55 °C, 0,3 mm boyut, 7 L/min CO₂ akış hızı bağımsız değişken verileri kullanılarak kütlece % 2, % 5 ve % 8 etanol oranlarında karıştırılarak SCCO₂ işlemleri tekrarlanmıştır. CO₂ - Etanol karışımı beslemesi için gerekli miktar hesaplamaları yapılmış ve hesaplamalar sonrası yüksek basınçlı sıvı pompası ile beslenecek etanol debileri;

% 2 etanol için 0,14 mL/min etanol,

% 5 etanol için 0,36 mL/min etanol,

% 8 etanol için 0,60 mL/min etanol olarak bulunmuştur.

Elde edilen özüt etanol karışımlarının sıvı hacimleri ölçülerek derişimlerinden miktar hesaplarına geçilirken gerekli hacim düzeltmeleri gerçekleştirildi. Yapılan çalışmalar ile Çizelge 5.33 teki toplam QRK sonuçları ile Şekil 5.25 teki grafik elde edilmiştir.

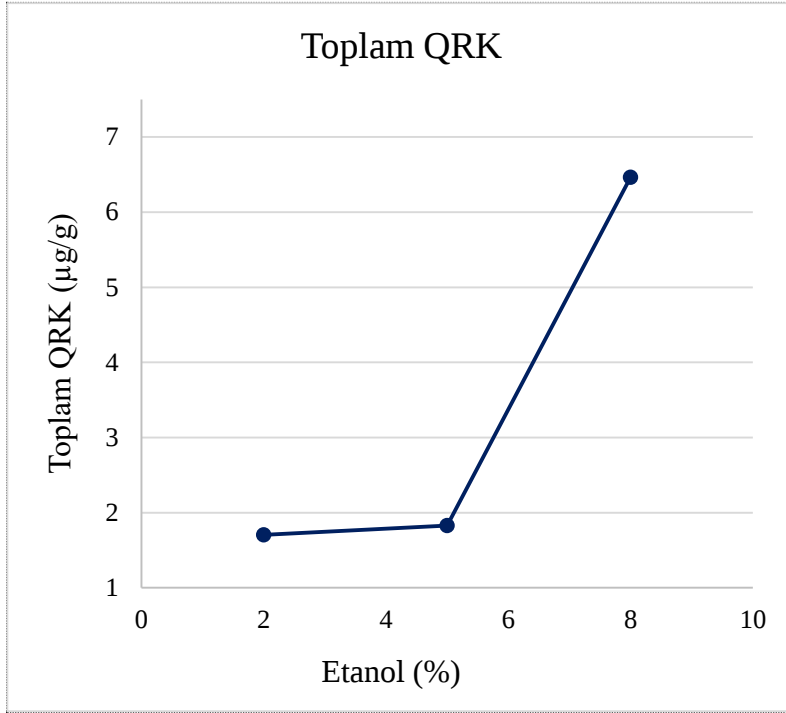
Çizelge 5.33. Ayva çekirdeğinden etanollü özütlemeye QRK miktarları

Numune kodları	V numune (mL)	Quercetin (µg/g)	Rutin (µg/g)	Kaempferol (µg/g)	Toplam QRK (µg/g)	Toplam ortalama QRK (µg/g)
ALN Opt % 2 EtOH	2,5	0	0	1,69	1,69	1,71
ALN Opt % 2 EtOH	2,5	0	0	1,72	1,72	
ALN Opt % 5 EtOH	1,85	0,29	0	2,02	2,31	2,27
ALN Opt % 5 EtOH	1,85	0	0	2,22	2,22	
ALN Opt % 8 EtOH	9	0	0	6,85	6,85	6,47
ALN Opt % 8 EtOH	9	0	0	6,08	6,08	

% 8 etanol eklenerek gerçekleştirilen SCCO₂ çalışması ile tekrarlı analizler sonucunda tespit edilen en yüksek QRK miktarı daha önce QRK miktarı eniyileme çalışması sırasında elde edilen 0,243 µg/g değerinin 26,6 kat artışla 6,47 µg/g değerine ulaştığı tespit edilmiştir.

Ayva çekirdeği özütlemesinde, polaritesi yüksek olan etanol katkısı ile QRK özütlenmesi veriminin önceki çalışmalardan çok daha yüksek olduğu ayrıca Quercetin ve rutin maddelerinin etanol katkılı özütlemeye eser miktar veya hiç özütlenememiş olduğu tespit

edilmiştir. Buna karşın kaempferoldeki yüksek verim ile etanollü özütlemeye toplam QRK ve kaempferol miktarı oldukça yükselmiştir. Etanol miktarındaki değişim ile elde edilen QRK miktarı arasındaki değişimi gösterir grafik Şekil 5.25 te verilmiştir.

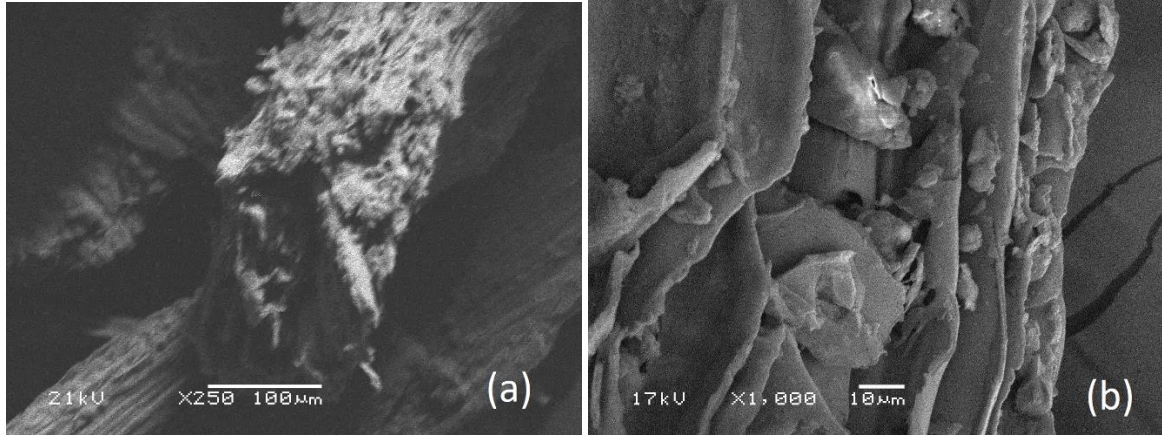


Şekil 5.25. Ayva çekirdeğinden QRK özütlenmesinde etanol yüzdesi etkisi

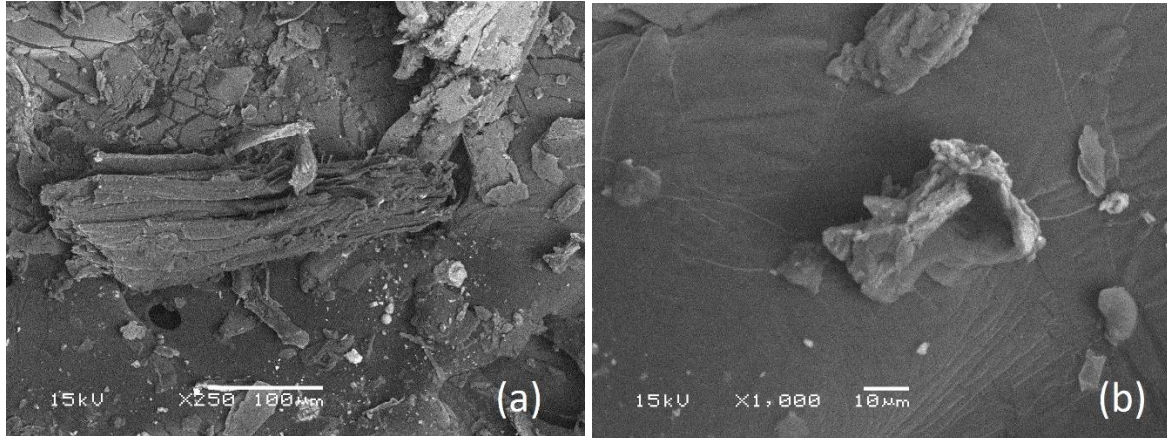
5.4. Kızılçam Kozalağı, İğde ve Ayva Numuneleri SEM Görüntüleri

5.4.1. Kızılçam kozalağı SCCO₂ işlemi öncesi ve sonrası SEM görüntüleri

Kızılçam kozalağı çekirdeği ile yapılan çalışmalar neticesinde 0,3 mm lik parçacık boyutundaki numuneler için süperkritik karbon dioksit özütlemesi öncesinde ayrılan numune ile aynı boyutta süperkritik karbon dioksit özütleme işlemi özüt eniyilemesi sonrasında alınan numunelerin 250 ve 1000 kat büyütmedeki görüntüleri alınmış ve kıyaslanmıştır.



Şekil 5.26. Kızılçam kozalağı SCCO₂ işlemi öncesi (a) 250 kat, (b) 1000 kat



Şekil 5.27. Kızılçam kozalağı SCCO₂ işlemi sonrası (a) 250 kat, (b) 1000 kat

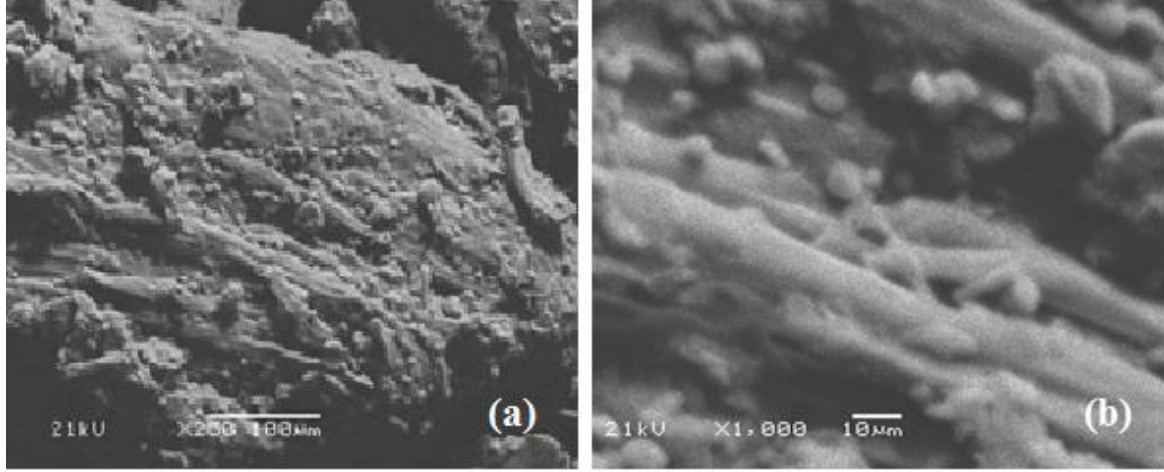
Kızılçam kozalağının süperkritik özütleme öncesi 250 ve 1000 kat büyütme oranlarında alınan ve Şekil 5.26 a ve b de verilen SEM görüntülemelerinde gözlenen gözenek yapısı ile aynı büyütme oranlarında ve süperkritik özütleme sonrası numunesinden alınan Şekil 5.27 a ve b görüntüleri kıyaslandığında artan gözeneklilik ve yapıda artan boşluk kesri dikkat çekmektedir.

Bu görüntüleri teyit eden diğer bir çalışma BET analizleri olup Çizelge 5.34 te verilen BET yüzey alanı sonuçlarına göre SCCO₂ işlemi sonrası yüzey alanının öncesine göre % 152,1 oranında arttığı gözlenmiştir.

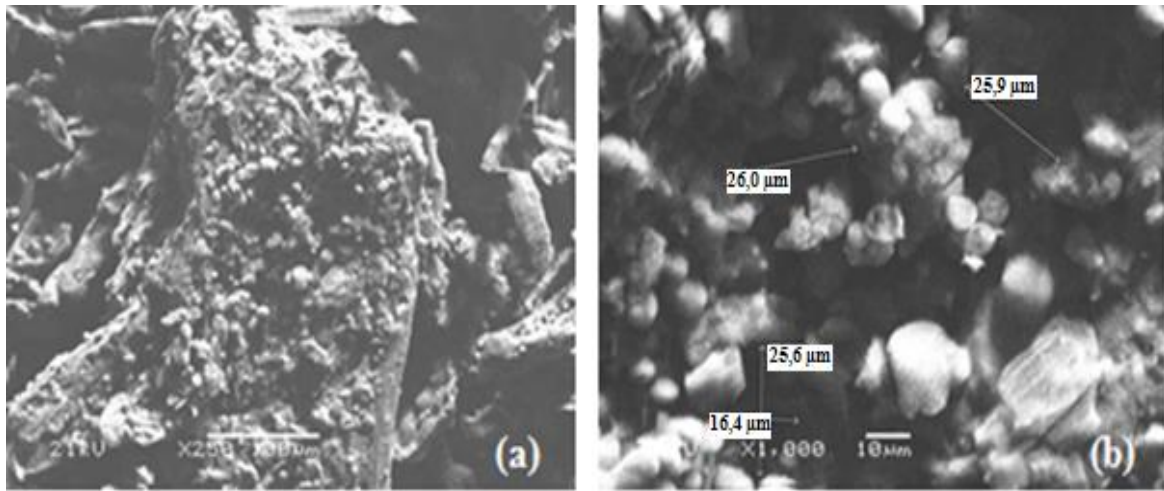
5.4.2. İğde çekirdeği SCCO₂ işlemi öncesi ve sonrası SEM görüntüleri

İğde çekirdeği ile yapılan çalışmalar neticesinde 0,3 mm lik parçacık boyutundaki numuneler için süperkritik karbon dioksit özütlemesi öncesinde ayrılan numune ile aynı

boyut için QRK miktarının en yüksek elde edildiği özütleme işlemi sonrasında alınan numunelerin 250 ve 1000 kat büyütmedeki görüntüleri alınmış ve kıyaslanmıştır.



Şekil 5.28. İğde çekirdeği SCCO₂ işlemi öncesi (a) 250 kat, (b) 1000 kat

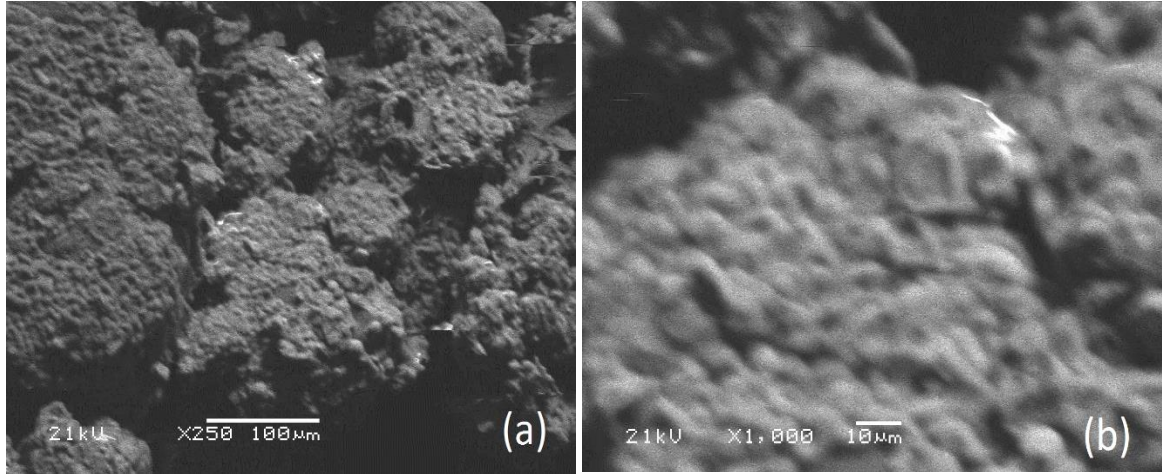


Şekil 5.29. İğde çekirdeği SCCO₂ işlemi sonrası (a) 250 kat, (b) 1000 kat

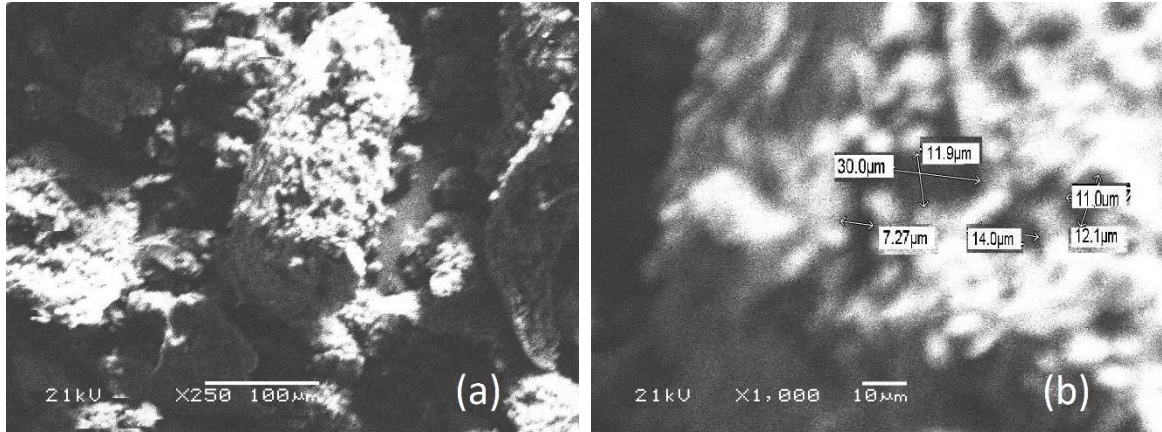
İğde çekirdeğinin süperkritik özütleme öncesi 250 ve 1000 kat büyütme oranlarında alınan ve Şekil 5.28 a ve b de verilen SEM görüntülemelerinde gözlenen gözenek yapısı ile aynı büyütme oranlarında ve süperkritik özütleme sonrası numunesinden alınan Şekil 5.29 a ve b görüntüleri kıyaslandığında artan gözeneklilik ve yapıda artan boşluk kesri dikkat çekmektedir. Süperkritik özütleme sonrası ise iğde çekirdeği numunesi yapısında boşlukların olduğu 16 ila 26 μm lik çaplarda gözeneklerin olduğu görülmüştür (Şekil 5.29 b). Bu görüntüleri teyit eden diğer bir çalışma BET analizidir. Bu çalışma için Çizelge 5.34 te verilen sonuçlara göre aynı numunede SCCO₂ sonrası yüzey alanının % 302,9 oranında arttığı gözlenmiştir.

5.4.3. Ayva çekirdeği SCCO₂ işlemi öncesi ve sonrası SEM görüntüleri

Ayva çekirdeği ile yapılan çalışmalar neticesinde 0,3 mm lik parçacık boyutundaki numuneler için süperkritik karbon dioksit özütlemesi öncesinde ayrılan numune ile aynı boyutta süperkritik karbon dioksit özütleme işlemi sonrasında alınan numunelerin 250 ve 1000 kat büyütmedeki görüntüleri alınmış ve kıyaslanmıştır.



Şekil 5.30. Ayva çekirdeği SCCO₂ işlemi öncesi (a) 250 kat, (b) 1000 kat



Şekil 5.31. Ayva çekirdeği SCCO₂ işlemi sonrası (a) 250 kat, (b) 1000 kat

Ayva çekirdeğinin süperkritik özütleme öncesi 250 ve 1000 kat büyütme oranlarında alınan ve Şekil 5.30 a ve b de verilen SEM görüntülemelerinde gözlenen gözenek yapısı ile aynı büyütme oranlarında ve süperkritik özütleme sonrası numunesinden alınan Şekil 5.31 a ve b görüntüleri kıyaslandığında artan gözeneklilik ve yapıda artan boşluk kesri dikkat çekmektedir. Süperkritik özütleme sonrası ayva çekirdeği numunesi yapısında boşlukların, 10 ila 30 µm çaplarda gözeneklerin olduğu ölçülmüştür (Şekil 5.31 b). SCCO₂ öncesi ve

sonrası alınan 1000 kat büyütme görüntüleri kıyaslandığında gözeneklilikteki farklılık tespit edilebilmektedir. SCCO₂ işlemi öncesi ve sonrası alınan numunelerde yapılan ve Çizelge 5.34 te verilen BET analizi sonuçlarına göre ayva çekirdeğinde yüzey alanı değişiminin işlem görmemiş numune yüzey alanına göre SCCO₂ işlemi sonrası % 93,8 oranında arttığı gözlenmiştir. Etanol ilaveli SCCO₂ işlemi sonrasında ise yüzey alanının işlem görmemiş numune yüzey alanına göre % 115,8 oranında arttığı gözlenmiştir.

Kızılçam kozalağı, ığde ve ayva çekirdeklerinin tamamı için SEM analiz sonuçlarına göre SCCO₂ özütleme işlemi sonrasında gözenekliliğin arttığı tespit edilmiştir.

SEM analizlerindeki gözenek büyüklüklerinin artışı ile BET yüzey alanı analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde SEM analizlerinde alınan görüntüler ile BET analizlerinde alınan yüzey alanı ölçümlerinin birbirini desteklediği, SCCO₂ özütleme işlemlerinin verimli gerçekleştiği SEM ve BET analizleri göstermiştir.

5.5. Kızılçam Kozalağı, ığde ve Ayva Numuneleri BET Analizleri

Kızılçam kozalağı, ığde ve ayva çekirdekleri için SCCO₂ işlemi öncesi ayrılan numunelerden eniyileme çalışması tamamlandıktan sonra ayrılan paralel numunelerin SCCO₂ işlemi öncesi ve sonrasına ait BET analizleri toplu sonuçları Çizelge 5.34 te verilmiştir.

Çizelge 5.34. SCCO₂ işlemi öncesi ve sonrası toplu BET sonuçları

Numune Adı	Yüzey alanı m ² /g
Kızılçam kozalağı SCCO ₂ işlemi öncesi	4,392
Kızılçam kozalağı SCCO ₂ işlemi sonrası	11,074
ığde çekirdeği SCCO ₂ işlemi öncesi	4,281
ığde çekirdeği SCCO ₂ işlemi sonrası	17,250
Ayva çekirdeği SCCO ₂ işlemi öncesi	5,587
Ayva çekirdeği SCCO ₂ işlemi sonrası	10,828
Ayva çekirdeği % 8 etanol ilaveli SCCO ₂ işlemi sonrası	12,061

5.5.1. Kızılçam kozalağı BET analizi

BET analizlerinde malzeme veya katalizör sentezi çalışmaları yapılmadığı için gözenek karakterizasyonu, düzeni, azot adsorbsiyon ve desorpsiyon verileri yüzey kaplanma davranışları ile ilgili ayrıntıya girilmemiş SCCO₂ öncesi ve sonrası genel olarak beklenen boşluk kesrindeki artış gözlenmeye ve değerlendirmeye çalışılmıştır. Bu amaçla yüzey alanı değişimleri izlenmiştir. Numuneler SCCO₂ işlemi öncesi ve sonrası verimin yüksek olduğu küçük parçacık boyutu olan ortalama 0,30 mm parçacık boyutundaki numunelerden alınarak BET ölçümleri alınmıştır. Kızılçam kozalağına ait BET analiz verileri Şekil 5.32’de verilmiştir.

version 10.01					
Analysis		Report			
Operator:erhan		Date:2013/01/25	Operator:erhan	Date:3/29/2017	
Sample ID: LN6		Filename:	C:\QCdata\Physisorb\20170320.qps		
Sample Desc:		Comment:			
Sample weight:	0.0997 g	Sample Volume:	0.14243 cc	Sample Density:	0.7 g/cc
Outgas Time:	5.0 hrs	Outgas Temp:	90.0 C		
Analysis gas:	Nitrogen	Bath Temp:	77.3 K		
Press. Tolerance:	0.100/0.100 (ads/des)	Equil time:	60/60 sec (ads/des)	Equil timeout:	240/240 sec (ads/des)
Analysis Time:	153.1 min	End of run:	2013/01/25 19:17:36	Instrument:	Nova Station A
Cell ID:	25				
Adsorbate	Nitrogen	Temperature	77.350K		
	Molec. Wt.: 28.013 g	Cross Section:	16.200 Å ²	Liquid Density:	0.808 g/cc
Relative Pressure	Volume @ STP		1 / [W((Po/P) - 1)]		
P/Po	cc/g				
3.63990e-02	0.3804		7.9450e+01		
7.10600e-02	0.4555		1.3438e+02		
1.05079e-01	0.5572		1.6860e+02		
1.38660e-01	0.6431		2.0027e+02		
1.71998e-01	0.7062		2.3535e+02		
2.04898e-01	0.9281		2.2215e+02		
2.38057e-01	0.9636		2.5943e+02		
2.70706e-01	1.1383		2.6091e+02		
3.03856e-01	1.1455		3.0489e+02		
3.14166e-01	1.1042		3.3193e+02		
3.41680e-01	1.3141		3.1600e+02		
3.69625e-01	1.4761		3.1784e+02		
3.97875e-01	1.4952		3.5361e+02		
4.25820e-01	1.4122		4.2017e+02		
4.53381e-01	1.7089		3.8834e+02		
4.81342e-01	1.7116		4.3382e+02		
5.08536e-01	1.8761		4.4128e+02		

Şekil 5.32. Kızılçam kozalağı SCCO₂ işlem görmemiş numune BET verileri

Analiz ile SCCO₂ işlemi görmemiş 0,30 mm boyutlu numunenin yüzey alanı 4,392 m²/g olarak bulunmuştur.

SCCO₂ işlemi sonrası yine 0,30 mm parçacık boyutlu numune için yapılan BET analiz sonucu Şekil 5.33 de verilmiştir.

Analysis		Report	
Operator:erhan	Date:2013/01/24	Operator:erhan	Date:3/29/2017
Sample ID: LNS	Filename:	C:\QCdata\Physisorb\20170316.qps	
Sample Desc:	Comment:		
Sample weight: 0.0923 g	Sample Volume: 0.13186 cc	Sample Density: 0.7 g/cc	
Outgas Time: 5.0 hrs	OutgasTemp: 90.0 C		
Analysis gas: Nitrogen	Bath Temp: 77.3 K		
Press. Tolerance: 0.100/0.100 (ads/des)	Equil time: 60/60 sec (ads/des)	Equil timeout: 240/240 sec (ads/des)	
Analysis Time: 143.3 min	End of run: 2013/01/24 10:48:54	Instrument: Nova Station A	
Cell ID: 25			
Adsorbate	Nitrogen	Temperature 77.350K	
Molec. Wt.: 28.013 g	Cross Section: 16.200 Å²	Liquid Density: 0.808 g/cc	
Relative Pressure	Volume @ STP	1 / [W((Po/P) - 1)]	
P/Po	cc/g		
3.92110e-02	0.6612	4.9382e+01	
7.26230e-02	0.9069	6.9089e+01	
1.05810e-01	1.1605	8.1581e+01	
1.38754e-01	1.4729	8.7520e+01	
1.71674e-01	1.7349	9.5581e+01	
2.04508e-01	2.0285	1.0140e+02	
2.37421e-01	2.2742	1.0954e+02	
2.70170e-01	2.5004	1.1846e+02	
3.02965e-01	2.7947	1.2444e+02	
3.13155e-01	2.8972	1.2591e+02	
3.40980e-01	3.0873	1.3409e+02	
3.68978e-01	3.3413	1.4002e+02	
3.97101e-01	3.5506	1.4843e+02	
4.25004e-01	3.6808	1.6067e+02	
4.53174e-01	3.7745	1.7568e+02	
4.80679e-01	4.2138	1.7575e+02	
5.08052e-01	4.4336	1.8637e+02	
BET summary			

Şekil 5.33. Kızılçam kozalağı SCCO₂ işlemi görmüş numuneye ait BET verileri

Analiz sonucunda SCCO₂ işlemi sonrası numunenin yüzey alanının % 152,1 oranında arttığı 11,074 m²/g a yükseldiği görülmüştür.

5.5.2. İğde çekirdeğine ait BET analizi

SCCO₂ işlemi öncesi alınan 0,30 mm parçacık boyutlu numuneye ait BET analiz verileri Şekil 5.34 da verilmiştir.

Operator:erhan	Date:2013/01/22	Operator:erhan	Date:3/29/2017
Sample ID: LN2	Filename:	C:\QCdata\Physisorb\20170308.qps	
Sample Desc:	Comment:		
Sample weight: 0.091 g	Sample Volume: 0.13 cc	Sample Density: 0.7 g/cc	
Outgas Time: 5.0 hrs	Outgas Temp: 90.0 C		
Analysis gas: Nitrogen	Bath Temp: 77.3 K		
Press. Tolerance: 0.100/0.100 (ads/des)	Equil time: 60/60 sec (ads/des)	Equil timeout: 240/240 sec (ads/des)	
Analysis Time: 155.2 min	End of run: 2013/01/22 4:15:57	Instrument: Nova Station A	
Cell ID: 25			
Adsorbate: Nitrogen	Temperature: 77.350K		
Molec. Wt.: 28.013 g	Cross Section: 16.200 Å ²	Liquid Density: 0.808 g/cc	
Relative Pressure	Volume @ STP	1 / [W((P ₀ /P) - 1)]	
P/P ₀	cc/g		
3.95940e-02	0.4530	7.2812e+01	
7.31760e-02	0.5592	1.1296e+02	
1.06461e-01	0.6814	1.3989e+02	
1.39457e-01	0.8275	1.5669e+02	
1.72461e-01	0.9119	1.8285e+02	
2.05395e-01	0.9934	2.0820e+02	
2.38337e-01	1.0336	2.4224e+02	
2.71075e-01	1.1394	2.6115e+02	
3.04064e-01	1.1433	3.0576e+02	
3.13753e-01	1.3044	2.8045e+02	
3.41940e-01	1.3370	3.1097e+02	
3.69877e-01	1.4655	3.2047e+02	
3.97915e-01	1.4166	3.7327e+02	
4.25625e-01	1.4545	4.0762e+02	
4.52875e-01	1.7964	3.6867e+02	
4.80812e-01	1.8480	4.0097e+02	
5.08748e-01	1.8439	4.4938e+02	
BET summary			
Slope =	759.617		
Intercept =	5.392e+01		
Correlation coefficient, r =	0.991183		
C constant=	15.088		

Şekil 5.34. İğde çekirdeği SCCO₂ işlemi görmemiş numune BET verileri

Analiz ile SCCO₂ işlemi görmemiş 0,30 mm boyutlu numunenin yüzey alanı 4,281 m²/g olarak bulunmuştur.

SCCO₂ işlemi sonrası yine 0,30 mm parçacık boyutlu numune için yapılan BET analiz sonucu Şekil 5.35 de verilmiştir.

version 10.01

Analysis		Report	
Operator:erhan	Date:2013/01/22	Operator:erhan	Date:3/29/2017
Sample ID: LN1	Filename:	C:\QCCdata\Physisorb\20170307.qps	
Sample Desc:	Comment:		
Sample weight: 0.0563 g	Sample Volume: 0.08043 cc	Sample Density: 0.7 g/cc	
Outgas Time: 5.0 hrs	Outgas Temp: 90.0 C		
Analysis gas: Nitrogen	Bath Temp: 77.3 K		
Press. Tolerance: 0.100/0.100 (ads/des)	Equil time: 60/60 sec (ads/des)	Equil timeout: 240/240 sec (ads/des)	
Analysis Time: 149.8 min	End of run: 2013/01/22 19:50:54	Instrument: Nova Station A	
Cell ID: 25			
Adsorbate	Nitrogen	Temperature	77.350K
Molec. Wt.: 28.013 g	Cross Section: 16.200 Å²	Liquid Density: 0.808 g/cc	

Relative Pressure	Volume @ STP	1 / [W((P/P) - 1)]
P/Po	cc/g	
3.93790e-02	0.9228	3.5541e+01
7.27280e-02	1.3309	4.7151e+01
1.05982e-01	1.6947	5.5969e+01
1.38994e-01	2.0353	6.3463e+01
1.71677e-01	2.5669	6.4604e+01
2.04579e-01	2.9960	6.8686e+01
2.37622e-01	3.1902	7.8172e+01
2.70157e-01	3.6776	8.0532e+01
3.03067e-01	3.9193	8.8774e+01
3.13150e-01	4.0875	8.9244e+01
3.40913e-01	4.6008	8.9953e+01
3.69137e-01	4.8770	9.5996e+01
3.97205e-01	5.0372	1.0467e+02
4.24350e-01	5.8721	1.0044e+02
4.52215e-01	6.2326	1.0598e+02
4.80595e-01	6.4203	1.1531e+02
5.08029e-01	6.6393	1.2445e+02

BET summary	
Slope =	166.232
Intercept =	3.565e+01

Şekil 5.35. İğde çekirdeği SCCO₂ işlemi görmüş numuneye ait BET verileri

Analiz sonucunda SCCO₂ işlemi sonrası numunenin yüzey alanının % 302,9 artışla 17,250 m²/g a yükseldiği görülmüştür.

5.5.3. Ayva çekirdeğine ait BET analizi

SCCO₂ işlemi öncesi alınan 0,30 mm parçacık boyutlu numuneye ait BET analiz verileri Şekil 5.36 de verilmiştir.

Analysis		Report	
Operator:erhan	Date:2013/01/23	Operator:erhan	Date:3/29/2017
Sample ID: LN4	Filename:	C:\QCdata\Physisorb\20170314.qps	
Sample Desc:	Comment:		
Sample weight: 0.085 g	Sample Volume: 0.12143 cc	Sample Density: 0.7 g/cc	
Outgas Time: 5.0 hrs	OutgasTemp: 90.0 C		
Analysis gas: Nitrogen	Bath Temp: 77.3 K		
Press. Tolerance: 0.100/0.100 (ads/des)	Equil time: 60/60 sec (ads/des)	Equil timeout: 240/240 sec (ads/des)	
Analysis Time: 164.3 min	End of run: 2013/01/23 4:55:44	Instrument: Nova Station A	
Cell ID: 25			
Adsorbate	Nitrogen	Temperature 77.350K	
Molec. Wt.: 28.013 g	Cross Section: 16.200 Å ²	Liquid Density: 0.808 g/cc	
Relative Pressure	Volume @ STP	1 / [W((P₀/P) - 1)]	
P/P₀	cc/g		
3.95690e-02	0.4878	6.7582e+01	
7.32700e-02	0.5522	1.1456e+02	
1.06353e-01	0.7699	1.2368e+02	
1.39398e-01	0.9550	1.3571e+02	
1.72434e-01	1.0256	1.6256e+02	
2.05463e-01	1.0592	1.9535e+02	
2.38187e-01	1.2487	2.0035e+02	
2.71177e-01	1.2563	2.3697e+02	
3.03753e-01	1.4994	2.3280e+02	
3.14090e-01	1.5014	2.4403e+02	
3.42126e-01	1.4484	2.8727e+02	
3.69365e-01	1.8190	2.5763e+02	
3.97745e-01	1.6812	3.1430e+02	
4.25163e-01	2.0220	2.9267e+02	
4.53644e-01	1.9758	3.3624e+02	
4.80719e-01	2.4604	3.0105e+02	
5.08669e-01	2.4480	3.3837e+02	
BET summary			
Slope = 555.642			

Şekil 5.36. Ayva çekirdeği SCCO₂ işlemi görmemiş numune BET verileri

Analiz ile SCCO₂ işlemi görmemiş numunenin yüzey alanı 5,587 m²/g olarak bulunmuştur.

SCCO₂ işlemi sonrası yine 0,30 mm parçacık boyutlu numune için yapılan BET analiz sonucu Şekil 5.37 de verilmiştir.

Analysis		Report	
Operator:erhan	Date:2013/01/22	Operator:erhan	Date:3/29/2017
Sample ID: LN3	Filename:	C:\QCdata\Physisorb\20170309.qps	
Sample Desc:	Comment:		
Sample weight: 0.0864 g	Sample Volume: 0.12343 cc	Sample Density: 0.7 g/cc	
Outgas Time: 5.0 hrs	Outgas Temp: 90.0 C		
Analysis gas: Nitrogen	Bath Temp: 77.3 K		
Press. Tolerance: 0.100/0.100 (ads/des)	Equil time: 60/60 sec (ads/des)	Equil timeout: 240/240 sec (ads/des)	
Analysis Time: 149.0 min	End of run: 2013/01/22 12:39:36	Instrument: Nova Station A	
Cell ID: 25			
Adsorbate	Nitrogen	Temperature 77.350K	
Molec. Wt.: 28.013 g	Cross Section: 16.200 Å ²	Liquid Density: 0.808 g/cc	
Relative Pressure	Volume @ STP	1 / [W((P_o/P) - 1)]	
P/P_o	cc/g		
3.88090e-02	0.9618	3.3587e+01	
7.22460e-02	1.2736	4.8922e+01	
1.05566e-01	1.5606	6.0510e+01	
1.38543e-01	1.9185	6.7072e+01	
1.71465e-01	2.2372	7.4012e+01	
2.04044e-01	2.6907	7.6230e+01	
2.37309e-01	2.7692	8.9899e+01	
2.70021e-01	3.0874	9.5861e+01	
3.03037e-01	3.1996	1.0873e+02	
3.13599e-01	3.1154	1.1734e+02	
3.41619e-01	3.2754	1.2675e+02	
3.68951e-01	3.6706	1.2744e+02	
3.97306e-01	3.6714	1.4366e+02	
4.25169e-01	3.7891	1.5619e+02	
4.52189e-01	4.4055	1.4992e+02	
4.80693e-01	4.4256	1.6735e+02	
5.08665e-01	4.5135	1.8352e+02	
BET summary			
Slope = 299.137			

Şekil 5.37. Ayva çekirdeği SCCO₂ işlemi görmüş numuneye ait BET verileri

Analiz sonucunda SCCO₂ işlemi sonrası numunenin yüzey alanının % 93,8 artarak 10,828 m²/g a yükseldiği görülmüştür.

Ayva çekirdeğine has olmak üzere, karşılaşılan etanol ilavesiz SCCO₂ işlemine kıyasla % 8 etanol ilaveli SCCO₂ işlemi sonrasında QRK miktarında gerçekleşen 26,6 kat artışın araştırılması için verimin arttığı numunenin analiz edildiği yeni bir BET analiz çalışması yapılmış ve Şekil 5.38 de verilmiştir.

Quantachrome NovaWin - Data Acquisition and Reduction
for NOVA instruments
©1994-2013, Quantachrome Instruments
version 11.03



Analysis		Report					
Operator:	quantachrome	Date:	2018/01/02	Operator:	quantachrome	Date:	2018/01/04
Sample ID:	ayvaR	Filename:	ayvaR.qps				
Sample Desc:		Comment:					
Sample weight:	0.433 g	Sample Volume:	1 cc				
Outgas Time:	0.0 hrs	Outgas Temp:	0.0 C				
Analysis gas:	Nitrogen	Bath Temp:	273.0 K				
Press. Tolerance:	0.050/0.050 (ads/des)	Equil time:	60/60 sec (ads/des)	Equil timeout:	180/180 sec (ads/des)		
Analysis Time:	42.0 min	End of run:	2018/01/02 7:04:06	Instrument:	Nova Station A		
Cell ID:	72						

Multi-Point BET Plot

Data Reduction Parameters			
Adsorbate	Nitrogen	Temperature	77.350K
	Molec. Wt.: 28.013	Cross Section:	16.200 Å ²
		Liquid Density:	0.808 g/cc



BET summary	
Slope =	230.935
Intercept =	5.782e+01
Correlation coefficient, r =	0.996208
C constant =	4.994
Surface Area =	12.061 m ² /g

Şekil 5.38. Ayva çekirdeği % 8 etanol ile SCCO₂ sonrası BET analizi

Ayva çekirdeğine ait yapılan bu yeni BET çalışması ile etanol ilavesiz yapılan SCCO₂ işlemi görmüş numunelerin yüzey alanı 10,828 m²/g iken % 8 etanol ilavesi ile gerçekleşen SCCO₂ işlemi sonrası alınan numunede yüzey alanının % 11,4 artarak 12,061 m²/g değerine yükseldiği tespit edilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Doktora tez konusu kapsamında kıvılcım kozalağı, ıgde çekirdeğı ve ayva çekirdeklerinden süperkritik karbon dioksit ile özütleme yoluyla ilaç etken maddeleri olan quercetin, rutin ve kaempferol bileşiklerinin en yüksek verimde özütlemesi amaçlanmıştır. Yapılan çalışmaların sonuçları aşağıda kısaca özetlenmiştir.

Kıvılcım, ıgde ve ayva bitkileri Türkiye iklim şartlarında yaygın olarak yetişen bitkilerdir. Kıvılcım ağacı, Türkiye orman alanının % 25,58 lik alanını oluşturmaktadır. Türkiye ayva yetiştiriciliğinde Dünyada ilk sırada yer alırken almaktadır. Bu potansiyeller düşünüldüğünde katma değeri yüksek fenolik antioksidanların üretimi için kullanılabilecek ciddi kaynaklara sahip olduğu görülecektir. Fenolik antioksidanlardan ticari ürün haline gelmiş olan resveratrol, quercetin gibi aktif maddeleri içeren ürünler hali hazırda satılmaktadır. Resveratrol kapsülün 100 mg lık 60 tabletinin satış fiyatı ortalama 110.-TL dir. Quercetin kapsülün ise, 500 mg lık 50 tabletinin ortalama fiyatı 80 TL dir. Ticari değeri yüksek gıda takviyeleri ve vitamin kullanımının hızla artmaya devam edeceği öngörülmektedir.

Eniyileme çalışmaları sonrasında belirlenen eniyilenmiş SCCO₂ özütleme şartları, yardımcı çözücülü ve yardımcı çözücsüz QRK miktarları Çizelge 6.1 de verilmiştir.

Çizelge 6.1. Kıvılcım kozalağı, ıgde ve ayva için en iyi SCCO₂ şartları ve QRK lar

Numune cinsi	Eniyilenmiş basınç, sıcaklık, parçacık boyutu ve CO ₂ akış hızları	Yardımcı çözücü etanolün kullanım durumu	Özütleme süresi (min)	En yüksek Toplam QRK miktarları (µg/g)
Kıvılcım kozalağı	200 bar, 35 °C, 0,3 mm boyut, 3 L/min CO ₂	Etanolsüz SCCO ₂ işlemi	120	7,35
		% 8 Etanollü SCCO ₂ işlemi	45	7,95
ıgde çekirdeğı	180 bar 65 °C, 0,3 mm boyut, 5 L/min CO ₂	Etanolsüz SCCO ₂ işlemi	120	3,27
		% 8 Etanollü SCCO ₂ işlemi	45	4,84
Ayva çekirdeğı	180 bar 55 °C 0,3 mm boyut, 7 L/min CO ₂	Etanolsüz SCCO ₂ işlemi	120	0,24
		% 8 Etanollü SCCO ₂ işlemi	45	6,47

Kızılçam kozalağı, iğde ve ayva çekirdekleriyle yapılan çalışmada özüt miktarının en yüksek olduğu basınçlar sırasıyla 220 bar, 240 bar ve 200 bar iken QRK miktarlarının en yüksek olduğu basınçlar sırasıyla 200 bar, 180 bar ve 180 bar şeklindedir ve Çizelge 6.2, Çizelge 6.3 ve Çizelge 6.4 te görülmektedir.

SCCO₂ proseslerinde yüksek basınca çıkılması ve çalışmanın o basınçta sürdürülmesi, enerji maliyetleri açısından çok önemlidir. Özüt miktarı yerine QRK miktarının veya hedeflenen aktif maddelere ait miktarların yüksek olarak tespit edildiği düşük basınçlarda çalışmak, enerji ve işletme maliyetleri bakımından oldukça önemli tasarruf sağlayacaktır.

6.1. Kızılçam Kozalağı Özüt ve QRK Eniyilemeye Ait Sonuçlar

Eniyileme çalışmaları sonrasında kızılçam kozalağında özüt miktarı eniyileme ile elde edilen en yüksek özüt miktarı 72,28 mg/g numune ve en yüksek QRK miktarı 6,03 µg/g numune olarak elde edilmiştir. İdealize edilen çalışmalar sonrasında kızılçam kozalağında QRK toplam miktarı en yüksek olması planlanan diğer bir çalışmada elde edilen en yüksek özüt miktarı 68,54 mg/g numune olurken en yüksek QRK miktarı 7,35 µg/g numune değerine yükselmiştir. Ayrıca yardımcı çözücünün özütleme verimine etkisinin araştırıldığı etanol ilaveli yapılan özütleme işlemleri sonucunda ise deney süresi 120 dakikadan 45 dakikaya düşerken QRK miktarının ilk çalışmaya göre % 31,7 ve ikinci çalışmaya göre ise % 8 oranında artarak 7,95 µg/g değerine yükseldiği görülmüştür. Kızılçam kozalağı için kullanılan SCCO₂ özütleme yöntemleri, çalışma süreleri ve elde edilen en yüksek QRK miktarları Çizelge 6.2 de verilmiştir.

Çizelge 6.2. Kızılçam kozalağı yöntem, süre, basınç ve QRK miktarları

SCCO ₂ Özütleme Yöntemi	Özütleme süresi (min)	Özütleme basıncı (bar)	Toplam QRK (µg/g)
Özüt miktarı eniyileme çalışması	120	220	6,03
QRK miktarı eniyileme çalışması	120	200	7,35
Etanol yardımcı çözücüsü ile QRK eniyileme çalışması	45	200	7,95

6.2. İğde Çekirdeği Özüt ve QRK Eniyilemeye Ait Sonuçlar

İdealize edilen çalışmalar ile iğde çekirdeğinde özüt miktarı eniyileme ile elde edilen en yüksek özüt miktarı 66,51 mg/g numune ve en yüksek QRK toplamı 2,95 µg/g numune olarak elde edilmiştir. İdealize edilen çalışmalar ile iğde çekirdeğinde QRK toplam miktarı en yüksek olması planlanan diğer bir çalışmada özüt miktarı 56,11 mg/g numune olurken en yüksek QRK toplamı 3,27 µg/g numune değerine yükselmiştir. Ayrıca yardımcı çözücünün verime etkisinin araştırıldığı etanol ilaveli özütleme işlemleri sonucunda ise deney süresi 120 dakikadan 45 dakikaya düşerken QRK miktarının ilk yöntemle göre % 63,7 ve ikinci yöntemle göre ise %47,8 oranında artarak 4,84 µg/g değerine yükseldiği görülmüştür.

İğde çekirdeği için kullanılan SCCO₂ özütleme yöntemleri, çalışma süreleri ve elde edilen en yüksek QRK miktarları Çizelge 6.3 de verilmiştir.

Çizelge 6.3. İğde çekirdeği yöntem, süre, basınç ve QRK miktarları

SCCO ₂ Özütleme Yöntemi	Özütleme süresi (min)	Özütleme basıncı (bar)	Toplam QRK (µg/g)
Özüt miktarı eniyileme çalışması	120	240	2,95
QRK miktarı eniyileme çalışması	120	180	3,27
Etanol yardımcı çözücüsü ile QRK eniyileme çalışması	45	180	4,84

6.3. Ayva Çekirdeği Özüt ve QRK Eniyilemeye Ait Sonuçlar

İdealize edilen çalışmalar ile ayva çekirdeğinde özüt miktarı eniyileme ile elde edilen en çok özüt miktarı 212,40 mg/g numune ve en çok QRK miktarı 0,20 µg/g numune olarak elde edilmiştir. İdealize edilen çalışmalar ile ayva çekirdeğinde QRK toplam miktarı en yüksek olması planlanan çalışmada en yüksek özüt miktarı 191,42 mg/g numune olurken en yüksek QRK toplamı 0,24 µg/g numune değerine yükselmiştir. Ayrıca yardımcı çözücünün verime etkisinin araştırıldığı etanol ilaveli özütleme işlemleri sonucunda ise deney süresi 120 dakikadan 45 dakikaya düşerken QRK miktarının ilk çalışmaya göre 32,3 kat arttığı ve ikinci çalışmaya göre 26,6 kat artarak 6,47 µg/g değerine ulaştığı görülmüştür.

Ayva çekirdeği için kullanılan SCCO₂ özütleme yöntemleri, çalışma süreleri ve elde edilen en yüksek QRK miktarları Çizelge 6.4 te verilmiştir.

Çizelge 6.4. Ayva çekirdeği yöntem, süre, basınç ve QRK miktarları

SCCO ₂ Özütleme Yöntemi	Özütleme süresi (min)	Özütleme basıncı (bar)	Toplam QRK (µg/g)
Özüt miktarı eniyileme çalışması	120	200	0,20
QRK miktarı eniyileme çalışması	120	180	0,24
Etanol yardımcı çözücüsü ile QRK eniyileme çalışması	45	180	6,47

Yardımcı çözücü olarak polar yapıdaki etanol ilavesi ile her üç bitkisel kaynakta da QRK miktarlarının gözle görülür şekilde arttığı gözlenmiştir. Literatüre uygun şekilde etanolün yardımcı çözücü olduğu durumlarda etanol oranı yükseldikçe QRK özütleme verimi de artmıştır. Süperkritik şartlarda CO₂'in apolar yapılı sınırlı çözücü etkisinin polar yapılı etanol ile arttığı her üç bitkisel kaynakta da gözlenmiştir.

Süperkritik özütleme işlemleri öncesi 30 °C da sabit tartıma getirme, kırma ve elek analizi ile sınıflandırmaları yapılan numuneler ile SCCO₂ özütleme işlemi sonrası alınan numunelerin karakterizasyon amaçlı SEM görüntüleri alınarak bitkisel kaynaklardaki gözenek yapısındaki değişimler gözlenmiştir. Tüm bitkisel kaynaklarda işlem öncesi ortalama 7-15 µm olan gözenek çaplarının SCCO₂ işlemi sonrası ortalama 20-30 µm aralığına yükseldiği gözlemlenmiştir. Kızılçam kozalağı, iğde çekirdeği ve ayva çekirdeği numunelerinin tamamı için SEM analiz sonuçlarına göre SCCO₂ özütleme işlemi sonrasında gözenekliliğin arttığı tespit edilmiştir.

SEM analizlerindeki gözenek büyüklüklerinin artışı ile BET yüzey alanı analiz sonuçları birlikte değerlendirildiğinde SEM analizlerinde alınan görüntüler ile BET analizlerinde alınan yüzey alanı ölçümlerinin birbirini desteklediği, SCCO₂ özütleme işlemlerinde verimi artırdığı görülmektedir.

BET analizlerinde her bir bitkisel kaynağın SCCO₂ işlemi öncesi ve sonrası yüzey alanlarında kızılçam kozalağı için 2,52 kat, iğde çekirdeği için 4,03 kat ve ayva çekirdeği

için 1,94 kat yüzey alanı artışının gerçekleşmesi yapıdaki organik maddelerin süperkritik karbon dioksit ile uzaklaştırıldığını göstermektedir.

Özütleme verimini ve özütlenen aktif bileşenlerin verimlerini yükseltmek için kullanılan çözücünün polaritesinin ne kadar önemli olduğu ayva çekirdeğine ait çalışmalarda açıkça görülmüştür. Ayva çekirdeğinden polar özellikli yardımcı çözücü ilavesi olmaksızın gerçekleştirilen SCCO₂ işlemlerinde elde edilen en yüksek QRK toplamı 0,243 µg/g iken, etanol ilavesi sonrası verim 26,6 kat artış ile 6,465 µg/g değerine çıkmıştır. Bunun nedeni araştırıldığında ayva çekirdeği hücreleri arasında ve hücre duvarlarında bol miktarda bulunan ve polar çözücülerde iyi çözünen pektin grubu ve benzeri yapıların çözünerek hücre içerisindeki aktif maddelerin daha yüksek oranda taşıyıcı faza geçişini sağladıkları görülmüştür. Bu artışı teyit için etanol ilaveli SCCO₂ işlemi sonrasında ayrılan ayva çekirdeği numunesinin BET yüzey alanı ölçümü tekrar alınmış ve bu numunenin yüzey alanının etanol ilavesiz olarak yapılan SCCO₂ işlemi görmüş numuneden % 11,4 oranında artışla 12,06 m²/g seviyesine çıktığı gözlenmiştir.

Öneri olarak, QRK miktarının en yüksek olarak belirlenmesi amacıyla yapılan etanol ilaveli süperkritik özütleme deneylerine çalışmalarımızdaki değerlerden daha yüksek etanol ilaveleri ile devam edilebilir. Ayrıca geleneksel tıpta sıklıkla kullanılan ayva yaprağında da benzer çalışmaların yapılması ve ilaç etken maddelerinin araştırılması faydalı olacaktır. Ayrıca farklı referans standart maddelerin temini ile aynı kaynaklardan başka ilaç etken maddelerinin de özütlerde bulunup bulunmadığının tespiti geleceğin bilimsel çalışmaları olacağı düşünülmektedir. Tüm bu çalışmalar literatüre olumlu katkılar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

- Atanur, O. M., (2008). *Ganoderma lucidum* mantarlarından konvansiyonel ve süperkritik ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen ekstraktlerin bileşenlerinin tanımlanması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Audrey Massiasa, B, Séverine Boisardc, Michel Baccaunauda, Fernando Leal Calderonb, Pascale Subra-Paternaultb (2015). Recovery of phenolics from apple peels using CO₂+ ethanol extraction: Kinetics and antioxidant activity of extracts. *Journal of Supercritical Fluids*, 98, 172–182.
- Balaban, M., (1989). Supercritical extraction Recovering process materials. *Agricultural Engineering*, 70(2), 24-25.
- Binsheng Wang, Hengyi Qu, JunMa, Xiling Sun, Dong Wang, Qiusheng Zheng and Du Xing (2014). Protective Effects of *Elaeagnus angustifolia* Leaf Extract against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury in Isolated Rat Heart. *Journal of Chemistry*, Article ID 693573, 6.
- Bo Li, Yun-Heng Shen, Yi-Ren Hea, and Wei-Dong Zhang (2013). Chemical Constituents and Biological Activities of *Pinus* Species. *Chemistry & Biodiversity*, 10, 2133-2159.
- Carvalho, Marcia; Silva, Branca M.; Silva, Renata; et al (2010). First Report on *Cydonia oblonga* Miller Anticancer Potential: Differential Anti proliferative Effect against Human Kidney and Colon Cancer Cells. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(6), 3366-3370.
- Cellat K, (2011). *Bazı Endemik Bitkilerin Uçucu Yağ Bileşenlerinin Ekstrakte Edilmesi ve İçeriklerinin Araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Chen Allen Y., Chen Yi Charlie. (2013) A review of the dietary flavonoid, kaempferol on human health and cancer chemoprevention. *Food Chemistry*, 138(4) 2099-2107.
- Coşkun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Resources*, 51(2), 117-23.
- Crespy V, Morand C, Manach C, Besson C, Demigne C, Remesy C. (1999). Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen. *AJP - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 277, 120-126.
- Çelik H.T., Gürü M. (2014) Extraction of oil and silybin compounds from milk thistle seeds usingsupercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*, 100, 105–109.
- Çengel, Y.A. And Boles, M.A. (2005) *Thermodynamics an engineering approach* (Beşinci baskı). Boston: McGraw Hill's Cosmos Butterwort-Heinemann.

- Ekinci, M. S., Gürü, M., (2014). Extraction of oil and Beta-sitosterol from peach (*Prunus persica*) seeds using supercritical carbon dioxide, *The Journal of Supercritical Fluids*, 92, 319-323.
- Erten, P., O. Taskın. (1985). *Kızılçam (Pinus brutia Ten.) kabuklarında tanen miktarının saptanmasına ilişkin araştırmalar*. Ormancılık Araştırma Enstitüsü Yayınları. Teknik Bülten Serisi No. 147.
- Fernandez - Ponce M.Teresa, Lourdes Casas, Casimiro Mantell, Miguel Rodríguez, Enrique Martínez de la Ossa. (2012). Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* leaves using green Technologies. *Journal of Supercritical Fluids*, 72, 168 – 175.
- Fresco, P., Borges, F., Diniz, C., Marques, M. P., (2006). New insights on the anticancer properties of dietary polyphenols”, *Medicinal Research Review*, 26(6), 747-766.
- Göksel E. 1984. *Kızılçamın Lif Morfolojisi ve Odunundan Sülfat Selülozu Elde Etme Olanakları Üzerine Araştırmalar*. D.Ü Orman Fakültesi Yayın No.364. İstanbul.
- Hacettepe Öğretim Üyeleri. *Superkritik karbon dioksit*. Ankara (2004).
- Hur, JY., Soh, Y., Kim, BH. et al. (2001). Neuroprotective and neurotrophic effects of quinic acids from *Aster scaber* in PC12 cells. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24(8), 921-924.
- Husain, N., Kumar, A., (2012). Reactive oxygen species and natural antioxidants a review. *Advances in Bioresarch*, 3(4), 164-175.
- Iso, S., Uno, S., Meguro, Y., Sasaki, T., Yoshida, S., (2000), Pressure dependence of extraction behavior of plutonium(IV) and Uranium(IV) from nitric acid solution to supercritical carbon dioxide containing tributylphosphate, *Progress in Nuclear Energy*, 37(1-4), 423-428.
- İçen, H., (2008). *Süperkritik Karbon Dioksit Ekstraksiyon Metodu İle Atık Çay Lifleri Ve Saplarından Kafein Eldesi*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, sayfa 70 Ankara.
- İçen, H., Gürü.M., (2009). Extraction of caffeine from tea stalk and fiber wastes using supercritical carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*, 50, 225–228.
- İnternet: T.C. Orman Genel Md. Teknik Bülten No:291 (2011)
URL:<http://www.ogm.gov.tr/Baskanliklar/DisIliskilerEgitimveArastirma/Documents/Teknik-Bultenler/0291.pdf>, Son Erişim Tarihi 12.12.2017.
- Juanjuan Yi, Zhenyu Wang, Haina Bai, Xiaojin Yu, Jing Jing and Lili Zuo. (2015) Optimization of Purification, Identification and Evaluation of the in Vitro Antitumor Activity of Polyphenols from *Pinus Koraiensis* Pinecones. *Molecules*, 20, 10450-10467.

- Karmelita Anggrianto, Rinaldi Salea, Bambang Veriansyah, Raymond R Tjandrawinata (2014). Application of supercritical fluid extraction on food processing black-eyed pea (*Vigna unguiculata*) and peanut (*Arachis hypogaea*). *Procedia Chemistry*, 9, 265 – 272.
- Kim, Yun Kyung. (2014). A study about policy regime for the protection of the rights of Korean traditional medicine in the world market - Focusing on Chinese legislation cases. *Journal of Law and Politics Research*, 14(1), 103-139.
- Kopcak, U., Mohamed, R. S. (2005). Caffeine solubility in supercritical carbon dioxide/co-solvent mixtures. *Journal of Supercritical Fluids*, 34, 209-214.
- Lang, Q., Wai, C.M. (2001). Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies – a practical review. *Talanta*, 53, 771-782.
- Majdi, S., Barzegar, M., Jabbari, A., Agha Alikhani, M., (2012). Supercritical fluid extraction of tobacco seed oil and its comparison with solvent extraction methods. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14(5), 1053–1065.
- McHugh, M.A., Krukonis, V.J. (1994). *Supercritical fluid extraction principles and practice* (2nd Ed.). Boston McGraw Hill's, Butterworth-Heinemann, 5-18.
- Mirmohammadlu, Mansur; Hosseini, Seyed Hojjat; Kamalinejad, Mohammad; et al. (2015) "Hypolipidemic, Hepatoprotective and Renoprotective Effects of *Cydonia Oblonga* Mill. Fruit in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(4), 1207-1214.
- Naczka, M., Shahidi, F. (2006). Phenolics in Cereals, Fruits and Vegetables: Occurrence, Extraction and Analysis. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523-42.
- Nakamura, K., Chi, Y.M., Yamada, Y. And Yano, T., (1986). Lipase activity and stability in supercritical carbondioxidie. *Chemical Engineering Communications*, 45, 207-212.
- Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., Van Norren, K, Van Leeuwen, P.A. 2001. Flavonoids: A Review of Probable Mechanisms of Action and Potential Applications. *American Journal of Clinical Nutrition*, 74, 418-25.
- Nuralın L., Tosun A., Erol F., Betül A.F., Gürü M., (2017) Süper kritik CO₂ özütlemesi ile iğde çekirdeklerinden quercetin miktarının yüzey cevap metodu ile optimizasyonu. *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, 32(4), 1233-1241.
- Parvan, Morteza; Sajjadi, Sayed-Ebrahim; Minaiyan, Mohsen. (2017). Protective effect of two extracts of *Cydonia oblonga* miller (Quince) fruits on gastric ulcer induced by indomethacin in rats. *International Journal of Preventive Medicine*, 8, 58.
- Pikulski M, Brodbelt JS. (2003). Differentiation of flavonoid glycoside isomers by using metal complexation and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of American Society For Mass Spectrometry*, 14(12), 1437-1453.

- Quitain, A.T., Oro, K., Katoh, S., Moriyoshi, T. (2006). Recovery of oil components of okara by ethanol-modified supercritical carbon dioxide extraction, *Bioresource Technology*, 97, 1509–1514.
- Reverchon E., Marrone C. (2001). Modeling and simulation of the supercritical CO₂ extraction of vegetable oils. *Journal of Supercritical Fluids*, 19, 161-175
- Roy, B. C., Goto, M., Hirose, T. (1996). Extraction of ginger oil with supercritical carbon dioxide: Experiments and modelling. *Industrial and Engineering Chemical Research*, 35, 607- 612.
- Saldana, M. D. A, Mohamed, R. S., Mazzafera, P. (2000). Supercritical carbon dioxide extraction of methylxanthines from mate tea leaves. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 17(3), 251-259.
- Salgın, U. (2007). Extraction of jojoba seed oil using supercritical CO₂ + ethanol mixture in green and high-tech separation process. *Journal of Supercritical Fluids*, 39, 330–337.
- Samaneh Faramarz, Golamreza Dehghan, Ali Jahanban-Esfahlan. (2015). Antioxidants in different parts of oleaster as a function of genotype. *Bio Impacts*, 5(2), 79-85.
- Sarıbaş Metin ve Ekici Burçin (2004). ZKÜ Kızılcâmın (*Pinus brutia* Ten.) batı Karadeniz Bölgesi'ndeki doğal yayılışına katkı. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 6(6), 127-135.
- Tulek, N. C. (2003). *Superkritik akışkan ekstraksiyonu*. Denizli: Pamukkale Üniversitesi, Gıda Muhendisliği Bölümü.
- Ulukanlı, Z. (2014). Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean *Pinus brutia* and *Pinus pinea* resin essential oils. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12, 901-910.
- Vauzour D., Rodriguez-Mateos A., Corona G., Oruna-Concha M. J., Spencer J. P. E. (2010). Polyphenols and human health prevention of disease and mechanisms of action, *Nutrients*, 2(11), 1106-1131.
- Ververidis F, Trantas E, Douglas C, Vollmer G, Kretzschmar G, Panopoulos N. (2007). Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products. Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. *Biotechnology Journal*, 2(10), 1214–34.
- Vicente - Sanchez, Y., Cabanas, A., Renuncio, J.A.R., Pando, C. (2009). Supercritical fluid extraction of peach (*Prunus persica*) seed oil using carbon dioxide and ethanol, *The Journal of Supercritical Fluids*, 49, 167-173.
- Wiesław Oleszek, Anna Stochmal, Piotr Karolewski, Ana M. Simonet, Francisco A. Macias, Aldo Tava (2002). Flavonoids from *Pinus sylvestris* needles and their variation in trees of different origin grown for nearly a century at the same Alan. *Biochemical Systematics and Ecology*, 30, 1011–1022.
- Wootton C.P., ve Ryan L. (2011). Improving public health The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Research*, 44, 3135-3148.

- Xin, W., Xianzhe, Z., Chenghai, L. (2008). Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Silymarin from Milk Thistle Tohums. *International Journal Agricultural & Biologocial Engineering*, 1(1), 75-82.
- Yalçın G. and Söğüt, Ö. (2014). Influence of extraction solvent on antioxidant capacity value of oleaster measured by Orac method. *Natural Product Research*, 28, 1513-1517.
- Yanishlieva, N. (2001). *Inhibiting Oxidation Antioxidants in Food: Practical Application*. Cambridge England: Woodhead Publishing Limited, 22-70.

EKLER

EK-1. Çalışma boyunca yapılan kalibrasyonlardan bazıları

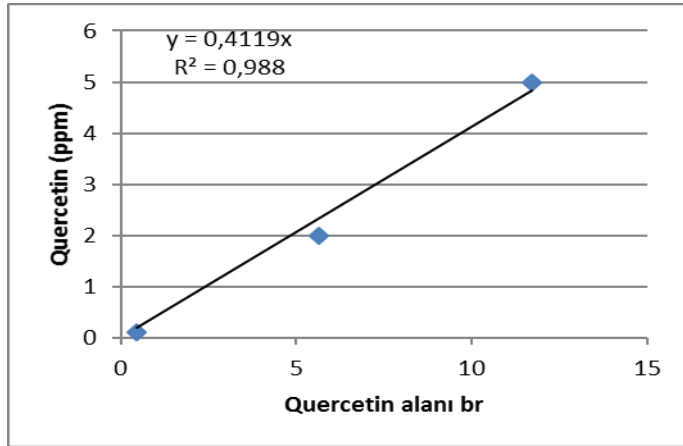
03 Haziran 2016 tarihinde yapılan Quercetin Rutin ve Kaempferol karışım standartlarına ait HPLC kalibrasyon verileridir.

Quercetin kalibrasyonu

$$Q \text{ ppm} = \text{alan} * 0,4119$$

Çizelge 1.1. Quercetin'in farklı derişimleri için tekrarlı HPLC alan verileri

Alan 1	Alan 2	Alan ortalama	Quercetin ppm
0,4795	0,4561	0,4678	0,1
6,4954	4,8314	5,6634	2
11,7084	11,7689	11,7386	5



Şekil 1.1. Quercetin'in farklı 3 derişimdeki kalibrasyon eğrisi

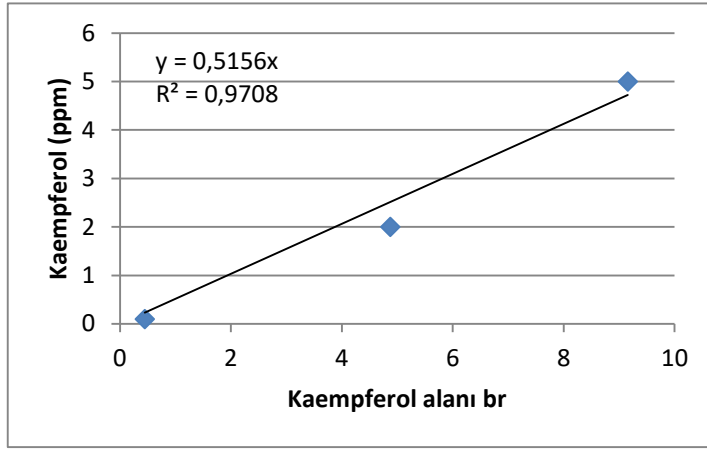
Kaempferol kalibrasyonu

$$\text{ppm} = \text{alan} * 0,5156$$

Çizelge 1.2. Kaempferol'ün farklı derişimleri için tekrarlı HPLC alan verileri

alan1	alan2	alan ort	Kaempferol ppm
0,4653	0,4263	0,4458	0,1
4,9872	4,7552	4,8712	2
9,1004	9,2131	9,1567	5

EK-1. (devam) Çalışma boyunca yapılan kalibrasyonlardan bazıları



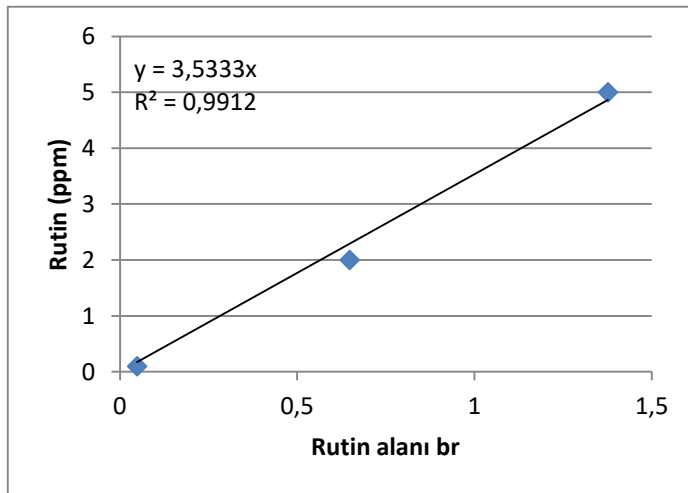
Şekil 1.2. Kaempferol'ün farklı 3 derişimdeki kalibrasyon eğrisi

Rutin kalibrasyonu

$$\text{ppm} = \text{alan} \times 3,5333$$

Çizelge 1.3. Rutin'in farklı derişimleri için tekrarlı HPLC alan verileri

alan1	alan2	alan otr	Rutin ppm
0,0516	0,0451	0,0483	0,1
0,6486	0,6465	0,6475	2
1,5394	1,2127	1,3760	5

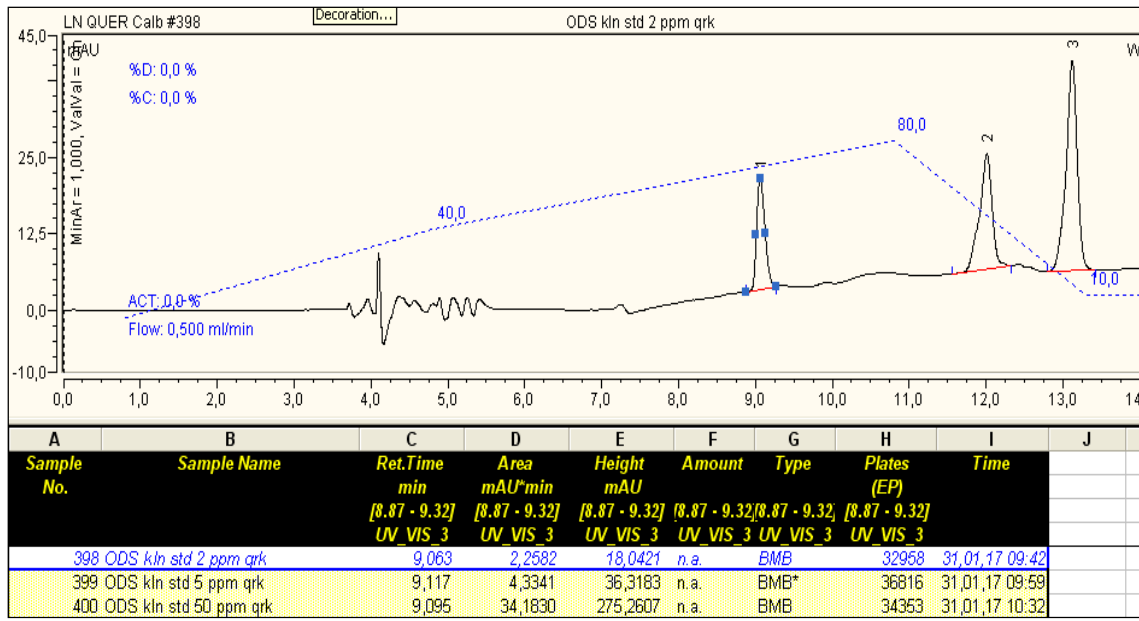


Şekil 1.3. Rutin'in farklı 3 derişimdeki kalibrasyon eğrisi

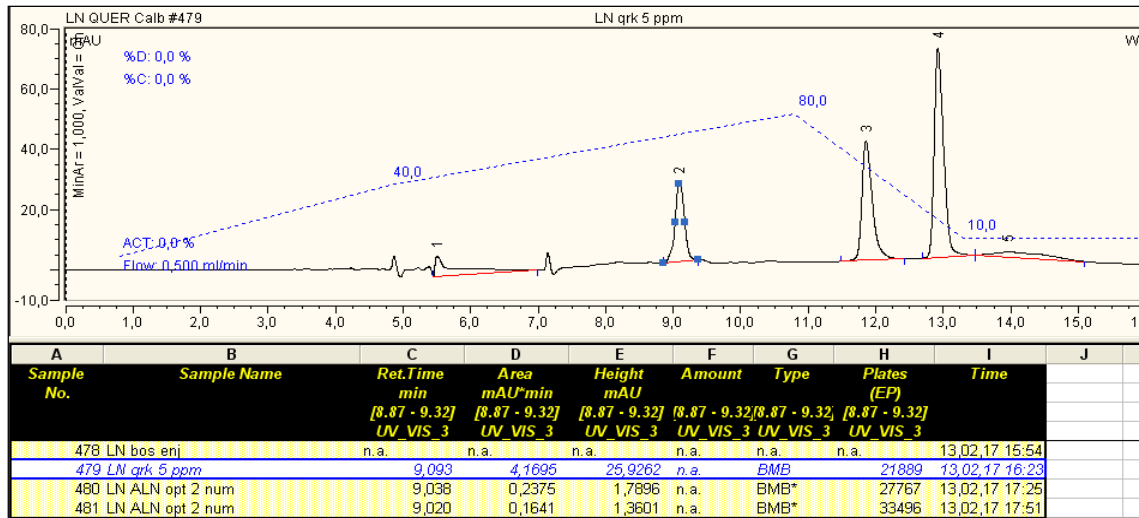
EK-1. (devam) Çalışma boyunca yapılan kalibrasyonlardan bazıları

Şubat 2017-02-17 LN tarihinde yapılan kalibrasyon çalışmasıdır.

Proje sürecinde temin edilen ODS tip (C 18 4,6X150 mm ve 5 µm lik) HPLC kolonu ile yapılan kalibrasyon çalışmasına ait rutin bileşiğine ait pik alanlarının seçili olduğu kromatogramlardır. İşaretli olan ilk gelen pik tek başına analizden bildiğimiz rutine aittir, rutinden sonra sağa doğru ikinci pik quercetin ve 3. Pik ise kaempferole aittir.

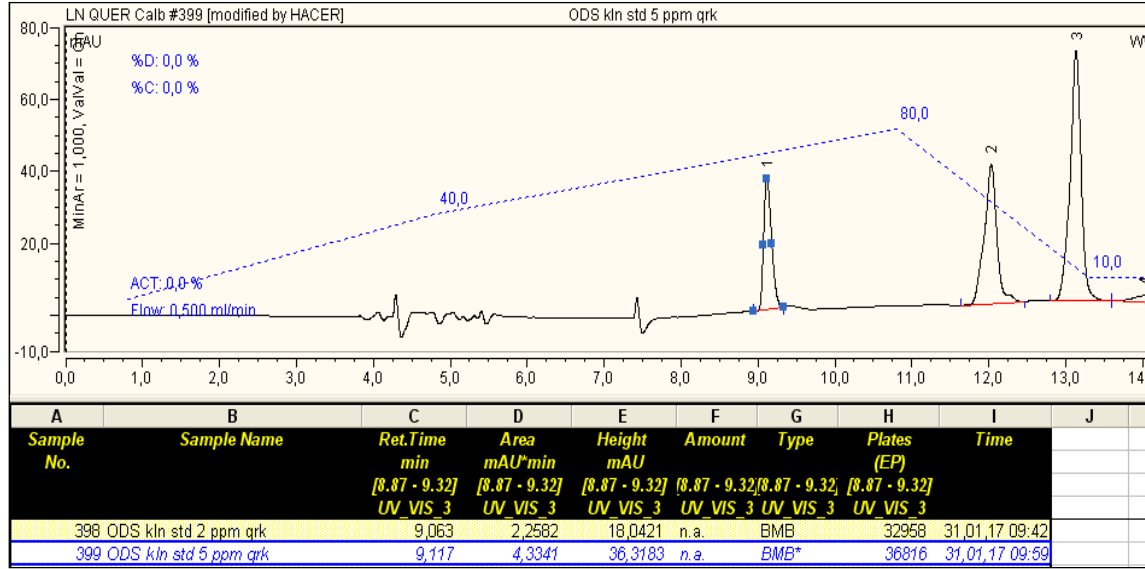


Şekil 1.4. QRK bileşiklerine ait 2 ppm'lik karışım standardın HPLC analizi

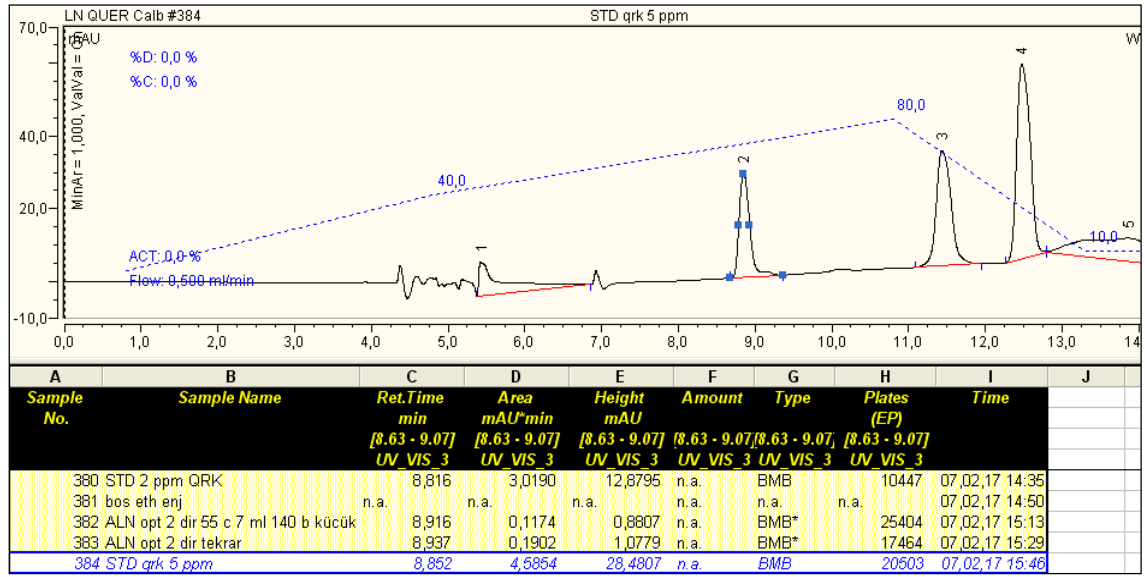


Şekil 1.5. QRK bileşiklerine ait 5 ppm'lik karışım standardın HPLC analizi

EK-1. (devam) Çalışma boyunca yapılan kalibrasyonlardan bazıları

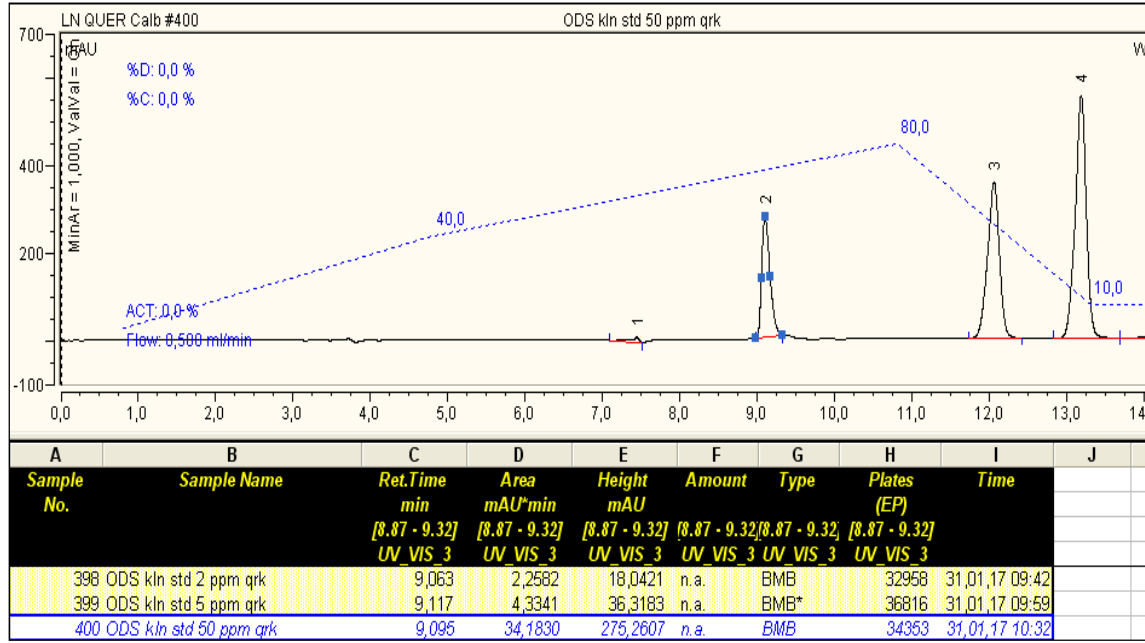


Şekil 1.6. QRK bileşiklerine ait 5 ppm'lik karışım standardın bir başka HPLC analizi



Şekil 1.7. QRK bileşiklerine ait 5 ppm'lik karışım standardın bir başka HPLC analizi

EK-1. (devam) Çalışma boyunca yapılan kalibrasyonlardan bazıları



Şekil 1.8. QRK bileşiklerine ait 50 ppm’lik karışım standardın HPLC analizi

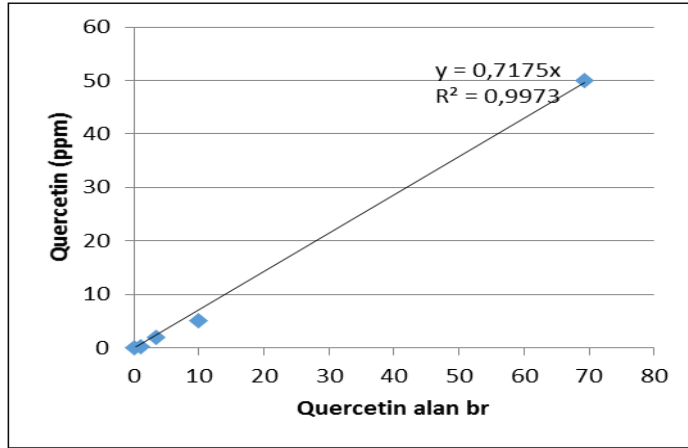
20.04.2016 itibariyle Quercetin Rutin ve Kaempferol için yeni kalibrasyon çalışması

Çizelge 1.4. Beş noktalı Quercetin kalibrasyon eğrisi verileri

Alan	ppm
0,08	0,05
1,05	0,2
3,45	2
9,91	5
69,22	50

denklem $y=0,7175x$ (alan x terimidir)

EK-1. (devam) Çalışma boyunca yapılan kalibrasyonlardan bazıları

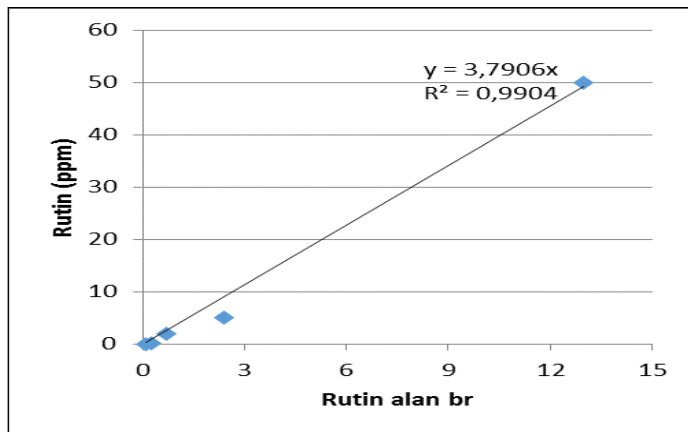


Şekil 1.9. Quercetine ait 5 noktalı kalibrasyon eğrisi

Çizelge 1.5. Beş noktalı Rutin kalibrasyon eğrisi verileri

Alan	ppm
0,08	0,05
0,25	0,2
0,70	2
2,38	5
12,98	50

denklem $y=3,7906x$ (alan x terimidir)



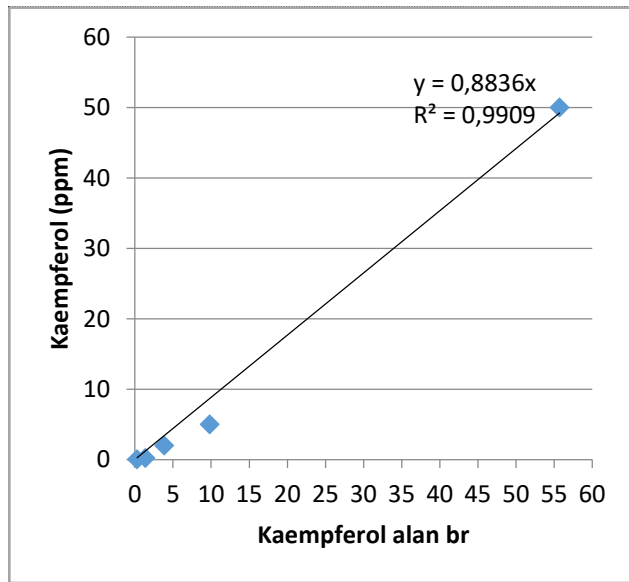
Şekil 1.10. Rutine ait 5 noktalı kalibrasyon eğrisi

EK-1. (devam) Çalışma boyunca yapılan kalibrasyonlardan bazıları

Çizelge 1.6. Beş noktalı Kaempferol kalibrasyon eğrisi verileri

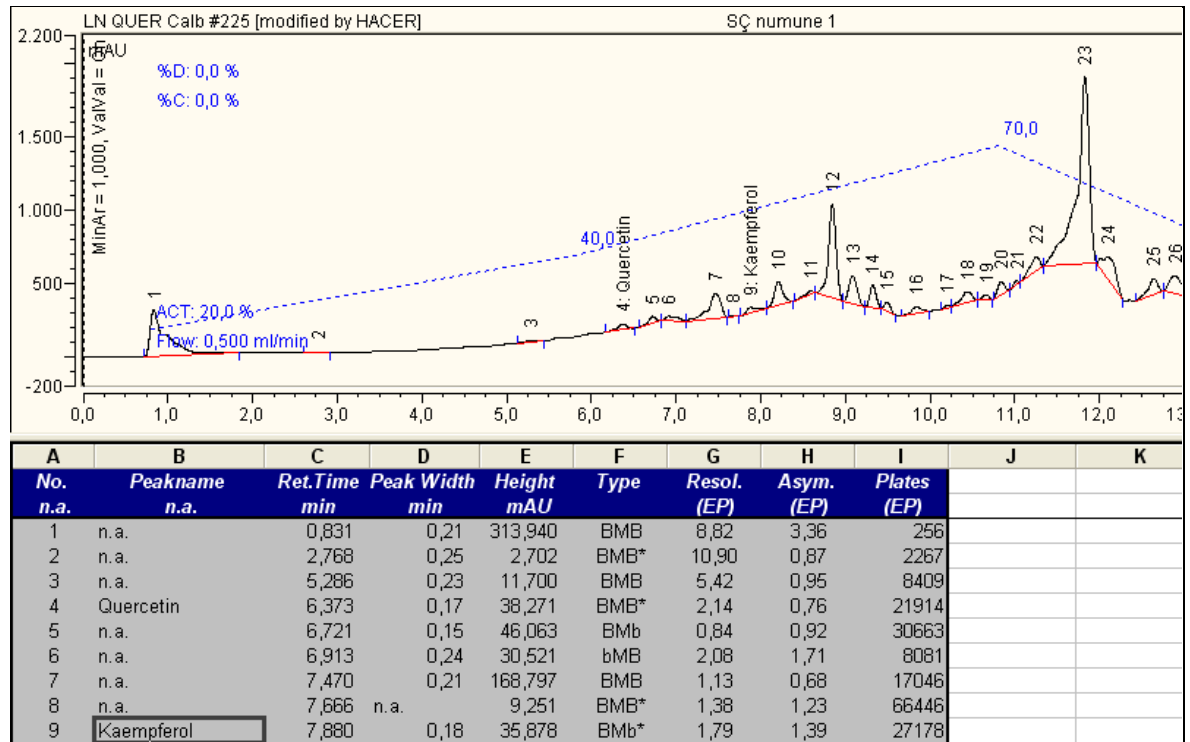
Alan	ppm
0,28	0,05
1,34	0,2
3,84	2
9,81	5
55,71	50

denklem $y=0,8836x$ (alan x terimidir)

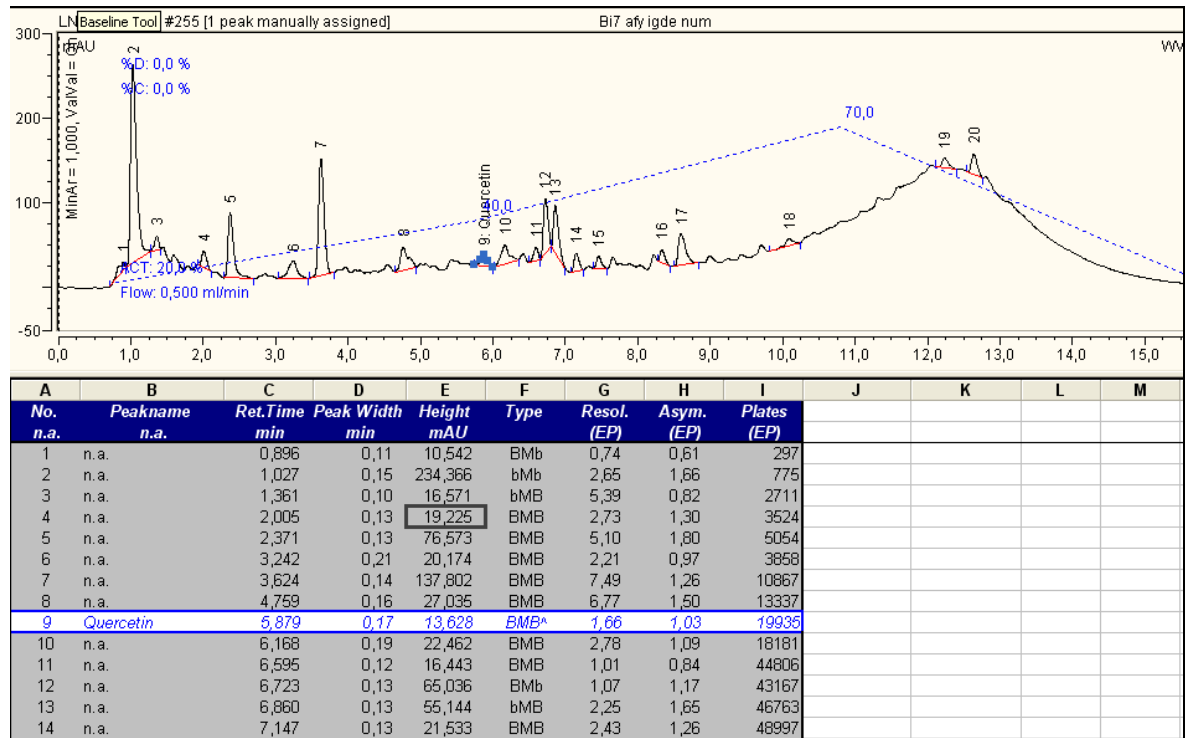


Şekil 1.11. Kaempferole ait 5 noktalı kalibrasyon eğrisi

EK-2. Kızılc am kozalağı, iğde ve ayva numunelerine ait örnek kromatogramlar

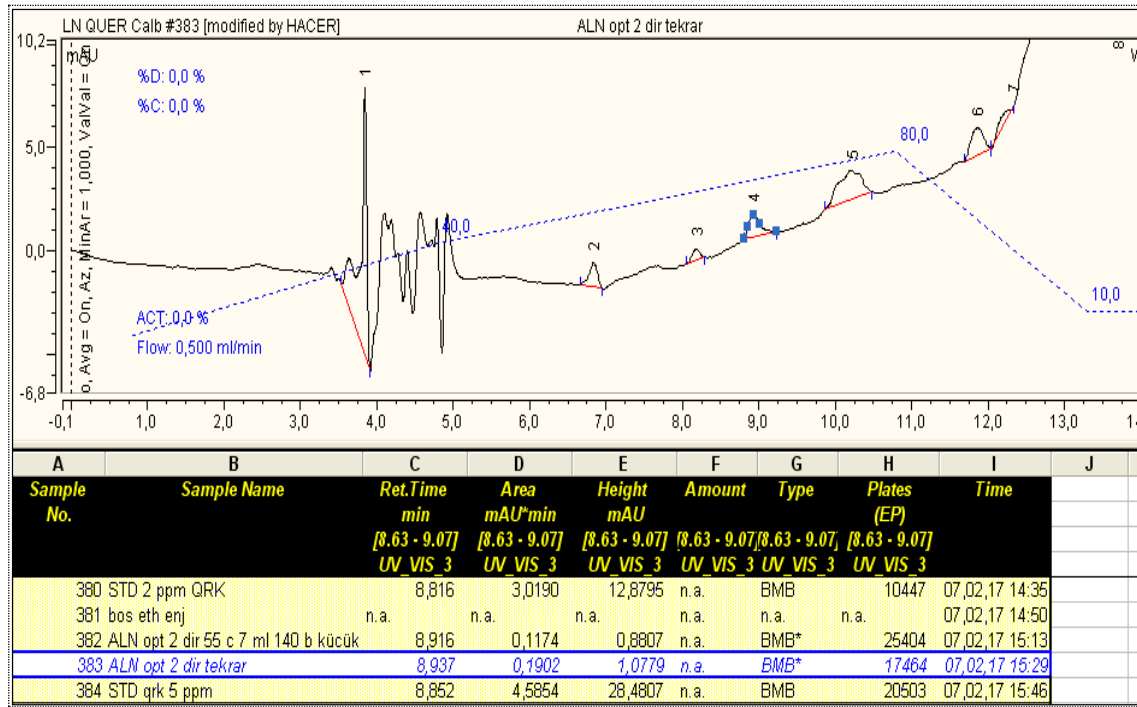


Şekil 2.1. Kızılc am 1 numunesine ait HPLC kromatogramı



Şekil 2.2. iğde 7 numunesine ait HPLC kromatogramı

EK-2. (devam) Kızılçam kozalağı, iğde ve ayva numunelerine ait örnek kromatogramlar



Şekil 2.3. Ayva çekirdeği optimum numunesinin HPLC kromatogramı

EK-3. HPLC cihazındaki bir örnek çalışmaya ait ayrıntılı program

Audit trail of sample SMP::\GIMBAM_local\HPLC\LN QUER CALB.SEQ\16623.
Executed 2017/2/1 on timebase HPLC (server GIMBAM). Start of sample 365 "ALN OPT
2 NUM", using program "ODS kln QRKA %80 B 0,5ml 15 dk".

Zaman	işlem
0.000	%A.Equate = "% 0,1 formik asitli SU"
0.000	%B.Equate = "% 75 ACT ve % 25 Metanol"
0.000	%C.Equate = "%C"
0.000	%D.Equate = "%D"
0.000	UV_VIS_1.Wavelength = 256
0.000	UV_VIS_1.Bandwidth = 1
0.000	UV_VIS_1.RefWavelength = 500
0.000	UV_VIS_1.RefBandwidth = 1
0.000	UV_VIS_1.Step = Auto
0.000	UV_VIS_1.Average = On
0.000	UV_VIS_2.Wavelength = 280
0.000	UV_VIS_2.Bandwidth = 1
0.000	UV_VIS_2.RefWavelength = 500
0.000	UV_VIS_2.Average = On
0.000	UV_VIS_3.Wavelength = 320
0.000	UV_VIS_3.RefWavelength = 600
0.000	UV_VIS_3.Average = On
0.000	UV_VIS_4.Wavelength = 360
0.000	UV_VIS_4.Bandwidth = 1
0.000	UV_VIS_4.RefWavelength = 600
0.000	UV_VIS_4.Average = On
0.000	Autozero
0.000	Flow = 0.500
0.000	%B = 0.0
0.000	%C = 0.0
0.000	%D = 0.0
0.000	Inject
0.000	Waiting for inject response on P680_Input3.

EK-3. (devam) HPLC cihazındaki bir örnek çalışmaya ait ayrıntılı program.

0.000 Got inject response.
0.000 UV_VIS_1.AcqOn
0.000 UV_VIS_2.AcqOn
0.000 UV_VIS_3.AcqOn
0.000 UV_VIS_4.AcqOn
0.000 Flow = 0.500
0.000 %B Gradient Start = 0.0, End = 40.0, Duration = 4.000
0.000 %C = 0.0
0.000 %D = 0.0
4.000 Flow = 0.500
4.000 %B Gradient Start = 40.0, End = 80.0, Duration = 6.000
4.000 %C = 0.0
4.000 %D = 0.0
10.000 Flow = 0.500
10.000 %B Gradient Start = 80.0, End = 10.0, Duration = 2.500
10.000 %C = 0.0
10.000 %D = 0.0
12.500 Flow = 0.500
12.500 %B = 10.0
12.500 %C = 0.0
12.500 %D = 0.0
13.500 Flow = 0.500
13.500 %B Gradient Start = 10.0, End = 0.0, Duration = 1.500
15.000 UV_VIS_1.AcqOff
15.000 UV_VIS_2.AcqOff
15.000 UV_VIS_3.AcqOff
15.000 UV_VIS_4.AcqOff
15.000 Flow = 0.500
15.000 %B = 0.0
15.000 %C = 0.0
15.000 %D = 0.0

End of sample "ALN OPT 2 NUM"

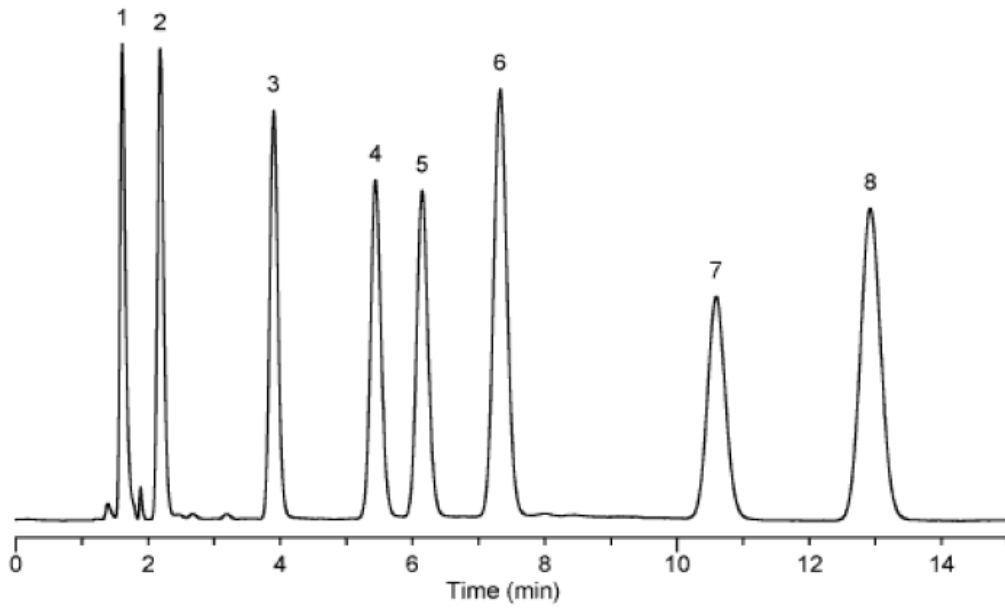
EK- 4. Flavonoidlerin örnek HPLC analiz metodu

InertSearch™ for LC

Inertsil® Applications

35. Analysis of Flavonoids

Data No. LA090-0000



Column : Inertsil ODS-3V
5 μ m
150 $\times$ 4.6 mm I.D.

Column Cat. No. : 5020-01801

Eluent : CH₃OH/THF/20 mM Phosphate buffer (pH 3.0) = 30/20/50

Flow rate : 1.0 mL/min.

Col. Temp. : 40°C

Detection : UV 254 nm

Injection Vol. : 1 μ L

Sample : Flavonoids

Solutes : 1. Troxerutin (0.2 mg/mL)
2. Rutin (0.2 mg/mL)
3. Fisetin (0.2 mg/mL)
4. Morin (0.2 mg/mL)
5. Luteolin (0.2 mg/mL)
6. Quercetin (0.2 mg/mL)
7. Kaempferol (0.2 mg/mL)
8. Chrysin (0.2 mg/mL)

GL Sciences

Şekil 4.1. Örnek çalışma metodu

EK-5. HPLC ile fenolik içeriklerin analiz yöntemi

5.1.Amaç

Bu prosedür gıdalarda (Meyve, meyve suyu, bal, yoğurt, peynir vb. ürünlerdir) fenolik bileşiklerin miktarının saptanması amacıyla kullanılacak olan standart çalışma yöntemini açıklamaktadır.

5.2.Prensip

Fenolik bileşikler deney numunesinden Metil Alkol ve Su karışımı ile ekstrakte edildikten sonra ters faz yüksek işlevli sıvı kromatografi ile tespit edilmesi ilkesine dayanır.

5.3.Alet – Ekipman ve Aksesuarlar

- a. HPLC cihazı
- b. Dedektör (DAD) veya UV dedektör
- c. HPLC Kolonu (ODS3- 25CM UZUNLUK 4.6 MM Çapında)
- d. Analitik Terazî (0.001 g Hassasiyette)
- e. Ultra Saf Su Cihazı
- f. Membrane Filtre kağıdı
- g. Mobil Faz Süzme Aparatı
- h. Otomatik Pipet (0-1 ml)
- i. Laboratuvar Cam Malzemeleri
- j. Karıştırıcı
- k. Enjektör (20 ml lik tek kullanımlık)
- l. Vial (renkli 1.5 ml'lik)

5.4. Kullanılan Kimyasallar ve Kimyasalların Hazırlanışı

HPLC de mobil fazlardan biri asetik asit (%2 suda hazırlanmış), diğeri ise; metanoldür ve bunlar gradient program ile kullanılmıştır.

Çözücü : %50 metanol: %50 su karışımı

EK-5. (devam) HPLC ile fenolik içeriklerin analiz yöntemi

5.5. Standart Ana Stok Çözelti (1000 ppm)

Metanol-saf su (50-50) karışımı ile 100 mg fenolik asit standartlarından alınıp, 100 ml 'lik balon jodeye çözülür (1000 ppm) konsantrasyonda stok çözelti hazırlanır.

Not : Fenolikler : Gallik Asit/ Kateşin / Kafeik Asit/ Vanilik Asit/ Kafeik Asit/ Epikateşin/ p-Kumarik Asit/ Ferrulik Asit/ Hidroksi Sinamik Asit/ Kuersetin

5.5.1. Çalışma standartların hazırlanması

100 ppm 'lik çalışma standardı: Ana stok çözeltiden 10 ml alınır ve 100 ml 'lik balon jodeye aktarılır metanol – saf su karışımı ile 100 ml'ye tamamlanır karıştırılır.

75 ppm'lik çalışma standardı: Ana stok çözeltiden 7.5 ml alınır ve 100 ml 'lik balon jodeye aktarılır metanol – saf su karışımı ile 100 ml'ye tamamlanır karıştırılır.

50 ppm'lik çalışma standardı: Ana stok çözeltiden 5 ml alınır ve 100 ml 'lik balon jodeye aktarılır metanol – saf su karışımı ile 100 ml'ye tamamlanır karıştırılır.

25 ppm'lik çalışma standardı: Ana stok çözeltiden 2.5 ml alınır ve 100 ml 'lik balon jodeye aktarılır metanol – saf su karışımı ile 100 ml'ye tamamlanır karıştırılır.

5 ppm'lik çalışma standardı: Ana stok çözeltiden 0.5 ml alınır ve 100 ml 'lik balon jodeye aktarılır metanol – saf su karışımı ile 100 ml'ye tamamlanır karıştırılır.

1 ppm'lik çalışma standardı: Ana stok çözeltiden 0.1 ml alınır ve 100 ml 'lik balon jodeye aktarılır metanol – saf su karışımı ile 100 ml'ye tamamlanır karıştırılır.

HPLC Şartları:

Kolon	: ODS/ODS3 250 mm 4.6 mm
Dedektör	: DAD dedektörü
Mobil Faz Akış Hızı	: 1 ml / dk
Enjeksiyon Hacmi	: 20 ul
Dalga Boyu	: 280,320 ve 360 nm
Numuneye Ait Seyreltme	: 20
Gradient çalışma programı	

EK-5. (devam) HPLC ile fenolik içeriklerin analiz yöntemi

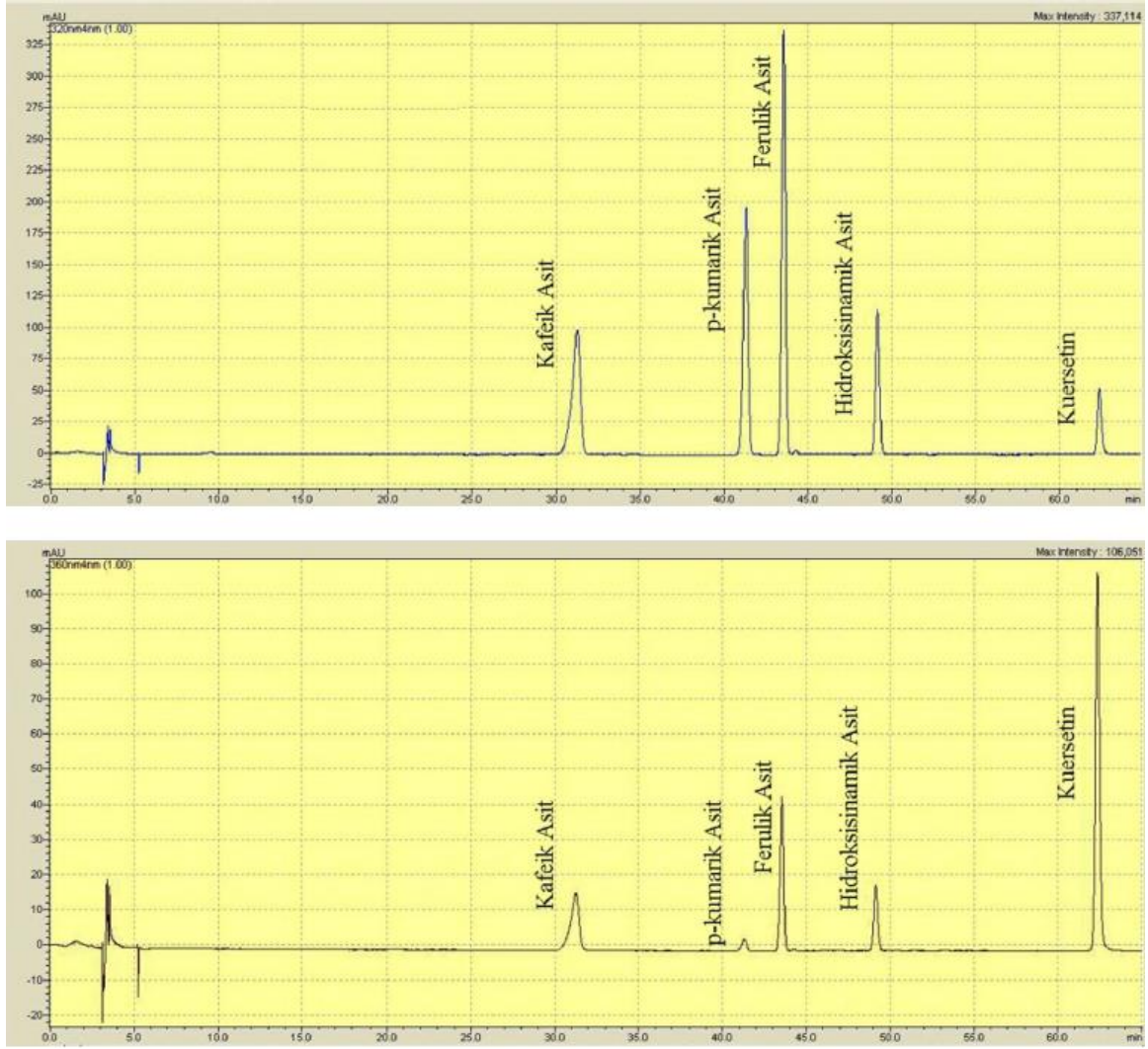
Çizelge 5.1. Fenolik içerik zamana karşı derişim verileri

	A	B
Süre(dk)	Konsantrasyonu(%)	Konsantrasyonu(%)
0	0	100
3	5	95
18	20	80
25	20	80
30	25	75
35	30	70
40	40	60
55	50	50
65	60	40
67	0	100
68	0	100

Toplam 68 dakikalık HPLC çalışma programı ve mobil fazların zamanla yüzde değışimleri yukarıda verilmiştir (Antteknik firması çalışmasıdır).

EK-5. (devam) HPLC ile fenolik içeriklerin analiz yöntemi

İlgili fenolik içeriğe ait kromatogramlar



Şekil 5.1. fenolik içeriğin belirlenmesi çalışmasına ait iki adet örnek kromatogram

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : NURALIN, Levent
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 18.06.1975, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (312) 582 35 21
 Faks : 0 (312) 582 35 30
 e-mail : leventnuralin@gazi.edu.tr /
 leventnur@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Kimya Mühendisliği	2018
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Mühendisliği	2008
Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Mühendisliği	1997
Lise	M.R. Üzel Kimya Meslek ve Teknik Lisesi	1992

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2011- Halen	Gazi Üniversitesi	Uzman
2004 - 2011	Özel sektörde çalıştı	Çeşitli görevler
2001 - 2003	EGM Kriminal polis laboratuarı	Kim. Müh. Kriminal asistan
1997 - 1998	MSB Kalite kontrol müdürlüğü	Kalite kontrol Mühendisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Nuralin L., Tosun A., Erol F., Betül A.F., Gürü M., (2017) Süper kritik CO₂ özütlemesi ile iğde çekirdeklerinden quercetin miktarının yüzey cevap metodu ile optimizasyonu. *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University* 32:4 1233-1241

Hobiler

Okumak, radyo dinlemek, su kenarında gezinti yapmak, çiçek bakmak, yüzmek



GAZİ GELECEKTİR..