ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tülay ÇOBAN

FARKLI YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN TURUNÇGİL UÇUCU YAĞ KOMPONENETLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

KİMYA ANABİLİM DALI

ADANA, 2009

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FARKLI YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN TURUNÇGİL UÇUCU YAĞ KOMPONENETLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Tülay ÇOBAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 01/10/2009 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği /Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....…….….	İmza.....……..	İmza.....…….….
Prof. Dr.E.Sultan GİRAY	Prof.Dr Saliha KIRICI	Yrd. Doç. Dr. Sibel IRMAK
Danışman	Üye	Üye

Bu tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof. Dr.Aziz ERTUNÇ
Enstitü Müdürü
İmza ve Mühür

Bu Çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Destekleme Birimi tarafından desteklenmiştir.
Proje No:FEF 2004 YL 50

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZ

YÜKSEK LİSANS

FARKLI YÖNTEMLERLE ELDE EDİLEN TURUNÇGİL UÇUCU YAĞ KOMPENENTLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Tülay ÇOBAN

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Danışman : Prof.Dr.E.Sultan GİRAY
Yıl : 2009, **sayfa:**48
Jüri : Prof. Dr. E. Sultan GİRAY
Prof. Dr. Saliha KIRICI
Yrd. Doç. Dr. Sibel IRMAK

Uçucu yağlar birçok sektörde önemi gittikçe artan maddelerdir. Bu çalışmada turunçgillere ait olan mandalina ve portakalın kabuk ve yapraklarından subuharı destilasyonu ve subkritik su ekstraksiyonu ile uçucu yağ elde edilmiştir. Bu iki yöntem kıyaslandığında genellikle subkritik su ekstraksiyonunun hem nitelik hem de nicelik olarak daha etkili bir yöntem olduğu saptanmıştır. Ayrıca genel olarak bitkilerin yaprak kısımlarındaki bileşenlerinin daha fazla ve oksijenli bileşikler yönünden daha zengin olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler : Sub-K SU, Hidrodestilasyon, Uçucu Yağ

ABSTRACT

MSc THESIS

COMPARISON OF CITRUS ESSENTIAL OIL COMPONENTS EXTRACTED BY VARIOUS EXTRACTION METHODS

Tülay ÇOBAN

DEPARTMENT OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
ÇUKUROVA UNIVERSITY

Supervisor: Prof.Dr.E. Sultan GİRAY
Year : 2009, **Pages:** 48
Jury : Prof. Dr.E. Sultan GİRAY
Prof. Dr. Saliha KIRICI
Yrd. Doç. Dr. Sibel IRMAK

Essential oils are industrial importance compounds. In this study essential oils of leatand peel of tangerine and orange were extracted with subcritical water and steam destilation extraction methods. Results showed that subcritical water extraction is more effective to extract essential oils. Besides it was found that generally leaf extracts were rich in composition and oxygenated compounds

Anahtar Kelimeler : Suberitical water, Hidrodistilation, Volatile oil

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince bilgilerini benimle paylaşan, bana yol gösteren ve bazı durumlarda bana anlayış ve sabır gösteren değerli danışman hocam Prof.Dr.E. Sultan GİRAY'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım. Laboratuar çalışmalarımda bilgilerini ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocalarım Dr. Özgür SÖNMEZ'e, Arş.gör. Murat TÜRK'e, Dr. Arif HASENOV'a ve laboratuar arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca beni destekleyen ve güç veren sevgili eşime teşekkür ederim. Bu çalışmamı değerli eşim ve oğluma ithaf ediyorum.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ.....**I**
ABSTRACT .....**II**
TEŞEKKÜRLER …….....**III**
İÇİNDEKİLER.....**IV**
ÇİZELGELER DİZİNİ .....**VI**
ŞEKİLLER DİZİNİ.....**VII**
SİMGE ve KISALTMALAR.....**VIII**
1.GİRİŞ.....1
1.1. Uçucu Yağların Özellikleri.....2
1.2. Uçucu Yağların Sınıflandırılması.....2
1.2.1. Terpenler.....3
1.3. Uçucu Yağların Ekstraksiyonu.....5
1.4.Süperkritik Akışkan Nedir?.....5
1.5.Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu.....6
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....8
2.1.Süper kritik karbondioksit ($skC0_2$) ile Yapılan Çalışmalar.....8
2.2.Sub-kritik Su ile Yapılan Çalışmalar.....10
2.3. Subuharı ile Yapılan Çalışmalar……..……12
3. MATERYAL ve METOD 13
3.1. Materyal.....13
3.2. Metod.....13
3.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler 13
3.2.2. Subuharı Destilasyonu ile Ekstraksiyon.....13
3.2.3. Subkritik Su ile Ekstraksiyon.....14
3.2.3.1. 100 ºC'Sıcaklıktaki Ekstraksiyon……..……..……....14
3.2.3.2. 125 ºC ve 150 ºC Sıcaklıklardaki Ekstraksiyon…....…….....14
3.2.3.3. Kinetik Çalışma 14
3.2.3.4. GC-MS Analizleri…….…….…….....14
4.BULGULARveTARTIŞMA.....16

4.1. Mandalina ile Yapılan Çalışmalar.....16
4.1.1. Mandalina Kabuğunun Su Buharı Destilasyonu ve Subkritik Su Ekstraksiyonu ……..……..…….....16
4.1.2. Mandalina Yaprağının Su Buharı Destilasyonu ve subkritik su Ekstraksiyonu….…….……..…….19
4.1.3. Mandalina Kabuğu ve Mandalina Yaprağı Ekstraktlarının Kıyaslanması……..…….…….22
4.2. Portakal ile Yapılan Çalışmalar.....24
4.2.1.Portakal Kabuğunun Su Buharı Destilasyonu ve Subkritik Su Ekstraksiyonu……..…….....24
4.2.2. Portakal Yaprağının Subuharı Destilasyonu ve Subkritik Su Ekstraksiyonu…….…..…29
4.2.3. Portakal Kabuğu ve Portakal Yaprağı Ekstraktlarının Kıyaslanması.....33
4.3. Sıcaklığın ve Ekstraksiyon Süresinin Subkritik Su Ekstraksiyonu Verimi ve Kompozisyonu Üzerindeki Etkisi.....36
4.3.1. Mandalina Yaprağının Uçucu yağ Kompozisyonun Sıcaklıkla Değişimi……..36
4.4. Statik Ekstraksiyon Süresinin Portakal Kabuğunun Uçucu Yağ bileşenleri Üzerindeki Etkisi.....41
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER.....42
KAYNAKALAR……44
ÖZGEÇMİŞ…….……...47

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 1.1. Terpenlerin Sınıflandırılması ve Bazı Monoterpen , Sesuiterpen ve Triterpen molekülleri.....4

Çizelge 1.2. Yaygın Olarak Kullanılan Bazı Bileşiklerin Fizikokimyasal Özellikleri……...6

Çizelge 4.1. Mandalina Kabuğundan Subuharı Destilasyonu ve Sabkritiksu Ekstraksiyon Yöntemleri ile Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonu.....19

Çizelge 4.2. Mandalina Yaprağından Subuharı Destilasyonu ve Sabkritiksu Ekstraksiyon Yöntemleri ile Hazırlanan Uçucu Yağların GS-MS Analiz Sonuçları.....21

Çizelge 4.3 Portakal Kabuğundan Subuharı Destilasyonu ve Sabkritiksu Ekstraksiyon Yöntemleri ile Elde Edilen Uçucu Yağların Kimyasal Kompozisyonu……..……...27

Çizelge 4.4. Portakal yaprağından Subuharı Destilasyonu ve Sabkritiksu Ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu……...31

Çizelge 4.5. Mandalina Yaprağının 100, 125, ve 150 °C de Sabkritiksu Ekstraksiyon ile Hazırlanan Uçucu Yağların Kimyasal komposizyonu…….39

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 1.1. İzopren Molekülü.....3
Şekil 1.2. Su İçin Üçlü Diyagram.....6
Şekil 4.1. Mandalina Kabuğunun Subuharı Destilasyonu ve Subkritik Su Ekstraksiyon Yöntemleri ile Hazırlanan Uçucu Gaz Kromotoğramları…….18
Şekil 4.2. Mandalina Yaprağının Subuharı Destilasyonu ve Subkritik Su Ekstraksiyon Yöntemleri ile Hazırlanan Uçucu Yağ Gaz Kromotoğramları…….20
Şekil 4.3. Her İki Ekstraksiyon Yöntemi İle Mandalina Kabuğu ve Mandalina Yaprağından Elde Edilen Terpen ve Oksijenli Bileşiklerin Kıyaslanması……..23
Şekil 4.4. Her İki Ekstraksiyon Yönteminin Mandalina kabuğu ve Mandalina Yaprağından Limonen ve Linalol Ekstraksiyon Üzerindeki Etkisi…….….24
Şekil 4.5. Her İki Ekstraksiyon Yöntemi ile Portakal Kabuğundan Elde Edilen Monoterpen ve Oksijenli Bileşiklerin Kıyaslanması……..……..…...29
Şekil 4.6. Her İki Ekstraksiyon Yöntemi ile Portakal Yaprağından Elde Edilen Monoterpen, Oksijenli monoterpen ve Seskuiterpenlerin Kıyaslanması....33
Şekil 4.7. Her İki Ekstraksiyon Yöntemi ile Portakal Kabuğundan ve Portakal Yaprağından Elde Edilen Monoterpen, Oksijenli monoterpen ve Seskuiterpenlerin Kıyaslanması……...……...35
Şekil 4.8. Mandalina Yaprağından 100,125,150 °C' de Subkritik Su Ekstraksiyonu İle Hazırlanan Uçucu Yağların GC-MS Kromotogramlar…… 38

SİMGELER VE KISALTMALAR

SBD : Su Buharı Destilasyonu

$SkCO_2$: Süperkritik Karbondioksit

SbKSE: Subkritik Su Ekstraksiyonu

SWE : Subkritik Su Ekstraksiyonu

MK : Mandalina Kabuğu

MY : Mandalina Yaprağı

PK : Portakal Kabuğu

PY : Portakal Yaprağı

Mpa : Megapaskal

Kpa : Kilopaskal

g : Gram

dk : Dakika

1. GİRİŞ

Uçucu yağlar (esanslar); esas itibariyle terpenlerden oluşmuş karışımlardır. Genellikle sıvı olup, kuvvetli kokulu ve uçucu maddelerdir. Suda çözünmez, organik çözücülerde kolaylıkla çözünürler. Uçucu yağlar ya bitkinin belirli organlarında (örneğin; taç yaprak, yaprak, meyve, kabuk, meyve sapı, odunsu doku gibi) ya da bitkinin tüm organlarında bulunabilir. Ayrıca bazen organların belirli dokularında da bulunabilirler. Uçucu yağlar bitkilerin bulunduğu familyalara göre salgı tüyünde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında ve salgı hücrelerinde bulunmaktadır (Url 1)

Uçucu yağlar parfümeri ve kozmetik sanayinin önemli bir maddesidir. Aynı zamanda sabun, deterjan, diş macunu üretiminde önemli bir yer almaktadır. Uçucu yağlar fizyolojik etkileri nedeniyle terapide kullanıldığı gibi tatları ve kokuları güzel olduğundan baharat olarakta kullanılmaktadır (Ceylan,1997). Bütün bunların yanında uçucu yağların ilaç endüstrisindeki yeri gittikçe artmaktadır; çünkü analjezik (ağrı dindiren), antiseptik (mikropların üremesini önleyen), antifungal (mantara karşı), antiviral (virüsün tesirini önleyen), bakterist (bakterilere karşı), sedatif (sakinleştirici), stimulan (uyarıcı), antioksidan (serbest radikallerin olumsuz etkilerini giderici) gibi etkileri vardır. Bu özellikler uçucu yağ türüne göre değişiklik göstermektedir; fakat hepsinin ortak yanı genel olarak antibiyotik, dezenfekte edici, bağışıklık sistemini güçlendirici etkileridir (Url 2)

Türkiye bitkisel çeşitliliği yönünden oldukça dikkate değer ve zengin bir floraya sahiptir. Bu zenginliklerin başında; üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güney Batı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu, muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik faklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşu gelmektedir (Url 1)

Uçucu yağlar yeryüzünde bir çok bitkide bulunmaktadır ve 100'den fazla değişik madde içermektedir. Çalışmamızda ticari olarak uçucu yağları en çok kullanılan bitkilerden olan turunçgillerden ; portakal ve mandalinanın hem kabukları

hem de yaprakları, son yıllarda dünyada artan bir ilgiyle üzerinde çalışılan süperkritik akışkanlar ekstraksiyon tekniği ile uçucu yağ kompozisyonunun belirlenmesi için kullanıldı. Amacımız her bir bitkinin kabuk ve yapraklarındaki uçucu yağları su buharı destilasiyonu ve sub-kritik su ile ekstrakste ederek örneklerin bileşenlerini kıyaslamaktır.

1.1 Uçucu Yağların Özellikleri

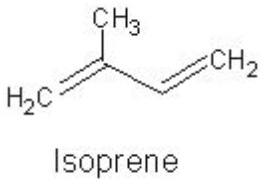
Genellikle oda sıcaklığında sıvıdırlar; ancak gül yağı, anason yağı gibi sıvı olmayan bazı uçucu yağlar da vardır;ayrıca uçucudurlar ve buharlaştıklarında geride herhangi bir kalıntı bırakmazlar. Fiziksel özellikleri yönünden uçucu yağlar birbirine genellikle benzerler. Genel olarak kırılma indeksleri yüksek ve lipofil çözücülerde iyi çözünürler. Örneğin petrol eteri, kloroform, benzol, eter, etanol iyi çözücülerdir. Uçucu yağlar genel olarak renksiz veya açık sarı rengindedir; ancak bazı bitkilerde kahverengi, yeşil, mavi gibi renlerde de olabilir.

1.2.Uçucu Yağların Sınıflandırılması

Uçucu yağları değişik özelliklerine göre gruplara ayırmak mümkündür. Bunlar kimyasal bileşimleri, aromatik özellikleri, farmakolojik ve terapik etkileri göz önünde tutularak, terpenik maddeler, aromatik maddeler, düz zincirli hidrokarbonlar, azot ve kükürt taşıyan bileşikler olmak üzere dört grupta incelenebilir. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler uçucu yağın kendine özgü kokusunu, tadını ve terapik özelliklerini verirler. Uçucu yağlarda asıl önemli olan bileşikler oksitlenmiş türevlerdir (Ceylan,1997).

1.2.1. Terpenler

Kimyasal anlamda terpenler, yapısı çeşitli fakat belli sayıda Şekil 1.1.'de verildiği gibi izopren birimlerine sahip olan bir moleküller grubu olarak tanımlanır. İzopren birimine göre; monoterpen, seskuiterpen, diterpen, ve triterpenler olarak dört grup altında toplanırlar. Bu tanım, temel moleküler iskelette izoprene sayılarına dayanan terpenlerin rasyonel bir şekilde sınıflandırılmasını sağlar. Çizelge 1.1.'de terpenlerin sınıflandırılması verilmiştir.



Şekil 1.1. İzopren molekülü

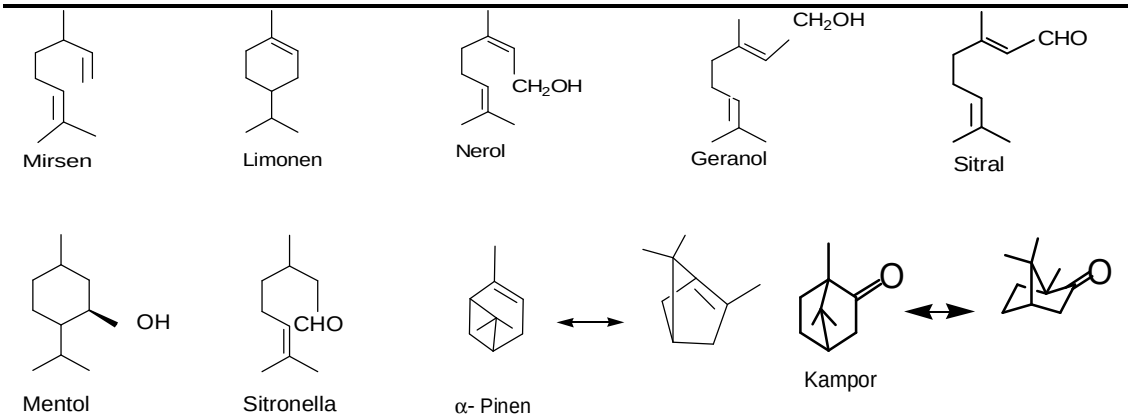
C sayısı 10 olanlar monoterpenlerdir. Bunlarda kendi arasında etken maddelerine göre 3'e ayrılır:

- Asiklik monoterpenler: Osimen, sitral, sitronel, gerinol gibi maddeler.
- Monosiklik monoterpenler:Terpinen, menton, küminal gibi maddeler.
- Bisiklik monoterpenler: Sabinen, tujon, kamfen gibi maddeler.

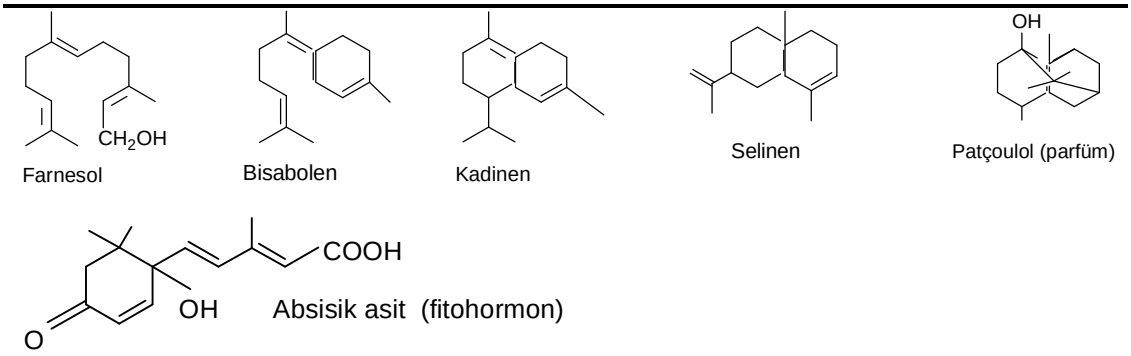
Monoterpenlerden ayrı karbon sayısı 15 olan seskuiterpenler; karbon sayısı 20 olan diterpenler ve karbon sayısı 30 olan triterpenler de vardır.

Çizelge 1.1. Terpenlerin sınıflandırılması ve bazı monoterpen, seskuiterpen ve triterpen molekülleri.

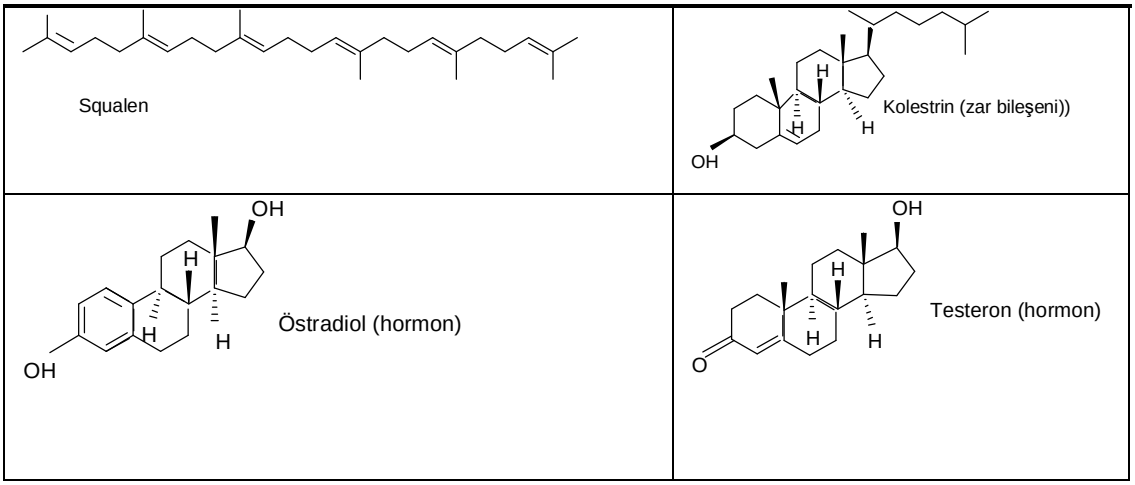
Monoterpenler İzopren sayısı: 2 C atomu sayısı: 10



Seskuiterpenler İzopren sayısı: 3 C atomu sayısı: 15



Triterpenler İzopren sayısı: 6 C atomu sayısı: 30

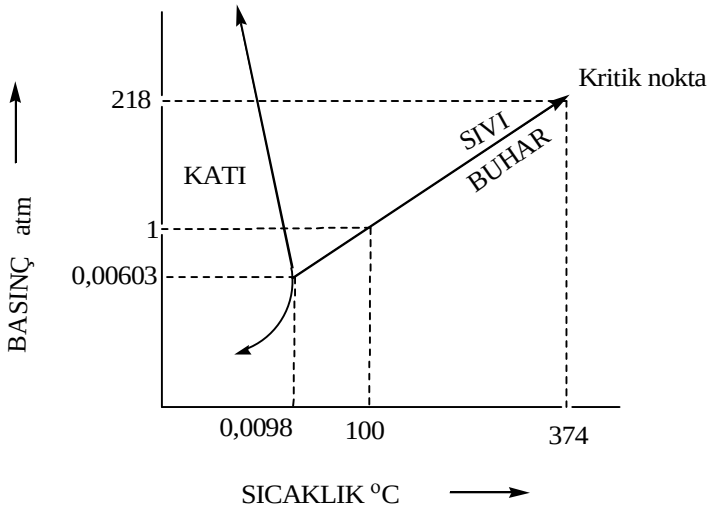


1.3. Uçucu Yağların Ekstraksiyonu

Farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak bitkilerden çeşitli uçucu yağ elde edilebilir. En yaygın yöntemler buhar destilasyonu ile çözücü ekstraksiyonudur. Kuru veya taze sebzelerden organik çözücüler kullanılarak derişik ekstraktlar elde edilebilir. En yaygın kullanılan çözücü hekzandır. Hekzan sebzelerdeki bütün lipofilik bileşikleri çözebilecek düzeydedir. Bu iki yöntemin dezavantajı düşük verim, uzun ekstraksiyon zamanı ve toksik çözücü kalıntılarıdır. Bu yüzden alternatif ekstraksiyon yöntemleri araştırmaları süperkritik ve subkritik akışkan koşulları altında gerçekleştirilen iki etkili yöntemi geliştirmiştir. Uçucu yağ bileşenlerinin yüksek basınçlı sıvılar veya süperkritik sıvılarla ekstraksiyonu (SKE) son yıllarda, özellikle gıda, farmokoloji ve kozmetik endüstrisinde çok ilgi çeken bir yöntem olmuştur.

1.4. Süperkritik Akışkan Nedir?

Bir madde için kritik sıcaklık; basınç ne olursa olsun o sıcaklığın üstünde maddenin sıvı olarak bulunamayacağı sıcaklıktır. Maddenin kritik sıcaklığındaki buhar basıncı da “kritik basınç”tır. Şekil 1.2’de su için üçlü diyagram verilmiştir. Şekilde görülen kritik nokta da kritik sıcaklık ve basıncın kesiştiği nokta olarak ifade edilir. Süperkritik akışkan ise hem sıcaklığı hem de basıncı kritik noktanın üzerinde olan maddeler için kullanılan bir terimdir. Süperkritik akışkanların yoğunlukları, vizkoziteleri ve diğer özellikleri gaz ve sıvı hallerindeki özellikleri arasında yer alır. Çizelge 2.1.’de süperkritik akışkan esktraksiyonunda yaygın olarak kulanılan bazı bileşiklerin özellikleri verilmiştir.



Şekil.1.2. Su için üçlü diyagram

Çizelge 1. 2**.** Yaygın olarak kullanılan bazı bileşiklerin fizikokimyasal özellikleri

Çözücü	Sıcaklık (T_{kr},K)	Basınç (P_{kr}, atm)	Hacim(V_{kr}, m^3/kmol)
Argon	151	48	0,0749
Karbon dioksit	30,4	72,9	0,0943
Etan	305,5	44,2	0,1480
Etanol	516	63	0,1673
Hekzan	507,9	29,9	0,3677
Metanol	513,2	78,5	0,1180
Su	647,3	218	0,0568

1.5. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile çözücünün yoğunluğu değiştirilerek çözme gücü ve çözmede seçicilik gibi çok önemli iki sonuç ortaya çıkmaktadır. Süperkritik sıvılar, bir sıvının yoğunluğuna ve çözme gücüne sahipken bir gaz gibi difüzyon etkisine sahiptir. Bu özellikleri sayesinde katı matrikse kolayca girerek çözme etkisi gösterebilmektedir. Çözme gücü akışkanın yoğunluğu ile artar. Yüksek yoğunluğa

sahip akışkanlar yüksek sıcaklıkta hazırlanabilir ve böylece organik bileşikleri önemli ölçüde çözer. Basıncın düşürülmesiyle de akışkanın çözünmüş bileşenlerden kolayca ayrılması sağlanmış olur. Çalışma sıcaklığı, diğer klasik yöntemlerden daha düşüktür ve sıcaklığa hassas organik bileşiklerin bozulmadan kazanılması mümkün olur. Bu yöntemle çok yüksek kalitede yağ elde etmek mümkündür; ayrıca diğer yöntemlerde karşılaşılan bileşen kaybı, toksik çözücülerin ekstrakta kalması gibi önemli sorunların da önüne geçilmesine olanak sağlamaktadır. Süperkritik CO_2 ekstraksiyonun yanı sıra, son yıllarda "süper ısıtılmış su" diye tanımlanan sub-kritik su ile (SbKS) ekstraksiyon da alternatif bir yöntem olarak ileri sürülmeye başlanmıştır. SbKS ile ekstraksiyon, 100-374 °C arasında bir sıcaklıkta ve akışkan formu oluşturmak üzere seçilmiş bir basınçta çalışılarak gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemle uçucu bileşenlerin kaybı ve bozunmalarının önüne geçilebilmektedir. Ayrıca basit, ucuz ve çevre kirliliği oluşturmayan özellikleri de avantajları arasındadır. SbKS'yun uçucu yağ ekstraksiyonunda çözücü olarak kullanılması oldukça yeni ve gelecek vaat eden bir yöntem olarak değerlendirilmektedir (Basile ve ark.,1998). Ayrıca hem geleneksel ekstraksiyon yöntemleri hem de süperkritik CO_2 eksrtaksiyonu yöntemlerine karşı geçerli ve anahtar rol oynayacak bir yöntem olarak da değerlendirilmektedir. Bunların yanı sıra uçucu olmayan yağların da çözücü ekstraksiyonu ile geri kazanılması mümkündür. Bu yöntemle oleoresin diye anılan bir aromatik reçine elde edilir ve normal uçucu yağlardan daha konsantredir ve gıda endüstrisinde çok geniş bir kullanım alanı vardır.

Çalışmamızda turunçgillere ait olan mandalina ve portakalın kabuk ve yapraklarından subuharı destilasyonu ve subkritik su ekstraksiyonu ile uçucu yağları elde edip, uçucu yağ bileşenlerini ve kullanılan ekstraksiyon yöntemlerini kıyaslamayı amaçladık.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1.1. Süperkritik Karbondioksit ($SKCO_2$) ile Yapılan Çalışmalar

Portakal kabuklarındaki uçucu yağların Superkritik CO_2 ile ekstrakte edildiği bir çalışmada; 293-323 K sıcaklık ve 8-28 Mpa basınç aralıklarında çalışarak, koşulların etkisi ve uçucu yağların yapısını incelenmişlerdir. En fazla uçucu yağ verimini 12,5 Mpa ve 308 K den elde etmişlerdir. Bu koşullarda uçucu yağların %99,5'ten fazlasının limonen olduğunu bulmuşlardır. Linalol'ün maksimum elde edilme koşulları 80 bar ve 35°C olarak belirlenmiştir. Hızlı ekstraksiyonun gerçekleşmesi için partikül boyutunun 2 mm'den küçük olmasının uygun olduğunu saptamışlardır (Mira ve ark., 1999).

Bergamont (citrus bergamia Risso) meyvesinin kabuklarıyla birlikte $SKCO_2$ ile ekstrakte edildiği bir araştırmada, çalışma koşulları, 8,000 kpa basınç ve 40°C sıcaklık; 9.000 kpa basınç ve 50°C sıcaklık; 10.000 kpa basınç ve 60 °C sıcaklık olarak kullanılmıştır. En iyi sonuçların 9.000 kpa basınc ve 50 °C sıcaklıkta elde edildiğini görmüşlerdir. Ayrıca bitki bileşenlerinden biri olan bergaptene'nin çözünürlüğünün sıcaklıktan etkilendiğini belirtmişlerdir. Bunların yanında bitkinin kuruluğunun süperkritik karbondioksit ekstraksiyonuna olan etkisini de incelemişlerdir (Poıana ve ark., 1999).

Eucalpytus bitkisiyle hidrodestilaston ve Superkritik akışkan ekstraksiyon koşullarında çalışmışlardır. Süperkritk sıvı ekstraktının daha yüksek antioksidant aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (Fadel ve ark., 1999).

15 farklı mandalina çeşidine ait kabuk ve yaprak olmak üzere 58 mandalina örneğinin GS-GC/MS, NMR ile kimyasal bileşimleri araştırılmıştır. Mandalina kabuğunda en fazla bulunan üç bileşenin limonen, *g*-terpinen ve linal asetat; mandalina yaprağında ise en fazla bulunan üç bileşenin sabinen, *g*-terpinen / linalol ve metil *N*-Metil antranilat olduğunu belirlemişlerdir (Lota ve ark., 2001).

Bir başka çalışmada; 4 farklı limon kokulu bitkinin yapraklarının su buharı destilasyonunun ve süperkritik CO_2 ekstraksiyonunu çalışmışlardır. Kullanılan bitkiler; *lemon balm, lemon eucalyptus, lemon gergamot ve lemongrass'*tir.

Ekstraksiyon sırasında üç farklı basınç (13,790; 27,580; 41,370 kpa) ve iki farklı sıcaklık (40 ve 60°C) kullanılmıştır. Her bitki için uygun ekstraksiyon koşullarının farklı olduğunu belirlemişlerdir ve CO_2 hacminin ekstraksiyon üzerindeki etkisini de incelemişlerdir; fakat *lemon* eucalyptus bitkisi uygun cevap vermediğinden atlanmıştır. Diğer üç bitki için en uygun ekstraksiyon hacminin 200 ml ve yukarısı olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada ayrıca partikül boyutunun ekstraksiyon verimi üzerindeki etkisini incelenmişlerdir. Partikül yüzey alanının arttırılması beklenildiği gibi ekstraksiyon ürününü arttırmadığı aksine azalttığı görülmüştür. Bu sonuç ilgilenilen bileşiklerin aşırı uçucu olmasından dolayı öğütme sırasında atmosfere karışmış olabileceğine bağlanmıştır. Her bir bitki yaprağındaki uçucu yağ bileşenlerini de saptamışlardır. Bileşenler aşağıda belirtilmiştir; *Lemon balm*: sitronel, neral, karyoflen oksit; *Lemon bergamont*: timol, timol metilester ve α-terpinen, *Lemon eucalyptus*: sitronel, neral, karyoflen, karyoflen oksit; *Lemon grass*: neral, geranal ve karyoflen (Rozzi ve ark., 2001).

Limonun yapraktaki ve kabuktaki uçucu yağlarını çalışmışlardır. Clevenger aleti kullanıp hidrodestilasyon ekstraksiyonu sonucunda 35 bileşen belirlemişlerdir. Yapraktaki uçucu yağ bileşenlerini; limonen, *b*-pinen ,mirsen, neral, geraniol,,neril asetat ve *b*-karyoflen olarak belirlemişlerdir. Kabuktaki uçucu yağ bileşenlerni ise; terpinen, *b*-pinen, mirsen, neral, geranial olarak bulmuşlardır (Papadopoulou ve ark., 2002).

Zatarıa Multiflora Boiss bitkisindeki uçucu yağları buhar destilasyonu ve superkritik CO_2 ile çalışmışlardır. $SKCO_2E$'da bu bitki için en uygun koşulların basıncın 30,4 Mpa, sıcaklığın 55°C, dinamik ekstraksiyon süresinin ise 20 dk olduğunu bulmuşlardır. Koşulların değiştirilmesiyle bileşen dağılımlarının oldukça değiştiğini belirlemişlerdir. Örneğin $SKCO_2E$'daki temel uçucu yağların; timol (% 14.2-67.6), λ-terpinen (%0.1-19.5) ve *p*-simen (%3.6-12.0)olduğunu belirlemişlerdir. Hidrodestilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların temel bileşenleri aynı olmasına rağmen % dağılımların farklılık gösterdiğini saptamışlardır. Bunlar; timol (% 44.6), λ-terpinen (%21.5), *p*-simen (%13.7)'dır (Yamanı ve ark., 2003).

Menth pulegium bitkisinden uçucu yağların elde edilmesinde süperkritik CO_2 ekstraksyonu ve su buharı destilasyonu yöntemleri karşılaştırılmıştır. Süperkritik CO_2 ile bitkiye 9 farklı çalışma koşulu uygulamışlardır En uygun sıcaklığın T=35 °C basıncın P=100 atm ve dinamik zamanın 10 dk olduğuınu saptamışlardır. Bu koşullarda temel bileşenler pulegon (%50.0), menton (%30.3) olarak bulunmuştur. Clevenger aygıtıyla yapılan su buharı destilasyonuda aynı maddeler temel bileşen olarak ekstrakte edilmekle birlikte oranın farklı olduğunu belirtmişlerdir. Pulegon (%37,8), menton (%20,3); ayrıca limonen bileşeni su buharı destilasiyonundaki ekstraksyonunda kalıntı düzeyinde iken süperkritik CO_2 ekstraksyonunda % 14,6 olarak bulunmuştur. Subuharı destilasiyonunda elde edilen bileşen sayısı 22 iken, $SKCO_2$'de 9 farklı yöntemde 4-12 arasında bileşen sayısı elde etmişlerdir (Aghel ve ark., 2004).

2.2. Subkritik Su ile Yapılan Çalışmalar

Defne yapraklarıyla sub-kritik su, sub-kritik diklorometan ve hidrodestilasyon yöntemlerini çalışmışlar ve iki sonuca varmışlardır.

a) Uçucu yağ miktasrı SKSE'da en fazladır.
b) SKSE'da oksitlenmiş bileşikler subkritik diklorometan ekstraktına göre daha fazla iken terpen bileşikleri daha azdır (Fernandez ve ark., 2000).

Ayala ve ark. (2001). *Defne* yapraklarının subkritik su ve su buharı destilasyonu üzerinde çalışmışlardır. Sub-kritik su ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilen uçucu yağlar için en uygun sıcaklığın 125 ^oC ve basıncın 2 Mpa olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanında SbKS ekstraksiyonunun hidrodestilasiyon ekstraksiyonun'dan daha hızlı ve daha verimli olduğunu, SbKS ekstraksiyonunda parametrelerin değiştirilmesiyle elde edilen ürünlerin yönlendirilebileceğini belirtmişlerdir.

Bu yöntemler dışında *satureja rechinger jamzad* bitkisinin çiçeklerindeki uçucu yağları subuharı, hidrodestilasyon, buhar yöntemi olmak üzere üç farklı destilasyon yöntemiyle çalışmışlardır. Çiçekler 2 devrede toplanmıştır.Tomurcuk halleri 1.evre iken, tam açmış halleri 2. evredir. Çiçek tomurcuklarından 54 bileşeni

hidrodestilasyonla elde etmişlerdir. Temel bileşenleri carvacrol (% 56.19), *p*- simen (% 14) ve α-thujone (%4.7) olarak belirlemişlerdir. Olgunlaşmış çiçeklerden 3 farklı ekstraksiyon yönteminden elde edilen uçucu yağların temel bileşeninin carvecrol olduğunu saptamışlardır. Carvacrol'ün % dağılımı; hidrodestilasyon (% 86.6), subuharı (% 89.3), buhar destilasyonu (% 84) olarak belirlenmiştir. Bu 3 yöntem kıyaslandığında uçucu yağ miktarının en fazla hidrodestilasyonla en az miktarın ise buhar destilasyonuyla elde edildiğini belirtmişlerdir (Sefidkon ve ark., 2007).

Lavandula stoechas bitkisiyle yapılan diğer bir çalışmada hidrodestilason, subkritik su ekstraksiyonu ve ultrasonik banyo ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Çalışma sonunda aşağıdaki sonuçları elde etmişlerdir.

Subkriti su eksytaksiyonunda: 124 bileşen saptanmıştır. Göreceli bollukları en fazla olan bileşenler; kamfor (% 29,64), fençon (% 26.93), sineol (% 4.38), 3-karen-10-al (% 3.16)

Hidrodestilasyonda: 94 bileşen saptanmıştır. Göreceli bollukları en fazla olan bileşenler; fençon (% 32.03), kamfor (% 14.71), metil asetat (% 11.70), 1,8-sineol (%7.67)

Ultrasonik banyo ekstraksiyonunda; 65 bileşene rastlanmıştır. Kamfor (% 41.09), fençon (% 34.23), metil asetat (% 4.97), 1,8-sineol (% 3.06)

Bu çalışmada monoterpen ve seskuiterpenlerin en fazla hidrodestilasyonda, ağır moleküllü oksijenli bileşillerin ise en fazla subkritik su ekstraksiyonunda elde edilebildiği saptanmıştır (Giray ve ark., 2008).

2.3. Subuharı ile Yapılan Çalışmalar

Isparta ilinden toplanan yayla kekiğile clevenger aygıtı ile subuharı destilasyon çalışması yapılmıştır. Örkler tomurcuklama sonu,ççeklenme başı devresi, tam çiçeklenme devresi, çieklenme sonu devresi ve tohum olgunlaştırma devresi olmak üzere beş farklı dönemde toplama yapılmıştır. Çalışma sonunda yayla kekiğinde yüksek uçucu yağ verimi için çiçeklenme başı veya en geç tam çiçeklenme dönemleri, yüksek uçucu yağ kalitesi için ise çiçeklenme sonu beklenmelidir sonucuna varmışlardır (Baydar ve ark. 2005).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Materyal

Çalışmada iki farklı turunçgilin kabuk ve yaprakları kullanılmıştır. Portakal meyve kabuğu (PK), portakal yaprağı (PY), mandalina meyve kabuğu (MK) ve mandalina yaprağı (MY), Adana ilinin Seyhan bölgesinden toplanmıştır. Örneklerin toplanması ekim ayında ve sabah 6.30-7.00 arasında gerçekleştirilmiştir.

Örnekler yıkanıp oda şartlarında kurutulmuştur. Sub-kritik su ekstraksiyonu için her bir madde gerekli miktarda mikserde öğütülmüştür. Hazırlanan örnekler kullanılıncaya kadar derin dondurucuda saklanmıştır.

3.1.2. Kimyasal Maddeler

Aseton (CH_3COCH_3)–(Merck) Yıkama işlemlerinde kullanılmıştır.

Diklorometan (CH_2CI_2)–(Merck) MK , MY , PK ve PY örneklerinin subuharı destilasyonu ve sub-kritik su ekstraksiyonundan sonra uçucu yağların GC-MS analizleri için hazırlanmasında kullanılmıştır.

n-Hekzan ($CH_3(CH_2)_4CH_3$)–(Merck) Hazırlanan uçucu yağlar için çözücü olarak kullanılmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Subuharı Destilasyonu ile Ekstraksiyon

Clevenger aygıtı kullanılarak subuharı destilasyonu 3 saat gerçekleştirilmiştir. Ortalama her bir deneyde 100 g örnek kullanılmıştır. 3 saat sonunda toplanan su+uçucu yağ karışımı diklorometan ile sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile ayrılmıştır. Uçucu yağ üzerinde kalmış olabilecek suyun uzaklaştırılması amacıyla örneğe bir miktar Na_2SO_4 ilave edilmiştir. En son da çözücü basınçlı azot gazı altında uzaklaştırılıp uçucu yağ miktarı belirlenmiştir.

3.2.2. Sub-kritik Su Ekstraksiyonu

3.2.2.1. 100 ^{o}C Sıcaklıktaki Ekstraksiyonu

2 g turunçgil örneği, 100 ^{o}C de 60 bar basınçta 30 dakika süreyle su ile statik olarak ekstrakte edildikten sonra, ekstrakt renksiz oluncaya kadar (≈ 20 dakika) dinamik ekstraksiyonla madde ayırma hunisine toplanmıştır. Ekstrakt içindeki uçucu yağlar 5 ml hekzan ile 3-4 kez çözücü ekstraksiyonu ile alınmıştır. Çözücü azot gazı ile uzaklaştırılıp uçucu yağ miktarı belirlenmiştir.

3.2.2.2. 125 ^{o}C ve 150 ^{o}C Sıcaklıklarındaki Ekstraksiyonu

2 g MY örneği, 125 ^{o}C ve 150 ^{o}C de 60 bar basınçta 30 dakika süreyle suyla statik olarak ekstrakte edilmiştir, her iki sıcaklıkta ekstrakt renksiz oluncaya kadar (≈ 20 dakika) dinamik ekstraksiyonla madde ayırma hunisine toplanmıştır. Ardından ekstrakt içindeki uçucu yağlar 5ml hekzan ile 3-4 kez çözücü ekstraksiyonu ile alınmıştır. Çözücü azot gazı ile uzaklaştırılıp uçucu yağ miktarı belirlenmiştir.

3.2.2.3. Kinetik Çalışma

PK'nun 100 ^{o}C de 60 bar basınç altında kinetik çalışması yapılmıştır. Sistem çalıştırıldıktan 5 dakika sonra vana açılarak 5 dakika boyunca madde ayırma hunisinde toplanmıştır. Sistem tekrar başlatılarak 10. dakika örneği başka bir ayırma hunisinde toplanmıştır. Yukarıdaki işlemler sırasıyla 15, 20 ve 25. dakika örnekleri toplanana kadar tekrar edilmiştir. Daha sonra ekstrakt içindeki uçucu yağlar 5ml diklorometan kulanılarak 3-4 defa çözücü ekstraksiyonu ile alınmıştır.

3.2.2.4. GC-MS Analizleri

Otoörnekleme sistemli Finnigan-trace markalı GS-MS cihazı kullanılarak kantitatif ve kalitatif işlemler yürütülmüştür. 1µl'lik örnek 50 split oranında enjekte edilmiştir. Kromotoğrafik ayırma işlemlerinde Zebran ZB-5 marka kapiler kolon kullanılmıştır. Analizde dakikada 1 ml akış hızı ile taşıyıcı gaz olarak helyum

kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 3 dakikalık artışlarla 50 ºC'den 240 ºC'ye proglanmıştır. (Örnek miktarı 2 ml'dir.) Enjeksiyon port sıcaklığı 250 ºC'dir. Uygulanan iyonlaşma voltajı 70 eV, kütle m/z aralığı 41-400 a.m.u'dır. Ayrılmış bileşenler GC-MS'teki uluslar arası standartlar ve teknolojiye uygun olarak kütle spektral kütüphane bilgisiyle eşleştirilerek tanımlanmıştır; Kantitatif belirleme, pik-alan integrasyonuna dayanılarak yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1 Mandalina ile Yapılan Çalışmalar

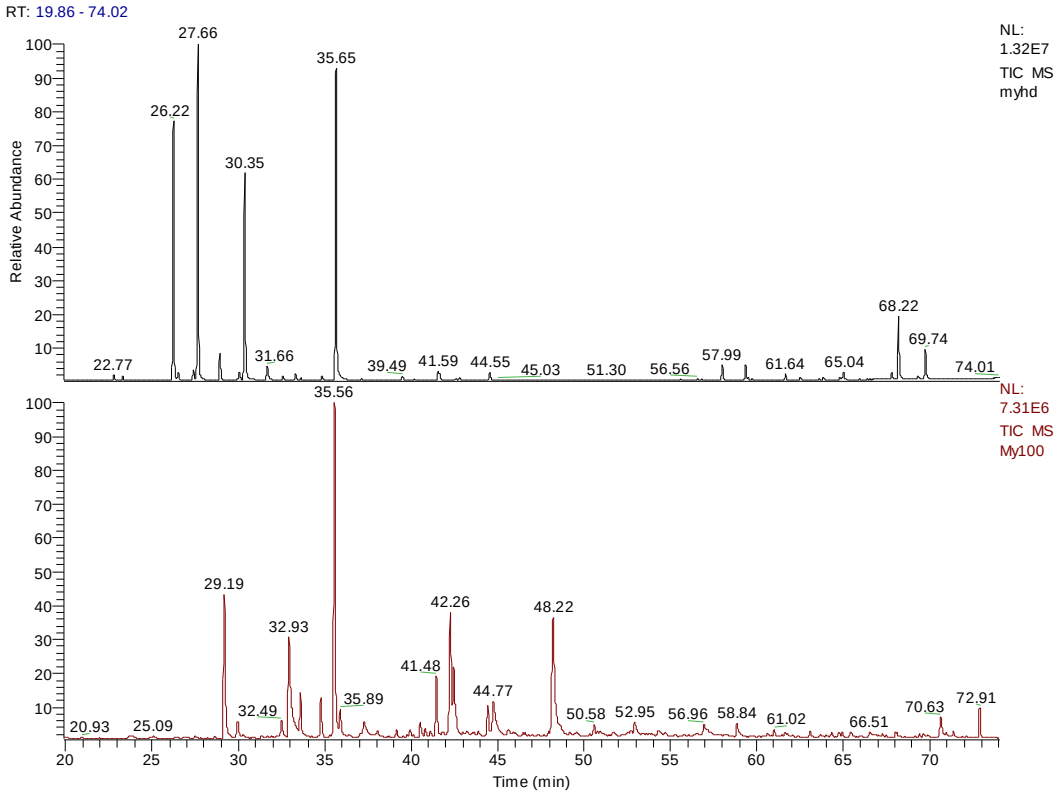
4.1.1. Mandalina Kabuğunun Su Buharı Destilasyonu ve Subkritik Su ile Ekstraksiyonu

Mandalina kabuğundan hidrodestilasyon ve sub-kritik su ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağların GC kromatogramları şekil 4.1'de verilmiştir. GC-MS analiz sonuçları ise çizelge 4.1'de verilmiştir. Çizelge hazırlanırken göreceli bolluğu %0.10'den az olanlara yer verilmemiştir. Şekil 4.1. ve çizelge 4.1. incelendiğinde, her iki yöntemle elde edilen uçucu yağların hem nitelik hem de nicelik olarak birbirinden oldukça farklı olduğu görülmektedir. GC/MS analiz sonuçlarını göre; mandalina kabuğundan, su buharı destilasyonu ile 31 bileşenin geri kazanılması mümkün olurken, sub-kritik su ile elde edilen uçucu yağda 33 bileşen belirlenmiş ve bu bileşenlerin tamamı tanımlanmıştır.

Her iki ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağlarda, temel bileşen, göreceli bollukları farklı olmakla birlikte sırasıyla subkritik su ekstraksiyonu ve SBD için sırasıyla %88.6 ve %71.9 **limonen** olarak belirlenmiştir. Ancak limonen dışındaki bileşenlerinin farklı olduğu görülmüştür. Su buharı destilasiyonu ile elde edilen uçucu yağın çok önemli bir kısmını oluşturan limonen (%71.9) dışında göreceli bollukları %0.1 den büyük olan bileşenler içinde sadece *β*–mirsen (%1.6), *α*-sinensal (%0.4), sabinen (%0.2) ve *b*-pinen (%0.1) olarak belirlenmiştir. Sub-kritik su ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağda limonen dışında göreceli bollukları fazla olan bileşenler ise; linalol (%7.4), β-fençil alkol (%2.1), *1*-fenil etanol (%2.3), *β*-sinensal (%2.0) olarak bulunmuştur. Limonen, bir başka çalışmada 15 farklı mandalinanın yaprak ve kabuklarının SBD ile elde edilen uçucu yağlarında da en fazla bulunan bileşen (%89.1-95.5) olarak belirlenmiştir (Lota ve ark.,2001). Anılan çalışmada, bizim çalışmamızda olduğu gibi, sabinen (0.3-4.0%) ve mirsen (1.4-2.0%) göreceli bollukları en fazla olan diğer bileşenler olarak belirlenmiştir. *a*-Pinen, *b*-fellandren, *b*-pinen, *(E)-b*-osimen , *D-3*-karen ve -terpinen ise, iz -%0.6

arında belirlenmiştir. Literatürde yer alan bir başka çalışmada 15 farklı cinse ait 58 mandalina $SKCO_2$ ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağda limonen en fazla bulunan bileşen olarak belirlenmiştir (Lota ve ark. 2001). Yukarda belirtildiği gibi; SbKSE yöntemi ile elde edilen uçucu yağlarda bir monoterpen olan limonen ana bileşen olmakla birlikte SbKSE yönteminin, uçucu yağ kalitesi açısından önemli olan oksijenli bileşikleri ekstrakte etmek için çok daha iyi bir yöntem olduğu anlaşılmaktadır. SBD yöntemi ile hazırlanan uçucu yağın %90.0'nun monoterpen hidrokarbonlardan oluştuğu görülürken, SbKSE ile monoterpenlerin (%74.5) yanı sıra önemli miktarda (%12.5), uçucu yağların kalitesi açısından çok önemli olan oksijenli bileşiklerin elde edildiği belirlenmiştir. SbKSE ile hazırlanan mandalina kabuğu uçucu yağında monoterpen oksijenli bileşiklerin yanı sıra, oktanal, dekanal ve *1*-fenil etanol gibi alifatik aldehit, alkol ve esterlere de rastlanmıştır. Çizelge 4.1.' den de görüleceği gibi SbKSE yöntemi ile elde edilen uçucu yağın oksijenli fraksiyonların yanı sıra *a*- ve *b*-siensal gibi oksijenli seskuiterpen bileşiklerinin ekstraksiyonu içinde SbKSE yönteminin daha iyi olduğu görülmektedir. SBD ile hazırlanan uçucu yağın ise, göreceli miktarı %0.1'den az olduğu için çizelge 4.1.'de yer almayan *a*-humulen, *d*-kadinen, aromadendren, *trans*-karyofilen gibi seskuiterpenleri içerdiği belirlenmiştir.

Tüm bu sonuçlara dayanarak; SbKSE yönteminin, mandalina kabuğundan uçucu yağ ekstraksiyonu işleminde, uçucu yağ kalitesi açısından çok daha iyi olduğunu söylemek mümkündür. Benzer sonuçlar rezene ve kekik ile (Jimenez-Carmona ve ark., 1999; Özel ve ark.,2003) yapılan çalışmada da belirtilmiştir; ayrıca bu sonuçlar laboratuarımızda *Lavandula stoechas* bitkisi ile yapılan çalışma sonuçları ile de uyumludur (Giray ve ark.,2008).



Şekil 4.1. Mandalina kabuğunun SBD ve SbKSE yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının gaz kromatogramları

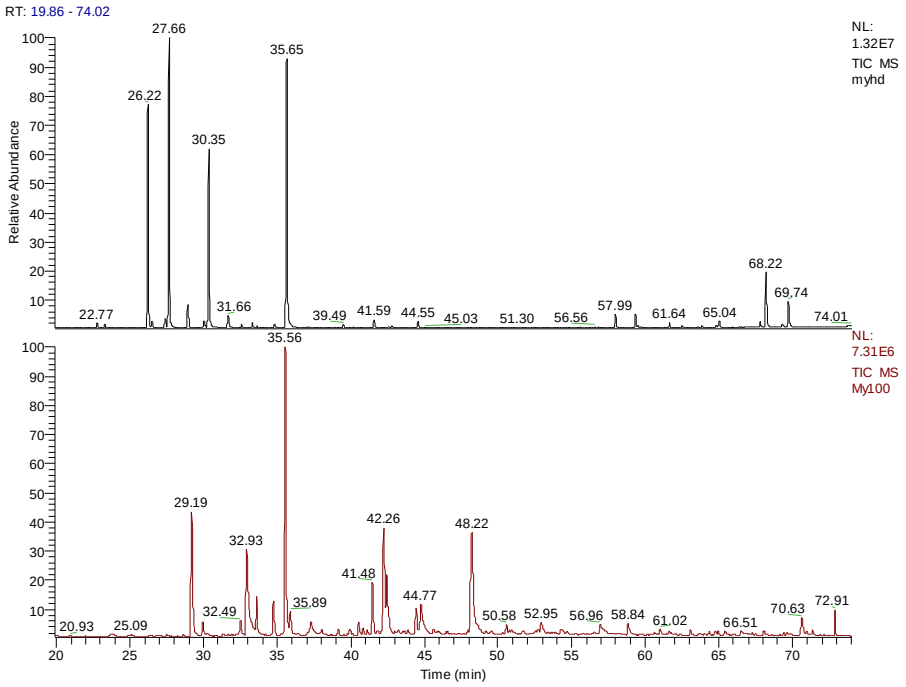
Çizelge 4.1. Mandalina kabuğundan SBD ve SbKSE yöntemleri ile elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonu

Bileşik	Göreceli Bolluk(%)	
	SBD	SbKSE
Monoterpen hidrokarbonlar	**90.0**	**74.5**
β-pinen	0.1	0.3
Sabinen	0.2	0.4
b-mirsen	1.6	0.9
Limonen	88.6	71.9
Bisiklo(5,10)oktan,8-(1-metiletiliden)	-	1.0
Oksijenli monoterpenler	**0.3**	**12.5**
Linalol	0.2	7.4
Trans-p-mentha-2,8- dienol	-	1.1
Cis-limonen oksit	İz	-
Cis-p-ment-2,8-diol	-	0.2
Sitronella	İz	
4- terpinol	0.1	0.6
Terpendiol II	-	İz
b-fençil alkol	İz	2.1
8-hidroksi linalool	-	İz
p-menta-6,8-dien-2-on	-	0.3
p-menta-1,8-dien-3 on	-	0.8
Sekuiterpenler	**0.4**	**2.4**
α-sinensal	İz	0.4
β-sinensal	0.4	2.0
Alifatik alkoller		**2.8**
1-fenil etanol	-	2.3
(E)- 2-oktadeken-1-ol	-	0.5
Alifatik aldehitler	**0.1**	**0.3**
Dekanal	0.1	-
oktanal	İz	0.3
Esterler	**-**	**0.9**
2-furan metanol tetrahidro, asetat	-	0.6
Asetik asit siklohekziliden etil ester	-	0.3

4.1.2. Mandalina Yaprağının Su Buharı Destilasyonu ve Subkritik Su ile Ekstraksiyonu

Mandalinayaprağının 100°C de SbKSE ve SBD ile hazırlanan uçucu yağların GC-MS analizi sırasında elde edilen gaz kromatogramları şekil 4.2'de verilmiştir. GC-MS kromatogramlarında belirlenen bileşenlerin kimyasal kompozisyonları ise çizelge 4.2.'de verilmiştir. Çizelge hazırlanırken göreceli bollukları %0.1 den az

olanlara yer verilmemiştir. Kıyaslama yapılması gereken durumlarda ise bu miktarlar "iz"olarak tanımlanmıştır. GC-MS analizleri subkritik su ile elde edilen uçucu yağın 55, subuharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağın ise 37 bileşen içerdiğini göstermiştir. Her iki uçucu yağda en fazla rastlanan bileşen; linalol olarak belirlenmiştir. SBD ile hazırlanan uçucu yağ da linalol %21.8 olarak, subkritik su ekstraktında ise %20.3 olarak belirlenmiştir. Bu iki ekstraksiyon yönteminde elde edilen uçucu yağların bileşen sayılarının yanı sıra temel bileşenlerin de oldukça farklı olduğu görülmüştür. Mandalina yaprağından subuharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağda linalol'den ayrı göreceli bollukları fazla olan diğer bileşenler; sabinen, limonen, *β*–sinensal, *β*-pinen, *α*-sinensal, *β*–farnesen, Δ-*3*-karen, *p*-simen, *cis*–ocimen, 4-terpinol'dir. SbKSE yöntemi ile hazırlanan uçucu yağda bulunan diğer bileşenler ise; *p*-simen, *β*–terpinen, epoksi linalool, *trans*- ve *cis*-sabinen hidrat, terpendiol II, 3,7-oktadien-2,6-diol olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.2.'den SBD ile elde edilen uçucu yağın yaklaşık olarak yarısını monoterpenlerin (%47.1) oluşturduğu görülmektedir.



Şekil 4.2. Mandalina yaprağının SBD ve SbKSE yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının gaz kromatogramları

Çizelge 4.2. Mandalina yaprağından SBD ve SbKSE ekstraksiyonu yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının GC-MS analiz sonuçlar

Monoterpen hidrokarbonlar	**47.1**	**1.1**
Fellandren	*İz*	-
Sabinen	21.0	-
β-pinen	0.7	
β – mirsen	1.0	-
∆- *3*- karen	4.0	-
Limonen	18.1	
cis- osimen	1.8	-
β –terpinen	0.5	1.1
Oksijenli monoterpenler	**25.1**	**39.0**
3,7-dimetil-okta-1,7-dien-3,6-diol		0.6
Bisiklo[3.1.0]hekzan-2-ol	0.5	
Epoksi linalol-trans	0.3	2.3
Epoksi linalol-cis	0.6	2.4
Linalol	21.8	20.3
1,5,7-oktatrien-3-ol-3,7-dimetil	-	1.1
Cis-sabinen hidrat	-	1.2
Sitronella	0.6	
4-terpinol	1.4	
İzopulegol	-	1.0
Terpendiol II	-	10.2
Seskuiterpenler	**13.9**	
trans-karyoflen	1.7	
β – farnesen	2.2	
Farnesol	0.4	
Serden	0.3	
Karyoflen oksit	0.8	
α-sinensal	6.2	
β-sinensal	2.3	
Alifatik alkoller	**0.1**	**10.8**
2,3-dimetil-1-bütanol	-	0.7
(E)-5-metil-2-metilen-2-hekzen-1 ol	-	0.1
1-hekzanol	-	0.5
1-bütanol,2-etil	-	0.3
Oktan,1- etoksi	-	0.2
1,2-siklopentan-diol-trans	-	0.1
1-Siklopenten-4-ol	-	0.1
1,3-heptadecan-1-ol	0.1	
3,7-oktadien-2,6-diol-2,6-dimetil	İz	8.8
Alifatik aldehit ve ketonlar	**2.9**	**4.1**
Metil ızopropenil keton	-	0.2
6-metil-5-hepten-3-on		2.5
2,4,4-trimetil-okta-1-hekzen		0.3
p-simen	2.9	1.1

Çizelge 4.2.(devamı)Mandalina yaprağından SBD ve SbKSE ekstraksiyonu yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının GC-MS analiz sonuçlar

Esterler	**0.3**	**0.2**
4-hekzanoik asit,6-hidroksi-4-metil-metil ester		0.2
10,13-oktadekanoik asit, metil ester	0.1	
Arakhidonik asit metil ester	0.2	

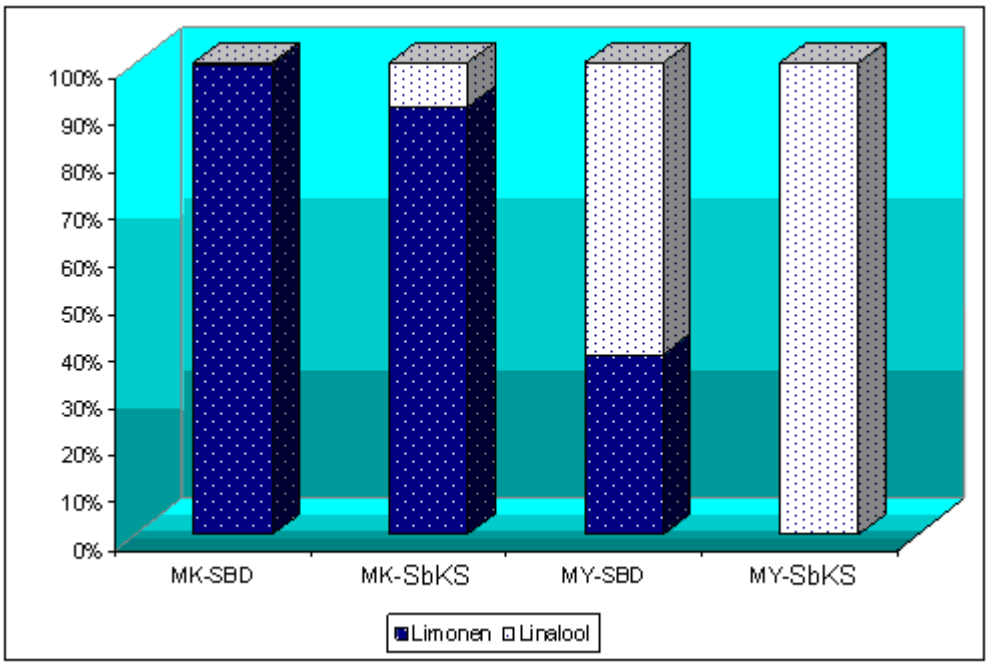
4.1.3. MK ve MY Ekstraktlarının Kıyaslanması

Mandalina kabuğunun ve Mandalina yaprağının SBD ile hazırlanan uçucu yağlarının GC-MS analizleri sonuçları incelendiğinde kabuk ve yapraktaki bileşen sayılarının MK için 31, MY içinse 37 olduğu bulunmuştur. Ayrıca, her iki materyalin temel bileşenlerinin de birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Bir önceki bölümde verildiği gibi; MK'nın temel bileşeni bir monoterpen olan limonen (%88.6) iken, MY'nın temel bileşeni oksijenli monoterpenlerden olan linalol (%21.8) olarak bulunmuştur. MY'dan her iki yöntemle hazırlanan uçucu yağların temel bileşeninin bir oksijenli monoterpen bileşiği olması, mandalina yaprağının uçucu yağların kalitesini belirleyen oksijenli hidrokarbonlarca daha zengin olduğunu göstermektedir. 100°C de SbKSE ile MK ve MY'ndan hazırlanan uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları, her iki uçucu yağın bileşen sayısı ve kimyasal kompozisyon bakımından oldukça farklı olduğunu göstermiştir. Mandalina kabuğunun bileşen sayısı 33 iken mandalina yaprağından izole edilen bileşen sayısı 55 olarak bulunmuştur. Bunun yanında kabuk ve yaprağın SbKSE ile elde edilen uçucu yağlarında göreceli olarak en çok bulunan bileşen de farklı bulunmuştur. MK'nun temel bileşeni limonen (%71.9) iken, MY'nin temel bileşeni linalol (%20.3) olarak belirlenmiştir.

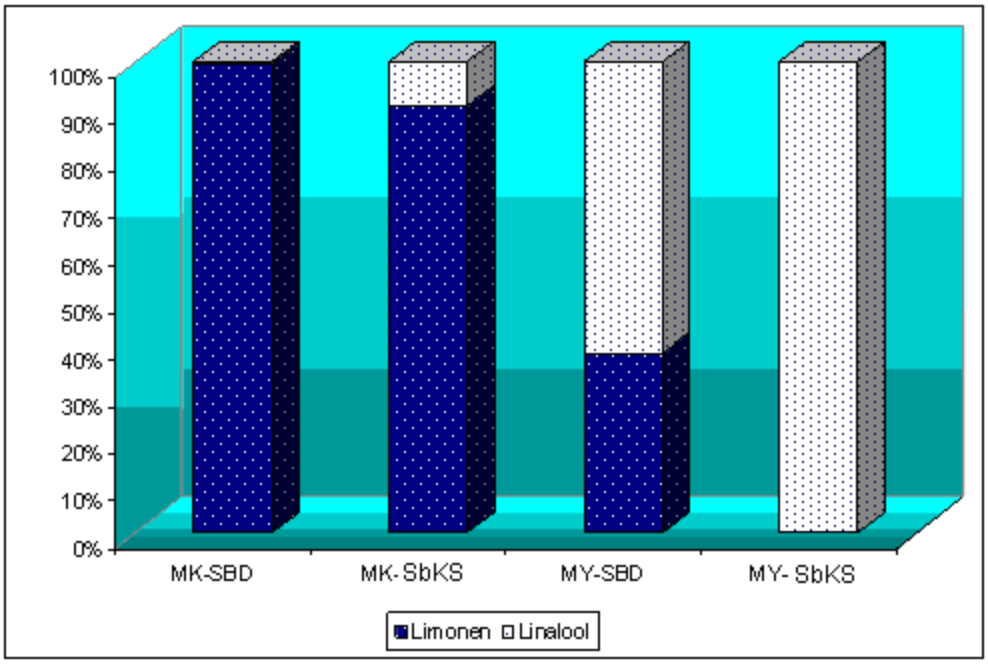
Şekil 4.3. de her iki materyalden, her iki ekstraksiyon yöntemi ile belirlenen terpen ve oksijenli bileşiklerin bir kıyaslanması verilmiştir. Buradan, yaprağın kabuktan daha fazla oksijenli bileşikler içerdiği anlaşılmaktadır.

Şekil 4.4. de ise her iki materyalden, SBD ve SbKSE ile 100˚C elde edilen uçucu yağlardaki limonen ve linalol miktarlarının bir kıyaslanması verilmiştir. Şekil

4.4. incelendiğinde SBD ile mandalina kabuğundan, limonenin daha çok ekstrakte edilebildiği anlaşılmaktadır. Kabukta SbKSE'nun etkisi ile biraz daha fazla oksijenli bileşiklerin elde edilebileceği şekilden görülmektedir. MY'dan ise SbKSE ile hemen hemen sadece linalol'un ekstrakte edildiği anlaşılmaktadır.



Şekil 4.3. Her iki ekstraksiyon yöntemi ile mandalina kabuğu ve mandalina yaprağından elde edilen terpen ve oksijenli bileşiklerin kıyaslanması.



Şekil 4.4. Her iki ekstraksiyon yönteminin Mandalina kabuğu ve mandalina yaprağından limonen ve linalol ekstraksiyonu üzerindeki etkisi

4.2 Portakal ile Yapılan Çalışmalar

4.2.1. Portakal Kabuğunun Su Buharı Destilasyonu ve Subkritik Su ile Ekstraksiyonu

Portakaldan elde edilen uçucu yağların çok geniş bir kullanım alanı olmasına rağmen, portakal meyvesi ve kabuğundan uçucu yağların ekstraksiyonuna ilişkin çok az sayıda çalışma literatürde yer almıştır (Berna ve ark., 2000; Caccioni ve ark., 1998). Alman farmakopilere göre portakal kabuğunda uçucu yağ miktarı % 0.6-2.2 aralığında değişmekle beraber %1'den az olmamalıdır. Ayrıca limonen % 90 civarında olmalıdır (Plant Drug Analysis). Az sayıda çalışma yer almasının nedeni, muhtemelen geleneksel yöntemlerin, her ne kadar seçimli bir ekstraksiyon gerçekleşmese de, ekonomik ve çabuk olmalarının yeterli kabul edilmesidir. Süperkritik ekstraksiyon ise; bu yağların kötüleşmesine neden olan terpen fraksiyonların elimine edilmesini sağlayan bir yöntem olarak dikkat çekmektedir.

Çizelge 4.3'de portakal kabuğundan SBD ve SbKSE yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarda GC-MS analizleri sonunda belirlenen bileşenler verilmiştir. Çizelgede bileşenler ZB5 kolondan ayrılma zamanlarına göre sıralanmışlar ve değerlendirmeyi kolaylaştırmak için kimyasal sınıflama yapılarak düzenlenmiştir. Göreceli miktarı %0.10'dan daha az olan bileşenlere yer verilmemiştir. GC-MS analiz sonuçları SBD ile elde edilen uçucu yağın 104, SbkSE ile hazırlanan uçucu yağın ise 54 bileşen içerdiğini göstermiştir.

Çizelge 4.3 incelendiğinde portakal kabuğundan iki farklı yöntemle elde edilen uçucu yağların kantitatif ve kalitatif olarak birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Ancak her iki yöntemle elde edilen yağlardan portakal kabuğunda oksijenli bileşiklerin, monoterpen ve seskuiterpenlere kıyasla daha az olduğu anlaşılmaktadır. Bir önemli fark ise, beklenilenin aksine SbKSE ile hazırlanan uçucu yağın yarısından fazlası **limonen** iken (%69.7), SBD ile elde edilen yağda limonen miktarı sadece % 4.2 olarak belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, çizelge 4.3'den, SbKSE yöntemi ile elde edilen uçucu yağda alifatik alkol ve aldehitlere daha fazla rastlanırken, SBD ile elde edilen yağda esterlerin fazla olduğu görülmektedir. SBD yöntemi ile hazırlanan uçucu yağın temel bileşeni *b*-elemen (%11.5) olarak belirlenmiştir. Bunun dışında göreceli bollukları en fazla olan bileşenler ise *b*-pinen (10.7), sitronella (7.0), linalool (%6.6), β-sinensal (% 5.7), verbenon (%5.4), *trans*-karyofilen (%4.1) ve sitronellol asetat (3.0) olarak belirlenmiştir.

Subkritiksu ekstraksiyon yöntemi ile hazırlanan uçucu yağda limonen dışında belirlenen, göreceli bollukları en fazla olan diğer bileşenler; linalol (%6.0), β-elemen (%1.2), *b*- mirsen (%1.4), *b*-fençon (%1.4), sinensal (% 1.7), oktanal (%1.4) olarak belirlenmiştir.

Mira ve ark. (1999)'nın portakal kabuklarından $SKCO_2$ koşullarında hazırladıkları uçucu yağın %99.5 limonen içerdiği belirlenmiştir. Halbuki bizim araştırmamızda limonen ana bileşen (%69.0) olmakla beraber bunun yanı sıra linalol ve diğer oksijenli bileşenlere oldukça önemli oranlarda rastlanmıştır. Ancak bu farklılıklar kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinin farklı olmasının yanısıra çalışılan örneklerin alındığı coğrafyaların farklı olması ile de açıklanabilmektedir, çünkü

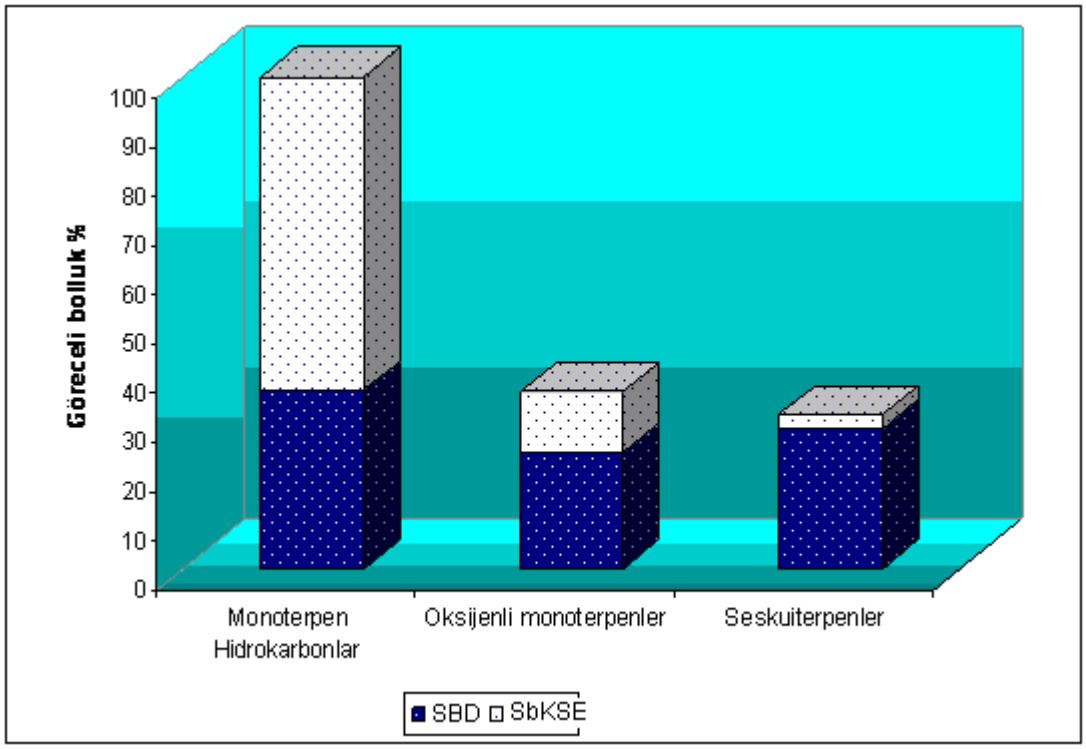
bitkilerin yetiştiği toprak, hava, su koşulları, örnekleme zamanları gibi parametreler uçucu yağ komposizyonlarında farklılıklara neden olabilmektedir.

Çizelge 4. 3. Portakal kabuğundan su buharı destilasiyonu ve subkritik su ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının kimyasal komposizyonu

Bileşik	Göreceli bolluk (%)	
	SBD	SbKSE
Monoterpen Hidrokarbonlar	**38.1**	**72.1**
fellandren	0.2	
α-pinen	0.7	0.3
Sabinen		0.3
β- pinen	10.7	
Bisiklo(3.1.1)heptan,6,6-dimetil-2-metilen	3.4	
β –mirsen	2.5	1.4
∆-*3*-karen	5.7	
1-phellandrene	0.3	
Bisikolo(4.1.10)hept-2-ene,3,7,7-trimetil	0.2	0.17
Limonen	4.2	69.7
Cis-osimen	0.4	
β-osimen		0.25
3-okten-5-yne-2,7-dimetil	5.7	
Bisiklo(3.1.0)-hex-2-ene,2-metil,5-(1-metil etil)	1.4	
t-terpinen	1.4	
p-mentha-1,4(8)-dien	0.3	
β-terpinolene	1.0	
Oksijenli Monoterpenler	**26.0**	**14.0**
Cis-sabinen hidrat	0.6	
Fençon		
Linalol	6.6	5.9
Terpen-1-ol	0.2	
Sitronella	6.9	0.6
Bisiklo(3.1.1)hept-3-en-2-ol,,4,6,6-trimetil	0.1	
4-terpinol	3.2	0.7
β-fensil alkol	0.6	1.7
*(Z-E)*farnesol c15h260 veya nerol veya geranil vinil eter c12h200		0.4
bisiklo(5,10)oktan,8-(1-metil Etiliden)	2.5	0.4
(Z)-sitral	2.1	1.1
Geraniol	0.7	0.4
(E)-sitral	2.2	1.7
p-mentha-1,8-dien-3-one	2.2	0.3
p-mentha-1(7),8(10)dien-3-ol		0.2
p-ment-2-ene-1,4-diepoksi	0.3	
Seskuiterpenler	**25.2**	3.2
β-elemene	11.5	**1.2**

Çizel 4.3.(devamı) Portakal kabuğundan su buharı destilasiyonu ve subkritik su ekstraksiyon yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu

Trans –karyoflen	1.5	0.8
α-karyoflen		0.6
Eudesma-4(14),11-dien		1.0
Cedrene		0.3
Cis-z-α-bisabolene epoksi		0.3
2-siklopenten-1-one,4-hidroksi 3-metil-2-(2-propenil)		0.4
β-sinensal	3.0	4.0
α-sinensal	1.1	
Limonen-6-ol-pivalete		1.2
Diğerleri	**0.6**	**5.2**
Metil 13 C oktadekatrieoate		0.2
2-dodecen-4-yne		0.8
Syringaldehyde	0.1	1.0
2,6,10-dodekatrien-1-ol 3,7,11-trimetil		0.2
Siklohekzan-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metil etenil)		2.5
Safflower		0.5
α-selinen	0.4	
Nootlatane	0.1	



Şekil 4.5. Her iki ekstraksiyon yöntemi ile portakal kabuğundan elde edilen terpen ve oksijenli bileşiklerin kıyaslanması.

4.2.2. Portakal Yaprağının Su Buharı Destilasyonu ve Subkritik Su ile Ekstraksiyonu

PY'nın 100°C'de SbKSE ve SBD ile hazırlanan uçucu yağlarının GC-MS analizi sonucunda her iki yöntemle elde edilen uçucu yağların bileşen sayılarının aynı ve 71 olduğu görülmüştür. Bileşenlerin tamamı tanımlanabilmiştir. GC-MS analizi ile belirlenen bileşenlerin kimyasal kompozisyonları ise çizelge 4.4.'de verilmiştir. Çizelge hazırlanırken göreceli bollukları %0.1 den daha az olanlara yer verilmemiştir. Kıyaslama yapılması gereken durumlarında ise bu miktarlar "iz"olarak tanımlanmıştır. Bu iki ekstraksiyon yönteminde bileşen sayısı aynı olmakla beraber, SbKSE yöntemi ile elde edilen yağın bileşenlerinin konsantrasyonları daha fazladır. Her iki yöntemle elde edilen uçucu yağların ana bileşeni **limonen** olarak belirlenmiştir (SBD ile %36.7 ve SbKSE ile %37.5). SbKSE yöntemi ile hazırlanan uçucu yağda linalol ikinci en bol bulunan bileşen olarak belirlenirken

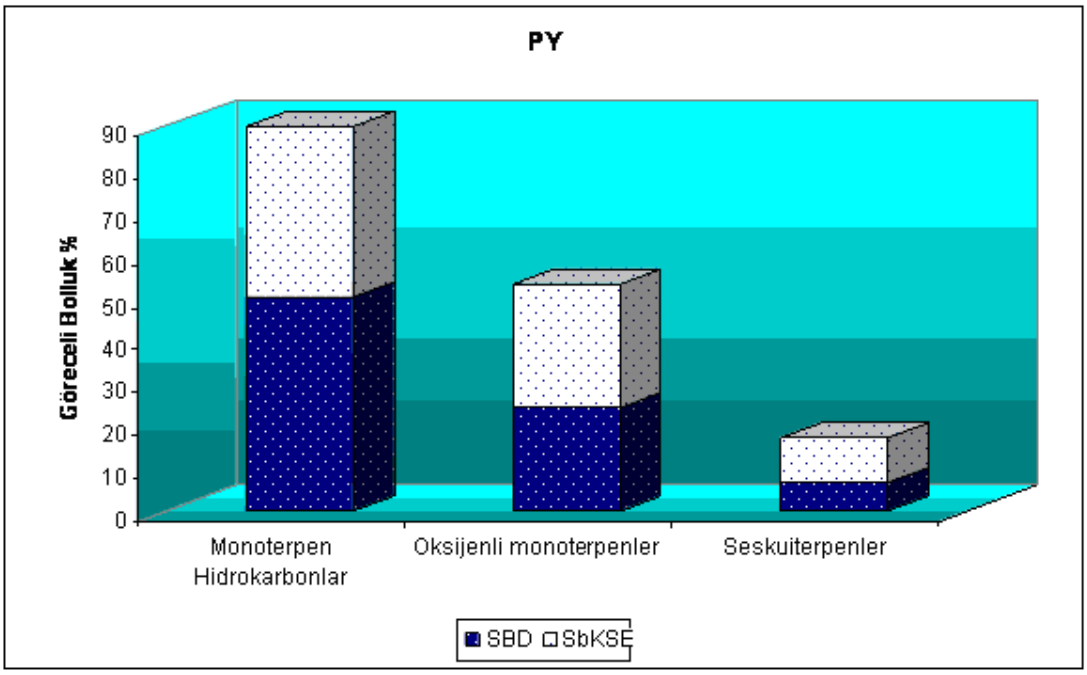
(%15.3) bunu 1-fenil etanol (%9.0), β-sinensal (%4.0), (E)-sitral (%3.1), (Z)-sitral (2.3) sitronelle (%1.9) ve 4-terpineol (%2.8) takip etmiştir. SBD ile elde edilen uçucu yağda ise limonen'den sonra göreceli bollukları fazla olan bileşenler; linalol (%9.2), sabinen (%5.0), β- elemen (%4.4) β-mirsen (%4.1), 4-terpinol (%2.1), (E)-sitral (%3.0), (Z)-sitral (%3.0) olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar bir kez daha SbKSE yöntemi ile oksijenli monoterpen bileşiklerinin daha fazla geri kazanılabildiğini göstermiştir. Oysa SBD ile daha çok monoterpenler geri kazanılmıştır. Şekil 4.6.'da PY'dan SBD ve SbKSE yöntemleri ile hazırlanmış uçucu yağların kimyasal dağılımı verilmiştir. Şekilden görüleceği üzere, portakal yaprağının monoterpen ve oksijenli bileşenlerinin geri kazanılmasında SbKSE yönteminin çok daha etkin olduğu anlaşılmaktadır. Bunun yanında temel bileşenlerinde oldukça farklı olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.4. Portakal yaprağından SBD ve SbKSE yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu

Bileşik	Görecel bolluk(%)	
	SBD	SbKSE
Monoterpenler	**50.2**	**40.2**
Sabinen	5.0	0.8
β-mirsen	4.1	0.6
β- osimen	2.0	0.2
cis-osimen	İz	
Dı-limonen	36.7	37.5
Trans osimen		0.4
α-pinen		0.1
Oksijenli Terpenler	**23.1**	**33.1**
Epoxy-linalol cis		İz
Linalol L	9.2	15.3
Bisiklo[3.1.1]hept-3-en-2-ol-(4,6,6-trimetil)		0.4
Epoxy-linalol cis		İz
Bisiklo[3.1.1]hept-3-en-2-ol-(4,6,6-trimetil)		0.4
Kamfor		0.8
Sitronella	2.7	1.9
4-terpinol	2.1	2.8
1,5-oktadien-3,7-diol,3,7-dimetil		0.7
β-fençil alkol	2.2	2.1
(z)-sitral	2.7	2.3
(E)-citral	3.0	3.1
D-verbonene		0.3
p-ment-2-ene,1,4-epidioxy		0.1
Verbenone		0.6
Cis-2,6-dimetil-2,6-oktadien		1.0
(Z)-α- farnesen	0.1	0.6
Loliolide		0.8
Limonen oksit II		1.0
Aldehit ve Ketonlar	**6.8**	**2.3**
n-hekzanal		0.3
Oktanal	5.2	1.0
Dekanal	1.5	
Syringaldehyde	0.1	1.0
Alkoller		**10.0**
1-fenil etanol		9.0
(E)-2-oktadeken-1-ol		0.6
Bisiklo(3.1.1)heptan,6,6-dimetil-2-metilen		0.2

Çizelge 4.4. (Devamı) Portakal yaprağından SBD ve SbKSE yöntemleri ile hazırlanan uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu

7-oksabisiklo(4,10)heptan,1-metil-4(2-methyloxiranyl		0.2
Ester ve Asitler	**2.0**	**2.2**
Sityronel asetat	1.2	
Merylacetat		0.4
Nerolidyl asetat		0.3
3-hidroksi-4-methoksi mandelik asit		0.8
Pentadisiklik asit		0.2
2,4,6-trimetil mandelik asit	0.2	0.5
Metil geraniat	0.1	
Geranial asetat	0.5	
Seskuiterpenler	**10.0**	**8.6**
β- elemene	4.4	
Trans –karyoflen	1.5	0.8
α-karyoflen		0.6
Eudesma-4(14),11-dien		1.0
Cedrene		0.3
Cis-z-α-bisabolene epoksi		0.3
2-siklopenten-1-one,4-hidroksi 3-metil-2-(2-propenil)		0.4
β-sinensal	3.0	4.0
α-sinensal	1.1	
Limonen-6-ol-pivalete		1.2
Diğerleri	**0.6**	**5.2**
Metil 13 C oktadekatrieoate		0.2
2-dodecen-4-yne		0.8
Syringaldehyde	0.1	1.0
2,6,10-dodekatrien-1-ol 3,7,11-trimetil		0.2
Siklohekzan-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metil etenil)		2.5
Safflower		0.5
α-selinen	0.4	
Nootlatane	0.1	



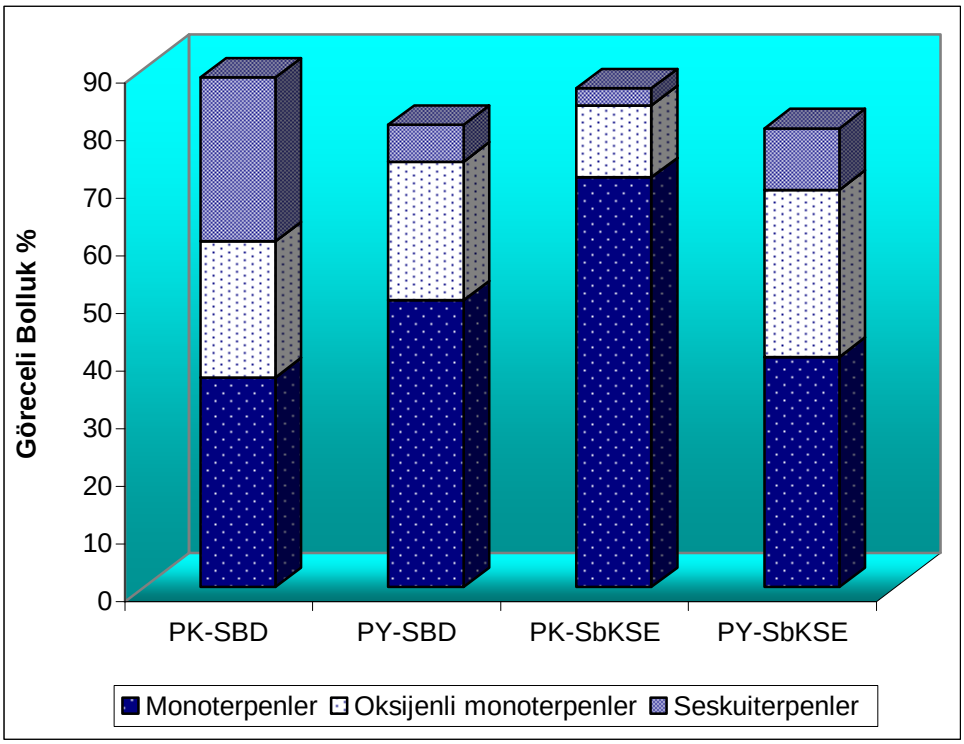
Şekil 4.6. Her iki ekstraksiyon yöntemi ile Portakal yaprağından elde edilen monoterpen, oksijenli bileşikler ve seskuiterpenlerin kıyaslanması.

4.2.3. PK ve PY Ekstraktlarının Kıyaslanması

PK'nun ve PY'nın SBD ile hazırlanan uçucu yağlarının GC-MS analizleri sonuçları incelendiğinde kabuk ve yapraktaki bileşen sayıları PK için 104, PY içinse 71 olduğu bulunmuştur; ayrıca, her iki materyalin temel bileşenlerinin de birbirinden farklı olduğu görülmüştür. Bir önceki bölümde verildiği gibi; PK'nun temel bileşeni bir seskuiterpen olan β-elemen (%11.5) iken, PY'nın temel bileşeni bir monoterpen olan limonen (%36.3) olarak bulunmuştur. PK'undan ve de PY'dan SBD ile hazırlanan uçucu yağların temel bileşeninin oksijensiz hidrokarbonlar olması; bu bitkinin turunçgillere ait bir başka bitki olan mandalinadan oldukça farklı uçucu bileşenlere sahip olduğunu göstermektedir.

100°C de SbKSE ile PK ve PY'ndan hazırlanan uçucu yağların GC-MS analiz sonuçları, her iki uçucu yağın bileşen sayısı ve kimyasal kompozisyon bakımından oldukça farklı olduğunu göstermiştir. Portakal kabuğunun bileşen sayısı 54 iken portakal yaprağından izole edilen bileşen sayısı 71 olarak bulunmuştur. Bunun yanında kabuk ve yaprağın, SbKSE ile elde edilen uçucu yağlarında en çok bulunan bileşen aynı olmakla beraber, göreceli bollukları farklı bulunmuştur. PK'nun temel bileşeni limonen (%69.7) iken, PY'nin temel bileşeni limonen (%37.5) olarak belirlenmiştir.

Şekil 4.7.'de her iki materyalden, her iki ekstraksiyon yöntemi ile belirlenen terpen ve oksijenli bileşiklerin bir kıyaslanması verilmiştir. Buradan, portakalın hem yaprak hem de kabuğunun oksijensiz hidrokarbonlarca zengin olduğu; özellikle PK'nun önemli oranda seskuiterpenler içerdiği de anlaşılmaktadır; ayrıca 100˚C ve 60 atm de yapılan Subkritik su ekstraksiyon koşullarında, daha önceki elde edilen sonuçlar doğrultusunda, tahminlerimizin aksine PK ve PY'dan oksijenli bileşenlerin SBD ile elde edilenden daha az olduğu belirlenmiştir.



Şekil 4.7. Her iki ekstraksiyon yöntemi ile Portakal kabuğu ve Portakal yaprağından elde edilen monoterpen oksijenli bileşikler ve seskuiterpenlerin kıyaslanması.

4.3. Sıcaklığın ve Ekstraksiyon Süresinin Sub-Kritik Su Ekstraksiyonu Verimi ve Ürün Kompozisyonu Üzerine Etkisi

Süperkritik akışkanlarla yapılan ekstraksiyon çalışmalarının en önemli özelliği; çalışma sıcaklığı ve basıncında yapılacak değişiklerle süperkiritik akışkanın fizikokimyasal özelliklerinde meydana gelen olağanüstü değişikliklerdir. Süperkrtik su ekstraksiyonu ile bitkilerden uçucu yağ elde edilmesine ilişkin literatürde yer alan çalışmaların sayısı oldukça azdır. Ancak mevcut olan çalışmalardan, aşırı ısıtılmış su ile yapılan çalışmalarda elde edilen uçucu yağın özellikleri üzerinde basınçtan çok sıcaklıkta yapılan değişikliklerin etkili olduğu anlaşılmaktadır (Özel ve ark., 2003). Bu nedenle biz de her iki bitkinin en çok bileşen sayısına sahip olan kısımları olan MY'inda sıcaklığın ve PK örneğinde ise statik ekstraksiyon sürelerinin uçucu yağ kompozisyonu üzerine olan etkilerini de araştırdık.

4.3.1. MY'nın Uçucu Yağ Kompozisyonun Sıcaklıkla Değişimi

Şekil 4.8.'de MY'ndan 100, 125 ve 150°C'de SbKSE ile hazırlanan uçucu yağların GC kromatogramları verilmiştir. Kromatogramlardan da görüleceği gibi sıcaklığa bağlı olarak elde edilen uçucu yağın kimyasal kompozisyonu, kalitatif ve kantitatif olarak farklıdır. GC-MS analiz sonuçları 100°C'de 66, 125°C'de 60 ve 150°C'de 57 tane bileşenin ekstrakte edildiğini göstermiştir. Bu bileşenlerin hemen hemen tamamı tanımlanmıştır. Çizelge 4.4.'de ise elde edilen uçucu yağlarda belirlenen bileşenler içinde, ZB5 kolondan ayrılış sırasına göre düzenlenmiş sıralaması verilmiştir. Sıcaklığın artmasıyla beraber ekstrakte edilebilen bileşen sayısı azalmakla birlikte, bazı bileşenlerin sadece 100°C'de ekstrakte olurken bazı bileşenlerin ise göreceli miktarlarının sıcaklığın artmasıyla arttığı gözlenmiştir. Özellikle uçucu yağın kalitesini belirleyen oksijenli monoterpen bileşiklerinin göreceli miktarları sıcaklığın 100°C den 125°C ve 150°C artmasıyla önemli miktarda artmıştır ve sırasıyla %61.4; %78.2 ve %86.0 olarak bulunmuştur. Ancak bunun yanı

sıra sıcaklığa bağlı olarak düzenli kantitatif değişikliler gözlenememiştir. Buna bağlı olarak, her üç sıcaklıkta elde edilen uçucu yağın temel bileşenleri birbirinden farklı bulunmuştur. 100°C de elde edilen uçucu yağın temel bileşeni linalol (% 21.5); 125°C de 4-terpineol (%39.2) olarak belirlenirken 150˚C'de linalol (%39.9) en çok bulunan bileşen olarak belirlenmiştir. Çizelge 4.5.'den görüleceği gibi düşük molekül ağırlığına sahip alkoller 100°C'de yapılan ekstraksiyonda daha fazla elde edilebilmiştir. Öte yandan seskuiterpenlerin ekstraksiyonun 100°C'den daha yüksek sıcaklıklarda gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5.'de verilen sonuçlar toparlandığında, sıcaklığın bileşenler üzerindeki etkilerini aşağıdaki gibi değerlendirmek mümkündür. Buna göre;

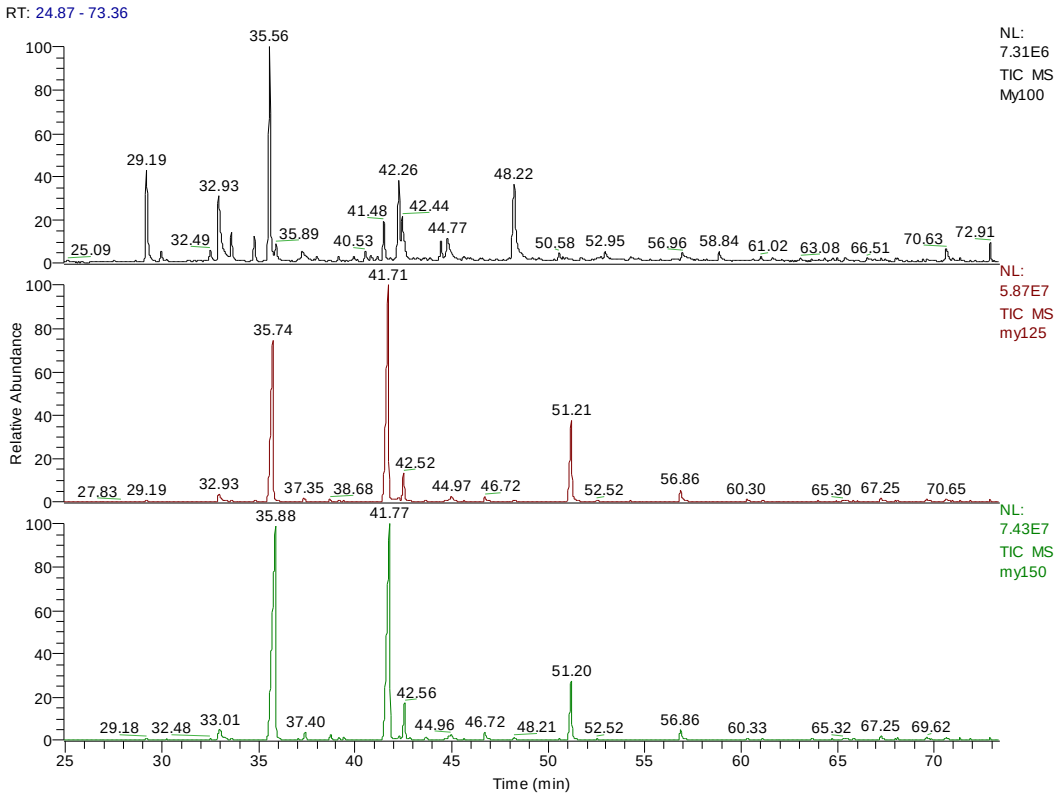
i) bazı bileşenlerin ekstraksiyonunda sıcaklığın anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir; mesela *β*-fencil alkol

ii) bazı bileşenler sadece 100°C de ekstrakte edilmiştir; mesela düşük molekül ağırlıklı alifatik aldehit ve alkoller gibi

iii) bazı bileşikler 100°C den daha yüksek sıcaklıklarda ekstrakte olmuşlardır; mesela 4-terpineol, geraniol, nerol ve *b*-sinensal gibi.

iv) Bazı bileşenlerin ise konsantrasyonu sıcaklıkla birlikte artmıştır; mesela linalol, 1-fenil etanol

v) Bazı bileşenlerin ise konsantrasyonu sıcaklıkla birlikte azalmıştır; mesela Terpendiol II, 1,7-Oktadien-3-ol



Şekil 4.8. Mandalina yaprağından 100, 125 ve 150 °C de SkSE ile hazırlanan uçucu yağların GC kromatogramları.

Çizelge 4.5. Mandalina Yaprağından 100, 125 ve 150 °C de SbKSE ile hazırlanan uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu. Bileşenler ZB5 kolondan

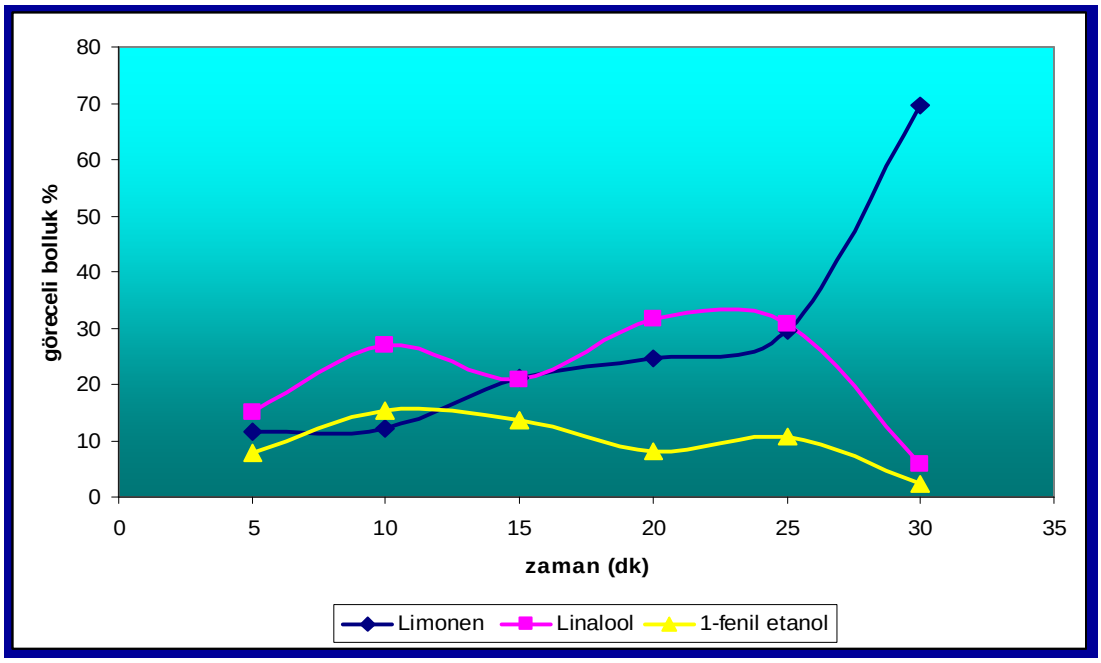
Bileşenler	**Göreceli Bolluk %**		
	100˚C	**125˚C**	**150˚C**
Monoterpenler			**0.4**
limonen			0.3
β-pinen			0.1
Oksijenli monoterpenler	**61.6**	**78.5**	**85.9**
Epoxy linalol	4.6	0.2	
Fenchone		0.4	
Linalol L	21.5	30.4	39.9
1-terpineol		0.5	
1-terpenol			0.7
1-oktyn-3-ol-4-etil	0.4		
1- terpinol		0.5	
1-terpineol veya 2-siklohexan-1-ol,1-metil-4-(1-metil etil),cis			0.7
Kamfor		0.3	
Isopulegol	1.0		
2-ısopropylidine-5-methylhex-4-enal c10h160 veya 2,6-dimetil-3,5,7-oktariene-2-ol, c10h160		0.2	0.3
4-terpinol	4.0		
Epoksi linalol	0.3		
4-terpineol		39.2	37.3
3,7-oktadien-2,6-diol,2,6-dimetil	8.8		
β-fençil alkol	5.2	3.8	4.1
p-ment-1-en-3-ol,cis			0.1
7-oksabisiklo(4.1.10)heptan,1-metil-4-(2-methyloxiranyl)	1.7		
p-ment-1-en-3-ol,trans		0.2	0.4
Lilak alkol A	0.3		
Nerol		0.9	0.6
1,7-oktadien-3-ol,2,6-dimetil	0.4	0.2	0.2
Geraniol		1.0	1.2
terpendiol II	10.2	0.3	0.3
3,7-dimetil-okta-1,7-dien-3,6-diol	0.1		
Lilak alkol	0.3		
İsoascaridole veya saflower	0.7		
Siklohekzanol,2-(2-hidroksi-2-propil)-5-metil		0.2	0.1
Etil linalol	0.9	0.2	
8-hidroksilinalol	0.5		
2-dekan-2-ol	0.1		
Keton,metil-2,2,3-trimetil siklopentil	0.1		
Oxabicylo(4.10)heptane,methyl-4-(2-methyloxiranyl)	0.3		
Limonen oksit 2	0.2		
Seskuiterpenler		**0.5**	**0.5**

Çizelge 4.5. (devamı)Mandalina Yaprağından 100, 125 ve 150 °C de SbKSE ile hazırlanan uçucu yağlarının kimyasal kompozisyonu. Bileşenler ZB5 kolondan ayrılış sırasına göre verilmiştir.

α-sinensal		0.2	0.2
Limonen-6-ol-pivalete		0.3	0.3
Alifatik Alkoller	**2.7**	**1.4**	**5.8**
2,3-cimetil-1-bütanol	0.7		
(E)-5-metil-2-metilen-2-hekzen-1 ol	0.1		
Octane,1- etoksi	0.2		
1-hekzanol	0.5		
1-bütanol,2-etil	0.3		
1,2-siklopentan-diol-trans	0.1		
1-Siklopenten-4-ol	0.1		
3,7-dimetil-okta-1,7-dien-3,6-diol	0.6		
1-fenil etanol		1.4	5.8
Siklohekzanol,3,3,5-trimetil	0.1		
Benzen metanol,2,5-dimetoksi			0.1
Alifatik aldehit-ketonlar	**4.3**		
Metil ızopropenil keton	0.2		
5-hepten-2-one,6-metil	2.5		
6-etoksi-6-metil-2-siklohezanone	1.1		
Oktanal-7-hidroksi-,3,7-dimetil	0.3		
Izononelal	0.2		
Esterler ve asitler	0.3		0.3
4-hekzamoik asit,6-hidroksi-4-mtil ester	0.2		
Palmitik asit	0.1		
Lurik asit	0.2		0.1

4.4. Statik Ekstraksiyon Süresinin PK'nun Uçucu Yağ Bileşenleri Üzerine Etkisi

20 dk dan daha az sürelerde oksijenli bileşenler daha fazla iken, süre uzayınca limonen artmakta. Bu nedenle ideal süre 15-20 dk statik ekstraksiyon olmalı. Şekil 4.9'da limonen, linalol ve 1-fenil etanol'ün statik ekstraksiyon süresine göre göreceli bollukları verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi 20 dk'dan daha az sürelerde oksijenli bileşenler daha fazla iken, süre uzayınca limonen artmaktadır. Bu nedenle ideal süre 15-20 dk. statik ekstraksiyon olmalı.



Şekil.4.9. Limonen, linalol ve 1-fenil etanol'ün statik ekstraksiyon süresine göre göreceli bollukları verimi

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Mandalina ve portakal kabuk ve yapraklarının su buharı destilasyonu ve sub-kritik su ile ekstraksiyonu ile elde edilen uçucu yağların bileşenleri GC-MS ile belirlenmiştir.

Mandalina kabuğunun su buharı destilasyonu ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen uçucu yağda 30 bileşen belirlenirken sub-kritik su ekstraksiyonu ile 33 bileşen belirlenmiştir. Her iki ekstraksiyon sonucu temel bileşen göreceli bollukları farklı olmasına rağmen (SBD,%88.0; SbKS,%71.9) **limonen** olarak belirlenmiştir. SBD yöntemi ile elde edilen uçucu yağın %90.0'nı monoterpen hidrokarbonlarından oluştuğu gözlenirken, SbKSE ile elde edilen uçucu yağın %74.5'ü monoterpen, % 12.5'i ise uçucu yağ kalitesi açısından çok önemli oksijenli bileşiklerden oluşmaktadır. Sonuç olarak mandalina kabuğunda, SbKSE yönteminin uçucu yağ kalitesi açısından daha etkin olduğu gözlenmiştir.

Mandalina yaprağının su buharı destilasyonu ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen uçucu yağda 37 bileşen belirlenirken sub-kritik su ekstraksiyonuyla 55 bileşen belirlenmiştir. Her iki ekstraksiyon sonucu temel bileşen göreceli bollukları farklı olmasına rağmen(SBD %21.8; SbKS %20.3) **linalol** olarak belirlenmiştir. SBD yöntemi ile elde edilen uçucu yağın yaklaşık yarısını monoterpenler (%47.1) oluşturmuştur.

Mandalina kabuğu ve yaprağında ilk göze çarpan farklılık temel bileşenlerde gözlenmiştir. İki ekstraksiyon yöntemiyle belirlenen bileşenlerden oksijenli bileşik içeriği yaprakta daha fazladır.

Portakal kabuğunun su buharı destilasyonu ile ekstraksiyonu sonucu elde edilen uçucu yağda 104 bileşen belirlenirken sub-kritik su ekstraksiyonuyla 54 bileşen belirlenmiştir, ayrıca oksijenli bileşenlerin, monoterpen ve seskuiterpenlere göre daha az olduğu gözlenmiştir. SbKSE ile hazırlanan uçucu yağın %69.7 sini **limonen** oluştururken SBD'nunda %4.2 limonen ve temel bileşen ise %11.5 -β **elemen** olarak belirlenmiştir. SBD yöntemiyle daha fazla sayıda monoterpen. bileşiklerine rastlanmıştır

Portakal yaprağında her iki yöntemle de 71 bileşen belirlenmiştir. Oksijenli monoterpen bileşikler SBD yöntemine göre SbKSE ile daha fazla geri kazanılmıştır. Yapılan çalışmada, iki farklı turuçgilden uçucu bileşenlerinin elde edilmesinde, sub-kitik su ekstraksiyonu özellikle uçucu yağ kalitesi açısından önemli olan oksijenli monoterpen bileşiklerinin seçimli olarak ekstrakte edilmelerinde ve en yaygın kullanılan yöntem olan su buharı destilasyondan çok daha kısa sürede (50 dk: 30 dk statik+20 dk dinamik) gerçekleşebiliyor olması nedeniyle, bitkilerden uçucu yağ hazırlanmasında, çevreci alternatif bir yöntem olarak kolaylıkla önerilebilir; ancak 100°C ve 60 atm de yapılan SbKSE koşullarında, diğer bitkilerle elde edilen sonuçların aksine PK ve PY'dan oksijenli bileşenler SBD ile elde edilenden daha az olmuştur. Bu nedenle, çalışmamızda ve literatürde yer alan kısıtlı sayıdaki çalışma sonuçlarına dayanarak, oksijenli bileşenlerin daha fazla olabileceği sub-kritik su ekstraksiyonu çalışma koşullarının araştırılması gereklidir.

KAYNAKLAR

AGHEL, N., HADJLAKHOONDLA, A., POURMOTAZAVI, S.M., YAMANI., Y., (2004). Supercritical carbon dioxide extraktion of pulegium L. Essential oil, Talanta 62, 407-411.

AYALA, R.S., LUQUE de CASTRO, M.D., (2001). Contınuous subcritical water extractionas a useful tool for isolatıon of edible essential oils, Food Chemistry 75,109-113.

AKMAN,U., HORTACSU,O., PLATIN,S., OZER,E.O., 1994. Equlibrium distributions of key components of spearmint oil ın sub/supercritical carbon dıoxide , J.Am.oil Chem.soc 71,833.

BASILE, A., JIMENEZ-CARMONA, M.M. AND CLIFFORD, A.A., 1998. J. Agric. Food Chem., 46, 5205-5209.

BAYDAR, H., 2005. Yayla kekiğinde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ bileşenleri üzerindeki etkisi, Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi, 18 (2), 175-178.

BERNA, A., BLUSCO, M., SUBIRATS, S., TARREGA, A., 2000. J of Supercritical Fluids, 8, 227-237.

BURT, S., (2004). Essentıal oils: their antibacterial properties and potential applicatıons ın foods-a review, İnternational Journal of Food Microbıology 94, 223-253.

BAUER A.W., KIRBY W.M.M., SHERRIS J.C., TURCK M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology, 45, 493-496.

BIONDI, D.M., CACCIONI, D.R.L., GUIZZARDI, M., RENDA,A., RUBERTO, G., 1998. Int. J. of Food Microbiology, 43, 73-79.

BERNA, A., BLASCO, M., SUBIRATES, S., 1994. Supercritical oil from orange peel.effect of operation contidions on the extract compositıon, journal of Supercrical Fluids14, 95-104.

CASANOVA, J., LOTA, M.L., de ROCCA SERRA, D., TOMI, F., 2001. Biochemical Systematic and Ecology, 29, 77-104.

CACCIONI, DRL., GUIZZARDI, M., BIONDI, DM., RENDA, A., RUBERTO, G., 1998. Relationship between volatile components of citrus fruit essential oils and antimicrobial action on Penicillium digitatum and Penicillium italicum. Int. J. Food Microbiol. 43, 73-79.

CEYLAN, A., 1997. Tıbbi , Bitkiler-II, Ege Universitesi Ziraaat Fakültesi Yayınları, 500s.

DOLERES, M., FERNANDEZ-PEREZ, V., JIMENEZ-CARMONA, M.M., (2000). An approach to the static-dynmic subcritical water canventional techniques, The Royal Society of Chemistry 150, 180-187

FADEL, H., EL-SAWY, A., EL-GHORAB, A., MARXF., (1999). Effect of extraction techiques on the chemical compasition and antioksıdant activitiy of eucalyptus camaldulensıs var. Brevirostrıs Leaf Oil. Zeitschrift Fuer Lebensmittel Untersuchung Und-Forschung 208 , 212-216.

FERNANDEZ PEREZ, V., JIMENEZCARMONA, M.M., LUQUE DE CASTRO, M.D., (2000). An approach to the static-dynamic subcritical water extraction Of laurel essential: comparıson with conventional techniques, The Royal Society of Chemistry125, 481-485.

GOGUS, F., LEWIS, A.C., OZEL, M.Z., 2003. Food Chemistry 82: 381-386.

GIRAY,E.S., KIRICI,S.., KAYA,D.A., TURK,M., SÖNMEZ,Ö., INAN,M., 2008. Talanta (74) 930-935.

JIMENEZ-CARMONA, M M., UBERA, J. L., LUQUE DE CASTRO, M. D.,1999. Journal of Choromatography A, 855, 625-632.

JIMENEZ-CARMONA, M.M., AND LUQUE DE CASTRO, M.D., 1999. Isolation of eucalyptus essential oil for GC-MS analysis by extraction with subcritical water. Chromatographia 50, 578-582.

LOTA,M., SERRA, D.R., TOMI,F., CASANOVA,J., 2001. Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins. Biochemical Systematics and Ecology 29, 77-104.

MIRA, B., BLASCO,M., BERNA ,A., AND SUBIRATS,S., 1999. Supercritical CO_2 extraction of essential oils from orange peel. Effect of operation the extract composition. Journal of Supercritical Fluids 14, 95-104.

OZEL, M.Z., GOGUS, F. AND LEWIS, A.C., 2003. Food Chem. 82, 381-386.

PROTOPAPADAKIS, E.E., PAPADOPOLOU, P., PAPANICOLAOU, D., PANOU, C.,VAMVAKIAS, M., VEKIARI, S.A., 2002. Compasition and seasonal vaiıation of the esseniıal oil from leaves and peel of cretan lemon variety, J.Agric. Food chem, 50,147-153.

POIANA, M., FRESA, R.AND MINCIONE,B., 1999. Supercritical carbon dioxide extraction of bergamont peels extraction kinetics of oil and its components.Flavour and Fragrance Journal, 14, 358-366.

ROZZI, N.L., SINGH, R.K., (2002). Supercrical fluid extraction of essential oil components from lemon scented botanicals. LWT (Food Science & Technology) 35,319 - 324.

SEFIDKON, F., ABBASI, K., AHMEDI, S., JAMZAD, Z., (2007). The effct distillation methods and stage of plant growth on the essentiol oil content and compasitıon of rechingerı jamzad, Food Chemistry, 100, 1054-1058.

YAMANI, Y., EBRAHIMZADEHLT, H., CHALOOSI, M., POURMORTAZAV I, S.M., SEFIDKON, F., 2003. Chemical campasition of the essential oil and supercritical CO_2 extract of Zatarıa Muliflora Boıss, Food-Chemistry 83, 357-361.

WAGNER, H., BLADT,S., ZGAİNSKİ,E.M., 1984. Plant drug Analysis,Berlin Heidelberg NewYork Tokyo, 15.

Url 1.fmd.ksu.edu.tr (7/10/2005)

Url 2 etiksaglik.com.tr (8/10/2005)

ÖZGEÇMİŞ

1981 Hatay'da doğdum. İlk ve ortaöğrenimi Harbiye'de tamamladım. 1998 yılında Çukurova Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya anabilim dalını kazandım. Bir yıl ingilizce hazırlıktan sonra 2003 yılında bölümü 2.'likle bitirdim. 2003 eylülünde tezli yüksek lisans programına başladım. 6 yıldır dershanede kimya öğretmenliği yapmaktayım.