

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Prunus Laurocerasus MEYVESİ YAĞ ASİDİ BİLEŞENLERİNİN ULTRASON
DESTEKLİ MİKRODALGA EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ KULLANILARAK
BELİRLENMESİ

MEDİNE ÇOLAK

Ağustos 2019

T.C.
NİĞDE ÖMER HALİSDEMİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

Prunus Laurocerasus MEYVESİ YAĞ ASİDİ BİLEŞENLERİNİN ULTRASON
DESTEKLİ MİKRODALGA EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ KULLANILARAK
BELİRLENMESİ

MEDİNE ÇOLAK

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Rifat BATTALOĞLU

Ağustos 2019

Medine ÇOLAK tarafından Dr. Öğr. Üyesi Rifat BATTALOĞLU danışmanlığında hazırlanan “*Prunus Laurocerasus* Meyvesi Yağ Asidi Bileşenlerinin Ultrason Destekli Mikrodalga Ekstraksiyon Yöntemi Kullanılarak Belirlenmesi” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı’nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ertuğrul ŞAHMETLİOĞLU (Kayseri Üniversitesi)



Üye : Doç. Dr. Özlem SARIÖZ (Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi)



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Rifat BATTALOĞLU (Niğde Ömer Halisdemir Üniv.)
(Danışman)



ONAY:

Bu tez, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenmiş olan yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/....../20.... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu’nun/....../20.... tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

...../...../20...

Doç. Dr. Murat BARUT
MÜDÜR V.

TEZ BİLDİRİMİ

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

Medine ÇOLAK



ÖZET

Prunus Laurocerasus MEYVESİ YAĞ ASİDİ BİLEŞENLERİNİN ULTRASON DESTEKLİ MİKRODALGA EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ KULLANILARAK BELİRLENMESİ

ÇOLAK, Medine

Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Rifat BATTALOĞLU

Ağustos 2019, 79 sayfa

Prunus Laurocerasus, halk arasında karayemiş adıyla da bilinen, gülgiller (Rosaceae) familyasından küçük beyaz renkli çiçekler açan, daha çok rutubetli ve gölgeli yerlerde yetişen 5–15 m boyunda, yaprak dökmeyen bir ağaç türüdür. Meyveleri mide ve barsak hastalıklarına iyi geldiği şeker hastaları için uygun olduğu, tokluk verdiği için diyet meyvesi olduğu, çekirdeğin içinin de tansiyon ilacı olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Ayrıca kışın yaprağını dökmediği için yaprakları kışın hayvan yemi olarak kullanılır. Halk arasında yaprakları öksürük dindirici olarak ve antispazmatik olarak kullanılır. Ayrıca meyveleri likör yapımında kullanılır. Bu araştırma kapsamında *Prunus laurocerasus* meyve örneklerinin ultrasonik destekli mikrodalga Soxhlet ekstraksiyon (MDSE) yöntemiyle yağ asitleri elde edilmiştir. Yağ asitleri bileşenleri GC-MS yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen analiz sonuçları incelendiğinde en fazla sayıda ürüne aseton çözücü olarak kullanıldığında ulaşılmıştır. İkinci olarak en iyi çözücü etil alkol olarak göze çarpmaktadır. En az sayıda ürüne ise metil alkol çözücü olarak kullanıldığında ulaşılmıştır. Kaproik asit, kaprilik asit ve undekanoik asit türü yağ asitlerine sadece aseton çözücü olarak kullanıldığında ulaşılabilmiş olması dikkat çekici bir diğer sonuçtur.

Anahtar Sözcükler: *Prunus laurocerasus*, Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon, Soxhlet Ekstraksiyonu

SUMMARY

DETERMINATION OF FATTY ACID COMPONENTS OF *Prunus Laurocerasus* FRUIT USING ULTRASOUND ASSISTED MICROWAVE EXTRACTION METHOD

ÇOLAK, Medine

Niğde Ömer Halisdemir University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Rifat BATTALOĞLU

August 2019, 79 pages

Prunus laurocerasus is a 5-15 m long, evergreen tree species, which is also known as a black-bellied almond, which grows small white flowers from the rosaceae (Rosaceae) family and grows in more damp and shady places. It is reported that fruits are suitable for diabetic patients with good stomach and bowel diseases, and that they have a dietary fruit because of their toughness, and the core is used as a blood pressure medication. In addition, the leaves are not used in winter as leaves are used as animal feed in winter. The leaves among the people are used as cough suppressants and as antispasmodics. It is also used in the production of fruits liquor. In this research, *Prunus laurocerasus* fruit samples were obtained by conventional ultrasonic assisted microwave Soxhlet extraction (MDSE) method. Fatty acid components were determined by GC-MS method. When the results of the analysis were examined, the highest number of products were obtained when acetone was used as solvent. Secondly, the best solvent is ethyl alcohol. The least number of products were obtained when methyl alcohol was used as solvent. It is also noteworthy that fatty acids such as caproic acid, caprylic acid and undecanoic acid were only available when used as acetone solvents.

Keywords: *Prunus laurocerasus*, Mikrodalga Assisted Extraction, Soxhlet Extraction

ÖN SÖZ

Bu araştırma kapsamında *Prunus laurocerasus* meyve örneklerinin hem geleneksel Soxhlet ekstraksiyon (SE) yöntemiyle hem de mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyon (MDSE) yöntemiyle yağ asitleri elde edilmiştir. Yağ asitleri bileşenleri GC-MS yöntemiyle belirlenmiştir. Elde edilen analiz sonuçları incelendiğinde en fazla sayıda ürüne aseton çözücü olarak kullanıldığında ulaşılmıştır. İkinci olarak en iyi çözücü etil alkol olarak göze çarpmaktadır. En az sayıda ürüne ise metil alkol çözücü olarak kullanıldığında ulaşılmıştır. Kaproik asit, kaprilik asit ve undekanoik asit türü yağ asitlerine sadece aseton çözücü olarak kullanıldığında ulaşılabilmiş olması dikkat çekici bir diğer sonuçtur.

Yüksek Lisans Tez çalışmam sırasında ve bu tezin konusunun belirlenmesinde, çalışmalarımın yürütülmesi ve değerlendirilmesinde yardım ve desteğini esirgemeyen danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Rifat BATTALOĞLU'na ve öğrenim hayatım boyunca bana her zaman sonsuz destek olan ve sabır gösteren aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. GC/MS analizlerinin gerçekleşmesinde Erciyes Üniversitesi TAUM ile öğrenim hayatım boyunca emeği geçen Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyelerine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
SUMMARY	v
ÖN SÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGE VE KISALTMALAR	xii
BÖLÜM I GİRİŞ	1
BÖLÜM II GENEL BİLGİLER	2
2.1 Yağlar.....	3
2.2 Yağ Asitleri.....	5
2.2.1 Yağ asitlerinin sınıflandırılması	6
2.2.1.1 Doymuş yağ asitleri.....	6
2.2.1.2 Doymamış yağ asitleri.....	8
2.2.1.2.1 Tekli doymamış yağ asitleri	10
2.2.1.2.2 Çoklu doymamış yağ asitleri	11
2.2.1.2.2.1 Trans yağ asitleri.....	12
2.2.1.2.2.2 Konjuge linoleik asit	14
2.2.1.3 Ek gruplu yağ asitleri	15
2.2.1.4 Halkalı yapıli yağ asitleri	16
2.2.2 Yağ asitlerinin reaksiyonları.....	16
2.2.2.1 Sabunlaşma.....	16
2.2.2.2 Alkil zincirlerinin tepkimeleri	17
2.2.2.3 Alkenil zincirlerinin tepkimeleri	17
2.2.2.4 Karboksilik asit tepkimeleri	18
2.2.3 Yağ asitlerinin insan sağlığı açısından önemi	19
2.3 Ekstraksiyon Yöntemleri	23
2.3.1 Soxhlet ekstraksiyonu.....	23
2.3.2 Ultrason destekli ekstraksiyon.....	28
2.3.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon	30

2.3.4 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu	35
2.3.5 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu	38
2.4 Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (GC/MS).....	40
2.4.1 GC/MS çalışma prensibi.....	42
2.4.2 Enjeksiyon	42
2.4.3 Kolon	45
2.4.4 Dedektörler	46
2.5 <i>Prunus laurocerasus</i>	49
BÖLÜM III DENEYSEL ÇALIŞMALAR	54
3.1 Materyal	54
3.1.1 Meyve örnekleri.....	54
3.1.2 Kimyasal maddeler	55
3.1.3 Laboratuvar malzemeleri ve cihazlar.....	55
3.2 Yöntem.....	56
3.2.1 Ham yağ tayini ve yağ asitleri analizleri	56
BÖLÜM IV BULGULAR VE TARTIŞMA	58
4.1 Meyve Örneklerinin Yağ Analizleri	58
4.2 Meyve Örneklerinin Yağ Asitleri Bileşenleri.....	59
4.2.1 Metil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri.....	59
4.2.2 Etil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri.....	60
4.2.3 Kloroform ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri	61
4.2.4 n-Hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri.....	62
4.2.5 Aseton ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri	63
BÖLÜM V	69
SONUÇLAR.....	69
KAYNAKLAR	70
ÖZ GEÇMİŞ	79

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Doymuş yağ asitleri	7
Çizelge 2.2. Doymamış yağ asitleri	9
Çizelge 2.3. Ek gruplu yağ asitleri.....	16
Çizelge 2.4. Halkalı yapılı yağ asitleri.....	16
Çizelge 4.1. Metil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları	59
Çizelge 4.2. Etil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları ..	60
Çizelge 4.3. Kloroform ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları	61
Çizelge 4.4. n-Hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları .	62
Çizelge 4.5. Aseton ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları.....	63
Çizelge 4.6. Tüm çözücülere göre elde edilen yağ asitleri	64

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Gliserol ve triağılglicerol	4
Şekil 2.2. Yağın hidrolizi	4
Şekil 2.3. Bir doymuş yağ asidinin genel formülü	6
Şekil 2.4. Bitkisel yağların yapısında bulunan doymuş yağ asitlerinin yapı formülleri ...	7
Şekil 2.5. Bazı tekli doymamış yağ asitlerinin yapı formülleri	10
Şekil 2.6. Bazı çoklu doymamış yağ asitlerinin yapı formülleri	11
Şekil 2.7. Oleik asit ve elaidik asit geometrik izomer yapıları	14
Şekil 2.8. Linoleik asit ve en sık rastlanan CLA izomerlerinin yapı formülleri.....	15
Şekil 2.9. Tüberkülostearik asit	15
Şekil 2.10. Halkalı yapıli yağ asitlerinin yapı formülleri	16
Şekil 2.11. α -Halojenlerin oluşma reaksiyonu.....	17
Şekil 2.12. Alkenil zincirin verdiği tepkimeler.....	18
Şekil 2.13. Karboksilik asidin verdiği tepkimeler	19
Şekil 2.14. Soxhlet ekstraksiyon düzeneğı	24
Şekil 2.15. Ultrason destekli soxhlet ekstraksiyon düzeneğı.....	27
Şekil 2.16. Ultrason destekli ekstraksiyon düzeneğı	29
Şekil 2.17. Mikrodalga destekli ekstraksiyon sisteminin şematik gösterimi.....	32
Şekil 2.18. Geleneksel ve mikrodalga ısıtma şekilleri.....	33
Şekil 2.19. Mikrodalga destekli soxhlet ekstraksiyonu (a) ve mikrodalga destekli clevenger destilasyonu (b)	34
Şekil 2.20. Saf bir madde için basınç-sıcaklık diyagramı.....	35
Şekil 2.21. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi	37
Şekil 2.22. Basınçlı sıvı ekstraksiyon sistemi.....	39
Şekil 2.23. GC/MS sisteminin şematik gösterimi.....	41
Şekil 2.24. Gaz kromatografisi enjeksiyon bloğı (split inlet) şematik gösterimi.....	44
Şekil 2.25. WCOT, PLOT, SCOT ve dolgulu kolonlar şematik gösterimi	46
Şekil 2.26. FID şematik gösterimi	48
Şekil 2.27. <i>Prunus laurocerasus</i> meyvesi	50
Şekil 2.28. <i>Prunus laurocerasus</i> çekirdeğı	50
Şekil 3.1. <i>Prunus laurocerasus</i> meyvesi	54

Şekil 3.2. Mikrodalga fırına modifiye edilmiş Soxhlet cihazı	56
Şekil 4.1. Metil alkol ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları	60
Şekil 4.2. Etil alkol ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları	61
Şekil 4.3. Kloroform ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları	62
Şekil 4.4. n-Hekzan ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları	63
Şekil 4.5. Aseton ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları ..	64



SİMGE VE KISALTMALAR

Simgeler

L

mL

Açıklama

Litre

Mililitre

Kısaltmalar

CLA

GC/MS

MDSE

SE

Açıklama

Konjuge Linoleik Asit

Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi

Mikrodalga Destekli Soxhlet Ekstraksiyonu

Soxhlet Ekstraksiyonu

BÖLÜM I

GİRİŞ

Bitkiler, insanların temel besin gereksinimlerini karşılaması için gereken primer metabolitlerin (karbonhidrat, protein ve yağların) ana kaynağıdır. Bunların dışında odun, selüloz, zamburak, lastik gibi bazı faydalı maddeler de yine bitkilerden sağlanmaktadır. Besin ve enerji sağlama başta olmak üzere yaşamsal bazı değerler taşımakla birlikte, ilaç sanayi başta olmak üzere kimya, besin, kozmetik ve tarımda mücadele sektörlerinde bitkisel kökenli doğal ürünlerden yararlanılmaktadır. Ülkemiz, coğrafi konumu, bitki ve iklim çeşitliliği, tarım potansiyeli ve geniş yüzölçümü sayesinde tıbbi ve aromatik bitkiler yönünden önemli ülkelerden birisidir. Yağ asitleri, katı ve sıvı yağlarda esterleri halinde bulunurlar ve düz zincirli çift karbon sayılı mono-karboksilik asitlerdir. Doğal yağlarda bulunan yağ asitleri, genellikle düz zincir türevleridir ve iki karbonlu birimlerden sentezlendikleri için çift sayıda karbon atomları içermektedirler (Murray, 1990). Yağ asitleri, organizmada hücrenin yapısında kompleks lipidler halinde, az bir kısmı da hücre ve dokularda serbest yağ asidi halinde bulunurlar. Hayvan, bitki ve mikroorganizmalarda çok sayıda yağ asidi izole edilmiştir. Yağ asitlerinin tamamı bir ucunda metil grubu bulunduran uzun bir hidrokarbon zincirleridir. Diğer ucunda ise karboksil grubu bulundurulurlar. Bileşiğin asidik karakteri karboksil grubundan kaynaklanmaktadır. Yağ asitleri, trigliseritlerin yapı taşlarıdır. *Prunus Laurocerasus*, halk arasında karayemiş adıyla da bilinen, gülgiller (Rosaceae) familyasından küçük beyaz renkli çiçekler açan, daha çok rutubetli ve gölgeli yerlerde yetişen 5–15 m boyunda, yaprak dökmeyen bir ağaç türüdür. Meyveleri mide ve barsak hastalıklarına iyi geldiği şeker hastaları için uygun olduğu, tokluk verdiği için diyet meyvesi olduğu, çekirdeğin içinin de tansiyon ilacı olarak kullanıldığı bildirilmektedir. Ayrıca kışın yaprağını dökmediği için yaprakları kışın hayvan yemi olarak kullanılır. Yağ asitleri bileşenleri GC-MS yöntemiyle belirlenmiştir.

BÖLÜM II

GENEL BİLGİLER

Canlıların temel besin gereksinimlerini karşılayan bitkisel kökenli karbonhidratlar, protein ve yağlar birincil kaynaklardır. Bunun yanı sıra bitkisel kaynaklardan selüloz, zamk ve lastik gibi diğer yararlı maddeler de elde edilebilir. Temel ihtiyaçları karşılamamanın dışında başta ilaç sanayi olmak üzere; kimya, besin, kozmetik ve zirai mücadele sektörlerinde yine bitkisel kaynaklardan yararlanılır. Bu tür kimyasallar ‘sekonder (ikincil) metabolitler’ olarak adlandırılır ve bitkisel ürünler bu başlık altında değerlendirilir (Ortaköy, 2013).

Doğal bitkiler uygun maliyetleri ve sağlıklı olmaları ile birlikte vitamin, antioksidan, mineral ve besinlerin kaynağını oluşturmaktadırlar. Bunun yanında birçok hastalığın tedavisinde de bitkilerden yararlanılmaktadır. Bitkiler; hastalıkları önlenme ve hastalıkların tedavisinde tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır (Korkmaz ve Karakurt, 2014).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO)’na göre, gelişmekte olan ülkelerde yaşayan insanların %80’i temel sağlık ihtiyaçları için çoğunlukla bitkisel kökenli geleneksel ilaçları kullanmaktadırlar. Ayrıca, modern anlamda farmakolojik olarak üretilen ilaçların etken maddelerinin en az %25’i bitkilerden elde edilmektedir. Sentetik olarak üretilen birçok ilacın etken maddeleri de ilk defa bitkilerden izole edilen kimyasalların yapı benzerleridir. İlaç elde edilen bitkilere olan talep; toksik etkilerinin azlığı, yan etkilerinin olmaması, düşük maliyetli olması ve doğal olarak üretilmiş olması sebebiyle hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde artış göstermektedir (Sekar ve Kandavel, 2010).

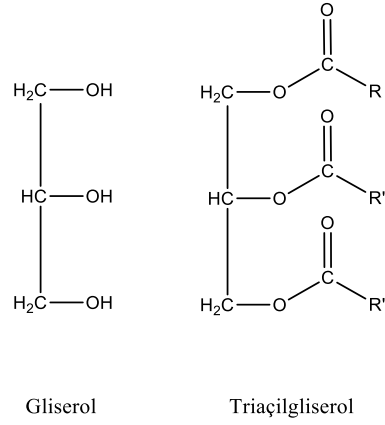
Sekonder bileşikler (alkoloidler, uçucu yağlar, glikozidler, flavanoidler, tanenler, fenoller, renk maddeleri ve reçineler) açısından zengin olan bitki türleri tıbbi ve aromatik bitkiler grubunda yer almaktadır. Yapay koruyucuların sağlık üzerine olan yan etkilerinden dolayı tüketicilerin doğal antimikrobiyal maddelere ilgisi artmış olup bu nedenle son yıllarda bitkisel maddelerin koruyucu etkileri üzerine araştırmalar yoğunlaşmıştır. Antimikrobiyal bileşikler mikrobiyal gelişimi ya da canlılığı azaltarak

işlenmiş ya da işlenmemiş gıdaların raf ömrünü uzatabilirler. Bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı ve bitkisel ekstraktların gıdalarda doğal antimikrobiyal olarak kullanılabileceği yapılan bilimsel araştırmalarla kanıtlanmıştır (Koyuncu vd., 2008; Gül, 2014).

2.1 Yağlar

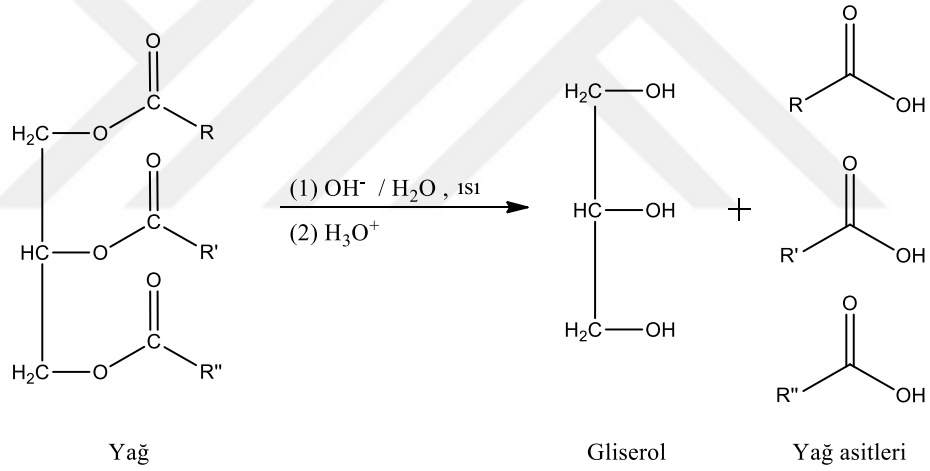
Yağlar, beslenme açısından önemli olup karbonhidrat ve proteinlerle birlikte diyetle alınması zorunlu besin öğelerindendir (Taşan ve Geçgel, 2007). Beslenme için gerekli olduğu kadar sağlık açısından da büyük önem arz etmektedir (Karaca ve Aytaç, 2007). Bu organik maddeler proteinlerle birleşip lipoproteinleri oluşturarak hücrenin yapı maddelerini meydana getirmekte, aynı zamanda yüksek enerji kaynağı sağlamaktadırlar. Yağda eriyen vitaminlerin (A, D, E, K) kaynağını da yine yağlar oluşturmaktadır (Mol, 2008).

Suda çözünmeyen eter, benzen, kloroform gibi organik çözücülerde çözünebilen farklı yapıli bileşikler yağ (ya da lipit) adı ile anılmaktadır (Karaca ve Aytaç, 2007). Lipit ismi Yunanca yağ manasına gelen *lipos* kelimesinden türemiştir. Yağ asitleri lipit sınıfındadırlar ve biyomoleküllerin hidrofobik ailesini oluştururlar. Polar olmayan çözücüler ile yapılan ekstraksiyondan elde edilen toplam yağın sadece küçük bir kısmı, uzun zincirli karboksilik asitlerden oluşmaktadır. Biyolojik kökenli karboksilik asitlerden çoğu, gliserolün (gliserinin) esterleri şeklinde bulunur ve bunlara triaçilgliseroller denir. Triaçilgliseroller, bitkisel ya da hayvansal kaynaklı yağlardır. Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan triaçilgliserollere sıvı yağlar; katı halde bulunanlarına da katı yağlar denir. Üç açıl grubu da aynı olan triaçilgliseroller basit triaçilgliserollerdir. Açıl gruplarının farklı olduğu triaçilgliseroller ise karışık triaçilgliseroller olarak adlandırılırlar ve bunlar en yaygın olarak bulunanlardır. Gliserol (gliserin) ve triaçilgliserolün yapısı Şekil 2.1’de gösterildiği gibidir (Solomons, 2002).



Şekil 2.1. Gliserol ve triaçilgliserol

Yağ; bir molekül gliserol, üç molekül yağ asitlerinden oluşmaktadır (Fidanbaş vd., 2015). Şekil 2.2’de gösterildiği gibi bir yağın hidrolizi sonucunda yağ asitlerinin bir karışımını verir (Solomons, 2002).



Şekil 2.2. Yağın hidrolizi

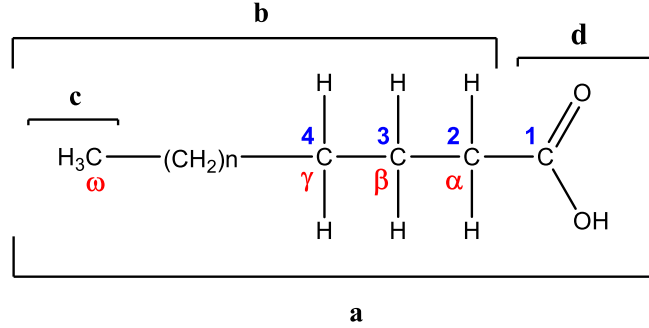
Yağı oluşturan öğelerden gliserol, bütün yağ bitkilerinde aynı iken yağ asitleri her bir yağ bitkisinde değişik bir kompozisyonda bulunmaktadır. İçeriğinde bulunan yağ asitleri kompozisyonu yağın kullanım alanlarını belirlemektedir. Bu özelliklerine göre, yemeklik sıvı yağ, sabun, parfümeri ve diğer endüstri kollarında kullanılmasını sağlamaktadır (Karaca ve Aytaç, 2007).

2.2 Yağ Asitleri

Yağlar, içerdikleri yağ asitleriyle birbirlerinden farklı özellikler gösterirler. Fiziksel, kimyasal ve fizyolojik özellikleri, yapılarındaki yağ asitlerinin cinsine ve miktarına bağlıdır. Yağ asitlerinin fiziksel, kimyasal özellikleri ile beslenmedeki rolleri; yağ asidi molekülündeki karbon atomu sayısına (zincir uzunluğuna), doymuşluk ve doymamışlık derecesine bağlıdır, bunun yanında çift bağ sayısına, çift bağların konumuna ve hidrojenlerin bağlanma pozisyonuna göre belirlenir. Karbon atomları karboksil ucundan başlanarak numaralandırılırlar. Yunan harflerine göre numaralandırmada yapılırken ise karboksil grubundaki karbon atomundan sonra başlanarak α , β , γ ... sembolleri ile gösterilirken, zincirin diğer ucundaki metil karbonu omega (ω) veya “n” sembolü ile gösterilir. Karbon atomu sayısına göre kısa (2-6), orta (6-10), uzun (12-20) ve çok uzun (>22) zincirli olarak isimlendirilen yağ asitleri yapılarında çift bağ içermiyorlarsa doymuş, çift bağ içeriyorlarsa doymamış yağ asitleri olarak tanımlanırlar. Doymamış yağ asitleri ise çift bağlarının sayısına göre tekli doymamış (monoansatüre) ve çoklu doymamış (poliansatüre) yağ asitleri olarak sınıflandırılırlar. Bunun yanında doymamış yağ asitleri ilk çift bağın bulunduğu omega karbonuna göre de n-3, n-6, n-7 ve n-9 gibi isimler de alırlar. Çiftli bağın konumu Δ sembolünün üzerine yazılacak rakamlarla gösterilir. Çift bağların ucundaki karbonlara bağlı hidrojen atomlarının yerleşimine göre de yağ asitlerinin *cis* ve *trans* olmak üzere iki izomerisi bulunur. Örnek olarak; *cis*- Δ^9 , yağ asidinin 9 ve 10 nolu karbon atomları arasında bir *cis*-çift bağı, *trans*- Δ^2 ise 2 ve 3 nolu karbon atomları arasında bir *trans*-çift bağ olduğunu ifade eder. Çoklu doymamış yağ asitlerindeki a:b şeklindeki ifade de a: karbon sayısını, b: çift bağ sayısını ve n: metil karbonuna en yakın çift bağın pozisyonunu gösterir (C18:2 n-6) (Çelebi vd., 2017).

Doymuş yağ asitlerindeki karbon zinciri birçok konformasyona sahip olabilir. Ancak zincir genellikle komşu metilen gruplarındaki sterik etkiyi en aza indirecek şekilde düzenlemiştir. Doymuş yağ asitleri iyi bir şekilde kristallenirler ve Van der Waals etkileşimlerinin büyük olması nedeniyle yüksek erime noktalarına sahiptirler. Molekül kütlelerinin artması ile erime noktası artar. Doymamış yağ asitlerinin ikili bağlarının *cis*-konfigürasyonunda olmasından dolayı, karbon zincirindeki eğilme, kristal istiflenmeyi doğrudan etkiler ve moleküller arası Van der Waals etkileşmesini zayıflatır. Bu yüzden

doymamış yağ asitleri doymuş yağ asitlerine kıyasla düşük erime noktasına sahip olmaktadır (Solomons, 2002).



Şekil 2.3. Bir doymuş yağ asidinin genel formülü; a) Yağ asidi, b) Alifatik karbon zinciri (hidrofobik), c) Metil grubu (hidrofobik), d) Karboksil grubu (hidrofilik)

2.2.1 Yağ asitlerinin sınıflandırılması

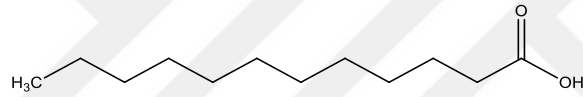
2.2.1.1 Doymuş yağ asitleri

Doymuş yağ asitleri zincirlerinde çift bağ bulunmaz. Karbon bağlarının hepsi hidrojen ile doyurulduğu için oldukça kararlı yapıya sahiptirler. Karboksil grubundan başkaca fonksiyonel grup içermediğinden yağ asitleri içerisinde kimyasal olarak en az reaktif olanlardır. Karbon sayısı 10'a kadar olan doymuş yağ asitleri oda sıcaklığında sıvı ve uçucu özelliktedir. Doymuş yağ asitlerinden meydana gelen yağların büyük çoğunluğu oda sıcaklığında katı, doymamış yağ asitlerini içeren yağlar ise sıvıdır (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012a).

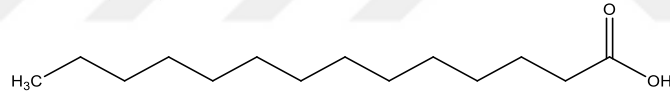
Laurik, Miristik, Palmitik, Stearik, Araşidik ve Behenik asitler bitkisel yağlarda bulunan önemli doymuş yağ asitleridir. Bunların arasından palmitik ve stearik asit, bitkisel yağlarda bulunan doymuş yağ asitleridir. Doymuş yağ asitleri vücutta sentez edilirler. Beslenme açısından yağ tüketilmese de bu tip yağ asitleri karbonhidrat metabolizması ile oluşan moleküllerden sentez edilebilirler (Karaca ve Aytaç, 2007).

Çizelge 2.1. Doymuş yağ asitleri

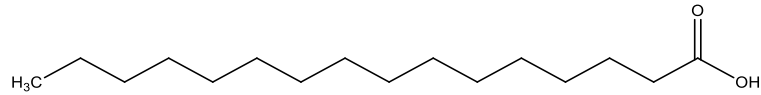
Yaygın adı	Sistematik adı	Karbon iskeleti	Kimyasal formülü
Asetik asit	Etanoik asit	C2:0	CH ₃ COOH
Bütirik asit	Bütanoik asit	C4:0	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH
Kaproik asit	Hekzanoik asit	C6:0	CH ₃ (CH ₂) ₄ COOH
Kaprilik asit	Oktanoik asit	C8:0	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH
Kaprik asit	Dekanoik asit	C10:0	CH ₃ (CH ₂) ₈ COOH
Laurik asit	Dodekanoik asit	C12:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH
Miristik asit	Tetradekanoik asit	C14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH
Palmitik asit	Hekzadekanoik asit	C16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH
Stearik asit	Oktadekanoik asit	C18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH
Araşidik asit	Eikosanoik asit	C20:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH
Behenik asit	Dokosanoik asit	C22:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₀ COOH
Lignoserik asit	Tetrakosanoik asit	C24:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH
Serotik asit	Hekzakosanoik asit	C26:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₄ COOH
Montanik asit	Oktakosanoik asit	C28:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₆ COOH
Melisik asit	Triakontanoik asit	C30:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₈ COOH
Lakseronik asit	Dotriakontanoik asit	C32:0	CH ₃ (CH ₂) ₃₀ COOH



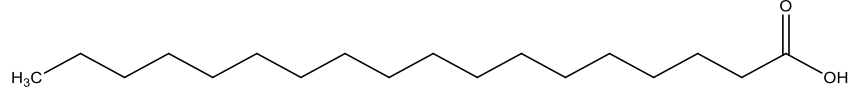
Laurik asit (C12:0)



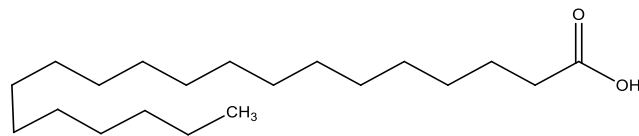
Miristik asit (C14:0)



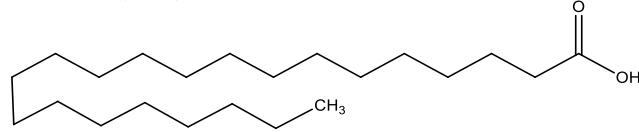
Palmitik asit (C16:0)



Stearik asit (C18:0)



Araşidik asit (C20:0)



Behenik asit (C22:0)

Şekil 2.4. Bitkisel yağların yapısında bulunan doymuş yağ asitlerinin yapı formülleri

2.2.1.2 Doymamış yağ asitleri

Doymamış yağ asitlerinin yapısında zincir üzerinde bir veya daha çok çift bağ bulunmaktadır. Zincir yapısındaki yağ asitleri farklı uzunlukta olabilir, farklı sayıda bağ içerirler. Bir çift bağa sahip olanlar tekli doymamış yağ asitleridir. Daha fazla çift bağ içerenler ise çoklu doymamış yağ asitleri olarak bilinirler. Gıda maddelerinde yaygın olarak bulunan tekli doymamış yağ asidi oleik asit ve çoklu doymamış yağ asidi ise linoleik asittir. Yapılarındaki çift bağlar nedeniyle, doymamış yağ asitleri doymuş yağ asitlerinden kimyasal olarak daha reaktiftir. Bu aktivite yağ asidi zincirindeki çift bağ sayısına göre artmaktadır. Doymuş yağ asitleri ve tekli doymamış yağ asitleri insan ve hayvan vücudunda sentezlenebilmelerine rağmen çoklu doymamış yağ asitleri sentezlenemezler ve bu nedenle esansiyeldirler. Doymamış yağ asitlerinin zeytinyağı, fındık, kanola, mısır, soya, ayçiçeği yağı gibi bitkisel yağlar ve özellikle soğuk sularda yaşayan canlılarda yoğun olarak bulunduğu belirtilmektedir (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012a).

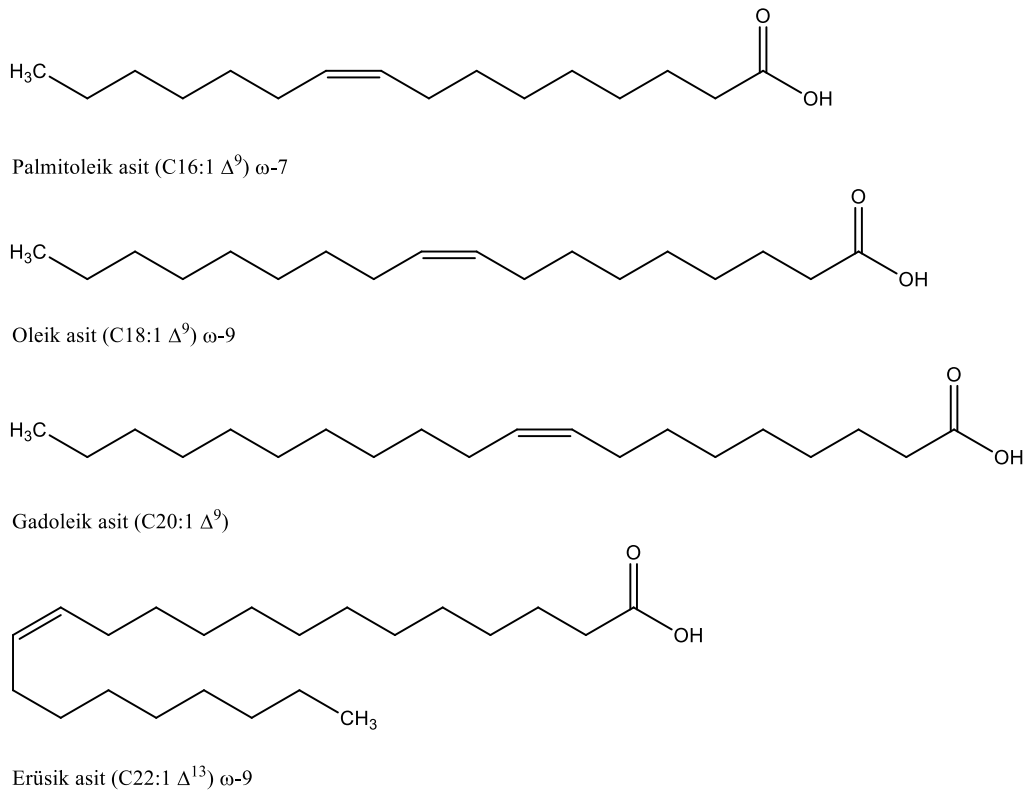
Çizelge 2.2. Doymamış yağ asitleri

Yaygın adı	Sistemik adı	Karbon iskeleti	Yapı formülü
Kaproleik asit	(Z)-9-desenoik asit	C10:1 Δ^9	CH ₂ =CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Lauroleik asit	(Z)-9-dodesenoik asit	C12:1 Δ^9	CH ₃ -CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Miristoleik asit	(Z)-9-tetradesenik asit	C14:1 Δ^9	CH ₃ -(CH ₂) ₃ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Palmitoleik asit	(Z)-9-hekzadesenik asit	C16:1 Δ^9	CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Petroselinik asit	(Z)-6-oktadesenik asit	C18:1 Δ^6	CH ₃ -(CH ₂) ₁₀ -CH=CH-(CH ₂) ₄ -COOH
Oleik asit	(Z)-9-oktadesenik asit	C18:1 Δ^9	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Vaksenik asit	(E)-11-oktadesenik asit	C18:1 Δ^{11}	CH ₃ -(CH ₂) ₅ -CH=CH-(CH ₂) ₉ -COOH
Linoleik asit	(Z,Z)-9,12-oktadekadienik asit	C18:2 $\Delta^{9,12}$	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
α -Linolenik asit	(Z,Z,Z)-9,12,15-oktadekatrienik asit	C18:3 $\Delta^{9,12,15}$	CH ₃ -CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
γ -Linolenik asit	(Z,Z,Z)-6,9,12-oktadekatrienik asit	C18:3 $\Delta^{6,9,12}$	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₄ -COOH
Gadoleik asit	(Z)-9-eikosenik asit	C20:1 Δ^9	CH ₃ -(CH ₂) ₉ -CH=CH-(CH ₂) ₇ -COOH
Araşidonik asit	(Z,Z,Z,Z)-5,8,11,14-eikosatetraenik asit	C20:4 $\Delta^{5,8,11,14}$	CH ₃ -(CH ₂) ₄ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₃ -COOH
Eikosapentaenik asit	(Z,Z,Z,Z,Z)-5,8,11,14,17-eikosapentaenik asit	C20:5 $\Delta^{5,8,11,14,17}$	CH ₃ -CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₃ -COOH
Erüsik asit	(Z)-13-dokosenik asit	C22:1 Δ^{13}	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₁₁ -COOH
Dokosahekzaenik asit	(Z,Z,Z,Z,Z,Z)-4,7,10,13,16,19-dokosahekzaenik asit	C22:6 $\Delta^{4,7,10,13,16,19}$	CH ₃ -CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-CH ₂ -CH=CH-(CH ₂) ₂ -COOH
Nervonik asit	(Z)-15-tetrakosenik asit	C24:1 Δ^{15}	CH ₃ -(CH ₂) ₇ -CH=CH-(CH ₂) ₁₃ -COOH

2.2.1.2.1 Tekli doymamış yağ asitleri

Yapılarında bir çift bağ içeren yağ asitleri tekli doymamış (monoansatüre) yağ asitleri olarak isimlendirilir. Tekli doymamış yağ asitlerinin yüksek yoğunluklu lipoproteini (HDL kolesterol, iyi kolesterol) artırıcı etkileri vardır. Tekli doymamış yağ asitleri kalp damar hastalıklarının azaltılmasında rol oynadığı için doymuş yağların tüketiminin azaltılması, tekli doymamış yağ asitlerinin tüketiminin artırılması gereklidir. Ancak, bu olumlu etkilerine rağmen tekli doymamış yağ asitleri miktarının toplam enerjinin %20'sini geçmemesi gerektiği de belirtilmektedir (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012a).

Tekli doymamış yağ asitleri grubunun en önemli iki üyesi, palmitoleik asit (C16:1) ile oleik asittir (C18:1). Bunlardan palmitoleik asit daha çok deniz hayvanları yağları için karakteristik bir bileşen olduğu halde, oleik asit bugüne dek bilinen bütün doğal yağların yapısında yer almaktadır. Zeytin ve kolza yağları, kabuklu yemişler (fındık, fıstık, ceviz), kabuklu yemiş yağları (yerfıstığı ve badem yağları) ve avokado; tekli doymamış yağ asitlerini yüksek oranda içermektedirler (Karaca ve Aytaç, 2007). Tekli doymamış yağ asitleri ω -9 yağ asitleri olarak da bilinir (Öztürk, 2014).

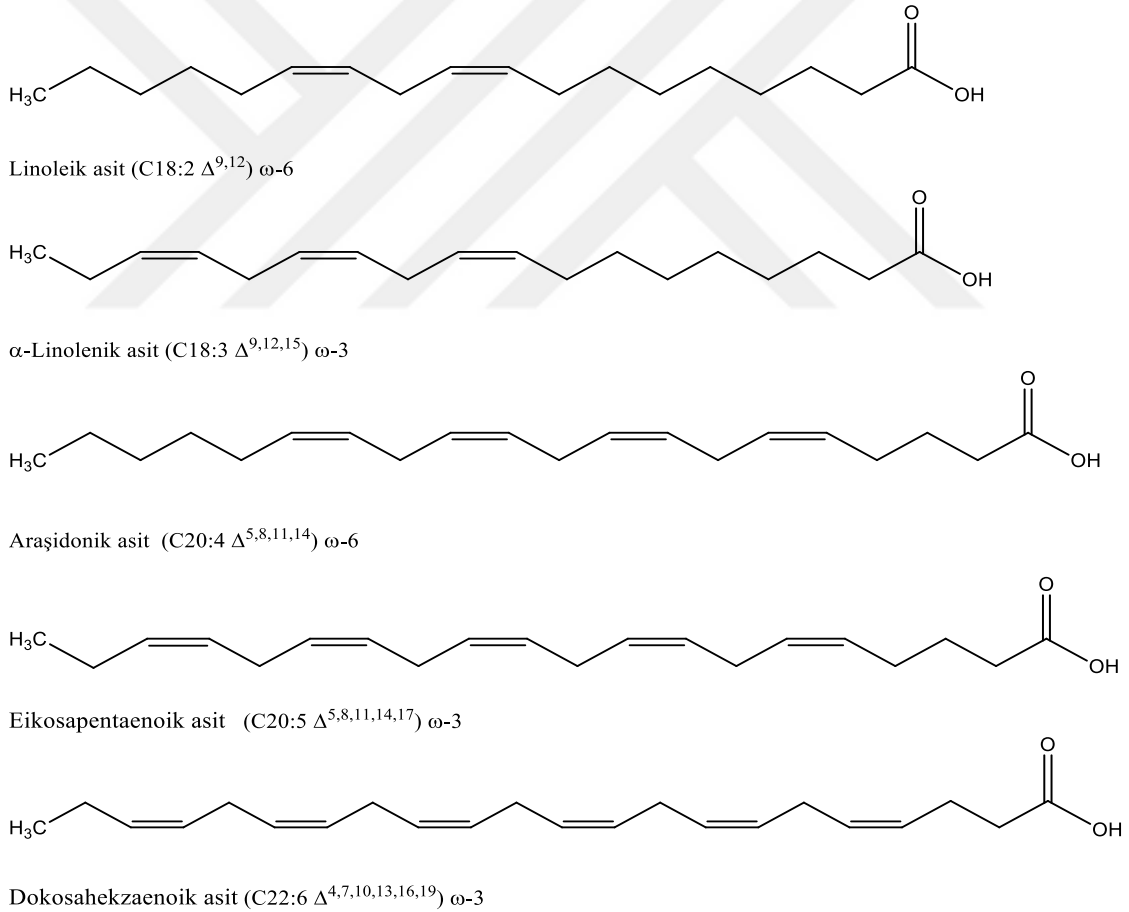


Şekil 2.5. Bazı tekli doymamış yağ asitlerinin yapı formülleri

2.2.1.2.2 Çoklu doymamış yağ asitleri

Birden çok çift bağ içeren yağ asitleri çoklu doymamış (poliansatüre) yağ asitleri olarak isimlendirilir. Uzun zincirli çoklu doymamış yağ asitlerinin en önemlileri (C18, C20 ve C22) aşağıda sıralanmıştır (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012a);

- Linoleik asit [C18:2 (n-6 omega); 18 C atomlu 2 çift bağlı],
- α -Linolenik asit [C18:3 (n-3 omega); 18 C atomlu ve 3 çift bağlı],
- Araşidonik asit [C20:4 (n-6 omega); 20 C atomlu ve 4 çift bağlı],
- Eikosapentaenoik asit [C20:5 (n-3 omega); 20 C atomlu ve 5 çift bağlı],
- Dokosahekzaenoik asit [C22:6 (n-3 omega); 22 C atomlu ve 6 çift bağlı].



Şekil 2.6. Bazı çoklu doymamış yağ asitlerinin yapı formülleri

Bu yağ asitleri, metil (CH₃) kökünden başlamak üzere çift bağın bulunduğu ilk karbona göre ω -3 veya ω -6 yağ asitleri olarak iki alt kategoriye ayrılmaktadır. ω -3 yağ asitlerinin kaynağını α -linolenik asit [C18:3 (ω -3)] oluşturur. İlk çift bağ metil grubuna en yakın

üçüncü karbonda bulunur. Bu nedenle omega-3 (ω -3) adı verilir. ω -6 yağ asitlerinde ise ilk çift bağ metil grubuna en yakın altıncı karbondadır. Dolayısıyla bunlara omega-6 (ω -6) adı verilir. ω -6 yağ asitlerinin kaynağını linoleik asit [C18:2 (ω -6)] oluşturur.

ω -3 ve ω -6 yağ asitleri insan vücudunda sentezlenemedikleri için temel yağ asitleri olarak adlandırılır. Bu yağ asitlerinin dışarıdan besinle alınması metabolizma sağlığı bakımından büyük önem taşımaktadır. Bunlardan omega-3 yağ asitleri deniz ürünleri dışında ayrıca fındık, ceviz, susam, keten tohumu, soya fasulyesi, kanola ve zeytinyağı gibi bitkisel yağlarda bol miktarda bulunmaktadır. Omega-6 yağ asitleri ise mısır, soya, pamuk ve ayçiçeği yağında yüksek oranda bulunmaktadır (Öztürk, 2014).

Çoklu doymamış yağ asitlerince zengin yağlar oda sıcaklığında sıvı veya yumuşak formdadır. Mısır, soya ve ayçiçeği yağlarının çoklu doymamış yağ asidi içerikleri yüksektir. Deniz ürünlerindeki yağların büyük bir kısmı da çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşmaktadır (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012a).

2.2.1.2.2.1 Trans yağ asitleri

Doymamış yağ asitleri içinde çift bağ iki formda oluşabilir. Bu önemli izomer çeşitleri pozisyon ve geometrik olarak iki grupta incelenebilir. Geometrik izomer; çift bağlar, ucundaki karbon atomlarına bağlı hidrojen atomlarının konfigürasyonuna göre şekillenir; *cis* ve *trans* olarak iki izomer oluşur. Hidrojen atomları karbon zincirinin aynı tarafında ise *cis*, aksi yönlerde ise *trans* izomerler ortaya çıkar. *Cis* formundaki yağ asitlerinin erime noktaları düşük olup *trans* yağ asitlerinin oldukça yüksektir. En yaygın olarak, bitkisel yağlardaki doymamış ve balık yağındaki çoklu doymamış yağ asitleri *cis* formundadır. Pozisyon izomerizmi ise, molekül içinde çift bağların yer değiştirmesidir. Doğal yağlarda çift bağlar genellikle *cis* konfigürasyonundadır. *Trans* yağ asitleri, *trans* konfigürasyonda en az bir çift bağ içeren yağ asitleridir. *Trans* yağ asitleri üç yolla oluşur (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012a);

- Biyokimyasal hidrojenizasyon,
- Yüksek sıcaklık uygulamaları,
- Kısmi hidrojenizasyon.

Biyokimyasal hidrojenizasyon geviş getiren hayvanların rumen bölgelerinde rumen bakterileri tarafından gerçekleştirilir ve bu nedenle süt ürünleri ile hayvansal ürünlerde yaklaşık %3–8 oranında toplam *trans* yağ asidi oluşur.

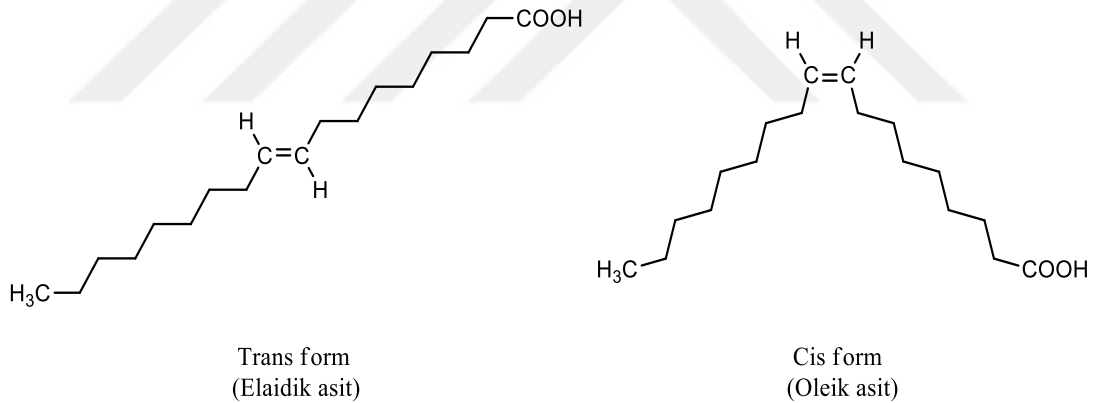
Kimyasal hidrojenizasyon, yağ asitlerinin karbon zincirleri üzerindeki doymamış kısımlara hidrojen atomları ekleyerek çift bağ sayısını azaltma işlemidir. Bitkisel şortening elde etmek için 1911 yılında ABD’de ilk olarak pamuk çekirdeği (çiğit) yağı hidrojenize edilmiştir. Kısmi hidrojenizasyon işlemi 1930’larda margarinin geliştirilmesi ile daha popüler olmuştur. Reaksiyon, gıda endüstrisinde hidrojen ve metal katalizör varlığında, ısıtılan bitkisel yağlara (bazen balık yağları) kısmi hidrojenizasyon olarak uygulanır. Hidrojenizasyon, erime noktasını artırmakta, sıvı yağları katı veya yarı katı forma dönüştürmekte yararlı olmakta, doymamış yağ asitlerinin raf ömrü ve aroma stabilitesi artmaktadır. Hidrojenizasyon sayesinde, soya, aspir, pamuk tohumu yağı gibi doymamış yağ asitleri bakımından zengin yağlar, margarin ve bitkisel şorteninglere dönüştürülmektedir.

Yağ üretimindeki yüksek sıcaklık uygulamaları, sıcaklığın 240°C’ye kadar çıktığı deodorizasyon veya fiziksel rafinasyon işlemleridir. Rafinasyon tekniklerinde deodorizasyon/buhar distilasyonu aşamasında uygulanan sıcaklık derecesi ve süresi, basınç miktarı ve kullanılan buhar oranı *trans* yağ asidi oluşumunda önemli etkilere sahiptir. Precht ve arkadaşları, yüksek sıcaklık uygulamalarının *trans* yağ asidi miktarlarında artışlara neden olduğunu bildirmektedirler. Pişirme işlemi sırasında kızartma yağlarında çoklu doymamış *trans* yağ asidi oluştuğu belirtilmektedir. *Trans* yağ asidi alımının artması, esansiyel yağ asitlerine ihtiyaç miktarını artırmaktadır (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012a).

Trans yağ asitlerinin doymuş yağ asitleri gibi düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL kolesterol, kötü kolesterol) seviyesini yükselttiği, yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL kolesterol, iyi kolesterol) seviyesini ise düşürdüğü, bunun sonucunda da koroner kalp hastalığı riskinin yükseldiği çeşitli araştırmalarla gösterilmiştir. *Trans* yağ asidi tüketiminin çok zararlı olduğu, düşük doğum ağırlığına neden olduğu, anne sütü, bağışıklık sistemi ve şeker hastalığı üzerine olumsuz etkileri bulunduğu belirtilmektedir. *Trans* yağ asitlerinin süt yoluyla anneden bebeğe geçtiği de belirtilmektedir. *Trans* yağ

asidinin erime noktası *cis* formuna göre oldukça yüksek olup sindirilebilirlik sürecinin uzamasına neden olmaktadır (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012b).

Cis formu molekülde bükülmeye yol açarken, *trans* formu doymuş yağ asitlerinin düz zincirine benzerlik göstermektedir (Şekil 2.7). *Trans* yağ asitlerinin çift bağ açısı daha küçük, açıl zinciri daha doğrusaldır. Böylece aynı sayıda karbon, hidrojen ve oksijen atomlarına sahip olan iki izomer farklı üç boyutlu yapılar sahiptir. Bu durum, farklı fiziksel özelliklere sahip (örneğin erime noktası ve termodinamik stabilitesi daha yüksek) daha sert bir molekül oluşumuna yol açmaktadır. Örneğin; oleik asit (*cis*-C18:1 ω -9) ve elaidik asit (*trans*-C18:1 ω -9) geometrik izomerlerdir. Her iki molekülde de 18 karbon atomu, 34 hidrojen atomu, 2 oksijen atomu ve (ω -9) pozisyonunda bir tek çift bağ bulunmaktadır. Oleik asidin erime noktası 13°C, elaidik asidin 44°C ve C18 serisinden doymuş bir yağ asidi olan stearik asidin (C18:0) erime noktası 70°C'dir. Bu oldukça yüksek erime noktası, *trans* izomerlerini yarı-katı yağlar ve margarin/şortening üretimi için cazip hale getirmektedir (Taşan ve Dağlıoğlu, 2005).

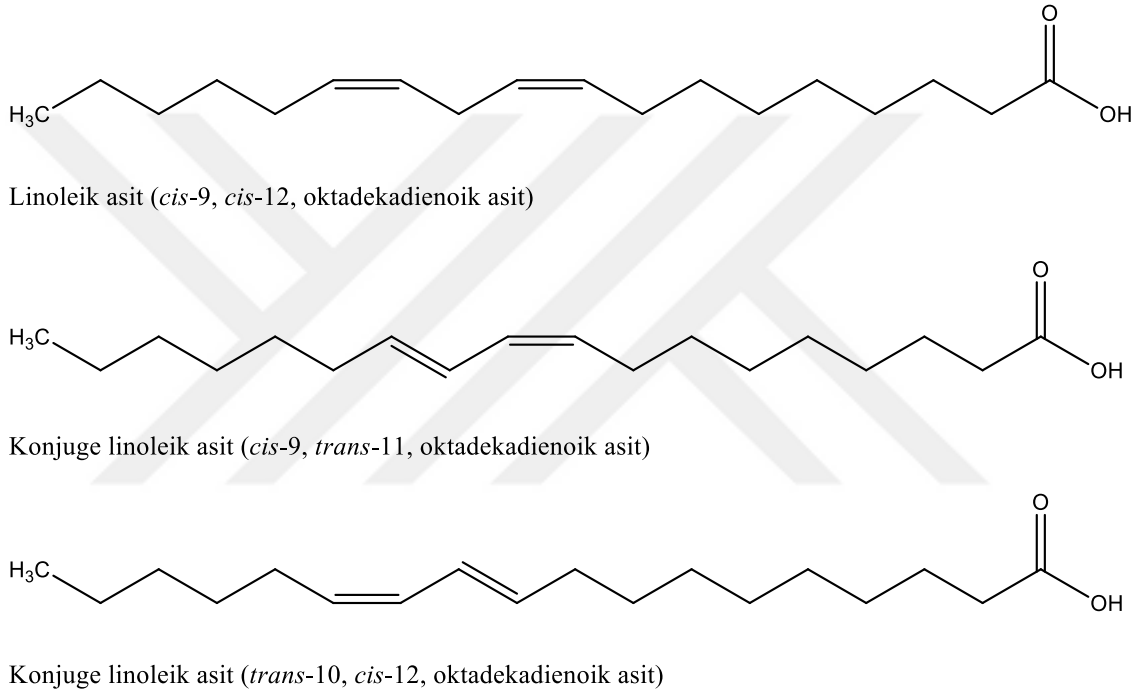


Şekil 2.7. Oleik asit ve elaidik asit geometrik izomer yapıları

2.2.1.2.2.2 Konjuge linoleik asit

Konjuge linoleik asit, bir omega-6 esansiyel yağ asidi olan linoleik asidin (*cis*-9, *cis*-12, oktadekadienoik asit) geometrik ve pozisyonel izomerlerini kapsamaktadır. Doğal kaynaklarda bulunan başlıca izomer *cis*-9, *trans*-11 iken ticari preparatlarda yaklaşık eşit miktarlarda *cis*-9, *trans*-11 ve *trans*-10, *cis*-12 izomerleri bulunmaktadır (Şekil 2.8). Konjuge linoleik aside ilgi, kansere karşı koruyucu ve vücut yağını azaltıcı etkisinin ortaya konulmasından sonra artmıştır. Vücut yağını azaltıcı, bağışıklığı artırıcı ve

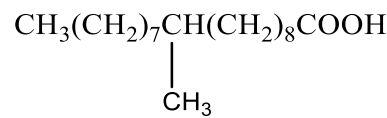
antikanser, antidiyabet, antiobezite ve antiaterojenik özellikte olup insan sağlığı üzerine faydalı etkileri olduğu bildirilmiştir. Konjuge linoleik asidin insan tümör hücrelerine (kolon, meme ve prostat) sitotoksik etkisi dahil olmak üzere, antioksidan özelliği, karaciğer triaçilgliserol birikimini düşürücü, diyet etkileri ve antiobezite gibi sağlığa faydalı birçok etkileri vardır. Konjuge linoleik asidin izomerlerinden olan *trans*-10, *cis*-12 konjuge linoleik asidin daha çok vücutta yağlanmayı azaltıcı, *cis*-9, *trans*-11 konjuge linoleik asidin ise antikarsinojenik etkisinin olduğu konusunda bilgiler mevcuttur (Çakmakçı ve Kahyaoğlu, 2012a).



Şekil 2.8. Linoleik asit ve en sık rastlanan CLA izomerlerinin yapı formülleri

2.2.1.3 Ek gruplu yağ asitleri

Hidrokarbon zincirlerinde hidroksil grubu veya metil grubu gibi ek gruplar içeren yağ asitleridirler (Şekil 2.9, Çizelge 2.3) (Ortaköy, 2013).



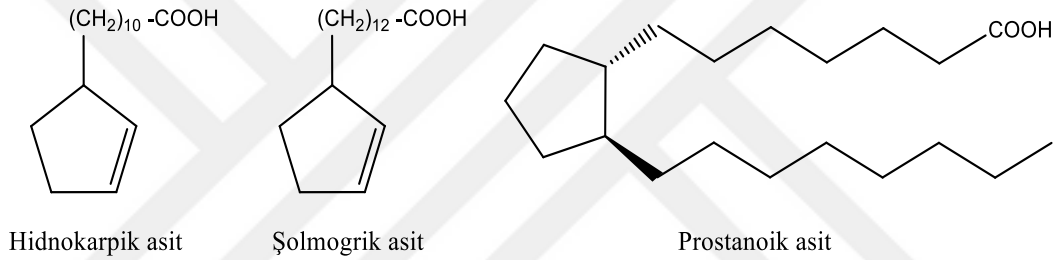
Şekil 2.9. Tüberkülostearik asit

Çizelge 2.3. Ek gruplu yağ asitleri

Yağ asidinin adı	Karbon iskeleti
Dioksistearik asit	C18:0 (9,10-dioksi)
Risinoleik asit	C18:1 Δ^9 (12-monooksi)
Serebronik asit	C24:0 (2-monooksi)
Oksinervonik asit	C24:1 Δ^{15} (12-monooksi)
Tüberkülostearik asit	C18:0 (10-monometil)

2.2.1.4 Halkalı yapılı yağ asitleri

Hidrokarbon zincirleri halkalı yapı oluşturmuş olan yağ asitleridirler. Şolmogra yağı ile hidnokarpik asit ve şolmogrik asidin etil esterleri ve sodyum tuzları, cüzzam (lepra) tedavisinde kullanılırlar (Şekil 2.10, Çizelge 2.4) (Ortaköy, 2013).



Şekil 2.10. Halkalı yapılı yağ asitlerinin yapı formülleri

Çizelge 2.4. Halkalı yapılı yağ asitleri

Yağ asidinin adı	Karbon iskeleti
Hidnokarpik asit	C16:1 Δ^{13}
Şolmogrik asit	C18:1 Δ^{15}
Prostanoik asit	C20:0

2.2.2 Yağ asitlerinin reaksiyonları

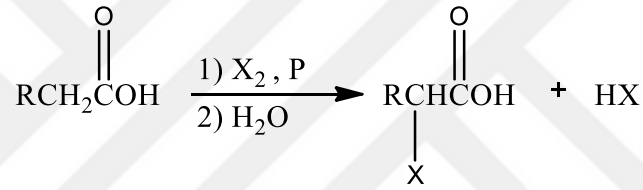
2.2.2.1 Sabunlaşma

Triaçilgliserollerin baz ile hidrolizi, gliserin ve uzun zincirli karboksilik asitlerin tuzlarının bir karışımını verir. Uzun zincirli karboksilik asitlerin bu tuzları sabunlardır ve bu sabunlaştırma tepkimesi birçok sabunun üretiminde kullanılır. Katı ve sıvı yağlar, sulu NaOH çözeltisinde, hidroliz olayı tamamlanıncaya kadar kaynatılır, karışıma NaCl ilave edilerek sabun çöktürülür. Sabun ayrıldıktan sonra gliserin sulu fazdan damıtma

yolu ile ayrılır ve ham sabun saflaştırılmış olur. Uzun zincirli karboksilik asidin sodyum tuzları olan sabunların tamamı su ile karışabilir ancak tek tek iyonlar halinde çözünmezler. Çok seyreltik iyonlar hariç sabunlar miseller halinde bulunurlar. Sabun miselleri, sulu fazda dağılmış bulunan karboksilat iyonlarının oluşturduğu küresel kümelerdir. Sabunun polar olmayan (hidrofobik) alkil zinciri polar olmayan çevrede yani miselin iç kısmında yer alırken; polar (hidrofilik) karboksilat grupları ise polar çevrede yani sulu fazda bulunurlar.

2.2.2.2 Alkil zincirlerinin tepkimeleri

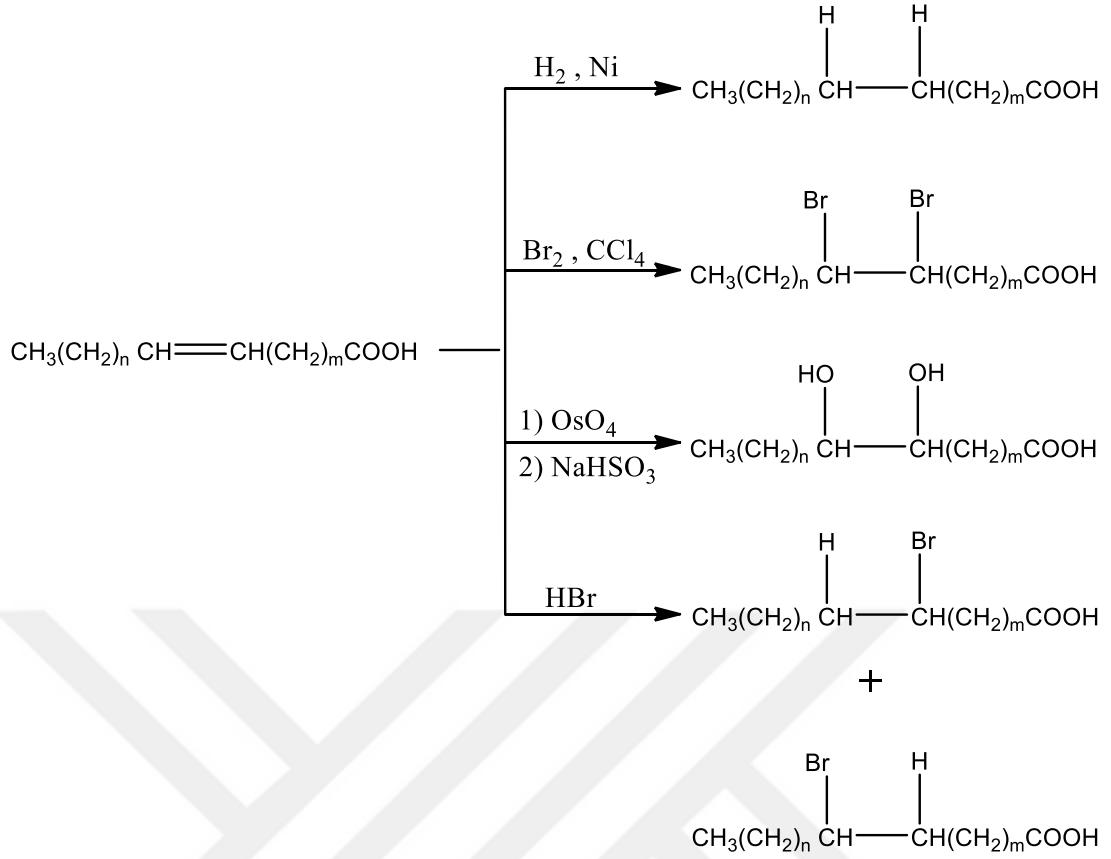
Yağ asitleri, fosfor varlığında brom ya da klorla etkileştirildiklerinde kendilerine özgü α -halojenleme tepkimesini verirler (Şekil 2.11).



Şekil 2.11. α -Halojenlerin oluşma reaksiyonu

2.2.2.3 Alkenil zincirlerinin tepkimeleri

Yağ asitlerinin karbon zincirindeki doymamış bağlar karakteristik alken katılma tepkimeleri verirler (Şekil 2.12).

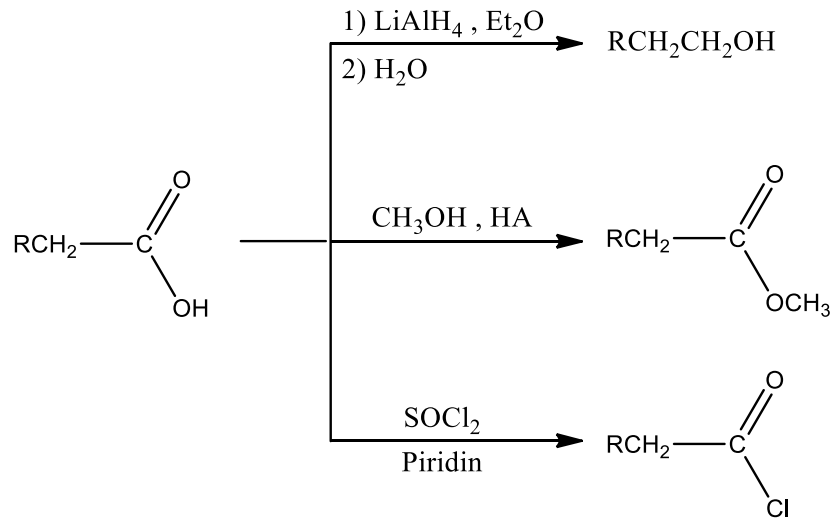


Şekil 2.12. Alkenil zincirin verdiği tepkimeler

2.2.2.4 Karboksilik asit tepkimeleri

Yağ asitleri, karboksilik asitlerin verdiği tipik tepkimeleri verirler. Yağ asitleri;

- LiAlH_4 ile alkolleri,
- Alkoller ve mineral asitleri ile tepkimeye girerek esterleri,
- Tiyonil klorür ile tepkimeye girerek açıl klorürleri oluştururlar (Şekil 2.13) (Solomons, 2002).



Şekil 2.13. Karboksilik asidin verdiği tepkimeler

2.2.3 Yağ asitlerinin insan sağlığı açısından önemi

Son yıllarda yapılan çalışma ve bulgular insanların daha sağlıklı bir yaşama sahip olmalarında tüketilen yağların yanı sıra tüketilen yağ asitlerinin tür ve miktarının da önemli olduğunu göstermiştir (Çelebi ve Karaca, 2006). Doymuş yağ asitleri ile tekli doymamış ω -9 yağ asitleri insan vücudunda sentezlenebilmektedir. Dolayısı ile bunların gıda ile dışarıdan alınması şart değildir. Birden fazla çift bağ içeren çoklu doymamış yağ asitleri ise ω -3 ve ω -6 olarak 2 alt kategoriye ayrılmaktadır. Bunların her ikisi de insan vücudu tarafından sentezlenemediğinden gıdalarla alınmaları zorunludur. Bu yağ asitleri “esansiyel” olarak kabul edilmekte ve gıda ile alınmaları sağlıklı beslenme açısından büyük önem taşımaktadır (Mol, 2008).

Belirli yağ asitlerinin vücut için esansiyel olduğu fikri, ilk olarak 1929 yılında ortaya atılmıştır. Yağsız diyetle beslenen fareler üzerinde yapılan araştırmada; büyümenin gecikmesi, böbrek fonksiyon bozuklukları, cilt sorunları, üreme fonksiyon bozuklukları gibi rahatsızlıklar tespit edilmiş, ancak söz konusu araştırma, sorunun yağ asidi eksikliğinden değil, linoleik asit (C18:2 ω -6) adlı yağ asidi eksikliğinden kaynaklandığını göstermiştir. Vücudun üretemediği ve mutlaka besinler yoluyla alınması gereken bu yağ asidi çeşidi o yıllarda esansiyel yağ asidi olarak tanımlanmıştır. Araştırmalar devam ettikçe, α -linolenik asidin de (C18:3 ω -3) vücut için esansiyel olduğu saptanmıştır ve günümüzde yapılan birçok araştırma ile ω -3 ve ω -6 esansiyel

yağ asitlerinin dengede alınmasının sayısız faydalar getirdiği gösterilmiştir (Erkan, 2013).

İnsan ve diğer memelilerde omega-1 metil grubu ile omega-7 metil grubu karbon atomu arasında çift bağ oluşturan enzim bulunmadığı için ω -3 ve ω -6 serisi doymamış yağ asitlerini sentezleyemezler. Ancak linoleik asit ve α -linolenik asidin yiyeceklerle alınması durumunda, memelilerde sentezlenemeyen linoleik asitten (C18:2 ω -6) elongasyon (karbon zincirinin uzatılması) ve desatürasyon (çift bağ sayısının artırılması) sonucu araşidonik yağ asidi (C20:4 ω -6), α -linolenik asitten (C18:3 ω -3) ise eikosapentaenoik asit (C20:5 ω -3), dokosapentaenoik asit (C22:5 ω -3) ve dokosahekzaenoik asit (C22:6 ω -3) gibi ω -3 serisi yağ asitleri sentezlenebilmektedir (Çelebi vd., 2017).

Sağlıklı bir vücut linoleik asitten γ -linolenik asit (C18:3 ω -6) oluşturabilmektedir. γ -Linolenik asitin olumlu etki gösterdiği durumlar; romatoid artrit, kardiyovasküler sistem hastalıkları, diabetik nöropati, malignite (kansere yol açan kötü huylu tümör oluşumu), egzama, psöriazis (sedef) gibi deri hastalıkları sayılabilir. Araşidonik asit hücre membranında bulunur ve fosfolipidlerin %5-15'inden sorumludur. İnfantlarda (bebeklerde) beyin gelişimi için gereklidir. α -Linolenik asitin olumlu yönde etki gösterdiği durumlar; yüksek kan kolesterolü, hipertansiyon, immün sistem bozuklukları, erkek infertilitesi (kısırlık), malignite sayılabilir. Eikosapentaenoik asit; retina, serebral korteks, testis ve spermde yüksek konsantrasyonda bulunur. Eikosapentaenoik asit, vücutta birçok yararlı etkileri olan eikosanoidleri üretir (Erkan, 2013). Eikosanoid; 20 karbonlu aşırı doymamış yağ asitlerinden homo γ -linolenik asit (C18:3 ω -6), araşidonik asit (C20:4 ω -6) ve eikosapentaenoik asit (C20:5 ω -3) oksijenli metabolitleri için kullanılan bir terim olup; prostaglandinler, epoksieikosatrienoik asitler, hidroksieikosatetraenoik asitler, lökotrienler, lipoksinler ve hepoksilinleri kapsamaktadır (Çakmak vd., 2005). Eikosapentaenoik asit ve dokosahekzaenoik asidin yararlı olduğu durumlar arasında romatoid artrit, yüksek kan trigliseridi, kardiyak aritmiler, infant (bebek) beyin gelişimi, malignite sayılabilir (Erkan, 2013).

Bitkisel olarak; keten tohumu yağı, kanola yağı, soya fasulyesi yağı, ceviz, balkabağı çekirdeği, kenevir tohumu yağı ve semizotu gibi yeşil yapraklı sebzeler, kuru baklagiller ve kolza tohumu α -linolenik asiden zengindir. İnsan sütünde ω -3 yağ asitleri önemli

miktarda bulunur. Mısır yağı, soya fasulyesi yağı, ayçiçek yağı, aspur (yalancı safran) yağı, ceviz, balkabağı çekirdeğı ve keten tohumu yağı ω -6 yağ asitlerinin önemli kaynaklarıdır. Anne sütünün γ -linolenik asit içeriğı oldukça zengindir. Çuha çiçeğı yağı, siyah kuş üzümü ve kenevir tohumu yağı önemli miktarda γ -linolenik asit içerir. Rafine edilmemiş ham zeytinyağı, zeytin, avokado, badem, yer fıstığı, susam yağı, pecan fındığı, antep fıstığı, mahun cevizi, fındık, kanola yağı, fındık yağı ve keten tohumu yağı başlıca ω -9 kaynaklarıdır. Oleik asit, kalp krizi ve damar sertliğı riskini düşürür ve kanserden korunmaya yardımcı olur (Konukoğlu, 2008).

1980'lerde Pediatri uzmanları ω -3 eksikliğinden ileri gelen; anormal görme, beyin fonksiyonunda ve ikincil nöropatinin zayıflaması belirtileriyle ω -3'ün önemini anlamışlardır. Gerçekten, dokosahekzaenoik asit beyin ve retinada bulunan fosfolipidlerdeki toplam yağ asitlerinin yarısını oluşturmaktadır. Bu yüzden hamile kadınların özellikle sinirsel gelişimin en belirgin olduğu hamileliğin üçüncü ayında yeterli miktarda çoklu doymamış yağ asitleri (ω -3) almaları gerekmektedir. Nispeten bebekler daha yüksek düzeylerde ω -3'e gereksinim duymaktadır. Gelişme öncesi bebekler ω -3 ihtiyacını anne sütünden ya da zenginleştirilmiş gıdalardan alabilmektedir. Sonuç olarak hamile ve emzirme dönemindeki kadınlarda ω -3 bakımından eksiklik olabilmekte ve bunu aldıkları gıdalarla artırmaları gerekmektedir (Karabulut ve Yandı, 2006).

Esansiyel yağ asitleri vücuttaki her hücrenin zarında bulunmakta ve hücre zarının görevini yapmasını sağlamaktadır. Kalp-damar, üreme, bağışıklık ve sinir sistemlerinin işlevleri de dahil, bütün biyolojik işlevlerin düzenlenmesinde kullanılmaktadır. Yapılan çeşitli araştırmaların sonuçları, ω -3 yağ asitlerinin sağlığın sürdürülmesi, kalp damar hastalıklarının önlenmesi, romatoid artrit, alzheimer gibi hastalıklara karşı korunmada, hamilelik ve bebeklik döneminde beyin ve göz gelişiminin desteklenmesinde katkı sağladığını göstermiştir (Şahingöz, 2007).

Omega-3 yağ asitleri bazı psikiyatrik bozukluklarda da etkili bulunmuştur. Emosyonel bozukluklar, major depresyon, bipolar bozukluk, şizofreni ve demansta yararlı olabileceğı yönünde veriler vardır. Gebelik sırasında ve laktasyon döneminde görülen psikiyatrik bozukluklarda da güvenle kullanılabilir (Coşkun, 2005).

Hiperaktiflik; duygusal dengesizlik, düzenli çalışma bozukluğu, dikkat süresi kısalığı, konsantrasyon zayıflığı, aşırı hareketlilik ve öğrenme güçlüğü olarak tanımlanır. Okul çağındaki çocukların %30-40'ında yaygındır. Okul yaşlarındaki çocukların %3-5'inde davranış bozukluğu olduğu, bunun sebeplerinin biyolojik ve çevresel faktörlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Önceden davranış bozukluğu bulunan 6-12 yaş grubundaki çocuklar arasında yapılan araştırmalarda, ω -3 yağ asidi seviyesi düşük olan 53 çocuğun yaklaşık %40'ında hiperaktif düzensizliğe bağlı dikkat eksikliği olduğu tespit edilmiştir.

Çoklu doymamış yağ asitlerin insan vücudunda kan basıncını düzenledikleri, trigliserid ve kolesterol seviyesini düşürdüğü ve dolayısı ile kalp krizi riskini azalttığı ileri sürülmüştür. İnsan vücudunda yağ asitleri bakımından en zengin organ beyindir. Çoklu doymamış yağ asitlerin beyin fonksiyonlarında önemli rol oynadıkları bildirilmiştir. Sinir hücrelerinde uyarıların iletilmesinde önemli oldukları, çoklu doymamış yağ asitleri eksikliğinde öğrenme kabiliyetinde azalma olduğu, yaşlı insanlarda buna bağlı olarak hatırlama güçlükleri olduğu tespit edilmiştir (Kaya vd., 2004).

Çoklu doymamış yağ asitlerinin, özellikle Omega-6 yağ asitleri cilt sağlığını korumakta ve esnek ve pürüzsüz cilt oluşumunu sağlamaktadır. Böylece deri yaralanmalardan ve enfeksiyonlardan korunmuş olmakta ve vücudun ısısı ve su kaybı düzenlenmektedir. Aynı zamanda esansiyel yağ asitlerinin bebek pişiklerinde yangıya karşı etki gösterdikleri belirtilmektedir (Karabulut ve Yandı, 2006).

Esansiyel yağ asitlerinin hücre membranındaki miktarı, membran akışkanlığında çok önemli bir yer tutmaktadır. Gen ekspresyonu ve hücre içi haberleşme açısından önem arz eden omega-3 yağ asitleri, aynı zamanda hücrenin enerji ihtiyacını karşılar ve vücut ısısının stabilizasyonuna katkıda bulunur. Omega-3 yağ asitlerinin antienflamatuar, antioksidan, antihiperlipidemik, antihipertansif, antiaritmik, antiagregan ve antiaterojenik etki gösterdiği ortaya konulmuştur. Meme kanseri ve akciğer kanseri tedavisine omega-3 yağ asitlerinin de ilave edilebileceği ortaya konulmuştur. Omega-3 yağ asidi ağırlıklı gıda tüketilmesi kolon kanseri riskini düşürmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda omega-3 yağ asitlerinin kanser, kardiovasküler hastalıklar, immün sistem, siroz ve nöral sistem üzerinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu bilgilere ek olarak omega-3 esansiyel yağ asitlerinin oksidatif stresi azaltan antioksidan

özelliklere sahip olduğu ve reaktif oksijen türlerinin üretilmesini önlediği rapor edilmiştir. Omega-3 yağ asitleri takviyesinin karaciğer hasarını ve karaciğerde yağlanmayı azalttığı son çalışmalarda gösterilmiştir. Uzun zincirli omega-3 yağ asitlerinin aynı zamanda karaciğerde yağ birikimi ile ilişkili karaciğer inflamasyonunun tedavisinde de yararlı olduğu ortaya konulmuştur. Yine yapılan bir diğer çalışmada omega-3 yağ asitlerinin güçlü antioksidanlar olduğu düşünülmüş ve çoğu insan kanserinde, antikanser ajan olarak rol aldıkları yaygın olarak onaylanmıştır (Gülçen vd., 2016).

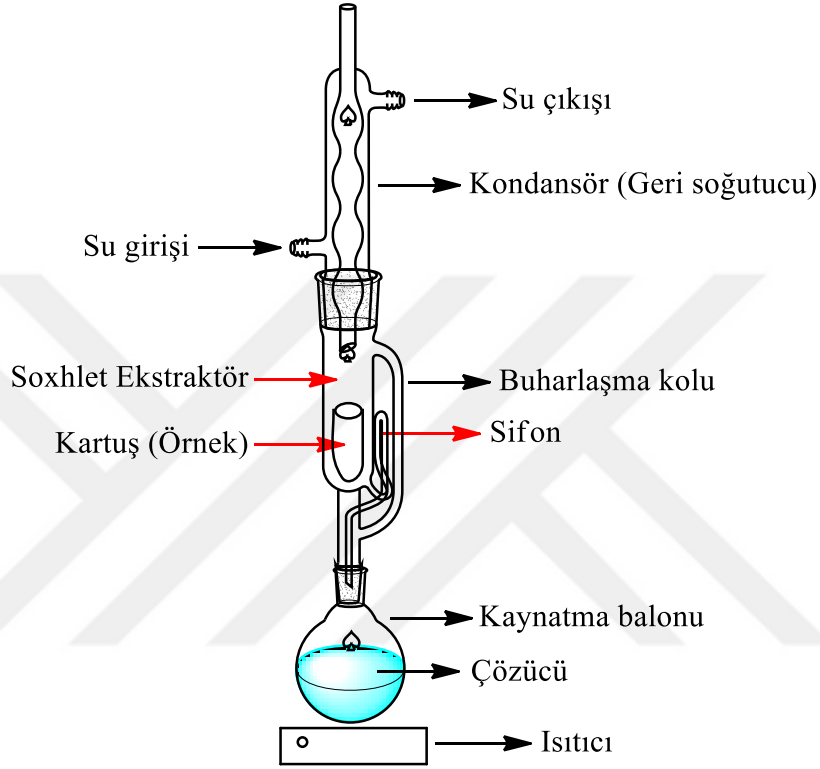
2.3 Ekstraksiyon Yöntemleri

Ekstraksiyon yöntemlerini, geleneksel ve yeni metotlar olmak üzere iki gruba ayırabiliriz. Soxhlet ekstraksiyonu ve maserasyon işlemi geleneksel yöntemler arasında olup işlem süresi uzundur ve büyük miktarlarda çevreyi kirletici çözücüler kullanılmaktadır (Kılıç, 2008). Ekstraksiyon süresini kısaltan, organik çözücü tüketimini azaltan ve çevre kirliliğini önleyen yeni ekstraksiyon tekniklerine olan talep artmaktadır. Bitkisel ürünlerin ekstraksiyonunda kullanılan yeni metotlardan ultrason destekli ekstraksiyon, mikrodalga destekli ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyon ve basınçlı sıvı ekstraksiyon oldukça hızlı ve etkilidir. Ayrıca ekstraksiyon verimini arttırmak için yeni ekstraksiyon teknikleri geliştirilmiştir. Yeni ekstraksiyon tekniklerinde yüksek basınç ve/veya yüksek sıcaklıklarda deneylerin gerçekleştirilebilmesi ekstraksiyon süresini ve çözücü ihtiyacını büyük oranda azaltmaktadır (Wang ve Weller, 2006).

2.3.1 Soxhlet ekstraksiyonu

Katı veya yarı-katı numuneler için uygun olan bu yöntem, ilk olarak 1879 yılında Alman kimyager Franz Ritter von Soxhlet tarafından tasarlanan Soxhlet ekstraktörü ile süt yağının belirlenmesi amacıyla kullanılmıştır. Soxhlet ekstraksiyonu, geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden biridir ve geniş ölçüde kullanılmaktadır. Soxhlet ekstraktör sistemi, selüloz soxhlet kartuşu, balon, bir sıvı akış borusu (sifon), yoğunlaştırucu (geri soğutucu) ve ısıtma sisteminden meydana gelmektedir (Şekil 2.14) (Luque de Castro ve Priego-Capote, 2010).

Bu sistemin temel prensibi, belirli bir süre boyunca yarı sürekli bir şekilde ısıtılıp kaynatılan ve tekrar yoğunlaştırılan bir çözücünün selülozik bir yapı içerisinde bulunan katı materyalden yağı bünyesine hapsedip daha sonra elde edilen yağ-çözücü karışımından çözücünün uçurulması suretiyle yağın ekstrakte edilmesidir (Sevindik ve Selli, 2017).



Şekil 2.14. Soxhlet ekstraksiyon düzeneği

Katı örnek, selüloz ekstraktör kartuşu içine yerleştirilir ve kartuş soxhlet ekstraktörünün içine konulur. Damıtma balonuna kaynama taşı atılır ve çözücü damıtma balonuna eklenir. Ekstraktörün üst kısmına ise soğutucu konulur. Isıtıcının sıcaklığı çözücünün kaynama sıcaklığı üzerine getirilir. Kaynayan çözücünden gelen buharlar yoğunlaşmanın olduğu kondansatöre (geri soğutucuya) hareket ederek yoğunlaşır ve kartuşun içindeki numuneye damlar. Örnek çözücü ile ıslanır ve çözücü seviyesi sifonun tepesine ulaşır ulaşmaz, çözücü tüm örnek bölmesini boşaltarak, çözücü balonuna geri akmaya başlar. Bu işleme sifon yapma denir ve sıcak çözücü birkaç kere örnek içerisinde sirküle olur (İlbay, 2016).

Ekstrakte olan analitler çözücü balonunun içinde kalırken, yalnızca temiz çözücü buharlaştığından, her dolaşımında taze çözücü kullanılır. Sifon sayısını ve ekstraksiyon zamanını rapor etmek daha iyi bir karşılaştırma için önemlidir. Tipik ekstraksiyon zamanları 6 saatten 24 saate kadardır ve oldukça büyük çözücü hacimleri (100-500 mL) gereklidir. Ekstraksiyon çözücüleri genellikle saf organik çözücüler veya bunların karışımlarıdır. Soxhlet ekstraksiyonu, esas olarak organik bileşiklerin katı örneklerinin ekstraksiyonunda kullanılır. Bileşikler, çözücünün kaynama sıcaklığında termal olarak kararlı olmalıdır. Eş zamanlı ekstraksiyona izin veren Soxhlet cihazı çok düşük maliyetle temin edilebilir. Yöntemin kullanılması esnasında karşılaşılan problemler örnek bölmesinin temizliğinden kaynaklı olabilir. Kullanmadan önce, temiz bir çözücüyle ekstrakte ederek temizlemek en iyisidir (Büyüktuncel, 2012).

Soxhlet ekstraksiyonu bitki matriksin karekterine ve tanecik boyutuna önemli ölçüde bağlıdır. Bu ekstraksiyon tekniğinin avantajlarından birisi çözücünün transfer dengesinin katı matriks ile tekrarlanan bir şekilde etkileşmesinden dolayı sürekli değişmesidir. Sistemin ikinci avantajı ise, ekstraksiyondan sonra filtreleme işlemine gerek duyulmamasıdır. Diğer bir avantajı ise, metodun basit ve ucuz olması gösterilebilir. Bununla birlikte dezavantajlardan birisi ekstraksiyon zamanının çok uzun olması ve çok miktarda çözücü kullanılmasıdır. Yöntemin dezavantajlardan bir diğeri ise, prosesi hızlandırmak için balonun çalkalanamaması ve termal olarak bozulmaya duyarlı bileşiklerin yüksek sıcaklıkta ekstrakte edilememesi olarak gösterilebilir. Genel olarak bakıldığında iyi uygulanan bir metottur ve endüstriyel proseslerde daha etkili ve iyi tekrarlanabilirlik göstermesi, ekstrakta daha az manipülasyon olması diğer metotlara kıyasla üstün özellikleridir (Wang ve Weller, 2006).

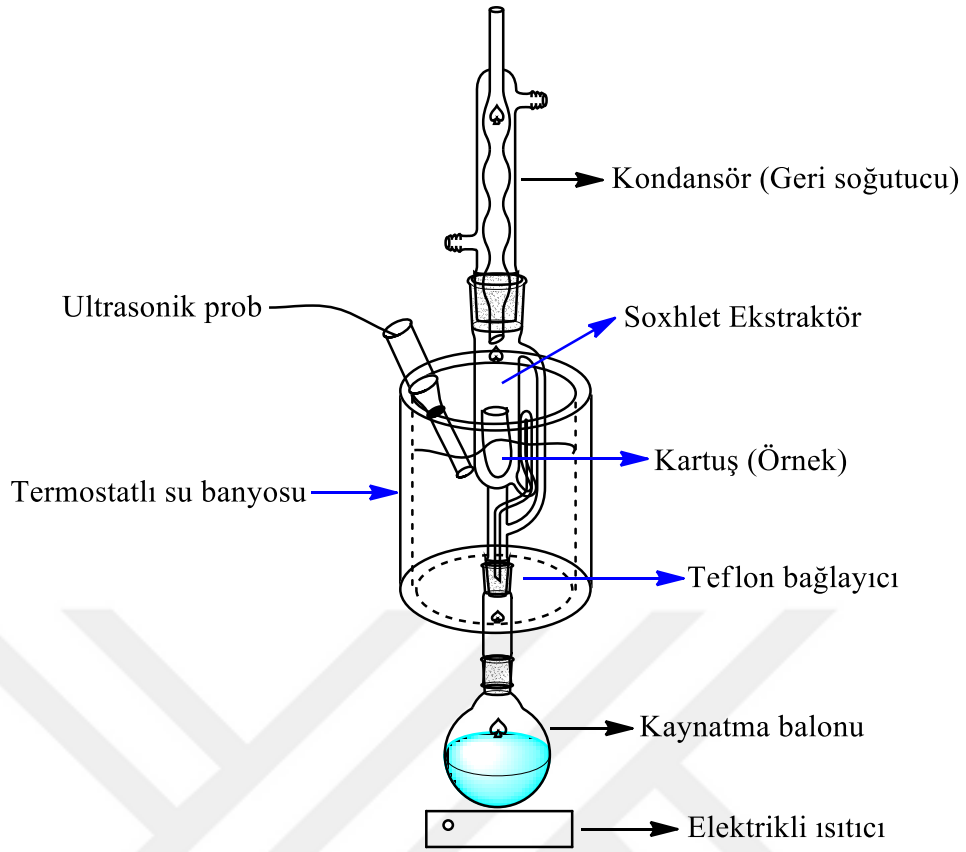
Geleneksel Soxhlet ekstraksiyonu yöntemi modifiye edilerek, aynı temel prensibe dayanan Soxhlet ekstraktörlerinin modern versiyonları geliştirilmiştir. Bunlar;

- Basıncılı Soxhlet ekstraksiyonu,
- Otomatikleştirilmiş Soxhlet ekstraksiyonu,
- Ultrason destekli Soxhlet ekstraksiyonu,
- Mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyonu yöntemleridir (Luque de Castro ve Priego-Capote, 2010).

Basınçlı Soxhlet ekstraksiyonunda; geleneksel Soxhlet ekstraksiyon yöntemi modifiye edilerek, örnek kartuşuna uygulanan basınç artırılarak, çözücü katı örnekle daha kolay temas etmektedir. Böylece hem ekstraksiyon süresi hem de çözücü hacmi düşmektedir. Ancak çalışma şartları yüksek basınç olduğundan, deneysel zorluk yaratmaktadır. Yüksek basınçlı Soxhlet ekstraksiyonu 1000-1500 psi basınçta gerçekleştirilir. Yüksek basınçlı Soxhlet ekstraksiyonu, organoklorür pestisitleri izole edilmesinde, patates, havuç, zeytinyağı ve liyoflize edilmiş balık doku örneklerinin belirlenmesinden önce poliklorlü bifeniller (PCB'ler) izole edilmesinde kullanılmaktadır.

Otomatikleştirilmiş Soxhlet ekstraksiyonunda ise, hem ekstraksiyon süresi kısalmakta, hem de çözücü hacmi azalmakta ve birden fazla numunenin eş zamanlı ekstrakte edilmesini sağlamaktadır (İlbay, 2016).

Geleneksel Soxhlet ekstraksiyonun en önemli eksiklikleri ekstraksiyon süresinin çok uzun olması ve atmosfere salınan yüksek miktardaki organik çözücülerdir. Ekstraksiyon süresini hızlandırmak ve çevre kirliliğini en aza indirmek amacıyla ultrases etkisinin avantajı dikkate alınarak, Ultrason destekli Soxhlet aparatı geliştirilmiştir. Ultrason destekli Soxhlet ekstraksiyonunda; geleneksel Soxhlet ekstraksiyon yöntemi modifiye edilerek, termostatl su banyosunda ultrasonik bir prob vasıtasıyla örnek kartuşuna ultrasonlar uygulanarak, çözücü katı örnekle daha kolay temas etmektedir. Böylece hem ekstraksiyon süresi hem de çözücü hacmi düşmektedir. Kolza, soya fasülyesi, ayçiçek yağı gibi yağlı tohumlarından toplam yağın ekstraksiyonunda Ultrason destekli Soxhlet ekstraksiyon yöntemi kullanılmıştır. Ultrason Destekli Soxhlet aparatı Şekil 2.15'de gösterilmektedir (Luque-Garcia ve Luque de Castro, 2004).



Şekil 2.15. Ultrason destekli soxhlet ekstraksiyon düzeneği

Soxhlet ekstraksiyon performansını geliştirmek için, mikrodalga ile kullanımı sağlanmış ve birçok uygulamada kullanılmıştır. Soxhlet performansını geliştirme girişimleri arasında en başarılı olanı, mikrodalgaların kullanılması olmuştur. Mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyonu, geleneksel Soxhlet ekstraksiyonunu daha verimli hale getirmiştir. Mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyonu, mikrodalga destekli ekstraksiyon tekniklerinden dört bakımdan farklılık göstermektedir. Bu farklılıkları ise şöyle sırayabiliriz;

- Ekstraksiyon yapılan ortam açıktır ve genelde normal basınç altında çalışır.
- Mikrodalga ısıması örnek bölümüne nüfuz eder.
- Ekstraksiyon adımı kısmen ya da tümüyle geleneksel Soxhlet tekniği gibi çalışır.
- Sonradan filtre etmeye gerek yoktur.

Bu ekstraksiyon tekniğinde gerekli kısıtlamaların üstesinden gelinmekte geleneksel Soxhlet ekstraksiyonunun avantajları sabit kalmaktadır (Luque de Castro ve Priego-Capote, 2010).

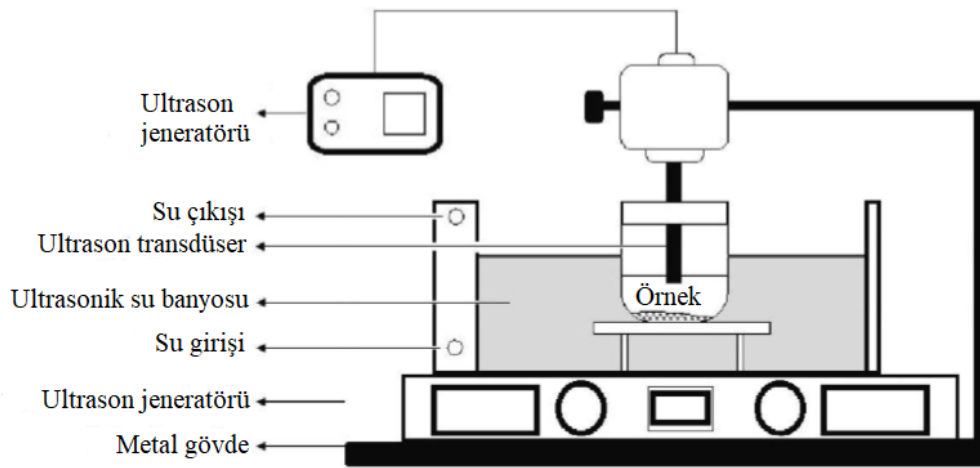
2.3.2 Ultrason destekli ekstraksiyon

Ultrasonik ses dalgaları insan kulağının işitebileceğinin üzerindeki ses dalgaları olup, 20 kHz ve daha yüksek frekansa sahip basınç dalgaları olarak tanımlanmaktadır (Ulusoy ve Karakaya, 2011). Ultrason destekli ekstraksiyon yönteminde, örneğe 20 kHz üstündeki frekanslarla akustik titreşimler uygulanır. Bu titreşimler sıvının içinden geçtiğinde kavitasyon (boşluk oluşumu) meydana gelir. Ultrasonik enerjinin neden olduğu kavitasyon olarak bilinen bu etki sıvı ortamda çok sayıda ufacık kabarcıklar üretir ve katıların mekanik olarak sarsılmasına neden olarak partiküllerin kopmasını sağlar. Ses dalgaları genellikle analitin iyi geri kazanımıyla sonuçlanan katı ve çözücü arasında etkin bir temas sağlar. Ses dalgaları, hem katı hem de sıvı örnek hazırlamada kullanılır. Katı örneklerin ekstraksiyonu için kullanılırken bulamaç oluşumu işlemini destekler. Sıvı örneklerde ise, sıvı-sıvı ekstraksiyonu, homojenizasyonu veya emülsiyon haline getirmeyi desteklemek için kullanılır. Katı örneklerden analitlerin ekstraksiyonu, su banyosuna ultrasonik radyasyon uygulanmasıyla (ultrasonik su banyosu) veya prob (ultrasonik aygıtların ucunda bir alıcı bulunan hareketli kısmı) gibi diğer cihazlarla gerçekleştirilir. En çok kullanılan ve en ucuz ultrasonik radyasyon kaynağı ultrasonik banyodur. Ayrıca örneklerin sonikasyonu için güçlü silindirik bir prob kullanan daha etkin bir sistem geliştirilmiştir. Banyo ve prob arasındaki seçim analizin gerekliliklerine bağlıdır. Eğer amaç toplam katı-sıvı ekstraksiyonu ise, etkili bir prob kullanımı daha iyi olabilir. Çünkü prob katı ve sıvının temasını arttırdığından dolayı, ekstraksiyon için gerekli zaman daha azalmış olmaktadır. Bununla birlikte, çok sayıda örneğin ultrasonik banyo ile analiz edilmesi daha iyi bir seçenektir. Sonikasyon problemleri enerji dağılımında (çözücü ve örnek arasında) homojenizasyonunu sağlar iken, ultrasonik banyoyada bu tam olarak sağlanamamaktadır. Ancak ultrasonik prob uçlar daha pahalıdır, ömrü daha kısadır (prob uçları belirli bir zaman sonra aşınır) ve daha düşük sayıda örnek işlenmesine izin verir.

Ekstraksiyon verimini artırmak için çözücü türü, sıcaklık ve sonikasyon genliği koşulları gibi farklı faktörleri optimize etmek gereklidir. Ekstraksiyon verimini etkileyen diğer parametreler; sonikasyon zamanı, örnek partikül boyutu, örnek miktarı ve kullanılan cihazdır. Son zamanlarda, çözücü miktarını azaltmayı sağlamak için analitik örnek hazırlama işlemlerine özel önem verilmektedir (Büyüktuncel, 2012).

Bitkisel dokulardan organik bileşiklerin ekstraksiyonu ultrasonik dalga kullanımı ile önemli derecede geliştirilmiştir (Cavuldak vd., 2016). Ultrason destekli ekstraksiyonda, ultrasonik dalgalar çözücünün bitki hücresine difüzyonunu sağlar. Böylece hücre şişer ve kavitasyon ile hücre duvarları parçalanır. Hücre içindeki bileşenler çözücüye geçer. Bitki hücresinin parçalanması ile ozmatik proseslerle çözücüye kütle transferi hızlanmaktadır. Böylece ekstraksiyon verimi ve hızı artmaktadır (Vinatoru, 2001).

Ultrasonik dalgaların, bitkinin hücre duvarlarını parçalayabilme özelliğinden dolayı son yıllarda yağ ekstraksiyonlarında kullanılmaya başlanmıştır. Ultrason destekli yağ ekstraksiyonu, diğer geleneksel ekstraksiyon yöntemlerindeki yüksek hacimde çözücü gereksinimi, düşük verimde yağ eldesi ve elde edilen yağın istenilen kalitede olmaması gibi eksikliklerden doğan ihtiyaç üzerine geliştirilmiştir. Ultrason destekli yağ ekstraksiyonunda önemli olan başlıca unsurlar; dokunun doğal yapısı ve ekstrakte edilecek yağ bileşiklerinin doku yapısındaki konumu, ekstraksiyon gerçekleşecek hücrelere uygulanan ön işlemler, ultrason ekstraksiyonunun dokular üzerine etkisi ve artan ekstraksiyon verimi olarak sıralanmaktadır. Şekil 2.16'da ultrason destekli ekstraksiyon düzeneği şematik olarak gösterilmektedir (Sevindik ve Selli, 2017).



Şekil 2.16. Ultrason destekli ekstraksiyon düzeneği (Sevindik ve Selli, 2017)

Ultrasonik titreşim enerji kaynağı transdüserdir. Ultrasonik transdüserler (dönüştürücü), elektrik enerjisini yüksek frekansta sese dönüştürmek için tasarlanmıştır. Böylece ses dalgaları mekanik titreşimlere dönüşür (İlbay, 2016). Ultrasonik ekstraktörün dizaynında ekstraktör içerisindeki ultrasonik dalgaların dağılımı önemli bir

parametredir. Ultrasonik probun dalga yayan yüzeyinin yakınlarında maksimum ultrasonik güç bulunmaktadır. Proba olan uzaklık arttıkça ultrasonik yoğunluk (etki) azalmaktadır. Ayrıca katı partiküllerin artması da ultrason yoğunluğunu azaltmaktadır. Dalgaların sabit kalmasını önlemek için genellikle karıştırma veya çalkalama yapılır (Tavman vd., 2009).

Ultrason destekli ekstraksiyon yöntemi; ucuz, basit ve verimli olması sebebiyle geleneksel ekstraksiyon tekniklerine iyi bir alternatif oluşturmaktadır. Ultrasonun katı-sıvı ekstraksiyonda kullanılmasının başlıca avantajları, ekstraksiyon kinetiği ve verim artışıdır. Ayrıca ultrason destekli ekstraksiyon, ısıya duyarlı bileşiklerin ekstraksiyonunu mümkün kılan bir yöntemdir. Mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi diğer yeni ekstraksiyon teknikleri ile karşılaştırıldığında, ultrason cihazı daha ucuz ve kullanımı daha kolay olması nedeniyle daha avantajlıdır (Wang ve Weller, 2006).

2.3.3 Mikrodalga destekli ekstraksiyon

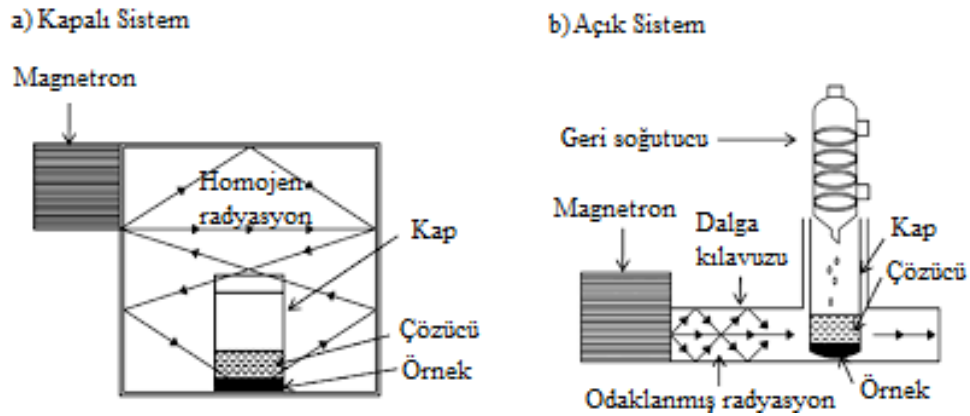
Mikrodalgalar, elektromanyetik spektrumda 1 mm-1 m dalga boyu ve 300 MHz ile 300 GHz frekans aralığında bulunan, iyonize olmayan elektromanyetik dalgalardır. Mikrodalgalar dalga boyu açısından kızılötesi ışınlar ile radyo dalgaları arasında yer almaktadır. Mikrodalga teknolojisinin keşfi, 2. Dünya Savaşı sırasında Percy Spencer tarafından askeri ekipman üretimi ve tasarımı ile ilgili çalışmalar sırasında gerçekleşmiştir.

Mikrodalgalar, magnetron gibi özel elektron tüplerinde elektrik enerjisini belli bir dalga boyundaki elektromanyetik radyasyona dönüştürülerek elde edilmektedir. Dalga kılavuzu, ışınları mikrodalga kaynağından mikrodalga boşluğuna iletir; aplikatör ise numunenin yerleştirildiği bölmeye verilen isimdir (Özer vd., 2018).

Mikrodalga enerji kullanılarak ısıtmanın prensibi, iyonların iletimi ve dipol rotasyonu (dönme) yoluyla molekül üzerine mikrodalga'nın direkt etkisi temeline dayanır. Çoğu uygulamalarda bu iki mekanizma eş zamanlı meydana gelir. Bunlardan birincisi olan iyonik iletim, bir manyetik alan uygulandığında iyonların elektroforetik göçüdür. Çözeltinin bu iyon akışına direnci friksiyon (sürtünme) ile sonuçlanır ve böylece çözelti ısınır. İkincisi yani dipol rotasyon ise, uygulanan manyetik alanla dipollerin yeniden

düzenlenmesi anlamına gelir. Mikrodalga destekli ekstraksiyonda mikrodalga ısıması, ekstraksiyon çözücüsünü ve böylece de örneği ısıtmak için kullanılır. Başarılı bir ekstraksiyon gerçekleştirmek için uygun çözücü seçimi çok önemlidir. Seçilen çözücülerde mikrodalga ısımasını absorplaması, çözücünün matriksle etkileşimi ve analitin çözücüdeki çözünürlüğü göz önüne alınmalıdır. Daha büyük dipol momente sahip olan çözücü, mikrodalga ısıması altında daha hızlı ısınacaktır. Örneğin hekzan gibi nonpolar bir çözücü (dipol moment < 0.1) ısınmayacak, oysa 2.69 dipol momente sahip aseton birkaç saniye içinde ısınacaktır. Eğer ekstraksiyonda hekzan ve toluen gibi nonpolar çözücüler gerekiyorsa, çözücüleri su, metanol ve aseton gibi yüksek bir dipol momente sahip polar çözücülerle karıştırmak önerilir. Seçilen çözücü çok kuvvetli ısınmaya neden olursa, bileşiklerin degradasyonundan kaçınılamaz. Bu yüzden yaygın uygulama, yalnızca biri mikrodalga ısımayı absorplayan ikili karışımların (örneğin hekzan-aseton, 1:1) kullanımıdır (Büyüktuncel, 2012).

Genel olarak, mikrodalga destekli ekstraksiyon sistemleri çok modlu sistem ve odaklı modlu (tek modlu) sistem olarak iki türde sınıflandırılır (Chan vd., 2011). Ev tipi ve deneysel çalışmalarda kullanılan mikrodalga cihazlarının çoğunun çok modlu olduğu belirtilmektedir (Özer vd., 2018). Çok modlu sistem, boşluk içindeki mikrodalga radyasyonunun bir modlu karıştırıcı vasıtasıyla rastgele dağılmasına izin verirken; odaklı sistem (tek modlu), boşlukta sınırlı bir bölge üzerine odaklanmış mikrodalga radyasyonuna izin verir. Genellikle, çok modlu sistem yüksek basınç altında kullanılırken, tek modlu sistem atmosferik çalışma basıncı altında kullanılır. Ancak, tek modlu sistem yüksek basınç altında da çalışabilir. Mikrodalga destekli ekstraksiyonun sınıflandırılması yapılırken karışıklığı önlemek için, atmosfer basıncının üstünde çalışan sisteme kapalı sistem ve atmosfer basıncının altında çalışan sisteme ise açık sistem denmiştir. Kapalı sistem ve açık sistemin daha iyi anlaşılması için şematik diyagramlar Şekil 2.17'de gösterilmektedir (Chan vd., 2011).



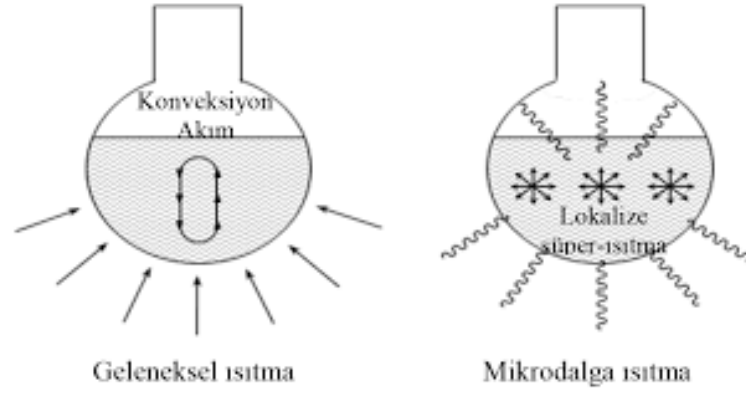
Şekil 2.17. Mikrodalga destekli ekstraksiyon sisteminin şematik gösterimi (Chan vd., 2011)

Kapalı sistemde (kontrollü sıcaklık ve basınç altında), ekstraksiyon, kapalı bir kapta gerçekleştirilir. Kapalı kap içerisindeki çözücü, atmosfer basıncındaki kaynama noktasının üzerinde ısıtılabilir. Böylece, hem ekstraksiyon hızı hem de verimlilik artar (Camel, 2000). Ekstraksiyon homojen bir mikrodalga ısıtması altında gerçekleştirilir. Kapalı sistemin daha az çözücü tüketimiyle, hızlı ve verimli ekstraksiyon yapmasına karşın, kap içindeki sıcaklığın hızla yükselmesi, daha uçucu olan bileşiklerin kaybına neden olabilir (Chan vd., 2011). Buna ek olarak, ekstraksiyon tamamlandıktan sonra kap açılmadan önce oda sıcaklığına kadar soğutulması gerekmektedir. Bu işlem uçucu bileşenlerin kayıplarını önlemek için birinci derecede öneme sahiptir. Ancak bu adım genel olarak ekstraksiyon süresini önemli ölçüde arttırmaktadır. Uçucu yağ ekstraksiyonunda kapalı kap sisteminin daha iyi sonuç verdiği düşünülmektedir (Camel, 2000).

Açık sistemde ekstraksiyon, kapalı sistemin güvenlik sorunları gibi eksiklerine karşı geliştirilmiştir ve termobil bileşikler (ısıl olarak dayanıksız bileşikler) ekstrakte etmek için daha uygun olduğu düşünülmektedir (Chan vd., 2011). Ekstraksiyon, atmosferik basınç altında gerçekleşmektedir (Camel, 2000). Bu tür sistemlerde odaklı mod sistemi kullanılır. Ekstraksiyon kabı bir geri soğutucu ünitesine bağlıdır ve buharlaşan çözücü burada tekrar yoğunlaşarak ekstraksiyon kabına geri döner (Chan vd., 2011).

Geleneksel ekstraksiyonda (katı-sıvı ekstraksiyonu) ısı transferi substratın (bitki matrikslerin) dışından içine doğruyken, kütle transferi içten dışa meydana gelir. Oysaki mikrodalga destekli ekstraksiyonda ısı ışınlanmış ortam içine hacimsel olarak dağılır.

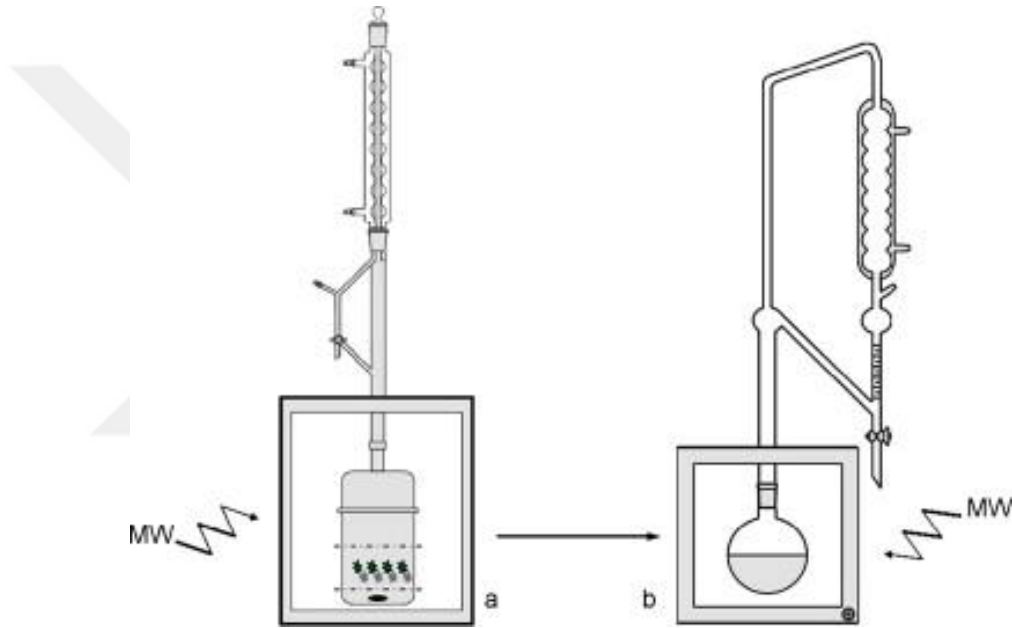
Böylece mikrodalgalar bitki matrisleriyle doğrudan etkileşime girer ve numunenin tamamı aynı anda, homojen ve hızlı bir şekilde ısınmaktadır. Sonuç olarak geleneksel ekstraksiyon yöntemlerinden farklı olarak, mikrodalgalar tüm numuneyi aynı anda ısıtır (Şekil 2.18) (Kaufmann ve Christen, 2002).



Şekil 2.18. Geleneksel ve mikrodalga ısıtma şekilleri (Kaufmann ve Christen, 2002)

Yağ ekstraksiyonunda kullanılan geleneksel yöntemlerin aksine, ekstraksiyon verimliliğinin, kalitesinin ve kapasitesinin yüksek oluşu, işlem süresinin kısalığı, az miktarda enerji ve çözücü gereksinimi dolayısıyla maliyetinin daha düşük oluşu, mikrodalga enerjisinin kullanımına yönelik eğilimi arttırmıştır. Bunlara ek olarak, sistem moleküllerin kutuplarındaki yükseltgenen zayıf hidrojen bağlarını bozarak, klasik temas yoluyla ısı iletimi yöntemlerinin aksine, örneğin tamamını aynı anda ısıtması, ekstraksiyon verimini artırırken, çok yüksek ısılara çıkılmaması da ısıyla bozulabilen α -tokoferol, α ve γ -tokotrienoller gibi hassas bileşiklerin parçalanmasını engellemektedir. Mikrodalga sisteminde ekstraksiyon verimini doğrudan etkileyen bir diğer parametre ise uygun çözücü seçimidir. Seçilen çözücünün mikrodalga ışınlarını iyi absorplaması, analitin matrisiyle iyi etkileşmesi, analiti çözebilir olması, işlemin gerçekleştirileceği sıcaklıklarda ısınma hızı-dipol moment uyumuna sahip olması gerekmektedir. Verimlilik açısından çözücünün önemli bir etkisi olsa da, son zamanlarda yapılan çalışmalarda mikrodalga ekstraksiyonunun çevre dostu profiline katkıda bulunan çözücüsüz (solvent-free) denemeler yapılmıştır. Bu yöntemin, ilerleyen yıllarda bünyesinde mikrodalga ısıtmasını en iyi absorplayan organik asitleri bulunduran bitkisel esansiyel yağların ve yağlı tohumlardan yağ ekstraksiyonlarında kullanılması beklenmektedir (Sevindik ve Selli, 2017).

Mikrodalga destekli ekstraksiyondan, bilimsel çalışmalarda farklı yöntemlerin kombinasyonu şeklindeki kullanımlarından da faydalanılmaktadır. Bu sayede sinerjetik etki sağlanmaya çalışılmakta, farklı yöntemlerin negatif yönlerinin kombinasyonla ortadan kaldırılması hedeflenmektedir (Tunç vd., 2014). Virot ve arkadaşları tarafından yağlı tohumlardan yağların tayini için mikrodalga düzeneği, Soxhlet ve Clevenger aparatı ile kombine edilmiştir. Mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyonu ve mikrodalga destekli Clevenger destilasyonu (mikrodalga destekli hidrodestilasyon) adı verilen bu ekstraksiyon sistemleri ile daha etkili ve çevre dostu bir ekstraksiyon amaçlanmıştır (Şekil 2.19) (Virot vd., 2008).



Şekil 2.19. Mikrodalga destekli soxhlet ekstraksiyonu (a) ve mikrodalga destekli clevenger destilasyonu (b) (Virot vd., 2008)

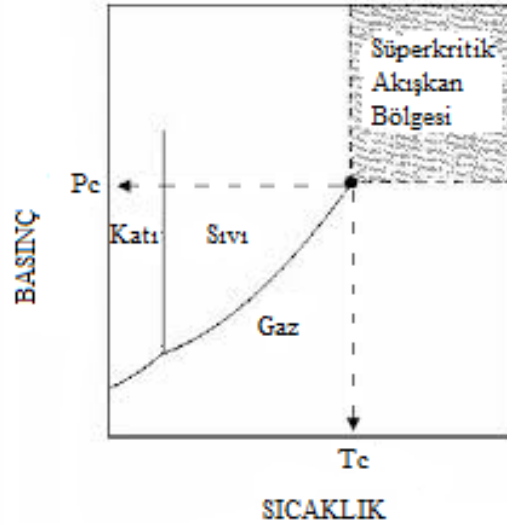
Mikrodalga destekli ekstraksiyon işleminde, hedeflenen bileşen ya da bileşenler bir çözücü vasıtasıyla ekstrakte edilerek ilaç, kozmetik, gıda takviyeleri ve gıda katkı maddeleri gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Özer vd., 2018).

Mikrodalga destekli ekstraksiyon, bitkilerden metabolitlerin çıkarılması için geleneksel katı-sıvı ekstraksiyonuna göre daha potansiyel bir alternatif yöntem olarak kabul edilmiştir. Mikrodalga destekli ekstraksiyonun avantajları; ekstraksiyon süresinin düşmesi, çözücü kullanımının azalması, ekstraksiyon veriminin artması, kullanım kolaylığı (prosesin basitliği) ve düşük maliyetli oluşudur. Bununla birlikte süperkritik

akışkan ekstraksiyonu ile karşılaştırıldığında katı kısmın ayrılması için ilave olarak filtreleme ya da santrifüj gerektirmesi, hedeflenen bileşikler veya çözücü apolar olduğunda mikrodalganın etkinliğinin çok zayıf olması dezavantaj olarak belirtilebilir (Wang ve Weller, 2006).

2.3.4 Süperkritik akışkan ekstraksiyonu

Her maddenin bir kritik sıcaklığı (T_c) ve kritik basıncı (P_c) vardır. Maddenin kritik sıcaklığı ve basıncı, gaz ve sıvı fazlarının bir arada bulunabildiği en yüksek sıcaklık ve basınçtır. Bilindiği gibi maddeler katı, sıvı ve gaz olarak üç fazda bulunurlar. Ancak madde, kritik sıcaklığın ve kritik basıncın üzerindeki koşullarda süperkritik akışkan olarak adlandırılan dördüncü bir faza geçmektedir. Saf maddeler için basınç sıcaklık diyagramında süperkritik bölge Şekil 2.20'de gösterilmektedir (Yılmaztekin vd., 2005).



Şekil 2.20. Saf bir madde için basınç-sıcaklık diyagramı (Yılmaztekin vd., 2005)

Bir süperkritik akışkan tek bir faz halinde bulunur (ne gaz ne de sıvıdır) ve basıncın veya sıcaklığın artmasıyla sıvılaştırılmaz veya buharlaştırılmaz. Bu yüzden süperkritik akışkan, bir gaz ve bir sıvı arasındaki maddenin ara formunu gösterir (Büyüktuncel, 2012).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, bir maddenin süperkritik koşullardaki bir akışkan içinde çözünmesi ve daha sonra basınç azaltılarak ürünün akışkandan ayrılması olarak

tanımlanabilir. Basıncın azaltılması ile çözünen maddenin süperkritik fazdaki çözünürlüğü de azalmakta ve ayırım gerçekleşmektedir (Yılmaztekin vd., 2005).

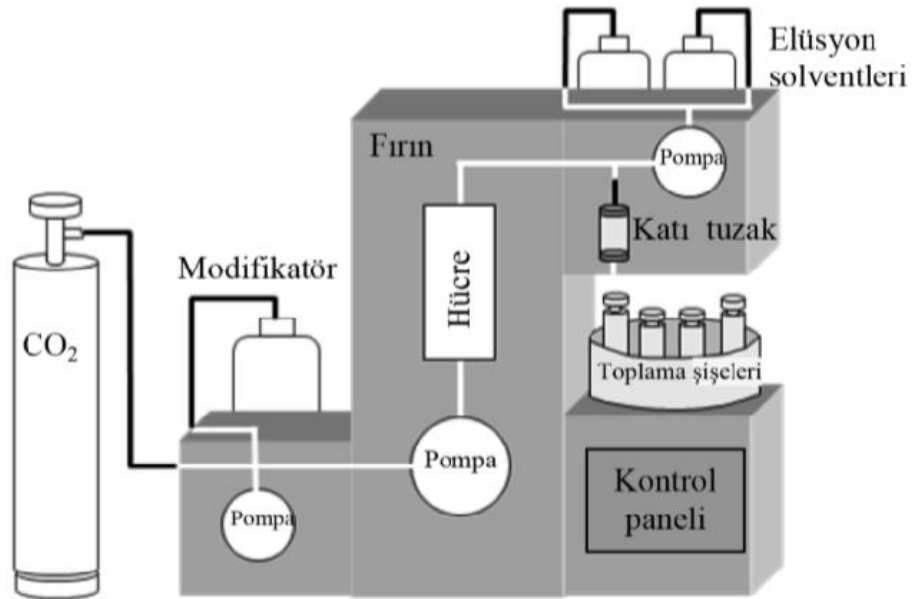
Son 10 yılda popüler hale gelmiş olan süperkritik akışkan ekstraksiyonu yaprak, çiçek, tohum, meyve gibi materyallerden etken bileşenlerin ekstraksiyonunda sıklıkla kullanılmaktadır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonun geleneksel ekstraksiyon yöntemlerine göre birçok avantajı bulunmaktadır (Şengül ve Topdaş, 2019). Bu avantajlar ise; süperkritik akışkanlar sıvı çözücülere göre daha yüksek difüzyon katsayısına ve daha düşük viskoziteye sahiptir. Böylece katı numune matrisine daha kolay nüfuz edebilmektedirler. Ayrıca çözme ve yayılma gücü sıvılara göre daha fazla olduğundan, hızlı reaksiyon kinetiğine sahiptirler (Zougagh vd., 2004). Bu yöntemde kullanılan akışkan miktarı oldukça azdır (yaklaşık 1-2 g) (Kutlu vd., 2017). Bu nedenle yöntem çevre dostu olarak nitelendirilebilmektedir. Süperkritik akışkanın (genellikle CO₂) geri kazanımı mümkündür veya yeniden kullanılabilir, böylece atık oluşumu en aza indirgenmektedir (Lang ve Wai, 2001). Normal sıvıların tersine, süperkritik akışkanlar sıkıştırılabilir ve bu yüzden yoğunlukları geniş bir aralıkta değiştirilebilir. Yoğunluk ve diğer özellikleri, sıcaklık ve basıncın ayarlanmasıyla kolaylıkla değiştirilebilir. Bu önemlidir, çünkü süperkritik akışkanının daha yüksek yoğunluğu, onun daha iyi çözme kabiliyeti anlamına gelmektedir. Yoğunlukla süperkritik akışkanlardaki maddelerin çözünürlüğü, sıvılardaki çözünürlüğünü geçer. Süperkritik akışkan çeşitli örnek matrisleri için mükemmel bir ekstraksiyon ortamı oluşturur. Sıcaklık ve basınç değiştirilerek çözme gücüyle oynanmasıyla yüksek seçicilik de sağlanır (Büyüktuncel, 2012). Isıya karşı hassas olan ürünlerin ekstraksiyonunda da kullanımı oldukça uygundur ve çok az miktarda örnek ile analiz gerçekleştirilebilmektedir (Kutlu vd., 2017). Süperkritik akışkan ekstraksiyonunda, taze akışkan sürekli olarak numune içinden geçmeye zorlanır. Böylece kantitatif veya tam bir ekstraksiyon sağlayabilir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu geleneksel yöntemlerle kıyaslandığında ekstraksiyon süresini önemli ölçüde azaltmaktadır (Zougagh vd., 2004).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun en büyük dezavantajı ise; 80 atm üzerindeki yüksek basınçta çalışılmasından dolayı sistemin yatırım maliyetinin yüksek oluşudur. Diğer dezavantajı ise saf olarak nitelendirilen CO₂ tüplerinin içerisinde dahi bulunan %1-2 oranındaki oksijenin, oksidasyona duyarlı antioksidanlar gibi bileşenler ile

tepkimeye girerek düşük miktarda da olsa bozunmalarına sebep olmasıdır (Şengül ve Topdaş, 2019).

Karbondiyoksit, sıcaklığı ve basıncı, kritik nokta olan 30,9°C ve 73,8 bar değerine ulaştığında veya bu değeri geçtiğinde süperkritik akışkan durumunda olur. Süperkritik akışkan ekstraksiyonlarının çoğunda ekstraksiyon ajanı olarak, tercih edilen kritik özellikleri, düşük toksisitesi ve kimyasal inert oluşu sebebiyle süperkritik karbondiyoksit kullanılmaktadır. Karbondiyoksit çevre açısından zararsızdır, uzun süreli sağlık problemi yaratmaz, kullanımı kolaydır ve çok az emniyet tedbiri gerektirir. Aynı zamanda proseslerin çoğunda %90'ından fazlası geri kazanılabildiği ve tekrar kullanılabildiği için karbondiyoksit kullanımı ekonomiktir (Çolak ve Tülek, 2003). Nonpolar olduğundan, daha polar analitlerin ekstraksiyonunu artırmak için karbondioksite modifikatörler eklenir. Tipik modifikatörler metanol ve diklorometandır.

Bu ekstraksiyonda süperkritik akışkan üretimi, basınç, sıcaklık ve akış hızı kontrolü sağlayan bir cihazla gerçekleştirilir (Şekil 2.21). Genellikle ekstraksiyon dinamik moda uygulanır. Fakat statik veya statik/dinamik birleştirilmiş ekstraksiyon da uygulanabilir. Ekstrakt ya uygun bir solvent içinde veya katı-faz tuzağında (trap) toplanır. Ekstraksiyon 10-20 mL solvent gerektirir ve ekstraksiyon süresi 20-60 dakika aralığındadır (Büyüktuncel, 2012).



Şekil 2.21. Süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi (Büyüktuncel, 2012)

Süperkritik akışkan ekstraksiyon, çevresel, farmasötik, polimer ve gıda analizlerinde kullanılmaktadır. Uçucu yağlar, yağ asitleri ve karotenoidler gibi biyoaktif bileşikler meyve ve sebzelerden süperkritik CO₂ kullanarak ekstrakte edilmiştir (Büyüktuncel, 2012).

2.3.5 Basınçlı sıvı ekstraksiyonu

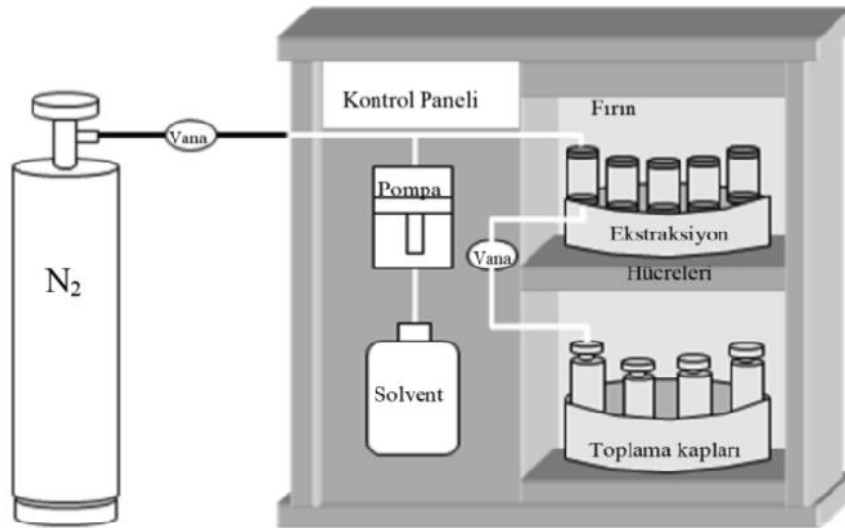
1996 yılında Richter ve arkadaşları tarafından bulunan yöntem günümüzde hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu, gelişmiş çözücü ekstraksiyonu veya yüksek basınçlı çözgen ekstraksiyonu gibi isimlerle bilinmektedir (Şengül ve Topdaş, 2019). Basınçlı sıvı ekstraksiyonu, klasik ekstraksiyon yöntemlerinin dezavantajlarını en aza indirmek amacıyla geliştirilen bir katı-sıvı ekstraksiyon tekniğidir. Bu teknikte, yüksek basınç (10-14 MPa) ve sıcaklıkta ki (50-200°C) geleneksel sıvı çözücüler (organik çözücü veya su) kullanılarak analitin ekstraksiyonu gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde, katı numunelerin ekstraksiyonu hızlıdır (12-18 dakika). Geleneksel yöntemlere göre çok daha az çözücüyle (10-40 mL) ekstraksiyon gerçekleştirilir (Tobiszewski vd., 2009).

Basınçlı sıvı ekstraksiyon tekniğinde, çözücünün kritik noktasının altında yüksek basınç ve sıcaklık değerlerinin kullanılmasıyla katı ve yarı katı matrislerden hedef analitin ekstraksiyonu hedeflenmektedir (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2014). Basınçlı sıvı ekstraksiyonu çözücünün kaynama noktasının çok üzerinde ortamda çözücü kalması için yüksek basınç uygulamasıdır. Uygulanan yüksek basınç, ekstraksiyonu kolaylaştırmaktadır. Bu teknik yüksek basınç ve sıcaklık kombinasyonu sayesinde az miktarda çözücü gereksiniminin yanı sıra hızlı bir ekstraksiyon da sağlamaktadır. Yüksek ekstraksiyon sıcaklığı, çözünürlük ve kütle transferini artırırken çözücülerin viskoziteleri ve yüzey gerilimlerini düşürerek daha yüksek analit çözünürlüğünü sağlamak ve böylece ekstraksiyon verimini arttırmaktadır. Yöntem, klasik soxhlet ekstraksiyonu ile kıyaslandığında çözücü ve zaman kullanımını belirgin şekilde düşürdüğü tespit edilmiştir (Şengül ve Topdaş, 2019).

Yüksek sıcaklık ve basınç altında, çözücü kritik noktanın altında, sıvı bölgede yer almakta ve dielektrik sabiti düşmektedir. Basınçlı sıvı ekstraksiyonu yönteminde çok çeşitli çözücüler kullanılabilmesiyle birlikte, sıklıkla kullanılan çözücülerden biri de

sudur. Suyun kullanılabilmesi ekstraksiyon maliyetini düşürdüğü ve atık oluşturmayarak çevre dostu olması sebebiyle önem arz etmektedir. Çözücü olarak suyun kullanıldığı basınçlı sıvı ekstraksiyonu sistemine literatürde basınçlı sıcak su ekstraksiyonu, subkritik su ekstraksiyonu ya da yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu gibi isimlerle rastlanılmaktadır. Sıcaklığın yükselmesiyle birlikte suyun dielektrik sabiti (ϵ) ve polaritesi azalmaktadır. Suyun atmosferik basınçta ve oda sıcaklığında dielektrik sabiti 79 iken, 250°C sıcaklık ve 5 bar basınçta dielektrik sabitinin 27'ye azaldığı dikkati çekmektedir. Oda sıcaklığında ve atmosferik basınç altında metanolün dielektrik sabiti 33, etanolün dielektrik sabiti de 24'tür. Su, sıcaklık arttıkça etanole benzer bir polarite göstermekte ve düşük-orta polar karakterdeki bileşenleri çözebilme kapasitesine erişmektedir (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2014).

Basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemi su veya organik çözücüler kullanılarak statik, dinamik veya her iki mod birlikte kullanılarak gerçekleştirilebilir. Statik modda örnek ve çözücü belli bir zaman boyunca sabit sıcaklık ve basınçta tutulurken, dinamik modda örnek içinden sürekli bir çözücü akışı söz konusudur (Yaman ve Kuleaşan, 2016). Tipik bir basınçlı sıvı ekstraksiyonu sistemi; bir fırın, ekstraksiyon hücresi, pompa ve basınç altında tutan sistem, birkaç vana ve toplama kaplarından oluşur (Şekil 2.22) (Büyüktuncel, 2012).



Şekil 2.22. Basınçlı sıvı ekstraksiyon sistemi (Büyüktuncel, 2012)

Basınçlı sıvı ekstraksiyon yöntemi polifenollerin ekstraksiyonu, lipit ekstraksiyonu, esansiyel yağların ekstraksiyonu gibi birçok alanda kullanılmıştır (Yaman ve Kuleaşan, 2016). Sistemin klasik ekstraksiyon yöntemleriyle kıyaslandığında, kısa ekstraksiyon süresi, az çözücü gereksinimi, otomasyona uygun olması, okside olmayan bileşenlerin ekstraksiyonunda çözücünün degaz işlemine gereksinim duyulmaması ve çok farklı çözücülerin kullanımına imkan sağlaması yönleriyle avantajları bulunurken; yüksek sıcaklıklarda sıcaklığa duyarlı maddelerin degradasyonu, cihaz maliyetinin yüksek olması ve genellikle ekstraksiyon sonrası elde edilen ekstraktta temizleme ve konsantrasyon işlemlerine ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları da beraberinde getirdiği gözlemlenmektedir (Nakilcioğlu ve Ötleş, 2014).

2.4 Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi (GC/MS)

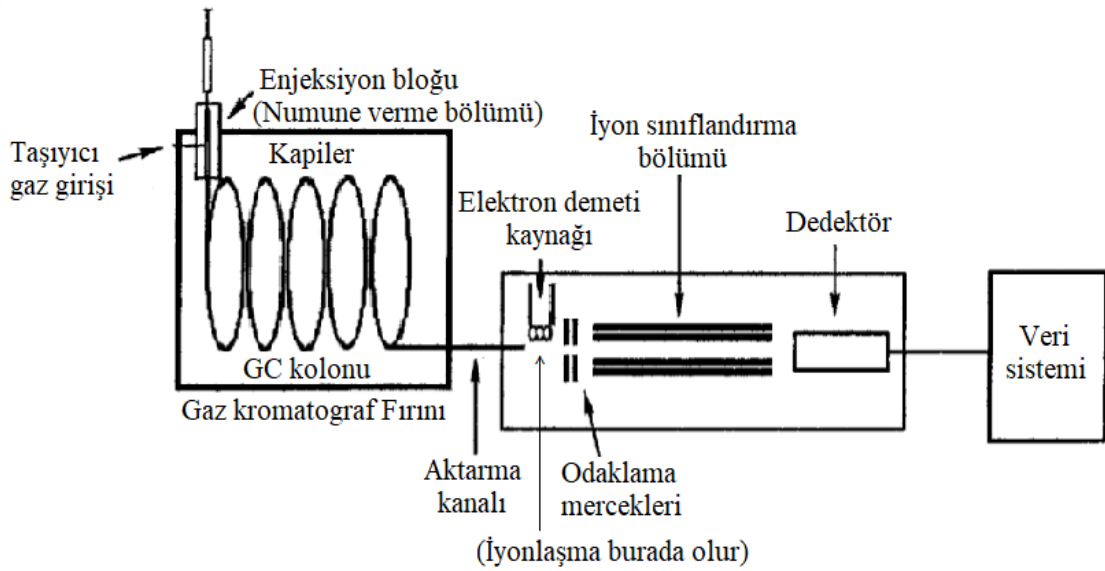
Gaz kromatografisi/Kütle spektroskopisi (GC/MS), gaz kromatografisi ve kütle spektroskopisinin birleştirilmesi ile oluşmuş iki güçlü analitik tekniğin kombinasyonudur. Gaz kromatografisi bir ayırma tekniği, kütle spektroskopisi ise bir teşhis tekniğidir. Bu kombinasyon birçok avantaja sahiptir. Bu avantajlardan birincisi, bu teknikle nitel analiz amacıyla karmaşık yapıları bir karışım bileşenlerine ayrılır ve her bir bileşimin kütle spektrumu elde edilir. Tekniğin ikinci avantajı ise, bu bileşiklerin miktarıyla ilgili bilgi elde edilir (Watson ve Sparkman, 2008).

Gaz kromatografisi, analitin gaz haldeki hareketli faz ile bir katının yüzeyine tutturulmuş durgun sıvı faz arasında dağılımı üzerine kurulmuştur. Gaz kromatografisinin temelini ilk kez 1941 yılında Martin ve Synge geliştirmesine rağmen, deneysel uygulanabilmesi on yıldan fazla bir zaman almış ve gaz kromatografisi cihazı olarak 1952 yılında Martin ve James tarafından geliştirilmiştir. 1952'den beri gaz kromatografisi özellikle 1960'larda hızlı bir şekilde gelişerek analitik kimyada ve pek çok alanda araştırmalarda kullanılmaya başlanmıştır (Braithwaite ve Smith, 1999).

Kütle spektroskopisi ise, uzun yıllardan beri kullanılmakta olup ilk kez bir kütle spektrumu 1898'de Wien tarafından elde edilmiştir. 1905'de ise Britanyalı fizikçi Thomson kararlı izotopların bulunduğunu göstermek için yaptığı deneyde farklı pozitif iyonların kütle/yük (m/z) oranına göre farklı parabolik yörünge kat ettiğini göstermiştir. Kütle spektroskopisi, Thomson'un oksijen ve azot gibi bileşiklerin kütle spektrumunu

aldığı yüzyılın başlarında Thomson tarafından keşfedilmiştir. 1957 yılında Holmes ve Morrell tarafından ilk kez gaz kromatografisi ile kütle spektroskopisi birleştirilmiştir. Kütle spektroskopisinin gaz kromatografisi dedektörü olarak kullanılmasının nedeni toplanacak bilgilerin çokluğudur. Tüm organik bileşiklerde ortak bir fiziksel özellik olan kütleye cevap verebilmesi en büyük özelliğidir (Grob ve Barry, 2004).

GC/MS, bilinmeyen bileşiklerin kalitatif tanımlanması ve bu bileşiklerin doğru kantitatif tespiti için en yaygın kullanılan analitik tekniklerden biridir. Tipik bir GC/MS sisteminin ana bileşenlerini gösteren şematik diyagram Şekil 2.23'de gösterilmektedir (Grob ve Barry, 2004).



Şekil 2.23. GC/MS sisteminin şematik gösterimi (Grob ve Barry, 2004)

GC/MS ile ilaç, çevre, patlayıcı, bilinmeyen numune, besin, narkotik madde, kozmetik ve parfüm analizleri yapılabildiği gibi, son zamanlarda hava alanlarında güvenlik kontrollerinde ve astronomik çalışmalarda uzaya gönderilerek gezegenlerin atmosfer ve toprak analizlerini yapmada kullanılmaktadır. GC/MS ile bir numunedeki eser elementler bile tayin edilebilir (Bağırhan, 2014).

GC/MS cihazı temel olarak 3 kısımdan oluşur. Bunlar enjeksiyon, kolon ve kütle dedektörü kısımlarıdır.

2.4.1 GC/MS çalışma prensibi

GC/MS cihazına enjekte edilen numune, enjeksiyon kısmında buhar haline geldikten sonra taşıyıcı gaz ile kolona taşınır. Kolon içinde ilerlerken, numune içindeki maddeler kolon içinde çeşitli sürelerde tutulurlar. Bu tutulma süresi, bileşiğin uçuculuk ve molekül ağırlığı gibi özelliklerine bağlı olup alıkonma süresi (RT) olarak adlandırılır (genelde uçucu ve molekül ağırlığı düşük olan bileşikler kolonda daha az tutulmaya uğrarlar). Kolonun ısısının yükselmesiyle kolonda tutulmuş olan moleküller gaz fazına geçerek taşıyıcı gaz ile kolonun çıkışına ilerlerler. Tutunma sürelerine göre birbirlerinden ayrılıp kolonu terk eden bileşikler, kütle spektrometresine ulaşırlar. Burada bir filamentten elde edilen elektronlarla bombardımana tabi tutulurlar. Bu olaya elektron iyonlaştırması (EI) denir. Elektron iyonlaştırması sonucu oluşan iyonlar, kütle/yük oranlarına göre ayrılarak dedektörde kaydedilir ve veriler bilgisayardan spektrum şeklinde alınır. Bilgisayarda kayıtlı olan veri kütüphanelerindeki bileşiklerin spektrumları ile karşılaştırma sonucu bileşikler tayin edilir (Bağırman, 2014).

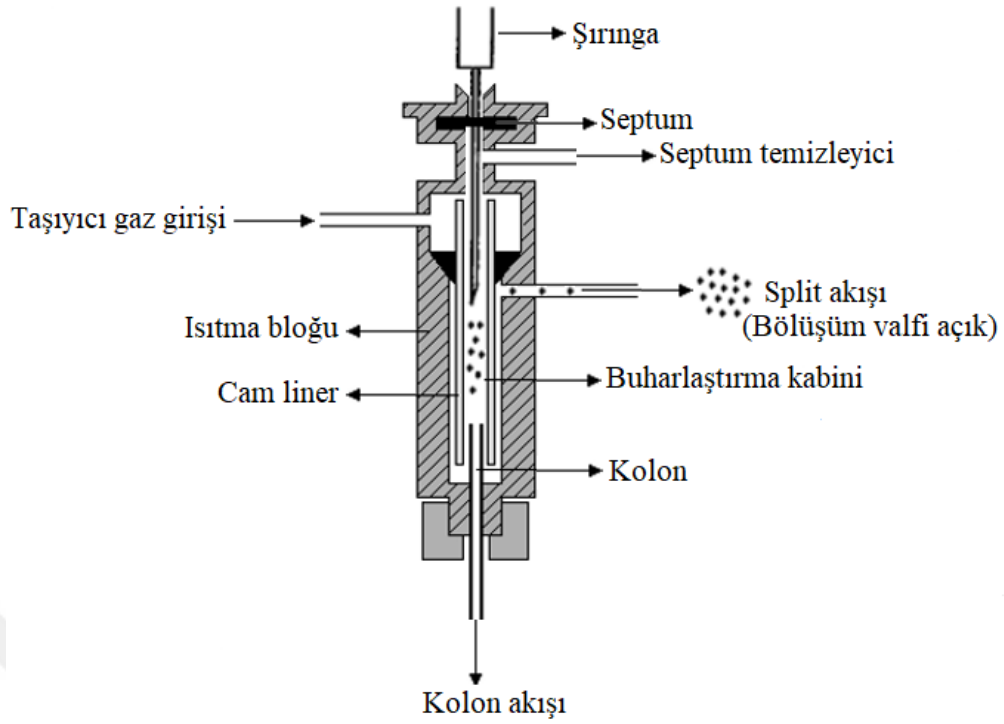
2.4.2 Enjeksiyon

Gaz kromatografisi içine numunenin enjeksiyonu kromatografik analizin ilk basamağını oluşturur. Ayırmanın iyi bir şekilde olması enjeksiyona bağlı olarak değişiklik gösterir. Numunenin enjeksiyonu kolon verimini etkileyeceğinden, numune uygun miktarda ve buhar halinde tek seferde enjekte edilmelidir. Böylece kolon verimi ve ayırma gücü açısından daha iyi olacaktır (Braithwaite ve Smith, 1999).

Yavaş enjeksiyon veya daha fazla miktarda numune verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayırma gücüne neden olur. Sıvı veya gaz numune enjeksiyonunda, yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri sızdırmaz enjektörle manuel enjeksiyondur. Enjeksiyon bir silikon lastik diyaframdan ya da bir septumdan yapılır. Septumun hemen arkasında kolon giriş ucunda hızlı buharlaştırıcı bir bölme bulunur. Normal analitik amaçlar için enjeksiyon hacmi 0,1-20 μL arasında olabilir. Kapiler (kılcal) kolonlarda daha küçük hacimlerde (10^{-3} μL) enjeksiyon yapılır. Bunun için kolon girişine bir bölücü yerleştirilir. Bölücü, enjekte edilen numunenin bir kısmını kolona verirken, kalan kısmı da dışarı atar. Nicel analizlerde daha tekrarlanabilir miktarlarda gaz veya sıvı numunelerinin cihaza verilebilmesi için döner numune vanaları kullanılır. Bu vanalarla,

numune enjeksiyonundan kaynaklanan bağıl hatalar %0.5-%2 civarına düşürülebilir. Ancak günümüzde otomatik enjeksiyon sistemleri kullanılarak, enjeksiyondan kaynaklanan hatalar en aza indirilmiştir. Numune istenilen hacimde ve çok hızlı verilir (Tandoğan, 2012).

Enjeksiyon bloğu sayesinde split veya splitless enjeksiyon yapılabilmekte ve günümüzde sıklıkla kullanılmaktadır. Bölmeli (split) enjeksiyon sisteminde, enjekte edilen örneğin tümü sıcak enjeksiyon bloğuna girer ve burada hızlı bir şekilde buharlaşır. Buharlaşan örneğe ulaşan taşıyıcı gaz vasıtasıyla numunenin belirli bir oranı analiz için kolana geçer ve bölme oranı analist (kullanıcı) tarafından belirlenerek kolon akışından kontrol edilir. Örneğin istenilen oranı kapiler (kılcal) kolona gönderilirken, geri kalan kısmı da enjeksiyon sırasında açık olan bölüşüm (boşaltma) valfinden dışarı atılmaktadır. Bölmeli (split) enjeksiyon numunenin çok derişik olduğu durumlarda uygulanır. Bölmeli (split) enjeksiyon ile aynı enstrümantasyonu kullanan bölmesiz (splitless) enjeksiyon, enjekte edilen numunenin hemen hemen tamamını kapiler kolana gönderir ve böylece yüksek duyarlılık sağlar. Bu özelliğinden dolayı eser madde analizlerinde sıklıkla kullanılır. Bölmesiz (splitless) enjeksiyon sisteminde, enjeksiyon sırasında bölüşüm valfi kapalı durumdadır. Genel olarak bölmeli (split) enjeksiyon sistemi ile aynı şekilde çalışır. Numune buharlaşma kısmında ısıtılıp buharlaştırılır ve taşıyıcı gaz ile buharlaşan numunenin %95'i kolona gönderilmiş olur. Bölüşüm valfi açıldığı zaman ise enjeksiyon bloğu içindeki buharlar hızlı bir şekilde enjeksiyon bloğunu terk ederek valften dışarı çıkarlar. Böylece yapılacak bir sonraki enjeksiyon için enjeksiyon bloğu temizlenmiş olur (Grob ve Barry, 2004). Tipik bir gaz kromatografisi enjeksiyon bloğunun (split inlet) şematik diyagramı Şekil 2.24'de gösterilmektedir.



Şekil 2.24. Gaz kromatografisi enjeksiyon bloğu (split inlet) şematik gösterimi

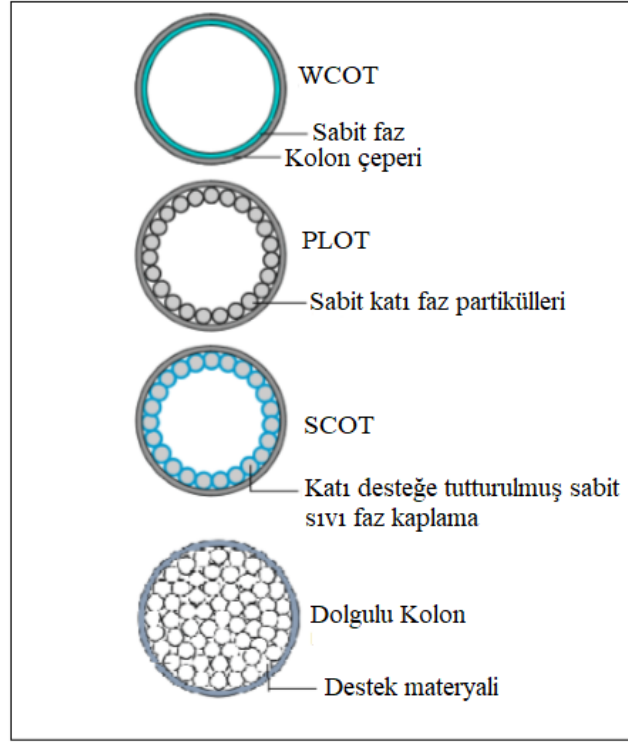
Gaz kromatografisinde taşıyıcı gaz, hareketli faz olarak hareket eder ve numune bileşenlerini kolondan dedektöre taşır. Sistemde kullanılacak taşıyıcı gazın seçimi de oldukça önemlidir. Çünkü kullanılan taşıyıcı gaz hem kolon ayırma prosesini hem de dedektör performansını etkiler. Ayrıca kullanılan taşıyıcı gaz numune bileşenlerine ve kolon dolgu maddesine karşı inert olmalıdır. Gaz kromatografisinde genellikle inert olan helyum, hidrojen ve azot taşıyıcı gaz olarak kullanılmaktadır. Taşıyıcı gaz seçimi ise kullanılan dedektör tipine göre yapılmaktadır. Taşıyıcı gaz akışının ölçümü ve kontrolü hem kolon verimliliği hem de kalitatif analiz için gereklidir. Bu yüzden taşıyıcı gaz tüpüne basınç ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bağlanmaktadır. Taşıyıcı gazdaki kirlilikler (hava, su buharı ve eser miktardaki hidrokarbon gazları) analizi yapılacak numune reaksiyonunu, kolon dolgu maddesini ve dedektörün performansını olumsuz yönde etkileyebilir. Bundan dolayı taşıyıcı gazın yüksek saflıkta olması önemlidir. Gaz kromatografisinde %99.999 saflıkta taşıyıcı gaz kullanmak gerekmektedir (Braithwaite ve Smith, 1999; McNair ve Miller, 2009).

2.4.3 Kolon

Enjeksiyonla verdiğimiz numunede yer alan bileşenlerin ayrımı kolonda gerçekleşir. Dolgulu ve kapiler kolon olmak üzere iki tip gaz kromatografisi kolonu bulunmaktadır (Şekil 2.25). Dolgulu kolonlar cam veya metalden yapılmış, iç çapları 2-4 mm, uzunlukları 1-5 m olan kolonlardır. Bu kolonlar ince bir sabit sıvı faz ile kaplanmış, homojen ve ince taneli bir katı ile iyice doldurulur. Teorik tabaka sayısı kapiler kolonlardan azdır. Kapiler kolonlarda ise dolgu materyali yerine sıvı fazın kendisi veya destek maddesi ile birlikte kolon iç çeperlerine bağlanmıştır. İç çapları 0.1-0.7 mm, uzunlukları 10-100 m'dir (Tandoğan, 2012). Kapiler kolonların teorisi ve uygulaması ilk olarak Marcel Golay tarafından ortaya konmuştur. Bir kapiler kolon için çok yüksek verimin teorik olarak öngörülmesinin nedenleri boyunun 10-100 m uzunluğa sahip olması, iç çapının 0.1-0.7 mm olması ve iç duvardaki durgun faz ince bir tabakayla kaplanmış olmasından dolayıdır. Kapiler kolonlar bakır, paslanmaz çelik ve camdan yapılmıştır, ancak günümüzde silika maddesinin geliştirilmesiyle daha esnek inert kolonların kullanımı tercih edilmektedir (Braithwaite ve Smith, 1999).

Kapiler kolonların kullanılması ile dolgulu kolonların önemi azalmıştır. Eritilmiş silika kapiler kolonların geliştirilmesi ve çok çeşitli materyallerle iç çeperlerinin kaplanabilmesi nedeniyle kapiler kolonların kullanımları hızla artmaktadır. Bu kolonlarda sabit faz kolon duvarına mikrometrenin onda biri kadar ince kalınlıkta kaplanmış sıvı filminden oluşmaktadır. Kapiler kolonlar WCOT, SCOT ve PLOT olmak üzere 3 çeşidi vardır. Duvar kaplı açık borsal kolonlarda (Wall-Coated Open Tubuler Columns, WCOT), sabit faz katı, viskoz sıvı veya zambak formunda polimerler kullanılarak kapiler kolonun iç çeperi kaplanır. İç çapı 0.005-0.53 mm, film kalınlığı 0.1-3 µm'dir. Polar ve apolar sabit faza sahip olan WCOT kolonlar yüksek verimliliğe sahiptir. 1979'da WCOT kolonları eritilmiş silis açık borsal kolonlar (FSOT) olarak adlandırılmıştır. Bu kolonlar kuvars materyalinden yapılmıştır. Daha esnektir ve istenen şekil daha kolay verilebilir. Gözenek tabakalı açık borsal kolonlarda (Porous Layer Open Tubuler Columns, PLOT), sabit faz olarak gözenekli bir adsorban polimer kullanılarak kapiler kolonun iç çeperi kaplanır. Dezavantajı düşük etkinliğe sahip olması, tekrarlanabilir ve kararlı olmamasıdır. Destek kaplı açık borsal kolonlarda (Support-Coated Open Tubuler Columns, SCOT) ise, destek materyalle kapiler kolonun

iç çeperi kaplanır. Üzerine sabit faz adsorbe edilir. En önemli avantajı sabit faz kalınlığının daha geniş aralıkta tutulabilmesidir (Tandoğan, 2012).



Şekil 2.25. WCOT, PLOT, SCOT ve dolgulu kolonlar şematik gösterimi (Tandoğan, 2012)

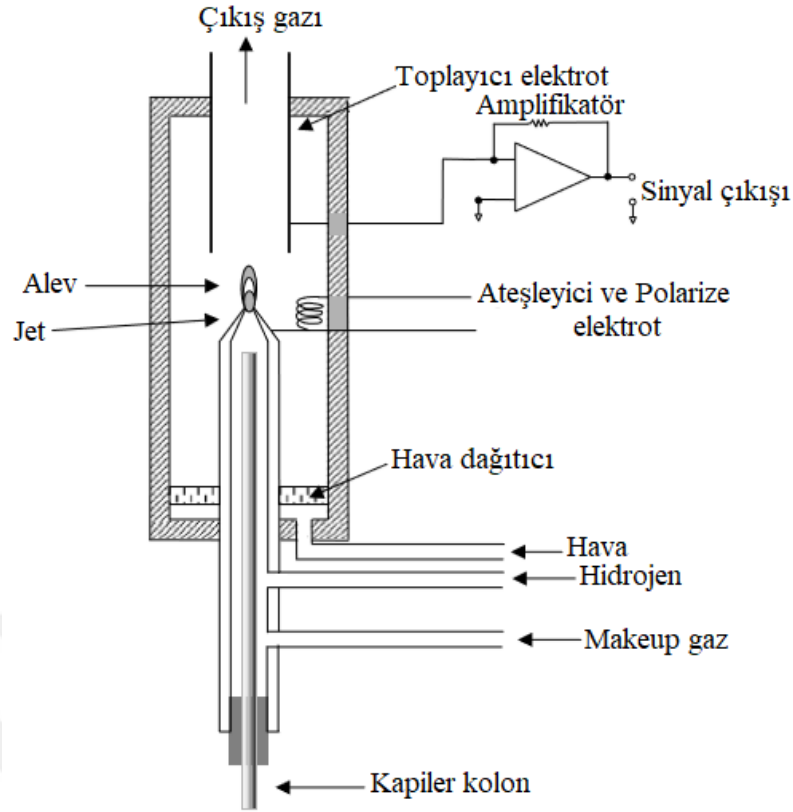
Ayırma işleminin yeterli olması, kolon sıcaklığı ve taşıyıcı gazın akış hızı yanında uygun kolon seçimine de bağlıdır. Kolon seçiminde dikkat edilecek parametrelerden biri benzerin benzeri ayırmasıdır. Yani polar bileşiklerin ayrımı için polar, apolar bileşiklerin ayrımı için apolar kolonların kullanılmasıdır. Bir diğer parametre ise, kolon uzunluğudur. Kolon uzunluğu arttıkça ayırma gücü artmaktadır. Bunun yanında kolon iç çapı küçüldükçe de ayırma gücü artmaktadır. Film kalınlığının da artması ayırma gücünü artırmasına karşın film kararlılığının azalmasına buda kolon kanaması ihtimalinin yükselmesine neden olmaktadır (Canbay, 2011).

2.4.4 Dedektörler

Bir dedektörün amacı, kolondan elue olan bileşikler taşıyıcı gaz yardımıyla dedektöre transfer edilirken ayrılmış analitler için sinyal üretmektir. Ayrıca üretilen sinyalleri sinyal işleyiciye aktarmaktır. Gaz kromatografisi bir ayırma tekniğidir. Alev

iyonlaştırma, termal iletkenlik ve elektron yakalama dedektörleri gibi dedektörler ayrımı yapılmış analitleri tanımlamaz. Ancak elue edilen analitlerin tanımlanmasına yardımcı olmak için kütle spektrometresi gibi ek teknikler kullanılır. Gaz kromatografisinde kullanılan başlıca dedektörler şunlardır; termal iletkenlik dedektörü (Thermal Conductivity Detector, TCD), elektron yakalama dedektörü (Electron Capture Detector, ECD), alev iyonlaştırma dedektörü (Flame İonisation Detector, FID), azot-fosfor dedektörü (Nitrogen-Phosphorous Detector, NPD), alev fotometrik dedektörü (Flame Photometric Detector, FPD) ve foto iyonlaştırma dedektörüdür (Photo İonisation Detector, PID) (Braithwaite ve Smith, 1999).

Alev iyonlaştırma dedektörü (FID), gaz kromatografisinde en yaygın kullanılan dedektördür. Kolanda ayrıştırılan bileşikler taşıyıcı gaz yardımıyla kolondan çıkarak jet ucunda yanan hidrojen-hava alevine yönlendirilirler. FID, hidrojen-hava alevi içinde yanan tüm organik bileşiklere cevap verir. Organik bileşikler hidrojen-hava alevinde yakılarak iyonlaştırılırlar. Meydana gelen iyonlar dedektörde akım değişimine neden olurlar. Bu akım değişimi dedektör tarafından sinyal olarak ölçülür ve oluşan akım (sinyal) birim zamanda alevden geçen karbon miktarı ile doğru orantılıdır. FID özellikle karbon atomu içeren bileşikler için duyarlıdır. Aynı dedektör su, kükürt bileşikleri, azot oksitleri, amonyak ve asal gazlara karşı ise duyarsızdır. Bu dedektörler, yüksek hassasiyet, geniş bir doğrusal cevap aralığı, denemelerde iyi tekrarlanabilirlik, kararlılık, 400°C'ye kadar varan sıcaklık aralığı, sağlamlık ve kullanım kolaylığı gibi özelliklere sahiptir. FID'ün dezavantajı ise yakma basamağında kolondan ayrılan numunenin tahrip edilmesidir (McNair ve Miller, 2009). FID şematik diyagramı Şekil 2.26'da gösterilmektedir (Grob ve Barry, 2004).



Şekil 2.26. FID şematik gösterimi (Grob ve Barry, 2004)

Gaz kromatografisinde kullanılan ideal dedektörler; uygun duyarlılık, iyi bir tekrarlanabilirlik ve kararlılık, geniş bir doğrusal çalışma aralığı, 400°C'ye kadar varan sıcaklık aralığında çalışılabilmesi, kullanım kolaylığı, numuneyi parçalamama, belirli sınıf maddelere karşı tahmini kolay ve seçici cevap verme gibi özelliklere sahip olmalıdırlar (Tandoğan, 2012).

Kütle spektrometre dedektörler, tüm gaz kromatografisi dedektörleri arasında en güçlü olanlarıdır. Bir GC/MS sisteminde ayırma boyunca, kütle spektrometresi sürekli olarak kütleleri tarar. Örnek kromatografi kolonundan çıktığında bir transfer hattından (aktarma kanalı) geçerek kütle spektrometrenin girişine gelir; burada bir elektron-darbe iyon kaynağı tarafından iyonlaştırılır ve fragmanlara ayrılır. Bu işlem sırasında örnek enerjili elektronlarla bombardıman edilir ve elektrostatik kuvvetler molekülün elektron kaybederek iyonlaşmasını sağlar. Bombardımanın ilerletilmesi iyonların fragmanlara dönüşmesine neden olur. Kütle analizörüne (iyon sınıflandırma bölümü) giren iyonlar burada m/z (kütle-yük oranı) değerlerine göre sıralanırlar. İyonların çoğu tek değerlidir. Kütle spektrometresi, m/z değerleri aynı olan tanecik demetleri için birer pik çizer.

Sistemde, kromatogram alıkonma zamanlarını belirler, kütle analizörü de piklerden, karışımda ne tür moleküllerin bulunduğunu saptar. Kullanımı en yaygın olan kütle analizörü, gaz anyon ve katyonların elektrik ve manyetik alan vasıtasıyla uzun süre tutulmasını sağlayan kuadropol iyon-kapanı analizörüdür. Kütle analizöründen çıkan iyonlar detektöre ulaşır. Analizler yapılırken genellikle FID sistemi olan cihazlar (GC-FID/MS) kullanılır (Gündüz, 2013).

2.5 *Prunus laurocerasus*

Prunus laurocerasus, *Rosaceae* (gülğiller) ailesinden olan ve yaprak dökmeyen bir ağaçtır (Vahapoğlu vd., 2018). Bu ağacın meyvesi “Karayemiş” ismi ile birlikte Türkiye’de çeşitli yöresel adlarla bilinmektedir. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan “Taflan”dır. Ordu’da “Tahnal”, “Gürcü kirazı”, “Karayemiş”, “Laz kirazı”, “Laz üzümü”, “Laz yemişi”, Giresun’da “Tanal”, Trabzon’da “Taflan”, “Karayemiş”, Rize’de “Karamış”, Artvin’de “Tçkoo” gibi yöresel adlarıyla da bilinmektedir (Alpınar ve Yazıcıoğlu, 1991). Meyveleri oval, 8-20 mm çapındadır (Şekil 2.27). Karayemiş ağacı 6 metreye kadar uzayabilmektedir. Yaprakları koyu yeşil, ince ve ortalama 16,3 cm uzunluğundadır. Karayemiş, Mart ayından Nisan ayının ilk yarısına kadar çiçek açıp Temmuz ve Eylül ayları arasında meyve vermektedir. Karayemiş farklı toprak türlerinde yetişebilen bir meyve türüdür (Vahapoğlu vd., 2018).

Prunus laurocerasus (L.), Karadeniz Bölgesi’nde doğal olarak yetişen hem meyve hem de süs bitkisi özelliklerine sahip bir türdür. Karayemiş; *Plantae* alemi, *Spermatopyta* bölümü, *Angiospermaea* alt bölümü, *Magnoliatae* (Dicotyledones) sınıfı, *Rosales* takımı, *Rosaceae* familyası, *Prunoideae* alt familyası ve *Laurocerasus* Duhamel. cinsine ait bir türdür. Bu türün Latince adı *Laurocerasus officinalis* Roemer veya *Prunus laurocerasus* (L.) olarak bilinmektedir (İslam ve Deligöz, 2012).

Yazılı belgelerde karayemişin ilk olarak 1546 yılında Fransız Pierre Belon tarafından Trabzon’dan toplandığı ve *Cerasus trapezantuna* (Trabzon Kirazı) olarak adlandırıldığı bildirilmektedir. Bitki aynı yıl, İstanbul üzerinden İtalya’ya; 1574’te de Clusius tarafından Viyana’ya getirilmiş, oradan da Fransa ve İngiltere’ye gönderilmiştir. Budanarak şekil verilebilmesi, dökülmeyen parlak koyu yeşil yaprakları ve kokulu beyaz çiçekleri ile karayemiş, 1600 yılından itibaren tüm Avrupa’da park ve bahçelerde

yetiştirilmeye başlanmıştır. Günümüzde büyüme biçimi, yaprak boyut ve şekli, kışa dayanıklılık açısından farklı 20 kadar karayemiş k lt rvarı vardır (Alpınar ve Yazıcıoğlu, 1991).



şekil 2.27. *Prunus laurocerasus* meyvesi



şekil 2.28. *Prunus laurocerasus*  ekirde i

Karayemişin derin, iyi havalandan, nemli ve humuslu, killi-kumlu topraklarda iyi yetiştiği belirtilmektedir. Aynı zamanda asidik topraklarda karayemişin yetişmesi

mümkün olsa da ürünün kireçli topraklara tolerans gösterdiğini ve havalanması iyi olan derin topraklarda verimin arttığı ifade edilmiştir (İslam ve Deligöz, 2012). Karayemiş, Türkiye'nin Karadeniz Bölgesi çevresinde, bazı Balkan ülkelerinde, Kuzey İrlanda, Batı Avrupa, Güney ve Batı Kafkasya, İran, Doğu Marmara ve bazı Akdeniz ülkelerinde yetişmekte olup, özellikle Doğu Karadeniz bölgesinde yaygın olarak tüketilmektedir (Kolaylı vd., 2003).

Rengi ve şeklinden dolayı kiraza benzeyen karayemiş meyvesi olgunlaşma durumuna bağlı olarak kırmızı veya koyu mor renkli, olgunlaştığında ise siyah renkte olmaktadır. Yabani türleri buruk tada sahip olmalarından dolayı çok tercih edilmese de aşılınmış türleri büyük ve tatlı olduğu için daha fazla tüketilmektedir. Taze ve kurutulmuş olarak tüketilebilen karayemiş; reçel, marmelat, meyve suyu, pekmez ve turşu yapımında kullanılmakta, ayrıca karayemişin yaprakları da çay olarak tüketilebilmektedir (Dirim ve Talih, 2018). Karayemiş yağı; dondurulmuş tatlılar, şekerlemeler ve pişmiş ürünler gibi çeşitli gıda ürünlerine aroma verici katkı maddesi olarak katılmaktadır (Vahapoğlu vd., 2018).

Karayemiş yüksek su, protein, karbonhidrat ve yağ içeriğine ek olarak pektin, diyet lifi, askorbik asit, vitamin (A, C, D), çeşitli mineraller ve fenolik bileşiklerce (fenolik asitler (klorojenik asit, vanillik asit, benzoik asit, kafeik asit), flavonoidler, antosiyaninler, flavonoller, tanenler, ligninler) zengin olmasından dolayı iyi bir besin kaynağı olarak kabul edilmektedir. Karayemiş iyi bir besin kaynağı olmasının yanı sıra antioksidan maddelerce de zengin bir meyvedir. Ayrıca fruktoz, glukoz, ksiloz ve arabinoz içermektedir (Karahalil ve Şahin, 2011; Karabegovic vd., 2012; Kolaylı vd., 2003; Vahapoğlu vd., 2018).

Karayemiş meyvesinin yağ asidi kompozisyonu incelendiğinde palmitik asit (C16:0), stearik asit (C18:0), oleik asit (C18:1) ve linoleik asit (C18:2) içerdiği tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan bu çalışmalarda en yüksek yağ asidi içeriğinin yaklaşık %48 oranında doymamış bir yağ asidi olan linoleik asit olduğu belirtilmiştir (Ayaz vd., 1997). Karayemiş meyvesinin çekirdeği %18,3 oranında yağ içerdiği tespit edilmiştir. Aynı zamanda karayemiş meyvesinin çekirdeğinin yağ asidi içeriği incelendiğinde ise oleik asit baskın yağ asidi olarak tespit edilmiştir (Özgül-Yücel, 2005). Karayemiş meyvesinin çekirdeğinin yağ asidi içeriğinin; %72.92'sini oleik asit (C18:1 cis),

%12.8'ini palmitik asit (C16:0), %6.5'ini linoleik asit (C18:2), %0.9'unu elaidik asit (C18:1 *trans*), %4.46'sını stearik asit (C18:0), %0.62'sini araşidik asit (C20:0) oluşturduğu belirtilmiştir (Genç, 2009). Ayrıca karayemiş meyvesinin çekirdeğinde - tokoferol ve -sitosterol varlığı da tespit edilmiştir (Alaşalvar vd., 2006).

Tıbbi bitki olarak da bilinen karayemiş geleneksel tedavide; mide ülseri, sindirim sistemi hastalıkları, egzama, boğaz ağrısı, bronşit, astım, öksürük, diyabet ve hemoroid gibi birçok rahatsızlığın tedavisinde kullanılmaktadır (Kolaylı vd., 2003; Demir vd., 2017). Aynı zamanda diüretik özellik göstermektedir (Karahalil ve Şahin, 2011). Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarda ise karayemişin anti-enflamatuvar, antioksidan, antinosiseptif, anti-aterosklerotik, nöroprotektif, antidiyabetik ve kanser hücrelerine karşı sitotoksik etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur (Demir vd., 2017).

Karayemişin idrar söktürücü ve bölgesel ağrılar üzerinde analjezik etkisi görülmüştür. Bu meyvenin çekirdeğinden elde edilen yağlar kozmetik endüstrisinde kullanılmaktadır. Karayemiş ekstraktının ve çekirdeklerinin antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve bunun önemli bir kısmının fenolik maddeler ve antosiyaninlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Ergüney vd., 2015). Antioksidanlar, pek çok hastalık sürecinde ortaya çıkan okside substratın oksidasyonunu engeller veya geciktirir. Bitkinin bünyesinde ortaya çıkan bu sekonder metabolitler (fenolik bileşikler) bitkiyi dış etkenlerden korumak için gereklidir. Hidroksil radikali ve süperoksit radikali gibi serbest radikalleri süpürücü etki, tek elektron transferi, hidrojen aktarma ve metal iyon şelatlama mekanizmalarıyla fenolik maddeler antioksidan etki gösterebilirler (Çebi, 2018).

Prunus laurocerasus bitkisinin, özellikle taze yapraklarının, tohumlarının ve olgunlaşmamış meyvelerinin zehirli siyanojenik glikozitler içerdiği göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak bu zehirli maddeler meyvelerin olgunlaşması ile veya kurutma, öğütme gibi işlemler sırasında hızla parçalanmaktadır. Olgunlaşmış meyveler bu açıdan bir tehlike oluşturmamaktadırlar (Akpulat vd., 2019).

Karayemişin yapısında bulunan yüksek miktardaki antioksidan özellik taşıyan maddeler, fenolik bileşikler, flavonoidler ve yağ asitlerinin birçok hastalığın tedavisinde ve önlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Antosiyaninler, bitkilerde yaygın olarak bulunan doğal fenolik bileşiklerdir. Çoğunlukla çiçekler, meyveler ve sebzelerde

bulunur ve bu bitkilere turuncu, kırmızı, mor ve mavi gibi parlak renkler verirler. Karayemiş bitkisi de yüksek miktarda antosiyanin içeren bir meyvedir. Antosiyaninlerin kansere, yaşlanmaya ve nörolojik hastalıklara, inflamasyona, diyabete ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı potansiyel sağlık etkileri için laboratuvar temelli kanıt sağlanmıştır. Karayemişin kanser hücreleri üzerine etkilerinin araştırdığı *in vitro* çalışmalarda karayemiş ekstratlarının yüksek konsantrasyonlarının antikansorejen etki gösterdiği ve farmakolojik ajanların sitotoksik etkilerini azalttığı belirlenmiştir. Karayemişin taze yapraklarında benzaldehit bulunduğu belirlenmiştir. Benzaldehit ve türevlerinin antitümör etki gösterdiği bazı standart terapiye cevap vermeyen ileri kanser hastalarının tedavisinde kullanılmasının etkili olabileceği belirlenmiştir.

Karayemiş çekirdeği tekli doymamış yağ asitleri kaynaklarından (oleik asit), karayemiş meyvesi çoklu doymamış yağ asitleri kaynaklarından (linoleik asit) ve fitosterollerden (b-sitosterol) zengindir. Bu nedenle de LDL (düşük yoğunluklu lipoprotein, kötü kolesterol) seviyesinin azalmasını ve HDL (yüksek yoğunluklu lipoprotein, iyi kolesterol) seviyesinin artışı sağlayarak koroner kalp hastalıklarının riskini azaltmak için kullanılabileceği düşünülmektedir.

Karayemiş meyvesinin yaprakları kurutulularak çay haline getirilmekte ve bu çay Anadolu halkı tarafından nörolojik hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu verilerden yola çıkarak bazı araştırmacılar bu bitkinin gerçekte böyle bir etkinliği olup olmadığını araştırmışlardır. Asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraz enzimleri Alzheimer hastalığının patogenezinde önemli bir rol oynayan kolinesteraz enzimleridir. Bu enzimlerinin inhibisyonu Alzheimer hastalığının tedavisinde en doğru seçenek olarak görülmektedir. Karayemiş yaprak ekstratlarının kolinesteraz üzerine etkilerini inceleyen bir çalışmada karayemiş yaprak ekstratlarının kolinesteraz enzimlerinin inhibisyonunda etkili olduğu ve antioksidan kapasitesi ile nöron koruyucu özellik gösterdiği bulunmuştur (Karataş ve Uçar, 2018).

BÖLÜM III

DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Materyal

3.1.1 Meyve örnekleri

Bu tez çalışmasında *Prunus Laurocerasus* meyvesinin yağ asitleri bileşenleri üzerine karşılaştırmalı yöntemlerle bir araştırma yapılmıştır. Tez çalışmasının materyalini oluşturan meyvenin seçiminde özellikle Karadeniz bölgesinde halk arasında çokça tüketilmeye başlanan ve kolaylıkla bulunabilen *Prunus Laurocerasus* meyvesi tercih edilmiştir (Şekil 3.1). Meyve örnekleri 2018 yılı Eylül ayında Karadeniz bölgesinden temin edilmiştir. Yaklaşık 1 kg meyve örneği öncelikle doğal koşullarda kurutularak analize hazır hale getirilmiştir. Kurutulmuş meyve örnekleri analiz öncesi bitki öğütme değirmeninde öğütülmüştür.



Şekil 3.1. *Prunus laurocerasus* meyvesi

3.1.2 Kimyasal maddeler

Tez çalışması sırasında kullanılan tüm kimyasal maddeler Merck ve Fluka firmalarından sağlanmıştır. Tüm kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Kullanılan kimyasal maddeler aşağıda verilmiştir.

- Metanol
- Etanol
- Kloroform
- n-Hekzan
- Aseton
- n-Heptan
- Potasyum Hidroksit

3.1.3 Laboratuvar malzemeleri ve cihazlar

Çalışmalar sırasında kullanılan laboratuvar malzemeleri de aşağıda verilmiştir.

Soxhlet ekstraksiyon takımı	: 250 mL balon, 100 mL ekstraktör hacimli.
Mantolu ısıtıcı	: İsolab 500 mL hacimli.
Rotary evaporatör soğutucu	: DLAB, RE100-pro model 5 L hacimli dik tip
Sirkülasyon banyosu	: CLS marka ve CLRC-08C model.
Mikrodalga fırın	: Arçelik marka ve MD674 model.
Ultrasonik banyo	: İsolab marka, 40 Hz ve 2 L hacimli.
GC/MS-FID	: Bu analizler Erciyes Üniversitesi TAUM'da gerçekleştirilmiştir. Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (GC/FID) Shimadzu QP2010 Ultra marka, Kolon: Restek marka, katalog no:13423,seri no:1174382, Rxi-5ms 30m x 0.25 mm ID x 0.25 mikrometre df. Dedektör: FID

3.2 Yöntem

3.2.1 Ham yağ tayini ve yağ asitleri analizleri

Meyve örneğinin yağ analizleri ultrasonik destekli olarak mikrodalga Soxhlet cihazında yapılmıştır. Ekstraksiyon öncesi kurutulmuş meyve örneği ultrasonik banyo içerisinde bekletilmiştir. Ekstraksiyon beş farklı çözücü ile gerçekleştirilmiştir. Bu çözücüler; Metil alkol, etil alkol, kloroform, aseton ve hekzan olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon işleminde ise klasik ısıtma araçları yerine mikrodalga fırına modifiye edilmiş Soxhlet cihazı kullanılmıştır. Tez çalışmasında farklı çözücülerin ekstraksiyona olan etkisi araştırılmıştır (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Mikrodalga fırına modifiye edilmiş Soxhlet cihazı

Yağ örneklerine analizlerin gerçekleştirilmesi amacıyla esterleşme işlemi uygulanmıştır. Bu işlem için yağ örneğinden yaklaşık 0,10-0,20 g alınarak 20 mL'lik deney tüpüne konulmuş, üzerine 1 mL 2N KOH çözeltisi ilave edilmiştir. Üzerine 7 mL n-Heptan ilave edilerek tüpteki karışım 30 saniye şiddetli bir şekilde karıştırıldıktan sonra 2000 rpm devirde santrifüj edilmiştir. Elde edilen berrak yüzer madde (metil ester) süpernatant kısmından otomatik enjektör yardımıyla viallere alınarak enjeksiyona hazır

hale getirilmiştir. Vialler vidalı kauçuk kapakla kapatılarak analiz yapılana kadar +4 derecede buzdolabında saklanmıştır.



BÖLÜM IV

BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında *Prunus Laurocerasus* meyvesinin yağ asitleri üzerine ultrasonik destekli mikrodalga Soxhlet ekstraksiyon yöntemi uygulanmıştır. Tez çalışmasının materyalini oluşturan meyvenin seçiminde özellikle Karadeniz bölgesinde çokça tüketilen ve halk tarafından kolaylıkla temin edilip farklı tüketim seçenekleri ile tüketilebilen bu meyve türü tercih edilmiştir. Meyve örneğinin yağ asitleri bileşenleri belirlenmeye çalışılırken ekstraksiyon öncesi ultrasonik banyodan faydalanılmıştır. Deneysel çalışmalar sonucunda elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

4.1 Meyve Örneklerinin Yağ Analizleri

Kurutulmuş meyve örneğinden 10 g alınarak 50 mL çözücü içerisine ilave edilmiştir. Tez çalışmasında beş farklı çözücü kullanıldığı için bu işlem her bir çözücü için beş farklı örnek olarak hazırlanmıştır. Çözücü içerisindeki örnekler 40 Hz ve 2 L hacmindeki ultrasonik banyo içerisinde bir saat süre ile bekletilmiştir. Ultrasonik banyodan alınan örnekler ilk çözücünden başlamak üzere mikrodalga Soxhlet ekstraksiyon cihazında analize alınmıştır. Klasik yöntemlerde mantolu ısıtıcılarla yapılan ısıtma işleminde ortam sıcaklığı ortalama 70-90°C olarak gerçekleşirken, bu yöntemde ise ısıtma işlemi mikrodalga fırında gerçekleştirilmiştir. Bu işlem süresince mikrodalga fırının güç skalası sabit bir şekilde 600 watt değerinde kalmıştır. Geleneksel olarak uygulanan SE yönteminde analiz 360 dakika sürerken mikrodalga ekstraksiyon sisteminde toplam süre 20-30 dakika olarak gerçekleşmiştir. Bu yöntemde yaklaşık olarak %90 oranında zamandan tasarruf söz konusu olmaktadır. Mikrodalga ısıtma yönteminin uygulanması ile gıda maddelerinin ısı işlemleri de dahil olmak üzere tüm ısı işlemlerde zamandan tasarruf sağlandığı bilinmektedir.

Geleneksel Soxhlet yönteminde 500 mL hacimli balon ve 250 mL hacimli ekstraktör kullanılırken, mikrodalga Soxhlet ekstraksiyon yönteminde 250 mL hacimli balon ve 100 mL hacimli ekstraktör kullanılmıştır. Bunun nedeni mikrodalga yönteminde çözücünün çok daha az kullanılmasından kaynaklanmaktadır. Böylelikle zaman ile

birlikte çözücünden de kazanç sağlanması, yöntemin bir diğer üstünlüğü olarak karşımıza çıkmaktadır.

Beş farklı çözücü ile gerçekleştirilen analizler sonucunda tüm çözücülerde ham yağ elde edilmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda sırasıyla verilmiştir.

4.2 Meyve Örneklerinin Yağ Asitleri Bileşenleri

4.2.1 Metil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri

Prunus Laurocerasus meyvesinin metil alkol çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda toplam dört yağ asidine rastlanmıştır. Bunlar; Palmitik asit, linoleik asit, araşidik asit ve heneikosanoik asitlerdir. Elde edilen yağ asitlerinin yüzde dağılımları Çizelge 4.1’de görülmektedir.

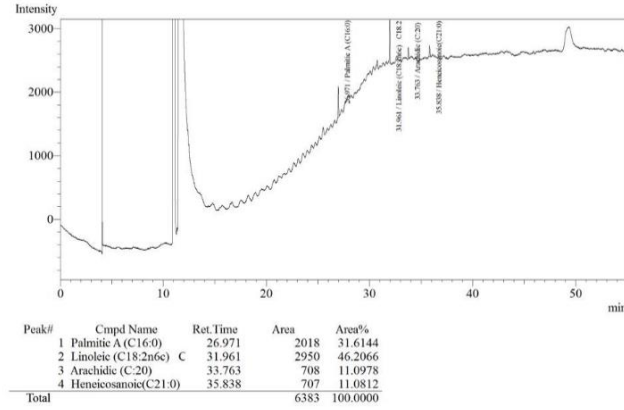
Çizelge 4.1. Metil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları

Yağ asidi		SE	
		RT	%
Palmitik asit	C16:0	26.97	31.61
Linoleik Asit	C18:2 n-6	31.96	46.21
Araşidik Asit	C20:0	33.76	11.10
Heneikosanoik asit	C21:0	35.84	11.08
Baskın yağ asitleri toplamı			100.00

Prunus Laurocerasus meyvesinin metil alkol çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları Şekil 4.1’de verilmiştir.

**Erciyes Üniversitesi
TAUM
GC Analiz Raporu**

Analysis Date & Time : 13.6.2019 20:45:03
User Name : Admin
Vial# : 34
Sample Name : mc6
Sample ID :
Sample Type : Unknown
Injection Volume : 1.00
ISTD Amount :
Data Name : C:\GCsolution\Data\Project1\mc6.gcd
Method Name : C:\Users\Hpi\Desktop\deneme\FAME 09022016.gcm



Şekil 4.1. Metil alkol ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları

4.2.2 Etil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri

Prunus Laurocerasus meyvesinin etil alkol çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda toplam yedi yağ asidine rastlanmıştır. Bunlar; Pentadekanoik asit, *cis*-10 pentadekanoik asit, palmitik asit, oleik asit, linoleik asit, araşidik asit ve heneikosanoik asitlerdir. Elde edilen yağ asitlerinin yüzde dağılımları Çizelge 4.2’de görülmektedir.

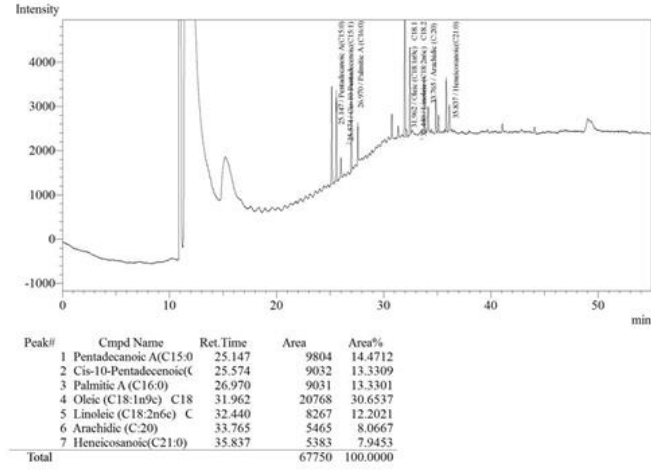
Çizelge 4.2. Etil alkol ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları

Yağ asidi		SE	
		RT	%
Pentadekanoik asit	C15:0	25.15	14.47
<i>cis</i> -10 pentadekanoik asit	C15:1	25.57	13.33
Palmitik asit	C16:0	26.97	13.33
Oleik asit	C18:1 n-9	31.96	30.65
Linoleik Asit	C18:2 n-6	32.44	12.20
Araşidik Asit	C20:0	33.77	8.07
Heneikosanoik asit	C21:0	35.84	7.95
Baskın yağ asitleri toplamı			100.00

Prunus Laurocerasus meyvesinin etil alkol çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları Şekil 4.2’de verilmiştir.

**Erciyes Üniversitesi
TAUM
GC Analiz Raporu**

Analysis Date & Time : 13.6.2019 21:43:44
User Name : Admin
Vial# : 35
Sample Name : rnc7
Sample ID :
Sample Type : Unknown
Injection Volume : 1.00
ISTD Amount :
Data Name : C:\GCsolution\Data\Project\unc7.ged
Method Name : C:\Users\Hp\Desktop\deneme\FAME 09022016.gcm



Şekil 4.2. Etil alkol ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları

4.2.3 Kloroform ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri

Prunus Laurocerasus meyvesinin kloroform çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda toplam beş yağ asidine rastlanmıştır. Bunlar; Palmitik asit, oleik asit, linoleik asit, araşidik asit ve heneikosanoik asitlerdir. Elde edilen yağ asitlerinin yüzde dağılımları Çizelge 4.3’de görülmektedir.

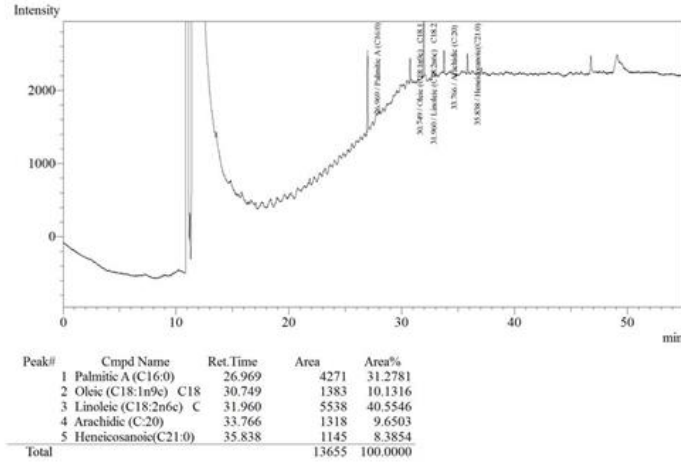
Çizelge 4.3. Kloroform ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları

Yağ asidi		SE	
		RT	%
Palmitik asit	C16:0	26.97	31.28
Oleik asit	C18:1 n-9	30.75	10.13
Linoleik Asit	C18:2 n-6	31.96	40.55
Araşidik Asit	C20:0	33.77	9.65
Heneikosanoik asit	C21:0	35.84	8.39
Baskın yağ asitleri toplamı			100.00

Prunus Laurocerasus meyvesinin kloroform çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları Şekil 4.3’de verilmiştir.

**Erciyes Üniversitesi
TAUM
GC Analiz Raporu**

Analysis Date & Time : 13.6.2019 22:42:24
User Name : Admin
Vial# : 36
Sample Name : mc8
Sample ID :
Sample Type : Unknown
Injection Volume : 1.00
ISTD Amount :
Data Name : C:\GCsolution\Data\Project1\mc8.gcd
Method Name : C:\Users\Hp\Desktop\deneme\FAME_09022016.gcm



Şekil 4.3. Kloroform ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları

4.2.4 n-Hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri

Prunus Laurocerasus meyvesinin n-hekzan çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda toplam beş yağ asidine rastlanmıştır. Bunlar; Palmitik asit, oleik asit, linoleik asit, araşidik asit ve heneikosanoik asitlerdir. Elde edilen yağ asitlerinin yüzde dağılımları Çizelge 4.4’de görülmektedir.

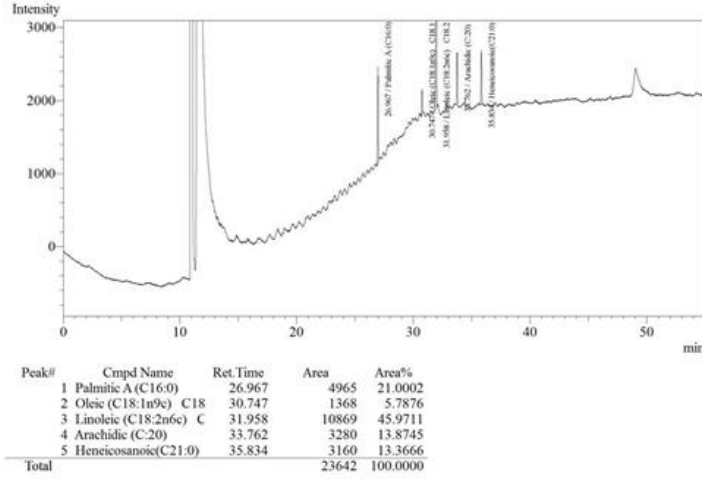
Çizelge 4.4. n-Hekzan ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları

Yağ asidi		SE	
		RT	%
Palmitik asit	C16:0	26.97	21.00
Oleik asit	C18:1 n-9	30.75	5.79
Linoleik Asit	C18:2 n-6	31.96	45.97
Araşidik Asit	C20:0	33.76	13.87
Heneikosanoik asit	C21:0	35.83	13.37
Baskın yağ asitleri toplamı			100.00

Prunus Laurocerasus meyvesinin n-hekzan çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları Şekil 4.4’de verilmiştir.

Erciyes Üniversitesi
TAUM
GC Analiz Raporu

Analysis Date & Time : 13.6.2019 23:41:07
User Name : Admin
Vial# : 37
Sample Name : me9
Sample ID :
Sample Type : Unknown
Injection Volume : 1.00
ISTD Amount :
Data Name : C:\GCsolution\Data\Project1\me9.gcd
Method Name : C:\Users\Hp\Desktop\deneme\FAME 09022016.gcm



Şekil 4.4. n-Hekzan ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları

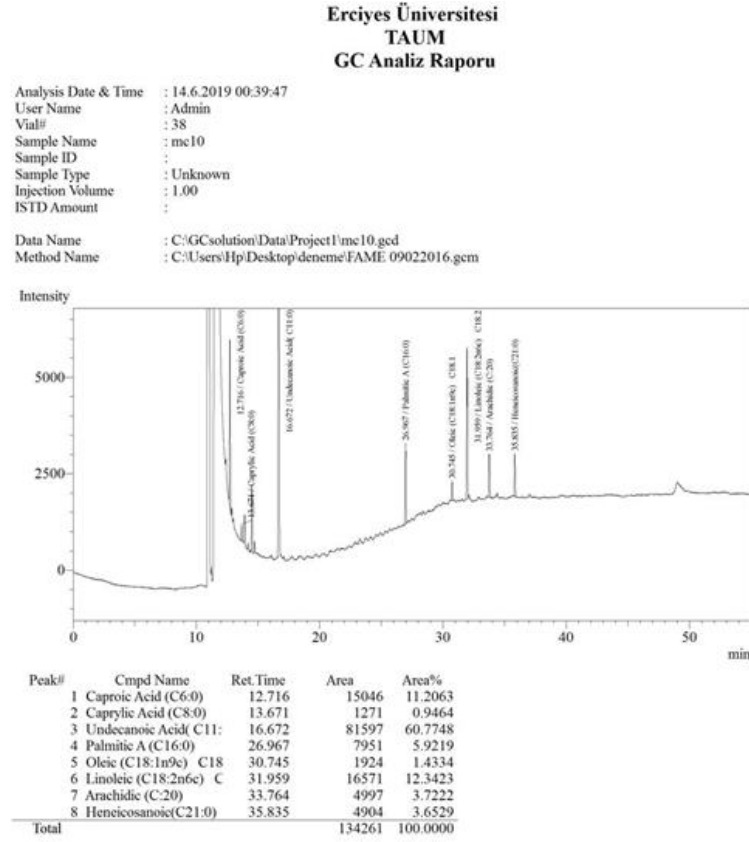
4.2.5 Aseton ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri bileşenleri

Prunus Laurocerasus meyvesinin aseton çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerini belirlemek amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda toplam sekiz yağ asidine rastlanmıştır. Bunlar; Kaproik asit, kaprilik asit, undekanoik asit, palmitik asit, oleik asit, linoleik asit, araşidik asit ve heneikosanoik asitlerdir. Elde edilen yağ asitlerinin yüzde dağılımları Çizelge 4.5’de görülmektedir.

Çizelge 4.5. Aseton ekstraksiyonu ile elde edilen yağ asitleri ve yüzde dağılımları

Yağ asidi		SE	
		RT	%
Kaproik asit	C6:0	12.72	11.21
Kaprilik asit	C8:0	13.67	0.95
Undekanoik asit	C11:0	16.67	60.77
Palmitik asit	C16:0	26.97	5.92
Oleik asit	C18:1 n-9	30.75	1.43
Linoleik Asit	C18:2 n-6	31.96	12.34
Araşidik Asit	C20:0	33.76	3.72
Heneikosanoik asit	C21:0	35.84	3.65
Baskın yağ asitleri toplamı			100.00

Prunus Laurocerasus meyvesinin aseton çözücü olarak kullanıldığında elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları Şekil 4.5’de verilmiştir.



Şekil 4.5. Aseton ekstraktından elde edilen yağ asitlerinin GC/FID kromatogramları

Tüm çözücülere göre elde edilen yağ asitleri Çizelge 4.6’da görülmektedir.

Çizelge 4.6. Tüm çözücülere göre elde edilen yağ asitleri

Yağ Asidi	Metanol	Etanol	Kloroform	Hekzan	Aseton
Kaproik asit	-	-	-	-	11,21
Kaprilik Asit	-	-	-	-	0,95
Undekanoik asit	-	-	-	-	60,77
Pentadekanoik asit	-	14,47	-	-	-
cis-10 heptadekanoik asit	-	13,33	-	-	-
Palmitik asit	31,6	13,33	31,28	21,00	5,92
Oleik asit	-	30,65	10,13	5,79	1,43
Linoleik asit	46,2	12,20	40,55	45,98	12,34
Araşidik asit	11,1	8,08	9,65	13,87	3,72
Heneikosanik asit	11,1	7,94	8,39	13,36	3,65

Tüm çözücülerle elde edilen yap asitleri değerlendirildiğinde elde edilen sonuçlara göre en fazla yağ asidi aseton ekstraktında elde edilmiştir. Daha sonraki en iyi çözücü etanol olarak belirlenmiştir. En az sayıda yağ asidi ise metanol ekstraktında elde edilmiştir.

Nordby ve Nagy yaptıkları bir araştırmada dört 4 farklı citrus türü olan portakal, greyfurt, limon ve limede yağ asidi bileşenlerini incelemişlerdir. Bu türlerde toplam yağ asitleri içeriğinin %10-56'sının linoleik asit olduğu saptanmıştır. Tüm türlerde en baskın asit olarak linoleik asit belirlenmiştir (Nordby ve Nagy, 1974).

Buchbauer ve Jirovetz 1992 yılında yaptıkları bir araştırmada *passiflora incarnata* L. meyvesi uçucu yağ bileşenlerini GC/MS ve GC/FTIR yöntemleri ile analiz etmişlerdir. Analizler sonucunda uçucu yağların ana bileşenlerini; hekzanal (% 1.4), benzil alkol (% 4.1), linalool (%3.2), 2-feniletıl alkol (% 1.2), 2-hidroksi benzoik asit metil ester (% 1.3), karvon (% 8.1), trans-anetol (%2.6), eugenol (%1.8), izoeugenol (%1.6), β -ionon (%2.6), α -bergamotol (%1.7), fitol (%1.9) olarak bulmuşlardır. Bunun yanında aynı araştırmada iki yağ asidi palmitik asit (%7.2) ve oleik asit (%6.3) bileşenlerine rastlamışlardır (Buchbauer ve Jirovetz, 1992).

Liu ve arkadaşları, Çin'de yaptıkları bir araştırma da *passion fruit* meyvesi çekirdek ile çekirdek yağlarının fiziksel ve kimyasal özelliklerini araştırmışlardır. Analizlerin sonuçlarına göre protein (10.8 ± 0.60) ve yağ (23.40 ± 2.50) miktarlarına dikkat çekmişlerdir. Bu meyvenin çekirdeklerinde 17 amino aside rastlamışlardır. Bunların %34'ünün esansiyel olduğunu vurgulamışlardır. Çekirdeğin iki esansiyel yağ asidi olan linoleik asit ve linolenik asit içerdiği ancak linoleik asit içeriğinin (72.69 ± 0.32) linolenik asit içeriğinden (0.26 ± 0.00) çok daha fazla olduğunu saptamışlardır. Bütün bu sonuçlara göre bu meyveyi önemli bir gıda maddesi olarak tanımlamışlardır (Liu vd., 2009).

Türkay ve arkadaşları, Türkiye'de γ -linolenik asit kaynakları ve bunların potansiyelleri üzerine bir araştırma yapmışlardır. İstanbul ili civarında yabani olarak yetişen *Boraginaceae* ailesinden üç bitkinin *Borage officinalis*, *Trchystemon oraientalis* ve *Sympytum asperum*'un tohumlarının yağ ve yağ asidi bileşenlerini araştırmışlardır. Kurutulan bitkilerin tohumlarında bazı fiziksel özellikleri belirlemişlerdir. Bu amaçla hegzanla altı saatlik soxhlet ekstraksiyonu ile yağ içeriklerini ve yağ asitleri

bileşimlerini gaz kromatografisinde tayin etmişlerdir. Araştırma sonucunda çoklu doymamış yağ asitlerinden γ -linolenik asit (GLA, C18:3 omega-6), metabolizmada linoleik asidin (LA C18:2 omega-6) araşidonik aside (AA, C20:4 omega-6) dönüşümünde oluşan ilk ara metabolit olduğunu bulmuşlardır. Son yıllarda GLA ve onun metabolitlerinin biyomedikal, beslenme ve kozmetik alanlarındaki öneminin giderek arttığını bildirmişlerdir. γ -linolenik asit (GLA) içeren yağların alkolizm, egzama, diyabet, hiperaktivite, kardiyovasküler rahatsızlıklar, gastro intestinal sorunlar, jinekolojik, nörolojik ve immünolojik birçok hastalığın tedavisinde etkili olduğunu bildirmişlerdir (Türkay vd., 2005).

Ajayi ve arkadaşları, *Brachystegia eurycoma*, *Tamarindus indica* ve *Mucuna flagellipes* bitki türlerinin tohumlarında yağ asidi bileşimlerini incelemişlerdir. Araştırma sonucunda oleik asidin çok baskın olduğunu (%24.13 – 60.68 arasında değiştiğini) ve linoleik asidin yapıdaki üç önemli yağ asidinden biri olduğunu belirlemişlerdir (Ajayi vd., 2006).

Yörük ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada *Rosa iberice*, *Rosa canina*, *Rosa villosa*, *Rosa dumalis* ve *Rosa pisiformis* kuşburnu türlerinin tohum ve meyvelerinde oleik ve linoleik asit, glukoz, odeler, sakkaroz, maltoz, vitamin C ve E içeriklerini belirlemişlerdir. Meyvelerdeki bileşiklerin en yüksek seviyeleri linoleik asit 3.150 $\mu\text{g/g}$ (*R.dumalis*), oleik asit 0.57 $\mu\text{g/g}$ (*R.canina*), δ -tokoferol 10.12 $\mu\text{g/g}$ (*R.dumalis*), α -tokoferol 17.60 $\mu\text{g/g}$ (*R.pisiformis*) olarak belirlemişlerdir (Yoruk vd., 2008).

Çelik ve Ercişli yaptıkları araştırmada yabani ahududular ile kültür çeşitlerinin yağ asitlerini karşılaştırmışlardır. Toplam 11 yabani ahududu genotipi ve bir ahududu çeşidi kullanmışlardır. Araştırma sonucunda, yağ oranı verimi %0.40 ve %0.63 arasında saptamışlardır. Kültür ahududularının yabani ahududulardan daha yüksek yağ oranına sahip olduğunu saptamışlardır. Araştırmada, linoleik asit (%42.18-52.61) ve linolenik asidin (%17.83-24.10) değerlendirilen bütün genotipler için baskın yağ asitleri olduğu saptanmıştır (Çelik ve Ercişli, 2009).

El-Adawy ve Taha, yaptıkları bir araştırmada; turunçgillerin çekirdek yağlarının doymamış yağ asitleri açısından oldukça zengin olduğunu ve sıralamanın linoleik, oleik ve linolenik asitler şeklinde olduğunu saptamışlardır. Bu esansiyel yağ asitlerini yüksek

oranda içermeleri nedeniyle, turunçgil çekirdek yağlarının besleyici değerini arttırdıklarını belirlemişlerdir. Ayrıca oleik ve linoleik yağ asitlerince zengin olmaları yarı kurma özelliğini arttırdığından, turunçgil çekirdek yağlarının yemeklik yağ, salata yağı ve margarin sanayi için uygun bir kaynak oldukları ifade etmişlerdir. Palmitik ve stearik asitlerin bu tür yağlardaki ordel doymuş yağ asitleri olduğunu saptamışlardır. Araşidik, laurik ve miristik asitler bu yağ asitlerine oranla eser düzeyde bulmuşlardır (El-Adawy ve Taha, 2001).

Tunç ve arkadaşları, bir araştırmalarında fındıktan maksimum yağ verimine sahip ve rafine edilmeden tüketilebilecek kalitede fındık yağı üretimi için mikrodalga destekli Soxhlet sistemi (yeşil ekstraksiyon tekniği) kullanım olanakları araştırmışlardır. Çalışma kapsamında, mikrodalga destekli Soxhlet sistemi ile yağ ekstraksiyonu için optimizasyon amaçlı, farklı ekstraksiyon sıcaklıkları (36-64°C) ve süreleri (10-80 dakika) kullanılarak merkezi karma tasarım ile deneme deseni hazırlamışlardır. Deneme deseni maksimum yağ verimi elde etmek ve kalite kriterleri olan serbest asitlik ve peroksit değerlerini minimize etmek için optimize etmişlerdir. Çalışma sonucunda elde edilen odeler, mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyonu ile fındık yağı eldesini çalışılan değişken aralıklarında yüksek başarı ile tahmin etmişlerdir. Çalışmada ekstraksiyon sıcaklığının yağ verimi üzerinde artırıcı bir etkisi olduğu tespit edilmiştir (Tunç vd., 2014).

Yağcıoğlu, 2015 yılında yapmış olduğu Yüksek Lisans Tez çalışmasında, antioksidan özelliğinin yüksek olduğu bilinen adaçayında (*Salvia officinalis* L.) farklı ekstraksiyon metotları kullanılarak antioksidan ekstraksiyonu yapmıştır. Kullanılan yöntemler; klasik çözücü, mikrodalga destekli, ultrason destekli ekstraksiyon olmuştur. Yanıt yüzey yöntemi kullanarak, her bir ekstraksiyon yöntemi için optimum ekstraksiyon koşulları belirlenmiştir. Bağımsız değişkenler; klasik çözücü ekstraksiyonunda; etanol konsantrasyonu (%60-80), sıcaklık (40-60 °C) ve ekstraksiyon süresi (60-120 dakika) olarak; ultrason destekli ekstraksiyonda; etanol konsantrasyonu (%60-80), sıcaklık (40-60 °C) ve ekstraksiyon süresi (15-45 dakika) olarak; mikrodalga destekli ekstraksiyonda; etanol konsantrasyonu (%60-80), mikrodalga gücü (300-600 Watt) ve ekstraksiyon süresi (30-90 dakika) olarak seçmiştir. Uygulanan üç yöntem karşılaştırdığında, mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin en verimli yöntem olduğunu görmüştür. Bunu ultrason destekli ekstraksiyon ve klasik çözücü

ekstraksiyonu takip etmektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar neticesinde, kısa süreli ekstraksiyonla yüksek antioksidan elde edilen mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminin adaçayından antioksidan ekstrakte etmek için kullanılabileceğini bildirmiştir (Yağcıoğlu, 2015).

Bu tez çalışmasında elde edilen sonuçlar literatürde bulunan araştırmalar ile karşılaştırıldığında; mikrodalga destekli olarak gerçekleştirilen yöntemin zaman ve çözücü sarfiyatından tasarruf sağlaması açısından diğer çalışmalarla uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Geleneksel yöntemlere oranla mikrodalga destekli yöntem bu değişkenler açısından daha tercih edilebilir olarak saptanmıştır. Elde edilen yağ verimleri açısından önemli bir artış gözlenememiş olsa da aynı baskın yağ asitlerinin herhangi bir bozunmaya uğramaması açısından MDSE yönteminin üstünlüğü önemli bir sonuç olarak karşımıza çıkmıştır.

BÖLÜM V

SONUÇLAR

Sonuç olarak mikrodalga destekli olarak gerçekleştirilen mikrodalga ekstraksiyon sisteminin zamandan ve verimden tasarruf sağladığı görülmüştür. Analizler süresince beş farklı çözücü kullanılmış ve çözücünün yağ asitlerine üzerine etkisi incelenmiştir.

Elde edilen analiz sonuçları incelendiğinde en fazla sayıda ürüne aseton çözücü olarak kullanıldığında ulaşılmıştır. İkinci olarak en iyi çözücü etil alkol olarak göze çarpmaktadır. En az sayıda ürüne ise metil alkol çözücü olarak kullanıldığında ulaşılmıştır. Kaproik asit, kaprilik asit ve undekanoik asit türü yağ asitlerine sadece aseton çözücü olarak kullanıldığında ulaşılabilmiş olması dikkat çekici bir diğer sonuçtur.

- Bitkiler ve özellikle meyveler için önemli bileşenler arasında yer alan yağ asitleri farklı ekstraksiyon yöntemleriyle belirlenebilmektedir.
- Son yıllarda kimyasal analiz yöntemlerinde sıklıkla kullanılmaya başlanan mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi Soxhlet ekstraksiyon yöntemine eklenerek analizler gerçekleştirilebilmektedir.
- Mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyon yönteminin geleneksel olarak kullanımında ortalama altı saat olan ekstraksiyon süresinin, mikrodalga destekli Soxhlet ekstraksiyon yönteminde 30 dakikaya düşürdüğü ve zamandan büyük oranda tasarruf sağladığı bilinmektedir.
- Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde çok daha az çözücü kullanımı sonucu hem çözücü maliyetini azalttığı hem de çevreye olumlu etkileri olacağı için yöntemin üstünlüğü ortaya çıkmıştır.
- Bitkiler ile çalışmalarda sadece yağ asitlerinin değil diğer uçucu bileşenlerinde yine mikrodalga destekli analizlerle yapılabileceği, böylelikle zamandan ve çözücünden tasarruf sağlanabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Ajayi, I.A., Oderinde, R.A., Kajogbola, D.O. and Uponi, J.I., “Oil content and fatty acid composition of some underutilized legumes from Nigeria”, **Food Chemistry** 99(1), 115-120, 2006.

Akpulat, H.A., Akpulat, S., Yıldırım, E.S. ve Enginoğlu, H.R., “*Prunus laurocerasus* (Rosaceae) bitki ekstraktı ile zararlı otlar ve tarımsal dona karşı mücadele”, **Turkish Journal of Biodiversity** 2(1), 18-23, 2019.

Alaşalvar, C., Wanasundara, U., Zhong, Y. and Shahidi, F., “Functional lipid characteristics of cherry laurel seeds (*Laurocerasus officinalis* Roem.)”, **Journal of Food Lipids** 13, 223-234, 2006.

Alpınar, K. ve Yazıcıoğlu, E., “Taflan (*Laurocerasus officinalis* Roemer) meyvaları üzerinde farmasötik botanik yönünden bir araştırma”, **9. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildirisi**, Eskişehir, s. 275-281, 16-19 Mayıs, 1991.

Ayaz, F.A., Kadioğlu, A., Reunanen, M. and Var, M., “Phenolic acid and fatty acid composition in the fruits of *Laurocerasus officinalis* Roem. and its cultivars”, **Journal of Food Composition and Analysis** 10(4), 350-357, 1997.

Bağırhan, M., *Ornithogalum sigmoideum* bitkisinin uçucu yağ ve kloroform ekstraktının GC-MS analizi, Yüksek Lisans Tezi, **Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Giresun, s. 9, 2014.

Braithwaite, A. and Smith, F.J., Chromatographic Methods, **Kluwer Academic Publishers**, Dordrecht, 1999.

Buchbauer, G. and Jirovetz, L., “Volatile constituents of the essential oil of *Passiflora incarnata* L.”, **Journal of Essential Oil Research** 4(4), 329-334, 1992.

Büyüktuncel, E., “Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I”, *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 32(2), 209-242, 2012.

Camel, V., “Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples”, *Trends in Analytical Chemistry* 19(4), 229-248, 2000.

Canbay, H., Doğal sularda ve atık sularda bazı analjezik kalıntılarının tayinleri için LC-UV ve GC-MS yöntemlerinin optimizasyonu, Doktora Tezi, *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Isparta, s. 47, 2011.

Cavuldak, Ö.A., Vural, N. ve Anlı, R.E., “Bitki kaynaklı fenolik bileşiklerin ultrasonik dalga destekli ekstraksiyonu”, *Gıda Dergisi* 41(1), 53-60, 2016.

Chan, C.-H., Yusoff, R., Ngoh, G.-C. and Kung, F.W.-L., “Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants”, *Journal of Chromatography A* 1218(37), 6213-6225, 2011.

Coşkun, T., “Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri”, *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 48, 69-84, 2005.

Çakmak, Ö., Başhan, M. ve Bolu, H., “*Monosteira lobulifera* Reut. (Heteroptera: Tingidae)’nın fosfolipit ve triaçilgliserol fraksiyonundaki yağ asidi bileşimi”, *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Der.* 17(4), 637-643, 2005.

Çakmakçı, S. ve Kahyaoğlu, D.T., “Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkilerine genel bir bakış”, *Akademik Gıda* 10(1), 103-113, 2012a.

Çakmakçı, S. ve Kahyaoğlu, D.T., “Yağ asitlerinin sağlık ve beslenme üzerine etkileri”, *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 5(2), 133-137, 2012b.

Çebi, A., “Taflan (*Prunus laurocerasus* L.) yaprağı ve çekirdeğinin Ferrotiyosiyanat metoduyla total antioksidan kapasitesinin belirlenmesi”, *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi* 8(1), 109-114, 2018.

Çelebi, Ş. ve Karaca, H., “Yumurthanın besin değeri, kolesterol içeriği ve yumurtayı n-3 yağ asitleri bakımından zenginleştirmeye yönelik çalışmalar”, *Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.* 37(2), 257-265, 2006.

Çelebi, Ş., Kaya, H. ve Kaya, A., “Omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığı üzerine etkileri”, *Alınleri Zirai Bilimler Dergisi* 32(2), 105-112, 2017.

Çelik, A. and Erçişli, S., “Some physical properties of pomegranate cv. Eksinar”, *International Agrophysics* 23(3), 295-298, 2009.

Çolak, N. ve Tülek, Y., “Süperkritik akışkan ekstraksiyonu”, *Gıda Dergisi* 28(3), 313-320, 2003.

Demir, S., Turan, İ., Demir, F., Demir, E.A. and Aliyazıcıoğlu, Y., “Cytotoxic effect of *Laurocerasus officinalis* extract on human cancer cell lines”, *Marmara Pharmaceutical Journal* 21, 121-126, 2017.

Dirim, S.N. ve Talih, M., “Kurutma yardımcı maddelerinin dondurarak kurutulmuş Taflan tozlarının özellikleri üzerine etkisi”, *Gıda Dergisi* 43(3), 461-475, 2018.

El-Adawy, T.A. and Taha, K. M., “Characteristics and composition of watermelon, pumpkin and paprika seed oils and flours”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(3), 1253-1259, 2001.

Ergüney, E., Gülsünoğlu, Z., Durmuş, E.F. ve Akyılmaz, M.K., “Karayemiş tozu fiziksel özelliklerinin iyileştirilmesi”, *Akademik Gıda* 13(2), 108-114, 2015.

Erkan, N., “Türkiye’de tüketilen su ürünlerinin omega-3 (ω -3) yağ asidi profilinin değerlendirilmesi”, *Journal of FisheriesSciences.com* 7(2), 194-208, 2013.

Fidanbaş, Z.U.C., Bilgin, Ş. ve Ertan, Ö.O., “Bazı deniz balıklarının aminoasit-yag asiti içerikleri ve beslenme açısından önemi”, *Eğirdir Su Ürünleri Dergisi* 11(2), 45-59, 2015.

Genç, N., Taflan çekirdeğinde (*Laurocerasus officinalis* Roem.) fonksiyonel bileşik analizi ve antioksidan kapasitesinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, **Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Tokat, s. 49, 2009.

Grob, R.L. and Barry, E.F., Modern Practice of Gas Chromatography, **John Wiley & Sons**, New Jersey, 2004.

Gül, V., “Rize yöresine ait tıbbi ve aromatik bitkilere genel bir bakış”, **Iğdır Üni. Fen Bilimleri Enst. Der.** 4(4), 97-107, 2014.

Gülçen, B., Özcan, E., Kuş, M.A., Saygılı, Ö.K., Kaman, D., Ögetürk, M. ve Kuş, İ., “Omega-3 yağ asitlerinin sıçan karaciğer dokusunda bir grup metabolik enzim aktivitesi üzerine olumlu etkileri”, **Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi** 5(2), 62-68, 2016.

Gündüz, Z.Y., Katı faz mikroekstraksiyon yöntemi ile pestisitlerin gaz kromatografisinde tayini, Doktora Tezi, **Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul, s. 42, 2013.

İlbay, Z., Turunçgil meyve ve yapraklarının farklı ekstraksiyon yöntemleriyle ekstraksiyonu ve matematik modellemesi, Doktora Tezi, **İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul, s. 37-38, 2016.

İslam, A. ve Deligöz, H., “Ordu ilindeki karayemiş (*Laurocerasus officinalis* L.) seleksiyonu”, **Akademik Ziraat Dergisi** 1(1), 37-44, 2012.

Karabegovic, I.T., Stojicevic, S.S., Velickovic, D.T., Nikolic, N.C. and Lazic, M.L., “Optimization of microwave-assisted extraction of Cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.) fruit using response surface methodology”, **World Academy of Science, Engineering and Technology** 71, 351-356, 2012.

Karabulut, H.A. ve Yandı, İ., “Su ürünlerindeki omega-3 yağ asitlerinin önemi ve sağlık üzerine etkisi”, **Ege Üniv. Su Ürünleri Derg.** 23(1/3), 339-342, 2006.

Karaca, E. ve Aytaç, S., “Yağ bitkilerinde yağ asitleri kompozisyonu üzerine etki eden faktörler”, **O.M.Ü. Zir. Fak. Dergisi** 22(1), 123-131, 2007.

Karahalil, F.Y. and Şahin, H., “Phenolic composition and antioxidant capacity of Cherry laurel (*Laurocerasus officinalis* Roem.) sampled from Trabzon region, Turkey”, **African Journal of Biotechnology** 10(72), 16293-16299, 2011.

Karataş, E. ve Uçar, A., “Karayemiş’in sağlık üzerine etkisi”, **Sağlık Bilimleri Dergisi** 27(1), 70-75, 2018.

Kaufmann, B. and Christen, P., “Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction”, **Phytochem. Anal.** 13, 105-113, 2002.

Kaya, Y., Duyar, H.A. ve Erdem, M.E., “Balık yağ asitlerinin insan sağlığı için önemi”, **Ege Üniv. Su Ürünleri Derg.** 21(3/4), 365-370, 2004.

Kılıç, A., “Uçucu yağ elde etme yöntemleri”, **Bartın Orman Fakültesi Dergisi** 10(13), 37-45, 2008.

Kolaylı, S., Küçük, M., Duran, C., Candan, F. and Dinçer, B., “Chemical and antioxidant properties of *Laurocerasus officinalis* Roem. (cherry laurel) fruit grown in the Black Sea region”, **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 51, 7489-7494, 2003.

Konukoğlu, D., “Omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin özellikleri, etkileri ve kardiyovasküler hastalıklar ile ilişkileri”, **Türkiye Aile Hek. Derg.** 12(3), 121-129, 2008.

Korkmaz, M. ve Karakurt, E., “Kelkit (Gümüşhane) aktarlarında satılan tıbbi bitkiler”, **Süleyman Demirel Üniv. Fen Bil. Enst. Der.** 18(3), 60-80, 2014.

Koyuncu, İ., Yıldırım, İ. ve Duranoğlu, S., “Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal özellikleri”, **Türkiye 10. Gıda Kongresi**, Erzurum, s. 913-916, 21-23 Mayıs, 2008.

Kutlu, N., Yeşilören, G., İşçi, A. ve Şakıyan, Ö., “Konvansiyonel ekstraksiyona alternatif: yeşil teknolojiler”, *Gıda Dergisi* 42(5), 514-526, 2017.

Lang, Q. and Wai, C.M., “Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies –a practical review”, *Talanta* 53(4), 771-782, 2001.

Liu, S., Yang, F., Zhang, C., Ji, H., Hong, P. and Deng, C., “Optimization of process parameters for supercritical carbon dioxide extraction of Passiflora seed oil by response surface methodology”, *The Journal of Supercritical Fluids* 48(1), 9-14, 2009.

Luque de Castro, M.D. and Priego-Capote, F., “Soxhlet extraction: past and present panacea”, *Journal of Chromatography A* 1217(16), 2383-2389, 2010.

Luque-Garcia, J.L. and Luque de Castro, M.D., “Ultrasound-assisted soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment application to the extraction of total fat from oleaginous seeds”, *Journal of Chromatography A* 1034(1-2), 237-242, 2004.

McNair, H.M. and Miller, J.M., Basic Gas Chromatography, *John Wiley & Sons*, USA, 2009.

Mol, S., “Balık yağı tüketimi ve insan sağlığı üzerine etkileri”, *Journal of FisheriesSciences.com* 2(4), 601-607, 2008.

Murray, R.K., Harper’ın Biyokimyası, *Barış Kitapevi*, İstanbul, 1990.

Nakilcioğlu, E. ve Ötleş, S., “Basınçlı çözgen ekstraksiyonu ve gıda sanayiindeki uygulamaları”, *Akademik Gıda* 12(2), 88-94, 2014.

Nordby, H.E. and Nagy, S., “Fatty acids of triglycerides and sterol esters from duncan grapefruit, dancy mandarin and their tangelo hybrids”, *Phytochemistry* 13(10), 2215-2218, 1974.

Ortaköy, T., Trakya bölgesinde yetişen *Solanum dulcamara* L. (Solanaceae) bitkisinin yağ asitlerinin tayini ve hegzan/etilasetat ekstraktlarının antioksidan aktivitesinin belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, **Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Tekirdağ, s. 19-20, 2013.

Özer, P., Görgüç, A. ve Yılmaz, F.M., “Mikroalg teknolojisinin bitkisel dokulardan makro ve mikro bileşenlerin özütlenmesinde kullanımı”, **Gıda Dergisi** 43(5), 765-775, 2018.

Özgül-Yücel, S., “Determination of conjugated linolenic acid content of selected oil seeds grown in Turkey”, **J. American Oil Chem. Soc.** 82(12), 893-897, 2005.

Öztürk, M.O., “Esansiyel yağ asitlerinin insan metabolizması ve beslenmesi üzerine etkileri”, **Kocatepe Veteriner Dergisi** 7(2), 37-40, 2014.

Sekar, S. and Kandavel, D., “Interaction of plant growth promoting rhizobacteria (pgpr) and endophytes with medicinal plants-new avenues for phytochemicals”, **Journal of Phytology** 2(7), 91-100, 2010.

Sevindik, O. ve Selli, S., “Üzüm çekirdek yağı eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri”, **Gıda Dergisi** 42(1), 95-103, 2017.

Solomons, T.W.G., Organik Kimya, **Literatür Yayınları**, İstanbul, 2002.

Şahingöz, S.A., “Omega-3 yağ asitlerinin insan sağlığına etkileri”, **Gazi Üniv. Endüstriyel Sanatlar Eğitim Fak. Derg.** 21, 1-13, 2007.

Şengül, M. ve Topdaş, E.F., “Katı-sıvı ekstraksiyonunda kullanılan modern teknikler ve bu teknikler arasında ultrason yardımlı ekstraksiyonun yeri”, **Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg.** 50(2), 201-216, 2019.

Tandoğan, M., Raloksifen'in biyolojik materyalden ve farmasötik preparattan analizi için gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi yönteminin geliştirilmesi ve valide edilmesi, Yüksek Lisans Tezi, **Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Ankara, s. 25-28, 2012.

Taşan, M. ve Dağlıoğlu, O., "Trans yağ asitlerinin yapısı, oluşumu ve gıdalarla alınması", **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi** 2(1), 79-88, 2005.

Taşan, M. ve Geçgel, Ü., "Bitkisel karışım sıvı yağların yağ asiti bileşimlerinin incelenmesi", **Tekirdağ Ziraat Fakültesi Dergisi** 4(1), 1-5, 2007.

Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S. ve Akkaya, Z., "Bitkisel ürünlerin atıklarından antioksidan maddelerin ultrason destekli ekstraksiyonu", **Gıda Dergisi** 34(3), 175-182, 2009.

Tobiszewski, M., Mechlinska, A., Zygmunt, B. and Namiesnik, J., "Green analytical chemistry in sample preparation for determination of trace organic pollutants", **Trends in Analytical Chemistry** 28(8), 943-951, 2009.

Tunç, İ., Çalışkan, F., Özkan, G. ve Karacabey, E., "Mikrodalga destekli soxhlet cihazı ile fındık yağı ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu", **Akademik Gıda** 12(1), 20-28, 2014.

Türkay, S., Özgül-Yücel, S. ve Üstün, G., "Türkiye'nin gamma linolenik asit kaynakları ve potansiyeli üzerine bir çalışma", **IV. GAP Tarım Kongresi**, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, 1 Ocak, 2005.

Ulusoy, K. ve Karakaya, M., "Gıda endüstrisinde ultrasonik ses dalgalarının kullanımı", **Gıda Dergisi** 36(2), 113-120, 2011.

Vahapoğlu, B., Altan, E.N. ve Gülseren, İ., "Karayemiş meyvesinin biyoaktif özellikleri ve fonksiyonel gıdalarda kullanım potansiyeli", **Gıda Dergisi** 43(5), 751-764, 2018.

Vinatoru, M., "An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs", **Ultrasonics Sonochemistry** 8, 303-313, 2001.

Virost, M., Tomao, V., Ginies, C., Visinoni, F. and Chemat, F., “Green procedure with a green solvent for fats and oils’ determination microwave-integrated soxhlet using limonene followed by microwave clever distillation”, **Journal of Chromatography A** 1196-1197, 147-152, 2008.

Wang, L. and Weller, C.L., “Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants”, **Trends in Food Science & Technology** 17, 300-312, 2006.

Watson, J.T. and Sparkman, O.D., Introduction to Mass Spectrometry, **John Wiley & Sons**, England, 2008.

Yağcıoğlu, P., Farklı ekstraksiyon metotları ile adaçayı (*Salvia officinalis* L.) bitkisinden antioksidan ekstraksiyonunun optimizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, **İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü**, İstanbul, s. 27-30, 2015.

Yaman, T. ve Kuleaşan, Ş., “Uçucu yağ elde etmede gelişmiş ekstraksiyon yöntemleri”, **Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi** 1, 78-83, 2016.

Yılmaztekin, M., Erten, H. ve Cabaroğlu, T., “Gıda biyoteknolojisinde aroma maddelerinin süperkritik akışkan yöntemiyle ekstraksiyonu”, **Gıda Dergisi** 30(4), 269-274, 2005.

Yoruk, I.H., Turker, M., Kazankaya, A., Erez, M.E., Battal, P. and Celik, F., “Fatty acid, sugar and vitamin contents in rose hip species”, **Asian Journal of Chemistry** 20(2), 1357-1364, 2008.

Zougagh, M., Valcarcel, M. and Rios, A., “Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness”, **Trends in Analytical Chemistry** 23(5), 399-405, 2004.

ÖZ GEÇMİŞ

Medine Çolak 20.09.1986 tarihinde Çorum’da doğdu. İlköğretimini Ankara, orta ve lise öğretimini Kocaeli’de tamamladı. 2008 yılında eğitimine başladığı Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü’nden Haziran 2012’de kimyager ünvanı ile mezun oldu. 2012-2013 Öğretim yılında Niğde Ömer Halisdemir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisans öğrenimine başladı.



