



**İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**TURUNÇGİL YAPRAKLARINDAN ÇEŞİTLİ AYIRMA
YÖNTEMLERİ İLE UÇUCU YAĞ ELDESİ VE
BİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ**

**Kemal Özgür BOYANAY
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Temel İşlemler ve Termodinamik Programı**

**Danışman
Prof.Dr. Ş.İsmail KIRBAŞLAR**

Mart, 2013

İSTANBUL

Bu çalışma 20/03/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Mühendisliğı Anabilim Dalı Temel İşlemler ve Termodinamik programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi



Prof.Dr. Ş. İsmail Kırbaşlar (Danışman)

İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Prof.Dr. Umur DRAMUR
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Mehmet BİLGİN
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Doç. Dr. Erol İNCE
İstanbul Üniversitesi
Mühendislik Fakültesi



Yrd. Doç. Dr. Tuba ŞERBETÇİ
İstanbul Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'nin 21367 ve 22959 numaralı projeleri ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Öncelikle tezimi hazırlarken her zaman yanımda olan ve bana her konuda destek veren hocam Prof. Dr. Ş. İsmail KIRBAŞLAR'a teşekkür ederim. Laboratuvar çalışmalarım sırasında yardımını, bilgilerini ve tecrübelerini eksik etmeyen Arş. Gör. Dr. Selin ŞAHİN SEVGİLİ, Arş. Gör. Dr. Aslı GÖK, Arş. Gör. Dr. Selim AŞÇI, Arş. Gör. Melisa DEMİREL LALİKOĞLU ve Arş. Gör. Zeynep İLBAY'a teşekkür ederim.

Analizlerimde bilgisini ve yardımını eksik etmeyen Arş. Gör. Dr. Sibel ŞAHİNLER AYLAYLA ve İleri Analizler Araştırma Laboratuvarı'na; analizlerimin yorumlanmasında engin tecrübelerini paylaşan Prof. Dr. F. Gülay KIRBAŞLAR'a; numunelerimi temin eden Dr. Seylan TEPE ve tüm Batı Akdeniz Tarım Araştırma Enstitüsü personeli ile tüm Temel İşlemler ve Termodinamik Anabilim Dalı öğretim üyelerine ayrı ayrı teşekkür ederim. Tüm yüksek lisans eğitimim boyunca arkadaşlığını eksik etmeyen Duygu ÇETİNKAYA'ya teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım sırasında her zaman bana destek olan sevgili anne ve babama teşekkür ederim.

Çalışmalarımın deneysel kısmını destekleyen İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yürütücü Sekreterliği'ne teşekkürü borç bilirim.

Mart, 2013

Kemal Özgür BOYANAY

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL LİSTESİ	vii
TABLO LİSTESİ	ix
SEMBOL LİSTESİ	xi
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR	4
2.1. TURUNÇGİLLER	4
2.1.1. Turunçgillerin Kökeni	4
2.1.2 Turunçgillerde Yaprak Yapısı	5
2.1.3. Bazı Turunçgil Türleri.....	7
2.1.3.1. Limon	7
2.1.3.2. Mandalina	10
2.1.3.3. Turunç	12
2.1.3.4. Portakal.....	13
2.1.3.5. Greyfurt.....	14
2.1.3.6. Bergamot.....	15
2.1.3.7. Şadok.....	16
2.1.3.8. Ağaç Kavunu	17
2.2. UÇUCU YAĞLAR	17
2.2.1. Konkret	19
2.2.2. Absolut	19
2.2.3. Rezinoit	19
2.2.4. Pomat.....	19
2.2.5. Tentür.....	19

2.2.6. Balsam	19
2.2.7. Reçine	20
2.2.8. Yağ Reçinesi.....	20
2.3. UÇUCU YAĞLARIN SINIFLANDIRILMASI	20
2.3.1. Uçucu Yağların Koku ve Tat Özelliklerine Göre Sınıflandırılması	20
2.3.2. Uçucu Yağların Farmakolojik ve Terapik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması	21
2.3.3. Uçucu Yağların Bulundukları Bitkilere Göre Sınıflandırılması	21
2.3. UÇUCU YAĞLARIN KİMYASAL BİLEŞİMİ.....	21
2.3.1. Monoterpenler	23
2.3.1.1. Asiklik Monoterpenler	24
2.3.1.2. Monosiklik Monoterpenler	25
2.3.1.3. Bisiklik Monoterpenler	26
2.3.1.4. Trisiklik Monoterpenler	27
2.3.1.5. Düzensiz Monoterpenler	27
2.3.2. Seskiterpenler	28
2.3.2.1. Asiklik Seskiterpenler	28
2.3.2.2. Monosiklik Seskiterpenler	29
2.3.2.3. Bisiklik Seskiterpenler	29
2.3.2.4. Trisiklik Seskiterpenler.....	29
2.3.3. Diterpenler	30
2.3.4. Triterpenler	30
2.3.5. Tetraterpenler	31
2.4. UÇUCU YAĞLARDA KEMOTİPLER.....	31
2.4. UÇUCU YAĞ ELDE ETME YÖNTEMLERİ.....	32
2.4.1. Soğuk Presleme	32
2.4.2. Destilasyon	32

2.4.2.1. Su Destilasyonu.....	32
2.4.2.2. Su ve Buhar Destilasyonu	33
2.4.2.3. Doğrudan Doğruya Buhar Destilasyonu	33
2.4.2.4. Kuru Destilasyon.....	33
2.4.2.5. Vakum Destilasyonu.....	33
2.4.3. Ekstraksiyon	34
2.4.3.1. Maserasyon	34
2.4.3.2. Enfloraj	34
2.4.3.3. Çözücü Ekstraksiyonu	34
2.4.3.4. Mikrodalgayla Ekstraksiyon	35
2.4.3.5. Soxhlet Ekstraksiyonu	35
2.4.3.6. Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu (SPME)	37
2.4.3.6. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SCFE)	37
2.5. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS).....	43
2.5.1. Taşıyıcı Gaz	44
2.5.2. Enjeksiyon Portu.....	44
2.5.3. Kolon	45
2.5.4. Fırın	46
2.5.5. Dedektörler	46
2.5.6. Kütle Spektrometresi.....	47
2.6. UV-GÖRÜNÜR BÖLGE SPEKTROMETRESİ	49
2.7. ANTİOKSİDAN MADDELER.....	52
2.5.1. DPPH Radikali Söndürücü Kapasite Yöntemi	54
2.5.2. Folin-Ciocalteu Toplam Fenolik Madde Tayin Yöntemi	55
2.6. KONUyla İLGİLİ DAHA ÖNCE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR.....	55
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	60
3.1. MALZEMELER	60

3.1.1. Kullanılan Bitkisel Malzemeler	60
3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	62
3.1.3. Kullanılan Aletler	62
3.2. YÖNTEMLER.....	62
3.2.1. Su Destilasyonu	62
3.2.2. Uçucu Yağ Verim Tayini.....	64
3.2.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu.....	65
3.2.4. Toplam Fenolik Madde Tayini	67
3.2.5. Antioksidan Kapasite Tayini.....	67
3.2.6. GC-MS Analiz Şartları	68
3.2.7. Bileşenlerin Tanımlanması	68
4. BULGULAR	69
4.1. UÇUCU YAĞ VERİM TAYİNİ SONUÇLARI	69
4.2. SD YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN KİMYASAL BİLEŞİMLERİ	70
4.2.1. Interdonato Limon	70
4.2.2. Turunç	73
4.2.3. Yerli Mandalina	76
4.3. SCFE VE SD YÖNTEMLERİ İLE ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞ VE ÖZÜTLERİN ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİ	80
4.4. SCFE VE SD YÖNTEMLERİ İLE ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞ VE ÖZÜTLERİN TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARLARI	82
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	86
5.1. INTERDONATO LİMON	86
5.2. TURUNÇ	88

5.3. YERLİ MANDALINA.....	89
KAYNAKLAR.....	92
ÖZGEÇMİŞ.....	99

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 : Portakal ağacı yaprağının yapısı	6
Şekil 2.2 : Limon meyvesi ve yaprağı	7
Şekil 2.3 : Mandalina meyvesi ve yaprağı.....	11
Şekil 2.4 : Turunç meyvesi ve yaprağı	12
Şekil 2.5 : Portakal meyvesi ve yaprağı.....	13
Şekil 2.6 : Greyfurt meyvesi ve yaprağı	15
Şekil 2.7 : Bergamot meyvesi ve yaprağı	16
Şekil 2.8 : Şadok.....	16
Şekil 2.9 : Ağaç kavunu meyvesi ve yaprağı.....	17
Şekil 2.10 : Çeşitli uçucu yağlar	18
Şekil 2.11 : İzopren.....	22
Şekil 2.12 : İndol	22
Şekil 2.13 : Terpenlerde baş-kuyruk bağlanması	22
Şekil 2.14 : Terpen ve terpenoitlerin baş-kuyruk bağlanması	23
Şekil 2.15 : 2,6-dimetil oktan	24
Şekil 2.16 : Turunçgillerden elde edilen uçucu yağlardaki bazı asiklik monoterpen ve monoterpenoitler	25
Şekil 2.17 : p-mentan.....	26
Şekil 2.18 : Turunçgil uçucu yağlarındaki bazı monosiklik monoterpen ve monoterpenoitler	26
Şekil 2.19 : Turunçgil uçucu yağlarındaki bazı bisiklik monoterpenler.....	27
Şekil 2.20 : Trisiklik monoterpen bileşiklerinden trisiklen	27
Şekil 2.21 : Bazı düzensiz monoterpenler	28
Şekil 2.22 : Bazı asiklik seskiterpenler.....	28
Şekil 2.23 : α -Bisabolen.....	29
Şekil 2.24 : Bazı bisiklik seskiterpenler	29

Şekil 2.25 : α-Sedren	29
Şekil 2.26 : Abiyetik asit	30
Şekil 2.27 : Ganoderik asit.....	30
Şekil 2.28 : β-Karoten.....	31
Şekil 2.29 : Soxhlet ekstraktörü.....	36
Şekil 2.30 : CO₂ basınç-sıcaklık grafiği	40
Şekil 2.31 : Gaz kromatografisi sisteminin şematik gösterimi	44
Şekil 2.32 : DPPH bileşiğinin radikal ve radikal olmayan halleri.....	55
Şekil 3.1 : Interdonato limon yaprakları	60
Şekil 3.2 : Yerli mandalina yaprakları.....	61
Şekil 3.3 : Turunç yaprakları	61
Şekil 3.4 : Clevenger tipi su destilasyonu aparatı.....	63
Şekil 3.5 : Denemelerde kullanılan Nüve CN180 model santrifüj	63
Şekil 3.6 : Uçucu yağ verim tayini aparatı	64
Şekil 3.7 : Süperkritik akışkan ekstraksiyonu cihazı	65
Şekil 3.8 : Süperkritik akışkan ekstraksiyonun da kullanılan 24 mL hacimli ekstraktör	66
Şekil 3.9 : Antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde tayinlerinde kullanılan UV spektrofotometre	67
Şekil 4.1 : Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağlardaki bileşenlerin kimyasal gruplar açısından karşılaştırılması.....	79
Şekil 4.2 : Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemiyle elde edilen özütlerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması.....	82
Şekil 4.3 : SCFE yöntemiyle elde edilen özütler için gallik asit standart eğrisi.....	83
Şekil 4.4 : Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemiyle elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarlarının karşılaştırılması.....	85

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.1 : Limonlarda hasat zamanı	8
Tablo 2.2 : Limon üretim miktarlarının yıllara göre değişimi	8
Tablo 2.3 : Önemli limon üreticisi ülkeler ve üretim miktarları	9
Tablo 2.4 : Türkiye’deki limon üretim miktar, verim ve alanları	9
Tablo 2.5 : Ülkemizde yetiştirilen bazı mandalina çeşitlerinin ihracat miktar ve değerleri	10
Tablo 2.6 : Mandalina çeşitlerinin hasat zamanları.....	11
Tablo 2.7 : Başlıca önemli portakal çeşitlerinin hasat zamanları.....	14
Tablo 2.8 : Bazı maddelerin kritik sıcaklık ve kritik basınç değerleri	41
Tablo 2.9 : Süperkritik CO ₂ ekstraksiyonun da kullanılabilecek bazı yardımcı çözücüler	42
Tablo 2.10 : Bazı dedektörler ve kullanım alanları.....	47
Tablo 2.9 : Doğal antioksidan maddeler (Turhan ve Üstün, 2006).....	53
Tablo 2.10 : Bazı reaktif oksijen türleri ve nötralize eden antioksidan maddeler (Percival, 1996).....	54
Tablo 4.1 : Yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağların verimleri.....	69
Tablo 4.2 : Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağların verimleri.....	69
Tablo 4.3 : Turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağların verimleri	70
Tablo 4.4 : SD yöntemi uygulanarak Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi (% w/w).....	70
Tablo 4.5: Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki bileşik sınıflarının % w/w oranları	73
Tablo 4.6 : SD yöntemi uygulanarak turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi (% w/w)	73
Tablo 4.7 : Turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki bileşik sınıflarının % w/w oranları.....	76
Tablo 4.8 : SD yöntemi uygulanarak yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi (% w/w)	76

Tablo 4.9 : Yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki bileşik sınıflarının % w/w oranları	78
Tablo 4.10 : Interdonato limon yapraklarından SCFE ve SD yöntemleriyle elde edilen uçucu yağ ve özütlerin antioksidan kapasiteleri	80
Tablo 4.11 : Turunç yapraklarından SCFE ve SD yöntemleriyle elde edilen uçucu yağ ve özütlerin antioksidan kapasiteleri.....	81
Tablo 4.12 : Yerli mandalina yapraklarından SCFE ve SD yöntemleriyle elde edilen uçucu yağ ve özütlerin antioksidan kapasiteleri	81
Tablo 4.13 : Interdonato limon yapraklarından SCFE yöntemi ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları.....	84
Tablo 4.14 : Turunç yapraklarından SCFE yöntemi ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları.....	84
Tablo 4.15 : Yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemi ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları.....	84

SEMBOL LİSTESİ

O₂⁻	: Süperoksit
OH⁻	: Hidroksil
ROO⁻	: Peroksil
RO⁻	: Alkoksil
Q⁻	: Semikinon
NO⁻	: Nitrik oksit
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
ONOO⁻	: Peroksinitrit
¹O₂	: Singlet oksijen
DPPH	: 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
SCFE	: Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (Supercritical fluid extraction)
SPME	: Katı faz mikro ekstraksiyonu (Solid phase micro extraction)
SD	: Su destilasyonu
BHT	: Bütil hidroksi toluen
BHA	: Bütil hidroksi anisol
ROS	: Reaktif oksijen türleri (Reactive oxygen species)
GSC	: Gaz-katı kromatografisi (Gas-solid chromatography)
GLC	: Gaz-sıvı kromatografisi (Gas-liquid chromatography)
RI	: Alıkonma indisi (Retention index)
WCOT	: Duvar kaplamalı açık borusal kolon
SCOT	: Destek kaplı açık borusal kolon
PLOT	: Gözenekli tabaka içeren açık borusal kolon
WSCOT	: Duvar kaplamalı üstün kapasiteli açık borusal kolon
FID	: Alev iyonlaştırma dedektörü (Flame ionization dedector)
TCD	: Isısal iletkenlik dedektörü (Thermal conductivity dedector)
ECD	: Elektron yakalama dedektörü (Electron capture dedector)
PID	: Foto iyonizasyon dedektörü (Photo ionization dedector)
FPD	: Alev fotometrik dedektörü (Flame photometric dedector)
SIM	: Seçilmiş iyon görüntülemesi (Selected ion monitoring)
HRGC	: Yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi
HRGC-MS	: Yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi

ÖZET

TURUNÇGİL YAPRAKLARINDAN ÇEŞİTLİ AYIRMA YÖNTEMLERİ İLE UÇUCU YAĞ ELDESİ VE BİLEŞİMİNİN İNCELENMESİ

Türkiye’de yılda yaklaşık olarak 2.700.000 ton civarında turunçgil üretimi yapılmaktadır. Bu üretim dünya turunçgil üretiminin yaklaşık % 3’nü oluşturmaktadır ve Türkiye bu üretim miktarı ile dünya sıralamasında ilk 10 ülke arasında yer almaktadır. Yetiştirilen başlıca turunçgil türleri portakal, mandalina, greyfurt, limon ve turunçtur. Türkiye’de turunçgil üretimi yaygın olarak yapılmasına rağmen bu meyvelerden uçucu yağ elde edilmesi yaygınlaşmamıştır. Portakal yağı Brezilya, İngiltere, Fransa, İsrail ve Hollanda; limon yağı ise İngiltere, İspanya, Brezilya, İtalya ve Almanya gibi ülkelere ithal edilmektedir.

Bu çalışmada Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü turunçgil üretim sahasında yetiştirilen Interdonato limon, yerli mandalina ve turunç ağaçlarının yapraklarından su destilasyonu (SD) ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SCFE) yöntemleri kullanılarak uçucu yağ ve özütler elde edilmiştir. SD yöntemi kullanılarak elde edilen uçucu yağların kimyasal yapısı Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi yöntemi kullanılarak aydınlatılmıştır. Ayrıca elde edilen uçucu yağ ve özütlerin antioksidan kapasiteleri DPPH yöntemi; özütlerin toplam fenolik madde içerikleri ise Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenmiştir.

Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağda toplam 51 bileşen tespit edilmiştir. Bu uçucu yağın kimyasal bileşiminin % 63,56’sını monoterpen hidrokarbonlar, % 0,63’ünü seskiterpen hidrokarbonlar ve % 35,64’ünü de oksijenli bileşikler oluşturmaktadır. Turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağ toplam 48 bileşenden oluşmaktadır. Bu uçucu yağın en büyük kısmını (% 92,48) oksijenli bileşikler oluşturmaktadır. Geri kalan kısmının % 6,77’sini monoterpen hidrokarbonlar; % 0,64’ünü de seskiterpen hidrokarbonlar oluşturmaktadır. Yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağda ise toplam 41 bileşen tespit edilmiştir. Bu uçucu yağın % 55,58’ini diğer iki yağda bulunmayan ve karakteristik kokuya fazlaca katkısı olan metil-N-metil antranilat bileşiği oluşturmaktadır. Yağın % 42,00’ını monoterpen hidrokarbonlar; % 1,24’ünü seskiterpen hidrokarbonlar ve % 56,68’ini oksijenli bileşikler oluşturmaktadır.

Uçucu yağ ve özütlerin antioksidan kapasiteleri incelendiğinde yerli mandalinadan elde edilen ürünlerin en fazla oranda antioksidan etki gösterdikleri görülmektedir. Bu durum Interdonato limon yapraklarından elde edilen ürünlerde en düşük seviyededir. Toplam fenolik madde miktarlarının ise genel olarak antioksidan kapasiteleriyle paralellik gösterdiği söylenebilir. En yüksek fenolik madde içeriği yerli mandalinadan elde edilen ürünlerdeyken, en düşük seviye ise Interdonato limon yapraklarından elde edilen ürünlerdedir.

SUMMARY

OBTAINING OF ESSENTIAL OIL FROM CITRUS LEAVES BY SEVERAL SEPARATION METHODS AND INVESTIGATION OF ITS CONTENT

In Turkey, approximately 2.700.000 tons of citrus are cultivated every year. This cultivation is approximately 3 % of world's total citrus cultivation. Turkey is among top 10 countries in world ranking with this production amount. The main citrus species that are cultivated are orange, mandarin, grapefruit, lemon and bitter orange. In Turkey, although citrus species are cultivated extensively, production of essential oil from these fruits is not so common. Orange oil is imported from countries like Brazil, England, France, Israel and Netherlands. Lemon oil is imported from countries like England, Spain, Brazil, Italy and Germany.

In this study, essential oils and extracts are obtained from Interdonato lemon, Mediterranean mandarin and bitter orange leaves that are cultivated in citrus cultivation area of Batı Akdeniz Agricultural Research Institute (Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü) by hydrodistillation and supercritical fluid extraction. The chemical composition of products which are obtained by hydrodistillation method were analysed by Gas Chromatography/Mass Spectroscopy. Also, antioxidant capacity of essential oils and extracts of these three species were analysed by DPPH method. Total phenolic content of extracts were analysed by Folin Ciocalteu method.

51 components were identified in essential oil obtained from Interdonato lemon leaves. The chemical composition of this essential oil was composed of 63,56 % of monoterpene hydrocarbons, 0,63 % of sesquiterpene hydrocarbons and 36,64 % of oxygenated components. Essential oil that was obtained from bitter orange leaves was composed of 48 components. The most part of this essential oil is composed of 92,48 % of oxygenated components. 6,77 % of remained part of it is composed by monoterpene hydrocarbons. 0,64 % of it is composed by sesquiterpene hydrocarbons. 41 components was identified in essential oil obtained from Mediterranean mandarin leaves. This essential oil contains methyl-N-methyl anthranilate that does not include in other two oil and has characteristic odour. The oil was composed of 42,00 % of monoterpene hydrocarbons, 1,24 % of sesquiterpene hydrocarbons and 56,68 % of oxygenated components.

When we consider antioxidant capacities of essential oils and extracts obtained from citrus species, it can be seen that the antioxidant capacity of products obtained from Mediterranean mandarin are the highest one. Products obtained from Interdonato lemon leaves have the lowest antioxidant capacity. Amount of total phenolic content resembles the situation that the antioxidant capacities of these three species have. Products obtained from Mediterranean mandarin leaves have the highest total phenolic content. Products obtained from Interdonato lemon leaves have the lowest total phenolic content.

1. GİRİŞ

Turunçgiller; turunç, portakal, mandalina, greyfurt, bergamot ve limon gibi ekonomik değeri yüksek olan *Citrus* cinsi meyve ağacı türlerini içine alan bir bitki topluluğudur. Bu bitkilerin meyveleri gıda olarak tüketilebilmektedir. Ayrıca meyve kabuklarından, yapraklarından veya çiçeklerinden parfümeride kullanılan uçucu yağlar da elde edilmektedir (Akgün, 2006).

Uçucu yağlar tamamen doğal olan ürünlerdir. Koku ve gıda aromaları için çok değerli ve önemli hammaddelerdir. Uçucu yağlar ve aromatik özütler parfüm ve gıda aromalarında direkt olarak kullanılabilmektedirler. Bunun dışında bu yağlar ve özütlerdeki seçilmiş fraksiyonlar ya da izole edilmiş bazı maddeler de parfüm ve gıda aromalarında kullanılabilmektedir (Başer, 2000).

Kimyasal yapılarında en büyük grubu terpenler oluşturmaktadır. Bununla birlikte yapılarında az miktarda alkol, aldehit, ester ve fenol gruplarını içeren terpenoidler ile azot ve kükürt içeren bileşikler de bulunmaktadır. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler olan terpenoidler koku, tat ve terapik özellikteki maddelerdir. Roma, Yunan ve özellikle Mısır medeniyetlerinde uçucu yağlar yaygın olarak kullanılmıştır. Son yıllarda alternatif tıbbın bir dalı olarak görülen aromaterapiye karşı duyulan ilgi, uçucu yağ kullanımını da artırmıştır. Uçucu yağlar, terapilerde uygulanan masajlarda ya da rahatlatıcı banyolarda kullanılmaktadır. Bunun dışında uçucu yağlar yaygın olarak parfüm, kozmetik, gıda ve içecek sanayilerinde, ev temizlik ürünlerinde kullanılmaktadır. Sedir ve lavanta yağları gibi bazı yağlar ise böcek kovucu özelliğe ile dikkat çekmektedir (Kılıç, 2008).

Dünya genelinde toplam narenciye üretimi yaklaşık olarak 100.000.000 ton civarındadır. Bu miktarın yaklaşık beşte birini Brezilya'da yetiştirilen narenciye ürünleri oluşturmaktadır. Akdeniz ülkelerinde ise en büyük üretici İspanya olmakla birlikte toplam üretim rakamı yaklaşık 17.000.000 ton civarındadır (Akgün, 2006).

Ülkemizde oldukça eski bir geçmişe sahip olan turunçgil yetiştiriciliği Cumhuriyet dönemiyle birlikte gelişmeye başlamış ve 1930 yılından itibaren üretimde önemli artışlar olmuştur. Ülkemiz, Akdeniz Havzası turunçgil üretici ülkelere bakıldığında önemli bir potansiyele sahiptir. Bu nedenle Türkiye Yaş Sebze ve Meyve ihracatının lokomotifini Türk turunçgil ürünleridir (Bedestenci ve Vuruş, 2000).

Türkiye'deki turunçgil üretiminde 1970-1997 yılları arasında bir artış gözlenmiştir. 1970 yılında 655.700 ton olan üretim yaklaşık iki katı kadar artarak 1997 yılında 1.433.000 tona ulaşmıştır. 2000 yılı itibariyle de Türkiye turunçgil üretim miktarı 2.168.000'e ulaşmıştır. 2004 yılı itibariyle de bu miktar yaklaşık olarak 2.707.500 tona ulaşmıştır. Böylelikle Türkiye narenciye üretiminde dünyada ilk on arasına girmiştir. Ülkemizde yaklaşık 92.000 hektar alanda narenciye üretimi yapılmaktadır. Ülkemizde narenciye üretim potansiyeli çok yüksektir fakat yeterli üretim ve ihracat rakamlarına henüz ulaşamamıştır. Halen üretimin büyük kısmı yurt içinde tüketilmekte ve % 30'luk kısmı ise ihraç edilmektedir. (Akgün, 2006; Bedestenci ve Vuruş, 2000; Özkan ve diğ., 2003).

Toplam turunçgil üretimi içindeki en büyük paya % 51,6'lık bir oranla portakal sahiptir. Portakal üretiminin ardından üretim açısından en önemli turunçgil türleri sırasıyla mandalina (% 25,5), limon (% 18,8), altıntop (% 3,8) ve turunçtur (% 0,3). Bölgeler açısından bakıldığında turunçgil üretimi açısından en önemli iki bölgenin Ege ve Akdeniz olduğu söylenebilir. 2000 yılındaki verilere göre Akdeniz Bölgesi % 84,48'lik bir turunçgil üretim payına sahiptir. Antalya'da 2000 yılında üretilen turunçgil miktarı 334.506 tondur. Antalya Türkiye'deki turunçgil üretiminin % 15,43'üne sahiptir (Bedestenci ve Vuruş, 2000; Özkan ve diğ., 2003).

Türkiye'de turunçgil yetiştiren işletmeler genellikle küçük ölçeklidir. AB ile kıyaslanacak olursa ortalama işletme büyüklüğü AB'deki en büyük rakip ülkelerden küçüktür (İspanya'ya göre). Maliyetlerin düşürülmesindeki en büyük engel işletme ölçeklerinin küçük ve üreticilerin örgütsüz olmasıdır. Ürün çeşidi az ve hasat sezonu kısadır (İspanya'ya göre). Üretici fiyatları ve toptan fiyatlar İspanya'dan çok düşüktür. Türkiye'nin turunçgil meyvelerinde ihracat birim fiyatları neredeyse İspanya'nın ihracat birim fiyatlarının yarısı kadardır (Koç ve diğ., 2008).

Turunçgillerin yanısıra Türkiye’deki uçucu yağ üretimine genel olarak bakarsak üretimi yapılan en önemli uçucu yağın gül yağı olduğu söylenebilir. Bu uçucu yağ Isparta yöresi başta olmak üzere Burdur, Afyon ve Denizli’de yetiştirilen güllerin çiçeklerinden elde edilmektedir. Türkiye’de son yıllarda gül yağı üreten tesisler dışında diğer bazı bitkilerden uçucu yağ üreten tesislerin sayısında da bir artış görülmektedir. Antalya, Mersin, Manisa, Muğla ve Hatay gibi illerde kurulu tesislerde kekik, defne, kır nanesi, biberiye, kimyon, mersin, limon yaprağı, anason, melisa ve sığla ağacı gibi bitkilerden uçucu yağ üretimi yapılmaktadır (Bektaşoğlu, 2008).

2. GENEL KISIMLAR

2.1. TURUNÇGİLLER

Turunçgiller, *Rutaceae* (Sedef otugiller) familyasının *Aurantioideae* alt familyasında bulunan *Citrus* cinsine ait portakal, mandalina, limon, turunç, bergamot gibi türlerden oluşmaktadır. *Rutaceae* familyası 150 cins ve 1600 kadar tür içermektedir. *Citrus* cinsinin bulunduğu alt familya olan *Aurantioideae* alt familyası *Rutaceae* familyasındaki 7 alt familyadan biridir. *Citreae* ve *Clauseneae* olmak üzere 2 soya ayrılır. *Aurantioideae* alt familyası 33 cins ve 203 kadar tür içermektedir. *Citrus* cinsi *Citreae* soyundaki 3 alt soydan birisi olan *Citrinae* alt soyundaki 13 cinsten biridir. Ayrıca *Citrus* cinsi *Aurantioideae* alt familyasında bulunan temel cinstir. *Citrus* cinsi yaprak, çiçek ve meyve özellikleri bakımından birbirinden kolayca ayırt edilebilen *Eucitrus* ve *Papeda* olmak üzere 2 alt cinse ayrılmaktadır. *Eucitrus* alt cinsi portakal, mandalina, limon ve greylort gibi yenilebilen birçok *Citrus* türünü içermektedir. *Papeda* alt cinsi ise yenilmeyen, tatları acı ve ekşi olan *Citrus* türlerini içermektedir (Digo ve Giacomo, 2002; Roy ve Goldschmidt, 1996; Ağar, 2007).

2.1.1. Turunçgillerin Kökeni

Turunçgillerin coğrafik kökeni hakkında birçok hipotez öne sürülmüştür. Webber'in 1967 ve Chapot'un 1975'de yapmış oldukları çalışmalara göre turunçgiller Asya'nın güneydoğusu, Hindistan'ın kuzeydoğusu, Çin'in güneyi, Çin-Hindistan yarımadası ve Malay Takımadaları'nın tropik bölgelerinde oluşturulmuş ve daha sonra diğer kıtalara yayılmıştır. Tolkowsky 1938'deki çalışmasına göre turunçgillerin anavatanının güney Çin ile kuzeydoğu Hindistan olduğunu söylemiştir (Khan, 2007).

Bu bağlamda turunçgillerin birinci derece anavatanı güneydoğu Çin, Tayland, Vietnam, Kamboçya, Malezya ve Çin'in güney kıyıları ile Sarı Irmak vadisi içleridir. İkinci derece anavatanı ise Himalayalar'ın güney etekleri, Endonezya Adaları, Avustralya'nın kuzeyi, Yeni Gine ve Timor Adası, Filipinler, Japonya ve Tayvan'dır. Turunçgiller diğer bitki gruplarına göre genç bir bitki sınıfıdır. Yaklaşık olarak 20 milyon yıllık geçmişe sahiptir (Kafa ve Canihoş, 2010).

Turunçgillerin yayılımı ise toplumsal, ticari ve kültürel gelişmelerle olmuştur. M.Ö. 400-500 yıllarında Ortadoğu'ya geldiği, sonra Fenikeliler ve Yunanlılar vasıtasıyla Akdeniz'e ulaştığı bildirilmiştir. Daha sonra coğrafi keşiflerle Amerika'ya (Florida) geçmiştir. Portekizliler vasıtasıyla Brezilya; İngilizler vasıtasıyla Avustralya'ya götürülmüştür. Bildiğimiz anlamda turunçgil yetiştiriciliğine 19. yüzyılda başlanmıştır. Anadolu'ya M.Ö. 3. yüzyılda geldiği sanılmaktadır. Turunçgillere ait ilk yazılı eser 17. yüzyıla aittir. Mandalina ülkemize Rusya üzerinden gelerek Karadeniz'e geçmiştir. Bu çeşit Satsuma mandalinasıdır. Portakal ve limon İtalya'dan; Altıntop ise Amerika'dan ülkemize giriş yapmıştır. Türkiye'de turunçgil üretimi ilk olarak Akdeniz ve Ege kıyılarında başlamıştır. Zaman içerisinde Marmara ve Karadeniz kıyılarında da turunçgil üretimi yapılır hale gelmiştir. (Ağar, 2007; Uysal, 2012).

Turunçgil yetiştiriciliği dünyada 40° kuzey enlemleri ile 40° güney enlemi arasında yapılmaktadır. Bu anlamda üç ana bölge vardır (Ağar, 2007).

Tropik Bölge: 23° kuzey enlemi ile 23° güney enlemi arasında kalan alanları kapsamaktadır.

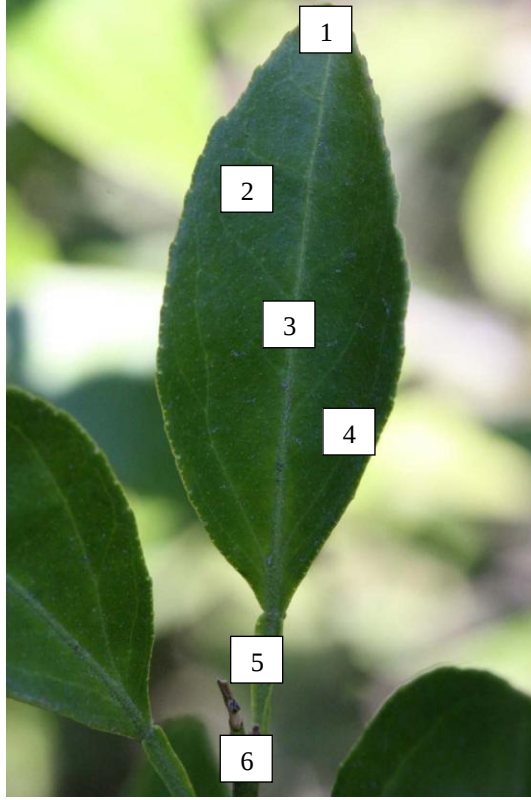
Semitropik Bölge: 23° – 30° kuzey enlemi ile 23° – 30° güney enlemi arasında kalan kısımları kapsamaktadır.

Subtropik Bölgeler: 30° – 40° kuzey enlemi ile 30° – 40° güney enlemi arasında kalan alanları içermektedir (Ağar, 2007).

Türkiye 36°-42° kuzey enlemleri arasında yer aldığından Türkiye'nin turunçgil yetiştirilebilmesi için en üst kuzey sınırında yer aldığı söylenebilir. Türkiye'nin kuzeyindeki ülkeler bu açıdan incelendiğinde turunçgil yetiştiriciliği için elverişli değildir.

2.1.2 Turunçgillerde Yaprak Yapısı

Turunçgillerde yapraklar diğer birçok yaprak türünde olduğu gibi birkaç kısımdan meydana gelmiştir. Bu kısımlar tepe, yaprak ayası, orta damar, yan damarlar, petiyol ve gövde olarak adlandırılabilir. Şekil 2.1'de bir portakal türünün yaprağı ve kısımları görülmektedir.



Şekil 2.1 : Portakal ağacı yaprağının yapısı

1. Tepe,
2. Yaprak ayası,
3. Orta damar,
4. Yan damar,
5. Petiyol,
6. Gövde

Yaprakların üst kısımları alt kısımlarına göre daha koyu renklidir. Orta kısımdan geçen belirgin bir damar bulunmaktadır. Boy-en oranları mandalina yapraklarında yüksek; portakal ve limon yapraklarında ise düşüktür. Yaprak boyunca küçük noktalar şeklinde yağ kesecikleri görülebilmektedir. Bu kesecikler yaprağın kenarlarında daha bol miktardadır. Yaprakların ezilmesiyle uçucu yağ bu keseciklerden dışarı çıkar. Stomalar (gözenek) genellikle yaprağın alt kısımlarında bulunmaktadır (Digo ve Giacomo, 2002).

2.1.3. Bazı Turunçgil Türleri

2.1.3.1. Limon

Ilıman iklimin olduğu bütün ülkelerde çeşitli kültür şekilleri yetiştirilen, ağaçları küçük olan, yaprak dökmeyen ve uçucu yağ içeren bir meyvedir. Anavatanı Hindistan'ın kuzeyi ve Çin'in güneyidir. Asidi yüksek Akdeniz tipi limon ise M.Ö. 3000'li yıllarda bugünkü Irak sınırları içerisinde yetişmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda limonun turunç (*Citrus aurantium*) ve ağaç kavunu (*Citrus medica*) melezi olduğu bulunmuştur . Genellikle yüksek miktarlarda asit içerirler. Fakat asit içermeyen türleri de bulunmaktadır (Anon, 2008a; Kafa ve Canıhoş, 2010; Digo ve Giacomo, 2002). Şekil 2.2'de limon meyvesi ve yaprağı görülmektedir.



Şekil 2.2 : Limon meyvesi ve yaprağı

Limon Türkiye'nin mevcut turunçgil üretiminin %20'sini oluşturmaktadır. Başlıca önemli limon çeşitleri Lamas, İtalyan Memeli, Molla Mehmet, Kıbrıs, Kütdiken, Interdonato, Mayer, Lisbon ve Lime limonlarıdır. Limonlarda hasat zamanları Tablo 2.1'de verilmiştir.

Tablo 2.1 : Limonlarda hasat zamanı

Limon çeşidi	Hasat zamanı
Lamas	Kasım
İtalyan Memeli	Ekim-Kasım
Molla Mehmet	Kasım-Ocak
Kıbrıs	Kasım
Kütdiken	Kasım-Şubat
Interdonato	Eylül-Ekim
Mayer	Eylül
Lisbon	Aralık-Mart
Lime	Eylül-Ekim

Turunçgillerde tür ve çeşit dağılımı bölgelere özgüdür. Her bölgenin kendine özgü türleri vardır. Bu durum limon için değerlendirildiğinde Doğu Akdeniz Bölgesi'nde Kütdiken, İtalyan Memeli, Interdonato, Molla Mehmet ve Lamas limonları; Batı Akdeniz Bölgesi'nde Interdonato ve Kıbrıs limonları; Ege Bölgesi'nin güney kısmında ise Interdonato limonu üretimi yapılmaktadır (Anon, 2008a).

Limon yaprak yağlarında ana bileşen olarak limonen bulunmaktadır. Limonen dışında en çok bulunan bileşikler ise β -pinen, neral ve geranialdır. Neral ve geranial bileşikleri sitral bileşiğinin iki izomeridir (Dugo ve Mondello, 2011).

Dünyada 2009 yılı verilerine göre 1.014.635 ha alanda 13.949.600 ton limon üretimi yapılmaktadır. Veriler Tablo 2.2'de görülmektedir (Anon, 2010).

Tablo 2.2 : Limon üretim miktarlarının yıllara göre değişimi

Yıllar	Üretim Alanı (ha)	Verim (ton/da)	Üretim Miktarı (ton)
2004	834.662	1446,5	12.073.397
2005	761.467	1591,4	12.117.830
2006	967.484	1360,7	13.164.949
2007	979.573	1333,0	13.057.963
2008	1.019.231	1326,7	13.522.634
2009	1.014.635	1374,8	13.949.600

2009 yılındaki üretim miktarlarına göre önemli limon üreticisi ülkeler ve üretim miktarları Tablo 2.3’de verilmiştir (Anon, 2010).

Tablo 2.3 : Önemli limon üreticisi ülkeler ve üretim miktarları

Sıra No	Ülke	Üretim miktarı (ton)
1	Arjantin	1.260.000
2	Çin	1.017.166
3	ABD	827.350
4	Türkiye	783.587
5	İspanya	620.300
6	İtalya	522.700
7	Mısır	330.000
8	Güney Afrika	214.415
9	Peru	211.159

Türkiye’de 2004-2009 yılları arasında limon üretim alanı bakımından yaklaşık % 7,6’lık bir artış olmasına rağmen üretim miktarı bakımından % 30,6’lık bir artış meydana gelmiştir. Türkiye’deki limon üretimi miktarı ve üretim alanları Tablo 2.4’de verilmiştir (Demir ve Kaya, 2009)

Tablo 2.4 : Türkiye’deki limon üretim miktar, verim ve alanları

Yıllar	Üretim alanı (ha)	Verim (ton/da)	Üretim miktarı (ton)
2004	196.670	3050,8	600.000
2005	200.000	3000,0	600.000
2006	208.000	3415,4	710.401
2007	208.200	3130,5	651.767
2008	209.300	3212,9	672.452
2009	211.600	3703,2	783.587

2.1.3.2. Mandalina

Ilıman iklime sahip bütün ülkelerde çeşitli kültür şekilleri yetiştirilen, yaprak dökmeyen küçük ağaçlara sahip, yaprak ve kabuk gibi kısımlarında uçucu yağ içeren turunçgillerden bir meyve türüdür. Anavatanı kesin olmamakla birlikte kuzeydoğu Hindistan ve güneybatı Çin olduğu tahmin edilmektedir. Mandalina turunçgil üretimimizin % 25'ini oluşturmaktadır (Anon, 2008b). Dünya mandalina üretiminin en çok olduğu ülkeler arasında Çin (% 34), İspanya (% 10) ve Japonya (% 9) sayılabilir. (Kafa ve Canıhoş, 2010). Tablo 2.5'de çeşitli mandalina çeşitlerinin ihracat miktar ve değerleri verilmiştir.

Tablo 2.5 : Ülkemizde yetiştirilen bazı mandalina çeşitlerinin ihracat miktar ve değerleri

Tür	İhracat Miktarı (kg)	İhracat Değeri (\$)
Klemantin	4.270.039	1.927.453
Monreal	82.790	29.355
Satsuma	100.238.275	49.667.462
Wilking	203.624	89.352
Tanjerin	27.302	12.510
King	1.606.083	744.247
Yerli Mandalina	1.213.727	545.854
Fremont	42.668.122	15.670.630
Minneola Tanjero	39.485.960	17.514.047
Nova	24.088.005	10.208.726
Marisol	373.427	145.014
Okitsu	3.200.516	1.634.803
Diğer Mandalinalar	31.963.872	12.397.078
Toplam	249.421.742	110.586.531

Güneydoğu Asya'da mandalina yetiştiriciliğinin M.Ö. 12. yüzyıla dayandığı bildirilmektedir. 1805 yılında İngilizler tarafından Malta Adası'na getirilen mandalınanın, Akdeniz Bölgesinde asıl gelişmesini gösterdiği bildirilmektedir. Mandalina diğer turunçgil türlerine göre soğuklara daha dirençlidir. Mandalınanın bu özelliği ona geniş bir adaptasyon yeteneği sağlar. Böylelikle çöl iklimi, semitropik ve subtropik iklimlerde de yetiştirilebilmektedir. Ancak bazı çeşitler kaliteli ürün için belli iklimleri istemektedir. Örneğin Dancy, Ellendale ve Ponkan semitropik iklimleri tercih etmektedir (Kafa ve Canıhoş, 2010). Şekil 2.3'de mandalina meyvesi ve yaprağı görülmektedir.



Şekil 2.3 : Mandalina meyvesi ve yaprağı

Mandalina birçok çeşit ve ve birkaç melez tür içeren oldukça karışık bir gruptur. Başlıca önemli mandalina çeşitleri Satsuma, Klemantin, Okitsu Wase, Clausellina, Marisol, Fremont, Nova, Robinson, Lee, Fairchild, Minneola, Fortune, Planellina, Nour, Yerli, Kinnow, Ankor, Ortanik, Kara, Dancy, Gold Nugget, Pixie, Ponkan, Willowleaf, Daisy ve Changsha mandalinalarıdır. Mandalina çeşitlerinin hasat zamanları Tablo 2.6’da görülmektedir (Dio ve Giacomo, 2002; Anon, 2008b).

Tablo 2.6 : Mandalina çeşitlerinin hasat zamanları

Mandalina çeşidi	Hasat zamanı
Satsuma	Ekim
Klemantin	Ekim-Kasım
Okitsu Wase	Eylül-Ekim
Clausellina	Eylül-Ekim
Marisol	Eylül-Ekim
Fremont	Aralık-Ocak
Nova	Kasım-Aralık
Robinson	Kasım-Aralık
Lee	Kasım-Aralık
Fairchild	Aralık-Ocak
Minneola	Ocak-Şubat
Yerli	Aralık-Ocak
Kinnow	Mart
Ortanik	Mayıs-Haziran
Kara	Şubat-Mart
Gold nugget	Mart

Satsuma, Japonya'nın Unshiu bölgesinde yetiştirilen ana tür olan *Citrus unshiu*'dur. Owari ve Okitsu gibi çeşitleri bulunmaktadır. Klemantin, koyu renkli dış görünüşü bakımından satsumadan ayırt edilebilir. Klemantinler taksonomik olarak *Citrus clemantine* olarak adlandırılır. Dancy mandalinaları *Citrus tangerine* olarak adlandırılır. Mandalinaların bir başka çeşidi ise Akdeniz mandalinalarıdır. *Citrus deliciosa* olarak adlandırılırlar. Bu gruba Willowleaf ve Yerli Mandalina örnek verilebilir.

Mandalina yaprak yağlarında ana bileşen olarak metil-N-metil antranilat bulunmaktadır. Dimetil antranilat bileşiğinden sonra en çok miktarda bulunanlar ise limonen ve γ -terpinendir. (Dugo ve Mondello, 2011).

2.1.3.3. Turunç

Turunç dünyada acı portakal ve ekşi portakal gibi isimlerle bilinmektedir. Dünyada farklı isimlerle bilinen turuncun anavatanı Güneydoğu Asya'dır. Turunç buralardan 10 ve 11. yüzyıllarda Akdeniz ülkelerine getirilmiştir (Tokgöz ve Gölükcü, 2009). Turunç meyvesinin ve yaprağının resmi Şekil 2.4'de görülmektedir.



Şekil 2.4 : Turunç meyvesi ve yaprağı

Turunç portakal, mandalina, altıntop, limon, bergamot gibi turunçgillerin üretiminde anaç olarak kullanılmaktadır (Tokgöz ve Gölükcü, 2009). Turuncun birçok türünün uçucu yağlarından yararlanılmaktadır. Bu uçucu yağlardan parfüm ve aroma yapımında yararlanılır. Ayrıca turunç uyarıcı ve iştah kesici etkisi nedeniyle bitkisel tıpta da kullanılmaktadır. Evlerde sofralık olarak kabuklarından marmelat yapılarak tüketilir. (Anon, 2011).

Turunç yaprak yağlarının ana bileşeni linalil asetatıdır. Linalil asetat dışında önemli miktarda bulunan bileşikler linalool, α -terpineol ve geranioldur (Dugo ve Mondello, 2011).

2.1.3.4. Portakal

Güzel kokulu bir uçucu yağ içeren ve turunçgiller sınıfından bir meyvedir. Anavatanı Çin'dir. Daha sonra başta İspanya ve tüm Akdeniz ülkeleri ile Güney Afrika ve Amerika gibi sıcak bölgelerde üretilmeye başlanmıştır (Anon, 2008c). Portakalın şadok ile mandalınanın bir hibriti olduğu düşünülmektedir (Kafa ve Canıhoş, 2010). Portakal meyvesi ve yaprağı Şekil 2.5'de görülmektedir.



Şekil 2.5 : Portakal meyvesi ve yaprağı

Türkiye, özellikle de Akdeniz ve Ege Bölgeleri, turunçgillerin üretim ve pazarlanması bakımından son derece elverişli ekolojik koşullara ve olanaklara sahiptir. 1994 verilerine göre, 1.928.000 ton olan Türkiye toplam turunçgil üretiminin 1.373.000 tonu iç tüketimde, 156.000 tonu endüstride kullanılmıştır. Toplam turunçgil meyveleri dış satımının da 129.000 tonunun portakal, 81.000 tonunun mandalina, 136.000 tonunun limon, 53.000 tonunun ise altıntoptan oluştuğu görülmektedir. Ülkemizde portakal üretimi en büyük payla (% 92) Akdeniz Bölgesinde yer alan Antalya, İçel, Hatay ve Adana illerinden sağlanmaktadır. Akdeniz Bölgesinin Doğu Akdeniz bölümünün toplam portakal üretimindeki payı % 65'tir (Anon, 2008c).

Başlıca önemli portakal çeşitleri Washington Navel, Navelina, Navelate, Lane Late, Yafa, Valencia, Moro, Taracco, Alanya Dilimli, Şeker, Sanguinelli, Fukumoto ve Cara

Cara portakallarıdır. Başlıca önemli portakal çeşitleri için hasat zamanları Tablo 2.4’de verilmiştir (Anon, 2008c). Tablo 2.7’de başlıca önemli portakal çeşitlerinin hasat zamanları verilmiştir.

Tablo 2.7 : Başlıca önemli portakal çeşitlerinin hasat zamanları

Portakal çeşidi	Hasat zamanı
Washington navel	Kasım-Ocak
Navelina	Ekim
Navelate	Ocak-Nisan
Lane late	Ocak-Nisan
Yafa	Ocak-Şubat
Valencia	Mart-Nisan
Moro	Aralık
Taracco	Aralık-Ocak
Alanya dilimli	Ocak
Şeker	Kasım
Sanguinelli	Ocak-Şubat
Fukumoto	Kasım-Aralık
Cara cara	Aralık-Mart

Portakal yaprak yağlarında en önemli ana bileşeni sabinendir. Sabinenden sonra en çok bulunan bileşikler limonen, linalool, δ -3-karen ve (E)- β -osimendir (Dugo ve Mondello, 2011).

2.1.3.5. Greyfurt

Altıntop ismiyle de bilinmektedir. 1750 yılında Barbados’taki keşfine kadar batı ve doğu medeniyetleri için bilinmeyen bir turuncgil türüydü. Bugünkü greyfurtun portakalın tatlı tadına sahip olması ve şadok gibi ekşi notalar içermesi onun şadok ve portakalın rastgele olarak melezleşmesiyle meydana gelmiş olabileceği sonucunu bize göstermektedir (Arthur ve Reeve, 2004). Greyfurt meyvesi ve yaprağı Şekil 2.6’da görülmektedir.



Şekil 2.6 : Greyfurt meyvesi ve yaprağı

Greyfurtun Duncan, Ruby Red, Flame Red, Rio Red, Star Ruby, Thompson Pink, White Marsh gibi kültür çeşitleri bulunmaktadır (Maurer ve Bradley, 1998).

Greyfurtun çoğu çeşidinin yaprak yağlarında ana bileşen olarak sabinen bulunmaktadır. Diğer önemli miktardaki bileşikler ise limonen, linalool, terpinen-4-ol ve mirsendir (Dugo ve Mondello, 2011).

2.1.3.6. Bergamot

Bilimsel adıyla *Citrus Bergamia* olarak adlandırılır. Bergamot ağaçları, başta Reggio bölgesi olmak üzere İtalya'nın Calabria bölgesinde üretilmektedir. Türkiye'de ise Ege ve Akdeniz bölgelerinde özellikle Bodrum ve Antalya sahil şeridinde yetiştirilmektedir. Meyvelerinin dış görünüşü yeşilimsi sarı renktedir. Eti çok ekşi olup yağının başlıca kullanım alanları farmakolojik amaçlar, parfümler, losyonlar ve sabunlardır. (Ökmen, 1988).

Citrus Bergamia'nın turunc ve limon melezi olduğu ya da limonun mutasyonu sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Başka bir görüşe göre de turunc ve misket limonunun (*Citrus Aurantifolia*) melezi olduğu düşünülmektedir. Bergamotun 4 çeşidi bulunmaktadır. Bunlar sık rastlanan bergamot ile Meralosa, Torulosa ve Piccola bergamotlarıdır (Anon, 2009). Bergamot meyvesi ve yaprağı Şekil 2.7'de görülmektedir.



Şekil 2.7 : Bergamot meyvesi ve yaprağı

Yaprak yağlarında ana bileşen olarak linalil asetat ve linalol olan farklı bergamot türleri bulunmaktadır. Bu iki bileşikten sonra daha az oranda turunçgil uçucu yağlarındaki önemli bir bileşik olan limonen bulunmaktadır. Bunlar dışında α -terpineol ve geraniol yağın en önemli bileşenleridir (Dugo ve Mondello, 2011).

2.1.3.7. Şadok

Bilimsel adı *Citrus Maxima*'dır. Şadok Çin, güney Japonya, Vietnam, Malezya, Endonezya ve Tayland gibi Asya ülkelerinde yetiştirilen turunçgil cinsi bir meyvedir. Meyveleri taze olarak ya da suyu çıkartılarak tüketilir. Geleneksel tıpta içerdiği uçucu bileşenlerden ötürü öksürük, şişlik ve epilepsi tedavisinde kullanılır. Kabuklarından elde edilen uçucu yağlar aroma olarak gıda, içecek ve farmasötik ürünlerde; koku vermek için ise parfüm, kozmetik ve aromaterapide kullanılmaktadır (Thavanapong, 2006). Şadok meyvesi ve yaprağı Şekil 2.8'de görülmektedir.



Şekil 2.8 : Şadok

2.1.3.8. Ağaç kavunu

Bilimsel adıyla *Citrus Medica* olarak bilinir. Avrupa kıtasına ilk ulaşan turunçgil türü ağaç kavunudur. Ağaç kavunu Persler tarafından önce İran'a, oradan da İskender'in orduları tarafından Avrupa'ya ulaştırılmıştır. Ülkemizde Akdeniz, Ege ve Doğu Karadeniz Bölgesi'nde yetişir. Turunçgiller içinde soğuğa en dayanıklı olan bitkidir. (Kafa ve Canıhoş, 2010; Anon, 2010). Ağaç kavunu meyvesi ve yaprağı Şekil 2.9'da görülmektedir.



Şekil 2.9 : Ağaç kavunu meyvesi ve yaprağı

2.2. UÇUCU YAĞLAR

Uçucu yağlar bitkilerin yaprak, kabuk, tohum veya kök kısımlarında bulunan ve bu kısımlardan çeşitli yöntemler ile elde edilen; uçucu olan; oda sıcaklığında sıvı ya da yarı katı halde bulunan, hatta bazen reçinemsi olabilen; genelde renksiz veya açık sarı olan fakat bazen karanfil yağı gibi sarıdan kahverengiye ve papatya yağı gibi yeşilden maviye kadar farklı renklerde olabilen; su ile karışmayan ve güzel kokulara sahip uçucu madde karışımlarıdır (Ceylan, 1983; Umay, 2007). Açıkta bırakıldıklarında oda sıcaklığında bile buharlaşabildiklerinden uçucu yağ ve eterik yağ; güzel kokuları olduklarından dolayı da esans gibi isimlerle bilinmektedirler (Yalçın, 1993).

Petrol eteri, benzin, eter ve etanol gibi birçok organik çözücüde çözünebilen uçucu yağlar sulu etanolde çözünebilirliğiyle sabit yağlardan ayrılırlar. Kırılma indisleri yüksektir. Çoğu optikçe aktiftir. Spesifik çevirmeleri uçucu yağın tanımlanmasını

sağlarken, kırılma indisi, polarize ışığı çevirme derecesindeki farklılıklar da saflığının bozulduğunu gösterir (Karadeniz, 2001).

Uçucu yağlar bitkilerin salgı tüyleri, salgı hücreleri, salgı kanalları ve salgı cepheleri gibi kısımlarında meydana gelmektedirler. Bitkilerdeki bu uçucu yağların hangi amaçla oluştuğu tam olarak bilinmemektedir. Fakat uçucu yağın yaralanmalarda oluşan reçineyi çözebildiği, böceklerle karşı bitkiyi koruduğu ve böceklerin bitki tarafından cezbedilmesine yani diğer ifadeyle tozlaşma olayına yardımcı olduğu için meydana gelmiş olduğu düşünülmektedir. Ayrıca uçucu yağ içeren bitkiler genellikle Akdeniz iklimi gibi sıcak iklime sahip bölgelerde yetiştiğinden ötürü, uçucu yağın bitkinin üzerindeki havayı bağlaması ile bitkinin su kaybını önlemesinden ötürü de oluşmuş olabileceği düşünülmektedir (Özek, 1990; Tyler ve diğ., 1981; Berk, 1953). Çeşitli uçucu yağlar Şekil 2.10’gösterilmiştir.



Şekil 2.10 : Çeşitli uçucu yağlar

Uçucu yağlar dışında bitkisel kaynaklı numunelerden elde edilen çeşitli ürünler bulunmaktadır. Bunlar aşağıdaki başlıklar altında tanımlanmıştır.

2.2.1. Konkret

Bitki numunesi hekzan, petrol eteri, etilen gibi organik solventlerle ekstrakte edilir. Elde edilen çözeltinin daha derişik hale getirilmesi için vakum destilasyonu uygulanır. Elde edilen koyu renkli ve vaks şeklindeki kalıntı konkret olarak adlandırılır. Konkretler, modifiye edilmemiş uçucu yağlara göre daha kararlı ve yoğundur (Thavanapong, 2006; Vankar, 2004).

2.2.2. Absolüt

Konkret 30-40°C sıcaklıklarda alkolde çözülür ve vaksların çöktüğü 5-10°C sıcaklığa kadar soğutulur. Süzme işleminden sonra elde edilen süzüntü alkolü uzaklaştırmak için vakum altında derişiklendirilir. Bu işlemlerden sonra elde edilen sıvı kalıntı absolüt olarak adlandırılır (Thavanapong, 2006).

2.2.3. Rezinoit

Mür, kehribar gibi doğal reçinelerdeki yağların hidrokarbonlar gibi organik solventlerle ekstrakte edilmesiyle elde edilir. Genellikle etanolde çözünebilen fraksiyonları absolüt olarak adlandırılır (Vankar, 2004).

2.2.4. Pomat

Çiçeklerin taç yapraklarından enfloraj yöntemi ile elde edilen bitkisel özütler pomat olarak adlandırılmaktadır. Eski çağlarda kullanılan bir yöntemdir. Günümüzde önemini yitirmiştir (Sell, 2003).

2.2.5. Tentür

Bitkilerden alkol ekstraksiyonu ile elde edilmektedir. Bu yöntem bitkinin yağa göre daha fazla oranda su içermesinden ötürü diğer çözücü ekstraksiyonu yöntemlerine göre daha az kullanılmaktadır (Sell, 2003).

2.2.6. Balsam

Benzoik veya sinamik asid esterleri içinde dağılmış reçineden oluşan, bir bitkiden kendiliğinden veya bitkinin bir yarığından akan ve başlıca tıbbi preparatların hazırlanmasında kullanılan aromatik reçineli doğal ürünlerdir. Bazen balsamları yağ

reçinelerinden ayırt etmek güç olabilir. Fakat yağ reçineleri daha akıcıdır ve uçucu yağlarda çözünürler (Anon, 2011a).

2.2.7. Reçine

Suda çözünmeyen, genellikle alkol veya diğer organik çözücülerde çözünen amorf yapıda katı veya yarı katı doğal üründür. Fiziksel olarak sert, şeffaf ve eriyebilir özellik taşımaktadırlar. Isıtıldıklarında yumuşayarak erirler. Reçineler bitkilerden saf olarak elde edilmezler. Bu ürünler ağaçlardan balsam olarak salgılanırlar. Uçucu bileşenlerin buharlaştırılmasıyla reçine şekline dönüşürler. Bunun dışında çıralı çam kök odunları, dip kütükleri ve diğer çıralı materyallerden ekstraksiyon yolu ile de reçine elde edilmektedir. Bileşimlerinde reçine asitleri, reçine alkolleri, reçine esterleri bulunur. Reçinelere örnek olarak kehribar verilebilir (Kar, 2007; Anon 1995, syf.27; Anon 2011b, syf.10).

2.2.8. Yağ Reçinesi

Reçine ve esansiyel yağların homojen karışımlarıdır. Bitkilerden istem dışı olarak salgılanan esansiyel yağlarda çözünmüş reçinelerdir (Kar, 2007).

Uçucu yağların ve rezinoitlerin fraksiyonlandırılmasıyla yağdaki ve resinoiddeki istenen bazı bileşikler izole edilebilmektedir. Uçucu yağ ve rezinoitte bulunan bazı bileşiklerin izole edilebilmelerinin yanı sıra bu yöntem ile istenilen bileşenlerce zenginleştirilmiş yağlar da elde edilebilmektedir (Douglas ve diğ., 2005).

2.3. UÇUCU YAĞLARIN SINIFLANDIRILMASI

Uçucu yağlar koku ve tat, farmakolojik ve terapik ve bulundukları bitkilere göre üç farklı şekilde sınıflandırılabilirler.

2.3.1. Uçucu Yağların Koku ve Tat Özelliklerine Göre Sınıflandırılması

Bu sınıflandırma türünde uçucu yağlar aromatika (çok kokulu ve tadı iyi olanlar), aromatika-aroma (kokulu ve tadı acı olanlar) ve aromatika-acria (kokulu ve tadı keskin olanlar) olmak üzere üç gruba ayrılmaktadırlar (Ceylan, 1997).

2.3.2. Uçucu Yağların Farmakolojik ve Terapik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması

Farmakolojik ve terapik etkilerine göre de uçucu yağları sınıflandırmak mümkündür. Bu özellikleri içeren uçucu yağlar genellikle tedavi amaçlı kullanılırlar ve alternatif tıbbın son yıllardaki gelişimiyle önemleri artmıştır (Ceylan 1997).

2.3.3. Uçucu Yağların Bulundukları Bitkilere Göre Sınıflandırılması

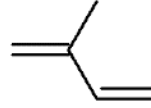
Kara ve kırmızı turp gibi köklerinden faydalanılanlar; zencefil ve tarçın gibi gövdelerinden faydalanılanlar; nane ve kekik gibi yapraklarından faydalanılanlar; soğan ve sarımsak gibi soğan yapısında olanlar; karanfil gibi çiçeklerinden faydalanılanlar; kimyon ve anason gibi meyvelerinden faydalanılanlar ve hardal gibi tohumlarından faydalanılanlar olmak üzere 7 sınıfa ayrılırlar (Kutlular, 2007).

2.3. UÇUCU YAĞLARIN KİMYASAL BİLEŞİMİ

Uçucu yağ, katı ya da sıvı birçok farklı kimyasal bileşiğin birbirinde çözünerek homojen bir çözelti oluşturduğu kompleks bir karışımdır. Kimyasal ve fiziksel özellikler açısından sabit yağlardan oldukça farklıdır. Uçucu yağlar genellikle terpenler ile bunların oksijenli türevleri olan terpenoitlerin karışımından meydana gelmektedir. Uçucu yağların koku ve tadını veren en önemli bileşikler oksijenli türevlerdir. Bu bileşiklerin az da olsa suda çözünürlükleri vardır fakat daha çok alkolde çözünürler. Birçok yağ terpen yapısındaki bileşikleri içermektedir. Fakat tarçın ve karanfil yağı gibi bazı uçucu yağlar terpenlerle karışmış olarak bulunan aromatik türevler de içermektedir. Aslında aromatik halka içeren timol, karvakrol gibi birkaç bileşik yapısal olarak terpenoitlerdir. Bu bileşikler dışında portakal yağı gibi uçucu yağların yapılarında dekanal gibi aldehit bileşikler de bulunmaktadır (Kutlular, 2007; Evans, 2002; Tanker ve Tanker, 1990).

Terpenler izopren birimleri olarak bilinen bir veya birden fazla C_5 birimlerinden oluşmaktadırlar. İzoprenin sistematik adı 2-metil-1,3-bütadiendir. Birçok terpen halka şeklinde bağlanmış izopren birimlerine sahiptir. Bunlar hemiterpenler (C_5H_8), monoterpenler ($C_{10}H_{16}$), seskiterpenler ($C_{15}H_{24}$), diterpenler ($C_{20}H_{32}$), sesterpenler ($C_{25}H_{40}$), triterpenler ($C_{30}H_{48}$), tetraterpenler ($C_{40}H_{64}$) ve politerpenler $[(C_5H_8)_n]$ olarak

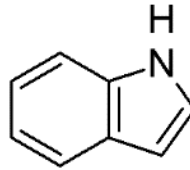
sınıflandırılmaktadırlar (Kutlular, 2007). Turunçgil uçucu yağlarda en çok monoterpenler ile bazı seskiterpen sınıfı bileşikler bulunmaktadır. İzoprenin yapısı Şekil 2.11’de görülmektedir (Karadeniz, 2001).



Şekil 2.11 : İzopren

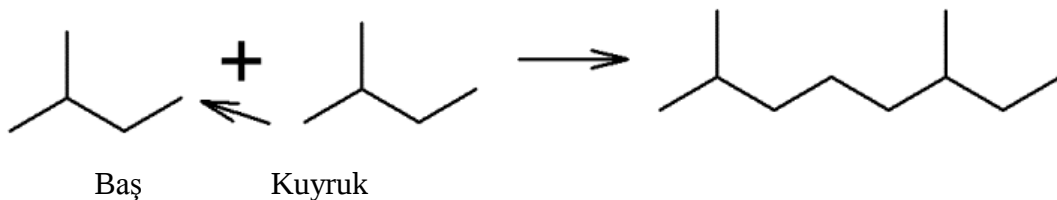
Küçük moleküllü terpenler su buharı destilasyonu ile, büyük moleküllü olanlar ekstraksiyon ile, daha büyük moleküllü olan terpenler ise kolon ve ince tabaka kromatografisi gibi yöntemlerle ayrılabilirler (Diri, 2006).

Uçucu yağlarda terpen ve terpenoitlerin dışında bazı kükürt ve azot atomu içeren bileşikler de bulunmaktadır (Ceylan, 2008). Bu bileşiklere örnek olarak Şekil 2.12’deki indol bileşiği gösterilebilir.



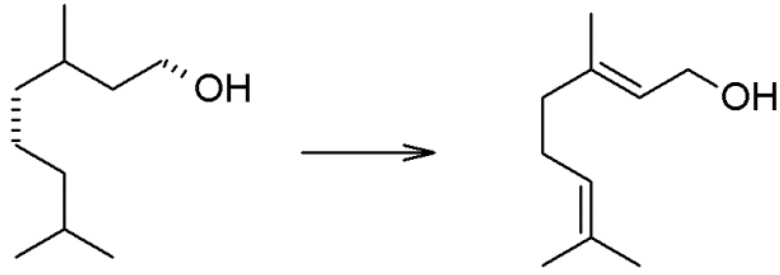
Şekil 2.12 : İndol

1887 yılında Otto Wallach tarafından tanımlanan izopren kuralına göre terpen ve terpenoitler izopren birimlerinin baş-kuyruk kuralına göre bağlanması ile meydana gelmektedir. Baş-kuyruk bağlanmasının dışında karotenoit ve steroidlerde izopren birimleri kuyruk-kuyruk şeklinde de bağlanmaktadır. Fakat izopren birimlerinin baş-baş şeklinde bağlandığı bir yapı kuramsal olarak yoktur (Sell, 2003). Baş-kuyruk şeklinde bağlanma Şekil 2.13’de gösterilmiştir.

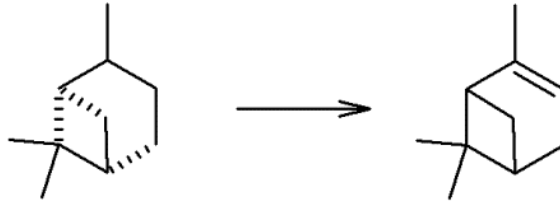
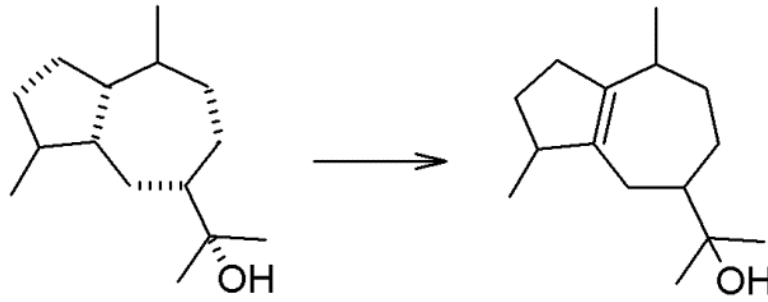


Şekil 2.13 : Terpenlerde baş-kuyruk bağlanması

Baş-kuyruk bağlanmasına ait örnekler Şekil 2.14’de gösterilmiştir (Sell, 2003).



Geraniol

 α -Pinen

Guayol

Şekil 2.14 : Terpen ve terpenoitlerin baş-kuyruk bağlanması

2.3.1. Monoterpenler

Bu terpenler hemen hemen tüm uçucu yağların bileşiminde bulunur. 10 karbon ve en azından 1 tane çiftli bağ içerirler. Yapılarında 2 izopren birimi vardır. Alkol, keton ve karboksilik asit gibi oksijenli türevleri monoterpenoit olarak adlandırılır (Solomons ve Fryhle, 2002).

Monoterpen sınıfı bileşiklerde 38 farklı tipte yapı bulunmaktadır. Bu yapıların çoğu baş-kuyruk bağlanması kuralına uymaktadır. En yaygın kullanılan monoterpen sınıfı bileşikler α -pinen ve β -pinendir. Çam ağaçlarında bulunmaktadırlar. Plastik ve parfüm

sanayisinde hammadde olarak kullanılmaktadır. Monoterpenler antispazmotik, antibakteriyel, antifungal ve antikanserojen özelliklere sahiptir (Manitto, 1981)

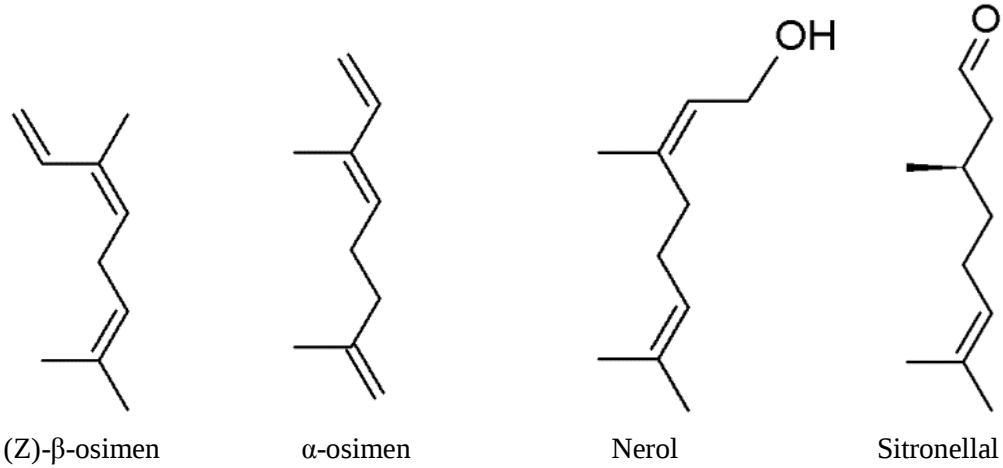
Monoterpen ve monoterpenoitler asiklik, monosiklik, bisiklik ve trisiklik monoterpenler olmak üzere 4 farklı grupta incelenirler. Fakat bu 4 monoterpen grubunun dışında düzensiz monoterpenler olarak adlandırılan troponoit ve izopren birimlerinin baş-kuyruk şeklinde bağlanmadığı terpenler de bulunmaktadır (Thormar, 2011).

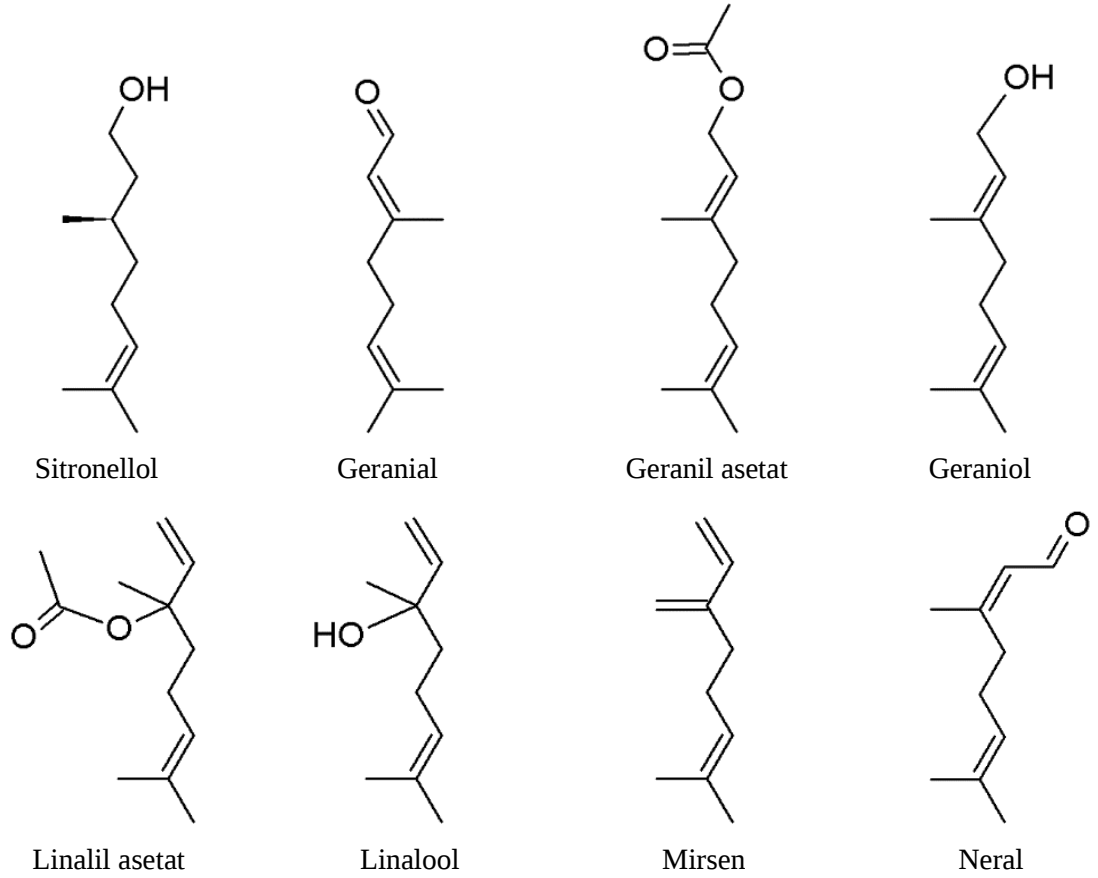
2.3.1.1. Asiklik Monoterpenler

2,6-dimetiloktan yapısını içermektedirler. Düz zincir yapısındadırlar ve 3 çift bağ taşırlar (Tanker ve Tanker, 1990). Şekil 2.15’de 2,6-Dimetil oktan ve Şekil 2.16’da çeşitli asiklik monoterpen ve monoterpenoitler görülmektedir.



Şekil 2.15 : 2,6-Dimetil oktan

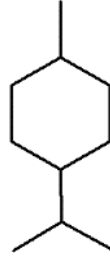




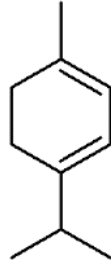
Şekil 2.16 : Turunçgillerden elde edilen uçucu yağlardaki bazı asiklik monoterpen ve monoterpenoitler

2.3.1.2. Monosiklik Monoterpenler

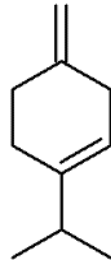
Bu sınıftadaki bileşikler genellikle p-mentan iskeleti yapısındadır. Yapılarında 1 halka ve 2 tane çift bağ içermektedirler. Turunçgillerin çeşitli kısımlarından elde edilen uçucu yağlarda bulunan α -terpinen, β -terpinen ve D-limonen gibi bileşikler monosiklik monoterpenlere örnek verilebilir. Aynı şekilde timol bileşiği de monosiklik monoterpenoit sınıfından bileşiklere örnek verilebilir (Tanker ve Tanker, 1990). Monosiklik monoterpenlerin iskeletini oluşturan p-mentan bileşiği ile turunçgillerin çeşitli kısımlarından elde edilen uçucu yağlarda bulunan bazı monosiklik monoterpen ve monoterpenoitler Şekil 2.17 ve 2.18’de gösterilmiştir.



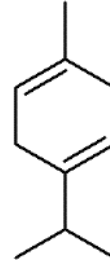
Şekil 2.17 : p-mentan



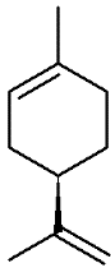
α-terpinen



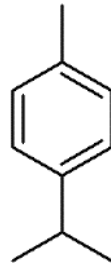
β-terpinen



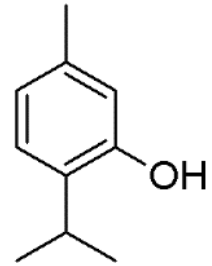
γ-terpinen



D-limonen



p-simen

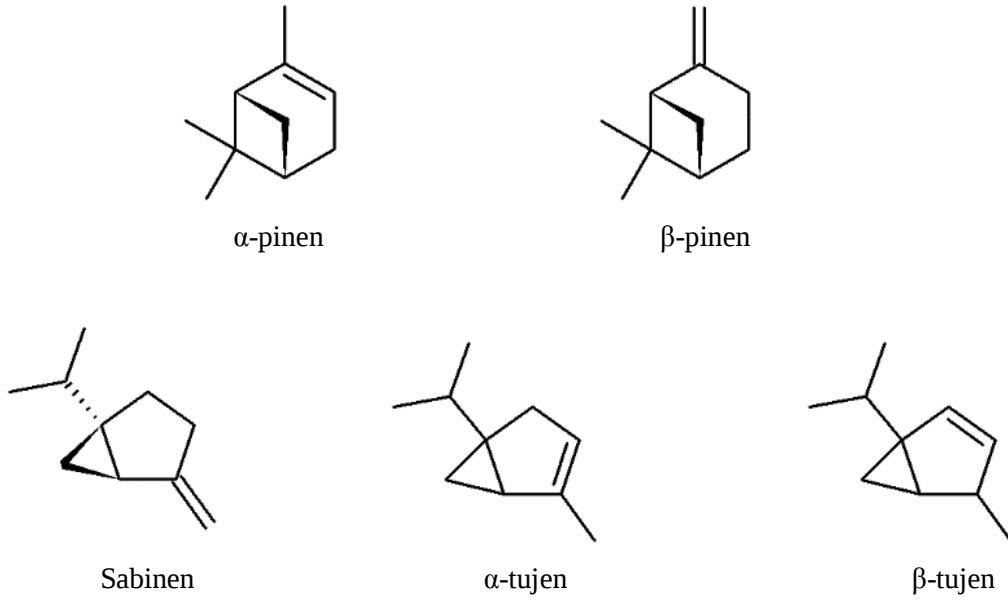


Timol

Şekil 2.18 : Turunçgil uçucu yağlarındaki bazı monosiklik monoterpen ve monoterpenoitler

2.3.1.3. Bisiklik Monoterpenler

Yapılarında 2 halka ve 1 tane çift bağ içerirler. Sabinan, pinan, karan veya kamfan isketletinden türemişler (Tanker ve Tanker, 1990). Turunçgil uçucu yağlarındaki bazı bisiklik monoterpenler Şekil 2.19’de gösterilmiştir.



Şekil 2.19 : Turunçgil uçucu yağlarındaki bazı bisiklik monoterpenler

2.3.1.4. Trisiklik Monoterpenler

Diğer monoterpen çeşitlerine göre uçucu yağlarda daha az rastlanan monoterpenlerdir. Pinen oksit ve trisiklen gibi bileşikler trisiklik monoterpenoitlere örnek verilebilir (Thormar, 2011). Bir trisiklik monoterpen olan trisiklen Şekil 2.20’de gösterilmiştir.

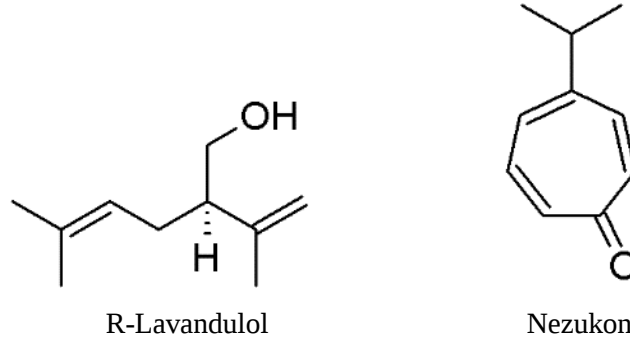


Şekil 2.20 : Trisiklik monoterpen bileşiklerinden trisiklen

2.3.1.5. Düzensiz Monoterpenler

Düzensiz terpenlerin 1. türü olan troponoitlerin p-mentan iskeletinin halka açılması ve yan bağların oksijenlenmesi ile oluştuğu düşünülmektedir. *Cupressaceae* familyasının birçok ağaç türünün ağaç özünde bulunmaktadır (Thormar, 2011).

2. sınıf düzensiz monoterpenler ise izopren birimlerinin baş-kuyruk kuralına uymadan bağlandığı bileşiklerdir. Nezukon ve R-lavandulol bu bileşiklere örnek olarak verilebilir (Thormar, 2011). Bazı düzensiz monoterpenler Şekil 2.21’de gösterilmiştir.



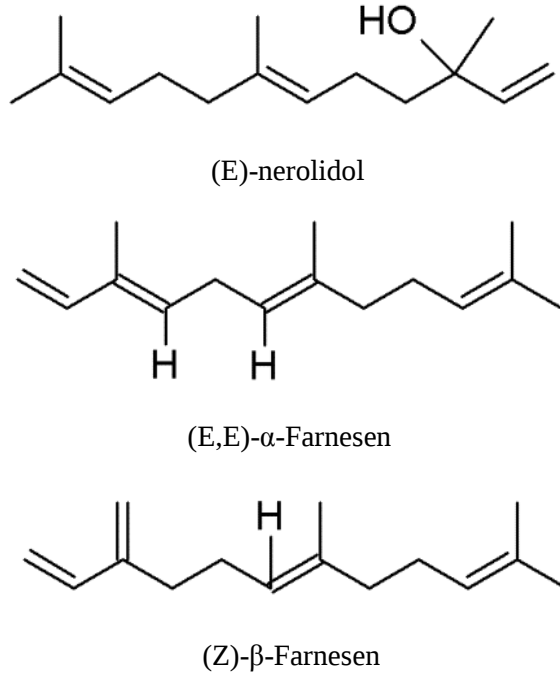
Şekil 2.21 : Bazı düzensiz monotерpenler

2.3.2. Seskiterpenler

Seskiterpenler monotерpenlerden sonra uçucu yağlarda en çok bulunan terpen sınıfı bileşiklerdendir. 3 izopren biriminden oluşmaktadırlar. Lineer, dallanmış ve siklik yapıda olabilirler (Thormar, 2011). Bu bileşiklerin çoğunun yapısı son 25 yıldaki kromatografik ve spektroskopik yöntemlerin gelişmesiyle aydınlatılabilmektedir (Roberts, 1971). Doymamış bileşikler olduklarından ötürü çabuk bozunmaktadırlar. Yoğun kokuları vardır. Bu bakımdan istenmeyen bileşiklerdir (Gök, 2012).

2.3.2.1. Asiklik Seskiterpenler

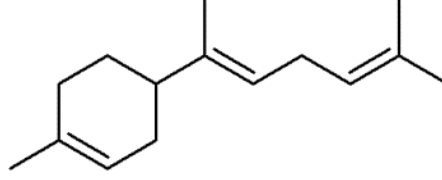
Asiklik seskiterpenler birçok uçucu yağda bulunan nerolidol ve farnesolün izomerleri ile farnesenin α ve β izomerlerini içeren seskiterpen sınıfı bileşiklerdir (Thormar, 2011). Şekil 2.22’de bazı asiklik seskiterpenler görülmektedir.



Şekil 2.22 : Bazı asiklik seskiterpenler

2.3.2.2. Monosiklik Seskiterpenler

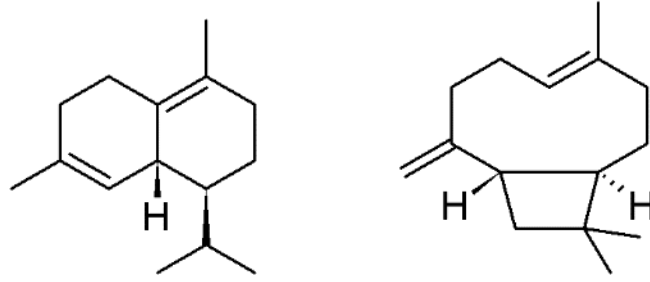
Yapılarında tek halka içeren ve 3 izopren biriminden oluşmuş bileşiklerdir. Bu bileşik sınıfına Şekil 2.23’de görülen α -bisabolen bileşiği örnek olarak verilebilir (Thormar, 2011).



Şekil 2.23 : α -Bisabolen

2.3.2.3. Bisiklik Seskiterpenler

İki halka ve 3 izopren biriminden oluşmaktadırlar (Thormar, 2011). Şekil 2.24’de bisiklik seskiterpenlerden iki bileşik görülmektedir.



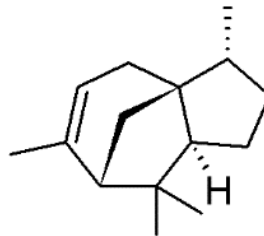
δ -kadinen

(E)-karyofillen

Şekil 2.24 : Bazı bisiklik seskiterpenler

2.3.2.4. Trisiklik Seskiterpenler

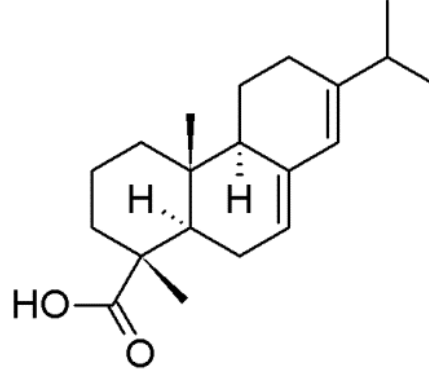
Üçlü halka yapısı içeren seskiterpenlerdir. Örnek olarak sedir ağacı yağındaki α -sedren verilebilir (Thormar, 2011). Şekil 2.25’de α -sedren bileşiğinin yapısı görülmektedir.



Şekil 2.25 : α -Sedren

2.3.3. Diterpenler

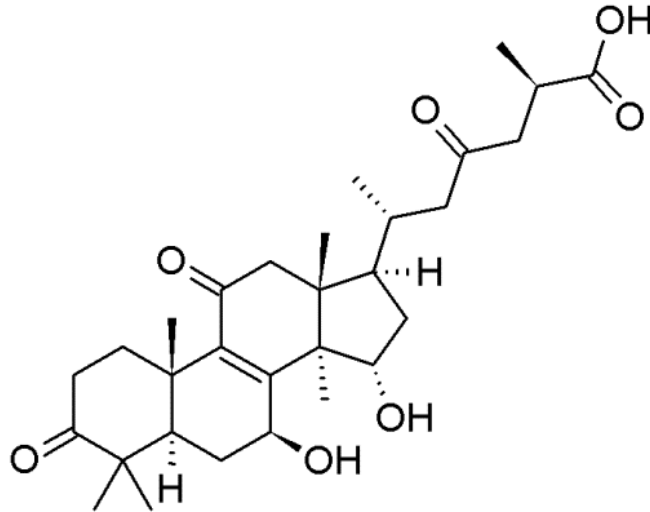
20 karbondan oluşmaktadırlar. Uçucu olmayan bu bileşikler yapılarında 4 izopren birimi içermektedirler. Şekil 2.26’de görülen abiyetik asit bileşiği diterpen sınıfı bileşiklere örnek olarak verilebilir (Kar, 2007).



Şekil 2.26 : Abiyetik asit

2.3.4. Triterpenler

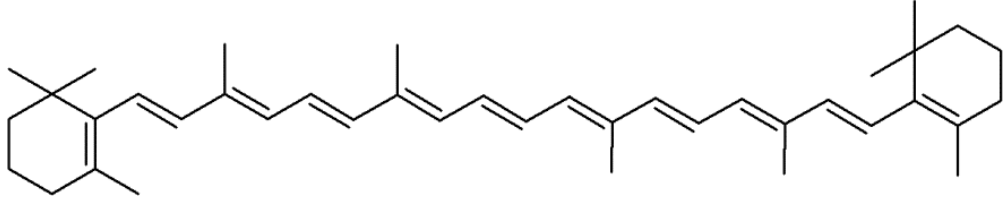
Yaklaşık 40 farklı iskelet yapısında 4000 çeşit bileşik ile temsil edilen ve yapılarında 30 karbon içeren bileşiklerdir. Steroidal alkaloidler, fitosteroller, saponinler bu sınıftan bileşiklerdir (Kar, 2007). Şekil 2.27’deki ganoderik asit triterpen sınıfı bileşiklere örnek olarak verilebilir.



Şekil 2.27 : Ganoderik asit

2.3.5. Tetraterpenler

Yapılarında 40 karbon içermektedirler. Bu sınıftaki en önemli bileşiklerden biri birçok bitkide bulunan sarı ve kırmızı renklerdeki karotenoid bileşikleridir. Havuca turuncu rengini veren β -karoten bu bileşiklere örnek verilebilir (Hanson, 2003). Şekil 2.28’de β -Karoten yapısı görülmektedir.



Şekil 2.28 : β -Karoten

2.4. UÇUCU YAĞLARDA KEMOTİPLER

Uçucu yağlar çok karmaşık yapıda kimyasal içeriğe sahiptir. Kemotip uçucu yağ içerisinde ana bileşen olarak bulunan molekülü belirleyen kimyasal, biyolojik ve botanik sınıflandırmanın bir şeklidir. Doğrudan doğruya bitkinin yetiştiği ülke, iklim koşulları, toprak yapısı, zararlı ışınlara maruz kalması, bitkisosyolojisi faktörleri ve hasat zamanına bağlı olan bu sınıflandırma uçucu yağın bileşimini etkileyebilir (Zhiri ve Baudoux, 2005).

Bu tanımlamalara göre Lota ve diğ. (2002) tarafından yapılan çalışmadaki anabileşenleri limonen ve linalool olan 2 farklı kemotipte limon yaprak yağı olduğu söylenebilir. Ana bileşeni limonen olan yaprak yağı limonen/ β -pinen/geranial/neral kemotipi; ana bileşeni linalool olan yaprak yağı ise linalool/linalil asetat/ α -terpineol kemotipi olarak adlandırılmıştır. Bu yaprak yağlarındaki limonen ve linalool oranları sırasıyla % 3,2-75,2 ve % 1,4-47,3 olarak bulunmuştur.

Aynı şekilde Lota ve diğ. (2000) tarafından 41 farklı mandalina örneğiyle yapılan bir diğer çalışmada 3 farklı kemotipte mandalina yaprak yağı olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada ana bileşeni sabinen olan 26 farklı yaprak yağında sabinen (% 34,1-59,4) miktarından sonra önemli miktarda linalool (% 1,6-34) bulunduğundan bu kemotip sabinen/linalool kemotipi olarak adlandırılmıştır. Ayrıca bu yağlarda daha az fakat

önemli sayılabilecek miktarlarda terpinen-4-ol (% 3,3-10,6), mirsen (% 2,3-4,4) ve trans-sabinen hidrat (% 0,5-1,4) tespit edilmiştir. Bu kemotipteki yağlar linalool miktarlarına göre 2 gruba ayrılmıştır. 1. gruptaki yağlarda linalool oranı % 16,7-34; 2. gruptaki yağlarda ise % 1,6-14,8 olarak tespit edilmiştir. Ana bileşeni linalool ve γ -terpinen olan 12 farklı mandalina yaprak yağları ise linalool/ γ -terpinen kemotipi olarak adlandırılmıştır. Linalool/ γ -terpinen oranına göre üç farklı gruba ayrılmıştır. 1. grupta linalool ve γ -terpinen oranları sırasıyla % 40,9-54,3 ve % 5,7-15,8; 2. grupta sırasıyla % 12,5-36,8 ve % 14-25,7; 3. grupta ise sırasıyla % 12,3'den az ve % 51-61,3'dir. Bu yağlardan ana bileşeni metil-N-metil antranilat (% 46,6-58) olan son 3 yaprak yağında ise dikkate alınabilecek miktarlarda limonen (% 6,6-44,3) ve γ -terpinen (% 0,2-19,7) tespit edilmiştir.

2.4. UÇUCU YAĞ ELDE ETME YÖNTEMLERİ

2.4.1. Soğuk Presleme

Bazı bitkisel numunelerden destilasyon yöntemi ile uçucu yağ elde etmek her zaman sağlıklı bir yöntem değildir. Çünkü destilasyon için gereken yüksek sıcaklıktan ötürü uçucu yağ içindeki bazı maddeler bozunabilmektedirler. Böyle durumlarda soğuk presleme yöntemi uygulanır. Presleme yöntemiyle elde edilen yağlar genellikle berrak değildir. Bu yağları berraklaştırmak için süzme, santrifüj, alkol ile seyreltme ve ısıtma gibi işlemler uygulanır. Bu yöntem genellikle turunçgil kabuklarından uçucu yağ elde etmede kullanılmaktadır. Bu yöntemde turunçgil kabuklarındaki salgı bezleri ezilerek veya parçalanarak içerisindeki uçucu yağın dışa çıkması sağlanmaktadır (Diri, 2006; Handa ve diğ., 2008).

2.4.2. Destilasyon

2.4.2.1. Su Destilasyonu

Bu yöntemde kurutulmuş ve içerisinde ısı ile bozunan madde içermeyen bitkisel numunelerden uçucu yağlar elde edilebilir. Bu yöntemde bitkilerden uçucu yağ elde edilmesinin yanı sıra aromatik su da elde edilebilir (Kutlular, 2007; Tanker ve Tanker, 1990).

Bu yöntemde su ve bitki numunesi bir balon içerisine eklenir ve üzerine clevenger aparatı ile geri soğutucu takılıp 2-8 saat süreyle kaynatılır. Böylelikle su buharı ile sürüklenen yağ molekülleri geri soğutucuda yoğunlaşarak sudan ayrılıp clevenger aparatında suyun üzerinde birikir. Elde edilen yağ miktarı bitkiden bitkiye değişmekle birlikte genellikle çok az miktardadır. Destilasyonda uygulanan yüksek sıcaklıktan ötürü bazı moleküllerde bozunmalar ve bitki numunesinin uzun süre su ile temasından ötürü bazı moleküllerin hidrolize uğraması gibi dezavantajlar meydana gelebilir (Linskens ve Jackson, 1997; Kılıç, 2008)

2.4.2.2. *Su ve Buhar Destilasyonu*

Bu yöntem hem kuru hem de taze bitki numunelerine uygulanabilen bir destilasyon yöntemidir. Kurutulmuş numuneler ile çalışıldığı durumlardan numuneler suyun içerisinde bir süre bekletilir. Ayrı bir bölümde üretilen su buharı su içerisindeki bitki numunesine gönderilir. Böylelikle uçucu yağ ayrılmış olur. Eğer taze materyal ile çalışılırsa uzun süre su içerisinde bekletmeye gerek kalmaz. Başka bir yerde üretilen su buharı su içerisindeki bitki materyaline gönderilir ve uçucu yağ destile edilir (Tanker ve Tanker, 1990).

2.4.2.3. *Doğrudan Doğruya Buhar Destilasyonu*

Bu yöntemde taze bitki materyalinin su içermesinden dolayı su içinde bekletmek gerekmemektedir. Cam bir kap içerisine yerleştirilmiş taze bitki materyaline basınç yardımıyla buhar gönderilir. Bitki içindeki uçucu yağ bu buhar ile sürüklenerek toplama kabına gelir. Yağın burada yoğunlaştırılmasıyla su yağdan ayrılır (Linskens ve Jackson, 1997; Kılıç, 2008, Tanker ve Tanker, 1990).

2.4.2.4. *Kuru Destilasyon*

Kuru destilasyon yönteminde yüksek sıcaklarda çalışılır. Genellikle bitki numunesini içeren kabın yüzeyine uygulanır. Özellikle odunlardan elde edilen yüksek sıcaklıklarda kaynayan yağlar için bu yöntem kullanılır. Ardıç ve huş ağacı katranı kuru destilasyon yöntemiyle elde edilen yağlara örnek olarak verilebilir (Sell, 2006).

2.4.2.5. *Vakum Destilasyonu*

Bazı maddeler atmosfer basıncında kaynama noktalarından önce bozunurlar. Bu tür maddeleri destilasyon işlemi ayırmak için atmosfer basıncı altındaki basınçlar, diğer bir ifadeyle vakum uygulanır. Böylelikle kaynama sıcaklıkları altında bozunan maddelerin destilasyon işlemi ile ayrılabilmesi mümkün olur (Kutlular, 2007).

2.4.3. Ekstraksiyon

2.4.3.1. Maserasyon

Çiçeklerden uçucu yağ elde etmek için kullanılan yöntemlerden biridir. Çiçekler yaklaşık 60-70°C'deki erimiş hayvansal veya bitkisel yağa batırılarak aroma maddelerinin bitkisel yağa geçmesi sağlanır. Yağ içerisinde kalmış çiçek parçaları ortamdan uzaklaştırılır. Üzerlerinde kalan yağ hidrolik basınç uygulanarak alınır ve aroma maddelerini içeren yağa katılır. Bu işleme yağ aroma maddeleriyle doyana kadar devam edilir. Maserasyon yöntemi çok uzun zaman aldığından ötürü verimsiz bir yöntemdir (Mukhopadhyay, 2000; Ceylan, 2008).

2.4.3.2. Enfloraj

Çiçek ve diğer aromatik bitkilerin soğuk hayvansal yağa temas ettirilmesiyle gerçekleştirilir. Bu temas sonucunda bitkisel numunedeki aroma maddeleri hayvansal yağa geçer. Hayvansal yağdaki uçucu yağ petrol eteri gibi bir çözücü ile ekstrakte edilir. Maserasyonda olduğu gibi uzun zaman alan yöntemlerden biridir (Mukhopadhyay, 2000; Ceylan, 2008)

2.4.3.3. Çözücü Ekstraksiyonu

Bazı bitkilerin esansları su buharıyla bozunabilir veya bazı bitkilerin uçucu yağı çok az olduğundan esanslarını destilasyonla çıkarmak güçtür. Böyle durumlarda uçucu yağ elde etmek için çözücü ekstraksiyonu yöntemi kullanılır. Dietil eter, hekzan, petrol eteri ve metil klorür gibi çözücüler ekstraksiyon işleminde kullanılır. Bu çözücülerden en yaygın olarak kullanılan hekzandır. (Karadeniz, 2001; Diri, 2006).

Ekstraksiyon işleminden sonra çözücü uçurulur ve geriye erimiş vaks görünümdeki uçucu yağ kalır. Bu konrekt olarak adlandırılmaktadır. Elde edilen bu konkret alkol ile çözülerek düşük sıcaklıklara kadar soğutulursa vakslar çökerek bir filtre yardımıyla uçucu yağdan ayrılır. Vakstan ayrılan bu uçucu yağ absolüt olarak adlandırılır (Karadeniz, 2001).

2.4.3.4. Mikrodalgayla Ekstraksiyon

2. Dünya Savaşı'ndan beri kullanılmakta olan mikrodalgalar radar teknolojisine büyük katkı sağlamıştır. Mikrodalgaların laboratuvar ortamında ısı kaynağı olarak kullanılmaya başlanması 1970'lerin sonlarına doğru gerçekleşmiştir. Mikrodalgayla ekstraksiyon işlemi ise ilk kez Ganzler ve diğ. (1986) tarafından açıklanmıştır.

Mikrodalgalar frekansları 0,3-300 GHz arasında değişen elektromanyetik radyasyonlardır. Radyo iletişimi, evsel ve endüstriyel mikrodalgalardan etkilenmemek için genellikle 2,45 GHz frekansında çalışılır. Mikrodalga enerjisinin etkisi büyük oranda çözücü ile katı matriksin yapısına bağlıdır. Polar moleküller ve iyonik türlerin bulunduğu durumlarda daha hızlı bir enerji yayılması meydana gelmektedir. Bu yöntemin avantajı moleküllerin kutuplarındaki yükseltgenen zayıf hidrojen bağlarının bozundurulmasıdır. Temasla gerçekleştirilen klasik ısı iletimi yöntemlerinin aksine, mikrodalgalar örneğin tamamını aynı anda ısıtabilmektedirler.

Mikrodalgayla ekstraksiyon yöntemi için ticari olarak iki farklı tipte cihaz bulunmaktadır. Cihazlardan birisi kapalı diğeri ise açık tiptedir. Kapalı cihazlar basınç ve sıcaklık değerlerini kontrol altında tutmaya olanak sağlar. Açık cihazlarda ise atmosfer basıncında çalışılır. Kapalı mikrodalgayla ekstraksiyon sistemleri genellikle dijesyon, asit minerallendirilmesi veya şiddetli koşullar altındaki ekstraksiyonlar için kullanılmaktadır. Açık mikrodalga ile ekstraksiyon sistemlerinde ise ekstraksiyon süresi daha kısa ve kullanılan çözücü miktarı da daha azdır. Bu özellikler açık mikrodalga ile ekstraksiyon sistemlerinin avantajlarıdır (Kaufmann ve Christen, 2002; Kılıç, 2008).

2.4.3.5. Soxhlet Ekstraksiyonu

Soxhlet ekstraktörü 1879 yılında Franz Von Soxhlet tarafından icat edilmiştir. İcat edilmesinin ilk amacı katı malzemelerden lipidlerin ekstraksiyonuydu. Fakat Soxhlet ekstraktörünün kullanım alanı lipid ekstraksiyonu ile sınırlandırılmamaktadır. Soxhlet ekstraktörü genellikle istenen bileşiğin çözücünde çok az çözündüğü ve safsızlıkların ise çözünmediği durumlarda tercih edilir. Eğer istenen bileşik çözücünde çok fazla miktarda çözünüyorsa basit bir filtre kullanılarak bileşik çözünmeyen maddeden ayrılabilir.

Soxhlet ekstraktöründe gözenekli bir kap içerisinde yerleştirilen katı örnek üzerinden aralıksız olarak yoğunlaşmış çözücü geçirilerek ekstraksiyon gerçekleştirilir. Soxhlet ekstraktörü Şekil 2.29’da görülmektedir (Harwood ve Moody, 1989; Jensen, 2007; Soxhlet, 1879).



Şekil 2.29 : Soxhlet ekstraktörü

Burada alt taraftaki balonda ısıtma sonucu buharlaşan çözücü sol kısımdaki yoldan hareket ederek sistemin üstündeki geri soğutucuda sıcaklık düşüşünden dolayı yoğunlaşır. Yoğunlaşan çözücü aşağıya doğru akar. Çözücü yeşil bölümün üst sınırına kadar dolduktan sonra şifon yapar ve aşağıya akar. Şifon yapmasıyla birlikte içerisinde çözmüş olduğu maddeleri de beraberinde sürükler. Bu aşamadan sonra aynı işlemler birkaç defa daha tekrarlanarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmiş olur.

2.4.3.6. Katı Faz Mikro Ekstraksiyonu (SPME)

Bu yöntem Pawliszyn ve Belardi (1989) tarafından yapılan bir çalışmayla bulunmuştur. Bu yöntem ile örnek hazırlama, ekstraksiyon ve yoğunlaştırma gibi işlemleri tek bir aşamada birleştirerek çözücü kullanılmadan gerçekleştirilmektedir. Ekstraksiyonun bu şekilde gerçekleşmesi maliyet açısından önemli kazançlar sağlamaktadır. Bu yöntem sulu çözelti veya gazlara uygulanabilmektedir. En yaygın kullanım alanı GC veya GC-MS ile birlikte kullanıldığı çevre, biyoloji ve gıda örneklerindeki uçucu ve yarı uçucu organik bileşiklerin ekstraksiyonudur (Vas ve Vekey, 2004; Kılıç, 2008).

SPME cihazı modifiye edilmiş bir şırıngaya benzemektedir. İç kısmında bir lif tutucu ve lif grubu bulunmaktadır. Sondaki 1-2 cm uzunluğunda olan lif ileri geri hareket edebilen bir SPME lifidir. SPME lifi ince polimer film kaplı eritilmiş silika optik bir liftir. SPME uygulaması gaz (headspace) ya da çözelti halindeki örneğe uygulanabilmektedir. Her iki durumda da SPME iğnesi kapalı ortama sokulur, lifi koruyan kısım geri çekilir ve lifin ortamla temas etmesi sağlanır. Lif üzerindeki polimer kaplama tıpkı bir sünger gibi absorpsiyon/adsorpsiyon yöntemiyle örneği alır ve daha sonra koruma amaçlı olarak lif, metal iğnenin içerisine geri çekilir. Bir sonraki aşama lif üzerindeki örneğin GC veya GC-MS'e termal desorpsiyon ile aktarılarak analiz edilmesidir (Galipo et al., 2002; Kılıç, 2008).

2.4.3.6. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SCFE)

Süperkritik fazının oluşumu ilk olarak 1822 yılında Baron Cagniard de la Tour tarafından gözlemlenmiştir. Kapalı bir kap içerisinde ısı ile sıcaklığı arttırılan belirli maddelerde gaz ile sıvı fazları arasındaki sınırın ortadan kalktığı keşfedilmiştir. Bu özelliğin tanımlanmasından sonraki dönemlerde de kritik nokta bulunmuştur.

Yapılan bu çalışmalardan sonra Hannay ve Hoghart (1879) tarafından yapılan çalışmada CoCl_2 , FeCl_3 , PBr_3 ve PI gibi tuzların süperkritik etanol ($T_c=243^\circ\text{C}$, $P_c=63\text{ atm}$) içindeki çözünürlükleri üzerine bir çalışma yapılmıştır. Buna göre düşük buhar basıncına sahip maddelerin süperkritik akışkanlardaki çözünürlüklerinin basınca bağlı olduğunu bulmuşlardır. Daha sonra Villard (1896) tarafından metan, etilen, karbon dioksit ve nitroz oksit gibi gazların kafur, stearik asit ve parafin gibi bazı katı ve sıvı bileşikleri çözdüğü kanıtlanmıştır. Bundan sonra birçok araştırmacı süperkritik akışkanların katıları çözme kabiliyetleri üzerine çalışmalar yapmıştır (Zhari, 2007; Laitinen, 2000).

Chrastil (1982) yaptığı çalışmada süperkritik akışkanların ekstraksiyon işlemindeki çözme kabiliyetlerinin yoğunluklarına bağlı olduğunu belirlemiştir. Çözünen maddenin molekülleri ile süperkritik akışkanın molekülleri bir araya gelen bir çözünme kompleksi oluştururlar. A çözünen madde molekülünü, B çözücü olan süperkritik akışkan molekülünü ve n de molekül sayısını gösterecek olursa denge eşitliği şu şekilde yazılabilir.



1 numaralı denklemdeki denge sabiti K, 2 numaralı denklemde şu şekilde ifade edilir ve 2 numaralı denklemin lineerleştirilmesiyle 3 numaralı denklem elde edilir.

$$K = [AB_n] / [A][B]^n \quad (2)$$

$$\ln K + \ln [A] + n \cdot \ln [B] = \ln [AB_n] \quad (3)$$

Burada $\ln K = \Delta H_c / RT + q_c$ şeklinde ifade edilebilir. ΔH_c çözünme ısısıdır. Clapeyron-Clausius denklemi yardımıyla da $\ln [A] = \Delta H_b / RT + q_b$ yaklaşık olarak hesaplanır. Burada ΔH_b çözünen A molekülünün buharlaşma gizli ısısıdır. İki denklem birleştirilip gerekli düzenlemeler yapılırsa aşağıdaki 4 numaralı denklem elde edilir.

$$\Delta H / RT + q + n \cdot \ln [B] = \ln [AB_n] \quad (4)$$

Burada $q = q_c + q_b$, $\Delta H / RT = \Delta H_c / RT + \Delta H_b / RT$ dır. Konsantrasyon ve gaz yoğunluğunu g/L ifade cinsinden ifade edersek 5 ve 6 denklemler yazılabilir.

$$[AB_n] = c / (M_A + n \cdot M_B) \quad (5)$$

$$[B] = \rho / M_B \quad (6)$$

Burada c gazda çözünen A bileşeninin konsantrasyonu, ρ gaz yoğunluğu, M_A ve M_B de A ve B maddelerinin molekül ağırlıklarıdır. 5 ve 6 numaralı denklemler 4 numaralı denklemde yerine konulursa 7 numaralı denklem; bu denklemin de düzenlenmesiyle 8 numaralı denklem elde edilir.

$$\Delta H/RT + q + n \cdot \ln \rho - n \cdot \ln M_B = \ln c - \ln(M_A + n \cdot M_B) \quad (7)$$

$$c = \rho^n \cdot e^{(a/T + b)} \quad (8)$$

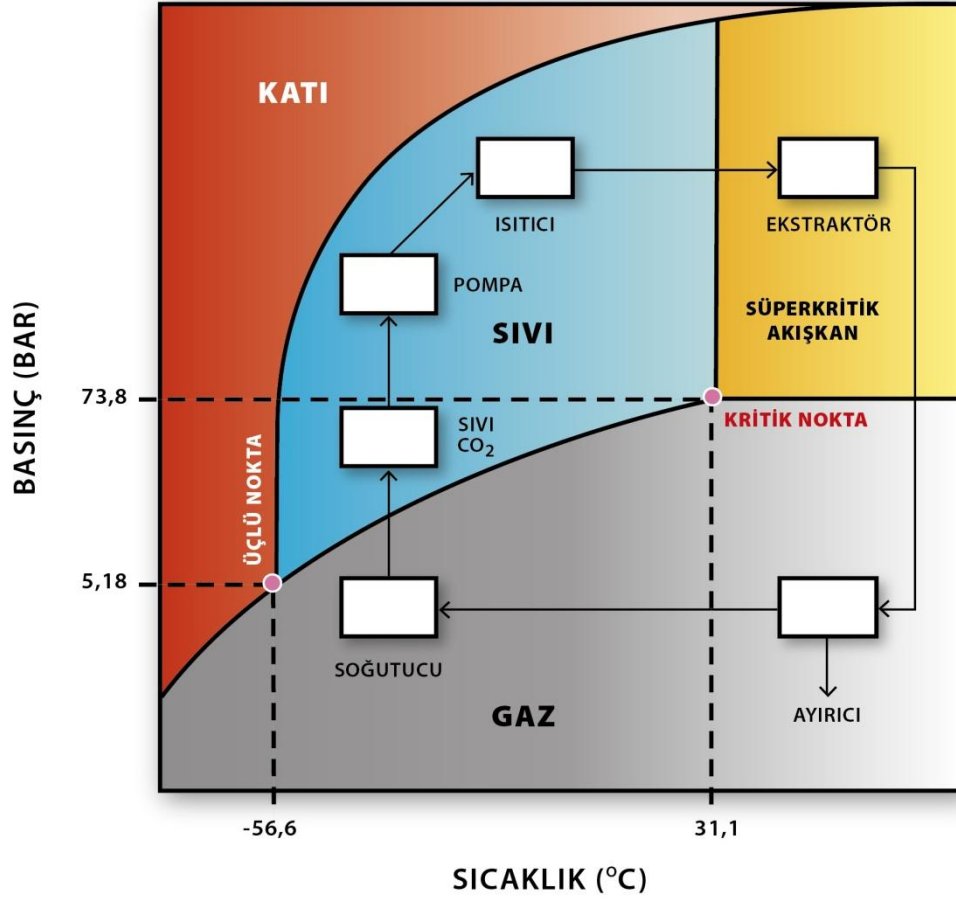
Burada $a = \Delta H/R$ ve $b = \ln(M_A + n \cdot M_B) + q - n \cdot \ln M_B$ dir.

8 numaralı denklemdeki eşitlik bize süperkritik akışkanların ekstraksiyon işleminde çözücü olarak kullanılabilirliğinin direkt olarak yoğunluklarına bağlı olduğunu göstermektedir (Handa ve diğ., 2008).

Diğer ekstraksiyon çeşitlerine göre daha yeni bir yöntem olan süperkritik akışkan ekstraksiyonu günümüzde gıda, kimya, biyoteknoloji ve ilaç gibi alanlarda önem kazanmaya başlamıştır. Üniversitelerdeki araştırma laboratuvarları, gıda, kimya ve ilaç sektöründeki firmalar süperkritik akışkan ekstraksiyonu yöntemiyle ilgili pilot tesislerde elde ettikleri çalışmaları üretim ölçeğine getirebilmişlerdir (Sulu, 2000).

Süperkritik akışkanların bir tanımlaması yapılacak olursa öncelikle her bir maddenin belli bir kritik sıcaklık ile kritik basınç değerine sahip olduğunun belirtilmesi gerekmektedir. Bu durumda maddelerin sıvı ve gaz fazlarının birarada bulunabildiği en yüksek basınç ve sıcaklık değerleri kritik basınç ve kritik sıcaklık olarak adlandırılır. Maddeler bu değerlerden daha yüksek değerlerde süperkritik akışkan olarak davranırlar (Çolak ve Tülek, 2003).

Şekil 2.30'da verilen CO₂'in basınç-sıcaklık grafiğinde SCFE prosesinde hangi aşamalarda hangi bölgelerde çalışıldığı görülmektedir. CO₂ tüpünde sıvı halde bulunan CO₂ pompa yardımıyla ısıtıcıya gönderilir. Burada kritik sıcaklığın üzerine kadar ısıtılır. Aynı zaman bir basınç regülatörü yardımıyla da basıncı kritik basınca getirilir. Sonra ekstraktör içerisine gönderilerek örnek ile teması sağlanır. Örnek içerisinde çözdüğü maddeleri kendisiyle birlikte örnek dışına sürükler. Sıcaklık ve basıncı kritik sıcaklık ve basınç altına düşürülerek gaz fazına geçer. Böylelikle elde edilen özüt içerisinden buharlaşarak uzaklaşır.



Şekil 2.30 : CO₂ basınç-sıcaklık grafiği

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yönteminde süperkritik akışkan olarak karbondioksit, etan, etilen, propan, propilen, benzen, toluen, klortriflorometan, trikloroflormetan, amonyak, nitroz oksit ve su gibi bazı maddeler yaygın olarak kullanılmaktadır. Süperkritik akışkan olarak kullanılan bazı maddelerin kritik sıcaklık ve kritik basınç değerleri Tablo 2.8.'de verilmiştir (Sahena ve diğ., 2009).

Tablo 2.8 : Bazı maddelerin kritik sıcaklık ve kritik basınç değerleri

Madde	Kritik sıcaklık (°C)	Kritik basınç (MPa)
Karbondiyoksit	31,1	7,38
Etan	32,3	4,87
Etilen	9,4	5,04
Nitroz oksit	36,6	7,26
Propan	96,8	4,25
n-Hekzan	234,5	3,01
Aseton	235,1	4,70
Metanol	239,6	8,09
Etanol	240,9	6,14
Etil asetat	250,2	3,83
Su	374,1	22,06

Süperkritik akışkanların bazı avantajlarından bahsedecek olursak öncelikle bu yöntemde genellikle CO₂, N₂, H₂O gibi yanıcı ve patlayıcı olmayan sıvı ve gazların kullanıldığını söyleyebiliriz. Sistemde oksijenin bulunmaması oksidasyon olmasını önlemektedir. Süperkritik akışkanların viskoziteleri gazların viskozitelerine yakın değerlerdedir. Bundan dolayı da difüzyon daha hızlı gerçekleşir. Diğer bir ifadeyle yayılabilirlikleri gazlarda olduğu gibi yüksek değerlerdedir. Bu özellik akışkanın katı matriks içerisine hızlı şekilde nüfuz etmesine olanak sağlar. Süperkritik CO₂ ile yapılan ekstraksiyon işlemi kritik sıcaklığın düşük olmasından ötürü sıcaklıkla bozulan maddeler için bir dezavantaj teşkil etmemektedir. Farklı sıcaklık ve basınç kombinasyonlarının kontrol edilmesiyle son ürünün fraksiyonlarına ayrılması mümkündür. Süperkritik CO₂ kullanımında elde edilen son üründe basınç ve sıcaklığın kritik koşullar altına düşürülmesinden ötürü çözücü kalıntısı bulunması mümkün değildir. Apolar maddeler için CO₂'in seçiciliği yüksektir. Sistemde sadece elektrik enerjisi kullanıldığından işletme maliyeti düşüktür (Sulu, 2000; Çolak ve Tülek, 2003).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yönteminde süperkritik akışkan olarak düşük kritik sıcaklık ve kritik basınç değeri, diğer çözücülere göre düşük toksitesi ve kimyasal açıdan inert olması sebebiyle CO₂ yaygın olarak kullanılmaktadır. Süperkritik CO₂'in dezavantajları olarak apolar bir çözücü olmasından ötürü polar bileşiklerin ekstraksiyonunda yeterli olmaması ve iyonik bileşiklerin ekstraksiyonunda zorluk yaratan düşük dielektrik sabiti değerinden bahsedilebilir. Bu yüzden Castro ve Tena

(1996) tarafından yapılan bir çalışma ile polar ve iyonik bileşenlerin ekstraksiyonunu kolaylaştırmak için iki ayrı yöntem geliştirilmiştir.

Bu yöntemlerden birincisi süperkritik CO₂'nin polaritesini fiziksel özelliklerinin değiştirilmesi ile arttırmak veya başka bir süperkritik akışkan kullanmak ile polar bileşikler ve iyonik bileşikler için uygun bir çözücü sağlamaktır. Bu bağlamda süperkritik NH₃ kullanılabilir. Fakat çok aktif olduğundan ötürü pompa aksamını çözme gibi bir olasılığı vardır. Dolayısıyla pompalanması zordur. Süperkritik metanol de mükemmel bir çözücüdür. Fakat yüksek kritik sıcaklık değeri ve ekstraksiyondan sonra ortam koşullarında sıvı olması nedeniyle ürün konsantrasyonunu zorlaştırmaktadır. Bunlar dışında en uygun çözücülerden birisi de subkritik ve süperkritik akışkan olarak kullanılabilen sudur. Dielektrik sabitinin kontrol edilebilmesinin mümkün olmasından ötürü topraktan pestisit ekstraksiyonu ve sıcaklığın yükseltilmesi ile yüksek oranda polariteye sahip çevreyi kirletici örneklerin ekstraksiyonu gibi amaçlar için uygundur.

Süperkritik CO₂'nin polaritesinin arttırmanın ikinci yolu yardımcı çözücü (ko-solvent) kullanmaktır. Yardımcı çözücüler direkt olarak pompalama sistemine verilebilmekte veya örnek üzerine sıvı olarak basit bir sistemle enjekte edilebilmektedir. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu yönteminde yardımcı çözücü olarak kullanılacak bazı maddeler kritik basınç ve sıcaklık değerleriyle birlikte Tablo 2.9'da verilmiştir (Gök, 2012).

Tablo 2.9 : Süperkritik CO₂ ekstraksiyonun da kullanılacak bazı yardımcı çözücüler

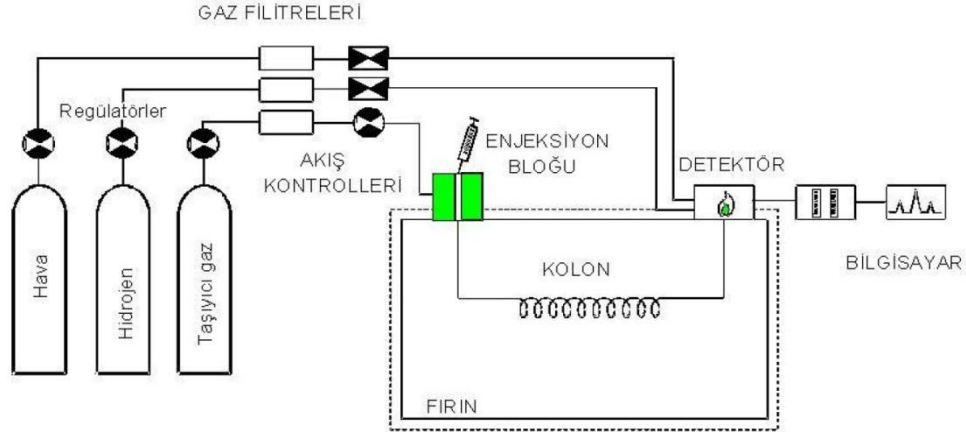
Yardımcı çözücü	Kritik sıcaklık (K)	Kritik basınç (Bar)
Metanol	512,60	80,96
Etanol	516,20	63,80
Propan-1-ol	536,70	51,70
Propan-2-ol	508,30	47,60
Hekzan-1-ol	610,00	40,50
Diklorometan	510,20	60,80
Kloroform	536,40	54,90
Su	647,30	220,50

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun verimini kontrol etmede basınç, sıcaklık, süperkritik akışkanın türü ve oranı, ürün toplama tekniği, örnek büyüklüğü, matriks, sistem kaçakları ve birikintileri önem teşkil etmektedir (Kutlular, 2007).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun kullanım alanları olarak çay ve kahvenin kafeinsizleştirilmesi, baharatların ekstraksiyonu (yağ ve yağ reçineleri), koku ve aroma bileşenlerinin ekstraksiyonu, bitkisel ilaçların ekstraksiyonu, meyve sularının stabilizasyonu, yünden lanolin eldesi, yumurta sarısı ve hayvansal dokularından kolesterolün uzaklaştırılması, bitkisel numunelerden antioksidanların ekstraksiyonu, bitkilerden gıda boyalarının eldesi, doğal pestisidlerin eldesi ve tütünün nikotinsizleştirilmesi gibi işlemler örnek verilebilir (Patterson, 2005)

2.5. GAZ KROMATOĞRAFİSİ-KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC-MS)

Kromatografi yönteminin prensibi bir karışım içindeki maddelerin hareketli bir faz ile sürüklenirken durağan bir faz üzerinde bu faza olan ilgilerine göre farklı noktalarda adsorblanma, dağılma veya iyon değişimi mekanizmaları ile birbirinden ayrılmasına dayanmaktadır. Kromatografi yöntemi fiziksel bir ayırma işlemidir. Kromatografi yönteminin bir türü olan gaz kromatografisinde gaz ya da gaz fazına geçebilen maddeler analiz edilir. Bu yöntemde hareketli faz olarak çeşitli inert gazlar kullanılmaktadır. Hareketli fazda kullanılan gaz taşıyıcı gaz olarak adlandırılmaktadır. Durağan faz olarak ise katı veya sıvılar kullanılmaktadır. Durağan faz olarak katıların kullanıldığı yöntem adsorbsiyon; sıvıların kullanıldığı yöntem ise dağılma prensibine dayanmaktadır. Durağan faz olarak katı kullanılan yöntem gaz-katı kromatografisi (GSC); sıvı kullanılan yöntem ise gaz-sıvı kromatografisi (GLC) olarak da adlandırılmaktadır (Gerhards ve diğ., 1999; Gök, 2012). Gaz kromatografisi sisteminin şematik gösterimi Şekil 2.31’de gösterilmiştir (Tutanç, 2009).



Şekil 2.31 : Gaz kromatografisi sisteminin şematik gösterimi

Gaz kromatografisi yönteminde ayırmanın gerçekleştirilmesi için öncelikle karışımdaki maddelerin buharlaştırılması gerekmektedir. Sıvı karışımlar içindeki maddeler kaynama sıcaklıklarının üzerindeki sıcaklık değerlerine getirilerek gaz fazına geçirilmektedirler. Katı örnekler ise analiz koşullarına uygun bir çözücü içinde çözündürülmelidirler. Bu nedenle gaz kromatografisi yöntemi ile gerçekleştirilen ayırma işlemi yeterli derecede uçucu ve termal açıdan stabil olan maddeler ile sınırlıdır.

GC-MS sistemi basınç ve akış hızı ayarlayıcısı, gaz kontrol ünitesi, enjeksiyon bloğu, fırın, kolon, dedektör ve kaydedici kısımlardan meydana gelmektedir (Niessen, 2001; Gök, 2012).

2.5.1. Taşıyıcı Gaz

Gaz kromatografisi yönteminde taşıyıcı gaz olarak genellikle azot, hidrojen veya helyum kullanılmaktadır. GC-MS uygulamalarında ise en çok kullanılan gaz helyumdur. Bu gazların kullanılmasının nedeni inert olmalarıdır. Kullanılan gazların oksijen, su ve hidrokarbonlardan arındırılmış olması gerekmektedir. Taşıyıcı gaz içerisinde oksijenin varlığı durağan faz olarak kullanılan kolonlara zarar verebilmektedir (Niessen, 2001).

2.5.2. Enjeksiyon Portu

Gaz kromatografisi yönteminde enjeksiyonun yapılabilmesi için öncelikle buharlaştırma gerçekleştirilmelidir. Buharlaştırma işlemi enjeksiyon sırasında yapılabildiği gibi

enjeksiyondan sonra da yapılabilir. Enjeksiyonda sıvı numuneler bir şırınga ile mikrolitre mertebesinde cihaza verilir. Katı numuneler ise öncelikle başka bir çözücüde çözündürülmeli; sonra enjekte edilmelidir (Gerhards ve diğ., 1999).

Enjeksiyon işleminin sağlıklı şekilde yapılabilmesinin en önemli amacı numunenin en az kayıp ile analize hazırlanabilmesidir. Bu nedenle 5 farklı tipte enjeksiyon yöntemi mevcuttur. Bunlar bölmeli (split) enjeksiyon, bölmesiz (splitless) enjeksiyon, kolona enjeksiyon, doğrudan enjeksiyon ve sıcaklık programlı buharlaştırmalı enjeksiyon yöntemleri olarak sıralanabilir (Tunçbilek, 2005; Tutanç, 2009).

Bölmeli enjeksiyonda enjekte edilen numunenin küçük bir bölümü ile analiz gerçekleştirilir. Kapiler kolonlarda kullanılan bu enjeksiyon yöntemi örnek konsantrasyonunun çok yüksek; kolon kapastesinin ise düşük olduğu durumlarda uygulanır. Çünkü yüksek konsantrasyonlar aşırı yüklemeye neden olacağından kolona zarar verebilir ve bu nedenle maddelerin birbirinden ayrılması güçleşir. Bölmesiz enjeksiyon yöntemi seyreltik örnekler için uygulanır. Kolona enjeksiyonda örnek doğrudan kolona enjekte edilir. Düşük konsantrasyonlu numuneler için uygundur. Bu metod polar ve termal açıdan kararsız maddeler için uygundur. Sıcaklık programlı buharlaştırmalı enjeksiyonda örnek soğuk enjeksiyon bloğuna enjekte edilir. Enjektör çekildikten sonra örnek hızlıca ısıtılır. Büyük hacimli enjeksiyonlar için uygundur. Doğrudan enjeksiyonda ise enjektörün girdiği kısımda fırından bağımsız bir ısıtma gerçekleştirilir. Böylelikle hızlı bir buharlaşma olur. Çok geniş çaplı kolonlar için uygundur (Gerhards ve diğ., 1999; Tunçbilek, 2005)

2.5.3. Kolon

Gaz kromatografisi yönteminde kolonlar dolgulu ve kapiler olmak üzere iki çeşittir. Dalgulu kolonların çapları kapiler kolonlara göre daha büyüktür. Cam veya paslanmaz çelikten yapılan dolgulu kolonların çapları 1-50 mm; uzunlukları ise 1-5 m arasında değişmektedir. Dalgulu kolonların içerisinde dolgu maddesi olarak adsorblayıcı katı malzemeler kullanılmaktadır. Kullanılan bu katı malzemelere örnek olarak silikajel, aktif karbon ve alüminyum oksit gibi maddeler verilebilir.

Kapiler kolonlar erimiş SiO_2 'den yapılan çapları 30-500 μm ; uzunlukları da 10-100 m arasında değişen kolonlardır. Dolgu maddesi olarak katı veya sıvılar kullanılmaktadır. Katı olarak kullanılan maddelere örnek olarak silikajel verilebilir. Sıvı dolgu maddesi kullanıldığı durumda kapiler kolonun iç çeperleri sabit sıvı faz ile kaplanmaktadır. Sıvı faz olarak polisiloksanlar, poliestерler, polietilenglikoller, hidrokarbonlar ve esterler kullanılmaktadır (Gerhards ve diğ., 1999; Gök, 2012).

Dolgu maddesi kolonlara 4 farklı şekilde uygulanabilmektedir. Bunlar WCOT, SCOT, PLOT ve WSCOT yöntemleridir. WCOT yönteminde durağan faz kolona ince bir sıvı filmi şeklinde uygulanmaktadır. Bu en sık uygulanan yöntemdir. SCOT yönteminde kolon duvarları durağan faz sıvısı için destek sağlayan küçük inert partiküllerden oluşan bir tabakayla kaplanır. WSCOT yönteminde daha ince bir durağan faz uygulanmaktadır. PLOT yönteminde kolon küçük adsorblayıcı partiküller ile kaplanır. Bu yöntem gaz-katı kromatografisinin bir örneğidir (Niessen, 2001).

2.5.4. Fırın

GC analizinde fırın sıcaklığını yapılacak analize göre doğru şekilde ayarlamak analiz sonuçlarına etki etmektedir. 360°C sıcaklığa kadar geniş bir sıcaklık aralığında farklı sıcaklıklarda farklı sürelerde kalma gibi fırın programları uygulanabilir. Burada önemli bir nokta da ayarlanan en yüksek sıcaklık değerinin kolonun bozunma sıcaklığından yüksek bir değerde olmamasıdır. Aksi halde kolon zarar görebilir. Sıcaklığın belli zaman dilimlerinde basamaklı olarak artması uçucu yağlar ve çok sayıda bileşen içeren numuneler için iyi bir fırın programı uygulamasıdır. Fırın programının bu şekilde olması karışımdaki bileşenlerin piklerinin birbirlerinden ayırt edilebilecek şekilde ayrılabilmesine olanak sağlamaktadır. Sıcaklığın yüksek tutulması bileşenlerin kolonda hızlı hareket etmesine neden olduğundan ayrılmanın etkinliğini azaltır. Ayrıca sıcaklık artış değeri de analizi etkilemektedir. Sıcaklık artış değerlerinin 50°C/dk üzerine çıkması kolon ömrünü kısaltabilmektedir (Gök, 2012).

2.5.5. Dedektörler

Gaz kromatografisi yönteminde farklı amaçlar için farklı dedektörler kullanılmaktadır. Dedektörler yüksek hassaslık ve dayanıklılığa, basit bir tasarıma ve geniş bir aralıkta lineer sinyal-konsantrasyon ilişkisine sahip olmalıdır.

Dedektörler evrensel, seçici ve özgün olmak üzere genel olarak 3 gruba ayrılabilir. Tablo 2.10’da bazı dedektörler ve kullanım alanları görülmektedir.

Tablo 2.10 : Bazı dedektörler ve kullanım alanları

Dedektör	Tipi	Seçimlilik
Alev iyonizasyon dedektörü (FID)	Seçici	Hemen hemen tüm organik maddeler
Isısal iletkenlik dedektörü (TCD)	Evrensel	Her madde
Elektron yakalama dedektörü (ECD)	Seçici	Halojen ve nitro grubu içeren maddeler
Fotoiyonizasyon dedektörü (PID)	Seçici	Halojenli aromatik ve π bağı içeren bileşikler
Seçilmiş iyon görüntülemesi (SIM)	Özgün	Bazı moleküller ve elementler
Alev fotometrik dedektör (FPD)	Seçici	P, S ve Sn içeren bileşikler

FID dedektörleri ile yapılan analizde karışımdaki maddeler H_2 /Hava alevinde yakılarak iyon şekline dönüştürülür. Bu iyonlar bir elektrik alan etkisi altında elektrotlarda toplanarak çıkışı amfilendirilmiş bir elektrometre ile ölçülürler. İyonlaşma reaksiyonu genel olarak şu şekilde gösterilebilir:



Bu dedektörler hemen hemen tüm organik maddelerin analizinde kullanılabilmesine rağmen çevre analizlerine karşı spesifik ve hassas olmaması bir dezavantajı olarak gösterilebilir. Bu dedektör ile He, Ne, Ar gibi asal gazlar, O_2 , N_2 , CO, CO_2 , H_2O , CS_2 , SiF_4 , NH_3 , SO_2 gibi bileşikler analiz edilememektedir (Gerhards ve diğ., 1999; Gök, 2012).

2.5.6. Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometresi tek başına kullanılan bir yöntem değildir. Genellikle bir kromatografi ve bilgisayar sistemi ile beraber kullanılmaktadır. Uçucu maddelerin

ayrılması ve belirlenmesinde gaz kromatografisi ile GC-MS, uçucu olmayan veya kararsız maddelerin ayrılması ve belirlenmesinde de sıvı kromatografisi ile LC-MS olarak kullanılabilir. GC-MS yönteminde öncelikle gaz kromatografisi ile karışımdaki bileşenler birbirinden ayrılır. Sonra kütle spektrometresi ile ayrılan bu moleküller iyonlaştırılır ve ne oldukları belirlenir (Smith, 2004).

Kütle spektrometresi sistemi ara bağlantı, iyon kaynağı, kütle analizörü, dedektör ve vakum sisteminden meydana gelmektedir (Tunçbilek, 2005).

İyonlaştırma işleminde nötr haldeki moleküller elektronlarını kaybederek iyonlara dönüşürler. Yüksek enerjiye sahip bu iyonlar kütle analizöründeki yüksek enerjili elektronların analiz edilecek örnek ile çarpıştırılması yoluyla elde edilir. İyonlaşma işleminden sonra moleküldeki bağların kırılması ile parçalanmalar meydana gelir (Smith, 2004).

Gaz kromatografisinde ayrılmış olan gaz fazındaki maddelerin kütle spektrometresi kısmına geçebilmeleri için bir ara bağlantıya ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü gaz kromatografisi sistemi atmosferik basınç; kütle spektrometresi sistemi ise vakum altında çalışmaktadır. Bu ara bağlantı ile maddelerin geçişi kontrol edilmektedir (Gök, 2012). Ara bağlantıdan kütle spektrometresi kısmına aktarılan maddeler iyon kaynağı tarafından iyonlaştırılır. İyonlaştırma işlemi için elektron iyonizasyonu, kimyasal iyonizasyon ve plazma desorpsiyonu gibi farklı iyonlaştırma teknikleri bulunmaktadır. Bu tekniklerden en yaygın olarak kullanılanı elektron iyonizasyonudur. İyon kaynağı renyum veya tungstenden yapılmış ısıtılmış bir metal flamandan oluşmaktadır. İyonlaştırmada kullanılacak elektronlar 70 eV'luk potansiyele sahip bir anoda doğru hızlandırılırlar. Burada hızlandırılan elektronlar gaz fazındaki analiz edilecek madde molekülleriyle çarpışarak enerjilerini aktarırlar. Molekülden bir elektron çıkması ile elektriksel bir uyarılma meydana gelir. Meydana gelen moleküler iyonlar kararsız olduklarından ötürü sahip oldukları enerjiyle daha küçük iyonlara ve radikallere parçalanırlar.

İyon kaynağından çıkanlar iyonlar kütle analizörüne gelirler. Kütle analizöründe m/z oranlarına göre ayrılırlar. Farklı tipde kütle analizörleri bulunmaktadır. Fakat bunlardan

en yaygın olarak kullanılanı kuadrupol kütle analizörüdür. Kuadrupol kütle analizörü birbirine paralel 4 çubuktan oluşmaktadır. Bu çubuklar arasında elektriksel bir çekim bulunmaktadır. Sisteme doğru akım (DC) ve radyo frekansı uygulanmaktadır. Kütle analizörüne giren pozitif yüklü bir iyon negatif yüklü çubuğa yönelecektir. İyon çubuğa ulaşmadan önce elektrik alan etkisiyle polarlık değişerek iyonun yönü değişir. Bu iyonların bazıları m/z oranlarına göre bazıları kararlı, bazıları ise kararsızdır. Kararsız olan iyonlar zıt yükteki çubuğa çarparak kaybolurlar. Kararlı olanlar ise herhangi bir sapmaya uğramadan yollarına devam ederek dedektöre ulaşırlar.

Dedektör, herbir m/z oranındaki iyonun bolluğunun ölçüldüğü kısımdır. Dedektöre ulaşan enerji yüklü iyonlar dinot olarak adlandırılan yüzeye çarparak yüzeyden bir veya birkaç elektron salınmasına neden olurlar. Salınan bu elektronlar hızlanarak bir diğer dinota çarpar ve daha fazla sayıda elektron salınır. Bu işlem defalarca tekrarlanarak salınan elektronların sayısı 10^6 - 10^8 mertebelerine kadar ulaşır. Böylelikle kütle spektrumu grafikleri oluşturulur. Bu grafiklerde x eksenini iyonların m/z oranlarını, y eksenini ise bolluklarını temsil etmektedir (Gök, 2012; Henderson ve McIndoe, 2005).

2.6. UV-GÖRÜNÜR BÖLGE SPEKTROMETRESİ

Spektroskopi madde ile elektromanyetik radyasyon arasındaki etkileşimi incelemektedir. Bu etkileşim yardımıyla kalitatif ve kantitatif analizler gerçekleştirilmektedir. UV-görünür bölge spektroskopisinde elektromanyetik spektrumun 10-200 nm arasındaki vakum ultraviyole, 200-380 nm arasındaki yakın ultraviyole ve 380-780 nm arasındaki görünür bölgelerinde çalışılmaktadır (Berkkan, 1997; Zhang, 2007).

Bu yöntemde kullanılan elektromanyetik radyasyonun enerjisi Planck Yasası ile tanımlanabilir. Max Planck tarafından bulunan bu yasa atom ve moleküllerin yayabilecekleri enerjinin belli bir miktarda olabileceğini ifade etmektedir. Bu nedenle enerji kuantum adı verilen paketlerle yayılmaktadır. Tek bir kuantumun enerjisi şu şekilde ifade edilmektedir (Chang, 2000):

$$E = h\nu = hc/\lambda \quad (2.2)$$

Bu denklemde,

E = Elektromanyetik radyasyonun enerjisi

h = Değeri $6,62 \times 10^{-34}$ Js olan Planck sabiti

ν = Radyasyonun frekansı

c = Işık hızı

λ = Dalga boyudur.

Bir molekülün toplam enerjisi ise üç bileşenden meydana gelmektedir. Bunlar elektronik, titreşim ve dönme enerjilerdir. Molekülün toplam enerjisi şu şekilde ifade edilmektedir:

$$E_{\text{Toplam}} = E_e + E_t + E_d \quad (2.3)$$

Burada,

E_{Toplam} = Toplam enerji

E_e = Elektronik enerji

E_t = Titreşim enerjisi

E_d = Dönme enerjisidir.

Bu enerjilerden en büyük değerde olanı elektronik, en küçüğü ise dönme enerjisidir. UV ve görünür ışığın fotonları bazı molekül ve atomlarda farklı elektronik enerji seviyeleri arasında enerji geçişine neden olabilecek enerjiye sahiptirler. Atom ya da molekül tarafından absorblanan ışığın dalga boyu o atom veya moleküldeki bir elektronun temel enerji seviyesinden üst enerji seviyesine geçişini sağlamaktadır. Meydana gelen elektronik enerji geçişi dışında aynı zamanda titreşim enerji geçişi de meydana gelmektedir. Her geçişte farklı bir dalga boyu absorblanmaktadır. Bu dalga boylarının yan yana gösterilmesiyle absorbsiyon spektrumu meydana gelir. UV bölgedeki ışığın absorblanmasıyla en yüksek seviyede elektronik ve belli oranda titreşim enerji geçişi; görünür bölgedeki ışığın absorblanmasıyla ise daha düşük seviyede elektronik ve belli oranda titreşim enerjisi geçişi oluşmaktadır (Berkkan, 1997; Owen, 2000; Zhang, 2007).

Absorblanan ışığın miktarı Beer-Lambert Yasası'na göre tanımlanmaktadır. Işık örneğin içinden geçtiği veya örnekten yansıdığı anda absorblanan ışık miktarı gelen ve geçen ışık

arasındaki farka eşittir. Bu örneğin ışığı hangi oranda geçirdiği ya da yansıttığı geçirgenlik ya da absorbans ile tanımlanmaktadır. Bu durumda geçirgenlik aşağıdaki denklemle ifade edilir:

$$T = I/I_0 \quad (2.4)$$

Absorblanan ışık miktarı ise aşağıdaki denklemle ifade edilir:

$$A = -\log T = -\log I/I_0 = \epsilon.l.c \quad (2.5)$$

Burada,

T = Geçirgenlik (Transmitans)

A =Absorbans

I_0 = Gelen ışığın şiddeti

I = Çıkan ışığın şiddeti

c = Çözelti derişimi

ϵ = Molar absorbtivite

l = Işığın çözelti içinde aldığı yol

ϵ ve l sabit tutulursa denklem şu şekli alır:

$$A = a.c \quad (2.6)$$

Böylelikle absorbans ile konsantrasyon arasında çizilecek grafik bir doğru şeklini alır ve orjinden geçer. Bilinmeyen bir çözeltinin derişimini bulmak için aynı örneğin bilinen derişimdeki birkaç çözeltisi hazırlanır ve absorbansları ölçülür. Elde edilen absorbans ve derişim değerleriyle bir grafik oluşturulur. Bu grafik yardımıyla bilinmeyen örneğin derişimi bulunur (Berkkan, 1997; Pavia ve diğ.,2009).

UV ve görünür bölge spektroskopisinin uygulama alanları olarak

- Derişimi bilinmeyen bir çözeltinin derişiminin bulunması,
- Karışımların analizi,
- Asitlik sabitinin belirlenmesi,

- Hidrojen bağının hesaplanması,
- Tautomer dengesinin hesaplanması,
- Hız ve denge sabitlerinin hesaplanması sayılabilir. UV ve görünür bölge spektroskopisi tek başına yapı analizlerinde kullanılmamaktadır. Sadece bazı organik yapılar hakkında genel bir bilgi vermektedir (Ersöz, 2010).

2.7. ANTİOKSİDAN MADDELER

Bitkilerin tedavi amacı ile kullanılmaları ilk çağlardan beri uygulanmaktadır. Örneğin yaraların iyileştirilmesi amacıyla faydası olduğu bilinen bazı bitkiler kullanılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü'nün 1993 yılında yayınladığı bir rapora göre dünya genelindeki insanların %80'inin öncelikli olarak geleneksel ilaçlara güvendiği ve tedavilerini bitki özütleri ve onlardaki bazı aktif bileşenler ile yaptıkları belirtilmiştir (Erdağ, 2007).

1800'lü yıllardan sonra bitkilerde bulunan etken maddeler sentetik olarak elde edilmeye başlanmıştır. Bunun sonucu olarak da ilaç endüstrisi oluşmuş ve önceden kullanılan geleneksel yöntemler büyük ölçüde önemini yitirmiştir. Son 30 yılda ise modern tıpta kullanılan bu sentetik ilaçların tedavide istenen başarıyı sağlayamadıkları ve olumlu etkilerinin genelde bir tane olup bunun yanında birçok olumsuz etkiye neden olabildikleri görülmüştür. Bu sebeplerden dolayı alternatif tıp olarak da bilinen geleneksel yöntemlere olan ilgi artmıştır. Bu bağlamda bitkilerden elde edilen ve drog olarak adlandırılan doğal özütler sentezi pahalı olan bazı ilaçların üretiminde halen kullanılmaktadır. Bu doğal özütlerin olumlu birkaç özelliklerinin olmasının yanında çok önemli yan etkilere sahip olmamaları onları sentetik ilaçlara göre daha cazip kılmıştır (Diken, 2009).

Son yıllarda şifalı bitkilere ve içerdikleri doğal antioksidanlara önem verilmesinin bazı nedenleri bulunmaktadır. Bu nedenler bu bitkilerin tüketilmesiyle kanser, kardiyovasküler düzensizlikler ve diyabet gibi kronik hastalıkların gelişme riskinin azalması; yiyecek ve içeceklerden sentetik antioksidanların devamlı tüketilmesinin zararları olabilmesi ve doğal antioksidanların sentetik olanlara göre daha güvenli olmasının insanlar tarafından farkına varılmasıdır (Diken, 2009). Son yıllarda araştırmacılar BHT ve BHA gibi sentetik antioksidanlar yerine daha çok askorbik asit

ve tokoferol gibi doğal antioksidanlar üzerine odaklanmışlardır. Sentetik antioksidanlar uzun yıllar lipid oksidasyonuna yatkın gıda ürünlerinin raf ömürlerini uzatmak amacıyla kullanılmıştır. Fakat daha sonradan enzimler üzerinde olumsuz etkileri olduğu bulunmuştur (Choi ve diğ, 2000). Doğal antioksidan maddeler Tablo 2.9’da verilmiştir.

Tablo 2.9 : Doğal antioksidan maddeler (Turhan ve Üstün, 2006)

Doğal antioksidanlar	Örnekler
C vitamini	
Tokoferoller	E vitamini
Fenolik bileşikler	Flavonoller, flavonlar, flavanonlar, kateşinler, antosiyanidinler, izoflavonoidler
Karotenoidler	Hidrokarbonlar ve ksantofiller
	Örnek: Likopen, β -Karoten, lutein

Bitkilerde bulunan fenolik maddeler antioksidan özellik gösteren bileşiklerin en önemli grubunu oluşturmaktadır. Fenolik asitler ile flavanoidleri kapsayan bu bileşikler bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunmaktadır ve besin zincirimizde en çok bulunan antioksidan maddelerden sayılmaktadırlar. Fenolik bileşiklerin bir kısmı antibiyotik, antifungal ve antiinflamatuvar olarak etki göstermektedir. Antioksidan maddeler olarak hastalıkların önlenmesinde önemli rol oynarlar (Diken, 2009; Hayat, 2010)

İnsan vücudunda bazı metabolik olaylar nedeniyle O_2^- , OH^- , ROO^- , RO^- , Q^- , NO^- kökleri ile H_2O_2 , $ONOO^-$ ve 1O_2 gibi serbest radikaller meydana gelmektedir. Bunlar reaktif oksijen türleri olarak adlandırılır. Serbest radikallerin oluşma nedenleri arasında radyasyon, gazlar, ağır metaller, herbisitler, pestisitler gibi çevre kirleticiler ile tedavi amacıyla kullanılan birçok ilacın vücutla etkileşime girmesi sayılabilir. Serbest radikaller yüksek aktiviteye sahip bileşiklerdir. İnsan vücudunda sürekli olarak meydana gelmektedirler. Vücuttaki normal metabolik faaliyetlerin devam etmesi için gerekli olan aktif oksijenin vücuttaki antioksidan savunma sistemiyle kontrol altına alınamaması olarak tanımlanan oksidatif stres durumunda DNA, protein, karbonhidrat ve lipidlerde bazı zararlar ve hastalıklar meydana gelmektedir. Daha açık bir şekilde ifade edilecek olursa bu radikallerin oksidasyonunun önlenmemesi durumunda vücuttaki hücre membranı proteinlerinin yıkılarak hücre ölümünün meydana gelmesi; membran lipid ve proteinlerinin yok edilerek hücre membranının sertleşmesiyle hücre fonksiyonlarının

engellenmesi; çekirdek membranının yarılmasıyla nükleustaki genetik materyale etki edilip DNA'nın kırılma ve mutasyonlara uğrayabilmesi; bağışıklık sistemindeki hücrelerin yok edilmesiyle bağışıklık sisteminin etkisinin azaltılması ve ciddi hasarlara neden olabilmesi gibi sonuçların meydana gelebileceği söylenebilir. Bu sebeple antioksidan maddelerin insan vücudu açısından önemi büyüktür. (Tosun ve Yüksel, 2002; Young ve Woodside, 2001; Serteser ve Gök, 2003; Ardağ, 2008). Şekil 2.10'da bazı ROS türleri ile nötralize eden antioksidan maddeler verilmiştir.

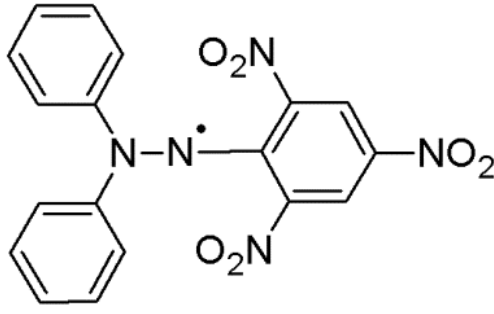
Tablo 2.10 : Bazı reaktif oksijen türleri ve nötralize eden antioksidan maddeler (Percival, 1996)

Reaktif oksijen türleri (ROS)	Nötralize eden antioksidan maddeler
Hidroksil radikali	C vitamini, lipoik asit, flavonoidler, glutatyon
Süperoksit radikali	C vitamini, glutatyon, flavonoidler
Hidrojen peroksit radikal	C vitamini, β -karoten, E vitamini, flavonoidler, glutatyon, lipoik asit
Lipid peroksitleri	β -karoten, E vitamini, ubiquinon flavonoidler, glutatyon peroksidaz

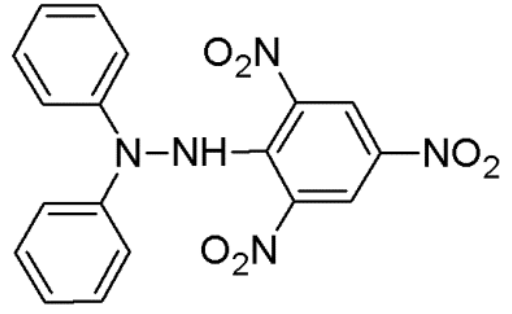
Bitkisel numunelerdeki antioksidan madde içeriklerini belirlemek için birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemlerden denemelerde kullanılan DPPH ve Folin-Ciocalteu yöntemleri aşağıdaki başlıklar altında açıklanmıştır.

2.5.1. DPPH Radikali Söndürücü Kapasite Yöntemi

DPPH stabil olan ve yapısında azot içeren bir radikaldir. Bu yöntemin esası hidrojen atomu vermeye yatkın bir molekülün DPPH radikaliyle reaksiyon girmesi sonucu başlangıçtaki mor rengin radikalın indirgenmesiyle kaybolması ve bu renk değişiminin UV spektrofotometresinde 517 nm'de ölçülmesine dayanmaktadır (Albayrak ve diğ., 2010). DPPH molekülünün radikal ve radikal olmayan formları Şekil 2.32'de gösterilmiştir.



2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (Radikal)



2,2-Difenil-1-pikrilhidrazin (Radikal değil)

Şekil 2.32 : DPPH bileşiğinin radikal ve radikal olmayan halleri

2.5.2. Folin-Ciocalteu Toplam Fenolik Madde Tayin Yöntemi

Singleton ve Rossi (1965) tarafından geliştirilen bu yöntem ile bitkisel numunelerdeki fenolik madde miktarları belirlenmektedir. Bu yöntemde ortamdaki fenolik bileşikler Folin-Ciocalteu fenol reaktifini indirgeyerek yükseltgenirler. Folin-Ciocalteu fenol reaktifi fosfomolibdik asit ve fosfotungstik asit karışımından oluşmaktadır. Reaksiyon sonucu oluşan mavi renkli kompleksin 750-765 nm'deki absorbanısı UV spektrometresinde ölçülerek sonuçlar galik asit eşdeğeri cinsinden ifade edilmektedir. Fenolik bileşikler bazik ortamda reaksiyon verdiğiinden tayin bazik ortamda gerçekleştirilir. (Albayrak ve diğ., 2010; Özkan, 2009).

2.6. KONUYLA İLGİLİ DAHA ÖNCE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR

Bu bölümde çeşitli turunçgil türlerinin kabuk ve yaprak gibi kısımlarından çeşitli yöntemler ile elde edilen uçucu yağ ve özütlerin kimyasal içerikleri, antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik madde içerikleri konusunda daha önce yapılmış çalışmalar yıllara göre sıralanarak verilmiştir.

Lota ve diğ. (2000) yapılan bir çalışmada Japonya, Brezilya, Arjantin, ABD ve Avustralya gibi ülkelerde yetiştirilen 41 mandalina (*Citrus reticulata*) kültürünün kabuk ve yapraklarındaki uçucu yağlarla çalışılmıştır. Taze meyvelerin kabuklarından soğuk presleme ile özüt elde edilip bu özütün 15000 devir/dak'da 10 dakika santrifüjlenmesiyle uçucu yağ elde edilmiştir. Taze yapraklardan da su destilasyonu yöntemiyle uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimleri GC, GC/MS ve ¹³C NMR yöntemleriyle belirlenmiştir. 41 çeşit mandalina kabuğundan

elde edilen uçucu yağlarda 55 farklı bileşik tespit edilmiştir. En çok bulunan maddenin % 52,2-96,2 oranıyla limonen olduğu belirlenmiştir. Limonen dışında en çok bulunan maddelerin γ -terpinen, α -pinen, linalool, mirsen ve sabinen olduğu bulunmuştur. Yaprak uçucu yağlarında ise 63 farklı bileşik tespit edilmiştir. Yapısında en çok bulunan maddelerin ise γ -terpinen, sabinen, linalool, metil-N-metil antranilat ve limonen olduğu bulunmuştur.

Yu ve diğ. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada greycitrus (*Citrus paradisi*) tohumlarından süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile naringin ve limonoidler elde edilmiştir. Ekstraksiyon iki aşamada gerçekleştirilmiştir. 1. aşamada 34,5 MPa, 41,4 MPa ve 48,3 MPa basınç, 40, 50 ve 60°C sıcaklık ve 20, 40 ve 60 dakika ekstraksiyon sürelerinde limonoid aglikonları ekstrakte edilmiştir. 2. Aşamada ise co-solvent olarak % 10, % 20 ve % 30 oranlarında etanol kullanılarak yine aynı basınç ve sıcaklık değerlerinde limonoid glukozitleri ve naringin ekstrakte edilmiştir. 5 L/dak'lık akış hızıyla çalışılmıştır. 48,3 MPa basınç, 50°C sıcaklık ve 60 dakika ekstraksiyon süresinde limonin maksimum verimde elde edilmiştir. Yardımcı çözücü kullanılarak yapılan ekstraksiyonda ise 48,3 MPa basınç, 50 °C sıcaklık ve % 30 oranında etanol kullanımıyla maksimum ekstraksiyon verimi elde edilmiştir.

Lota ve diğ. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada 15 farklı türe ait olan 58 mandalina kültürünün kabuk ve yapraklarıyla çalışılmıştır. Taze meyve kabuklarına soğuk presleme yöntemi uygulanmış ve 10000 devir/dak'da 15 dakika santrifüjlenmiştir. Taze yapraklar ise Clevenger tipi destilasyon cihazında 3 saat destillenmiştir. Ürün veriminin % 0,05 ile % 0,6 arasında değiştiği gözlemlenmiştir. Elde edilen uçucu yağların tümünün kimyasal içeriği GC ile belirlenmiştir. 5 kabuk ve 7 yaprak yağı GC/MS, 23 kabuk ve 25 yaprak yağı da ¹³C NMR ile belirlenmiştir.

Vekiari ve diğ (2002) tarafından yapılan bir çalışmada limon kabuk ve yapraklarından su buharı destilasyonu ile uçucu yağlar elde edilmiştir. Bu uçucu yağların kimyasal bileşimi GC/MS ile belirlenerek içeriğinde 35 farklı madde tespit edilmiştir. Her iki uçucu yağda da ortak olarak bulunan maddenin limonen olduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra β -Pinen, mirsen, neral, geranial, neril asetat, geranil asetat ve β -karyofilen yaprak yağında; γ -terpinen, β -pinen, mirsen, neral ve geranialin de kabuk yağında

olduğu bulunmuştur. Yaprak uçucu yağlarının veriminin 3,5-5,3 mL/kg; kabuk uçucu yağlarının verimlerinin ise 6,5-17,4 mL/kg olduğu görülmüştür. En yüksek verimin Kasım ayında toplanan yapraklarda olduğu görülmüştür.

Frizzo ve diğ. (2004) soğuk presleme ve su destilasyonu yöntemleriyle uçucu yağlarını elde ettikleri Cai ve Montenegrina (*Citrus deliciosa* Tenore) olarak adlandırılan iki Brazilya mandalina kültürü üzerine çalışma yapmışlardır. Elde edilen uçucu yağların içerikleri GC ve GC/MS ile belirlenmiştir. Montenegrina kültürünün içeriğinin Cai kültürüne benzer olduğu görülmüştür. Ana bileşenler limonen, γ -terpinen, β -mirsen, α -pinen ve β -pinendir. Ana seskiterpen bileşikler β -karyofillen ve (E,E)-R-farnesendir. Ana aldehit bileşikler α -sinensal, oktanal, peril aldehit ve dekanaldir. Montenegro kültürünün toplam ester içeriği Cai kültüründen daha fazla olduğunu bulmuşlardır. Ana ester bileşiği her iki kültürde de metil N-metil antranilat olarak bulunmuştur. İçerdikleri metil N-metil antranilat, linalool, R-sinensal, and ester bileşikler sahip oldukları hoş aromayı sağlamaktadır.

Bocco ve diğ. (1998) turunçgillerin kabuk ve tohumlarının antioksidan kapasiteleri ve toplam fenolik madde içerikleri ilgili çalışmada kabuk ve tohumlardan hem metanol ekstraksiyonu (serbest fenolik madde) hem de alkalın hidroliziyle (bağlı fenolik madde) elde ettikleri özütlerin antioksidan aktivitelerini hızlandırılmış sitronellal oksidasyonuna bağlı bir model sistemde test etmişlerdir. Genellikle tohumların antioksidan aktiviteleri kabuklara göre daha fazladır. Elde edilen özütler HPLC ile analiz edilmiştir. Analiz sonuçlarına göre metanol özütlerinin flavanon ve glikolize flavanonlar açısından zengin bir içeriğe sahip olduğu bulunmuştur. Hidrolize özütlerde ise fenolik asid ve flavononların çok miktarda olduğu bulunmuştur.

Choi ve diğ. (2000) 34 turunçgil uçucu yağ çeşidi ve bileşenlerinin radikal süpürme aktivitelerini 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl kullanarak HPLC metoduyla araştırmışlardır. Radikal süpürme aktivitelerini belirleyebilmek için bu yağları bir standart bir antioksidan madde olan troloks ile karşılaştırmışlardır. Çalışmada kullanılan tüm uçucu yağların antioksidan aktiviteleri % 17,7-64 olarak bulunmuştur. 31 turunçgil çeşidinin serbest radikal süpürme aktivitelerinin troloks ile yakın değerlerde ya da fazla olduğu, Ichang limonu, Tahiti misket limonu ve Eureka limonun ise diğer 31 çeşitten daha fazla serbest

radikal süpürücü etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Turunçgillerin uçucu bileşenleri olan geraniol (% 87,7 ve 235,9 mg Trolox ek/mL), terpinolen (% 87,4 ve 235,2 mg Trolox ek/mL) ve γ -terpinenin (% 84,7 ve 227,9 mg Trolox ek/mL) DPPH üzerinde belirgin radikal süpürücü etkilerinin olduğu bulunmuştur.

Mira ve diğ. (1999) yaptıkları çalışmada kurutulmuş navelin portakalının kabuklarından süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile uçucu yağ elde etmişlerdir. Çalışma koşullarının ekstraksiyonu etkisini gözlemek için 293 ile 323 K arasındaki sıcaklıklarda ve 8-28 MPa arasındaki basınçlarda çalışmışlardır. En önemli bileşen olan limonen için optimum koşulların 308 K sıcaklık ve 12,5 MPa basınç olduğu bulunmuştur. Bu çalışma koşullarında elde edilen yağdaki limonen miktarı % 99,5'dan fazladır. Linalol ekstraksiyonu için optimum değerler ise 80 Bar basınç ve 35 °C sıcaklık olarak bulunmuştur. CO₂ akış hızı olarak 0,5-3,5 kg/saat, partikül büyüklüğü olarak da 0,1-10 mm değerlerinde çalışılmıştır. Hızlı bir ekstraksiyon gerçekleştirmek için partikül büyüklüğünün 2 mm den küçük olmasının yeterli olduğu bulunmuştur. 0,3 mm partikül büyüklüğü ve herhangi bir CO₂ akış hızında portakal kabuğunun kilosu başına 6 kg CO₂ kullanılarak uçucu yağın yaklaşık % 75'nin ekstrakte edilebildiği sonucuna varılmıştır.

Kırbaşlar ve Kırbaşlar (2006) tarafından yapılan bir çalışmada Türkiye'de yetişen mandalina (*Citrus reticulata* Blanco) ve bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poit.) yapraklarından su buharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimleri HRGC ve HRGC-MS yöntemleri ile belirlenmiştir. Mandalina yağında 42, bergamot yağında da 50 bileşen tespit edilmiştir. Mandalina yaprak yağında % 62,6 oranıyla monoterpen hidrokarbonlar bulunmaktadır. Ana bileşenler sabinen (% 42,5) ve γ -terpinen (% 3,8) bileşikleridir. Bergamot yağında ise oksijenli bileşikler (% 90,4) en fazla miktarda bulunmaktadır. Bunlardan linalil asetat (% 49,6) ve linalool (% 22,4) ana bileşenlerdir. Monoterpen hidrokarbonlar ise az miktarda (% 8,1) bulunmaktadır.

Kırbaşlar ve diğ. (2006) tarafından yapılan bir çalışmada Türkiye'de yetişen limon [*Citrus limon* (L.) Burm. f.] ve greyfurt (*Citrus paradisi* Macf.) kabuklarından soğuk presleme yöntemiyle uçucu yağ elde edilmiştir. Elde edilen bu uçucu yağların kimyasal bileşimleri HRGC ve HRGC-MS yöntemleri ile belirlenmiştir. Limon kabuk yağında 42, greyfurt kabuk yağında da 27 bileşen tespit edilmiştir. Limon kabuk yağında en çok

(% 89,9) monoterpen hidrokarbonların bulunduğu tespit edilmiştir. Ana bileşenleri limonen (% 61,8) ve γ -terpinen (% 10,6) bileşikleridir. Greyfurt kabuk yağında da en çok (% 96,4) monoterpen hidrokarbonlar bulunmaktadır. Ana bileşenleri limonen (% 92,5) ve mirsen (% 2,6) bileşikleridir. Ayrıca limon yağına göre daha az miktarda seskiterpen hidrokarbon, alkol, aldehit ve esterler bulunmaktadır.

Kırbaşlar ve Kırbaşlar (2003) tarafından yapılan bir çalışmada Türkiye’de yetişen turunç (*Citrus aurantium L*) kabuklarından soğuk presleme yöntemiyle uçucu yağ elde edilmiştir. Bu uçucu yağın kimyasal yapısı GC ve GC/MS yöntemleriyle aydınlatılarak 29 bileşen içerdiği bulunmuştur. Elde edilen sonuç İtalya ve İspanya’da yetişen turunç kabuk yağlarıyla karşılaştırılmıştır. Tespit edilen bileşenler monoterpen hidrokarbonlar, seskiterpenler, oksijenli bileşikler, karbonil bileşikleri, alkol ve esterler olmak üzere 6 gruba ayrılmıştır. Uçucu yağda tespit edilen ana bileşenler limonen (% 93,68-94,32), mirsen (% 1,73-1,86), linalil asetat (% 1,17-1,32), linalool (% 0,33-0,46), β -pinen (% 0,40-0,57) ve α -pinen (% 0,39-0,45) olarak belirlenmiştir.

Kırbaşlar ve diğ. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada Türkiye’de yetişen Klemantin mandalinasından (*Citrus clementina* Hort. Ex Tan.) soğuk presleme ve süperkritik CO₂ ekstraksiyonu yöntemleriyle elde edilen özütlerin kimyasal bileşimleri GC ve GC/MS yöntemleriyle belirlenmiştir. Analiz sonucunda her iki örnekte de tüm uçucu bileşenlerin % 99,8’lik bölümü olan 69 bileşik tespit edilmiştir. Soğuk presleme ile elde edilen özütteki oksijenli bileşik oranı (% 3,7) süperkritik CO₂ ekstraksiyonuyla elde edilen özütteki oksijenli bileşik oranından (% 4,2) daha az olduğu bulunmuştur. Bu bileşikler içinde en baskın olanı karbonil bileşikleri (% 2,09-2,10) olmak üzere sırasıyla alkoller (% 1,32-1,60) ve esterlerdir (% 0,12-0,40). Özütlerdeki ana bileşen limonendir (% 88,12-89,28). Limonenden sonra en çok mirsen (% 4,64-3,77) bulunmaktadır. Oksijenli bileşiklerden en fazla linalool (% 1,02-1,24) bulunmaktadır. Linalooldan sonra en fazla bulunan oksijenli bileşik dekanaldir (% 0,71-0,72).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. MALZEMELER

3.1.1. Kullanılan Bitkisel Malzemeler

Deneylerde kullanılan interdonato limon (*Citrus limon*), yerli mandalina (*Citrus deliciosa*) ve turunç (*Citrus aurantium*) yaprakları 2011 yılının mayıs ve ekim aylarında Antalya'daki Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden (BATEM) toplanmıştır. Toplanan yapraklar derin dondurucuda -21°C'de saklanmıştır. Şekil 3.1, Şekil 3.2 ve Şekil 3.3'de sırasıyla denemelerde kullanılan interdonato limon, yerli mandalina ve turunç yaprakları görülmektedir.



Şekil 3.1 : Interdonato limon yaprakları



Şekil 3.2 : Yerli mandalina yaprakları



Şekil 3.3 : Turunç yaprakları

3.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Toplam fenolik madde tayini için Folin Ciocalteu reaktifi (Sigma Aldrich), Na_2CO_3 (Sigma Aldrich); Antioksidan kapasite tayini için DPPH reaktifi (Sigma Aldrich), uçucu yağ verim tayini için çözücü olarak ksilen (Merck), su destilasyonunda kurutucu olarak Na_2SO_4 (Merck), süperkritik akışkan ekstraksiyonu cihazında süperkritik akışkan olarak % 99,9 saflıkta CO_2 (Linde) ve yardımcı çözücü olarak % 99,5 saflıkta etanol (Merck) kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Aletler

- Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu Cihazı (Applied Separations Spe-ed SFE-2)
- Su destilasyonu aparatı (Clevenger tipi)
- Uçucu yağ verim tayini aparatı
- Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi Sistemi (Thermo Finnigan Trace GC ve Thermo Finnigan DSQ MS)
- UV Spektrofotometresi (PG Instruments T60U)
- Santrifüj (Nüve CN180)
- Hassas terazi (Mettler Toledo MS204S)

3.2. YÖNTEMLER

3.2.1. Su Destilasyonu

Denemelerde kullanılan yapraklar parçalayıcıda öğütülerek yüzey alanları genişletilmiştir. Öğütme işleminden sonra 1 L'lik balona eklenerek üzerine destile su ilave edilmiştir. Kaynama başladıktan sonra 2 saat süreyle destilasyon işlemi sürdürülmüştür. Elde edilen uçucu yağlar Clevenger aparatının üstünden pipet yardımıyla alınarak 2500 devir/dak'da 5 dakika süreyle santrifüjlenmiş ve uçucu yağ ile su birbirinden ayrılmıştır. Uçucu yağ örneklerine bir miktar susuz Na_2SO_4 eklenerek kurutulmuştur. Elde edilen uçucu yağlar analiz edilene kadar -21°C 'de saklanmıştır. Clevenger tipi su destilasyonu aparatı Şekil 3.4'de görülmektedir.



Şekil 3.4 : Clevenger tipi su destilasyonu aparatı

Uçucu yağı su fazından ayırmak için kullanılan santrifüj Şekil 3.5’de görülmektedir.



Şekil 3.5 : Denemelerde kullanılan Nüve CN180 model santrifüj

3.2.2. Uçucu Yağ Verim Tayini

Yaklaşık 30 g kadar küçük parçalar halinde parçalayıcıda öğütülmüş yaprak numunesi 1 L'lik balona eklenerek üzerine 500 mL destile su ilave edilmiş ve 1 saat süreyle destilasyon işlemine tabi tutulmuştur. Düzeneğin toplama haznesine 0,5 mL ksilen izomer karışımı eklenmiştir. Ksilenin yoğunluğu (0,86 g/mL) sudan az olduğundan ötürü suyun üzerinde kalmıştır. Destilasyon sonucu buharlaşan uçucu yağ soğutucudan geçerek yoğunlaşmış ve suyun üstündeki ksilen fazında toplanmıştır. Alt taraftaki üç yollu musluk yardımıyla su ölçeğin 0 noktasına gelene kadar akıtılmıştır. Ksilen ile su arasındaki faz ayrımının 0'a denk geldiği noktada musluk kapatılmıştır. Ölçekte okunan hacim bize ksilen ile uçucu yağın toplam hacmini vermektedir. Aradaki farktan uçucu yağ miktarı bulunmuştur.



Şekil 3.6 : Uçucu yağ verim tayini aparatı

3.2.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Denemeler Applied Separations Spe-ed SFE-2 model süperkritik akışkan ekstraksiyonu sisteminde gerçekleştirilmiştir. Sistem maksimum sıcaklığı 240°C olan fırın, maksimum CO₂ akış hızı 400 mL/dk, maksimum basıncı 680 Bar olan şırıngalı pompa, 680 bar basınca kadar dayanıklı çelik ekstraktör (L=15 cm, D=1.5 cm, V=24 mL) ve ekstraktın toplandığı bölümden oluşmaktadır. Şekil 3.7. ve Şekil 3.8.'de denemelerde kullanılan süperkritik akışkan ekstraksiyon cihazı görülmektedir.



Şekil 3.7 : Süperkritik akışkan ekstraksiyonu cihazı



Şekil 3.8 : Süperkritik akışkan ekstraksiyonun da kullanılan 24 mL hacimli ekstraktör

SCFE yönteminde süperkritik akışkan olarak yüksek saflıkta CO_2 kullanılmıştır. Denemeler yardımcı çözücü ve yardımcı çözücüsüz olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştirilmiştir. Yardımcı çözücü olarak % 99,5 saflıkta etanol kullanılmıştır. Denemeler her üç turuncgil yaprağı türü için yardımcı çözücü kullanıldığı durumda 40°C sıcaklık ile 100, 200 ve 300 Bar basınç değerlerinde; yardımcı çözücü kullanılmadığı durumlarda ise 35°C ile 150 Bar basınç değerlerinde gerçekleştirilmiştir. Denemelerde akış hızı 2 mL/dk olarak uygulanmıştır. Yardımcı çözücü olarak kullanılan etanol denemelerde kullanılan 24 mL hacimli çelik ekstraktörün içerisine ilave edilmiştir. Cihazın çıkış vanasından toplanan süperkritik CO_2 özütleri 1:3 oranındaki tuz-buz karışımı içeren bir termos içerisine yerleştirilmiş numune toplama kaplarında toplanmıştır. Tuz-buz karışımı ile yaklaşık -15°C 'lik bir ortam sağlanmış ve uçucu bileşen kaybı önlenmiştir. Yardımcı çözücü kullanılarak elde edilen özütlere direkt olarak mikrofiltasyon işlemi uygulanmıştır. Yardımcı çözücü kullanılmayan özütler ise öncelikle etanol fazına alınıp sonra mikrofiltasyona tabi tutulmuştur. Mikrofiltasyon işlemiyle elde edilen özütteki uçucu kısım ayrılmıştır.

3.2.4. Toplam Fenolik Madde Tayini

Elde edilen uçucu yağ ve süperkritik CO₂ özütlerinin içermiş olduğu toplam fenolik madde miktarları Folin-Ciocalteu yöntemi ile tayin edilmiştir. Elde edilen sonuçlar gallik asit eşdeğeri üzerinden mg GAE/g taze yaprak şeklinde değerlendirilmektedir. Bu yöntemle göre çözeltilerden 20 µL alınarak 180 µL su ile seyreltilmiştir. 1000 µL reaktif çözeltisinden eklendikten sonra 800 µL doygun (%35'lik) Na₂CO₃ çözeltisi ilave edilmiştir. Na₂CO₃ çözeltisinin eklenmesinin sebebi reaksiyonun bazik ortamda gerçekleşmesidir. 30 dakika karanlıkta bekletildikten sonra koyu mavi renk alan çözeltilerin absorbansları UV spektrofotometrisinde 765 nm'de ölçülmüştür.

3.2.5. Antioksidan Kapasite Tayini

Antioksidan kapasiteleri DPPH yöntemine göre belirlenmiştir. Bu yöntemin esası DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) bileşiğinin hidrojen atomu vermeye yatkın olan yani radikal oluşturabilen bileşikler ile indirgenmesi sonucu çözeltinin ilk andaki mor renginin belli oranda kaybolması ve bu oranın belirlenmesi amacıyla çözeltinin absorbansının spektrofotometrik olarak ölçülmesine dayanır. Bu yöntemle göre herbir uçucu yağ ve süperkritik CO₂ özüt örneği için hem örnek içeren hem de içermeyen (kör deneme) iki ayrı karışım hazırlanmıştır. Örnek içermeyen 350 µL su ve 1500 µL DPPH reaktifi ile, örnek içerenler ise 100 µL örnek, 250 µL su ve 1500 µL DPPH reaktifi kullanılarak toplam 1850 µL olarak hazırlanmıştır. Bu işlemlerden sonra herbir numune karanlıkta 30 dakika bekletilmiştir. İşlem sonunda her bir numunenin UV spektrofotometresinde metanole karşı 517 nm'deki absorbansları ölçülmüştür.



Şekil 3.9 : Antioksidan kapasitesi ve toplam fenolik madde tayinlerinde kullanılan UV spektrofotometre

3.2.6. GC-MS Analiz Şartları

SD yöntemiyle elde edilen örneklerin her biri FID dedektörlü Thermo Finnigan TRACE GC markalı gaz kromatografisi cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Kolon olarak ZB1(Dimetilpolisiloksan), silika kapiler kolon (30 m x 0.25 mm) kullanılmıştır. Kromatografik data bilgisayarda analiz edilmiştir. Kolon sıcaklığı 40 °C’de 4 dak bekledikten sonra 3°C/dak’lık artışla son sıcaklık olan 220 °C’ye gelip bu sıcaklıkta da 5 dak kalacak şekilde ayarlanmıştır. Enjeksiyon modu splitli seçilmiştir. Split oranı 1:20 olarak ayarlanmıştır. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 250 °C’dir. Taşıyıcı gaz olarak akış hızı 1 mL/dak olan He kullanılmıştır. Enjeksiyon hacmi 1 µL olarak ayarlanmıştır. Yağ örneği 1/10 oranında hekzan ile seyreltilmiştir. Kantitatif bileşim, pik alanı normalizasyonu ile bulunmuş ve her bileşenin yanıt faktörünün 1’e eşit olduğu kabul edilmiştir.

Örneklerdeki bileşenlerin tanımlanması için her bir örnek Thermo Finnigan DSQ markalı EI iyon dedektörüyle analiz edilmiş ve X-Calibur (Versiyon 1.4) yazılımıyla NIST ve WILEY ticari spektral kütüphanelerinde tarama yapılmıştır. Örnekler aynı kolon ve GC/FID şartları kullanılarak analiz edilmiştir. Arayüz sıcaklığı 250 °C, iyon kaynağı sıcaklığı 220°C ve iyonizasyon enerjisi 70 eV’dur.

3.2.7. Bileşenlerin Tanımlanması

Her bir uçucu yağ bileşeni, lineer interpolasyon ile n-Alkanların (C₈-C₁₈) apolar kolonda homolog serilerinin tutulma zamanlarının saptanarak GC alıkonma indislerinin (RI) karşılaştırılması ile tanımlanmıştır. Bu bileşenler NIST ve WILEY spektrum kütüphanelerinde karşılaştırılmıştır. Tüm analizler hata oranı % 0.1 olacak şekilde üç kere tekrarlanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. UÇUCU YAĞ VERİM TAYİNİ SONUÇLARI

Uçucu verim tayini cihazında destillenen uçucu yağın soğutucuda yoğunlaşmasından sonra ksilen fazında çözünmesi ve ilk hacim ile son hacim farkının ölçülmesiyle numunedeki uçucu yağ verimi mL/100 g taze yaprak cinsinden hesaplanmıştır. Uçucu yağ verim tayini her bir numune için 3'er kez tekrarlanarak sonuçların aritmetik ortalaması alınmıştır. Uçucu yağ veriminin hesaplanması için 4.1 numaralı denklem kullanılmıştır.

$$\% \text{ Verim} = \frac{V_1 - V_2}{m_y} \times 100 \quad (4.1)$$

V_1 : Ksilen ve uçucu yağı içeren fazın toplam hacmi

V_2 : Başlangıcındaki ksilen hacmi

m_y : Taze yaprak miktarı

Yerli mandalina, interdonato limon ve turunc yapraklarından elde edilen uçucu yağların verimleri Tablo 4.1, Tablo 4.2 ve Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.1 : Yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağların verimleri

Yaprak miktarı (g)	Uçucu yağ (mL)	mL/100 g taze yaprak	Ortalama	Standart sapma
30,054	0,110	0,370		
31,955	0,180	0,560	0,490	0,107
30,844	0,170	0,550		

Tablo 4.2 : Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağların verimleri

Yaprak miktarı (g)	Uçucu yağ (mL)	mL/100 g taze yaprak	Ortalama	Standart sapma
29,924	0,130	0,430		
30,898	0,090	0,290	0,320	0,090
30,480	0,080	0,260		

Tablo 4.3 : Turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağların verimleri

Yaprak miktarı (g)	Uçucu yağ (mL)	mL/100 g taze yaprak	Ortalama	Standart sapma
30,859	0,130	0,420		
30,034	0,140	0,470	0,453	0,029
30,071	0,140	0,470		

Tablolardaki veriler incelendiğinde yerli mandalina, interdonato limon ve turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağ verimlerinin sırasıyla 0,490 mL/100 g taze yaprak, 0,320 mL/100 g taze yaprak ve 0,453 mL/100 g taze yaprak olarak bulunduğu görülmektedir.

4.2. SD YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞLARIN KİMYASAL BİLEŞİMLERİ

4.2.1. Interdonato Limon

14.10.2011 tarihinde toplanan Interdonato limon yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminin GC-MS analiz sonucu % olarak tespit edilerek Tablo 4.4’de verilmiştir.

Tablo 4.4 : SD yöntemi uygulanarak Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi (% w/w)

Pik No	Bileşen Adı	%
1	α -tujen	e
2	α -pinen	0,53
3	kamfen	e
4	sabinen	1,87
5	β -pinen	9,54
6	6-metil-5-hepten-2-on	e
7	mirsen	1,68

8	α -felandren	e
9	δ -3-karen	0,41
10	α -terpinen	0,07
11	p-simen	e
12	limonen	46,37
13	β -felandren	1,31
14	1,8-sineol	1,76
15	(Z)- β -osimen	0,22
16	(E)- β -osimen	1,26
17	γ -terpinen	0,19
18	cis-sabinen hidrat	0,07
19	cis-linalool oksit (furanoid)	e
20	terpinolen	0,11
21	linalool	1,02
22	nonanal	0,08
23	cis-p-menth-2-en-1-ol	e
24	cis-limonen oksit	e
25	trans-limonen oksit	0,08
26	sitronellal	0,49
27	terpinen-4-ol	0,17
28	α -terpineol	0,68
29	dekanal	e
30	nerol	2,42
31	neral	5,38
32	geraniol	1,60
33	linalil asetat	0,27

34	geranial	14,68
35	undekanal	e
36	sitronellil asetat	0,09
37	neril asetat	3,19
38	geranil asetat	3,59
39	β -elemen	e
40	metil N-metil antranilat	e
41	cis- α -bergamoten	e
42	(E)-karyofillen	0,38
43	trans- α -bergamoten	0,08
44	(Z)- β -farnesen	e
45	α -humulen	0,11
46	(E, E)- α -farnesen	e
47	β -bisabolen	e
48	δ -kadinen	0,06
49	(E)-nerolidol	0,07
50	spatulenol	e
51	karyofillen oksit	e

Tablo 4.5’de Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki maddeler sınıflara ayrılarak % cinsinden verilmiştir.

Tablo 4.5: Interdonato limon yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki maddelerin % w/w cinsinden kimyasal olarak sınıflandırılması

Bileşen Adı	%
Hidrokarbonlar	64,19
Monoterpen hidrokarbonlar	63,56
Seskitерpen hidrokarbonlar	0,63
Oksijenli bileşikler	35,64
Karbonil bileşikleri	20,63
Alkoller	7,79
Esterler	7,14
Oksitler	0,08

4.2.2. Turunç

14.10.2011 tarihinde toplanan turunç yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminin GC-MS analiz sonucu % olarak tespit edilerek Tablo 4.6’da verilmiştir.

Tablo 4.6 : SD yöntemi uygulanarak turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi (% w/w)

Pik No	Bileşen Adı	%
1	α -pinen	0,07
2	kamfen	e
3	sabinen	0,14
4	β -pinen	0,76
5	6-metil-5-hepten-2-on	e
6	mirsen	2,06
7	α -fellandren	e

8	δ -3-karen	0,16
9	α -terpinen	e
10	p-simen	0,07
11	limonen	1,78
12	β -fellandren	e
13	1,8-sineol	e
14	(Z)- β -osimen	0,29
15	(E)- β -osimen	1,23
16	γ -terpinen	0,06
17	cis-linalool oksit (furanoid)	e
18	terpinolen	0,15
19	trans-linalool oksit (furanoid)	e
20	linalool	28,07
21	nonanal	e
22	cis-p-menth-2-en-1-ol	e
23	trans-p-menth-2-en-1-ol	e
24	β -terpineol	e
25	sitronellal	0,07
26	terpinen-4-ol	0,21
27	α -terpineol	5,53
28	nerol	0,55
29	neral	0,29
30	geraniol	1,21
31	linalil asetat	48,23
32	geranial	0,50
33	α -terpinil asetat	0,25

34	sitronellil asetat	e
35	neril asetat	2,59
36	geranil asetat	4,82
37	β -elemen	0,08
38	metil N-metil antranilat	e
39	(E)-karyofillen	0,43
40	trans- α -bergamoten	e
41	(Z)- β -farnesen	0,07
42	α -humulen	e
43	(E, E)- α -farnesen	e
44	β -bisabolen	e
45	δ -kadinen	0,06
46	(E)-nerolidol	0,09
47	spatulenol	0,07
48	karyofillen oksit	e

Tablo 4.7’de turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki maddeler sınıflara ayrılarak % cinsinden verilmiştir.

Tablo 4.7 : Turunç yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki maddelerin % w/w cinsinden kimyasal olarak sınıflandırılması

Bileşen Adı	%
Hidrokarbonlar	7,41
Monoterpen hidrokarbonlar	6,77
Seskitерpen hidrokarbonlar	0,64
Oksijenli bileşikler	92,48
Karbonil bileşikler	0,86
Alkoller	35,73
Esterler	55,89

4.2.3. Yerli Mandalina

14.10.2011 tarihinde toplanan yerli mandalina yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşiminin GC-MS analiz sonucu % olarak tespit edilerek Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8 : SD yöntemi uygulanarak yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi (% w/w)

Pik No	Bileşen Adı	%
1	α -tujen	0,77
2	α -pinen	1,59
3	kamfen	e
4	sabinen	0,19
5	β -pinen	1,55
6	6-metil-5-hepten-2-on	e
7	mirsen	0,51
8	α -fellandren	e

9	δ -3-karen	e
10	α -terpinen	0,12
11	p-simen	2,74
12	limonen	10,27
13	(Z)- β -osimen	0,11
14	(E)- β -osimen	0,37
15	γ -terpinen	23,11
16	terpinolen	0,67
17	linalool	0,21
18	nonanal	e
19	p-mentha-1,3,8-trien	e
20	cis-p-menth-2-en-1-ol	e
21	trans-p-menth-2-en-1-ol	0,07
22	sitronellal	e
23	terpinen-4-ol	0,20
24	α -terpineol	0,15
25	dekanal	e
26	nerol	e
27	neral	0,07
28	geraniol	e
29	linalil asetat	0,08
30	geranial	0,11
31	timol	0,06
32	neril asetat	0,08
33	geranil asetat	0,07

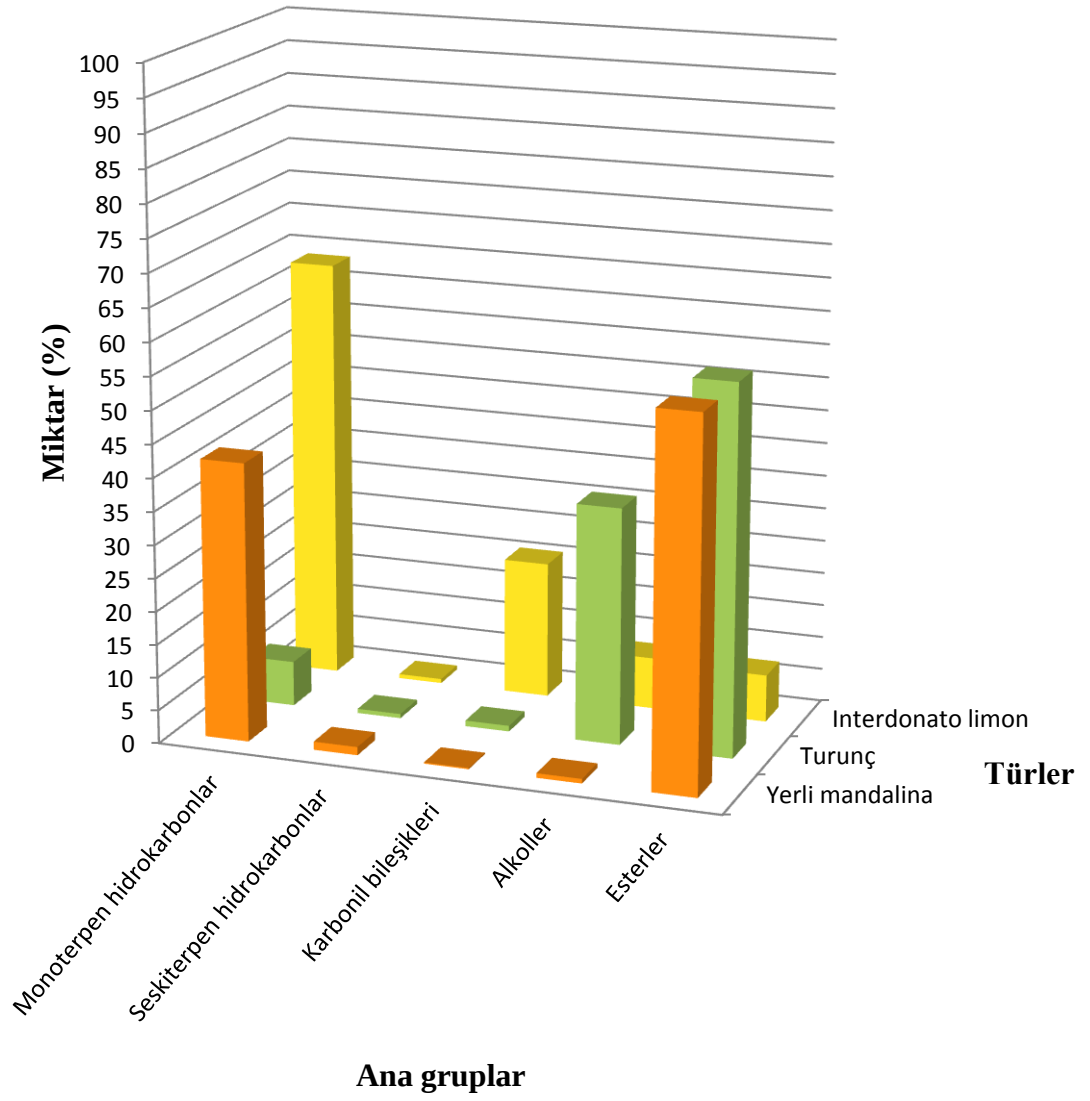
34	metil N-metil antranilat	55,58
35	(E)-karyofillen	1,16
36	α -humulen	0,08
37	(E, E)- α -farnesen	e
38	β -bisabolen	e
39	δ -kadinen	e
40	(E)-nerolidol	e
41	spatulenol	e

Tablo 4.9’de yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki maddeler sınıflara ayrılarak % cinsinden verilmiştir.

Tablo 4.9 : Yerli mandalina yapraklarından elde edilen uçucu yağdaki maddelerin % w/w cinsinden kimyasal olarak sınıflandırılması

Bileşen Adı	%
Hidrokarbonlar	43,24
Monoterpen hidrokarbonlar	42,00
Seskiterpen hidrokarbonlar	1,24
Oksijenli bileşikler	56,68
Karbonil bileşikler	0,18
Alkoller	0,69
Esterler	55,81

Şekil 4.1’de denemelerde kullanılan yapraklardan SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağları oluşturan bileşenlerin ait oldukları kimyasal sınıflar açısından karşılaştırılması görülmektedir.



Şekil 4.1 : Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağlardaki bileşenlerin kimyasal gruplar açısından karşılaştırılması

4.3. SCFE VE SD YÖNTEMLERİ İLE ELDE EDİLEN UÇUCU YAĞ VE ÖZÜTLERİN ANTIOKSİDAN KAPASİTELERİ

Uçucu yağların ve süperkritik CO₂ özütlerinin antioksidan kapasitelerinin hesaplanması için 4.2 numaralı denklemden yararlanılmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{X_1 - X_N}{X_1} \times 100 \quad (4.2)$$

Bu denklemdeki X_1 kör, X_N ise örnek içeren numunenin absorbans değerlerini ifade etmektedir. Her bir numune için üç absorbans ölçümü yapılarak bulunan değerlerin aritmetik ortalamaları alınmış ve standart sapmalar hesaplanmıştır. Bulanan değerlerde $\pm$ standart sapmayı göstermektedir.

Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemiyle yardımcı çözücü kullanılarak 40°C sıcaklık ile 100, 200 ve 300 Bar basınç değerlerinde elde edilen özütlerin; yardımcı çözücü kullanılmadan 35°C sıcaklık ile 150 Bar basınçta elde edilen özütlerin ve SD yöntemiyle iki ayrı hasat dönemine ait yapraklardan elde edilen uçucu yağların antioksidan kapasiteleri sırasıyla Tablo 4.10, Tablo 4.11 ve Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.10 : Interdonato limon yapraklarından SCFE ve SD yöntemleriyle elde edilen uçucu yağ ve özütlerin antioksidan kapasiteleri

Yöntem	Çalışma şartları	Antioksidan kapasitesi (% inhibisyon)
SCFE	40°C, 100 Bar	38,86 $\pm$ 0,08
SCFE	40°C, 200 Bar	44,03 $\pm$ 0,00
SCFE	40°C, 300 Bar	65,08 $\pm$ 0,01
SCFE (Yardımcı çözücüsüz)	35°C, 150 Bar	20,39 $\pm$ 0,00
SD (10.05.2011)	100°C	12,30 $\pm$ 0,02
SD (14.10.2011)	100°C	23,90 $\pm$ 0,05

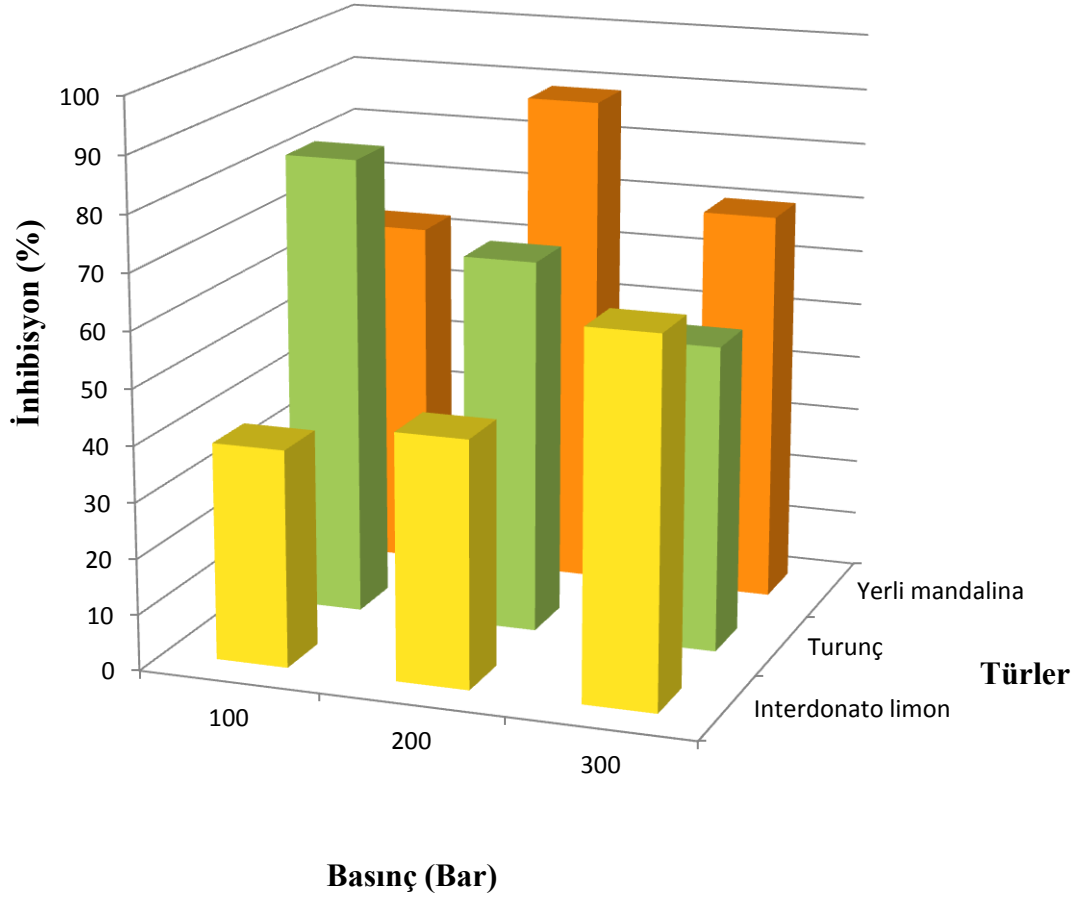
Tablo 4.11 : Turunç yapraklarından SCFE ve SD yöntemleriyle elde edilen uçucu yağ ve özütlerin antioksidan kapasiteleri

Yöntem	Çalışma şartları	Antioksidan kapasitesi (% inhibisyon)
SCFE	40°C, 100 Bar	82,48 ± 0,00
SCFE	40°C, 200 Bar	66,82 ± 0,01
SCFE	40°C, 300 Bar	54,64 ± 0,01
SCFE (Yardımcı çözücüsüz)	35°C, 150 Bar	16,22 ± 0,01
SD (10.05.2011)	100°C	59,63 ± 0,03
SD (14.10.2011)	100°C	63,57 ± 0,09

Tablo 4.12 : Yerli mandalina yapraklarından SCFE ve SD yöntemleriyle elde edilen uçucu yağ ve özütlerin antioksidan kapasiteleri

Yöntem	Çalışma şartları	Antioksidan kapasitesi (% inhibisyon)
SCFE	40°C, 100 Bar	62,99 ± 0,01
SCFE	40°C, 200 Bar	88,86 ± 0,00
SCFE	40°C, 300 Bar	70,30 ± 0,01
SCFE (Yardımcı çözücüsüz)	35°C, 150 Bar	21,89 ± 0,02
SD (10.05.2011)	100°C	56,50 ± 0,02
SD (14.10.2011)	100°C	80,51 ± 0,03

Şekil 4.2’de Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemiyle yardımcı çözücü olarak % 99’luk etanol kullanılarak 40°C sıcaklık ile 100, 200 ve 300 Bar basınç değerlerinde elde edilen özütlerin antioksidan kapasiteleri karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.2 : Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemiyle elde edilen özütlerin antioksidan kapasitelerinin karşılaştırılması

4.4. SCFE YÖNTEMİ İLE ELDE EDİLEN ÖZÜTLERİN TOPLAM FENOLİK MADDE MİKTARLARI

Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemi ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarlarının hesaplanması için gallik asidin standart eğrisi hazırlanmıştır. Hazırlanan bu gallik asit standart eğrisinden elde edilen $y=0,8512x-0,0208$ denklemi yardımıyla ($R^2=0,9977$) örneklerin gallik asit eşdeğerleri mg/mL cinsinden hesaplanmıştır. Bulunan değerler 4.3 denklemi yardımıyla gallik asit eşdeğeri mg GAE/g taze yaprak birimine çevrilmiştir.

$$GAE = C_{\text{gallik asit}} \times \frac{m_{\text{ç}}}{m_y} \quad (4.3)$$

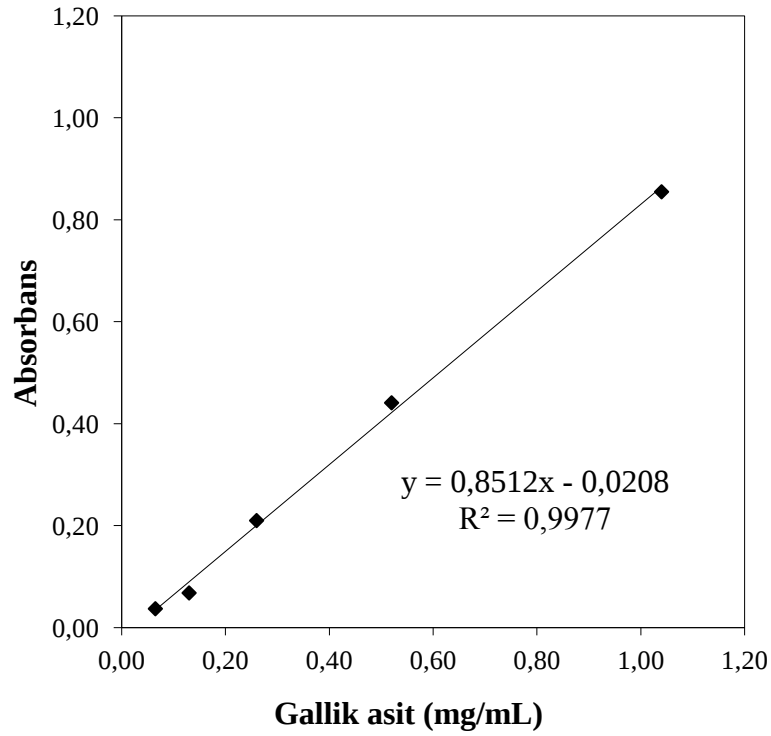
$m_{\text{ç}}$ = Yardımcı çözücü miktarı (g)

m_y = Taze yaprak miktarı (g)

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

GAE = Gallik asit ekivalenti (mg GAE/g taze yaprak)

SD yöntemi ile elde edilen uçucu yağların içerdikleri toplam fenolik miktarlarını bulmak için hazırlanan gallik asit standart eğrisi Şekil 4.3’de görülmektedir.



Şekil 4.3 : SCFE yöntemiyle elde edilen özütler için gallik asit standart eğrisi

Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemiyle elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları, gallik asit standart doğrusu ve 4.3 denklemi yardımıyla hesaplanarak sırasıyla Tablo 4.13, Tablo 4.14 ve Tablo 4.15’de verilmiştir.

Tablo 4.13 : Interdonato limon yapraklarından SCFE yöntemi ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları

Yöntem	Çalışma şartları	Toplam fenolik madde (mg-GAE/g-taze yaprak)
SCFE	40°C, 100 Bar	0,0891 ± 0,02
SCFE	40°C, 200 Bar	0,0636 ± 0,04
SCFE	40°C, 300 Bar	0,2807 ± 0,12
SCFE (Yardımcı çözücüsüz)	35°C, 150 Bar	0,0734 ± 0,022

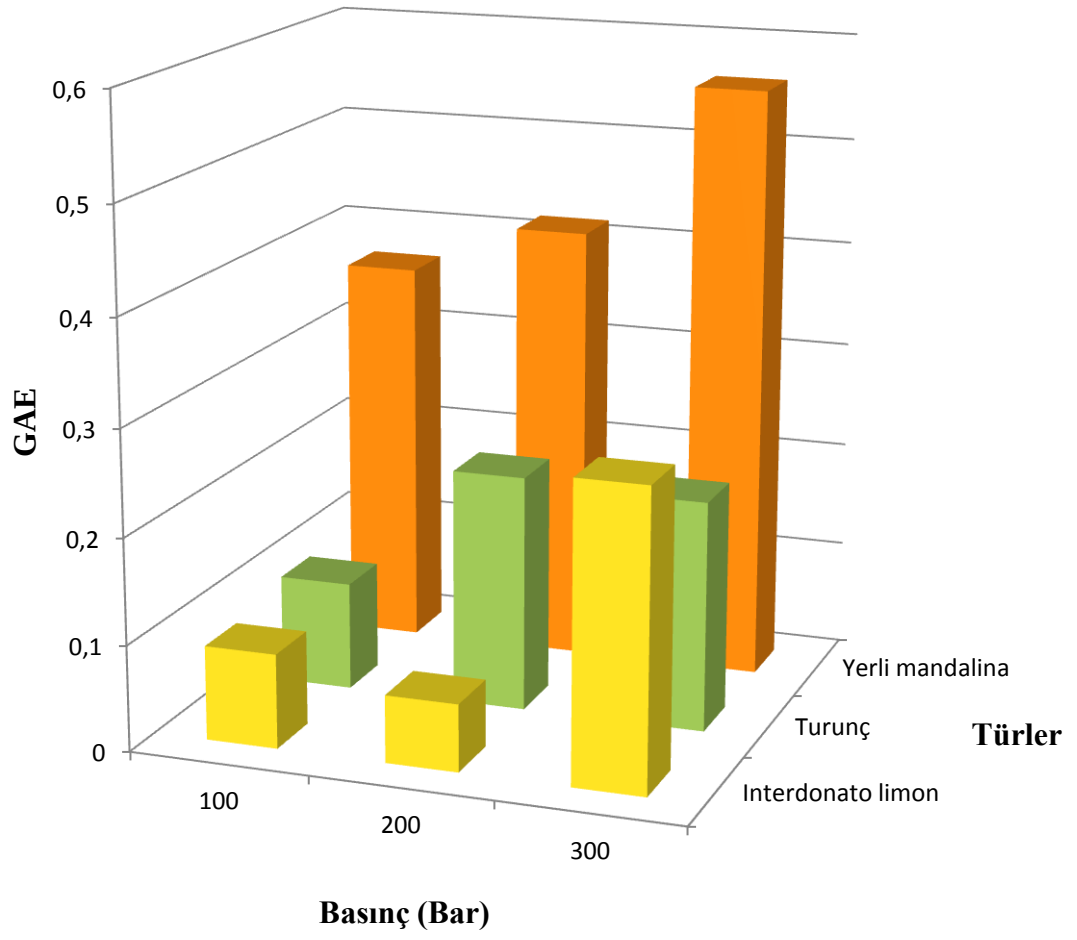
Tablo 4.14 : Turunç yapraklarından SCFE yöntemi ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları

Yöntem	Çalışma şartları	Toplam fenolik madde (mg-GAE/g-taze yaprak)
SCFE	40°C, 100 Bar	0,1022 ± 0,08
SCFE	40°C, 200 Bar	0,2230 ± 0,04
SCFE	40°C, 300 Bar	0,2171 ± 0,14
SCFE (Yardımcı çözücüsüz)	35°C, 150 Bar	0,0336 ± 0,00

Tablo 4.15 : Yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemi ile elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları

Yöntem	Çalışma şartları	Toplam fenolik madde (mg-GAE/g-taze yaprak)
SCFE	40°C, 100 Bar	0,3676 ± 0,07
SCFE	40°C, 200 Bar	0,4158 ± 0,06
SCFE	40°C, 300 Bar	0,5616 ± 0,14
SCFE (Yardımcı çözücüsüz)	35°C, 150 Bar	0,5583 ± 0,06

Şekil 4.4’de Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemiyle yardımcı çözücü olarak % 99’luk etanol kullanılarak 40°C sıcaklık ile 100, 200 ve 300 Bar basınç değerlerinde elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarları karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.4 : Interdonato limon, turunç ve yerli mandalina yapraklarından SCFE yöntemiyle elde edilen özütlerin toplam fenolik madde miktarlarının karşılaştırılması

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

5.1. INTERDONATO LİMON

Interdonato limon yapraklarından SD yöntemi kullanılarak 0,320 mL/100 g yaprak verim ile elde edilen uçucu yağın GC/MS analizi gerçekleştirilmiştir. Bu uçucu yağa ait kalitatif ve kantitatif analiz sonucu Tablo 4.4’de verilmiştir.

Interdonato limon yaprak yağında toplam 51 adet bileşen tespit edilmiştir. Monoterpen hidrokarbonlar uçucu yağ bileşiminin en büyük kısmını (% 63,56) oluşturmaktadır. Interdonato limon yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen bu uçucu yağ toplam 17 tane monoterpen hidrokarbon içermektedir. Ana bileşen limonen (% 46,37) olmak üzere bunu β -pinen (% 9,54) ve sabinen (% 1,87) izlemektedir.

Seskitерpen hidrokarbonlar uçucu yağ bileşiminin çok az bir kısmını (% 0,63) oluşturmaktadır. Bu uçucu yağda toplam 11 tane seskitерpen hidrokarbon sınıfı bileşik bulunmaktadır. Bu sınıftaki ana bileşen (E)-karyofillen (% 0,38) bileşigiştir. Bu bileşigi sırasıyla α -humulen (% 0,11) ve trans- α -bergamoten (% 0,08) izlemektedir.

Oksijenli bileşikler monoterpen hidrokarbonlardan sonra en fazla (% 36,64) bulunan bileşik sınıfıdır. En büyük bölümünü karbonil bileşikleri oluşturmaktadır. Karbonil bileşiklerinden toplam 6 tane olan aldehitlerinden başlıcaları geranial (% 14,68), neral (% 5,38) ve sitronellaldir (% 0,49). Bu uçucu yağda keton sınıfını oluşturan tek bileşen eser miktardaki 6-metil-5-hepten-2-on bileşigiştir. Toplam 6 tane olan alkollerden başlıcaları sırasıyla nerol, (% 2,42) geraniol (% 1,60) ve linalooldur (% 1,02). Bu uçucu yağda toplam 5 tane ester bileşigi tespit edilmiştir. Bu bileşiklerden başlıcaları geranil asetat (% 3,59) ve neril asetat (% 3,19). Oksitler ise oksijenli bileşiklerin çok az bir kısmını oluşturmakla birlikte bu sınıftaki ana bileşen trans-limonen oksit (% 0,08) bileşigiştir.

Tablo 4.5 limon yaprak yağını oluşturan ana sınıfların yüzde miktarlarını göstermektedir. Tablo 4.5’den de görüldüğü gibi bu yağın yapısını oluşturan bileşenler arasında monoterpenler> karbonil bileşikler > alkoller > esterler> seskiterpenler> oksitler sıralaması bulunmaktadır.

Tablo 4.10 incelendiğinde interdonato limon yapraklarından SCFE yöntemiyle yardımcı çözücü olarak % 99’luk etanol kullanılarak elde edilen özütlerin antioksidan kapasitesinin basınç artışıyla arttığı görülmektedir. Interdonato limon yaprakları ile yapılan denemelerdeki en yüksek antioksidan kapasitesi 300 bar basınçta gerçekleştirilen ekstraksiyonda elde edilmiştir. Yardımcı çözücü kullanılmadan 35°C sıcaklık ve 150 Bar basınçta elde edilen özütte ise antioksidan kapasitesi daha düşük değerdedir.

İki farklı hasat döneminde toplanan interdonato limon yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağlar incelendiğinde antioksidan kapasitesinde olgunlaşma sürecinin etkisi açıkça görülmektedir. Hasat dönemi Eylül ve Ekim ayları olan Interdonato limon türünde hasat döneminde toplanan yapraklarda antioksidan kapasitesinde artış gözlemlenmiştir. Mayıs ayında toplanan yapraklarda ise antioksidan kapasitesi daha düşük değerdedir. Interdonato limon yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağlarda bulunan γ -terpinen, geraniol ve terpinolen gibi bileşiklerin bu uçucu yağda bulunan diğer terpen ve terpenoid sınıfı bileşiklere göre çok daha fazla oranda DPPH radikalini indirgeyici özellikleri olduğu Choi ve diğ. (2000) tarafından yapılan bir çalışmada bulunmuştur. Bu bakımdan bu bileşikler antioksidan özellik gösterirler ve uçucu yağın antioksidan kapasitesine katkıları diğer bileşiklerden fazladır.

Tablo 4.13 incelendiğinde SCFE yöntemiyle elde edilen özütlerdeki fenolik madde miktarları ile basınç arasında bir doğru orantı olmadığı görülmektedir. Fakat 300 bar basınçta elde edilen özütte fenolik madde miktarı yüksek oranda artış göstermiştir. Kawaii ve diğ. (2000) tarafından yapılan bir çalışmaya göre bu özütlerin toplam fenolik madde bileşimini oluşturan flavonoidlerin büyük oranda flavanon yapısındaki eriyositrin ile flavon yapısındaki rutin, isorhoifolin ve diosminden meydana geldiği bulunmuştur. Flavonoid sınıfı bileşikler içermiş oldukları elektronegatif gruplardan ötürü belli oranda polarlığa sahiptirler (Andersen ve Markham, 2006). Süperkritik

CO₂'in çözme kapasitesi apolar bileşikler için yüksek; polar ve iyonik bileşikler için ise düşüktür. Fakat basınç artışı polar bileşikleri de çözme kapasitesini arttırmaktadır (Abdullah, 2007). 35°C sıcaklık ve 150 Bar basınçta yardımcı çözücü kullanılmadan elde edilen özütteki toplam fenolik madde miktarı 300 Bar basınçta yardımcı çözücü kullanılarak elde edilen özütten daha düşük değerdedir. Düşük basınç değerinin yanı sıra polar bir yardımcı çözücünün de kullanılmaması ekstraksiyon verimini kısıtlamış olabilir. Bu nedenle polar bir bileşik olan etanolün yardımcı çözücü olarak kullanılması ve basıncın da artırılmasıyla polar olan fenolik bileşikler toplam fenolik madde miktarlarından da görüldüğü gibi daha çok oranda ekstrakte olmuştur.

5.2. TURUNÇ

Turunç yapraklarından SD yöntemi kullanılarak 0,453 mL/100 g yaprak verim ile elde edilen uçucu yağın GC/MS analizi gerçekleştirilmiştir. Bu uçucu yağa ait kalitatif ve kantitatif analiz sonucu Tablo 4.6 ve Tablo 4.7'de verilmiştir.

Turunç yaprak yağında toplam 48 adet bileşen tespit edilmiştir. Bu uçucu yağın en büyük kısmını (% 92,48) oksijenli bileşikler oluşturmaktadır. Oksijenli bileşikler oluşturan ana sınıf esterler olmakla birlikte bunu alkoller ve karbonil bileşikler izlemektedir. Toplam ester bileşiği sayısı 6'dır. Ester bileşenlerinden başlıcaları linalil asetat (% 48,23), geranil asetat (% 4,82) ve neril asetat (% 2,59). Esterlerden sonra en fazla miktarda bulunan oksijenli bileşik sınıfı alkollerdir (% 35,73). Alkol sınıfı bileşik sayısı 10 olmakla birlikte bunlardan başlıcaları linalool (% 28,07), α -terpineol (% 5,53) ve geranioldur (% 1,21). Karbonil bileşiklerinden keton sınıfını oluşturan tek bileşen eser miktardaki 6-metil-5-hepten-2-on bileşiğidir. Aldehitler ise toplam 4 tanedir. Bunlar sırasıyla geranial (% 0,50), neral (% 0,29), sitronellal (% 0,07) ve nonanaldır (Eser miktarda).

Hidrokarbonlar bu uçucu yağın az bir kısmını (% 7,41) oluşturmaktadır. Toplam sayısı 15 olan monoterpen hidrokarbonlardan (% 6,77) başlıcaları mirsen (% 2,06), limonen (% 1,78) ve (E)- β -osimen (% 1,23) bileşiklerdir. Seskiterpen hidrokarbonlar (% 0,64) ise toplam 8 tanedir. Bu sınıfı oluşturan ana bileşen (E)-karyofillendir (% 0,43).

Tablo 4.7 turunç yaprak yağını oluşturan ana sınıfların yüzde miktarlarını göstermektedir. Tablo 4.7’den de görüldüğü gibi bu yağın yapısını oluşturan bileşenler arasında esterler>alkoller>monoterpenler >karbonil bileşikler>seskiterpenler sıralaması bulunmaktadır.

Tablo 4.11 incelendiğinde basınç artışının antioksidan kapasitesinin azalmasına neden olduğu görülmektedir. En yüksek antioksidan kapasitesi 100 bar basınçta elde edilen özütüdür. Yardımcı çözücü kullanılmadan 35°C sıcaklık ve 150 Bar basınçta elde edilen özütün antioksidan kapasitesi ise diğer özütlere göre daha düşük değerdedir.

SD yöntemiyle iki ayrı tarihte toplanan yapraklardan elde edilen uçucu yağlar incelendiğinde ise olgunlaşma sürecinin antioksidan kapasitesine olan etkisinin interdonato limon yapraklarından SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağlarınkine benzer olduğu görülmektedir. Yapraklardaki olgunlaşmadan ötürü antioksidatif özellik gösteren maddelerin miktarındaki artış elde edilen bu uçucu yağlarda da açıkça görülmektedir. Ekim ayında toplanan yapraklardaki antioksidan kapasitesi Mayıs ayındakilerden daha yüksektir.

Tablo 4.14 incelendiğinde SCFE yöntemiyle turunç yapraklarından elde edilen özütlerdeki toplam fenolik madde miktarı ile basınç artışı arasında doğrudan bir ilişki bulunmadığı görülmektedir. En yüksek oranda fenolik madde içeriği 200 bar basınçta elde edilen özütte görülürken basıncın daha da arttırılmasıyla fenolik madde miktarında azalma meydana gelmiştir. Kawaii ve diğ. (2000) tarafından yapılan bir çalışma ile bu özütlerdeki toplam fenolik madde bileşimini oluşturan flavonoidlerin büyük oranda flavanon yapısındaki neoeriyositrin ve naringinden meydana geldiği bulunmuştur.

5.3. YERLİ MANDALİNA

Yerli mandalina yapraklarından SD yöntemi kullanılarak 0,490 mL/100 g yaprak verim ile elde edilen uçucu yağın GC/MS analizi gerçekleştirilmiştir. Bu uçucu yağa ait kalitatif ve kantitatif analiz sonucu Tablo 4.8 ve Tablo 4.9’de verilmiştir.

Bu uçucu yağda toplam 41 adet bileşen tespit edilmiştir. Uçucu yağın en büyük kısmını (% 56,68) oksijenli bileşikler oluşturmaktadır. Oksijenli bileşiklerin ana sınıfını esterler oluşturmakta olup bunu alkoller ve karbonil bileşikleri izlemektedir. Toplam ester bileşiği sayısı 4 tanedir. Ana ester bileşeni metil N-metil antranilat (% 55.58) olup bunu linalil asetat (% 0.08), neril asetat (% 0.08) ve geranil asetat (% 0.07) izlemektedir. Aynı zamanda metil-N-metil antranilat yağa karakteristik kokusunu veren en önemli bileşiktir (Bauer, 1997). Alkol sınıfını oluşturan başlıca bileşenler ise sırasıyla linalool (% 0.21), terpinen-4-ol (% 0.20) ve α -terpineol (% 0.15) dır. Karbonil bileşiklerinden keton sınıfını oluşturan tek bileşen ise eser miktardaki 6-metil-5-hepten-2-on bileşiğidir. Aldehitler ise toplam 5 tane olmak üzere bu sınıftaki başlıca bileşenler sırasıyla geranial (% 0.11) ve neral (% 0.07) dir.

Monoterpen hidrokarbonlar hidrokarbon sınıfının en büyük kısmını (% 42,00) oluşturmaktadır. Bu uçucu yağda 15 tane monoterpen hidrokarbon bulunmaktadır. Monoterpen hidrokarbon sınıfını oluşturan başlıca bileşenler γ -terpinen (% 23.11), limonen (% 10.27) ve p-simendir(% 2.74). Seskiterpen hidrokarbonlar ise az miktarda (% 1,24) bulunmaktadır. Bu sınıfı oluşturan başlıca bileşenler sırasıyla (E)-karyofillen (% 1.16) ve α -humulendir (% 0.08).

Tablo 4.9 mandalina yaprak yağını oluşturan ana sınıfların yüzde miktarlarını göstermektedir. Tablo 4.9'dan da görüldüğü gibi bu yağın yapısını oluşturan bileşenler arasında esterler>monoterpenler>seskiterpenler>alkoller>karbonil bileşikleri sıralaması bulunmaktadır.

Tablo 4.12 incelendiğinde basınç artışıyla antioksidan kapasitesi arasında bir doğru orantı olmadığı görülmektedir. En büyük antioksidan kapasite değeri 200 bar basınçta elde edilmiştir. Fakat basınç daha da arttırıldığında antioksidan kapasitesinde azalma meydana gelmiştir. Yardımcı çözücü kullanılmadan 35°C sıcaklık ve 150 Bar basınçta elde edilen özütün antioksidan kapasitesinin en düşük seviyede olması diğer iki yaprak örneğinde olduğu duruma benzerlik göstermektedir.

SD yöntemiyle elde edilen uçucu yağlarda ise diğer iki yaprak türünde olduğu gibi olgunlaşma sürecinde antioksidan kapasitesinde artış gözlemlenmiştir. Mayıs döneminde toplanan yapraklarda antioksidan kapasitesi daha düşüktür; Ekim ayında toplanan yapraklarda daha yüksektir.

Tablo 4.15 incelendiğinde SCFE yöntemiyle elde edilen özütlerde basınç artışıyla toplam fenolik madde miktarının arttığı görülmektedir. En yüksek toplam fenolik madde miktarı 300 bar basınçta elde edilmiştir. Yardımcı çözücü kullanılmayan 35°C sıcaklık ve 150 bar basınçtaki ekstraksiyon işleminde ise yardımcı çözücü kullanıldığı durumdakine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Yerli mandalina yapraklarından elde edilen bu özütlerin toplam fenolik madde bileşimini oluşturan flavonoidlerin Kawaii ve diğ. (2000) tarafından yapılan çalışmaya göre büyük oranda flavanon yapısındaki hesperidin; flavon yapısındaki rutin, isorhoifolin ve diosmin ile polimetilli flavon yapısındaki nobiletin, tangeretin ve 5-dimetilnobiletin bileşiklerinden oluştuğu belirlenmiştir.

KAYNAKLAR

- ABDULLAH, S.A., 2007, *Solubility in supercritical carbon dioxide*, Master of Science, New Jersey Institute of Technology, Chemical Engineering
- AĞAR, A., 2007, *Aurantioideae alt familyasındaki cinslerde yer alan bazı türlerin ssr markırlarıyla moleküler karakterizasyonu*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı
- ALBAYRAK, S., SAĞDIÇ, O., AKSOY, A., 2010, *Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler*, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 26 (4), 401-409
- ANDERSEN, O.M., MARKHAM, K.R., 2006, *Flavonoids Chemistry Biochemistry and Applications*, CRC Press, Florida, 0-8493-2021-6
- ANON, 1995, *Orman tali ürünlerinin üretim ve satış esasları*, T.C. Orman Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü İşletme ve Pazarlama Dairesi Başkanlığı, Ankara
- ANON, 2008a, *Bahçecilik: Limon yetiştiriciliği*, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi (MEGEP), Ankara
- ANON, 2008b, *Bahçecilik: Mandarin yetiştiriciliği*, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi (MEGEP), Ankara
- ANON, 2008c, *Bahçecilik: Portakal yetiştiriciliği*, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı Mesleki Eğitim ve Öğretim Sisteminin Güçlendirilmesi Projesi (MEGEP), Ankara
- ANON, 2010, *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü*, web adresi: <http://www.batem.gov.tr/urunler/meyvelerimiz/limon/limon.htm#İTERDONAT>, [Ziyaret tarihi: 5 Ocak 2013]
- ANON, 2011a, *Encyclopedia Britannica facts matter*, web adresi: <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/50870/balsam>, [Ziyaret tarihi: 29 Ekim 2012]
- ANON, 2011b, *Kimya teknolojisi: Dolgu verme*, T.C. Milli Eğitim Bakanlığı, Ankara
- ARDAĞ, A., 2008, *Antioksidan kapasite yöntemlerinin analitik açıdan karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı
- ARTHUR, D., REEVE, D., 2004, *Grapefruit: the forbidden fruit*, Perfumer and Flavorist, 29, 26-28
- ARTS, M., 2007, *Assessing antioxidant activity*, Datawyse, Maastricht, 978-90-5278-615-5

BAUER, K., GARBE, D., SURBURG, H., 1997, *Common fragrance and flavor materials*, WILEY-VCH, Germany, 3-527-28850-3

BEDESTENCİ, H.Ç., VURUŞ, H., 2000, *Türkiye'de turunçgil üretimi ve geleceği*, Fen ve Mühendislik Dergisi, (1) 3, 149-159

BEKTAŞOĞLU, S., 2008, *Uçucu yağlar*, T.C. Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi

BERK, A., 1953, *Esanslar (Eterik Yağlar)*, Hüsnütabiat Matbaası, İstanbul

BERKKAN, A.P., 1997, *UV spektroskopisi ve susuz ortam titrasyonu ile piroksikam miktar tayini ve yöntemlerin karşılaştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı

BOCCO, A., CUVELIER, M.E., RICHARD, H., BERSET, C., 1998, *Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46, 2123-2129

CAO, G., HELAINE, M.A., RICHARD, G.C., 1993, *Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants*, Journal of Free Radicals in Biology and Medicine, 14 (3), 303-311

CASTRO, M.D.L., TENA, M.T., 1996, *Strategies for supercritical fluid extraction of polar and ionic compounds*, Trends in Analytical Chemistry, 15 (1), 32-37

CEYLAN, A., 1997, *Tıbbi bitkiler: Uçucu yağ bitkileri*, Ege Üniversitesi Yayınları

CHANG, R., 2000, *Fen ve mühendislik bölümleri için kimya*, 1. Türkçe Baskı, Beta Basım A.Ş., Vize/Kırklareli, 975-486-954-3

CHOI, H.S., SONG, H.S., UKEDA, H., SAWAMURA, M., 2000, *Radical-scavenging activities of citrus essential oils and their components: Detection using 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48, 4156-4161

CHRASTIL, J., 1982, *Solubility of solids and liquids in supercritical gases*, Journal of Physical Chemistry, 86, 3016-3021

ÇOLAK, N., TÜLEK, Y., 2003, *Gıda*, 28 (3), 313-320

DEMİR, G., KAYA, N., 2009, *Limon*, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, <http://www.batem.gov.tr/urunler/meyvelerimiz/limon/limon.htm>, [Ziyaret tarihi: 12 Kasım 2012]

DiKEN, M.E., 2009, *Bazı şifalı bitkilerin antioksidan içerikleri*, Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

DİRİ, M., 2006, *Coridothymus Capitatus (L.) Reichb. Uçucu Yağının Analizi, Su ve Etanol Ekstraktlarının Antioksidant Aktivitelerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı

DOUGLAS, M., HEYES, J., SMALLFIELD, B., MAZAUD, F., JENANE, C., 2005, *Herbs, spices and essential oils: Post harvest operations in developing countries*, United Nations Industrial Development Organization (UNIDO) ve Food and Agriculture Organization of United Nations (FAO)

DUGO, G., MONDELLO, L., 2011, *Citrus oils: Composition, advanced analytical techniques, contaminants, and biological activity*, CRC press, Florida, 978-1-4398-0028-7

ERDAĞ, D., 2007, *Marrubium cordatum (Labiatae)'un antioksidan kapasitesinin araştırılması*, Yüksek Lisans, Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

EVANS, W.C., 2002, *Trease and Evans Pharmacognosy*, Saunders Company, China, 978-0-7020-2933-2

ERSÖZ, A., 2010, *Aletli analiz*, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir

FRIZZO, C.D., LORENZO, D., DELLACASSA, E., 2004, *Composition and seasonal variation of the essential oils from two mandarin cultivars of Southern Brazil*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 3036-3041

GALIPO, R.C., CANHOTO, A.J., WALLA, M.D., 2002, *Analysis of volatile fragrance and flavor compounds by headspace solid phase microextraction combines with gas chromatography/mass spectrometry, an instrumental analysis experiment*, University of South Carolina

GANZLER, K., SALGO, A., VALKO, K., 1986, *Microwave extraction: A novel sample preparation method for chromatography*, Journal of Chromatography, 371, 299-306

GERHARDS, P., BONS, U., SAWAZKI, J., SZIGAN, J., WERTMANN, A., 1999, *GC/MS in Clinical Chemistry*, Wiley-VCH, Germany, 3-527-29623-9

GÖK, A., 2012, *Turunçgillerden farklı yöntemlerle uçucu yağ elde edilmesi ve kimyasal bileşiminin incelenmesi*, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

HANDA, S.S., KHANUJA, S.P.S., LONGO, G., RAKESH, D.D., 2008, *Extraction technologies for medicinal and aromatic plants*, ICS-UNIDO, Italy

HARWOOD, L.M., MOODY, C.J., 1989, *Experimental organic chemistry: principles and practice*, John Wiley and Sons, 978-0632020171

HAYAT, K., ZHANG, X., CHEC. H., XIA, S., JIA, C., ZHONG, F., 2010, *Liberation and separation of phenolic compounds from citrus mandarin peels by microwave*

heating and its effect on antioxidant activity, Separation and Purification Technology, 73 (3), 371-376

HENDERSON, W., MCINDOE, J.S., 2005, *Mass spectrometry of inorganic, coordination and organometallic compounds*, John Wiley & Sons Ltd., England, 0-470-85015-9

JENSEN, W.B., 2007, *The origin of the soxhlet extractor*, Journal of Chemical Education, 87 (12)

KAR, A., 2007, *Pharmacognosy and pharmacobiotechnology*, New Age International Publishers, New Delhi, 978-81-224-2915-2

KARADENİZ, H., 2001, *Hatay bölgesi defne yaprağı ve meyvesi uçucu yağı özelliklerinin belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı

KAUFMANN, B., CHRISTEN, P., 2002, *Recent extraction techniques for natural products: microwawe-asisted extraction and pressurised solvent extraction*, Phytochemical Analysis, 13, 105-113

KIRBAŞLAR, Ş.İ., KIRBAŞLAR, F.G., 2003, *Composition of cold-pressed bitter orange peel oil from Turkey*, Journal of Essential Oils Research, 15 (1), 6-9

KIRBAŞLAR, Ş.İ., KIRBAŞLAR, F.G., 2006, *Composition of turkish mandarin and bergamot leaf oils*, Journal of Essential Oils Research, 18 (3), 318-327

KIRBAŞLAR, Ş.İ., BOZ, İ., KIRBAŞLAR, F.G., 2006, *Composition of turkish lemon and grapefruit peel oils*, Journal of Essential Oils Research, 18 (5), 525-543

KOÇ, A.A., IŞIK, S., ERDEM, Ş., 2008, *Türkiye'nin AB üyeliğinin tarım sektöründe ürün bazında etkilerinin belirlenmesi (Turunçgil raporu)*, Proje no: 105K007, Ankara

KUTLULAR, Ö., 2007, *Bazı adaçayı ve kekik türlerinin uçucu yağlarının süper ısıtılmış su ile ekstraksiyonları ve GC-MS ile karakterizasyonları*, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı

LINSKENS, H.F., JACKSON, J.F, 1997, *Modern methods of plant analysis vol. 19: plant volatile analysis*, Springer, Germany, 3-540-61589-X

LOTA, M.L., SERRA, D.R., TOMI, F., CASANOVA, J., 2000, *Chemical variability of peel and leaf essential oils of mandarins from citrus reticulata blanco*, Journal of Biochemical Systematics and Ecology, 28, 61-78

LOTA, M.L., SERRA, D.R., TOMI, F., JACQUEMOND, C., CASANOVA, J., 2002, *Volatile components of peel and leaf oils of lemon and lime species*, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 50, 796-805

MANITTO, P., 1981, *Biosynthesis of natural products*, Ellis Harwood Ltd., Connecticut, 255-262 (Diri 2006)

MAURER, M., BRADLEY, L., 1998, *Low desert citrus varieties*, AZ 1001, The University of Arizona, College of Agriculture

MILLER, N.J., RICE-EVANS, C., DAVIES, M.J., GOPINATHAN, V., MILNER, A., 1993, *A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates*, Journal of Clinical Science, 84, 407-412

MIRA, B., BLASCO, M., BERNA, A., SUBIRATS, S., 1999, *Supercritical CO₂ extraction of essential oil from orange peel. Effect of operation conditions on the extract composition*, Journal of Supercritical Fluids, 14, 95-104

MUKHOPADHYAY, M., 2000, *Natural extracts using supercritical carbon dioxide*, CRC Press LLC, Florida, 978-0-8493-0819-2

NIESSEN, W.M.A., 2001, *Current practice of gas chromatography-mass spectrometry*, Marcel Dekker Inc., New York, 0-8247-0473-8

OWEN, T., 2000, *Fundamentals of modern UV-visible spectroscopy*, Agilent Technologies, Germany

ÖZEK, T., 1990, *Micromeria congesta uçucu yağının bileşimi*, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı

ÖZKAN, B., HATIRLI, S.A., AKÇAÖZ, H., KARADENİZ, C.F., 2003, *Turunçgil fiyatlarının analizi*, Tarım Ekonomisi Dergisi, 8, 37-49

ÖZKAN, M., 2009, *Siyah havuç suyu konsantresi üretimi ve depolanması sürecinde fenolik maddeler ve antosiyaninlerdeki değişimler ve bu değişimlerin antioksidan aktivite ile ilişkisi*, Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara

PATTERSON, C.A., 2005, *Supercritical fluid extraction: an upcoming green technology*, Wellness west technology watch, 2 (1)

PAVIA, D.L., LAMPMAN, G.M., KRIZ, G.S., VYVYAN, J.R., *Introduction to spectroscopy*, Brooks/Cole Cengage Learning, Fourth Edition, USA, 978-0-495-11478-9

PAWLISZYN, J.B., BELARDI, R.P., 1989, *The application of chemically modified fused silica fibers in the extraction of organics from water matrix samples and their rapid transfer to capillary columns*, Water pollution research journal of canada, 24 (1), 179-191

PERCIVAL, M., 1996, *Antioxidants*, Clinical Nutrition Insights, 10 (98), 1-4

ROBERTS, J. S., 1971, *Terpenoids and steroids*, Burlington House, London, vol: 1

- ROY, P.S., GOLDSCHMIDT, E.E., 1996, *Biology of horticultural crops: Biology of citrus*, Cambridge University Press, Newyork, 0-521-33321
- SAHENA, F., ZAIDUL, I.S.M., JINAP, S., KARIM, A.A., ABBAS, K.A., NORULAINI, N.A.N., OMAR, A.K.M., 2009, *Application of supercritical CO₂ in lipid extraction- a review*, Journal of food engineering, 95, 240-253
- SELL, C.S., 2003, *A fragrant introduction to terpenoid chemistry*, The royal society of chemistry, Cambridge, United Kingdom, 0-85404-681-X
- SELL, C., 2006, *The chemistry of fragrances from perfumer to consumer*, 2nd edition, Cambridge, United Kingdom, 0-85404-824-3
- SERTESER, A., GÖK, V., 2003, *Doğal antioksidanların biyoyararlılığı*, 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, 2-4 Ekim 2003 Ankara, 83-99
- SMITH, R.M., 2004, *Understanding mass spectra: a basic approach*, Second edition, John Wiley and Sons, Canada, 0-471-42949-X
- SINGLETON, V.L., ROSSI, J.A., 1965, *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*, American Journal of Enology and Viticulture, 16 (3), 144-158
- SOLOMONS, T.W.G., FRYHLE, C.B., 2002, *Organik kimya*, Literatür yayınları:84, İstanbul, 975-8431-87-0
- SOXHLET, F., 1879, *Die gewichtsanalytische bestimmung des milchfettes*, Polytechnisches, 232, 461
- SULU, M., 2000, *Süperkritik akışkan ekstraksiyonu*, Gıda Mühendisliği Dergisi, 9, 22-24
- TANKER, M., TANKER, N., 1990, *Farmakognozi*, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 975-482-066-X
- THAVANAPONG, N., 2006, *The essential oil from peel and flower of citrus maxima*, Master of pharmacy, Silpakorn University.
- THORMAR, H., 2011, *Lipids and essential oils as antimicrobial agents*, Wiley, West Sussex, UK, 978-0-470-74178-8
- TYLER, V.E., BRADY, L.R., ROBBERS, J.E., 1981, *Pharmacognosy*, 8th edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 0812110714
- TOSUN, İ., YÜKSEL, S., 2002, *Üzümsü meyvelerin antioksidan kapasitesi*, Gıda mühendisliği dergisi, 13, 40-46

TUNÇBİLEK, İ., 2005, *Gaz kromatografisi-Kütle spektrometrisi tekniği kullanılarak doping amacıyla kullanılan hidroksietil nişastanın (HES) idrardan analizi üzerine bir çalışma*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Programı

TURHAN, S., ÜSTÜN, N.Ş., 2006, *Doğal antioksidanlar ve gıdalarda kullanımları*, Türkiye 9. Gıda Kongresi, 24-26 Mayıs 2006, Bolu, 273-276

TUTANÇ, Levent, 2009, *Gaz kromatografisi kütle spektrometresi (GC-MS) ile eroin, kokain ve amfetamingrubu maddelerin birlikte analizi için yöntem geliştirilmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü Fen Bilimler Anabilim Dalı

UMAY, A., 2007, *Lavandula stoechas, melissa officinalis ve tribulus terrestris bitkilerinin kimyasal içeriklerinin araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı

UYSAL, O., 2012, *Turunçgil üretim maliyetleri*, Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Alata Bahçe Kùltürleri Araştırma İstasyonu

VANKAR, P.S., 2004, *Essential oils and fragrances from natural sources*, Resonance, 9 (4), 30-41

VAS, G., VEKEY, K., 2004, *Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis*, Journal of Mass Spectrometry, 39, 233-254

VEKIARI, S.A., PROTOPAPADAKIS, E.E., PAPADOPOULOU, P., PAPANICOLAOU, D., PANOU, C., VAMVAKIAS, M., 2002, *Composition and seasonal variation of essential oil from leaves and peel of a cretan lemon variety*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50, 147-153

YOUNG, I.S., WOODSIDE, J.V., 2001, *Antioxidants in health and disease*, Journal of Clinical Pathology, 54, 176-186

YU, J., DANKEDAR, D.V., TOLEDO, R.T., SINGH, R.K., PATIL, B.S., 2007, *Supercritical fluid extraction of limonoids and naringin from grapefruit (Citrus paradisi Macf.) seeds*, Food chemistry, 105, 1026-1031

ZHANG, C., 2007, *Fundamentals of enviromental sampling and analysis*, John Wiley and Sons, USA, 978-0-471-71097-4

ZHIRI, A., Baudoux, D., 2005 , *Chemotyped essential oils and their synergies*, Scientific Aromatherapy, Belgium

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında İstanbul’da doğdu. 2005 yılında Florya Tevfik Ercan Lisesi’nin yabancı dil ağırlıklı lise kısmından mezun olduktan sonra İstanbul Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Bölümü’nü kazandı. 2006 yılından itibaren aynı fakültenin Kimya Mühendisliği Bölümü’nde yandal programına başladı. 2009 yılının Haziran ayında her iki bölümden de mezun oldu. Aynı yılın Aralık ayında yedek subay adayı olarak İstanbul Tuzla’daki Piyade Okul Komutanlığı’nda vatani görevini yerine getirmeye başladı. 75 günlük askeri eğitimden sonra asteğmen rütbesiyle Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti’nin Güzelyurt Kazası sınırları içindeki bir hudut karakolunda karakol komutanı olarak vatani görevini tamamladı. 2010 yılının Aralık ayında terhis olduktan sonra 2011 yılının Şubat ayında İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Temel İşlemler ve Termodinamik Programı’nda yüksek lisans eğitimine başladı. 2012 yılının Nisan ayında esans sektöründe faaliyet gösteren Seluz Kimya Kozmetik Ticaret ve Sanayi A.Ş.’nin AR-GE departmanında çalışmaya başladı. Halen aynı firmadaki görevini sürdürmektedir.