



T.C.  
KONYA TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

NARENCİYE ATIKLARINDA BULUNAN  
FONKSİYONEL BİLEŞİKLERİN  
AYRIŞTIRILMASI VE TOPLAM FENOL  
AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Aslıhan ÖZTÜRK

YÜKSEK LİSANS

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Haziran-2022  
KONYA

**Her Hakkı Saklıdır  
TEZ KABUL VE ONAYI**

Aslıhan Öztürk tarafından hazırlanan “Narenciye Atıklarında Bulunan Fonksiyonel Bileşiklerin Ayırıştırılması ve Toplam Fenol Açısından Değerlendirilmesi” adlı tez çalışması 30/06/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Konya Teknik Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS olarak kabul edilmiştir.

**Jüri Üyeleri**

**İmza**

**Başkan**

**Prof. Dr. Mustafa KARATAŞ**

.....

**Danışman**

**Prof. Dr. Mehmet Emin ARGUN**

.....

**Üye**

**Prof. Dr. Mustafa KARATAŞ**

.....

**Üye**

**Dr. Öğretim Üyesi Havva ATEŞ**

.....

**Üye**

Unvanı Adı SOYADI

.....

Yukarıdaki sonucu onaylarım.

Prof. Dr. Saadettin Erhan KESEN  
Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması BAP tarafından 211001019 nolu proje ile desteklenmiştir.

## TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

## DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

İmza  
Aslıhan ÖZTÜRK

Tarih:

## ÖZET

### YÜKSEK LİSANS

#### NARENCİYE ATIKLARINDA BULUNAN FONKSİYONEL BİLEŞİKLERİN AYRIŞTIRILMASI VE TOPLAM FENOL AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ashhan ÖZTÜRK

Konya Teknik Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü  
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Mehmet Emin Argun

2022, 50 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Mehmet Emin ARGUN  
Prof. Dr. Mustafa KARATAŞ  
Dr. Öğretim Üyesi Havva ATEŞ

Bu tez çalışmasında meyve işleme sektöründe atık olarak meydana gelen portakal kabuklarında bulunan değerli bileşenlerin geri kazanılması için süperkritik-CO<sub>2</sub> (SK- CO<sub>2</sub>) ekstraksiyonu, soxhlet ekstraksiyonu ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılmıştır. Portakal kabuğundaki fenolik maddelerin SK-CO<sub>2</sub> ile ekstraksiyon verimini etkileyen; sıcaklık (40 – 61,5 °C) ve basınç, (8,5 – 31,5 MPa) gibi temel işletme parametreleri Box-Behnken yöntem metodolojisi kullanılarak tasarlanmıştır ve parametrelerin geri kazanıma etkisi araştırılmıştır. Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ve ultrason destekli ekstraksiyon yönteminde çözücü olarak etanol kullanılarak %50, %80, %100 etanol/su oranlarında 2 saatlik ekstraksiyon işlemleri gerçekleştirilmiştir. Ekstaktlarda toplam fenolik madde (TF), antioksidan aktivite (AA) ve toplam flavonoid (TFM) içeriği analizleri gerçekleştirilerek verim kıyaslaması yapılmıştır. Süperkritik ekstraksiyonda en iyi TF kazanımı 61,5°C ve 20 MPa da 8,5 mg GAE/g KM olarak bulunurken, bu değer soxhlet ekstraksiyonunda 22,5 mg GAE/g KM, ultrason destekli ekstraksiyon yönteminden ise 36,8 mg GAE/g KM olarak bulunmuştur.

**Anahtar Kelimeler:** Süperkritik karbondioksit, Soxhlet ekstraksiyonu, Ultrason destekli ekstraksiyon, Toplam fenol geri kazanımı, Antioksidan aktivite

**Açıklamalı [AÖ1]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun ve Dr. Havva Ateş'in önerisi ile

**Açıklamalı [AÖ2]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisi ile

## ABSTRACT

### MS THESIS

## SEPARATION OF FUNCTIONAL COMPOUNDS IN CITRUS WASTES AND EVALUATION OF TOTAL PHENOL

Ashhan Öztürk

Konya Technical University  
Institute of Graduate Studies  
Department of Environmental Engineering

Advisor: Prof. Dr. Mehmet Emin Argun

2022, 50 Pages

### Jury

Prof. Dr. Mehmet Emin ARGUN  
Prof. Dr. Mustafa KARATAŞ  
Assistant Prof. Dr. Havva ATEŞ

In this thesis, valuable components of orange peels, which are generated as waste in fruit processing industry, were recovered by using Supercritical-CO<sub>2</sub> extraction (SK- CO<sub>2</sub>), Soxhlet extraction and ultrasound assisted extraction methods. Basic operating parameters which influence the extraction efficiency of the phenolic substances such as extraction time, temperature (40 – 61.5 °C), pressure, (8.5 – 31.5 MPa) were designed using Box-Behnken methodology and the effects of parameters on recovery were investigated. In the Soxhlet extraction method and ultrasound assisted extraction method, extraction processes were carried out at 50%, 80%, 100% ethanol/water ratios in a 2-hour extraction period. Comparisons of the recovery efficiencies were carried out by analyzing total phenolic content (TF), antioxidant activity and total flavonoid content (TFC) in the extracts. Maximum recovered TF in SK- CO<sub>2</sub> extraction was found as 8.5 mg GAE/g DM at 61.5 °C, 20Mpa, this value was found as 22.5 mg GAE/g DM in Soxhlet extraction and 36.8 mg GAE/g DM in ultrasound assisted extraction methods.

**Keywords:** Supercritical carbon dioxide, Soxhlet extraction, Ultrasound assisted extraction, Total phenol recovery, Antioxidant activity

## ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının yürütülmesi esnasında bursiyer olarak yer aldığım 120Y351 numaralı Ar-Ge projesi için TÜBİTAK'a teşekkür ederim. Ayrıca 211001019 proje numarası ile Konya Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü (BAP) tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı BAP koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Yüksek Lisans süreci hem kişisel hem de akademik gelişimim açısından bana çok şey kattı. Bu süreçte tezin belli bir akademik yeterliliğe ulaşması konusunda hep desteğini gördüğüm, yol gösteren, sahiplenen, güvenen ve fikirlerini cömertçe benimle paylaşan danışman hocam Prof. Dr. Mehmet Emin Argun'a çok müteşekkirim. Bir teşekkürü de dostane yaklaşımla ve yol göstericiliğiyle yüksek lisans sürecim boyunca yanımda olan aynı zamanda jürimde bulunan ve tezime katkılarını sunan Dr. Havva Ateş'e borçluyum.

Tabi ki her tez bir fedakârlık sonucunda ortaya çıkıyor. Bu anlamda en büyük teşekkürü, bu süreçte daima destekçim olan ve yanımda olan aileme borçluyum. Tezimi, yıllar önce kaybettiğim anneme ve bizler için her türlü fedakarlıkta bulunan, her konuda arkamda olan canım babama ithaf ediyorum.

Aslıhan ÖZTÜRK  
KONYA-2022

## İÇİNDEKİLER

|  |           |
|--|-----------|
| ÖZET .....   | iv        |
| ABSTRACT.....  | v         |
| ÖNSÖZ .....  | vi        |
| İÇİNDEKİLER .....  | vii       |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....  | viii      |
| <b>1. GİRİŞ.....</b>   | <b>1</b>  |
| 1.1. Narenciye Anatomisi.....  | 3         |
| <b>2.KAYNAK ARAŞTIRMASI .....</b>  | <b>4</b>  |
| 2.1. Ekstraksiyon Yöntemlerinin Araştırılması .....  | 4         |
| 2.1.1. Süperkritik Karbondioksit (SK- CO <sub>2</sub> ) Ekstraksiyonu.....   | 5         |
| 2.1.2. Soxhlet Ekstraksiyon .....  | 6         |
| 2.1.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon .....  | 7         |
| <b>3. MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>  | <b>11</b> |
| 3.1. Materyal .....  | 11        |
| 3.2. Yöntem.....   | 11        |
| 3.2.1. Örneklerin hazırlanması.....  | 11        |
| 3.2.2. Ekstraksiyon Yöntemleri .....   | 11        |
| 3.2.3. Toplam Fenolik Madde (TFM) ve Antioksidan Aktivite Analizleri .....   | 15        |
| 3.2.4 Pektin eldesi .....  | 23        |
| <b>4.ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....</b>  | <b>25</b> |
| 4.1. SK-CO <sub>2</sub> Ekstraksiyonu ile Geri Kazanım Çalışmaları.....  | 25        |
| 4.1.1. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi .....   | 26        |
| 4.1.2. SK-CO <sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda hacimsel ve kütleli gerikazanım verimleri .....        | 28        |
| 4.1.3. SK-CO <sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda TFM geri kazanımı .....                                | 29        |
| 4.1.4. SK-CO <sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda toplam anitoksidan aktivitenin değerlendirilmesi ..... | 32        |
| 4.1.5. SK-CO <sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda TFv geri kazanımı.....                                 | 34        |
| 4.2. Soxhlet Ekstraksiyonu ile Geri Kazanım Çalışmaları .....  | 36        |
| 4.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon ile Geri Kazanım Çalışmaları .....   | 40        |
| 4.4. Pektin Eldesi .....   | 41        |
| 4.5. Farklı Ekstraksiyon Yöntemlerinin Kıyaslanması.....   | 42        |
| <b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>   | <b>44</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>   | <b>45</b> |

## SİMGELER VE KISALTMALAR

### Kısaltmalar

- ABTS** : 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) katyon radikali  
**BTH** : bütillenmiş hidrokstitoluen  
**DPPH** : 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikali  
**HPLC** : Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi  
**KM** : Kuru Madde  
**PKE** : Portakal Kabuğu Ekstraktı  
**SK-CO<sub>2</sub>** : Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu  
**T<sub>c</sub>** : Kritik Sıcaklık  
**TFM** : Toplam Fenolik Madde  
**TFv** : Toplam Flavonoid  
**UDE** : Ultrason Destekli Ekstraksiyon

**Açıklamalı [AÖ3]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisi ile



## 1. GİRİŞ

Turunçgiller, insanlar için önemli olan askorbik asit, flavonoidler, fenolik bileşikler, pektinler ve antioksidan maddeler gibi çok sayıda biyoaktif bileşiklerin doğal kaynağı olarak bilinmektedir (Fernández-López ve ark., 2005). Narenciyelerde bulunan flavonoidler üzerinde yapılan çalışmalar, kalp hastalıklarının oluşma riskini en aza indirdiğini göstermektedir (Zayed ve ark., 2021). Ayrıca antioksidan özelliği sebebiyle bağışıklık sistemini güçlendirerek kanserojen hücrelerle savaşan antikorlar ürettiği de bildirilmiştir (Javanmardi ve ark., 2003; Elangovan ve ark., 1994).

Zengin içerikler narenciye meyvelerinin yenilebilen kısımlarında olduğu kadar yenilmeyen, meyve kütesinin neredeyse yarısını oluşturan kabuklarında da mevcuttur. Kabuk, narenciye meyvelerinin neredeyse en yüksek flavonoid konsantrasyonlarını içerir (Anagnostopoulou ve ark., 2006). Ayrıca yenilemeyen kısım olan kabukta fenolik ve antioksidan aktivite içermektedir. Bu içerik antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar, antialerjik ve antitrombotik gibi çok çeşitli biyolojik etkiye sahiptir (Cook ve Samman, 1996).

Türkiye’de ve dünyada turunçgiller en çok üretilen ve tüketilen meyveler arasında yer almaktadır. USDA verilerine göre dünya çapında 2020 yılında yaklaşık 92 milyon ton narenciye üretilmiştir. Bu verilerin %59’unu portakal, %28’ini mandalina, %7’sini limon ve %6’sını greyfurt oluşturmaktadır (Çizelge 1.1). Bu veriler arasında en çok üretim miktarıyla dikkat çeken turunçgilin portakal olması meyve suyu sektöründe en çok kullanılan narenciye türü olmasından kaynaklanmaktadır. Türkiye’de 2000-2021 yılları arasında narenciye üretim miktarları Çizelge 2.’de verilmiştir.

**Çizelge 1.1** 2015-2020 yılları arasında dünyada turunçgillerin üretim miktarları (Ton) (Kaynak: USDA)

| Yıllar    | Portakal   | Mandalina  | Limon     | Greyfurt  | Toplam      |
|-----------|------------|------------|-----------|-----------|-------------|
| 2015/2016 | 47.060.000 | 28.738.000 | 7.050.000 | 6.376.000 | 89.224.000  |
| 2016/2017 | 53.813.000 | 30.183.000 | 7.744.000 | 6.562.000 | 98.302.000  |
| 2017/2018 | 48.223.000 | 30.138.000 | 7.961.000 | 6.620.000 | 92.952.000  |
| 2018/2019 | 53.844.000 | 31.996.000 | 8.525.000 | 6.795.000 | 101.160.000 |
| 2019/2020 | 46.062.000 | 31.568.000 | 7.550.000 | 6.699.000 | 91.879.000  |

**Çizelge 1.2** 2015-2020 Yılları Arasında Türkiye’de Turunçgiller Üretimi (Ton) (Kaynak: TÜİK-2022)

| YIL<br>ÜRÜN | 2000    | 2005    | 2010    | 2015      | 2020    | 2021    | ARTIŞ<br>ORANI (%) |
|-------------|---------|---------|---------|-----------|---------|---------|--------------------|
| Portakal    | 1070000 | 1445000 | 1710500 | 1816198   | 1333975 | 1742000 | 62,80              |
| Mandalina   | 560000  | 715000  | 858699  | 115636    | 1585629 | 1819000 | 224,82             |
| Limon       | 460000  | 600000  | 787063  | 750550    | 1188517 | 1550000 | 236,96             |
| Greyfurt    | 130000  | 150000  | 213768  | 250025123 | 238012  | 24900   | 91,54              |
| Toplam      | 2220000 | 2190000 | 3570030 | 397373222 | 4346133 | 5360000 | 141,44             |

**Açıklamalı [AÖ4]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ5]:** Dr.Havva Ateş'in önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ6]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ7]:** Dr. Havva Ateş'in önerisi ile

**Açıklamalı [AÖ8]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

Turunçgiller birçok sektörde kullanılmasına rağmen (meyve suyu, püre, dondurulmuş pulp (meyve özü), mayalanmış içecekler, jeller, şekerler, dondurma gibi) sektörel anlamda en fazla kullanıldığı yer meyve suyu işlemedir. Diğer kullanımları ile karşılaştırıldığında %50-60'ının meyve suyu işleme sektöründe kullanıldığı tahmin edilmektedir (Satari ve Karimi, 2018; Zema ve ark., 2018). Meyve suyu işleme tesisinde oluşan atıklar ise segment zarları, kabuklar (albedo, fledo), posa ve tohumlar şeklindedir (Suri ve ark., 2022; Zema ve ark., 2018). Sektörün atık oranlarına bakacak olursak portakal meyvesinin posaları kuru bazda %60 – 65 kabuk, %30 – 35 dilim, %0 – 10 çekirdek, zar, meyve suyu kesecikleri ve eksen parçalarından oluşmaktadır. Narenciye atıkları, değerli bileşenleri de içeren yüksek organik madde konsantrasyonuna ve düşük pH değerine sahiptir (Zema ve ark., 2018).

Meyve işleme sektöründe meydana gelen narenciye atıkları ciddi ekonomik ve çevresel sorunlara sebebiyet vermektedir. Narenciye atıkları günümüzde klasik yöntemlerle (yakma ve depolama) bertaraf edilmektedir. Ancak önemli çevresel etkiler ve yüksek maliyet gibi problemlere sebep olmaktadır (Satari ve Karimi, 2018). Çevresel etkilerine bakılacak olursa depolama yoluyla bertarafında yüksek organik madde ve fenolik bileşenlere sahip olması nedeniyle toprak mikro florasında toksisiteye neden olma ve su kütlelerinin kirlenmesine ve sucul ekosistemin zarar görmesine sebebiyet verebilir (Sharma ve ark., 2017). Ayrıca bileşenleri ayırır etmeden kullanılan bertaraf yöntemleri de mevcuttur. Bunlar hayvan yemi ve kompost yapımı gibi çeşitli uygulamalar olarak sıralanabilir (Fernández-López ve ark., 2005). Atık miktarını azaltmak ve çevre kirliliğini önlemek amacıyla atıktan değerli bileşenlerin geri kazanılması hem ekonomik hem de enerji ve çevresel olarak önemli bir sorunu çözüme ulaştıracaktır. Narenciye atıkları geri dönüştürülebilir birçok değerli bileşenler içermektedir. Bu bileşenlerin başlıcalarını fenoller, flavonoidler, antioksidan içerik ve pektin oluşturmaktadır.

**Açıklamalı [AÖ9]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ10]:** Dr. Havva Ateş'in önerisi ile

**Açıklamalı [AÖ11]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

### 1.1. Narenciye Anatomisi

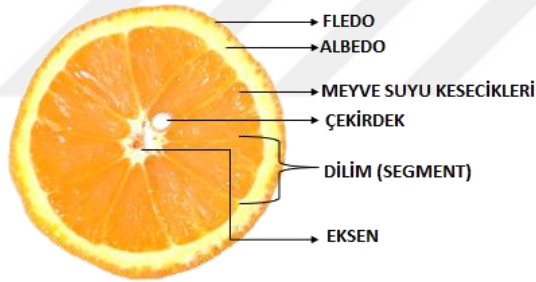
Turunçgillerin ana bileşenleri Şekil 1.1'de görüldüğü gibi; meyve suyu kesecikleri, flavedo (dış kabuk), albedo (flavedonun altındaki beyaz kısım), çekirdek, segment (dilim), segment membranlar (dilim zarları) gibi bölümlerden oluşmaktadır. Katmanlar daha ayrıntılı incelendiğinde içerdiği değerli bileşenler şu şekilde listelenebilir (Chavan ve ark., 2018):

Flavedo (dış renkli kısım): flavonoidler ve esansiyel yağ (naringin ve limonen), pigmentler (karatenoidler), fenoller

Albedo (flavedonun altındaki beyaz kısım): protein, diyet lifler, pektin, selüloz, neohesperidin

Öz kalıntısı (meyve suyu ekstraksiyonundan sonra kalır): sitrik asit, folik asit, amino asit, selüloz

Tohumlar: C vitamini, sterol, tokoferol, oleik asit, palmitik asit, limonoidler, eser mineraller.



Şekil 1.1 Narenciye Anatomisi

Narenciye atıklarında bulunan bileşenler şu şekilde sıralanabilir; şeker (16.9 g/ 100 g), selüloz (9.21 g/ 100 g) hemiselüloz (10.5 g / 100 g) ile çözümlü pektin (42.5 gr / 100 g) (Chavan ve ark., 2018). Kabuğun hücresel duvarı, çözümlü pektin, selüloz ve galakturonik asit, arabinoz ve galaktoz bakımından zengin hemiselülozlardan oluşur ve ayrıca eser miktarlarda ksiloz, ramnoz ve glikoz içerir . Ayrıca narenciye kabukları ekonomik bir değere sahip olan sektörel anlamda çoğu yerde kullanılan uçucu yağlara sahiptir.

**Açıklamalı [AÖ12]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ13]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ14R13]:** Dr.Havva Ateş'in önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ15]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ16R15]:** Dr.Havva Ateş'in önerisiyle

## 2.KAYNAK ARAŞTIRMASI

### 2.1. Ekstraksiyon Yöntemlerinin Araştırılması

Ekstraksiyon yöntemi olarak genellikle geleneksel olan buharla damıtma, hidro distilasyon veya bir soxhlet ekstraksiyon yöntemleri kullanılır. Ancak bu teknikler, molekülleri hidroliz, izomerizasyon ve oksidasyon reaksiyonları yoluyla geri dönüşü olmayan bir şekilde bozabilen yüksek sıcaklıklar gerektirir. Artan enerji fiyatları ve fosil yakıtlardan CO<sub>2</sub> emisyonlarını azaltma ihtiyacı nedeniyle, daha düşük enerji ihtiyacı gerektiren ve çevresel problemleri en aza indiren ekstraksiyon teknikleri kullanılarak narenciye geri dönüşümünde gereken deneylerin alt yapısı oluşturulabilir. Bu ekstraksiyon yöntemlerine Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu (SSE), Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon (MDE), Mikrodalga Hızlandırılmalı Damıtma (MHD), Mikrodalga Buharlı Distilasyon (MBD), Mikrodalga Hidro-Difüzyon ve Yerçekimi (MHY) ve Sonikasyon -Destekli Ekstraksiyon (SDE) gibi yöntemler örnek olarak gösterilebilir. (Negro ve ark., 2016). Çizelge 2.1'de bazı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak polifenollerin çıkarılması ve deneylerin hangi koşullarda gerçekleştirildikleri özetlenmiştir. Ekstraksiyon yöntemlerinde kullanılan analitik teknikte dikkat edilen parametreler genellikle sıcaklık, süre ve polar çözücülerin türü gibi hususlardır.

Çizelge 2.1 Polifenollerin bazı ekstraksiyon yöntemleriyle tespit edilen türleri

| Bitki bölümü  | Yöntem   | Tespit edilen bileşik   | Kaynak  |
|---|--|---|---|
| Tatlı portakal kabuğu<br>( <i>Citrus sinensis</i> ) | Soxhlet ekstraksiyonu  | Hesperidin, <b>TF</b>   | <a href="#">Anagnostopoulou ve ark.. (2006)</a> |
| Mandalina kabuğu ( <i>C. unshiu</i> Marc.)          | Ultrason destekli ekstraksiyon (BAE)                           | Narirutin, hesperidin   | <a href="#">Ma ve ark. (2008b)</a>              |
| Narenciye suları ve içecekler                       | Sıvı-sıvı ekstraksiyonu  | Eriodictyol, naringenin, hesperetin, eriocitrin, narirutin, hesperidin, neoeriocitrin, naringin, neohesperidin, didymin, poncirin | <a href="#">Di Donna ve ark. (2013)</a>         |
| Nane yaprakları<br>( <i>Mentha spicata</i> L.)      | Süper kritik karbondioksit (SK-CO <sub>2</sub> ) ekstraksiyonu | Naringenin  | <a href="#">Bimacr ve ark. (2011)</a>           |

**Açıklamalı [AÖ17]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ18]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ19]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

### 2.1.1. Süperkritik Karbondioksit (SK- CO<sub>2</sub>) Ekstraksiyonu

SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu, bitkilerdeki değerli yağların ve bazı organik bileşiklerin ekstraksiyonu için en uygun yöntemlerden biridir. Çünkü işlemin çalışma koşullarına bakıldığında kullanılan çözücünün kritik sıcaklığının ve kritik basıncının ekstraktın yapısını etkilememesi önemlidir. Çözücü olarak kullanılan CO<sub>2</sub> toksik değildir, ucuzdur, yanmaz ve kimyasal olarak kararlıdır. Çalışma koşulları sayesinde SK-CO<sub>2</sub>, daha yüksek bir kütle transferi ve ekstraksiyon hızına izin veren yüksek yayılma (gazlara benzer) ve yüksek çözücü gücü (sıvılara benzer) sergiler. Bu avantajlara ek olarak ise düşük çözücü tüketimi, kalıntı bırakmaması ve diğer yöntemlerle kıyaslandığında daha yüksek ekstraksiyon verimi olduğu söylenebilir (Mira ve ark., 1999; Atti-Santos ve ark., 2005).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu için en sık kullanılan çözücü CO<sub>2</sub>'dir, çünkü düşük bir kritik sıcaklığa (T<sub>c</sub>: 31,2°C) ve basınca (P<sub>c</sub>: 7.3 MPa) sahiptir. Avantajlarının yanında dezavantajları da bulunmaktadır. Bu açıdan bakıldığında geleneksel ekstraksiyon yöntemleri ile kıyaslandığında ilk yatırım maliyeti ve enerji gereksinimi yüksek bir tekniktir. Ek olarak, SK-CO<sub>2</sub>'in apolar yapıda olmasından dolayı, özellikle polar bileşenlerin ekstraksiyon uygulamalarında sınırlamalar getirebilmektedir. Bu dezavantajın üstesinden gelmek için, bazen, CO<sub>2</sub> ile etanol veya metanol gibi bir polar çözücü birlikte kullanılabilir (Yasumoto ve ark., 2015).

SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu kullanılarak farklı narenciye çeşitlerinde elde edilen bileşenler ve çalışma koşulları Çizelge 2.2'de özetlenmiştir.

**Açıklamalı [AÖ20]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ21]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ22]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ23]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

Çizelge 2.2 Narenciye atıklarında süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonunun kullanıldığı bazı çalışmalar

| Bitki türü                                | Tespit edilen polifenol                                       | Analitik teknik  | Sonuçlar  | Kaynak                       |
|---|---|--|---|------------------------------|
| Portakal kabuğu                           | TPC   | 15, 25, 35 MPa, 40, 50, 60°C, %90 etanol ile                                 | Yüksek basınçlarda %2 ile % 2,6 arasında değişen ekstraksiyon verimini elde edilmiştir                                | Espinosa-Pardo ve ark., 2017 |
| Yuzu meyvesi kabuğu                       | Uçucu yağlar  | 8.8-20 MPa, 40-80°C  | 8.8 MPa ve 60°C koşulunda monoterpen konsantrasyonun önemli ölçüde azalmıştır   | Terada ve ark., 2009         |
| <i>Citrus aurantium L.</i> kabuğu         | Fenoller, kuramin, osthole, izogeijerin, heksandekan, skualen | 130-210 bar, 30-70 dk, 2.1-3.3 kg.sa <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> akış hızı | Optimum şartlar: 170 bar, 120 dk ekstraksiyon süresi, 2,7 kg.sa <sup>-1</sup> CO <sub>2</sub> akış hızı               | Trabelsi ve ark., 2016       |
| Mandalina, limon ve greyfurt çekirdeği    | Esansiyel yağ asitleri  | 300 bar 40°C, 20 bar 15°C  | Narenciye tohumu SK-CO <sub>2</sub> ile ayrıştırıldığında yağlarının besin özellikleri ve biyolojik aktivitesi artmış | Rosa ve ark., 2019           |
| Bergamot ( <i>Citrus Bergamia Risso</i> ) | Linoleik (%32), oleik (%34) ve linolenik asit (%13)           | 30 °C-150 bar, 40 °C-150 bar, 50 °C- 150 bar ve 30 °C-250 bar                | SC-CO <sub>2</sub> ile ekstrakte edilen yağın solvent içermediğinden damıtma işlemi yapılmamıştır                     | Sicari ve Poiana , 2017      |
| Greyfurt                                  | Monoterpenler, pentan, seskiterpenler                         | 8-25 MPa ve 40°C-70°C  | Seskiterpenler miktarında artış gözlemlenirken hidrodistilatların miktarında azalma görülmüştür                       | Poiana ve ark., 1998         |
| Narenciye suları                          | Limonen oranının düşürülmesi                                  | 20-42 MPa ve 30-60°C, 91 dk  | 60. dk'da limonen eldesinde azalma görüldüğü tespit edilmiştir  | Kimball ve ark., 1987        |
| <i>Citrus paradisi L.</i> kabukları       | Naringin  | %15 etanol, 95 bar ve 58,6°C   | SK-CO <sub>2</sub> 'in klasik yöntemle göre daha az çözücü harcadığı ve kısa sürede gerçekleştiği belirtilmiştir      | Giannuzzo ve ark., 2003      |

**Açıklamalı [AÖ24]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ25]:** Dr. Havva Ateş'in önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ26]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ27]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

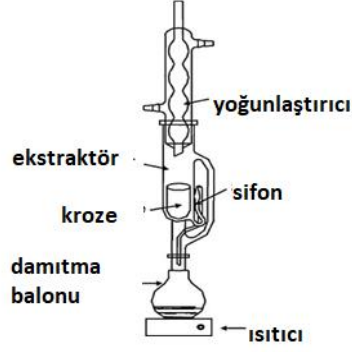
### 2.1.2. Soxhlet Ekstraksiyon

Soxhlet ekstraksiyon yöntemi diğer ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırıldığında kullanılan çözücü miktarının çok olması ve çevresel problemlere yol açması en büyük dezavantajını oluşturmaktadır. Ayrıca teknikte kullanılan çözücü seçeneği sınırlıdır (Luque de Castro ve García-Ayuso, 1998). Bu ekstraksiyon sisteminin avantajlarını ise şu şekilde sıralamak mümkün olabilir; soxhlet ekstraksiyon aparatı basittir (Şekil 2.1) ve az maliyetlidir. Ekstraksiyon sırasında çözücü sirkülasyonu sayesinde numunedeki değerli bileşenlerin yüksek verimle eldesi mümkündür. İşlem sonrasında filtrasyon gerektirmez.

**Açıklamalı [AÖ28]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ29]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ30]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle



Şekil 2.1. Soxhlet ekstraksiyon düzeneği

**Açıklamalı [AÖ31]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

### 2.1.3. Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Ultrasonik ekstraksiyon yöntemi çözücü ve çözünen arasındaki etkileşimin ses dalgaları vasıtasıyla artırılması prensibine dayanmaktadır. Ultrasonik dalgalar, hareketlerinden dolayı ortam içinde sıkıştırma ve genleşme döngüleri oluşturur. Genleşme döngüsü sırasında moleküller ayrılır ve enerjiyi emen ve boyutları çoğalmaya başlayan kabarcıklar oluştururlar, oysa sıkıştırma döngüsü sırasında moleküller bir araya gelirler, böylece mikro ölçekte basınç ve sıcaklık artışı nedeniyle oluşan kabarcıklar çöker (Rao ve Rathod, 2015). Böylelikle çözücünün numune matrisini ekstrakte etmesi hızlanır.

Ayrıca yapılan araştırmaların çoğunda, proteinlerin, lipitlerin, aromaların ve biyoaktif bileşiklerin ultrason destekli ekstraksiyon (UDE) kullanılarak başarıyla çıkarıldığı gösterilmiştir. Bu yöntemin ekstraksiyon sürecini hızlandırdığı ve toplam enerji tüketimini azalttığı için çevreye zarar vermeyen bir teknik olduğu kabul edilir. UDE, çıkarılan molekülü bozmadan, hızlı ve düşük ekstraksiyon sıcaklığı gerektiren kullanışlı bir yöntemdir. Kütle transferi, seçicilik, verim ve üretkenlik açısından üstünlükleri vardır (Tomke ve ark., 2017). Soxhlet ekstraksiyon yöntemiyle kıyaslandığında, UDE yönteminde daha kısa ekstraksiyon sürelerinde ve daha az miktarda çözücü kullanılarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilmektedir (Rathod ve ark., 2017). Narenciye kabuğunun kullanıldığı bir çalışmada; 80 W güç değerinde,

**Açıklamalı [AÖ32]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ33]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ34]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

ekstraksiyon sıcaklığı 60 °C ve ekstraksiyon süresi 20 dk iken d-limonen bileşiği başarılı bir şekilde ayrıştırılmıştır (Khandare ve ark., 2021).

Farklı endüstrilerde kullanıldıktan sonra atık olarak meydana gelen portakal suyu, portakal posası ve portakal kabuğu yan ürünlerini atık olarak bertaraf etmek yerine içerisinde bulunan değerli bileşenlerin çeşitli ekstraksiyon yöntemleriyle geri kazanımının sağlanmasıyla çeşitli sektörlerde geri dönüşümü sağlanır ve ticari gelir elde edilebilir. Bu değerli bileşenlerin SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ve diğer ekstraksiyon yöntemleri ile geri kazanımı konusunda yapılan literatür çalışmalarından bazıları aşağıda özetlenmiştir.

Khan ve ark. (2010) yaptığı çalışmada; portakal kabuğunda bulunan flavonon bileşiklerini UDE yöntemini kullanarak ekstrakte etmişlerdir. En iyi verimin 40 °C sıcaklık, 150 W güç ve 4:1 etanol/su oranlı değişken parametrelerinde olduğunu tespit etmişlerdir. UDE yöntemi ile elde ettikleri en yüksek toplam fenolik içerik 100 g KM için 70 mg naringin, 205 mg hesperidin, %11 ekstraksiyon iken; klasik ekstraksiyon sürecinde ise 51 mg naringin, 145 mg hesperidin ekstrakte edilmiş, %9 ekstraksiyon verimi kaydedilmiştir. Sonuç olarak ultrason destekli ekstraksiyonun klasik yöntemle göre 3 kat daha hızlı gerçekleştiğini vurgulamışlardır (Khan ve ark., 2010).

Yu ve ark. (2007), greylift çekirdeğinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon yöntemini kullanarak limonoid ve naringin elde etmek için optimum şartları ve yardımcı çözücü oranını belirlemişlerdir. Farklı basınç (35-48 MPa), sıcaklık (40-60 °C), ekstraksiyon süresi (20-60 dk), yardımcı çözücü oranı (%10-%30) ile yapılan çalışmada; en iyi limonoid veriminin (6,3 mg/g tohum) 48,3 MPa basınç, 50 °C sıcaklık, 60 dk ekstraksiyon süresi ve %30 yardımcı çözücü oranında olduğu, en iyi naringin veriminin ise (0,2 mg/g tohum) 41,4 MPa basınç, 50 °C sıcaklık, 40 dk ekstraksiyon süresi ve %20 yardımcı çözücü oranında olduğunu tespit etmişlerdir (Yu ve ark., 2007).

Başka bir çalışmada greylift meyvesinin taze ve kurutulmuş kabukları öğütülerek SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile flavonoid ve naringin bileşenleri ekstrakte edilmiş, ekstraksiyon verimi soxhlet ekstraksiyonu ile kıyaslanmıştır (Giannuzzo ve ark., 2003). SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon yöntemi ile naringin geri kazanımı 9,5 MPa, 55 °C, 45 dk işletme süresi ve %15 etanol oranında kuru ve taze kabuktan sırasıyla 14,4 g/kg ve 6,8 g/kg ile elde edilmiştir. Bu verim değerinin soxhlet ekstraksiyon yönteminde 8 saat işletme süresinde 15,2 g/kg olduğu rapor edilmiştir (Giannuzzo ve ark., 2003).

**Açıklamalı [AÖ35]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ36]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ37]:** Dr. Havva Ateş'in Önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ38]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ39]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ40]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ41]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ42]:** Dr.Havva Ateş'in önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ43]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ44]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ45]:** Dr.Havva Ateş'in önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ46]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle



Mira ve ark. (1996), SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonunu kullanarak esansiyel yağ elde etmişlerdir. Çalışmada değişken parametrelerin çalışma aralıkları 1-25 MPa basınç, 40-50 °C sıcaklık, 0,1-10 mm parça boyutu, 0,5-3,5 kg.h<sup>-1</sup> akış hızı olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak artan akış hızının ekstraksiyon verimini düşürdüğünü ve portakal kabuğu parça boyutu azaldıkça ekstraksiyon hızının arttığını gözlemlemişlerdir. Bu sebeple verimi artıran en iyi çalışma koşullarının 2 mm'den küçük partikül boyutlarında ve 2,5 kg.h<sup>-1</sup> akış hızında olduğunu ortaya koymuşlardır (Mira ve ark., 1996).

Trabelsi ve ark. (2016), SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon yöntemini kullanarak 130-210 bar basınç, 30-70 dk ekstraksiyon süresi ve 2,1-3,3 kg.h<sup>-1</sup> akış hızı şartlarında portakal kabuğunda bulunan değerli bileşenlerin geri kazanımını çalışmışlardır. GS-MS yöntemi kullanılarak portakal kabuğu ekstraktındaki yağ asidi, fenoller, kumarin türevleri, terpen türevleri, osthole, isogeijerin, ve skualen gibi değerli, bileşenlerin varlığını tespit etmişlerdir. Yazarlar en yüksek ekstrakt veriminin %47 ile 170 barda, 120 dk ekstraksiyon süresi ve 2,8 kg.h<sup>-1</sup> akış hızında gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

İki farklı narenciye türünün (sitron ve kan portakalı) Soxhlet yöntemi ile ekstraksiyonunun çalışıldığı bir çalışmada; hekzan, etanol, metanol, aseton ve %80 metanol:su olmak üzere 5 farklı çözücü kullanılmış ve ekstraktlardaki fenolik ve antioksidan aktivite içeriği araştırılmıştır (Jayaprakasha ve ark., 2007). Sitronun metanol ile ekstraksiyonunda %41, aseton ile yapılan ekstraksiyonunda ise %1,3 geri kazanım sağlandığı görülmüştür.

Benelli ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu, soxhlet ekstraksiyonu ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemlerini kullanarak portakal posası ekstraktlarının antioksidan kapasitelerini incelemiş ve sentetik bir antioksidan madde olan BHT (bütillenmiş hidroksitoluen) ile karşılaştırmışlardır. SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu çalışmaları 40 °C - 50 °C sıcaklık, 100 - 300 bar basınç %10 - %20 (w/w) etanol değerlerinde oluşturulan setlerle gerçekleştirilmiştir. En yüksek verim ise 50 °C, 250 bar, 5 saat ekstraksiyon süresi sonunda %8 etanol varlığında %3 olarak belirlenmiştir. SK-CO<sub>2</sub> sürecinde en yüksek fenolik madde içeriği 300 bar 40 °C ve 250 bar 50 °C işletme koşullarında sırasıyla %2 ve %5 w/w olarak belirlenmiştir. 250 bar/50°C'de (%2, %5 ve %8) yardımcı çözücü varlığında elde edilen ekstraktların, BHT'nin antioksidan potansiyeline istatistiksel olarak eşdeğer olduğu sonucuna varılmıştır. GC-MS sonuçlarına göre portakal küspesi yağının ana bileşenleri limonen, palmitik ve oleik asitler, n-butylbensulfonamid ve β-sitosterol olarak tanımlanmıştır. Ayrıca, diğer

**Açıklamalı [AÖ47]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ48]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ49]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ50]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ51]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ52]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ53]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ54]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ55]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

ekstraksiyon yöntemlerine (%0.02 - %30) kıyasla en yüksek ekstraksiyon verimi Soxhlet yöntemi (%1,1 - %40) ile elde edilmiştir (Benelli ve ark., 2010).

Rosa ve ark. (2019) mandalina, limon ve greyfurt çekirdeklerini SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon yönteminde 300 bar basınç ve 40 °C sıcaklıkta ekstrakte ederek yağ içeriğinin kimyasal bileşimi, antioksidan profili ve biyolojik/besinsel özelliklerini araştırmışlardır. Yazarlar narenciye çekirdeklerini yardımcı çözücü olarak n-hexan kullandıkları 60 °C ve 6 saat ekstraksiyon süreli Soxhlet ekstraksiyonu ile ekstrakte ederek sonuçları kıyaslamışlardır. SK-CO<sub>2</sub> ile elde edilen ekstraktlarda linoleik (%35–42), oleik (%22–28), palmitik (%21–25),  $\alpha$ -linolenik (%4–10) ve stearik (%4–7) yağ asitlerinin olduğu tespit edilmiştir (Rosa ve ark., 2019).

**Açıklamalı [AÖ56]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ57]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ58]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

Ekstraksiyon çalışmalarında portakal kabuğu kullanılmıştır. SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu için gerçekleştirilen deneylerde, süperkritik akışkan olarak %99,9 saflıkta CO<sub>2</sub>; soxhlet ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirilen deneylerde çözücü olarak etanol kullanılmıştır.

**Açıklamalı [AÖ59]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ60]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ61]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

#### 3.2. Yöntem

##### 3.2.1. Örneklerin hazırlanması

Deneylerde kullanılan narenciye kabukları 75°C'de etüvde 12 saat boyunca kurutuldu. Kurutulan kabuklar GRT-10BL laboratuvar tipi öğütücü değirmende öğütülerek toz haline getirildi. Hazırlanan örnekler kullanılabildiği kadar buzdolabında +4 °C'de saklandı.

##### 3.2.2. Ekstraksiyon Yöntemleri

Portakal kabuğu atıklarından ekstrakt çıkarabilmek için 3 farklı yöntem kullanılmıştır. Bu yöntemler ultrason destekli ekstraksiyon, SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ve klasik yöntem olan soxhlet ekstraksiyon yöntemidir. Kullanılan ekstraksiyon yöntemlerinde oluşan ekstrakt verimleri kıyaslanmıştır. Ekstraktlara toplam fenol ve antioksidan analizleri yapılmıştır.

**Açıklamalı [AÖ62]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ63]:** Dr.Havva Ateş'in önerisiyle

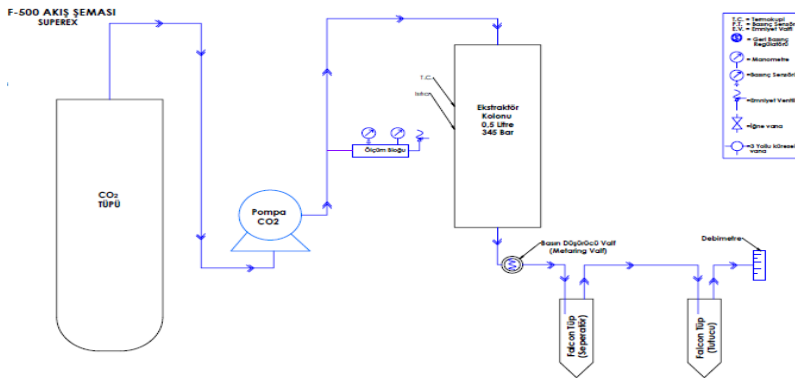
**Açıklamalı [AÖ64]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

##### 3.2.2.1.Süperkritik CO<sub>2</sub> Ekstraksiyonu

Portakal kabuğu atıklarının SK-CO<sub>2</sub> ile ekstraksiyonu için 500 mL ekstraktör kolonlu, sıcaklık ve basınç kontrollü katı ekstraksiyon sistemi kullanılmıştır (Superex F-500). Şekil 3.1'de teknik çizimi ve Şekil 3.2'de fotoğrafı verilen cihazda basınç 35 MPa, sıcaklık 70 °C'ye kadar ayarlanabilmektedir. Cihazın çalışma prensibi şu şekildedir; otomasyon sistemi kullanılarak çalışılmak istenen sıcaklık ve basınç değerleri ayarlandı. Numune (50 g) bir bez yardımıyla ekstraktöre yerleştirildi. CO<sub>2</sub> yüksek basınca dayanıklı ve sıcaklığı sabit tutan ekstraktöre yüksek basınç pompası yardımıyla beslendi. Cihaz istenilen sıcaklık ve basınca ulaştıktan sonra statik durumda

**Açıklamalı [AÖ65]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

20 dakika beklendikten sonra 100 dakika  $2 \pm 0.3$  mL/dk karbondioksit akış hızı ile dinamik duruma getirildi. Ekstraktör çıkışında basıncın düşürülmesi ile çözme gücünü kaybeden CO<sub>2</sub> ürünlerden kendiliğinden ayrıldı. Çözücüden ayrılan ürünler 50 mL falkon tüpü içerisinde toplandı. Darası alınmış falkon tüpü ekstrakt toplandıktan sonra tekrar tartıldı ve toplanan hacim ölçüldü.



Şekil 3.1 Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon cihazının akış şeması



Şekil 3.2 Deneilerde kullanılan süperkritik karbondioksit ekstraksiyon cihazının fotoğrafı

Deney şartlarının tasarımı ve sonuçların ANOVA testleri Minitab 18 programı ile gerçekleştirildi. Deney planlamasında tepki yüzeyi metodolojisi (RSM) kullanılarak basınç ve sıcaklık bağımsız değişkenlerinin; toplam fenolik madde (TFM), toplam flavonoid (TFv) ve antioksidan aktivitelerinden (ABTS ve DPPH) oluşan bağımlı değişkenler üzerindeki etkisini değerlendirebilmek için merkezi kompozit tasarım yöntemi kullanılmıştır. Deneysel çalışma aralıkları Çizelge 3.1’de özetlenmiştir. Çizelge 3.2’de SK- CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu deney tasarımında belirlenen çalışma koşulları verilmiştir.

**Çizelge 3.1** SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonunda kullanılan bağımsız değişkenler ve çalışma aralıkları

| Değişken      | Çalışma şartları |          |           |
|---------------|------------------|----------|-----------|
|               | En Düşük         | Ortalama | En Yüksek |
| Basınç (bar)  | 85               | 200      | 315       |
| Sıcaklık (°C) | 38,5             | 50       | 61,5      |

**Çizelge 3.2** Portakal kabuğu numunelerinin SK-CO<sub>2</sub> ile ekstraksiyonunda kullanılan deney koşulları

| Çalışma koşulları |              |          | Deney hakkında                 |
|-------------------|--------------|----------|--------------------------------|
| Sıcaklık (°C)     | Basınç (bar) | Süre (h) |                                |
| 50                | 200          | 2        | 20 dk statik<br>100 dk dinamik |
| 40                | 100          | 2        |                                |
| 40                | 100          | 2        |                                |
| 50                | 200          | 2        |                                |
| 50                | 200          | 2        |                                |
| 50                | 315          | 2        |                                |
| 50                | 85           | 2        |                                |
| 50                | 200          | 2        |                                |
| 60                | 300          | 2        |                                |
| 60                | 100          | 2        |                                |
| 61,5              | 200          | 2        |                                |

### 3.2.2.2. Ultrason Destekli Ekstraksiyon

Ultrason destekli ekstraksiyon Kudos marka, 53 kHz yüksek frekansa sahip ultrasonik banyoda gerçekleştirilmiştir. Çalışmada 75 °C'de kurutulmuş ve öğütülmüş portakal kabuğu numunesinden 10 g alınarak üzerine, metanol:su oranı sırasıyla %50, %80 ve %100 olan 10 mL çözücü karışımı ilave edilmiştir. Kullanılan cihaz (Şekil 3.3) ile 53 kHz frekansta, 100 W güçte, 20-26 °C arasında sıcaklıklarda ve 120 dk boyunca ekstraksiyon işlemini gerçekleştirmiştir. Elde edilen ekstraktlara TFM, TFv, ABTS ve DPPH analizleri yapılmıştır.



Şekil 3.3 UDE deneylerinde kullanılan ultrasonik banyo

### 3.2.2.3. Soxhlet Ekstraksiyonu

Soxhlet ekstraksiyonu için organik çözücü olarak etanol kullanıldı. Ekstraksiyon kartuşlarına 10 g öğütülmüş portakal kabuğu numunesi konuldu. Etanol/su oranları %50, %80 ve %100 olarak belirlendi. Boş tartımı alınan 200 ml'lik düz tabanlı balon jöjelere 100 ml etanol çözeltisi alınarak düzeneğe yerleştirildi. Soxhlet ekstraksiyon düzeneği EM1201 (118 cm x 90 cm x 75 cm / 100 W / 1750 m<sup>3</sup>/saat) marka çeker ocak altında, ısıtıcı üzerinde 2 saat süre ile çalıştırıldı. Ekstraksiyon süresinin sonunda balonda toplanan çözelti 65 °C'de çeker ocak altında Buchi R 100 marka döner buharlaştırıcı (rotary evaporatör) kullanılarak uçuruldu. Bu işlemin sonunda elde edilen ekstrakt miktarı gravimetrik olarak hesaplandı.

Açıklamalı [AÖ66]: Prof.Dr. Mustafa Karataş'ın önerisiyle



Şekil 3.4 Portakal kabuğu numunelerinin ekstraksiyonunda kullanılan soxhlet düzeneği

### 3.2.3. Toplam Fenolik Madde (TFM) ve Antioksidan Aktivite Analizleri

#### 3.2.3.1. TFM analizi

Bir gün önceden %20'lik (w/v) doymuş sodyum karbonat hazırlanarak buz dolabında saklandı. Folin kimyasalı sıvı formda temin edilerek amber şişelerde buz dolabında saklandı. Seyreltmeler içinse 1:4 oranında metanol/su çözeltisi hazırlandı. Ekstraktlara yapılan TFM analizleri, Singleton & Rossi (1965)'nin kullandığı Folin-Ciocalteu reaktif yöntemi kullanılarak belirlendi (Singleton ve ark., 1999).

#### Kalibrasyon deneyleri

50 mL galilik asit (GA) 25 mL suda çözülerek 2000 mg/L konsantrasyonunda stok çözelti oluşturuldu. Stok 1/100 oranında seyreltilerek 20 mg/L'lik ara stok oluşturuldu. Toplam hacim 2 mL olacak şekilde ara stoktan alınarak 0,25-15 mg GA/L konsantrasyonuna sahip 6-9 adet çözelti oluşturuldu. Saf su şahit olarak kullanıldı. 15 mL balon jöjelere stoklardan metanol/su karışımı ile 1600 µL'ye tamamlandı ve karıştırıldı. Üzerlerine 100 µL folin çözeltisi eklendi ve 5 dk beklendi. Daha sonra 300 µL sodyum karbonat ilave edilerek karıştırıldı ve karanlıkta etüv de 45 °C'de 30 dk bekletildi. Süre sonunda çözeltiler falkon tüplerine koyularak 5 dk 4000 rpm'de santrifüjlendi. Hazırlanan çözeltiler spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda okundu.

**Açıklamalı [AÖ67]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ68]:** Prof.Dr.Mustafa Karakaş'ın önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ69]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun önerisi ile

**Açıklamalı [AÖ70]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ71R70]:** Dr.Havva Ateş'in önerisiyle

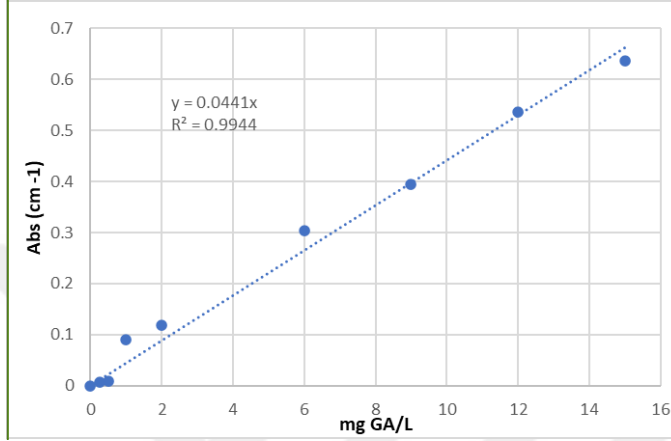
**Açıklamalı [AÖ72]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ73]:** Prof.Dr. Mustafa Karakaş'ın önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ74]:** Prof.Dr. Mustafa Karakaş'ın önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ75]:** Dr. Havva Ateş'in önerisiyle

Numunelerin TFM konsantrasyonları Şekil 3.4'deki kalibrasyon grafiği kullanılarak mg GA/L cinsinden hesaplandı.



Şekil 3.4 Gallik asit kalibrasyon grafiği

### Numunelerde TFM analizi

Numune veya seyreltilmiş numuneden 15 mL'lik balon jodelere 20 µL alınarak üzerine 1580 µL metanol/su karışımı eklendi, şahit içinse 1600 µL metanol/su çözeltisinden alındı. Üzerlerine 100 µL folin kimyasalı koyuldu ve 5 dk beklendi. Daha sonra 300 µL sodyum karbonat ilave edilerek karıştırıldı. Balon jodelerin ağızları kapatıldı ve etüvde 45 °C'de 30 dk renk değişimi beklendi, bekleme süresinin sonunda numaralandırılmış 2mL'lik falkon tüplerine aktarılan numuneler 5 dk 4000 rpm'de santrifüjlendi. Son olarak Hach Lange DR-5000 marka spektrofotometre kullanılarak 765 nm dalga boyunda absorbans değerleri okundu. Tez çalışması kapsamında yapılan fenol analizlerinin görseline Şekil 3.5'de yer verilmiştir.

**Açıklamalı [MEA76]:** Grafiğin tepesindeki "kalibrasyon" ifadesi silinmeli, X eksenine: mg GA/L, Y eksenine: absorbans (cm<sup>-1</sup>) yazılmalı

**Açıklamalı [AÖ77R76]:** +

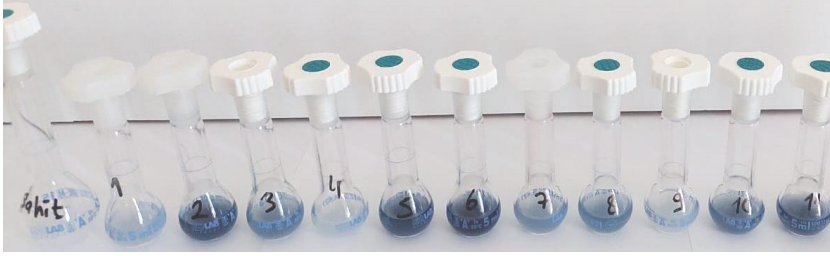
**Açıklamalı [AÖ78]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ79]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ80]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ81R80]:** Dr.Havva Ateş'in önerisiyle





Şekil 3.5 Portakal kabuğundan elde edilen ekstraktlara yapılan TFM analizinde renk gelişimi

#### **Katı örneklerde serbest TFM analizi**

1 g örnek üzerine 10 mL metanol/su (%60-80) ilave edilerek ultrason destekli ekstraksiyon cihazında 2 saat ekstrakte edildi. Örneklerin üzerindeki sıvı fazdan 1 mL alınarak TFM analizi yapıldı.

#### **Katı örneklerde bağlı TFM analizi**

Serbest fenol analizi yapılmış örnek kalıntısı 50 mL 2 M sodyum hidroksit ile önce 30 dk, 95 °C'de; sonra 1 saat, 25 °C'de parçalandı. Daha sonra HCl kullanılarak pH<2 olarak ayarlandı. Sıvı faza TFM analizi uygulandı.

**Açıklamalı [AÖ82]:** Prof.Dr. Mustafa Karataş'ın önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ83]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

#### **3.2.2.2. Toplam flavanoid analizi**

##### **Çözeltilerin hazırlanması**

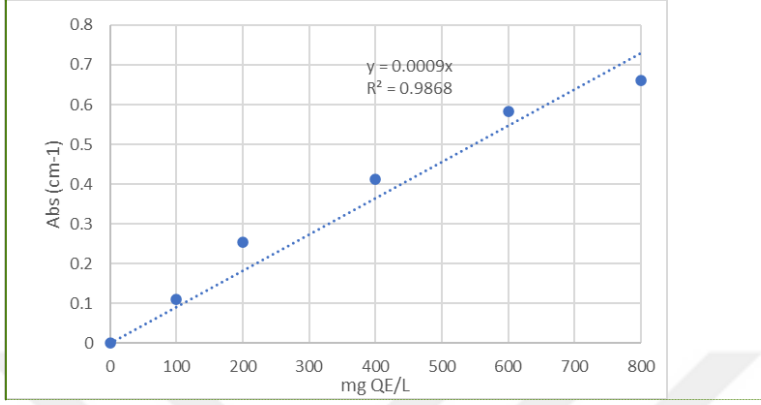
Analiz için 3 farklı çözelti hazırlanarak oda şartlarında saklandı.

- Çeker ocak altında 10 gr  $AlCl_3$  tartılarak 100 mL balon jojeye eklendi. Üzerine 100 mL saf su koyularak karıştırıldı.
- 100mL'lik balon jojeye 5 gr  $NaNO_2$  tartılarak eklendi. Üzerine 100 mL safsu koyularak %5'lik  $NaNO_2$  sulu çözeltisi hazırlandı.
- 1 M NaOH sulu çözeltisi hazırlandı.

Kalibrasyon eğrisi oluşturulurken 100-800  $\mu L/2$  mL aralığında 5 farklı konsantrasyonda kuarsetin kullanıldı. Çizelge 3.3'de verilen prosedür doğrultusunda analiz yapıldı ve Şekil 3.6'da verilen kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. |

**Açıklamalı [AÖ84]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [MEA85]:** Grafiğin tepesindeki "kalibrasyon" ifadesi silinmeli



Şekil 3.6 Toplam flavonoid analizi için kullanılan kuersetin kalibrasyon grafiği

### Numunelerde TFv analizi

Tez çalışması kapsamında yapılan TFv analizinde aşağıdaki prosedür uygulanmıştır (Zhishen ve ark., 1999);

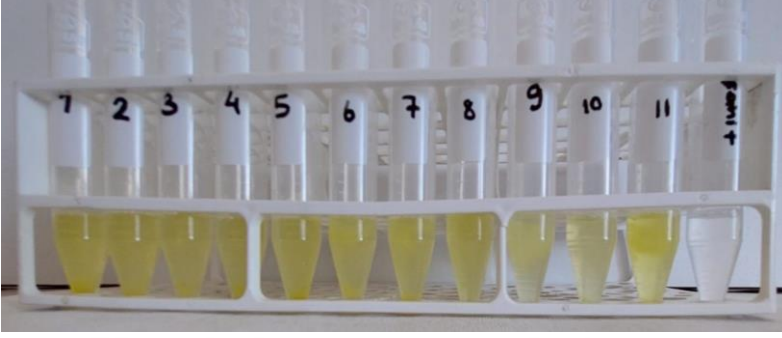
Numunelerden 250 µL, şahit için ise etanolden 250 µL alınarak 15 mL falkon tüplerine konuldu. Üzerine 1250 µL saf su eklendi. Karışımın üzerine 75 µL %5'lik NaNO<sub>2</sub> çözeltisinden eklenerek karıştırıldı ve 6 dk beklendi. Bekleme süresi sonunda 150 µL %10'luk AlCl<sub>3</sub> çözeltisinden eklenerek karıştırıldı ve 5 dk beklendi. Son olarak 500 µL 1 M NaOH çözeltisi eklendi ve 275 µL saf su ile toplam hacim 2500 µL'ye tamamlandı. Hazırlanan numunelerde açık portakal turuncu renk gözlemlendi. Hazırlanan numunelerin absorpsanları spektrofotometrede 510 nm dalga boyunda okunarak not edildi. Ektraktlara yapılan flavonoid analizine ait görsel Şekil 3.7'de verilmiştir.

Açıklamalı [AÖ86R85]: +

Açıklamalı [AÖ87]: Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

Açıklamalı [AÖ88]: Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

Açıklamalı [AÖ89]: Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

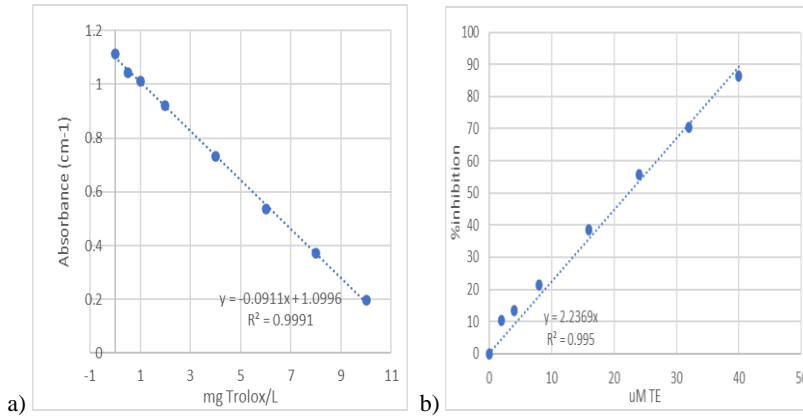


Şekil 3.7 Portakal kabuğundan elde edilen ekstraktlara yapılan TFV analizinde renk gelişimi

### 3.2.2.3. DPPH radikali yakalama aktivitesi analizi

#### Kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

DPPH katı formda temin edilmiş ve 40 mg/L konsantrasyonunda stok çözeltisi oluşturulmuştur. Çözelti amber şişe içerisinde, kullanıma kadar laboratuvar tipi buzdolabında muhafaza edilmiştir. Trolox kimyasalından Çizelge 3.3'de yer alan oranlarda hazırlanarak spektrofotometrede 517 nm dalga boyunda absorbansları okutuldu ve Şekil 3.7'de verilen kalibrasyon grafiği oluşturuldu. Numunelere yapılan DPPH analizleri kalibrasyon grafiği kullanılarak  $\mu\text{M TE}$  olarak ifade edilmiştir.



Şekil 3.8 DPPH analizi için kullanılan kalibrasyon grafiği; a) mg trolox/L biriminde kalibrasyon grafiği, b)  $\mu\text{M TE}$  biriminde kalibrasyon grafiği

**Açıklamalı [AÖ90]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ91]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ92]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ93]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ94]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ95]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ96]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Çizelge 3.3** DPPH için kalibrasyon grafiği oluştururken izlenen deneysel aşamalar

|       | Trolox (mg/L) | Eklenen Trolox ( $\mu\text{L}/2\text{ mL}$ ) | Eklenen metanol, $\mu\text{L}$ | Eklenen metanolik DPPH | Bekleme süresi | Toplam hacim | Santrifüj |
|-------|---------------|--|--------------------------------|------------------------|----------------|--------------|-----------|
| Şahit | 0             | -  | 100 $\mu\text{L}$              | 1900 $\mu\text{L}$     | 30 dk          | 2 mL         | 3dk       |
| 1     | 0.5           | 5 $\mu\text{L}$                              | 95 $\mu\text{L}$               | 1900 $\mu\text{L}$     | 30 dk          | 2 mL         |           |
| 2     | 1             | 10 $\mu\text{L}$                             | 90 $\mu\text{L}$               | 1900 $\mu\text{L}$     | 30 dk          | 2 mL         |           |
| 3     | 2             | 20 $\mu\text{L}$                             | 80 $\mu\text{L}$               | 1900 $\mu\text{L}$     | 30 dk          | 2 mL         |           |
| 4     | 4             | 40 $\mu\text{L}$                             | 60 $\mu\text{L}$               | 1900 $\mu\text{L}$     | 30 dk          | 2 mL         |           |
| 5     | 6             | 60 $\mu\text{L}$                             | 40 $\mu\text{L}$               | 1900 $\mu\text{L}$     | 30 dk          | 2 mL         |           |
| 6     | 8             | 80 $\mu\text{L}$                             | 20 $\mu\text{L}$               | 1900 $\mu\text{L}$     | 30 dk          | 2 mL         |           |
| 7     | 10            | 100 $\mu\text{L}$                            | $\mu\text{L}$                  | 1900 $\mu\text{L}$     | 30 dk          | 2 mL         |           |

#### Numunelerin analizi

2000  $\mu\text{L}$  hacimli falkon tüplerine DPPH çözeltisinden 1900  $\mu\text{L}$  alındı ve üzerine 100  $\mu\text{L}$  numune eklenerek tüplerin kapakları kapatıldı ve çalkalandı. Hazırlanan numuneler 30 dk karanlıkta bekletildi. Süre bitiminde spektrofotometre 517 nm dalga boyuna ayarlanarak saf su ile sıfırlandı ve numunelerin absorbans okumaları yapıldı. Bekleme süresi sonunda numunelerde mor renk gözlemlendi. Ekstraktlara uygulanan DPPH analizi görseline Şekil. 3.9’de yer verilmiştir.



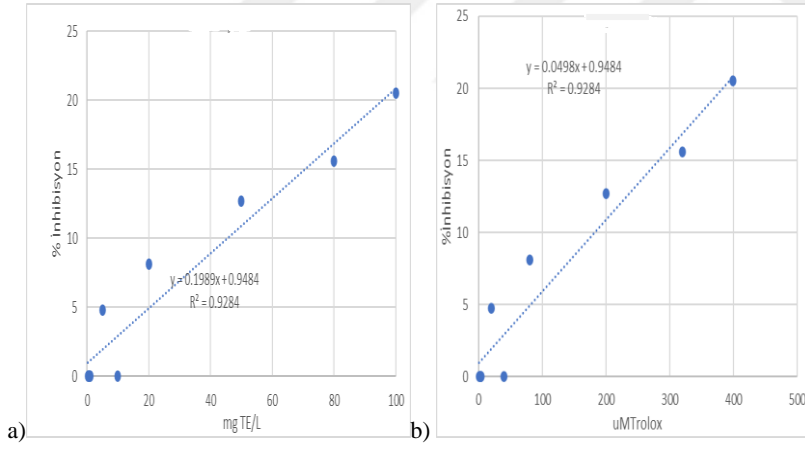
**Şekil. 3.9** Portakal kabuğundan elde edilen ekstraktlara yapılan DPPH antioksidan aktivite analizinde renk gelişimi

### 3.2.2.4. ABTS antioksidan aktivite analizi

#### Kalibrasyon grafiğinin hazırlanması

Bir beherde, sigma marka 2,2' Azino-bis diammonium salt (ABTS)'dan 36 mg alınarak üzerine 10 mL saf su eklendi ve karıştırıldı. Farklı bir beherde 66,2 mg potasyum persülfat 100 mL saf su içinde çözüldü. 1:0,5 oranında iki çözelti karıştırılarak stok çözelti hazırlandı. Analizlerde kullanılmak amacıyla stok çözelti 734 nm dalga boyunda 0,70 absorbansa kadar etanol ile seyreltildi. Çözelti kullanılabilecek kadar amber şişede, laboratuvar tipi soğutucuda muhafaza edildi.

Kalibrasyon grafiği Çizelge 3.4'te belirtildiği gibi 0,5-10 mg/L aralığında hazırlanan standart trolox çözeltileri kullanılarak 734 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbansları okunarak hazırlanmıştır. Sonuçlar µM TE olarak ifade edilmiştir. Numunelerin antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla hazırlanan kalibrasyon grafiği Şekil 3.10'da verilmiştir.



Şekil 3.10 ABTS analizi için kullanılan kalibrasyon grafiği; a) mg TE/L biriminde oluşturulan kalibrasyon grafiği, b) µM TE biriminde oluşturulan kalibrasyon grafiği

**Çizelge 3.4** ABTS cinsinden antioksidan aktivitesi ölçümü için kalibrasyon grafiği oluşturulurken izlenen deneysel aşamalar

|       | Trolox konsantrasyon (mg/L) | Eklene Trolox ( $\mu\text{L}/2\text{ mL}$ ) | Eklene etanol ( $\mu\text{L}$ ) | Eklene metanolik ABTS | Kalibrasyon için stoktan alınan | Bekleme süresi |
|-------|-----------------------------|---|---------------------------------|-----------------------|---------------------------------|----------------|
| Şahit | 0                           | -   | -                               | 1000 $\mu\text{L}$    |                                 | 6 dk           |
| 1     | 1                           | 20 $\mu\text{L}$                            | 1980 $\mu\text{L}$              | 1000 $\mu\text{L}$    | 10 $\mu\text{L}$                | 6 dk           |
| 2     | 5                           | 100 $\mu\text{L}$                           | 1900 $\mu\text{L}$              | 1000 $\mu\text{L}$    | 10 $\mu\text{L}$                | 6 dk           |
| 3     | 10                          | 200 $\mu\text{L}$                           | 1800 $\mu\text{L}$              | 1000 $\mu\text{L}$    | 10 $\mu\text{L}$                | 6 dk           |
| 4     | 20                          | 400 $\mu\text{L}$                           | 1600 $\mu\text{L}$              | 1000 $\mu\text{L}$    | 10 $\mu\text{L}$                | 6 dk           |
| 5     | 50                          | 1000 $\mu\text{L}$                          | 1000 $\mu\text{L}$              | 1000 $\mu\text{L}$    | 10 $\mu\text{L}$                | 6 dk           |
| 6     | 80                          | 1600 $\mu\text{L}$                          | 400 $\mu\text{L}$               | 1000 $\mu\text{L}$    | 10 $\mu\text{L}$                | 6 dk           |
| 7     | 100                         | 2000 $\mu\text{L}$                          | $\mu\text{l}$                   | 1000 $\mu\text{L}$    | 10 $\mu\text{L}$                | 6 dk           |

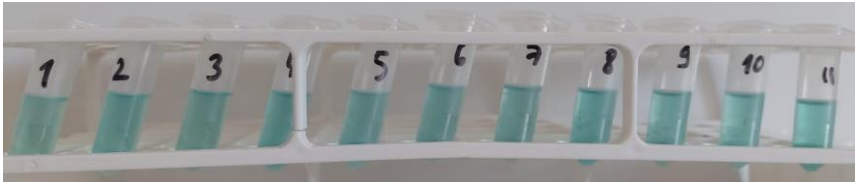
### Numunelerde ABTS cinsinden antioksidan aktivitesi analizi

Şekil. 3.10'da görüldüğü gibi 2000  $\mu\text{L}$ 'lik falkon tüplerine ABTS çözeltisinden 1000  $\mu\text{L}$  alınarak üzerine 10  $\mu\text{L}$  numuneden eklendi. Falkon tüplerinin kapakları kapatılarak vorteks ile karıştırıldı ve 6 dk beklendi. Bekleme süresinin sonunda spektrofotometre 734 nm dalga boyuna ayarlandı ve safsu ile sıfırlandı. Numunelerin absorbanları sırasıyla okutuldu. Bekleme süresi boyunca numunelerde mavi-yeşil renk gözlemlendi.

**Açıklamalı [AÖ97]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ98]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ99]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle



**Şekil 3.10** Portakal kabuğundan elde edilen ekstraktlara yapılan ABTS antioksidan aktivite analizinde renk gelişimi

### 3.2.4 Pektin eldesi

Çalışmada kurutulmuş portakal kabuğu numunesi ve SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonundan sonra kalan portakal kabuğu numunelerinden pektin elde edilerek kıyaslanmıştır. Deneysel çalışmalar Yapo ve ark. tarafından belirlenen analiz yöntemine göre yapılmıştır (Yapo ve ark., 2007).

**Çizelge 3.5** Portakal kabuğundan pektin geri kazanımı için kullanılan deneysel şartlar

| Numune Türü   | Sıcaklık (°C) | pH  | Süre (sa) | Numune miktarı (g) | Elde edilen pektin miktarı (g) |
|---|---------------|-----|-----------|--------------------|--------------------------------|
| Kurutulmuş portakal kabuğu                              | 80            | 1,5 | 1         | 2                  | 2,594                          |
| SK-CO <sub>2</sub> ekstraksiyon sonrası portakal kabuğu | 80            | 1,5 | 1         | 3                  | 3,256                          |

Numuneler 1:29 (w/v) oranında 6 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> içerisinde Çizelge 3.5'teki şartlarda 250 rpm de karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi sonunda oda sıcaklığında soğumaya bırakılmıştır. Soğuyan numuneler 20 dk santrifüjlenmiştir. Santrifüj işleminden sonra numuneler çift bez kullanılarak süzümüştür. Süzüntülerin pH'ları ölçülmüştür. pH'ı ölçülen süzüntülere 0,2 M K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> eklenerek pH'ları 3,5'a ayarlanmıştır. Her bir özütün hacmi ölçüldükten sonra 4 ml %96'lık etanol içerisinde oda şartlarında 1 saat bekletilmiştir. Pektin jeli iki kez %96 etanol ile yıkanmıştır (jel-çözücü oranı; 1:1, w/w). Evaporatör aracılığıyla etanol uzaklaştırılmıştır. Kalıntılardan kimyasal ikamesinin uzaklaştırılmasına emin olmak için 100 ml saf su ile yıkanmıştır. Oda şartlarında 48 saat kurutularak nem uzaklaştırılması için 1 saat desikatörde bekletilmiştir. Verim değerlendirmesi yapabilmek için kalıntıların son tartımı alınmıştır. Deneysel çalışmasından elde edilen pektin geri kazanım verimi Eşitlik 1'e göre hesaplanmıştır (Hosseini ve ark., 2016). Şekil 3.12'de elde edilen pektin görsellerine yer verilmiştir.

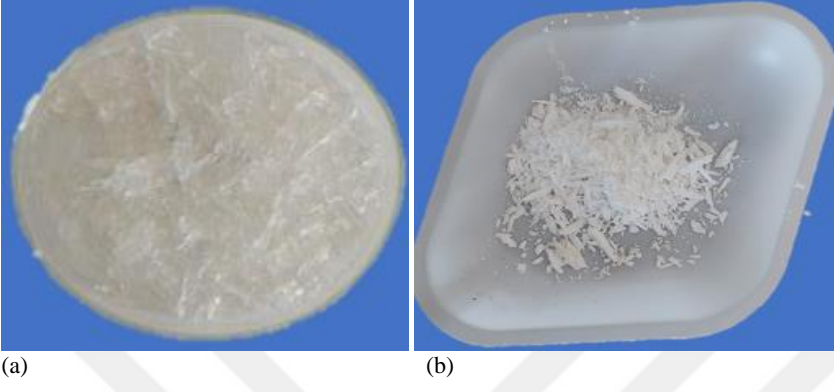
**Açıklamalı [AÖ100]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ101]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisi ile

**Açıklamalı [AÖ102]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisi ile

$$\text{Pektin verimi (\%)} = (m_P * 100) / m_N \quad (1)$$

Burada; m<sub>P</sub> (g): kurutulmuş saf petin ağırlığı, m<sub>N</sub> (g): ilk öğütülmüş numune ağırlığını ifade etmektedir.



(a)

(b)

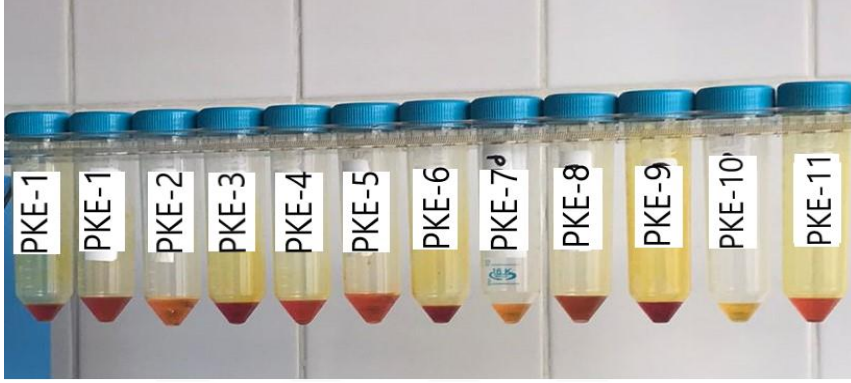
**Şekil 3.12** Elde edilen pektinin yıkanmadan önce (a) ve saf su ile yıkandıktan sonraki görüntüsü (b)



#### 4.ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

##### 4.1. SK-CO<sub>2</sub> Ekstraksiyonu ile Geri Kazanım Çalışmaları

Portakal kabuğu numunelerinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile farklı sıcaklık (40-61,5 °C) ve basınç (85-315 bar) değerlerinde elde edilen ekstraktların görüntüsü Şekil 4.1'de verilmiştir. Ayrıca elde edilen ekstrakt kütlesi (g), ekstrakt hacmi (ml) ve deney boyunca harcanan CO<sub>2</sub> miktarı bilgileri Çizelge 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1 SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen portakal kabuğu ekstraktları

Çizelge 4.1 Portakal kabuğu numunelerinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon ile elde edilen ekstrakt kütlesi, hacmi ve harcanan CO<sub>2</sub> miktarı

| Deney Kodu | Ekstrakt kütlesi(g) | Ekstrakt hacmi (mL) | Harcanan CO <sub>2</sub> (kg) |
|------------|---------------------|---------------------|-------------------------------|
| PKE-1      | 1,5186              | 3                   | 0,5                           |
| PKE-2      | 2,5232              | 4                   | 0,4                           |
| PKE-3      | 1,7446              | 3                   | 0,4                           |
| PKE-4      | 1,7056              | 3                   | 0,5                           |
| PKE-5      | 2,2603              | 4                   | 0,5                           |
| PKE-6      | 1,4655              | 3                   | 0,6                           |
| PKE-7      | 1,0870              | 2                   | 0,3                           |
| PKE-8      | 2,1364              | 3,5                 | 0,5                           |
| PKE-9      | 1,8478              | 3                   | 0,6                           |
| PKE-10     | 1,4542              | 2                   | 0,4                           |
| PKE-11     | 2,5560              | 4                   | 0,5                           |

#### 4.1.1.Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Bağımsız değişkenler ile sonuçlar arasındaki istatistiksel ilişkinin önemi ve anlamlılığı ANOVA sonuçlarına göre değerlendirilmiştir (Çizelge 4.2). Elde edilen istatistiksel model %95 güven aralığında analiz edilmiştir. Buna göre; hacimsel geri kazanım verimi (R-1) için  $p=0,055$ , kütleli geri kazanım verimi (R-2) için  $p=0,072$ , TFM verimi (R-3) için  $p=0,002$ , DPPH (R-4) için  $p=0,055$ , ABTS (R-5) için  $p=0,101$ , TFv verimi (R-6) için  $p=0,169$  olarak hesaplanmıştır. ANOVA testine göre elde edilen model ile R-1, R-3 ve R-4 sonuçları için istatistiksel ilişki önemli bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bunun aksine R-2, R-5 ve R-6 için istatistiksel olarak model anlamsızdır.

Şekil 4.4-4.7'de de görüldüğü üzere TFM için ise orta nokta basınç (20 MPa) ve düşük sıcaklıkta (38,5<sup>0</sup>C); ABTS için yüksek basınç (30 MPa), yüksek sıcaklık (61,5); DPPH için orta nokta basınç (20 MPa) ve orta nokta sıcaklık (50 <sup>0</sup>C); TFv için orta nokta basınç (20 MPa) ve düşük sıcaklık (38,5 <sup>0</sup>C) şartlarında verim değerlerinin arttığı tespit edilmiştir.

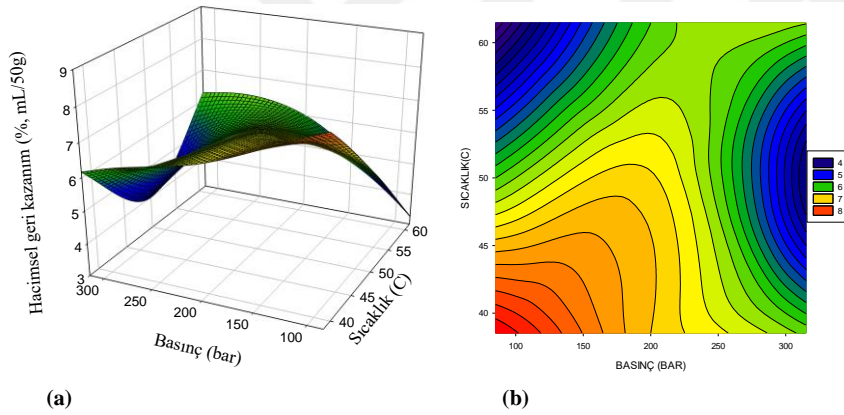
Çizelge 4.2 Minitab yazılımı kullanılarak tahmin edilen model için ANOVA sonuçları

|     | MODEL |       | A: basınç |       | B: sıcaklık |       | A <sup>2</sup> |       | B <sup>2</sup> |        | A*B   |       | Lack of fit |       | R <sup>2</sup> |
|-----|-------|-------|-----------|-------|-------------|-------|----------------|-------|----------------|--------|-------|-------|-------------|-------|----------------|
|     | F     | p     | F         | p     | F           | p     | F              | p     | F              | p      | F     | p     | F           | p     |                |
| R-1 | 4,80  | 0,055 | 7,70      | 0,039 | 1,54        | 0,270 | 0,09           | 0,777 | 6,98           | 0,096  | 7,72  | 0,039 | 9,70        | 0,095 | 82,77          |
| R-2 | 4,14  | 0,072 | 4,73      | 0,082 | 0,01        | 0,946 | 0,77           | 0,421 | 10,60          | 0,023  | 4,59  | 0,085 | 31,81       | 0,031 | 80,56          |
| R-3 | 20,54 | 0,002 | 1,86      | 0,230 | 13,60       | 0,014 | 63,15          | 0,001 | 12,75          | 0,0016 | 11,10 | 0,021 | 2,38        | 0,310 | 95,36          |
| R-4 | 4,79  | 0,055 | 2,45      | 0,178 | 1,73        | 0,246 | 2,33           | 0,187 | 12,77          | 0,016  | 4,73  | 0,082 | 3,09        | 0,254 | 82,74          |
| R-5 | 3,44  | 0,101 | 0,12      | 0,745 | 10,98       | 0,021 | 2,19           | 0,199 | 3,84           | 0,107  | 0,11  | 0,758 | 0,68        | 0,640 | 77,48          |
| R-6 | 2,50  | 0,169 | 4,16      | 0,097 | 0,33        | 0,593 | 0,00           | 0,990 | 5,03           | 0,097  | 2,98  | 0,145 | 9,30        | 0,099 | 71,42          |

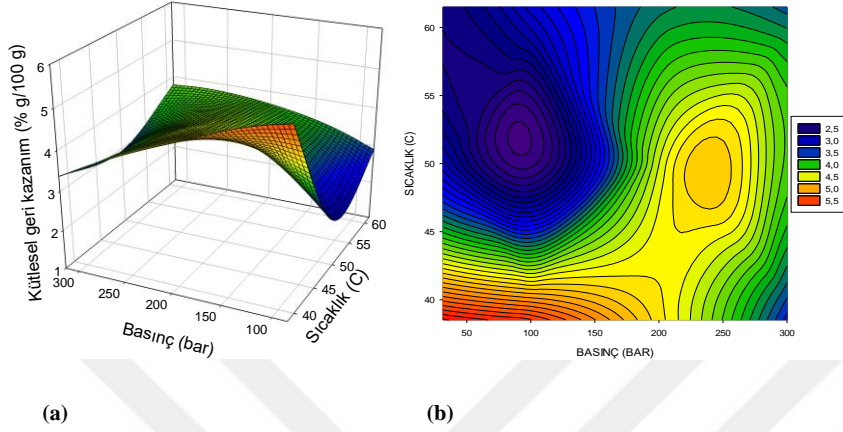
R-1: hacimsel geri kazanım verimi, R-2: kütleli geri kazanım, R-3: TFM konsantrasyonu, R-4: DPPH antioksidan aktivitesi, R-5: ABTS antioksidan aktivitesi, R-6: TFv konsantrasyonu

#### 4.1.2. SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda hacimsel ve kütleli gerikazanım verimleri

SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile 50 g portakal kabuğu numunelerinden hacimsel olarak %4 - %8 aralığında ekstrakt verimi elde edilmiştir. Hacimsel geri kazanım verimlerinin 2 bağımsız değişken ile istatistiksel ilişkisi yüzey yanıt yöntemi ile modellenmiştir ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir. Portakal kabuğu numunelerinden elde edilen kütleli ekstrakt verimi ise %2 - %5 aralığında bulunmuştur. Sıcaklık ve basıncın kütleli geri kazanım verimleri üzerindeki ikili etkisi ise Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Grafikler incelendiğinde en iyi hacimsel ve kütleli geri kazanım veriminin 40 °C sıcaklıkta 100 bar basınçta gerçekleştiği görülmüştür.



**Şekil 4.2** Portakal kabuğu numunelerinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda sıcaklık ve basınç bağımsız değişkenlerinin hacimsel geri kazanım üzerine ikili etkisini gösteren grafikler; (a) 3D mesh grafiği, (b) eş verim (kontur) grafiği



**Şekil 4.3** Portakal kabuğu numunelerinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda sıcaklık ve basınç bağımsız değişkenlerinin kütleli geri kazanım üzerine ikili etkisini gösteren grafikler; (a) 3D mesh grafiği, (b) eş verim (kontur) grafiği

#### 4.1.3. SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda TFM geri kazanımı

Süperkritik CO<sub>2</sub> ekstraksiyonunun geri kazanım verimleri 75 °C etüvde kurutulmuş portakal kabuğunun, ultrasonik banyoda çözücü:kabuk oranı 10 (v/v) olan %80'lik alkol ile 2 saat ekstraksiyonu sonucunda elde edilen veriler referans alınarak hesaplanmıştır. Referans numune analizlerine Çizelge 4.3'te yer verilmiştir.

**Çizelge 4.3** Verim hesaplamalarında referans alınan kuru portakal kabuğunun UDE ile elde edilen değerli madde konsantrasyonları

| Numune          | Alkol oranı (%) | TFM      |        | ABTS (µM TE) | DPPH (µM TE) | TFv (mgQE/mL) |      |
|-----------------|-----------------|----------|--------|--------------|--------------|---------------|------|
|                 |                 | mg GAE/L | Mg GAE |              |              |               |      |
| Portakal kabuğu | 80              | 671,2    | 6,7    | 13.4         | 445          | 1079          | 0,46 |

**Açıklamalı [AÖ103]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle tablo açıklaması ve tablo düzenlendi

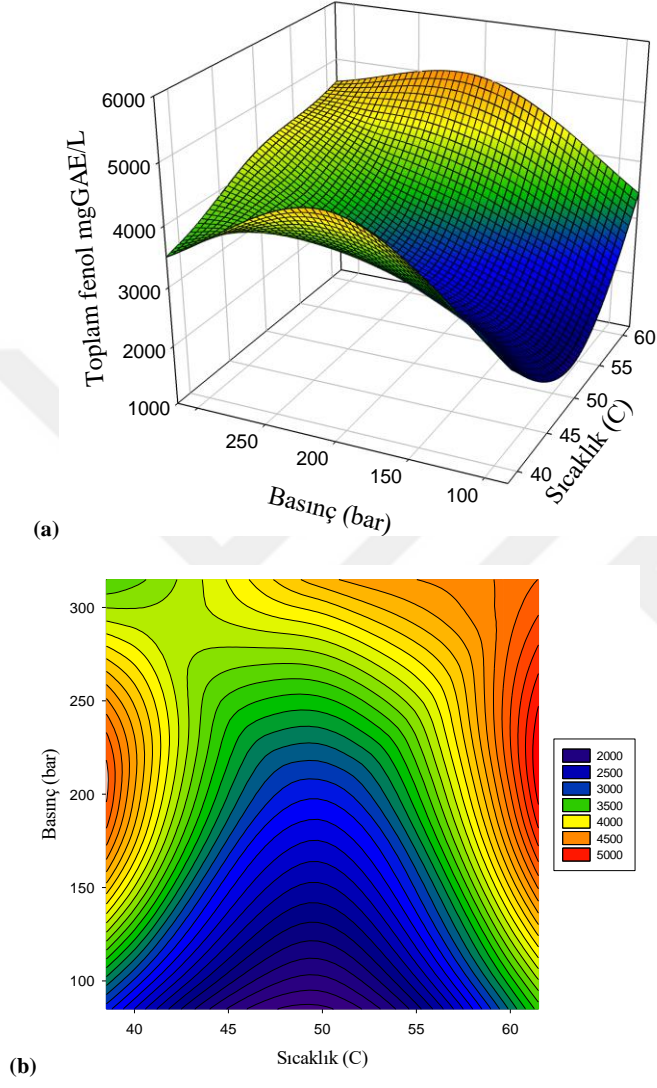
Portakal kabuğundan elde edilen ekstraktlarda TFM konsantrasyonunun 61.5 °C sıcaklık ve 200 bar basınç şartlarında en yüksek değere ulaştığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4). Deneysel sonuçlar değerlendirildiğinde sıcaklığın artması ile fenolik madde içeriğinin arttığı görülmüştür. Düşük sıcaklıklarda çalışıldığında toplam fenol

kazanımının daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca basıncın 80-100 bar aralığında iken geri kazanım verimine bir etkisinin olmadığı, 250-315 bar aralığında ise orta nokta olarak belirlenen 200 bar'da elde edilenden daha düşük geri kazanım verimleri elde edildiği sonucuna varılmıştır. Literatürde, bu tez çalışmasındaki bulgulara benzer şekilde, portakal kabuğundan SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen en yüksek TFM içeriğinin 40 °C'de ve 350 bar'da olduğu; ancak 60 °C, 250 bar'da yapılan çalışma ile arasında önemli ölçüde fark olmadığı vurgulanmıştır (Espinosa-Pardo ve ark., 2017). Bu sonuçlardan yola çıkılarak sıcaklığın toplam fenol bileşiklerinin elde edilmesinde çözücü yoğunluğu ve seçiciliği üzerindeki etkisi olduğu kanısına varılabilir.

**Çizelge 4.4** SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile portakal kabuğundan farklı şartlarda elde edilen ekstraktların TFM konsantrasyonları

| İşletme koşulları |              | mg GAE/L | mg GAE/g ekstrakt |
|-------------------|--------------|----------|-------------------|
| Sıcaklık (°C)     | Basınç (bar) |          |                   |
| 38.5              | 200          | 4717     | 7.1               |
| 40                | 100          | 2880     | 4.5               |
| 40                | 300          | 3696     | 6.3               |
| 50                | 200          | 3991     | 7                 |
| 50                | 200          | 2268     | 3.5               |
| 50                | 315          | 4263     | 5.8               |
| 50                | 85           | 1678     | 4.6               |
| 50                | 200          | 2222     | 3.6               |
| 60                | 300          | 4558     | 7.3               |
| 60                | 100          | 3356     | 4.6               |
| 61.5              | 200          | 5034     | 8.2               |

**Açıklamalı [AÖ104]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle



**Şekil 4.4** Portakal kabuğu numunelerinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda sıcaklık ve basınç bağımsız değişkenlerinin TFM konsantrasyonu üzerinde ikili etkisi; (a) 3D mesh grafiği (b) eş verim (kontur) grafiği

#### 4.1.4. SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda toplam antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi

SK-CO<sub>2</sub> ile elde edilen ekstraktların antioksidan potansiyelini ölçmek için DPPH ve ABTS radikali **harcama** yöntemi kullanılmıştır. Portakal kabuğundan elde edilen ekstraktların (PKE) DPPH radikali süpürme aktivitesi 1285-11129  $\mu\text{M TE}$ , ABTS radikali süpürme aktivitesi ise 2423-7602  $\mu\text{M TE}$  olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5).

Çizelge 4.5 SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile portakal kabuğundan farklı şartlarda elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerleri

| Numune | İşletme koşulları |                 | ABTS<br>$\mu\text{M TE}$ | DPPH<br>$\mu\text{M TE}$ |
|--------|-------------------|-----------------|--------------------------|--------------------------|
|        | Sıcaklık(°C)      | Basınç<br>(bar) |                          |                          |
| PKE-1  | 38,5              | 200             | 11129                    | 5448                     |
| PKE-2  | 40                | 100             | 1708                     | 4926                     |
| PKE-3  | 40                | 300             | 11092                    | 6130                     |
| PKE-4  | 50                | 200             | 10797                    | 4792                     |
| PKE-5  | 50                | 200             | 9411                     | 7254                     |
| PKE-6  | 50                | 315             | 2144                     | 6947                     |
| PKE-7  | 50                | 85              | 2783                     | 4845                     |
| PKE-8  | 50                | 200             | 1285                     | 7602                     |
| PKE-9  | 60                | 300             | 2200                     | 6237                     |
| PKE-10 | 60                | 100             | 1760                     | 2423                     |
| PKE-11 | 61,5              | 200             | 9877                     | 6492                     |

**Açıklamalı [AÖ105]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ108R107]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ109R107]:** Prof.Dr.Mustafa Karataş'ın önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ110R107]:** Yazı tipi ve boyutları değiştirildi.

**Açıklamalı [AÖ106]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle DPPH ve ABTS tabloları birleştirildi.

**Açıklamalı [AÖ107]:** Dr.Havva Ateş'in Önerisiyle

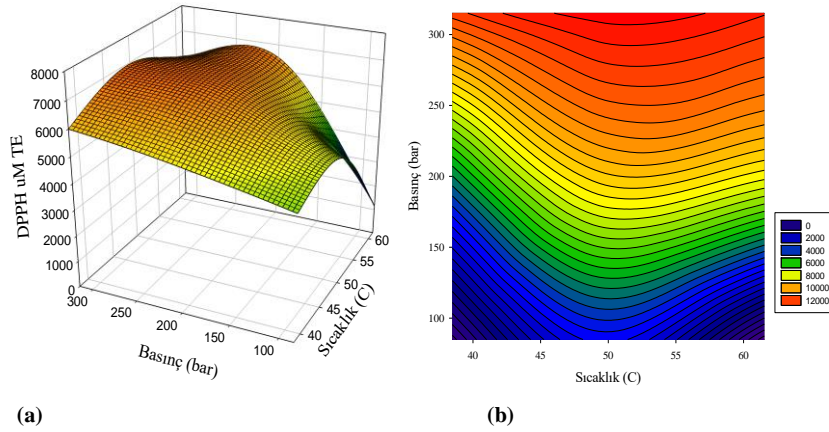


Süperkritik karbondioksit ekstraksiyon sürecinde elde edilen portakal kabuğu ekstraktlarında analiz edilen antioksidan aktivite konsantrasyonlarının basınç ve sıcaklık ile değişimine DPPH aktivitesi için Şekil 4.5'te ve ABTS aktivitesi için Şekil 4.6'da yer verilmiştir. Buna göre orta sıcaklık değerlerinde geri kazanımın yüksek olduğu, sıcaklık arttıkça antioksidan aktivitesinin bir miktar düştüğü gözlenmektedir. Basıncın etkisi incelendiğinde ise yüksek basınç değerlerinde antioksidan aktivitenin yükseldiği, düşük basınçlarda aktivitenin düştüğü anlaşılmaktadır. Değişkenler ile antioksidan aktiviteler arasındaki ilişkiyi veren model grafiklerine göre en yüksek antioksidan aktivitelerinin 50 °C ve 300 bar'da elde edildiği görülmektedir (Şekil 4.5 ve Şekil 4.6). Bu durum yüksek basınç ve sıcaklıklarda TFM geri kazanımının artmasıyla ilişkilendirilebilir.

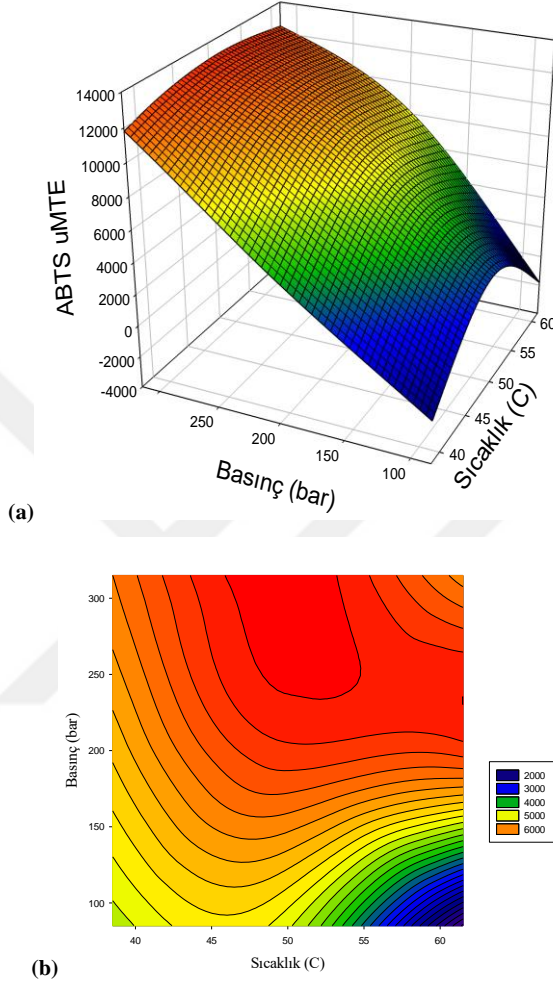
**Açıklamalı [AÖ111]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ112]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

**Açıklamalı [AÖ113]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisiyle



**Şekil 4.5** Portakal kabuğu numunelerinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda sıcaklık ve basınç bağımsız değişkenlerinin DPPH antioksidan aktivitesi üzerinde ikili etkisi; (a) 3D mesh grafiği, (b) eş verim (kontur) grafiği

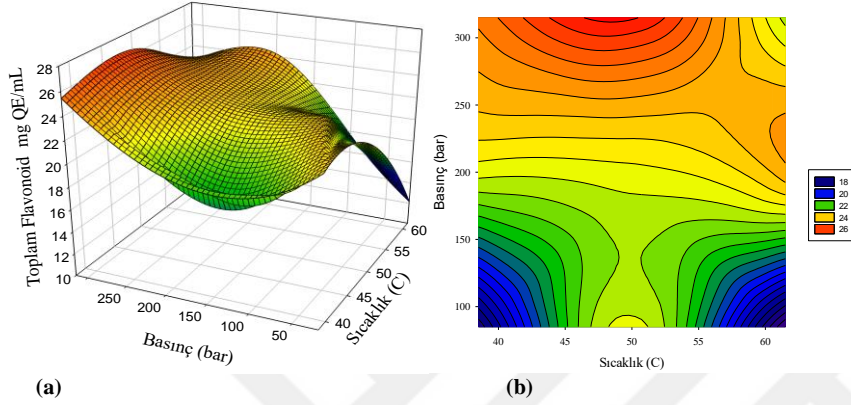


**Şekil 4.6** Portakal kabuğu numunelerinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda sıcaklık ve basınç bağımsız değişkenlerinin ABTS antioksidan aktivitesi üzerinde ikili etkisi; (a) 3D mesh grafiği, (b) eş verim (kontur) grafiği

#### 4.1.5. SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda TFv geri kazanımı

Şekil 4.7 incelendiğinde portakal kabuğu ekstraktlarında TFv konsantrasyonu açısından geri kazanımda sıcaklık ve basıncın anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmektedir. Bu durum p değerinin sıcaklık ve basınç için sırasıyla  $p = 0,097$  ve  $p = 0,593$  olmasından

anlaşılmaktadır. Basınç değeri 20 MPa ve sıcaklık 50°C iken en yüksek TFv konsantrasyonu 26,5 mg/mL olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).



**Şekil 4.7** Portakal kabuğu numunelerinden SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda sıcaklık ve basınç bağımsız değişkenlerinin TFv konsantrasyonu üzerinde ikili etkisi; (a) 3D mesh grafiği, (b) eş verim (kontur) grafiği

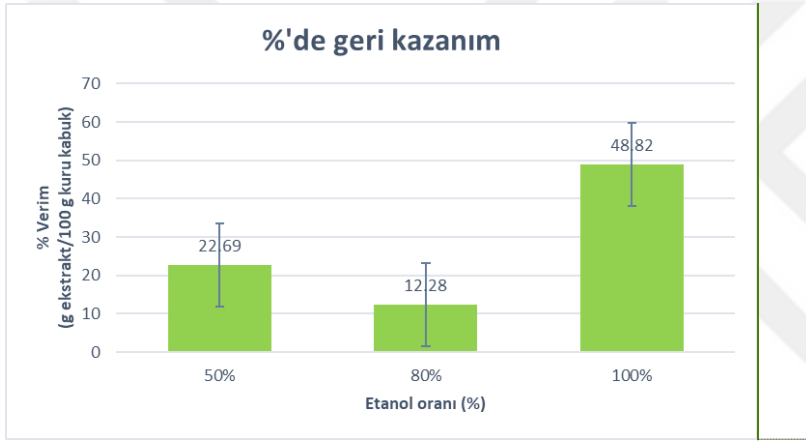
**Çizelge 4.6** SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonu ile portakal kabuğundan farklı şartlarda elde edilen ekstraktların TFv konsantrasyonları

| Numune Kodu | İşletme koşulları |              | TFv<br>mgQE/mL |
|-------------|-------------------|--------------|----------------|
|             | Sıcaklık(°C)      | Basınç (bar) |                |
| PKE-1       | 38.5              | 200          | 23             |
| PKE-2       | 40                | 100          | 19             |
| PKE-3       | 40                | 300          | 25             |
| PKE-4       | 50                | 200          | 26.5           |
| PKE-5       | 50                | 200          | 22             |
| PKE-6       | 50                | 315          | 26.4           |
| PKE-7       | 50                | 85           | 23             |
| PKE-8       | 50                | 200          | 20.5           |
| PKE-9       | 60                | 300          | 23.4           |
| PKE-10      | 60                | 100          | 18.4           |
| PKE-11      | 61.5              | 200          | 24             |

**Açıklamalı [AÖ114]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle

#### 4.2.Soxhlet Ekstraksiyonu ile Geri Kazanım Çalışmaları

Öğütülmüş portakal kabuğundan %50 (v/v), %80 (v/v) ve %100 (v/v)'lük etanol çözeltileri kullanılarak Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda ekstraksiyon verimi sırasıyla %22,7, %12,3, %48,8 olarak belirlenmiştir ve Şekil 4.7 de verilmiştir. Elde edilen ekstrakt verimlerinin etanol oranlarının değişimine bağlı olarak önemli miktarda değiştiği ve en yüksek değere %100 etanol için ulaşıldığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.7 Portakal kabuğunun soxhlet ile ekstraksiyonda etanol:su oranının verime etkisi

Analiz sonuçlarına Çizelge 4.7'de yer verilmiştir. Yapılan bir araştırmada ekstraksiyon süresinin uzun olmasının soxhlet ekstraksiyon yönteminin dezavantajı olmasının yanında ekstraksiyon süresi arttıkça sifonlama gereksinimi artacağından ekstrakt eldesi için daha fazla solvent gereksinimine gerek olduğunu göstermektedir (Luque de Castro ve Priego-Capote, 2010). Ayrıca fenolik bileşiklerin eldesi için uzun ekstraksiyon sürelerinin sıcaklık ile bileşiklerin bozulmasına da yol açacağı düşünülmektedir. Kumar ve ark. (2017) ekstraksiyon sürecinde, heksan kullanımının hava kirliliği, toksisite gibi birçok dezavantajının bulunduğunu bu nedenle diğer daha güvenli ve çevre dostu alternatiflerin kullanılması gerektiğini vurgulamışlardır (Kumar ve ark., 2017). Tez çalışması kapsamında Soxhlet ekstraksiyon sürecinde kullanılan etanolün buharlaşma yoluyla kolaylıkla uzaklaştırılabilmesi avantaj olmakla birlikte, gıda uygulamaları için SK-CO<sub>2</sub> gibi çevre dostu uygulamalara göre bir eksiklidir.

**Açıklamalı [MEA115]:** “% g ekstrakt/g kuru kabuk” olmaz!??  
“g ekstrakt/ 100 g kuru kabuk” olmalı, önündeki % ifadesi kaldırılmalı!

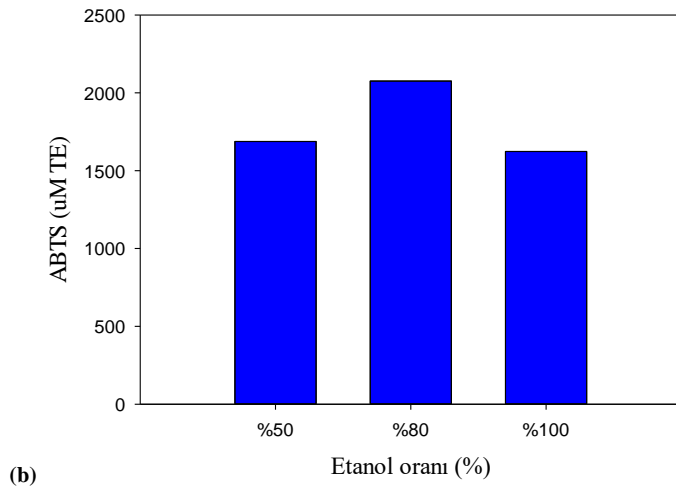
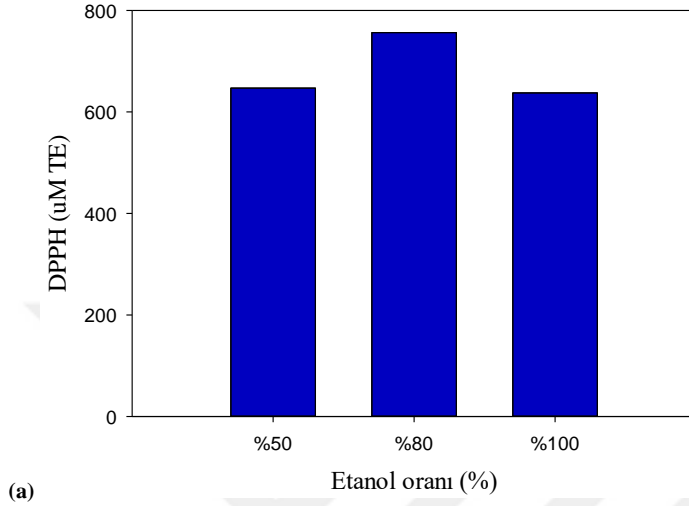
**Açıklamalı [AÖ116R115]:** +

**Çizelge 4.7** Soxhlet ekstaksiyonu ile elde edilen ekstraktlarda antioksidan aktivite, toplam fenol ve toplam flavonoid analizlerinin sonuçları

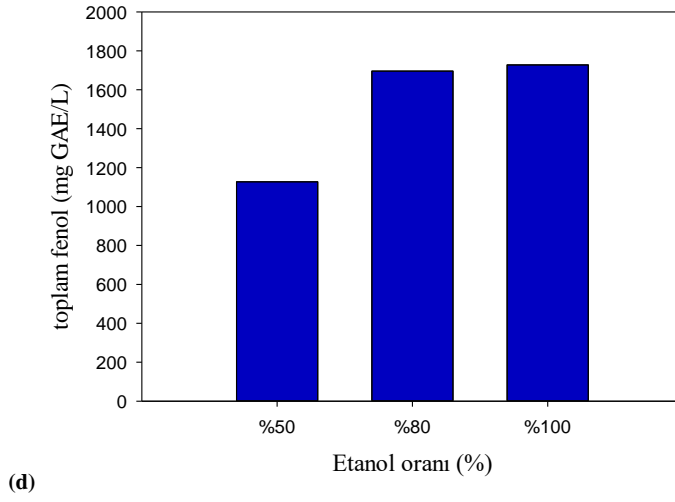
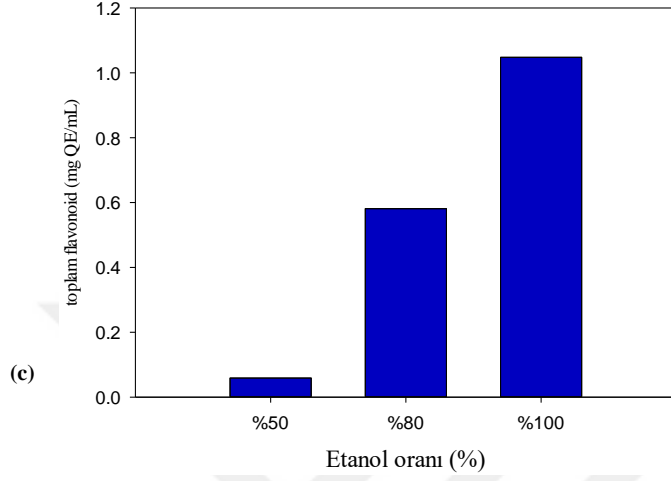
| Alkol oranı (%) | FENOL    |              | DPPH  | ABTS  | FLAVONOİD |
|-----------------|----------|--------------|-------|-------|-----------|
|                 | mg GAE/L | mg GAE/kg KM | µM TE | µM TE | mg QE/mL  |
| %50             | 1127     | 22.54        | 647   | 1688  | 0.05      |
| %80             | 1696     | 33.92        | 756   | 2075  | 0.58      |
| %100            | 1728     | 34.56        | 637   | 1623  | 1.04      |

**Açıklamalı [AÖ117]:** Prof.Dr. Mehmet Emin Argun'un önerisi ile fenol başlığı altındaki mgGAE sütunu silindi

Şekil 4.8 incelendiğinde TFv ve TFM geri kazanım miktarının %100 etanol varlığında en iyi değerlere ulaştığı söylenilebilir. Bu durum antioksidan aktivite açısından incelendiğinde %80 etanol oranında elde edilen ekstraktlarda yüksek antioksidan harcama aktivitesi elde edilmiştir. Portakal kabuklarından antioksidan madde geri kazanım miktarının SK-CO<sub>2</sub> yöntemi ile elde edilen ekstraktların antioksidan aktivite değerlerinden yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum Soxhlet ekstraksiyon yöntemi ile yüksek ekstraksiyon verimi elde edilmesinden ve fenolik bileşiklerin polar yapıda olmasından dolayı etanolün polar yapıdaki fenolik bileşikleri daha iyi çözmesinden kaynaklandığı düşünülmüştür.



**Şekil 4.8** Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen portakal kabuğu ekstraktlarında farklı etanol oranlarında antioksidan aktivitelerin değişimi; (a) DPPH antioksidan aktivitesi (µM TE), (b) ABTS antioksidan aktivitesi (µM TE)



**Şekil 4.8** (Devamı) Soxhlet ekstraksiyonu ile elde edilen portakal kabuğu ekstraktlarında farklı etanol oranlarında TFv ve TFM konsantrasyonunun değişimi; (c) TFv konsantrasyonu (mg QE/mL), (d) TFM konsantrasyonu (mg GAE/L)

### 4.3.Ultrason Destekli Ekstraksiyon ile Geri Kazanım Çalışmaları

Portakal kabuklarından farklı alkol oranlarında elde edilen edilen ekstraktların TFM, TFv ve antioksidan aktivite değerleri Çizelge 4.8’de özetlenmiştir. Portakal kabuklarının ekstraksiyon sonrası görüntüleri Şekil 4.9’da verilmiştir. Etanol oranlarının değerli madde geri kazanımını etkilediği görülmektedir. Bu çalışma sonuçları Dalessandro ve ark. (2014) yaptığı sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Bununla birlikte, etanol oranındaki değişimin fenolik madde geri kazanımında önemli bir etkisinin olmadığı, elde edilen sonuçların 3 etanol oranında da benzer olduğunu söylemek mümkündür. Ma ve ark. (2008), ultrason gücünün 56 W’a kadar yükseltilmesinin TFM geri kazanımını önemli derecede artıracakını vurgulamıştır. Bir diğer çalışmada ise Carrero ve ark. (2012) ultrason gücünün artırılmasının polifenol yapısındaki bileşikler bozabileceğini rapor etmişlerdir.

**Açıklamalı [AÖ118]:** Prof.Dr.Mehmet Emin Argun'un önerisiyle



Şekil 4.9 Portakal kabuğu numunelerinin UDE sonrasında görünümü

Çizelge 4.8 Ultrason destekli ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktların değerli madde analiz sonuçları

| Alkol oranı (%) | Fenol    |        |             | DPPH  | ABTS  | Flavonoid |
|-----------------|----------|--------|-------------|-------|-------|-----------|
|                 | mg GAE/L | mg GAE | mg GAE/g KM | µM TE | µM TE | mg QE/mL  |
| 50%             | 3683     | 73.7   | 36.8        | 662   | 2075  | 0.15      |
| 80%             | 4231     | 84.6   | 42.3        | 755   | 2126  | 1.55      |
| 100%            | 3036     | 60.7   | 30.3        | 767   | 2147  | 1.68      |



TFv geri kazanımını açısından %50 alkol oranının diğer alkol oranlarına kıyasla daha verimsiz olduğu görülmektedir. Antioksidan aktivite açısından bakıldığında ise alkol oranlarının farklı olmasının geri kazanıma etkisinin olmadığı farklı alkol oranlarında elde edilen ekstraktlardaki antioksidan harcama potansiyelinin yaklaşık değerlerde olduğu görülmektedir.

#### 4.4. Pektin Eldesi

Atık miktarını minimum seviyeye indirebilmek ve geri kazanılan değerli madde çeşidini artırmak için SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyonundan sonra kalan portakal kabuklarından pektin elde edilmiştir. Elde edilen pektin verimlerini kıyaslayabilmek adına aynı işlemler ham portakal kabuğuna da uygulanmıştır. Çizelge 4.9'da görüldüğü gibi kabuklardan %75-%80 seviyesinde pektin verimi elde edilmiştir.

Çizelge 4.9 Portakal kabuğu numunelerinden pektin eldesine ait bazı sonuçlar

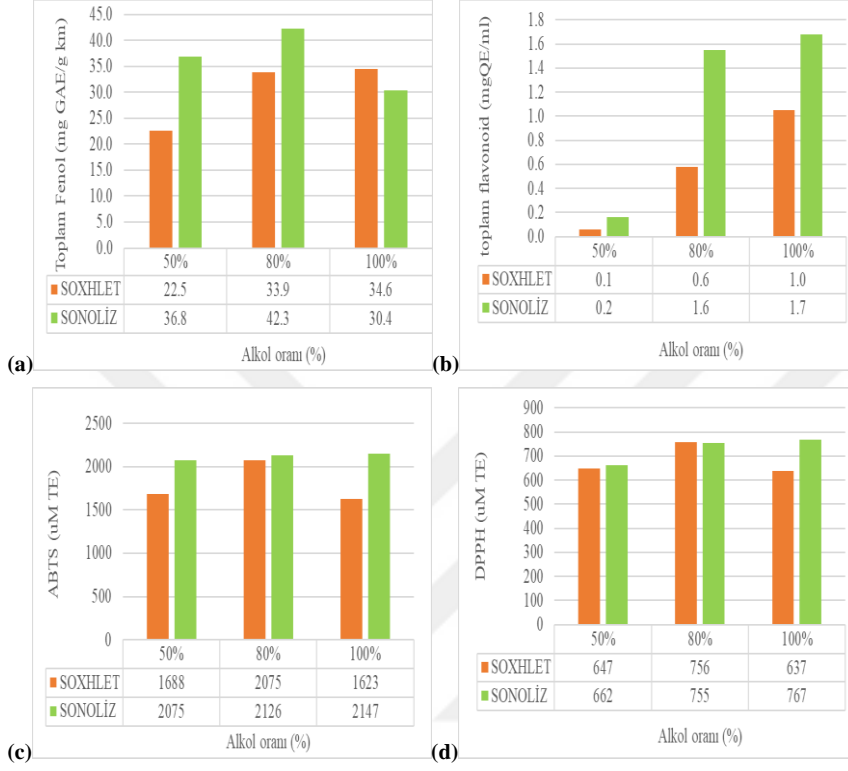
| Numune                  | Numune miktarı<br>(g) | Elde edilen pektin<br>miktarı (g) | Verim (%) |
|-------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------|
| Portakal kabuğu (PK)    | 2                     | 1,594                             | 79,7      |
| Ekstraksiyon sonrası PK | 3                     | 2,256                             | 75,2      |

Sonuç olarak elde edilen verimler kıyaslandığında ekstraksiyon sonrası atık olarak oluşan portakal kabuğundan elde edilen pektin veriminin ham portakal kabuğu için elde edilen verime yakın olduğu görülmektedir. Yapo ve ark. (2007), şeker küspesinden pektin elde etmek için yaptıkları çalışmada en üstte ince bir yağ tabakası, ortada sulu faz ve en altta pektin tabakasının bulunduğu emülsiyon elde etmişlerdir. Yaptıkları çalışma sonucunda verimi %47 olarak bulmuşlardır. Elde ettikleri emülsiyonun 30 gün sonunda 4 °C'de saklama koşullarında %78 - %80 arasında stabil kaldığını gözlemlemişlerdir (Yapo ve ark., 2007). Bu sonuçlar portakal kabuğundan elde edilen verim sonuçlarımızda destekler niteliktedir.

#### 4.5. Farklı Ekstraksiyon Yöntemlerinin Kıyaslanması

Aynı ekstraksiyon süresi ve etanol oranlarında çalışılan soxhlet ekstraksiyonu ve UDE yöntemlerinden elde edilen geri kazanımlar Şekil 4.9'da karşılaştırılmıştır. Soxhlet ekstraksiyon yönteminde genellikle %80 etanol oranında geri kazanım oranları yüksekken, UDE yönteminde etanol oranındaki değişimin geri kazanım oranlarına bir etkisi olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte, UDE yönteminde soxhlet ekstraksiyon yöntemine göre daha fazla geri kazanım elde edilmiştir. Her iki yöntemde de literatürde çalışılan uzun ekstraksiyon sürelerinin aksine 2 saatlik ekstraksiyon sürecinde çalışılmış ve olumlu sonuçlar elde edilmiştir. SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon verilerine bakıldığında en iyi geri kazanım değeri TFM için 61,5 °C ve 20 MPa şartlarında 8,25 mg GAE/ (g kuru kabuk) olarak bulunurken; bu değer soxhlet ekstraksiyonunda 22,5 mg GAE/g, UDE yönteminde ise 36,8 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Ekstraksiyon yöntemleri arasında en iyi geri kazanım verimleri UDE yönteminde elde edilmiştir.

Ekstraksiyon yöntemlerini toplam antioksidan aktivite açısından değerlendirecek olursak SK-CO<sub>2</sub> ile elde edilen ekstraktların DPPH süpürme aktivitesi 1285-11129 µM TE aralıklarında tespit edilirken en yüksek değer 60 °C ve 10 MPa şartlarında elde edilen ekstraktta olduğu belirlenmiştir. ABTS radikal süpürme yönteminde bu aralık 2423-7602 µM TE iken, en iyi süpürme aktivitesi DPPH reaktifinde olduğu gibi 60 °C ve 10 MPa şartları için elde edilmiştir. Soxhlet ekstraksiyon yönteminde en iyi süpürme aktivitesi %100 çözücü oranında gözlemlenirken, UDE yönteminde %50 çözücü oranında daha iyi süpürme aktivitesi gözlemlenmiştir. TFv konsantrasyonu ise SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon yönteminde 50 °C ve 200 bar da 26,5 mg QE/L, Soxhlet ekstraksiyon yönteminde %100 etanol oranında 1,41 mg QE/mL, UDE yönteminde %100 etanol oranında 1,68 mg QE/mL olarak bulunmuştur. SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon yönteminde TFv konsantrasyonunun diğer iki yönteme göre yüksek olması; SK-CO<sub>2</sub> yönteminde elde edilen ekstraktın hacminin az olması, diğer iki yöntemde ise kullanılan etanol miktarından dolayı hacmin artması ve seyrelme etkisinden kaynaklanmaktadır.



**Şekil 4.9** Soxhlet ve sonoliz ekstraksiyon yöntemlerinde elde edilen geri kazanım verimlerinin karşılaştırılması; (a) TFM konsantrasyonu, (b) TFv konsantrasyonu, (c) ABTS süpürme aktivitesi, (d) DPPH süpürme aktivitesi

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1 Sonuçlar

Bu tez çalışmasında çeşitli sektörlerde atık olarak meydana gelen portakal kabuklarında bulunan değerli bileşenler SK-CO<sub>2</sub>, Soxhlet ve ultrason destekli ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilmiştir. Portakal kabuğundaki fenolik maddelerin SK-CO<sub>2</sub> ile ekstraksiyon verimini etkileyen; sıcaklık (40 – 61,5 °C), basınç, (8,5 – 31,5 MPa) gibi temel işletme parametreleri Box-Behnken yöntem metodolojisi kullanılarak tasarlanmış ve parametrelerin geri kazanıma etkisi araştırılmıştır. Ekstaktlarda TFM, antioksidan aktivite ve TFv analizleri yapılarak verim kıyaslaması yapılmıştır.

SK-CO<sub>2</sub> ekstraksiyon verilerine bakıldığında en iyi sonuçlar TFM için 61,5 °C, 20 MPa'da 8,25 mg GAE/g olarak bulunurken, bu değer soxhlet ekstraksiyonunda 22,5 mg GAE/g, UDE yönteminde ise 36,8 mg GAE/g olarak bulunmuştur. Toplam antioksidan aktivite açısından; SK-CO<sub>2</sub> için DPPH süpürme aktivitesi 1285-11129 µM TE aralığında tespit edilirken, ABTS radikali süpürme aktivitesi 2423-7602 µM TE aralığında bulunmuştur. Soxhlet ekstraksiyon yönteminde en iyi süpürme aktivitesi %100 çözücü oranında gözlemlenirken, UDE yönteminde %50 çözücü oranında daha iyi süpürme aktivitesi gözlemlenmiştir.

### 5.2. Öneriler

Bundan sonra yapılacak çalışmalar için aşağıdaki hususlar dikkate alınabilir;

- Daha fazla optimizasyon çalışmaları ile ekstrakt verimi açısından uygun şartlar netleştirilebilir,
- Değerli bileşiklerin saflaştırılması üzerinde daha fazla çalışma gerekmektedir,
- Değerli bileşenlerin endüstriyel kullanımı üzerine daha fazla çalışma gerekmektedir,
- Ekstraksiyon yöntemlerinin yatırım maliyetleri ve enerji kullanımını da içerecek şekilde işletme maliyetlerinin belirlenmesi sektörde uygulanabilirlik açısından yol gösterici olacaktır,
- Özellikle SK-CO<sub>2</sub> uygulamaları için daha fazla pilot ve tam ölçekli çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

## KAYNAKLAR

- Anagnostopoulou, M. A., Kefalas, P., Papageorgiou, V. P., Assimopoulou, A. N. ve Boskou, D., 2006, Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*), *Food Chemistry*, 94 (1), 19-25.
- Atti-Santos, A. C., Rossato, M., Serafini, L. A., Cassel, E., Moyna, P. J. B. A. o. B. ve Technology, 2005, Extraction of essential oils from lime (*Citrus latifolia* Tanaka) by hydrodistillation and supercritical carbon dioxide, 48 (1), 155-160.
- Benelli, P., Riehl, C. A. S., Smânia, A., Smânia, E. F. A. ve Ferreira, S. R. S., 2010, Bioactive extracts of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) pomace obtained by SFE and low pressure techniques: Mathematical modeling and extract composition, *The Journal of Supercritical Fluids*, 55 (1), 132-141.
- Chavan, P., Singh, A. K. ve Kaur, G. J. J. o. F. P. E., 2018, Recent progress in the utilization of industrial waste and by-products of citrus fruits: A review, 41 (8), e12895.
- Cook, N. C. ve Samman, S., 1996, Flavonoids—Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 7 (2), 66-76.
- Elangovan, V., Sekar, N. ve Govindasamy, S., 1994, Chemopreventive potential of dietary bioflavonoids against 20-methylcholanthrene-induced tumorigenesis, *Cancer Letters*, 87 (1), 107-113.
- Espinosa-Pardo, F. A., Nakajima, V. M., Macedo, G. A., Macedo, J. A. ve Martínez, J., 2017, Extraction of phenolic compounds from dry and fermented orange pomace using supercritical CO<sub>2</sub> and cosolvents, *Food and Bioprocess Processing*, 101, 1-10.
- Fernández-López, J., Zhi, N., Aleson-Carbonell, L., Pérez-Alvarez, J. A. ve Kuri, V., 2005, Antioxidant and antibacterial activities of natural extracts: application in beef meatballs, *Meat Science*, 69 (3), 371-380.
- Giannuzzo, A. N., Boggetti, H. J., Nazareno, M. A. ve Mishima, H. T., 2003, Supercritical fluid extraction of naringin from the peel of *Citrus paradisi*, *Phytochemical Analysis*, 14 (4), 221-223.
- Hosseini, S. S., Khodaiyan, F. ve Yarmand, M. S., 2016, Aqueous extraction of pectin from sour orange peel and its preliminary physicochemical properties, *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 920-926.
- Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. ve Vivanco, J. M., 2003, Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions, *Food Chemistry*, 83 (4), 547-550.
- Jayaprakasha, G. K. ve Patil, B. S., 2007, In vitro evaluation of the antioxidant activities in fruit extracts from citron and blood orange, *Food Chemistry*, 101 (1), 410-418.
- Khan, M. K., Abert-Vian, M., Fabiano-Tixier, A.-S., Dangles, O. ve Chemat, F., 2010, Ultrasound-assisted extraction of polyphenols (flavanone glycosides) from orange (*Citrus sinensis* L.) peel, *Food Chemistry*, 119 (2), 851-858.
- Khandare, R. D., Tomke, P. D. ve Rathod, V. K., 2021, Kinetic modeling and process intensification of ultrasound-assisted extraction of d-limonene using citrus industry waste, *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 159, 108181.

- Kimball, D. A. J. J. o. f. s., 1987, Debittering of citrus juices using supercritical carbon dioxide, *52* (2), 481-482.
- Kumar, S., Prasad, S. R., Banerjee, R., Agarwal, D. K., Kulkarni, K. S. ve Ramesh, K. J. C. C. J., 2017, Green solvents and technologies for oil extraction from oilseeds, *11* (1), 1-7.
- Luque de Castro, M. D. ve García-Ayuso, L. E., 1998, Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future, *Analytica Chimica Acta*, *369* (1), 1-10.
- Luque de Castro, M. D. ve Priego-Capote, F., 2010, Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of Chromatography A*, *1217* (16), 2383-2389.
- Mira, B., Blasco, M., Subirats, S. ve Berna, A., 1996, Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oils from orange peel, *The Journal of Supercritical Fluids*, *9* (4), 238-243.
- Mira, B., Blasco, M., Berna, A. ve Subirats, S., 1999, Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of essential oil from orange peel. Effect of operation conditions on the extract composition. Presented at 4th Italian Conference on Supercritical Fluids and their Applications.1, *The Journal of Supercritical Fluids*, *14* (2), 95-104.
- Rao, P. R. ve Rathod, V. K., 2015, Mapping study of an ultrasonic bath for the extraction of andrographolide from *Andrographis paniculata* using ultrasound, *Industrial Crops and Products*, *66*, 312-318.
- Rathod, P. V., Nale, S. D., Jadhav, V. H. J. A. S. C. ve Engineering, 2017, Metal free acid base catalyst in the selective synthesis of 2, 5-diformylfuran from hydroxymethylfurfural, fructose, and glucose, *5* (1), 701-707.
- Rosa, A., Era, B., Masala, C., Nieddu, M., Scano, P., Fais, A., Porcedda, S., Piras, A. J. E. J. o. L. S. ve Technology, 2019, Supercritical CO<sub>2</sub> extraction of waste citrus seeds: Chemical composition, nutritional and biological properties of edible fixed oils, *121* (7), 1800502.
- Satari, B. ve Karimi, K., 2018, Citrus processing wastes: Environmental impacts, recent advances, and future perspectives in total valorization, *Resources, Conservation and Recycling*, *129*, 153-167.
- Sharma, K., Mahato, N., Cho, M. H. ve Lee, Y. R., 2017, Converting citrus wastes into value-added products: Economic and environmentally friendly approaches, *Nutrition*, *34*, 29-46.
- Singleton, V. L., Orthofer, R. ve Lamuela-Raventós, R. M., 1999, [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent, In: *Methods in Enzymology*, Eds: Academic Press, p. 152-178.
- Suri, S., Singh, A. ve Nema, P. K., 2022, Current applications of citrus fruit processing waste: A scientific outlook, *Applied Food Research*, *2* (1), 100050.
- Tomke, P. D., Zhao, X., Chiplunkar, P. P., Xu, B., Wang, H., Silva, C., . . . Cavaco-Paulo, A. (2017). Lipase-ultrasound assisted synthesis of polyesters. *Ultrasonics Sonochemistry*, *38*, 496-502. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.03.051>
- Trabelsi, D., Aydi, A., Zibetti, A. W., Della Porta, G., Scognamiglio, M., Cricchio, V., . . . Mainar, A. M. (2016). Supercritical extraction from *Citrus aurantium amara* peels using CO<sub>2</sub> with ethanol as co-solvent. *The Journal of Supercritical Fluids*, *117*, 33-39. doi:<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2016.07.003>
- Yapo, B. M., Robert, C., Etienne, I., Wathelet, B., & Paquot, M. (2007). Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet

- pulp pectin extracts. *Food Chemistry*, 100(4), 1356-1364. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.012>
- Yasumoto, S., Quitain, A. T., Sasaki, M., Iwai, H., Tanaka, M., & Hoshino, M. (2015). Supercritical CO<sub>2</sub>-mediated countercurrent separation of essential oil and seed oil. *The Journal of Supercritical Fluids*, 104, 104-111. doi:<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.05.008>
- Yu, J., Dandekar, 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(3), 1026-1031. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.062>
- Zayed, A., Badawy, M. T., & Farag, M. A. (2021). Valorization and extraction optimization of Citrus seeds for food and functional food applications. *Food Chemistry*, 355, 129609. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129609>
- Zema, D. A., Calabrò, P. S., Folino, A., Tamburino, V., Zappia, G., & Zimbone, S. M. (2018). Valorisation of citrus processing waste: A review. *Waste Management*, 80, 252-273. doi:<https://doi.org/10.1016/j.wasman.2018.09.024>
- Zhishen, Jia, Tang Mengcheng, and Wu Jianming  
1999 The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry* 64(4):555-559.