

SÜPERKRİTİK AKIŞKAN ÖZÜTLEMESİYLE BÖĞÜRTLENDE (RUBUS FRUCTICOSUS) DOĞAL ANTİOKSİDAN TESPİTİ

Elif ÖZTAŞ, Fatma GALİP, Ayşe MURATHAN

Kimya Mühendisliği, Müh.Fak., Gazi Üniversitesi, 06570, Ankara, Türkiye
amurathan@gazi.edu.tr

(Geliş/Received: 01.11.2010; Kabul/Accepted: 15.08.2011)

ÖZET

Bu çalışmada dondurulmuş böğürtlen meyvesinin 75, 85 ve 90 bar basınçlarda ve 35 °C sıcaklıkta süperkritik karbondioksit özütlemesi araştırıldı. Sıcaklığın düşük tutulma nedeni antioksidan maddenin bozunurluğunu önlemedir. En yüksek özütleme verimi 90 bar'da 14,06 mg özüt/100g böğürtlen olarak bulunurken süperkritik karbondioksit özütleme verimlerinin soksile özütlemesine göre oldukça yüksek olduğu ve ¹³C -NMR analizinde etken maddenin siyanidin olduğu tespit edildi. Ayrıca 90 bar'da elde edilen özütün antioksidan etkinliğini tespit için oksidatif indüklenme sıcaklığı deneyleri diferansiyel taramalı kalorimetrede çalışıldı. Bu parametrenin DSC analizi sonucunda doğrudan süperkritik özütün kullanılması halinde 138,2 °C olduğu, bir doğal antioksidan olan alfa-tokoferol ile birlikte kullanılması halinde ise 146,2 °C'ye yükseldiği tespit edildiğinden oksidatif indüklenme sıcaklığının artırılmasıyla antioksidan etki elde edildi.

Anahtar Kelimeler: SC CO₂; böğürtlen; NMR; antioksidan; DSC analizi

DETERMINATION OF NATURAL ANTIOXIDANT IN BLACKBERRY FRUITS(RUBUS FRUCTICOSUS) BY SUPERCRITICAL FLUID EXTRACTION

ABSTRACT

In this study, supercritical CO₂ extraction of frozen blackberry fruits was investigated at 75, 85 and 90 bar pressure and 35°C temperature. The reason of low temperature is to prevent of decomposition of the antioxidant material. It was found 14.06 mg extract/100g blackberry in 90 bar pressure as maximum extraction yield and supercritical CO₂ extraction yields were too high according to soxhlet extraction and cyanidin was determined as active material in the ¹³C -NMR analysis. Also, oxidative induction temperature experiments of extract obtained at 90 bar pressure was studied in DSC for the investigation of antioxidant effectiveness. In DSC analysis, this parameter was 138.2 °C in supercritical extract, and this value was increased to 146.2 °C in supercritical extract together with alpha-tocopherol, for this reason, it was obtained antioxidant effectiveness by increasing of oxidative induction temperature.

Keywords: SC CO₂; blackberry; NMR; antioxidant; DSC analysis

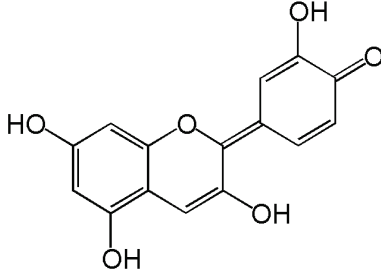
1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Süperkritik akışkan özütlemesinde süperkritik şartlarda akışkan olarak çeşitlilik sözkonusudur. Karbondioksitin kritik basınç ve kritik sıcaklığı sırasıyla 73,83 bar ve 304,2 K'dir [1]. Kritik özelliklerinin uygunluğu yanısıra ekonomikliği de bulunmaktadır. Yardımcı çözücü olarak su ve etanol gibi uygun çözücülerin kullanıldığı sistemlerde

karbondioksit tekrar başa döndürülerek geri kazanım sağlanabilir veya kararlı bir yapıya sahip olduğundan atmosfere bırakılabilir. Toksik çözücülerin kullanıldığı bilinen özütleme yöntemlerinden farklı olarak süperkritik karbondioksit özütlemesinde üründe çözücü kalıntısı bulunmadığından insan ve çevre sağlığı için güvenilir olmaktadır. Karbondioksitin düşük kritik sıcaklığı, toksik ve alevlenebilir olmaması ayrıca yüksek saflık oranı ve ucuzluğu sebebiyle gıda, boya, farmasötik ve

kozmetik endüstrisinde ideal çözücülüğünü ön sıralara çekmektedir [2-4].

Antosiyaninlerin çilek, böğürtlen gibi meyvelerde yüksek oranda bulunması sebebiyle yapılan çalışmalarda, bu tür meyvelerde antioksidan etki oluşturduğu ve antosiyanin toplam miktarının siyanidin olarak bulunduğu tespit edildi [5-6]. Siyanidin kimyasal yapısı Şekil 1'de verildi.



Şekil 1. Siyanidin kimyasal yapısı (Chemical structure of cyanidin)

Şarap endüstrisinde yan ürünlerin geri kazanımı ve antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmada, sıvı-sıvı özütleme ve ardından süperkritik karbondioksit özütleme yapılarak birincide çözücü etkisi ve hammaddenin ön işlemden geçirilmesinin özütün antioksidan etkisine olan katkılarında etil asetat çözücüsü ile saf yan ürün kullanılmasının etkin olduğu; elde edilen bu özütler 100 bar'ın üzerinde süperkritik karbondioksit özütlemeyle etkinin daha da artış gösterdiği belirtildi [7].

Karışık soya yağı asidi metil esterlerinde izotermal olmayan basınçlı DSC cihazı ile dört adet sentetik antioksidan ve bir adet doğal antioksidan etkinliği çalışmasında bu etki artan oksidasyon sıcaklığı ile tespit edildi. Bunlar t-butilhidrokinon (TBHQ), butillenmiş hidroksianisol (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PrG) ve alfa-tokoferol' dur. Alfa-tokoferol'un esterlerle uyum göstermesine karşın artan oksidasyon sıcaklığıyla diğer sentetik antioksidanlara göre daha az etkin olduğu tespit edildi [8].

Değişik meyve ve sebzelerin süperkritik ekstraksiyon yöntemlerini ve fenolik grupların tespitinde; bu özütlemenin diğer klasik özütlemelemlere göre daha üstün tarafları olduğu belirtilerek fenolik grupların daha iyi korunabileceği ve özütleme verimlerine sıcaklık, basınç, yardımcı çözücü ilavesi ve sürenin etkileri incelendi [9].

Adaçayı yapraklarında süperkritik karbondioksit ekstraksiyonuyla 30-40 °C sıcaklık ve 100-300 bar basınç aralığında çalışarak elde edilen özütlerin kimyasal bileşimi gaz kromatografide ve özütlerdeki fenolik yapılar UV spektrofotometresinde çalışıldı [10].

2. MALZEME VE METOD (MATERIAL AND METHOD)

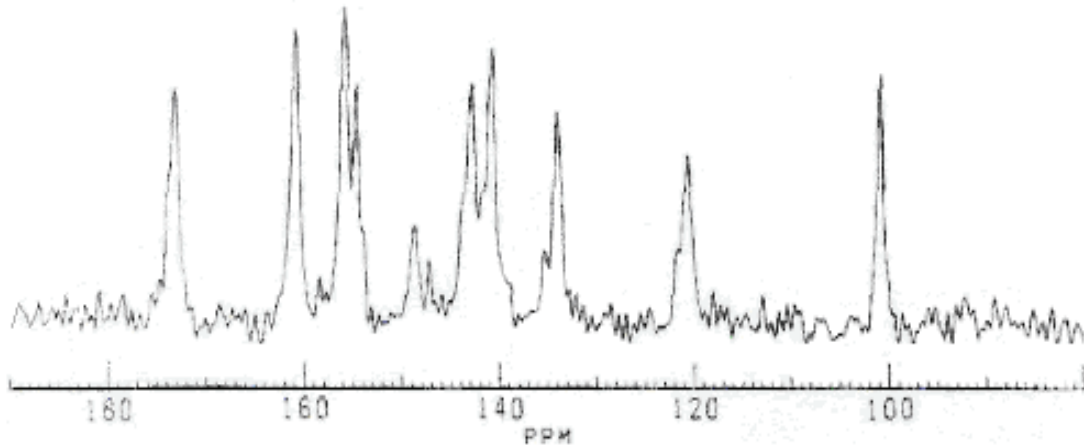
Özütleme çalışmaları 400 cm³ iç hacme sahip paslanmaz çelik SFE-200 (Supelco) cihazında gerçekleştirildi. Sistem içindeki kirliliği atmak amacıyla ön denemelerde suyla çalışıldı. Özütleme basıncı önce 75 bar' ayarlandı, daha sonraki deneylerde 85 bar ve 90 bar sırasıyla uygulanarak sistemde bulunan termostatlı su banyosu ile sıcaklık 35°C 'de sabit tutuldu. Piyasadan temin edilen dondurulmuş numunede kurutma ve parçalamaya gerek duyulmadığından nem tayini ve parçacık büyüklüğü tayini yapılamamış ve antioksidan kararlılığının etkilenmemesi için dondurucuda korunarak çalışılan sıcaklık düşük tutulmuştur [13]. Deneylerde 50,00 gram numune ile herhangi bir yardımcı çözücü olmaksızın belirtilen basınçlarda sırasıyla dörder saat süreyle çalışıldı, bu nedenle oldukça saf özütler elde edildi [7]. Karbondioksit akış hızı 1,0 mL/ dakika olarak sabit tutuldu. Soksile özütlemeinde çözücü olarak su kullanıldı. Çalışılan parametreler daha önce gerçekleştirilen Yüksek Lisans deney sonuçlarından alınmıştır [11-12].

Süperkritik özütün (90 bar) ¹³C -NMR spektrumu Bruker Avance instrument,300 MHz, cihazında, 90 bar'da elde edilen SC CO₂ özütü ve SC CO₂ özütüyle birlikte alfa-tokoferol'un DSC grafiği Perkin Elmer Diamond DSC cihazında alındı. Ankara Ün. Tıp Fak.'den temin edilen alfa-tokoferol standardı 10 mL kloroformda oda sıcaklığında çözündürüldükten sonra ayırma hunisi yardımıyla 1:1 (v/v) oranında süperkritik özüte ilave edildi ve DSC grafiği alındı.

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMA (RESULTS AND DISCUSSION)

3.1. ¹³C - NMR Analizi (¹³C - NMR Analysis)

Antioksidan olarak Şekil 2'de verilen siyanidin yapı aşağıda verildiği şekilde tespit edildi [14]. δ 101(1 H,Ph), δ 121(1 H),δ 135(1H,OH), δ 141(1H,OH), δ143(1H,OH,Ph), δ 149(1H), δ 155(1H), δ 157(1H,OH,Ph),δ 161(1H,OH), δ 173(1H)

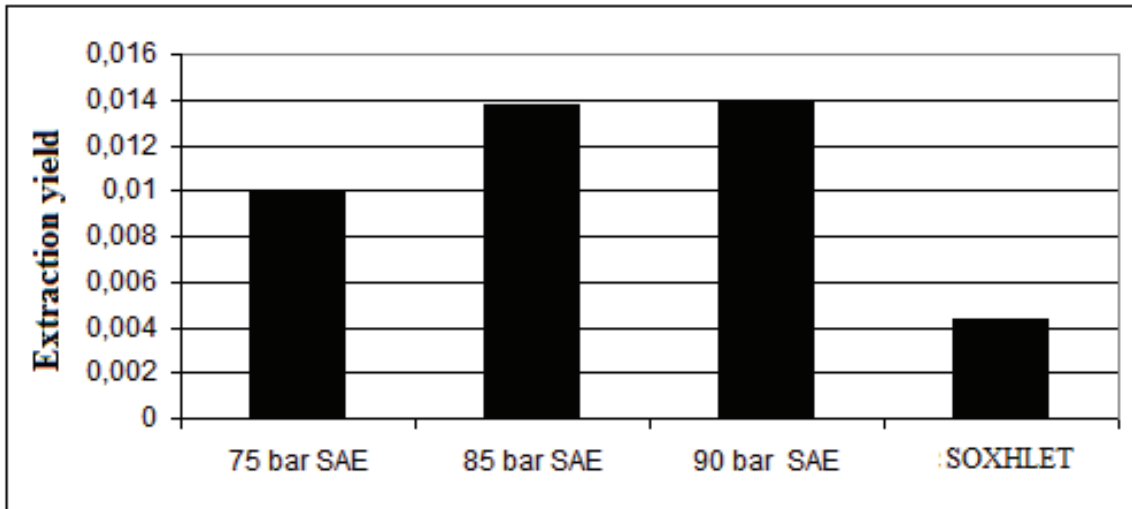


Şekil 2. 90 bar’ da elde edilen süperkritik özütün ^{13}C -NMR spektrumu (^{13}C -NMR spectrum of supercritical extract obtained at 90 bar)

3.2. Süperkritik Özütleme ve Soksile Özütlemesi (Supercritical Extraction and Soxhlet Extraction)

Şekil 3’de 100 gram numune için 35°C ’de 75 bar, 85 bar ve 90 bar’da SC CO_2 verimleri ve soksile verimi görülmektedir. Bu değerler sırasıyla 100 gram böğürtlen için 10 mg özüt, 13,80 mg özüt ve 14,60 mg özüt olup

soksilede ise 4,4 mg özüt olarak hesaplandı. Soksile verimi daha düşük tespit edilirken, 85 bar ve 90 bar’da SC CO_2 verimlerinin ise hemen hemen aynı olması sebebiyle daha yüksek basınçlarda çalışılmamış ve bu nedenle ekonomiklik elde edilebilmiştir.

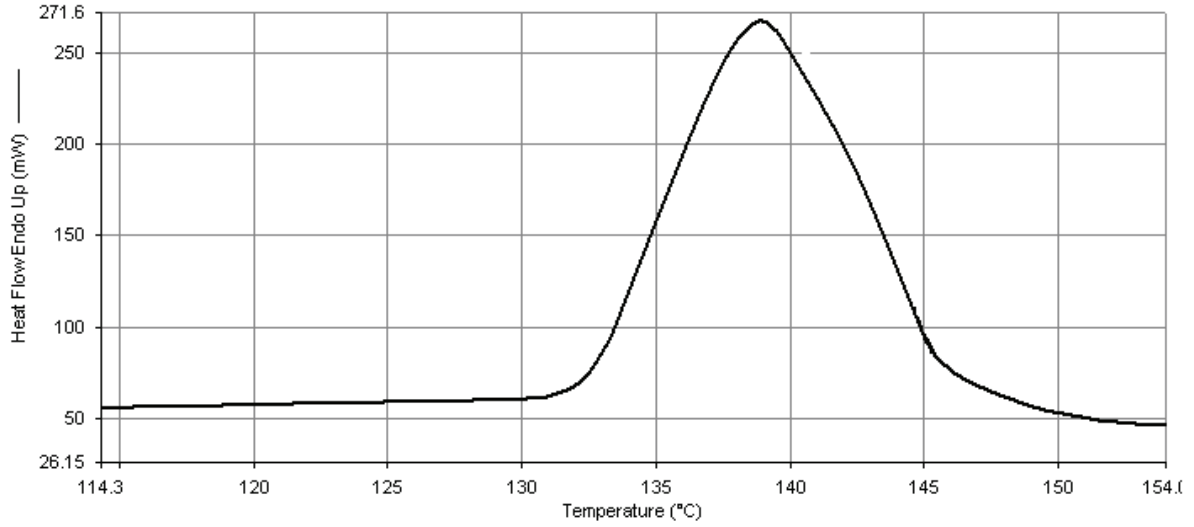


Şekil 3. 75 bar, 80 bar ve 90 bar’da SC CO_2 verimleri ve soksile verimi (Extraction yields of SC CO_2 at 75 bar, 80 bar and 90 bar and soxhlet yield)

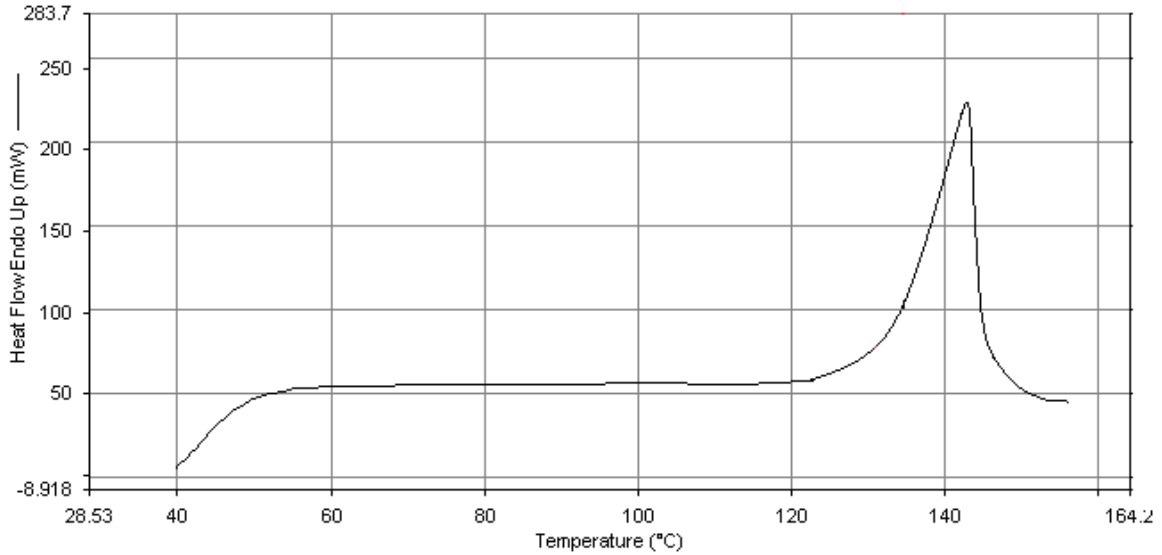
3.3. DSC Analizi (DSC Analysis)

Şekil 4’te 90 bar’da elde edilen SC CO_2 özütünün DSC grafiği ve Şekil 5’te ise SC CO_2 özütüyle birlikte alfa-tokoferol’ün maksimum oksidasyon sıcaklığı görülmektedir. Oksidatif indüklenme sıcaklığı artışının tespiti antioksidan etkiye işaret etmektedir[8]. Bu amaçla DSC analizi sonucunda doğrudan süperkritik özütün kullanılması halinde oksidasyon sıcaklığının $138,2^\circ\text{C}$ olduğu, bir doğal antioksidan olan alfa-tokoferol ile birlikte

kullanılması halinde ise $146,2^\circ\text{C}$ ’ye yükseldiği tespit edildi. Oksidasyon sıcaklığındaki bu artış ile elde edilen özütün diğer bir doğal antioksidan olan alfa-tokoferol ile uyum gösterdiği sonucuna varıldı[8, 15].



Şekil 4. 90 bar'da SC CO₂ özütü DSC grafiği (DSC graphics of SC CO₂ extract at 90 bar)



Şekil 5. 90 bar'da SC CO₂ özütü ve alfa-tokoferol'ün DSC grafiği (DSC graphics of SC CO₂ extract alpha tocopherol at 90 bar)

4. SONUÇLAR (CONCLUSIONS)

Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SCFE) farklı özelliklere sahip olmasından dolayı, geleneksel çözücü ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak kabul edilmiştir. Süperkritik akışkanlar nispeten düşük viskozite ve yüksek difüzyona sahiptir. SCF'de, çözücünün numuneler üzerine akışı sürekli olarak sağlanmaktadır, böylece ekstraksiyon tam olarak gerçekleştirilebilmektedir. Süperkritik CO₂ içerisinde çözünen madde, basıncın azaltılmasıyla kolayca ayrılabilir. SCFE genellikle düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilmektedir, bunun sonucunda ısıya duyarlı (hassas) bileşenlerin ekstraksiyonu için ideal bir teknik olabilmekte ve ekstraksiyon esnasında istenmeyen yan ürünlerin oluşması önlenmektedir. SCFE işlemlerinin büyük kısmında kullanılan akışkanın (genelde CO₂) geri kazanılması yoluyla

yeniden kullanımı sonucunda atık üretimi minimum yapılmaktadır[16]. Sıvı yakıtlarda antioksidan etkinin bulunmasıyla oksidatif indüklenme sıcaklığı artırılmakta ve yakıtın bozunması önlenmektedir. Ticari uygulamalarda öne çıkan bu durum, elde edilen sonuç ile sanayide uygulanabileceği gibi gıda, farmasötik ve ilaç endüstrisi alanlarında da uygulanabilecektir. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalarda süperkritik özütlemeye değişik süre ve karbondioksit akış hızlarında çalışılabilir, ayrıca böğürtlen özütünün bahis konusu diğer sektörlerde de kullanılabilirliği araştırılabilir. Süperkritik özütleme verimlerinin 85 bar ve 90 bar'da oldukça yakın olması ile ticari boyuttaki çalışmalarda üstünlük oluşturabilir, ayrıca yardımcı çözücünün (co-solvent) kullanılmaması ekonomik sonuçlar getirebilir. Bahse konu bu

çalışmaların pilot ölçekte denenebilir olması ülke sanayine katkı sağlayabilir.

5. TEŞEKKÜR (ACKNOWLEDGEMENT)

Bu çalışma 2001K120590 no.lu DPT Projesi tarafından desteklenmiştir.

6. KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Smith, J.M., Van Ness, H.V.C., Abbott, M.M., **Introduction to Chem. Eng. Thermodynamics**, McGraw Hill Comp., Int. Editions, fifth ed., Appendix B, Table B1, 636,1996.
2. Fernandez et al., Kinetics study of a dichlorotriazine reactive dye in super-critical carbon dioxide, **J. of Supercritical Fluids**, Cilt 32, 147-152, 2004..
3. Lee et al., Measurement and correlation of dye solubility in supercritical carbon dioxide, **Fluid Phase Equilibria**, Cilt 173, 277-285, 2000..
4. Cadoni et al., Supercritical carbon dioxide extraction of lycopene and β - carotene from ripe tomatoes, **Dyes and Pigments**, Cilt 44,27-32, 2000.
5. Pantelidis et al., Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries, **Food Chemistry**, Cilt 102, 777-783,2007.
6. Kähkönen et al., Berry anthocyanins: Isolation, identification and antioxidant activities. **J.of Sci. Food Agric.** Cilt 83,1403-1411,2003.
7. Louli et al., Recovery of phenolic antioxidants from wine industry by-products, **Bioresource Technology**, Cilt 92, 201-208,2004.
8. Dunn, R. O., Effect of antioxidants on the oxidative stability of methyl soyate biodiesel, **Fuel Processing Technology**, Cilt 86,1071-1085, 2005.
9. Maróstica,M.R., et al., Supercritical Fluid Extraction and Stabilization of Phenolic Compounds From Natural Sources – Review (Supercritical Extraction and Stabilization of Phenolic Compounds),**The Open Chemical Engineering Journal**, 4, 51-60, 2010
10. Carvalho, R.N.,et al., Supercritical fluid extraction from rosemary (*Rosmarinus officinalis*): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity **The Journal of Supercritical Fluids**, Volume 35, Issue 3, 197-204, 2005.
11. Bozkırlı D.O., **Aspir çiçeğinden (carthamus tinctorius) süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile doğal boya eldesi ve uygulanabilirliği**, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İleri Teknolojiler Anabilim Dalı, 2007.
12. Şensoy N.D., **Adaçayı (Salvia officinalis) yapraklarından süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu ile doğal antioksidan eldesi ve tayini**, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, 2007.
13. Maccarone et al., Stabilization of anthocyanins of blood orange fruit juice, **J.Food Sci.** Cilt 50 901-904, 1985.
14. Wawer, I. ve Witkowski, S., Analysis of solid state ¹³C NMR spectra of biologically active compounds, **Current Organic Chemistry**, Cilt 5, 987-999,2001..
15. Wada, S., Fang, X., The synergistic antioxidant effect of rosemary extract and tocopherol in sardine oil model system and frozen fish meat, **J. of Food Process Preservation**, Cilt 16, 263-274, 1992.
16. Akgün, M., Akgün, N. A., Baran, N., Deniz, S., Dinçer, S., **“Süperkritik akışkanlar ve uygulama alanları”**, *Kimya Teknolojileri*, Cilt 3, 58-67, 2001.

