

DOĞU KARADENİZ BÖLGESİ KAYIN VE LADİNİ SOXHLET VE SÜPERKRİTİK GAZ EXSTRAKTLARINDAKİ TERPENLER

Karadeniz Teknik Üniversitesi Temel Bilimler Fakültesince

«Fen Doktoru»

Ünvanının verilmesi için kabul edilen tezdin

Yük. Müh. Oktay TORUL

Tezin Dekanlığa Veriliş Tarihi : 9.7.1980

Sözlü Sınav Tarihi : 9.1.1981

Doktorayı Yöneten Öğretim Üyesi : Prof. Dr. Aral OLCAY

Doktora Komisyon Üyesi : Prof. Dr. Turgut NOYAN

Doktora Komisyon Üyesi : Prof. Dr. Halidun CİVELEKOĞLU

TEŞEKKÜR

Doktora konumun seçimi ve çalışmalarımın yönetimi-nde yar-
dımlarını bir an olsun esirgemeyen değerli hocam Sayın Prof.Dr.
Aral OLCAY'a sonsuz şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Ayrıca, çalışmalarımda AÖ. Fen Fakültesi İnci Kimya Kürsüsü
Araştırma Laboratuvarından yararlanmamı sağlayan kıymetli hocam
Sayın Prof.Dr. Aral OLCAY'a, kütle spektrumu alan Sayın Dr.
Taner TUĞRUL'a ve diğer kürsü elemanlarına teşekkür ederim.

Oktay TORUL

Ö Z E T

Odun, çok yaygın ve nisbeten ucuz sağlanabilen önemli bir hammadde kaynağıdır. Bu nedenle bir yandan orman alanlarını yaygınlaştırma ve ağaç cinslerini ıslah çalışmaları yapılırken, öte yandan odun artıklarından ve yan ürünlerinden kimyasal hammadde üretim çalışmaları önem kazanmaktadır.

Odun ekstraktivlerinin kazanılmasında son yıllarda uygulanması denenen süper kritik gaz ekstraksiyonu, odunun ileride büyük ölçüde kimyasal hammadde kaynağı olarak kullanılabilceğini göstermektedir.

Terpenlerin, ticari değeri yanında, bitkilerin sınıflandırılması (taksonomi), fizyolojik ve anatomik yapılarının aydınlatılması çalışmalarına da önemli katkıları olmaktadır. Bitki aleminin çeşit zenginliği, odun teknolojisinin sürekli gelişimi ve terpen sayısının çok olması bu sahada daha detaylı çalışmaların yapılmasına yol açmıştır.

Sunulan çalışmada, Doğu ladini (*Picea Orientalis*) ve Doğu kayını (*Fagus Orientalis*) nın asetonla soxhlet ve süperkritik gaz ekstraksiyonu yapılmıştır. Soxhlet aseton ekstraktivleri, ladinde % 1,59 kayında % 2,54, süperkritik gaz ekstraktivleri, ladinde % 6,78 kayında % 9,55 bulunmuştur.

Aseton ekstraktivleri, petrol eterinde çözünenler ve çözünmeyenler olmak üzere iki fraksiyona ayrılmıştır. Petrol eterinde çözünenler sabunlaştırılarak, sabunlaşan ve sabunlaş-

mayan maddelere ayrılmıştır. Sabunlaşmayanlardaki terpenler ve diğer uçucu maddeler, subuharı distilasyonu ile ayrılmıştır. Terpenlerin ayrılması, alümina kolon ve silika-jel ince tabaka kromatografisiyle sağlanmıştır.

Terpenler, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS) birleşik sistemiyle incelenerek, yapılarının aydınlatılmasına çalışılmıştır. Soxhlet ve süperkritik gaz ekstraktivlerinden elde edilen terpenlerin nitel ve nicel değişimleri karşılaştırılmıştır.

S U M M A R Y

Wood is a very common and relatively cheap source of chemical raw materials. While works on the extension of the forest areas and on the improvement of tree species are being continued, efforts to produce chemical raw materials from wood and from byproducts of pulp and paper industries are increasing.

The super critical gas extraction studies found useful in obtaining wood extractives, indicates that wood can extensively be used as a source of chemicals.

Apart from their commercial importance terpenes contribute to the classification (taxonomy) and the explanation of the physiological and anatomical structure of plants. The great number of species in plant kingdom, continuous development of wood technology and complexity of terpenes in chemical nature and number necessitate detailed studies in this field.

In this work, the soxhlet and super critical gas extraction of Oriental spruce (*Picea Orientalis*) and Oriental beech (*Fagus Orientalis*) with acetone has been carried out. While yield of the soxhlet extracts are 1,59 % from spruce and 2,54 % from beech, yields of the super critical gas extracts are 6,78 % and 9,55 % respectively.

The acetone extracts are separated in two fractions; petroleum ether solubles and petroleum ether insolubles. The petroleum ether soluble fraction is separated into saponifiable and unsaponifiable materials by saponification. Terpenes and other volatile materials of unsaponifiables have been separated by steam distillation. Separation of terpenes has been carried out on an alumina column and on a silica-gel thin layer.

Terpenes have been analyzed by the combined system of gas chromatography and mass spectrometry. Terpene content of soxhlet and super critical gas extracts have been compared qualitatively and quantitatively.

Y. G İ R İ Ş

Odun, bugüne kadar en fazla yakacak, tomruk, maden direği, sanayi odunu, kağıt ve selüloz üretiminde kullanılmaktadır. Halbuki ormanda kesilip budanan odunun % 40-50 si ormanda kalmakta, kereste ve kağıt üretiminde de % 20-30 u kaybedilmektedir¹.

Odun artıklarının kimyasal hammadde kaynağı olarak değerlendirilmesi ve odunun tamamından yararlanılması için son yıllarda önemli araştırmalar yapılmaktadır². Finlandiya'da yapılan bir araştırmada, asetonla ekstrakte edilebilecek madde kaybının yılda 200.000 ton olduğu belirtilmektedir³.

Ülkemizin yaklaşık % 26 sı ormanlarla kaplı olup, orman kaynaklarımızın % 70 inden fazlası yakacak, geri kalanı da diğer alanlarda tüketilmektedir⁴. Ormanca zengin gelişmiş ülkelerde ise orman kaynaklarının % 5-15 i yakacak olarak tüketilmekte ve tamamının sanayide kullanılması düşünülmektedir⁵.

Geniş orman kaynaklarına sahip ülkemizde, odunun en iyi şekilde değerlendirilmesi, ülke ekonomisine büyük katkılar sağlayacaktır.

Odun yan ürünlerinin değerlendirilmesine, bu asrın başlarında Amerika'da başlanmıştır. 1927 yılında reçine üreti-

minde büyük ilerleme olmuştur. Kaiser ve Hancock⁶'un reçine rafinasyonu ile ilgili patentleriyle, kaliteli reçine ve reçine türevlerinin üretimine başlanmıştır. Anderson⁷, reçinece zengin Ponderosa çam dip kütüklerini asetonla ekstrakte ederek % 17 ekstraktiv madde elde etmiştir. Ekstraktivlerden başlıca, reçine asitleri, yağ asitleri ve terebantın yağı üretilmektedir. Rusya ve Polonya'da odun artıkları petrol eteriyle (kn. 35-65 °C) ekstrakte edilerek, terebantın yağı ve diğer ekstraktiv maddeler elde edilmektedir⁸.

Bugüne kadar odun yan ürünlerinin ticari üretimi aşağıdaki yöntemlerle yapılmaktadır.

1. Canlı ağaçların yaralanmasıyla akan ham reçine (oleorosin) nin toplanması,
2. Odun artıklarının uçucu çözücülerle ekstraksiyonu,
3. Odundan sülfat yöntemiyle kağıt üretiminde yan ürün olarak tall oil ve terebantın yağının kazanılması,
4. Odunun bozunma distilasyonu.

Ham reçine ve odun ekstraktivlerinin subuharı ile geçen kısmına terebantın (turpentine - terpentiniöl) yağı denmektedir. Ham reçine üretimiyle birlikte terebantın yağı üretimine de başlanmıştır. Sınai olarak üretilen terebantın yağlarının sınıflandırılması, üretim yöntemlerine göre yapılmıştır^{9,10}.

a. Terebantın Esansı (Gum Spirits of Turpentine) :

Ham reçineden, subuharı distilasyonu ile elde edilmektedir. Reçinenin kalan kısmına da kolofan (rosin) denmektedir,

- b. Subuharı ile Damıtılmış Odun Terebantın Yağı (Steam Distilled Wood Turpentine - Wurzelterpentinöl) : Kıymık ya da toz haline getirilen odunun ve odun ekstraktivlerinin subuharı distilasyonu ile üretilmektedir,
- c. Sülfat Terebantın Yağı (Sulfat Turpentine - Sulfat-terpentinöl) : Kraft yöntemiyle kağıt üretiminde, pişirme kazanlarında uçucu hale geçen yağların, yoğunlaştırılıp toplanmasıyla kazanılmaktadır,
- d. Ayırıştırılarak Damıtılmış Odun Terebantın Yağı (Destructively Distilled Wood Turpentine) : Odunun ısıtılarak damıtılması sırasında çıkan buharların yoğunlaşmasıyla oluşan yağın fraksiyonlanmasıyla elde edilmektedir.

Terebantın yağlarının kaynak ve üretim yöntemlerinin farklılığı, kimyasal bileşimlerini oldukça değiştirmektedir⁹. Tablo 1.1'de çeşitli terebantın yağlarının kimyasal bileşimleri verilmiştir.

Türkiye'de ham reçine üretimi, 1956 yılında başlamıştır¹¹. 1961 yılından itibaren, ham ya da işlenmiş halde ihraç edilmektedir.

Ham reçinenin toplanması masraflı ve yağ asitlerince fakir olması nedeniyle, günümüzde üretimi tercih edilmemektedir. Odunun bozunma distilasyonunda ise, birçok madde bulunduğu ve kaybolduğu için pek ender yapılmaktadır. Reçinece zengin çam dip kütükleri, uçucu çözücülerle ekstrakte edilmekte, sülfat prosesinden yan ürün olarak tall oil ve terebantın yağı üretimi sürdürülmektedir.

A.B.D.	α -pinen	β -pinen	Kamfen	Dipenten,diğer mono siklik terp.ve p-simen
Terebantın Esansı	60-65	25-35	-	-
Subuharı ile Damıtılan				
Odun Terebantın Yağı	75-80	0-2	4-8	5-8
Sülfat Terebantın Yağı	60-70	20-25	-	6-12
Ayrıştırılarak Damıtılmış				
Odun Terebantın Yağı	10			Esas miktar
Sülfat Terebantın Yağı	-	-	-	70-90

Tablo 1.1- Çeşitli Terebantın Yağlarının Yaklaşık % Kimyasal Bileşimleri

Son yıllarda, iğne yapraklı ağaçların yaprak ve ince dallarından subuharı distilasyonu ile terebantın yağı üretimi çalışmaları yapılmaktadır¹². Türkiye'de de çeşitli çam türlerinin yaprak ve ince dallarından, subuharı distilasyonu ile terebantın yağı üretimi denemeleri yapılmıştır¹³.

Terebantın yağlarının esas bileşenleri olan terpenlerin ticari değeri yanında, bitkilerin sınıflandırılması (taksonomi), fizyolojik ve anatomik yapılarının aydınlatılması çalışmalarına da önemli katkıları olmaktadır. Bu konuda, Edrtman¹⁴ geniş araştırmalar yapmıştır. Nirov¹⁵, çok sayıda ham çam reçine terebantın yağları üzerinde yaptığı araştırmalarda, bir türün içerdiği terpenlerin, farklı iklim ve çevre özellikleriyle nitel olarak değişmediğini, ancak basit terpenler, iğne yapraklı ağaçlara geniş ölçüde dağılmış olduğundan, tür belirlemelerinde yetersiz kaldıklarını, az miktarda ve daha kompleks yapıda olan terpenlerden, daha çok yararlanılabileceği sonucunu çıkarmıştır.

Iğne yapraklı (coniferae) ağaçların terebantın yağları üzerinde yapılan araştırmaların hepsinde α -pinen bulunmuştur. α -pinen iğne yapraklı ağaçları karakterize etmekte, ancak cinslerin ve türlerin belirlenmesini sağlamamaktadır.

Çamlarda, α -pinen yanında bulunan ve miktarları farklı türlerde % 95e kadar çıkan n-heptan, n-undekan, β -fellandre, limonen, β -pinen ve Δ -3-karenden türlerin belirlenmesinde yararlanılmaktadır¹⁶. Çeşitli ladinlerin terebantın yağları üzerinde yapılan araştırmalarda; yaprak terebantın yağında bulunan ve miktarları % 5,2 - 49,3 arasında değişen borneol ve bornil asetatın ladin cinslerini karakterize ettikleri belirtilmiştir¹⁷. Birçok köknar türünün terebantın esansı

üzerinde yapılan çalışmalarda; α -pinen % 8-71, β -pinen % 3-69, kamfen % 0-52, Δ -3-karen % 0-38, limonen % 0-53 ve β -fellandre % 0,5-54 arasında bulunmuştur¹⁸. Kökнарların yaprak terebantın yağlarında ise; santen % 0-4,7, trisiklen % 0,3-1,5, α -pinen % 5,9-30,0, kamfen % 1,3-23,5, β -pinen % 4,3-58,4, Δ -3-karen % 0-32,5, limonen % 2,9-54,6, β -fellandre % 0-16,9, bornil asetat % 0,8-32,4 ve borneol % 0-4,8 arasında bulunmuştur¹⁹. Görüldüğü gibi kökнарlarda terebantın yağlarının kimyasal bileşimleri oldukça geniş aralıklarda değişmektedir. Kökнарların sınıflandırılmasında bu farklılıklardan önemli ölçüde yararlanılmaktadır.

Son yıllarda, odunun süperkritik gaz ekstraksiyonu geliştirilmektedir. A. Olcay ve çalışma arkadaşları²⁰ tarafından yapılan araştırmalar sonucu, bu prosesin ekstrakt verimini önemli ölçüde artırdığı belirtilmiştir.

Sunulan çalışmanın amacı, Doğu Ladini (*Picea Orientalis* (L) Link) ve Doğu Kayını (*Fagus Orientalis* Lipsky) odunlarının asetonla soxhlet ve süperkritik (240 °C, 60-65 atm) gaz ekstraksiyonu ekstraktlarındaki terpenleri ayırıp, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC/MS) birleşik sistemiyle inceliyerek, nitel ve nicel değişimlerini aydınlatmaya çalışmaktır.

1.1- Odunun Kimyasal Yapısı

Odunun kimyasal yapısı çok kompleks olup, değişik yapıdaki kimyasal maddeler, odun hücresinde iç içe girmiş halde bulunmaktadırlar. Kimyasal analiz yöntemlerinin amacı, bu madde-

leri birbirinden ayırarak odunun kimyasal yapısını aydınlatmaktadır.

Odunun bileşiminde esas olarak C,H ve O elementleri bulunmaktadır. Odunun elementel analizi, kuru odun üzerinden % 48,9-50,2 C, % 5,8-6,1 H, % 43,4-44,5 O, % 0,2-0,4 N ve % 0,2-0,5 kül olarak verilmektedir²¹. Odun cinslerine ve farklı kesimlerine göre bu değerler az da olsa değişmektedir.

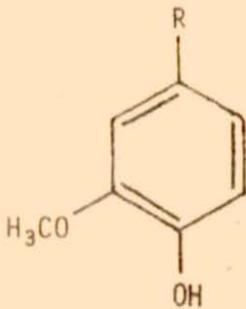
Odunun ana bileşenleri,holoselüloz (selüloz + hemiselüloz) ve lignin olup, odunun % 98'inden fazlasını oluşturmaktadırlar. Odun ekstraktivleri ise genellikle % 1-2 arasında değişmektedir. Ekstrakte edilmiş kuru odun üzerinden ortalama olarak; yumuşak odunlarda % 43 selüloz, % 28 hemiselüloz ve % 29 lignin, sert odunlarda % 43 selüloz, % 35 hemiselüloz ve % 22 lignin bulunmuştur²².

Holoselüloz, değişik yapıdaki karbonhidrat ve bunlarla yakın ilgisi bulunan maddelerden oluşmaktadır. Beş karbonlu pentozlar (ksiloz ve arabinoz) ve altı karbonlu heksozlar (glükoz, mannoz ve galaktoz) karbonhidratların birim molekülleri olup,bunlar bilinen monosakkaritlerdir. Holoselüloz, monosakkaritlerin polimerleşmesiyle oluşan polisakkaritlerdir.

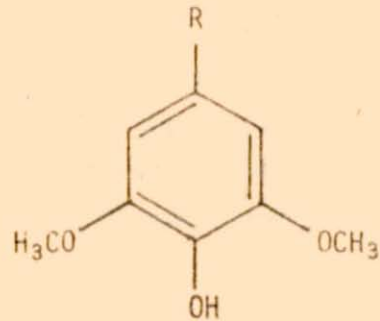
Selüloz, çok sayıda glikoz anhidrit moleküllerinin polimerleşmesiyle oluşmaktadır. Polimer zincirini oluşturan molekül sayısı 5-10 bin arasında olduğu tahmin edilmektedir. Selülozun oda sıcaklığında % 17,5 NaOH ya da % 25 lik KOH de çözünen kısmına β ve γ selüloz, çözünmeyen kısmına da α selüloz denmektedir.

Hemiselüloz, pentoz ve heksozların polimerleşmesiyle oluşan pentazon ve heksazonları içermektedir. Heksazon ve pentazonlarda polimerizasyon derecesi düşük olup selülozdan daha kolay hidroliz olmaktadır. Yumuşak odunlar daha çok heksazonları, sert odunlar ise pentazonları içermektedirler.

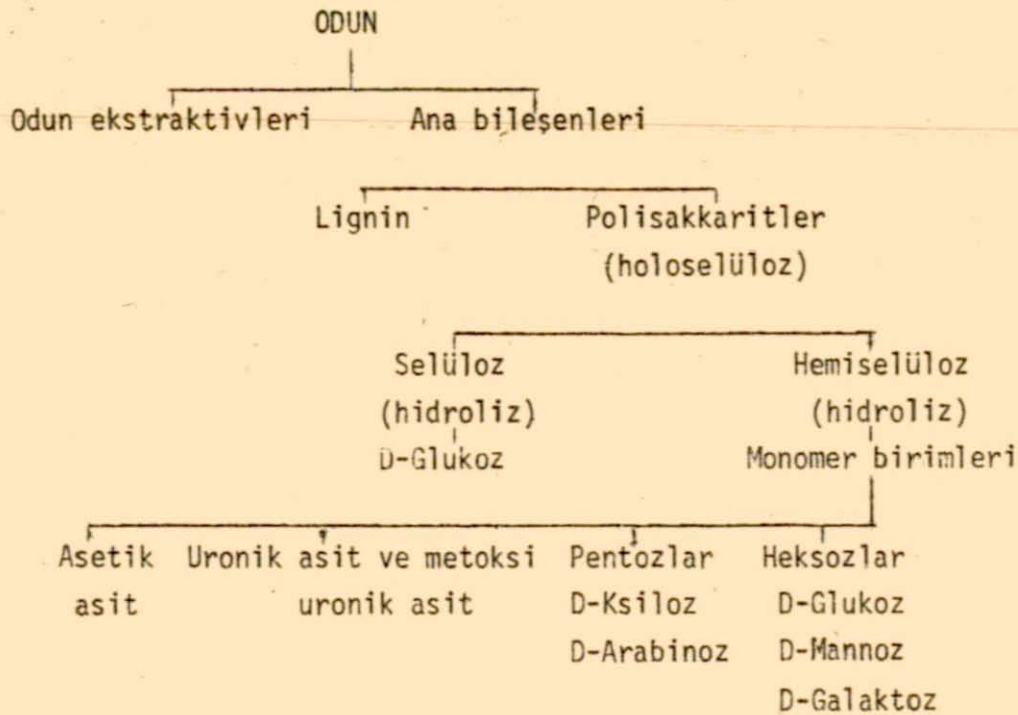
Bugüne kadar yapılan araştırmalarda ligninin yapısı tam olarak aydınlatılamamıştır. Lignin parçalanma ürünlerinden, esas yapının aromatik olduğu, başlıca metoksil ve hidroksil guruplarını içerdiği bilinmektedir. Yumuşak odun ligninlerinin parçalanmasıyla başlıca guayasil halkaları, sert odunlarda ise guayasil halkalarının yanında siringil halkaları da oluşmaktadır.



Guayasil halkası



Siringil halkası



Şekil 1.1-Odunun kimyasal bileşimi

2. ODUN EKSTRAKTİVLERİ

Odun ekstraktivleri, odun cinslerinde ve farklı kesimlerinde değişmekle beraber, genel olarak % 1-2 arasında değişmektedir. Yaralanmış odunların gövde ve köklerinde bu oran %30'a kadar çıkmaktadır²³. Odun ekstraktivleri, ağacın yaşına, kesildiği mevsime, çevre ve iklim özelliklerine, kesilmiş halde bekleme süresine, hatta aynı yörede yetişen aynı cins odunlarda, odundan oduna değişmektedir^{24,25}. Geniş bir madde topluluğunu içeren ekstraktiv maddeler genel olarak üç grupta toplanmıştır²⁶.

1. Odundan subuharı distilasyonu ile ayrılan eterik yağlar. Eterik yağlar başlıca; mono, seski ve diterpen hidrokarbonları, alifatik ve diğer siklik hidrokarbonları, terpen alkol, aldehit ve ketonları uçucu yağ asitlerini ve bazı fenollerini içermektedir.

2. Organik çözücü ekstraktivleri; reçine asitleri, uçucu olmayan yağ asitleri, triterpenler, steroller, vakslar, yağlar ve polimerik reçinelerdir.

3. Suda çözünen ekstraktivler; karbonhidratlar, pektinler, odun nişastası, proteinler, tanenler ve mineral bileşikleridir.

Genellikle yumuşak odunlar sert odunlardan daha fazla ekstraktiv madde içermektedirler. Sert odunların birkaç cinsi hariç, eter ekstraktivleri % 1'den azken, yumuşak odunlarda

% 15'e kadar çıkmaktadır²⁷. Yapılan araştırmaların çoğunda, odun özünün diri kısmından daha fazla ekstraktiv madde içerdiği bulunmuştur. Yumuşak odunlar içerisinde en fazla reçine içeren çam türleri olup, araştırmalar çam ekstraktivleri üzerine yoğunlaşmıştır.

Sert odunlarda reçine kanalları olmayıp, parankima dokuları da reçine içermezler. Dikey parankima dokusunda çok az miktarda reçine bulunmuştur ki, bu da odunun çok küçük bir parçasını teşkil etmektedir²⁸. Sert odunlardan farklı olarak, yumuşak odunların çam (pinus), ladin (picea larix) ve Pseudotsuga Menziessii cinslerinde doğal olarak reçine kanalları bulunurken, diğer cinslerinde bu kanallar ancak yaralanma sonucu oluřmaktadır²⁷.

Reçine kanalları ham reçine (oleoresin) içermektedir. Ham reçine, reçine kanallarını saran epitel hücreleri tarafından sentez edilmektedir. Doğal reçine kanalları yatay ve dikey iletim sistemi oluşturarak epitel hücrelerinin baskısı altında bulunan ham reçinenin yaralanma sonucu salgılanmasını sağlarlar.

Bugüne kadar parankima reçinesinin analizi yapılmamıştır. Tüm odun reçinesi ve ham reçinenin analizi yapılmış ve bileşimlerinde önemli farklılıklar görülmüştür. Ladin (Picea Abies) ve bataklık çamı (Pinus Palustris) odunlarının tüm odun ve ham reçine bileşimleri Tablo 2.1'de verilmiştir.

	Picea Abies ²⁹		Pinus Palustris ³⁰	
	Ham reçine	Odon reçinesi	Ham reçine	Odon reçinesi
Reçine asitleri	69,7	24	90	36
Yağ asitleri	2,2	48,5	6	54
Sabunlaşmayanlar	24,8	20	4	9

Tablo 2.1-Ham reçine ve odun reçinesinin % kimyasal bileşimi

Odon reçinesinde, reçine asitleri büyük ölçüde ham reçineden geldiklerine göre, yumuşak odunların parankima dokuları sert odunlarda olduğu gibi başlıca yağ asitlerini ve sabunlaşmayan maddeleri (hidrokarbonlar, triterpenler, steroidler ve yüksek alkoller) içermektedir. Ham reçinenin bileşimi yumuşak odun cinslerine göre değişmekle beraber, yaklaşık % 15-35'ini uçucu terpenler, % 65-85'ini de reçine asitleri ve uçucu olmayan terpenler oluşturmaktadır³¹. Ham reçinedeki yağ asitlerinin miktarı, odun reçinesine göre çok azdır.

2.1- Ladin Ekstraktivleri

Ladinler, Kuzey Yarım Kürede soğuk bölgelere uzanan, çok geniş bir alana yayılmışlardır. Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da değişik sayılarda dağılmış, çok sayıda türleri vardır. Doğu Ladini (Picea Orientalis L.Link), Kafkaslardan başlayarak Kuzeydoğu Anadolu'nun Karadeniz kıyılarında, Ordu ili Melet Irmağının Kızıldere kaynaklarına kadar uzanmaktadır³².

Geniş ormanlar halinde bulunduğu yer Doğu Karadeniz'in dağlık bölgesidir.

Doğu Ladini, 60 m'den fazla boy, 2 m'den fazla çap alabilen düzgün gövdeli, dibe kadar sık dallı bir ağaçtır. Nemli havaları, besince zengin ve serin toprakları sever, odunu hafif, yumuşak, düzgün yapılışlı, beyaz ve esnektir. Sanayide kereste, kağıt ve selüloz üretiminde çok kullanılmaktadır.

Avrupa'da çok geniş bir alana yayılan ve yaklaşık 140 türü bulunan Norveç Ladini (*Picea Abies* L. Karts) ekstraktivleri üzerinde birçok araştırma yapılmıştır. Aseton ekstraktivleri % 1-2,5, eter ekstraktivleri % 0,8-1,5 arasında bulunmuştur^{24,33,34} Ekstraktiv madde miktarı, ağacın yaşı, genetik faktörleri, coğrafik ve iklim özelliklerine göre değişimi incelenerek, güney bölgelerde yetişen ağaçların kuzeyde yetişenlerden ve yaşlı ağaçların genç ağaçlardan daha fazla madde içerdikleri belirtilmiştir. Mevsimlere göre ekstraktiv madde miktarının değişimi araştırılmış; petrol eteri ekstraktivlerinin değişimi, ağaçtan ağaca ekstraktiv madde miktarının değişimi nedeniyle saptanamamış, aseton ekstraktivlerinin, ağaçların en genç dış halkalarında kışın %2'ye kadar çıktığı, 6-10 yıldan daha yaşlı ağaçlarda, ilkbaharda azalıp yazın kuru odun üzerinden % 0,3'e eriştiği belirtilmiştir³⁵.

Assarsson ve Akerlund³⁶, Norveç ladininde uçucu olmayan aseton ekstraktivlerini araştırmışlardır. Aseton ekstraktivleri % 2,2 olup, eterde çözünenler % 1,24, petrol eterinde çözünenler % 1,04 bulunmuştur. Petrol eterinde çözünenler; % 7,52 serbest yağ asitleri, % 27,37 reçine asitleri ve

% 62,3 nötral bileşiklerden oluşmaktadır. Nötral bileşikler; petrol eterinde çözünenler üzerinden, % 1,84 hidrokarbonlar, % 3,41 vakslar, % 18,67 trigliseridler, % 5,26 digliseridler, % 5,26 monoqliseridler, % 9,55 yüksek alkol-ler ve % 13,5 diğer oksijenli bileşiklerden ibarettir.

Norveç ladinini (*Picea Excelsa*) nin aseton ve eter ekstraktivlerinin bileşimi Tablo 2.2'de, taze kesilmiş ve havada bırakılmış ladin odunlarının, petrol eteri, eter, diklor etan ve aseton ekstraktivlerinin bileşimi de Tablo 2.3'de verilmiştir.

2.2- Kayın Ekstraktivleri

Kayın, Kafkasya, Kuzey İran, Anadolu ve Kuzeydoğu Avrupa'ya yayılmıştır. Doğu Kayını (*Fagus Orientalis* Lipsky), Türkiye'de bilhassa Karadeniz sahilinde yetişmektedir⁴⁰. Rus sınırından başlayıp, Trakya'ya kadar uzanmakta, güneyde Amonos dağlarında da yetişmektedir. Kayın, 30-40 m boy ve 1 m'nin üzerinde çap yapabilen, dolgun ve düzgün gövdeli 1. sınıf orman ağacıdır. Olunu sert olup, araba karoseri, mobilyacılık, kontraplak yapımı ve yakacak olarak kullanılmaktadır.

Fagus Grandifolia odununda, eter ekstraktivleri, tüm odunda % 0,30-0,86, diri odunda % 0,19-0,26 ve odun özünde % 0,38-0,57 arasında bulunmuştur²⁷. Yeni Zellanda'nın dört cins kayın (*Nothafagus*) odunu üzerinde yapılan bir araştırmada, petrol eteri ekstraktivleri % 0,2-0,6 arasında bulunmuştur⁴¹. Öğütülmüş kayın numunelerinin petrol eteriyle (60-80 °C) 18 saat soxhlet ekstraksiyonu yapılmış, çözücü vakumda uzaklaştırılarak sarı renkli bir yağa deriştirilmiştir. Ekstraktivler serbest yağ asitleri, hidrokarbon-

Odun	% Toplam ekstrakt	% Asitler			% Nötraller			Çözücü	Araştırmacı
		Toplam	Reçine asitleri	Yağ asitleri	Toplam	Sabunlaşma.	Sabunlaşan		
Norveç Ladini (Picea Excelsa)	2,03	53,6	41,2	12,0	46,4	19,7	25,7	Eter	Malevskaya ve Karnaukhava ³⁷
Aynı	2,57	58,1	45,9	12,2	41,3	16,3	23,5	Aseton	Aynı
Aynı	-	36,0	22,9	9,7	63,5	20,0	40,5	Eter	Kahila ³⁸

Tablo 2.2-Ladinin aseton ve eter ekstraktivleri

Odun	Çözücü	% Toplam ekstrakt	% Asitler			% Nötraller		
			Toplam	Reçine asitleri	Yağ asitleri	Toplam	Sabunlaşmayan	Sabunlaşan
Taze kesilmiş	Petrol eteri	1,70	0,74	0,48	0,24	0,95	0,38	0,55
	Eter	2,03	1,04	0,80	0,23	0,99	0,40	0,50
	Diklor etan	2,14	0,95	0,62	0,31	1,19	0,31	0,75
	Aseton	2,57	1,56	1,33	0,23	1,01	0,39	0,45
Havada bırakılmış	Petrol eteri	0,81	0,34	0,23	0,10	0,47	0,24	0,21
	Eter	1,57	0,85	0,61	0,21	0,69	0,34	0,34
	Diklor etan	1,63	0,79	0,45	0,29	0,84	0,26	0,56
	Aseton	2,46	1,41	1,01	0,40	1,05	0,41	0,60

Tablo 2.3- Taze kesilmiş ve havada bırakılmış ladin odunlarının petrol eteri, eter, diklor etan ve aseton ekstraktivleri³⁹

lar, steroller ve alkol fraksiyonlarına ayrılıp, yapıları tayin edilmiştir. Petrol eteri ekstraktivlerinin bileşimi; % 1,7-11,7 serbest yağ asitleri, % 31,5-55,2 bağlı asitler, % 7,0-12,6 hidrokarbonlar, % 17,5-34,9 steroller ve % 16,0-26,8 alkoller olarak verilmiştir. Kayının metanol ekstraktivlerinde başlıca flavonoidler ve poli fenoller bulunmuştur⁴². Kayın (*Nothofagus Solandri*) ekstraktivlerinin nötral fraksiyonunda, çok az miktarda yapısı aydınlatılamamış triterpenler bulunmuştur⁴³.

2.3- Terpenler

2.3.1-Terpenlerin Yapısı

Eskiden beri, bazı bitkilerin kök, gövde, dal, yaprak, çiçek ve meyvelerinde uçucu ve hoş kokulu maddelerin bulunduğu bilinmektedir. Bu maddelere uçucu yağlar " Volatile Oils", "Essential Oils" ya da eterik yağlar denmektedir⁴⁴.

Eterik yağların ana bileşenlerini terpenler oluştururlar. Terpenlere hayvanlarda (balık karaciğerinde) da rastlanmıştır⁴⁴. Kömür ve linyit üzerinde yapılan araştırmalarda da yüksek moleküllü terpenler bulunmuştur⁴⁵.

Terpenler, C_nH_{2n} ve C_nH_{2n}O elementlerini içeren, monosiklik, asiklik, polisiklik ve aromatik yapıda, çoğunluğu doymamış bileşiklerdir^{44,46}. Sıcaklık ve hava oksijeninin etkisiyle kolayca polimerize ve izomerize olurlar. Oda sıcaklığında terpen hidrokarbonlar genellikle sıvı, oksijenli

Terpen	Kaynama Noktası °C		Terpen	Kaynama noktası °C	
	760 mm	100 mm		760 mm	100 mm
α -pinen	156	89	Fençon	193	122
Kamfen	158	91	α -fençol	200	133
β -pinen	165	98	Terpinen 1-01	208	106
Mirsen	167	-	Kamfor	209	-
Δ -3-karen	170	104	Terpinen 4-01	211	123
α -terpinen	175	108	Borneol	212	-
Limonen	176	110	İzoborneol	214	-
p-simen	177	110	Mentol	216	-
γ -terpinen	182	116	α -terpinol	219	149
Terpinolen	186	120	Sitral	228	-

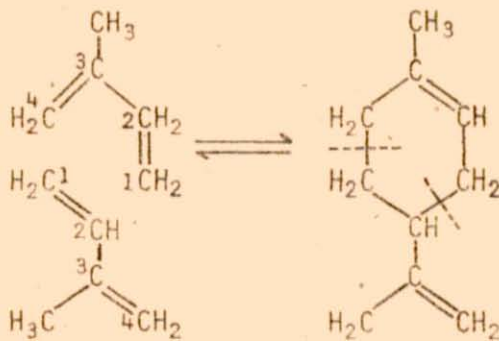
Tablo 2.4-Bazı terpenlerin 760 mm ve 100 mm Hg basıncındaki kaynama noktaları

terpen tüevleri ise katı halde bulunurlar. Kaynama noktaları 100°C nin üzerinde olmasına rağmen, buhar basınçlarının yüksek olması nedeniyle, oda sıcaklığında bile karakteristik kokuları duyulur. Tablo 2.4'de bazı terpenlerin 760 mm ve 100 mm Hg basıncındaki kaynama noktaları verilmiştir.

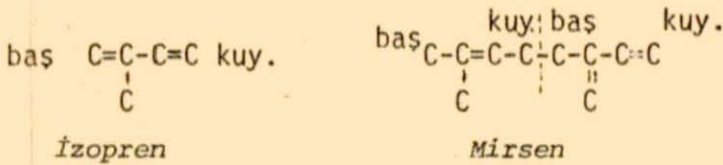
Eskiden, eterik yağlardaki $\text{C}_{10}\text{H}_{16}$ kapalı formülündeki doymamış izomerik hidrokarbonlar için terpen, bunların oksijenli tüevleri için kamfor terimleri kullanılmış, daha sonra kamfor terimi atılıp, hepsi terpen terimiyle ifade edilmiştir. Farklı kaynaklardan çok sayıda ve daha kompleks yapıda terpenler bulunduktan sonra, terpen terimi yerine "terpenoid" ya da "izoprenoid" terimleri kullanılmaktadır⁴⁶

İlk defa 1887 yılında Wallach, terpenlerin izopren (2-metil butadien) moleküllerinin polimerleşmesiyle oluştuklarını ileri sürmüştür⁴⁷. Daha sonra Rabinson tarafından yapılan araştırmalarla bu görüş desteklenmiştir. Ancak ağaçta doğal olarak serbest halde izopren molekülüne rastlanmamıştır. Terpenlerin izoprenden oluşup oluşmadıkları, terpenlerin biyosentezi yapılmıca kadar anlaşılamamıştır.

Terpen hidrokarbonların pirolizi ve doğal kauçuğun distilasyonu ile izopren, izoprenin 300°C de kapalı bir tüpte ısıtılmasıyla dipenten (dl-limonen) elde edilmiştir⁴⁶. İki yönlü olan bu reaksiyon şekil 2.1' de gösterilmiştir.



Bu dimerleşme bir Diels-Alder katılması olup, katılma, moleküllerden birinin 1,4 durumundaki karbon atomlarıyla, diğerinin 1,2 durumundaki karbon atomları arasında olmaktadır. Başka bir deyimle, moleküllerden birinin başı, diğerinin sonuna gelecek şekilde bağlanmaktadır. Terpenlerin bu oluşum şekline "izopren kuralı" denmiştir⁴⁷.



İzopren kuralından yararlanarak birçok terpen ve terpen türevinin yapısı aydınlatılmıştır. Fakat, bulunan bazı terpenlerin bu kurala uymadıkları görülmüştür⁴⁶.

2.3.2- Terpenlerin Sınıflandırılması

Terpenlerin sınıflandırılması, molekülü oluşturan izopren sayısına göre yapılmıştır⁴⁴. Tablo 2.5'de terpenlerin sınıflandırılması gösterilmiştir.

İzopren sayısı	Formül	Sınıf
2	$\text{C}_{10}\text{H}_{16}$	Monoterpenler
3	$\text{C}_{15}\text{H}_{24}$	Seskiterpenler
4	$\text{C}_{20}\text{H}_{32}$	Diterpenler
6	$\text{C}_{30}\text{H}_{48}$	Triterpenler
8	$\text{C}_{40}\text{H}_{64}$	Tetraterpenler
>8	$>\text{C}_{40}\text{H}_{64}$	Politerpenler

Tablo 2.5-Terpenlerin sınıflandırılması

Molekül yapısına göre her sınıf, asiklik, monosiklik ve polisiklik terpenler olarak alt sınıflara ayrılırlar.

2.3.3-Terpenlerin Adlandırılması

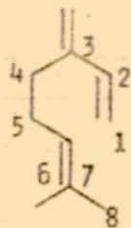
Terpenlerin adlandırılması genellikle sistematik olmayıp, ençok buldukları bitkinin Latince isimlerinden türetilmiştir⁴⁶. Örneğin, Pinus'dan pinenler, Thuja'dan tuyan, Cedrus'dan sedren vb. Oksijenli terpenler ise yarı sistematik olarak adlandırılırlar. Örneğin, kamfen'den kamfor, terpinen'den terpinol, mentol'den menton, geraniol'den geranial vb. Terpen halkalarının numaralanması değişik şekillerde yapılmış ve literatürde karışıklıklar olmuştur. Bu karışıklığı önlemek için basit terpenlerin halkalarının numaralanması uluslararası kurallarla saptanmıştır⁴⁸.

Önemli terpenlerin açık formülleri, sınıfları, halkalarının numaralanma sistemleri Şekil 2.2'de gösterilmiştir⁴⁹.

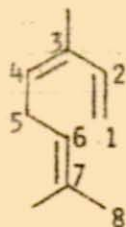
2.3.4-Terpenlerin Biyosentezi ve Biyolojik Fonksiyonları

Terpenlerin biyosentezi ile ilgili yapılan birçok araştırmadan sonra, terpenlerin bitki bünyesinde mevalonik asitten oluştuğu anlaşılmıştır⁵⁰. Mevalonik asit, adenosin trifosfatla (ATP) bir triterpen olan skualen'e dönüştürülmüştür. Reaksiyon ortamından monofosfat ve trifosfat ayrılmıştır. Bitki bünyesinde bu fosfatların enzimler tarafından ayrıldığı belirtilmiştir. İzotop denemeleri, mevalonik asitten ter-

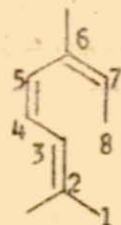
Asiklik Monoterpenler



Mirsen; 1,6-oktadien,
7-metil-3-metilen

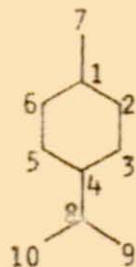


Osimen; 1,3,6-oktatrien,
3,7-dimetil



Allosimen; 2,4,6-oktatrien,
2,6-dimetil

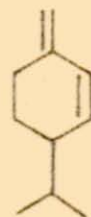
Monosiklik Monoterpenler



p-mentan halkası

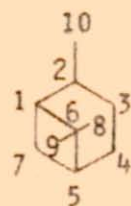


Limonen; p-menta-1,8-dien



β-fellandre;
p-menta-1(7),2-dien

Bisiklik Monoterpenler



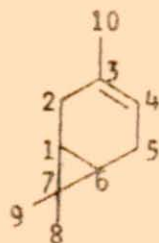
Pinen halkası



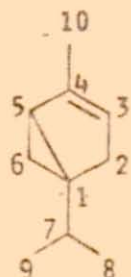
α -pinen; 2-pinen



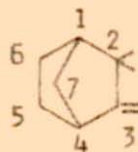
β -pinen; 2(10)-pinen



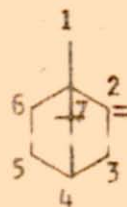
3-karen; Δ -3-karen



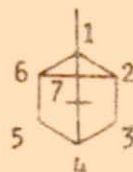
α -tuyan



Kamfen

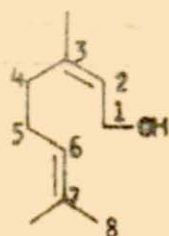


α -fençen

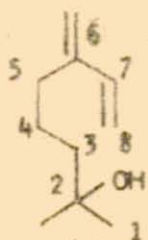


Trisiklen; trisiklo heptan, 1,7,7-trimetil

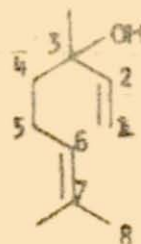
Asiklik Monoterpen Alkoller



Geraniol; 2,6-oktadien-1-ol,
3,7-dimetil

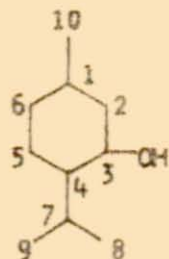


Mirsenol; 7-okten-2-ol,
2-metil-6-metilen

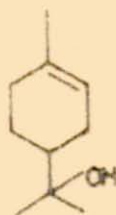


Linalool; 6-oktadien
-3-ol, 3,7-dimetil

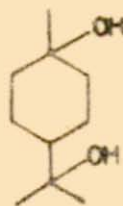
Monosiklik Monoterpen Alkoller



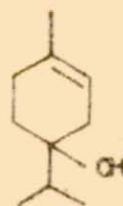
Mentol;
p-mentan-3-ol



α -terpinol;
p-ment-1-en-7-ol

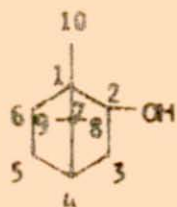


Terpin;
p-mentan-1,7-diol

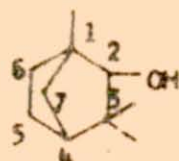


Terpinen-4-ol;
p-ment-1-en-4-ol

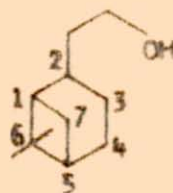
Bisiklik Monoterpen Alkoller



Borneol; 2-borneol

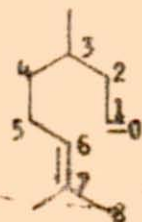


α -fençol; Fençil alkol

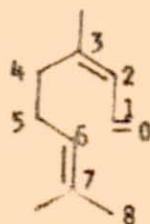


Nopol; 2-norpinen
-2-etonol, 6,6-dimetil

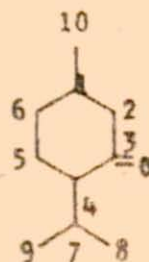
Monoterpen Aldehid ve Ketonlar



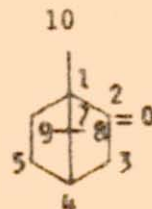
Sitronellal;
tenal-3,7-dimetil



Sitral;
2,6-oktadienal,
3,7-dimetil

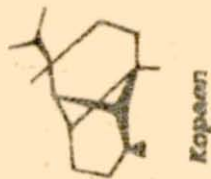
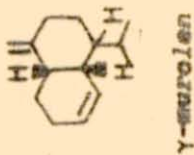
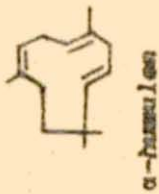
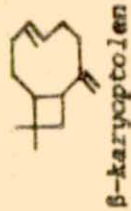


Menton
p-mentan-3-on

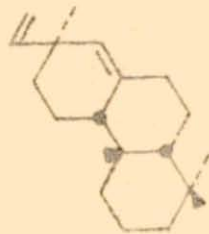
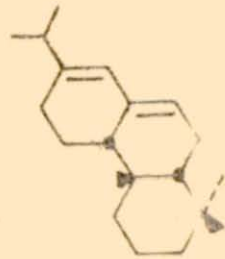


Kamfor

Seskiterpen Hidrokarbonlar



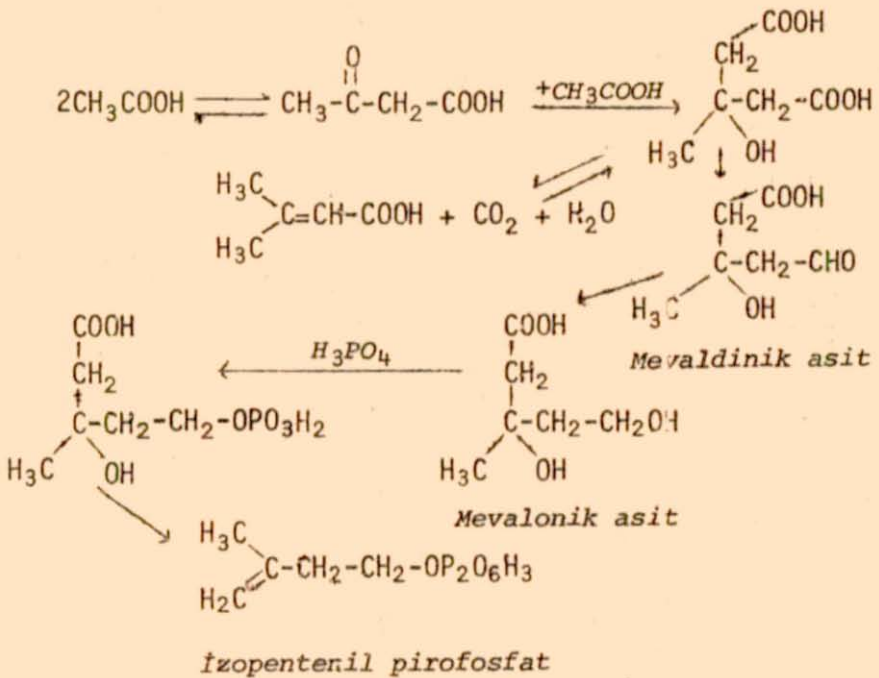
Diterpen Hidrokarbonlar



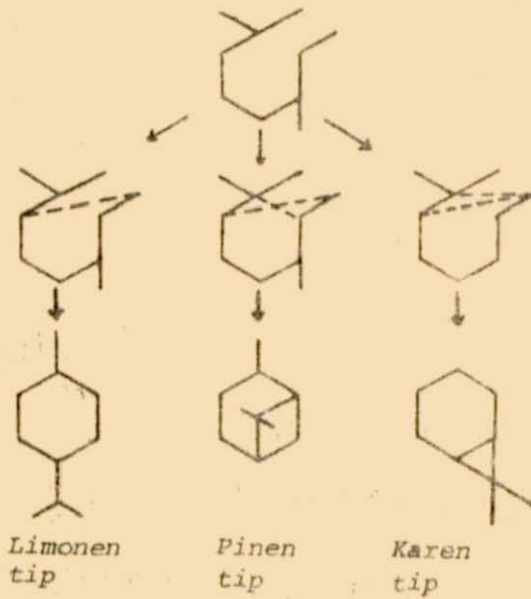
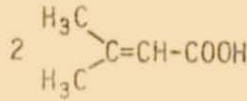
Şekil 2.2- Bazı terpenlerin açık formülleri, sınıfları ve numaralama sistemleri

penlerin oluşumu sırasında karboksil gurubundaki karbon atomunun dekarboksilasyonla ayrıldığını göstermiştir. Mevalonik asit ATP ile dekarboksilasyon ve dehidratasyona uğrayarak, yapısı izoprene çok benzeyen izopentenil pirofosfata dönüşmektedir. İzopentenil pirofosfat, enzimler yardımıyla kondensasyona uğrayarak, değişik sınıflardaki terpenlerin oluşumunu sağlamaktadır.

Sandermann ve Scwers⁵¹, karaçam (*Pinus Nigra*) ve *Thuja Occidentalis*'e mevalonik asit vererek α -pinen ve α -tuyan elde etmişlerdir. Sandermann'a⁵²göre terpenlerin biyosentezi, Şekil 2.3 ve Şekil 2.4 de gösterilmiştir.



Şekil 2.3-Mevalonik asit ve izopentenil pirofosfatın biyosentezi



Şekil 2.4-Monoterpenlerin biyosentezi

Birçok terpenin biyolojik fonksiyonu bilinmemekle beraber, monoterpenlerin böcek, mantar ve bakterilere karşı zehirleyici, seskiterpenlerin uyku hormonu, diterpenlerin büyüme hormonu olarak görev yaptıkları sanılmaktadır⁴⁶.

Yüksek moleküllü terpenlerin, bitki bünyesinin oluşumu sırasında yan ürün olarak oluştukları ve metabolik fonksiyonlarının olmadığı ileri sürülmüştür⁵³. Başka bir teori de, terpenlerin, bitkinin uyuması sırasında oluştukları, bitkinin enzimatik sisteminde katalizör etkisi yaptıkları ve bitkiyi dış etkenlere karşı korudukları savunulmuştur⁵⁴.

İğne yapraklı ağaçların salgıladığı ham reçinenin fizyolojik fonksiyonu hakkında da farklı görüşler savunulmuştur²⁷. Dış parazitlere karşı zehirleyici etki yaptığı, buharlaşma ile su kaybını önlediği ve yarayı kapatarak iyileşmesini sağladığı belirtilmektedir.

Sukhov⁵⁵, çam ağacına radyoaktif karbondioksit vererek

üç saat içinde reçinenin çok az bir kısmının radyoaktif hale geldiğini, birkaç gün içinde maksimum değere çıktığını, sonra sifıra düştüğünü belirtmiştir. Sukhov, bu gözleminden sonra, reçine asidi ve terpenlerin bitki bünyesinde sürekli olarak oluşup kaybolduklarını açıklamıştır.

2.4-Ladin Terebantın Yağlarındaki Terpenler

Groth⁵⁶, ladin (*Picea Abies* (L) Karts) odunundan subuharı distilasyonu ile elde edilen eterik yağ miktarını, kuru odun üzerinden % 0,04 bulmuştur. Aynı odunun ham reçinesi üzerinde yapılan bir araştırmada⁵⁷ bulunan sonuçlar Tablo 2.6'da verilmiştir. Odun terebantın yağında ve ham reçinede bulunan monoterpen hidrokarbonlar Tablo 2.7'de karşılaştırılmıştır.

Sibirya Silver ladini (*Abies Sibirica*) terebantın yağında; % 25 α -pinen, % 8 β -pinen, % 2 mirsen, % 18 β -fellandre, % 15 bornil asetat ve % 3 yüksek kaynayan maddeler bulunmuştur⁵⁴.

Rudloff⁵⁸, Black (siyah), White (beyaz) ve Coloroda ladin yapraklarından subuharı distilasyonu ile elde edilen eterik yağlardaki terpenlerin, mevsimlere göre bileşimlerinin değişimini araştırmış ve Tablo 2.8'de verilen sonuçları bulmuştur.

Schantz ve Juvonen¹⁷, çeşitli ladinlerin odun ve yaprak terebantın yağlarındaki terpenlerin bileşimlerini araştırmışlar ve Tablo 2.9'da verilen sonuçları elde etmişlerdir.

Tip	Bileşik	%	Tip	Bileşik	%
Petrol eterinde çözünmeyenler		16	Diterpen hid- rokarbonlar		0,06
Petrol eterinde çözünenler		84	Tunbergen	0,02	
Monoterpen hidro- karbonlar (tab.2.7)		8,4	Pimaridien	0,01	
Alkoller		0,07	İzopimaridien	0,002	
	Terpinen 4-ol	0,005	Bilinmeyen	0,03	0,2
	α-terpinol	0,02	Oksitler		
	Borneol	0,005	Manol oksit	0,11	
	Bilinmeyenler	0,04	13-epimanol oksit	0,12	
Seskiterpen hidrokarbonlar		1,1	Alkoller		5,2
	α-longipinen	0,13	Abienol	1,8	
	Kopaen	0,11	Geranillinaol	1,6	
	Longifolen	0,41	Tunbergol	0,76	
	Longisiklen	0,03	Pimarinol	0,20	
	γ-murolen	0,20	İzopimarinol	0,20	
	α ve δ-kadinen	0,11	Dehidroabietanol	0,39	
	Bilinmeyenler	0,12	Abietanol	0,19	
Alkoller		0,4	Bilinmeyenler	0,008	
	Juniperol	0,04	Reçine Asitleri		65
	Nerolidol	0,008	Reçine asit metil esterleri		1,3
	α-kadinol	0,21	Fenolik bileşikler		0,1
	Bilinmeyenler	0,14	Araştırılmayan maddeler		1,7

Tablo 2.6-Ladin ham reçinesinin kimyasal bileşimi

Monoterpen hidrokarbonların
kendi aralarında % bileşimleri

Terpen	Ođun Terebantini	Ham Reçine terebantini
α -pinen	58	32,0
β -pinen	24	43,0
Kamfen	3,0	1,6
Δ -3-karen	2,1	6,8
Limonen	4,5	16,0
p-simen	0,5	-
Terpinolen	0,4	-
Mirsen	-	1,9
β -fellandre	-	6,5
Bilinmeyenler	7,5	1,2

Tablo 2.7-Ladin odunu ve ham reçine terebantini yağlarındaki
monoterpen hidrokarbonların % kimyasal bileşimleri

Bileşik	Siyah(Black)			Beyaz (White)			Coloroda		
	Ocak	Aralık	Mart	Haziran	Aralık	Mart	Haziran		
Santen	2	1	1	1	0,5	1,5	-		
Trisiklen	1	2	1	1	1,5	2,5	1		
α -pinen	11	3,5	3	10,5	6	5	4		
Kamfen	9	7	6	2	8	6,5	1,5		
ϵ -pinen	2,5	1,5	1,5	0,5	1	0,5	0,5		
Mirsen	3	2	1,5	3,5	1	0,5	1,5		
Δ -3-karen	8	5	6	15,5	5,5	2,5	7		
1,8-sinol	3	1,5	1	eser	2	2	3		
Limonen	8,5	14	10	8	15,5	17,5	19		
p-simen	eser	eser	eser	-	0,5	0,5	eser		
α -terpinen	1	1	0,5	-	0,5	0,5	-		
Terpinolen	2	0,5	0,5	-	1	0,5	0,5		
Fençon	0,5	2	2	1,5	1,5	4	1		
Kamfor	1,5	33	40	30	9	10,5	3		
Borneol	1	eser	eser	eser	6	8	5		
İzoborneol	1,5	0,5	eser	-	5	4	1,5		
Bornil asetat	36,5	19	17	20,5	22,5	29,5	46,5		
Sitral	eser	eser	eser	-	eser	eser	eser		
Kanaden	4,5	3	3	5,5	1	1	1,5		
Kadinen	eser	eser	eser	eser	eser	eser	eser		
Seskiterpen									
Alkoller	3,5	3	5,5	8	1	1,5	3,5		
Eilinmeyenler	eser	-	-	eser	eser	eser	eser		

Tablo 2.8-Siyah (Black), Beyaz(White) ve Coloroda ladin yaprakları terebantın yağlarının mevsimlere göre % kimyasal bileşimleri

Ladin Türleri	Odun terebantın yağı							Yaprak terebantın yağı								
	α -pinen	β -pinen	Δ -3-karen	Limonen	Kamfen	Mirsen	β -fellandre	α -pinen	β -pinen	Limonen	Kamfen	Mirsen	β -fellandre	Kamfor	Borneol ve Bornil aset.	Kadinen ve diğer ses. ter.
P. Abies	21,9	19,7	-	33,4	-	-	12,5	10,0	4,0	25,3	9,7	-	14,8	5,2	17,5	-
P. Abovato	17,1	12,9	23,1	12,7	-	11,5	13,0	9,6	-	12,0	17,0	4,1	7,0	9,0	27,7	-
P. Glauca	26,6	16,6	-	33,2	-	9,5	-	9,3	-	11,8	13,6	7,6	-	31,4	14,4	-
P. Albertina	49,7	-	-	18,0	11,9	-	-	7,7	-	11,5	-	21,9	-	30,4	5,2	-
P. Koyamai	22,3	17,0	9,2	5,0	-	13,5	15,1	11,1	-	13,3	13,0	-	5,0	-	20,4	-
P. Rubens	36,6	10,1	38,0	-	-	-	-	14,0	-	5,9	20,2	-	-	-	37,7	-
P. Jazoensis	2,9	24,7	-	-	-	7,3	21,4	11,2	-	15,8	14,3	-	-	9,4	12,4	15,7
P. Engelmannii	21,0	17,6	22,3	4,9	-	6,5	12,9	-	-	7,2	-	24,7	6,3	-	-	19,0
P. Pungens	23,7	14,9	15,9	16,3	-	-	-	9,7	-	35,5	10,9	10,5	-	-	17,2	-
P. Asperata	50,3	15,3	-	-	-	10,7	-	11,5	-	19,8	?	-	-	-	25,6	-
P. Omorika	22,8	23,0	5,4	5,9	5,9	5,0	8,0	23,0	-	8,1	16,9	-	-	-	28,0	-
P. Glehnii	48,9	8,1	-	-	-	-	17,3	12,2	-	-	12,9	-	-	-	40,9	-

Tablo 2.9-Çeşitli ladin türlerinin odun ve yaprak terebantın yağlarındaki terpenlerin % bileşimi

3. ODUN EKSTRAKSİYONU

3.1-Soxhlet Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon (çekme), karışımlardaki bir madde veya madde gurubunu çekmek, ya da safsızlıkları uzaklaştırmak için uygulanan ayırma işlemidir.

Soxhlet ekstraksiyonu, katıların içerdiği maddelerin bir çözücü ile çekildiği sürekli ekstraksiyon tipidir. Katı içerisinde az çözünen, ya da çözücü-çözünen etkileşmesinin güç olduğu hallerde, az çözücü ile katının içerdiği maddeler kazanılmaktadır. Odun ekstraktivleri, genellikle soxhlet ekstraktörlerinde uygun çözücülerle çekilmektedir. Uzun süreli ekstraksiyonlarda, ekstraktiv maddelerin, havanın etkisiyle oksidasyonunu önlemek için, ekstraksiyon ortamına sürekli azot gazı gönderilerek, inert ortam sağlanmaktadır.

Ekstraksiyon süresi, çözücü, çözünen maddeler ve bu maddelerin katı içerisindeki durumana göre, genellikle 8-36 saat arasında değişmektedir^{31,59}.

Çözücü seçimi, ekstrakte edilecek maddelerin yapısına göre değişmektedir. Petrol eteri, eter, aseton, karbon tetraklorür, etilen diklorür, % 95 lik etanol, benzen ve benzen-etanol (2:1 v/v) karışımı en fazla kullanılan çözücülerdir³¹. Ekstraksiyon bir çözücü ile yapıldığı gibi, birbirini izleyen çözücülerle de yapılmaktadır. Eter, alkol, su; eter, benzen, sıcak su; etanol, benzen, eter, sıcak su; eter,

etanol, aseton, su; su, eter, etanol ve soğuk su, sıcak su, eter ekstraksiyon sırası çeşitli araştırmacılar tarafından uygulanmaktadır³¹. Bugüne kadar ekstraktiflerin hepsini çekecek bir çözücü bulunamamıştır.

Anderson⁶⁰ tarafından yapılan araştırmalarda; Ponderosa çamı değişik çözücülerle ekstrakte edilmiş, bulunan sonuçlar karşılaştırılarak, reçine asitleri için etilen diklorür ve etanol-benzen karışımının, yağ asitleri için aseton ve etilen diklorürün, esterler için benzenin, sabunlaşmayanlar için etanol, metanol, eter ve asetonun en iyi çözücüler olduğu belirtilmiştir.

Zinkel⁵⁹, terpenlerin ve yağların ekstraksiyonu için en iyi çözücünün eter olduğunu, benzen-etanol ve aseton gibi su ile karışan çözücülerin, bu maddelerin yanında önemli miktarda diğer ekstraktifleri de çözdüğünü, benzen-etanol karışımının kaynama sıcaklığının yüksek olması nedeniyle, bazı maddelerin bozunabileceğini, etanolün de esterleşme yapabileceğini belirtmektedir.

Aseton, kaynama noktasının düşük olması, su ile karışarak odun dokusuna iyi nüfuz etmesi ve birçok maddeyi çözmesi nedeniyle odun ekstraksiyonunda çok kullanılmaktadır.

3.2-Süperkritik Gaz Ekstraksiyonu

Çözücü kritik sıcaklığının üstünde, basınç altında sıkıştırılmış yoğun gazlarla yapılan ekstraksiyon prosesine "süperkritik gaz ekstraksiyonu" denir.

Sıkıştırılmış gazların çözücü olarak kullanılabilceği, ilk defa 1879 da Hannay ve Hogarth⁶¹ tarafından yapılan deney-

lerle gösterilmiştir. Bu araştırmacılar, kritik sıcaklığın üzerinde etanolde çözülmüş KI sistemiyle denemeler yapmışlar, buhar basıncı ölçülemeyecek kadar küçük olan KI'nın gaz fazında çözüldüğünü, basıncın düşürülmesiyle çöktüğünü, basıncın tekrar artmasıyla çözüldüğünü belirtmişlerdir. Daha sonra Booth ve Bidwell⁶² aynı denemeyi tekrarlamışlar, başka araştırmacılar da Hannay ve Hogarth'ın doğrulamışlardır. Türbin kanatlarında biriken SiO₂ in, kritik sıcaklığın üstünde buharda çözünüp, basıncın düşmesiyle çökmesinden oluştuğu anlaşılmıştır.

Gaz ekstraksiyon prosesinin Kimya Mühendisliğine uygulanması 1959 da Rusya'da Zhuze⁶³ tarafından gerçekleştirilmiştir. İngiltere'de 1964 yılında kritik gaz ekstraksiyonu prensiplerini açıklayan bir patent alınmıştır⁶⁴.

Gazların çözücü olarak kullanılmasında basit ve uygun teori Dalton'un Kısmi Basıncılar Kanunu'dur⁶⁵. Katının buhar basıncı P^0 , toplam basınç P ise, katının buhar fazındaki mol kesri P^0/P ifadesiyle verilir. Çok uçucu katılar ve yüksek sıcaklıklar dışında P^0 , P den çok küçüktür.

Kapalı kaplarda sıcaklığın yükselmesiyle çözücü gaz basıncı daha da artacağından, P^0/P katının gaz fazındaki mol kesri daha çok azalacaktır. Yapılan birçok araştırmada ise, gaz basıncının artmasıyla Dalton Kanunu'nun aksine, katı çözürlülüğünün arttığı görülmüştür.

Son yıllarda A. Olcay ve çalışma arkadaşları^{20,66} tarafından yapılan araştırmalarda, odun ve kömürün çeşitli çözücülerle süperkritik gaz ekstraksiyonu yapılmıştır. Bir çözücü için, ekstraksiyon sıcaklığı, kritik sıcaklığa yaklaştıkça çözme gücünün arttığı yüksek sıcaklıklarda bozunan madde-

ler için, kritik sıcaklığı düşük olan çözücülerin kullanılabilmesi ve sabit sıcaklıkta basıncın artmasıyla ekstraksiyon veriminin yükseldiği belirtilmektedir. Odunun süperkritik gaz ekstraksiyonu, kritik sıcaklığı düşük olan çözücülerle yapıldığında, ısı bozunması azalmaktadır.

4. ODUN EKSTRAKTİVLERİNİN FRAKSİYONLANMASI

4.1-Kimyasal Olarak Ayırma

Ekstraktivlerin ilk fraksiyonlanması genel olarak kimyasal yöntemlerle yapılmaktadır. Ekstraktiv maddeler, suda çözünmeyen organik faza alınır. Üzerine sodyum hidroksidin, ya da sodyum karbonatın % 1-5 lik çözeltileri ilave edilerek, karboksilli asitler tuz halinde sulu faza alınırken, nötral maddeler organik fazda kalırlar. Ekstraktivler, karboksilli asitler yanında zayıf asidik yapıda olan fenoller de içeriyorsa, daha farklı ekstraksiyon işlemi uygulanır. Karboksilli asitler, % 5 lik sodyum bikarbonatla tuz halinde sulu faza alınıp, fenoller organik fazda kalırlar. Fenoller organik fazdan % 5 lik sodyum hidroksitle fenolatlar halinde sulu faza alınır.

Nötral fazdaki bağlı asitler (esterler), 0,5-1N alkollü potasyum hidroksit çözeltisi ile 2-4 saat geri soğutucu altında kaynatılarak sabunlaştırılır. Sulu fazlar asitlendirilerek serbest hale geçen asitler ve fenoller eterle çekilirler.

Organik fazlara alınan fraksiyonlar, magnezyum sülfat ya da sodyum sülfat üzerinde kurutulup çözücileri döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılır. Sıvı-sıvı ekstraksiyon işlemleri genellikle ayırma hunilerinde yapılır.

4.2-Subuharı Distilasyonu

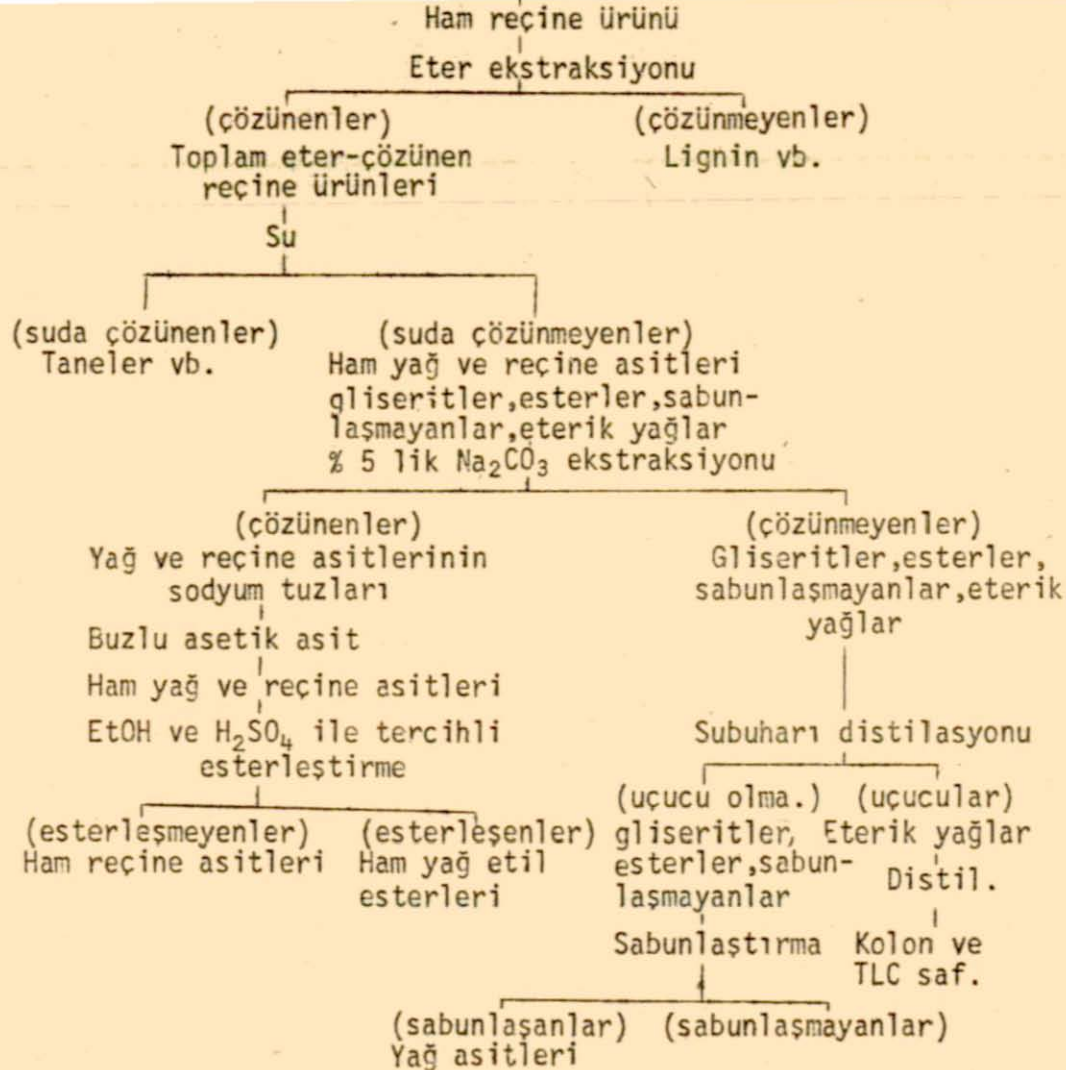
Subuharı distilasyonu, su ile karışmayan uçucu maddelerin, kendi kaynama noktalarından daha düşük sıcaklıklarda damıtılmasını sağlayan önemli bir ayırma yöntemidir.

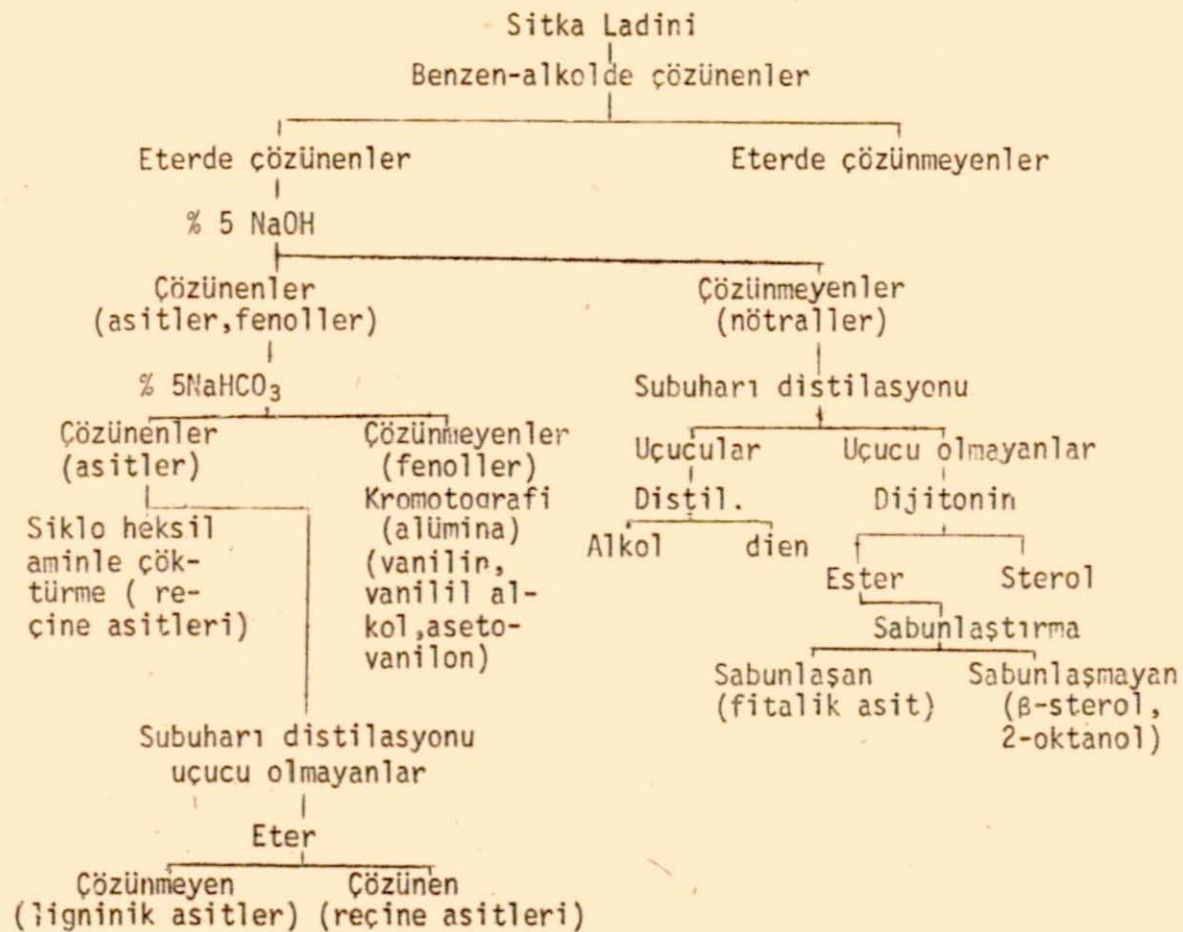
Terpenlerin en düşük kaynayanı trisiklen olup, kaynama noktası 152°C dir. Bu sıcaklığın altında bile terpenler okside ve polimerize olmaktadır. Odunun ekstraksiyona hazırlanma işlemlerinde (kurutma, öğütme, eleme vb.), ekstraksiyon ve ekstraktivlerin fraksiyonlanması sırasında da önemli miktarda terpen kaybı olmaktadır.

Terpenlerin, sudaki çözünürlüklerinin az, buhar basınçlarının yüksek olması nedeniyle, sanayide ve laboratuvar çalışmalarında eterik yağların ayrılması, büyük ölçüde subuharı distilasyonu ile yapılmaktadır.

Sanayide eterik yağların üretimi başlıca; kıyılmış odun parçalarının, ham reçinenin ve odun ekstraktivlerinin subuharı distilasyonu ile yapılmaktadır⁹. Kıyılmış odunun subuharı distilasyonunda, odun ya kaynayan su tankının içersinde bulunmakta ya da buhar ayrı bir tankta üretilip odun tankından geçirilmektedir. Ham reçine ise, eritme, süzme, yıkama ve ön ısıtma tanklarından geçirilerek distilasyon kolonuna verilmektedir. Kolona alttan subuharı gönderilip eterik yağlar ayrılmakta, kolofan (rosin) alttan alınmaktadır. Subuharının sürüklediği eterik yağlar, soğutucuda yoğunlaştırılıp ayırma sisteminde toplanırlar. Burada sudan ayrılan eterik yağlar, kurutucuda kurutulup depolanırlar. Laboratuvarda uygulanan subuharı distilasyonu, deneyler bölümünde anlatılacaktır.

Bazı araştırmacılar tarafından uygulanan, odun ekstraktivlerinin kimyasal yöntem ve subuharı distilasyonu ile fraksiyonlama şemaları Şekil 4.1 ve 4.2'de gösterilmiştir^{67,68}.





4.3-Kromotografik Yöntemlerle Ayrılma

Kromotografi, ilk defa Rus botanikçisi Tsvet tarafından bitkisel boyar maddelerin ayrılmasında uygulanmıştır²⁶. Fiziksel, kimyasal ve diğer yöntemlerle ayrılması güç olan, ya da ayrılamayan maddeler, kromotografik yöntemlerle ayrılabilir. Kromotografi, ayrılma tekniğine göre üç grupta toplanmıştır²⁶. Bunlar, kolon kromatografisi, ince tabaka kromatografisi ve kağıt kromatografisidir. Sunulan çalışmada, kolon kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi uygulandığından, bunlar üzerinde durulacaktır.

4.3.1-Kolon Kromatografisiyle Terpenlerin Ayrılması Çalışmaları

Kolon kromatografisinde sabit ve hareketli iki faz olup, ayrılacak maddeler bu fazlar arasında dağılmaktadırlar. Hareketli faza ilgisi fazla olan bileşikler, sabit faza meyilli olanlardan sürüklenerek ayrılırlar. Hareketli fazı sıvı olanlara, sıvı kolon kromatografisi (kısaca kolon kromatografisi), hareketli fazı gaz olanlara da gaz kromatografisi denmektedir. Kolon kromatografisi sabit fazın karakterine göre, adsorpsiyon, jel süzme-jel permasyon ve iyon değiştirici kromatografisi olmak üzere üçe ayrılır⁶⁹.

Terpenlerin kolon kromatografisinde ayrılma çalışmaları ilk defa 1933 yılında Winterstein ve Stein tarafından yapılmıştır⁷⁰. Bugüne kadar terpenlerin ayrılması ve saflaştırılmasında kolon kromatografisi çok kullanılmıştır.

Aktive edilmiş Norit A karbon kolondan mutlak etanol, sili-

kajel kolondan petrol eteri akıtılarak, değişik yapıdaki terpenlerin çok iyi ayrılmaları sağlanmıştır⁷¹. Terpen hidrokarbonlar, çinko klorürle aktive edilmiş karbon kolonda, p-simen ve limonen; mirsen; Δ -3-karen; α -piren, β -pinen ve kamfen fraksiyonlarına ayrılmıştır⁷². Aktif kömürün silikajelden daha iyi ayırma yaptığı belirtilmiştir.

Ayırma sırasında terpenlerin uçmalarını önlemek için, Huckel ve Hornung⁷³, -40°C 'de ayırma yapılabilecek soğutma ceketli özel bir kolon geliştirmişlerdir. Clements⁷⁴, $-78,5^{\circ}\text{C}$ de özel silikajel kolondan petrol eteri akıtılarak, terpen hidrokarbonları, p-mentan, α -pinen, β -piner ve limonen fraksiyonlarına ayırmıştır.

Eterik yağların kolon kromatografisinde ayrılması çalışmaları Kirchner ve Miller⁷⁵ tarafından yapılmış, ancak iyi sonuç alınamamıştır. Bu araştırmacılar daha sonra eterik yağların ince tabakada ayrılması tekniğini geliştirmişlerdir. Silikajel kolondan hekzan akıtılarak, eterik yağlardaki terpen hidrokarbonlar oksijenli terpenlerden ayrılmış, sonra metanol akıtılarak oksijenli terpenler toplanmıştır⁷⁶. Eterik yağlar; petrol eteri, petrol eteri-eter (3:1,1:1,1:3), eter, eter-benzen (3:1,1:1,1:3), benzen, benzen-metanol (3:1,1:1,1:3) ve metanol çözücü sistemiyle nötral alümina kolonda fraksiyonlanmıştır⁷⁷.

Seskiterpenler, nötral alümina ve gümüş nitrat-alümina kolonda petrol eteri, eter ve metanol çözücüleriyle ayrılmışlardır⁷⁸. Diterpen hidrokarbonlar, aldehytler ve alkoller, silikajel-gümüş nitrat (5:1 w/w) kolonda petrol eteri-eter (99:1,96:4,80:20) çözücü sistemiyle ayrılmışlardır⁷⁹.

4.3.2-Ince Tabaka Kromotografisiyle Terpenlerin Ayrılması Çalışmaları

Sabit faz, genellikle cam üzerine çekilmiş, ince bir adsorpsiyon, iyon değiştirici ya da inert tabakadır. Hareketli faz sıvı olup, çözücü buharıyla doygun tank içerisinde aşağıdan yukarıya doğru yürütülür. Sabit fazın karakterine göre ince tabaka kromotografisi üçe ayrılır⁸⁰. Bunlar adsorpsiyon, dağılım (partisyon) ve iyon değiştirme kromotografileridir. Son zamanlarda ince jel tabaka kromotografisi de uygulanmaktadır.

Tabakada ayrılan maddelerin yerlerini belirlemek için renk reaktifi maddeler püskürtülür, ya da önceden çekilen tabakaya floresan maddeler katılıp UV lamba altında bakılarak ayrılan maddelerin yerleri işaretlenir. Preparatif çalışmalarda, bileşiklerin bozunmaması için reaktif püskürtülmez. Ayrılan bileşikler, ya UV lamba altında ya da Rf değerlerine göre işaretlenip, kazınarak alınır.

Terpenlerin ince tabakada ayrılması ve analizi, Kirchner ve arkadaşları tarafından yapılmıştır^{75,81,82}. Alçı ya da nişasta ile tabaka üzerine çekilen silikajel üzerinde, terpenlerin çok iyi ayrılması sağlanmıştır. Çözücü olarak etil asetat-hekzan (15:85 v/v), renk reaktifi olarak dârişik sülfürik asit kullanılmıştır. Ayrılan terpenlerin Rf değerleri; α -pinen 0,83, β -pinen 0,80, kamfen 0,74, p-simen 0,38, mirsen 0,56, limenon 0,41 ve sedren 0,82 bulunmuştur. Attaway ve arkadaşları⁸³, 0,40 mm kalınlığında alümina ve silikajel tabaka üzerinde hekzan ve florokarbon çözücülerini yürüterek, mono seski, di, tri ve tetraterpenleri ayırmışlardır. Renk reaktifi olarak vanilin- sülfürik asit ve potasyum permanganat-sülfürik asit kul-

lanılmıştır. Birçok terpen alkol, aldehit ve ketonlar alümina tabakada petrol eteri-benzen (1:1), benzen-etanol (98:2,95:5) ve benzen çözücüleri kullanılarak analiz edilmişlerdir⁸⁰. Gümüş nitrat emdirilmiş silikajel tabakada, terpen hidrokarbonların ve oksijenli türevlerinin ayrılması sağlanmıştır⁸⁰. 0,25 mm silikajel tabaka üzerinde, petrol eteri-eter (95:5) yürütülerek, terebantin yağlarındaki terpen hidrokarbonlar, oksijenli terpenlerden ayrılmıştır.

Bugüne kadar yapılan terpenlerin ayrılma ve analiz çalışmalarının hemen hemen hepsinde, ince tabaka kromatografisinden yararlanılmıştır.

4.4-Gaz Kromatografisi

Gaz kromatografisiyle ayırma fikri 1941 de ileri sürülmüş, ancak 1952 yılında uygulanabilmiştir⁸⁴. Bugün, kimyanın hemen hemen her dalında, diğer ayırma yöntemleriyle ayrılamayan, kaynama noktası 500°C ye kadar olan pek çok maddenin, kısa zamanda analizi bu teknikle yapılabilmektedir. Ayrıca, kompleks karışımların ayrılması ve bileşiklerin tanınması, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi bileşik sistemiyle mümkün olmuştur.

Gaz kromatografisinde , hareketli faz gaz, sabit faz, katı ya da katıya emdirilmiş sıvıdır. Sabit fazı katı olanlara gaz katı (G.S.C.), sıvı olanlara gaz sıvı (G.L.C.), kısaca gaz kromatografisi (G.C.) denmektedir. Gaz katı kromatografisi, genellikle gazların ve kaynama noktası düşük olan hidrokarbonların ayrılmasında, gaz kromatografisi ise, daha kompleks karışımların ayrılmasında kullanılır.

Genel olarak, sabit faz katı ise ayrılması istenen maddelerin adsorpsiyon farkından, sıvı ise sıvıdaki çözünme farkından birbirinden ayrılırlar. Gaz kromatografisinin ayırma gücü, sabit fazın yapısı ve miktarına, kolonun homojenliğine, destek maddesinin tane iriliğine, kolonun çapına ve uzunluğuna, taşıyıcı gazın debisine, enjekte edilen maddenin yapısına ve miktarına, uygulanan sıcaklık programına bağlı olarak değişmektedir.

Gaz kromatografi cihazı dört ana bölümden meydana gelmektedir. Bunlar, gaz sistemi, numune injeksiyon bölümü, kolon ve dedektördür. Gazlar, kromatografide taşıyıcı olarak kullanılırlar. Taşıyıcı gazlar kolon boyunca karışımdaki maddeleri sürüklediği için, gaz hızı kontrol vanası ve manometre ile ayarlanmaktadır. Taşıyıcı gaz olarak en fazla helyum, azot ve hidrojen gazları kullanılmaktadır.

Sıvı numuneler, mikro şırınga ile, gazlar, gaz şırıngası ya da bir valf sistemiyle injeksiyon bölümüne enjekte edilirler. Bu bölümde gaz haline geçen maddeler kolona gönderilir.

Kolonlar, gaz kromatografisinin en önemli bölümüdür. Genellikle cam, paslanmaz çelik, alüminyum ve bakırdan yapılırlar. Cam kolonlar daha çok tercih edilmektedir. Kolonlar, dolgu ve kılcal (kapiler) olmak üzere ikiye ayrılır. Dolgu kolonlarda, inert katı destek maddesine uçucu olmayan polar ya da apolar sıvılar emdirilmiştir. Genellikle polar fazlar polar maddelerin, apolar fazlar apolar maddelerin ayrılmasında kullanılır. Açık tüp kılcal kolonlarda, katı destek görevini kolon çeperleri yapar. Dolgu kolonların iç çapları 2-6 mm, uzunlukları 0,5-6 m, kılcal kolonların iç çapları 0,1-0,5 mm,

uzunlukları 10-100 m arasında değişmektedir. Kılcal kolonların ayırma güçleri dolgu kolonlara göre daha fazladır.

Dedektörlerin görevi, kolondan çıkan maddelerin cins ve miktarının tesbitini sağlamaktır. Çeşitli dedektör tipleri vardır. Bunlar, argon iyonizasyon dedektörü (AID), alev iyonizasyon dedektörü (FID), ısı iletkenlik dedektörü (katharometer) ve elektron yakalayıcı (ECD) dedektörüdür. Bunlar içersinde en fazla, alev iyonizasyon dedektörü ve ısı iletkenlik dedektörü kullanılmaktadır.

Karışımdaki maddeler, gaz kromatografisine verilmeden önce, diğer ayırma yöntemleriyle fraksiyonlanmalıdır. Uygun kolon ve çalışma şartları tesbit edilmelidir.

Aynı çalışma şartlarında, bilinmeyen maddeler ve standart maddeler gaz kromatografisine verilerek, alıkonma zamanlarından, bilinmeyen maddelerin kalitatif analizi yapılmaktadır. Ancak, birden fazla maddenin aynı yerde çıkması hatalara sebep olur. Bunun için kolon ve diğer çalışma şartları değiştirilerek, analiz tekrarlanır. Kesin sonuç alınabilmesi için spektroskopik yöntemlerin denenmesi gereklidir.

Karışımdaki maddelerin kantitatif analizi, pik alanı ya da pik yüksekliğinin ölçülmesiyle yapılmaktadır. Pik yüksekliğinin ölçülmesiyle bulunan sonuçlar, alıkonma zamanının küçük olması halinde doğrudur. Bunun dışında genellikle pik alanı ölçümü yapılmaktadır. Pik alanları başlıca şu yöntemlerle bulunulmaktadır; piki milimetrik kağıda çizerek, piki kesip tartarak, otomatik integratörlerle, pik yüksekliğini alıkonma zamanı ile çarparak, planimetre ile, üçgene tamamlama yolu ile ve yarı yükseklikteki pik genişliği ile pik yüksekliğinin çarpılmasıyla.

Dedektörlerin duyarlılıkları her madde için aynı olmayabilir. Bu durumda pik alanları, miktarlarla tam orantılı değildir. Standart maddeler karışıma katılarak, pik alanları için kalibrasyon eğrileri çizilip, hatalar düzeltilir. Karışımındaki maddelerin yapıları birbirine benziyorsa ve molekül ağırlıkları büyükse, kalibrasyon eğrisine gerek duyulmaz.

Terpenlerin gaz kromatografisi ile analizi, ilk defa Bernhard, Rudloff ve diğer araştırmacılar tarafından yapılmıştır²⁶. Mono, seski, di ve triterpenlerin analizinde, gaz kromatografisinden oldukça iyi sonuç alınmıştır. Klouwen ve Heidi⁸⁵ tarafından monoterpen hidrokarbonların beş ayrı kolonda sistematik analizi yapılmıştır. Bunlar, diatome toprağına emdirilmiş % 17 apiezon L, % 17 silikon yağı, % 17 reopleks 100, % 17 karbovaks 4000 ve β - β' -oksidipropionitril-dir. Kolon sıcaklığı, 120, 100, 110, 100 ve 70°C, taşıyıcı gaz (helyum) hızı 75-60 ml/dk dır. Rudloff, polietilen glikol (PEG), karbovaks 20 M, silikon yağı (SE-30), polietilen glikol adipat (PEGA) ve reopleks kolonlarıyla, birçok eterik yağdaki terpenlerin analizini yapmıştır^{58,76,86,87}

Terpenlerin, polipropilen glikol, apiezon L ve silikon yağı üzerinde relatif alıkonma hacimleri araştırılmış ve Tablo 4.2'de verilen sonuçlar bulunmuştur¹⁹.

Terpenlerin gaz kromatografisinde ayrılmasında, katı destek maddesi olarak, diatome toprağının α -pineni izomerleştirdiği ve Chromosorb W'nin en uygun destek maddesi olduğu belirtilmiştir²⁶

Terpen hidrokarbonların ayrılmasında genel olarak apolar sıvı fazlar, oksijenli terpenler için polar sıvı fazlar kullanılmaktadır. Monoterpen hidrokarbonlar için kolon sıcaklığı,

Sıcaklık °C	Polipropilen glikol		Apiezon L		Silikon yağı (SE)	
	100	80-160 (2,5 ⁰ /dk)	110	130	80	110
Santen	0,80	0,80	0,74	0,79	0,77	0,86
Trisiklen	0,95	0,95	0,96	0,97	0,94	0,97
α -pinen	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
Kamfen	1,12	1,11	1,13	1,10	1,08	1,04
β -pinen	1,31	1,28	1,32	1,24	1,23	1,13
Mirsen	1,47	1,44	1,21	1,13	1,36	1,15
Δ -3-karen	1,57	1,48	1,55	1,38	1,52	1,28
Limonen	1,85	1,68	1,80	1,56	1,68	1,37
β -fellandre	1,92	1,71	1,85	1,61	1,67	1,37
p-simen	2,12	1,80	-	-	-	-
Terpinolen	2,57	2,02	-	2,06	2,43	1,74
Bornil aset.	-	3,59	-	4,71	-	4,48
Boreol	-	3,69	-	-	-	-

Tablo 4.2-Bazı terpenlerin α -pinen'e göre relatif alıkonma hacimleri

90-130°C, oksijenli monoterpenler ve seskiterpenler için 130-160°C arasında, sıvı fazın karakterine göre değişmektedir³¹.

Zinkel⁵⁹, terpenlerin ayrılmasında en uygun sıvı fazın karbovaks 20 M olduğunu, standart olarak dekan ya da dietil karbitol kullanılmasının iyi sonuç verdiğini belirtmiştir.

Terpenlerin gaz kromatografisinde analizi yapıldığı gibi, preparatif olarak ayrılmaları da yapılmaktadır. Preparatif ayırmalar ancak ısı iletkenlik dedektörlerinde yapılmaktadır. Preparatif çalışmaya geçmeden, uygun kolon seçimi ve diğer çalışma şartları belirlenerek, fazla miktarda maddelerin ayrılmaları sağlanmaktadır.

5. D E N E Y L E R

5.1-Numunenin Hazırlanması

Yapılan çalışmadan emin olmak için, seçilen numunenin araştırılan maddeleri içermesi ve incelenen türü temsil etmesi gerekir. Odun kesildikten iki saat sonra enzimatik reaksiyonlar başlamaktadır³⁶. Numunenin hazırlanması sırasında bazı maddeler oksidasyona ve polimerizasyona uğramakta, uçucu maddeler kaybolmaktadır. Odun numunesi kesildikten sonra parçalanıp, kuru buzla karıştırılarak metabolik aktivitesi durdurulmakta, inert ortam sağlanarak odun bünyesinin değişmesi önlenmektedir⁸⁸.

Odun numunesinin seçilen türü temsil etmesi için, çok sayıda ağaçtan numune alınmaktadır. ASTM D 143 standardına göre, en az beş ağaçtan, TAPPI standard T 11 m'e göre her ağaçtan % 5 den az olmamak üzere en az 10, en çok 200 ağaçtan numune alınmalıdır³¹.

5.1.1-Numunenin Alınması

Bu çalışmada kullanılan numuneler, Doğu Karadeniz-Trabzon (Maçka) yaklaşık 40°39' kuzey enlemindeki Ladin (1700 - 1800 m) ve kayın (900 m) ağaçlarından alınmıştır.

Numuneler alınırken, ağaçların daha önce yaralanmamış, ana gövde kısmı tek ve düz olmasına dikkat edilmiştir. 35-55 yaşlarındaki ağaçların gövdelerinin değişik kesimlerinden, enine kesilen diskler alınmıştır. Kabuk ve budakları temizlenip atılmıştır.

5.1.2-Numunenin Hazırlanması

Taze kesilmiş odun, hiç bekletilmeden yaklaşık (2 mm x 5 mm x 2 mm) boyutlarında kıyılarak soğuk hava akımıyla kurutulmuştur. Kuruyan numune, Thomas-Wiley Laboratory Mill 4 (Arthur H. Company Philadelphia, U.S.A.) değirmeninde öğütülerek 40-60 mesh'lik elekten geçen kısmı alınmıştır. Odunun kesiminden numunenin hazırlanmasına kadar geçen zaman yaklaşık 30-40 saattir.

5.1.3-Su Tayini

Su tayini, etüvde kurutma, distilasyon, Karl Fisher titrasyonu ve fiziksel yöntemlerle yapılmaktadır³¹. Burada, deney sırasında uygulanan etüvde kurutma ve distilasyon yöntemleri anlatılacaktır.

Etüvde kurutma yönteminde, 1-2 gram öğütülmüş odun numunesi, vezin kabına alınıp, 105°C de sabit tartıma gelinceye kadar etüvde tutulmaktadır. Odun uçucu maddeler içeriyorsa, bu suretle yapılan su tayini hatalı olur. Bu yöntemle yapılan su tayininde, 2-3 gram numune alınıp 8 saatte sabit tartıma getirilmiştir.

Distilasyon yönteminde, odunun suyu, su ile karışmayan ve azeotropik karışım veren çözücülerle uzaklaştırılmaktadır. Çözücü olarak kerosen, toluen ve ksilen kullanılmakta olup, yüksek sıcaklıklarda karbonhidratların bozunarak suya dönüşmelerini önlemek için toluen ($kn.110^{\circ}C$) tercih edilmektedir.

Bu çalışmada su, toluen distilasyonu ile ölçekli tuzakta toplanarak okunmuştur.

5.2-Ladin ve Kayın Soxhlet Aseton Ekstraktlarının Elde Edilmesi

Odun ekstraksiyonunda, çözücü olarak önce benzen-alkol (2:1) kullanılmıştır. Ancak bu karışım, odun reçinesi yanında, önemli ölçüde diğer maddeleri de çözerek ekstraktivlerin fraksiyonlanmasını güçleştirdiği, $kn.$ 'sının yüksek olması nedeniyle, ekstraktan çözücünün uzaklaştırılması sırasında bir miktar terpen kaybının olduğu görülerek, bu çözücünden vaz geçilmiştir. Kaynama noktasının düşük olması, su ile her oranda karışması ve benzen alkol karışımına göre daha az madde çözmesi nedeniyle, çözücü olarak aseton seçilmiştir.

Bölüm 5.1.2'de anlatıldığı gibi hazırlanan kayın ve ladin numuneleri, gözenekli süzgeç kağıdına konarak 2 litrelik soxhlet ekstraktörüne yerleştirilmiştir. Çözücünün aşırı ısınmasını önlemek için çözücü balonuna kaynama taşı atılmıştır. Ekstraksiyon 18 saatte tamamlanmıştır. Ekstrakta yaklaşık 100 ml aseton kalıncaya kadar aseton döner buharlaştırıcıda $20-30^{\circ}C$ de uzaklaştırılmıştır*

* Verim hesaplamalarında çözücüler tamamen uzaklaştırılmıştır.

5.2.1-Soxhlet Aseton Ekstraktivlerinin Fraksiyonlanması

Bölüm 5.2'de elde edilen aseton ekstraktivlerine eşit hacimde su ilave edilerek 500 ml lik bir ayırma hunisine alınmıştır. 50 şer ml petrol eteri (40-60°C) ile 4 kez sıvı-sıvı ekstraksiyonu yapılmış ve petrol eterinde çözünen maddeler çekilmiştir⁸⁹. Çözelti, susuz magnezyum sülfat üzerinde kurutulup, 5-10 ml petrol eteri kalıncaya kadar petrol eteri vakumda uzaklaştırılmıştır.

5.2.2-Kimyasal Yolla Ayırma

Petrol eterinde çözünenler, 0,5 N alkollü potasyum hidroksit (125 ml) ile 3,5 saat geri soğutucu altında sabunlaştırılmıştır⁸⁹. Sabunlaşmayanlar, 500 ml lik bir ayırma hunisinde 50 şer ml eterle 4 kez çekilerek ayrılmıştır. Eterli çözelti magnezyum sülfat üzerinde kurutulup, 5-10 ml eter kalıncaya kadar eter uçurulmuştur.

5.2.3-Subuharı Distilasyonu ile Ayırma

Eterik yağların subuharı distilasyonu ile ayrılmasında Şekil 5.1.'de gösterilen cihaz kullanılmıştır. A balonuna su, B balonuna sabunlaşmayan maddeler konmuştur. Sabunlaşmayan maddeler içerisindeki eterik yağların miktarı çok az olduğundan, su içerisinde dağılmasını önlemek için, C tuzağına biraz su, üzerine de 5 ml petrol eteri konmuştur. Eterik yağların uçmasını önlemek için, tuzak ve D balonu (su toplama balonu)

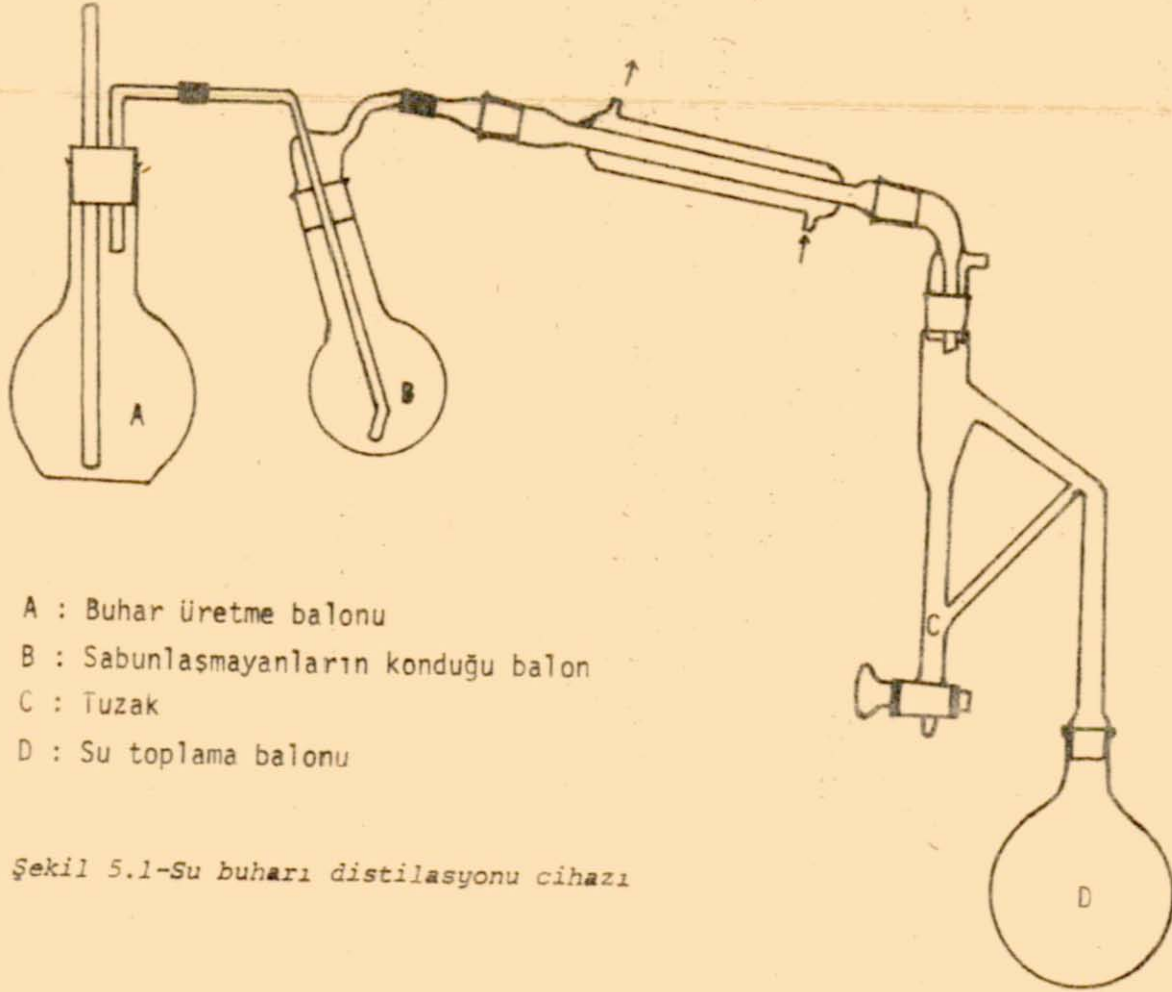
soğuk su ile soğutulmuştur.

A balonundaki su kaynatılarak, çıkan buharlar B balonuna gönderilmiştir. Burada eterik yağları sürükleyen buhar, soğutucuda yoğunlaştırılıp tuzağa akıtılmıştır. Su damlalarının taşıdığı eterik yağlar, tuzaktan geçerken petrol eterinde tutulmuştur. Su, toplama balonunda toplanmıştır. Distilasyon 1,5-2 saatte tamamlanmış ve tuzaktan petrol eteri alınmıştır. Toplama balonundaki su, sodyum klorürle doyurulup, 3 kez 25 ml eterle ekstrakte edilmiştir. Petrol eteri ve eter çözeltileri birleştirilip magnezyum sülfat üzerinde kurutulmuştur. Çözücüler, vakumda yaklaşık 5 ml kalıncaya kadar uzaklaştırılmıştır.

Aseton ekstraktivlerinin fraksiyonlanması Şekil 5.2' de gösterilmiştir.

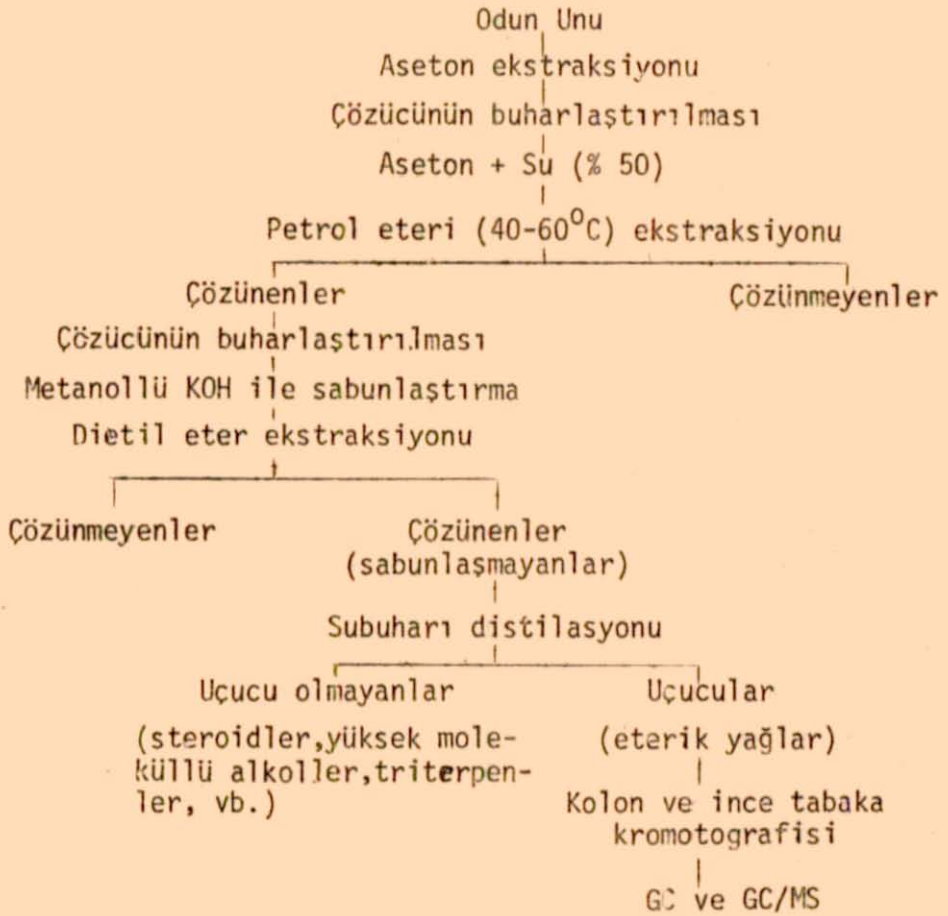
5.2.4-Kolon ve İnce Tabaka Kromatografisiyle Yapılan Ayırmalar

250°C de 2-3 saat aktive edilmiş silikajel (70-235 mesh) ve nötral alümina (1), 30 cm uzunluğunda ve 2 cm çapında cam kolona sıvı usulle, petrol eteriyle doldurulmuştur. Kolon üzerine süzgeç kağıdı yerleştirilmiştir. Kolonda, önce model olarak seçilen dekosan ($n-C_{22}H_{46}$), limenon ve α -terpinolün ayrılması denenmiştir. Silikajel kolona yaklaşık 0,5 g model karışımın 10 ml hekzandaki çözeltisi üstten konmuştur. Sıra ile 200 ml hekzan, 150 ml benzen ve 150 ml metanolla elüe edilip, 5'er ml lik fraksiyonlar halinde 100 tüpte toplanmıştır.



- A : Buhar üretme balonu
B : Sabunlaşmayanların konduğu balon
C : Tuzak
D : Su toplama balonu

Şekil 5.1-Su buharı distilasyonu cihazı



Şekil 5.2-Odun aseton ekstraktivlerinin fraksiyonlanması

Silikajel kolona, 0,1 g eterik yağın 10 ml petrol eterindeki çözeltisi üstten ilave edilmiş, 200 ml petrol eteri, 150 ml petrol eteri-eter (80:20) ve 150 ml petrol eteri - eter (1:1) çözücüleriyle elüe edilmiştir. Eluat üç fraksiyon halinde toplanmıştır.

Yaklaşık 0,1 g eterik yağın 10 ml petrol eterindeki çözeltisi alümina kolona verilmiş, 200 ml petrol eteri ve 150 ml metanolla elüe edilmiştir⁷⁶. Eluat 5'er ml lik fraksiyonlar halinde toplanmıştır.

50 g kiselgur (tip 60), 90 + 10 ml su ile 300 ml lik cam kapaklı bir şişede bir dakika iyice çalkalanarak akıcı, çamur haline getirilmiştir. 20 x 20 cm boyutlarındaki cam tabakalara Gamma model tabaka çekme aletiyle, 0,25 mm kalınlığında çekilmiştir. 15-20 dakika havada kurutulan tabakalar, 40-60 dakika etivde 105°C de aktive edilmiştir⁸⁰. Yürütücü çözücü olarak, etil asetat-hekzan (15:85), metanol-kloroform (5:95) ve eter-petrol eteri (10:90) denenmiş, en iyi ayırma etil asetat-hekzan karışımıyla sağlanmıştır⁸¹. Yürütme tankına, 100 ml (1 cm yüksekliğinde) çözücü konmuştur. 3-4 saat havada bekletilip, sonra buzdolabına alınmıştır. Böylece, tankın çözücü buharıyla doyurulması sağlanmıştır.

Numunelerin seyreltik çözeltileri, alttan 1,5-2, yanlardan 2 ve aralarında en az 1 cm mesafe kalacak şekilde tabaka üzerine damlatılmıştır. Çözücüsü uçtuktan sonra, tabaka tanka yerleştirilmiştir. 30-50 dakikada, çözücü tabaka üzerinde 10-15 cm yükselmiştir. Tabaka tanktan alınıp 5-10 dakikada çözücü havada uçurulmuştur. Renk reaktifi olarak % 1 lik vanilin-sülfürik asit ve nitrik asit-sülfürik asit, (5:95) kullanılmış, ancak vanilin çözeltisinden daha iyi sonuç alınmıştır⁸³. Tabakaya reaktif, Gamma püskürtücüsü (atomizer) ile püskürtülmüş-

tür. Reaktif püskürtülen tabaka, etüdvde 100°C de 5-10 dakika bekletilmiştir. Oluşan renkli beneklerden ayrılan maddelerin yerleri belirlenmiştir. Ayrılan maddelerin işaretlenmesinde, 264 ve 366 nm UV lambadan da yararlanılmıştır.

5.3-Gaz Kromatografisi ile Yapılan Analizler

Çalışmada, Packard 427 model alev iyonizasyon (FID) dedektörlü gaz kromatografisi kullanılmıştır. Gaz kromatografisi kolonu, 1/8 inch çarpında ve 183 cm uzunluğunda camdan yapılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak helyum ve azot, yanıcı gaz olarak hidrojen ve yakıcı gaz olarak da hava kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı programlı olarak ayarlanmıştır.

Gaz kromatografik analize, ladin soxhlet ekstraktivleri uçucu fraksiyonundan parafinler alümina kolonda ayrıldıktan sonra, ladin süperkritik gaz ve kayın soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan uçucu bileşikler tabi tutulmuştur.

Çalışmada, en iyi ayırmayı sağlayabilmek için optimum şartlar -kolon dolgu maddeleri, sıcaklık programı ve diğer değişkenler- tesbit edilmiştir. Monoterpen hidrokarbonlarının ayrılmasında, sıvı faz olarak karbovaks 20 M den, monoterpen alkol, seskiterpen hidrokarbonların ve parafinlerin ayrılmasında SE-30 kolondan iyi sonuç alınmıştır.

Kromotogramların alınma şartları:

Ladin otoklav ve kayın soxhlet ekstraktivleri uçucu bileşikleri için;

Kolon	: % 3 SE-30 Chromosorb W-AW (60-80 mesh) üzerine emdirilmiş
Azot (ml/dk)	: 25
Hidrojen (ml/dk)	: 30
Hava (ml/dk)	: 300
Çözücü	: Petrol eteri
Kağıt hızı (cm/dk)	: 0,5
Duyarlılık	: 10^{-10} , Att.16
t_{ilk}	: 60°C
ilk sıcaklıkta tutma süresi:	5 dk
Sıcaklık artış hızı	: $3^{\circ}\text{C}/\text{dk}$
t_{son}	: 250°C ,
son sıcaklıkta tutma süresi:	5 dk

Ladin soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan terpenler için;

Kolon	: % 3 SE-30
Helyum (ml/dk)	: 50
Kağıt hızı (cm/dk)	: 1
Diğer şartlar aynı	
Kolon	: % 10 karbovaks 20 M ₂ Chromosorb W (80-100 mesh) üzerine emdirilmiş
Azot (ml/dk)	: 25
t_{ilk}	: 90°C
t_{son}	: 200°C
Diğer şartlar aynı	

5.4-Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi Birleşik Sistemi (GC/MS) ile Yapılan Analizler

Birbirinden ayrı olarak gaz kromatografisi karışımlarının ayrılmasına, kütle spektrometresi de, saf maddelerin karakteristik kütle spektrumlarının tanınmasına yarayan, iki güçlü alettir. Bu iki aletin birleşik sisteminde, karışımdaki maddeler, bir yandan saf bileşenlerine ayrılırken, diğer yandan ayrılan bileşenler doğrudan tanınabilmektedir.

Sunulan çalışmada, kütle spektrometresi olarak, Finnigan 300 E kuadropol kütle spektrometresi ile Packard 427 model gaz kromatografisi birleşik sistemi kullanılmıştır. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi bağlantısı kapiler cam jet separatörle sağlanmıştır. Kolondan taşıyıcı gazla birlikte gelen saf maddeler, havası boşaltılmış odada cam jet ayırıcıda taşıyıcı gazdan ayrılarak, kütle spektrometresinin iyonlaşma odasına girmektedirler.

Kütle spektrometresinin elektron iyonizasyon enerjisi 70 eV, iyonlaşma basıncı 8.10^{-6} mm Hg'dır. Gaz kromatografisi kolonu, 1/8 inch çapında ve 183 cm uzunluğunda olup, Chromosorb W-W (60-80 mesh) üzerine emdirilmiş % 3 SE-30 la doldurulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılmıştır. Gaz kromatografisinde sıcaklık programlanması bütün numuneler için t_{ilk} : 60°C , ilk sıcaklıkta tutma süresi : 5 dk, sıcaklık artış hızı $3^{\circ}\text{C}/\text{dk}$, t_{son} : 250°C ve son sıcaklıkta bekleme süresi: 5 dk'dır.

Kütle spektrometresinde, ayrılan her bileşik için kütle spektrumu çekilmiş, elde edilen spektrumlar, spektral atlasla yardımıyla değerlendirilerek bileşiklerin tanınması sağlanmıştır⁹⁰.

Karışımındaki maddelerin yüzdeleri, gaz kromotogramlarındaki pik alanlarının kesilip tartılmasıyla hesaplanmıştır.

5.5-Otoklavda Ladin ve Kayının Asetonla Süperkritik Gaz Ekstraksiyonu Ekstraktlarının Elde Edilmesi

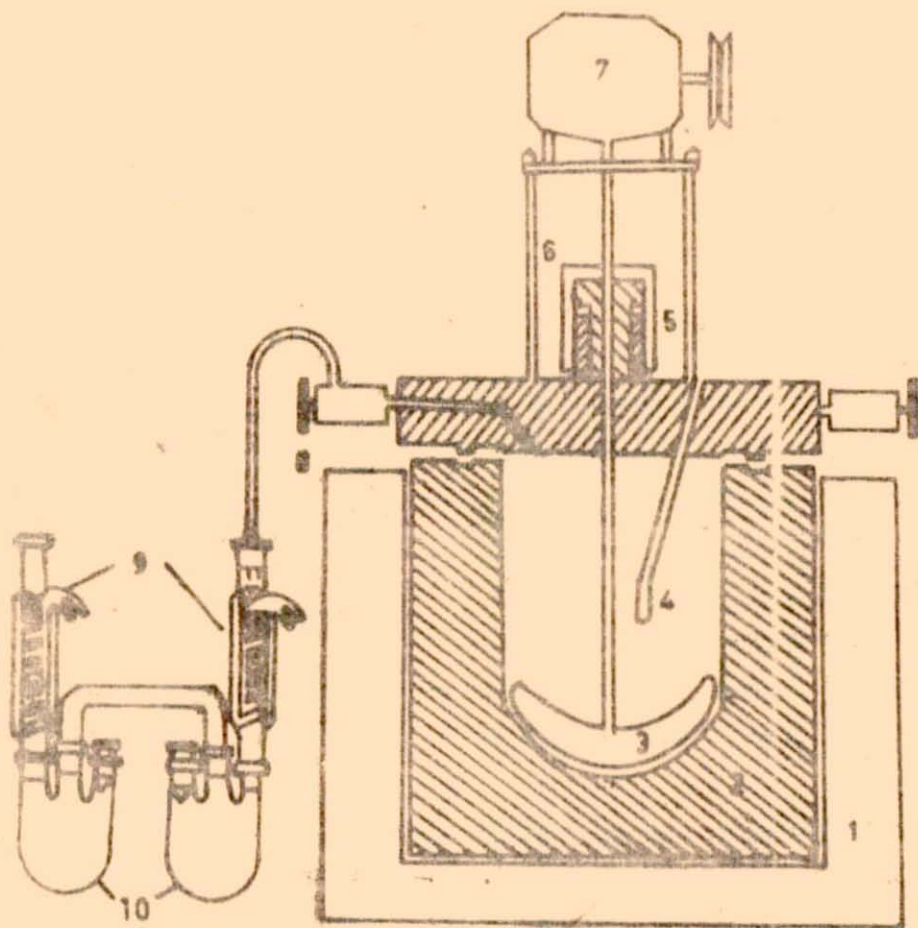
Ladin ve kayının süperkritik gaz ekstraksiyonu, Şekil 5.3'de gösterilen otoklavda yapılmıştır. Cooks (İngiltere) firmasından alınan otoklavın en yüksek çalışma basıncı 350 atm ve sıcaklığı 500°C dir.

Otoklav, şekilde görüldüğü gibi üç ana bölümden oluşmaktadır.

1. Gövde
2. Yüksek basınçta karıştırmayı sağlayan karıştırıcı,
3. Çıkan ürünleri taşıyan soğutucular ve toplama balonlarıdır.

Otoklavın gövdesi, paslanmaz çelikten yapılmıştır. Isıtıcı 3000 watt'lık dirençleriyle sistemi kısa zamanda 500°C ye kadar ısıtmaktadır. Isıtıcı kontrol ünitesinin sıcaklık duyarlılığı $\pm 5^{\circ}\text{C}$ dir. Yüksek sıcaklık ve basınçta karıştırmayı sağlayan karıştırıcı mili, dayanıklı salnastralar ve elektrik motorlarından aldığı hareketi 1/9 yavaşlatarak mile veren dişli kutusundan oluşmuştur. Üçüncü ünite ise, gaz fazındaki ekstraktivlerin yoğunlaştığı soğutucular ve toplandığı balonlardan oluşmuştur.

Otoklavda odun ekstraksiyonu yapıldan önce, terpenlerin yüksek sıcaklık ve basınçta bozunup bozmadıkları hakkında fikir edinmek için, limonen-dioksan (ağırlıkça 1:20) karışımı ,



Şekil 5.3- Otoklav ve soğutucu sistemi.

1. Isıtıcı gömlek,
2. Gömme
3. Karıştırıcı
4. Sıcaklık ölçme girişi
5. Salmastra
6. Salmastra soğutucusu
7. Karıştırıcı dişli kutusu
8. Numune alma vanası
9. Soğutucular
10. Ekstrakt toplama balonları

otoklavda 330°C ve 90-100 atm de 30 dakika tutulmuştur. Otoklavdan alınan karışımdan, dioksan döner buharlaştırıcıda uzaklaştırılmıştır. Diokсандan ayrılan limonenle, saf limonenin gaz kromotogramları karşılaştırılmış ve limonenin bozunmadığı görülmüştür.

Dioksanın kaynama noktası, kritik sıcaklığı ve kritik basıncının (kn. 101°C, T_{kr} : 314°C, P_{kr} : 51,4 atm) yüksek olması nedeniyle odun ekstraksiyonu asetonla (kn. 56°C, T_{kr} : 235,5°C, P_{kr} : 47 atm) yapılmıştır.

Üğütülmüş odun numuneleri, asetonla (ağırlıkça 1:10) karıştırılarak otoklava konmuştur. Otoklavın kapağı iyice kapatılıp, karıştırıcı ve ısıtıcı çalıştırılmıştır. Sistem, ekstraksiyon sıcaklığına gelince (240°C ve 60-65 atm) 30 dakika beklenerek, ekstraksiyonun belli bir ölçüde tamamlanması sağlanmıştır. Bu sürenin son 10 dakikasında, odun tozlarının gaz fazındaki ekstraktivlerle sürüklenmeyip dibe çökmesi için, karıştırıcı durdurulmuştur. Sonra çıkış vanası yavaş yavaş açılarak, ekstraktivlerin soğutucularda yoğunlaştırılıp balonlarda toplanması sağlanmıştır. Çıkış borusu ve soğutucular asetonla yıkanarak ekstraktivlerin hepsinin alınmasına çalışılmıştır. Ekstrakt, süzülerek katı parçacıklardan ayrılmıştır.

Otoklavdan gittikçe koyulaşan kahverengi-siyah renkte ekstrakt ve açık kahve rengi katı odun kalıntısı elde edilmiştir. Kalıntı odun, soxhlet ekstraktöründe asetonla ekstrakte edilerek, katıda kalan ekstraktivler de alınmış ve ana ekstrakt ile birleştirilmiştir. Ekstrakta yaklaşık 100 ml aseton kalıncaya kadar aseton, döner buharlaştırıcıda (20-30°C) uzaklaştırılmıştır. Verim hesaplanmasında, aseton tamamen uzaklaş-

tırılıp ekstrakt vakum etüvünde (30°C) sabit tartıma getirilerek miktarı tayin edilmiştir. Odun kalıntısı da vakum etüvünde aynı şekilde sabit tartıma getirilmiş ve miktarı bulunmuştur. Gaz ürünler ve kayıplar aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

$$\text{Gaz ürünler ve kayıplar (g)} = \text{Numune (g)} - [\text{kalıntı odun (g)} + \text{ekstrakt (g)} + \text{su (g)}]$$

Numunelerde su tayini daha önce Bölüm 5.1.3'de yapıldığından, deney sonuçları kuru odun üzerinden verilmiştir.

5.6-Otoklav Ekstraktivlerinin Fraksiyonlanması

Otoklav ekstraktivlerinin fraksiyonlanması Bölüm 5.2.1, 5.2.2 ve 5.2.3'de uygulanan yöntemlerle yapılmıştır. Ancak, otoklavda fazla madde ile çalışılmadığından, subuharı distilasyonu ile çok az uçucu madde elde edilmiştir. Bu yüzden, bu maddeler kolon ve ince tabaka kromatografisi ile saflaştırılmamış ve doğrudan gaz kromatografisi-kiitle spektrometresi birleşik sistemine verilmiştir.

6. DENEY SONUÇLARI VE YORUMU

6.1 Su Tayini

Ekstraksiyon işlemine geçmeden önce, öğütülmüş odun numunelerinde su tayini yapılmıştır. Bulunan sonuçlar Tablo 6.1' de verilmiştir.

Yöntem	Odun cinsi	Havada kuru numune (g)	g su	% su
Distilasyon yöntemi	Ladin	20,95	2,20	10,50
	Kayın	12,00	1,00	8,33
Etüvde kurutma yöntemi	Ladin	3,804	0,396	10,41
	Kayın	4,276	0,353	8,26

Tablo 6.1-Ladin ve kayın odunlarında distilasyon ve etüvde kurutma yöntemiyle bulunan % su miktarı

Ladin ve kayında bulunan uçucu maddeler az olduğundan, her iki yöntemle bulunan yüzde su miktarları birbirine yakındır.

6.2-Ladin ve Kayın Soxhlet Ekstraksiyon Ürünleri

Ladin ve kayın soxhlet ekstraksiyon ürünlerinin verimi, Tablo 6.2 ve 6.3'de verilmiştir.

Ürünler	g miktar	% Havada kuru odunda	% Susuz Odunda
Ekstraktivler	2,13	1,42	1,59
Su	15,75	10,50	-
Kalıntı odun	132,12	88,08	98,41
Toplam	150,00	100,00	100,00

Tablo 6.2-Ladin soxhlet ekstraksiyonu ürünlerinin verimi

Ürünler	g miktar	% Havada kuru odunda	% Susuz Odunda
Ekstraktivler	2,79	2,33	2,54
Su	10,00	8,33	-
Kalıntı odun	107,21	89,34	97,46
Toplam	120,00	100,00	100,00

Tablo 6.3-Kayın soxhlet ekstraksiyon ürünlerinin verimi

Ladin soxhlet ekstraktivlerinin verimi, kuru odun üzerinden % 1,59, havada kuru odun üzerinden % 1,42 bulunmuştur. 2,13 g ladin soxhlet ekstraktivlerinin 1,18 gramı (% 55,40'ı) petrol eterinde çözülmüş olup, petrol eterinde çözünenler kuru odun üzerinden % 0,88 bulunmuştur.

Kayın soxhlet ekstraktivlerinin verimi, havada kuru

odun üzerinden % 2,33, kuru odun üzerinden % 2,54 bulunmuştur. 2,79 g kayın ekstraktivlerinin 0,22 gramı (% 7,89'u) petrol eterinde çözülmüş olup, kuru odun üzerinden % 0,20 bulunmuştur.

Literatürde, ladin aseton ekstraktivleri % 1-2,5 arasında, aseton ekstraktivleri-petrol eterinde çözünenler % 1,04 verilmiştir.^{24,34,36} Kayın petrol eteri ekstraktivleri, literatürde⁴¹ % 0,2-0,6 arasında verilmiştir. Bu çalışmada bulunan değerler, literatürde verilen sınırlar arasındadır.

6.3-Ladin ve Kayın Süperkritik Gaz Ekstraksiyon Ürünleri

Ladin ve kayının asetonla süperkritik gaz ekstraksiyon ürünlerinin verimi Tablo 6.4 ve 6.5'de verilmiştir.

Ürünler	g miktar	% Havada kuru odunda	% Susuz odunda
Ekstraktivler	1,82	6,07	6,78
Su	3,15	10,50	-
Kalıntı odun	19,27	64,23	71,77
Gaz ürünler ve ka.	5,76	19,20	21,45
Toplam	30,00	100,00	100,00

Tablo 6.4-Ladin Süperkritik gaz ekstraksiyon ürünlerinin verimi

Ürünler	g miktar	% Havada kuru odunda	% Susuz odunda
Ekstraktivler	7,00	8,75	9,55
Su	6,66	8,33	-
Kalıntı odun	41,02	51,27	55,93
Gaz ürünler ve ka.	25,32	31,65	34,52
Toplam	80,00	100,00	100,00

Tablo 6.5-Kayın süperkritik gaz ekstraksiyon ürünlerinin verimi

Ladin süperkritik gaz ekstraktivlerinin verimi, havada kuru odun üzerinden % 6,07, kuru odun üzerinden % 6,78 bulunmuştur. 1,82 g ekstraktivlerin 0,52 gramı (% 27,53'i) petrol eterinde çözülmüş olup, kuru odun üzerinden petrol eterinde çözünenler % 1,94 bulunmuştur. Kayın süperkritik gaz ekstraktivlerinin verimi, havada kuru odun üzerinden % 8,75, kuru odun üzerinden % 9,55 bulunmuştur. 7,00 gram ekstraktivlerin 0,80 gramı (% 11,43'ü) petrol eterinde çözülmüş olup, kuru odun üzerinden % 1,09 bulunmuştur.

Sunulan çalışmada, ladin süperkritik gaz ekstraktivleri, soxhlet ekstraktivlerinden çok fazla olup, % 326 artmıştır. Petrol eterinde çözünenler ise % 118 artmıştır.

Kayın süperkritik gaz ekstraktivlerinin verimi, soxhlet ekstraktivlerine göre % 276, petrol eterinde çözünenler ise daha fazla artmış ve artış oranı % 445 bulunmuştur.

Süperkritik gaz ekstraksiyonunda, gaz ürünler ladinde %21,45, kayında % 34,52 bulunmuştur. Bu sonuçlar, ekstraksiyon sıcaklığında kayının ladinden daha fazla piroliz olduğunu göstermektedir.

6.4-Ladin ve Kayın Soxhlet Ekstraktivlerinin Fraksiyonlanması

Ladin ve kayın ekstraktivleri; sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile petrol eterinde çözünenler ve çözünmeyenler olmak üzere iki ana kısma ayrılmıştır. Petrol eterinde çözünenler, asitler ve sabunlaşmayanlara, sabunlaşmayanlar ise, subuharı distilasyonu ile uçucu ve uçucu olmayan fraksiyonlara ayrılmıştır. Tablo 6.6'da ladin ve kayın soxhlet ekstraktivleri fraksiyonlarının kuru ve havada kuru odun üzerinden verimleri gösterilmiştir.

Odun	% Petrol eterinde çöz.	% Toplam asitler	% Sabunlaşmayanlar		
			Toplam	Uçucular	Uç.01m.
Ladin (ha.ku.)	0,79	0,70	0,039	0,032	0,057
Ladin (susuz)	0,88	0,78	0,11	0,036	0,064
Kayın (ha.ku.)	0,18	0,081	0,11	0,0061	0,094
Kayın (susuz)	0,20	0,089	0,11	0,0065	0,103

Tablo 6.6-Ladin ve kayın soxhlet ekstraktivleri fraksiyonlarının kuru ve havada kuru odun üzerinden verimleri

Ladin ve kayın aseton ekstraktivleri-petrol eterinde çözünenlerin % bileşimleri Tablo 6.7'de verilmiştir.

Odun	% Petrol eterinde çöz.	% Toplam asitler	% Sabunlaşmayanlar		
			Toplam	Uçucular	Uçucu olm.
Ladin	55,40	88,98	11,02	4,09	6,93
Kayın	7,89	43,89	56,11	3,25	52,86

Tablo 6.7-Ladin ve kayın soxhlet ekstraktivleri-petrol eterinde çözünenlerin % bileşimi

6.5-Ladin ve Kayın Süperkritik Gaz Ekstraktivlerinin Fraksiyonlanması

Ladin süperkritik gaz ekstraktivleri, susuz odunun % 6,78'ni, havada kuru odunun %6,07'ni, kayında ise, kuru odunun % 9,55'ni ve havada kuru odunun % 8,75'ni oluşturmaktadır.

Her iki odunda süperkritik gaz ekstraktivleri, petrol eterinde çözünenler ve çözünmeyenler olmak üzere iki ana kısma ayrılmıştır. Petrol eterinde çözünenler, asitler ve sabunlaşmayanlara, sabunlaşmayanlar ise, uçucu ve uçucu olmayan fraksiyonlara ayrılmıştır.

Ladin ve kayın süperkritik gaz ekstraktivleri-petrol eterinde çözünenlerin verimi Tablo 6.8'de verilmiştir.

Odun	% Petrol eterinde çöz.	% Toplam asitler	% Sabunlaşmayanlar		
			Toplam	Uçucular	Uç.Olm.
Ladin (ha.k.)	1,73	1,62	0,11	0,051	0,059
Ladin(susuz)	1,94	1,82	0,12	0,054	0,066
Kayın(ha.k.)	1,00	0,89	0,11	0,026	0,084
Kayın	1,09	0,97	0,12	0,028	0,092

Tablo 6.8-Ladin ve kayın süperkritik gaz ekstraktivleri-pet-

Ladin ve kayın süperkritik gaz ekstraktivleri-petrol eterinde çözünenlerin yüzde bileşimleri Tablo 6.9'da verilmiştir.

Odun	% Petrol eterinde çözünenler	% Toplam asitler	% Sabunlaşmayanlar		
			Toplam	Uçucu	Uçucu olm.
Ladin	28,57	93,81	6,19	2,78	3,41
Kayın	11,43	88,99	11,01	2,57	8,44

Tablo 6.9-Ladin ve kayın süperkritik gaz ekstraktivleri-petrol eterinde çözünenlerin % bileşimi

Süperkritik gaz ekstraktivleri-petrol eterinde çözünenler, ladinde % 1,94, kayında % 1,09, sabunlaşmayanlar ise her iki odunda da % 0,12 bulunmuştur.

Tablo 6.6 ve 6.8'de görüldüğü gibi, her iki ekstraktta da ladin ve kayının içerdiği sabunlaşmayan maddelerin miktarı hemen hemen aynıdır. Ancak, uçucu ve uçucu olmayan madde içerikleri önemli ölçüde değişmektedir. Soxhlet ekstraksiyonunda ladin % 0,036 uçucu madde içerirken, kritik gaz ekstraksiyonunda % 50 artarak % 0,054'e, kayında ise % 0,0065 den % 330 artarak % 0,028'e yükselmiştir.

Ladin soxhlet ekstraksiyonunda sabunlaşmayanlar, petrol eterinde çözünenlerin %11,02'ni oluştururken, süperkritik gaz ekstraksiyonunda % 44 azalarak % 6,19'a, kayında, % 56,11 den, % 400 azalarak % 11,01'e düşmüştür.

Bu sonuçlar, süperkritik gaz ekstraksiyonunda, asitlerin ve yağ asidi esterlerinin özellikle kayında daha fazla çözündüklerini, sabunlaşmayanların, her iki ekstraksiyonda da hemen

hemen aynı kaldıklarını göstermektedir. Ancak sabunlaşmayanların, uçucu ve uçucu olmayan bileşimleri önemli ölçüde değişmektedir. Odunun otoklavda bozunmasından oluşan sabunlaşmayan uçucu maddeler (çeşitli hidrokarbonlar) artarken, odunun içerdiği uçucu olmayan bazı sabunlaşmayan maddelerin de petrol eterinde çözünmeyen maddelere bozdukları anlaşılmaktadır.

6.6-Kolon ve İnce Tabaka Kromatografisi ile Yapılan Ayırma ve Analiz Sonuçları

Model olarak seçilen limonen, dekosan ve α -terpinol karışımından 0,5 g, 30 cm uzunluğunda, 2 cm çapında silikajel kolonda, sıra ile 200 ml hekzan, 150 ml benzen ve 150 ml metanolle elüe edilmiştir. Eluat, 5'er ml'lik fraksiyonlar halinde toplanmıştır. Fraksiyonların guruplandırılması için kırılma indislerine bakılmış, ancak sonuç alınamamıştır. İnce tabaka ve gaz kromatografisi ile yapılan analizlerle, 7-10. tüplerde dekosanın, 29-34. tüplerde limonenin ve 71-75. tüplerde (metanolün ilk 5-20 ml sinde) α -terpinolün toplandığı belirlenmiştir.

Ladin soxhlet ekstraksiyonundan elde edilen uçucu bileşiklerin yaklaşık 0,1 gramı silikajel kolonda, 200 ml petrol eteri, 150 ml petrol eteri-eter (80:20) karışımı ve 150 ml petrol eteri-eter (1:1) ile elüe edilerek, üç fraksiyon halinde toplanmıştır. Gaz kromatografisi ve ince tabaka kromatografisi ile yapılan analizlerle, terpen hidrokarbonların petrol eteri ile geçtikleri, oksijenli terpenlerin petrol eteri-

eter karışımıyla kısmen geçtikleri belirlenmiştir. Kolonda kalan oksijenli terpenler metanolle alınmıştır.

0,1 g uçucu yağ, nötral alümina (I) kolonda, 200 ml petrol eteri ve 150 ml metanolle elüe edilerek, 5 er ml lik fraksiyonlar halinde toplanmıştır. 5-7. tüplerde başlıca parafinlerin, 10-15 ve 25-30. tüplerde terpen hidrokarbonların, 41-46. tüplerde oksijenli terpenlerin geçtikleri belirlenmiştir.

0,25 mm kalınlığında kieselgur (tip 60) çekilmiş cam tabakada, etil asetat-hekzan (15:85) çözücü karışımı ile terpenlerin çok iyi ayrılmaları sağlanmıştır⁷⁵. Ayrılan maddelerin yerleri, % 1 lik vanilin-sülfürik asit renk reaktifi püs-kürtülerek ve UV lamba altında bakılarak belirlenmiştir.

İnce tabakada eterik yağlar 12 fraksiyona ayrılmıştır. Bu fraksiyonların Rf değerleri sıra ile; 0,92, 0,89, 0,85, 0,74, 0,69, 0,43, 0,29, 0,26, 0,22, 0,14 ve 0,06 bulunmuştur. Laboratuvarda bulunan standart maddeler (α -pinen, limonen ve α -terpinol), numune ile aynı tabakada yürütülmüş ve Rf değerleri; α -pinen 0,92 limonen 0,74 ve α -terpinol 0,31 bulunmuştur. Rf değerleri karşılaştırılarak, numunede α -pinen, limonen ve α -terpinol bulunduğu belirlenmiştir.

6.7-GazKromatografisi-Kütle Spektrometresi Birleşik Sistemiyle Yapılan Analizler

Ladin soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan terpenler, ladin süperkritik gaz ve kayın soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan uçucu bileşikler, gaz kromatografisi-kütle spektrometresi birleşik sistemiyle analize tabi tutulmuş ve bu fraksi-

yonları oluşturan bileşiklerin yapılarının aydınlatılmasına çalışılmıştır. Bu fraksiyonların gaz kromatogramları 6.1'den 6.4'e kadar olan şekillerde, yapıları aydınlatılan bileşikler ise, Tablo 6.10 ve 6.13'de verilmiştir.

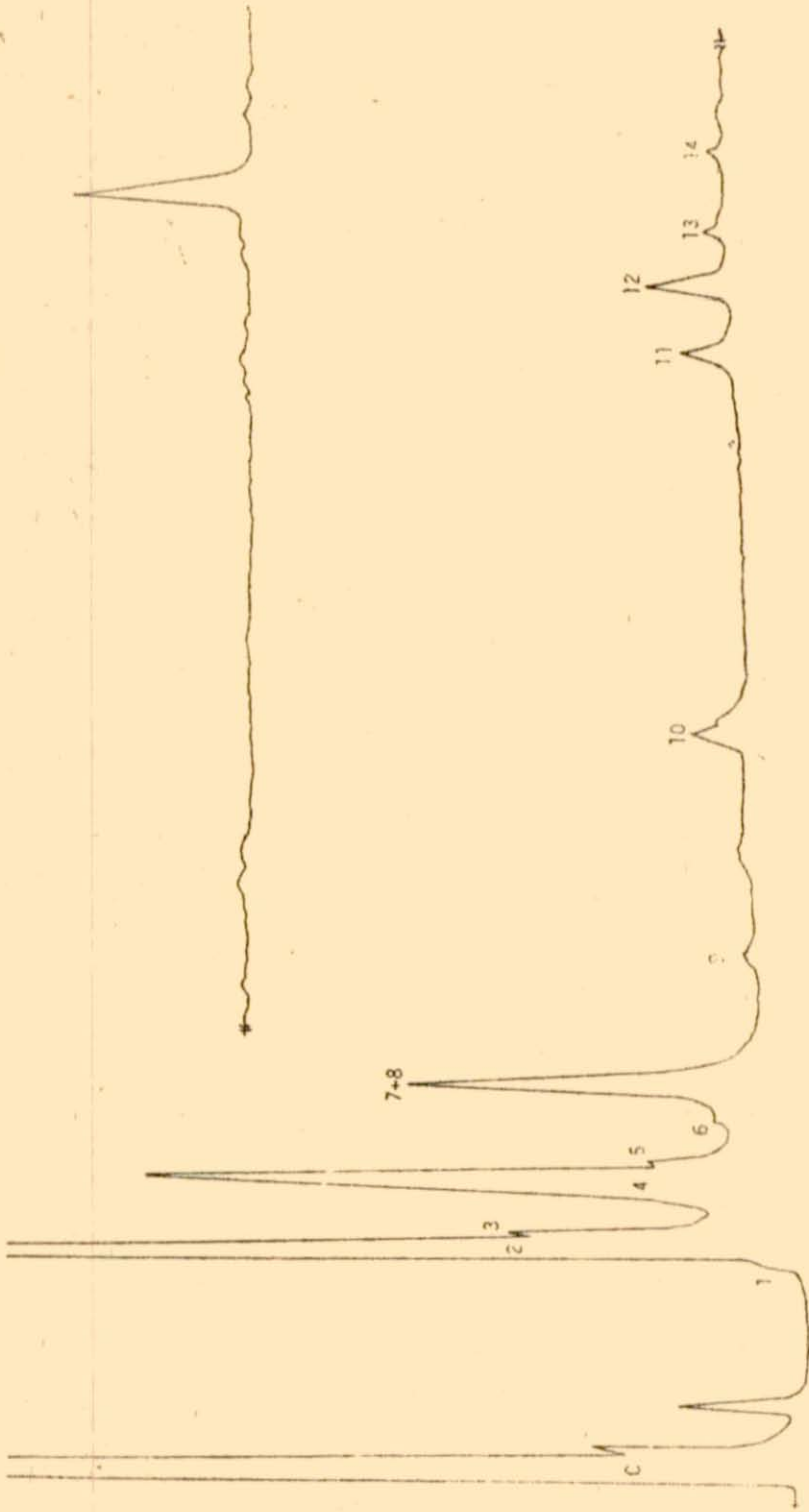
6.8-Ladin. Soxhlet Ekstraktivlerindeki Terpenler

Ladin soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan terpenlerin % 3 SE-30 kolonla GC/MS birleşik sistemiyle yapılan analizinde; %79,75 monoterpen hidrokarbonları, % 1,83 monoterpen alkol, % 7,84 seskiterpen hidrokarbonları ve % 10,53 yapısı aydınlatılamayan seskiterpen, diterpen ve diğer safızlıkları içerdiği bulunmuştur.

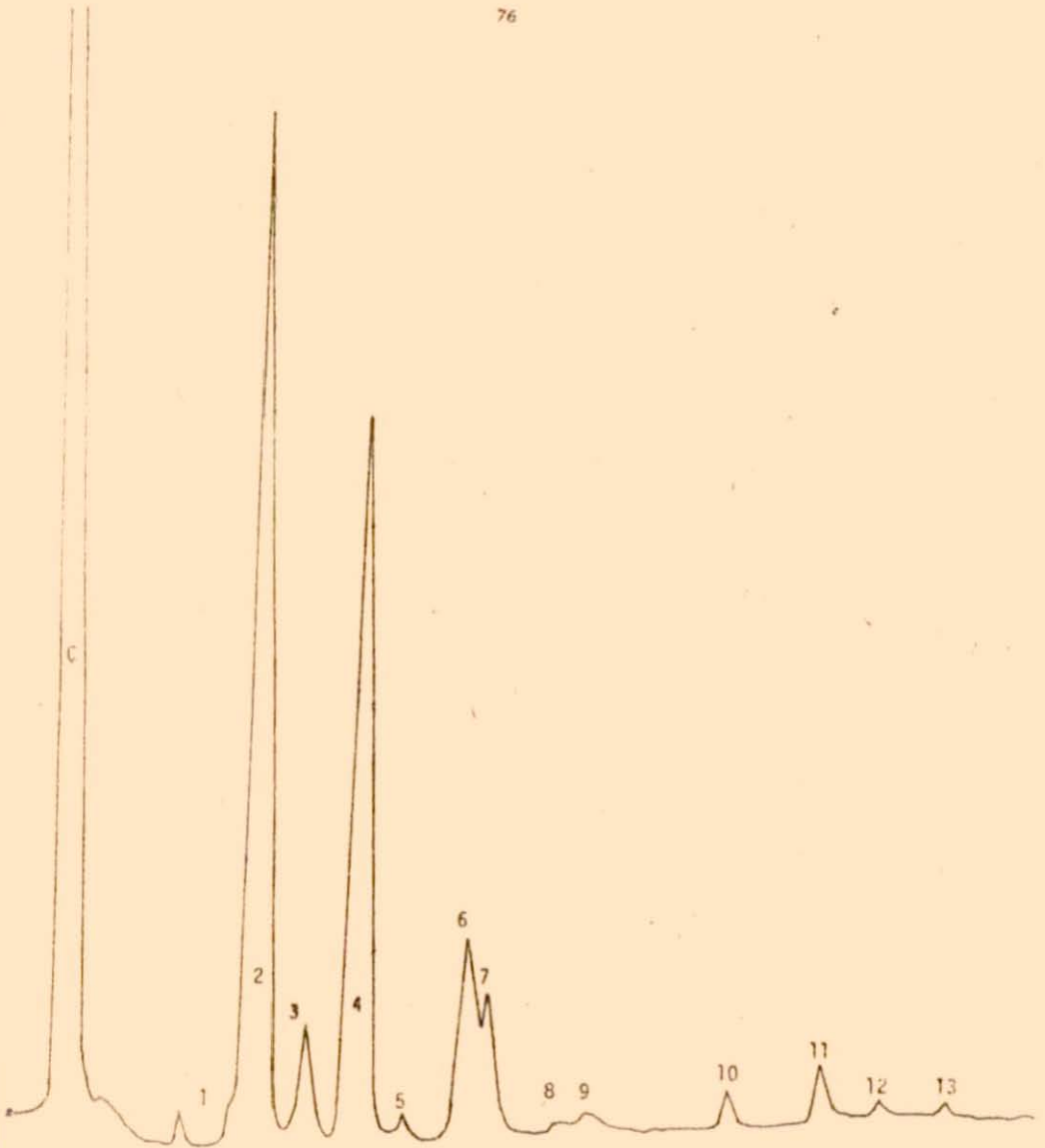
Şekil 6.1'de % 3 SE-30 kolonda, Şekil 5.2'de % 10 karbovaks 20M kolonda gaz kromatogramları, Tablo 6.10'da yapısı aydınlatılan bileşiklerin yüzde bileşimleri verilmiştir.

Literatürde¹⁷, çeşitli ladin odunlarından subuharı distilasyonu ile elde edilen eterik yağların içerdiği monoterpen hidrokarbonlar, % 74,3-90,5 arasında değişmektedir (Tablo 2.9). Tabloda görüldüğü gibi farklı türlerdeki ladinlerin içerdiği terpenlerin yüzde bileşimlerinde önemli farklılıklar vardır. Ancak hepsinde, iğne yapraklı ağaçları karakterize eden α -pinen bulunmuştur. β -pinen, Δ -3-karen, limonen, kamfen, mirsen ve β -fellandre gibi iğne yapraklı ağaçlarda çok bulunan terpenlerden bir ya da bir kaçının bazı türlerde bulunmadığı görülmektedir.

Doğu ladininde en fazla (% 34,76) α -pinen bulunmuştur. Diğer monoterpen hidrokarbonlardan; % 21,13 β -pinen, % 8,12



Şekil 6.1-2: Adin sordiac ekstraktivlerinden ayrılan terpenlerin gaz kromatogramı.
 Kolon : 3 x 2T-20, taşıyıcı gaz : He (50 ml/dk), kağıt hızı : 1 cm/dk, t_{ilk} : 60°C, t_{son} : 250°C



Şekil.6.2-Ladin soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan terpenlerin gaz kromatogramı

Kolon : % 10 karbovaks 20M, taşıyıcı gaz : N_2 (25 ml/dk), kağıt hızı : 0,5 cm/dk

t_{ilk} : 90°C, $T^{\circ}C/dk$, t_{son} : 200°C

Pik No.	Terpen	% Bileşimi	Pik No.	Terpen
	Monoterpen hidrokarbonlar			Monoterpen hidrokarbonlar
		79,75		
1	Trisiklen	0,60	1	Trisiklen
2	α -pinen	34,76	2	α -pinen
3	Kamfen	6,40	3	Kamfen
4	β -pinen	21,13	4	β -pinen
5	Mirsen	1,89	5	Mirsen
6	p-simen	0,50	8	p-simen
7+8	Limonen + β -fellandre (limonen) (β -fellandre)	13,76 (8,12) (6,64)	6	Limonen
			7	β -fellandre
9	α -terpinolen	0,72	9	α -terpinolen
	Monoterpen Alkol			
		1,88		
10	α -terpinol	1,88		
	Seskiterpen hidrokarbonlar			Seskiterpen hidrokarbonlar
		7,84		
11	Kopaen	2,29	10	Kopaen
12	β karyoptolen	2,96	11	β -karyoptolen
13	Humulen	1,39	12	Humulen
14	α -murolen	1,20	13	α -murolen

Tablo 6.10-Ladin soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan yapısı aydınlatılan terpenlerin % bileşimi

limonen, % 6,40 kamfen, % 5,64 β -fellandre % 1,89 mirsen, % 0,72 α -terpinolen, % 0,60 trisiklen ve % 0,50 p-simen bulunmuştur.

Ladin türleri genellikle çok az miktarda oksijenli terpenleri içermektedir. Norveç ladinini ham reç nesinde, monoterpen ve seskiterpen alkollerin, monoterpen hidrokarbonlara oranı yaklaşık 1/20 bulunmuştur⁵⁷. Doğu ladininde ise, monoterpen alkollerden yalnız % 1,88 α -terpino bulunmuştur.

Aynı araştırmada bulunan seskiterpen hidrokarbonların, monoterpen hidrokarbonlara oranı yaklaşık 1/8 dir. Doğu ladininde de yapısı aydınlatılan seskiterpenlerin, monoterpen hidrokarbonlara oranı yaklaşık 1/8 bulunmuştur. Yapısı belirlenen seskiterpenlerden; % 2,96 β -karyoptolen, % 2,29 kopaen, % 1,39 humulen, % 1,20 α -murolen ve yaklaşık % 1 kadar yapısı aydınlatılamayan seskiterpen bulunmuştur.

Norveç ladininden subuharı distilasyonu ile elde edilen monoterpen hidrokarbonlarla, Doğu ladininde bulunan monoterpen hidrokarbonların kendi aralarında yüzde bileşimleri Tablo 6.11'de karşılaştırılmıştır.

Terpen	Doğu Ladinini % bileşimi	Norveç Ladinini ⁵⁶ % bileşimi
α -pinen	43,59	58
β -pinen	26,50	24
Kamfen	8,01	3,0
Limonen	10,18	4,5
β -fellandre	7,07	-
Δ -3-karen	-	2,1
Mirsen	2,37	-
α -terpinolen	0,90	0,4
p-simen	0,63	0,5
Bilinmeyenler	-	7,5

Tablo 6.11-Norveç ladinini ve Doğu ladinininin içerdiği monoterpen hidrokarbonların % bileşimleri

6.9-Ladin Süperkritik Gaz Ekstraktivlerindeki Terpenler

Ladinin içerdiği terpen miktarının çok az olması, otoklavda fazla odunla ekstraksiyon yapılamaması ve otoklav ekstraktındaki terpenlerin uzun süre bekletilmeleri halinde bozunmaları nedeniyle, otoklavda bir haftada yapılan odun ekstraktından ancak 60-70 mg uçucu fraksiyon ayrılmıştır. Bu fraksiyondaki maddelerin büyük çoğunluğunu da, odunun bozunma ürünleri oluşturmaktadır. Bu yüzden, ayrılan fraksiyondaki terpenlerin kromatografik yöntemlerle saflaştırılması yapılamamıştır.

Ladin süperkritik gaz ekstraktivlerinden subuharı distilasyonu ile ayrılan uçucu bileşikler, % 3 SE-30 kolonla, GC/MS birleşik sistemiyle analiz edilerek, % 79,18'nin yapıları aydınlatılmıştır. Yapıları aydınlatılamayanlar arasında, yaklaşık % 0,16 monoterpen hidrokarbon, % 2,2 seskiterpen hidrokarbon ve % 5 kadar da diterpen bulunmaktadır. Uçucu fraksiyonun gaz kromatogramı Şekil 6.3'de, yapıları aydınlatılan bileşiklerin yüzdeleri Tablo 6.13'de gösterilmiştir.

Ladin süperkritik gaz ekstraksiyonu-uçucu fraksiyonunda başlıca; monoterpen hidrokarbonlardan, % 0,55 α -pinen, % 1,48 β -pinen, % 3,35 limonen + β -fellandre ve % 0,16 yapısı aydınlatılamayan monoterpen hidrokarbon bulunmuştur. Soxhlet ekstraktivlerinde bulunan ve miktarları az olan terpenler ise bulunamamıştır.

Soxhlet ve süperkritik gaz ekstraktivlerinin içerdiği monoterpen hidrokarbonların kendi aralarında yüzde bileşimleri Tablo 6.12'de karşılaştırılmıştır.

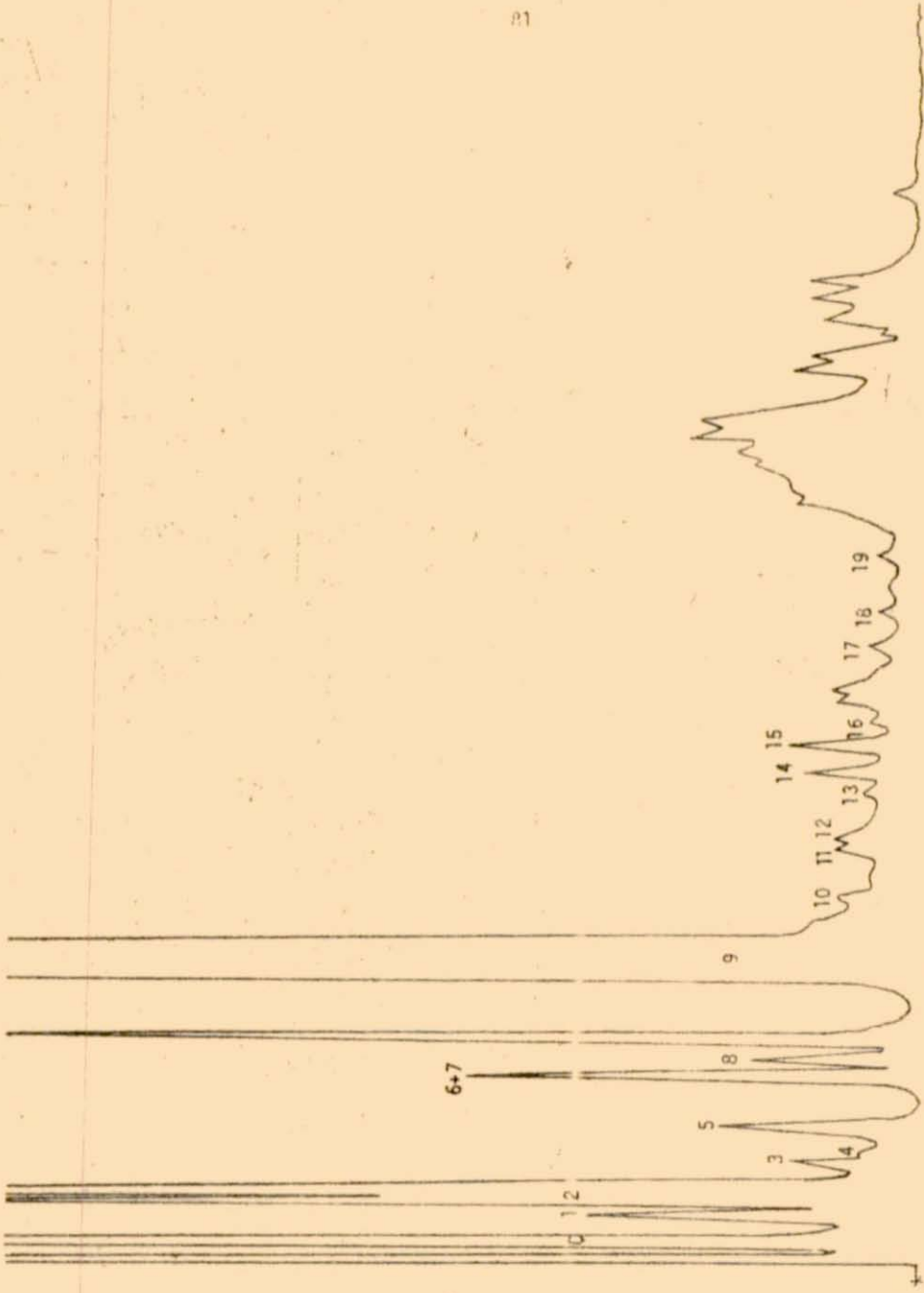
Soxhlet Ekstraksiyonu		Süperkritik Gaz Ekstraksiyonu	
Terpen	% Bileşimi		% Bileşimi
α -pinen	43,59		10,00
β -pinen	26,50		26,30
Limonen +			
β -fellandre	17,25		60,80
Diğerleri	12,66	Yapısı bilinmeyen	2,90

Tablo 6.12-Soxhlet ve süperkritik gaz ekstraktiflerindeki monoterpen hidrokarbonların % bileşimi

Pik No.	Bileşik	%	Pik No	Bileşik	%
1	p-ksilen	1,08	10	n-C ₁₂	1,10
2	o-ksilen	6,47	11	Metil naftalin	0,86
3	α -pinen	0,55	12	Timol	1,15
4	Bilinme.ter.	0,16	13	n-C ₁₃	0,25
5	β -pinen	1,48	14	Kopaen	1,12
6+7	Limonen +		15	β -karyofitolen	1,45
	β -fellandre	3,35	16	Humulen	0,38
8	Trimetil ben.	2,33	17	n-C ₁₆	0,19
9	1,2,3,4-		18	n-C ₁₇	0,25
	tetrahidro		19	n-C ₁₈	0,25
	naftalin	56,92			

Tablo 6.13-Ladin süperkritik gaz ekstraktiflerinden ayrılan uçucu bileşiklerin % bileşimi

Süperkritik gaz ekstraksiyonunda α -pinen miktarının çok fazla (% 300) azalması, diğer terpenlerden daha uçucu olması nedeniyle, numunenin otoklavdan alınması sırasında bir miktarın kaybolması ve otoklavda bozularak, başta dipenten (li-



Şekil 6.3-Eadin süperkritik gaz ekstraktivlerinden ayrılan uçucu fraksiyonun gaz kromatogramı

Koşullar : % SE-30, taşıyıcı gaz : N_2 (25 ml/dk), kaş. hızı : 0,5 cm/dk, t ilk : 60°C, 3°C/dk, t son : 250°C

monen) olmak üzere, diğer hidrokarbonlara dönüşmesinden ileri gelmektedir.

Literatürde⁹¹, α -pinenin basınç altında 250-270°C'ye kadar ısıtılmasıyla dipenten (dl-limonen)'e dönüştüğü, α -pinen buharının kızdırılmış demir tüpten geçirilmesiyle, izopren, benzen, toluen, çeşitli benzen hidrokarbonlar, haftalin, antrasen, metil antrasen ve fenantrenlerin oluştuğu belirtilmektedir. Aynı literatürde, α -pinenin 270°C de basınç altında diterpen hidrokarbonlara, daha düşük sıcaklıklarda, özellikle bakır katalizörlüğünde dipenten'e dönüştüğü rapor edilmiştir.

Limonen + β -fellandre miktarının çok fazla (% 250) artması, daha az uçucu olmaları, otoklavda bozunmamaları ve α -pinenin bozunarak limonen'e dönüşmesinden ileri gelmektedir. Otoklavda 330°C ve 100 atm limonenin bozunmadığı, daha önce yapılan model denemede görülmüştü.

β -pinen miktarı, monoterpen hidrokarbonlar içerisinde, soxhlet ekstraksiyonuna göre hemen hemen aynı kalmaktadır. Ancak, uçucu fraksiyondaki oranı, diğerlerinde olduğu gibi önemli ölçüde azalmaktadır.

Literatürde⁹², β -pinenin, basınç altında 270°C 'ye kadar ısıtılmasıyla diterpenlere, cam üzerinde 350°C'ye kadar ısıtılmasıyla, mirsen ve limonen'e dönüştüğü belirtilmektedir.

Soxhlet ekstraksiyonunda bulunan ve miktarları az olan diğer monoterpen hidrokarbonların, süperkritik gaz ekstraksiyonunda bulunmamaları, uçucu fraksiyondaki miktarlarının çok az olması ve kısmen de bozunmalarıyla açıklanabilir.

Süperkritik gaz ekstraksiyonu uçucu fraksiyonunda, seskiterpen hidrokarbonlardan; % 1,45 β -karyoptolen, % 1,12 kopaen, % 0,38 humulen ve yaklaşık % 2 kadar da yapısı aydınlatılamayan seskiterpen bulunmuştur.

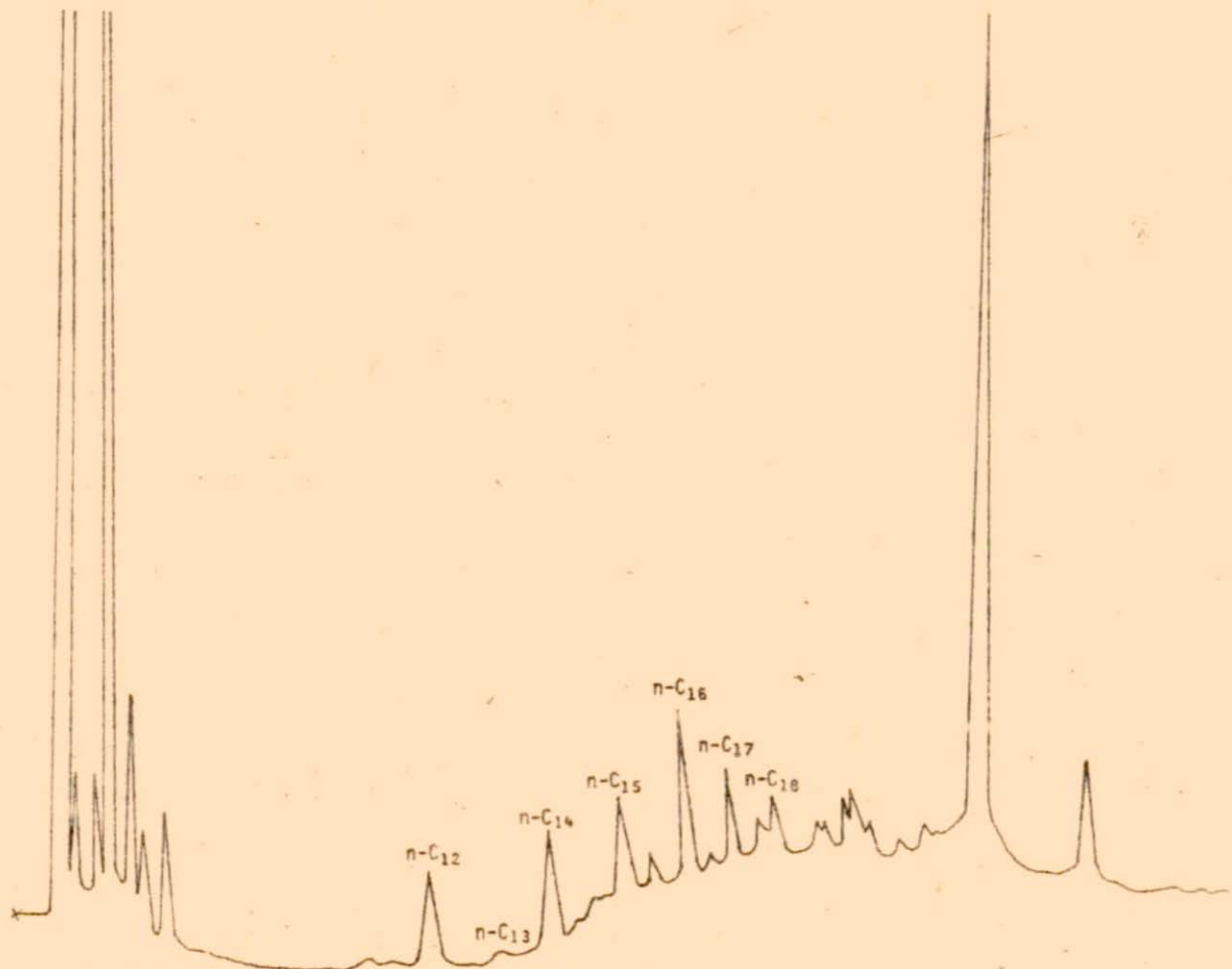
Süperkritik gaz ekstraksiyonunda bulunan seskiterpenlerin, monoterpen hidrokarbonlara oranı yaklaşık 1/2 dir. Bu oran, soxhlet ekstraksiyonu (1/8) ile karşılaştırılırsa, seskiterpenlerin % 400 arttığı görülür. Bu artışın, monoterpen hidrokarbonların fazla uçucu olması ve bozunmasından, seskiterpenlerin otoklavda daha iyi çözünmelerinden ileri geldiği söylenebilir.

6.10-Kayın Soxhlet Ekstraktivlerinden Ayrılan Uçucu Bileşikler

Kayın soxhlet ve süperkritik gaz ekstraktivlerinden ayrılan uçucu bileşiklerde terpenler bulunmamıştır. Bu nedenle bu fraksiyonların kromatografik yöntemlerle saflaştırılması yapılmamıştır.

Kayın soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan uçucu fraksiyon, % 3 SE-30 kolonla GC/MS birleşik sistemiyle analiz edilmiş ve başlıca parafinler bulunmuştur. Uçucu fraksiyonun gaz kromatogramı, Şekil 6.4'de verilmiştir.

Literatürde^{41,43}, kayın ekstraktivleri üzerinde yapılan araştırmalarda da uçucu terpenler bulunamamıştır.



Şekil 6.4-Kayın soxhlet ekstraktivlerinden ayrılan uçucu fraksiyonun gaz kromatogramı
Folon: % 3 SE-30, taşıyıcı gaz: N₂ (25 ml/dk), kağı. hızı: 0,5 cm/dk, t_{ilk}: 60°C, 30°C/dk, t_{son}: 250°C

7. S O N U Ç

Süperkritik gaz ekstraksiyonunda, ladin ve bilhassa kayın önemli ölçüde piroliz olmaktadır. Ekstraksiyon verimi, soxhlet ekstraksiyonuna göre, ladinde % 326, kayında % 276 artmıştır. Ancak, terpenlerin veriminde azalma olmuştur.

Otoklavda, monoterpen hidrokarbonlardan α -pinen, önemli ölçüde bozularak, limonen ve diğer hidrokarbonlara dönüşmüş, limonen ise bozunmamıştır. Diğer terpenlerde dikkate değer önemli bir değişme gözlenmemiştir.

Doğu ladininde, diğer ladin türlerinde olduğu gibi en fazla monoterpen hidrokarbonlar, az miktarda da seski-terpen hidrokarbonlar ve monoterpen alkol bulunmuştur. Terpenlerin bileşimi, diğer ladin türlerine göre farklı bulunmuştur.

Doğu kayınında uçucu terpen bulunamamıştır.

8. K A Y N A K L A R

- 1 P.HAKKILA
Metsa Ja. Puu, No 11, (1973) s.4
- 2 R.M.BERİ
Indian Pulp and Paper, 31, (1977) s.3-8
- 3 M.MAKELA
Suomen Puutalous, No 3, (1973) s.88
- 4 ORMAN GENEL MODORLOĞU ORMANCILIK İSTATİSTİK ALBOMU
(1974) 339
5. YEARBOOK of FOREST PRODUCTS, (1962-1973), FAO,(1975)
s. 13-29
- 6 H.E. KAİSER and R.S. HANCOCK
U.S. Pat.1,715, 085 and 1,715, 088 (1929)
- 7 A.B. ANDERSON
Ind. Eng. Chem., 39, (1947) s.1664
8. V.I. LIŠOV and I.I. SLASTNIKOV
Gidroliz. Lesokhim. Prom., 24, (1971) s.2
- 9 W. SANDERMANN
Naturharze Terpentinöl Tallöl, Springer-Verlag
Berlin (1960)
- 10 E. GUENTHER
The Essential Oils D. Van Nostrand Com., Vol 6,
New York (1952) s. 254-308
- 11 İ.Ö. OR. FAKOLTESİ DERGİSİ, Seri A, Cilt 6, Sayı 2,
(1956)

- 12 K.HANNUS and G. PENSAR
Papper Och. Tra., 55, (1973) s. 509-517
- 13 M. OKAY
Communications de la Faculté des Sciences de l'Université d'Ankara Seri B, Ankara (1964) s.1-15
- 14 H. EDRTMAN
Experimentia Suppl., No 2, (1955), s.156
- 15 N.T. MIROV
U.S. Dept. Agricult. Forest. Service, Techn. Bull., (1961) 1239
- 16 W.SANDERMANN
Holzforschung Bd., 16, (1962) s.3
- 17 M.V. SCHANTZ and J. JUVONEN
Acta Bottanica Fennica, 73, (1966)
- 18 E. ZAVARIN and K. SNAJBERK
Phytochemistry 4, (1965) s. 141-148
- 19 F. OSTON
Chemisch-analytische Untersuchungen an Nadelhölzern, Hamburg (1967) s.7
- 20 A. OLCAY and A. ÇALIMLI
Holzforschung Bd., 32, (1978) s. 7-10
- 21 B.L. BROWNING
The Chemistry of Wood, E. Robert Krieger Publishing Company New York (1975)
- 22 S.A. RYDHOLM
Pulping Processes, Interscience Publishers, New York (1965) s. 92
- 23 S. HUŞ
Orman Mahsulleri Kimyası, 10. Orman Fakültesi Yayınlarından (1969) s.43
- 24 P. NYLINDER and E. HAGGLUND
Meddelande Statens Skogsforskninginstitut, 44, No 11 Stockholm (1954)

- 25 G. PENSAR
Acta Acad. Aboensis Seri B, 27, No 5, (1967)
- 26 Yu. I. KHOL'KIN
Chromotography in Wood Chemistry, Israel Program for Scientific Translations Jerusalem (1969) s.115-129
- 27 W.E. HILLS
Wood Extractives and Their Significance to the Pulp and Paper Industries Acad. Press, New York and London (1962) 331
- 28 O. PERILA
Paperi Ja. Puu., 36, (1954) 213
- 29 S.KAHILA
Paperi Ja. Puu., 39, (1957) 35
- 30 G.C. HARRIS
Wood Chemistry (L.E. Wise and E.C. Jahn, eds), 2 nd.ed. Vol.1, Reinhold, New York (1952) s. 590
- 31 B.L. BROWNING
Methods of Wood Chemistry, Intercience Publishers, Vol. 1, New York (1967)
- 32 H. GÜKMEN
Açık Tohumlular, Orman Bakanlığı Yayınlarından, Ankara (1970)
- 33 S.A. RYDHOLM
Pulping Processes s. 218-233
- 34 R.T. SJÖHOLM
Acta Acad. Aboensis 37, Nr. 1, (1977)
- 35 H.P. DAHM
Svensk Papperstidn., 73, (1970) s. 613
- 36 A. ASSARSSON and G. AKERLUND
Svensk Papperstidn., 16, (1966) s. 517-525
- 37 S.S. MALEVSKAYA and V.D. KARNAUKHOVA
Zh. Pkh, 28, (1956) s. 401

- 38 S. KAHILA
Kimiya; Khimicheskaya Tekhnologiya, No 12, (1957)
138
- 39 S.S. MALEVSKAYA, V.D. KARNAUKHOVA and S.D. KHARAD
Bumazhnaya Promy Iennost, No 9, (1955) s. 14
- 40 H. KAYACIK
Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği, 2. Cilt
10. Orman Fakültesi Yayınlarından, İstanbul (1977)
s. 85
- 41 J.A. LLOYD
N.Z. Journal of Science, 18, (1975) s.221-226
- 42 W.E. HILLIS
Phytochemistry 6, (1967) s. 59-67
- 43 R.C. CAMBIE and J.C. PARNELL
N.Z. Journal of Science, 12, (1969) s. 453-466
- 44 A.R. PINDER
The Chemistry of the Terpenes, Chapman and Hall Ltd.,
London (1960) s. 1-6
- 45 L. BIRKOFER and W. PAULY
Brennstoff-Chemie, 50, (1969) s. 376
- 46 W. TEMPLETON
An Introduction to the Chemistry of Terpenoids and
Steroids Butterworth Co. Ltd., London (1969) s.25-42
- 47 J.L. SIMONSEN
The Terpenes Cambridge University Press, Vol.1, London
(1953) s. 166
- 48 INTERNATIONAL UNION OF PURE and APPLIED CHEMISTRY,
Nomenclature of Organic Chemistry, Sec. A. and B, 2 end.
Butterworths London (1966)
- 49 KIRK-OTHMER
Encyclopedia of Chemical Technology, Second Completely
Revised Edition, Vol. 19, (1969) s. 803-836

- 50 J.H. RICHARDS and J.B. HENDRICKSON
The Biosynthesis of Steroids, Terpenes and Acetogenins W.A. Benjamin, New York (1964)
- 51 W. SANDERMANN and W. SCHWEERS
Tetrahedron Letters 7, (1962) s. 257-259
- 52 W. SANDERMANN
Biochem. Vienna, 28, (1958) s. 29
- 53 T.W. GOODWIN, J.B. PRIDHAM and T. SWAIN
Biosynthetic Pathways in Higher Plants, Acad. Press, London (1965) s. 37
- 54 J.D. BU'LOCK
The Biosynthesis of Natural Products McGraw-Hill, London (1965)
- 55 G.V. SUKHOV
Gidroliz. i. Lesokhim Prom., 9, (14), (1956) s. 17
- 56 A.B. GROTH
Svensk Papperstidn., 10, (1958) s. 311-321
- 57 B. KIMLAND and T. NORIN
Svensk Papperstidn., 75, (1972) s. 403-409
- 58 E.V. RUDLOFF
Tappi, 45, No 3, (1962) s. 181-184
- 59 D.F. ZINKEL and C.R. McKIBBEN
Chemistry of Naval Stores from Pine Lightwood-A Critical Review Reprinted from Proc. of Lightwood Research Coordinating Council Annual Meeting, Jun. 10-11, (1978) 133-156
- 60 A.B. ANDERSON
Ind. Eng. Chem., 38, (1946) s. 759
- 61 J.B. HANNAY and J. HOGARTH
Proc. Roy. Soc., Seri A, 29, London (1879) s.324-326
- 62 H.S. BOOTH and R.M. BIDWELL
Chem. Rev., (1949) s. 477-513

- 63 T.P. ZHUZE
Vestnik Akad. Nauk. S.S.S.R. 29, (11) (1959) s.47-52
Petroleum, (London), 23, (1960) s. 298-300
- 64 BRIT.PAT.
1057911, (April 10, 1964)
- 65 P.E.M.PAUL and W.S. WISE
The Principles of Gas Extraction, Mills and Boon
Limited, London (1971) s. 14-16
- 66 A.OLCAY ve R. CEYLAN
0-10 mm Zonguldak Taş Kömürü Süper Kritik Gaz Ekstraksiyonu, KTO Trabzon (1978)
- 67 H.HIBBERT and J.B. PHILLIPS
Can. J. Research, 4, (1931) s.1
- 68 P.J. KOHLBRENNER and C. SCHUERCH
J. Org. Chem., 24, (1959) s. 166
- 69 Ed. G. ZWEIG and J. SHERMA
CRC Handbook of Chromotography, Vol.2, CRC Press
(1972) 25
- 70 A. WINTERSTEIN and G.STEIN
Z. Physiol. Chem., 220, (1933) s. 247
- 71 S. CLEASON
Studies on Adsorption and Adsorption Analysis,
Almaquist (1946)
- 72 V. HEROUT
Collect. Czech. Chem. Communs, 15, (1950) s. 381-390
- 73 W. HUCKEL and W. HORNUNG
Chem. Ber., 90 (9), (1957) s. 2023-2024
- 74 R.L. CLEMENTS
Science, 128, (1958) s. 899-900
- 75 J.G. KIRCHNER and J.M. MILLER
Ind. Eng. Chem., 44, (1952) s. 318-321

- 76 E.V. RUDLOFF
Can J. Chem., 42, (1964) s. 1890-1895
- 77 H.A. BUTTKUS, R.J. BOSE and D.A. SHEARER
J. Agric. Food Chemistry 25, (1977) s. 288-291
- 78 S. TERHUNE et.al.
Can. J. Chem., 53, (1975) s. 3285-3293
- 79 T.NORIN and L. WESTFFELT
Acta Chem. Scand., 17, (1963) s. 1828-1830
- 80 A.A. AKHREM and A.I. KUZNETSOVA
Thin Layer Chromotography Israel Program for
Scientific Translations, Jerusalem, (1965) s.73-77
- 81 J.G.KIRCHNER, J.M. MILLER and G.J. KELLER
Anal. Chem., 23, (1951) s. 420-425
- 82 J.M. MILLER and J.G. KIRCHNER
Anal.Chem., 24, (1952) s. 1480-1482
- 83 J.A. ATTAWAY, L.J. BARABAS and R.W. WOLFORD
Anal.Chem., 37, (1965) s. 1288-1290
- 84 J.W. RABINSON
Undergraduate Instrumental Analysis Marcel Dekker
Inc, New York (1970)s. 243-245
- 85 M.H. KLOUWEN and R.T. HEIDI
J. Chromotog., 7, (1962) s. 297-310
- 86 E.V. RUDLOFF
Can. J. Chem., 41 (1963) s. 2876-2881
- 87 E.V. RUDLOFF
Pytochemistry, 1, (1962) s. 195-202
- 88 D.F.ZINKEL
Tappi, 58, (1975) s. 109-111
- 89 H.YILDIRIM and B. HOLMBOM
Acta Acad. Aboensis Seri B. 37, Nr. 3, (1978) s.3

- 90 S.STENHAGEN, S. ABRAHAMSON and F.W. McLAFFERTY
Registry of Mass Spectral Data, Wiley Interscience
(1975)
- 91 J.L. SIMONSEN
The Terpenes, Vol.2, (1957) s. 134
- 92 *ibid.*, s. 199

Ö Z G E Ç M İ Ş

Oktay TORUL 1952 yılında Artvin-Ardanuç'da (Kızılcık köyü) doğmuştur. 1969 yılında Milli Eğitim Bakanlığı adına AÖ. Fen Fakültesi Kimya Lisans Bölümüne girmiş ve 1973 yılında mezun olmuştur.

1973 yılında Beşikdüzü İlköğretmen okuluna öğretmen olarak atanmıştır. Bu okulda öğretmenlik yaparken, AÖ.Fen Fakültesi Kimya Yüksek Mühendisliği öğrenimini de tamamlamıştır. 1976 yılında KTÜ Temel Bilimler Fakültesi Kimya Bölümüne Uzman olarak atanmış ve 1977'de aynı bölüme Asistan olmuştur.

Halen aynı Fakültenin Sınai Kimya Kürsüsünde Asistan olarak görevine devam eden Oktay TORUL, evli ve iki çocuk babasıdır.