

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**NANO/MİKROEMÜLSİYONLA STABİLİZE EDİLMİŞ**  
**DEFNE ESANSİYEL YAĞININ AROMATİK,**  
**ANTİMİKROBİYAL VE ANTIOKSİDAN**  
**ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Mehmet Mert BERBER**  
**Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**  
**Tezin Sunulduğu Tarih: 28/08/2020**

**Tez Danışmanı:**  
**Prof. Dr. Yonca YÜCEER**

**ÇANAKKALE**

Mehmet Mert BERBER tarafından Prof. Dr. Yonca YÜCEER yönetiminde hazırlanan ve **28/08/2020** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Nano/Mikroemülsiyonla Stabilize Edilmiş Defne Esansiyel Yağının Aromatik, Antimikrobiyal ve Antioksidan Özelliklerinin Belirlenmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü **Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

### **JÜRİ**

Prof. Dr. Yonca YÜCEER

#### **Başkan**

Prof. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU

#### **Üye**

Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY

#### **Üye**

Doç. Dr. Pelin KANTEN

Müdür

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Sıra No:

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Mehmet Mert BERBER

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı planlayan, çalışmalarım süresince bilgi, deneyim ve enerjisini benimle paylaşan, tez çalışmamda tüm imkanları sağlayan ve çalışmamın temellerini oluşturan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Yonca YÜCEER'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan, sürekli benimle iletişimde olan değerli hocalarım Prof. Dr. Ayşegül KIRCA TOKLUCU'ya, Doç. Dr. Müge İŞLETEN HOŞOĞLU'na ve Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY'a,

Hem analizlerimi gerçekleştirirken bilgi ve yardımlarıyla büyük katkı sağlamalarından dolayı hem de hayatıma kattıkları değerden ötürü Hasan UZKUÇ ve N. Merve ÇELEBİ UZKUÇ çiftine ve ayrıca tez çalışmalarımı gerçekleştirirken henüz dünyada olmasa da aramıza katılacağı günlerin mutluluğuyla bizi motive eden Alp UZKUÇ'a,

Analizlerimde bana yardımcı olan Kübra TARHAN KUZU'ya,

Tez çalışmamı destekleyen TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım (Proje No:117O313).

Gerçekleştirdiğim bu çalışmayı, hayatta olsa benimle gurur duyacağından emin olduğum babam İrfan BERBER'e, hayatım boyunca en iyi arkadaşım ve destekçim olan annem İclal BERBER'e ve varlığıyla beni yalnız hissettirmeyen kardeşim Semih Kutay BERBER'e armağan ediyorum.

Mehmet Mert BERBER  
Çanakkale, Ağustos 2020

## SİMGELER VE KISALTMALAR

L	Litre
mL	Mililitre
$\mu$ L	Mikrolitre
kg	Kilogram
g	Gram
mg	Miligram
$\mu$ g	Mikrogram
mM	Milimolar
m	Metre
cm	Santimetre
mm	Milimetre
$\mu$ m	Mikrometre
nm	Nanometre
dk	Dakika
sn	Saniye
w/w	Ağırlıkça yüzde
v/v	Hacimce yüzde
%	Yüzde oranı
°C	Derece (Santigrat)
vb.	Ve benzeri
vd.	Ve diğerleri
kob.	Koloni oluşturan birim
rpm	Dakikada dönüş hızı
TCAMB	Toplam Canlı Aerobik Mezofilik Bakteri
TEAC	Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi
DLS	Dynamic Light Scattering-Dinamik Işık Saçılımı
SPME	Katı faz mikro ekstraksiyon
GC-O	Gaz Kromatografisi-Olfaktometri
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi
LPA	Lezzet Profil Analizi

## ÖZET

### NANO/MİKROEMÜLSİYONLA STABİLİZE EDİLMİŞ DEFNE ESANSİYEL YAĞININ AROMATİK, ANTİMİKROBİYAL VE ANTİOKSİDAN ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Mehmet Mert BERBER

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Yonca YÜCEER

28/08/2020, 87

Defne, yapraklarında ve meyvelerinde içerdiği uçucu yağlar bakımından değerli bir bitkidir. Türkiye, Dünya’da kaliteli defne ihracatçısı birkaç ülkeden biridir. Fonksiyonel bazı özelliklere sahip olan defne bitkisinin yaprakları kurutularak, baharat veya esansiyel yağ elde etmek amacıyla kullanılabilir. Bu çalışmada, defne esansiyel yağını kararlı hale getirmek amacıyla amilopektin ve arap zamkı stabilizörleri kullanılarak nano/mikroemülsiyon formülasyonlarının hazırlanması ve karakteristik fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik ve duyu bazlı özelliklerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Defne yapraklarından (*Laurus nobilis*), Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı ile elde edilen esansiyel yağın antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri, uçucu bileşenleri ve duyu özellikleri belirlenmiştir. Defne esansiyel yağının *Escherichia coli* standart suşuna karşı inhibisyonu (zon çapı) 10,5 mm, *Staphylococcus aureus* standart suşuna karşı inhibisyonu ise 19,0 mm olarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivitesi 70,56 mM troloks/mL örnek olarak belirlenen defne esansiyel yağında en yüksek oranda 1,8-cineole, sabinene, linalool L ve  $\alpha$ -terpinenyl acetate uçucu bileşenleri tespit edilmiştir. Çalışmada, amilopektin ve arap zamkı stabilizörleri kullanılarak hazırlanan emülsiyonların parçacık boyutu, bulanıklık, viskozite, renk gibi fiziksel özellikleri ile antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri, uçucu bileşenleri ve duyu özellikleri belirlenmiştir. Emülsiyonların parçacık boyutları 328-567 nm arasında değişkenlik gösterirken arap zamkı emülsiyonunun amilopektin emülsiyonuna göre iki aylık depolama boyunca stabilitesini daha iyi koruduğu saptanmıştır. Antimikrobiyal analiz sonucu amilopektin ve arap zamkı emülsiyonlarının *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerinin gelişimini engellediği belirlenmiştir. Ayrıca gıda uygulaması amacıyla nano/mikroemülsiyonlar, portakal sularına eklenerek antibakteriyel, antioksidan

aktivitesi ve uçucu bileşenleri belirlenmiş, duyuşal özellikleri ortaya konmuştur. Emülsiyon ilave edilmemiş portakal suyunun antioksidan aktivitesi 2,58 mM troloks/mL örnek olarak belirlenmiştir. Amilopektin ve Arap zankı emülsiyonu ilave edilen portakal sularının antioksidan aktiviteleri sırasıyla 3,36, mM troloks/mL örnek ve 3,47 mM troloks/mL örnek olarak tespit edilmiştir. Emülsiyon ilave edilen portakal sularının, emülsiyon ilave edilmemiş portakal sularına göre *E. coli* ve *S. aureus* üzerine inhibe edici özelliğinin yüksek olduğu saptanmıştır. Defne esansiyel yağının, nano/mikroemülsiyon formülasyonları ile kararlı hale getirilmesi ve gıdalarda kullanılan katkı maddelerine alternatif, antimikrobiyal ve antioksidan özelliğe sahip doğal bir katkı maddesi olarak kullanılabilceği düşünölmektedir.

**Anahtar sözcükler:** Defne, Esansiyel yağ, Nano/mikroemülsiyon, Antimikrobiyal, Antioksidan, Aroma

## ABSTRACT

### DETERMINATION OF AROMATIC, ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF NANO/MICROEMULSION STABILIZED LAUREL

#### ESSENTIAL OIL

Mehmet Mert BERBER

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Food Engineering

Advisor: Prof. Dr. Yonca YÜCEER

28/08/2020, 87

Laurel is a valuable plant in terms of essential oils contained in its leaves and fruits. Turkey, is one of the few countries in the world exporter of high quality laurel. The leaves of the laurel plant, which has some functional properties, can be dried and used to obtain spice or essential oils. In this study, it was aimed to prepare nano/microemulsion formulations by using amylopectin and gum arabic stabilizers in order to stabilize laurel essential oil and to reveal some characteristic physical, chemical, microbiological and sensory properties. Antimicrobial and antioxidant activities, volatile compounds and sensory properties of essential oil, obtained from laurel leaves (*Laurus nobilis*) with Microwave-Assisted Clevenger Device were determined. The inhibition (zone diameter) of laurel essential oil against *Escherichia coli* standard strain was determined as 10,5 mm, and the inhibition against *Staphylococcus aureus* standard strain was determined as 19,0 mm. In laurel essential oil, whose antioxidant activity was determined as 70,56 mM trolox/mL sample, the highest percentage of volatile components of 1,8-cineole, sabinene, linalool L and  $\alpha$ -terpinenyl acetate were detected. In this study, physical properties such as particle size, turbidity, viscosity, color and antimicrobial and antioxidant activities, volatile components and sensory properties of emulsions prepared using amylopectin and gum arabic stabilizers were determined. While the particle sizes of the emulsions vary between 328-567 nm, it has been determined that the gum arabic emulsion preserves its stability better during two months of storage compared to the amylopectin emulsion. As a result of the antimicrobial analysis, it was determined that amylopectin and gum arabic emulsions prevent the growth of *E. coli* and *S. aureus* bacteria. In addition, nano/microemulsions were added to orange juices for food application, and their antibacterial, antioxidant activity and



volatile components were determined, and their sensory properties were revealed. Antioxidant activity of orange juice without emulsion was determined as 2,58 mM trolox/mL sample. Antioxidant activities of orange juices with amylopectin and gum Arabic emulsions were 3,36 mM trolox/mL and 3,47 mM trolox/mL sample, respectively. It was determined that the inhibitory properties of the emulsion-added orange juices on *E. coli* and *S. aureus* were higher than those without emulsion. It is thought that laurel essential oils can be stabilized with nano/microemulsion formulations and can be used as an alternative to additives used in foods, as a natural additive with antimicrobial and antioxidant properties.

**Keywords:** Laurel, Essential oil, Nano/microemulsion, Antimicrobial, Antioxidant, Aroma



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa No

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xiii
TABLolar DİZİNİ.....	xiv
BÖLÜM 1 .....	1
GİRİŞ .....	1
BÖLÜM 2 .....	4
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....	4
2.1. Esansiyel Yağlar ve Elde Edilme Yöntemleri.....	4
2.2. Esansiyel Yağların Antioksidan, Antimikrobiyal ve Antifungal ve Özellikleri .....	7
2.2.1. Antioksidan Özellikler .....	7
2.2.2. Antimikrobiyal ve Antifungal Özellikler .....	8
2.3. Esansiyel Yağlarda Uçucu Bileşenler .....	12
2.4. Esansiyel Yağların Nano/Mikroemülsiyonlar ile Formüle Edilmesi .....	13
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyal .....	17
3.1.1. Defne Yaprakları.....	17
3.1.2. Nano/Mikroemülsiyon Hazırlamada Kullanılan Stabilizörler .....	17
3.1.3. Portakal Suyu Denemelerinde Kullanılan Portakallar ve Portakal Suyu .....	17
3.1.4. Antimikrobiyal Analizlerde Kullanılan Standart Bakteri Suşları .....	17
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Kuru Defne Yapraklarına Uygulanan İşlemler ve Analizler.....	18
Kuru Defne Yapraklarının Öğütülmesi .....	18
Toluen Yöntemi ile Nem Yüzdesinin Belirlenmesi .....	18
Nem Tayin Cihazı ile Nem Yüzdesinin Belirlenmesi .....	19
Etüvde Kurutma Yöntemi ile Nem Yüzdesinin Belirlenmesi.....	20
Kül Tayini .....	20
3.2.2. Esansiyel Yağ Üretimi .....	21

3.2.3. Defne Esansiyel Yağı ile Nano/Mikroemülsiyonların Hazırlanması.....	22
3.2.4. Esansiyel Yağ ve Nano/Mikroemülsiyonlara Uygulanan Analizler .....	24
Parçacık Boyutu .....	24
Bulanıklık.....	25
Viskozite .....	25
Renk .....	25
Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi .....	25
Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	26
Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi .....	26
Gaz Kromatografisi-Olfaktometri (GC-O) ile Aroma-Aktif Bileşenlerinin Belirlenmesi .....	27
Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi .....	28
Duyusal Analiz.....	29
3.2.5. Nano/Mikroemülsiyonlarda Portakal Suyu Uygulaması ve Gerçekleştirilen Analizler.....	30
Viskozite Analizi.....	31
Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi .....	31
Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi.....	31
Toplam Canlı ve Maya-Küf Sayımları.....	32
Antibakteriyal Aktivitenin Belirlenmesi .....	32
Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi .....	33
Duyusal Analizler.....	34
3.2.6. İstatistiksel Analizler.....	35
<b>BÖLÜM 4</b>	
<b>ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>37</b>
4.1. Kuru Defne Yapraklarına Uygulanan Analiz Sonuçları .....	37
4.1.1. Nem ve Kül Analiz Sonuçları .....	37
4.2. Esansiyel Yağ Üretimi .....	38
4.3. Defne Esansiyel Yağı ile Nano/Mikroemülsiyon Hazırlanması ve Optimizasyon Sonuçları .....	40
4.4. Defne Esansiyel Yağına ve Emülsiyonlara Uygulanan Analiz Sonuçları .....	44
4.4.1. Parçacık Boyutu Ölçüm Sonuçları .....	45
4.4.2. Bulanıklık ve Viskozite Ölçüm Sonuçları.....	46

4.4.3. Renk Ölçüm Sonuçları .....	47
4.4.4. Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	49
4.4.5. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları .....	50
4.4.6. Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları .....	51
4.4.7. Aroma Aktif Bileşenler .....	53
4.4.8. Uçucu Bileşenler .....	54
4.4.9. Duyusal Analiz Sonuçları .....	59
4.5. Mikroemülsiyonlarda Portakal Suyu Uygulaması .....	60
4.5.1. Viskozite Ölçüm Sonuçları .....	60
4.5.2. Toplam Fenolik Madde Miktarları.....	61
4.5.3. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları .....	62
4.5.4. Antibakteriyal Aktivite Analiz Sonuçları.....	63
4.5.5. Toplam Canlı Aerobik Mezofilik Bakteri ve Maya-Küf Sayım Sonuçları .....	66
4.5.6. Uçucu Bileşenler .....	68
4.5.7. Duyusal Analiz Sonuçları .....	72
<b>BÖLÜM 5</b>	
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>75</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>78</b>
<b>EKLERİ .....</b>	<b>I</b>
Ek 1. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan amilopektin ve arap zankı emülsiyonları.....	II
Ek 2. Amilopektin ve arap zankı emülsiyonları DLS ölçüm grafiği .....	III
Ek 3. Toplam fenolik madde analizinde kullanılan gallik asit standart eğrisi .....	IV
Ek 4. Antioksidan aktivite analizinde kullanılan troloks standart eğrisi.....	IV
Ek 5. Defne esansiyel yağı antibakteriyal aktivite (agar disk difüzyon).....	V
Ek 6. GC-MS Kromatogram .....	VI
Ek 7. Duyusal değerlendirme formu .....	VII
Ek 8. Duyusal değerlendirme .....	VIII
Ek 9. Tüketici testi formu.....	X
Ek 10. Tüketici testi .....	XI
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>XII</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1. Defne bitkisi ( <i>Laurus nobilis</i> L.) .....	1
Şekil 2. Kuru defne yapraklarında öğütme işlemi .....	18
Şekil 3. Toluen yöntemi ile nem analiz düzeneği .....	19
Şekil 4. Kuru defne yapraklarında kül analizi .....	21
Şekil 5. Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı .....	22
Şekil 6. Nano/mikroemülsiyon hazırlama aşamaları .....	23
Şekil 7. Farklı stabilizörlerle hazırlanmış emülsiyonlar .....	23
Şekil 8. Defne esansiyel yağı ve amilopektin için miktar optimizasyonu deneme deseni ..	41
Şekil 9. Amilopektin ve arap zıncığı ile hazırlanan mikroemülsiyonlar .....	43
Şekil 10. Emülsiyon ilave edilen portakal sularının <i>E. coli</i> 'ye karşı inaktivasyon kinetiği	64
Şekil 11. Emülsiyon ilave edilen portakal sularının <i>S. aureus</i> 'a karşı inaktivasyon kinetiği	65



## TABLolar DİZİNİ

### Sayfa No

Tablo 1 Tanımlayıcı duyuşal terimlerin standartları ve skala karşılıkları .....	35
Tablo 2 Kuru defne yaprağının üç farklı yöntemle göre nem içeriğı .....	37
Tablo 3 Esansiyel yağ üretiminde uygulanan ön işlemler ve cihaz parametreleri.....	38
Tablo 4 Tween80 ile hazırlanan emülsiyonların parçacık boyutları.....	40
Tablo 5 Farklı stabilizörlerle hazırlanmış emülsiyonların parçacık boyutları .....	41
Tablo 6 Ultrahomojenizasyon ve ultrasonik banyo süre kombinasyonları.....	42
Tablo 7 Arap zankı emülsiyonu parçacık boyutu .....	43
Tablo 8 Amilopektin ve arap zankı emülsiyonları parçacık boyutları .....	45
Tablo 9 Amilopektin ve arap zankı emülsiyonları bulanıklık ve viskozite ölçüm sonuçları .....	46
Tablo 10 Amilopektin ve arap zankı emülsiyonları renk ölçüm sonuçları.....	47
Tablo 11 Defne esansiyel yağı ve emülsiyonların toplam fenolik madde miktarları .....	49
Tablo 12 Defne esansiyel yağı ve emülsiyonların antioksidan aktivite sonuçları.....	50
Tablo 13 Defne esansiyel yağı ve emülsiyonların antimikrobiyal sonuçları.....	51
Tablo 14 Defne esansiyel yağı ve emülsiyonlarının aroma-aktif bileşenleri.....	53
Tablo 15 Defne esansiyel yağı ve emülsiyonlarının uçucu bileşenleri.....	54
Tablo 16 Defne esansiyel yağı ve emülsiyonlarda gerçekleştirilen duyuşal değerlendirme sonuçları.....	59
Tablo 17 Emülsiyon ilave edilen portakal sularının viskozite ölçüm sonuçları .....	60
Tablo 18 Emülsiyon ilave edilen portakal sularının toplam fenolik madde miktarları .....	61
Tablo 19 Emülsiyon ilave edilen portakal sularının antioksidan aktivite sonuçları .....	62
Tablo 20 Emülsiyon ilave edilen portakal sularının <i>E. coli</i> 'ye karşı inaktivasyon kinetiğı sonuçları.....	64
Tablo 21 Emülsiyon ilave edilen portakal sularının <i>S. aureus</i> 'a karşı inaktivasyon kinetiğı sonuçları.....	65
Tablo 22 Haftalık depolama süresince portakal sularındaki TCAMB sayıları.....	66
Tablo 23 Haftalık depolama süresince portakal sularındaki maya-küf sayıları.....	67
Tablo 24 Aylık depolama süresince portakal sularındaki TCAMB sayıları.....	67
Tablo 25 Aylık depolama süresince portakal sularındaki maya-küf sayıları.....	68
Tablo 26 Amilopektin emülsiyonu ilave edilen portakal sularının depolama boyunca uçucu bileşenleri.....	69
Tablo 27 Arap zankı emülsiyonu ilave edilen portakal sularının depolama boyunca uçucu bileşenleri.....	70
Tablo 28 Emülsiyon ilave edilen portakal sularında duyuşal değerlendirme sonuçları .....	72
Tablo 29 Emülsiyon ilave edilen portakal sularının depolama süresince duyuşal özelliklerindeki değışimler .....	73
Tablo 30 Emülsiyon ilave edilen portakal sularının tüketici testi sonuçları.....	74

## BÖLÜM 1

### GİRİŞ

Türkiye dünyada esansiyel yağ üretiminde önde gelen ülkeler arasında yer almakta olup 2014 yılında 32,3 milyon dolarlık esansiyel yağ ihracatı gerçekleştirmiştir (Öztürk ve Temel, 2016). İhracatı yapılan başlıca esansiyel yağları gül yağı, kekik yağı, ıtır yağı ve defne yağı oluşturmaktadır (Kara, 2011). En önemli esansiyel yağ bitkilerinden biri, Akdeniz defnesi olarak adlandırılan *Laurus nobilis* L. türüdür (Özer ve ark., 2019). Defne, dünya üzerinde Akdeniz kıyı havzasının hakim bitki gruplarından olan makinin karakteristik elementlerinden biridir. Ülkemizde ise genel olarak dağılışı gösterdiği bölgeler Güney Marmara Bölümü, Karadeniz Bölgesi, Akdeniz Bölgesi, Orta Fırat bölümüdür (Karık ve ark., 2016; Özhatay ve ark., 2018).

Defne herdem yeşil, çalı ya da bazen 8-10 metre boylarında küçük ağaççıklar şeklindedir. Yapraklar dar ve eliptik şekilde, derimsi, kenarları ise hafif dalgalıdır. Üzüm sü meyveleri önceleri yeşilimsi iken olgunlaştıkça koyu siyah renge dönerler (Şekil 1) (Karık ve ark., 2016; Özer ve ark., 2019).



Şekil 1. Defne bitkisi (*Laurus nobilis* L.)

Defne, yapraklarında ve meyvelerinde içerdiği uçucu yağlar bakımından değerli bir bitkidir ve Türkiye'nin, en kaliteli defne üreticisi olarak doğal bitki ihracatı içindeki payı %10'dur (Özer ve ark., 2019). Yaprakları baharat olarak kullanılmasının yanında içerdikleri esansiyel yağlar açısından önem arz eder ve genel olarak *Laurus nobilis* türü olan Akdeniz defnesinin yapraklarından esansiyel yağları üretilmektedir. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği'ne (Anonim, 2013) göre defne yaprağının nem içeriği en çok %8, toplam kül miktarı en çok %7 (w/w), uçucu yağ miktarı 1 mL (mL/100g) olarak belirtilmiştir. Türkiye 2012-2015 yılları arasında 46 bin 154 ton defne yaprağı ihraç etmiştir (Özer ve ark., 2019). Aynı zamanda yıl içerisinde üretilen 1 ton defne yağının büyük bir oranı da ihraç edilmektedir (Bektaşoğlu, 2006). Ayrıca defne yaprağı üretimi 2017 yılı için 27 bin 678 ton, ihracatı ise 12 bin 708 ton olarak gerçekleştirilmiştir (Anonim, 2018).

Odun dışı orman ürünü olan defne, dış ticaret açısından önemli bir yere sahiptir. Yaygın olarak Hatay bölgesinde yetişmekle beraber Kuzeydoğu Karadeniz'e kadar geniş bir alanda dağılım göstermektedir. Dünya defne ihtiyacının %90'ını karşılayan Türkiye en kaliteli defne üreticisidir (Gölükçü ve ark., 2018; Özer ve ark., 2019). Yaprak üretimi haziran ayında başlayarak eylül ayında sonlanmaktadır (Karık ve ark., 2016). Üzüm sü meyvelere sahip olan defne bitkisinin hem meyvelerinde hem de yapraklarında yağ bulunmaktadır. Meyveler yapraklara oranla daha fazla yağ içermektedir. Defnenin duyuşal özellikleri kafur, sineolik koku, tatlımsı, baharatımsı lezzet olarak ifade edilmiştir (Reineccius, 1999).

Esansiyel yağlar, bitkilerin farklı kısımlarından elde edilen, oda sıcaklığında sıvı olan, açık sarı renkli ürünlerdir. Ticari değerleri oldukça yüksektir ve ilaç sanayinde, gıda sanayinde, kozmetik ürünlerde kullanılmasının yanında doğal tedavi edici ürünler olarak da kullanılmaktadır. Esansiyel yağlar hidrodistilasyon, solvent ekstraksiyonu, soğuk pres, süperkritik ekstraksiyon, subkritik karbondioksit (CO<sub>2</sub>) ekstraksiyonu ve mikrodalga destekli ekstraksiyon gibi teknikler kullanılarak elde edilmektedir (El Asbahani ve ark., 2015). Uzun yıllardır kullanılan mikrodalga teknolojisi esansiyel yağ üretiminde de son yıllarda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Mikrodalga destekli ekstraksiyon yöntemi süre, enerji ve verim gibi avantajlar sağlamaktadır (Chemat ve ark., 2006; Bayramoğlu ve ark., 2008; Golmakani ve Rezaei, 2008; Bousbia ve ark., 2009; Wang ve ark., 2010; Farhat ve ark., 2011; Sourmaghi ve ark., 2015).



Geleneksel bir yöntem olan su distilasyonu ile esansiyel yağ üretimi, su ve bitki materyalinin 2-8 saat aralığında kaynatılmasıyla sağlanmaktadır ve uygulanan yüksek sıcaklıkla hidroliz ve izomerizasyon olayları meydana gelmektedir (Kılıç, 2008). Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı esansiyel yağ üretim süresini 1-2 saate düşürerek, su distilasyonuna göre daha düşük ve kontrollü sıcaklık parametreleri açısından avantaj sağlamaktadır.

Esansiyel yağların antibakteriyel, antifungal ve antioksidan özellikleri bulunmaktadır (Friedman ve ark., 2004; Varona ve ark., 2013; Zuzarte ve ark., 2013). Ancak esansiyel yağların kararlı yapıda olmamaları biyoyararlılıklarını düşürmektedir. Esansiyel yağların nanoemülsiyon olarak formüle edilmesi, küçük parçacık boyutu, fiziksel kararlılık, faz ayrımının azalması, damlacıkların birleşiminin engellenmesi ve biyoyararlılığın artması gibi avantajlar sağlamaktadır (Oca-Ávalos ve ark., 2017). Nano boyuttaki emülsiyon damlacıkları hücre membranındaki lipit yapısını bozarak hücre içi bileşenlerin sızmasına neden olmaktadır. Ayrıca bu etki daha dirençli mikrobiyal suşların gelişimine de yol açmamaktadır (Ghosh ve ark., 2013).

Çalışmada, önemli bir ihracat ürünümüz olan defne bitkisinden, Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı ile elde edilen esansiyel yağların farklı stabilizörler kullanılarak kararlı hale getirilmesi ve antioksidan, antimikrobiyal, duyu özellikleri ve aroma bileşenlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

## BÖLÜM 2

### ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

#### 2.1. Esansiyel Yağlar ve Elde Edilme Yöntemleri

Aromatik bitkiler esansiyel yağlar bakımından zengin olmalarıyla bilinir ve esansiyel yağlar aromatik bitkilerin çiçek, tohum, kabuk, meyve, yaprak ve dallarından ekstrakte edilen ikincil metabolitler olarak tanımlanmaktadır (Tural ve Turhan, 2017). Oda koşullarında sıvı halde, renksiz veya açık sarı renkte, uçucu bileşenlerdir ve eterik yağ, esansiyel yağ, uçucu yağ olarak adlandırılmaktadır (El Asbahani ve ark., 2015).

Esansiyel yağ üretiminde genel olarak su distilasyonu (hidrodistilasyon) kullanılmakla beraber buhar distilasyonu, vakum distilasyonu, çözücü ekstraksiyonu, süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga ekstraksiyonu, sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu ve mekanik yöntemler de uygulanmaktadır. Su distilasyonu, geri soğutuculu bir düzenekte su ve bitki materyalinin 2-8 saat kaynatılmasıyla yağ moleküllerinin su buharı tarafından taşınarak soğutucu kısımda yoğunlaşması prensibine dayanmaktadır. Buhar distilasyonu, bitki materyaline basınçlı buhar uygulanarak yağ moleküllerinin buharla beraber toplama kabına sürüklenmesi ve yağın yoğunlaştırılması yöntemidir. Vakum distilasyonu, düşük basınçta kaynama noktasının düşürülmesiyle gerçekleştirilen distilasyon yöntemidir. Çözücü ekstraksiyonu, bitki materyalinin direkt olarak oda sıcaklığında çözücüde bekletilmesi ya da sokset içerisinde çözücü ile kaynatılması işlemidir. Çözücü ekstraksiyonunun dezavantajlarından biri ekstraksiyon işlemi sonrası yoğunlaştırma gerçekleştirilirken molekül ağırlığı düşük uçucu bileşiklerin kaybıdır. Aslında bir çözücü ekstraksiyonu olan süperkritik sıvı ekstraksiyon yöntemini çözücü ekstraksiyon yönteminden ayıran unsur ise çözücü yerine süperkritik sıvı özelliği gösteren çözücü kullanılmasıdır. Mikrodalga ekstraksiyonu, açık (atmosferik basınç) ve kapalı (kontrollü sıcaklık ve basınç) bir sistemde bitki materyali ve çözücünün mikrodalga sistemi ile kaynatılması ve esansiyel yağın geri soğutucu ile toplanmasıyla gerçekleştirilir. Mikrodalga ekstraksiyonunun avantajlarından biri de moleküllerin yükseltgenen zayıf hidrojen bağlarının bozundurulması ve örneğin tamamının aynı anda ısıtılmasıdır. Aynı zamanda ekstraksiyon süresinin kısalması ve daha az çözücü kullanılmasına avantaj sağlamaktadır. Açık kap mikrodalga sistemi kapalı kap mikrodalga sistemine göre yaklaşık 20 dakikalık bir süre avantajı sağlamaktadır. Bu süre farkının nedeni kapalı kap mikrodalga sisteminde ekstraksiyon sonunda kapağın açılması için güvenli sıcaklığa düşmesinin beklenmesinden kaynaklanmaktadır (Büyüktuncel, 2012). Sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu, çelik bir kap içerisine yerleştirilen katı ya da yarıkatı

örneğin çözücü ile bir fırın içerisinde 50-200 °C arasında değişen sıcaklıklarda ısıtılması ile başlar ve ısıtma sırasında fırına 500-3000 psi değerleri arasında basınç uygulanır. Ekstraksiyonun beş ve onuncu dakikalarında ortama yeni çözücü pompalanarak örneğin ve kabın yıkanması sağlanmaktadır. Sistem içerisindeki bütün çözücü genellikle nitrojen gazı kullanılarak bir şişe içerisinde toplanmaktadır. Mekanik yöntem ise distilasyon yöntemleri uygulandığında uçucu bileşenlerinin olumsuz etkileneceği ürünlerde (limon, portakal gibi turunçgil kabukları) soğuk hidrolik preslerle uçucu yağ elde etme yöntemidir (Kılıç, 2008).

Kılıç (2008) esansiyel yağların elde edilme yöntemlerini incelediği çalışmasında adaçayı ve defne yapraklarından, klasik su distilasyonu ve mikrodalga ekstraksiyonu ile gerçekleştirilen üretimlerde, mikrodalga ekstraksiyonunun su distilasyonuna göre çok daha kısa sürede gerçekleştiğini (su distilasyonu: 180 dakika, mikrodalga ekstraksiyonu: 45 dakika), klasik distilasyon ve ekstraksiyon yöntemleri ile daha fazla esansiyel yağ elde edilmesine karşılık nitelik olarak çok iyi sonuç alınmadığını (yüksek sıcaklık kaynaklı gerçekleşen termal reaksiyonların oluşması ve bitkinin doğal kimyasal yapısından uzaklaşması), mikrodalga ekstraksiyonu ile nitelik olarak daha tatmin edici sonuçlar elde edildiğini belirtmiştir. Ayrıca modern yöntemlerin (mikrodalga ekstraksiyonu gibi) daha kısa sürede sonuç vermesi, daha az çözücü kullanımıyla çevre sağlığına katkı sağlaması ve nitelikli sonuçlar alınması gibi olanaklar sağladığını belirtmiştir.

Tunç ve ark. (2014) fındık yağı üretiminde kullandıkları sokslet ve mikrodalga ekstraksiyonları arasındaki verimi araştırdıkları bir çalışma gerçekleştirmiş ve sokselet ekstraksiyonu ile 80°C’de 240 dakikada yapılan işlem sonucunda fındık yağı veriminin, mikrodalga ekstraksiyonu ile 64°C’de, 45 dakikada elde edilen fındık yağı veriminden yüksek ancak mikrodalga ekstraksiyonu ile 50°C’de, 80 dakikada elde edilen fındık yağı veriminden düşük olduğunu belirlemişlerdir. Sonuçlara göre mikrodalga ekstraksiyonuyla elde edilen fındık yağının, sokslet ekstraksiyonuna göre, daha düşük sıcaklık ve daha kısa süre ile daha yüksek verim elde edildiğini saptamışlardır.

Moreno ve ark. (2003) yapmış oldukları çalışmada avakado yağı üretiminde mikrodalga ekstraksiyonu ve sokslet ekstraksiyonunun verim üzerine etkisini karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda 11 dakikalık mikrodalga ekstraksiyonu işlemimin, 240 dakikalık sokslet ekstraksiyonu işlemine göre yağ veriminde daha yüksek sonuç verdiğini saptamışlardır.

Kara ve ark. (2020) mikrodalga destekli distilasyon yöntemi ile su distilasyonu yönteminin rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) ve anason (*Pimpinella anisum* L.) meyvelerinin uçucu yağ oranına etkisini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada mikrodalga

işlemini ön işlem olarak üç farklı güçte (400W, 600W, 800W) uygulamışlar, kontrol grubu olarak da mikrodalga işlemi uygulanmamış bitki materyalleri ile distilasyon işlemi gerçekleştirmişlerdir. Mikrodalga ön işlemi uygulanmayan rezene meyvelerinde su distilasyonu ile %0,96 oranında, 400, 600 ve 800W gücünde mikrodalga ön işlemi uygulanan rezene meyvelerinde ise sırasıyla %0,96, 1,16 ve 1,31 oranında uçucu yağ elde etmişlerdir. Anason meyvesinde mikrodalga ön işlemi uygulanan ve uygulanmayan materyallerle elde edilen esansiyel yağlar arasında istatistiksel olarak fark olmadığını belirtmişlerdir. Ancak mikrodalga gücü arttıkça elde edilen esansiyel yağ oranında da artış olduğunu belirtmişlerdir. Anason meyvesinden, mikrodalga ön işlemi uygulanmamış distilasyon yönteminde %1,98, 400, 600 ve 800W mikrodalga ön işlemi uygulanmış distilasyon yöntemi ile sırasıyla, %1,98, 2,00 ve 2,10 miktarlarında esansiyel yağ elde edildiğini belirtmişlerdir.

Ertaş ve ark. (2019) kara ardıç (*Juniperus sabina* L.) kozalakları üzerine yapmış oldukları çalışmada mikrodalga ekstraksiyonuyla elde ettikleri esansiyel yağ veriminin su distilasyonuna göre düşük olduğunu belirtmişlerdir (mikrodalga ekstraksiyonu uçucu yağ verimi: %1,37, su distilasyonu uçucu yağ verimi: %1,61). Ancak çalışmada mikrodalga ekstraksiyon süresini 60 dakika, su distilasyonu süresini 120 dakika olarak uygulamışlardır.

Hoşgün (2008) soya fasülyesi üzerine yapmış olduğu çalışmada üç farklı yöntemle (sokslet ekstraksiyonu, mikrodalga ekstraksiyonu, süperkritik sıvı ekstraksiyonu) ürettiği esansiyel yağların verimlerini karşılaştırmıştır. Sokslet ekstraksiyonuyla 480 dakikada %17,98, mikrodalga destekli ekstraksiyonla 50 dakikada %17,65, süperkritik sıvı ekstraksiyonuyla %15,98 yağ verimi elde etmiştir. Sokslet ekstraksiyonuyla en yüksek yağ verimi elde edilmesine rağmen sekiz saatlik bir işlem sürecinin olduğunu ve mikrodalga ekstraksiyonunda 50 dakikalık bir süreyle sokslet ekstraksiyonuna yakın bir yağ verimi elde edildiğini belirtmiştir.

Özcan ve Chalchat (2005) Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetiştirilen defne bitkisi (*Laurus nobilis* L.) üzerine yaptıkları çalışmada su distilasyonu ile elde ettikleri esansiyel yağların verimlerini %2,0 (Hatay), %1,8 (Büyükceci-Gülнар/Mersin), %2,6 (Bursa), %1,4 (Sinop), %2,0 (Alanya/Antalya), %1,7 (Muğla), %1,5 (Anamur/Mersin) olarak belirtmişlerdir. *Laurus nobilis* L. cinsi kuru defne yapraklarında yapılan başka bir çalışmada ise Derwich ve ark. (2009) su distilasyonu ile elde edilen esansiyel yağ veriminin %1,86 olduğunu saptamıştır. Karık ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada su distilasyonu (distilasyon süresi: 4 saat) ile farklı bölgelerdeki defne bitkisinin esansiyel yağ verimlerini ve uçucu yağ bileşenlerini incelemişlerdir. 2013 yılının kasım ayı içerisinde topladıkları

defne yapraklarında, Hatay ilinde Samandağ, Yayladağı ve Antakya bölgelerindeki defne esansiyel yağı verimlerini sırasıyla %1,5, %1,6 ve %1,5 olarak belirlemişlerdir. En yüksek esansiyel yağ veriminin ise %4,5 ile Kastamonu ilinin Ginolu mevkiinden toplanan defne yapraklarına ait olduğunu saptamışlardır. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği'ne göre defne yaprağının uçucu yağ miktarı en az %1 olarak belirtilmiştir (Anonim, 2013).

Akgül ve ark. (1989) yapmış oldukları çalışmada, Antalya, Hatay, Manisa, Sinop ve Trabzon bölgelerinde yabani olarak yetişen *Laurus nobilis* L. türü defne bitkisinden su distilasyonu ile uçucu yağ eldesi gerçekleştirmiştir. Uçucu yağ verimleri sırasıyla %1,3, %1,4, %1,0, %0,8 ve %0,9 olarak saptanmıştır. En yüksek yağ verimi, %1,4 ile Hatay bölgesinden toplanan defne bitkilerinden elde edilmiştir.

## **2.2. Esansiyel Yağların Antioksidan, Antimikrobiyal ve Antifungal ve Özellikleri**

Esansiyel yağların antibakteriyel, antifungal, antioksidan ve antiseptik özellikleri bulunmaktadır (Friedman ve ark., 2004; Varona ve ark., 2013; Zuzarte ve ark., 2013; Karık ve ark., 2015).

### **2.2.1. Antioksidan Özellikler**

Yılmaz (2005) defne meyvesi kabuğu ve meyve içinden elde ettiği ekstraktların DPPH yöntemine göre antioksidan özelliklerini araştırmıştır. Yapılan bu çalışmada meyve içi ekstraktının, sentetik antioksidan olan BHT (bütillenmiş hidroksi toluen) aktivitesine yakın değerlerde olduğu belirtilmiştir. Aynı çalışmada ekstraktların toplam fenolik madde içerikleri de incelenmiş ve meyve içi ekstraktının meyve kabuğuna göre daha fazla fenolik madde içerdiği belirtilmiştir.

Basmacıoğlu Malayoğlu ve ark. (2011) yapmış oldukları çalışmada anason, biberiye, defne, karanfil, kekik ve kimyon bitkilerinden buhar distilasyonu ile elde ettikleri esansiyel yağların toplam fenolik madde ve antioksidan aktivitelerini (DPPH ve TEAC) incelemişlerdir. Çalışma sonucunda toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan kapasite arasında yüksek korelasyon saptamışlar ve elde edilen esansiyel yağların antioksidan kapasitelerinin çoktan aza doğru karanfil, kekik, defne, biberiye, kimyon ve anason şeklinde olduğunu belirtmişlerdir. Tural ve Turhan (2017) DPPH ve FRAP yöntemine göre kekik, biberiye ve defne esansiyel yağlarının antioksidan özelliklerini incelemişler ve en yüksek antioksidan kapasiteye sahip esansiyel yağın defne esansiyel yağı olduğunu bildirmişlerdir. Diğer bir çalışmada kızılıçık, Japon hurması ve karayemiş ekstraktlarının farklı yöntemlerle antioksidan aktivite kapasiteleri incelenmiştir. Aynı çalışmada toplam fenolik madde

içerikleri de belirlenmiştir. Sonuç olarak ekstraktların iyi bir antioksidan kapasitelerinin olduğu ve toplam fenolik madde içerikleri kızılıçık için 31,25 (mgGAE/g), Japon hurması için 66,97 (mgGAE/g), karayemiş için 23,64 (mgGAE/g) olarak ifade edilmiştir. Örnekler için toplam fenolik madde içerikleri ve antioksidan kapasiteleri arasında iyi bir korelasyon bulunduğu belirtilmiştir (Celep ve ark., 2012).

Medina-Torres ve ark. (2016) püskürtmeli kurutma mikroenkapsülasyon yöntemi (sıcaklıklar: 140, 160, 180°C, besleme hızı: 8 ve 10 mL/dk, kapsülleyici ajan: maltodekstrin) ile defne infüzyonlarının antioksidan kapasitelerini incelemişlerdir. En düşük parçacık boyutuna, en yüksek toplam fenolik madde ve antioksidan aktiviteye sahip örneğin 160°C’de 8 mL/dk parametreleri ile elde edilen örnek olduğunu saptamışlardır.

Yılmaz ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmada, Hatay bölgesinden temin edilmiş defne yapraklarından edilen defne esansiyel yağının antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Antioksidan analizi sonucunda defne esansiyel yağının antioksidan aktivitesinin sentetik antioksidan ajan olarak kullanılan bütillenmiş hidroksi toluen ve askorbik asitten daha az güçlü olduğu belirlenmiştir.

Ertürk ve ark. (2020) *Laurus nobilis* L. (defne), *Silybum marianum* L. (deve dikenini), *Nigella sativa* L. (çörek otu) ve *Prunus cerasus* L. (vişne) bitkilerinden soğuk pres ile elde edilen esansiyel yağların antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Defne esansiyel yağının diğer örneklere göre en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

### **2.2.2. Antimikrobiyal ve Antifungal Özellikler**

Tural ve Turhan (2017) kekik, biberiye ve defne esansiyel yağının agar disk difüzyon yöntemine göre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* O157:H7 (NCTC 12900) ve *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 suşları üzerine antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda en yüksek antimikrobiyal etkiye sahip esansiyel yağın kekik esansiyel yağı olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada ise Sugumar ve ark. (2014) okalıptus yağının ultrasonik emülsifikasyonu ile hazırlanan nanoemülsiyonun *Staphylococcus aureus* üzerine antimikrobiyal etkisini ve sıçanlarda oluşan yaraların iyileşmesi üzerine etkilerini incelemişlerdir. Uygulanan sonikasyon süresinin emülsiyonun stabilitesini ve saydamlığını etkilediği ve 30 dakika süreyle uygulanan sonikasyon sonunda en kararlı nanoemülsiyonların oluştuğu saptamışlardır. Ayrıca sıçanlarda yaraların iyileşmesinde de olumlu etkilerinin olduğunu ve ilaç sanayinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Dadalıoğlu ve Akdemir Evrendilek (2004) yapmış oldukları çalışmada kekik, defne, lavanta ve rezene esansiyel yağlarının, bazı gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyal aktivitelerini incelemişlerdir. Bakteri kültürü olarak *Escherichia coli* O157:H7 (ATCC 35218), *Listeria monocytogenes* (NCTC 2167), *Salmonella* Typhimurium (RHSM 1996) ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 43300) kullanmışlar ve bu bakteri suşları üzerine esansiyel yağların farklı derişimlerdeki (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 80 µL/mL) antibakteriyal aktivitelerini araştırmışlardır. Sonuç olarak esansiyel yağların artan derişimlerinde bakteri suşlarına karşı antibakteriyal aktivitelerinin de arttığını saptamışlardır.

Friedman ve ark. (2004) elma suyu uygulamasında, bazı esansiyel yağların (melisa, bergamot, greylfurt, lavanta, limon, kekik vd.) *Escherichia coli* ve *Salmonella enterica* üzerine inhibe edici özelliklerini incelemişlerdir. Başka bir çalışmada ise Bayaz (2014) bitki ekstraktlarının ve aktif bileşenlerinin gıda kaynaklı patojen küflere karşı doğal antifungal etkilerinin olduğunu bildirmiştir. Bu bileşenlerden bazılarını, Guynot ve ark. (2003) yapmış oldukları çalışmada, adaçayında thujone, camphor, caryophyllene; defnede eugenol, myrcene, limonene; kekikte p-cymene, thymol, 1,8-cineole ve eugenol olarak belirtmişlerdir. Ayrıca esansiyel yağ bileşenlerinden carvacrol, thymol ve cinnamaldehyde'in *Escherichia coli* O157 ve *Salmonella* Typhimurium üzerine antibakteriyel etkisinin olduğu belirtmişlerdir.

Cerit (2008) yapmış olduğu çalışmada hidrodistilasyon yöntemi ile elde ettiği mercanköşk, defne, kimyon ve biberiye esansiye yağlarının *Escherichia coli* ATCC 11230, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 65031, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 27853, *Lactobacillus lactis* NRRL 1821 ve *Lactobacillus cremoris* NRRL 634 üzerine antimikrobiyal etkilerini incelemiştir. Sonuç olarak en yüksek antimikrobiyal etkiye sahip esansiyel yağın mercanköşk olduğunu ve mercanköşk esansiyel yağını izleyen sırada kimyon, defne ve biberiye esansiyel yağlarının olduğunu belirtmiştir.

Ramos ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada defne esansiyel yağının antibakteriyal aktivitelerini incelemişlerdir. Yedi farklı mikroorganizmaya (*B. termosfokta* (CECT 847), *E. coli* (ATCC 25922), *Listeria innocua* (CECT 910), *L. monocytogenes* (CECT 5873), *P. putida* (CECT 7005), *S. Typhimurium* (ATCC 14028) ve *S. putrefaciens* (CECT 5346)) karşı incelenen antibakteriyal aktivite sonucuna göre defne esansiyel yağının tüm bakterilerin gelişimini engelleyici etkiye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Çenet ve ark. (2006) defne ve zencefil uçucu yağlarının *Micrococcus luteus* LA 2971, *Bacillus megaterium* NRS, *Bacillus brevis* FMC 3, *Enterococcus faecalis* ATCC 15753, *Pseudomonas pyocyaneus* DC 127, *Mycobacterium smegmatis* CCM 2067, *Escherichia coli*

DM, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Yersinia enterocolitica* AÜ 19, *Staphylococcus aureus* Cowan 1, *Streptococcus faecalis* DC 74, bakterileri ile *Saccharomyces cerevisiae* WET 136 ve *Kluyveromyces fragilis* DC 98 mayaları üzerine antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışma yapılan mikroorganizmalar üzerinde defne ve zencefil esansiyel yağlarının antimikrobiyal ve antifungal etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013).

Nalbantbaşı ve Gölcü (2010) yapmış oldukları çalışmada farklı çözücülerde ve farklı süre/sıcaklık parametreleriyle 18 farklı bitkide (adaçayı, nane, papatya, defne, keten vd.) ekstraksiyon işlemi gerçekleştirerek ekstraktların antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Test mikroorganizması olarak *Enterococcus gallinarum* (CDC-NJ-4), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans* (845981), *Candida crusei* (ATCC 6258) suşlarını kullanarak agar disk difüzyon yöntemi uygulamışlardır. Sonuç olarak bitki ekstraktlarının tüm mikroorganizmalar üzerinde (en fazla *E. coli*) antimikrobiyal etkilerinin olduğunu belirtmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada yedi farklı bitki ekstraktının (kimyon, kekik, defne, mersin yaprağı vd.) farklı derişimlerde (%0,5, %1,0, %1,5 ve %2,0) *Escherichia coli* O157:H7 gelişimine karşı yedi gün boyunca, inhibe edici etkisi agar disk difüzyon yöntemine göre incelenmiş, kekik ve mercanköşkü ekstraktının yedinci güne kadar yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği belirtilmiştir. Ancak defne ekstraktının (%0,5 derişimi hariç) *Escherichia coli* O157:H7 gelişimine karşı üçüncü güne kadar inhibe edici özelliği olduğu belirtilmiştir (Sağdıç, 2002).

Yılmaz ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmada, Hatay bölgesinden temin edilmiş defne yapraklarından defne esansiyel yağının antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Dokuz farklı mikroorganizmaya karşı uygulanan antimikrobiyal analizler sonucunda da tüm test mikroorganizmalarının esansiyel yağa karşı duyarlı olduğunu, fakat *E. coli* O157: H7, *C. albicans* ATCC 16231, *S. Enteritidis* ATCC 13076 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 mikroorganizmalarına karşı daha iyi sonuçlar elde edildiğini ifade etmişlerdir.

Sarıkaya ve ark. (2017) ise defne ve çörekotu pres yağ karışımlarının *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antibakteriyal aktivitelerini agar disk difüzyon yöntemi ile incelemişlerdir. 1:1 oranında karıştırılan pres yağlarının *Staphylococcus aureus* bakteri suşuna karşı *Escherichia coli* standart suşuna göre daha fazla inhibe edici özelliğinin olduğunu saptamışlardır.



Türkkan ve ark. (2019) ise defne esansiyel yağları üzerine yaptıkları bir çalışmada, defne esansiyel yağlarının toprak kökenli bazı funguslara (*F. oxysporum* f. sp. *cepae*, *R. solani* AG-4, *M. phaseolina* ve *S. rolfsii*) karşı antifungal özelliklerini incelemişler ve defne esansiyel yağlarının *F. oxysporum* f. sp. *cepae*'nin spor çimlenmesini azalttığını, *S. rolfsii*'nin sklerot çimlenmesini ise tamamen engellediğini saptamışlardır.

Meriçli Yapıcı ve Kaya (2018) yapmış oldukları çalışmada 5 farklı ticari defne esansiyel yağının 8 farklı klinik izolata karşı antibakteriyal aktivitesini araştırmışlardır. Antibakteriyal aktivite için agar disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemlerini kullanmışlardır. *Acinetobacter boumannii*, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus cereus* JCM 2152, *Escherichia coli* NBRC 102203, *Escherichia fergusonii* ATCC 35469, *Escherichia fergusonii* NBRC 102419, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens* JCM 1239 standart suşları kullanılan antibakteriyal aktivite analizleri sonucunda kontrol grubu olarak kullanılan antibiyotiklerle esansiyel yağ grupları karşılaştırıldığında, esansiyel yağların etkili antibakteriyal sonuçlarının olduğunu belirtmişlerdir.

Ertürk ve ark. (2020) *Laurus nobilis* L. (defne), *Silybum marianum* L. (deve dikenini), *Nigella sativa* L. (çörek otu) ve *Prunus cerasus* L. (vişne) bitkilerinden soğuk pres ile elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Antimikrobiyal aktiviteyi patojen 12 bakteri ve 2 fungus üzerinde gerçekleştirmişlerdir. Defne esansiyel yağının diğer örneklerle göre tüm mikroorganizmalar üzerinde en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

Kırpık ve ark. (2019) kuru bitki yapraklarından (defne ve zahter) buhar distilasyonu ile esansiyel yağ üretimi gerçekleştirerek bu uçucu yağların farklı derişimlerde (12,5, 25, 50, 100, 150 µL/L) bazı böcekler (*Rhyzopertha dominica* ve *Oryzaephilus surinamensis*) üzerine fumigant etkilerini araştırmışlardır. *Rhyzopertha dominica* için 100 µL/L'lik dozda defne (*Lauris nobilis* L.) esansiyel yağının 24 saat sonunda %100 fumigant toksisite gösterdiği, zahter (*Thymbra spicata* L.) esansiyel yağının ise 150 µL/L'lik dozunun 24 saat sonunda %100 fumigant toksisite gösterdiğini saptamışlardır. Ayrıca *O. surinamensis* için de benzer sonuçlar elde edildiğini belirtmişlerdir. Çalışma sonuçlarına göre zararlılar için kullanılan pestisitlere alternatif olarak bu uçucu yağların etken maddeleri belirlenerek, bu etken maddelerin kullanımıyla hem çevreye hem de insan sağlığına olumlu katkılar sağlanabileceğini ifade etmişlerdir.

### 2.3. Esansiyel Yağlarda Uçucu Bileşenler

Dadalıoğlu ve Akdemir Evrendilek (2004) yapmış oldukları çalışmada, GC-MS ile belirledikleri defne uçucu bileşenleri arasında en yüksek konsantrasyona sahip bileşenleri, %60,72 oranında 1,8-cineole, %12,53 oranında  $\alpha$ -terpinene, %12,12 oranında sabinene olarak saptamışlardır. Akgül ve ark. (1989) yapmış oldukları çalışmada, Antalya, Hatay, Manisa, Sinop ve Trabzon bölgelerinde yabani olarak yetişen *Laurus nobilis* L. türü defne bitkisinden su distilasyonu ile uçucu yağ eldesi gerçekleştirmiştir. Elde edilen uçucu yağların uçucu bileşenleri belirlenerek, Hatay bölgesinde yetişen defne bitkisine ait en yüksek konsantrasyondaki uçucu bileşenleri, %52,87 oranında 1,8-cineole, %12,15 oranında alpha terpinyl acetate, %9,19 oranında sabinene olarak saptamışlardır. 1,8-cineole uçucu bileşen oranının en yüksek olduğu (%52,99) defne uçucu yağının Antalya bölgesinden toplanan defne bitkilerinden elde edildiğini ifade etmişlerdir.

Türkkan ve ark. (2019) yaptıkları bir çalışmada defne esansiyel yağında GC-MS analizi ile 16 adet uçucu bileşen belirlemiş ve bu uçucular arasında en yüksek konsantrasyona sahip bileşenin %57,03 oranında 1,8-cineole olduğunu saptamıştır.

Baratta ve ark. (1998) yapmış oldukları çalışmada, defne bitkisine ait yüksek konsantrasyondaki uçucu bileşenleri, %46,5 oranında 1,8-cineole, %11,8 oranında alpha terpinyl acetate, %7,3 oranında sabinene olarak belirlemiştir.

Özoğul ve ark. (2017) biberiye, defne, adaçayı ve kekik yağları üzerine yapmış oldukları çalışmada bitki materyallerinden elde ettikleri esansiyel yağların GC-MS ile uçucu bileşenlerini belirlemiş ve defne esansiyel yağında, en yüksek konsantrasyonda olan bazı bileşenlerin, %29,60 oranında 1,8-cineole, %18,16 alpha terpinyl acetate ve %11,75 oranında  $\alpha$ -terpineol olduğunu saptamışlardır. Yapılan diğer bir çalışmada buhar distilasyonu (yaprak ve meyve) ve süperkritik sıvı ekstraksiyonuyla (yaprak) elde edilen defne uçucu yağlarının uçucu bileşenleri GC-MS ile belirlenmiştir. Buhar distilasyonu ile elde edilen defne yaprağı uçucu yağında en yüksek oranda belirlenen uçucu bileşenin, %38,15 oranıyla 1,8-cineole olduğu, 1,8-cineole oranının buhar distilasyonu ile elde edilen defne meyvesinde %32,30, süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen defne yaprağında ise %19,14 olduğu saptanmıştır (Zeković ve ark., 2009). Bennadja ve ark. (2013) yapmış oldukları çalışmada ise defne esansiyel yağının uçucu bileşenlerini %35,31 oranında 1,8-cineole, %22,52 oranında  $\beta$ -linalool, %7,37 oranında camphene olarak belirlemiştir. Clevenger hidrodistilasyon yöntemi ile ekstrakte edilen defne esansiyel yağında uçucu bileşenlerin belirlendiği bir çalışmada, uçucu bileşenlerin %22'sini 1,8-cineole uçucu bileşeninin oluşturduğu saptanmıştır (Quijano ve Pino, 2007). Başka bir çalışmada ise

mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemi (622W/85 dk) ile elde edilen defne esansiyel yağında 1,8-cineole konsantrasyonu 731,75 mg/mL olarak belirlenmiştir (Bayramoğlu ve ark., 2009).

#### **2.4. Esansiyel Yağların Nano/Mikroemülsiyonlar ile Formüle Edilmesi**

Esansiyel yağların kararlı yapıda olmamaları biyoyararlılıklarını düşürmektedir. Esansiyel yağların nanoemülsiyon olarak formüle edilmesi, küçük parçacık boyutu, fiziksel kararlılık, faz ayrımının azalması, damlacıkların birleşiminin engellenmesi ve biyoyararlılığın artması gibi avantajlar sağlamak ve materyali gıdalarda kullanıma uygun hale getirmektedir (Oca-Ávalos ve ark., 2017). Nano boyuttaki emülsiyon damlacıkları hücre membranındaki lipit yapısını bozarak hücre içi bileşenlerin sızmasına neden olmaktadır. Ayrıca bu etki daha dirençli mikrobiyal suşların gelişimine de yol açmamaktadır (Ghosh ve ark., 2013).

Nanometre, metrenin bir milyarda birine eşit uzunluk birimidir. Bir nanometre içerisine yalnızca 2 ya da 3 atom dizilebilmektedir. Nanoteknoloji ise 100 nanometreden daha küçük yapıların karakterizasyonu, yapımı ve işlenmesi üzerine yoğunlaşan bir teknolojidir. Emülsiyonlar, birbiri ile karışmayan iki sıvı fazın damlacıklar halinde birbiri içerisinde dağılım gösterdiği heterojen sistemlerdir. Emülsiyonların, nanoemülsiyon özelliği gösterebilmeleri için içerdikleri damlacık boyutlarının 20-200 nm olması gerekmektedir. Nanoemülsiyonlar ve mikroemülsiyonlar için iki farklı yaklaşım vardır. Nanoemülsiyonların ve mikroemülsiyonların benzerlikleri açısından birbirinden farklı olmadığı savunulmaktadır (İlyasoğlu ve El, 2010). Ancak, Mason ve ark. (2006) nanoemülsiyonların ve mikroemülsiyonların fiziksel özelliklerinin oldukça farklı olduğunu savunmaktadır. Mikroemülsiyonlar, görünür ışığın güçlü bir şekilde çoklu saçılımına neden olduklarından beyaz görünüme sahipken, nanoemülsiyonlar, yapılarının görünür dalga boyundan daha küçük olması nedeniyle transparan görünüme sahiptirler (Mason ve ark., 2006). McClements (2012) nanoemülsiyonlarda parçacık boyutunun 90 nm'den küçük olduğunda, emülsiyonda gerçekleşen Brown hareketinin (dağılmış fazın su moleküllerine çarpması sonucu oluşan rastgele hareketlilik) yerçekimi kuvvetinin etkilerini engellemek için yeterli olduğunu belirtmiştir.

Emülsiyon formülasyonunun hazırlanabilmesi için yağ fazı, sürekli faz ve sürfaktana (yüzey aktif madde) ihtiyaç vardır. Sürfaktanlar genel olarak sürekli fazda (polar veya polar olmayan sıvı) çözünen maddelerdir. Sürfaktan, damlacıkları kaplayarak damlacıklar arasında bir su filmi oluşturur ve aynı yüke sahip olan sürfaktan maddeler birbirini iterek

damlacıkların birleşmesini önlemektedir. Nanoemülsiyonların elde edilmesinde iki yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler mekanik ve kimyasal yöntemlerdir. Mekanik yöntemlerde, yüksek basınç homojenizatörleri, mikrofluidizasyon, ultrasonik emülsifikasyon, membran emülsifikasyonu ve faz geçiş sıcaklığı yöntemi kullanılmaktadır. Kimyasal yöntemler ise lipofilik solvent yöntemi, amfifilik solvent yöntemi, hidrofilik solvent yöntemi olarak sınıflandırılmaktadır (İlyasoğlu ve El, 2010).

Defne esansiyel yağının, nanoemülsiyon formülasyonları üzerine sınırlı sayıda çalışma bulunmakla birlikte, genel olarak kekik, nane, biberiye gibi yağlar üzerine daha çok çalışma bulunmaktadır. Dávila-Rodríguez ve ark. (2019) tarçın, biberiye ve kekik esansiyel yağlarıyla formüle edilmiş nanoemülsiyonların *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes* aşılansız taze kerevizler üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. Aynı zamanda emülsiyonlarda parçacık boyut analizi (Bluewave lazer kırınım parçacık analizörü, parçacık boyutları: 226-546 nm), renk analizi ve emülsiyon eklenmiş ve eklenmemiş kerevizlerde duyu analizleri de gerçekleştirmişlerdir. Antimikrobiyal aktivite analizi sonucunda esansiyel yağların nanoemülsiyonlarında mikroorganizmaları inhibe edici etkisinin olduğu ve sentetik ürünlere karşı alternatif olarak kullanılmasına ilişkin çalışmaların yapılabileceği belirtmişlerdir.

Özoğul ve ark. (2017) biberiye, defne, adaçayı ve kekik yağları üzerine yapmış oldukları çalışmada bitki materyallerinden elde ettikleri esansiyel yağlarla nanoemülsiyon formülasyonu hazırlamışlardır. %4 esansiyel yağ, %3 etil alkol ve %3 sürfaktan (Tween80) karışımını (emülsiyon hacmi 1000 mL) 1 saat 86°C'de bekletmişlerdir (bu aşamada etil alkolün %99'unun buharlaştığını varsaymışlardır). Bir saatin sonunda karışıma, 15 dakika süreyle ultrasonik homojenleştirici (Güç: 500W, Frekans: 20 KHz) ile homojenleştirme işlemi gerçekleştirmişlerdir. Hazırlanan emülsiyonların stabilitesinin iki hafta olduğunu belirtmişlerdir. Lazer kırınımına dayalı Mastersizer 2000 ile damlacıkların ortalama boyutlarını ölçmüşler ve parçacık boyutlarının kekik yağı emülsiyonunda 112,82 nm, biberiye yağı emülsiyonunda 63,02 nm, defne yağı emülsiyonunda 66,02 nm, adaçayı yağı emülsiyonunda ise 59,48 nm olduğunu belirtmişlerdir. Diğer bir çalışmada ise biberiye (*Rosmarinus officinalis*), defne (*Laurus nobilis*), adaçayı (*Salvia officinalis*) ve kekik (*Thymus vulgaris*) esansiyel yağları ile hazırlanan nanoemülsiyonların, gökkuşuğu alabalığı filetoları uygulamasında duyu ve mikrobiyolojik değerlendirmeleri gerçekleştirilmiştir. Esansiyel yağlarla formüle edilmiş nanoemülsiyonların eklendiği örneklerde kontrol grubuna göre mikrobiyolojik gelişmenin daha yavaş olduğu ve balık filetolarında raf ömrünü uzatıcı etkinin olduğu belirtilmiştir. Duyusal değerlendirme sonuçlarına göre de

nanoemülsiyon eklenmiş balık fletolarında balık kokusunun azaldığı ancak biberiye esansiyel yağları uygulanan örneklerde acılaşıma olduğu saptanmıştır (Özoğul ve ark., 2017).

Severino ve ark. (2015) mandalin, bergamot, limon uçucu yağları ve karvakrol ile nanoemülsiyon formülasyonları üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Her bir örnek için farklı oranlarda formülasyon oluşturmuşlardır. Esansiyel yağ, ayçiçek yağı, Tween20, glycerol monooleate ve su karışımına 24000 rpm’de 5 dakika ultrahomojenizasyon işlemi ve ardından yüksek basınçlı homojenizasyon işlemi uygulamışlardır. Bir foton korelasyon spektrometresi ile damlacık boyutunu ölçerek, mandalin, bergamot, limon uçucu yağları ve karvakrol ile hazırlanan nanoemülsiyonlarda parçacık boyutlarını sırasıyla 133,4 nm, 176,4 nm, 161,5 nm ve 163,7 nm olarak saptamışlardır.

Salvia-Trujillo ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada esansiyel yağlarla formüle edilmiş food grade (gıdalarda kullanılabilir) emülsiyonlar elde ederek emülsiyonların fizikokimyasal ve antimikrobiyal özelliklerini belirlemişlerdir. *Escherichia coli* üzerine yapılan antimikrobiyal aktivite analizi sonucunda limon otu, karanfil, kekik ve palmarosa ile stabilize edilmiş emülsiyonların inhibe edici etkide olduğunu saptamışlardır.

Fesleğen yağı ile stabilize edilmiş emülsiyonlarla *Escherichia coli* üzerine antibakteriyel etkinin araştırıldığı bir çalışmada ultrasonik emülsifikasyonla elde edilen food grade emülsiyonların bakterisidal etkisinin olduğu belirlenmiştir (Ghosh ve ark., 2013).

Wu ve ark. (2014) *Listeria monocytogenes* Scott A, *Salmonella* Enteritidis ve *Escherichia coli* O157:H7 üzerine, antimikrobiyal aktivite etkisini araştırdıkları çalışmada soya fasülyesi polisakkariti ile emülsifiye edilmiş kekik esansiyel yağı emülsiyonu kullanmışlardır. Araştırmacılar, kekik esansiyel yağının çalışılan mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisinin olduğunu saptamışlardır.

Ghosh ve ark. (2014) taze sıkılmış portakal suyunda bozulma etmeni olan *Staphylococcus aureus* üzerine antimikrobiyal etkiyi araştırmak amacıyla eugenol yüklenmiş nanoemülsiyon kullanmışlardır. Antimikrobiyal etkinin özellikle +4°C’de depolanan örneklerde daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Louni ve ark. (2018) uzun yapraklı nane (*Mentha longifolia*) esansiyel yağları ile formüle edilmiş nanoemülsiyonların değirmen güvesi (*Ephestia kuehniella*) üzerine insektisidal etkisini incelemişlerdir. Araştırmacılar, analizler sonucunda esansiyel yağda ve esansiyel yağ ile formüle edilmiş nanoemülsiyonlarda insektisidal etkinin olduğunu saptamışlardır. Nane esansiyel yağları nanoemülsiyonlarının *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* üzerine antibakteriyel etkisini araştırıldığı diğer bir çalışmada bu esansiyel yağlarla formüle edilmiş nanoemülsiyonların antibakteriyel etkilerinin olduğu

tespit edilmiştir (Liang ve ark., 2012). Başka bir çalışmada ise kekik esansiyel yağı kullanılarak hazırlanan nanoemülsiyonların farklı derişimlerdeki (%0,05 ve %0,1) solüsyonlarında bekletilen marul yapraklarında *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium ve *Escherichia coli* O157:H7 bakterilerine karşı antimikrobiyal etkisinin olduğu belirtilmiştir (Bhargava ve ark., 2015). Nane esansiyel yağları ile yapılan bir çalışmada ise nane esansiyel yağlarının mikroenkapsülasyonu için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Mikroenkapsülasyon işlemi için 2 farklı nane türü (*Mentha spicata* ve *Mentha piperita*) ile maltodekstrin-arap zankı kombinasyonu ve arap zankı kullanılmıştır. Mikroenkapsülasyon işlem veriminin örnek türüne, mikroenkapsülasyon materyalinin çeşidi ve oranına göre değişkenlik gösterdiği belirtilmiştir. *Mentha spicata* mikroenkapsülasyon veriminin daha yüksek olduğu ve solüsyondaki arap zankı miktarı arttıkça verimin azaldığı saptanmıştır. Arap zankının doğal bir polimer olduğu ve iyi bir film oluşturma özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir (Başyigit ve Çam, 2017).

Severino ve ark. (2015) karvakrol, mandalin, bergamot ve limon kullanarak elde ettikleri nanoemülsiyonların *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella* Typhimurium inoküle edilmiş taze fasülye üzerindeki inhibe edici etkisini araştırmışlar ve karvakrolun etkisinin en yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Karvakrol ile hazırlanan nanoemülsiyonlarla yapılan başka bir çalışmada ise kabak ve sosis ürünlerinde antimikrobiyal etkisinin olduğunu belirlemişlerdir (Donsi ve ark., 2014).

Anwer ve ark. (2014) patojen 5 mikroorganizmaya karşı (*B. subtilis*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumonia*) karanfil esansiyel yağı nanoemülsiyonunun kontrol örneğine karşı yüksek antibakteriyal etkiye sahip olduğunu saptamışlardır.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Defne Yaprakları

Çalışmada kullanılan *Laurus nobilis* türü defne yaprakları, üretim sezonunda (Samandağ/Hatay) üreticilerden kuru olarak tedarik edilmiş ve analizler gerçekleştirilene kadar kuru bir ortamda ve oda sıcaklığında depolanmıştır. Kuru defne yaprağı örnekleri Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji bölümü, öğretim üyesi Doç. Dr. Ersin KARABACAK tarafından doğrulanmış olup şahit örnek olarak Çanakkale Botanik Bahçesi Herbaryumu'nda (CBB) muhafaza edilmektedir (CBB 002343).

##### 3.1.2. Nano/Mikroemülsiyon Hazırlamada Kullanılan Stabilizörler

Nano/mikroemülsiyonların hazırlanmasında kullanılan amilopektin, pektin, karboksimetil selüloz (CMC), agar, ksantan gam, arap zankı, karragenan stabilizörleri Sigma Aldrich Chemie GmbH (St. Louis, Missouri, ABD), jelatin stabilizörü ise Merck KGaA (St. Louis, Missouri, ABD) firmalarından sağlanmıştır. Çalışmada, ön denemeler sonucunda belirlendiği üzere amilopektin ve arap zankı stabilizörleri kullanılmıştır.

##### 3.1.3. Portakal Suyu Denemelerinde Kullanılan Portakallar ve Portakal Suyu

Araştırmada kullanılan portakallar Valencia çeşidi olup lokal bir marketten satın alınmıştır. Portakal suları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Duyusal Analiz Laboratuvarı'nda, narenciye sıkacağı (Fakir Hausgeräte Lucra Citrus Juicer 85W, Vaihingen/Enz, Almanya) ile elde edilmiştir.

##### 3.1.4. Antimikrobiyal Analizlerde Kullanılan Standart Bakteri Suşları

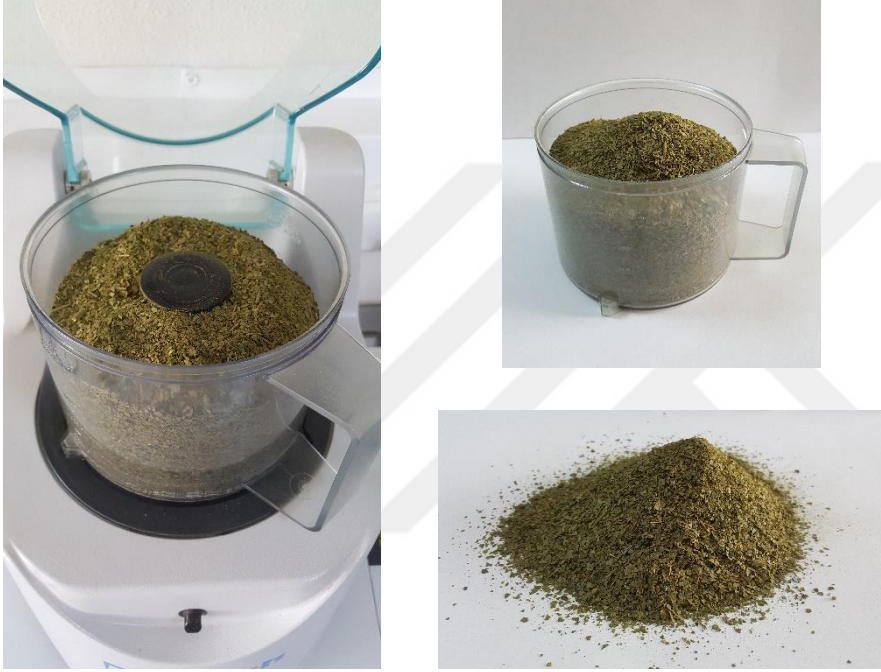
Çalışmalarda kullanılan Gram negatif bakteri olan *Escherichia coli* ATCC 25922 ve Gram pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 referans suşları Uludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Gıda Mühendisliği bölümü, öğretim üyesi Doç. Dr. Sine ÖZMEN TOĞAY'dan temin edilmiştir.

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1. Kuru Defne Yapraklarına Uygulanan İşlemler ve Analizler

#### Kuru Defne Yapraklarının Öğütülmesi

Çalışmada kullanılan kuru defne yaprakları, analizlerden önce (nem, kül, esansiyel yağ eldesi vd.) öğütücü (GM 200 Model, Knife Mill GRINDOMIX, Retsch GmbH, Haan, Almanya) ile 30 saniye boyunca 6000 rpm’de öğütülmüştür. Öğütülmüş kuru defne yaprakları Şekil 2’de görülmektedir.



Şekil 2. Kuru defne yapraklarında öğütme işlemi

Toluen yöntemi, nem tayin cihazı ve etüvde kurutma yöntemi kullanılarak kuru defne yapraklarının nem yüzdesi üç farklı yöntemle belirlenmiş olup yöntemlere ait detaylar aşağıda belirtilmiştir.

#### Toluen Yöntemi ile Nem Yüzdesinin Belirlenmesi

Öğütülmüş kuru defne yapraklarının nem yüzdesi, su ile karışmayan ve yoğunluğu sudan daha düşük olan toluen ve öğütülmüş kuru defne yapraklarının distilasyonu ile belirlenmiştir (Anonim, 1987). Analiz için 10 g öğütülmüş kuru defne yaprağı tartılarak balon içerisine alınmış ve üzerine 75 mL toluen eklenmiştir. Çalkalama yapılarak toluenin defne yaprakları ile düzgün bir biçimde karışması sağlanmıştır. Çeker ocak altında, ceketli ısıtıcı ile geri soğutmalı bir düzenek hazırlanmıştır. Ceketli ısıtıcıya balon ve geri soğutmalı



düzenek yerleştirilerek, ısıtıcının sıcaklık ayarı suyun ve toluenin kaynama sıcaklığından (sırasıyla 100°C ve 110°C) daha yüksek bir sıcaklığa (120-150°C arası) ayarlanmıştır. Bir süre sonra, düzenekte kullanılan Dean&Stark skalalı aparatında (Dean ve Stark, 1920) su ve toluen birikmiş, faz ayrımı sabitlendiğinde analiz sona erdirilmiştir. Skalada okunan su değeri hacimsel olarak kaydedilerek 3.1 numaralı formüle göre hesaplama yapılmıştır. Toluen yöntemi ile nem analizi düzeneği Şekil 3'te verilmiştir.

$$\% Nem = 100 \times (V / m) \quad (3.1)$$

v: Skalada biriken su miktarı (mL)

m: Tartılan örnek miktarı (g)



Şekil 3. Toluen yöntemi ile nem analiz düzeneği

### **Nem Tayin Cihazı ile Nem Yüzdesinin Belirlenmesi**

Toluen yöntemi ile belirlenen yüzde nem sonucunu desteklemek amaçlı infrared ısıtıcılı nem tayin cihazı (Ohaus MB45 Model, Infrared Nem Tayin Cihazı, New Jersey, ABD) ile öğütülmüş kuru defne yapraklarının nem yüzdesi ölçülmüştür. İşlem 100°C'de 10 dakika olarak uygulanmış ve nem yüzdesi direkt olarak cihaz ekranından yüzde olarak okunarak kaydedilmiştir.

### **Etüvde Kurutma Yöntemi ile Nem Yüzdesinin Belirlenmesi**

Öğütülmüş kuru defne yapraklarında etüvde kurutma yöntemi ile nem yüzdesi gravimetrik olarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2007). Kurutma kapları saf su ile temizlenerek 105°C'lik etüvde sabit tartıma gelene kadar neminden uzaklaştırılmıştır. Nemi uzaklaştırılan tartım kapları yarım saat desikatörde bekletilerek daraları ( $m_1$ ) kaydedilmiştir ve kaplara yaklaşık 1 g örnek ( $m$ ) tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Hazırlanan örnekler 105°C'lik etüvde sabit tartıma gelene kadar kurutulmuştur. Kurutma işlemi sonunda örnekler desikatöre alınarak yarım saat bekletilmiş ve ağırlıkları ( $m_2$ ) kaydedilmiştir. Sonuçlar 3.2 numaralı formüle göre hesaplanarak yüzde (%) olarak ifade edilmiştir.

$$\% Nem = \left[ \frac{(m_2 - m_1)}{m} \right] \times 100 \quad (3.2)$$

$m$ : Tartılan örnek miktarı (g)

$m_1$ : Kurutma kabının darası (g)

$m_2$ : Kurutma sonrası kurutma kabı ve örneğin toplam ağırlığı (g)

### **Kül Tayini**

Öğütülmüş kuru defne yapraklarında kül tayini gravimetrik olarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2007). Analizden önce porselen krozeler, kalıntılardan arındırmak amacıyla yaklaşık 24 saat süresince, içerilerine nitrik asit ( $HNO_3$ ) konularak bekletilmiştir. Nitrik asit ile bekletilen krozeler 24 saatin sonunda saf su ile yıkanarak, kül fırınında (110/15 Model, Protherm Furnaces, High Temperature Furnaces, Ankara, Türkiye) 200°C'de, iki saat boyunca bekletilmiş ve nemden arındırılması sağlanmıştır. Nemden arındırılan porselen krozeler desikatörde yarım saat bekletilerek daraları ( $m_1$ ) alınmıştır. Daraları alınan krozelere yaklaşık 0,5 g örnek ( $m$ ) tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Hazırlanan örnekler 250°C'de kül fırınında bir buçuk saat ön yakma işlemine tabi tutulmuş ve 550°C'ye gelene kadar bir saatlik periyotlarda fırın sıcaklığı 100°C artırılmıştır. Kül fırınının sıcaklığı 550°C'ye ulaştığında yakma işlemine altı saat daha devam edilmiştir. Yakma işlemi sonunda krozeler desikatöre alınarak yarım saat beklenmiş ve son ağırlıkları ( $m_2$ ) alınarak, 3.3 numaralı formüle göre hesaplama yapılmıştır. Sonuçlar yüzde (%) olarak ifade edilmiştir. Kuru defne yapraklarının yakma işlemi sonrası görüntüleri Şekil 4'te verilmiştir.

$$\% \text{ K\u00fcl} = \left[ \frac{(m_2 - m_1)}{m} \right] \times 100 \quad (3.3)$$

m: Tartılan \u00f6rnek miktar\u0131 (g)

m<sub>1</sub>: Porselen krozenin daras\u0131 (g)

m<sub>2</sub>: Yakma sonrası kroze ve k\u00fcl\u00fcn toplam a\u011frl\u0131\u011f\u0131 (g)



\u015eekil 4. Kuru defne yapraklarında k\u00fcl analizi

### 3.2.2. Esansiyel Ya\u011f \u00dcretimi

Kuru defne yapraklarından esansiyel ya\u011f \u00fcretimi Mikrodalga Destekli Clevenger Cihaz\u0131 (Milestone Ethos X Model, Geli\u015fmi\u015f Mikrodalga Ekstraksiyon Sistemi, Sorisole, \u0130talya) ile ger\u00e7ekle\u015ftirilmi\u015ftir. Mikrodalga Destekli Clevenger Cihaz\u0131, herhangi bir solvenle ihtiya\u00e7 duyulmadan, doymu\u015f buhar ve mikrodalga i\u015flemine ortak etkisiyle beraber daha kısa s\u00fcrede ve daha y\u00fcksek verimde esansiyel ya\u011f ekstraksiyonu sa\u011flad\u0131\u011f\u0131 i\u00e7in tercih edilmi\u015ftir.

En y\u00fcksek verimi elde etmek i\u00e7in \u00f6n denemeler ger\u00e7ekle\u015ftirilerek (hammadde miktar\u0131, cihaz parametreleri vb.) optimum ko\u015fullarda \u00fcretim sa\u011flanm\u0131\u015ftir. D\u00fc\u015f\u00fck enerji ve s\u00fcrede, y\u00fcksek verimli esansiyel ya\u011f eldesi i\u00e7in 250 g \u00f6\u011f\u00fct\u00fclm\u00fc\u015f (6000 rpm'de 30 saniye) kuru defne yapra\u011f\u0131 cihaz haznesine alınm\u0131\u015f, \u00fczerine 2500 mL \u00e7e\u015fme suyu eklenerek (materyal, su oran\u0131 1:10) a\u011fz\u0131 hava almayacak \u015fekilde kapat\u0131larak bir saat bekletilmi\u015ftir. Bir saat sonunda hazne Mikrodalga Destekli Clevenger Cihaz\u0131'na yerle\u015ftirilerek iki saat s\u00fcre ile (Ekstraksiyon G\u00fc\u00e7\u00fc: 750 W) esansiyel ya\u011f ekstraksiyonu ger\u00e7ekle\u015ftirilmi\u015ftir. Cihaz\u0131n ya\u011f toplama \u00fcnitesinde biriken esansiyel ya\u011flar amber renkli, kapakl\u0131 aroma \u015fi\u015felerine alınarak analizler ger\u00e7ekle\u015ftirilene kadar -18\u00b0C'de depolanm\u0131\u015ftir. Mikrodalga Destekli Clevenger Cihaz\u0131 ve bir saat boyunca suda bekletilen \u00f6\u011f\u00fct\u00fclm\u00fc\u015f kuru defne yapraklarının g\u00f6r\u00fcnt\u00fcs\u00fc \u015eekil 5'te verilmi\u015ftir.

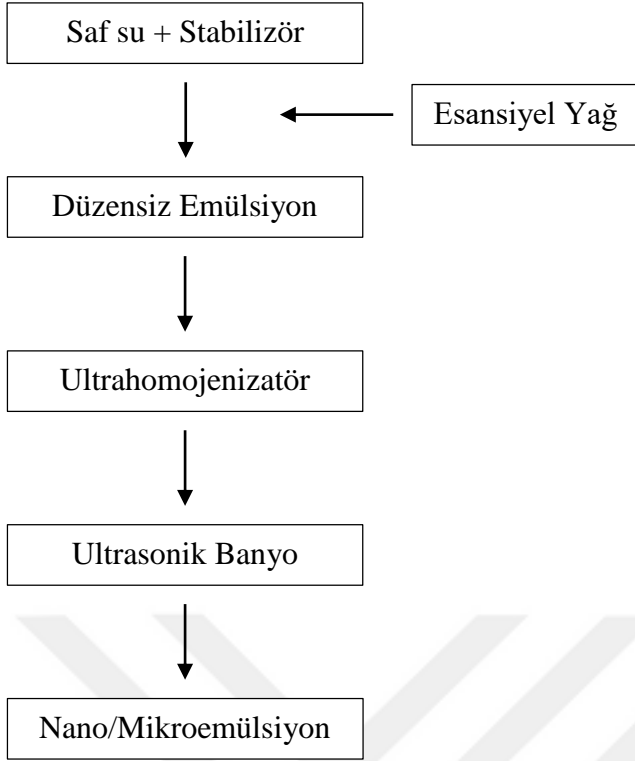


Şekil 5. Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı

### 3.2.3. Defne Esansiyel Yağı ile Nano/Mikroemülsiyonların Hazırlanması

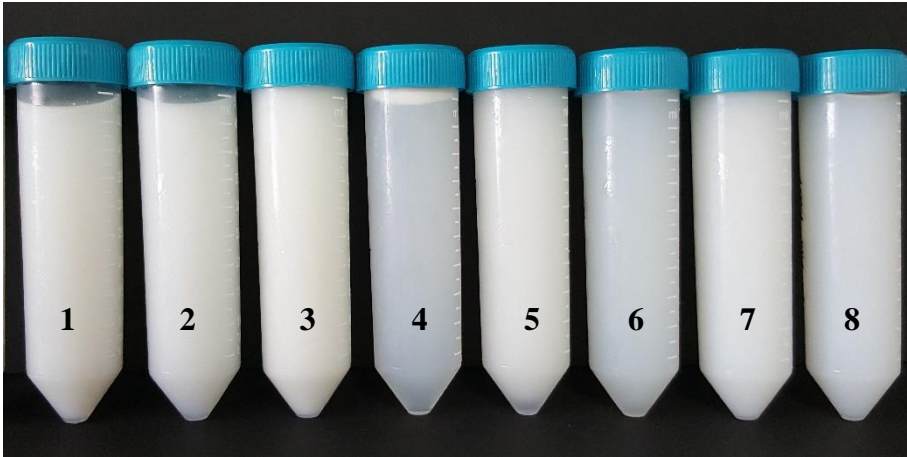
Defne esansiyel yağı ile nano/mikroemülsiyon formülasyonları oluşturulurken ön deneme olarak; 30 mL su içerisine 0,30 mL Tween80 ve 0,05 mL defne yaprağı esansiyel yağı eklenerek vortekslenmiştir. Elde edilen düzensiz emülsiyona 30, 45 ve 60 dakika ultrasonik banyo (frekans: 50 Hz) (Bandelin Sonorex RK 100 Model, Ultrasonic Bath, Berlin, Almanya) işlemi uygulanmış ve Dinamik Işık Saçılımı (DLS-Dynamic Light Scattering) ölçümü ile parçacık boyutu belirlenmiştir.

Nano/mikroemülsiyonlar elde edilirken, portakal suyu denemeleri için emülsiyonların gıdalarda kullanılabilir (food grade) olması amaçlanmıştır. Bu nedenle emülsiyon hazırlamada kullanılan stabilizörler polisakkarit ve protein yapıdaki maddeler (amilopektin, pektin, karboksimetil selüloz (CMC), agar, ksantan gam, arap zankı, jelatin, karragenan) arasından seçilmiştir. Emülsiyonlar hazırlanırken, önceki çalışmalar referans alınarak, 100 mL saf su içerisine 0,21 g stabilizör eklenerek manyetik karıştırıcı ile 5 dakika karıştırılmış ve stabilizörün saf su içerisinde tamamen çözünmesi sağlanmıştır. Karşıma 1,55 mL esansiyel yağ eklenerek düzensiz emülsiyonlar oluşturulmuştur. Düzensiz emülsiyonları kararlı hale getirmek için 5 dakika ultrahomojenizatör (18000 rpm) (IKA T25 Model, Dijital Ultra-Turrax, Staufen, Almanya) ve 5 dakika ultrasonik banyo (frekans: 50 Hz) işlemleri uygulanmıştır. Emülsiyon oluşturma aşamaları Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6. Nano/mikroemülsiyon hazırlama aşamaları

Öncelikle, sekiz farklı stabilizör kullanılarak defne esansiyel yağı ile emülsiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan emülsiyonlar Şekil 7’de verilmiştir.



Şekil 7. Farklı stabilizörlerle hazırlanmış emülsiyonlar  
(1: Amilopektin, 2: Pektin, 3: CMC, 4: Agar, 5: Ksantan gam, 6: Arap zamkı, 7: Jelatin  
8: Karragenan)

Hazırlanan emülsiyonların parçacık boyutlarını belirlemek amacıyla, DLS ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Parçacık boyutu sonuçlarına göre ortalama parçacık çapı düşük olan stabilizörler “amilopektin, arap zankı ve jelatin” olmuştur. Çalışmanın devamında portakal suyu denemesi yapıldığından hayvansal kaynaklı jelatinin, tüketiciler tarafından tercih edilmeyeceği düşünülerek emülsiyon hazırlamada kullanılmamış, amilopektin (mısır) ve arap zankının (akasya ağacı) kullanılması uygun bulunarak araştırmada kullanılan nano/mikroemülsiyonlar amilopektin ve arap zankı stabilizörleriyle hazırlanmıştır. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan amilopektin ve arap zankı emülsiyonlarına ait görüntüler Ek 1’de verilmiştir.

Defne esansiyel yağı ile hazırlanan nano/mikroemülsiyonlarda miktar ve süre optimizasyonları gerçekleştirilmiştir. Optimizasyon deneme deseni sonucunda DLS ölçümlerine göre; 100 mL saf su içerisinde 0,30 g stabilizör ve 1,50 mL esansiyel yağ kullanılmasına, ultrahomojenizasyon ve ultrasonik banyo sürelerinin 5’er dakika olmasına karar verilmiştir.

#### **3.2.4. Esansiyel Yağ ve Nano/Mikroemülsiyonlara Uygulanan Analizler**

Defne esansiyel yağı ile hazırlanan nano/mikroemülsiyonlar fiziksel stabilitelerinin kontrolü amacıyla iki aylık süre boyunca depolanmıştır. Depolama süresi boyunca haftalık periyotlarda damlacık boyutlarının belirlenmesi amacıyla DLS ölçümleri, optik özelliklerinin belirlenmesi amacıyla spektrofotometre ile bulanıklık tayini, viskozite değişimlerini incelemek amacıyla viskozite ölçümleri ve renk/beyazlık indeksleri değişimlerini incelemek amacıyla kolorimetre ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

#### **Parçacık Boyutu**

Nano/mikroemülsiyonların DLS ölçümleri (Brookhaven Instruments Corporation, 90 Plus Model, Particle Size Analyzer, Holtsville, NY, ABD) parçacık boyut analizörü ile gerçekleştirilmiştir. Makro küvete örnek alınarak, küvet cihaz bölmesine yerleştirilmiş ve 50 saniye boyunca 10 ölçüm alınarak bu ölçümlerin ortalaması alınmıştır. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan amilopektin ve arap zankı emülsiyonlarına ait DLS ölçüm grafik örnekleri Ek 2’de verilmiştir.

### **Bulanıklık**

Optik özelliklerin belirlenmesi için spektrofotometrede (UV-1800 Model, Shimadzu UV Spectrophotometer, Schweiz GmbH, Kyoto, Japonya) 600 nm dalga boyunda, şahide (saf su) karşı okuma gerçekleştirilmiştir. Örnek vorteks yardımıyla karıştırılarak spektrofotometre küvetine alınmış ve cihaz haznesine yerleştirilerek ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Cihaz ekranından absorbans (Abs) değeri okunarak kaydedilmiştir.

### **Viskozite**

Viskozite ölçümleri Brookfield Viskozimetresi (Model DV-II+Pro, Brookfield Engineering Laboratories, Inc., ABD) ile gerçekleştirilmiştir. Viskozimetre tüpüne oda sıcaklığında (+25°C) 16 mL örnek konularak 0 numaralı spindle ve 100 rpm dönüş hızında ölçümler gerçekleştirilmiştir.

### **Renk**

Renk ve beyazlık indekslerini belirlemek amacıyla Minolta CR-400 kolorimetresi (Konica Minolta Sensing, Osaka, Japonya) kullanılmıştır. Cihaz haznesine örnek konularak doğrudan ölçüm gerçekleştirilmiş ve  $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri kaydedilmiştir.

### **Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi**

Toplam fenol tayini Folin-Ciocalteu yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Singleton ve Rossi 1965). Esansiyel yağ örnekleri, daha homojen bir karışım elde etmek amacıyla 1:1 oranında %80'lik metanol çözeltisi ile seyreltilmiştir. Nano/mikroemülsiyon örneklerinde ise seyreltme yapılmamıştır. Hazırlanan örneklerden 100 µL alınarak üzerine 900 µL saf su ilave edilmiştir. Bu karışım 5 mL folin ayıracı ile muamele edilerek üzerine 4 mL sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışım karanlık bir ortamda iki saat bekletilerek redoks tepkimesi sonucunda mavi renk elde edilmiştir. Aynı şekilde 100 µL örnek yerine saf su kullanılarak şahit çözelti hazırlanmış ve eş zamanlı olarak karanlık ortamda 2 saat süre ile bekletilmiştir. Bu süre sonunda spektrofotometrede (UV-1800 Model, Shimadzu UV Spectrophotometer, Schweiz GmbH, Kyoto, Japonya) 765 nm dalga boyunda, şahide karşı okuma gerçekleştirilmiştir. Örnekte ölçülen absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanan standart kurvenin denkleminde hesaplanarak "mg gallik asit/L" cinsinden ifade edilmiştir. Gallik asit standart eğrisi Ek 3'te verilmiştir.

### **Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi**

Kuru defne yapraklarından elde edilen esansiyel yağların ve bu yağlarla hazırlanan emülsiyonların antioksidan aktivite düzeyleri Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity-TEAC) yöntemine göre belirlenmiştir (Re ve ark., 1999; Arts ve ark., 2001). Analize başlamadan önce radikal çözeltilisi, PBS (tuzlu fosfat tampon, pH 7,4) ile 734 nm'de 0,700 ( $\pm 0,02$ ) absorbans değeri verecek şekilde seyreltilmiştir. Ham esansiyel yağların homojenize edilmesi ve seyreltilmesinde %80'lik metanol kullanılmıştır. Emülsiyonlarda ise seyreltme yapılmadan doğrudan ölçüm yapılmıştır. PBS ile seyreltilmiş ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltilisinden mikroküvete 1 mL alınmış ve mikroküvet içindeki radikal çözeltilisi üzerine farklı hacimlerde örnek eklenerek altı dakika boyunca birer dakika arayla absorbans değerleri okunmuştur. Altı dakika sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) hesaplanmıştır. En az üç farklı örnek hacminde çalışılarak, örnek miktarına bağlı olarak inhibisyon oranları belirlenmiştir. Altı dakika sonunda saptanmış ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek miktarlarına (hacimlerine) karşı bir grafiğe aktarılıp linear regresyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanıp, sonucun seyreltme faktörü ile çarpılmasıyla örneğin TEAC değeri hesaplanmıştır. Troloks standart eğrisinin hazırlanmasında çözücü olarak PBS kullanılmıştır. Troloks standart eğrisi Ek 4'te verilmiştir.

### **Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi**

Kuru defne yapraklarından elde edilen esansiyel yağların ve bu yağlarla hazırlanan nano/mikroemülsiyonların Gram negatif *Escherichia coli* ATCC 25922 ve Gram pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 referans suşlarına antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla agar disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Özcan ve ark., 2010; Cherrat ve ark., 2014).

Test edilecek bakteri stok kültürleri, ön canlandırma yapılmak amacıyla Nutrient Broth (Oxoid Limited, Basingstoke, İngiltere) besiyerinde 37°C'de 18-24 saat boyunca çalkalamalı inkübatörde (Certomat IS Model, Benchtop Incubation Shaker, Sartorius Stedim Biotech, Göttingen, Almanya) inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bakteri süspansiyonundan serum fizyolojik (%0,85'lik NaCl çözeltilisi) içerisine bir miktar alınmış ve McFarland cihazı (DEN-1 Model, Biosan McFarland Densitometer, Riga, Letonya) ile 0,5 McFarland standart bulanıklığına ayarlanarak Muller Hinton Agar (Acumedia Lab/Neogen, Lancashire,



İngiltere) besiyeri üzerine 100 µL yayma plak yöntemi ile yayılmıştır. Defne esansiyel yağı ve bu yağlarla hazırlanan nano/mikroemülsiyonlar, 6 mm çapındaki steril kağıt disklerle (Antimicrobial Susceptibility Test Discs, Oxoid Limited, Basingstoke, İngiltere) 15'er µL emdirilerek bakteri yayılmış besiyeri üzerine yerleştirilmiştir. Hazırlanan petriyeler 37°C'de 18-24 saat boyunca inkübe edilerek inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür. Defne esansiyel yağının ve bu yağlarla hazırlanan emülsiyonların *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* referans suşlarına karşı agar disk difüzyon analizine ait görüntüler Ek 5'te verilmiştir.

### **Gaz Kromatografisi-Olfaktometri (GC-O) ile Aroma-Aktif Bileşenlerinin Belirlenmesi**

Defne esansiyel yağı ve defne esansiyel yağı kullanılarak, farklı stabilizörlerle hazırlanan nano/mikroemülsiyonlarda aroma-aktif bileşenlerinin izolasyonu amacıyla katıfaz mikro ekstraksiyon (SPME) tekniği kullanılmıştır (Won ve ark., 2009).

Bu amaçla;

Nano/mikroemülsiyonlar için; örneklerden 1 mL amber renkli aroma vialine alınıp 40°C'lik su banyosunda 5 dakika bekletildikten sonra SPME fiberi (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Bellafonte, ABD), vialer yerleştirilip 5 dakika da fiber ile bekletilmiştir. Bu ekstraksiyon işleminin hemen ardından GC'ye enjeksiyon yapıp koklamalar gerçekleştirilmiştir.

Esansiyel yağ örnekleri için; aroma vialine 1 mL distile su içerisine 15 µL (1 mL emülsiyon içerisinde bulunan esansiyel yağ miktarına eşdeğer miktar) esansiyel yağ eklendikten sonra 40°C'lik su banyosunda 5 dakika bekletildikten sonra SPME fiberi, vialer yerleştirilip 5 dakika da fiber ile bekletilmiştir. Bu ekstraksiyon işleminin hemen ardından GC'ye enjeksiyon yapıp koklamalar gerçekleştirilmiştir. Koklamalar deneyimli (ortalama deneyim saati: 100 saat) iki panelist tarafından gerçekleştirilmiştir.

Ayrıca gaz kromatografisine n-alkan standart serisi (C<sub>6</sub>, C<sub>7</sub>...C<sub>23</sub>) enjekte edilerek alıkonma zamanları belirlenmiştir. Alkan serisinin ve örneklerdeki aroma maddelerinin alıkonma zamanları kullanılarak alıkonma indeksleri (RI-Kovats Retention Index) hesaplanmıştır. Aroma yoğunlukları 10 puanlı skalaya göre (0: yok, 10: en yüksek) değerlendirilmiştir.

Aroma-aktif bileşenlerin alıkonma indeksleri (RI) Van den Dool ve Kratz (1963) tarafından belirtildiği şekilde, 3.4 numaralı formül kullanılarak hesaplanmıştır.

GC-O özellikleri aşağıda belirtildiği gibidir.

Kolon: DB5 (Agilent), 30 m, 0,320 mm id x 0,25 µm film kalınlığı

Taşıyıcı gaz: Helyum

Toplam akış: 21,2 mL/dk

Dedektör: FID-Alev İyonizasyon Dedektörü

Enjeksiyon türü: Bölünmemiş (Splitless)

Fırın programı: Başlangıç sıcaklığı 40°C’de 1 dk, Ramp1: 6°C/dk, 130°C’de 3 dk, Ramp2: 10°C/dk, 250°C’de 15 dk (toplam süre: 46 dakika)

$$RI = 100n + \left[ 100 \times \frac{(tRa - tRn)}{(tRN - tRn)} \right] \quad (3.4)$$

RI: Alıkonma indeksi

n: Küçük alkanın karbon sayısı

tRa: İlgili aroma maddesinin alıkonma zamanı

tRn: Küçük alkanın alıkonma zamanı

tRN: Büyük alkanın alıkonma zamanı

### **Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi**

Uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi amacıyla Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890, MS 6890N, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılmıştır. Uçucu bileşenlerin izolasyonu amacıyla katı-faz mikroekstraksiyon tekniği (SPME) uygulanmıştır (Won ve ark., 2009). Ayrımı sağlamak amacıyla polar olmayan özellikteki DB-5MS (60m x 0,250 mm id x 0,25 µm film kalınlığı) kolon kullanılmıştır (J&W Scientific, Folsom, CA, ABD).

Bu amaçla;

Nano/mikroemülsiyonlar için; 40 mL’ lik SPME vialine 300 µL nano/mikroemülsiyon ve 10 µL iç standart (IS: 10 mL metanol + 20 µL alpha thujone) eklenerek vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Karışım 40°C’lik su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda SPME fiberi (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Bellafonte, ABD) vialin tepe boşluğuna batırılarak 40°C’de 5 dakika süreyle uçucu bileşenlerin fiber üzerine toplanması sağlandıktan sonra GC-MS’e enjekte edilmiştir.

Esansiyel yağ örnekleri için; 40 mL' lik SPME vialine 300 µL saf su alınmış, üzerine 4,5 µL esansiyel yağ (300 µL emülsiyon içerisinde bulunan esansiyel yağ miktarına eşdeğer miktar) ve 10 µL iç standart eklenerek vorteks yardımıyla karıştırılmıştır. Karışım 40°C'lik su banyosunda 5 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda SPME fiberi vialin tepe boşluğuna batırılarak 40°C'de 5 dakika süreyle uçucu bileşenlerin fiber üzerine toplanması sağlandıktan sonra GC-MS'e enjekte edilmiştir. GC-MS analizlerine ait kromatogram Ek 6'da verilmiştir.

GC-MS özellikleri aşağıda belirtildiği gibidir.

Taşıyıcı gaz: Helyum, 1,5 mL/dk

Enjeksiyon türü: Bölünmüş (Split), Bölünme oranı (Split ratio): 25/1

Fırın programı: Başlangıç sıcaklığı 40°C'de 3 dk, Ramp1: 3°C/dk, 200°C'de 10 dk, Ramp2: 10°C/dk, 240°C'de 5 dk (toplam süre: 75 dakika)

MS koşulları: kapiler arayüz (capillary interface) sıcaklığı 280°C, iyonizasyon enerjisi (ionization energy): 70 eV, kütle aralığı (mass range) 35 ile 350 amu, tarama hızı (scan rate) 4,45 scans/s'dir.

Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) kütüphanelerinden yararlanılmıştır. Miktar belirleme 3.5 numaralı formüle göre yapılmıştır.

$$Bileşimin Miktarı = \left[ \frac{(IS\ kons. \times\ Maddenin\ pik\ alanı)}{IS\ konsantrasyonu} \right] \times RF \quad (3.5)$$

IS: İç standart

RF: Yanıt faktörü

### **Duyusal Analiz**

Defne esansiyel yağında ve nano/mikroemülsiyonlarda tadım analizleri yapılamayacağından, koklama yapılarak, aroma karakteristikleri tanımlayıcı duyu analizi tekniği (Spektrum™) ile belirlenmiştir (Meilgaard ve ark., 1999). Esansiyel yağlarda ve nano/mikroemülsiyonlarda koklamalar oda sıcaklığında (22-25°C) gerçekleştirilmiş olup, örnekler panelistlere 40 mL hacimli şeffaf kaplarda sunulmuştur. Stabilizör kaynaklı aroma karakteristiklerinin belirlenebilmesi amacıyla sadece stabilizör kullanılarak elde edilen düzensiz emülsiyonlarda (defne esansiyel yağı eklenmemiş) da koklamalar gerçekleştirilmiştir. Tanımlayıcı duyu analizi tekniğinde (Spektrum™); tanımlayıcı

terimler panel liderinin başkanlığında oluşturulan oturumlarla karşılıklı tartışma ve değerlendirmelerle belirlenmiştir. Örnek gruplarının karakteristik duyuşal özellikleri 5 kişiden oluşan (20-50 yaş aralığında 2 erkek, 3 kadın) eğitimli panelist grubu tarafından 10 puanlık skala kullanarak değerlendirilmiştir.

### **3.2.5. Nano/Mikroemülsiyonlarda Portakal Suyu Uygulaması ve Gerçekleştirilen Analizler**

Çalışmalarda kullanılan portakal suları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Duyusal Analiz Laboratuvarı'nda, narenciye sıkacağı ile elde edilmiştir. Nano/mikroemülsiyonların taze sıkılmış portakal suyu ortamındaki etkilerinin belirlenmesi için farklı depolama süreleri ve farklı depolama sıcaklıklarında belirli analizler, 3 farklı uygulama modeli olarak gerçekleştirilmiştir.

Uygulama Modeli 1: Nano/mikroemülsiyon eklenmiş (%0,5 oranında, v/v) portakal suları bir ay boyunca buzdolabı koşullarında depolanarak haftalık periyotlarda (0. gün dahil) viskoziteleri, toplam fenol miktarları, antioksidan aktiviteleri, toplam canlı aerobik mezofilik bakteri (TCAMB) ve maya-küf sayımları, uçucu bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla GC-MS analizleri ve tanımlayıcı duyuşal analizleri gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu olarak nano/mikroemülsiyon eklenmemiş taze sıkılmış portakal suları kullanılmıştır.

Uygulama Modeli 2: Nano/mikroemülsiyon eklenmiş (%0,5 oranında, v/v) portakal suları oda sıcaklığında ve buzdolabı koşullarında 1 hafta boyunca inkübe edilerek başlangıç günü de dahil (0. gün) günlük olarak TCAMB ve küf-maya yükünde meydana gelebilecek değişiklikler belirlenmiştir. Kontrol grubu olarak nano/mikroemülsiyon eklenmemiş taze sıkılmış portakal suları kullanılmıştır.

Uygulama Modeli 3: Nano/mikroemülsiyon eklenmiş (%0,5 oranında, v/v) portakal sularına Gram negatif *Escherichia coli* ATCC 25922 ve Gram pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 referans suşları  $10^6$  kob/mL düzeyinde ayrı ayrı inoküle edilmiştir. Örnekler oda sıcaklığı ve buzdolabı koşullarında inkübe edilmiş, selektif besiyerlerine (*E. coli* için Violet Red Bile Agar, *S. aureus* için Baird Parker Agar - Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) ekimleri gerçekleştirilerek antibakteriyal aktiviteleri belirlenmiştir. Kontrol grubu olarak nano/mikroemülsiyon eklenmemiş taze sıkılmış portakal suları kullanılmıştır. Taze sıkılmış portakal suları, schott şişelerinden kaynaklı mikrobiyolojik kontaminasyonu önlemek amacıyla otoklavda (Hiclave HV-110L Model, Hirayama HMC, Tokyo, Japonya) steril edilmiş (121°C'de 15 dakika) schott şişelerinde depolanmıştır. Portakal sularında pastörizasyon işlemi uygulanmamıştır.

### **Viskozite Analizi**

Viskozite ölçümü için; Brookfield DV-II+Pro Viskozimetresi, 61 numaralı spindle kullanılmış olup dönüş hızı 100 rpm olarak ayarlanmıştır. Analizi gerçekleştirilen örnekler oda sıcaklığında olup (+25°C), 5 mL örnek kullanılmıştır.

### **Toplam Fenolik Madde Miktarının Belirlenmesi**

Toplam fenolik madde tayini Folin-Ciocalteu yöntemine göre gerçekleştirilmiştir (Singleton ve Rossi, 1965). Kontrol grubuna ve nano/mikroemülsiyon ilave edilmiş portakal sularına analiz öncesi santrifüjleme (NF 800 Model, Nüve Laboratuvar ve Sterilizasyon Teknolojisi, Akyurt, Türkiye) işlemi uygulanmıştır. Santrifüjlenen örneklerin berrak faz kısmından 100 µL alınarak üzerine 900 µL saf su ilave edilmiştir. Bu karışım 5 mL folin ayırıcı ile muamele edilerek üzerine 4 mL sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Hazırlanan karışım karanlık bir ortamda iki saat bekletilerek redoks tepkimesi sonucunda mavi renk elde edilmiştir. Aynı şekilde 100 µL örnek yerine saf su kullanılarak şahit çözelti hazırlanmış ve eş zamanlı olarak karanlık ortamda iki saat süre ile bekletilmiştir. Bu süre sonunda spektrofotometrede 765 nm dalga boyunda, şahide karşı okuma gerçekleştirilmiştir. Örnekte ölçülen absorbans değerinin gallik asit cinsinden eşdeğeri olan fenolik bileşik miktarı, gallik asit ile hazırlanan standart kurvenin denkleminde hesaplanarak "mg gallik asit/L" cinsinden ifade edilmiştir.

### **Antioksidan Aktivitenin Belirlenmesi**

Kuru defne yapraklarından elde edilen esansiyel yağların ve bu yağlarla hazırlanan emülsiyonların portakal suyu ortamındaki antioksidan aktivite düzeyleri, Troloks Eşdeğer Antioksidan Kapasitesi (TEAC) yöntemine göre belirlenmiştir (Re ve ark., 1999; Arts ve ark., 2001). Analize başlamadan önce radikal çözeltisi, PBS (tuzlu fosfat tampon, pH 7,4) ile 734 nm'de 0,700 (±0,02) absorbans değeri verecek şekilde seyreltilmiştir. Kontrol grubu ve nano/mikroemülsiyon eklenmiş portakal sularına santrifüjleme işlemi uygulanarak ölçümler üst kısımdaki berrak fazdan örnek alınarak gerçekleştirilmiştir. PBS ile seyreltilmiş ABTS<sup>•+</sup> radikal çözeltisinden mikroküvete 1 mL alınmış ve mikroküvet içindeki radikal çözeltisi üzerine farklı hacimlerde örnek eklenerek altı dakika boyunca birer dakika arayla absorbans değerleri okunmuştur. Altı dakika sonunda saptanmış olan absorbans değeri esas alınarak, başlangıç değerine göre yüzde azalma oranı (inhibisyon oranı) hesaplanmıştır. En az üç farklı örnek hacminde çalışılarak, örnek miktarına bağlı olarak inhibisyon oranları belirlenmiştir. Altı dakika sonunda saptanmış ortalama yüzde inhibisyon değerleri örnek

miktarlarına (hacimlerine) karşı bir grafiğe aktarılıp linear regresyon analizi uygulanmak suretiyle, örneğe ilişkin eğriye ve bu eğriyi tanımlayan eşitliğe ulaşılmıştır. Örneğe ilişkin eğrinin eğimi, troloks standart eğrisinin eğimine oranlanıp, sonucun seyreltme faktörü ile çarpılmasıyla örneğin TEAC değeri hesaplanmıştır. Troloks standart eğrisinin hazırlanmasında çözücü olarak PBS kullanılmıştır.

### **Toplam Canlı ve Maya-Küf Sayımları**

Kontrol grubu (nano/mikroemülsiyon eklenmemiş portakal suyu) ve nano/mikroemülsiyon eklenmiş portakal sularından aseptik koşullarda 1 mL örnek 9 mL serum fizyolojik (%0,85'lik NaCl çözeltisi) içerisine alınarak seri dilüsyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan TCAMB ve maya-küf sayımları için selektif besiyerlerine (sırasıyla PCA, DRBC - Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) 0,1 mL aktararak ekimleri yayma plak yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Uygulama Modeli 1 ve 2 için aynı işlem basamakları uygulanmıştır (Tran ve Farid, 2004; Hammad ve ark., 2013).

### **Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi**

Hazırlanan nano/mikroemülsiyonların portakal suyu ortamındaki antibakteriyel etkisinin belirlenmesi amacıyla taze sıkılmış portakal suyu steril şişelere aktarılarak defne esansiyel yağı içeren nano/mikroemülsiyonlar (amilopektin ve arap zamkı ile hazırlanmış) bu portakal sularına ayrı ayrı eklenmiştir (%0,5 oranında, v/v).

Öncelikle *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 standart suşları, ön canlandırma için Nutrient Broth besiyerinde 18-24 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda bakteri kültürleri serum fizyolojik içerisnde (%0,85'lik NaCl çözeltisi) 0,5 McFarland standart bulanıklığa ayarlanmıştır.

*E. coli* için; %0,5 oranında (v/v) nano/mikroemülsiyon eklenmiş portakal suyuna, 0,5 McFarland standart bulanıklığına ayarlanan bakteri süspansiyonu (1:10 oranında) inoküle edilmiştir. Bu şekilde elde edilen portakal suyu test örnekleri oda sıcaklığında ve buzdolabı koşullarında 0, 5, 10, 15, 30 ve 60 dakikalık sürelerle inkübe edilmiştir. Örneklerden 1 mL alınarak 9 mL'lik serum fizyolojik içerisine eklenerek seri dilüsyonlar hazırlanmış ve selektif besiyerine (Violet Red Bile Agar) hazırlanan dilüsyonlardan dökme plak yöntemine göre (çift kat) ekimleri gerçekleştirilmiştir. Ekimleri gerçekleştirilen örnekler 37°C'de 24 saat inkübe edilerek portakal sularında canlı kalan bakteri sayıları belirlenmiştir (Ghosh ve ark., 2014).

*S. aureus* için; %0,5 oranında (v/v) nano/mikroemülsiyon eklenmiş portakal suyuna, 0,5 McFarland standart bulanıklığına ayarlanan bakteri süspansiyonu (1:10 oranında) inoküle edilmiştir. Bu şekilde elde edilen portakal suyu test örnekleri oda sıcaklığında ve buzdolabı koşullarında 0, 5, 10, 15, 30 ve 60 dakikalık sürelerle inkübe edilmiştir. Örneklerden 1 mL alınarak 9 mL'lik serum fizyolojik içerisine eklenerek seri dilüsyonlar hazırlanmış ve selektif besiyerine (Baird Parker Agar) hazırlanan dilüsyonlardan yayma plak yöntemine göre ekimleri gerçekleştirilmiştir. Ekimleri gerçekleştirilen örnekler 37°C'de 24 saat inkübe edilerek portakal sularında canlı kalan bakteri sayıları belirlenmiştir (Ghosh ve ark., 2014).

Kontrol çalışması olarak ise nano/mikroemülsiyon uygulanmamış portakal suyuna inoküle edilen bakteri referans suşları aynı koşullarda inkübe edilerek eş zamanlı sayımları alınmıştır.

### **Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile Uçucu Bileşenlerin Belirlenmesi**

Uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktar belirlenmesi için Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) (GC 6890, MS 6890N, Agilent Technologies, Wilmington, DE, ABD) kullanılmıştır. Uçucu bileşenlerin izolasyonu amacıyla katı faz mikroekstraksiyon tekniği (SPME) uygulanmıştır (Won ve ark., 2009). Ayrımı sağlamak amacıyla polar olmayan özellikteki DB-5MS (60 m x 0,250 mm id x 0,25 µm film kalınlığı) kolon kullanılmıştır (J&W Scientific, Folsom, CA, ABD).

Örnekten, 40 mL'lik SPME vialine (Supelco, Bellafonte, ABD) 3 mL alınarak, üzerine 10 µL iç standart (10 mL Metanol üzerine 20 µL alpha thujone) ve 1 g NaCl eklenmiş ve vorteks (Grant bio, Hillsborough, İngiltere) yardımıyla karıştırılmıştır. Karışım 40°C'lik su banyosunda 10 dakika bekletilmiştir. Bu süre sonunda SPME fiberi (2 cm-50/30 µm DVB/Carboxen/PDMS stable flex, Bellafonte, ABD) vialin tepe boşluğuna batırılarak 40°C'de 10 dakika süreyle uçucu bileşenlerin fiber üzerine toplanması sağlandıktan sonra GC-MS'e enjekte edilmiştir. Portakal suyu örneklerine uygulanan uçucu bileşen analizlerindeki GC-MS koşulları Bölüm 3.2.4'de belirtilen koşullarla aynıdır. Uçucu bileşenlerin tanımlanmasında National Institute of Standards and Technology (NIST, 2008) ve Wiley Registry of Mass Spectral Data (Wiley, 2005) kütüphanelerinden yararlanılmıştır. Miktar belirleme 3.5 numaralı formüle göre yapılmıştır.

## Duyusal Analizler

Nano/mikroemülsiyon eklenmiş portakal sularında, varsa örnekler arasındaki farkı ortaya koyabilmek ve lezzet profillerini karşılaştırabilmek amacıyla eğitimli panelistler tarafından gerçekleştirilen tanımlayıcı duyu analizi tekniği (Spektrum™) ve ürünlerin tüketiciler tarafından beğenisini ortaya koyabilmek amacıyla tüketici testi uygulaması (Meilgaard ve ark., 1999) gerçekleştirilmiştir. Her iki duyu analizi de oda sıcaklığında (22-25°C) gerçekleştirilmiş olup, ürünler panelistlere 40 mL hacimli şeffaf sos kaplarında sunulmuştur. Panelistlerin tadım esnasında ağızlarını nötrlemeleri için su ve tuzsuz kraker verilmiştir. Kontrol grubu olarak emülsiyon ilave edilmemiş portakal suları kullanılmıştır.

Tanımlayıcı duyu analizi tekniğinde (Spektrum™); tanımlayıcı terimler panel liderinin başkanlığında oluşturulan oturumlarla karşılıklı tartışma ve değerlendirmelerle belirlenmiştir. Bu amaçla 2 farklı tanımlayıcı duyu analizi gerçekleştirilmiştir.

1. Defne esansiyel yağı ile elde edilmiş nano/mikroemülsiyonlar ve sadece stabilizör kullanılarak elde edilen düzensiz emülsiyonlar (defne esansiyel yağı eklenmemiş) taze sıkılmış portakal sularına eklenerek kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Örnek grupları ve kontrol grubunun karakteristik duyu özellikleri “Lezzet Profil Analizi (LPA)” kullanılarak 6 kişiden oluşan (20-50 yaş aralığında 2 erkek, 4 kadın) eğitimli panelist grubu tarafından 10 puanlık skala kullanarak değerlendirilmiştir.

2. Defne esansiyel yağı ile elde edilmiş nano/mikroemülsiyonlar taze sıkılmış portakal sularına eklenerek 1 aylık depolama boyunca haftalık periyotlarda örnek grupları ve kontrol grubunun karakteristik duyu özellikleri “Lezzet Profil Analizi (LPA)” kullanılarak 6 kişiden oluşan (20-50 yaş aralığında 2 erkek, 4 kadın) eğitimli panelist grubu tarafından 10 puanlık skala kullanarak değerlendirilmiştir. Duyusal değerlendirme formu Ek 7’de, duyu değerlendirme paneline ait görüntüler ise Ek 8’de verilmiştir. Duyusal değerlendirmede belirlenen tanımlayıcı duyu terimlerinin standartları ve 10 puanlık skaladaki karşılıkları Tablo 1’de verilmiştir (Meilgaard ve ark., 1999).



Tablo 1

Tanımlayıcı duyuşsal terimlerin standartları ve skala karşılıkları

Terim	Özellik	Skalada karşılığı
Tatlı	Sakkaroz çözeltilisi (%2,00)	2,00
Ekşi	Sitrik asit çözeltilisi (%0,08)	5,00
Acı	Kafein çözeltilisi (%0,05)	2,00
Bite (Isırıcı)	CO <sub>2</sub> içeren içecekler	10,00
Çiçeksi	Gül	10,00
Reçine	Çam	10,00
Sitrus	Portakal, limon	10,00
Mentol	Viks	10,00
Burukluk	Alum solüsyonu (%0,50)	4,50
Olgun Meyve	Olgunlaşmış sitrus meyveler	10,00
Alkol/Maya	Etil alkol (saf)	10,00
Aftertaste*	Parfüm, deterjan	10,00

\*Kalıcı ağız hissi

Tüketici testinde; ürünlerin tüketiciler tarafından beğenisini ortaya koyabilmek amacıyla yaklaşık 20-55 yaş aralığındaki 69 kişiye (Kadın: 38, erkek: 31) tüketici testi uygulanmıştır (Meilgaard ve ark., 1999). 9 Puanlı hedonik skala kullanılarak (1: hiç beğenmedim, 9: çok fazla beğendim) yapılan ürün değerlendirmelerinde portakal sularının tüketiciler tarafından beğeni düzeylerini (görünüş, kıvam ve tat-koku) belirtmeleri ve beğeni durumlarına göre sıralamaları istenmiştir (1: çok beğendim, 3: beğenmedim). Kullanılan tüketici testi formu Ek 9'da, tüketici testi uygulamasına ait görüntüler ise Ek 10'da yer almaktadır.

### 3.2.6. İstatistiksel Analizler

Çalışmada esansiyel yağ ve emülsiyonların uçucu bileşenleri ile emülsiyon ilave edilmiş portakal sularının tüketici testinin değerlendirmesinde faktöriyel düzende varyans analizi tekniğinden, emülsiyon ilave edilmiş portakal sularının duyuşsal, fiziksel, antioksidan ve toplam fenol özelliklerinin değerlendirilmesinde tekrarlanan ölçümlü deneme düzeninde varyans analizi tekniğinden yararlanılmıştır. Varyans analizinin şartlarını yerine getirmeyen veriler (varyansların homojenliği ve normal dağılım) için WELCH testi kullanılmıştır. Verilerin ortalamaları arasında istatistiksel olarak önemli farkların ortaya konması amacıyla TUKEY çoklu karşılaştırma (TUKEY-HDS) testi kullanılmıştır. Tüketicilere ait sıralama testi sonuçlarının değerlendirilmesinde ise nonparametrik test tekniği (Friedman Testi) kullanılmıştır (Sheskin, 2004). İstatistiksel analizler için SPSS for Windows (version 25.0) (SPSS, 2017), Statistica 12.5 (2014) ve Minitab 18 (Minitab, 2017) istatistik paket programları kullanılmıştır. Nano/mikroemülsiyonların miktar ve işlem sürelerinin optimize

edilmesi amacıyla Design Expert istatistiksel paket programında (version 7.0.0, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN) yanıt yüzey yöntemlerinden biri olan merkezi tümleşik tasarım (CCD) kurgulanmıştır.



## BÖLÜM 4

### ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Kuru defne yapraklarından Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı ile defne esansiyel yağı üretilmiş ve bu yağlar kullanılarak iki farklı stabilizör ile nano/mikroemülsiyonlar hazırlanmıştır. Nano/mikroemülsiyonlar +4°C ve +25°C’de iki ay depolanarak haftalık periyotlarda DLS ölçümleri gerçekleştirilerek nano/mikroemülsiyon yapılarının stabilitesi kontrol edilmiştir. Emülsiyonlarda ve bu emülsiyonların portakal suyu ortamındaki antioksidan aktiviteleri, antimikrobiyal aktiviteleri, toplam fenol miktarları ve aroma profilleri incelenmiştir. Emülsiyonların portakal suyu ortamındaki tanımlayıcı duyu analizleri ve tüketici testleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen analiz verileri değerlendirilerek yapılan benzer çalışmalarla kıyaslanmış ve sonuçlar yorumlanmıştır.

#### 4.1. Kuru Defne Yapraklarına Uygulanan Analiz Sonuçları

##### 4.1.1. Nem ve Kül Analiz Sonuçları

Öğütülmüş (6000 rpm’de 30 saniye) kuru defne yapraklarının nem yüzdeleri Toluen Yöntemi (Anonim, 1987) ile belirlenmiştir. Ayrıca bu sonuçları desteklemek amacıyla Infrared Isıtıcılı Nem Tayin Cihazı ve etüvde kurutma yöntemi (Cemeroğlu, 2007) ile de nem yüzdeleri gravimetrik olarak belirlenmiştir. Kuru defne yapraklarının üç yöntemle göre nem yüzdeleri Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2

Kuru defne yaprağının üç farklı yöntemle göre nem içeriği

	Yöntem		
	Toluen	Infrared	Etüv
Nem (%)	7,50	7,99	7,48
	8,00	8,04	4,47
	6,97	7,00	8,20
Ortalama	7,49 ± 0,30 <sup>a</sup>	7,68 ± 0,34 <sup>a</sup>	7,72 ± 0,24 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: Aynı satırda farklı haflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Kuru defne yaprağının nem yüzdesini belirlemede uygulanan üç farklı yöntemle göre sonuçlar arasında istatistiksel olarak farklılık gözlemlenmemiştir. Öğütülmüş kuru defne yapraklarında kül tayini gravimetrik olarak belirlenmiştir (Cemeroğlu, 2007). Yapılan analiz sonucunda kuru defne yaprağı kül yüzdesi  $4,34 \pm 0,08$  olarak belirlenmiştir. Kuru defne yapraklarının, Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği’ne (Anonim, 2013) göre nem içeriği en

çok %8, toplam kül miktarı en çok %7 (w/w) olarak belirtilmiştir. Kuru defne yapraklarının, nem içeriği ve kül miktarının Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği'ne (Anonim, 2013) uygun olduğu saptanmıştır.

#### 4.2. Esansiyel Yağ Üretimi

Esansiyel yağ üretiminde *Laurus nobilis* türü defnenin kuru yaprakları kullanılmış ve üretim Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Uygulanan yöntemde herhangi bir solvent kullanılmamış ve bu şekilde gıda kullanımına uygun (food grade) esansiyel yağlar elde edilmiştir. Ayrıca Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı ekstraksiyonu geleneksel yöntemlere göre süre, verim ve nitelikli esansiyel yağ üretimi açısından avantaj sağlamaktadır (Chemat ve ark., 2006; Bayramoğlu ve ark., 2008; Golmakani ve Rezaei, 2008; Kılıç, 2008; Bousbia ve ark., 2009; Wang ve ark., 2010; Farhat ve ark., 2011; Sormaghi ve ark., 2015). Su distilasyonu işlemi genel olarak 2-8 saat aralığında sürmektedir (Kılıç, 2008).

Yüksek verimde esansiyel yağ üretimi gerçekleştirmek amacıyla kuru defne yapraklarına belirli ön işlemler (öğütme, ekstraksiyonu kolaylaştırmak amacıyla suda bekletme) uygulanmıştır. Ayrıca örnek miktarı, cihaz parametreleri (ekstraksiyon gücü, süre) gibi optimizasyonlar da gerçekleştirilmiştir. Yapılan ön işlemler ve optimizasyonlar Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3  
Esansiyel yağ üretiminde uygulanan ön işlemler ve cihaz parametreleri

Deneme No	Materyal Miktarı (g)	Ön İşlem	Cihaz Parametreleri	Sonuç
1	100	- 3000 rpm/10 saniye - 1000 mL su ilavesi - 1 saat suda bekletme	1000 W 60 dakika	1,9 mL esansiyel yağ (verim %1,9)
2	100	- 6000 rpm/30 saniye - 1000 mL su ilavesi - 1 saat suda bekletme	750 W 120 dakika	2,1 mL esansiyel yağ (verim %2,1)
3	250	- 6000 rpm/30 saniye - 2500 mL su ilavesi - 1 saat suda bekletme	750 W 120 dakika	6 mL esansiyel yağ (verim %2,4)

Uygulanan ön işlemler ve cihaz parametrelerinin optimizasyonu sonucunda en yüksek verimin 3 numaralı deneme modelinde olduğu belirlenmiştir. Çalışma boyunca üretilen esansiyel yağlarda 3 numaralı deneme modelinde verilen ön işlemler ve cihaz parametreleri kullanılmıştır. Esansiyel yağ üretiminde istenilen verime ulaşılması yaklaşık bir buçuk saatte gerçekleşmektedir. Toplam sürenin 120 dakika olmasının nedeni; cihazın istenilen güce ulaşma süresinin ve kapalı sistemde işlem gerçekleştirilmesi nedeniyle kapak açma süresinin (güvenli sıcaklık aralığına ulaşma süresi) tamamını kapsamasıdır.

Kılıç (2008) mikrodalga ekstraksiyonunun su distilasyonuna göre çok daha kısa sürede gerçekleştiğini (su distilasyonu: 180 dakika, mikrodalga ekstraksiyonu: 45 dakika), klasik distilasyon ve ekstraksiyon yöntemleri ile daha fazla esansiyel yağ elde edilmesine karşılık nitelik olarak çok iyi sonuç alınmadığını (yüksek sıcaklık kaynaklı gerçekleşen termal reaksiyonların oluşması ve bitkinin doğal kimyasal yapısından uzaklaşması), mikrodalga ekstraksiyonu ile nitelik olarak daha tatmin edici sonuçlar elde edildiğini belirtmiştir. Ayrıca modern yöntemlerin (mikrodalga ekstraksiyonu gibi) daha kısa sürede sonuç vermesi, daha az çözücü kullanımıyla çevre sağlığına katkı sağlaması ve nitelikli sonuçlar alınması gibi olanaklar sağladığını belirtmiştir.

Özcan ve Chalchat (2005) Türkiye'nin farklı bölgelerinde yetiştirilen defne bitkisi (*Laurus nobilis* L.) üzerine yaptıkları çalışmada su distilasyonu ile elde ettikleri esansiyel yağların verimlerini %2,0 (Hatay), %1,8 (Büyükceci-Gülнар/Mersin), %2,6 (Bursa), %1,4 (Sinop), %2,0 (Alanya/Antalya), %1,7 (Muğla) ve %1,5 (Anamur/Mersin) olarak belirtmişlerdir. Bu değerlerin Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı ile elde edilen verim ile (%2,4) yakın olduğu bulunmuştur.

*Laurus nobilis* L. cinsi kuru defne yapraklarında yapılan başka bir çalışmada ise Derwich ve ark. (2009) su distilasyonu ile elde edilen esansiyel yağ veriminin %1,86 olduğu saptamıştır. Karık ve ark. (2015) yapmış oldukları çalışmada su distilasyonu (distilasyon süresi: 4 saat) ile farklı bölgelerdeki defne bitkisinin esansiyel yağ verimlerini incelemişlerdir. 2013 yılının kasım ayı içerisinde topladıkları defne yapraklarında, Hatay ilinde Samandağ, Yayladağı ve Antakya bölgelerindeki defne esansiyel yağı verimlerini sırasıyla %1,5, %1,6 ve %1,5 olarak belirlemişlerdir. Su distilasyonu ile 240 dakikalık bir işlemle Samandağ bölgesinden temin edilen defne bitkisinin esansiyel yağ verimi %1,5 iken Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı ile daha kısa sürede (120 dakika) ve daha yüksek verimde (%2,4) esansiyel yağ elde edilmiştir. Esansiyel yağ verimine, bitki materyalinin temin edildiği bölge, bitki materyaline uygulanan ön işlemler, esansiyel yağ üretiminde kullanılan yöntemler vb. gibi parametrelerin etki edebileceği düşünülmektedir.

### 4.3. Defne Esansiyel Yağı ile Nano/Mikroemülsiyon Hazırlanması ve Optimizasyon Sonuçları

Nano/mikroemülsiyon formülasyonları ön denemelerinde, stabilizör olarak Tween80 kullanılarak hazırlanan emülsiyonlara ait DLS ölçüm sonuçları Tablo 4’te verilmiştir.

Tablo 4

Tween80 ile hazırlanan emülsiyonların parçacık boyutları	
Ultrasonik banyo süresi (dk)	Parçacık boyutu (nm)
0	370 ± 30
30	292 ± 12
45	132 ± 7
60	66 ± 2

Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Stabilizör olarak Tween80 kullanıldığında, 60 dakikalık ultrasonik banyo işlemi sonucunda düşük parçacık boyutuna sahip emülsiyon elde edilmiştir. Ancak çalışmada, hazırlanan emülsiyonlarda gıda uygulaması gerçekleştirildiğinden, emülsiyonların gıdalarda kullanıma uygun (food grade) olması amaçlanmıştır. Mevcut Tween80 stabilizörünün gıda tipi olmamasından kaynaklı emülsiyon formülasyonlarında tercih edilmemiştir.

Defne esansiyel yağı ile nano/mikroemülsiyon hazırlanırken polisakkarit ve protein yapıda 8 farklı stabilizör kullanılmıştır. Öncelikle, belirlenen sekiz stabilizör kullanılarak defne esansiyel yağı ile emülsiyonlar hazırlanmıştır. Emülsiyonlar hazırlanırken, ön denemeler sonucunda belirlendiği şekilde, 100 mL saf su içerisine 0,21 g stabilizör ve 1,50 mL esansiyel yağ eklenerek düzensiz emülsiyonlar oluşturulmuştur. Emülsiyonu kararlı hale getirmek için 5 dakika ultrahomojenizatör (18000 rpm) ve 5 dakika ultrasonik banyo (frekans: 50 Hz) işlemleri uygulanmıştır.

Hazırlanan emülsiyonların parçacık boyutlarını belirlemek amacıyla DLS ölçümleri gerçekleştirilmiştir. DLS ölçüm sonuçlarına göre parçacık boyutu düşük olan iki stabilizör seçilerek araştırmada kullanılan nano/mikroemülsiyonlar bu stabilizörlerle hazırlanmıştır. Sekiz farklı stabilizör ile hazırlanan emülsiyonların DLS sonuçları Tablo 5’te verilmiştir.

Tablo 5

Farklı stabilizörlerle hazırlanmış emülsiyonların parçacık boyutları

Stabilizör	Parçacık boyutu (nm)
Amilopektin	310 ± 110
Pektin	1487 ± 574
Karboksimetil selüloz	1804 ± 650
Agar	917 ± 320
Ksantan gam	14095 ± 10393
Arap zamkı	378 ± 76
Jelatin	279 ± 37
Karragenan	7762 ± 2359

Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Elde edilen verilere göre en iyi sonucu veren stabilizörler “amilopektin, arap zamkı ve jelatin” olmuştur. Çalışmanın devamında portakal suyu denemesi yapıldığından hayvansal kaynaklı jelatinin, tüketiciler tarafından tercih edilmeyebileceği düşünülerek emülsiyon hazırlamada amilopektin ve arap zamkının kullanılması uygun bulunmuştur.

Defne esansiyel yağı ile hazırlanan nano/mikroemülsiyonların stabilitesini sağlamak amacıyla kullanılacak esansiyel yağ ve stabilizör miktarları, Design Expert İstatistiksel paket programı (Version 7.0.0, Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN) kullanılarak yanıt yüzey yöntemine dayalı deneme deseni ile belirlenmiştir. Deneme deseni Şekil 8’de verilmiştir.

Std	Run	Block	Factor 1 A:Stabilizer	Factor 2 B:E.O.	Response 1 R1 DLS
4	1	Block 1	0.30	1.50	436
12	2	Block 1	0.18	1.00	796
8	3	Block 1	0.18	1.71	951
7	4	Block 1	0.18	0.29	1507
13	5	Block 1	0.18	1.00	951
9	6	Block 1	0.18	1.00	897
11	7	Block 1	0.18	1.00	832
2	8	Block 1	0.30	0.50	1150
10	9	Block 1	0.18	1.00	1039
1	10	Block 1	0.06	0.50	1374
6	11	Block 1	0.35	1.00	1220
5	12	Block 1	0.01	1.00	1006
3	13	Block 1	0.06	1.50	1660

Şekil 8. Defne esansiyel yağı ve amilopektin için miktar optimizasyonu deneme deseni

Faktör 1 stabilizör miktarını, faktör 2 ise esansiyel yağ miktarını göstermektedir (Şekil 8). Defne esansiyel yağı ve amilopektin ile hazırlanan nano/mikroemülsiyon deneme deseni sonucunda belirlenen en düşük DLS değerlerine (436 nm) göre; 100 mL saf su içerisinde 0,30 g stabilizör ve 1,50 mL esansiyel yağ kullanılmasına karar verilmiştir (Şekil 8).

Defne esansiyel yağı kullanılarak nano/mikroemülsiyonları hazırlanmada uygulanan ultrahomojenizasyon ve ultrasonik banyo uygulamalarının sürelerini optimize etmek amacıyla yine Design Expert İstatistiksel paket programı ile yanıt yüzey yöntemi kullanılarak bir deneme deseni oluşturulmuştur. Deneme deseni Tablo 6’da verilmiştir. Tablo 6’da yer alan merkezi tümleşik deneme deseni modeline göre ultrahomojenizasyon ve ultrasonik banyo sürelerinin, parçacık boyutlarını istatistiksel olarak etkilemediği görülmüş ve yanıt yüzey yöntemine göre istatistiksel olarak sürenin önemsiz olduğu saptanmıştır. Emülsiyon hazırlanırken 5 dakika ultrahomojenizasyon ve 5 dakika ultrasonik banyo işlemlerinin gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

Tablo 6  
Ultrahomojenizasyon ve ultrasonik banyo süre kombinasyonları

Örnek	Ultrahomojenizatör (dk)	Ultrasonik banyo (dk)	Parçacık boyutu (nm)*
DAP01	15,00	0,86	226 ± 61
DAP02	15,00	15,00	186 ± 30
DAP03	15,00	15,00	175 ± 37
DAP04	5,00	5,00	280 ± 75
DAP05	25,00	25,00	271 ± 46
DAP06	15,00	15,00	242 ± 81
DAP07	15,00	15,00	411 ± 146
DAP08	5,00	25,00	170 ± 46
DAP09	15,00	29,14	253 ± 90
DAP10	25,00	5,00	311 ± 134
DAP11	15,00	15,00	208 ± 60
DAP12	0,86	15,00	204 ± 34
DAP13	29,14	15,00	319 ± 77

DAP: Defne esansiyel yağı ve amilopektin stabilizörü ile hazırlanan emülsiyonlar. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Miktar ve süre için uygulanan deneme desenleri amilopektin stabilizörü için uygulanmış ve arap zamkı stabilizörü için de uygunluğu DLS ölçümleri (Tablo 7) ile doğrulanarak aynı parametrelerin kullanılmasına karar verilmiştir.



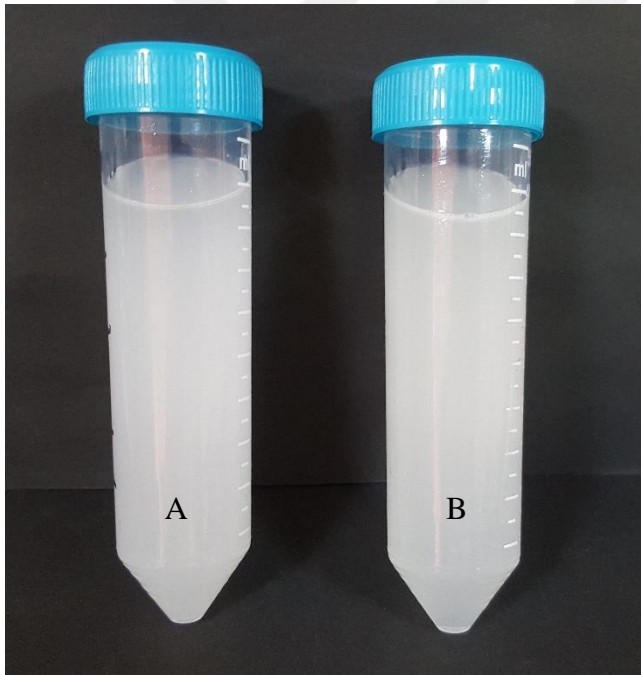
Tablo 7

Arap zankı emülsiyonu parçacık boyutu

Örnek	Parçacık boyutu (nm)
DAZ	436 ± 32
DAZ	618 ± 19

DAZ: Defne esansiyel yağı ve arap zankı stabilizörü ile hazırlanan emülsiyonlar. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

İlyasoğlu ve El (2010) emülsiyonların nanoemülsiyon özelliği gösterebilmeleri için içerdikleri damlacık boyutlarının 20-200 nm olması gerektiğini belirtmişlerdir. Mason ve ark. (2006) ise mikroemülsiyonların, görünür ışığın güçlü bir şekilde çoklu saçılımına neden olduklarından beyaz görünüme sahip olduklarını, nanoemülsiyonların ise yapılarının görünür dalga boyundan daha küçük olması nedeniyle transparan görünüme sahip olduklarını belirtmişlerdir. Optimizasyon sonuçlarına göre formüle edilen amilopektin ve arap zankı ile hazırlanmış emülsiyonların görüntüsü Şekil 9’da verilmiştir.



Şekil 9. Amilopektin ve arap zankı ile hazırlanan mikroemülsiyonlar

A: Amilopektin ile hazırlanmış emülsiyon, B: Arap zankı ile hazırlanmış emülsiyon.

Özoğul ve ark. (2017) biberiye, defne, adaçayı ve kekik yağları üzerine yapmış oldukları çalışmada bitki materyallerinden elde ettikleri esansiyel yağlarla nanoemülsiyon formülasyonu hazırlamışlardır. %4 esansiyel yağ, %3 etil alkol ve %3 sürfaktan (Tween80) karışımını (emülsiyon hacmi 1000 mL) bir saat 86°C’de bekletmişlerdir (bu aşamada etil alkolün %99’unun buharlaştığını varsaymışlardır). Bir saatin sonunda karışımı, 15 dakika süreyle ultrasonik homojenleştirici (Güç: 500W, Frekans: 20 KHz) ile homojenleştirme işlemi gerçekleştirmişlerdir. Lazer kırınımına dayalı Mastersizer 2000 ile damlacıkların ortalama boyutlarını ölçmüşler ve defne yağı emülsiyonunun 66,02 nm olduğunu belirtmişlerdir. Tween80 stabilizörlüğünde 60 dakikalık ultrasonik banyo işlemi sonucunda elde edilen emülsiyonun partikül boyutu (66 nm) ile kıyaslandığında aynı değerin elde edildiği görülmektedir. Ancak amilopektin ve arap zankı ile hazırlanan emülsiyonların partikül boyutlarının daha büyük olduğu görülmektedir.

Nano/mikroemülsiyonların hazırlanmasında gerçekleştirilen ön denemelerde, amilopektin ve arap zankı ile hazırlanan emülsiyonlara ait DLS sonuçları incelendiğinde, emülsiyonların ortalama parçacık boyutunun 200 nm’den büyük olduğu görülmektedir (Tablo 5). Bu nedenle çalışmada hazırlanan emülsiyonların “mikroemülsiyon” özelliği taşıdığı görülmektedir.

#### **4.4. Defne Esansiyel Yağına ve Emülsiyonlara Uygulanan Analiz Sonuçları**

Hazırlanan mikroemülsiyonların kararlılığı üzerine sıcaklığın ve sürenin etkisini incelemek amacıyla emülsiyonlar +4°C ve +25°C’de 2 ay boyunca depolanmış ve haftalık periyotlarda damlacık boyutlarının belirlenmesi için DLS ölçümleri, optik özelliklerinin belirlenmesi için spektrofotometre ile bulanıklık tayini, viskozite değişimlerini incelemek için viskozite ölçümleri ve renk/beyazlık indeksleri değişimlerini incelemek için kolorimetre ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

#### 4.4.1. Parçacık Boyutu Ölçüm Sonuçları

Amilopektin ve arap zankı ile hazırlanan emülsiyonların iki aylık depolama boyunca, haftalık periyotlarda belirlenen DLS ölçüm sonuçları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8

Amilopektin ve arap zankı emülsiyonları parçacık boyutları

Sıcaklık	Hafta	Amilopektin Parçacık boyutu (nm)	Arap Zankı Parçacık boyutu (nm)
+4°C	1	347 ± 42	567 ± 99
	2	1506 ± 235	1550 ± 269
	3	1626 ± 196	1413 ± 264
	4	1929 ± 334	1679 ± 263
	5	1850 ± 272	1650 ± 250
	6	1501 ± 141	1311 ± 123
	7	1427 ± 176	877 ± 77
	8	1045 ± 219	809 ± 72
+25°C	1	328 ± 41	421 ± 61
	2	1493 ± 183	567 ± 58
	3	669 ± 79	871 ± 143
	4	743 ± 137	666 ± 94
	5	849 ± 107	612 ± 59
	6	955 ± 282	526 ± 85
	7	774 ± 153	624 ± 85
	8	717 ± 106	647 ± 98

Veriler “ortalama ± standart” hata olarak verilmiştir.

Emülsiyonlar elde edilirken kullanılan stabilizörler, damlacıkları kaplayarak damlacıklar arasında bir su filmi oluşturur ve aynı yüke sahip olan parçacıklar birbirini iterek damlacıkların birleşmesini önlemektedir (İlyasoğlu ve El, 2010). Emülsiyonlarda yapılan DLS analiz sonuçlarına göre (Tablo 8) +25°C’de depolanan emülsiyonların +4°C’de depolanan emülsiyonlara göre daha küçük parçacık boyutuna sahip olduğu görülmüştür. +25°C’de depolanan arap zankı ile hazırlanan emülsiyonun ise +4°C’de depolanan arap zankı ve +25°C ve +4°C’de depolanan amilopektin örneklerine göre daha iyi sonuç verdiği, haftalık ölçüm sonuçlarına göre verilerinin birbiri ile daha uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Emülsiyonun ortalama parçacık boyutu başlangıçta 421 nm iken, iki aylık depolama sonunda 647 nm olduğu tespit edilmiştir. +4°C’de depolanan emülsiyonların stabiliteilerinin bozulmasının nedeninin, stabilizörlerin düşük sıcaklıkta çözünürlüklerini kaybetmelerinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Özoğul ve ark. (2017) defne esansiyel yağı ile elde ettikleri nanoemülsiyonların stabiliteilerinin iki hafta olduğunu, emülsiyonları +25°C’de depolayarak ve faz ayrımı olup olmadığını kontrol ederek belirlemişlerdir.

#### 4.4.2. Bulanıklık ve Viskozite Ölçüm Sonuçları

Amilopektin ve arap zamkı ile hazırlanan emülsiyonların iki aylık depolama boyunca, haftalık periyotlarda belirlenen bulanıklık ve viskozite sonuçları Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9  
Amilopektin ve arap zamkı emülsiyonları bulanıklık ve viskozite ölçüm sonuçları

Sıcaklık	Hafta	Amilopektin		Arap Zankı	
		Bulanıklık (Abs)	Viskozite (cP)	Bulanıklık (Abs)	Viskozite (cP)
+4°C	1	2,68 ± 0,01	1,32 ± 0,00	2,68 ± 0,01	1,38 ± 0,01
	2	2,39 ± 0,05	1,38 ± 0,00	2,39 ± 0,05	1,36 ± 0,01
	3	2,02 ± 0,03	1,36 ± 0,00	2,02 ± 0,03	1,35 ± 0,00
	4	1,67 ± 0,02	1,34 ± 0,01	1,67 ± 0,02	1,34 ± 0,00
	5	1,80 ± 0,11	1,35 ± 0,02	1,80 ± 0,11	1,34 ± 0,00
	6	0,83 ± 0,12	1,26 ± 0,01	1,50 ± 0,09	1,28 ± 0,00
	7	1,37 ± 0,12	1,33 ± 0,01	1,37 ± 0,04	1,30 ± 0,00
	8	1,07 ± 0,15	1,34 ± 0,01	1,31 ± 0,04	1,30 ± 0,00
+25°C	1	2,65 ± 0,01	1,36 ± 0,02	2,65 ± 0,01	1,34 ± 0,00
	2	2,46 ± 0,03	1,34 ± 0,00	2,46 ± 0,03	1,35 ± 0,01
	3	2,32 ± 0,02	1,34 ± 0,00	2,32 ± 0,02	1,33 ± 0,01
	4	2,19 ± 0,02	1,35 ± 0,01	2,19 ± 0,02	1,31 ± 0,00
	5	2,16 ± 0,02	1,38 ± 0,01	2,16 ± 0,02	1,33 ± 0,01
	6	1,36 ± 0,01	1,27 ± 0,00	2,23 ± 0,07	1,35 ± 0,02
	7	2,35 ± 0,01	1,46 ± 0,01	2,35 ± 0,01	1,38 ± 0,04
	8	2,24 ± 0,00	1,34 ± 0,02	2,34 ± 0,00	1,31 ± 0,00

Veriler “ortalama ± standart” hata olarak verilmiştir. Abs: Absorbans, cP: centiPoise.

Tablo 9’da yer alan veriler değerlendirildiğinde, depolama örneklerinin viskozitelerinde süreye bağlı olarak büyük bir değişkenlik görülmemiştir.

Emülsiyonlarda, iki aylık depolama süreci boyunca bulanıklık değerlerinin, haftalık periyotlarda yapılan ölçümlere göre (Tablo 9) azaldığı saptanmıştır. Her iki stabilizör (amilopektin ve arap zamkı) ve her iki sıcaklık değeri (+4°C ve +25°C) için de bulanıklık değerlerinde azalma görülmektedir. Ancak +4°C’de depolanan örneklerde +25°C’de depolanan örneklerle oranla berraklaşmanın daha belirgin olduğu görülmektedir. Mason ve ark. (2006) mikroemülsiyonların beyaz görünüme sahip olduklarını belirtmişlerdir. Tablo 8’de verilen DLS ölçüm sonuçları değerlendirildiğinde +4°C’de depolanan emülsiyon örneklerinin stabilitelerini ve emülsiyon formlarını kaybettiği görülmektedir. +4°C’de depolanan emülsiyon örneklerinin bulanıklık değerlerinde azalma olmasının nedeni, emülsiyon formunun kaybolması ile açıklanabilir.

De Campo ve ark. (2017) keten tohumu ile hazırlanan emülsiyon örneklerinde 28 gün depolama yaparak çeşitli analizler gerçekleştirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada organik fazdaki yüksek miktarda yağın, çözeltide yüksek partikül büyüklüğüne ve viskozite artışına yol açacağı ifade edilmiştir.

Yuliani (2018) yapmış olduğu çalışmada, tarçın yağı kullanarak Tween80 ile nanoemülsiyon oluşturmuş ve 20, 30, 40°C sıcaklıklarda 8 hafta süreyle depolama gerçekleştirmiştir. Farklı oranda (%5 ve %10) tarçın yağı ilavesi yapılan örneklerde, yağ oranının fazla olması nedeniyle emülsiyon stabilitesinin olumsuz etkilendiği ve viskozite değerlerinin haftalara bağlı olarak değişim gösterdiği belirtilmiştir. Bu durumun emülsiyon içerisindeki yağ damlacıklarının topaklanma mekanizmasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir.

#### 4.4.3. Renk Ölçüm Sonuçları

Amilopektin ve arap zamkı ile hazırlanan emülsiyonların iki aylık depolama süreci boyunca haftalık periyotlarda renk ölçümleri gerçekleştirilmiş ve örneklerle ilişkin  $L$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  değerleri belirlenmiştir. İki aylık depolama boyunca, haftalık periyotlarda belirlenen renk ölçüm sonuçları Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10  
Amilopektin ve arap zamkı emülsiyonları renk ölçüm sonuçları

Sıcaklık	Hafta	Amilopektin			Arap Zamkı		
		$L$	$a^*$	$b^*$	$L$	$a^*$	$b^*$
+4°C	1	46,63±0,49	-0,42±0,02	-1,67±0,11	43,34±1,10	-0,47±0,04	-1,88±0,07
	2	28,18±0,55	-0,20±0,02	-0,69±0,03	34,26±0,13	-0,33±0,10	-1,49±0,22
	3	25,69±0,48	-0,15±0,02	-0,63±0,06	30,24±0,06	-0,18±0,05	-0,70±0,11
	4	24,56±0,39	-0,13±0,02	-0,50±0,01	27,37±0,18	-0,06±0,02	-0,38±0,15
	5	27,42±0,81	-0,26±0,03	-0,83±0,04	27,57±0,99	-0,02±0,04	-0,31±0,12
	6	26,51±0,44	-0,04±0,00	-0,59±0,04	28,14±0,13	-0,05±0,01	-0,55±0,06
	7	26,34±0,50	-0,16±0,01	-0,50±0,01	25,08±0,27	-0,17±0,02	-0,18±0,02
	8	22,99±0,34	-0,20±0,02	-0,26±0,07	24,10±0,53	-0,18±0,02	-0,24±0,03
+25°C	1	49,79±0,94	-0,49±0,01	-2,10±0,04	41,94±0,61	-0,48±0,02	-1,46±0,07
	2	29,39±0,29	-0,21±0,01	-0,89±0,06	35,35±0,61	-0,43±0,04	-1,25±0,06
	3	28,15±0,30	-0,18±0,01	-0,66±0,08	33,55±0,43	-0,27±0,05	-0,84±0,07
	4	27,11±0,00	-0,13±0,01	-0,69±0,01	31,13±0,20	-0,13±0,04	-0,64±0,14
	5	31,02±1,09	-0,15±0,03	-0,78±0,11	29,79±0,41	-0,02±0,01	-0,38±0,13
	6	30,07±0,38	-0,07±0,03	-0,67±0,07	30,53±0,29	-0,09±0,00	-0,24±0,04
	7	21,65±1,37	-0,13±0,07	0,08±0,08	34,06±0,50	-0,42±0,04	-0,68±0,12
	8	25,89±0,18	-0,08±0,01	-0,35±0,02	33,21±0,36	-0,36±0,05	-0,85±0,03

Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.  $L$ : Parlaklık, (0: siyah, 100: beyaz),  $a^*$ : Kırmızı-Yeşil eksen değeri ( $a^*$ : kırmızılık,  $-a^*$ : yeşillik),  $b^*$ : Sarı-Mavi eksen değeri ( $b^*$ : sarılık,  $-b^*$ : mavilik)

Mikroemülsiyonlar beyaz görünüme sahiptirler ve emülsiyonların optik özellikleri, içerdikleri esansiyel yağ oranına göre değişkenlik göstermektedir (Mason ve ark., 2006; Artiga-Artigas ve ark., 2017). Tablo 8 incelendiğinde, amilopektin ve arap zıncı emülsiyonlarının depolamaya bağlı olarak parçacık boyutlarının değişkenlik gösterdiği, buna bağlı olarak kararlılıklarını depolama süresi boyunca koruyamadıkları görülmektedir. Emülsiyonların içerdikleri yağ damlacıkları bir araya gelerek emülsiyon formunun bozulduğu ve buna bağlı olarak emülsiyonların beyaz görünümünü kaybettiği Tablo 10’da  $L$  değerleri incelendiğinde görülmektedir. Amilopektin ve arap zıncı ile hazırlanan emülsiyonlarda  $L$  değeri sonuçlarında başlangıca göre depolama sonunda azalma olduğu saptanmıştır. Amilopektin emülsiyonunda  $+4^{\circ}\text{C}$ ’de başlangıç değeri 46,63 iken, depolama sonunda 22,99 olarak;  $+25^{\circ}\text{C}$ ’de başlangıçta 49,79 iken, depolama sonunda 25,89 olarak tespit edilmiştir. Arap zıncı emülsiyonunda ise  $+4^{\circ}\text{C}$ ’de başlangıç değeri 43,34 iken, depolama sonunda 24,10 olarak,  $+25^{\circ}\text{C}$ ’de başlangıçta 41,94 iken depolama sonunda 33,21 olarak tespit edilmiştir.

Mason ve ark. (2006) nanoemülsiyonların fiziksel özelliklerini araştırdıkları çalışmada, nanoemülsiyonların transparan bir görünüme, mikroemülsiyonların ise beyaz görünüme sahip olduklarını belirtmişlerdir. Emülsiyonlardaki optik özelliği “Rayleigh Saçılması” ile karşılaştırarak, mikroemülsiyonlarda parçacık boyutunun büyük olması nedeniyle, uzun dalga boyundaki sarı ve özellikle kırmızı ışıktan daha dağınık saçılım gösteren kısa dalga boyuna sahip mavi ışığın daha belirgin olduğunu belirtmişlerdir. Tablo 10’da verilen  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinin negatif (yeşillik ve maviliğe yakın değerler) olmasının nedeni, amilopektin ve arap zıncı ile hazırlanan emülsiyonların DLS ölçümlerine göre (Tablo 8) parçacık boyutlarının mikro boyutlarda olması ve kolorimetre ölçümlerinde dağınık ışık saçılımı göstermesiyle açıklanabilir. Depolama ile  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerinde sarılık ve kırmızılığa yönelme nedeni ise depolama süresince emülsiyon stabilitesinin kaybolması ile emülsiyon ortamının (su fazı) berraklaşması olarak açıklanabilir. Tablo 9 incelendiğinde örneklerin bulanıklık değerlerindeki düşüşün de  $a^*$  ve  $b^*$  değerlerindeki değişimi destekler nitelikte olduğu düşünülmektedir.

#### 4.4.4. Toplam Fenolik Madde Miktarları

Defne esansiyel yağı ve defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyonlara ait toplam fenolik madde içerikleri Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11

Defne esansiyel yağı ve emülsiyonların toplam fenolik madde miktarları

Örnek	mg gallik asit/L
DEY	2438,90 ± 299,10 <sup>A</sup>
DAP	170,60 ± 25,60 <sup>B</sup>
DAZ	243,10 ± 37,00 <sup>B</sup>
Amilopektin kontrol*	16,63 ± 0,36 <sup>C</sup>
Arap zankı kontrol*	4,96 ± 0,36 <sup>C</sup>

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). DEY: Defne esansiyel yağı, DAP: Defne esansiyel yağı ve amilopektin stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, DAZ: Defne esansiyel yağı ve arap zankı stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, \*Kontrol örnekleri: Esansiyel yağ eklenmeden sadece stabilizör ile hazırlanan çözeltiler. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Tablo 11’de verilen değerler incelendiğinde en yüksek toplam fenolik madde içeriğine, emülsiyon uygulaması yapılmamış defne esansiyel yağının sahip olduğu görülmektedir. Stabilizörlerin, toplam fenolik madde miktarı üzerine etkisini görebilmek amacıyla esansiyel yağ eklenmemiş, sadece stabilizör ile oluşturulan çözeltilerde de analiz gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel olarak önemli fark olmamakla birlikte esansiyel yağ eklenmemiş amilopektin çözeltilisinin toplam fenolik madde miktarının, esansiyel yağ eklenmemiş arap zankı çözeltilisine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Esansiyel yağlarla hazırlanan emülsiyonların arap zankı emülsiyonun, amilopektin emülsiyonuna göre daha yüksek toplam fenolik madde içerdiği saptanmıştır. Esansiyel yağlarla hazırlanan emülsiyonların fenolik madde içerikleri arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı saptanmıştır. Emülsiyonlarda toplam fenolik madde içeriğinin defne esansiyel yağına göre düşük olmasının sebebi, emülsiyonlarda esansiyel yağ içeriğinin %1,50 olması ile açıklanabilir.

Basmacıoğlu Malayoğlu ve ark. (2011) Folin-Ciocalteu yöntemine göre defne esansiyel yağının toplam fenolik madde miktarını 12,28 mg gallik asit/g örnek olarak belirlemiştir. Yılmaz ve ark. (2013) ise Folin-Ciocalteu yöntemine göre defne esansiyel yağının toplam fenolik madde miktarını 112,3 mg/g örnek olarak belirlemiştir. Toplam fenolik madde miktarlarındaki farklılıkların, esansiyel yağ üretim metodu farklılığından kaynaklandığı düşünülmektedir.

#### 4.4.5. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

Defne esansiyel yağı ve bu yağlarla hazırlanan mikroemülsiyonların antioksidan aktivite düzeyleri TEAC yöntemine göre belirlenmiştir. Troloks standart eğrisinden yararlanılarak hesaplanan sonuçlar Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12

Defne esansiyel yağı ve emülsiyonların antioksidan aktivite sonuçları

Örnek	TEAC değeri (mM troloks/mL örnek)
DEY	70,56 ± 0,76 <sup>A</sup>
DAP	0,93 ± 0,01 <sup>B</sup>
DAZ	1,19 ± 0,02 <sup>B</sup>
Amilopektin kontrol*	0,03 ± 0,00 <sup>C</sup>
Arap zamkı kontrol*	0,07 ± 0,00 <sup>C</sup>

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). DEY: Defne esansiyel yağı, DAP: Defne esansiyel yağı ve amilopektin stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, DAZ: Defne esansiyel yağı ve arap zamkı stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon. \*Kontrol örnekleri: Esansiyel yağ eklenmeden sadece stabilizör ile hazırlanan çözeltiler. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Toplam fenolik madde analizinde olduğu gibi stabilizörlerin, antioksidan aktivite üzerine etkisini görebilmek amacıyla esansiyel yağ eklenmemiş, sadece stabilizör ile hazırlanmış düzensiz emülsiyonlarda da antioksidan aktivite analizi gerçekleştirilmiştir. Emülsiyon olarak formüle edilmemiş ham defne esansiyel yağının, emülsiyon olarak formüle edilmiş örneklerle göre çok daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Örnekler arasında ise arap zamkı ile hazırlanan emülsiyonun amilopektin ile hazırlanan emülsiyona göre daha yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğu belirlenmiştir ancak istatistiksel olarak fark bulunmamıştır.

Toplam fenolik madde içeriği ve antioksidan aktivite sonuçlarına göre arap zamkı ile hazırlanan emülsiyonun sonuçları, her iki analiz için de, amilopektin ile hazırlanan emülsiyona göre daha yüksek bulunmuştur. Yapılan önceki çalışmalarda da toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivite arasında yüksek korelasyon olduğu belirtilmiştir (Basmacıoğlu Malayoğlu ve ark., 2011). Amilopektin ile hazırlanan emülsiyonun toplam fenolik madde içeriği 170,60 mg gallik asit/L, antioksidan aktivite sonucu 0,93 mM troloks/mL örnek iken arap zamkı ile hazırlanan emülsiyonun toplam fenolik madde içeriği 243,10 mg gallik asit/L, antioksidan aktivite sonucu 1,19 mM troloks/mL örnek olarak belirlenmiştir.



Tural ve Turhan (2017) kekik, biberiye ve defne esansiyel yağının DPPH ve FRAP yöntemlerine göre antioksidan aktivitelerini inceledikleri çalışmada, defne esansiyel yağının antioksidan kapasitesini, FRAP yöntemine göre 40 mg troloks/mL örnek olarak, DPPH inhibisyonunun ise %85 olduğunu belirlemişlerdir. Basmacıoğlu Malayoğlu ve ark. (2011) defne esansiyel yağının DPPH ve TEAC yöntemlerine göre antioksidan aktivitelerini inceledikleri çalışmada, defne esansiyel yağının antioksidan kapasitesini, TEAC yöntemine göre 3,1 µM troloks/100g örnek olarak, DPPH inhibisyonunun ise %39,70 olduğunu belirlemişlerdir. Yılmaz ve ark. (2013) defne esansiyel yağının DPPH yöntemine göre antioksidan aktivitesini 59,2 µg/mL olarak belirlemiştir. Ertürk ve ark. (2020) DPPH, FRAP ve ABTS yöntemlerine göre defne esansiyel yağının antioksidan aktivitesini araştırdığı çalışmada, defne esansiyel yağının antioksidan aktivitesini, DPPH yöntemine göre %40,76, FRAP yöntemine göre 8,53 µmol troloks/g yağ, ABTS yöntemine göre ise 63,93 µmol troloks/g yağ olarak saptamıştır.

#### 4.4.6. Antimikrobiyal Aktivite Analiz Sonuçları

Kuru defne yapraklarından elde edilen esansiyel yağların ve bu yağlardan hazırlanan mikroemülsiyonların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla agar disk difüzyon yöntemi (Özcan ve ark., 2010; Cherrat ve ark., 2014) kullanılmıştır.

Test bakterileri olarak Gram negatif *Escherichia coli* ATCC 25922 ve Gram pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 referans suşları kullanılmıştır. Defne esansiyel yağı ve mikroemülsiyonların agar disk difüzyon yöntemine göre test bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivite sonuçları Tablo 13'te verilmiştir.

Tablo 13  
Defne esansiyel yağı ve emülsiyonların antimikrobiyal sonuçları

Mikroorganizma	Zon çapı (mm)		
	DEY	DAP	DAZ
<i>E. coli</i>	10,5 ± 1,5	15,0 ± 3,0	13,0 ± 1,0
<i>S. aureus</i>	19,0 ± 1,0	14,0 ± 1,0	14,0 ± 1,0

DEY: Defne esansiyel yağı, DAP: Defne esansiyel yağı ve amilopektin stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, DAZ: Defne esansiyel yağı ve arap zamkı stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon. Disk çapı: 6 mm. Veriler "ortalama ± standart hata" olarak verilmiştir.

Agar disk difüzyon yöntemine göre gerçekleştirilen antimikrobiyal analiz sonucunda emülsiyon olarak formüle edilmemiş ham defne esansiyel yağı her iki mikroorganizma için de (*E. coli* ve *S. aureus*) antimikrobiyal etki göstermiştir (Tablo 13). Ancak *S. aureus* üzerine olan etkinin *E. coli* üzerine olan etkiye göre daha fazla olduğu görülmüştür. Amilopektin ve arap zankı ile formüle edilmiş emülsiyon örneklerinde ise benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Yılmaz ve ark. (2013) defne esansiyel yağının, agar kuyucuk difüzyon yöntemine göre *E. coli* ve *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyal etkilerini araştırdıkları çalışmada, defne esansiyel yağının *E. coli* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 33,0 mm, *S. aureus* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu ise 10,0 mm olarak belirlemiştir. Tural ve Turhan (2017) ise agar kuyucuk yöntemi ile defne esansiyel yağının antimikrobiyal özelliğini inceledikleri çalışmada, defne esansiyel yağının *E. coli* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 9 mm, *S. aureus* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 21 mm olarak belirlemiştir. Tablo 13'te verilen veriler ve Tural ve Turhan (2017)'in yapmış olduğu çalışmadaki veriler değerlendirildiğinde (*E. coli* inhibisyon zonu: 10,5 mm, *S. aureus* inhibisyon zonu 19 mm) yakın sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Amilopektin ve arap zankı ile hazırlanan emülsiyonların antimikrobiyal etkisinin *E. coli* için yakın değerde olduğu görülmüştür.

Nalbantbaşı ve Gölcü (2010) agar disk difüzyon yöntemi ile defne ekstraktının antimikrobiyal özelliğini incelediği çalışmada, defne ekstraktının *E. coli* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 9 mm olarak belirlemiştir. Tablo 13'te verilen sonuçlarla karşılaştırıldığında defne esansiyel yağının, amilopektin ve arap zankı emülsiyonlarının *E. coli* üzerine antimikrobiyal etkisinin benzer sonuçlar verdiği görülmüştür.

Ertürk ve ark. (2020) defne esansiyel yağı üzerine yaptıkları bir çalışmada, defne esansiyel yağını, farklı iki çözügen (etanol ve hekzan) ile seyrelterek disk difüzyon yöntemine göre antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. Her iki çözügen için de iki farklı konsantrasyonda (20 mg/mL ve 30mg/mL) seyreltme işlemi uygulamışlardır. 20 mg/mL oranında etanol ile seyreltilmiş defne esansiyel yağının *E. coli* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 9,18 mm, *S. aureus* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 11,39 mm, 30 mg/mL oranında etanol ile seyreltilmiş defne esansiyel yağının *E. coli* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 9,42 mm, *S. aureus* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu ise 11,46 mm olarak saptamışlardır. 20 mg/mL oranında hekzan ile seyreltilmiş defne esansiyel yağının *E. coli* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 11,43 mm, *S. aureus* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 11,49 mm, 30 mg/mL oranında etanol ile seyreltilmiş defne esansiyel yağının *E. coli* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu 11,55 mm, *S. aureus* üzerine oluşturduğu inhibisyon zonunu ise 11,76 mm olarak saptamışlardır.

#### 4.4.7. Aroma Aktif Bileşenler

Defne esansiyel yağında ve bu yağlarla hazırlanan mikroemülsiyonların aroma-aktif bileşenleri ve yoğunlukları Gaz Kromatografisi-Olfaktometri cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Koklamalar 10 puanlı skala üzerinden değerlendirilerek (0: yok, 10: en yüksek) belirlenmiştir. Aroma maddeleri ve yoğunlukları Tablo 14’te verilmiştir.

Tablo 14  
Defne esansiyel yağı ve emülsiyonlarının aroma-aktif bileşenleri

RI	Uçucu	Aroma	DEY*	DAP*	DAZ*
741	Methyl-2-butenal	Ferah/bitki	1,0±0,5	0,9±0,3	1,4±0,2
759	Pentalen	Şekerli sakız/meyve	1,5±0,8	1,6±0,4	2,0±0,6
770	Toluen	Plastik/naylon	3,0±0,0	3,6±0,6	4,5±0,3
794	1-Hexenol	Çimen	2,3±0,3	3,5±1,0	1,9±0,5
837	o-Xylene	Sardunya	1,3±0,3	2,4±0,3	2,4±0,2
845	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	Şekerli sakız/meyve	2,8±0,8	3,1±0,4	2,5±0,3
887	Bilinmeyen1	Şekerli tatlı ester	1,0±0,5	1,3±0,4	1,6±0,4
896	Heptanone	Kirli/yağsı/metal	3,0±1,0	4,0±0,6	4,4±0,7
907	2,4-Hexadienal	Yaprak	0,8±0,4	1,0±0,3	-
926	α-Thujene	Yaprak/bitki/ferah mentol	1,5±0,8	1,4±0,4	1,0±0,3
933	α-Pinene	Ferah/terpen	0,8±0,4	1,0±0,3	1,5±0,4
966	Bilinmeyen2	Ester/oje/meyvemsi/yağsı	0,9±0,1	2,9±0,2	2,4±0,7
977	Octenone	Mantar	6,0±1,0	5,5±0,7	6,5±0,6
992	Myrcene	Reçine/terpen	1,0±0,0	-	3,0±0,9
1000	2,4-Heptadienal	Kirli/yağ	1,5±0,8	2,0±0,6	3,0±0,9
1036	1,8 Cineole	Defne/terpen/oje/viks/mentol	4,8±2,8	5,3±1,2	6,0±0,4
1050	β-phellandrene	Gül	1,0±0,0	3,5±1,0	4,0±1,0
1065	2-Octenal	Çay/kuru ot	2,0±1,0	1,5±0,5	1,5±0,5
1072	Nonenone	Mantar	2,0±1,0	2,0±0,6	1,8±0,3
1094	δ-Terpinene	Terpen/bitki/şekerli	1,0±0,5	-	0,8±0,2
1101	Linalool	Çay/ot/tatlı/çiçek	1,5±0,8	2,5±0,6	2,0±0,4
1109	Bilinmeyen3	Yağsı/tatlı	2,0±0,0	-	-
1113	2-phenylethyl alcohol	Ester/çiçek	3,0±0,0	2,9±0,3	3,0±0,4
1132	Limonene oxide	Nane/terpen/tatlımsı	2,8±0,3	2,6±0,5	2,8±0,7
1139	Camphor	Baharat	2,0±0,0	2,0±0,8	2,0±0,0
1147	(E)-Limonene oxide	Yağ	4,0±2,0	1,9±0,1	1,5±0,4
1150	2,6-Nonadienal	Salatalık	5,0±0,0	5,0±0,7	3,9±0,4
1158	(E)-2-Nonenal	Saman ot	2,5±0,5	2,8±0,7	2,5±0,5
1173	Borneol	Nane/ferah/küflü	1,5±0,8	1,6±0,2	1,3±0,6
1184	Lavandulol	Klorlu su/yosun	1,8±0,8	2,0±0,6	1,5±0,5
1195	α-terpineol	Terpen/tatlı/baharat	1,8±0,3	1,5±0,5	1,0±0,5
1213	Linalool oxide	Yağ/yanmış yağ	1,5±0,5	1,5±0,5	2,0±0,3
1237	Bilinmeyen4	Brothy-kirli-şekli	1,0±0,5	1,3±0,4	1,3±0,7
1247	Isobornyl formate	Ferah/çiçek/kolonya	1,5±0,8	1,8±0,5	-
1319	Decadienal	Broth/yağ	0,5±0,3	1,0±0,3	1,0±0,4
1356	Terpinyl acetate	Balikhane/terpen/defne	1,5±0,8	1,1±0,3	2,0±0,3

DEY: Defne esansiyel yağı, DAP: Defne esansiyel yağı ve amilopektin stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, DAZ: Defne esansiyel yağı ve arap zamkı stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, -: Belirlenmemiştir. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir. \*Aroma yoğunluğu (10 puanlı skala; 0: yok, 10: en yüksek)

Defne esansiyel yağı ve emülsiyonlarında önemli aroma aktif bileşenleri; toluen, butanoic acid 2-methyl-ethyl ester, heptanone, octenone, 1,8 cineole,  $\beta$ -phellandrene, linalool, 2-phenylethyl alcohol, limonene oxide, 2,6-nonadienal, borneol ve lavandulol olarak belirlenmiştir. Defne esansiyel yağlarında yapılan çalışmalarda, karakteristik olarak en yüksek oranda 1,8-cineole uçucu bileşeni bulunduğu görülmektedir. Tablo 14’te verilen değerlere göre 1,8-cineole yoğunluğu defne esansiyel yağında 4,8, amilopektin ile hazırlanan emülsiyonda 5,3 ve arap zıkkını ile hazırlanan emülsiyonda 6,0 olarak görülmektedir. Emülsiyonlardaki 1,8-cineole yoğunluğunun defne esansiyel yağına göre daha yüksek olmasının sebebi, emülsiyon içerisindeki yağ partiküllerinin küçük boyutlarda olmasıyla yüzey alanının artması olarak düşünülmektedir.

#### 4.4.8. Uçucu Bileşenler

Uçucu bileşenlerin tanımlanması ve miktarlarının belirlenmesi için Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) kullanılmıştır. Defne esansiyel yağında ve bu yağlarla hazırlanan mikroemülsiyonlarda belirlenen uçucu bileşenler Tablo 15’te yer almaktadır.

Tablo 15  
Defne esansiyel yağı ve emülsiyonlarının uçucu bileşenleri (mg/L)

RI	Uçucu bileşikler	DEY	DAP	DAZ
540	2-Butenal	0,72±0,14	0,25±0,01	0,21±0,01
699	Furan, 2-ethyl-	0,11±0,04	0,54±0,03	0,61±0,01
732	1H-Pyrrole, 1-methyl-	-	0,62±0,03	0,63±0,02
747	Propanoic acid, 1-methylethyl ester	-	0,13±0,01	0,14±0,02
762	Toluene	0,24±0,13	2,76±0,29	2,65±0,04
794	Propanoic acid, 2-methyl-, butyl ester	0,06±0,00	0,48±0,03	0,45±0,01
799	Hexanal	0,61±0,10	1,19±0,07	1,23±0,05
826	2-butanol, 3-methyl-, acetate	-	0,30±0,02	0,29±0,01
851	2-Hexenal, (E)-	2,16±0,19	4,20±0,24	4,38±0,02
866	1-Hexanol	0,68±0,08	-	-
884	Butanoic acid, 2-methyl-, 1methylethyl ester	0,41±0,10	1,47±0,09	1,40±0,01
890	Crotonaldehyde, 2-vinyl-	1,36±0,01	-	-
893	4-methylene-5-hexenal	1,76±0,06	0,51±0,03	0,53±0,00
923	Delta 3-carene	0,67±0,22	0,53±0,00	0,52±0,01
926	Thujene	23,21±5,96	35,55±0,31	39,09±0,43
935	alpha-Pinene	169,48±4,7	224,21±2,78	221,68±1,16
944	2,4(10)-thujadien	1,56±0,27	2,76±0,05	3,13±0,06
949	Fenchene	0,73±0,20	1,05±0,00	1,06±0,01
951	Camphene	9,17±2,32	9,77±0,02	10,08±0,05
956	2-Heptenal, (E)-	0,79±0,02	-	-
962	Benzaldehyde	0,97±0,11	1,25±0,02	1,57±0,21
975	Sabinene	326,81±7,20	585,53±3,06	599,42±8,26

Tablo 15'in devamı

RI	Uçucu bileşikler	DEY	DAP	DAZ
980	2-beta-Pinene	177,55±40,4	219,72±0,69	224,53±3,15
984	3-Octanone	9,25±1,00	2,61±0,15	2,81±0,07
989	beta-Myrcene	57,45±11,70	54,40±0,39	55,35±0,56
991	Herboxide	26,34±6,33	15,58±0,46	16,29±1,10
994	Butanoic acid, butyl ester	0,66±0,10	-	-
996	2,4-Heptadienal, (E,E)-	1,01±0,57	-	-
1001	Isovaleric acid, butyl ester	0,53±0,10	-	-
1005	Herboxide second isomer	20,78±2,58	1,35±0,01	1,74±0,00
1007	L-Phellandrene	31,47±6,24	30,86±0,15	31,37±0,52
1010	delta 3-carene	10,96±2,28	8,44±0,07	8,23±0,29
1012	2,4,6-Trimethyl-1,3-benzenediamine	32,84±6,62	-	-
1018	alpha-terpinene	56,89±10,8	46,06±0,08	36,81±12,2
1020	o-cymene	3,85±0,66	-	-
1024	p-cymene	-	2,25±0,12	2,25±0,33
1026	m-cymene	81,80±3,83	27,42±1,13	31,46±2,69
1031	Limonene	-	135,99±5,44	140,10±17,10
1038	1,8-Cineole	1361,57±29,40	4973,94±23,30	4769,14±54,20
1039	2-Isopropylfuran	2,29±0,11	-	-
1046	beta ocimene	14,42±2,02	2,42±0,07	2,49±0,01
1054	alpha-Phellandiene	1,87±0,31	-	-
1056	Pulegone	0,97±0,13	-	-
1060	gamma-Terpinene	121,02±19,8	85,69±0,77	87,72±1,79
1068	3,5-dimethylanisole	6,51±0,95	-	-
1072	cis-linaloloxide	-	18,82±0,32	19,66±0,15
1086	alpha-terpinolene	43,04±5,74	26,00±0,44	26,98±0,37
1089	2-Nonanone	-	2,02±0,15	2,10±0,02
1091	Dehydro-p-cymen	12,35±0,76	4,04±0,41	4,73±0,22
1104	1,5,7-Octatrien-3-ol, 3,7-dimethyl	54,00±0,78	-	-
1105	Linalool L	322,34±7,06	76,28±1,75	82,26±2,65
1112	2,5-dimethyl-3-ethylfuran	0,92±0,04	-	-
1114	1,3,8-para-menthatriene	7,04±0,56	1,62±0,04	1,69±0,01
1121	2,2-dimethylallylidene cyclopropane	11,82±0,68	1,04±0,05	1,11±0,03
1127	p-menth-2-en-1-ol	5,30±0,07	5,25±0,17	5,49±0,16
1129	alpha-campholene aldehyde	2,40±0,15	3,84±0,18	3,95±0,01
1130	2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene (E)	19,58±1,79	-	-
1138	1,7-Octadien-3-one, 2-methyl-6-methylene	5,74±0,35	6,85±0,24	7,56±0,23
1145	trans-Pinocarveol	-	12,90±0,24	13,83±0,44
1146	Propanoic acid, 2-methyl-, hexyl ester	10,11±3,69	-	-
1153	Camphor	201,43±0,92	14,76±0,43	15,00±0,23
1158	p-Cresol	0,68±0,11	0,99±0,04	1,01±0,03
1161	Sabina ketone	4,96±0,01	-	-
1164	Phenol, 2,3,5,6-tetramethyl-	5,19±0,30	-	-
1166	Pinocarvone	7,58±0,04	17,29±0,70	17,47±0,27
1177	Borneol L	46,28±3,40	7,48±0,04	8,31±0,43
1184	4-Terpineol	69,46±4,13	98,87±1,37	112,89±7,72
1187	Ethanone, 1-(4-methylphenyl)-	3,03±0,56	-	-
1190	Butanoic acid, hexyl ester	44,89±2,49	-	-
1198	alpha-Terpineol	71,42±7,25	90,71 ±0,29	104,42±6,75
1207	2,6-Dimethyl-3,5,7-octatriene-2-ol, E	7,55±1,01	0,85±0,02	0,90±0,04
1211	Piperitol isomer II	2,42±0,20	-	-
1221	trans-(+)-carveol	4,16±0,44	1,51±0,01	1,65±0,16

Tablo 15'in devamı

RI	Uçucu bileşikler	DEY	DAP	DAZ
1235	3,4-Dimethoxytoluene	-	2,06±0,00	2,31±0,16
1246	Propanal, 2-methyl-3-phenyl-	11,20±1,49	4,09±0,00	4,55±0,29
1250	Linalyl acetate	249,01±30,1	9,13±0,13	9,68±0,60
1256	2-Undecanone	2,78±0,30	2,35±0,04	2,38±0,13
1258	Piperitone	1,26±0,16	0,46±0,00	0,45±0,03
1268	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-	0,91±0,16	0,57±0,01	0,64±0,06
1270	4-Thujen-2.alpha.-yl acetate	3,24±0,45	3,81±0,06	4,10±0,26
1281	Lavandulyl acetate	15,99±2,39	2,23±0,08	2,43±0,18
1287	Endobornyl acetate	9,08±1,05	6,57±0,08	6,94±0,34
1288	Sabinyl acetate	1,85±0,23	2,28±0,10	2,46±0,18
1291	Methyl nonyl ketone	3,33±0,50	2,29±0,14	2,44±0,18
1293	Benzenemethanol, 4-(1-methylethyl)-	1,71±0,38	0,51±0,14	0,55±0,02
1297	cis-Pinen-3-ol	-	2,39±0,08	2,58±0,19
1323	Benzene, 1,4-diethyl-	2,63±0,43	0,76±0,04	0,80±0,06
1328	Hexyl tiglata	5,23±0,98	1,04±0,05	1,08±0,09
1344	(2-Methylprop-1-enyl)-cyclohexa-1,3-diene	3,08±0,55	0,96 ±0,05	1,01±0,10
1350	alpha-terpinenyl acetate	294,32±54,70	343,96±16,00	354,53±31,3
1354	Phenol, 2-methoxy-4-(2-propenyl)-	12,34±4,22	9,20±0,69	9,82±0,98
1357	Neryl acetate	7,99±1,72	5,38±0,37	5,49±0,61
1370	5,6,7,8-tetrahydrothieno[2,3-b]quinoline	1,51±0,30	0,62±0,03	0,58±0,07
1376	cis-geraniol	7,86±1,88	2,65±0,21	3,18±0,48
1381	alpha-cubebene	1,85±0,25	0,25±0,03	0,16±0,05
1390	beta-bourbonene	3,02±0,48	0,48±0,02	0,31±0,07
1394	beta-elemene	24,96±4,98	7,75±0,15	6,07±1,05
1399	Methyl eugenol	22,77±7,68	20,59±1,62	21,90±2,48
1427	trans-Caryophyllene	19,95±3,48	4,36±0,06	3,07±0,56
1440	alpha-Guaiene	2,00±0,45	0,51±0,02	0,35±0,10
1446	2-Propen-1-ol, 3-phenyl-, acetate	3,67±1,10	1,68±0,16	1,45±0,23
1456	beta-panasinsene	2,06±0,46	0,62±0,01	0,46±0,09
1463	alpha-Caryophyllene	3,51±0,64	1,06±0,07	0,78±0,12
1465	Isocaryophyllene	4,85±1,09	1,48±0,04	1,07±0,22
1477	Aristolene	0,87±0,24	-	-
1488	Germacrene-D	1,54±0,43	0,53±0,03	0,39±0,08
1494	Anisyl acetone	1,63±0,49	1,26±0,20	1,22±0,17
1496	beta-Selinene	5,64±1,45	1,96±0,12	1,58±0,32
1499	Valencene	1,53±0,50	0,56±0,07	0,50±0,09
1503	alpha-selinene	4,41±1,22	1,58±0,10	1,34±0,27
1519	alpha-amorphene	2,74±0,90	0,99±0,10	0,82±0,22
1522	delta-Cadinene	1,77±0,63	0,71±0,09	0,60±0,14
1542	cis-alpha-bisabolene	1,01±0,45	0,40±0,08	0,36±0,11
1547	alpha-calacorene	0,61±0,26	0,17±0,02	0,15±0,03
1591	(-)-Caryophyllene oxide	7,77±3,68	2,89±0,48	2,67±0,35

DEY: Defne esansiyel yağı, DAP: Defne esansiyel yağı ve amilopektin stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, DAZ: Defne esansiyel yağı ve arap zımkı stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, -: Belirlenememiştir. Veriler "ortalama ± standart hata" olarak verilmiştir.

Defne esansiyel yağında ve defne esansiyel yağı ile hazırlanan emülsiyonlarda gerçekleştirilen Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi analizi sonuçlarına göre defne esansiyel yağında 1,8-cineole, sabinene, linalool L,  $\alpha$ -terpinenyl acetate, linalyl acetate ve camphor bileşiklerinin diğer bileşiklere göre daha yüksek miktarlarda bulunduğu belirlenmiştir. Defne esansiyel yağında 1,8-cineole miktarı 1361,57 mg/L, sabinene miktarı 326,81 mg/L, linalool L miktarı 322,34 mg/L, alpha-terpinenyl acetate miktarı ise 294,32 mg/L olarak belirlenmiştir. Amilopektin emülsiyonunda 1,8-cineole miktarı 4973,94 mg/L, sabinene miktarı 585,53 mg/L, linalool L miktarı 76,28 mg/L, alpha-terpinenyl acetate miktarı ise 343,96 mg/L olarak belirlenirken, arap zamkı emülsiyonunda 1,8-cineole miktarı 4769,14 mg/L, sabinene miktarı 599,42 mg/L, linalool L miktarı 82,26 mg/L, alpha-terpinenyl acetate miktarı ise 354,53 mg/L olarak belirlenmiştir. GC-O analizinde, emülsiyonların esansiyel yağa göre daha yüksek oranda 1,8-cineole bileşenine sahip olmaları GC-MS analizi ile benzerlik göstermektedir. Defne esansiyel yağında tespit edilen uçucu bileşenlerin %33,40'ını, amilopektin emülsiyonunda %66,04'ünü, arapzamkı emülsiyonunda %64,35'ini 1,8-cineole uçucu bileşeni oluşturmaktadır. Defne esansiyel yağının emülsiyon formülasyonları karşılaştırıldığında, DAP ve DAZ örnekleri arasındaki uçucu bileşen profili genel olarak benzer bulunmuştur. Emülsiyonlarda bazı uçucu bileşenlerin daha yüksek miktarda olmasının nedeni olarak, emülsiyon hazırlama aşamasında uygulanan ultrahomojenizasyon işleminin yağ damlacıklarını parçalaması ve buna bağlı olarak uçucuların açığı çıkmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

Clevenger hidrodistilasyon yöntemi ile ekstrakte edilen defne esansiyel yağında uçucu bileşenlerin belirlendiği bir çalışmada, uçucu bileşenlerin %22'sini 1,8-cineole bileşiğinin oluşturduğu saptanmıştır (Quijano ve Pino, 2007). Bayramoğlu ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada ise mikrodalga destekli hidrodistilasyon yöntemi (622W/85 dk) ile elde edilen defne esansiyel yağında 1,8-cineole konsantrasyonunu 731,75 mg/mL olarak belirlemişlerdir. Kılıç (2008) ise esansiyel yağların elde edilme yöntemlerini incelediği çalışmasında defne yapraklarından klasik su distilasyonu ve mikrodalga ile gerçekleştirilen üretimlerde 1,8-cineole miktarının her iki yöntemde de benzer sonuçlar verdiğini belirtmiştir (su distilasyonu: %52, mikrodalga ekstraksiyonu: %47,5). Yapılan diğer bir çalışmada 1,8-cineole'ün gıda kaynaklı patojen küflere karşı doğal antifungal özellik gösterdiği belirtilmiştir (Guynot ve ark., 2014).

Türkkan ve ark. (2019) ise yaptıkları bir çalışmada, GC-MS sonuçlarına göre defne esansiyel yağında 16 adet uçucu bileşen belirleyerek, bu uçucular arasında en yüksek konsantrasyona sahip bileşeni 1,8-cineole (%57,03) olarak saptamışlardır.

Dadalıoğlu ve Akdemir Evrendilek (2004) yapmış oldukları çalışmada, GC-MS ile belirledikleri defne uçucu bileşenleri arasında en yüksek konsantrasyona sahip bileşenleri, %60,72 oranında 1,8-cineole, %12,53 oranında  $\alpha$ -terpinene, %12,12 oranında sabinene olarak saptamışlardır. zoğul ve ark. (2017) defne yağları üzerine yapmış oldukları çalışmada bitki materyallerinden elde ettikleri esansiyel yağlarda GC-MS ile uçucu bileşenleri belirlemişler ve defne esansiyel yağında, en yüksek konsantrasyonda olan bazı bileşiklerin, %29,60 oranında 1,8-cineole, %18,16 alpha terpinyl acetate ve %11,75 oranında  $\alpha$ -terpineol olduğunu saptamışlardır.

Akgl ve ark. (1989) yapmış oldukları çalışmada, Antalya, Hatay, Manisa, Sinop ve Trabzon bölgelerinde yabani olarak yetişen *Laurus nobilis* L. türü defne bitkisinden su distilasyonu ile uçucu yađ eldesi gerçekleştirmiştir. Elde edilen uçucu yağların uçucu bileşenleri belirlenerek, Hatay bölgesinde yetişen defne bitkisine ait (en yüksek orana sahip) uçucu bileşenler %52,87 oranında 1,8-cineole, %12,15 oranında alpha terpinyl acetate, %9,19 oranında sabinene olarak saptanmıştır. 1,8-cineole uçucu bileşen oranının en yüksek olduğu (%52,99) defne uçucu yağı Antalya bölgesinden toplanan defne bitkilerinden elde edilmiştir. Baratta ve ark. (1998) yapmış oldukları çalışmada, defne bitkisine ait yüksek konsantrasyondaki uçucu bileşenleri, %46,5 oranında 1,8-cineole, %11,8 oranında alpha terpinyl acetate, %7,3 oranında sabinene olarak belirlemiştir. Yapılan diğer bir çalışmada buhar distilasyonu (yaprak ve meyve) ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu (yaprak) elde edilen defne uçucu yağlarının uçucu bileşenleri GC-MS ile belirlenmiştir. Buhar distilasyonu ile elde edilen defne yaprağı uçucu yağında en yüksek oranda belirlenen uçucu bileşenin, %38,15 oranıyla 1,8-cineole olduğu, 1,8-cinole oranının buhar distilasyonu ile elde edilen defne meyvesinde %32,30, süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile elde edilen defne yaprağında ise %19,14 olduğu saptanmıştır (Zeković ve ark., 2009).

Bennadja ve ark. (2013) ise defne esansiyel yağı üzerine yapmış oldukları çalışmada defne esansiyel yağının uçucu bileşenlerini %35,31 oranında 1,8-cineole, %22,52 oranında  $\beta$ -linalool, %7,37 oranında camphene olarak belirlemiştir.

Defne esansiyel yağı, karakteristik özelliği olarak en yüksek oranda 1,8-cineole uçucu bileşenini içermektedir. Defne esansiyel yağı ve defne esansiyel yağı ile formüle edilen amilopektin ve arap zankı emülsiyonlarında da en yüksek oranda 1,8-cineole bileşiği belirlenmiştir. Belirlenen oranlar yapılan çalışmalarla yüksek oranda benzerlik göstermesine rağmen, farklılıkların, defne bitkisinin temin edildiği bölge, esansiyel yağ elde etme yöntemleri, emülsiyon formülasyonu, bitki materyaline uygulanan ön işlemler, vb. gibi nedenlerden kaynaklı olduğu düşünülmektedir.



#### 4.4.9. Duyusal Analiz Sonuçları

Defne esansiyel yağında ve mikroemülsiyonlarda koklama yapılarak, aroma karakteristikleri belirlenmiştir. Defne esansiyel yağı, mikroemülsiyonlar ve sadece stabilizör (amilopektin ve arap zankı) ile hazırlanan çözeltiler eğitimli panelistlere karışık olarak sunulmuştur. Defne esansiyel yağı, mikroemülsiyonlar ve sadece stabilizör (amilopektin ve arap zankı) ile hazırlanan çözeltiler ile gerçekleştirilen duyusal değerlendirme sonuçları Tablo 16’da verilmiştir.

Tablo 16

Defne esansiyel yağı ve emülsiyonlarda gerçekleştirilen duyusal değerlendirme sonuçları

Örnek	Mentol	Çiçek	Odun	Reçine	Yaprak	Naftalin	Metalik
DEY	10,0±0,0 <sup>A</sup>	4,0±0,8 <sup>A</sup>	6,0±0,6 <sup>A</sup>	7,0±0,0 <sup>A</sup>	3,0±0,0 <sup>A</sup>	4,8±0,2 <sup>A</sup>	-
DAP	6,3±0,3 <sup>B</sup>	3,2±0,5 <sup>A</sup>	3,9±0,2 <sup>B</sup>	5,4±0,3 <sup>B</sup>	1,8±0,1 <sup>B</sup>	3,0±0,0 <sup>A</sup>	-
DAZ	10,0±0,0 <sup>A</sup>	3,8±0,6 <sup>A</sup>	5,2±0,2 <sup>A</sup>	6,7±0,1 <sup>A</sup>	2,0±0,0 <sup>A</sup>	3,2±0,3 <sup>A</sup>	-
AP	-	-	-	-	-	-	0,4±0,0 <sup>A</sup>
AZ	-	-	-	-	-	-	0,5±0,1 <sup>A</sup>

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). DEY: Defne esansiyel yağı, DAP: Defne esansiyel yağı ve amilopektin stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon, DAZ: Defne esansiyel yağı ve arap zankı stabilizörü ile hazırlanmış emülsiyon. AP: Amilopektin çözeltisi, AZ: Arap zankı çözeltisi. Veriler “ortalama  $\pm$  standart hata” olarak verilmiştir.

Tablo 16 incelendiğinde emülsiyon olarak formüle edilmemiş defne esansiyel yağı ve arap zankı ile formüle edilmiş emülsiyona (DAZ) ait puanların genel olarak birbirine daha yakın değerlerde olduğu ve istatistiksel olarak önemli fark olmadığı görülmektedir. Defne esansiyel yağında ve emülsiyonlarda en yüksek puanı mentol almıştır. Mentol kokusunun yüksek olması, defne bitkisinin karakteristik özelliği olan 1,8-cineole bileşeninin defne esansiyel yağında yüksek oranda bulunması ile açıklanabilir. Tablo 14 ve 15 incelendiğinde 1,8-cineole bileşeninin yüksek olması bu durumu açıklar niteliktedir. Düşük yoğunlukta olmakla birlikte stabilizör çözeltilerinde metalik aroma da algılanmıştır.

## 4.5. Mikroemülsiyonlarda Portakal Suyu Uygulaması

### 4.5.1. Viskozite Ölçüm Sonuçları

Defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyonlar taze sıkılmış portakal suyuna %0,5 oranında eklenerek bir ay boyunca buzdolabı koşullarında depolanmıştır. Depolama süresi boyunca haftalık periyotlarda viskozite ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Kontrol gurubu olarak emülsiyon ilave edilmemiş portakal suyu kullanılmıştır. Mikroemülsiyon ilave edilmiş portakal sularının viskozite ölçüm sonuçları Tablo 17’de verilmiştir.

Tablo 17

Emülsiyon ilave edilen portakal sularının viskozite ölçüm sonuçları

Süre	Viskozite (cP)		
	Kontrol	PSAP	PSAZ
0. gün	5,37 ± 0,03 <sup>Ba</sup>	6,08 ± 1,07 <sup>Ba</sup>	7,94 ± 0,88 <sup>ABa</sup>
1. hafta	4,77 ± 0,03 <sup>Bb</sup>	10,28 ± 0,18 <sup>Aa</sup>	9,57 ± 0,78 <sup>Aa</sup>
2. hafta	8,52 ± 0,12 <sup>Aa</sup>	4,82 ± 0,14 <sup>Bb</sup>	9,36 ± 1,20 <sup>Aa</sup>
3. hafta	4,08 ± 0,18 <sup>Ba</sup>	3,80 ± 0,29 <sup>Ba</sup>	5,30 ± 0,04 <sup>BCa</sup>
4. hafta	3,84 ± 0,18 <sup>Bb</sup>	9,35 ± 0,32 <sup>Aa</sup>	4,83 ± 0,21 <sup>Cb</sup>

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). <sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAZ: Arap zıncığı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Depolama yapılan örneklerde, kontrol örneğinde ikinci hafta hariç depolamaya bağlı olarak viskozite ölçümlerinde önemli bir fark görülmemiştir ( $P > 0,05$ ). Defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyon eklenmiş taze sıkılmış portakal suyu örneklerinde, PSAP örneğinin viskozite sonuçlarına göre, sıfırıncı gün, ikinci hafta ve üçüncü haftalara ait örnekler arasında farklılık olmadığı, birinci ve dördüncü haftalara ait örneklerin de istatistiksel açıdan birbiri ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. PSAZ örnekleri viskozite sonuçlarına göre, birinci ve ikinci haftalara ait örnekler istatistiksel olarak birbiri ile aynı iken diğer haftalarda istatistiksel açıdan farklılık gözlenmektedir ( $P \leq 0,05$ ).

De Campo ve ark. (2017) keten tohumu ile hazırlanan emülsiyon örneklerinde 28 gün depolama yaparak çeşitli analizler gerçekleştirmişlerdir. Yapılan bu çalışmada organik fazdaki yüksek miktarda yağın, çözeltilerde yüksek partikül büyüklüğüne ve viskozite artışına yol açacağı ifade edilmiştir. Demirdöven ve Baysal (2012), yaptıkları bir çalışmada portakal sularına doğrudan ve farklı ön işlemler uygulanarak kalite değişimleri incelenmiştir. Bu çalışmada portakal sularının viskozite değerini 4,73 cP olarak belirlemişlerdir.

Yuliani (2018) yaptığı çalışmada tarçın yağı kullanarak Tween80 ile nanoemülsiyon oluşturmuş ve 20, 30, 40°C sıcaklıklarda sekiz hafta süreyle depolama gerçekleştirmiştir. Farklı oranda (%5 ve %10) tarçın yağı ilavesi yapılan örneklerde, yağ oranının fazla olmasının emülsiyon stabilitesini olumsuz etkilediğini ve viskozite değerlerinde haftalara bağlı olarak değişim görüldüğünü belirtmiştir. Bu durumun emülsiyon içerisindeki yağ damlacıklarının topaklanma mekanizmasından kaynaklanabileceği ifade edilmiştir. Bu doğrultuda PSAP, PSAZ ve kontrol örneklerinin depolamaya bağlı olarak haftalık viskozite ölçüm sonuçlarındaki farklılıkların, esansiyel yağlarla hazırlanan emülsiyonlarda stabilizör ve esansiyel yağ miktar optimizasyonu ile ilgili olduğu ve portakal suyunda depolamaya bağlı olarak faz ayrımının (su ve posa) yaşanması nedeniyle analizler gerçekleştirilirken homojen örnek alımının sağlanamadığından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

#### 4.5.2. Toplam Fenolik Madde Miktarları

Depolama süresi boyunca (bir ay) mikroemülsiyon ilave edilmiş portakal sularının haftalık periyotlarda toplam fenol miktarları belirlenmiştir. Kontrol gurubu olarak emülsiyon ilave edilmemiş portakal suyu kullanılmıştır. Toplam fenol sonuçları Tablo 18’de verilmiştir.

Tablo 18  
Emülsiyon ilave edilen portakal sularının toplam fenolik madde miktarları

Süre	mg gallik asit/L		
	Kontrol	PSAP	PSAZ
0. gün	398,1 ± 7,8 <sup>Ab</sup>	665,2 ± 4,1 <sup>Aa</sup>	739,9 ± 3,9 <sup>Aa</sup>
1. hafta	397,8 ± 6,6 <sup>Ab</sup>	622,4 ± 4,1 <sup>ABa</sup>	663,5 ± 7,5 <sup>Ba</sup>
2. hafta	396,4 ± 5,3 <sup>Ab</sup>	602,2 ± 3,1 <sup>Ba</sup>	620,2 ± 7,8 <sup>BCa</sup>
3. hafta	346,4 ± 3,5 <sup>ABb</sup>	564,9 ± 3,2 <sup>BCa</sup>	577,4 ± 1,5 <sup>Ca</sup>
4. hafta	332,2 ± 7,1 <sup>Bb</sup>	511,9 ± 4,8 <sup>Ca</sup>	536,4 ± 2,5 <sup>Da</sup>

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). <sup>a-d</sup> Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAZ: Arap zıncığı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Tablo 18 incelendiğinde PSAP ve PSAZ örneklerinde fenolik madde içerikleri bakımından önemli fark olmadığı belirlenmiştir. Tüm örneklerde depolamaya bağlı olarak haftalık periyotlarda toplam fenolik madde içeriklerinde düzenli bir düşüş gözlemlenmektedir. Kontrol örneğinin toplam fenolik madde içeriğinde depolama sonunda %16,5, PSAP örneğinde %23,0, PSAZ örneğinde %27,5 azalma olduğu saptanmıştır.

Rapisarda ve ark. (1999) yapmış oldukları çalışmada Valencia-late çeşidi portakal suyunda, Folin-Ciocalteu yöntemi ile belirlenen toplam fenol miktarını 488 mg/mL ferulik asit eşdeğeri olarak belirlemişlerdir. El (2008) yapmış olduğu çalışmada portakal nektarında toplam fenolik madde miktarını 692 mg/L olarak saptamıştır. Kelebek ve Selli (2011) yapmış oldukları bir çalışmada, portakal suyunun toplam fenolik madde içeriğini 214,04 mg/L olarak belirlemiştir. Kelebek ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada ise portakal suyunun toplam fenolik madde içeriğini 317,36 mg/L olarak belirlemiştir. Tablo 18 incelendiğinde amilopektin ve arap zankı emülsiyonlarının portakal suyuna ilave edilmeleriyle toplam fenolik madde miktarının artması, defne esansiyel yağının fenolik madde içeriği açısından yüksek olduğunu göstermektedir.

#### 4.5.3. Antioksidan Aktivite Analiz Sonuçları

TEAC yöntemine göre gerçekleştirilen antioksidan aktivite analizi, örneklere haftalık periyotlarda uygulanmıştır. Kontrol gurubu olarak emülsiyon ilave edilmemiş portakal suyu kullanılmıştır. Antioksidan aktivite düzeyindeki değişimler Tablo 19’da verilmiştir.

Tablo 19  
Emülsiyon ilave edilen portakal sularının antioksidan aktivite sonuçları

Süre	mM troloks/mL		
	Kontrol	PSAP	PSAZ
0. gün	2,58 ± 0,01 <sup>Ab</sup>	3,36 ± 0,24 <sup>Aa</sup>	3,47 ± 0,11 <sup>Aa</sup>
1. hafta	2,35 ± 0,02 <sup>Ab</sup>	3,49 ± 0,12 <sup>Aa</sup>	3,67 ± 0,04 <sup>Aa</sup>
2. hafta	2,35 ± 0,00 <sup>Ab</sup>	3,55 ± 0,02 <sup>Aa</sup>	3,48 ± 0,02 <sup>Aa</sup>
3. hafta	2,29 ± 0,00 <sup>Ab</sup>	3,24 ± 0,00 <sup>Aa</sup>	3,50 ± 0,01 <sup>Aa</sup>
4. hafta	2,23 ± 0,00 <sup>Ab</sup>	2,54 ± 0,05 <sup>Bb</sup>	3,49 ± 0,03 <sup>Aa</sup>

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). <sup>a-b</sup> Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAP: Arap zankı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Aylık depolama süresince örneklere yapılan antioksidan aktivite analizi sonuçlarına göre (Tablo 19) defne esansiyel yağı ile hazırlanmış mikroemülsiyon eklenen portakal sularının istatistiksel olarak kontrol örneklerine göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Kontrol örneği için antioksidan aktivite sonucu başlangıçta 2,58 mM troloks/mL iken, PSAP örneğinde 3,36 mM troloks/mL, PSAZ örneğinde ise 3,47 mM troloks/mL’dir. Depolama sonunda ise kontrol grubu istatistiksel olarak PSAP örneği ile benzer olmasına karşın PSAZ örneği ile farklılık göstermektedir ve PSAZ

örneğin diğer tüm örneklere göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmektedir. Yapılan bir çalışmada toplam fenolik madde içeriği ile antioksidan aktivite arasında yüksek korelasyon olduğu belirtilmiştir (Basmacıoğlu Malayoğlu ve ark., 2011).

Rapisarda ve ark. (1999), Valencia-late çeşidi portakal suyunun antioksidan aktivite düzeyini 0,74 mM troloks eşdeğeri olarak belirlemişlerdir. Arena ve ark. (2001) portakal suları üzerine yaptıkları bir çalışmada portakal sularının antioksidan aktivitelerini 2,19 mM troloks/L olduğunu belirtmiştir. Bakan (2012) ise yaptığı çalışmada portakal suyunun antioksidan aktivitesini 1,93 mM/g olarak saptamıştır.

#### **4.5.4. Antibakteriyel Aktivite Analiz Sonuçları**

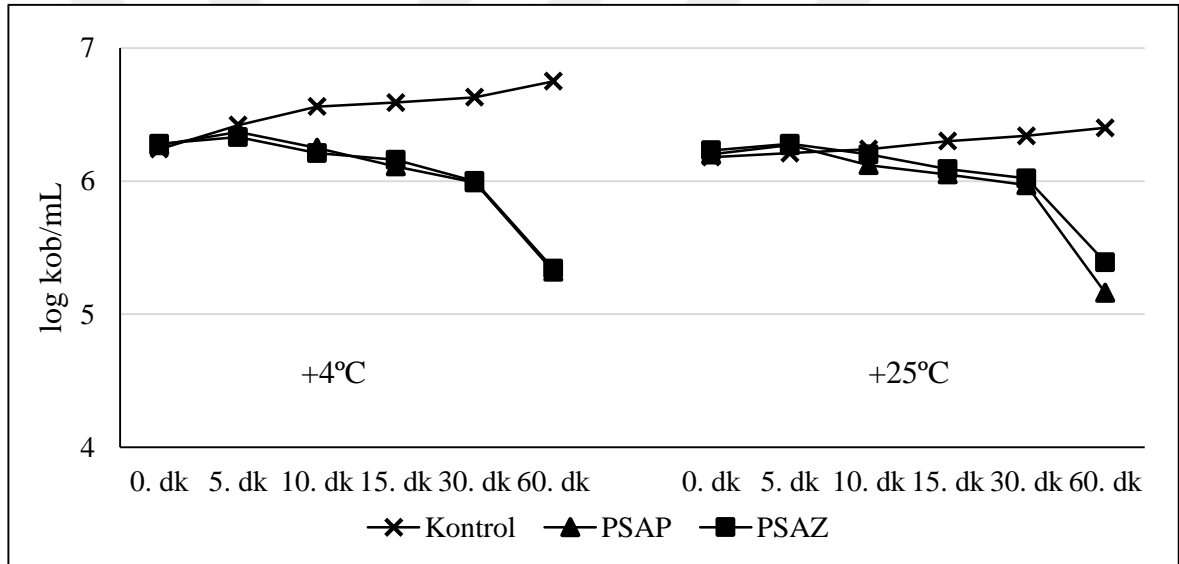
Hazırlanan mikroemülsiyonların portakal suyu ortamındaki antibakteriyel etkisinin belirlenmesi amacıyla, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* standart suşlarına karşı antibakteriyel aktivite analizleri gerçekleştirilmiştir. Kontrol çalışması olarak ise emülsiyon ilave edilmemiş portakal sularına inoküle edilen bakteri referans suşları aynı koşullarda inkübe edilerek eş zamanlı sayımları gerçekleştirilmiştir. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyonların portakal suyu ortamında *E. coli*'ye karşı inaktivasyon kinetiği sonuçları Tablo 20'de, Tablo 20'de bulunan verilere ait grafikler ise Şekil 10'da verilmiştir. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyonların portakal suyu ortamında *S. aureus*'a karşı inaktivasyon kinetiği sonuçları ise Tablo 21'de, Tablo 21'de bulunan verilere ait grafikler ise Şekil 11'de verilmiştir.

Tablo 20

Emülsiyon ilave edilen portakal sularının *E. coli*'ye karşı inaktivasyon kinetiği sonuçları (log kob/mL)

		İnkübasyon süresi					
		0. dk	5. dk	10. dk	15. dk	30. dk	60. dk
+4°C	Kontrol	6,18 ± 0,01	6,21 ± 0,02	6,24 ± 0,01	6,30 ± 0,01	6,34 ± 0,01	6,40 ± 0,00
	PSAP	6,20 ± 0,01	6,27 ± 0,04	6,12 ± 0,01	6,05 ± 0,02	5,97 ± 0,02	5,16 ± 0,05
	PSAZ	6,23 ± 0,00	6,28 ± 0,03	6,20 ± 0,01	6,09 ± 0,02	6,02 ± 0,02	5,39 ± 0,04
		İnkübasyon süresi					
		0. dk	5. dk	10. dk	15. dk	30. dk	60. dk
+25°C	Kontrol	6,24 ± 0,01	6,42 ± 0,01	6,56 ± 0,00	6,59 ± 0,00	6,63 ± 0,00	6,75 ± 0,00
	PSAP	6,27 ± 0,02	6,37 ± 0,01	6,25 ± 0,02	6,11 ± 0,01	5,99 ± 0,01	5,32 ± 0,06
	PSAZ	6,28 ± 0,01	6,33 ± 0,00	6,21 ± 0,02	6,16 ± 0,01	6,00 ± 0,01	5,34 ± 0,08

PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAP: Arap zamkı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler "ortalama ± standart hata" olarak verilmiştir.



Şekil 10. Emülsiyon ilave edilen portakal sularının *E. coli*'ye karşı inaktivasyon kinetiği

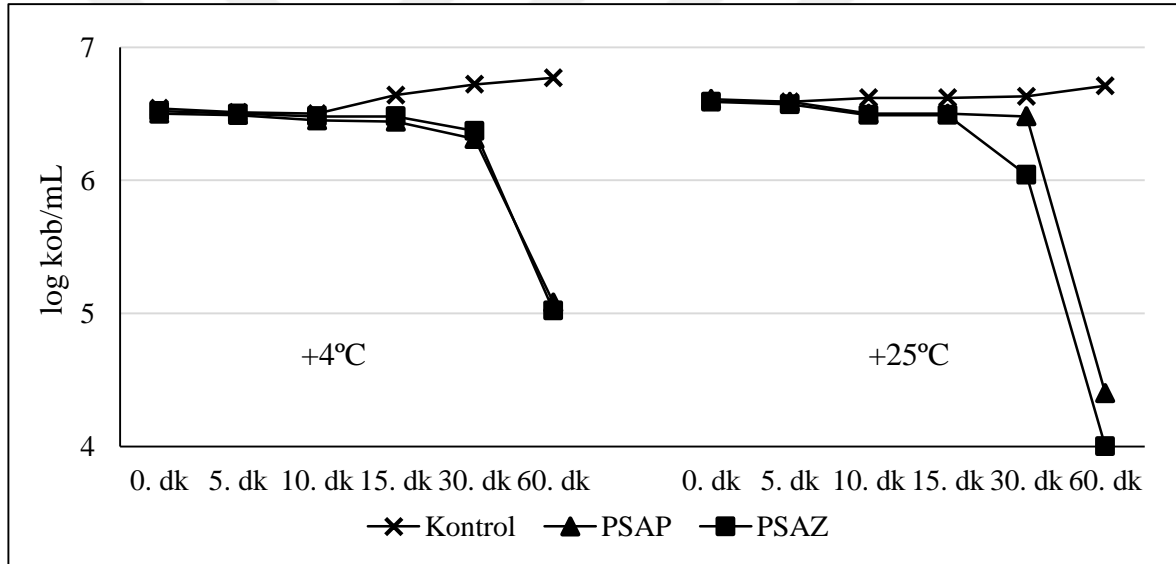
Defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyonların portakal suyu ortamındaki inaktivasyon kinetiği sayımlarına göre *E. coli* için, +4°C'de kontrol grubunda 60 dakika sonunda 0,22 log'luk bir artış görülürken, PSAP grubunda 60 dakika sonunda 1,04 log'luk, PSAZ grubunda 60 dakika sonunda 0,84 log'luk bir azalma görülmektedir. +25°C'de ise kontrol grubunda 60 dakika sonunda 0,51 log'luk bir artış görülürken, PSAP grubunda 60 dakika sonunda 0,95 log'luk, PSAZ grubunda 60 dakika sonunda 0,94 log'luk bir azalma görülmektedir.

Tablo 21

Emülsiyon ilave edilen portakal sularının *S. aureus*'a karşı inaktivasyon kinetiği sonuçları (log kob/mL)

		İnkübasyon süresi					
		0. dk	5. dk	10. dk	15. dk	30. dk	60. dk
+4°C	Kontrol	6,59 ± 0,02	6,59 ± 0,01	6,62 ± 0,01	6,62 ± 0,01	6,63 ± 0,01	6,71 ± 0,02
	PSAP	6,61 ± 0,00	6,59 ± 0,01	6,50 ± 0,01	6,50 ± 0,01	6,48 ± 0,02	4,40 ± 0,04
	PSAZ	6,59 ± 0,02	6,57 ± 0,02	6,49 ± 0,02	6,49 ± 0,03	6,04 ± 0,01	4,00 ± 0,15
		İnkübasyon süresi					
		0. dk	5. dk	10. dk	15. dk	30. dk	60. dk
+25°C	Kontrol	6,54 ± 0,02	6,51 ± 0,02	6,50 ± 0,01	6,64 ± 0,03	6,72 ± 0,01	6,77 ± 0,01
	PSAP	6,50 ± 0,02	6,49 ± 0,01	6,45 ± 0,01	6,44 ± 0,01	6,31 ± 0,02	5,08 ± 0,02
	PSAZ	6,52 ± 0,02	6,50 ± 0,01	6,48 ± 0,01	6,48 ± 0,01	6,37 ± 0,03	5,02 ± 0,02

PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAP: Arap zamkı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler "ortalama ± standart hata" olarak verilmiştir.



Şekil 11. Emülsiyon ilave edilen portakal sularının *S. aureus*'a karşı inaktivasyon kinetiği

Defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyonların portakal suyu ortamındaki inaktivasyon kinetiği sayımlarına göre *S. aureus* için, +4°C'de kontrol grubunda 60 dakika sonunda 0,12 log'luk bir artış görülürken, PSAP grubunda 60 dakika sonunda 2,21 log'luk, PSAZ grubunda 60 dakika sonunda 2,59 log'luk bir azalma görülmektedir. +25°C'de ise kontrol grubunda 60 dakika sonunda 0,23 log'luk bir artış görülürken, PSAP grubunda 60 dakika sonunda 1,42 log'luk, PSAZ grubunda 60 dakika sonunda 1,50 log'luk bir azalma görülmektedir.

Şekil 10 ve 11 incelendiğinde her iki sıcaklık için de PSAP ve PSAZ emülsiyonları eklenmiş portakal sularının *E. coli* ve *S. aureus* üzerine kontrol grubuna karşı inhibe edici özelliğinin yüksek olduğu görülmektedir. *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı inhibe edici etki özellikle 30. dakikadan sonra daha belirgin olmuştur.

#### 4.5.5. Toplam Canlı Aerobik Mezofilik Bakteri ve Maya-Küf Sayım Sonuçları

Mikroemülsiyonların portakal suyu ortamındaki TCAMB ve maya-küf sayımlarını gerçekleştirmek amacıyla, bir haftalık ve bir aylık depolama uygulanarak bir haftalık depolama sürecinde günlük, bir aylık depolama sürecinde ise haftalık periyotlarda ekimler gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu olarak emülsiyon ilave edilmemiş portakal suyu kullanılmıştır. TCAMB ve maya-küf sayımları gerçekleştirilirken farklı depolama sürelerinin uygulanma nedeni; ilk hafta oluşabilecek TCAMB ve maya-küf sayılarındaki değişim sonuçlarının daha net görülebilmesidir. Ayrıca aylık depolama örneklerinin ilk bir haftalık depolama sürecinde, her gün ekimlerin gerçekleştirilmesiyle oluşabilecek kontaminasyon riskinin azaltılmasıdır. Haftalık depolama süresince TCAMB ve maya-küf sayımlarının sonuçları Tablo 22 ve 23'te, aylık depolama süresince TCAMB ve maya-küf sayımlarının sonuçları ise Tablo 24 ve 25'te verilmiştir.

Tablo 22

Haftalık depolama süresince portakal sularındaki TCAMB sayıları (log kob/mL)

		İnkübasyon süresi							
		0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
+4°C	Kontrol	3,59±0,02	3,41±0,03	3,69±0,00	3,72±0,08	3,83±0,06	3,93±0,08	3,92±0,08	3,96±0,02
	PSAP	3,60±0,14	4,29±0,41	4,63±0,76	4,28±0,14	4,29±0,07	4,53±0,11	4,49±0,11	4,51±0,06
	PSAZ	3,27±0,04	3,50±0,04	3,69±0,15	4,14±0,03	4,12±0,01	4,23±0,06	4,31±0,04	4,41±0,05
		İnkübasyon süresi							
		0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
+25°C	Kontrol	3,60±0,07	4,83±0,09	4,93±0,02	5,61±0,29	6,46±0,13	6,64±0,15	7,16±0,01	8,43±0,18
	PSAP	3,58±0,15	5,93±0,12	3,38±0,10	4,65±0,04	5,99±0,07	6,67±0,21	6,20±0,19	6,00±0,23
	PSAZ	3,58±0,10	6,35±0,12	5,06±0,67	4,79±0,12	6,15±0,16	7,59±0,11	5,53±0,56	6,51±0,28

PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAP: Arap zamkı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler "ortalama ± standart hata" olarak verilmiştir.

Emülsiyon eklenen portakal sularında ve kontrol grubunda yapılan TCAMB sayımları sonucunda (Tablo 22), +4°C'de depolanan örneklerde kontrol grubunda yedinci günün sonunda 0,37, PSAP grubunda 0,91, PSAZ grubunda 1,14 log'luk bir artış olduğu görülmektedir. +25°C'de depolanan örneklerde ise kontrol grubunda yedinci günün sonunda 4,83, PSAP grubunda 2,42, PSAZ grubunda 2,93 log'luk bir artış görülmektedir.



Tablo 23

Haftalık depolama süresince portakal sularındaki maya-küf sayıları (log kob/mL)

		İnkübasyon süresi							
		0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
+4°C	Kontrol	3,78±0,08	3,56±0,04	3,68±0,00	3,40±0,26	3,91±0,02	3,89±0,00	3,99±0,06	4,01±0,01
	PSAP	3,42±0,07	3,94±0,17	4,25±0,11	4,30±0,14	4,26±0,17	4,50±0,09	4,33±0,21	4,73±0,20
	PSAZ	3,44±0,08	3,72±0,09	3,95±0,07	4,11±0,03	4,07±0,08	4,20±0,06	4,26±0,06	4,30±0,03
		İnkübasyon süresi							
		0. gün	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
+25°C	Kontrol	3,76±0,06	4,10±0,01	4,77±0,07	4,13±0,04	6,62±0,01	7,24±0,49	6,54±0,07	7,86±0,15
	PSAP	3,61±0,09	5,04±0,14	3,26±0,57	5,24±0,06	5,64±0,36	5,96±0,26	6,03±0,18	5,69±0,34
	PSAZ	3,66±0,13	4,32±0,28	4,31±0,19	5,36±0,33	5,97±0,12	5,99±0,33	5,53±0,59	6,03±0,16

PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAP: Arap zamkı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Defne esansiyel yağı ile hazırlanmış mikroemülsiyon eklenen portakal sularında ve kontrol grubunda yapılan maya-küf sayımları sonucunda (Tablo 23), +4°C’de depolanan örneklerde kontrol grubunda 7 gün sonunda 0,23, PSAP grubunda 1,31, PSAZ grubunda 0,86 log’luk bir artış görülürken; +25°C’de depolanan örneklerde ise kontrol grubunda 7 gün sonunda 4,10, PSAP grubunda 2,08, PSAZ grubunda 2,37 log’luk bir artış görülmektedir. Amilopektin ve arap zamkı eklenmiş, +25°C’de depolanan portakal sularında kontrol grubuna göre maya-küf gelişiminin azaldığı saptanmıştır.

Tablo 24

Aylık depolama süresince portakal sularındaki TCAMB sayıları (log kob/mL)

		Depolama süresi				
		0. gün	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
Kontrol		3,75 ± 0,03	6,73 ± 0,03	7,48 ± 0,0	6,07 ± 0,03	6,38 ± 0,11
PSAP		3,86 ± 0,05	5,85 ± 0,77	5,39 ± 0,37	5,98 ± 0,05	6,62 ± 0,37
PSAZ		3,67 ± 0,10	5,31 ± 0,32	5,30 ± 0,23	6,05 ± 0,06	6,94 ± 0,02

PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAP: Arap zamkı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Defne esansiyel yağı ile hazırlanmış mikroemülsiyon eklenen portakal sularında ve kontrol grubunda +4°C sıcaklıkta TCAMB sayımları sonucunda (Tablo 24), emülsiyon eklenen portakal sularında ikinci haftaya kadar, kontrol grubuna göre TCAMB yükünün az olduğu görülmektedir.

Tablo 25

Aylık depolama süresince portakal sularındaki maya-küf sayıları (log kob/mL)

	Depolama süresi				
	0. gün	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
Kontrol	3,84 ± 0,03	4,34 ± 0,00	6,66 ± 0,02	5,68 ± 0,15	7,07 ± 0,17
PSAP	4,02 ± 0,03	4,69 ± 0,18	5,25 ± 0,49	4,18 ± 0,13	5,87 ± 0,37
PSAZ	3,53 ± 0,20	4,67 ± 0,02	4,78 ± 0,08	5,76 ± 0,10	6,26 ± 0,28

PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAP: Arap zamkı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Defne esansiyel yağı ile hazırlanmış mikroemülsiyon eklenen portakal sularında ve kontrol grubunda +4°C sıcaklıkta maya-küf sayımları sonucunda (Tablo 25), kontrol grubunda 4 hafta sonunda 3,23, PSAP grubunda 1,85, PSAZ grubunda 2,73 log'luk bir artış görülmektedir. Depolama sonunda gerçekleştirilen sayımlar sonucunda her iki örnek grubunda da kontrol örneğine göre maya-küf sayılarının daha düşük olduğu görülmüştür. Bir haftalık ve bir aylık depolama süresince TCAMB ve maya-küf sayılarındaki dalgalanmaların, çalışmalar aseptik koşullarda gerçekleştirilmesine rağmen, portakal sularında pastörizasyon işleminin gerçekleştirilmemesi ve portakal suyunun elde edildiği portakallar üzerinde doğal mikroorganizma florasının bulunmasından kaynaklı olduğu düşünülmektedir.

#### 4.5.6. Uçucu Bileşenler

Hazırlanan örnekler +4°C'de 1 ay depolanmış ve haftalık periyotlarda GC-MS analizleri gerçekleştirilmiştir. Defne esansiyel yağı ile hazırlanmış mikroemülsiyonların eklendiği portakal sularında ve kontrol grubunda (emülsiyon ilave edilmemiş taze sıkılmış portakal suyu) uçucu bileşenler tanımlanıp miktarları belirlenmiştir. Amilopektin ile hazırlanmış mikroemülsiyonların eklendiği portakal suyunda ve kontrol grubunda belirlenen uçucu bileşenler ve miktarları Tablo 26'da, arap zamkı ile hazırlanmış mikroemülsiyonların eklendiği portakal suyunda ve kontrol grubunda belirlenen uçucu bileşenler ve miktarları Tablo 27'de verilmiştir.

Tablo 26

Amilopektin emülsiyonu ilave edilen portakal sularının depolama boyunca uçucu bileşenleri ( $\mu\text{g/L}$ )

RI	Uçucu bileşenler	Kontrol					DAP				
		0. gün	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	0. gün	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
460	Ethanol	553±98	978±448	1139±12	2712±603	2954±145	511±74	625±46	593±329	1001±3	2668±555
577	Acetic acid, ethyl ester	127±17	206±46	1162±49	2246±42	2469±13	45±13	116±36	353±94	477±13	795±262
731	3-Methyl-1-butanol	79±1	162±77	165±4	302±47	297±18	37±5	77±22	101±16	153±25	517±127
735	2-Methyl-1-butanol	37±0	74±36	111±2	193±32	193±12	15±2	27±5	32±11	46±5	127±32
800	Hexanal	522±32	354±17	412±18	305±54	294±16	458±8	458±80	349±132	207±114	76±21
842	2-Butenoic acid, ethyl ester	27±5	12±3	19±3	14±2	13±0	20±6	26±6	17±10	13±6	8±0
846	Ethyl 2-methylbutyrate	24±2	14±7	18±3	16±4	15±1	16±4	19±4	14±7	13±4	8±3
926	Thujene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
933	alpha-pinene	23±8	28±22	12±0	9±3	10±0	-	-	-	-	-
975	Sabinene	-	-	-	-	-	19±3	-	-	-	-
979	2-beta-pinene	14±4	28±22	20±5	16±0	26±1	378±15	242±93	137±2	79±22	91±15
988	beta-Myrcene	164±75	108±14	65±13	51±16	54±2	463±104	495±121	237±84	167±73	185±8
997	2,4-Heptadienal, (E,E)-	32±11	10±0	17±3	12±3	112±1	42±5	32±3	14±5	6±3	29±1
1007	L-Phellandrene	9±2	16±5	29±3	19±9	22±8	68±4	76±19	65±5	31±6	40±8
1018	alpha terpinene	-	-	-	-	-	176±4	234±73	137±6	69±12	116±17
1026	m-cymene	-	-	-	-	-	247±2	308±81	322±0	221±82	199±14
1033	Limonene	12413±419	22537±448	7866±277	7202±1471	7857±103	22597±332	23551±411	14120±429	10545±489	10720±102
1036	1,8-Cineole	-	-	-	-	-	18623±172	17703±123	18439±80	14833±262	14776±504
1059	gamma-terpinene	-	-	-	-	-	407±8	511 ±158	254±42	183±51	266±39
1086	alpha-terpinolene	-	-	-	-	-	104±4	127±33	106±8	59±17	79±12
1091	Dehydro-p-cymen	-	-	-	-	-	10±1	12±3	28±13	10±3	8±1
1105	Linalool L	54±15	41±9	41±0	42±6	39±2	426±47	377±13	374±56	303±71	300±18
1166	Pinocarvone	-	-	-	-	-	70±5	51±1	37±6	21±7	9±3
1173	Linalyl propionate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1176	Borneol L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1184	4-Terpineol	-	-	-	-	-	2402±129	2322±156	2493±115	1929±349	1796±438
1193	Myrtenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1197	alpha Terpeneol	143±31	177±92	145±4	158±22	155±13	618±53	951±113	1245±43	1252±31	1571±383
1287	Endobornyl acetate	-	-	-	-	-	31±0	24±3	19±3	16±4	18±3
1315	Pseudolimonene	-	-	-	-	-	118±3	99±12	82±17	73±18	80±11
1349	alpha terpinenyl acetate	-	-	-	-	-	1976±3	1671±20	1378±336	1229±343	1315±235
1357	Neryl acetate	-	-	-	-	-	20±0	13±1	12±2	9±2	9±2
1398	Methyl eugenol	-	-	-	-	-	176±7	177±15	168±22	129±26	87±33
1499	Valencene	158±74	142±50	111±20	115±6	121±7	275±75	186±11	133±75	110±63	112±27

PSAP: Amilopektin emülsiyonu ilave edilmiş portakal suyu, -: Belirlenememiştir. Veriler "ortalama ± standart" hata olarak verilmiştir.

Tablo 27

Arap zamkı emülsiyonu ilave edilen portakal sularının depolama boyunca uçucu bileşenleri ( $\mu\text{g/L}$ )

RI	Uçucu bileşenler	Kontrol					PSAZ				
		0. gün	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta	0. gün	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
460	Ethanol	553±98	978±448	1139±12	2712±603	2954±145	435±6	622±7	688±29	945±24	3299±158
577	Acetic acid, ethyl ester	127±17	206±46	1162±49	2246±42	2469±13	37±2	95±3	269±4	495±15	1437±1059
731	3-Methyl-1-butanol	79±1	162±77	165±4	302±47	297±18	36±1	63±6	87±24	116±36	429±88
735	2-Methyl-1-butanol	37±0	74±36	111±2	193±32	193±12	15±0	30±2	34±2	54±6	165±11
800	Hexanal	522±32	354±17	412±18	305±54	294±16	385±7	501±93	334±157	228±96	197±102
842	2-Butenoic acid, ethyl ester	27±5	12±3	19±3	14±2	13±0	17±1	29±5	17±6	14±3	12±3
846	Ethyl 2-methylbutyrate	24±2	14±7	18±3	16±4	15±1	13±3	19±1	15±1	14±0	-
926	Thujene	-	-	-	-	-	12±1	10±1	-	-	-
933	alpha-pinene	23±8	28±22	12±0	9±3	10±0	205±12	236±31	121±8	110±7	124±8
975	Sabinene	-	-	-	-	-	5±2	-	-	-	-
979	2-beta-pinene	14±4	28±22	20±5	16±0	26±1	201±13	230±28	127±8	122±9	126±0
988	beta-Myrcene	164±75	108±14	65±13	51±16	54±2	349±34	347±27	235±10	190±24	208±6
997	2,4-Heptadienal, (E,E)-	32±11	10±0	17±3	12±3	112±1	31±5	27±0	10±4	7±2	42±18
1007	L-Phellandrene	9±2	16±5	29±3	19±9	22±8	61±2	75±4	49±3	49±2	48±0
1018	alpha terpinene	-	-	-	-	-	166±18	241±23	130±1	118±1	120±0
1026	m-cymene	-	-	-	-	-	220±14	336±27	287±34	308±60	312±28
1033	Limonene	12413±419	22537±448	7866±277	7202±1471	7857±103	16412±138	20469±188	12815±491	11442±547	12647±945
1036	1,8-Cineole	-	-	-	-	-	17026±981	21691±131	17049±785	19368±738	21313±466
1059	gamma-terpinene	-	-	-	-	-	387±24	537±56	310±27	264±52	308±3
1086	alpha-terpinolene	-	-	-	-	-	94±5	139±15	87±4	89±4	96±1
1091	Dehydro-p-cymen	-	-	-	-	-	7±1	13±2	9±2	16±4	14±0
1105	Linalool L	54±15	41±9	41±0	42±6	39±2	369±31	418±38	349±18	341±2	322±13
1166	Pinocarvone	-	-	-	-	-	65±3	62±5	389±3	26±2	14±2
1173	Linalyl propionate	-	-	-	-	-	95±2	122±10	93±1	91±4	81±5
1176	Borneol L	-	-	-	-	-	14±0	13±4	16±1	19±1	20±1
1184	4-Terpineol	-	-	-	-	-	2368±96	2951±268	2479±59	2519±88	2376±81
1193	Myrtenol	-	-	-	-	-	12±1	16±2	11±2	212±2	19±1
1197	alpha Terpeneol	143±31	177±92	145±4	158±22	155±13	560±18	1020±125	1089±354	1504±61	1686±771
1287	Endobornyl acetate	-	-	-	-	-	30±3	32±3	26±4	25±2	27±1
1315	Pseudolimonene	-	-	-	-	-	118±12	124±15	55±43	103±5	104±0
1349	alpha terpinenyl acetate	-	-	-	-	-	1940±173	2116±258	1801±144	1734±65	1752±16
1357	Neryl acetate	-	-	-	-	-	19±1	16±3	10±4	11±2	8±1
1398	Methyl eugenol	-	-	-	-	-	158±112	227±21	179±14	157±3	126±8
1499	Valencene	158±74	142±50	111±20	115±6	121±7	218±46	208±27	122±7	101±8	109±1

PSAZ: Arap zamkı emülsiyonu ilave edilmiş portakal suyu, -: Belirlenememiştir. Veriler “ortalama  $\pm$  standart” hata olarak verilmiştir.

Defne esansiyel yağı karakteristik özelliği olarak en yüksek oranda 1,8-cineole uçucu bileşenini içermektedir. 1,8-cineole bileşenini izleyen sırada alpha terpinyl acetate ve sabinene uçucu bileşenleri gelmektedir.

Tablo 25 ve Tablo 26 incelendiğinde defne esansiyel yağı mikroemülsiyonu eklenmiş ve eklenmemiş portakal sularında yapılan GC-MS analiz sonuçlarına göre limonene, 1,8-cineole, 4-terpineol, alpha terpinyl acetate uçucu bileşenlerinin diğer bileşenlere oranla daha yüksek oranda olduğu saptanmıştır. Kontrol örneklerinde (taze sıkılmış portakal suyu) 1,8-cineole, 4-terpineol ve sabinene uçucu bileşenine rastlanmamıştır. Amilopektin emülsiyonu eklenen portakal suyunda (PSAP) depolamanın sıfıncı gününde 1,8-cineole uçucu bileşen oranı %32,32 iken, dördüncü hafta sonunda %32,52 olarak belirlenmiştir. Arap zımkı emülsiyonu eklenen portakal suyunda (PSAZ) depolamanın sıfıncı gününde 1,8-cineole uçucu bileşen oranı %34,63 iken, dördüncü hafta sonunda %38,80 olarak belirlenmiştir. Örneklerde depolama süresi boyunca 1,8-cineole miktarında büyük bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Amilopektin emülsiyonu eklenen portakal suyunda (PSAP) depolamanın sıfıncı gününde alpha terpinyl acetate oranı %3,47, 4-terpineol oranı %4,19 iken, dördüncü hafta sonunda alpha terpinyl acetate oranı %3,04, 4-terpineol oranı %4,10 olarak belirlenmiştir. Arap zımkı emülsiyonu eklenen portakal suyunda (PSAZ) depolamanın sıfıncı gününde alpha terpinyl acetate oranı %3,94, 4-terpineol oranı %4,82 iken dördüncü hafta sonunda alpha terpinyl acetate oranı %3,19, 4-terpineol oranı %4,33 olarak belirlenmiştir. Sabinene uçucu bileşeni oranı, sıfıncı günde PSAP örneğinde %0,034 iken, PSAZ örneğinde %0,009 oranında belirlenmiştir. Sabinene bileşeni PSAP ve PSAZ örneklerinde depolamanın sadece başında (0. gün) belirlenmiştir. Diğer bileşenlere göre daha yüksek bir orana sahip olan, defne esansiyel yağının karakteristik uçucu bileşeni olmayan limonene uçucu bileşeninin portakal suyu kaynaklı olduğu düşünülmektedir. limonene uçucu bileşen oranı kontrol grubunda sıfıncı günde %57,62 iken, dördüncü hafta sonunda %36,40; PSAP grubunda sıfıncı günde %39,00 iken, dördüncü hafta sonunda %25,17; PSAZ grubunda sıfıncı günde %33,33 iken, dördüncü hafta sonunda %22,99 olarak belirlenmiştir. Qiao ve ark. (2008) Jinchın tatlı portakal (*Citrus sinensis* L.) üzerine yapmış oldukları çalışmada, gerçekleştirdikleri GC-MS analizine göre portakal suyunda belirledikleri uçucu bileşenlerin %77,80'ini limonene bileşeninin oluşturduğunu saptamışlardır. Cuevas ve ark. (2017) ise yapmış oldukları çalışmada portakal suyunda en yüksek oranda limonene bileşeninin olduğunu saptamışlardır.

#### 4.5.7. Duyusal Analiz Sonuçları

Defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyonlar portakal suyuna eklenerek tanımlayıcı duyusal analizleri gerçekleştirilmiştir. Mikroemülsiyon eklenmiş portakal suları, emülsiyon eklenmemiş ve sadece stabilizör (amilopektin ve arap zankı) ile hazırlanan çözeltilerin eklendiği portakal suları eğitilmiş panelistlere karışık olarak sunulmuştur. Mikroemülsiyon eklenmemiş taze sıkılmış portakal suyu kontrol grubu olarak kabul edilmiş ve defne esansiyel yağı içeren ve içermeyen emülsiyonların eklendiği portakal suları ile karşılaştırılmıştır. Defne esansiyel yağı kullanılarak elde edilmiş emülsiyonların portakal suyuna ilavesi (%0,5) ile gerçekleştirilmiş duyusal değerlendirme sonuçları Tablo 28’de verilmiştir.

Tablo 28

Emülsiyon ilave edilen portakal sularında duyusal değerlendirme sonuçları

Örnek	Tatlı	Ekşi	Acı	Çiçeksi	Reçine	Sitrus	Mentol	Burukluk	Aftertaste*
PS	3,4±0,8 <sup>AB</sup>	5,4±0,5 <sup>A</sup>	0,9±0,4 <sup>BC</sup>	-	2,1±2,5 <sup>A</sup>	8,0±3,6 <sup>A</sup>	0,1±0,4 <sup>C</sup>	0,7±0,6 <sup>A</sup>	-
PSY	3,1±0,5 <sup>B</sup>	5,5±0,7 <sup>A</sup>	1,4±0,5 <sup>B</sup>	3,2±0,6 <sup>A</sup>	1,5±0,6 <sup>A</sup>	6,4±0,6 <sup>A</sup>	3,3±1,0 <sup>A</sup>	1,1±0,6 <sup>A</sup>	0,3±0,4 <sup>B</sup>
PS1	4,0±0,5 <sup>A</sup>	3,3±0,9 <sup>C</sup>	0,4±0,4 <sup>C</sup>	-	2,0±0,7 <sup>A</sup>	7,1±0,9 <sup>A</sup>	0,1±0,0 <sup>C</sup>	0,8±0,6 <sup>A</sup>	-
PS2	3,3±0,9 <sup>AB</sup>	4,1±0,5 <sup>BC</sup>	0,6±0,4 <sup>C</sup>	-	1,0±0,8 <sup>A</sup>	6,5±1,1 <sup>A</sup>	-	0,8±0,4 <sup>A</sup>	-
PSAP	3,3±0,6 <sup>AB</sup>	5,3±0,5 <sup>A</sup>	1,3±0,5 <sup>B</sup>	1,8±0,8 <sup>B</sup>	1,5±0,6 <sup>A</sup>	7,0±0,5 <sup>A</sup>	1,5±0,5 <sup>B</sup>	1,4±0,6 <sup>A</sup>	-
PSAZ	2,9±0,7 <sup>B</sup>	4,8±0,6 <sup>AB</sup>	2,4±0,5 <sup>A</sup>	3,9±0,8 <sup>A</sup>	1,6±0,6 <sup>A</sup>	6,1±0,7 <sup>A</sup>	3,4±0,7 <sup>A</sup>	1,4±0,7 <sup>A</sup>	1,1±0,8 <sup>A</sup>

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). PS: Portakal suyu, PSY: Portakal suyu + esansiyel yağ, PS1: Portakal suyu + amilopektin çözeltisi, PS2: Portakal suyu + arap zankı çözeltisi, PSAP: Portakal suyu + amilopektin emülsiyonu, PSAZ: Portakal suyu + arap zankı emülsiyonu, \*Kalıcı ağız hissi, -: Belirlenmemiştir. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Defne esansiyel yağı ile hazırlanan mikroemülsiyon eklenmiş portakal sularının buzdolabı koşullarında bir ay depolanması süresince de (sıfırıncı gün dahil) haftalık periyotlarda tanımlayıcı duyusal analizleri eğitilmiş panelistler tarafından gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubu olarak emülsiyon eklenmemiş taze sıkılmış portakal suları kullanılmıştır. Depolama süresince portakal sularının duyusal özelliklerindeki değişimler Tablo 29’da verilmiştir. Tüketici testi sonuçları ise Tablo 30’da verilmiştir.

Tablo 29

Emülsiyon ilave edilen portakal sularının depolama süresince duyuşal özelliklerindeki değişimler

		Depolama süresi				
		0. gün	1. hafta	2. hafta	3. hafta	4. hafta
Tatlı	Kontrol	4,33±0,21 <sup>Aa</sup>	3,67±0,33 <sup>Ab</sup>	2,25±0,17 <sup>Abc</sup>	1,58±0,15 <sup>Bc</sup>	1,08±0,08 <sup>Ac</sup>
	PSAP	4,04±0,20 <sup>Aa</sup>	3,96±0,38 <sup>Aa</sup>	2,71±0,18 <sup>Ab</sup>	3,25±0,20 <sup>Aab</sup>	0,13±0,16 <sup>Bc</sup>
	PSAZ	4,00±0,26 <sup>Aa</sup>	4,04±0,33 <sup>Aa</sup>	3,04±0,21 <sup>Aab</sup>	2,79±0,24 <sup>ABb</sup>	0,46±0,13 <sup>Bc</sup>
Ekşi	Kontrol	5,00±0,34 <sup>Aa</sup>	5,08±0,27 <sup>Aa</sup>	5,42±0,15 <sup>Aa</sup>	3,08±0,08 <sup>Ab</sup>	5,17±0,17 <sup>Ba</sup>
	PSAP	5,42±0,34 <sup>Aab</sup>	4,71±0,35 <sup>Abc</sup>	4,88±0,29 <sup>Abc</sup>	3,46±0,16 <sup>Ac</sup>	7,63±0,24 <sup>Aa</sup>
	PSAZ	5,08±0,29 <sup>Ab</sup>	4,50±0,38 <sup>Abc</sup>	4,71±0,32 <sup>Abc</sup>	3,33±0,17 <sup>Ac</sup>	6,67±0,36 <sup>Aa</sup>
Acı	Kontrol	-	1,17±0,38 <sup>Ba</sup>	1,25±0,11 <sup>Ba</sup>	1,17±0,17 <sup>Ba</sup>	0,42±0,2 <sup>Bb</sup>
	PSAP	2,50±0,22 <sup>Aa</sup>	2,42±0,35 <sup>Aa</sup>	2,00±0,17 <sup>Aa</sup>	2,17±0,26 <sup>Aa</sup>	2,71±0,14 <sup>Aa</sup>
	PSAZ	2,08±0,10 <sup>Aab</sup>	1,92±0,17 <sup>ABab</sup>	1,96±0,19 <sup>Aab</sup>	2,33±0,18 <sup>Aa</sup>	3,33±0,29 <sup>Aa</sup>
Çiçeksi	Kontrol	0,92±0,08 <sup>Ba</sup>	0,58±0,38 <sup>Ba</sup>	-	-	-
	PSAP	4,21±0,32 <sup>Aa</sup>	2,21±0,17 <sup>Ab</sup>	2,42±0,16 <sup>Ab</sup>	2,29±0,30 <sup>Ab</sup>	1,75±0,10 <sup>Ab</sup>
	PSAZ	3,75±0,38 <sup>Aa</sup>	2,33±0,25 <sup>Ab</sup>	2,21±0,14 <sup>Ab</sup>	2,04±0,22 <sup>Ab</sup>	1,42±0,16 <sup>Ab</sup>
Reçine	Kontrol	1,00±0,13 <sup>Aab</sup>	1,25±0,40 <sup>Aa</sup>	1,50±0,18 <sup>Aa</sup>	1,58±0,27 <sup>Aa</sup>	0,75±0,11 <sup>Bb</sup>
	PSAP	2,13±0,19 <sup>Aa</sup>	2,75±0,18 <sup>Aa</sup>	2,33±0,18 <sup>Aa</sup>	2,75±0,13 <sup>Aa</sup>	2,21±0,07 <sup>Aa</sup>
	PSAZ	2,29±0,25 <sup>Aa</sup>	3,08±0,26 <sup>Aa</sup>	2,38±0,19 <sup>Aa</sup>	2,13±0,23 <sup>Aa</sup>	2,17±0,13 <sup>Aa</sup>
Sirus	Kontrol	8,17±0,17 <sup>Aa</sup>	7,50±0,34 <sup>Aa</sup>	6,00±0,26 <sup>Ab</sup>	3,92±0,08 <sup>Ac</sup>	2,92±0,27 <sup>Ac</sup>
	PSAP	5,75±0,18 <sup>Ba</sup>	6,50±0,25 <sup>ABa</sup>	5,50±0,19 <sup>Aa</sup>	4,79±0,26 <sup>Ab</sup>	3,04±0,14 <sup>Ac</sup>
	PSAZ	5,92±0,18 <sup>Ba</sup>	5,96±0,22 <sup>Ba</sup>	5,67±0,20 <sup>Aab</sup>	4,50±0,17 <sup>Ab</sup>	2,67±0,39 <sup>Ac</sup>
Mentol	Kontrol	-	0,25±0,11 <sup>Ba</sup>	-	0,67±0,17 <sup>Aa</sup>	0,25±0,17 <sup>Aa</sup>
	PSAP	1,75±0,31 <sup>Aab</sup>	2,33±0,20 <sup>Aa</sup>	0,96±0,11 <sup>Abc</sup>	1,08±0,16 <sup>Abc</sup>	0,59±0,11 <sup>Ac</sup>
	PSAZ	1,58±0,45 <sup>Aa</sup>	1,54±0,24 <sup>Aa</sup>	1,38±0,07 <sup>Aab</sup>	0,98±0,12 <sup>Aab</sup>	0,50±0,12 <sup>Ab</sup>
Burukluk	Kontrol	0,83±0,11 <sup>Bb</sup>	0,17±0,11 <sup>Bb</sup>	1,25±0,21 <sup>Aab</sup>	2,08±0,08 <sup>Aa</sup>	0,17±0,11 <sup>Bb</sup>
	PSAP	2,04±0,21 <sup>Aab</sup>	1,50±0,22 <sup>Ab</sup>	1,88±0,11 <sup>Aab</sup>	2,04±0,18 <sup>Aab</sup>	2,71±0,33 <sup>Aa</sup>
	PSAZ	2,04±0,16 <sup>Aab</sup>	1,71±0,18 <sup>Ab</sup>	1,54±0,10 <sup>Ab</sup>	1,88±0,18 <sup>Aab</sup>	2,42±0,28 <sup>Aa</sup>
Aftertaste*	Kontrol	0,58±0,08 <sup>B</sup>	-	-	-	-
	PSAP	2,63±0,24 <sup>Aa</sup>	1,83±0,23 <sup>Aab</sup>	1,96±0,13 <sup>Aab</sup>	1,79±0,20 <sup>Aab</sup>	1,46±0,17 <sup>Ab</sup>
	PSAZ	2,04±0,20 <sup>Aa</sup>	1,92±0,23 <sup>Aab</sup>	1,38±0,16 <sup>Aab</sup>	1,58±0,19 <sup>Aab</sup>	1,13±0,18 <sup>Ab</sup>
Olgun Meyve	Kontrol	-	-	4,83±0,17 <sup>Aa</sup>	1,92±0,08 <sup>Ab</sup>	2,00±0,18 <sup>Ab</sup>
	PSAP	-	-	2,29±0,14 <sup>Ba</sup>	2,25±0,27 <sup>Aa</sup>	1,13±0,23 <sup>Aa</sup>
	PSAZ	-	-	1,29±0,17 <sup>Ca</sup>	2,04±0,16 <sup>Aa</sup>	1,92±0,15 <sup>Aa</sup>
Isırıcı (Bite)	Kontrol	-	-	-	-	0,25±0,11 <sup>B</sup>
	PSAP	-	-	-	0,48±0,16 <sup>Bb</sup>	4,79±0,32 <sup>Aa</sup>
	PSAZ	-	-	-	1,13±0,14 <sup>Ab</sup>	4,17±0,36 <sup>Aa</sup>
Alkol Maya	Kontrol	-	-	1,83±0,11 <sup>Ac</sup>	3,92±0,13 <sup>Ab</sup>	5,00±0,11 <sup>Aa</sup>
	PSAP	-	0,17±0,17 <sup>c</sup>	0,63±0,20 <sup>Bb</sup>	0,92±0,14 <sup>Ba</sup>	0,44±0,13 <sup>Bb</sup>
	PSAZ	-	-	0,33±0,13 <sup>Bb</sup>	1,83±0,13 <sup>Ba</sup>	0,86±0,13 <sup>Bb</sup>

<sup>A-C</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). <sup>a-c</sup> Aynı satırda farklı küçük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). PSAP: Amilopektin emülsiyonu ilave edilmiş portakal suyu, PSAP: Arap zamkı emülsiyonu ilave edilmiş portakal suyu, \*Kalıcı ağız hissi. Veriler "ortalama ± standart hata" olarak verilmiştir.

Tablo 29’da verilen sonuçlar incelendiğinde, özellikle emülsiyon ilave edilmiş portakal sularında kalıcı ağız hissi (aftertaste) değerlerinin kontrol örneğine (emülsiyon ilave edilmemiş portakal suyu) göre yüksek olduğu görülmektedir. Ayrıca tüm örneklerde depolamanın ilk haftasında alkol/maya değeri belirlenememişken, depolamanın ilerleyen süreçlerinde alkol/maya değerlerinde artış gözlemlenmiştir. Bu durumun, Tablo 25’de verilen verilere göre, kontrol grubunda ve örnek grubunda depolamaya bağlı olarak maya sayısındaki artış ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca Tablo 26 ve Tablo 27 incelendiğinde depolama süresi ilerledikçe kontrol ve örnek grubunda, etanol miktarında artış olduğu görülmektedir.

Tablo 30

Emülsiyon ilave edilen portakal sularının tüketici testi sonuçları

Örnek	Görünüş	Kıvam	Tat/Koku	Beğeni Sırası
Kontrol	6,87 ± 0,21 <sup>A</sup>	6,81 ± 0,20 <sup>A</sup>	6,70 ± 0,22 <sup>A</sup>	1,29 <sup>B</sup>
PSAP	5,94 ± 0,22 <sup>B</sup>	5,61 ± 0,22 <sup>B</sup>	3,85 ± 0,24 <sup>B</sup>	2,39 <sup>A</sup>
PSAZ	6,26 ± 0,22 <sup>AB</sup>	5,94 ± 0,24 <sup>AB</sup>	4,41 ± 0,26 <sup>B</sup>	2,32 <sup>A</sup>

<sup>A-B</sup> Aynı sütunda farklı büyük harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklar önemlidir ( $P \leq 0,05$ ). PSAP: Amilopektin emülsiyonu eklenmiş portakal suyu, PSAP: Arap zıncığı emülsiyonu eklenmiş portakal suyu. Veriler “ortalama ± standart hata” olarak verilmiştir.

Tüketici değerlendirmelerine göre, portakal suyu örnekleri, görünüş ve kıvam açısından istatistiksel olarak kontrol grubu PSAZ örneği ile benzerlik gösterirken, PSAP örneği ile farklılık göstermiştir. Tat ve koku açısından ise kontrol grubu diğer gruplardan istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Benzer şekilde, beğeni sıralamasında da ilk sırayı kontrol alırken diğer gruplar arasında farklılık saptanmamıştır. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan emülsiyonların portakal suyuna ilavesi ile gerçekleştirilen tüketici beğeni sıralamasında tüketicilerin emülsiyon ilave edilmiş portakal suyunu tercih etmeme nedeni, emülsiyonlarda defnenin karakteristik aroma bileşenlerinin baskın olması ve tüketicilerin alışkın olduğu taze sıkılmış portakal suyu tadında meydana getirdiği değişiklik olarak düşünülmektedir.



## BÖLÜM 5

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Esansiyel yağlar bitkilerin yaprak, meyve, dal vb. kısımlarından elde edilen doğal uçucu bileşenlerdir. İçlerinde birçok biyoaktif bileşen bulunmaktadır ve antifungal, antioksidan, antimikrobiyal vb. özelliklerinin olduğu bilinmektedir. Suda çözünmeyen ve yüksek uçuculuk özellikleri ile kararlı olmayan yağlardır. Çevresel faktörlerden (sıcaklık, ışık, nem vb.) oldukça etkilenen esansiyel yağların biyoaktif özelliklerinden verimli bir şekilde yararlanabilmek ve çözünürlüklerini artırmak amacıyla nano veya mikroemülsiyon halinde kullanımları daha uygun bulunmaktadır. Ayrıca bu şekilde emülsiyon haline getirilen esansiyel yağların biyoyararlılığının da arttığı bilinmektedir. Emülsiyon haline getirilmiş esansiyel yağlar mikroorganizmaların membranlarındaki lipit yapılarını bozarak hücre içi bileşenlerin dışarı sızmasına olanak sağlamaktadır.

Bu çalışmada Hatay bölgesinde yetiştirilen defne bitkisinin *Laurus nobilis* L. türünden elde edilen esansiyel yağlar, nano veya mikroemülsiyon haline getirilerek esansiyel yağları kararlı hale getirmek amaçlanmıştır. Emülsiyon formülasyonlarıyla kararlı hale getirilen defne esansiyel yağının aromatik, antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca hazırlanan emülsiyonlar taze sıkılmış portakal sularına ilave edilerek +4°C’de bir ay boyunca depolanmış ve depolama süresince haftalık periyotlarda antioksidan, antimikrobiyal, aromatik ve duyuşsal özelliklerinin ortaya konması hedeflenmiştir.

Defne yaprakları kuru olarak temin edilmiş ve nem içeriği %7,72, kül içeriği %4,34 olarak belirlenmiştir. Esansiyel yağ eldesinde kısa süre avantajı ile yüksek verimde ve nitelikli esansiyel yağ üretimi için Mikrodalga Destekli Clevenger Cihazı kullanılmıştır. Elde edilen esansiyel yağlarla kararlı emülsiyonlar elde etmek için optimizasyon çalışmaları gerçekleştirilerek, emülsiyonların parçacık boyutunu belirlemek amacıyla DLS ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Defne esansiyel yağı ile elde edilen farklı stabilizörlerle hazırlanmış emülsiyonlarda DLS ölçümlerinde parçacık boyutu açısından en düşük sonuçları veren emülsiyonlar amilopektin ve arap zankı ile hazırlanan emülsiyonlar olmuştur. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan, parçacık boyutları 328-567 nm arasında değişen, amilopektin ve arap zankı emülsiyonlarında iki aylık depolama süresince gerçekleştirilen DLS ölçümlerine göre +25°C’de depolanan emülsiyonların +4°C’de depolanan emülsiyonlara göre daha düşük parçacık boyutuna sahip olduğu ve daha stabil olduğu belirlenmiştir.

Amilopektin emülsiyonunun antioksidan aktivitesi 0,93 mM troloks/mL örnek iken arap zamkı emülsiyonunun antioksidan aktivitesi 1,19 mM troloks/mL örnek olarak saptanmıştır. Defne esansiyel yağı ve emülsiyonlarının antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde, Gram negatif bakteriye olan etkisini görmek amacıyla *Escherichia coli* ATCC 25922, Gram pozitif bakteriye olan etkisini görmek amacıyla ise *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 referans suşları kullanılmıştır. Ham defne yağının *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 referans suşuna karşı inhibe edici etkisinin *Escherichia coli* ATCC 25922 referans suşuna göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Amilopektin ve arap zamkı stabilizörleri kullanılarak formüle edilen emülsiyonlarda *E. coli* üzerine inhibe edici etki, ham defne yağına göre daha yüksek olarak belirlenmiştir. Emülsiyonların *S. aureus* üzerine inhibe edici etkisinin ise ham defne yağına göre daha düşük olduğu saptanmıştır. Defne esansiyel yağında ve emülsiyonlarda belirlenen en yüksek konsantrasyondaki uçucu bileşenler 1,8-cineole, sabinene, 4-terpineol, alpha terpinyl acetate olarak saptanmış ve en yüksek orana sahip uçucu bileşenin 1,8-cineole olduğu belirlenmiştir. Duyusal değerlendirmede ise yüksek oranda mentol aromasının olduğu saptanmıştır.

Gıda uygulaması olarak emülsiyonlar portakal suyuna ilave edilmiş ve bir aylık depolama yapılarak haftalık periyotlarda antioksidan özellikleri, GC-MS ile uçucu bileşenleri ve duyuşal özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca *E. coli* ve *S. aureus* üzerine olan antibakteriyal etkiyi belirlemek amacıyla inaktivasyon kinetiğı analizi gerçekleştirilmiştir.

Antioksidan aktivite analiz sonuçlarına göre emülsiyon ilave edilmiş portakal suyu örnekleri kontrol grubuna (emülsiyon ilave edilmemiş portakal suyu) göre yüksek antioksidan aktivite göstermiştir (0. gün). Amilopektin emülsiyonu ilave edilen portakal suyunda kontrol grubuna göre antioksidan aktivite %30'luk bir artış gösterirken, arap zamkı emülsiyonu ilave edilen portakal suyunda kontrol grubuna göre antioksidan aktivite %34'lük bir artış göstermiştir. Bir aylık depolama sonucunda ise amilopektin emülsiyonu ilave edilen portakal suyu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark saptanmamış ancak arap zamkı emülsiyonu ilave edilen portakal suyu ile kontrol grubu arasında önemli fark olduğu saptanmıştır. Depolama sonucunda kontrol grubunun antioksidan aktivitesi 2,23 mM troloks/mL örnek iken, amilopektin emülsiyonu ilave edilmiş portakal suyunun antioksidan aktivitesi 2,54 mM troloks/mL örnek, arap zamkı ilave edilmiş portakal suyunun antioksidan aktivitesi ise 3,49 mM troloks/mL örnek olarak belirlenmiştir. Portakal suyu uygulamasında gerçekleştirilen GC-MS sonuçlarına göre emülsiyon ilave edilmiş portakal sularında, defnenin karakteristik uçucu bileşeni olan 1,8-cineole bileşeni en yüksek oranda belirlenmiştir. Emülsiyon ilave edilmemiş portakal suyunda ise 1,8-cineole bileşeni

belirlenmemiştir. Duyusal değerlendirmede, emülsiyon ilave edilmiş portakal sularında, kontrol grubuna göre, reçine ve mentol aromaları yüksek oranda saptamıştır. Ayrıca esansiyel yağ kaynaklı kalıcı ağız hissi emülsiyon ilave edilmiş portakal sularında kontrol grubuna göre yüksek oranda bulunmuştur. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan emülsiyonların eklendiğı portakal sularında tüketici testi de uygulanmıştır ve tüketici testi sonuçlarına göre, tat-koku açısından en yüksek puanı kontrol grubu almıştır. Benzer şekilde, beğeni sırasında da ilk sırayı kontrol alırken emülsiyon ilave edilen portakal suları arasında farklılık saptanmamıştır.

Gerçekleştirilen inaktivasyon kinetiği sonuçlarına göre kontrol grubunda inkübasyon süresince +4 ve +25°C’de, *E. coli* ve *S. aureus* suşlarında gelişme gözlemlenirken amilopektin ve arap zamkı emülsiyonu ilave edilen portakal sularında inhibe edici etkinin olduğu saptanmıştır. Amilopektin ve arap zamkı emülsiyonlarında inhibe edici etkinin benzer olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen veriler doğrultusunda emülsiyon eklenmiş portakal sularında her iki stabilizör için de (amilopektin ve arap zamkı) antioksidan kapasitenin ve antimikrobiyel aktivitenin yüksek olduğu görülmektedir. Emülsiyonlar üzerine yapılan çalışmalarda genel olumsuzluk emülsiyon stabilitesinin sağlanamaması olmuştur. İleride farklı stabilizörlerle hazırlanan nano/mikroemülsiyon formülasyonlarının optimizasyonu üzerine de çalışmalar yapılarak nanoteknolojinin gıdalarda kullanılabilirliği artırılabilir ve hızlı bozulabilen taze meyve ve sebzeler, taze sıkılmış meyve suları, bazı et ürünleri gibi gıdalara uygulamalar sonucu etkileri incelenebilir.

Sonuç olarak bu çalışmada, yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteye sahip esansiyel yağların mikroemülsiyonlarla kararlı hale getirilerek taze gıdalarda daha etkin ve gıda güvenliği için kullanılan kimyasal koruyuculara karşı doğal alternatifler olarak kullanılabilirliği ortaya konmuştur.

## KAYNAKLAR

- Akgül, A., Kıvanç, M., ve Bayrak, A., 1989. Chemical composition and antimicrobial effect of Turkish laurel leaf oil. *Journal of Essential Oil Research*, 1(6), 277-280. doi: 10.1080/10412905.1989.9697798
- Anonim, 1987. *Baharat-Rutubet Miktarı Tayini*. Türk Standartları Enstitüsü 2134, Ankara.
- Anonim, 2013. Türk Gıda Kodeksi Baharat Tebliği. Resmi Gazete Tarihi: 16.02.2009 Resmi Gazete Sayısı: 28614. Erişim adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr>
- Anonim, 2018. Odun Dışı Orman Ürünleri Defne Değer Zincir Analizi Araştırma Raporu. Erişim adresi: <https://www.tr.undp.org>
- Anwer, K. Md, Jamil, S., Ibnouf, E. O., ve Shakeel, F., 2014. Enhanced antibacterial effects of clove essential oil by nanoemulsion. *Journal of Oleo Science*, 63(4), 347-354. doi: 10.5650/jos.ess13213
- Arena, E., Fallico, B., ve Maccarone, E., 2001. Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. *Food Chemistry*, 74, 423-427. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Artiga-Artigas, M., Acevedo-Fani, A., ve Martín-Belloso, O., 2017. Improving the shelf life of low-fat cut cheese using nanoemulsionbased edible coatings containing oregano essential oil and mandarin fiber. *Food Control*, 76, 1-12. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.01.001
- Arts, M. J. T. J., Haenen, G. R. M. M., Voss, H. P., ve Bast, A., 2001. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 787-791. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Bakan, A., 2012. Meyve sularında raf ömrü süresince antioksidan aktivite ve kalite değişimi. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr> (Tez No: 312038).
- Baratta, M. T., Damien Dorman, H. J., Deans, S. G., Biondi, D. M., ve Ruberto, G., 1998. Chemical composition, antimicrobial and antioxidative activity of laurel, sage, rosemary, oregano and coriander essential oils. *Journal of Essential Oil Research*, 10(6), 618-627. doi: 10.1080/10412905.1998.9700989
- Basmacıoğlu Malayoğlu, H., Aktaş, B., ve Yeşil Çelikleş, Ö., 2011. Bazı bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların toplam fenolik içerikleri ve antioksidan aktiviteleri. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 48(3), 211-215. doi: 10.20289/eüzfd.40697

- Başığit, B., ve Çam, M., 2017. Püskürtmeli kurutucu ile nane (*Mentha piperita* ve *Mentha spicata*) esansiyel yağı mikroenkapsülasyonu. *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 21(1), 24-34. doi: 10.29050/harranziraat.303125
- Bayaz, M., 2014. Esansiyel yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antitümör aktiviteyi. *Akademik Gıda*, 12(3), 45-53. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr>
- Bayramoğlu, B., Şahin, S., ve Sumnu, G. 2008. Solvent-free microwave extraction of essential oil from oregano. *Journal Food Engineering*, 88(4), 535-540. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/jfoodeng](http://www.elsevier.com/locate/jfoodeng)
- Bayramoğlu, B., Şahin, S., Sumnu, G., 2009. Extraction of essential oil from laurel leaves. *Separation Science and Technology*, 44(3), 722-733. doi: 10.1080/01496390802437271
- Bektaşoğlu, S., 2006. Uçucu yağlar. *Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi*. Erişim adresi: <https://kutuphane.tarimorman.gov.tr>
- Bennadja, S., Ait Kaki, Y. T., Djahoudi, A., Hadeif, Y., ve Chefrour, A., 2013. Antibiotic activity of the essential oil of laurel (*Laurus nobilis* L.) on eight bacterial strains. *Journal of Life Sciences*, 7(8), 814-819. doi: 10.17265/1934-7391/2013.08.005
- Bhargava, K., Conti, D. S., da Rocha, S. R. P., ve Zhang, Y., 2015. Application of an oregano oil nanoemulsion to the control of foodborne bacteria on fresh lettuce. *Food Microbiology*, 47, 69-73. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Bousbia, N., Abert Vian, M., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., ve Chemat, F., 2009. Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food Chemistry*, 114(1), 355-362. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)
- Büyüktuncel, S. E., 2012. Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I. *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 32(2), 209-242. Erişim adresi: [eczakder.hacettepe.edu.tr](http://eczakder.hacettepe.edu.tr)
- Celep, E., Aydın, A., ve Yeşilada, E., 2012. A comparative study on the in vitro antioxidant potentials of three edible fruits: cornelian cherry, Japanese persimmon and cherry laurel. *Food and Chemical Toxicology*, 50(9), 3329-3335. doi: 10.1016/j.fct.2012.06.010
- Cemeroğlu, B., 2007. *Gıda Analizleri* (4. baskı). Bizim Grup Basımevi, Ankara. 3-24
- Cerit, L. S., 2008. Bazı baharat uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr> (Tez No: 216654).

- Chemat, F., Lucchesi, M. E., Smadja, J., Favretto, L., Colnaghi, G., ve Visinoni, F., 2006. Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: a rapid, clean and environmentally friendly approach. *Analytica Chimica Acta*, 555(1), 157-160. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Cherrat, L., Espina, L., Bakkali, M., Garcia-Gonzalo, D., Pagan, R., ve Laglaoui, A., 2014. Chemical composition and antioxidant properties of *Laurus nobilis* L. and *Myrtus communis* L. essential oils from Morocco and evaluation of their antimicrobial activity acting alone or in combined processes for food preservation. *Journal of the Science Food Agric*, 94, 1197-1204. doi: 10.1016/j.ifset.2013.12.016
- Cuevas, F. J., Pereira-Caro, G., Moreno-Rojas, J. M., Muñoz-Redondo, J. M., ve Ruiz-Moreno, M. J., 2017. Assessment of premium organic orange juices authenticity using HPLC-HR-MS and HS-SPME-GC-MS combining data fusion and chemometrics. *Food Control*, 82, 203-211. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.06.031
- Dadaloğlu, I., ve Akdemir Evrendilek, G., 2004. Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.), and fennel (*Foeniculum vulgare*) on common foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 8255-8260. doi: 10.1021/jf049033e
- Dávila-Rodríguez, M., López-Malo, A., Palou, E., Ramírez-Corona, N., ve Jiménez-Munguía, M. T., 2019. Antimicrobial activity of nanoemulsions of cinnamon, rosemary, and oregano essential oils on fresh celery. *LWT-Food Science and Technology*, 112, 118247. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/lwt](http://www.elsevier.com/locate/lwt)
- de Campo, C., dos Santos, P. P., Costa, T. M. H., Paese, K., Guterres, S. S., Rios, A. d. O., ve Flôres, S. H., 2017. Nanoencapsulation of chia seed oil with chia mucilage (*Salvia hispanica* L.) as wall material: Characterization and stability evaluation. *Food Chemistry*, 234, 1-9. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Dean, E. W., ve Stark, D. D., 1920. A convenient method for the determination of water in petroleum and other organic emulsions. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 12(8), 486-490. doi: 10.1021/ie50125a025
- Demirdöven, A., ve Baysal, T., 2012. Elektriksel ön işlem ve ısıtma işlemlerinin portakal suyu kalitesine etkileri. *Gıda*, 37(2), 79-86. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr>

- Derwich, E., Benziane, Z., ve Boukir, A., 2009. Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4), 3818-3824. Erişim adresi: <https://www.researchgate.net>
- Donsi, F., Cuomo, A., Marchese, E., ve Ferrari, G., 2014. Infusion of essential oils for food stabilization: Unraveling the role of nanoemulsion-based delivery systems on mass transfer and antimicrobial activity. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 22, 212-220. doi: 10.1016/j.ifset.2014.01.008
- El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Ait Addi, E.H., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, F.N.R. ve Elaissari, A., 2015. Essential oils: from extraction to encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1-2), 220-243. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- El, S. N., 2008. Türkiye’de Sıklıkla Tüketilen Bazı Gıdaların Toplam Fenolik Madde İçerikleri ve Antioksidan Aktiviteleri. *Türkiye 10. Gıda Kongresi*, Erzurum, Türkiye. 45-48. Erişim adresi: <http://www.gidadernegi.org>
- Ertaş, M., Fidan, M. S., Kaya, S., ve Angın, N., 2019. Kara Ardiç (*Juniperus sabina* L.) kozalaklarından elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi üzerine mikrodalga ve hidrodestilasyon yöntemlerinin etkisi. *Artvin Çoruh Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 20(2), 272-277. Erişim adresi: <http://ofd.artvin.edu.tr>
- Ertürk, Ö., Aydın, G., ve Çol Ayvaz, M., 2020. *Laurus Nobilis* L., *Silybum Marianum* L., *Nigella Sativa* L. ve *Prunus Cerasus* L.’den soğuk pres yöntemi ile izole edilen esansiyel yağ bileşenlerinin antimikrobial ve antioksidan aktiviteleri. *Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Dergisi*, 7(2), 487-499. doi: 10.30910/turkjans.725987
- Farhat, A., Fabiano-Tixier, A. S., El Maataoui, M., Maingonnat, J. F., Romdhane, M., ve Chemat, F., 2011. Microwave steam diffusion for extraction of essential oil from orange peel: kinetic data, extract's global yield and mechanism, *Food Chemistry*, 125(1), 255-261. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/foodchem](http://www.elsevier.com/locate/foodchem)
- Faydaoğlu, E., ve Sürücüoğlu, M. S., 2013. Tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan aktiviteleri ve kullanım olanakları. *EÜFBED-Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(2), 233-265. Erişim adresi: <https://www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr>
- Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E., ve Mandrell, R. E., 2004. Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(19), 6042–6048. doi: 10.1021/jf0495340

- Ghosh, V., Mukherjee, A., ve Chandrasekaran, N., 2013. Ultrasonic emulsification of food-grade nanoemulsion formulation and evaluation of its bactericidal activity. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 338–344. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/ultson](http://www.elsevier.com/locate/ultson)
- Ghosh, V., Mukherjee, A., ve Chandrasekaran, N., 2014. Eugenol-loaded antimicrobial nanoemulsion preserves fruit juice against, microbial spoilage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 114, 392–397. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/colsurfb](http://www.elsevier.com/locate/colsurfb)
- Golmakani, M. T., ve Rezaei, R., 2008. Comparison of microwave assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L.. *Food Chemistry*, 109(4), 925-930. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Gölküçü, M., Tokgöz, H., ve Turgut, D. Y., 2018. Defne (*Laurus nobilis*) uçucu yağ bileşimi üzerine distilasyon süresinin etkisi. *Food and Health*, 37-42. Erişim adresi: <http://www.scientificwebjournals.com>
- Guynot, M. E., Ramos, A. J., Setó, L., Purroy, P., Sanchis V., ve Marín, S., 2003. Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 893-899. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.01927
- Hammad, A. A. I., Abd El-Khalek, H., Youssef K. H., ve Abd El-Kader, R. M., 2012. Microbiological, nutritional and sensorial changes in fresh carrot juice preserved by irradiation. *Food Science and Quality Management*, 11, 61-69. Erişim adresi: <https://inis.iaea.org>
- Hoşgün, E. Z., 2008. Farklı yöntemlerle soya yağı ekstraksiyonu ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr> (Tez No: 232956).
- İlyasoğlu, H., ve El, S. N., 2010. Nanoemülsiyonlar: oluşumları, yapıları ve kolloidal salınım sistemleri olarak gıda sektöründe kullanım alanları. *Review GIDA*, 35(2), 143-150. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/78339>
- Kara, N., 2011. Uçucu yağ üretimine uygun lavanta (*Lavandula* sp.) çeşitlerinin belirlenmesi ve mikroçoğaltım olanaklarının araştırılması. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr> (Tez No: 309706).



- Kara, N., Baydar, H., ve Çakan, S., 2020. Mikrodalga destekli distilasyon ve ekstraksiyon metotlarının rezene (*Foeniculum vulgare* Mill.) ve anason (*Pimpinella anisum* L.) meyvelerinin uçucu yağ oranına etkisi. *Mediterranean Agricultural Sciences*, 33(1), 117-122. doi: 10.29136/mediterranean.574514
- Karık, Ü., Çiçek, F., Oğur, E., Tutar, M., ve Ayas, F., 2015. Türkiye defne (*Laurus nobilis* L.) populasyonlarının uçucu yağ bileşenleri. *Anadolu Journal of AARI*, 25(1), 1-16. Erişim adresi: <https://www.researchgate.net>
- Karık, Ü., Çiçek, F., Oğur, E., Tutar, M., ve Ayas, F., 2016. Türkiye’de yayılış gösteren defne (*Laurus nobilis* L.) populasyonlarının meyve özellikleri. *Anadolu Journal of AARI*, 26(1), 1-16. Erişim adresi: <https://www.researchgate.net>
- Kelebek, H., Selli, S., Canbas, A., ve Cabaroğlu, T., 2009. HPLC determination of organic acids, sugars, phenolic compositions and antioxidant capacity of orange juice and orange wine made from a Turkish cv. Kozan. *Microchemical Journal*, 91, 187-192. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Kelebek, H., ve Selli, S., 2011. Determination of volatile, phenolic, organic acid and sugar components in a Turkish cv. Dört Yol (*Citrus sinensis* L. Osbeck) orange juice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(10), 1855-1862. doi: 10.1002/jsfa.4396
- Kılıç, A., 2008. Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10(13), 37-45. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr>
- Kırpık, M. A., Aksu Kılıç, P., ve Yıldız Asker, Y., 2019. Defne (*Laurus nobilis* L.) ve zahter (*Thymbra spicata* L.) uçucu yağlarının farklı konsantrasyonlarda *Rhyzopertha dominica* (coleoptera: bostrichidae) ve *Oryzaephilus surinamensis* (coleoptera: silvanidae) üzerine fumigant etkilerinin araştırılması. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 9(3), 1234-1242. doi: 10.21597//jst.488946
- Liang, R., Xu, S., Shoemaker, C. F., Li, Y., Zhong, F., ve Huang, Q., 2012. Physical and antimicrobial properties of peppermint oil nanoemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(30), 7548-7555. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.09.081
- Louni, M., Shakarami, J., ve Negahban, M., 2018. Insecticidal efficacy of nanoemulsion containing *Mentha longifolia* essential oil against *Ephesia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Crop Protection*, 7(2), 171-182. Erişim adresi: <https://jcp.modares.ac.ir>
- Mason, T., G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., ve Graves, S. M., 2006. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 18(41), 635-666. doi: 10.1088/0953-8984/18/41/R01

- McClements, D. J., 2012. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. *Soft Matter*, 8(6), 1719-1729. doi: 10.1039/c2sm06903b
- Medina-Torres, L., Santiago-Adame R., Calderas F., Gallegos-Infante, J. A., González-Laredo, R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Núñez-Ramírez, D. M., Bernad-Bernada, M. J., ve Manero, O., 2016. Microencapsulation by spray drying of laurel infusions (*Litsea glaucescens*) with maltodextrin. *Industrial Crops and Products*, 90, 1-8. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/indcrop](http://www.elsevier.com/locate/indcrop)
- Meilgaard, M., Civille, G. V., ve Carr, B. T., 1999. *Sensory Evaluation Techniques* (3. baskı). CRC Press Taylor & Francis Group, FL, ABD. 161-170.
- Meriçli Yapıcı, B., ve Kaya, A., 2018. *Laurus nobilis* L. uçucu yağının sekiz farklı klinik izolata karşı antibakteriyal aktivitesinin araştırılması. *SETSCI-Conference Indexing System*, 3, 848-852. Erişim adresi: <http://set-science.com>
- Moreno, A. O., Dorantes, L., Galíndez, J., ve Guzmán, R. I., 2003. Effect of different extraction methods on fatty acids, volatile compounds, and physical and chemical properties of avocado (*Persea americana* Mill.) oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(8), 2216-2221. doi: 10.1021/jf0207934
- Nalbantbaşı, Z., ve Gölcü, A., 2010. Kahramanmaraş yöresine ait şifali bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi*, 12(2), 1-8. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr>
- Oca-Ávalos, J. M. M., Candal, R. J., ve Herrera, M. L., 2017. Nanoemulsions: stability and physical properties. *Current Opinion in Food Science*, 16, 1-6. doi: 10.1016/j.cofs.2017.06.003
- Özcan, B., Yılmaz, M., ve Çalışkan, M., 2010. Antimicrobial and antioxidant activities of various extracts of *Verbascum antiochium* Boiss. (Scrophulariaceae). *Journal of Medicinal Food*, 13(5), 1147-1152. doi: 10.1089/jmf.2009.0213
- Özcan, M., ve Chalchat, J. C., 2005. Effect of different locations on the chemical composition of essential oils of laurel (*Laurus nobilis* L.) leaves growing wild in Turkey. *Journal of Medicinal Food*, 8(3), 408-411. doi: 10.1089/jmf.2005.8.408
- Özer, T., Sert, F. T., ve Öztürk, A. İ., 2019. Defne bitkisi (*Lauris nobilis*) ve yağı üzerine bir araştırma. *Gaziosmanpaşa Bilimsel Araştırma Dergisi*, 8(2), 25-30. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr>
- Özhatay, N., Güner, A., Kandemir, A., Menemen, Y., Yıldırım, H., Aslan, S., Ekşi, G., Güner, I., ve Çimen, A. Ö., 2018. *Resimli Türkiye Florası* (2. baskı). ANG Vakfı Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları, İstanbul, Türkiye. 485

- Özoğul, Y., Yuvka, İ., Uçar, Y., Durmuş, M., Kösker, A.R., Öz, M., ve Özoğul, F., 2017. Evaluation of effects of nanoemulsion based on herb essential oils (rosemary, laurel, thyme and sage) on sensory, chemical and microbiological quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets during ice storage. *LWT-Food Science and Technology*, 75, 677-684. doi: 10.1016/j.lwt.2016.10.009
- Öztürk, M., ve Temel, M., 2016. Türkiye'nin uçucu yağ sektörü dış ticareti. *XII. Ulusal Tarım Ekonomisi Kongresi*, Isparta, Türkiye. 2155-2162. Erişim adresi: <http://www.tarimarsiv.com>
- Qiao, Y., Xie, B. J., Zhang, Y., Zhang, Y., Fan, G., Yao, X. L., ve Pan, S. Y., 2008. Characterization of aroma active compounds in fruit juice and peel oil of jinchen sweet orange fruit (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) by GC-MS and GC-O. *Molecules*, 13(6), 1333-1344. doi: 10.3390/molecules13061333
- Quijano, C. E., ve Pino, J. A., 2007. Characterization of the leaf essential oil from laurel (*Laurus nobilis* L.) grown in Colombia. *Revista CENIC Ciencias Químicas*, 38(3), 371-374. Erişim adresi: <https://www.redalyc.org>
- Ramos, C., Teixeira, B., Batista, I., Matos, O., Serrano, C., Neng, N. R., Nogueira, J. M. F., Nunes, M. L., ve Marques, A., 2012. Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel *Laurus nobilis* Linnaeus (Lauraceae) from Portugal. *Natural Product Research*, 26(6), 518-529. Erişim adresi: <http://tandfonline.com>
- Rapisarda, P., Tomaino, A., Lo Cascio, R., Bonina, F., De Pasquale, A., ve Saija, A., 1999. Antioxidant effectiveness as influenced by phenolic content of fresh orange juices. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47, 4718-4723. doi: 10.1021/jf9901111
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., ve Rice-Evans, C., 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Reineccius, G., 1999. *Source Book of Flavors*. Aspen Publication, Maryland, ABD.
- Sağdıç, O., Kuşçu, A., Özcan, M., ve Özçelik, S., 2002. Effect of Turkish spice extracts at various concentrations on the growth of *Escherichia coli* O157:H7. *Food Microbiology*, 19, 473-480. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R., ve Martín-Belloso, O., 2015. Physicochemical characterization and antimicrobial activity of foodgrade emulsions and nanoemulsions incorporating essential oils. *Food Hydrocolloids*, 43, 547-556. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/foodhyd](http://www.elsevier.com/locate/foodhyd)

- Sarikaya, B., Alperen, H. H., ve Akgün, S., 2017. Antibacterial effects of mixtures of press oils of laurel (*Laurus nobilis*) and black seed (*Nigella sativa*). *Commagene Journal of Biology*, 1(1), 57-59. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr>
- Severino, R., Ferrari, G., Vu, K. D., Donsi, F., Salmieri, S., ve Lacroix, M., 2015. Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* on green beans. *Food Control*, 50, 215-222. Erişim adresi: <https://www.sciencedirect.com>
- Sheskin D. J., 2004. *Handbook of Parametric and Nonparametric Statistical Procedures* (3. baskı). Chapman & Hall/CRC, New York, ABD. 681-697
- Singleton, V. L., ve Rossi, J. A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-153.
- Sourmaghi, M. H. S., Kiaee, G., Golfakhrabadi, F., Jamalifar, H., ve Khanavi, M., 2015. Comparison of essential oil composition and antimicrobial activity of *Coriandrum sativum* L. extracted by hydrodistillation and microwave-assisted hydrodistillation. *Journal of Food Science Technology*, 52(4), 2452-2457. doi: 10.1007/s13197-014-1286-x
- Sugumar, S., Ghosh, V., Nirmala, M. J., Mukherjee, A., ve Chandrasekaran, N., 2014. Ultrasonic emulsification of eucalyptus oil nanoemulsion: antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and wound healing activity in wistar rats. *Ultrasonics Sonochemistry*, 21(3), 1044-1049. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/ultson](http://www.elsevier.com/locate/ultson)
- Tran, M. T. T., ve Farid, M., 2004. Ultraviolet treatment of orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5(4), 495-502. doi: 10.1016/j.ifset.2004.08.002
- Tunç, İ., Çalışkan, F., Özkan, G., ve Karacabey, E., 2014. Mikrodalga destekli soxhlet cihazı ile fındık yağ ekstraksiyonunun yanıt yüzey yöntemi ile optimizasyonu. *Akademik Gıda*, 12(1), 20-28. Erişim adresi: <https://dergipark.org.tr>
- Tural, S., ve Turhan, S., 2017. Antimicrobial and antioxidant properties of thyme (*Thymus vulgaris* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and laurel (*Lauris nobilis* L.) essential oils and their mixtures. *The Journal of Food*, 42(5), 588-596. doi: 10.15237/gida.GD17030
- Türkkan, M., Çalışkan, Ö., Erper, İ., Kara, M., ve Açıkgöz, M. A., 2019. Bazı toprak kökenli funguslara karşı defne esansiyel yağı ve hidrosölünün antifungal etkilerinin belirlenmesi. *Akademik Ziraat Dergisi*, 8(2), 217-226. doi: 10.29278/azd.476209

- Varona, S., Rojo, S. R., Martín, A., Cocero, M. J., Serra, A. T., Crespo, T., ve Duarte, C. M. M., 2013. Antimicrobial activity of lavandin essential oil formulations against three pathogenic food-borne bacteria. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 243-250. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/indcrop](http://www.elsevier.com/locate/indcrop)
- Wang, H. W., Liu Y. Q, Wei, S. L., Yan Z. J., ve Lu, K., 2010. Comparison of microwave-assisted and conventional hydrodistillation in the extraction of essential oils from mango (*Mangifera indica* L.) flowers. *Molecules*, 15(11), 7715-7723. Erişim adresi: [www.mdpi.com/journal/molecules](http://www.mdpi.com/journal/molecules)
- Won, M. M., Cha, E. J., Yoon, O. K., Kim, N. S., Kim, K., ve Lee, D. S., 2009. Use of headspace mulberry paper bag micro solid phase extraction for characterization of volatile aromas of essential oils from Bulgarian rose and Provence lavender. *Analytica Chimica Acta*, 631(1), 54-61. Erişim adresi: [www.elsevier.com](http://www.elsevier.com)
- Wu, J. E., Lin, J. ve Zhong, Q., 2014. Physical and antimicrobial characteristics of thyme oil emulsified with soluble soybean polysaccharide. *Food Hydrocolloids*, 39, 144-150. doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.029
- Yılmaz, E. Ş., Timur, M., ve Aslım, B., 2013. Antimicrobial, antioxidant activity of the essential oil of bay laurel from Hatay, Turkey. *Taylor and Francis Group*, 16(1), 108-116. doi: 10.1080/0972060X.2013.764158
- Yılmaz, U., 2005. Defne ağacı (*Laurus nobilis* L.) meyvelerinin antioksidan aktivitesinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Anadolu Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye. Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr> (Tez No: 170729).
- Yuliani, S., Muchtadi, T. R., ve Syakir, M., 2018. Changes in characteristics of nanoemulsion of cinnamon oil and their relationships with instability mechanisms during storage. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(10), 1-11. doi: 10.1111/jfpp.13745
- Zeković, Z. P., Lepojević, Ž. D., ve Mujić, I. O., 2009. Laurel extracts obtained by steam distillation, supercritical fluid and solvent extraction. *Journal of Natural Products*, 2, 104-109. Erişim adresi: <http://naturalingredient.org>
- Zuzarte, M., Goncalves, M. J., Cavaleiro, C., Cruz, M. T., Benzarti, A., Marongiu, B., Maxia, A., Piras, A., ve Salgueiro, L., 2013. Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44, 97–103. Erişim adresi: [www.elsevier.com/locate/indcrop](http://www.elsevier.com/locate/indcrop)



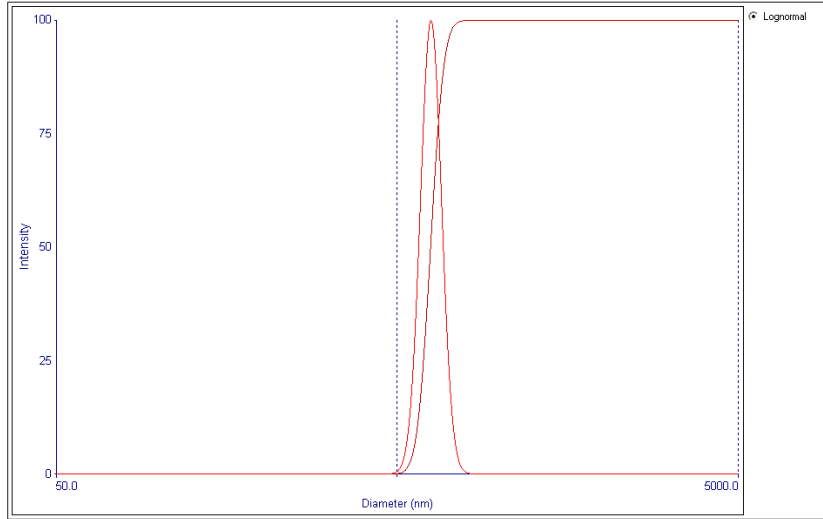
Ek 1. Defne esansiyel yağı ile hazırlanan amilopektin ve arap zamkı emülsiyonları



## Ek 2. Amilopektin ve arap zankı emülsiyonları DLS ölçüm grafiği

dap001 (Combined)  
May 28, 2019 10:17:16

Effective Diameter: **629.2 nm**  
Polydispersity: **0.005**  
Avg. Count Rate: **348.9 kcps**  
Baseline Index: **4.7**  
Elapsed Time: **00:00:45**

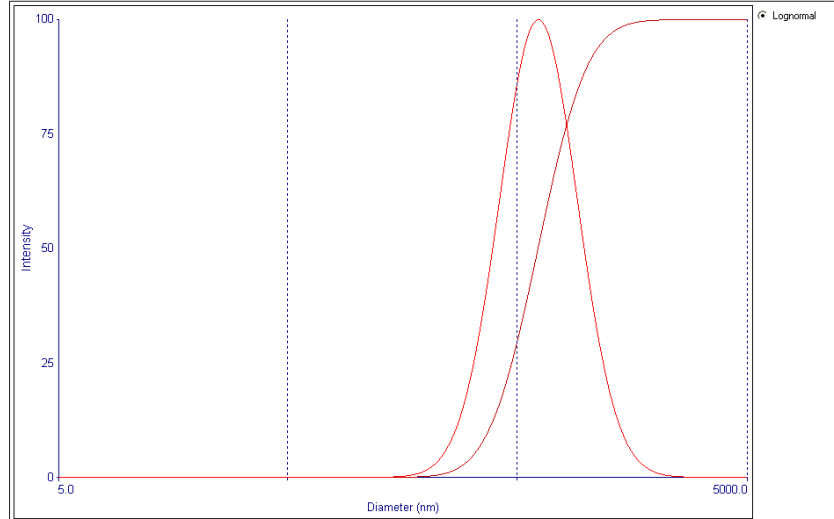


Run	Eff. Diam. (nm)	Half Width (nm)	Polydispersity	Baseline Index
1	11356.7	32.3	0.005	1.5
2	567.2	288.0	0.258	1.3
3	765.4	54.1	0.005	4.6
4	407.6	184.9	0.206	0.0
5	440.1	31.1	0.005	6.4
6	505.9	35.8	0.005	0.0
7	583.1	41.7	0.005	0.0
8	675.5	47.8	0.005	2.6
9	772.2	54.6	0.005	1.3
10	467.8	33.1	0.005	7.0
Mean	576.8	85.7	0.055	2.6
Std. Error	45.3	29.9	0.034	0.9
Combined	629.2	44.5	0.005	4.7

Amilopektin

daz001 (Combined)  
May 30, 2019 05:16:24

Effective Diameter: **616.7 nm**  
Polydispersity: **0.164**  
Avg. Count Rate: **295.4 kcps**  
Baseline Index: **0.0**  
Elapsed Time: **00:00:50**

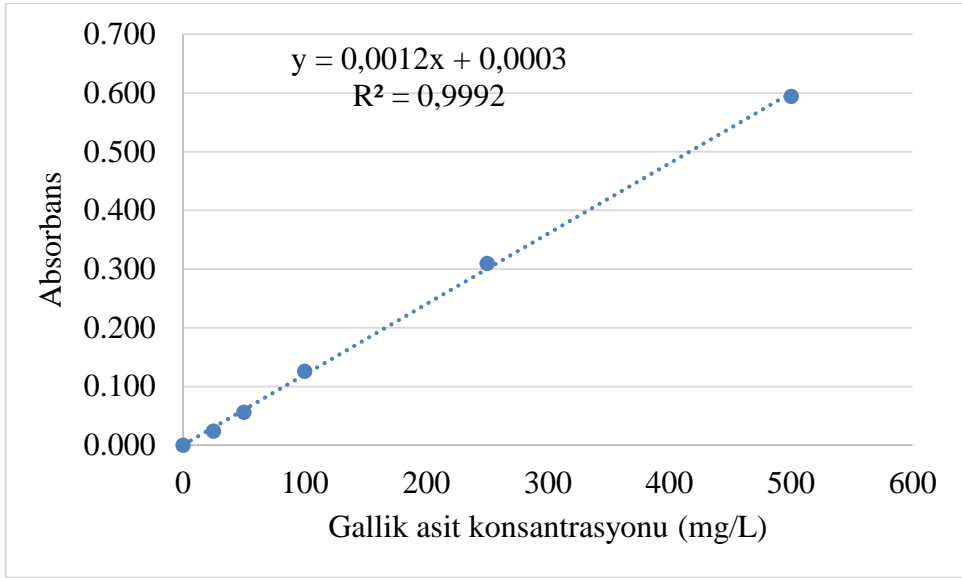


Run	Eff. Diam. (nm)	Half Width (nm)	Polydispersity	Baseline Index
1	601.2	341.1	0.322	0.0
2	841.6	45.4	0.005	0.0
3	572.0	34.3	0.004	0.0
4	497.4	249.2	0.251	0.0
5	563.9	278.8	0.244	0.0
6	648.1	222.3	0.118	3.8
7	820.8	298.7	0.232	0.0
8	675.1	47.7	0.005	0.0
9	683.1	384.4	0.317	6.9
10	679.2	368.0	0.294	0.0
Mean	618.2	227.0	0.179	1.1
Std. Error	19.0	43.2	0.042	0.7
Combined	616.7	249.7	0.164	0.0

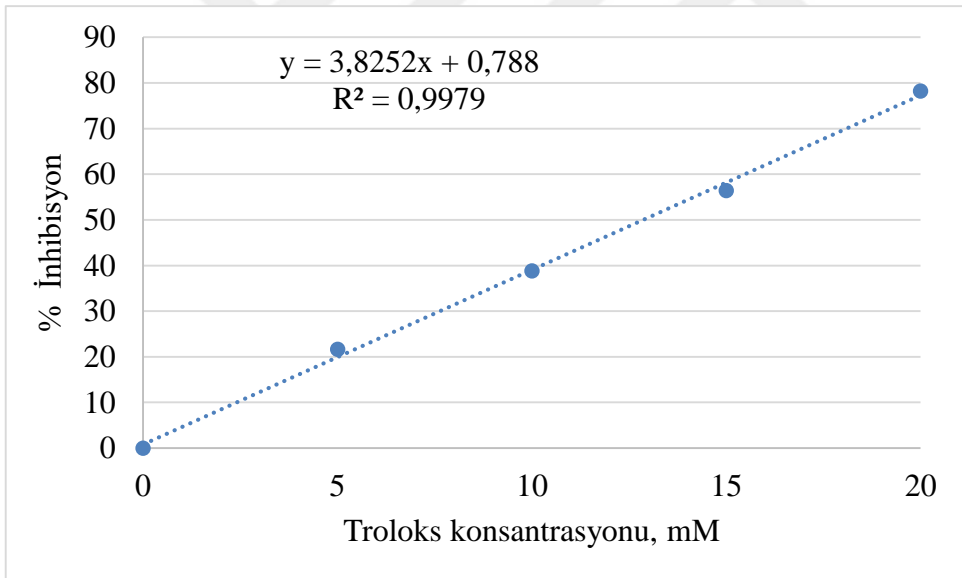
Arap zankı



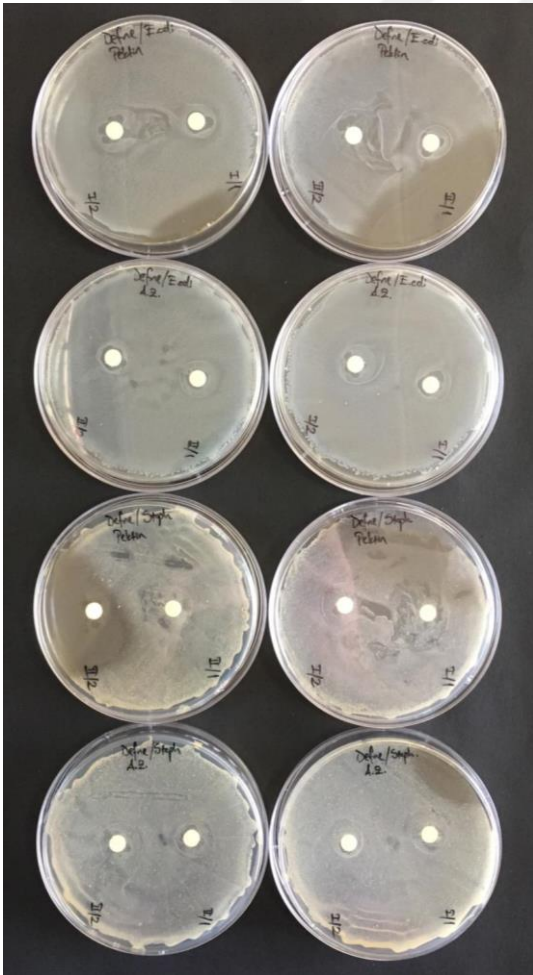
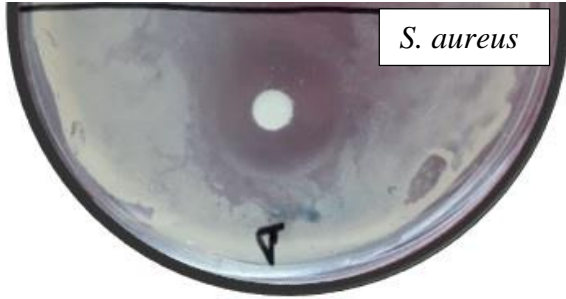
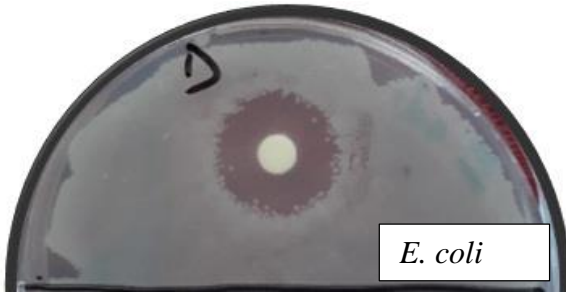
Ek 3. Toplam fenolik madde analizinde kullanılan gallik asit standart eğrisi



Ek 4. Antioksidan aktivite analizinde kullanılan troloks standart eğrisi

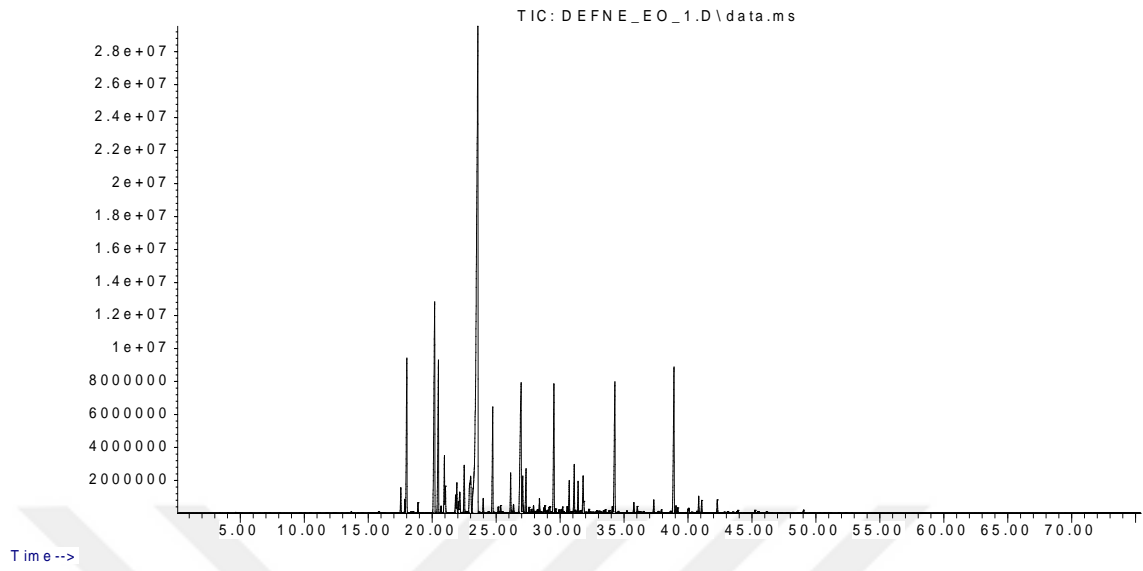


Ek 5. Defne esansiyel yağı antibakteriyal aktivite (agar disk difüzyon)

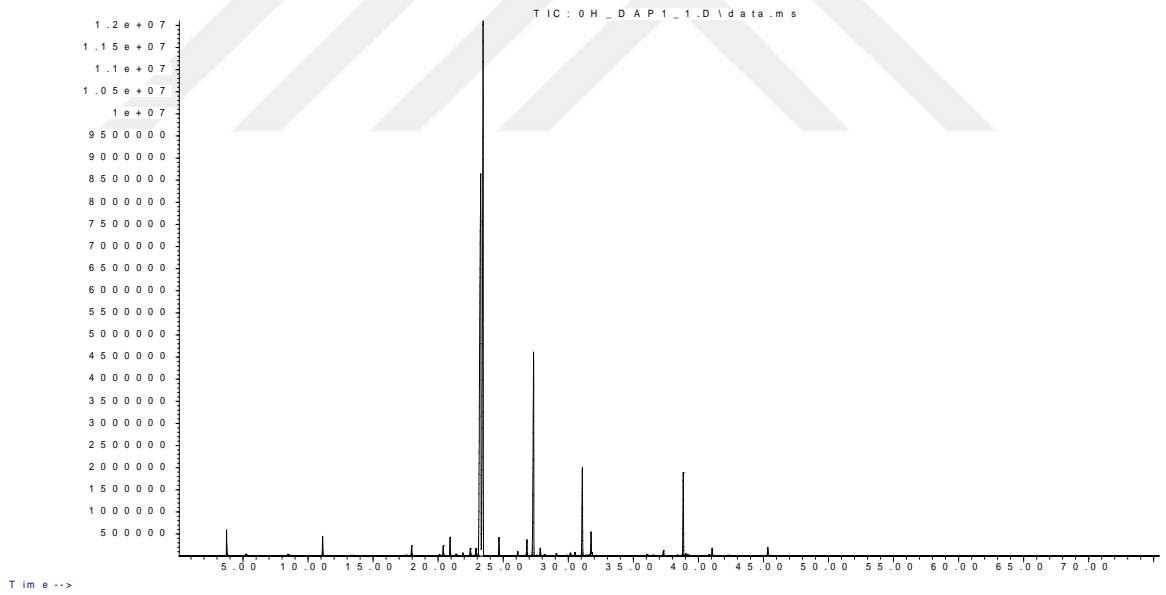


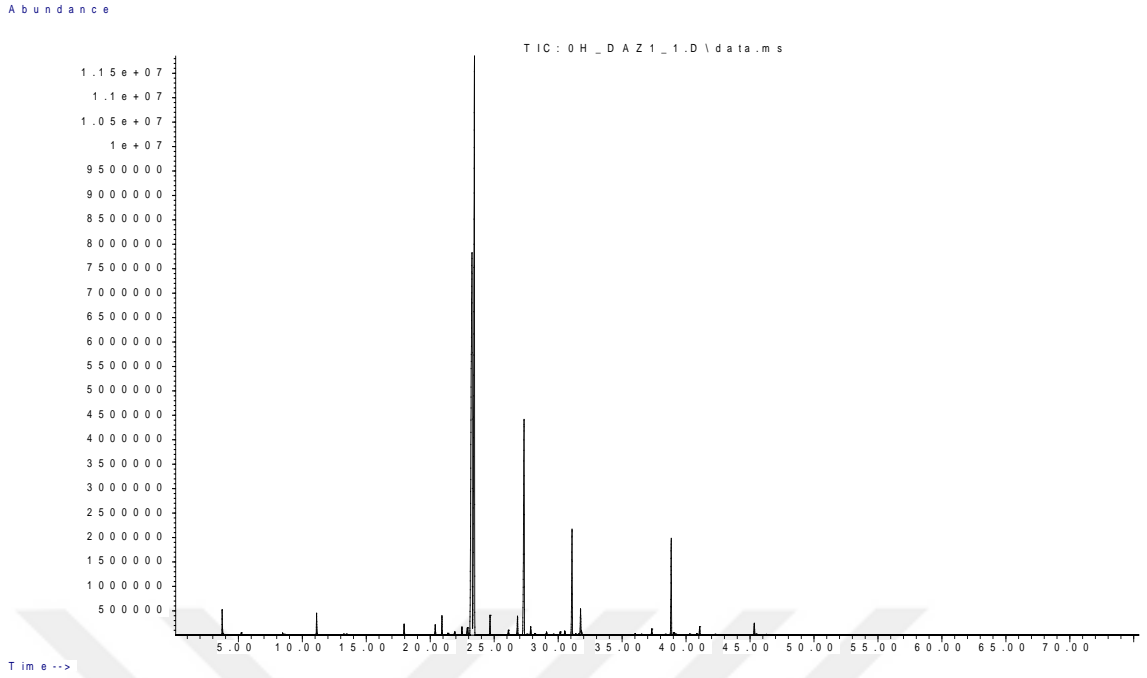
# Ek 6. GC-MS Kromatogram

Abundance



Abundance





#### Ek 7. Duyusal değerlendirme formu

Panelist bilgileri

İsim:

Yaş:

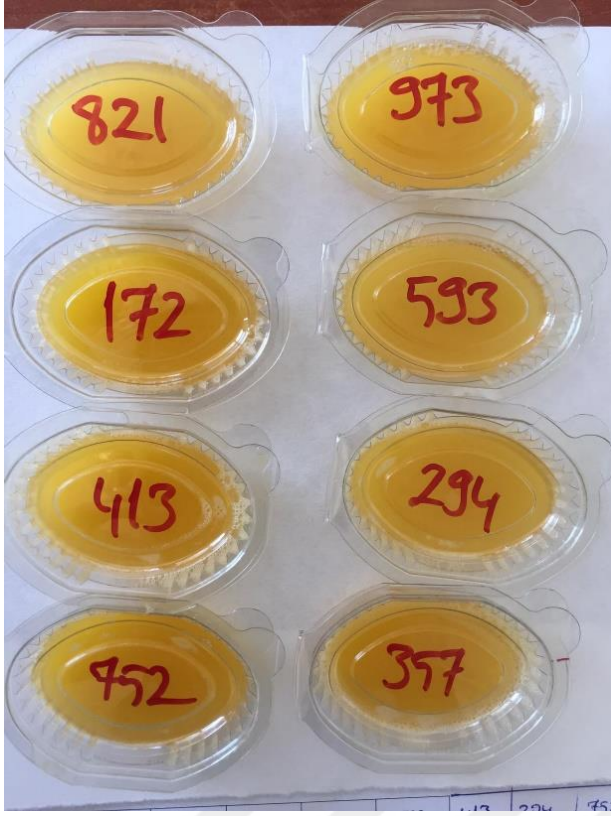
Tarih:

Cinsiyet

	Örnek Kodu						
Terimler							
Tatlı							
Ekşi							
Acı							
Bite (Isırıcı)							
Çiçeksi							
Reçine							
Sitrus							
Mentol							
Burukluk							
Olgun Meyve							
Alkol/Maya							
Aftertaste							

Lütfen puanlama yaparken 10 puanlık skala üzerinden değerlendirme yapınız.

Ek 8. Duyusal değerlendirme





Ek 9. Tüketici testi formu

Panelist Bilgileri		Tarih:								
Cinsiyet:	Yaş:									
	Hiç beğenmedim	Ne beğendim Ne beğenmedim					Çok fazla beğendim			Örnek Kodu
Görünüş	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Kıvam	1	2	3	4	5	6	7	8	9	<input type="text"/>
Tat/Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Görünüş	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Kıvam	1	2	3	4	5	6	7	8	9	<input type="text"/>
Tat/Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Görünüş	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Kıvam	1	2	3	4	5	6	7	8	9	<input type="text"/>
Tat/Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9	

Lütfen tadım yaptığınız örnekleri beğeni sıranıza göre sıralayınız.  
(1:çok beğendim, 3:beğenmedim)

1.  2.  3.

## Ek 10. Tüketici testi

Panelist: \_\_\_\_\_ Tarih: \_\_\_\_\_

1. Lütfen örnekleri tadarak görünüş, kıvam ve tat-koku açısından 1 (hiç beğenmedim) den 9 (çok fazla beğendim)'e kadar puanlayınız.

Örnek kodu		Hiç beğenmedim			Ne beğendim Ne beğenmedim			Çok fazla beğendim		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
821	Görünüş	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Kıvam	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat-Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9
172	Görünüş	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Kıvam	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat-Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9
436	Görünüş	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Kıvam	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat-Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9
945	Görünüş	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Kıvam	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat-Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9
287	Görünüş	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Kıvam	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Tat-Koku	1	2	3	4	5	6	7	8	9

2. Lütfen ürünleri en çok beğendiğinizden en az beğendiğinize göre sıralayınız.

1. \_\_\_\_\_ 2. \_\_\_\_\_ 3. \_\_\_\_\_ 4. \_\_\_\_\_ 5. \_\_\_\_\_





## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mehmet Mert BERBER  
Doğum Yeri : Merkez / ÇORUM  
Doğum Tarihi : 17.08.1993

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi,  
Gıda Mühendisliği Bölümü, 2017  
Yüksek Lisans Öğrenimi :  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

#### a) Yayınlar

- 1) SCI
- 2) Diğer

#### b) Bildiriler

- 1) Uluslararası

Berber, M. M., Çelebi Uzkuç, N. M., Uzkuç, H., Özmen Toğay, S., İşleten Hoşoğlu, M., Tarhan Kuzu, K., Karagül Yüceer, Y., ve Şahiner, N., 2019. Antimicrobial Properties of Microwave-Assisted Extracts of Bay Leaf Essential Oils and Micro/Nanoemulsions Thereof: Application to Fresh Orange Juice. International Congress on Natural, Health Sciences and Technology, 15-17 Mayıs 2019, University of Tetova, Kuzey Makedonya/Tetova.

Uzkuç, H., Çelebi Uzkuç, N. M., Berber, M. M., Tarhan Kuzu, K., İşleten Hoşoğlu, M., Kırca Toklucu, A., Karagül Yüceer, Y., ve Şahiner, N., 2019. Antioxidant Capacity of Lavender Essential Oils and Micro/Nanoemulsions Thereof: Application to Fresh Orange Juice. International Congress on Natural, Health Sciences and Technology, 15-17 Mayıs 2019, University of Tetova, Kuzey Makedonya/Tetova.

2) Ulusal

**c) Katıldığı Projeler**

Tübitak 1001 Projesi. 2018-2019.

**İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: Tahsildaroğlu Süt Ürünleri San. Ve Tic.  
A.Ş., 2017-2018

Baseca Gıda Tarım Hayvancılık Danışma  
Hizmetleri, 2016-2017

**İLETİŞİM**

E-posta Adresi : mehmetmertberber@gmail.com

ORCID : 0000-0002-9547-8861