



**DEFNE (*LAURUS NOBİLIS*) YAPRAĞI YAĞININ
FRAKSİYONLU EKSTRAKSİYONU VE DESTİLYASYONU
İÇİN ETKİN METODLAR GELİŞTİRİLMESİ.
EKSTRAKTLARIN GIDA KORUYUCU ÖZELLİKLERİNİN
ARAŞTIRILMASI.**

Hakan ÇELİK
Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

2010

Her hakkı saklıdır

**GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ
FENBİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİMDALI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**DEFNE (LAURUS NOBİLİS) YAPRAĞI YAĞININ FRAKSİYONLU
EKSTRAKSİYONU VE DESTİLASYONU İÇİN ETKİN METODLAR
GELİŞTİRİLMESİ. EKSTRAKTLARIN GIDA KORUYUCU
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI.**

HAKAN ÇELİK

TOKAT

2010

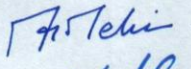
Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Osman ÇAKMAK danışmanlığında, Hakan ÇELİK tarafından hazırlanan bu çalışma 12.11.2010 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof.Dr. Osman ÇAKMAK

İmza: 

Üye: Doç. Dr. İsa TELCİ

İmza: 

Üye: Doç. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ

İmza: 

Yukarıdaki sonucu onaylarım


Doç. Dr. Naim Çağman
Enstitü Müdürü

13.12.2010

TEZ BEYANI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

Hakan ÇELİK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

DEFNE (LAURUS NOBİLİS) YAPRAĞI YAĞININ FRAKSİYONLU EKSTRAKSİYONU VE DESTİLASYONU İÇİN ETKİN METODLAR GELİŞTİRİLMESİ. EKSTRAKTLARIN GIDA KORUYUCU ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI.

Hakan ÇELİK

Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Osman ÇAKMAK

Bu çalışmada, defne yaprağı yağının çıkarılması için yeni metotlar geliştirildi. Defne yaprağı su çözücüsü ortamında farklı sıcaklıklarda fraksiyonlu ekstraksiyona tabi tutuldu. Süre ve sıcaklık yanında çözücü miktarı ve türü değiştirilerek ekstraksiyon verimi ve şartları belirlenmeye çalışıldı. Ekstraktların katkısız salçalar üzerinde bozulmaya karşı koruyucu etkileri incelendi.

Defne yaprağı yağının 100 °C'nin üzerinde basınç altında ekstraksiyonlarının gerçekleştirilmesi için özel bir düzenek tasarlandı. Bu düzenek bir basınçlı su ekstraksiyon sistemi olup 150 °C sıcaklık ve 5 bar basınç değerlerine kadar ekstraksiyonu mümkün kılmaktadır. Bu düzenek ayrıca 100 °C den 150 °C ye kadar yüksek basınç altında fraksiyonlu destilasyona da (su buharı distilasyonu) imkan vermektedir.

Defne yaprağından yağ ekstraksiyonu hem normal şartlar altında hem de yüksek basınçta ve sıcaklıkta, iki ayrı ortamda gerçekleştirildi. 50 gram defne yaprağı üzerinden yapılan deneyde; 25 °C (oda şartları) (1. Fraksiyon, 4 g; % 8), 25 °C -65 °C (2. fraksiyon, 4.93 g, % 9), 65 °C -100 °C (3. fraksiyon, 0.795 g, % 1.5) üç fraksiyon toplandı. 100 gram defne yaprağının basınçlı ekstraksiyonu 25 °C-110 °C (1. fraksiyon, 19,6 g; %20) ve 110 -125 °C (2. Fraksiyon, 2.26 gram %2.3) ve 125-150 °C, (3. fraksiyon, 2.32 gram % 2.3) aralıklarında olmak üzere üç fraksiyon toplandı.

Normal uçucu yağ destilasyonu ile uçucu yağ elde edildikten sonra (25-100 °C 1. fraksiyon), yüksek basınç ekstraksiyon sisteminde 25-120 °C'de (2. Fraksiyon) ve 120-145 °C'de (3. fraksiyon) uçucu yağ destilatları elde edildi. Her üç fraksiyon ürünlerinin GC-Mass incelemesi yapıldı. Ürün incelemeleri her üç fraksiyonda da ürün dağılımını ve oranlarını oldukça farklı gösterdi.

Çalışmanın ikinci bölümünde, suyu uzaklaştırılmış ekstraktlar, koruyucu ve kimyasal madde katılmamış salça numunelerine (Olca Salça fabrikası, Niksar) kütlece % 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 ve 0.8 oranlarında tatbik edildi. En etkili koruma % 0.5 oranı kullanıldığında elde edilmektedir. Bu sonuçlara göre, oda sıcaklığında ve 65 °C de elde edilen ekstraktlarda gıda koruma özellikleri görülmezken, 100 °C ve üzeri ekstraktların etkili koruma gücü görülmektedir. Numunenin, petri kabında havaya ve ışığa maruz ortamda 39 gün boyunca bozulmadan kaldığı görülmektedir. Bu süre zarfında numunede renk, tat ve görüntü de herhangi bir değişiklik gözlenmemektedir. Bu sonuçlara göre, numunelerin sadece antibakteriyel ve antifungal değil, aynı zamanda antioksidan etki gösterdiği, ışık ortamında oksitlenmeye karşı bozulmayı önlediği anlaşılmaktadır.

Yüksek sıcaklık ekstraksiyonu, gıda koruyucu özelliğindeki moleküllerin daha çok miktarda ekstrakta geçmesini sağlamaktadır. Ekstraktaki bozulmayı önleyici moleküllerin daha büyük ve polar yapıda olduğu anlaşılmıştır.

Yüksek sıcaklıkta (150 °C) su ile elde edilen defne ekstraktı metanol ile tekrar ekstrakte edildi. Bu ekstraktan ayrılan ve nispeten saf olduğu gözlenen materyal yüksek oranda nem çekme özelliği göstermektedir. Bu materyal ortamda ki nemden etkilenecek kendiliğinden katı halden sıvı hale geçmektedir. Bu dönüşüm esnasında materyalin karakteristik kırmızı rengi kaybolmaktadır.

2010, 65 sayfa

Anahtar kelimeler: Defne yaprağı, ekstraksiyon, basınçlı çözücü ekstraksiyonu, gıda koruyucu.

ABSTRACT

Master Thesis

DEVELOPMENT OF EFFICIENT METHODS FOR FRACTIONAL EXTRACTION AND DESTILATION OF DAPHNE LEAVES OIL. INVESTIGATION OF FOOD CONSERVATION EFFECT OF THE EXTRACTS

Hakan ÇELİK

Gaziosmanpaşa University

Graduate School of Natural and Applied Sciences Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Osman ÇAKMAK

In this study, new methods were developed in extraction of daphne leaves oil. At different temperatures daphne leaves in water were treated with fractional extraction. Extraction yield and conditions were tried to determined changing of time, temperature also solvent amount and solvent type. Protective effect of these extracts on tomato paste againts spoilage were examined.

A special system was designed for performing of extractions of daphne leaves at above 100°C and under pressure. This designed extraction system enable to extraction up to 5 bar pressure and at 150°C. Furthermore, the system allows for fractional distillations from 100 °C to 150 °C under high pressure in the same way.

The extraction of daphne leaves was performed with two different conditions, both in standart and at high temperature under high pressure conditions. In the experiment, 50 g of daphne leaves was used and three fractions were obtained: At 25°C (first fraction, 4 g; 8%), between 25°C-65°C (second fraction, 4.93 g; 9%) and between 65°C-100°C (third fraction, 0.795 g; 1.5%). Three fractions, (First fraction between 25°C-110°C, 20.5 g 20.5%; second fraction between 110°C-125°C, 2.26 g; 2.3% and third fraction between 125°C-150°C, 2.32 g, 2.3%) were obtained from the high pressure extraction with 100 g daphne leaves. Food conversation properties and effect time of protecting were determined with applying the fractions to tomato paste.

Essential oil was obtained with normal essential oil distillation system (first fraction at 25-100 °C). Then, essential oil destilates were obtained with high pressure extraction system at 25°C-120°C (second fraction) and 120°C-145°C (third fraction). GC-Mass studies of the three fractions were carried out. The GC-Mass studies showed that product distribution of each three fractions were different.

In the second part of the study, dry extracts were applied to additive-free tomato paste in the rates of 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 and 0.8% (Olca Salça in Niksar). The most effective results were obtained in the case of 0.5%. According to these results, In the extracts obtained at room temperature didn't show any preservation effect. Wherus

the materials extracted above 65 °C had conservation effect. It was seen that the samples didn't spoil in petri cape at air and light media in 39 days.

According to this results, the samples not only showed antibacterial, antifungal but also antioxidant effects and prevented their corruption against light. During this time, change of color, taste, and appearance of samples weren't observed.

High temperature extraction under pressure has provided much more amount of molecules which have the characteristic of food preservation go to extract. It was seen that the responsible molecules in the extracts for food preservation are bigger and polar ones.

Daphnia extract obtained with water at high temperature (150° C) were reextracted with methanol. Almost an pure material was isolated, which has the ability of high moisture absorption. These material dissolved spontaneously with humidity in media, changing its colour.

2010, 66 pages

Keywords: Daphne leaves, extraction, high pressure solvent extraction, food conservation.

TEŞEKKÜR

Yaptığım bu çalışmada gerek deneysel çalışmaların planlanmasında olsun ve gerekse çalışmalar boyunca gerekli bilgi, fikir ve literatür temini konusunda her türlü desteği sağlayan, tez yazımında sürekli yardımlarını gördüğüm değerli hocam sayın Prof. Dr. Osman ÇAKMAK'a,

Defne yaprağı materyali temininde bize yardımcı olan Özdrog Uçucu Yağ işletmesinin (Hatay Dörtyol) sahibi İlker Özdemir'e. Katkısız salça temini için Olca Salça Fabrikası (Tokat-Niksar) genel müdürü Kimya Mühendisi Hüseyin Esen'e,

Defne yaprağı konusunda tecrübelerini ve bilgilerini bizimle paylaşan Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Orman Mühendisliği bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Hakkı ALMA'ya,

Yüksek lisans çalışmalarım esnasında bana destek olan Arş. Gör. Dr. Kıymet AKAR ve Arş. Gör. Alper BİÇER'e, ekstraktların ve uçucu yağların analiz ve ölçümlerinde yardımcı olan Uzman Hüseyin AKŞİT'e, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünün diğer elemanlarına, beni bu duruma getiren, hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme,

Saygı ve şükranlarımı sunmayı bir borç bilirim.

Hakan ÇELİK

Aralık,2010

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER (TABLOLAR) DİZİNİ	xi
2. LİTERATÜR ÖZETLERİ	3
2.1. Gıda Katkı Maddeleri.....	3
2.1.1. Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması	3
2.1.2. Yönetmeliğe Göre Sayılarla Gıda Katkı Maddeleri.....	4
2.2. Laurus nobilis Linn (Defne).....	6
2.2.1. Defne Ekstraktlarının Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi:.....	7
2.2.2. Defne Bitkisinin Uçucu Yağının Antifungal ve Antibakteriyel Etkileri:.....	7
2.3. Tezin Amacı ve Önemi	9
3. MATERYAL ve YÖNTEM	10
3.1. Kullanılan Materyaller	10
3.1.1. Araç ve Malzemeler	10
3.1.2. Basınçlı Ekstraksiyon Sistemi.....	10
3.1.3. Basınçlı Çözücü Ekstraksiyonu (BSE).....	11
3.1.4. Destilasyon (Damıtma) :	12
3.1.5. Destilasyonda yüksek sıcaklığın etkisi.....	13
3.1.6. Düzenneğin Tasarlanması	14
3.1.7. Teknik cihazlar.....	18
3.2. Uygun Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi ve Optimum Ekstrakt Verimi	19
4. BULGULAR	20
4.1. 65 °C de Ekstraksiyon Yolu İle Kuru Madde - Çözücü Oranının Belirlenmesi	20
4.1.1. Kuru madde / Çözücü Oranının Belirlenmesi:.....	20

4.1.2. Sıcaklığın Defne Yapağı Ekstrakt Verimine Etkisi	22
4.1.3. Organik Çözücü İle Ekstraksiyon (Çözücü Seçimi)	23
4.1.5. Partikül Büyüklüğü	25
4.1.6. Ekstraksiyon Süresinin Verime Etkisi	25
4.2. Basınçlı Sıcak Su Ekstraksiyonu.....	26
4.2.1. Tip B Ekstraksiyon Sisteminin Tasarımı ve Çalışma Prensibi.....	26
4.2.2. Basınçlı Ekstraksiyon Sisteminin Güvenlik Testi	28
4.2.4. 150 °C sıcaklık ve 5 bar da Basınçlı Sıcak Su Ekstraksiyonu	29
4.2.5. Ekstraktların Bozunma Sürelerinin Değerlendirilmesi	30
4.2.7. Yüksek Sıcaklıkta ve Basınçta Ekstraksiyon	31
4.2.8. 25 °C -110 °C Sıcaklığı Aralığında Ekstraksiyon.....	32
4.2.10. 110 °C -125 °C Sıcaklıkta Ekstraksiyon:	35
4.2.11. 125 °C -150 °C Sıcaklık Aralığında Ekstraksiyon.....	35
4.3. Normal Ekstraksiyon Yöntemi ile Ekstraksiyon (Oda Koşullarında).....	35
4.3.1. 25 °C de Ekstraksiyon.....	35
4.3.2. 25 °C – 65 °C Sıcaklık Aralığında Ekstraksiyon	35
4.3.3. 65 °C -100 °C Sıcaklık Aralığında Ekstraksiyon	35
4.3.4. 25 °C -100 °C sıcaklık Aralığında Ekstraksiyon.....	35
4.4. Destilasyon Ürünleri	36
4.4.1. 25 °C -120 °C deki Destilasyon	36
4.4.2. 120 °C ve 145 °C’de Destilasyon	36
4.4.3. 100 °C Kaynama Noktasında Basit Destilasyon	37
4.5. Ekstraktların Gıda Koruyucu Özelliği	41
4.5.1. Salça Üzerinde Denemeler.....	41
4.5.2. Yüksek Sıcaklık Ekstraktlarının Gıda Koruyucu Özellikleri	44
4.5.3. Bulguların Özeti.....	44
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	47
KAYNAKLAR	49
EKLER.....	51

Ek 1. Tüm salçalar küflendiğinde resimleri (43. Gün).....	51
Ek 1. Defne ekstraktı ile muamele edilen salçaların 43. gündeki resimleri.	55
Ek 2.100 °C Elde Edilen Destilatın Kimyasal Kompozisyonu	56
Ek 3. 120 °C Elde Edilen Destilatın Kimyasal Kompozisyonu	60
Ek 4. 120 °C -145 °C Elde Edilen Destilatın Kimyasal Kompozisyonu.....	63
ÖZGEÇMİŞ	66

SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
μl	Litrenin milyonda biri
μg	Gramın milyonda biri
MPa	Bir basınç birimi
ϵ	Dielektirik sabiti
Ppm	Milyonda bir kısım (Nmr spekturumu için ölçü birimi)
Kısaltmalar	Açıklama
GMP	Good manufacturing processes (İyi üretim işlemleri)
QS	Quantum satis (Maksimum doz belirtilmemiştir)
EC	Avrupa Birliği
NOAEL	No Observed Adverse Effect Level (Denekler için hiçbir olumsuz etkinin görülmediği düzey)
ADI	Acceptable Daily Intake (Günlük alınabilececek miktar)
BSE	Basınçlı Çözücü Ekstraksiyonu
NMR	Nükleer Manyetik Rezonans
K.N	Kaynama Noktası

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3. 1. Basit Destilasyon Sistemi	13
Şekil 3. 2. Sabinanhidratasetat’da meydana gelen termal degradasyon (Rowe, 1989).....	13
Şekil 3. 3. Basınçlı Ekstraksiyon Düzenegi	14
Şekil 3. 4. Basınçlı ekstraksiyon düzenegi farklı açılardan resimleri	16
Şekil 3. 5. Kullanılan teknik cihazlar	19
Şekil 4. 1. Kuru madde \ çözücü oranının değişimi ile ekstraksiyon miktarının artışı.....	21
Şekil 4. 2. Tip A ve Tip B ekstraksiyon sistemleri	26
Şekil 4. 3. Yapılan basınçlı ekstraksiyon sistemi	27
Şekil 4. 4. Yapılan güvenlik testinde basınçlı ekstraksiyon sisteminde sıcaklık 150 °C’ye ve basınç 5 bara kadar çıkılmaktadır	28
Şekil 4. 5. 150°C Defne Ekstraktları (sulu).....	29
Şekil 4. 6. Sulu ekstraktlarda, oda koşullarında oluşan küf-çökelti	31
Şekil 4. 7. Nem çekici materyalin iki hali	32
Şekil 4. 8. Defne sulu ekstraktından metanol fazına geçebilen nem çekici materyalin 1H-NMR spektrumu (D2O, 400 MHz)	33
Şekil 4. 9. Defne sulu ekstraktından metanol fazına geçebilen nem çekici materyalin 13C-NMR spektrumu (D2O, 100 MHz)	34
Şekil 4. 11. 120 °C elde edilen destilatın Gc-Ms spektrumu	38
Şekil 4. 10. 100 °C elde edilen destilatın Gc-Ms spektrumu	38
Şekil 4. 12. 120 °C – 145 °C elde edilen destilatın Gc-Ms spektrumu	39
Şekil 4. 13. Elde edilen yüksek sıcaklık destilatlarının Gc-Ms spektrumları. En üstte yer alan spektrum 100 oC (Kesim A); 2. spektrum 120 oC (Kesim B); en alttaki spektrum 120-145 oC sıcaklıklardaki (Kesim C) uçucu yağlara tekabül etmektedir.....	39
Şekil 4. 14. Salçalara defne ekstraktı tatbikinden 43 gün sonraki durumları. Numunelerin her biri farklı görüntüler oluşturmaktadır.....	43

ÇİZELGELER (TABLOLAR) DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2. 1. Katkı Maddeleri	3
Tablo 2. 2. Laurus nobilis uçucu yağının antimikrobiyal aktiviteleri	8
Tablo 4. 1. Defne Yaprağının 65 °C Sıcaklıkta Su ile Ekstraksiyonu	20
Tablo 4. 2. Defne Yaprağının 65 °C de İleri Ekstraksiyonu	21
Tablo 4. 3. Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de yer alan deneylerin birleştirilmiş sonuçları	22
Tablo 4. 4. Defne yaprağı posalarının 100 °C ileri ekstraksiyonu	22
Tablo 4. 5. Defne posalarının organik çözücüler ile ekstraksiyonu	23
Tablo 4. 6. Tanecik boyutunun ekstraksiyona etkisi	25
Tablo 4. 7. Ekstraksiyon Verimine Sürenin Etkisi	25
Tablo 4. 8. BSE ile elde edilen ekstraktın çözünürlük testleri	30
Tablo 4. 9. Yüksek sıcaklık destilatlarının Gc-Mass spektrumlarındaki bazı temel pikler ve karşılaştırması	40
Tablo 4. 10. Elde edilen ekstraktlar ve salça numunelerine tatbiki	41
Tablo 4. 11. Küflenme süreleri ve petri kapları numaraları	42
Tablo 4. 12. Yüksek Sıcaklık Ürünlerinin Salçada Gıda Koruyucu Etkisi	44

1.GİRİŞ

Gıdaların bozulmasını önlemek için gıdalara hastalık yapıcı mikro organizmalara karşı koruyucu maddeler katılmaktadır. Mikropların gıda ortamında hayatini devam ettirmesi bir veya daha fazla faktöre bağılı olmaktadır (Horace, 1982). Mikropların gıdalarda gelişimi, gıdalara uygun maddeler katılarak (zayıf organik asitler, hidrojen peroksitler, şelatlar, organik biyomoleküller) kontrol altına alınabilmektedir. Güçlü antimikrobiyal etkiye sahip bitki ekstraktları gıda koruyucu olarak kullanılabilir.

Kimyasal antimikrobiyal koruyucuların kontrolsüz kullanımı klasik antimikrobiyal maddelere göre çok daha dayanıklı mikropların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Bu yüzden, mikropların canlılığını kontrol etmek gittikçe zorlaşmaktadır. Son 50 yıldır kimyasal antimikrobiyallerin artan kullanımı ekolojik dengenin bozulmasına ve patojenik mikropların çok daha dayanıklı hale gelmesine yol açmıştır (Levy, 1997).

Bir yandan gıdaların bozulmadan kalması ve uzun ömürlü olması için kimyasal ve gıda katkı maddeleri katılırken, diğer yandan da bunların sağlığa olumsuz ciddi etkilerinden dolayı başka çözümler aranmaktadır. Bedin ve arkadaşlarının (1999) çalışmaları ve daha birçok çalışma bu katkı maddelerinin insanlar için zehirli olabileceğini göstermektedir. Gıdaların hem raf ömrünün uzun olmasını hem de gıdalardan geçen hastalıkların riskinin az olması için alternatif çareler aranmaktadır. Konunun önemini kavrayan ülkeler, kimyasal koruyucular yerine doğal koruyuculara yönelmektedir. Bu amaçla ciddi baskı mekanizmaları oluşturmaktadırlar. Bu baskılar sonucunda, doğal gıda koruyucu teknolojilerinde geliştirilmesi yönünde araştırmalarda ciddi artışlar gözlenmektedir.

Tüm bu gerçekler yeni doğal antimikrobiyal ajanların keşfedilmesine olan ilgiyi artırmıştır (Sağdıç ve ark, 2003). Lanciotti ve ark. (2004) antimikrobiyal özellikli doğal ürünlerin gıda korumasına da bakteriyel ve mantar büyümeyi önlemede etkili olabileceğine dikkat çekmektedir.

Bitkilerce sentezlenen kompleks yapılı bir çok molekül antimikrobiyal özelliktedirler. Antimikrobiyal özellikler sergileyen sekonder metabolitler arasında alkaloidler, flavonoidler, izoflavonoidler, taninler, kumarinler, glikozidler, terpenler, fenolik bileşikler sayabiliriz (Simoes ve ark., 1999).

Bitki özütlerinde bulunan moleküllerin antimikrobiyal, antioksidan, antifungal özellikler sergilemesi bunların gıda koruyucu olarak kullanılabileceği fikrini her geçen gün güçlendirmekte ve doğal gıda koruyuculara olan ilgi artmaktadır.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda tıbbi aromatik bitkilerle baharatların maya, mantar ve bakterilerin gelişimini engellediğini göstermektedir (Shelef, 1983). Baharatların antimikrobiyal aktiviteleri çeşitlilik göstermekte, baharat ve bitkinin türüne, test besi yerine ve mikroorganizmaların türüne bağlı olarak değişmektedir (Giese, 1994).

2.LİTERATÜR ÖZETLERİ

2.1. Gıda Katkı Maddeleri

Tek başına gıda olarak tüketilmeyen veya gıda ham veya yardımcı maddesi olarak kullanılmayan, tek başına besleyici değeri olan veya olmayan, seçilen teknoloji gereği kullanılan işlem veya imalat sırasında kalıntı ve türevleri mamul maddede bulunabilen, gıdanın üretilmesi, tasnifi, işlenmesi, hazırlanması, ambalajlanması, taşınması, depolanması sırasında gıda maddesinin koku, tat, görünüş, yapı ve diğer niteliklerini korumak, düzeltmek veya istenmeyen değişikliklere engel olmak amacıyla kullanılmasına izin verilen maddelerdir (Boyacıoğlu, 2003).

Gıda katkı maddelerini tanımlamak ve herhangi bir karışıklığa yol açmamak için kullanılan Avrupa Birliği'nin (EC) simgesi olarak E harfi ve üç rakamlı sayıdan ibaret kodlardır. Avrupa Birliği tarafından her katkı maddesi için belirlenir. Doğal veya sentetik olsun gıda maddelerinde kullanılan ve katkı maddesi olarak tanımlanan tüm kimyasallar bu kodlama sisteminin içindedir (Boyacıoğlu, 2003).

2.1.1. Katkı Maddelerinin Sınıflandırılması

Tablo 2. 1. Katkı Maddeleri

1.Koruyucular	9.Stabilizerler	17.Asitliği Düzenleyiciler	24.Jelleştiriciler
2.Antioksidanlar	10.Emülgatörler	18.Aroma Arttırıcılar	25.Kabartıcılar
3.Renklandırıcılar	11.Metal Bağlayıcılar	19.Emülsifiye Edici tuzlar	26.Kıvam Arttırıcılar
4.Tatlandırıcılar	12.Taşıyıcı Solventler	20.Hacim Arttırıcılar	27.Köpük oluşturucular
5. Asitler	13.Kekleşmeyi Önleyiciler	21.İtici gazlar	28.Köpüklenmeyi önleyiciler
6.Taşıyıcılar	14.Modifiye Nişastalar	22.Nem tutucular	29.Paketleme Gazları
7.Parlatıcılar	15.Sertleştiriciler	23.Stabilizörler	30.Taşıyıcılar
8.Topaklanmayı Önleyiciler	16.Un İşlem Maddeleri		

Bazı katkı maddelerinin kullanım miktarı insan sağlığı üzerinde olumsuz etki oluşturabileceği için sınırlandırılmıştır. Katkı maddelerinin bazıları ise kullanım miktarı tespiti yüksek teknoloji gerektirdiği için miktar (Good Manufacturing Processes=GMP)

olarak tanımlanmaktadır. Böyle katkı maddelerinin ambalajlarındaki maksimum kullanım miktarı bölümünde (maksimum doz) QUANTUM SATIS (herhangi bir maksimum seviyenin belirtilmediğini gösterir) ifadesi yer alır. Bununla beraber; bir katkı maddesi özgün bir gıda maddesinde QS maksimum miktarı ile izin verilirken aynı katkı maddesi farklı bir gıdada miktarı sınırlandırılmış olabilir. Örnek; alfatokoferol (E307) rafine zeytinyağında maksimum 200 mg/l maksimum dozuna sahip iken, emülsifiye edilmemiş hayvansal ve bitkisel katı ve sıvı yağlarda QS düzeyinde izin verilir. (Boyacıoğlu, 2003).

2.1.2. Yönetmeliğe Göre Sayılarla Gıda Katkı Maddeleri

Çok fonksiyonlu gıda katkı maddeleri, koruyucular, tatlandırıcılar, antioksidanlar, renklendiriciler, tatlandırıcılar ve taşıyıcı solventler toplamda 400'e yaklaşan sayıdadır. Bunların çeşitli gıda maddelerinde maksimum dozları QS düzeyde %17-20 oranındadır. Ayrıca gıda aroma maddeleri sınıfında; yapay aroma maddeleri yaklaşık 400 ve doğala özdeş aroma maddeleri ise yaklaşık 1800 adettir.

Bir maddenin gıda katkı maddesi olarak kullanılabilmesi için öncelikle toksisitesi belirlenmelidir. Bir katkı maddesinin toksisitesi; kanser, doğum kusurları, sinir sistemi ya da diğer organlar üzerinde olumsuz etkileri laboratuvar hayvanları üzerinde deneylerle araştırılır. Bu çalışmalar; kısa (akut) ve uzun (kronik) süreli testleri içerir. Yapılan testler çok çeşitli olup, fetus testlerini, nörotoksisite testlerini, en az iki jenerasyon takip edilerek yapılan testleri de içerir. Kanser hariç uzun süreli etkiler için laboratuvar hayvanları hiçbir olumsuz etkinin görülmediği (NOAEL :No Observed Adverse Effect Level) düzeyini tayin etmek için test hayvanları farklı dozlara maruz bırakılır. Bu düzey güvenlik faktörü ile (100) çarpılarak günlük alınabilecek miktar (ADI=Acceptable Daily Intake) belirlenir. Eğer insan üzerinde bir veri mevcut değilse, ayrıca bireylerin duyarlılık farklılıklarını dikkate alacak x10 faktörü de kullanılabilir (toplam faktör 1000). ADI değeri bir bireyin vücut ağırlığı esas alınarak tüm yaşamı boyunca bir sağlık riski olmaksızın tüketebileceği katkı maddesi miktarının tahminidir.

Herhangi bir kimyasal maddenin sağlık üzerine olumsuz etkisi direkt olarak kullanılan miktara bağlıdır. Örneğin bir kimyasalın bireyde oluşturacağı olumsuz etki doz ile

birlikte artar. Ancak kanser yapıcılar için teorik olarak tek bir molekülün tümör oluşturabileceği dikkate alındığında dozun artışının bu olasılığı da artıracığı doğaldır.

Bununla beraber ADI değerlerinin aşılması durumunda mutlaka olumsuz sağlık etkileri çıkacak anlamında değildir. Zira bu değerlerin hesaplanmasında kullanılan belirsizlik faktörleri oldukça geniştir (100-1000). Bazı katkıları için ADI değeri tanımlanmamıştır, çünkü hiçbir olumsuz etki söz konusu değildir (Boyacıoğlu, 2003).

WHO ve FAO'nun ortak komitesi Joint Expert Committee in Food Additives and Contaminants (JECFA) maksimum kullanma düzeylerine karar verir, tüm toksikolojik çalışmaları değerlendirir, ADI değerlerinin güvenli olup olmadığını inceler. Böylece, gıda katkılarının üründe bulunabileceği miktarlar belirlenir. Ülkemizde ise Avrupa Birliği standartları esas alınarak mevzuatımız uyarlanmaktadır. Türkiye'de bu tür toksikolojik çalışmalar pek çok diğer ülkede olduğu gibi yapılmamakta olup, kullanma miktarları ve ürünlerin tanımları için uluslararası standartlar uygulanmaktadır. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'na ait Katkı ve Kontaminant Laboratuvarlarında çeşitli sıklıklarda ürünlerin katkı maddeleri içerikleri incelenmektedir. (Boyacıoğlu, 2003).

Ülkemizde katkı maddeleri üretilmemekte ve ithal edilmektedir. Bu nedenle ithalatçı firmalar bu ürünleri ülkemize getirirken gerekli analizleri yaptırtmak zorundadır ve üretici sertifikalarını da beraberinde sunmak durumundadır. (Boyacıoğlu, 2003).

GMP, bir katkı maddesinin istenen teknolojik etkiyi oluşturacak iyi üretim koşulları altında gerekli miktardır. Genel olarak quantum satış (QS) miktarında kullanılırlar.

Gıda katkı maddelerinin olumsuz etkileri duyarlılık veya intolerans olarak adlandırılır. Aslında bu olumsuz reaksiyonlar, protein olmayan yapıları da içerdiği ve bir antijen antikor reaksiyonu olmadığı için tipik gıda alerjisi (yumurta, balık, yer fıstığı gibi) reaksiyonlarından farklıdır. Örneğin astım ve baş ağrısı şikayetleri bilinmeyen mekanizmalardan ötürü olabileceği gibi psikomatik kaynaklı da olabilir (Boyacıoğlu, 2003)

2.2. *Laurus nobilis* Linn (Defne)

Laurus nobilis, yörede defne olarak isimlendirilir. 10 m kadar boylanabilen, herdem yeşil, sarı çiçekli, dioik bir ağaç olan *Laurus nobilis*'in kurutulmuş yaprakları baharat olarak kullanılır. Yapraklar 5-10 cm uzunlukta ve 2-5 cm genişlikte, derimsi, sert, kenarları dalgalı ve kısa saplıdır. Sarımsı yeşil renkli, özel kokulu ve baharatı lezzetlidir. Terletici, antiseptik ve mideyi etkiler (Baytop, 1984). Defnenin yapraklarında bitkiye özel kokusunu veren esansiyel yağlar ve %50 oranında cineol bulunur. Ayrıca eigenol ve β ve α pinenler, phellandren, linalool, geraniol, asetil eigenol, metil eugenol ile terpineol ihtiva etmektedir (Baytop, 1991; Laurel, 1998.).

Defne ile ilgili yapılan çalışmalar genellikle uçucu yağlar, uçucu yağların antimikrobiyal özellikleri ve ekstraktlardan molekül izolasyonu üzerine yoğunlaştığı görülmektedir. Fakat endüstriyel öneme sahip çalışmalara pek fazla rastlanmaktadır.

Baharat olarak tüketilen *Laurus nobilis* linn ve *Zingiber officinale* roscoe bitki uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri ve Antibiyotiklere İn-Vitro Etkilerinin Belirlenmesi adlı çalışmalarında Toroğlu ve ark. (2006) ticari olarak mevcut ve halk arasında baharat olarak tüketilen *Laurus nobilis* Linn (Defne) ve *Zingiber officinale* Roscoe (Zencefil) uçucu yağlarının antibakteriyel ve antifungal aktiviteleri in-vitro olarak disk difüzyon metoduna göre bir dizi çalışmalar yapmışlardır. Bu çalışmalarda şu bakteriler üzerine test çalışmaları yapılmıştır: *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.

Ayrıca bu bitki uçucu yağlarının Gentamicin (10 μ g), Cephalothin (30 μ g), Ceftriaxone (10 μ g) antibiyotiklerle beraber kullanıldığında meydana gelen etkileri in-vitro olarak araştırılmıştır.

Çalışma sonucunda bitki uçucu yağlarının adı geçen test mikroorganizmaları üzerine farklı değerlerde antibakteriyel ve antifungal aktivitelere sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca denenen test bakterileri üzerine bitki uçucu yağlarının üç farklı antibiyotik ajana in-vitro etkileşimleri farklılık göstermiştir.

2.2.1. Defne Ekstraktlarının Sitotoksik Etkilerinin İncelenmesi:

Bir ekstraktın gıda koruyucu katkı maddesi olarak değerlendirilebilmesi için sitotoksik açıdan incelenmesi gereklidir. Defne ekstraktlarının hücreler için zehir karakteri taşıyan (sitotoksik) madde miktarları Kıvçak ve ark. (2002) tarafından incelemiş hekzan ekstraktının sitotoksik etkisinin bulunduğu fakat su ve etanol ekstraktlarında böyle bir etkinin bulunmadığı ortaya konmuştur.

2.2.2. Defne Bitkisinin Uçucu Yağının Antifungal ve Antibakteriyel Etkileri:

Toroğlu ve ark. 2006 yılında yaptıkları çalışmada *Laurus Nobilis*'in uçucu yağının 0.5 µl ve µl'de, denenen tüm test bakterilerine ve funguslara karşı inhibisyon zonu oluşturmadığını fakat 2 µl'de, bakterilerden *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas pyococyaneus*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas Hydrophila*, *Enterococcus faecalis*'e ve funguslardan *saccharomyes cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis*'e karşı inhibisyon zonu oluşturduğu belirlenmiştir (Tablo 2). Erdoğan (1999) ise, yapmış olduğu bir çalışmada *Laurus nobilis*'in farklı çözücü (aseton, alkol, kloroform ve etil asetat) ekstraktlarının çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisini belirlemiştir. Yine aynı şekilde, O'gara ve ark.,(2000); Alzoreky ve Nakahara, (2003) ise *Laurus nobilis*'in uçucu yağlarının *L. Monocylogenes* ve diğer patojenlere karşı bakterisidal aktivitesini tespit etmişlerdir. Bu durum Toroğlu ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmayı desteklemektedir. Aksine, Zaika, (1988) ise *Laurus nobilis*'in antimikrobiyal etkisinin çok güçlü olmadığını fakat *Clostridium botulinium* bakterisine karşı, etkisinin olduğunu belirtmiştir. Bonjar ve ark., (2004) yapmış oldukları çalışmada, *Laurus nobilis*'in metanol ekstraktının antimikrobiyal etkisinin olmadığını belirtmişlerdir. Bu farklı antimikrobiyal etkinin bölge ve iklim değişikliklerinden kaynaklanabileceğine dikkat çekmişlerdir (Erdoğan, 1999).

Tablo 2. 2. *Laurus nobilis* uçucu yağının antimikrobiyal aktiviteleri

Mikroorganizmalar	İnhibisyon Zonları (mm)											Etki		
	BUY	SAD				UAOG			UAO					
	2µl	G	C	F	N	G	C	F	G	C	F	G	C	F
<i>Escherichia coli</i>	8	25	25	38	nt	33	33	46	32	25	40	a	a	a
<i>Mirococcus luteus</i>	-	26	16	8	nt	26	16	8	36	21	16	s	s	s
<i>Staphylococcus aureus</i>	7	30	17	9	nt	37	24	16	35	25	17	a	s	s
<i>Mycobacterium simegmatis</i>	-	25	28	10	nt	25	18	10	29	22	17	s	s	s
<i>Pseudomonas pyocyaneus</i>	12	26	16	9	nt	38	28	21	31	21	16	a	a	a
<i>Yersina enterolitica</i>	8	25	14	9	nt	33	22	17	31	21	15	a	a	a
<i>Aeoromonas hydrophila</i>	8	25	18	11	nt	33	26	19	31	22	17	a	a	a
<i>Enterococcus faecalis</i>	8	24	36	20	nt	32	44	28	28	40	18	a	a	a
<i>Bacillus megaterium</i>	-	24	15	9	nt	24	15	9	28	19	14	s	s	s
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	25	17	10	nt	25	17	10	30	18	13	s	s	s
<i>Bacillus brevis</i>	-	23	15	10	nt	23	15	10	30	20	14	s	s	s
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10	nt	nt	nt	18	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
<i>Klyveromyces Fragilis</i>	20	nt	nt	nt	18	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt

BUY: Bitki uçucu yağın oluşturduğu inhibisyon zonu

SAD: Standart antibiyotik diskinin oluşturduğu inhibisyon zonu

UAOG: Uçucu yağ ve standart antibiyotik diskinin birlikte kullanıldığında oluşan inhibisyon zonu

UAO: Uçucu yağ ve standart antibiyotik diskinin birlikte kullanıldığında oluşan inhibisyon zonu

G: Gentamicin, **C:**Cephalotin, **F:** Ceftraxone, **N:** Nystatin,

s: Sinerjik etki, **e:** additive etki, **a:** Antagonistik etki, **nt:** test edilmedi.

Toroğlu ve ark., (2006) yılında yaptıkları çalışmada ;*Laurus nobilis* 'in uçucu yağını 0.5 µl ve 1 µl'de etkisi gözükmediği için antibiyotik disklerine 2 µl olarak uygulanmışlar ve bu uçucu yağın Gentamicin antibiyotik diskine uygulandığında *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Bacillus megaterium*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus brevis*'de inhibisyon zonu arttığını (sinerjik etki), diğer bakterilerde inhibisyon zonu düştüğünü. (Antagonistik etki). Cephalotin ve ceftraxone antibiyotik disklerine uygulandığında *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium simegmatis*, *Bacillus megaterium*, *Streptococcus faecalis*, *Bacillus brevis*'de inhibisyon zonunun arttığını (Sinerjik etki). Diğer bakterilerde inhibisyon zonu düştüğünü rapor ettiler (Antagonistik etki).

Sonuç olarak *Larus nobilis* uçucu yağının bakteri ve funguslar üzerinde antimikrobiyal etkisinin mevcut olduğu, bu etkinin tüm bakteri türleri için geçerli olmadığı Toroğlu ve

ark., (2006) tarafından belirtilmiştir. Bu tez kapsamında ise defne bitkisinin ekstraktının endüstriyel öneme sahip bazı ürünlerde meydana gelen fungus oluşumuna karşı etkilerinin incelenmesi gerçekleştirilecektir. Fakat elde edilecek ekstraktlar bilinen standart metodlar ile değil daha gelişmiş ve daha yüksek verim ile ekstrakt eldesine olanak sağlayan düzenele gerçekleştirilecektir.

2.3. Tezin Amacı ve Önemi

Bu tezin genel amacı Öncelikle ülkemizde üretilen bazı gıdaların (salça) mayalanma, küflenme, oksitlenme ve bakteriye bağlı bozunmalara karşı defne bitki ekstraktının koruyucu olarak kullanılıp, kullanılmayacağı araştırılmıştır. Ayrıca, gıda koruyucu özellikleri araştırılan defne bitki ekstraktının daha etkin ve yüksek verimle eldesi için yeni bir düzenek-sistem yapılmıştır.

Gıdaların raf ömürlerini uzatmak için kullanılan sentetik gıda koruyucu kimyasalların günümüzde insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin ortaya konmasıyla, doğal kökenli gıda koruyucuların önemi gün geçtikçe artmaktadır. Kimyasal antimikrobiyal koruyucuların kontrolsüz kullanımı klasik antimikrobiyal maddelere çok daha dayanıklı mikropların ortaya çıkmasına sebep olmuştur. Bu yüzden mikropların canlılığını kontrol etmek gittikçe zorlaşmaktadır. Son 50 yıldır kimyasal antimikrobiyallerin artan kullanımı ekolojik dengenin bozulmasına ve patojenik mikropların çok daha dayanıklı hale gelmesine yol açmıştır (Levy, 1997).

Bir yandan gıdaların bozulmadan kalması ve uzun ömürlü olması için kimyasal gıda katkı maddeleri katılırken, diğer yandan da bunların sağlığa olumsuz ciddi etkilerinden dolayı başka çözümler aranmaktadır. Bedin ve arkadaşlarının (1999) çalışmaları ve daha birçok çalışma bu katkı maddelerinin insanlar için zehirli olabileceğini göstermektedir. Gıdaların hem raf ömrünün uzun olmasını hem de gıdalardan geçen hastalıkların riskinin az olması için alternatif çareler aranmaktadır. Konunun önemini kavrayan ülkeler, kimyasal koruyucular yerine doğal koruyuculara yönelmektedir. Bu tez çerçevesinde yapılan deneyler ile ülkemizde bolca bulunan doğal bir koruyucu özelliği olan defne bitkisinin gıda koruyucu olarak kullanılabilirliği araştırılmaktadır. Bu gelişmekte olan durum tezin önemini açıklamaktadır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

Tez projesi kapsamında gerçekleştirilen çalışmaların çoğu, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Kimya Bölümü Araştırma Laboratuvarlarında ve Yalova Atatürk Bahçe Kùltürleri Merkez Araştırma Enstitüsünde gerçekleştirilmiştir.

3.1. Kullanılan Materyaller

3.1.1. Araç ve Malzemeler

Manyetik karıştırıcı, döner buharlaştırıcı, değişik cam malzemeler, basınçlı ekstraktör, süzgeç kâğıtları kullanıldı. Defne bitkisi Özdrog uçucu yağ fabrikasından (Dört yol-Hatay) temin edilmiştir. Salça katkısız olarak Tokat OLCA salça fabrikasından temin edilmiştir.

3.1.2. Basınçlı Ekstraksiyon Sistemi

Sistem 0.5 mm krom-nikel paslanmaz çelikten argon kaynağı ile İstanbul da İmes sanayi sitesinde yaptırılmıştır. Sistemin dayanıklılık testi uzaktan kontrol sistemi ile güvenli bir ortamda gerçekleştirilmiş ve deney için gerekli olan değerlere çıkmıştır.

Yüksek sıcaklıkta ve basınçta su ekstraksiyonlarında bitkilerdeki yağ muhtevalarının tamamına yakını suya geçirilebilir. Bitkideki organik muhtevanın suya geçiş miktarı bitkiden bitkiye farklılık göstermektedir. Çünkü yüksek sıcaklıklarda ve basınç ortamında su organik çözücü gibi davranmaktadır. Aynı zamanda yüksek sıcaklık da dokulara nüfuz kabiliyeti de artmaktadır.

Kuru temizleme işlemi (buhar temizleme) 160 °C civarında buharla yapılmaktadır. Bu sıcaklıklarda giysilerde yağların kolayca çözülmesi, bitki hücre ve liflerindeki yağların kolayca bitkiden transfer edileceğini göstermektedir.

3.1.3. Basınçlı Çözücü Ekstraksiyonu (BSE)

BSE, mevcut ekstraksiyon tekniklerinden olan Sokslet, maserasyon ve perkolasyona alternatif olarak geliştirilen ve bu yöntemlere nazaran ekstraksiyon süresi, çözücü tüketimi, ekstraksiyon verimi ve tekrarlanabilirlik açısından daha avantajlı bir katı-sıvı ekstraksiyon tekniğidir (Kaufman ve ark, 2002). Çözücülerin kritik noktalarının altında yüksek basınç ve yüksek sıcaklıkta, ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilir.

Bu teknik, çözücü olarak su kullanıldığı zaman değişik adlarla anılmaktadır: Subkritik su ekstraksiyonu, sıcak su ekstraksiyonu, basınçlı sıcak su ekstraksiyonu, yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu, süper ısıtılmış su ekstraksiyonu gibi.

BSE tekniğinin geleneksel çözücü ekstraksiyon tekniklerine üstünlükleri vardır. Uygulanan basınç sayesinde çözücünün kaynama noktası sıcaklığı üzerinde de sıvı kalabilmektedir. Bu da ve yüksek sıcaklıklarda ekstraksiyona müsaade etmektedir. Yüksek sıcaklık ve basınç ile sağlanan bu şartlar çözünürlük ve ekstraksiyon desorpsiyon kinetiği yükselmektedir. Su düşük sıcaklıkta fitokimyasalların ekstraksiyonu için yetersiz olmasına rağmen artan sıcaklıklarda daha etkili olmaktadır. Bu teknik ile 3-20 dakikada 3,3-20,3 MPa basınç ve 40-200 °C sıcaklıkta kapalı bir ortamda analitin ekstraksiyonu gerçekleştirilebilmektedir (Howard ve ark., 2003).

Su yapısal özellikleri, yüksek hidrojen bağlı yapısı, molekül ağırlığından beklenmeyecek düzeyde yüksek kaynama noktasına sahip oluşu, yüksek dielektrik sabiti ve polaritesi ile özel bir çözücüdür. Yüksek basınç ve sıcaklık altında suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerinde özellikle de dielektrik sabitinde (ϵ) çarpıcı değişiklikler meydana gelmektedir. Sıcaklık artışı ile hidrojen bağları zayıflar, difüzyon oranı artar, yüzey gerilimi ve viskozite azalır. Eğer yeterli basınç sağlanırsa suyun sıvı hali, kritik nokta olan 374 °C ve 218 bara kadar devam eder (Smit, 2002). Dielektrik sabiti çözücü polaritesinin ölçüsü olup çözücü-çözünen etkileşimlerinde anahtar bir parametredir. Suyun yüksek sıcaklık ve ılımlı basınç koşulları altında dielektrik sabiti önemli ölçüde azalmaktadır. Oda sıcaklığı ve atmosfer basıncı koşullarında suyun dielektrik sabiti $\epsilon = 78$ dir. 300 °C ve 23 Mpa basınçta bu değer $\epsilon = 21$ olur. Dielektrik sabiti 25 °C ve atmosfer basıncında etanol için $\epsilon = 24$, aseton için $\epsilon = 20.7$ ve metanol için $\epsilon = 23$ dür. Bunun anlamı, yüksek basınç ve sıcaklık koşullarında suyun polaritesi

ciddi şekilde düşmektedir ve ekstraksiyon işleminde etanol, aseton, metanol gibi davranabilmektedir. Bu sayede su orta polar-düşük polar bileşenlerin ekstraksiyonu işleminde organik çözücüler yerine kullanılabilir.

3.1.4. Destilasyon (Damıtma) :

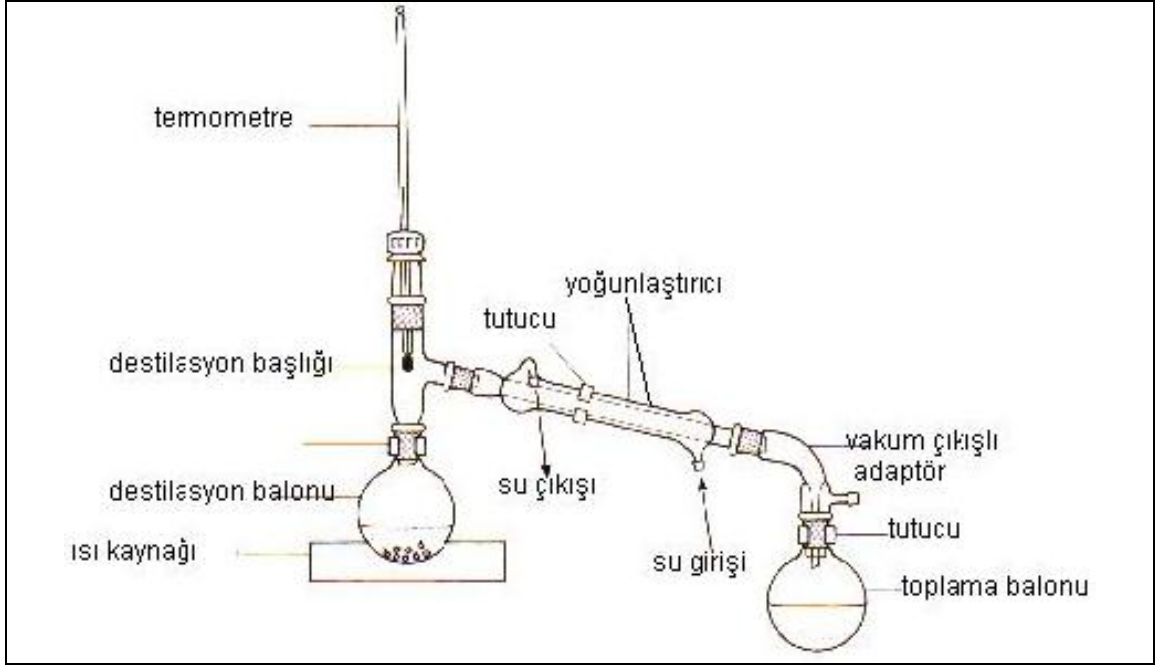
Damıtma, iki veya daha fazla bileşen içeren bir karışımın ısıtılıp, buhar ve sıvı faz oluşturmak suretiyle daha uçucu bileşence zengin karışımların elde edilmesini sağlayan ayırma işlemidir. Distilasyon işlemi sırasında, buhar faz daha uçucu olan A bileşeni tarafından zenginleşirken, sıvı faz ise kaynama sıcaklığı daha yüksek olan B bileşence zenginleşir. Fakat % 100 "A" içeren bir buhar faz elde edilemez.

Diğer bir tanımlamayla tüm bileşenlerinin uçucu olmak zorunda olduğu, yüksek oranlarda ayırmaya izin veren bir çeşit ayırma prosesidir. İki veya daha fazla bileşenli sıvı karışımlarının ısıtılıp buhar ve sıvı faz oluşturulması suretiyle, daha uçucu bileşence zengin karışımların elde edilmesine denir.

Distilasyonun gerçekleştirilebilmesi için temel şart, denge durumuna erişmiş buhar-sıvı sisteminde, buhar fazın sıvı fazdan farklı bileşime sahip olmasıdır. Buhar ve sıvı faz bileşimleri aynı olursa, distilasyonda yeterli bir ayırma gerçekleşmez.

Damıtma, özellikle organik bileşiklerin saflaştırılması ve ayrılmasında en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Kaynama noktasında bulunan bir sıvıya daha fazla ısı verilirse sıvının sıcaklığı artmaz, verilen ısı sıvının buhar haline dönüşmesini sağlar. Sıcaklık, sıvının tamamen buhar halinde uzaklaşmasına kadar sabit kalır. Bu yöntemle buhar basınçları farklı olan sıvılar birbirinden ayrılabilir (Anonim, 2010).

Çeşitli parametreler göz önüne alınarak distilasyon çeşitlerinin sınıflandırılması mümkündür. Bu tez çerçevesinde parametlerden sıcaklık ve basınç değiştirilerek destilasyon ürünlerindeki değişim gözlenmiştir.

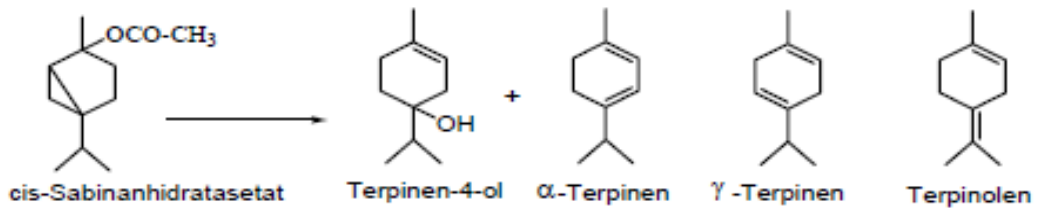


Şekil 3. 1. Basit Destilasyon Sistemi

3.1.5. Destilasyonda Yüksek Sıcaklığın Etkisi

Deneysel işlemler sırasında genellikle yüksek sıcaklık destilatları ile çalışılmıştır. Çıkkılan yüksek sıcaklığın bazı uçucu bileşikleri üzerindeki etkisi bilinmektedir. Sıcaklığın etkisi ile moleküller üzerinde termal reaksiyonlar vuku bulabilmektedir. Bu reaksiyonlara artifaak oluşumu hidroliz ve izomerizasyon olayları örnek verilebilir.

Bu reaksiyonlara örnek olarak Sabinanhidratasetat'da meydana gelen termal degradasyon verilebilir.



Şekil 3. 2. Sabinanhidratasetat'da meydana gelen termal degradasyon (Rowe, 1989).

Fakat bu ürünlerdeki dönüşümlerin olumlu veya olumsuz bir dönüşüm olup olmadığı kullanılacağı alana göre değerlendirilmelidir.

3.1.6. Düzeneğin Tasarlanması

Yüksek Basınç ve Sıcaklıkta Ekstraksiyon Düzeneği

Bu çalışma çerçevesinde tasarlanan ekstraksiyon ünitesi esasen 2 ana kısımdan meydana gelmektedir. 5 bara dayanıklı, kapalı sistemde yaklaşık 150 °C sıcaklığa suyun ısıtılabilceği kısımla yoğunlaştırıcı kısımdan oluşmaktadır.

- i. Ekstraksiyon ünitesi: Ezilmiş, öğütülmüş materyalin sıcak buharla ekstraksiyona tabi tutulduğu haznedir.
- ii. Yoğunlaştırıcı (eşanjör): Sıcak destilat ve su buharının soğutularak yoğunlaştırıldığı bölümdür.



Şekil 3. 3. Basınçlı Ekstraksiyon Düzeneği

Sistemin Bölümleri:

1. Termometre
2. Manometre
- 3- Ayarlı emniyet ventili
4. Yükleme kapağı
5. Eşanjör bağlantı noktası
6. Ani basınç tahliye vanası
7. Alt tahliye vanası (Ekstrakt vanası)
8. Isıtıcı
9. Eşanjör
10. Buhar termometresi
11. Soğutma suyu çıkışı metre

1. Termometre: 250 °C kadar yüksek basınç altında çalışabilen kınılı tip termometre seçilmiştir.

2. Manometre: 25 bara kadar ölçüm yapabilen. Yüksek sıcaklıklarda ölçüm yapabilecek membrana sahip manometre kullanılmıştır.

3. Ayarlı emniyet ventili: 1 bardan 12 bara kadar istenilen basınçta sistem güvenliğini sağlayacak türde ECA firmasının üretmiş olduğu emniyet ventili kullanılmıştır. Bu sayede Yüksek basınçlarda oluşabilecek risk faktörü en aza indirgenmiş aynı zamanda sabit basınç altında gelen uçucu bileşenlerin toplanmasına olanak sağlanmıştır.

4. Yükleme kapağı: Yükleme kapağının çapı 5 inç olarak rahatlıkla meteryal doldurulup boşatılmaya müsait şekilde dış açtırılarak yapılmıştır.

5. Eşanjör bağlantı noktası: Yüksek basınç altında risk oluşturmayacak şekilde bir biçimde madde transferine müsaade edilebilen küresel vanalar kullanıldı. Tüm kaynaklar argon kaynağı ile yapılmıştır.

6. Ani basınç tahliye vanası: Kazanda aşırı bir basınç oluşturduğu durumlarda kazan iç basıncını dengelemek amacı ile kolay ulaşabilinen bir vana konuldu.

7. Alt tahliye vanası (Ekstrakt vanası): Deneysel işlemler gerçekleşirken yüksek sıcaklık ve basınçta ekstraktları kazandan almaya müsaade eden yüksek hassasiyetli küresel vana kullanıldı.

8. Isıtıcı: Güvenli bir şekilde çalışmaya müsaade edecek uzunlukta sistemden uzaklaştırılan alev şiddetinin ayarına müsaade eden ısıtma sistemi oluşturuldu.

9. Eşanjör: Sistemi daha fonksiyonel hale getirmek için sisteme eklenmiştir. Yaklaşık 2 metre uzunluğunda etkin soğutma yapabilecek fiziki yapıya sahip krom nikel paslanmazdan çift cidarlı olarak yapıldı. Destilatların deney işlemi sırasında yoğunlaştırıldığı düzendir.

10. Buhar termometresi: Yüksek basınç altından çıkan moleküllerin atmosfer basıncı ile karşılaştıkları andaki sıcaklığını ölçmeye yarayan hassas bir termometre kullanıldı.



Şekil 3. 4. Basınçlı ekstraksiyon düzeneği farklı açılardan resimleri

Bu sistem tamamen kendi tasarımlarımıza dayanarak yapılmıştır. Sistemde yer alan malzemeler çeşitli firmalardan tedarik edilmiştir. İstanbul/Dudullu'da bulunan İmes

sanayisindeki kazan imalatı yapılan yerde imal edilmiştir. Alet yaklaşık 20 litre hacimli olup 0.5 mm krom nikel paslanmaz çelikten büküm teknolojisi kullanılarak inşa edilmiştir. Materyal yükleme kapağı yaklaşık 15 cm çapındadır. Sistemin ısıtması tüp gaz ile gerçekleştirilmektedir. Düzeneğin güvenlik testi yapıldıktan sonra (5 bar) sistemle deney yapılmaya başlanmıştır. Bilindiği gibi su yaklaşık 1 barda (1 atm) 100 °C kaynamaktadır. Bu sistem ile 5 bar 150 °C' ye kadar çalışmıştır.

Ayarlı emniyet ventili güven içinde çalışmasını ve uçucu destilatların sabit basınç altında yoğunlaştırılmasını sağlamaktadır. Sisteme ekli olan buhar termometresi ise eşanjöre girmeden önce uçucu bileşenlerin sıcaklığını göstermektedir. Bu da farklı sıcaklıklarda destilatları ayırmamıza olanak sağlamaktadır. Ani basınç tahliye vanası ise kazandaki deney esnasında acil durum anında kontrollü olarak kazan iç basıncını ayarlamamıza olanak sağlamaktadır. Eşanjör ise buhar fazındaki molekülleri tekrar yoğunlaştırmamıza yarayan bir ekipmandır.

Bu düzeneğin en önemli özelliği sıcaklığı basıncı aynı anda ayarlayabilme imkânı sunmasıdır. Örneğin gerekli ayarlamaları yaparak 100 °C'den 150 °C'ye kadar istenilen sıcaklıkta ekstraksiyon yapma imkânı mümkün olmaktadır. Çünkü emniyet ventili ve ısıtıcı şiddeti kontrolü ile basıncı ve sıcaklığı ayarlama imkânı vardır. Bu sistemin en önemli sağladığı imkân sözünü ettiğimiz her sıcaklık aralığında uçucu yağları almaya müsaade etmesidir. Uçucu yağlar normal olarak 1 atmosferde basınç altında ve 100°C'de toplanmaktadır. Bu cihazla ise 150 °C ye kadar her sıcaklıkta bu imkân sağlanabilir. Böylece fraksiyon fraksiyon daha ağır (kaynama noktaları yüksek) ürünleri toplama imkanı doğmaktadır. Böylece hem daha yüksek sıcaklıkta destilat ve aynı zamanda daha yüksek verimle ekstrakt eldesi mümkün olmaktadır.

Böylece uçucu yağları aldıktan sonra uçucu olmayan kısım ise örneğin 150 °C yüksek sıcaklıkta daha yüksek bir verimde toplama şansı olmaktadır. Uçucu olmayan ekstrakt kısmı alt tahliye vanasından alınabilmektedir.

3.1.7. Teknik cihazlar

Kullanılan Cihazlar	Bulunduğu Yer	Markası	Cihazların Fotoğrafları
Manyetik karıştırıcı	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya bölümü	Heidoph MR 3001	
Döner buharlaştırıcı	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya bölümü	Heidoph Laborota 4002-efficient	
^1H -NMR (400 MHz)	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya bölümü	Bruker 400 MHz Spektrometre	
^{13}C -NMR (100 MHz)	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya bölümü	Bruker 400 MHz Spektrometre	
IR	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya bölümü	Jasco 430 FT/IR Spektrometre	

GC-Mass	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya bölümü	Perkin Elmer Clarus 500 Gas Chromatography	
Çeker ocak	Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Kimya bölümü		

Şekil 3. 5. Kullanılan teknik cihazlar

3.2. Uygun Ekstraksiyon Şartlarının Belirlenmesi ve Optimum Ekstrakt Verimi

İlgili literatürler de defne yaprağının ekstraksiyon şartlarının etraflıca, yani değişik şartlarda incelenmediği dikkat çekmektedir. Örneğin, M. Elmastaş ve arkadaşları (2006) kütlece 1:20 oranında destile su kullanarak 50 dakikalık manyetik karıştırıcılı bir ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmişlerdir. Favzi ve ark. (2009) ise 1:5 oranında soğukta destile su ile 24 saatte ekstraksiyon işlemi gerçekleştirmişler. Bu ekstraksiyon koşullarındaki farklılıklar göz önünde bulundurularak, ilk olarak ekstraksiyonun optimizasyonu yapılmasına karar verilmiştir.

Ekstraksiyon için en uygun şartların belirlenmesi için yapılan ön deney çalışmalarında aşağıda yer alan faktörlerin ekstraksiyonu etkilediği görülmüştür.

- I. Kuru madde/Çözücü oranı
- II. Sıcaklık
- III. Çözücü cinsi
- IV. Tanecik/parçacık büyüklüğü
- V. Süre

Bu çalışmada tüm bu parametrelerde değişiklikler yapılarak en iyi ekstrakt veriminin elde edildiği şartlar belirlenmeye çalışıldı.

4.BULGULAR

4.1. 65 °C de Ekstraksiyon Yolu İle Kuru Madde - Çözücü Oranının Belirlenmesi

4.1.1. Kuru madde / Çözücü Oranının Belirlenmesi:

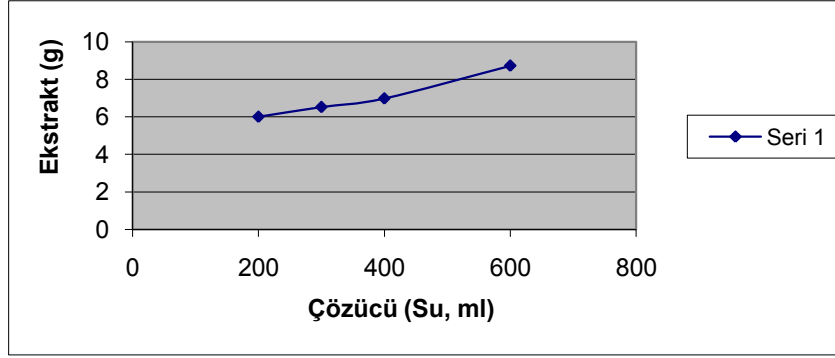
Deneylerde ekstraksiyonu etkileyen faktörlerden sadece birisi değiştirilerek, çözücünün ekstraksiyon verimi üzerine etkisi belirlenilmeye çalışıldı İlk olarak uygun çözücü- kuru madde oranını belirlenmesi için, sıcaklık sabit tutularak çözücü miktarı artırıldı. Böylece maksimum ekstrakt miktarının hangi çözücü miktarında elde edilebileceği belirlendi.

Isıtma işlemi, su banyosunda (65 °C) 500 ml lik balonlarda gerçekleştirildi (Tip A). Her bir balon numaralandırıldı. Her balona 1,5 mm çaplı elekte öğütülmüş kuru defne yaprağı (*laurus nobilis L.*) (50 gr) konularak 2'şer saat süre ile ısıtıldı. Elde edilen sulu ekstraktlar adi süzgeç kağıdından süzüldü. Çözücü olarak kullanılan su düşük basınçta (döner buharlaştırıcıda, 30 °C) uzaklaştırıldı.

Diğer şartlar aynı kalmak kaydıyla çözücü miktarı artırıldı (Tablo 4.1.). Tablodan da görüldüğü gibi en fazla ekstrakt verimi 1:8 oranında elde edildi. En büyük artış 600 ml su ile yapılan denemede görüldü. Bu durum, ekstraksiyon veriminin çözücü miktarına ne kadar bağlı olduğunu göstermektedir.

Tablo 4. 1. Defne Yapracağının 65 °C Sıcaklıkta Su ile Ekstraksiyonu

Deney No	Ekstraksiyon sıcaklığı	Çözücü (su) miktarı	Elde edilen ekstraktlar ve miktarları	Ekstraksiyon süresi	Partikül büyüklüğü	Defne yaprağı miktarı
1.1.	65°C	200	6.002 gr	2 Saat	$x \leq 1.5$ mm	50 gr
1.2.	65°C	300	6.521 gr	2 Saat	$x \leq 1.5$ mm	50 gr
1.3.	65°C	400	6,980 gr	2 Saat	$x \leq 1.5$ mm	50 gr
1.4.	65°C	600	8,729 gr	2 Saat	$x \leq 1.5$ mm	50 gr



Şekil 4. 1. Kuru madde \ çözücü oranının değişimi ile ekstraksiyon miktarının artışı

4.1.2. Defne Yaprağı Posasının İleri Ekstraksiyonu

Defne ekstrak posalarında ekstrak kalabileceği düşüncesi ile dört deney posalarının her birine 100'er ml saf su ilave edildi (Tablo 4.2.). Aynı düzenekte (Tip A) ekstraksiyon işlemi aynı sıcaklıkta (65 °C) ve aynı sürede (2 saat) devam edildi.

Tablo 4. 2. Defne Yaprağının 65 °C de İleri Ekstraksiyonu

Deney No	Ekstraksiyon sıcaklığı	Çözücü (su) miktarı	Elde edilen ekstraktlar ve miktarları	Ekstraksiyon sıcaklığı	Süre	Partikül büyüklüğü
2.1.	65°C	100 ml	2.018 gr	65 °C	2 Saat	$x \leq 1.5$ mm
2.2.	65°C	100 ml	1.706 gr	65 °C	2 Saat	$x \leq 1.5$ mm
2.3.	65°C	100 ml	1.407 gr	65 °C	2 Saat	$x \leq 1.5$ mm
2.4.	65°C	100 ml	0.203 gr	65 °C	2 Saat	$x \leq 1.5$ mm

Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.deki sonuçlar karşılaştırıldığında, bir uyum görülmektedir. 2.4.deney balonunun ekstrakt miktarının düşüklüğü, çözücü - kuru madde oranı için yeterli bir miktara ulaşıldığını göstermektedir. İki ayrı deneme sonucunun tek bir tabloda (Tablo 4.3.) gösterildiği sonuca baktığımızda, deney no 2.4. ile en iyi verime ulaşıldığı söylenebilir. Bu deneyde ekstrakt verimi kuru defne yaprağı esas alındığında % 18 dir.

Tablo 4. 3. Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.'de yer alan deneylerin birleştirilmiş sonuçları

İşlem no (toplam)	Toplam çözücü miktarı	Kuru madde / çözücü oranı (W/W)	Toplam ekstrakt miktarı	Defne yaprağı miktarı	Sıcaklık
3.1 (1.1 + 2.1)	300 ml (200ml+100ml)	1/6	8.03 gr	50 gr	65 °C
3.2 (1.2+2.2)	400 ml (300ml+100ml)	1/8	8,227 gr	50gr	65 °C
3.3 (1.3+2.3)	500 ml (400 ml+100 ml)	1/10	8.387 gr	50gr	65 °C
3.4 (1.4+2.4)	700 ml (600 ml+100 ml)	1/14	8.932 gr	50gr	65 °C

Tablo 4.3.'de görüldüğü gibi 4. balondaki ekstrakt miktarı 0,2 gr dır. Bu çok az bir miktara tekabül etmektedir. Bu sonuç 14/1 yada 15/1 oranında kuru madde çözücü oranının en uygun değer olduğunu göstermektedir.

4.1.2. Sıcaklığın Defne Yaprağı Ekstrakt Verimine Etkisi

Bu çalışmada, bir önceki deney serisinden kalan defne posaları, ekstraksiyon sıcaklığı artırılarak 100 °C'da tekrar ileri ekstraksiyona (3. Ekstraksiyon) tabi tutuldu.

Posalar üzerine 200 er ml saf su ilave edildi. Materyal 100 °C'de geri soğutucu altında birer saat süre ile ısıtıldı sonra muhteva oda sıcaklığına soğutuldu ve süzüldü. Posalar ayrıldı. Su döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Deney sonuçları tabloda (Tablo4.4.) verilmiştir.

Tablo 4. 4. Defne yaprağı posalarının 100 °C ileri ekstraksiyonu

Deney no	Partikül büyüklüğü (X)	Elde edilen ekstrakt ve miktarları	Sıcaklık	Süre	Partikül büyüklüğü
4.1.	x≤1.5 mm	0.90 gr	100 °C	1 Saat	x≤ 1.5 mm
4.2.	x≤1.5 mm	0.8 gr	100 °C	1 Saat	x≤ 1.5 mm
4.3.	x≤1.5 mm	0.795 gr	100 °C	1 Saat	x≤ 1.5 mm
4.4.	x≤1.5 mm	0.630 gr	100 °C	1 Saat	x≤ 1.5 mm

Sıcaklığın 65°C dan 100°C 'ye çıkarılması ile ekstrakt miktarında artış sağlanmakta, ekstraksiyon veriminde çözücü miktarı kadar, sıcaklığın da önemli bir etken olduğu anlaşılmaktadır.

4.1.3. Organik Çözücü İle Ekstraksiyon (Çözücü Seçimi)

Su ile 3. ekstraksiyonu yapılan posalar üzerine organik çözücünün ekstraksiyon verimine etkisi incelendi. Bilindiği gibi su ile daha çok polar karakterli moleküller ekstrakte olmaktadır. Organik çözücülerde ise apolar karakterli maddelerde ekstrakte edilebilmektedir. Kalan posalarda organik çözücü ile daha fazla madde ekstrakte edilip edilemeyeceğini denemek için posalara aşağıdaki organik çözücüler ile ekstraksiyona tabi tutuldu.

1. Tablo 4.4.'deki deney 4.1. posasına 100 ml destile hekzan ilave edildi. ($\epsilon= 1.9$) (K.N : 69 °C)
2. Tablo 4.4.'deki deney 4.2. posasına 100 ml kloroform ilave edildi. ($\epsilon= 4.8$) (KN: 61,7°C)
3. Tablo 4.4.'deki deney 4.3. posasına 100 ml THF ilave edildi ($\epsilon= 7.6$) (K.N: 67 °C)
4. Tablo 4.4.'deki deney 4.4. posasına 100 ml diklorometan ilave edildi. ($\epsilon= 8,9$) (K.N : 39.8 °C),

Bu dört deney düzeneği geri soğutucu altında 1'er saat ısıtıldı. Isıtılmayı müteakip, sıvı kısım süzülerek ayrıldı. Çözücü döner buharlaştırıcıda buharlaştırıldı. Elde edilen ekstrakt miktarları Tablo 4.5.'de verilmiştir.

Tablo 4. 5. Defne posalarının organik çözücüler ile ekstraksiyonu

Deney No	Ekstraksiyon sıcaklığı	Çözücü ve miktarı	Elde edilen ekstrakt miktarları	Süre
5.1.	69 °C	100ml Hekzan	0.5001 gr	1 Saat
5.2.	61.7 °C	100ml Kloroform	1.000 gr	1 Saat
5.3.	67 °C	100 ml THF	0.702 gr	1 Saat
5.4.	39.8 °C	100 ml Diklor metan	0,537 gr	1 Saat

Tablodaki verileri değerlendirdiğimizde su ile organik çözücüdeki ekstraksiyonları karşılaştırdığımızda, önemli farklılık bulunmamaktadır. Bu sonuçlara göre suyun uygun bir ekstraksiyon çözücüsü olduğu anlaşılmaktadır. Hekzan ekstraktı koyu renkli ve katranımsı bir görüntü oluşturuyor ve buda görsel olarak uygulama alanlarını daraltmaktadır. Bunların yanı sıra Kıvçak ve ark (2002) yılında yaptıkları çalışmada defne bitkisinin yapraklarının su hekzan ve etanol ekstraktlarının sitotoksitesini artemya canlıları üzerinde incelemişler ve hekzan ekstraktının toksisite etkisinin bulunduğunu fakat su ve etanol ekstraktlarının bir sitotoksite etkisinin bulunmadığını rapor ettiler. Çözücünün apolar karakteri artıka elde edilen ekstrakt rengi koyulaşmakta ve buda uygulama alanlarını kısıtlamaktadır. Bunlarla birlikte uygulanan çözücülerin tam olarak bertaraf edilememesi halinde doğurabileceği tehlikelerde göz önünde bulundurulduğunda çözücü olarak suyun önemi artmaktadır. Bu yüzden deneylerde ileriki aşamalarda sadece çözücü olarak su kullanılmıştır.

4.1.4. Su ile elde edilen ekstraktların organik çözücülerdeki çözünürlüklerinin incelenmesi

Su da elde edilen ekstraktların (100 °C) organik çözücülerdeki çözünürlükleri incelendi. Üç çözücüde denemeler yapıldı.

Hekzan (dielektrik sabiti $\epsilon= 1.9$)

Kloroform (dielektrik sabiti $\epsilon= 4.8$)

Aseton (dielektrik sabiti $\epsilon= 20.7$)

Denemeler sonucunda asetonda çok az bir çözünme gerçekleştiği görüldü. Diğerlerinde çözünme yok denecek kadar az vuku buldu. Ekstraktlar organik çözücülerde çözünmemiş kürecikler halinde alt fazda karışmamış vaziyette kalarak faz oluşturmaktadır. Bu sonuçlar ekstrakt muhtevasının yüksek polar karakteri ile uyum sağlamaktadır.

4.1.5. Partikül Büyüklüğü

Deneyler parçacık büyüklükleri birbirinden farklı 0.2 mm 0.5 mm ve doğrudan yaprak halindeki numuneler üzerinden gerçekleştirildi.

Tablo 4. 6. Tanecik boyutunun ekstraksiyona etkisi

Balon Numarası	Meteryal Boyutu (Defne Yapağı)	Elde edilen ekstrakt miktarı	Ekstraksiyon Sıcaklığı	Süre	Çözücü (su)
6.1.	0,2 mm elekte öğütülmüş numune	9,21 gr	100 °C	3 Saat	750 ml
6.2.	0,5 mm elekte öğütülmüş numune	9,30 gr	100 °C	3 Saat	750 ml
6.3.	Öğütülmemiş numune	9,18 gr	100 °C	3 Saat	750 ml

Her bir deneyde 50 gram kuru defne yapağı numunesi balona alındı. Üzerine 750 ml saf su ilave edildi. 3 saat geri soğutucu altında ısıtıldı. Posa adi süzgeç kağıdından süzüldü. Su döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Tartımlar karşılaştırıldı. Elde edilen sonuçların birbirine oldukça yakın değerler taşıması tanecik büyüklüğünün ekstrakt miktarına önemli bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

4.1.6. Ekstraksiyon Süresinin Verime Etkisi

4 ayrı balona 50 gram defne yapağı numunelerinden ve 750'şer ml saf su ilave edildi. Geri soğutucu altında kaynatıldı. Denemeler farklı sürelerde tekrarlanarak, sürenin etkisi araştırıldı. Daha sonra çözücüleri döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Elde edilen ekstrakt miktarları aşağıda verilmiştir.

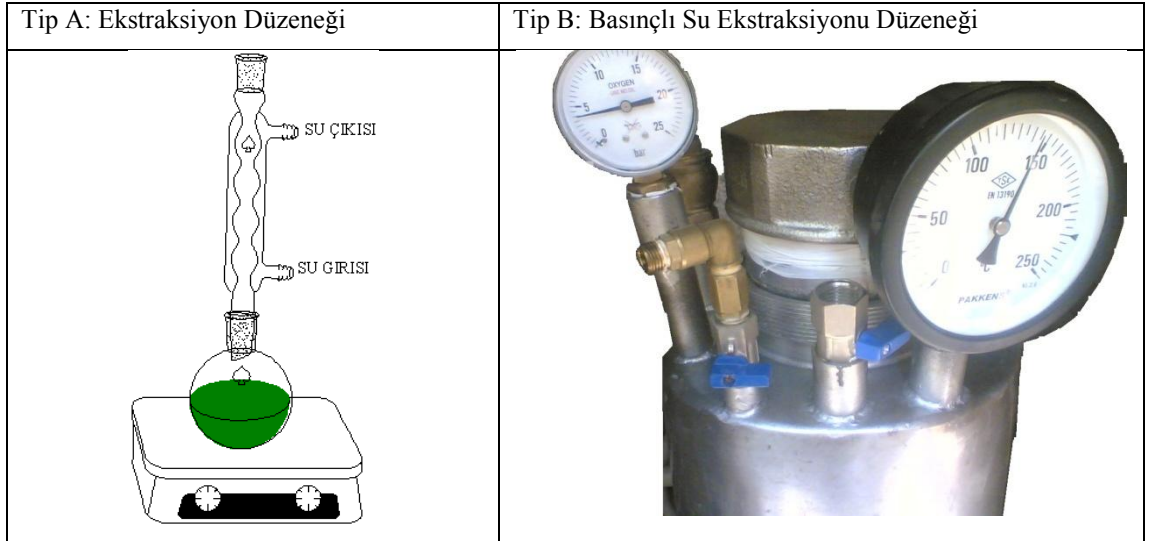
Tablo 4. 7. Ekstraksiyon Verimine Sürenin Etkisi

Deney No	Kaynatma Süresi	Ekstrakt Miktarı	Ekstraksiyon Sıcaklığı	Çözücü (su) miktarı	Defne yapağı miktarı
7.1.	1 Saat	6.73 gram	100 °C	750 ml	50 g
7.2.	2 Saat	8.34 gram	100 °C	750 ml	50 g
7.3.	3 Saat	9.20 gram	100 °C	750 ml	50 g
7.4.	4 Saat	9.24 gram	100 °C	750 ml	50 g

Elde edilen sonuçlara göre sürenin ekstraksiyon verimine önemli bir etkide bulunduğunu göstermektedir. 50 gram numune 750 ml su ortamında 3.0 veya 3.5 saatlik sürenin maksimum verim için yeterli olduğu anlaşılmaktadır.

4.2. Basınçlı Sıcak Su Ekstraksiyonu

Elde edilen veriler ışığında sıcaklığın artması ile reaksiyon veriminin arttığından farklı moleküller de çözücü fazına geçebilecektir. Tip A ekstraksiyon sistemi ile belirlenen parametreler tasarlanan Tip B sistemine (basınçlı sıcak su ekstraksiyon sistemi) uygulandığında verimin daha çok artacağı beklenmektedir.



Şekil 4. 2. Tip A ve Tip B ekstraksiyon sistemleri

4.2.1. Tip B Ekstraksiyon Sisteminin Tasarımı ve Çalışma Prensibi

Yapılan çalışmalar ışığında sıcaklığın artması ile reaksiyon veriminin artacağı ve dolayısı ile farklı moleküllerin de ekstrakte edilebileceği daha yüksek sıcaklıklarda ekstraksiyon yapabilecek bir düzenek tasarlandı. Düzenek ısının homojen dağılmasını sağlayan silindir şeklinde ve krom nikel paslanmaz çelikten ve argon kaynağı teknolojisi kullanılarak 0,5 mm saçtan imal edildi. Bunun yanı sıra düzenegin deneysel işlemlerde çok işlevli hala getirebilmesi için eşanjör sistemi ilave edildi.

Düzenek temel olarak aşağıdaki parçalardan oluşmaktadır:



Şekil 4. 3. Yapılan basınçlı ekstraksiyon sistemi

Termometre: Yüksek basınç altında ölçüm yapabilen kınlı termometre kullanıldı.

Manometre: Yüksek sıcaklıkta ölçüm yapabilecek nitelikli manometre kullanıldı.

Ayarlı emniyet ventili: İstenildiği takdirde sabit basınç altında destilasyon ürünlerini toplamak yada ekstraksiyon işlemleri esnasında güvenli bir şekilde çalışmak için 1 den 12 bara kadar ayarlanabilen bir emniyet ventili kullanıldı.

Yükleme kapağı : El ile numune meteryallerin rahatça yüklenip boşaltılabileceği 5 inç boyutunda basınca dayanıklı bir kapak monte edildi.

Eşanjör bağlantı noktası: Ekstraksiyon ürünleri yanı sıra yüksek sıcaklıklarda destilasyon ürünlerinin toplanmasını sağlayan ve gaz akışının şiddetinin ayarlayan çıkış noktası.

6-Ani basınç tahliye vanası: Tehlike anında kazan iç basıncını dengelemektedir.

7-Alt tahliye vanası: Sulu ekstraktın rahatça alınabileceği bir vana sistemidir.

8- Isıtıcı: Isıtma gücü yüksek uzaktan kontrol edilebilir bir alevli ısıtıcı düzeneğidir.

9-Eşanjör: Destilasyon ürünlerini yoğunlaştırmak amacı ile krom nikel paslanmaz çelikten 1.5 m boyunda serbest akış ergonomisine sahip fiziki yapıda çift cidarlı sıvı soğutmalı bir eşanjör sistemidir. Böylelikle sistem hem ekstraksiyon hem de destilasyon yapabilmektedir..

10-Buhar termometresi: Eşanjöre giren buharın sıcaklığını ölçmede kullanılmaktadır.

4.2.2. Basınçlı Ekstraksiyon Sisteminin Güvenlik Testi

Sistem etrafı perde betonla örülmüş güvenlik önlemleri alınmış bir mekana yerleştirildi. Aynı bir odada bulunan tüp gaz uzun bir hortum vasıtası ile düzeneğe bağlandı. Düzeneğin kontrolü bilgisayar kamera sistemi üzerinden izlenerek alevin şiddeti ayarlandı.

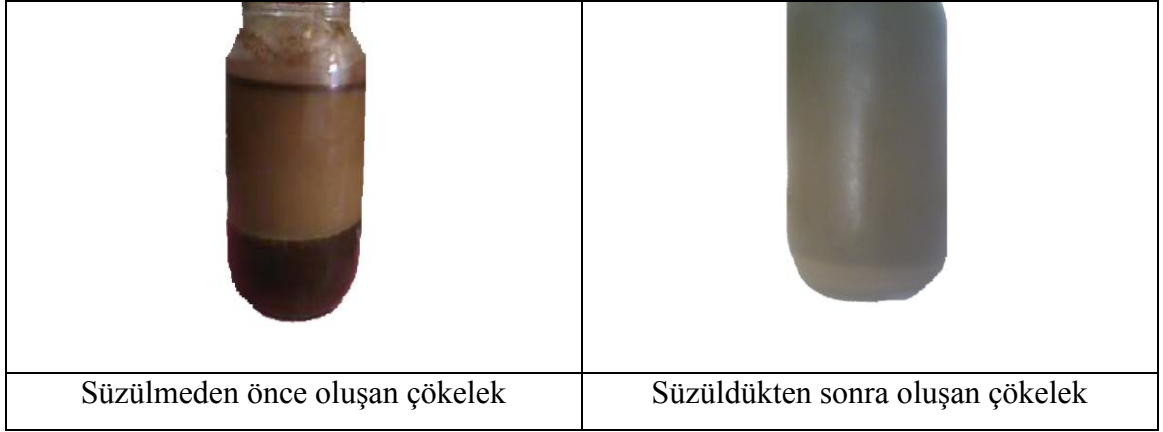


Şekil 4. 4. Yapılan güvenlik testinde basınçlı ekstraksiyon sisteminde sıcaklık 150 °C'ye ve basınç 5 bara kadar çıkılmaktadır

4.2.3. Deney

100 gram defne yaprağı ekstraktör sisteme kondu üzerine 1/15 oranını sağlayacak şekilde su (1500 ml) ilave edildi. Düzenek, 150 °C dereceye kadar ısıtıldı. Termometre, 150 °C yi gösterirken, basınç göstergesi iç basıncı 5 bar olarak gözlemlendi. Bu sıcaklıkta 30 dakika beklendikten sonra, ekstrakt sıcak olarak reaktörden alt tahliye vanasından dikkatli bir şekilde yavaş yavaş alındı (Dikkat: Basınç ve tazyikli ekstrakt). Sulu ekstrakt

sıcak halde adi süzgeç kâğıdından süzüldü. Elde edilen ekstrakt kendi halinde oda sıcaklığına soğumaya başladığında hızlı bir çökelti oluşumu gözlemlendi. Çökme işleminin tamamlanması için +5 °C'de 2 gün bekletildi (Şekil 4.5.). Çökelti, adi süzgeç kâğıdından süzülerek ayrıldı (2.5 gr). Ekstraktan çözücü (su) uzaklaştırıldığında yağimsı bir sıvı elde edildi (22.5 gr). Ekstraktın toplamda kütlece %25 bulundu. Bu değer normal ekstraksiyon yöntemine göre daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu duruma göre sıcaklık ekstraksiyon verimi miktarını artırmaktadır. 150 °C'de daha yüksek verim elde edilmektedir.



Şekil 4. 5.150°C Defne Ekstraktları (sulu)

4.2.4. 150 °C Sıcaklık ve 5 bar da Basıncı Sıcak Su Ekstraksiyonu

Daha fazla miktarda ve daha uzun bir sürede gerçekleşen bir deneme yapılarak sürenin ve miktarın ekstraksiyon verimine etkisi araştırıldı.

200 gr kuru defne yaprağı 3 litre suda 150 °C'de saf su ile 1 saat ısıtıldı. Ekstrakt dikkatle tahliye vanasından boşaltıldı (3 litre). Ekstrakt numunesinden bir litre ekstraktın çözücüsü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. 17 gram ekstrakt elde edildi. Kalan kısmı gıda üzerine koruyucu etki incelemelerinde kullanıldı. Bu sonuca göre toplam verim $17 \times 3 = 51$ gr. (% 25) olacaktır.

Tip A sistemi (100 °C, 1 bar) ile 100 gram yapraktan yaklaşık 18 gram ekstrakt elde edildiğine göre verim % 18 dir.

Basınçlı ekstraksiyon ile (150°C, 5 bar) ile 100 gram yapraktan 25 gram ürün elde edildiğine göre kütlece verim %25 olmaktadır.

Normal ekstraksiyon (100 °C,1 bar), ve basınçlı ekstraksiyon (150 °C 5 bar) ile elde edilen ürünler fiziksel görünüş açısından farklılık göstermektedir. Basınçlı ekstraksiyon da elde edilen ekstraktlar daha koyu renkli ve daha viskoz bir yapıya sahiptir. Bu durum daha yüksek yapılı moleküllerin ekstrakta geçmesi ile izah edilebilir. 150⁰ C’de elde edilen ekstrak ürünün yaygın olarak kullanılan çözücülerde çözünürlükleri incelendi. Ekstraktların metanolde ve asetonda bile çok az miktarda çözünmeleri yapıda yüksek molekül ağırlığında ve polar karakterde moleküller bulunduğunu göstermektedir.

Tablo 4. 8. BSE ile elde edilen ekstrakta çözünürlük testleri

Kullanılan çözücüler ve katalog numaraları	Çözünme durumu	Çözücülerin dielektirik sabitleri	Çözücü miktarı	Ekstrakt miktarı	Sıcaklık
Hekzan (J.T. Baker 9304)	Çözünme yok	1,9	10ml	0.1g	25°C
Kloroform (Merck 2431)	Çözünme yok	4,8	10ml	0.1g	25°C
Etil Asetat (Merck 954068)	Çözünme yok	6,0	10ml	0.1g	25°C
Dietil Eter (J.T. Baker 81.06)	Çözünme yok	4,3	10ml	0.1g	25°C
Petrol Eteri (J.T Baker 8115)	Çözünme yok	2,1	10ml	0.1g	25°C
Su (Saf Su)	Çözünürlük iyi	78	10ml	0.1g	25°C
Metanol (Merck 1,06008)	Çözünme az (zor)	32.7	10ml	0.1g	25°C
Aseton (Merck 1,00013)	Çok az bir çözünme var	20,3	10ml	0.1g	25°C

4.2.5. Ekstraktların Bozunma Sürelerinin Değerlendirilmesi

Elde edilen sulu ekstraktlar uzun süre 20 gün (25 °C) oda koşullarında güneş ışığı altında ağzı açık bir şekilde bekletildiklerinde bazılarında bir miktar siyah çözeltili gözlenmektedir (Şekil 4.7.). Halbuki suyu tamamen uzaklaştırılan ekstraktlar da küf-çökelti oluşumu gözlenmemektedir. Burada oluşan küf mantarı mı ya da başka bir şekilde özellikle ekstraksiyonda çözücüye geçen boyar madde türü polimerik maddeler mi olduğu konusunda henüz bir karara varılamadı.

4.2.6. Elde Edilen Ekstraktların Sıcaklık ile Küf yada Çökelek Oluşturma İlişkisi:

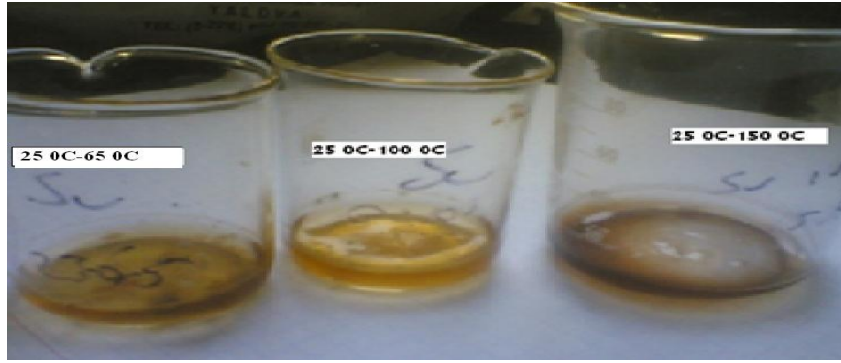
25 °C -65 °C aralığında toplanan ekstraktan 0.05 gram madde alınarak üzerine 10 ml su ilave edildi.

25 °C -100 °C aralığında toplanan ekstraktan 0.05 gram madde alındı ve üzerine 10 ml su ilave edildi.

25 °C -150 °C aralığında toplanan ekstraktan 0.05 gram madde alındı aynı şekilde üzerine 10 ml su ilave edildi.

Bu üç denemede numuneler aynı ortamda (oda koşullarında) ağzı açık şekilde bırakıldı. 20 gün sonunda numunelerin her biri birer miktar çökelek oluşturular. Oluşan çökelek miktarlarının büyüklüğüne göre numune kaplarının sıralaması şu şekildedir: 25 °C -150 °C < 25 °C -100 °C < 25 °C -65 °C

25 °C -150 °C lik ekstraktın sulu formunda yok denecek kadar az küf-çökelti oluşmuştur.



Şekil 4. 6. Sulu ekstraktlarda, oda koşullarında oluşan küf-çökelti

Elde edilen ekstraktların sulu formda bir miktar küf – çökelti oluşturduğuna göre, ekstraktların sulu haliyle gıdaların korunmasında uygun bir katkı maddesi olamayacağını söyleyebiliriz.

4.2.7. Yüksek Sıcaklıkta ve Basıncıta Ekstraksiyon

Ekstraktların incelenmesi, değişik sıcaklık aralıklarında farklı molekülleri ihtiva eden ekstraktların elde edildiğini göstermektedir.

4.2.8. 25 °C -110 °C Sıcaklığı Aralığında Ekstraksiyon

100 gram defne (kuru) 1500 ml saf su kullanılarak 110 °C de bir saat süre ile ekstraksiyona tabi tutuldu. Adi süzgeç kağıdından süzülen ekstraktlar buzdolabında (+4 °C) muhafaza edildi. Ekstraktın 500 ml'lik kısmının suyu döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. Köpük kıvamında sarımtırak renkte bir ham ekstre oluştu (9.8 gr).

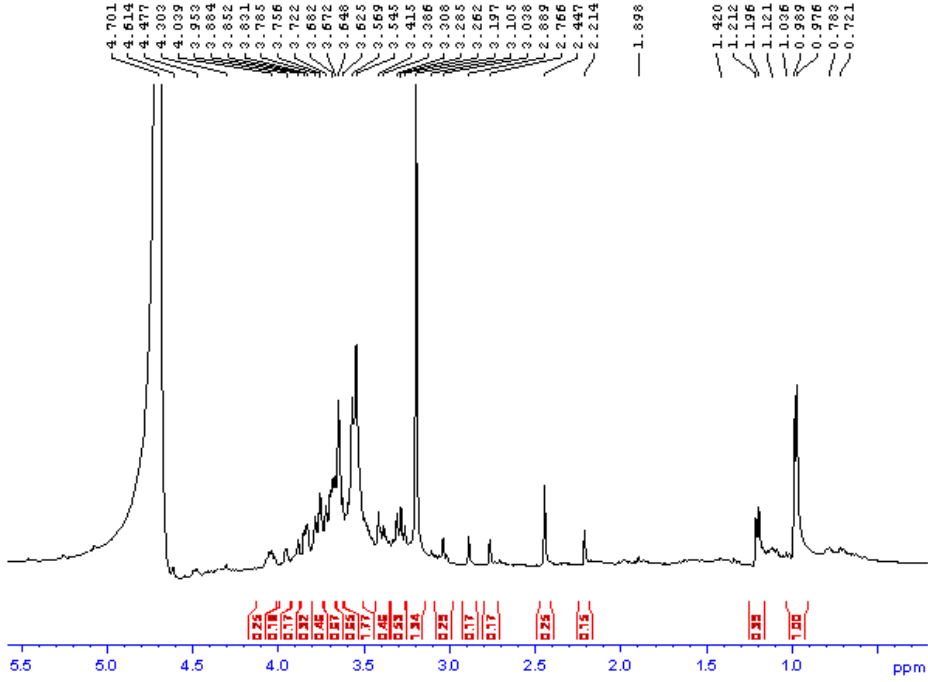
Çözücü denemeleri: Ham ekstrenin metanolde (10 ml) bir bir kısmı çözüldü. Renkli çökelek ekstrenin önemli bir bölümünün çözücü fazına geçtiği görüldü. Çözülen kısım (kırmızı renkli) ve çözülmeyen sarı kristaller süzülerek birbirinden ayrıldı. Renkli kısmın çözücüsü uçurulduğunda temiz kristaller oluştu (3.5 gr). Kristallin verimi kuru yaprak numunesi esas alındığında kütlüce %7 dir.

Geride kalan 500 ml'lik sulu ekstraktanda su uzaklaştırıldı. Kuru ekstrakt, bu defa kuru-susuz metanol ile muamele edildi. Muhteva bu defa koyu kırmızı renge dönüştü. Ortamda su varlığında kırmızı renk sarımtırak olmaktadır. Çözücü (metanol) uçurulduktan sonra, 3.5 gr ürün elde edildi. Suyun ortamdan tamamen uzaklaştığının bir delili, ürünün renginin değişmesi ve kristal hale dönüşmesidir. Elde edilen ürün, açık havaya maruz bırakıldığında havadaki nem ile hızlı bir şekilde reaksiyon/dönüşüm vermekte, madde sıvı hale dönüşmekte ve sarımtırak renkte görünmektedir (Şekil 4.8.).

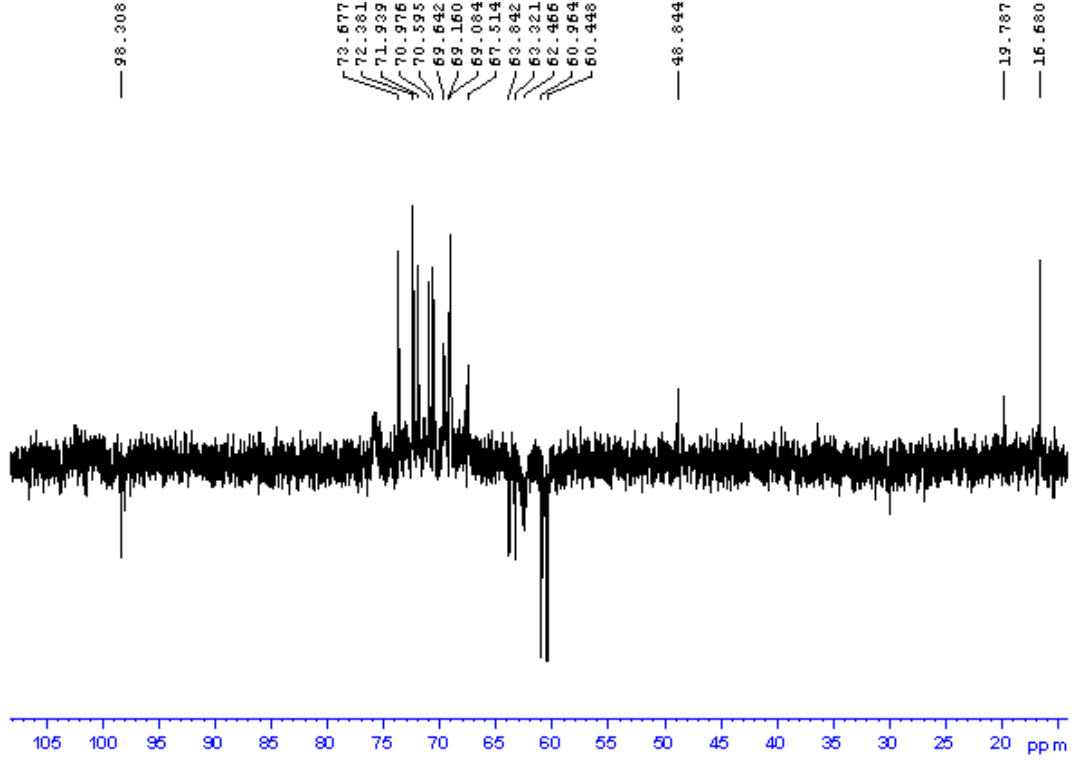


Şekil 4. 7. Nem çekici materyalin iki hali

Nem çekici materyalin (3.5 gram) azot atmosferi altında tutularak havadan nem alması önleildi. ^1H NMR spektrumu için numune aseton d_6 ile çözülmeye çalışıldı. Çözünme olmadı. Madde D_2O da çözülmeye çalışılarak 400 MHz NMR spektrumu kaydedildi (Şekil 4.8.). Metanol ile çözücü fazına geçen maddenin tek bir madde (molekülden) olduğu düşünülse de safsızlıklar bulunduğu anlaşılmaktadır. Yapının muhtemelen polihidroksi yapısında olduğu düşünülmektedir. Yapının aydınlatılması için ileri çalışmalar yapılması ve daha saf ürün(ler)in elde edilmesi gerekmektedir. Metanol ekstraksiyonu ile ayrılabilen bu molekül(ler)in havadan nem alarak defne yapraklarının uzun süre yeşil kalmasını (kurumamasını) sağlayan materyal olduğunu tahmin etmekteyiz.



Şekil 4. 8. Defne sulu ekstraktından metanol fazına geçebilen nem çekici materyalin ^1H -NMR spektrumu (D_2O , 400 MHz)



Şekil 4. 9. Defne sulu ekstraktından metanol fazına geçebilen nem çekici materyalin ^{13}C -NMR spektrumu (D_2O , 100 MHz)

4.2.9. Nem Çekici Materyalin Nem Tutma Kapasitesi

Bu amaçla 0,598 gram nem çeken materyal petri kabı üzerine ince tabaka halinde yayıldı. Belli aralıklarla tartıldı. 3 dakika içinde 15 mg, 24 saat sonra ise 120 mg nem absorbe ettiği görüldü. Bu duruma göre ürün 24 saat içinde kütlesinin yaklaşık %25'i kadar nem absorplamaktadır.

Yapılan ayrı denemelerde daha geniş ve ince yüzey oluşturulduğunda absorplama işinin daha kısa sürede gerçekleştiği dikkat çekmektedir.

Metanol ekstraktı ürününün su ile hızlı etkileşerek renk değişimi göstermesi, katı halden sıvı hale dönüşmesi ile yapısal bir değişim gösterdiği düşünülebilir. Ürünün su absorblamasına ışığın etkisinin olup olmadığı ayrıca araştırılması gereken bir konudur. Genel gözlemlere göre, defne bitkisi yaprakları vasıtası ile gündüz suyu almakta ve geceleyin köke bırakmaktadır. Defne yapraklarının gazete kağıdına sarılı vaziyette iken, gazete kağıdının karanlıkta ıslanması bu gözleme destek vermektedir.

4.2.10. 110 °C -125 °C Sıcaklıkta Ekstraksiyon:

25°C -110 °C arası ekstrakt alındıktan sonra kalan posaya 750 ml saf su ilave edildi. Tip B de 30 dakika ekstrakte edildi. Daha sonra sulu ekstrakt adi süzgeç kağıdından süzüldü. Elde edilen ekstraktın suyu uzaklaştırıldı. Ürün verimi 2.260 gramdır.

4.2.11. 125 °C -150 °C Sıcaklık Aralığında Ekstraksiyon

110 °C -125 °C derece sıcaklık aralığında ekstrakte edilen posaya 750 ml saf su ilave edildi. Elde edilen ekstrakt adi süzgeç kağıdında süzüldü. Çözücü döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. 2,320 gram ürün elde edildi.

4.3. Normal Ekstraksiyon Yöntemi ile Ekstraksiyon (Oda Koşullarında)**4.3.1. 25 °C de Ekstraksiyon**

50 gr defne 25 °C de (3x250ml) saf su ile ayırma hunisi ile ekstrakte edildi. Su uzaklaştırıldı (4 gram ekstrakt).

4.3.2. 25 °C – 65 °C Sıcaklık Aralığında Ekstraksiyon

50 gr. defne yaprağı (3x250ml) saf su ile 65 °C de 3 saat bekletildi. Oluşan sulu ekstrakt adi süzgeç kağıdından süzüldü. Suyu döner buharlaştırıcıda uzaklaştırıldı. (6,91 gram ekstrakt).

4.3.3. 65 °C -100 °C Sıcaklık Aralığında Ekstraksiyon

65 °C de ekstraktı alınan posaya 200 ml saf su ilave edildi. 100 °C de 1 saat kaynatıldı. Sulu ekstrakt süzüldü, suyu uzaklaştırıldı (1,92 gram ekstrakt).

4.3.4. 25 °C -100 °C sıcaklık Aralığında Ekstraksiyon

50 gram defne yaprağı 750 ml saf suda 3 saat kaynatıldı.. Oluşan sulu ekstrakt süzüldü ve suyu uzaklaştırıldı. (9,14 gram ekstrakt).

4.4. Destilasyon Ürünleri

Bu çalışmada yüksek basınçlı ekstraksiyon sisteminde (Tip B) uçucu yağ özelliğindeki destilasyon ürünleri elde edildi. Deneyde sıcaklığın artması ile destilasyon ürünlerinin kimyasal bileşenlerinin yapıları ve oranlarındaki değişim Gaz kromatografisi- kütle (Gc-Ms) spektrum incelemeleri ile ortaya konmuştur.

Defne yaprağı uçucu yağı, normal koşullarda su buharı destilasyon, neo clevenger, sokslet gibi metodlarla elde edilmektedir. Ancak bu sistemlerde elde edilen uçucu yağlar 100 °C sıcaklıkta elde edilen ürünlerdir. Basınçlı sistemde daha yüksek molekül ağırlığına sahip moleküllerin ayrılması mümkün olacaktır. Diğer taraftan, sıcaklık arttıkça uçucu bileşenler kimyasal yapılarında bozunmalar ve dönüşümler olabilir. (Rowe ve arkadaşları 1989).

4.4.1. 25 °C -120 °C deki Destilasyon

100 gr Defne yaprağı (kuru) 2250 ml su ile birlikte 120 °C de sistem (Tip B) kontrollü olarak ısıtıldı. Basınç 2 barda sabit tutulmaya çalışıldı. Eşenjörde yoğunlaştırılan uçucu bileşenler sulu destilat olarak (1 lt) toplandı. Elde edilen destilat emülsiyondan dolayı bulanık görünümündedir. Uçucu yağ çözücü çözücü ekstraksiyon metodu ile su fazından alınması sağlandı. Bu amaçla sulu kısım (20ml×14) dietil eter ile ekstrakte edildi. Eter ısıtılarak uçuruldu ve 222 mg yağ elde edildi.

4.4.2. 120 °C ve 145 °C’de Destilasyon

Birinci fraksiyon alındıktan sonra (120 °C) düzeneğin sıcaklığı artırılarak 145 °C ye yükseltildi (4 bar basınç) ve 2. ürün fraksiyonu toplandı. (500 ml). Su içerisinde emülsiyeye olan yağlar dietil eter (20ml×2) çözücüsü kullanılarak, çözücü- çözücü ekstraksiyonu metodu ile ekstrakte edildi. Eter destilasyon yöntemi ile uçurulduktan sonra 47 mg yağ elde edildi.

100 gram defneden toplam da 222 mg + 47 mg= 269 mg uçucu yağ elde edilmiştir (% 0.27) Defne uçucu yağı elde edilen fabrikalarından alınan bilgiye göre genel uçucu yağ verimi; kütlece % 0.5 dir (Özdrog uçucu yağ fabrikası, Dört Yol-Hatay).

Verimin düşük çıkması, deney hatalarından başka defne yaprağının uzun süre beklemiş (çok kuru) ve uçucu yağlarının yapraktan uçarak ayrılmasına atfedilebilir. Bunun için deney taze defne (2 günlük) ile tekrarlandı.

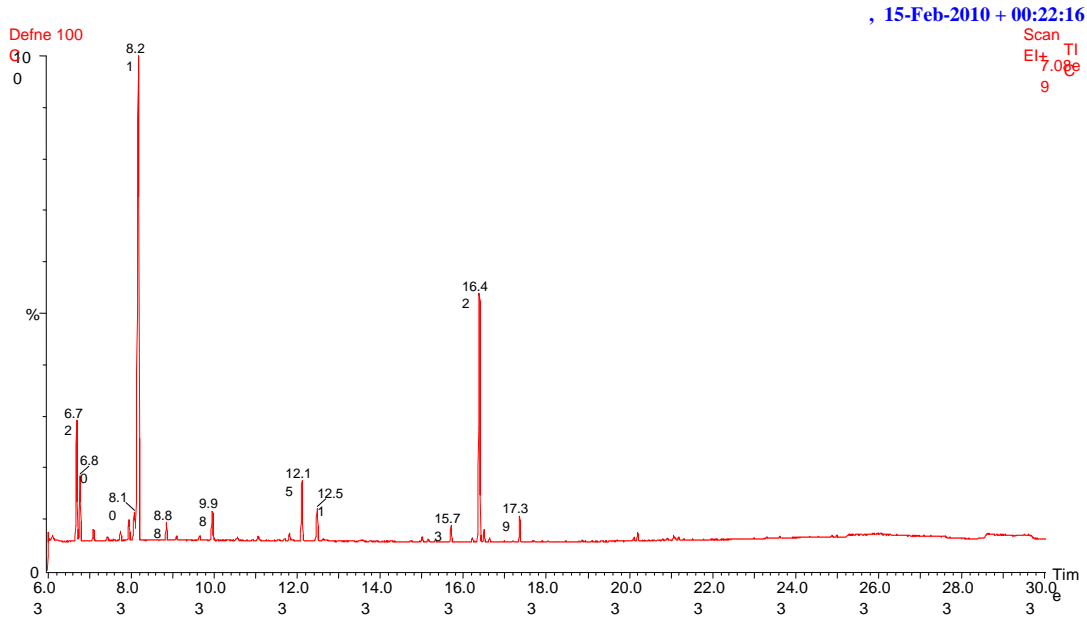
150 gr taze defne yaprağı ile 3 lt saf su 145 °C’de destile edildi. 2 litre bulanık destilat eşenjörden toplandı. Dietileter ile ekstrakte edildi (20mlx8). Dietileter uzaklaştırıldı. 680 mg (% 0.45) uçucu yağ elde edildi. Verimin bilinen % 0.5’lik değerinden çok az düşük çıkmasının nedeni kazan içerisindeki suyun yeterli olmamasından ya da eterin uzaklaştırılması esnasında uçucu yağ kayıplarının meydana gelmiş olabilir.

Burada önemli olanın sıcaklık farkından dolayı kimyasal molekül dağılımında farklılığın olup olmadığıdır. GC – Mass incelemeleri, 100 °C de normal şartlarda elde edilen uçucu yağ kompozisyonun, 145 °C’de basınçlı sistemde elde edilen uçucu yağ kompozisyonundan önemli ölçüde farklılık ortaya koyduğunu göstermektedir (Şekil 4.13.).

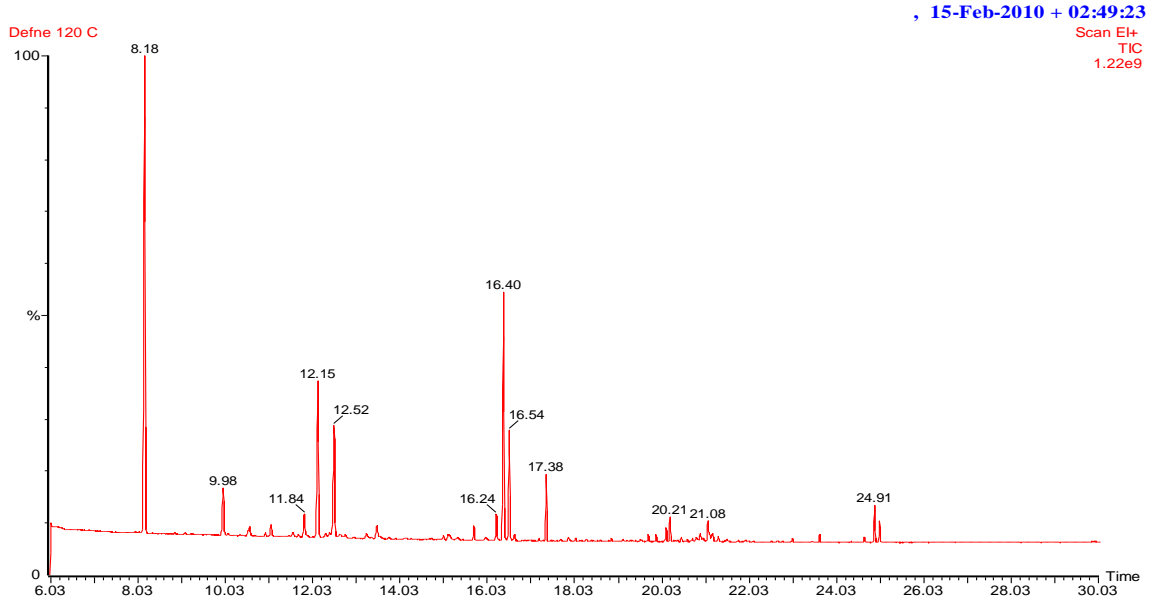
4.4.3. 100 °C Kaynama Noktasında Basit Destilasyon

50 gr defne yaprağı 500 ml su ile destile edildi. Uçucu yağ su üstünde faz oluşturdu. 0.3 ml (0,24 gr, % 0.5) uçucu yağ elde edildi.

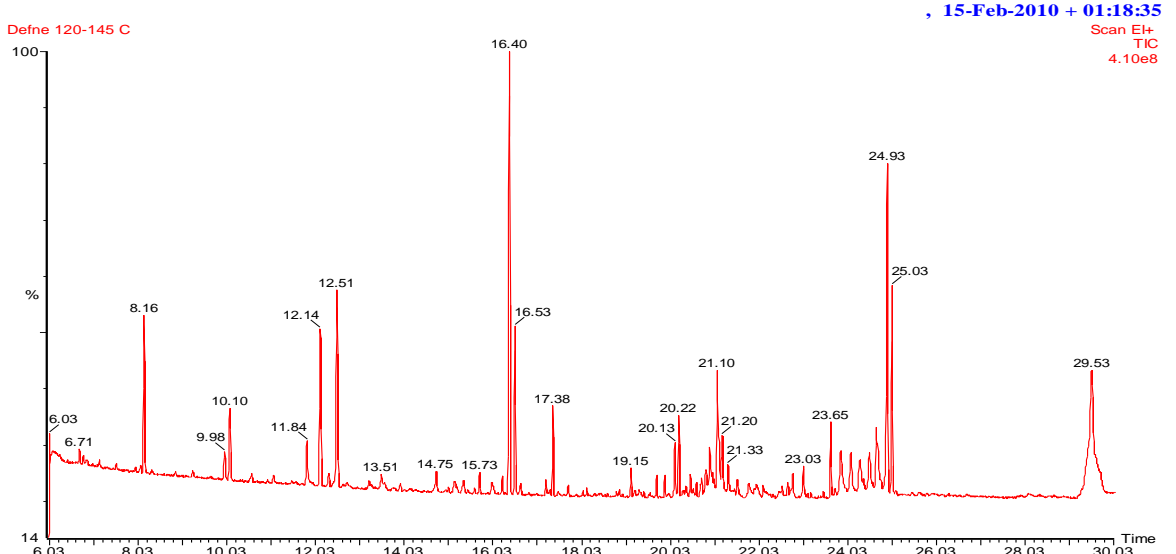
Destilatların Gc-ms Spektrumları



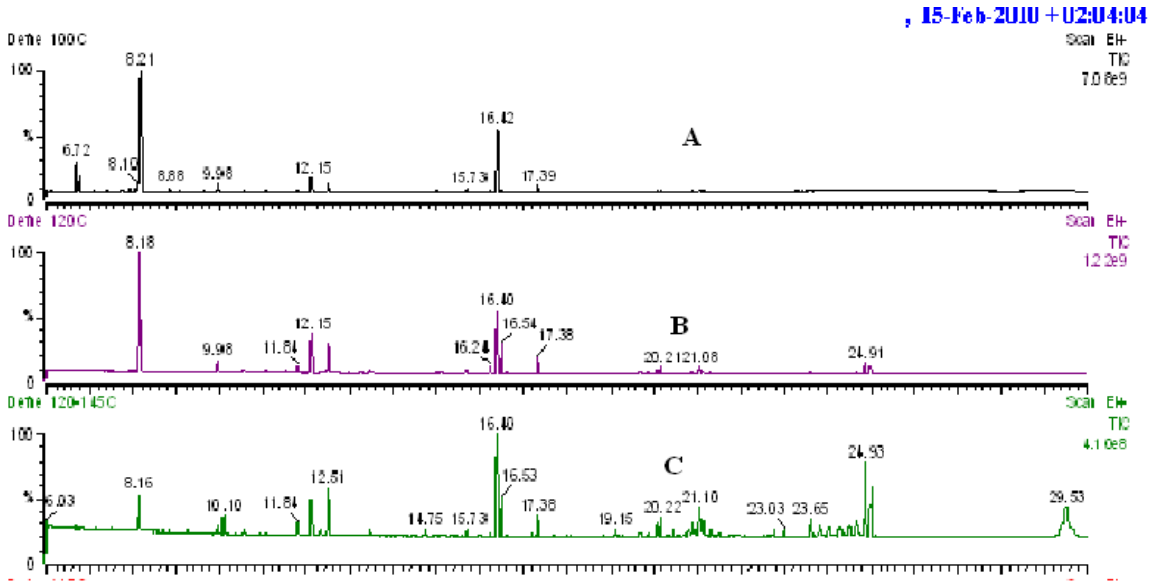
Şekil 4. 10. 100 °C elde edilen destilatın Gc-Ms spektrumu



Şekil 4. 11. 120 °C elde edilen destilatın Gc-Ms spektrumu



Şekil 4. 12. 120 °C – 145 °C elde edilen destilatın Gc-Ms spektrumu



Şekil 4. 13. Elde edilen yüksek sıcaklık destilatlarının Gc-Ms spektrumları. En üstte yer alan spektrum 100 oC (Kesim A); 2. spektrum 120 oC (Kesim B); en alttaki spektrum 120-145 oC sıcaklıklardaki (Kesim C) uçucu yağlara tekabül etmektedir.

Şekil 4.13. de üç değişik şartta elde edilen uçucu yağlara tekabül etmektedir ve her üç spektrumun da birbirinden farklı olduğu görülmektedir. Özellikle 145 °C de elde edilen spektrumun diğer ikisine benzemediği ve oldukça farklı bir ürün dağılımı ortaya koyduğu görülmektedir. Buna göre fraksiyonlu yüksek sıcaklık destilasyon yöntemi ile defneden farklı molekül aralığındaki molekülleri izole etme imkanı doğmaktadır. Destilatların kimyasal kompozisyonundaki farklılık ekler bölümde verilerde mevcuttur.

4.4.4. Destilatlardaki Temel Gc-Mass Verileri

Tablo 4. 9. Yüksek sıcaklık destilatlarının Gc-Mass spektrumlarındaki bazı temel pikler ve karşılaştırması

Bileşik no	Bileşik ismi	100°C	120°C	120°C - 145°C
1	Eucalyptol	% 35,12	% 31,76	% 3,588
2	1,6-Octadien-3-ol,3,7 dimethyl-	% 1,857	% 2,978	% 0,7470
3	3-Cyclohexene-1-methanol, 4-trimethyl	% 3,778	% 10,63	% 4,075
4	Eugenol	% 0,6257	% 5,906	% 3,460
5	Caryophyllene oxide	% 0,44	% 1,046	% 1,414
6	Azuleno[4,5-b]furan-2(3H)-one, 3a,4,6a,7,8,9, 9a,9b-octahydro-6 methyl-3,9 bis(methylene)-, [3aS-(3a,6a,9a,9b)]-	----	% 0,987	% 3,922
7	Tricyclo[3.2.1.0(2,4)]octane, 8-methylene-, (1,2,4,5)-	----	% 1,679	% 6,638

Tabloya bakıldığında Eucalyptol bileşiğinin derişimi 100°C den yukarıdaki sıcaklıklarda azalmaktadır. Bu molekülün 120°C - 145°C arasında elde edilen destilat da ise derişimi 10 kat daha az görülmektedir.

Tabloyu incelediğimizde 2, 3 ve 4 no'lu bileşiklerin derişimi 120 °C ye kadar artmaktadır. 120 °C lik destilatlar toplandıktan sonra da 120°C- 145 °C ye ileri destilasyon yapıldığında elde edilen destilattaki yüzde derişimleri ise düşmektedir. Çünkü muhtevadaki söz konusu 2, 3 ve 4 numaralı bileşiklerin önemli kısmı 120 °C'de alınmıştır.

5 no'lu (Caryophyllene oxide) bileşiğin yüzde bileşimi sıcaklıkla artmakta ve düşük sıcaklıkla yüksek sıcaklık ürünlerinin geçiş bileşiğini oluşturmaktadır. Yani bu bileşikten sonraki zamanda Gc-Mass spektrumunda elde edilen bileşikler mukayese edildiğinde sıcaklıkla daha büyük molekül kütleli moleküllerin yüzde derişimleri artmaya başlamaktadır.

6 ve 7 no'lu moleküllerin durumu incelendiğinde ise yüksek sıcaklığın etkisi ile 100 °C de elde edilen ürünlerden farklı olarak yeni ürünlerin geldiği gözükmektedir.

4.5. Ekstraktların Gıda Koruyucu Özelliği

Bu aşamada, defne yaprağından elde edilen ekstraktların salça üzerindeki koruyucu etkisi (antifungal ve mayalanama önleyici) özelliklerine bakıldı.

Bir ekstraktın gıda koruyucu olabilmesi için ilk önce bazı parametreleri taşıması gerekir. Bu özellikler başta renk ve kokudur. Elde edilen ekstraktlar renk ve koku açısından salçada kullanılmasını engel teşkil edecek bir durum söz konusu değildir. Bu çalışmada, daha bilimsel anlam taşıyan disk difüzyon yöntemi ile yapılan antimikrobiyal testler değil görsel müşahadeleye dayanan denemelerdir. Bu amaçla kolayca bozulan ve bozulduğunu görsel olarak gösteren salça gıda örneği olarak seçilmiştir. Tokat domates yetiştiriciliğinde Türkiye’de önemli bir merkezdir. Aynı şekilde ülkenin kaliteli salçalarının üretildiği fabrikalar da Tokat’ta bulunmaktadır. Olca Salça fabrikası bunlardan birisidir.

4.5.1. Salça Üzerinde Denemeler

Bu çalışmada kullanılan katkısız salça, Niksar’da faaliyet gösteren OLCA salça fabrikasından temin edildi. Deney çalışmalarının gerçekleştirilmesi için petri kapları numaralandırıldı. Her bir petri kabına 75’er gram katkısız salça konuldu. Tablo 4.10.’da belirtilen oranlarda ekstraktlar 10’ar ml suda seyreltilerek petri kaplarındaki salça numuneleri üzerine ilave edildi.

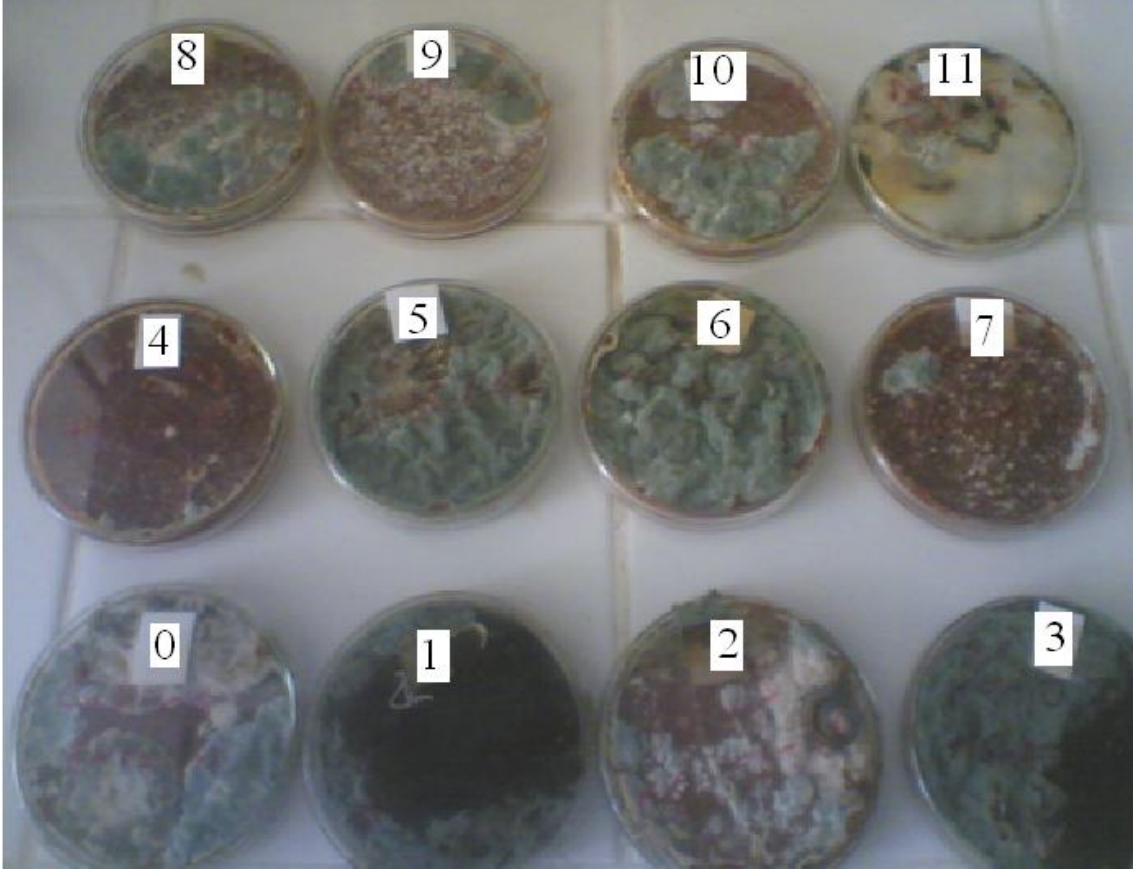
Tablo 4. 10. Elde edilen ekstraktlar ve salça numunelerine tatbiki

Ekstraktın Deney numarası	Yüzde ekstrakt / salça (w/w) oranı	Petri kabı numarası	Elde edilen sıcaklık	Çözücü
Yok (Referans)	%0.0	0	-	-
1.1.	%0.2	1	25 °C - 65 °C	Su
1.1.	%0.5	2	25 °C - 65 °C	Su
1.1.	%0.7	3	25 °C - 65 °C	Su
5.1.	%0.5	4	69 °C	Hekzan
2.1.	%0.5	5	65 °C	Su
1.1.	%0.8	6	25 °C -65 °C	Su

Tablo 4.10.'un devamı				
4.1.	%0.4	7	65 °C - 100°C	Su
5.2.	%0.5	8	61.7 °C	Kloroform
5.3.	%0.5	9	67 °C	Thf
5.4.	%0.3	10	39 °C	Diklormetan
Defne tozu ile(1.5 mm)	%0.5	11	-	-

Tablo 4. 11. Küflenme süreleri ve petri kapları numaraları

Petri kabı numarası	Küflenme zamanı (gün)	Küf/küflerin rengi
0	9	Beyaz- mavi
1	9	Siyah-mavi
3	9	Siyah-mavi
11	9	Beyazküf en fazla
6	10	Mavi
5	10	Mavi
2	10	Beyaz-mavi-siyah
10	30	Mavi
9	33	Az mavi- az beyaz
8	35	Mavi beyaz az
7	37	Az mavi beyaz spotlar
4	41	Çok az mavi spotlar



Şekil 4. 14. Salçalara defne ekstraktı tatbikinden 43 gün sonraki durumları. Numunelerin her biri farklı görüntüler oluşturmaktadır.

Ekstrak madde eklenmeyen referans salça 9 gün sonra küflenmeye başlamıştır. 65°C'de alınan 1, 2, 3, 5 ve 6 numaralı ekstraktların koruyucu etkisinin bulunmadığı görülmüştür. 100 °C'de defne yaprağından suyla elde edilen ekstraktın koruyucu etkisinin daha yüksek ve etkin olduğu görülmüştür (39 gün). Hekzanla elde edilen ekstraktla 41 gün içinde salça numunesi içinde bir bozulma görülmemiştir.

Hekzanla elde edilen ekstraktın koruyucu etkisi, 100 °C de su ile elde edilen ekstraktın koruyucu etkisi (bozunma süresi, gün olarak) bir birine yakındır. Kıvçak ve ark.(2002), hekzan ile elde edilen ekstraktların toksisite etkisinin bulunduğunu fakat su ekstraktının böyle bir etkisinin bulunmadığını Kıvçak ve ark. (2002) belirtmektedir.

4.5.2. Yüksek Sıcaklık Ekstraktlarının Gıda Koruyucu Özellikleri

Her bir petri kabına 75'er gram katkısız salça konuldu. 25°C-110°C, 110°C-125°C, 125°C-150°C lik ekstraktları kütlece % 0,5'lik derişimde olacak şekilde 10 ml destile su ile seyreltildi ve petri kaplarında salça numuneleri ile birleştirildi. Salçalarda ilk küflenme gözüküğü günler aşağıdaki tabloda yer almaktadır.

Tablo 4. 12. Yüksek Sıcaklık Ürünlerinin Salçada Gıda Koruyucu Etkisi

Ekstraktın elde edildiğı sıcaklık	Küflenme zamanı	Küfün rengi
25 °C- 110 °C	39. gün	Mavi - Beyaz
110 °C- 125 °C	40. gün	Mavi - Beyaz
125 °C- 150 °C	40. gün	Mavi - Beyaz

Defne yaprağından elde edilen ekstrak yüksek sıcaklık ekstrak ürünlerinin açık havada ve oda sıcaklığı şartlarında ortalama 40 gün civarında bir koruma etkisi olduğı deneyler sonucu bulunmuştur.

4.5.3. Bulguların Özeti

Bu çalışmada, defne yaprağına bulunan kimyasal maddelerin ekstraksiyon verimine sıcaklık, süre, partikül büyüklüğü ve çözücü seçiminin etkileri incelenmiştir.

Bu amaçla defne yaprağı değişik şartlarda fraksiyonlu ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuştur. Fraksiyonların değişik ürün terkibi ve dağılımında olduğunu gerek çözünlükleri ve gerekse salça üzerindeki farklı etkilerinden anlaşılmaktadır. Bu çalışma, aynı zamanda, defnede su çözücüsü kullanılarak, sıcaklık ve süreye bağlı olarak, fraksiyonlu olarak ekstraktların ayrılabildeğini ortaya koymaktadır. Ayrıca 150 °C de yapılan (5 bar basınç) su ekstraksiyonundan elde edilen ekstrak, 2. defa metanol çözücüsü yardımı ile ekstrakte edildiğinde, bitkide su çekici özelliğı gösteren molekül(ler) elde edilmiştir (Şekil 4.9.). Elde edilen mataryel daha ileri saflaştırma ve yapı analizi çalışmalarını gerektirmektedir. Bu çalışma bu konuda ileride yapılacak çalışmalar için öncü çalışma niteliğindedir

Diğer yandan, fraksiyonlar katkısız salça üzerinde mantara karşı gıda koruyucu özelliğı incelenmiştir.

100 °C de ve 100 °C' nin üzerindeki şartlardan elde edilen ekstraktlarda iyi derecede gıda koruyucu etkileri gözlenmektedir. 65 °C ve altında (oda sıcaklığı) elde edilen ekstraktların ise gıda koruyucu özelliğinin zayıf olduğu görülmüştür. Gıda koruyucu özelliği taşıyan etkili ekstrakt 65 °C de su ekstraksiyonu yapıldıktan sonra, posa üzerinden devam edilerek alınan ekstrakt kısımlardır.

Sonuçları şu şekilde özetleyebiliriz:

1. Sıcaklık, ekstraksiyon ürün verimine doğrudan etkili olmaktadır. Elde edilen sonuçlara bakıldığında sıcaklık ile elde edilen ürün verimi arasında doğru bir orantı mevcuttur. Bu sebeple sıcaklığın artması ile daha fazla ekstrakt elde edilmektedir.
2. Süre, ekstrakt verimine etki eden önemli bir parametre olmaktadır. Ekstraksiyon işlemi esnasında süre kullanılan metoda göre değişmekle birlikte, normal ekstraksiyon işleminde 3 saatlik süre bitki dokusundaki ürünlerin çözücü fazına geçmesi için yeterli olmaktadır.
3. Defne yaprağı yağının ekstraksiyonunda suyun en uygun çözücü olduğu söylenebilir. Suyun etkili ekstraksiyon işlemi yanında kolay temini, yan etkisinin olmaması onu ideal çözücü seviyesine çıkarmaktadır.
4. Yüksek sıcaklık ekstraksiyon işleminde (100°C üzerinde) ekstrakt miktarında yaklaşık % 40 lık bir artış meydana gelmektedir. Yüksek sıcaklığın özellikle daha büyük ve polar moleküllerin daha etkili bir şekilde sulu faza geçmesini sağladığı anlaşılmaktadır. Yüksek sıcaklık ekstraksiyonunda verim artmaktadır.
5. Geliştirdiğimiz “yüksek sıcaklıkta basınçlı ekstraksiyon” sistemi, 100 °C ile 150 °C sıcaklık aralığında kontrollü olarak uçucu yağların fraksiyonlu olarak toplanmasına imkan vermektedir. 100 °C üzerinde değişik sıcaklıklarda uçucu yağ fraksiyonları toplanmış ve bu ürünlerin kimyasal kompozisyonu GC –Mass incelemeleri yapılmıştır. Fraksiyon önemli ölçüde farklı ürünleri göstermektedir (Ek2,Ek3,Ek4). Spektrum incelemeleri, fraksiyonlarda ürün farklılığı göstermektedir.
6. Partikül büyüklüğünün, ekstraksiyon işlemi esnasında verimi hissedilir ölçüde etkilemediği görülmüştür.

Bu alışmalar, ileriki aşamalarda yapılacak mikrobiyolojik testler için n çalışma niteliğindedir. Mikrobiyolojik testlerle geniş çalışmalar yapılması uygun olacaktır. Gıdalarda bozunmalara neden olan test kfleri bir kaç çeşit küflerle sınırlı değildir. Birden fazla kf çeşidi bu bozunmalara neden olabilmektedir. (*Byssochlamys fulva* başta olmak üzere *Botrtis cinerea*, *Alternaria alternata*, *Mucar circinelloides*, *Rhizophus stolonifer*, *Fusarium sp.* salça için bilinen başlıca test kfleridir). Gıda sanayinde uygulanabilir olabilmesi için tüm test kflerinde tek, tek ve Türk gıda kodeksinin n gördüğü farklı konsantrasyonlar da denenmesi gerekmekte bu da birbirine paralel binlerce maliyetli deneyi gerektirmektedir. Bu tez çerçevesinde elde edilen veriler, ilerde yapılacak olan kapsamlı mikrobiyolojik çalışmalara ışık tutmaktadır.

5.TARTIŞMA ve SONUÇ

Yapılan literatür taramaları defne ekstraksiyonu için optimum şartların belirlenmediği anlaşılmaktadır. Bu sebeple, ilk olarak defne ekstraksiyonunu etkileyen parametreler incelenmiş ve bu parametrelerin ekstraksiyon verimi ile ilişkisi ortaya konmuştur.

Elde edilen sonuçlara göre, sıcaklık artışı ile ekstraksiyon verimi artmakta, ekstraksiyon işleminin basit yöntemlerle 3 saat içinde tamamlandığı, suyun ekstraksiyon işlemi için uygun bir çözücü olduğu görülmüştür.

65 °C sıcaklığın altında elde edilen ekstraktların koruyucu bir etkisi bulunmadığı, 100°C ve sonraki sıcaklıklarda elde edilen ekstraktların, salçada daha etkili gıda koruyucu özelliği gözlenmiştir.

Ekstraksiyon işlemleri esnasında sıcaklığın 100 °C den 150 °C çıkarılması ile % 40'lık bir verim artışı sağlanabilmektedir. Bu miktar önemli bir verim artışını ifade etmektedir.

Bazı salça fabrikalarında koruyucu olarak kimyasal bir madde olan sodyum benzoat kullanılmaktadır. Bu maddenin sağlığa zararlı olduğu ve bazı ülkelerde kullanımının yasaklandığı bilinmektedir. Eş değer diğer koruyucu kimyasal maddelerin de zararlı yan etkileri tartışılmaktadır. Bu yüzden her alanda doğala dönüş git gide artmaktadır.

Bir maliyet hesabı yapıldığında sodyum benzoat yerine defne ekstraktı kullandığımızda daha hesaplı bir tablo ortaya çıkmaktadır.

Sodyum benzoat 1 kg (15 tl) Salçaya % 0.2 konulur. Böylece bir ton salça için 2 kg sodyum benzoat gerekmektedir. Bir ton salçanın koruma maliyeti 30 tl ye tekabül etmektedir (www.hammadeler.com).

100 °C üzerinde yapılan ekstraksiyonda verim kütlece % 25 olduğunda göre 1 kg defne ekstraktı için ise 4 kg defne yaprağına ihtiyaç vardır (Özdrog uçucu yağları Hatay ,3 tl). Enerji ve işleme maliyeti yaklaşık 4 tl alınabilir. Denemelerimiz salçaya % 0.5 olacak şekilde ekstrak katılmasının koruyucu olarak yeterli olacağını göstermektedir. 1 ton için 5 kg defne ekstraktına ihtiyaç vardır (yaklaşık 20 tl). Bu maliyet hesabına göre defne ekstraktı kullanacak üreticilere ayrı bir külfet getirmemektedir.

Bu maliyetler göz önüne alındığında, defne ekstraktının salçada gıda koruyucu olarak uygunluğu açıkça görülmektedir.

Yüksek sıcaklık destilatlarının Gc-Mass spektrumunun (Tablo 4.9.) geneline bakıldığında, sıcaklığın etkisi ile elde edilen destilatların derişimi, içeriğindeki bileşenlerin cinsi ve miktarının büyük ölçüde değiştii görülmektedir. Bu değişimden faydalanarak etken bileşiklerin yüksek derişimlerde eldesi için etkili bir metot olabileceği görülmektedir. Bunun yanı sıra yeni uçucu bileşiklerin bitkisel muhtevalardan izole edilebileceği söylenebilir.

KAYNAKLAR

- Aktug, S.E. and Karapinar, M., 1986, Sensitivity of some common food-poising bacteria to thyme, mint and bay leaves. *International Journal of Food Microbiology*, 3, 349-354.
- Alzoreky, N.S., Nakahara, K., 2003. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 223-230.
- Anonim, 2010, Damıtma, <http://tr.wikipedia.org/wiki/Damıtma> (29.08.2010).
- Baytop, T., 1984. Türkiye’de Bitkiler İle Tedavi. İ.Ü., Eczacılık Fakültesi Yayınları No:40, İstanbul, 520s.
- Bedin, C., Gutkoski, S. B. and Wiest, J. M., 1999, Atividade antimicrobiana das especiarias. *Higiene Alimentar*, 13, 26-29.
- Bonjar, G.H.S., Aghighi, S., Nik, A.K., 2004. Antibacterial and Antifungal Survey in Plants used in Indigenous Herbal-Medicine of South East Regions of Iran. *Journal of Biological Sciences*, 4 (3): 405-412.
- Elmastaş, M., Gülçin İ., Işıldak, Ö., Kührevioğlu Ö.İ., İbaoğlu., 2006. Radical Scavenging Activity and Antioxidant Capacity of Bay Leaf Extracts
- Erdoğrul, Ö.T., 1999. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. *Biyoteknoloji (Kükem) Dergisi*, XI. KÜKEM Biyoteknoloji Kongresi, Özel Sayısı, 23(2): 97-100.
- Extraction And Pressurised Solvent Extraction. *Phytochemical Analysis*, 13, 105-113
- Fawzi, E.M. , Khalil, A. ve Afifi, A.F., 2009. Antifungal effect of some plant extracts on *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum*. *African Journal of Biotechnology*, vol 8 (11), 2590-2597
- Horace, D.G., 1982, The safety of foods. Connecticut: Avi Publishing Company.
- Lanciotti, R.; Gianotti, A.; Patrignani, N.; Belletti, N.; Guerzoni, M.E. and Gardini, F. (2004), Use of natural aroma compounds to improve shelf-life of minimally processed fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 201-208.
- Ju, Z.Y., Howard, L.R., 2003. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51:5207-5213
- Kaufmann, B., Christen, P., 2002 Recent Extraction Techniques For Natural Products: Microwave-Assisted
- Kıvçak, B; Mert, T., 2002. Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts. *Fitoterapia*, Jun;73(3):242-3.
- Levy, S. W., 1997, Antibiotic resistance: an ecological imbalance. In Chadwick, I. And Goode, J. (eds). *Antibiotic spread*. Chichester, Ciba Foundation Symposium, pp. 1-14.
- O’Gara, E., Hill, D.J., Maslin, D.J., 2000. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 66: 2269-2273.
- Rangahau, M. K., 2001 Essential oils and their production. *Crop and Food Research*, Nr. 39, October.

Ranghau, M. K., 2001 Essential oils and their production. Crop and Food Research, Nr. 39, October. Rowe, J.W., 1989. Natural Products of Woody Plants Vol.2, Springer, Germany.

Rowe, J.W., 1989. Natural Products of Woody Plants Vol.2, Springer, Germany.

Toroğlu, S.: Dıǵrak, M.: Çenet, M., 2006. KSU. Journal of Science and Engineering 9(1).

Shelef, L. A.; Naglik, O. A. and Bogen, D. W., 1980, Sensitivity of some common food-borne bacteria to the spices sage, rosemary and allspice. Journal of Food Science, 45, 1042-1044.



Simoës, C. M. O., Schenckel, E. P., Gosman, G., Mello, J. C. P., Mentz, L. A. and Perovick, P. R., 1999, Farmacognosia: da planta ao medicamento. Santa Catarina : UFSC e UFRGS.

Smith, R.M., 2002. Extractions with superheated water. Journal of Chromatography A .975:31-46

Smith, R.M., 2002. Extractions with superheated water. Journal of Chromatography A .975:31-46

Zaika, L. L., 1988. Spices and herbs: Their antimicrobial activity and its determination. J. Food Safety, 9:97-11

EKLER**Ek 1. Tüm salçalar küflendiğinde resimleri (43. Gün)**

Petri kabı numarası	Resim
0 (Referans)	
1	

2



3



4



5



6



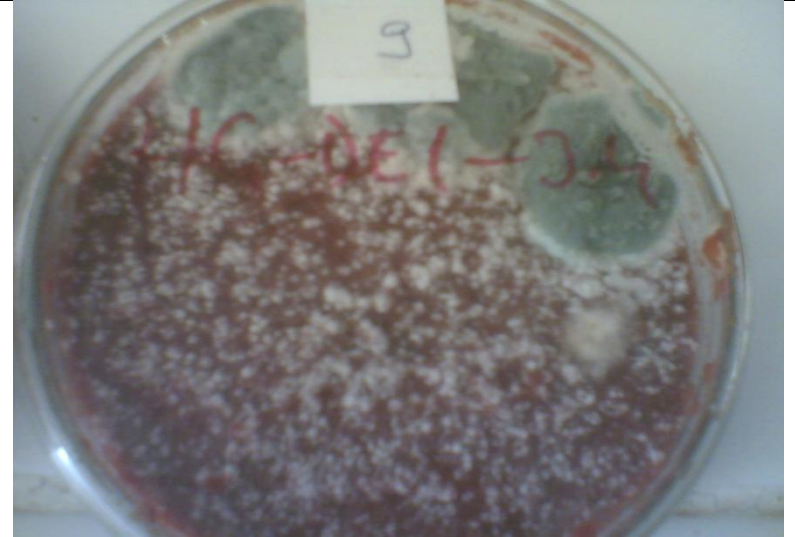
7



8



9



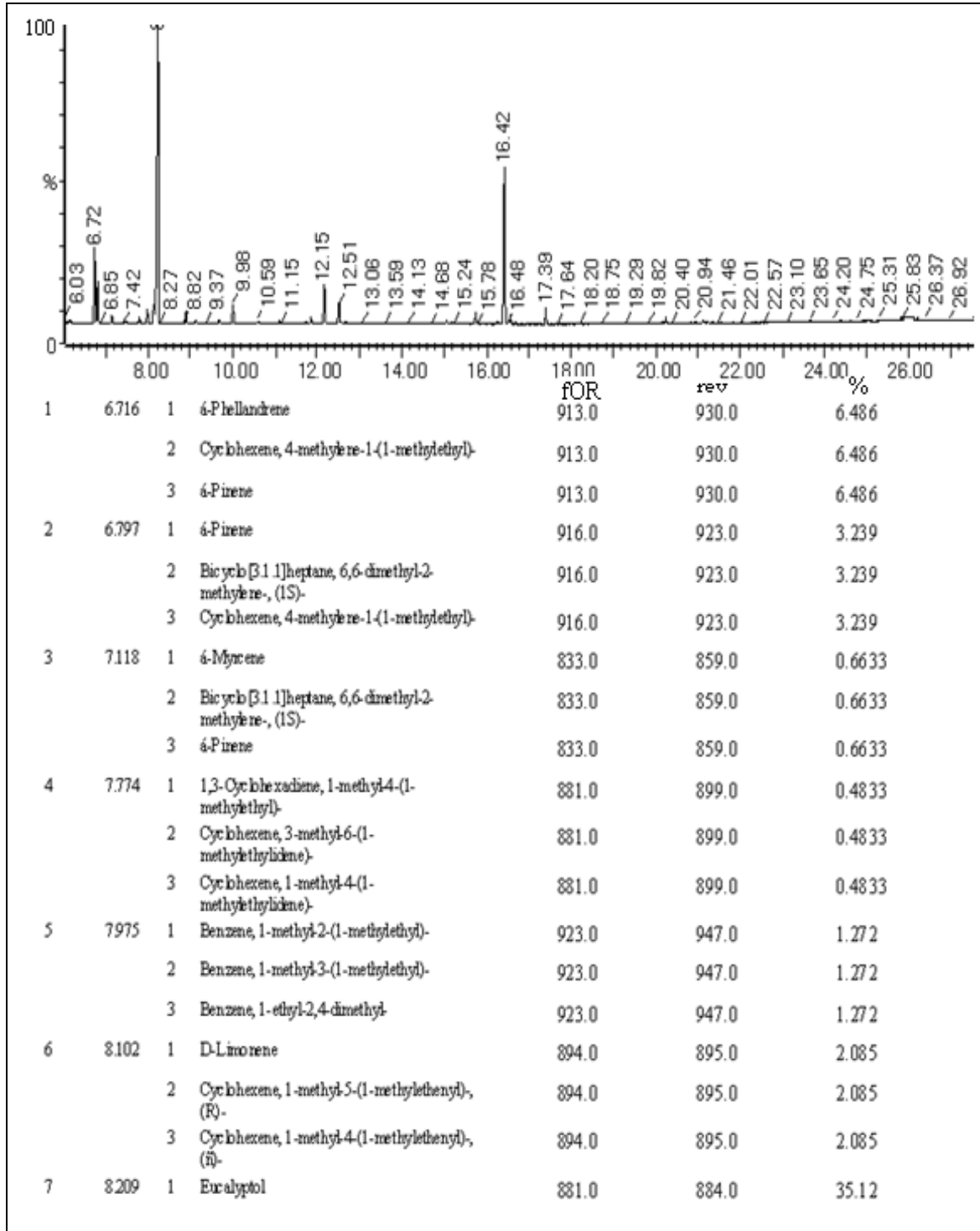
10





Ek 1. Defne ekstraktı ile muamele edilen salçaların 43. gündeki resimleri.

Ek 2.100 °C Elde Edilen Destilatın Kimyasal Kompozisyonu

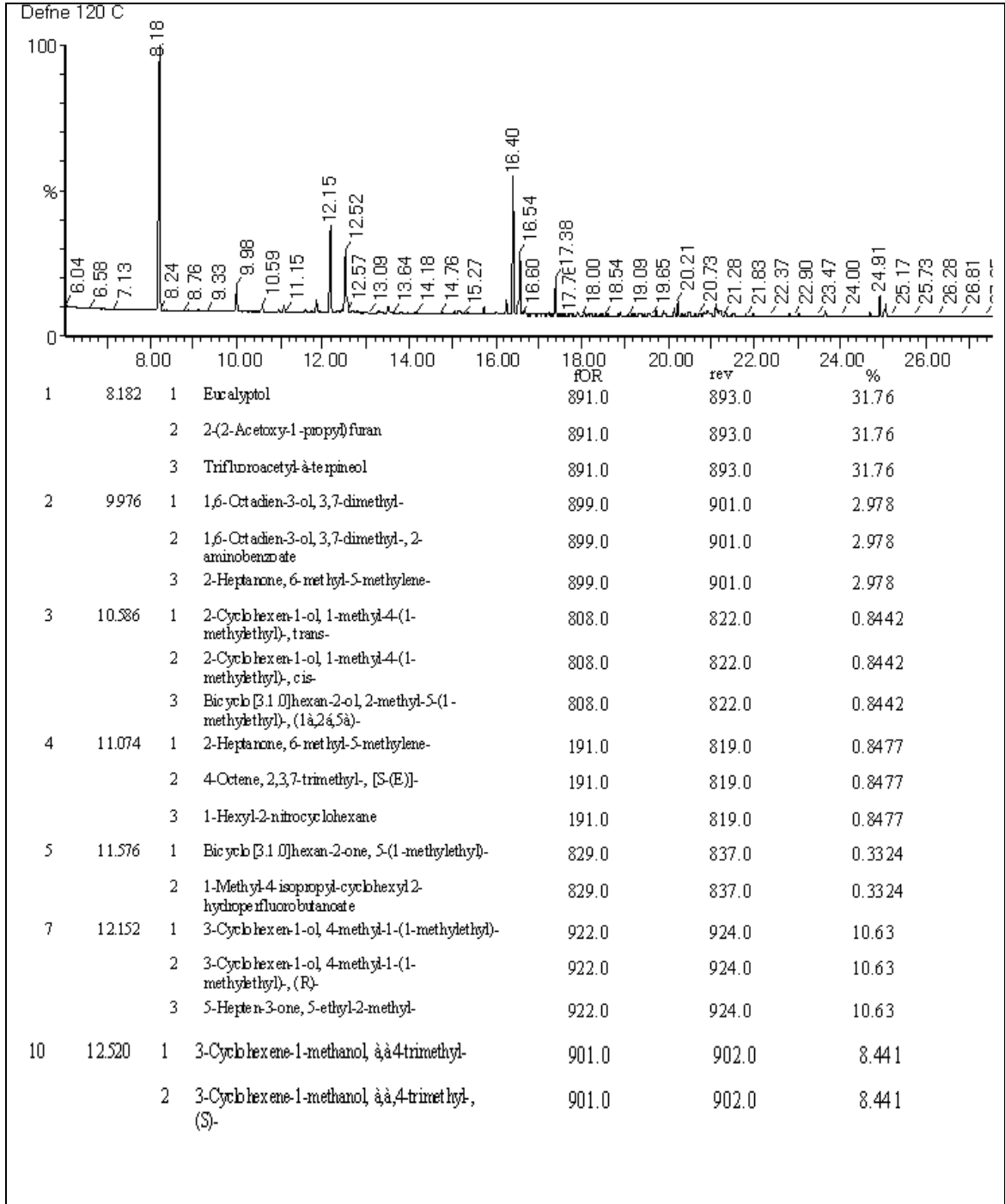


		2	2-(2-Acetoxy-1-propyl)furan	881.0	884.0	35.12
		3	Trifluoroacetyl- α -terpineol	881.0	884.0	35.12
8	8879	1	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-	916.0	922.0	0.9592
		2	Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene)-	916.0	922.0	0.9592
		3	α -Phellandrene	916.0	922.0	0.9592
9	9983	1	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-	923.0	928.0	1.857
		2	1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl-, 2-aminobenzoate	923.0	928.0	1.857
		3	1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	923.0	928.0	1.857
10	11844	1	3-Cyclohexene-1-methanol, α , α ,4-trimethyl-	782.0	800.0	0.5352
11	12145	1	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-	925.0	929.0	3.778
		2	3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-, (R)-	925.0	929.0	3.778
		3	5-Hepten-3-one, 5-ethyl-2-methyl-	925.0	929.0	3.778
12	12507	1	3-Cyclohexene-1-methanol, α , α ,4-trimethyl-	908.0	913.0	2.301
		2	3-Cyclohexene-1-methanol, α , α ,4-trimethyl-, (S)-	908.0	913.0	2.301
		3	p-menth-1-en-8-ol	908.0	913.0	2.301
13	15734	1	3-Cyclohexene-1-methanol, α , α ,4-trimethyl-, acetate	814.0	824.0	0.8874
		2	Isopulegol acetate	814.0	824.0	0.8874
		3	Cyclohexane, 1-methylene-4-(1-methylethenyl)-	814.0	824.0	0.8874
14	16417	1	3-Cyclohexene-1-methanol, α , α ,4-trimethyl-, acetate	924.0	931.0	14.71
		2	Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)-	924.0	931.0	14.71
		3	3-Cyclohexene-1-methanol, α , α ,4-trimethyl-	924.0	931.0	14.71
15	16530	1	Eugenol	940.0	951.0	0.6257
		2	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	940.0	951.0	0.6257
		3	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	940.0	951.0	0.6257
16	17387	1	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	909.0	929.0	1.153
		2	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-	909.0	929.0	1.153
		3	O-Trifluoroacetyl-eugenol	909.0	929.0	1.153
17	20226	1	Caryophyllene oxide	902.0	911.0	0.4400
		2	(2S,4R)-p-Mentha- [1(7),8]- diene 2-hydroperoxide	902.0	911.0	0.4400

		3	6-(3-Methyl-3-cyclohexenyl)-2-methyl-2,6-heptadienol	902.0	911.0	0.4400
18	25.387	1	1H-2-Benzoxacyclotetradec in-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tis(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	322.0	949.0	0.9816
		2	Citrazinic triTMS	322.0	949.0	0.9816
		3	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	322.0	949.0	0.9816
19	25.494	1	1H-2-Benzoxacyclotetradec in-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tis(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	105.0	944.0	0.4419
		2	Silane, (1,1-dimethylethyl)[[9-[[[(1,1-dimethylethyl)dimethylsilyloxy]methyl]-6a,7,8,10a-tetrahydro-6,6-dimethyl-3-pentyl-6H-dibenz[o,d]pyran-1-yl]oxy]dimethyl-, (6a-trans)-	105.0	944.0	0.4419
		3	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	105.0	944.0	0.4419
20	25.581	1	1H-2-Benzoxacyclotetradec in-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tis(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	233.0	949.0	0.4861
		2	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	233.0	949.0	0.4861
		3	Citrazinic triTMS	233.0	949.0	0.4861
21	26.090	1	Isomethadone	263.0	856.0	2.440
		2	Maprotiline	263.0	856.0	2.440
22	26.170	1	1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3,5-tis(trimethylsiloxy)tetrakisoxane	392.0	885.0	0.6821
		2	1,1,1,3,5,7,7,7-Octamethyl-3,5-bis(trimethylsiloxy)tetrakisoxane	392.0	885.0	0.6821
23	26.304	1	Benzenepropanoic acid, alpha-(methylthio)-, (alphaS)	192.0	980.0	2.545
		2	1H-2-Benzoxacyclotetradec in-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tis(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	192.0	980.0	2.545
		3	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	192.0	980.0	2.545
26	28.641	1	1H-2-Benzoxacyclotetradec in-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tis(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	354.0	949.0	2.567
		2	Citrazinic triTMS	354.0	949.0	2.567
		3	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	354.0	949.0	2.567
27	29.069	1	1,1,1,5,7,7,7-Heptamethyl-3,3,5-tis(trimethylsiloxy)tetrakisoxane	518.0	833.0	1.672
		2	Heptasiloxane, hexadecamethyl-	518.0	833.0	1.672
		3	Hexasiloxane, tetradecamethyl-	518.0	833.0	1.672

28	29.236	1	1H-2-Benzoxacyclobutadec-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tris(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	283.0	949.0	0.7996
		2	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	283.0	949.0	0.7996
		3	Citrazinic triTMS	283.0	949.0	0.7996
29	29.551	1	1H-2-Benzoxacyclobutadec-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tris(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	126.0	948.0	1.660
		2	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	126.0	948.0	1.660
		3	Citrazinic triTMS	126.0	948.0	1.660
30	29.631	1	1H-2-Benzoxacyclobutadec-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tris(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	294.0	949.0	0.9796
		2	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	294.0	949.0	0.9796
		3	Heptasiloxane, hexadecamethyl-	294.0	949.0	0.9796

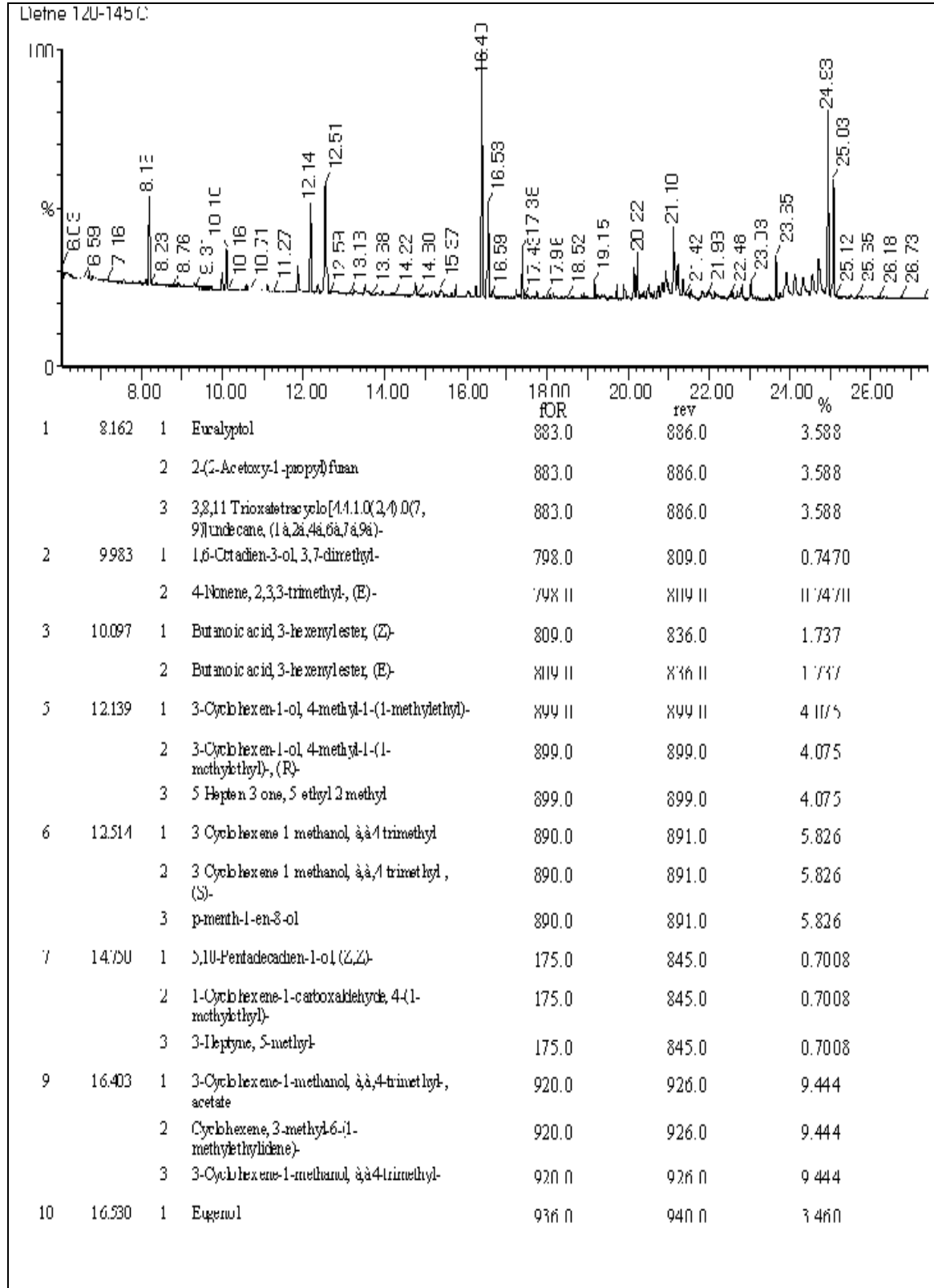
Ek 3. 120 °C Elde Edilen Destilatın Kimyasal Kompozisyonu



		3	p-menth-1-en-8-ol	901.0	902.0	8.441
11	12.648	1	Octatriene, 1,3-trans-5-trans-	412.0	895.0	0.4644
13	13.263	1	Dextroamphetamine	148.0	879.0	0.5183
		2	Cyclobutaneethanol, 4-methylene-	148.0	879.0	0.5183
		3	Dextroamphetamine	148.0	879.0	0.5183
14	13.498	1	1(3H)-Isobenzofuranone, 3a,4,5,7a-tetrahydro-4-hydroxy-3a,7a-dimethyl-, (3a,4a,7a)- (R)-	572.0	816.0	1.157
		2	Bicyclo [2.2.1]heptane, 2,2,3-trimethyl-	572.0	816.0	1.157
17	15.988	1	n-Butylbenzene	619.0	816.0	0.3400
19	16.403	1	3-Cyclohexene-1-methanol, 4,4-trimethyl-, acetate	925.0	930.0	14.02
		2	Cyclohexene, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)-	925.0	930.0	14.02
		3	3-Cyclohexene-1-methanol, 4,4-trimethyl-	925.0	930.0	14.02
20	16.537	1	Eugenol	936.0	938.0	5.906
		2	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	936.0	938.0	5.906
		3	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	936.0	938.0	5.906
22	17.380	1	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	918.0	931.0	3.178
		2	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-	918.0	931.0	3.178
		3	O-Trifluoroacetyl-eugenol	918.0	931.0	3.178
23	20.125	1	Cyclohexene, 1,5,5-trimethyl-6-(2-propenylidene)-	275.0	885.0	0.7004
		2	3,4-Nonadien-6-yne, 5-ethyl-3-methyl-	275.0	885.0	0.7004
		3	Ibuprofen	275.0	885.0	0.7004
24	20.212	1	Caryophyllene oxide	884.0	888.0	1.046
		2	1-Methylene-2b-hydroxymethyl-3,3-dimethyl-4b-(3-methylbut-2-enyl)-cyclohexane	884.0	888.0	1.046
		3	6-(3-Methyl-3-cyclohexenyl)-2-methyl-2,6-heptadienol	884.0	888.0	1.046
25	20.902	1	5,10-Pentadecadien-1-ol	165.0	897.0	0.3475
		2	10-Pentadecen-5-yn-1-ol, (E)-	165.0	897.0	0.3475
		3	10,10-Dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo [7.2.0]undecan-5-ol	165.0	897.0	0.3475
26	21.082	1	Stanozolol	350.0	947.0	1.467
		2	16beta-Hydroxystanozolol	350.0	947.0	1.467
		3	5-Hepten-3-yn-2-one, 6-methyl-5-(1-methylethyl)-	350.0	947.0	1.467

27	21.190	1	Dihydro-cis-à-copaene-8-ol	297.0	881.0	0.7155
		2	1(2H)-Naphthalenone, 6-(1,1-dimethylethyl)octahydro-2,8a-dimethyl-	297.0	881.0	0.7155
		3	5,10-Pentadecadien-1-ol, (Z,Z)-	297.0	881.0	0.7155
28	23.640	1	D-Mannose, O-(phenylmethyl)oxime, 2,3,4,5,6-pentabenzmate	111.0	866.0	0.3401
		2	Methanone, 1,2,3-cyclopropanetriyltris[phenyl-, (1à,2à,3à)-	111.0	866.0	0.3401
		3	D-Glucose, O-(phenylmethyl)oxime, 2,3,4,5,6-pentabenzmate	111.0	866.0	0.3401
29	24.905	1	1,5-Diphenylhex-3-ene	270.0	820.0	1.679
		2	17-Octadecene-9,11-diminoic acid, 8-oxo-, methyl ester	270.0	820.0	1.679
		3	Tricyclo[3.2.1.0(2,4)]octane, 8-methylene-, (1à,2à,4à,5à)-	270.0	820.0	1.679
30	25.019	1	Fenoterol	98.00	859.0	0.9872
		2	Octatriene, 1,3-trans-5-trans-	98.00	859.0	0.9872
		3	Azuleno[4,5-h]furan-2(3H)-one, 3a,4,6a,7,8,9,9a,9b-octahydro-6-methyl-3,9-bis(methylene)-, [3aS-(3aà,6aà,9aà,9bà)]-	98.00	859.0	0.9872

Ek 4. 120 °C -145 °C Elde Edilen Destilatın Kimyasal Kompozisyonu



		2	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-, (E)-	936.0	940.0	3.460
		3	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)-	936.0	940.0	3.460
11	17.381	1	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	893.0	902.0	1.666
		2	Benzene, 1,2-dimethoxy-4-(1-propenyl)-	893.0	902.0	1.666
		3	O-Trifluoroacetyl-tyrosol	893.0	902.0	1.666
12	20.132	1	Cyclohexene, 1,5,5-trimethyl-6-(2-propenylidene)-	276.0	885.0	1.112
		2	Ibuprofen	276.0	885.0	1.112
		3	3,4-Nonadien-6-yne, 5-ethyl-3-methyl-	276.0	885.0	1.112
13	20.219	1	10-Pentadecen-5-yn-1-ol, (E)-	176.0	888.0	1.414
		2	Caryophyllene oxide	176.0	888.0	1.414
		3	1-Formyl-2,2,6-trimethyl-3-cis-(3-methylbut-2-enyl)-5-cyclohexene	176.0	888.0	1.414
14	20.835	1	Dihydro-cis- α -copaene-8-ol	477.0	883.0	0.7854
		2	9,11-Octadecadiynoic acid, 8-oxo-, methyl ester	477.0	883.0	0.7854
		3	2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-diazocyclohexa-2,5-dien-1-one	477.0	883.0	0.7854
15	20.922	1	10,10-Dimethyl-2,6-dimethylenebicyclo[7.2.0]undecan-5 α -ol	523.0	925.0	1.185
		2	5,10-Pentadecadiyn-1-ol	523.0	925.0	1.185
		3	10-Pentadecen-5-yn-1-ol, (E)-	523.0	925.0	1.185
16	21.096	1	Stanozolol	347.0	948.0	2.880
		2	16 β -Hydroxystanozolol	347.0	948.0	2.880
		3	2-Naphthalenemethanol, decahydro- α , α ,4 α -trimethyl-8-methylene-, [2R-(2 α ,4 α ,8 α)]-	347.0	948.0	2.880
17	21.203	1	Veridiflorol	673.0	837.0	1.319
		2	8 α (2H)-Phenanthrenol, 7-ethenyldecahydro-1,1,4 α ,7-tetramethyl-, acetate, [4 α -(4 α ,4 β ,7 α ,8 α ,10 α)]-	673.0	837.0	1.319
		3	1-Naphthalenopropanol, α -ethenyldecahydro-5-(hydroxymethyl)- α ,2,5,5,8 α -pentamethyl-	673.0	837.0	1.319
18	21.330	1	(2S,4R)-p-Mentha- [1(7),8]-diene 2-hydroperoxide	491.0	817.0	0.7359
19	21.973	1	Stanozolol	345.0	917.0	0.6905
		2	α , α -Carotene, 5,6-dihydro-5,6-dihydroxy-	345.0	917.0	0.6905
		3	1-Formyl-2,2-dimethyl-3-trans-(3-methylbut-2-enyl)-6-methylidene-cyclohexane	345.0	917.0	0.6905
20	22.796	1	2-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3,4-dimethyl-	229.0	829.0	0.6828

		2	Dinonyl phthalate	229.0	829.0	0.6828
21	23.031	1	Bis(N-benzylidithiocarbamate)platinum(II)	101.0	840.0	0.7437
		2	2-Ethylformamide	101.0	840.0	0.7437
22	23.647	1	D-Mannose, O-(phenylmethyl)oxime, 2,3,4,5,6-pentabenzamate	83.00	887.0	1.324
		2	D-Glucose, O-(phenylmethyl)oxime, 2,3,4,5,6-pentabenzamate	83.00	887.0	1.324
		3	Benzic acid, 3-fluoro-, 2-oxo-2-phenylethyl ester	83.00	887.0	1.324
23	23.881	1	1H-2-Benzoxacyclotetradec-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tris(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	355.0	949.0	2.106
		2	Citrazinic triTMS	355.0	949.0	2.106
		3	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	355.0	949.0	2.106
24	24.102	1	Sodium perchlorate	729.0	999.0	1.531
		2	Sodium perchlorate	729.0	999.0	1.531
		3	1H-2-Benzoxacyclotetradec-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tris(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	729.0	999.0	1.531
25	24.309	1	1H-2-Benzoxacyclotetradec-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tris(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	349.0	949.0	1.377
		2	Citrazinic triTMS	349.0	949.0	1.377
		3	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	349.0	949.0	1.377
26	24.517	1	1H-2-Benzoxacyclotetradec-1,7(8H)-dione, 3,4,5,6,9,10-hexahydro-3-methyl-5,14,16-tris(trimethylsilyloxy)-, [3S-(3R*,5R*,11E)]-	347.0	949.0	1.498
		2	Citrazinic triTMS	347.0	949.0	1.498
		3	Pentacarbonyltris(trimethylsilyl)stibinemolybdenum	347.0	949.0	1.498
27	24.671	1	1,3a-Azulenediethanol, 1,2,3,3a,4,7,8,8a-octahydro-1-[5-hydroxy-3-(hydroxymethyl)-3-pentenyl]-2,5-dimethyl-, [1R-[1à,1(Z),2à,3aà,8aà]]-	378.0	863.0	2.631
		2	8-C-à-d-[2-O-(E)-p-Coumaroyl]glucopyranosyl-2-[(R)-2-hydroxypropyl-7-methoxy-5-methylchromone	378.0	863.0	2.631
28	24.925	1	Kaura-5,16-dien-18(or 19)-ol	391.0	828.0	6.638
		2	Tricyclo[3.2.1.0(2,4)]octane, 8-methylene-, (1à,2à,4à,5à)-	391.0	828.0	6.638
		3	Azulenol[4,5-h]furan-2(3H)-one, 3a,4,6a,7,8,9,9a,9b-octahydro-6-methyl-3,9-bis(methylene)-, [3aS-(3aà,6aà,9aà,9bà)]-	391.0	828.0	6.638

ÖZGEÇMİŞ**Kişisel Bilgiler**

Adı Soyadı : Hakan ÇELİK
Doğum Tarihi ve Yer: 1985/Kadıköy
Medeni Hali : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce
Telefon : 0 535 968 46 79
e-mail : Hakan_celik@windowlive.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Lisans	Gaziosmanpaşa Üniversitesi	2007
Lise	Üsküdar Mehmet Lisesi	2003