

EGE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**İZMİR KEKİĞİ (*Origanum onites* L.) UÇUCU YAĞININ
DESTİLASYON VE SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT
(SCCO₂) İLE EKSTRAKSİYONU VE BİLEŞENLERİNİN
GAZ KROMATOĞRAFİSİ / KÜTLE SPEKTROMETRESİ
(GC/MS) İLE ANALİZİ**

Mehmet Ali CEYLAN

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Bilim Dalı Kodu: 614. 01. 00

Sunuş Tarihi: 22.02.2008

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yaşar HIŞIL

Bornova-İZMİR

III

KABUL VE ONAY

Mehmet Ali CEYLAN tarafından **YÜKSEK LİSANS** tezi olarak sunulan “**İzmir Kekığı (*Origanum onites* L.) Uçucu Yağının Destilasyon ve Süperkritik Karbondioksit (SCCO₂) ile Ekstraksiyonu ve Bileşenlerinin Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi (GC/MS) ile Analizi**” başlıklı bu çalışma E.Ü. Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği ile E.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Eğitim ve Öğretim Yönergesi'nin ilgili hükümleri uyarınca tarafımızdan değerlendirilerek savunmaya değer bulunmuş ve 22/02/2008 tarihinde yapılan tez savunma sınavında aday oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuştur.

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı : Prof. Dr. Yaşar HIŞIL

.....

Raportör Üye: Prof. Dr. Semih ÖTLEŞ

.....

Üye : Doç. Dr. Neriman BAĞDATLIOĞLU

.....

V ÖZET

İZMİR KEKİĞİ (*Origanum onites* L.) UÇUCU YAĞININ DESTİLASYON VE SÜPERKRİTİK KARBONDİOKSİT (SCCO₂) İLE EKSTRAKSİYONU VE BİLEŞENLERİNİN GAZ KROMATOĞRAFİSİ / KÜTLE SPEKTROMETRESİ (GC/MS) İLE ANALİZİ

CEYLAN, Mehmet Ali

Yüksek Lisans Tezi, Gıda Mühendisliği Bölümü
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Yaşar HIŞIL
Şubat, 2008, 78 sayfa

Bu araştırmada, *Origanum onites* L. örneklerinin hidrodestilasyon ve SC-CO₂ ekstraksiyonu ile uçucu yağı elde edilerek GC/MS'te analizi yapılmıştır. *Origanum onites* L. örnekleri, ikisi ticari firmalardan, diğeri Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden olmak üzere 3 farklı kaynaktan temin edilmiştir. Her iki yöntemde de en fazla ekstrakt alınan örnek, Ziraat Fakültesi'nden temin edilendir (% 3.89 - % 4.00). SC-CO₂ ekstraksiyonunda uçucu yağ veriminin hidrodestilasyondan daha yüksek olduğu tespit edilmiş olup, ekstraktları elde edilen örneklerin nitel ve nicel analizi sonucunda her iki yöntemde de en fazla bulunan bileşenin Karvakrol olduğu belirlenmiştir. Ziraat Fakültesi'nden temin edilen örnekte, diğerlerinden farklı olarak baskın bileşikler Karvakrol ve Timol'dur. Örneklerden elde edilen uçucu yağlarda bunların haricinde en fazla bulunan bileşikler β - bisabolen, borneol L, *p* - simen, γ - terpinen ve terpinen - 4 - ol'dür.

Anahtar Kelimeler: *O. onites* L., SC-CO₂ ekstraksiyonu, Hidrodestilasyon, GC/MS

VII

ABSTRACT

SUPERCRITICAL CARBONDIOXIDE (SCCO₂) EXTRACTION AND DISTILLATION OF ESSENTIAL OILS OF *Origanum onites* L. AND ANALYSIS OF THEIR COMPONENTS BY GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS)

CEYLAN, Mehmet Ali

Master Thesis in Food Engineering Department

Supervisor: Ph. D. Yaşar HIŞIL

February, 2008, 78 pages

In this research, essential oils of *Origanum onites* L. have been obtained by Hydrodistillation and Supercritical CO₂ Extraction and analysis of components has been carried out by GC/MS. Samples are obtained from three different sources; two of them supplied from commercial firms and the other from Aegean University, Agriculture Faculty, Department of Soil Sciences which has the highest extraction yield (3.89 – 4.00 %) among these samples. While carvacrol is identified as the main component of the samples that are obtained from commercial firms, sample of the Agriculture Faculty has two major components: carvacrol and thymol. The other components that relatively have higher composition in the extracts are: β - bisabolene, borneol L, *p* - cymene, γ - terpinene and terpinen – 4 – ol.

Key words: *O. onites* L., SC-CO₂ extraction, Hydrodistillation, GC/MS

IX

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmam süresince bana değerli görüş ve katkılarıyla yol gösteren, çalışmamın değerlendirilmesinde engin bilgisi ile katkıda bulunan Sayın Hocam Prof. Dr. Yaşar HIŞIL'a,

İzmir kekiği örneklerinin teminini sağlayan Türer Tarım ve Orman Ürün. İth. İhr.ve Tic. Ltd. Şti. ; Kütaş Tarım Ürünleri Dış Tic. San. A. Ő. ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'ne,

Laboratuar çalışmam süresince ilgi ve desteklerini esirgemeyen tüm araştırma görevlisi, tekniker ve bölümümüz çalışanlarına,

Eğitimim için her türlü fedakârlığı gösteren, hayatım boyunca desteğini ve sevgisini hissettiğim canım anneme,

Beni her zaman izlediğini hissettiğim babama,

Teşekkürü bir borç bilirim.

Mehmet Ali CEYLAN

XI

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	V
ABSTRACT	VII
TEŞEKKÜR	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XIV
ÇİZELGELER DİZİNİ	XVI
KISALTMALAR DİZİNİ	XVII
1. GİRİŞ	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	6
2.1. İzmir Kekığı (Origanum onites L.)	6
2.1.1. Fizyolojik Özellikler	6
2.1.2. Kekik Uçucu Yağları	7
2.1.3. Aromatik Terpenlerin Biyosentezi	17
2.2. Kekik Uçucu Yağının Biyolojik Aktiviteleri	18
2.3. Uçucu Yağ Ekstraksiyon Yöntemleri	19

XII
İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.3.1. Destilasyon.....	20
2.3.1.1. Su Destilasyonu.....	20
2.3.1.2. Su ve Buhar Destilasyonu	21
2.3.1.3. Buhar Destilasyonu	22
2.3.2. Çözgen Ekstraksiyonu.....	23
2.3.2.1. Maserasyon	23
2.3.2.2. Enfloraj.....	23
2.3.2.3. Uçucu Organik Çözgen ile Ekstraksiyon	24
2.3.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu	24
2.3.3.1. SC-CO ₂ Ekstraksiyonu ile İlgili Son Yıllarda Yayınlanmış Bazı Çalışmalar.....	29
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	38
3.1 Materyal	38
3.2 Yöntem.....	38
3.2.1 Örneklerin Öğütülmesi.....	38

XIII

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
3.2.2. <i>O. onites</i> L. Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi	40
3.2.2.1. Hidrodestilasyon.....	40
3.2.2.2. SC-CO ₂ Ekstraksiyonu	41
3.2.3. Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi Analizi	42
4. BULGULAR	43
4.1. Hidrodestilasyon Sonuçları	43
4.2. SC - CO ₂ Ekstraksiyonu Sonuçları.....	43
4.3. GC/MS Analizi Sonuçları	45
5. SONUÇ VE TARTIŞMA.....	58
6. KAYNAKLAR DİZİNİ	62
ÖZGEÇMİŞ	78

XIV

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

2.1. İzmir Kekiği (<i>Origanum onites</i>) nin görünüşü.....	6
2.2. Bazı terpenlerin molekül yapıları.....	9
2.3. Karvakrol ve Timol biyosentezi	18
2.4. Baharatlardan su destilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi	21
2.5. Su – buhar destilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi.....	22
2.6. Saf bir akışkanın faz diyagramı	26
3.1. <i>O. onites</i> L. örneklerini öğütmede kullanılan Brook Crompton Series 2000 marka cihaz	37
3.2. Clevenger aparatı ile Hidrodestilasyon	38
4.1. Hidrodestilasyon ile elde edilen (Kütaş) <i>O. onites</i> L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı	49
4.2. SC-CO ₂ ekstraksiyonu ile elde edilen (Kütaş) <i>O. onites</i> L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı	50

ŞEKİLLER DİZİNİ (Devam)

Sayfa

4.3. Hidrodestilasyon ile elde edilen (Türer) <i>O. onites</i> L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.....	51
4.4. SC-CO ₂ ekstraksiyonu ile elde edilen (Türer) <i>O. onites</i> L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.....	52
4.5. Hidrodestilasyon ile elde edilen (Ziraat Fak.) <i>O. onites</i> L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.....	53
4.6. SC-CO ₂ ekstraksiyonu ile elde edilen (Ziraat Fak.) <i>O. onites</i> L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.....	54
4.7. Çözgen olarak kullanılan metilen kloritin GC/MS total iyon kromatogramı	55

XVI
ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

1.1. Türkiye’deki <i>Origanum</i> Türleri	4
2.1. Türkiye’de yetişen <i>O. onites</i> ’in uçucu yağ kompozisyonu	11
2.2. Buhar Destilasyonu ile elde edilen <i>O. onites</i> L. uçucu yağının GC analiz sonuçları	12
2.3. <i>Origanum onites</i> uçucu yağının bileşimi	14
2.4. <i>O. onites</i> uçucu yağ ana bileşikleri ve % verim.....	15
2.5. Gazların, sıvıların ve Süperkritik akışkanların fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması.....	27
4.1. Hidrodestilasyon ile elde edilen <i>O. onites</i> ekstraktlarının GC/MS analiz sonuçları	44
4.2. SC-CO ₂ Ekstraksiyonu ile elde edilen <i>O. onites</i> ekstraktlarının GC/MS analiz sonuçları	46
5.1. <i>O. onites</i> L. ekstraktlarının içerdikleri temel bileşenlere göre GC/MS analiz sonuçları	57
5.2. <i>O. onites</i> L. ekstraktlarının içerdikleri benzenoit yapıya sahip aromatik bileşiklerin ve terpenlerin oksijenli türevlerinin baskın olanlarının GC/MS analiz sonuçları	59

XVII

KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltmalar

Açıklama

BHA	Bütillendirilmiş Hidroksi Anisol
BHT	Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen
GC	Gaz Kromatografisi
GC/MS	Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi
HD	Hidrodestilasyon
PAH	Poliaromatik Hidrokarbon
PCB	Poliklorlanmış Bifenil
RRI	Bağıl alıkonma indisi
RT	Alıkonma zamanı
SC-CO ₂	Süperkritik Karbondioksit
SFE	Sürekritik Akışkanlarla Ekstraksiyon
SFME	Çözücüsüz Mikrodalga Ekstraksiyonu
SWE	Aşırı Isıtılmış Su ile Ekstraksiyon
TE	Tespit edilememiştir
TS	Türk Standartları

1. GİRİŞ

Baharatların tarihi neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir. Çin, Hint, İran, Mezopotamya, Mısır, Anadolu, İbrani, Yunan, Roma gibi eski uygarlıklarda baharatların üretimi, ticareti ve kullanımıyla ilgili belgeler günümüze dek ulaşmıştır.

Baharatlar başlangıçta daha çok hastalıkların tedavisinde, dini törenlerde ve koku maddeleri üretmede kullanılmıştır. Gıdaları koruma, lezzet vererek iştah açıcı hale getirme, diğer kullanımlarla birlikte gelişmiştir.

Son 20 – 30 yılda, gerek ev içi gerek endüstriyel çapta, gıdalarda baharat kullanımı büyük artış göstermiştir. Değişen ve gelişen beslenme alışkanlıkları, etnik yemeklere ve ilginç damak zevklerine yöneliş, yeni gıda ürünlerinin ortaya çıkması ve bazı teknolojik gerekler baharatlardan çeşitli formlarda ve alanlarda yararlanılmasını gündeme getirmiştir. Baharatın doğrudan kendisinin tüm ve öğütülmüş olarak gıdalara katılması hala önemini korumakla birlikte, çözünür ürünlerin elde edilmesi ve kullanılması birçok avantaj sağlamaktadır. Steril tüm veya öğütülmüş baharatların yanı sıra, çeşitli ekstraktlar (oleorezin gibi), uçucu yağlar, kapsüllenmiş ürünler, sıvı aromalar, değişik karışımlar gibi çok sayıda türev, ticarete ve gıda teknolojisinde yerlerini almış, özel uygulamalar dâhilinde tercih edilir duruma gelmişlerdir (Akgül, 1993).

Son yıllarda baharatlardan elde edilen uçucu yağ ve oleorezinlerinin kullanımının artma sebepleri arasında pek çok özellik yer almaktadır. Bu tür ekstraktlar;

- Mikrobiyal açıdan güvenilirdir,
- Depolama sırasında daha dayanıklıdır,
- Daha yüksek oranda aroma maddelerini içermektedir,
- Katkı olarak kullanma kolaylığına sahiptir,
- Depolanması için fazla yer kaplamamaktadır,
- Mevsimsel değişikliklerden etkilenmemektedirler ve
- Standardize edilebilmektedirler (Şengün, 2001).

Günümüzde doğal ürünlerden uçucu yağların izolasyonu için en sık kullanılan metotlar, buhar destilasyonu ve çözücü ekstraksiyonudur. Bununla birlikte, bazı uçucu bileşiklerde kayıp, düşük ekstraksiyon verimi, doymamış bileşiklerin ısıl ya da hidrolitik etkilerle degradasyonu ve ekstraktaki toksik çözücü kalıntıları bu metotlarda karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde farklı bitkilerden organik madde ekstraksiyonu için Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon (SFE) gibi daha verimli bir metot kullanılmaya başlanmıştır (Özel ve ark., 2004).

Günümüzde, güvenilir çözümlerin sayısının ve tolerans kalıntı düzeylerinin gittikçe daralması, artan enerji maliyeti ve pek çok bileşenin ısısal işlemlere karşı dayanıksız olması sebebiyle, yapılan araştırmalar temiz, etkin ve üründe termal degradasyona sebep olmayacak ayırma teknikleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Bunun sonucu olarak da, gıda ve biyomateryallerin ayırımında, "*Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon*" olarak bilinen yöntem, çekici bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. Süperkritik akışkanların çözücülük özellikleri uzun süredir bilinse de,

laboratuvar ve ticari ayırma işlemlerinde kullanımları oldukça yenidir (Hışıl ve Ünlü, 1996).

Ülkemizde Ege ve Akdeniz Bölgelerinde doğal olarak yetişen *Origanum onites*, Avrupa’da “Turkish Oregano”, halk arasında ise “Bilyalı Kekik, Taş Kekik, Ak Kekik, Güve Kekiği, Peynir Kekiği, İzmir Kekiği” gibi yöresel adlarla bilinmektedir ve doğal floramızın bir ürünü olmasının yanı sıra kültür bitkisi olarak yetiştirilen tek ticari *Origanum* türüdür. Tarım alanları son yıllarda 6300 dönüme ulaşmıştır (Ofraz ve ark., 2002).

70’ten fazla olmayan *Origanum* tür, alttür, varyete ve hibritlerine, geçtiğimiz 150 yıl boyunca 300’den fazla bilimsel isim verilmiştir. Farklı isimlerin neden olduğu bu bolluk, doğada bu türün morfolojik varyasyonlarından kaynaklanmaktadır. Büyük bir çoğunluğu Akdeniz civarında bulunan *Origanum*’un, endemik olan, Yunanistan’da 9, Türkiye’de 21 türü vardır. Türkiye’de yetişen kekik türleri Çizelge – 1.1’de gösterilmektedir. Bütün *Origanum* taksonlarının %60’ının Türkiye’de bulunduğu rapor edilmiştir, bu durum Türkiye’yi *Origanum* açısından gen merkezi yapmaktadır (Kintzios, 2002).

Bir sınıflandırmaya (Maarse, 1991) göre, ekonomik öneme sahip kekik türleri şöyledir:

Yunan kekiği: *Origanum vulgare* L. (Boiss.)

Türk kekiği: *Origanum onites* L.

İspanyol kekiği: *Thymus capitatus* (L.)

Meksika kekiği: *Lippia graveolens*

Çizelge 1.1: Türkiye'deki *Origanum* Türleri (Kintzios, 2002).

Sectio <i>Amaracus</i> (Gleditsch) Bentham
1. <i>O. boissieri</i> Ietswaart [E]
2. <i>O. saccatum</i> Davis [E]
3. <i>O. solymicum</i> Davis [E]
Sectio <i>Anatolicon</i> Bentham
4. <i>O. hypericifolium</i> Schwartz et Davis [E]
5. <i>O. sipyleum</i> L. [E]
Section <i>Brevifilamentum</i> Ietswaart
6. <i>O. acutidens</i> (Hand.-Mazz.) Ietswaart [E]
7. <i>O. bargyli</i> Mouterde
8. <i>O. brevidens</i> (Bornm.) Dinsmore [E]
9. <i>O. baussknechtii</i> Boiss. [E]
10. <i>O. leptocladum</i> Boiss. [E]
11. <i>O. rotundifolium</i> Boiss.
12. <i>O. munzurense</i> Kit Tan et Sorger [E]
13. <i>O. busnucan-baseri</i> H. Duman, Z. Aytaç et A. Duran [E]
Sectio <i>Longitubus</i> Ietswaart
14. <i>O. amanum</i> Post [E]
Sectio <i>Cbilocalyx</i> (Briq.) Ietswaart
15. <i>O. bilgeri</i> Davis [E]
16. <i>O. micranthum</i> Vogel [E]
17. <i>O. minutiflorum</i> Schwartz et Davis [E]
Sectio <i>Majorana</i> (Miller) Benth.
18. <i>O. majorana</i> L. [Syn.: <i>O. dubium</i> Boiss.]
19. <i>O. onites</i> L. [Syn.: <i>O. smyrnaeum</i> L.]
20. <i>O. syriacum</i> var. <i>bevanii</i> (Holmes) Ietswaart [Syn.: <i>O. bevani</i> Holmes]
Sectio <i>Origanum</i> L.
21. <i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>vulgare</i> [Syn.: <i>O. creticum</i> L.]
22. <i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>gracile</i> (Koch) Ietswaart [Syn.: <i>O. tyttanthum</i> Gontsch.]
23. <i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> (Link) Ietswaart [Syn.: <i>O. heracleoticum</i> L.]
24. <i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>viride</i> (Boiss.) Hayek [Syn.: <i>O. heracleoticum</i> L.]
Sectio <i>Prolaticorolla</i> Ietswaart
25. <i>O. laevigatum</i> Boiss. [E]
Hybrids
26. <i>O.</i> × <i>dolicchosiphon</i> P.H. Davis [<i>O. amanum</i> Post × <i>O. laevigatum</i> Boiss.] [E]
27. <i>O.</i> × <i>intermedium</i> P.H. Davis [<i>O. sipyleum</i> L. × <i>O. onites</i> L.] [E]
28. <i>O.</i> × <i>symeonis</i> Mouterde [<i>O. syriacum</i> L. × <i>O. laevigatum</i> Boiss.] [E]
29. <i>O.</i> × <i>intercedens</i> Rech. fil. [<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> (Link) Ietswaart × <i>O. onites</i> L.]
30. <i>O.</i> × <i>vulgare</i> L. subsp. <i>hirtum</i> (Link) Ietswaart × <i>O. micranthum</i> Vogel [E]
31. <i>O.</i> × <i>adanense</i> Baser et Duman [<i>O. laevigatum</i> Boiss. × <i>O. bargyli</i> Mouterde] [E]
32. <i>O.</i> × <i>majoricum</i> Cambess [<i>O. vulgare</i> L. subsp. <i>virens</i> (Hoffm. et Link) Ietswaart × <i>O. majorana</i> L.]

Note
[E] = Endemic.

Batı ve Güneybatı Anadolu bölgesi florası *Origanum* türleri bakımından çok zengin bulunmaktadır. Floradan toplanan tonlarca *Origanum onites* L. bitkisi hem yurt içinde tüketilmekte ve hem de ihraç edilmektedir (Ceylan ve ark., 1999). Dünya kekik ticaretinde ilk sırayı

2100 tonla Türkiye almaktadır, ardından 1550 tonla Meksika, 310 tonla Yunanistan ve 200 tonla İsrail gelmektedir. Toplam 6.500.000 \$'lık bir pazarı olan kekik için Türkiye 3.200.000 \$ paya sahiptir (Duke, 2003). *Origanum onites* L., Türkiye'de yetişen kekik türleri arasında ticareti en fazla yapılandır ve Türkiye'nin toplam kekik ticaretinin %80'ini oluşturmaktadır. Ayrıca günümüzde 30 ton'dan fazla da kekik yağı ihraç edilmektedir (Kintzios, 2002).

Oldukça yaygın kullanıma sahip ve ekonomik açıdan önemli olan bu bitki, halk arasında yemeklerde baharat olarak ve çeşitli şekillerde hastalıkların tedavisinde kullanılır. Toprak üstü kısımlar midevi olarak, soğuk algınlığı, baş ağrısı gibi durumlarda kullanılır. Uçucu yağı ile yapılan çalışmalarda analjezik etkisi tespit edilmiştir. Yüksek miktarda fenolik madde içermesi nedeni ile antibakteriyal, antispazmodik ve antiseptik etkileri bilinmektedir.

Avrupa'da 'Turkish Oregano' adı ile bilinen *Origanum onites* üzerinde yapılan çalışmalarda uçucu yağ oranında %1–5 verim ve uçucu yağda % 50–82 karvakrol tespit edilmiştir. Antalya ve Isparta'da yetişen kemotipinde linalool (%91,9) ana bileşiktir (Oflaz ve ark., 2002). Ayrıca yükseklik artışıyla aynı bölge için eterik yağ miktarında artış olduğu da rapor edilmiştir (Gönüz ve ark., 1999).

Bu araştırmada, Clevenger aparatlı hidrodestilasyon ve Süperkritik CO₂ Ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlar, GC/MS ile analize tabi tutulmuştur. Bu sayede hem farklı ekstraksiyon yöntemlerinin verimliliği karşılaştırılırken hem de bir ıslah çalışması kapsamında elde edilen örneklerle ticari firmalardan edinilen örneklerin uçucu yağ kalitesi üzerinde karşılaştırma yapma imkânı sağlanmış olacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. İzmir Kekiği (*Origanum onites* L.)

2.1.1. Fizyolojik özellikler

Origanum onites L., *O. smyrnaeum* L. ve *O. pallidum* Desf. sinonimleri ile de bilinmekte olup Labiatae (Lamiaceae) familyasındandır (Anon., 2007).



Şekil 2.1: İzmir Kekiği (*Origanum onites*) nin görünüşü

Baharat olarak, çoğu zaman tam açmamış çiçekli kısımlarla birlikte yaprağı kullanılır. 0.2 – 1 cm uzunlukta, dar, kıvrık, gri yeşil – kırmızımsı

kahverengi yeşil renkte ve tüylüdür (Akgül, 1993). Sap kısımları 65 cm ve dalları ise 13cm'ye kadar uzayabilir (Gönüz ve ark., 1999).

Origanum onites'te örtü tüyleri şekil itibarı ile genelde düz, çok hücreli olup 3 – 5 hücrelidir. Nadir de olsa 6 – 7 hücreli tüylere rastlamak mümkündür. *O. onites*'te mm² de bulunan örtü tüyü sayısı 20 – 25'tir. Örtü tüylerinin içinde prizmatik kristaller mevcuttur. Bu kristaller 10 – 15 µm uzunluğunda olup kalsiyum oksalat kristalleri olduğu tespit edilmiştir. Bu tür *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*' a oranla daha fazla salgı tüyüne sahiptir. Salgı tüyleri başı tek, sapı 2 – 3 hücreli olup, uzunlukları 35 – 60 µm arasında değişir. Labiatae tipi 8 – 16 hücreli salgı tüylerinin mm² başına sayısı 11 – 15 arasındadır (Oflaz ve ark., 2002).

2.1.2. Kekik Uçucu Yağları

Baharatların tadını (yakıcı, acı, buruk, vb.) çoğunlukla uçucu olmayan bileşikler verdiği halde, koku (aroma) uçucu yağlardan kaynaklanır. Tada da katkısı olan uçucu yağlar, “baharatı baharat yapan” bileşiklerdir.

Uçucu yağlar (eteri yağlar, eterik yağlar, kokulu yağlar, esans yağları, esans ruhu) (essential oils, volatile oils) bitkilerde oluşan, su buharıyla uçabilen, oda sıcaklığında çoğunlukla sıvı, ekstraksiyon veya destilasyonla elde edilebilen, genellikle renksiz veya açık sarı renkli, bulunduğu bitkiye özgü kuvvetli kokulu ve yakıcı lezzetli, çok sayıda bileşenden oluşmuş doğal ürünlerdir. En belirgin, ayırt edici ve önemli özellikleri uçucu ve kokulu olmalarıdır (Akgül, 1993).

Bitkilerdeki uçucu yağlar, kendi metabolizmalarının yan veya son ürünleri olarak oluşur ve belli organlarda depolanır. Uçucu yağların

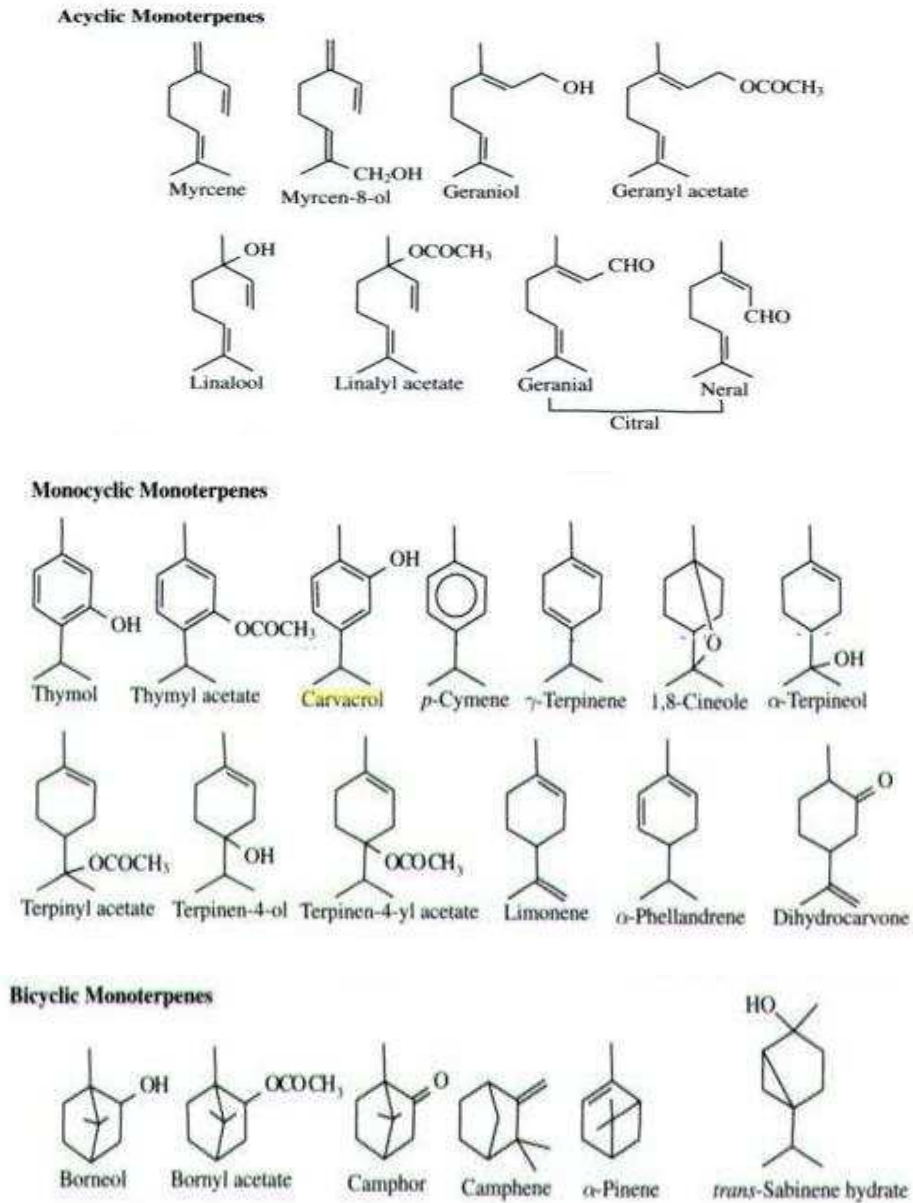
depolandığı kısımlar bitki türlerine göre değişmekle birlikte, genellikle salgı hücreleri ya da salgı kılları, yağ hücreleri, yağ kanalları, yağ rezervuarları gibi kısımlarda bulunurlar (Rose, 1999).

Uçucu yağların bitkide neden ve nasıl oluştuğu hakkında çeşitli teoriler vardır. Böcekleri cezbetmek veya kaçırmak, metabolitlerin atılmasını sağlamak, bitkiyi korumak bunlardan bazılarıdır. Bir kısım araştırmacılara göre, uçucu yağlar artık ürünlerdir. Uçucu yağın doğrudan protoplazmada veya hücre zarında oluştuğu ileri sürülür. Çoğunlukla serbest halde bulunan uçucu yağlar, bazen glikozit bileşikler şeklinde bağlı da olabilirler (Akgül, 1993).

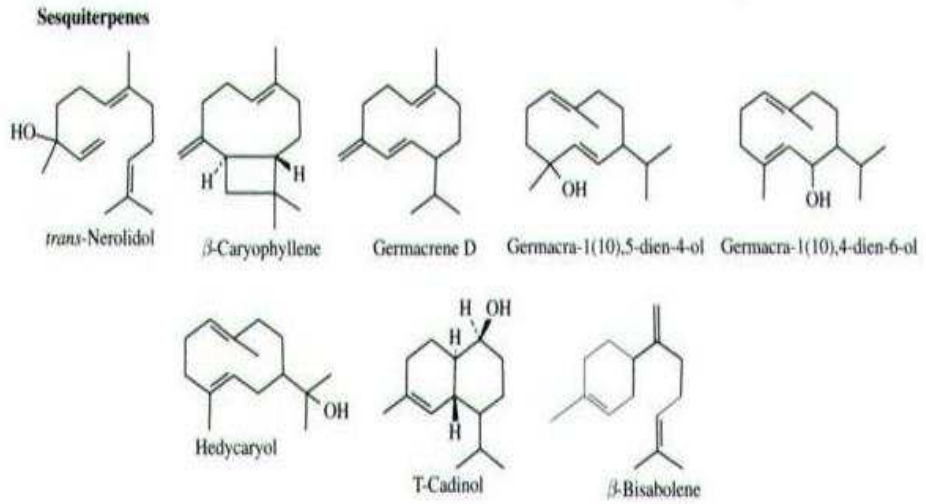
Uçucu yağlar içerisinde bulunan kimyasal maddeler şu şekilde sınıflandırılabilir (Reineccius, 1994; Akgül, 1993):

- 1) $(C_5H_8)_n$ genel formülündeki Hidrokarbonlar – Terpenler
(Terpinen, Osimen, Mirsen, Limonen, Sabinen, Terpinolen, Pinen, Kamfen, vb.)
- 2) Terpenlerin Oksijenli türevleri – Terpen alkol, aldehit, keton ve esterleri
(Sitronellol, Linalool, Karveol, Mentol, Terpeneol, Borneol, Sabinol, Sitral, Karvon, Menton, Piperiton, İyonon, vb.)
- 3) Benzenoit yapıya sahip aromatik bileşikler
(Timol, Karvakrol, Anizol, Anetol, Öjenol, vb.)
- 4) Azot ve kükürt içeren bileşikler
(İndol, Skatol, Metil Antranilat, vb.)

Bu bileşikler genel olarak Şekil 2.1’de gösterilmiştir.



Şekil 2.2: Bazı terpenlerin molekül yapıları (Stahl-Biskup ve Saez, 2002).



Şekil 2.2 (Devam) : Bazı terpenlerin molekül yapıları (Stahl-Biskup ve Saez, 2002).

Origanum onites uçucu yağı ile ilgili yapılan çalışmalarda, 13 örnekteki temel bileşenin Karvakrol (%67 – 82) olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte Antalya ve Muğla gibi Türkiye'nin güneyinde yer alan bölgelerden elde edilen 4 örneğin Linalool'ce (%80 – 92) zengin olduğu belirlenmiştir. Karvakrol (%36 – 66) ve Linalool (%15 – 52)'ün birlikte baskın bileşen olarak bulunduğu 3 örnek de saptanmıştır. Bir örnekte ise, Karvakrol (%57) ve Timol (%12) temel bileşenlerdir. Bu sonuçlar Çizelge 2.1'de gösterilmiştir (Kintzios, 2002).

Çizelge 2.1: Türkiye’de yetişen *O. onites*’in uçucu yağ kompozisyonu (Kintzios, 2002).

	<i>Oil Yield (%)</i>	<i>Carvacrol (%)</i>	<i>Thymol (%)</i>	<i>γ-terpinene (%)</i>	<i>p-cymene (%)</i>	<i>Linalool (%)</i>
Carvacrol-type* (13 samples)	1.1–4.7	66.5–81.9	0.2–1.9	1.6–8.7	3.0–10.9	0.04–1.9
Linalool-type (4 samples)	2.6–4.0	0.3–13.4	0.0–0.05	0.03–0.1	0.01–0.3	79.9–91.9**
Mixed-type (3 samples)	2.5–2.8	36.3–66.0	0.04–3.6	1.3–4.1	1.5–4.9	14.8–51.8
*Exception (1 sample)	2.4	57.4	11.6	5.2	8.1	0.1

Note

** Antalya, Mugla.

Girit adasında yetişen *Origanum onites* ve *Origanum vulgare* ssp. *hirtum*’un uçucu yağ bileşimi ve genetik yakınlığının incelendiği Clevenger – GC/MS kombinasyonlu bir araştırmada *O. Onites*’in uçucu yağ bileşimi şu şekilde çıkmıştır (Gounaris ve ark., 2002):

	<u>Yaprak</u>	<u>Çiçek</u>
Karvakrol	%58.73	%75.80
γ-terpinen	%10	%3.69
p-simen	%5.98	%3.59
Borneol	%4	%1.53
α-thujene	%1.15	%0.72
Timol	%0.4%	%0.29

Yine Girit’e özgü kekik türlerinde bulunan mono ve sesquiterpenoidler üzerine yapılan kemosistemantik bir çalışmada, *Origanum calcaratum* Juss., *Origanum dictamnus* L., *Origanum microphyllum* Vogel, *Origanum onites* L., *Origanum vulgare* L. ssp. *Hirtum*, *O. x minoanum* Davis ve *O. x intercedens* Rech. örnekleri

araştırılmış ve 75 bileşik tespit edilmiştir. Miktarı en fazla olan bileşikler şunlardır: *p*-simen, timol, karvakrol ve γ -terpinen (Skoula ve ark., 1999).

İpek ve ark. (2005) tarafından *Origanum onites* L. uçucu yağının ve Karvakrol'ün genotoksik ve antijenotoksik etkileri üzerine yapılan araştırmada su buharı destilasyonuna tabi tutulan örnekler GC ve GC/MS ile analiz edilmiş olup analiz sonucu Çizelge 2.2'de verilmiştir. Azot'un taşıyıcı gaz olarak kullanıldığı GC analizinde, kolon, Thermon 600T FSC (50 m X 0.25 mm i.d.) kolondur. Fırın sıcaklık programlaması, 70 °C (10 dak.) – 2 °C /dak.- 180 °C (30 dak.) şeklinde yapılmış olup split oranı 60:1 ve enjeksiyon sıcaklığı 250 °C'dir.

Çizelge 2.2: Buhar Destilasyonu ile elde edilen *O. onites* L. uçucu yağının GC analiz sonuçları. (RRI: Bağlı alıkonma indisi - Polar bir kolonda ölçülmüştür.) (İpek ve ark., 2005).

Compound	RRI	%
Carvacrol	2239	74.0
Linalool	1553	7.2
Thymol	2198	4.4
<i>p</i> -Cymene	1280	3.0
β -Bisabolene	1741	1.4
Caryophyllene oxide	2008	1.3

Kekik suyundaki çözülmüş materyallerin izolasyonu için yapılan bir araştırmada, temin edilen *Origanum onites* L. örneklerinden su buharı destilasyonu ile kekik suyu elde edilmiştir. 5 farklı çözücü (etil asetat, dietileter, diklormetan, n-hegzan ve kloroform) kullanılarak sıvı – sıvı ekstraksiyonla elde edilen ekstraktlar GC/MS ile analiz edilmiştir. Tespit edilen temel bileşenler şunlardır: Karvakrol (%28–34), Timol (%12–14), γ -terpinen (8–10), Linalool (%7–10), *cis*-sabinen hidrat (%5–9), *p* – simen (%4–5) (Boydağ ve ark., 2003).

Azcan ve ark. (2000) tarafından hazırlanan bir çalışmada Muğla yöresinden elde edilen *Origanum onites* L.'deki lipidler ve uçucu yağ araştırılmıştır. Lipidlerdeki yağ asidi kompozisyonu; hidrokarbonların, sterollerin ve uçucu yağın bileşenleri GC/MS ile tespit edilmiştir. Temel hidrokarbon bileşiği olarak nonakozan, temel sterol bileşiği olarak β -sitosterol, temel pigment olarak klorofil – a ve klorofil – b bulunmuştur. Uçucu yağ bileşimi ile ilgili olarak yapılan analizde 54 bileşik bulunmuş olup baskın olanı % 71.20 oranla Karvakrol'dür. Yapılan çalışmadaki uçucu yağ bileşenleri Çizelge 2.3'te görülmektedir. Uçucu yağ Clevenger aparatı kullanılarak su buharı destilasyonu ile elde edilmiştir.

Özel ve Kaymaz (2004) tarafından, Aşırı Isıtılmış Su ile Ekstraksiyon (Superheated Water Extraction - SWE), Su Buharı Destilasyonu ve Soxhlet Ekstraksiyonu (Hegzan) kullanılarak *Origanum onites* uçucu yağının eldesi üzerine yapılan bir araştırmada, tarımı yapılan ve doğadan elde edilen iki örnekte uçucu yağ kompozisyonu ve miktarları karşılaştırılmıştır. Her iki örnekteki uçucu yağ kompozisyonu genel olarak aynı bulunmakla birlikte tarımı yapılan örnekte daha fazla uçucu yağ elde edilmiştir. Karvakrol (%68.21 – 80.17) iki örnekte de miktarı en fazla olan bileşendir. Doğadan elde edilen örnekte Borneol, Terpinen-4-ol, 2-karen-10-al, linalool, (Z)- α -terpineol, timol and o-simen temel bileşenler olarak tespit edilmiş olup ekimi yapılan örnekte ise linalool ve o-simen'in çok düşük miktarlarda olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 2.3: *Origanum onites* uçucu yağının bileşimi (Azcan ve ark., 2000).

Component	Content, %	Component	Content, %
α -Pinene	0.11	<i>trans</i> -Pinocarveol	0.07
α -Thujene	0.03	α -Humulene	0.06
Camphene	0.05	α -Terpineol	0.32
β -Pinene	0.11	Borneol	1.69
δ -3-Carene	0.02	Carvenone	0.28
Myrcene	0.58	β -Bisabolene	0.70
α -Terpinene	0.55	Piperitone oxide I (<i>cis</i> -piperitone oxide)	0.31
Limonene	0.15	Carvone	0.30
1,8-Cineol	0.13	δ -Cadinene	0.06
β -Phellandrene	0.10	Mirtenol	0.06
γ -Terpinene	2.20	<i>trans</i> -Carveol	0.07
<i>p</i> -Cymene	4.18	<i>p</i> -Cymen-8-ol	0.19
Terpinolene	0.12	4-Isopropylsalicylaldehyde	0.23
3-Octanol	0.06	Piperitenone	0.83
α , <i>p</i> -Dimethylstyrene	0.03	Caryophyllene oxide	0.77
1-Octen-3-ol	0.37	Salvial-4(14)-en-1-one	0.04
<i>trans</i> -Sabinene hydrate	0.14	Globulol	0.03
α -Campholene aldehyde	0.04	Cuminic alcohol	0.10
Camphor	0.02	Spatulenol	0.47
Linalool	1.74	<i>cis-p</i> -Mentha-4-en-1,2-diol	0.23
<i>cis</i> -Sabinene hydrate	0.14	Isotymol (2-isopropyl-4-methylphenol)	0.08
<i>trans-p</i> -Menth-3-en-1-ol	0.10	Eugenol	0.06
Terpinen-4-ol	1.57	Thymol	5.97
β -Caryophyllene	0.85	Isocarvacrol (4-isopropyl-2-methylphenol)	0.06
<i>cis</i> -Dihydrocarvone	0.04	Carvacrol	71.22
Aromadendrene	0.09	Caryophylladienol II [caryophylla-2(12),6(13)-dien-5- α -ol]	0.06
<i>cis-p</i> -Menth-2-en-1-ol	0.07	Caryophyllenol II [caryophylla-2(12),6-dien-5- β -ol]	0.15

Origanum onites ve *origanum vulgare* subsp. *Hirtum* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının farmakognozik incelemeye tabi tutulduğu bir çalışmada, bitkilerden uçucu yağın eldesi Clevenger aparatı kullanılarak hidrodistilasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Araştırmada *O. onites* örnekleri Türkiye’de 6 ilden (Isparta, Burdur, Antalya, İzmir, Manisa, Muğla, Aydın) temin edilmiş olup uçucu yağ verimi % 3.2.-5.4; karvakrol %56–80 bulunmuştur. *O. onites* uçucu yağ bileşimi ile ilgili ayrıntılı bilgi Çizelge 2.4’te verilmiştir (Oflaz ve ark., 2002).

Çizelge 2.4: *O. onites* uçucu yağ ana bileşikleri ve % verim (Oflaz ve ark., 2002)

	verim	karvakrol	Timol	terpinen	p-simen	linalool
<i>O. onites</i>						
Isparta:Çandır	2.8	0.9	0.5	0.1	0.1	90.3
Burdur:İncirhanı	2	22.2	0.7	1.1	1.1	61,1
Ödemiş:Konaklı	5.4	74.4	0.5	4.1	4.1	0.2
Antalya: Bademağacı (kültür)	4.2	80.7	0.8	3.5	3.5	0.2
İzmir:Karakızlar	3.4	73.8	3.2	3.9	3.9	0.2
Manisa:Akhisar*	3.2	56.5	21.0	4.8	4.8	0.7
Muğla:Fethiye*	3.2	67.0	3.7	4.5	4.5	4.0
Aydın:Çine*	3.3	74.1	3.9	3.5	3.5	0.5

Origanum vulgare L. ssp. *Hirtum*’daki glikozit bağlı uçucu bileşenlerin kimyasal yapısı ve antioksidan etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, 14 uçucu aglikon tespit edilmiş olup en fazla bulunanın timokinon olduğu; sonra sırasıyla benzil alkol, öjenol, 2-fenil-etanol, timol, 3-hegzan-1-ol ve karvakrol geldiği tespit edilmiştir (Milos ve ark., 2000).

Etil alkol ve Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu (SC-CO₂) ile elde edilen *Origanum majorana* L. ekstraktlarının uçucu yağ bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan bir çalışmada GC ve GC/MS kullanılarak değerlendirme yapılmıştır. Her iki yöntemde de uçucu yağdaki temel bileşenin terpinen-4-ol olduğu tespit edilmiştir. Bulunan diğer karakteristik bileşikler ise şunlardır: γ -terpinen, linalool, α -terpineol, α -terpinolen, α -terpinen, β -karyofilen ve spathulenol. Karvakrol ve timol miktarları çok düşük düzeydedir (Vagi ve ark., 2005).

Clevenger tipi bir aparat kullanılarak hidrodestilasyona tabi tutulan *Origanum majorana* L. örneklerinin GC/MS analizinin yapıldığı bir başka çalışmada 45 bileşik tespit edilmiş olup en yüksek miktarlarda bulunanlar; terpinen-4-ol (% 38.40), cis-sabinen hidrat (% 15.00), p-simen (% 7.00) ve γ -terpinen (% 6.90)'dir (Vera ve Chane-Ming, 1999).

Litvanya'da yetişen *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare*'deki uçucu yağın bileşimi üzerine yapılan bir çalışmada, 10 farklı yerden elde edilen örnekler hidrodestilasyonla ekstrakte edilmiş ve GC, GC/MS ile analize tabi tutulmuştur. Tespit edilen temel bileşenler; β -osimen (%14,9 – 21,6), β -karyofilen (%10,8 – 15,4), Germakren D (% 10,8 – 15,4), Sabinen (%6,4 – 14,2)'dir (Mockute ve ark., 2001).

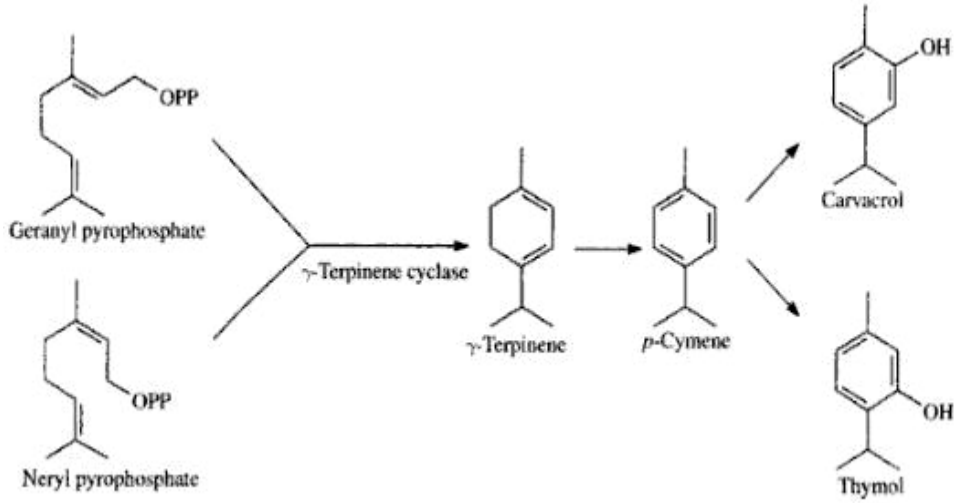
Origanum minutiflorum, *Origanum onites*, *Thymbra spicata* ve *Satureja cuneifolia* örneklerinin kimyasal bileşimi ve antibakteriyal özelliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada, GC analizi sonucunda en fazla bulunan bileşiğin Karvakrol olduğu tespit edilmiştir (%86,9 *O. onites*, %84,6 *O. minutiflorum*, %75,5 *T. spicata* ve %53,3 *S. cuneifolia*) (Baydar ve Ark., 2004). Hidrodestilasyon (HD) ve çözücüsüz mikrodalga ekstraksiyonu (SFME) ile *Origanum glandulosum* Desf. uçucu yağının elde edildiği bir başka çalışmada elde edilen ekstraktlar

kapiler GC ve GC/MS ile incelenmiş olup her iki ekstraksiyon yönteminde de temel bileşenler timol (%41.6 (HD) - %81.1 (SFME)), γ -terpinen (27.0 – 3.1%), *p*-simen (17.1–4.0%) ve karvakrol (2.2–4.4%) olarak tespit edilmiştir (Bendahou ve ark., 2008).

Yapılan çalışmalarda kekik uçucu yağının bileşiminin ve kompozisyonunun, türe bağlı olduğu kadar, bitkinin hasat edildiği bölge ve bölgenin coğrafik özellikleri, hasat koşulları ve uçucu yağ eldesi için kullanılan yöntemlere de bağlı olduğu anlaşılmaktadır.

2.1.3. Aromatik Terpenlerin Biyosentezi

Bitkilerdeki uçucu terpenoidler genellikle alifatik karakterdedirler. Karvakrol, Timol, *p*-simen, *p*-simen-8-ol, Küminalkol, Kalamenen, Ksantorhizol gibi bileşikler istisna oluşturmaktadır. Siklohegzan zincirinin aromatisasyonuna sebep olan süreçler her zaman büyük ilgi uyandırmıştır. *T. Vulgaris* uçucu yağı baskın bileşikler olarak Karvakrol, Timol ve *p*-simen bileşiklerini içerdiğinden, aromatik monoterpenlerin biyogenetik proseslerini değerlendirmede temel alınmıştır. 1964 yılında Granger ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, γ -terpinen'in enzimatik olmayan aromatisasyonu ile oluşan ilk aromatik ürünün *p*-simen olduğu ispatlanmıştır. Daha sonra *p*-simen'in hidroksilasyonu ile timol biyosentezinin gerçekleştiği tespit edilmiştir. Böylece *p*-simen'in, oksijene bileşiklerin temel öncüsü (precursor) olduğu belirlenmiştir. Timol ve Karvakrol biyosentezi Şekil – 2.2'de gösterilmektedir (Stahl-Biskup, 2002).



Şekil 2.3: Karvakrol ve Timol Biyosentezi (Stahl-Biskup, 2002).

2.2. Kekik Uçucu Yağının Biyolojik Aktiviteleri

Kekik uçucu yağının biyolojik aktiviteleri üzerine birçok araştırma mevcuttur. Bu araştırmalarda bileşen kompozisyonuna bağlı olarak etki değişmekle birlikte, kekik uçucu yağının **antibakteriyal** (Dimitrijevic ve ark., 2007; Bendahou ve ark., 2007; Oussalah ve ark., 2006; Hersch-Martinez ve ark., 2005; Chun ve ark., 2005; Vagi ve ark., 2005; Moreira ve ark., 2005; Baydar ve ark., 2004; Şahin ve ark., 2004; Eşiyok ve ark., 2004; Duke, 2003; Sağdıç ve Özcan, 2003; Sağdıç, 2003; Kintzios, 2002; Stahl-Biskup, 2002; Rose, 1999; Reineccius, 1994), **antifungal** (Bendahou ve ark., 2007; Souza, 2007; Vagi ve ark., 2005; Şahin ve ark., 2004; Eşiyok ve ark., 2004; Duke, 2003; Kintzios, 2002; Stahl-Biskup, 2002; Rose, 1999; Reineccius, 1994), **antioksidan** (Kouri ve ark., 2007; Nakiboğlu ve ark., 2007; Proestos ve ark., 2006; Skerget ve ark., 2005; Capecka ve ark., 2005; Şahin ve ark., 2004; Kulisic ve ark., 2004; Duke, 2003; Stahl-Biskup, 2002; Kintzios, 2002; Şengün, 2001; Milos ve ark., 2000; Rose, 1999; Reineccius, 1994), **insektisidal** (Çalmaşur ve ark.,

2006; Pavela, 2005; Pavela, 2004; Traboulsi ve ark., 2002; Isman ve ark., 2001; Regnault-Roger ve Hamraoui, 1994; Konstantopoulou ve ark., 1992), **antihiperlipidemik** (Tahraoi ve ark., 2007; Soumyanath, 2006; Lemhadri ve ark., 2004; Bnouham ve ark., 2002), **antispazmik** (Şahin ve ark., 2004; Gönüz ve Özörgücü, 1999; Aydın ve ark., 1996; Van Den Broucke ve Lemli, 1982) özellikler gösterdiği tespit edilmiştir.

2.3. Uçucu Yağ Ekstraksiyon Yöntemleri

Günümüzde gelişen teknolojinin bir sonucu olarak, işlenmiş gıdalara olan eğilimin artması; gıdanın kimyasal ve besleyici özelliklerini, aromasını, tekstürünü, rengini ve diğer özelliklerini doğala en yakın şekilde muhafaza ederek tüketiciye sunulmasını gerekli kılmıştır. Bu yüzden gıda işlemede kullanılan temel işlemler arasında, ayırma teknikleri özel bir önem kazanmıştır (Hışıl ve Ünlü, 1996).

Bitkisel doğal ürünler göz önüne alındığında, materyali ekstraksiyon öncesi bir takım hazırlık basamaklarından geçirmek gerekmektedir. Bunlar; bitkinin seçimi, toplanması, tanımlanması, kurutma ve öğütme gibi basamaklardır (Sarker ve ark., 2006). Kuru materyaller genellikle ekstraksiyon öncesi toz haline getirilirken, yaprak vb. organları kullanılan taze bitkiler alkol gibi bir çözücüyle maserasyona tabi tutulur ya da homojenize edilir (Wijesekera, 1991).

Esansiyel yağlar, gıda sanayinde özellikle baharat ekstraktı olarak, örneğin turuncgil meyve kabuğu ekstraktı olarak kullanılmaktadır. Esansiyel yağların ayırımında farklı ekstraksiyon metotları kullanılır; destilasyon ve çözgen ekstraksiyonu yaygın kullanılan tekniklerden olup mikrodalga ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu ise yeni geliştirilmiş tekniklerdendir (Polat ve ark., 1997).

2.3.1. Destilasyon

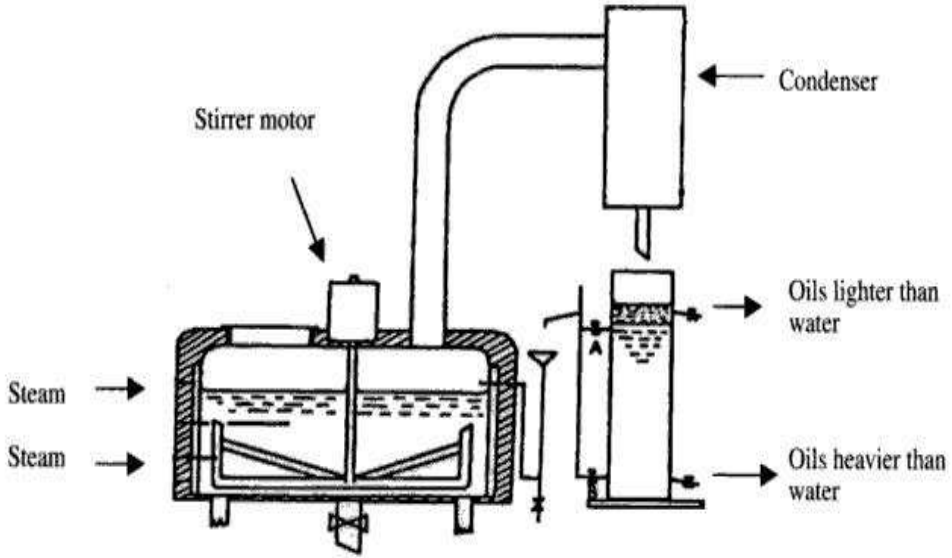
İki veya daha fazla sıvı bileşeni, kaynama noktası veya uçuculuk farkına dayanarak bir karışım içerisinde ayırma işlemine destilasyon denir. Uçuculukları arasında büyük fark bulunan bileşenleri, bir karışımın içerisinde destilasyonla ayırmak daha kolaydır (Mujtaba, 2004). Bir başka tanımlama ile destilasyonun amacı, uçucu bir sıvıyı, çoğu zaman da farklı uçuculuktaki sıvıları, uçucu olmayan bir madde içerisinde ayırmaktır (Young, 2003).

Özellikle baharatlardan uçucu yağ eldesinde kullanılan modern destilasyon teknikleri 3 başlık altında incelenebilir:

1. Su Destilasyonu
2. Su ve Buhar Destilasyonu
3. Buhar Destilasyonu

2.3.1.1. Su Destilasyonu

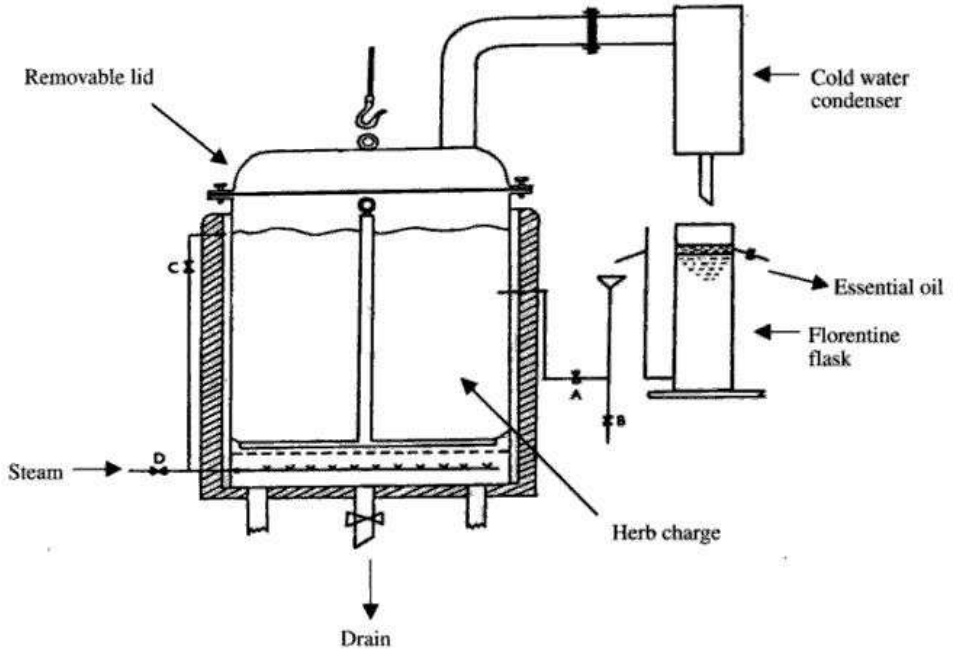
Bu teknikte, bitkisel materyal, dibinde düşük hızla dönen bir karıştırıcı bulunan imbik içerisinde beslenir ve imbik suyla doldurularak ısıtılır. Destilasyon, uçucu yağın hepsi alınana kadar devam eder. Bazı uygulamalarda, yoğunlaşmış su tekrar imbiğe beslenebilmektedir. Baharatlardan su destilasyonu ile uçucu yağ eldesi, Şekil 2.3'te gösterilmektedir.



Şekil 2.4: Baharatlardan su destilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi (Reineccius, 2005).

2.3.1.2. Su ve Buhar Destilasyonu

İmbik içerisinde bulunan bir ızgara üzerine yerleştirilen bitkisel materyal, imbiğin altında bulunan suyun ısıtılması yoluyla buhara maruz kalır. Su – buhar destilasyonu ile uçucu yağ eldesi, Şekil 2.5'te gösterilmektedir (Reineccius, 2005). Yöntemin diğer bir tipinde, su ve baharat karışımından buhar geçirilir. Esansiyel yağın destilasyon hızı, hammaddeye ve hammaddeden yağın serbest hale geçiş hızına bağlıdır (Polat ve Ötleş, 1997).



Şekil 2.5: Su – buhar destilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi (Reineccius, 2005).

2.3.1.3. Buhar Destilasyonu

Su destilasyonunda karşılaşılabilecek riskler buhar destilasyonu uygulaması ile ortadan kaldırılabilir. Buhar destilasyonunda kullanılacak bitki delikli bir metal levhaya ya da destilasyon kazanı ile aynı çaptaki etrafı kapalı üstü açık bir sepete konularak başka yerde üretilmiş buhar alttan bitkisel materyale püskürtülerek destilasyon uygulanır. Böylelikle buhar, baharata iyice nüfuz eder (Reineccius, 2005; Polat ve Ötleş, 1997).

2.3.2. Çözgen Ekstraksiyonu

Destilasyon yöntemi ile birçok durumda kabul edilebilir bir saflık ve hoş bir aroma elde edilebilmesine rağmen bu metodun stabil olmayan veya yüksek buhar sıcaklığından zarar gören aromatik bileşiklere uygulanması verimi düşürür. Bu faktörler göz önüne alınarak koku bileşenlerinin çiçeklerden ayrılmasında çeşitli çözücüler kullanılır. Bu amaçla kullanılan çözücüler uçucu olan ve olmayan olmak üzere ikiye ayrılır. Enfloraj ve Maserasyon uçucu olmayan çözücülerle ekstraksiyon yöntemleridir (Polat ve Ötleş, 1997).

2.3.2.1. Maserasyon

Maserasyon, çiçeklerden uçucu yağ eldesi için kullanılan ilkel metotlardan biridir. 60 – 70 °C'deki erimiş hayvansal yağa veya bitkisel yağa batırılan çiçekler ısı etkisiyle parçalanarak aroma maddelerinin yağa geçmesi sağlanır. Yağ içinde kalan çiçek parçaları ortamdan uzaklaştırılarak üzerlerinde kalan yağ hidrolik basınç uygulamasıyla alınır ve aroma maddelerini içeren yağ katılır. Bu işlem, yağ iyice aroma maddeleriyle doyana kadar devam ettirilir. Maserasyon, oldukça fazla zaman alan verimsiz bir işlemdir (Mukhopadhyay, 2000).

2.3.2.2. Enfloraj

Çiçeklere ve diğer aromatik bitkisel ürünlere uygulanan bir diğer ilkel metot olan Enfloraj, örneklerin soğuk hayvansal yağa temas ettirilmesiyle gerçekleştirilir (Mukhopadhyay, 2000). Tahta çerçevelerle desteklenmiş cam plakaların yüzeyine sürülen yağ ile temas eden çiçek, bu plakalar arasında sıkıştırılarak aroma maddelerinin yağ tarafından absorbe edilmesi sağlanır. Esansiyel yağın enfloraj yağından

ekstraksiyonunda ise petrol eteri kullanılır (Polat ve Ötleş, 1997). Enfloraj yöntemi de Maserasyon gibi zaman alan bir işlemdir (Mukhopadhyay, 2000).

2.3.2.3. Uçucu Organik Çözgen ile Ekstraksiyon

Uçucu çözgenlerle ekstraksiyon ilk olarak 1835'te Robiguet tarafından denenmiştir, fakat kimyacılar tarafından bilinmesi, 1856 yılında Million'un kloroform, benzen, karbondisülfid, metil ve etil alkoller kullanarak yaptığı ekstraksiyonlarla olmuştur. 1879'da ilk patent alınmış ve 1890'da ise ticari uygulama alanı bulmuştur (Polat ve Ötleş, 1997).

Çözgen Ekstraksiyonu, çiçek, yaprak, tohum, kök ve diğer bitki dokularından hegzan, petrol eteri, toluen, etanol, izopropanol, etil asetat, aseton, su, vb. organik çözücü kullanılarak toplam ekstrakt ve daha sonra uçucu yağ elde edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Toplam ekstraktan uçucu yağı ayırmada, 30 – 40 °C'de alkol kullanılır. Daha sonra 5 – 10 °C'ye soğutulan sistemde, çöken vakslar alınarak uçucu yağ ve alkol karışımından vakum altında alkol uzaklaştırılır (Mukhopadhyay, 2000).

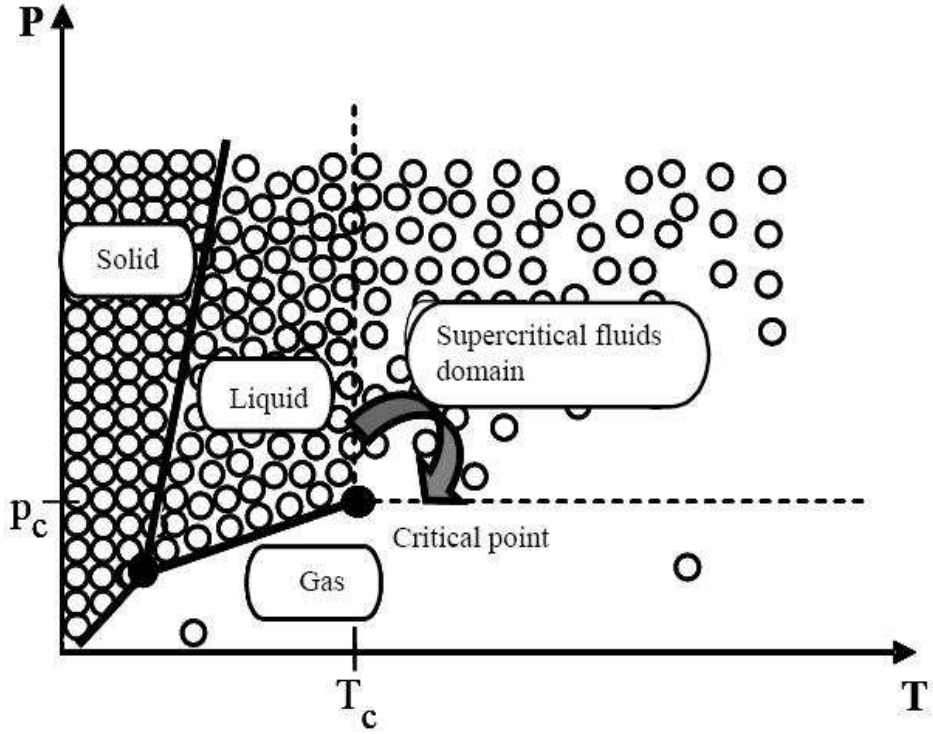
2.3.3. Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu

Birçok kimyasal atığın neden olduğu çevresel kirlenme, “yeşil kimya” diye bir kavramın doğmasına yol açmıştır. Kimyacılar artık kimyasal ve çözücü kullanımında çok daha dikkatli davranmaya ve çevre dostu çözümler geliştirmeye başlamışlardır. Değişik kaynaklardan doğal ürünlerin ekstraksiyonu ve izolasyonunda yüksek miktarlarda atık organik çözücü oluşmaktadır. Bu nedenle Süperkritik Akışkan

Ekstraksiyonu (SFE), doğal ürünlerin ekstraksiyonunda bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır (Sarker ve ark., 2006).

1822 yılında Cagniard de la Tour'un, değişik sıvıları kapalı bir kaptaki ısıtarak sıvı fazın kaybolduğu gözlemi açıklaması süperkritik alanında yayınlanan ilk çalışma kabul edilmektedir (Aymonier ve ark., 2007). Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun ilk olarak 1930'lu yıllarda petrokimya alanında kullanılmaya başlandığı ve çeşitli patentler alındığı bilinmektedir. Gıda üzerindeki çalışmalar ise 1970'li yıllarda başlamış ve özellikle şerbetçiotu, kahve, çay, tütün ve baharatlar gibi pek çok ürünün süperkritik akışkanlarla ekstraksiyonunu içeren birçok patent alınmıştır. Süperkritik akışkanlar, endüstriyel ölçekte olduğu kadar, analitik ölçekteki örnek ekstraksiyonlarında da giderek artan bir ilgiye sahiptir. Hava ve su gibi çevresel matrislerden poliaromatik hidrokarbonlar (PAH) ve poliklorlanmış bifeniller (PCB) gibi maddelerin ayırımından, gıda ürünlerine kadar değişen pek çok örnekte, genellikle 30 dakikadan daha kısa bir süre içinde ve kantitatif geri kazanımla ekstraksiyon gerçekleştirilebilmektedir (Hışıl ve Ünlü, 1996).

Sıcaklık ve basınç değerleri, kritik sıcaklık (T_c) ve kritik basınç (P_c) değerlerinin üzerinde olan akışkana "süperkritik akışkan" denilmektedir. Şekil 2.5'te, saf bir akışkanın faz diyagramı görülmektedir. Şekil 2.5'te görülen en önemli durum, süperkritik bölge içerisinde, gaz ile sıvı arasında faz sınırı olmamasıdır. Bunun anlamı, gaz ve sıvı haller arasında akışkanın fiziksel özelliklerinde bir devamlılığın söz konusu olmasıdır. Sonuç olarak, süperkritik akışkanlar, gazların ve sıvıların bir arada buldukları "hibritler"dir ve küçük basınç ya da sıcaklık değişimiyle iki fazdan birine dönüşebilirler. Böylece, viskoziteleri ve diffüzyon hızları gaz ve sıvı fazlarına çok benzerken, yoğunlukları sıvılarınki gibidir (Aymonier ve ark., 2007).



Şekil 2.6 : Saf bir akışkanın faz diyagramı (Aymonier ve ark., 2007).

Süperkritik bir akışkanla ekstraksiyon; seçilen akışkanın, kritik basınç ve sıcaklık değerinin üzerinde organik bir çözücü olarak kullanılmasıdır. Süperkritik hal olarak adlandırılan bu bölgede, akışkanın fizikokimyasal özellikleri değişerek, sıvı ve gaz arası farklı özellikler gösterir. Bu yüzden süperkritik koşullardaki madde, sıvı veya gazdan ziyade “akışkan” olarak adlandırılır (Ünlü ve Hışıl, 1997). Çizelge 2.5’te, gaz, sıvı ve süperkritik akışkanın fiziksel özellikleri gösterilmektedir.

Çizelge 2.5: Gazların, sıvıların ve Süperkritik akışkanların fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması (Sarker ve ark., 2006).

Özellik	Yoğunluk(kg/m ³)	Viskozite (cP)	Diffüzyon(mm ² /s)
GAZ	1	0.01	0.1 - 10
SCF	100 - 800	0.05 - 0.1	0.01 - 0.1
SIVI	1000	0.5 - 1.0	0.001

Birçok olası süperkritik çözücü arasında en fazla tercih edilenin CO₂ olmasının nedenleri ucuz olması, toksik olmaması, yanıcı olmaması ve doğada çok miktarda yüksek saflıkta bulunabilmesidir. Yüksek geri kazanım potansiyeli ve ekstrakt seçicilik özelliğinin geniş olması da artıları arasındadır (Mukhopadhyay, 2000).

Ekstraksiyon işleminde CO₂ kullanımının getirdiği avantajları şu şekilde sıralamak mümkündür:

— Düşük molekül ağırlıklı hidrokarbon ve oksijenli organik bileşiklerle kolay karışabildiği için iyi bir çözücüdür.

—Sudaki çözünürlüğü düşük olduğu için, sulu çözeltilerden organik maddelerin kolaylıkla ekstrakte edilmesi mümkündür.

—Diğer organik çözücülerle karşılaştırıldığında uçuculuğu yüksektir. Bu nedenle ürünün geri alımı ve CO₂' in sisteme yeniden çevrilmesi kolaydır.

—Viskozitesi düşüktür.

—Difüzyon katsayısı yüksek olduğundan katı matrislere kolayca nüfuz eder.

—Isıl iletim özellikleri çok iyidir.

— 31.06 °C ve 72.83 atm olan kritik sıcaklık ve basınç değerlerine kolaylıkla ulaşılabilir.

— Buharlaştırma ısısı küçük olduğundan, özellikle kritik noktaya yakın bölgede düşük enerjiye ihtiyaç duyar.

—Toksik değildir.

—Çevre açısından herhangi bir problem oluşturmaz.

—Yanıcı değildir.

—Korrozif özellik göstermez.

—Maliyeti düşüktür.

—Kolaylıkla ve saf halde eldesi mümkündür (Ünlü ve Hışıl, 1997).

Doğal ürün ekstraktlarındaki belirgin koku esansiyel yağlardan kaynaklanmaktadır ve esansiyel yağların bileşiminde, monoterpen, seskiterpen ve aromatik bileşikler gibi ısıya duyarlı maddeler vardır. Geçtiğimiz on yıl zarfında doğal esansiyel yağ ekstraksiyonu için kullanılan öncelikli metot, ısıya duyarlı bileşik kaybını en aza indiren Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu olmuştur. Özellikle gıda, eczacılık ve kozmetik sektörlerinde uçucu yağ bileşenlerinin ekstraksiyonu için son yıllarda süperkritik akışkan tercih edilmesinin en önemli nedenleri çevre dostu ve ucuz olmalarıdır (Sarker ve ark., 2006).

2.3.3.1. SC-CO₂ Ekstraksiyonu ile İlgili Son Yıllarda Yayınlanmış Bazı Çalışmalar

Park ve ark. (2007a) tarafından yapılan bir araştırmada yeşil çaydan kafeinin uzaklaştırılması üzerinde çalışılmıştır. Ekstraksiyonla, kafein ile birlikte kateşinlerin de alındığı ve ekstraksiyon veriminin, sabit basınçta sıcaklık artışıyla ve sabit sıcaklıkta ise basınç artışıyla arttığı rapor edilmiştir. Park ve ark. (2007b) tarafından yeşil çaydan kafeinin uzaklaştırılmasında yardımcı çözügenlerin etkisinin araştırıldığı diğer bir çalışmada ise, etanol veya suyun yardımcı çözügen olarak kullanılması ile kateşin kaybının bir ölçüde azaldığı rapor edilmiştir.

Zaidul ve ark. (2007a) tarafından gerçekteştirilen bir araştırmada, kabuğu alınmış palm çekirdeğinden SC-CO₂ Ekstraksiyonu ile palm yağı elde etmek üzerinde çalışılmıştır. 313.2 K ve 353.2 K sıcaklık değerlerinde 20.7 – 48.3 MPa basınç aralığında yürütölen ekstraksiyon işleminde, en fazla yağ verimi (48.9 g yağ / 100 g palm çekirdeği) 48.3 MPa basınç ve 353.2 K sıcaklık değerlerinde elde edilmiştir. Zaidul ve ark. (2007b) tarafından yayınlanan diğer bir araştırmada ise; basınç değişimi tekniği (pressure swing technique) kullanılarak palm çekirdeğinden palm yağı elde edilmesi üzerinde çalışılmıştır. SC-CO₂ Ekstraksiyonu, 353.2 K sıcaklık ve 10 – 25 MPa basınç aralığında uygulanmış ve sonuçlar kesiksiz ekstraksiyon ile karşılaştırılmıştır. Kinetik kütle transfer modeline dayalı basit bir korelasyon geliştirilmiş olup istenilen yağ verimine bağlı olarak gerekli minimum CO₂ miktarı tahminlenmiştir. Sonuç olarak elde edilen ekstraktların, özellikle kakao yağı yerine sanayide kullanılması durumunda olumlu sonuçlar alınabileceği belirtilmiştir.

Machmudah ve ark. (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, kuşburnu tohumunun SC-CO₂ ile ekstraksiyonu gerçekleştirilerek değişik işlem koşullarının optimizasyonu yapılmıştır. Ayrıca değişen ekstraksiyon koşullarının yağ asidi kompozisyonuna etkisi gözlemlenmiştir.

Sovova ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, Çin Limonu'nun (*Schisandra chinensis*) dal ve yapraklarından 20 – 27 MPa basınç ve 40, 50 ve 60 °C sıcaklıkta lignan ve sinamik asit ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Optimum işlem parametreleri 27 MPa basınç ve 50 °C sıcaklık olarak tespit edilmiş olup CO₂'e % 2 – 4 etanol ilave edilmesinin ekstraksiyon hızını arttırdığı fakat son lignan verimi üzerinde etkisi olmadığı saptanmıştır.

Kırmızı biber oleoresinlerinin SC-CO₂ ile ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bir araştırmada, 40 °C sıcaklık, 0.273 – 3.90 mm partikül büyüklüğü, 0.57 – 1.25 mm/s akış hızı ve 320 – 540 bar basınç değerlerinde çalışılmıştır. Basınç arttığında oleoresin ve karotenoid pigmentlerinin veriminin de arttığı tespit edilmiştir (Uquiche ve ark., 2004). Biber yağı elde etmek amacıyla Zhiyi ve ark. (2006) tarafından yapılan laboratuvar ölçekli bir süperkritik akışkan ekstraksiyonunda, ekstraksiyon parametrelerinin optimizasyonu üzerinde çalışılmış olup kütlelerin korunumu prensibine dayalı olarak nümerik benzetim modeli geliştirilmiştir. Simülasyon sonuçlarının deneysel verilerle doğrulandığı tespit edilmiştir.

Arlorio ve ark. (2005) tarafından *Theobroma cacao* (kakao ağacı) kabuğundaki fenolik pigmentlerin antioksidan özelliklerinin ve biyolojik aktivitelerinin tespit edilmesi amacıyla SC-CO₂ kullanılmıştır.

Çalışmada, kakao kabuğundan biyoaktif fraksiyonların izolasyonunda süperkritik CO₂ ekstraksiyonu kullanılması önerilmektedir.

Karanfil tomurcuklarından farklı ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen uçucu yağların karşılaştırılması üzerine yapılan bir çalışmada, uçucu yağ kompozisyonu farklı yöntemlerde ağırlıklı olarak aynı bulunurken, bileşimdeki 23 bileşiğin konsantrasyonlarının farklı olduğu tespit edilmiştir. SC-CO₂ Ekstraksiyonu, Hidrodestilasyon, Buhar Destilasyonu ve Soxhlet Ekstraksiyonu yöntemleri kullanılarak elde edilen ekstraktlar GC/MS'de analize tabi tutulmuştur. SC-CO₂ Ekstraksiyonu uygulamasında değişken işlem parametrelerinin (sıcaklık, basınç, parçacık büyüklüğü) ekstraksiyon verimi üzerine etkisi incelenmiş olup sıcaklığın Öjenol miktarında en fazla etkiye sahip olduğu, parçacık büyüklüğünün ise ekstraksiyon verimi üzerinde önemli etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Uygulanan 4 farklı yöntem içerisinde, SC-CO₂ Ekstraksiyonu'nun yüksek kalitede karanfil yağı elde edilmesinde en uygun işlem olduğu belirtilmiştir (Guan ve ark., 2007).

Adaçayı (*Salvia officinalis*), fesleğen (*Ocimum basilicum*), kekik (*Origanum vulgare*) ve yaban kerevizinin (aşk otu) (*Levisticum officinale*) SC-CO₂ ile ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada, basıncın ve yardımcı çözügen olarak kullanılan etanolün elde edilen ekstrakt verimi ve bileşen kalitesi üzerine etkisi araştırılmıştır. 45 °C sıcaklık, 17.20 – 25.50 MPa basınç, 1 mL/dak. CO₂ akış hızı işlem parametrelerinde gerçekleştirilen SC-CO₂ Ekstraksiyonu için 1 saat ekstraksiyon süresi uygun görülmüştür. Ekstraksiyon basınç değerinin çok önemli bir parametre olduğu belirtilmekle birlikte, aynı ekstraksiyon süresinde basınç artışının ya da yardımcı çözügen ilavesinin ekstrakt verimine her zaman pozitif bir etkisinin olmadığı belirtilmektedir. GC bileşen analizlerinde; adaçayındaki temel bileşenlerin α - thujon ve β -

pinen, kekikteki temel bileşenlerin karvakrol ve timol, yaban kerevizindeki temel bileşenlerin α - terpinil asetat ve β - fellandren, fesleğendeki temel bileşenin ise linalool olduğu tespit edilmiştir (Menaker ve ark., 2004).

Liu ve ark. (2005) tarafından tokoferollerin ve yağ asidi metil esterlerinin SC-CO₂'teki çözünürlüğü üzerinde yapılan araştırmada, farklı basınç ve sıcaklık aralıkları kullanılarak tokoferoller ve yağ asidi metil esterleri arasındaki ayırma faktörü hesaplanmıştır. Tek kolonlu ekstraksiyon, iki kolonlu ekstraksiyon ve ekstraksiyon ve fraksiyonlaştırma gibi 3 yöntemin denendiği çalışmada, iki kolonlu ekstraksiyon ile elde edilen ekstraktta tokoferol saflığının daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda iki kolonlu ekstraksiyon ile elde edilen ekstrakttaki tokoferol viskozitesi en düşük bulunmuştur.

İnek beyninden kolesterol ekstraksiyonu ile ilgili yapılan bir çalışmada, değişik işlem parametreleri uygulanarak Fick Difüzyon Denklemi yardımıyla deneysel verilerin modellenmesi yapılmıştır. Laboratuar çalışmalarında, geleneksel yöntemlere göre SC-CO₂ Ekstraksiyonu'nda daha fazla kolesterol ekstrakte edildiği tespit edilmiştir (Vedaraman ve ark., 2005).

Araujo ve Sandi (2007), yeşil ve kavrulmuş kahve çekirdeklerinden kahve yağı ve diterpen ekstraksiyonu için SC-CO₂ Ekstraksiyonu (60 – 90 °C ve 235 – 380 bar) kullanmış olup sonuçları Soxhlet ekstraksiyonu ile karşılaştırmışlardır. Genel olarak, ekstrakte edilen yağ miktarı ile diterpen konsantrasyon seviyesi arasında ters korelasyon olduğunu gözlemlemişlerdir. HPLC analizinde, 70 °C/253 bar'da yeşil kahveden elde edilen SC-CO₂ ekstraktındaki kafestol ve kahveol miktarının en yüksek konsantrasyonda olduğunu tespit etmişlerdir.

Peterson ve ark. (2005), sardunyadan uçucu yağ elde etmek amacıyla SC-CO₂ Ekstraksiyonu kullanmışlardır ve ekstraksiyon verimini, sıcaklık, basınç ve CO₂ akış hızının bir fonksiyonu olarak ölçmüşlerdir. Düşük basınç (10 MPa) ve yüksek sıcaklıkta (343 K), uçucu yağlar ile vaksların birlikte ekstrakte olduğu gözlenirken; yüksek basınç (30 MPa) ve düşük sıcaklıkta (313 K), uçucu yağ ile birlikte ekstrakte olan vaks miktarında azalma tespit edilmiştir. GC/MS analizi neticesinde, terpen hidrokarbonları, terpenoller, geraniol ve geranil esterleri kompozisyon yüzdelerinin ekstraksiyon süresi ve uygulanan basınçtan belirgin bir şekilde etkilendiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, SC-CO₂ Ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlar, buhar destilasyonu ile elde edilen ekstraktlarla da kıyaslanmış olup temel bileşenlerin kompozisyonlarında büyük farklar tespit edilmiştir.

Rezene tohumlarının SC-CO₂ ile ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bir çalışmada, sonuçlar Hidrodestilasyon ile elde edilen ekstraktlarla karşılaştırılmıştır. Ekstraktlardaki temel bileşenler, *trans* – anetol, metilkavikol ve fenkon olarak tespit edilmiştir. SC-CO₂ Ekstraksiyonu denemesinde, 80 – 150 bar basınç ve 40 – 57 °C sıcaklık değerleri arasında çalışılmış olup elde edilen ekstraktların bileşen kalitesi göz önüne alındığında rezene için en uygun SC-CO₂ Ekstraksiyonu parametrelerinin 100 bar basınç, 40 °C sıcaklık ve 120 dakika ekstraksiyon süresi olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, organoleptik testler sonucunda hidrodestilatların daha az belirgin bir aromaya sahip olduğu tespit edilmiştir (Damjanovic ve ark., 2005).

Sun ve Temelli (2006) tarafından havuçtan karotenoidlerin ekstraksiyonunda yardımcı çözücü olarak kanola yağı kullanılmış olup farklı partikül büyüklüğü ve nem içeriğindeki havuç örnekleri SC-CO₂ Ekstraksiyonu'nda farklı sıcaklık, basınç, CO₂ akış hızı ve kanola yağı

konsantrasyonu kullanılarak 4 saat ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Elde edilen ekstraktın HPLC ile analizinde α -Karoten, β -Karoten ve Lutein'in temel bileşenler olduğu tespit edilmiştir. Yardımcı çözügen olarak kanola yağı kullanıldığında, α -Karoten ve β -Karoten veriminin 2 kat, Lutein veriminin ise 4 kat daha fazla arttığı saptanmıştır. Sıcaklık ve basınç artışının Lutein dışında karotenoid verimine pozitif etkisi olduğu tespit edilmiş olup partikül büyüklüğünün artması karotenoid verimini düşürmüştür. En yüksek karotenoid verimine ulaşılan işlem parametreleri şöyledir: 70 °C sıcaklık, 55.1 MPa basınç, % 5 kanola yağı konsantrasyonu (g/g CO₂), 0.25–0.5 mm partikül büyüklüğü, % 0.8 besleme nem içeriği ve 2 L/dak. CO₂ akış hızı. Doğal maddelerden karotenoid elde etmek amacıyla kanola yağının yardımcı çözücü olarak kullanılmasının yeni ve etkili bir teknik olduğu belirtilmektedir.

Civanperçemi bitkisinin SC-CO₂ ile ekstraksiyonu ve sonuçların hidrodestilasyon ile karşılaştırılması üzerine yapılan bir araştırmada; SC-CO₂ Ekstraksiyonu'nda, 10 MPa basınç ve 40 – 60 °C sıcaklık değerleri kullanılmıştır. Toplam ekstraksiyon veriminin sıcaklık değişiminden etkilendiği, fakat örnek partikül büyüklüğünün ekstraksiyon verimine etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Civanperçemi çiçeği uçucu yağındaki temel bileşenlerin kamfor, 1,8 – sineol, bornil asetat, γ - terpinen ve terpinolen olduğu saptanmıştır. Hidrodestilasyon ile karşılaştırıldığında, SC-CO₂ Ekstraksiyonu'nda monoterpen asetatlar ve seskiterpenler gibi uçuculuğu daha az olan bileşiklerin ekstraksiyon veriminin daha yüksek olduğu, monoterpenlerin ise CO₂ içerisinde tam ayırma maruz kalmadığı için veriminin düştüğü belirtilmektedir. Ayrıca hidrodestilasyonda, γ - terpinen ve terpinolen'in hidrolize maruz kaldığı, fakat SC-CO₂ Ekstraksiyonu'nda 40 °C sıcaklıkta hidrolizin baskılandığı tespit edilmiştir (Bocevskva ve Sovova, 2007).

Bir siyanobakter olan *Arthrospira (Spirulina) maxima*'dan γ - linolenik asit ekstraksiyonu modellemesinin ve sonuçların organik çözügen ekstraksiyonu ile karşılaştırılmasının yapıldığı çalışmalarda, SC-CO₂ Ekstraksiyonu çalışma parametreleri olarak; 50 – 60 °C sıcaklık, 250 – 300 bar basınç, 12.8, 19.6 and 29.5 g CO₂/dak. akış hızları kullanılmıştır. Lipidlerin, özellikle de γ - linolenik asidin ekstraksiyon verimini arttırmak amacıyla dondurularak kurutulmuş biokütle, yardımcı çözügen olarak kullanılan etanol ile karıştırılmıştır. Biokütledeki etanol varlığının hem lipidlerin, hem de γ - linolenik asidin ekstraksiyon verimini arttırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, SC-CO₂ Ekstraksiyonu sırasında iç kütle transferine direncin göz önüne alındığı bir kontrollü akış modeli (plug flow model) uygulaması yapılmıştır (Mendes ve ark., 2005; Mendes ve ark., 2006).

Ayrıca; Gracia ve ark. (2007), şeker kamışından aroma maddelerinin izolasyonunda; Lucas ve ark. (2007) şeker kamışının işlenmesi ile oluşan bir yan ürün olan ham vakstan uzun zincirli alkol elde edilmesinde, Fiori (2007), üzüm çekirdeği yağı eldesinde; Yu ve ark. (2007), yağı alınmış soya hipokotillerinden izoflavonların ekstraksiyonunda; Perakis ve ark. (2005) karabiber tozundan yağ elde edilmesinde, Perretti ve ark. (2007), zeytinyağı üretiminin endüstriyel açılımı için gerçekleştirdikleri fizibilite çalışmasında; SC-CO₂ Ekstraksiyonu yöntemini kullanmışlardır. Nei Nei ve ark. (2007) tarafından alabalık unundan yağ asitlerinin SC-CO₂ ile ekstraksiyonun gerçekleştirildiği bir araştırmada ise, katı fazdaki yağ asidi konsantrasyon profilinin ekstraksiyon zamanıyla değişimini içeren matematiksel bir model üzerinde çalışılmıştır.

Bahar (2005) tarafından gerçekleştirilen doktora çalışmasında sumak lezzet bileşenlerinin belirlenmesi amacıyla SC-CO₂

Ekstraksiyonu'ndan faydalanılmıştır. Yapılan çalışmada, tespit edilen bileşenlerin et ürünlerinde kullanımlarının lezzet kalitesine etkisi araştırılmıştır. Ünlü (1999) tarafından gerçekleştirilen doktora çalışmasında ise, adaçayının SC-CO₂ Ekstraksiyonu üzerinde araştırmalar konu alınmıştır. Bileşenlerin tanımlanması ve kantitatif miktarlarının belirlenebilmesi için, GC ve GC/MS analizi kullanılmıştır. Ekstraksiyon işleminde ilk olarak, en uygun partikül büyüklüğü belirlenmiş daha sonra ekstrakt kompozisyonu ve verimi üzerinde etkili olan bazı ekstraksiyon parametrelerinin (sıcaklık, basınç ve kullanılan toplam CO₂ miktarı) etkileri araştırılmıştır. Optimum ekstrakt verimi % 2.258, optimum verim ve kompozisyonu sağlayan koşullar ise 33 °C, 3000 psi ve 550 litre CO₂ olarak belirlenmiştir. Ayrıca, yardımcı çözücü olarak metilen klorür ve etanol kullanılmasının etkileri de araştırılmıştır.

SC-CO₂ Ekstraksiyonu kullanılarak Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde gerçekleştirilmiş çalışmalar göz önüne alındığında, son 10 yıl içerisinde, Prof. Dr. Yaşar HIŞIL tarafından dizayn edilmiş cihazın (Şekil 3.3) farklı aromatik maddelerin ekstraksiyonunda kullanıldığı görülmektedir.

Frenk kimyonu tohumlarının SC-CO₂ Ekstraksiyonu üzerine yapılan araştırmada (Hişil ve ark., 2000), optimum işlem koşulları, 32 °C sıcaklık ve 125 bar basınç olarak belirlenmiş olup GC/MS analizi sonucunda, % 35.80 karvon, % 26.40 oleik asit, % 18.60 linoleik asit, % 4.10 hegzadekanoik asit, % 2.10 limonen tespit edilmiştir. Ayrıca, tohum dış kabuğunun kırılmadan ekstraksiyon işleminin gerçekleştirilemeyeceği ve rendeleme ile öğütme işlemlerinin tohumları açmak için yeteri kadar etkili yöntemler olduğu belirtilmiştir.

Şengün (2001) tarafından gerçekleştirilen yüksek lisans tez çalışmasında, SC-CO₂ Ekstraksiyonu ile elde edilmiş biberiye ekstraktının ayçiçeği yağındaki antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. 35 °C sıcaklık ve 110 atm basınç altında gerçekleştirilen ekstraksiyon için 2 saatlik işlem süresi belirlenmiş olup elde edilen ekstraktlar, değişik miktarlarda ayçiçeği yağına karıştırılarak BHT ve BHA ilaveli örneklerle birlikte 9 ay depolanmıştır. Süre sonunda örneklerde ransimat ve peroksit tayinleri yapılarak artan ilave biberiye ekstrakt konsantrasyonu ile birlikte antioksidan etkinin de arttığı tespit edilmiş, ancak % 0.1 konsantrasyonun üzerinde biberiye ekstraktı ilavesinin yağın rengini ve kokusunu etkileyebileceği düşünüldüğünden en etkili dozun % 0.1 olduğu düşünülmüştür.

Hışıl ve Pazır (2004) tarafından Türk dağ çayının SC-CO₂ ile ekstraksiyonunun gerçekleştirildiği bir araştırmada, 34 °C sıcaklık ve 110 kg/cm² basınç altında çalışılmıştır. Ekstraksiyon verimi % 0.43 olarak tespit edilmiş olup GC/MS analizi neticesinde belirlenen bazı uçucu bileşenler şunlardır: sabinen, beta-pinen, karvakrol, alfa-humulen, germakren-D, ar-kurkumen, zingiberen, alfa-bisabolol, beta-karyofilen, karyofilen oksit, palmitik asit, 9-oktadeken-1-ol, 9,12,15-oktadekatrienoik asit metil ester, n-eikosan, 1,1'-binaftalen, n-dokosan.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Origanum onites L. uçucu yağının elde edilmesi ve GC/MS kullanılarak bileşen analizi yapılmasında hammadde olarak kurutulmuş üç farklı kekik örneği kullanılmıştır.

Kurutulmuş *O. Onites* örnekleri, Türer Tarım ve Orman Ürün. İth. İhr.ve Tic. Ltd. Şti.; Kütaş Tarım Ürünleri Dış Tic. San. A. Ş. ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden elde edilmiştir.

Süperkritik Karbondioksit Ekstraksiyonu'nda kullanılan CO₂ tüpü dolumu %99.50 saflıkta HABAŞ'ta yaptırılmıştır.

3.2. Yöntem

Bu çalışma 3 aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk iki aşamada farklı ekstraksiyon yöntemi kullanılarak *O. onites* L. uçucu yağı elde edilmiş olup son aşamada ise elde edilen ekstraktların Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi ile analizi gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 Örneklerin Öğütülmesi

Türk Standartları Enstitüsü tarafından yayınlanmış olan kekik ile ilgili TS 3786'da uçucu yağ miktar tayininin TS 2290'a göre yapılması gerektiği belirtilmektedir. TS 2290, karabiber standartlarını içeren metindir. Bu metinde uçucu yağ tayini için kullanılacak numunenin 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütülmüş olması gerektiği

belirtilmektedir. Bu amaçla devir hızı 2850 rpm olan Brook Crompton Series 2000 marka öğütücü kullanılmıştır (Şekil 3.1).

Hidrodestilasyon için kullanılan örnek boyutu SC-CO₂ Ekstraksiyonu için de aynı tutulmuştur.



Şekil 3.1: *O. onites* L. örneklerini öğütmede kullanılan Brook Crompton Series 2000 marka öğütücü.

3.2.2. *O. onites* L. Uçucu Yağlarının Elde Edilmesi

3.2.2.1. Hidrodestilasyon

Kurutulmuş olarak temin edilen kekik örnekleri 1 mm'lik elekten geçecek şekilde öğütme işlemine tabi tutulduktan sonra 50 g tartılarak 1 litrelik balona alınmıştır. Üzerine 500 mL damıtık su ilave edilerek balon içerisine kaynama taşı atılmıştır. Clevenger aparatı kullanılarak (Şekil 3.2) gerçekleştirilen hidrodestilasyon işlemi 6 saat sürdürülmüştür. Süre sonunda viallere alınan ekstraktların kapakları azot atmosferi altında kapatılmıştır.



Şekil 3.2: Clevenger aparatı ile hidrodestilasyon.

3.2.2.2. SC-CO₂ Ekstraksiyonu

Öğütülmüş kekik örnekleri, Prof. Dr. Yaşar HIŞIL tarafından yapılmış pilot ölçekli SC-CO₂ Ekstraktöründe (Şekil 3.3) 35 ± 1 °C sıcaklık ve 110 ± 5 atm basınçta 2 saat.ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Süre sonunda elde edilen ekstraktlar (1:1) metilenklorürde çözülerek viallere alınmış ve azot atmosferi altında kapakları kapatılmıştır.



Şekil 3.3 : Prof.Dr.Yaşar Hişil tarafından yapılmış SC-CO₂ Ekstraksiyon cihazı.

3.2.3. Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometresi Analizi

Elde edilen 3 farklı örneğe ait toplam 6 ekstrakt GC/MS’de analiz edilmiştir. Hidrodestilatların analizi gerçekleştirilmeden önce (1:1) metilenklorür ilavesi yapılmıştır.

Kromatografi çalışma parametreleri şöyledir:

Cihaz: HP-6890 Plus GC; HP-5973 Mass Selective Detector

Kolon : HP-5MS (5% Phenyl Methyl Silicone), Model No.HP 19091S-433 (30 m.x 250µm x 0.25 µm)

Taşıyıcı gaz : He, 1 mL / dak.

Bölme (Split) oranı: 1/50

Enjeksiyon sıcaklığı: 250 °C

Kolon Sıcaklık Prg. : 70 C – 3 °C /dak.- 250 °C - 20 dak.

Auxillary : 280 °C

Tarama (scan) aralığı:30 – 350

MS Source : 230 °C

MS Quad : 150 °C

Kütüphane: Wiley ve NIST

4. BULGULAR

4.1. Hidrodestilasyon Sonuçları

Öğütülmüş kekik örnekleri 50 g tartılarak 1 L'lik balona konulmuş olup üzerine 500 mL damıtık su eklenerek Şekil – 3.2'deki ünite hazırlanıp ısıtıcı açılmıştır. 6 saat sonunda Clevenger aparatının dereceli kısmındaki su – yağ karışımında bulanıklık ortadan kalktıktan sonra okumalar yapılmıştır. Örneklerden elde edilen destilat miktarları aşağıdaki gibidir.

<u>Örnek</u>	<u>Destilat Miktarı</u>	<u>Verim (mL / 100 g Örnek)</u>
Türer Tarım	1.4 mL	2.80
Kütaş Tarım	1.6 mL	3.20
Ziraat Fak.	2.0 mL	4.00

Hidrodestilasyon sonunda en fazla ekstrakt alınan örnek, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilendir (% 4.00 (mL/g)). Daha sonra sırasıyla Kütaş (% 3,20 (mL/g)) ve Türer (% 2.80 (mL/g)) örnekleri gelmektedir.

4.2. SC-CO₂ Ekstraksiyonu Sonuçları

Süperkritik - CO₂ ile 35 ± 1 °C sıcaklık ve 110 ± 5 atm basınç kullanılarak kekik örneklerinin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Ekstraktın balonda toplanma hızı ve miktarına bağılı olarak ekstraksiyon süresi 2 saat olarak belirlenmiş, fakat 70 dakika sonunda CO₂ tüpünün vanası kapatılarak geri kalan 50 dakika içinde sistemde kalan bütün gazın çıkması beklenmiştir. Ekstraksiyon süresince CO₂ gazının üniteden çıkış hızına bağılı olarak balon çeperlerine çarpan ve miktarı tespit edilemeyen az bir miktar ekstrakt kaybı söz konusu olmuştur. Ziraat Fak. örneğinden 225 g, Kütaş Tarım örneğinden 304 g, Türer Tarım örneğinden ise 318 g analiz için kullanılan miktarlardır.

CO₂'nin oda sıcaklığında gaz haline geçmesiyle birlikte, ekstraktta çözen kalıntısı kalmamıştır.

Süre sonunda balonun ağızı kapatılarak toplanan ekstraktın ağırlığı kaydedilmiştir. Çeperlere yapışık halde bulunan ekstrakt, metilen klorür kullanılarak çözülmüş olup viallere alındıktan sonra azot atmosferi altında vial kapakları kapatılmıştır.

<u>Örnek</u>	<u>Ekstrakt Miktarı</u>	<u>Verim (g /100 g Örnek)</u>
Türer Tarım	8.02 g	2.52
Kütaş Tarım	6.13 g	2.17
Ziraat Fak.	8.76 g	3.89

SC-CO₂ Ekstraksiyonu sonucunda en fazla ekstrakt alınan örnek, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilendir (% 3.89 (g/g)). Daha sonra sırasıyla Türer (% 2.52 (g/g)) ve Kütaş (% 2.17 (g/g)) örnekleri gelmektedir.

4.3. GC/MS Analizi Sonuçları

Genel bir kural olarak, uçucu veya uçucu bir türevine dönüştürülebilen bileşenler gaz kromatografisi ile analiz edilebilir. Gaz örnekler doğrudan, sıvı örnekler ise, içerdiği bileşenlerin kaynama noktalarını aşan sıcaklıkta ısıtılarak analiz edilir. Buradan hareketle gaz kromatografisinin gıdalardaki yüksek uçuculuğa sahip aroma ve lezzet maddelerinin analizi için çok uygun olduğu söylenebilir. Zira, başta uçucu yağlar olmak üzere bazı aroma materyallerinde, kalite, bileşim, saflık ve katıştırmayı (tağşiş, hile) tespit için GC'den yararlanılır. Saflığı, kalitesi ve orijinalliği kesinlikle bilinen örneklerin GC analiz sonuçları, kalite kontrolünde standart olarak kullanılır. Özellikle değerli uçucu yağlara daha ucuz ve kalitesiz maddeler katılması, sık karşılaşılan sorunlardandır (Ünlü ve Hışıl, 1997).

Hidrodestilatların enjeksiyonu gerçekleştirilmeden önce örneklere, SC-CO₂ ekstraktlarını çözmede kullanılan metilen klorür çözeltilisinden (1:1) oranında karıştırılmıştır.

Kütaş Tarım Ürünleri Dış Tic. San. A. Ş.'den temin edilen örneğe ait hidrodestile ekstraktın total iyon kromatogramı, Şekil 4.1'de; Türer Tarım ve Orman Ürün. İth. İhr. ve Tic. Ltd. Şti.'den temin edilen örneğe ait hidrodestile ekstraktın total iyon kromatogramı, Şekil 4.3'te ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilen örneğe ait hidrodestile ekstraktın total iyon kromatogramı, Şekil 4.5'te görülmektedir. Bu ekstraktlara ait bileşen analiz sonuçları ise karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.1: Hidrodestilasyon ile elde edilen *O. onites* ekstraktlarının GC/MS analiz sonuçları (RT: Alıkönma zamanı (dak), TE: Tespit Edilememiştir).

Pik No	Bileşik	ZİRAAT FAK.		TÜRER		KÜTAŞ	
		RT	%	RT	%	RT	%
1	α - thujen	3,80	0,04	3,80	0,02	3,80	0,02
2	α - pinen	3,94	0,10	3,94	0,02	3,94	0,02
3	Kamfen	4,24	0,10	4,23	0,02	4,24	0,01
4	β - pinen	4,79	0,01	TE	TE	TE	TE
5	1 - okten - 3 - ol	4,95	0,03	4,94	0,05	4,94	0,04
6	Mirsen	5,02	0,24	5,02	0,11	5,01	0,11
7	α - fellandren	5,40	0,03	TE	TE	TE	TE
8	α - terpinen	5,69	0,33	5,68	0,11	5,68	0,11
9	ρ - simen	5,98	2,19	5,94	0,86	5,95	0,95
10	γ - terpinen	6,86	1,65	6,81	0,43	6,82	0,49
11	cis - sabinen hidrat	7,26	0,11	7,25	0,12	7,26	0,08
12	α - terpinolen	7,68	0,08	7,66	0,02	7,67	0,02
13	trans - sabinen hidrat	8,25	0,08	TE	TE	8,25	0,23
14	Linalool L	TE	TE	8,26	0,79	TE	TE
15	Borneol L	10,77	1,94	10,69	0,75	10,71	0,88
16	Terpinen - 4 - ol	11,03	1,10	10,98	0,64	10,99	0,73
17	Timol	16,97	13,73	16,64	0,48	16,76	0,40
18	Karvakrol	17,96	66,48	17,71	79,09	18,05	84,74
19	Timil asetat	18,36	0,22	TE	TE	TE	TE
20	Karvakril asetat	18,91	0,09	18,78	0,14	18,93	0,11
21	β - karyofilen	20,27	0,83	20,19	0,60	20,26	0,65
22	(+) Aromadendren	21,02	0,07	20,95	0,11	21,02	0,14
23	α - humulen	21,67	0,06	TE	TE	TE	TE
24	α - kopaen	22,72	0,07	TE	TE	TE	TE
25	Leden	23,20	0,06	23,15	0,05	23,20	0,07
26	β - bisabolen	23,83	1,58	23,78	1,99	23,85	2,04
27	α - amorfen	24,05	0,08	24,00	0,10	24,06	0,11
28	δ - kadinen	24,34	0,11	24,33	0,12	24,35	0,12
29	cis - α - bisabolen	25,02	0,03	TE	TE	TE	TE
30	(-) karyofilenoksit	TE	TE	26,69	0,48	26,72	1,21
31	Epi - bisikloeskuifellandren	29,09	0,13	29,09	0,26	29,12	0,70
32	2 - pentadekanon	35,91	0,03	35,90	0,03	35,91	0,08

Çizelge 4.1'e göre, her üç hidrodestile ekstrakta da ana bileşenin Karvakrol olduğu görülmektedir (Ziraat - % 66.48, Türer - % 79.09, Kütaş - % 84.74). Bununla birlikte, Ziraat Fakültesi örneğinde kayda değer miktarda (% 13.73) Timol varlığı tespit edilmiştir.

Ziraat Fakültesi'nden elde edilen örneğin hidrodestilasyon ekstraktında temel bileşenler şöyledir: Karvakrol % 66.48; Timol % 13.73; *p* – simen % 2.19; Borneol L % 1.94; γ - terpinen % 1.65; β - bisabolen % 1.58; Terpinen – 4 – ol % 1.10; β - karyofilen % 0.83.

Türer Tarım'dan elde edilen örneğin hidrodestilasyon ekstraktında temel bileşenler şöyledir: Karvakrol % 79.09; β - bisabolen % 1.99; *p* – simen % 0.86; Linalool L % 0.79; Borneol L % 0.75; terpinen – 4 – ol % 0.64; β - karyofilen % 0.60; Timol % 0.48; (-) Karyofilenoksit % 0.48; γ - terpinen % 0.43.

Kütaş'tan elde edilen örneğin hidrodestilasyon ekstraktında temel bileşenler şöyledir: Karvakrol % 84.74; β - bisabolen % 2.04; (-) Karyofilenoksit % 1.21; *p* – simen % 0.95; Borneol L % 0.88; Terpinen – 4 – ol % 0.73; Epi – bisikloeskuifellandren % 0.70; β - karyofilen % 0.65; γ - terpinen % 0.49; Timol % 0.40.

Kütaş Tarım Ürünleri Dış Tic. San. A. Ş.'den temin edilen örneğe ait SC-CO₂ ekstraktının total iyon kromatogramı, Şekil 4.2'de; Türer Tarım ve Orman Ürün. İth. İhr. ve Tic. Ltd. Şti.'den temin edilen örneğe ait SC-CO₂ ekstraktının total iyon kromatogramı, Şekil 4.4'te ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilen örneğe ait SC-CO₂ ekstraktının total iyon kromatogramı, Şekil 4.6'da görülmektedir. Bu ekstraktlara ait bileşen analiz sonuçları ise karşılaştırmalı olarak Çizelge 4.2'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.2: SC-CO₂ Ekstraksiyonu ile elde edilen O. onites ekstraktlarının GC/MS analiz sonuçları (RT: Alınma zamanı (dk.), TE: Tespit Edilememiştir).

Pik No	Bileşik	ZİRAAT FAK.		TÜRER		KÜTAŞ	
		RT	%	RT	%	RT	%
1	α - thujen	3,80	0,01	3,80	0,01	3,80	0,02
2	α - pinen	3,94	0,02	3,94	0,01	3,94	0,02
3	Kamfen	4,24	0,02	4,23	0,01	4,23	0,02
4	1 - okten - 3 - ol	4,94	0,02	4,92	0,02	4,93	0,05
5	Mirsen	5,01	0,06	4,99	0,03	5,00	0,11
6	α - fellandren	5,40	0,01	TE	TE	TE	TE
7	α - terpinen	5,68	0,09	5,66	0,04	5,67	0,03
8	ρ - simen	5,94	0,57	5,91	0,16	5,92	0,31
9	γ - terpinen	6,82	0,55	6,79	0,16	6,79	0,04
10	cis - sabinen hidrat	7,26	0,21	7,24	0,09	7,25	0,14
11	α - terpinolen	7,67	0,02	TE	TE	TE	TE
12	trans - sabinen hidrat	8,24	0,16	TE	TE	8,25	0,14
13	Linalool L	TE	TE	8,26	0,58	TE	TE
14	Borneol L	10,74	1,45	10,69	0,54	10,70	0,68
15	Terpinen - 4 - ol	10,99	0,55	10,97	0,33	10,98	0,33
16	Linalil asetat	TE	TE	13,60	0,02	13,61	0,03
17	Timol	16,86	15,77	16,65	0,26	16,64	0,12
18	Karvakrol	17,79	59,58	17,79	72,46	17,92	77,41
19	Timil asetat	18,31	0,14	TE	TE	TE	TE
20	Karvakril asetat	18,86	0,05	18,85	0,11	18,89	0,05
21	β - karyofilen	20,24	0,64	20,21	0,39	20,24	0,40
22	(+) Aromadendren	20,99	0,04	20,97	0,08	21,00	0,08
23	α - humulen	21,63	0,09	TE	TE	TE	TE
24	Germakren D	22,70	0,21	TE	TE	TE	TE
25	Leden	23,18	0,04	23,17	0,05	23,19	0,05
26	β - bisabolen	23,80	1,43	23,80	1,67	23,81	1,54
27	α - amorfen	24,02	0,09	24,03	0,08	24,04	0,09
28	δ - kadinen	TE	TE	24,34	0,05	24,35	0,07
29	cis - α - bisabolen	25,02	0,02	TE	TE	TE	TE
30	(-) karyofilenoksit	26,70	0,47	26,71	0,28	26,73	0,86
31	Asetofenon (Etanon)	28,37	0,67	28,43	0,43	28,39	0,09
32	Epi - bisikloeskuifellandren	29,11	0,19	29,11	0,33	29,13	0,55
33	α - kadinol	TE	TE	29,63	0,02	TE	TE
34	2 - pentadekanon	35,90	0,04	35,92	0,04	35,92	0,08
35	1, 2 benzen dikarboksilik asit	39,93	0,18	39,96	0,48	39,97	0,59
36	TOPLAM VAKS	TE	10,02	TE	19,98	TE	14,26

Çizelge 4.2'ye göre, her üç SC-CO₂ ekstraktında da hidrodestilasyon ekstraktlarındaki gibi ana bileşenin Karvakrol olduğu görülmektedir (Ziraat - % 59.58, Türer - % 72.46, Kütaş - % 77.41). Bununla birlikte, Ziraat Fakültesi ekstraktında kayda değer oranda (% 15.77) Timol varlığı tespit edilmiştir.

Ziraat Fakültesi'nden elde edilen örneğin SC-CO₂ ekstraktında temel bileşenler şöyledir: Karvakrol % 59.58; Timol % 15.77; Borneol L % 1.45; β - bisabolen % 1.43; Asetofenon (Etanon) % 0.67; β - karyofilen % 0.64; *p* - simen % 0.57; terpinen - 4 - ol % 0.55; γ - terpinen % 0.55; Karyofilen oksit % 0.47.

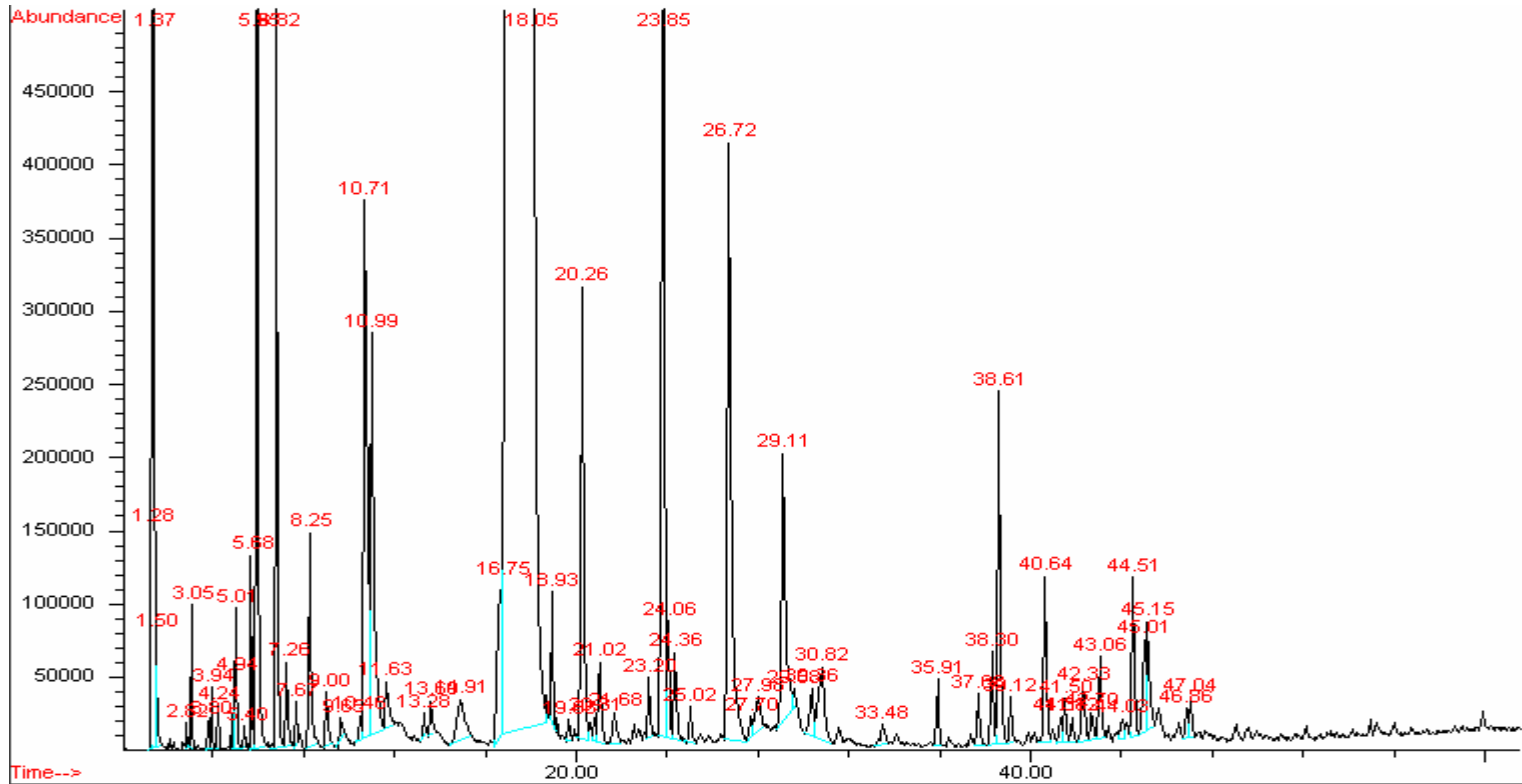
Türer Tarım'dan elde edilen örneğin SC-CO₂ ekstraktında temel bileşenler şöyledir: Karvakrol % 72.46; β - bisabolen % 1.67; Linalool L % 0.58; Borneol L % 0.54; 1,2 - benzen dikarboksilik asit % 0.48; Asetofenon (Etanon) % 0.43.

Kütaş'tan elde edilen örneğin SC-CO₂ ekstraktında temel bileşenler şöyledir: Karvakrol % 77.41; β - bisabolen % 1.54; (-) Karyofilen oksit % 0.86; Borneol L % 0.68; 1,2 - Benzen dikarboksilik asit % 0.59; Epi - bisiklo seskuifellandren % 0.55.

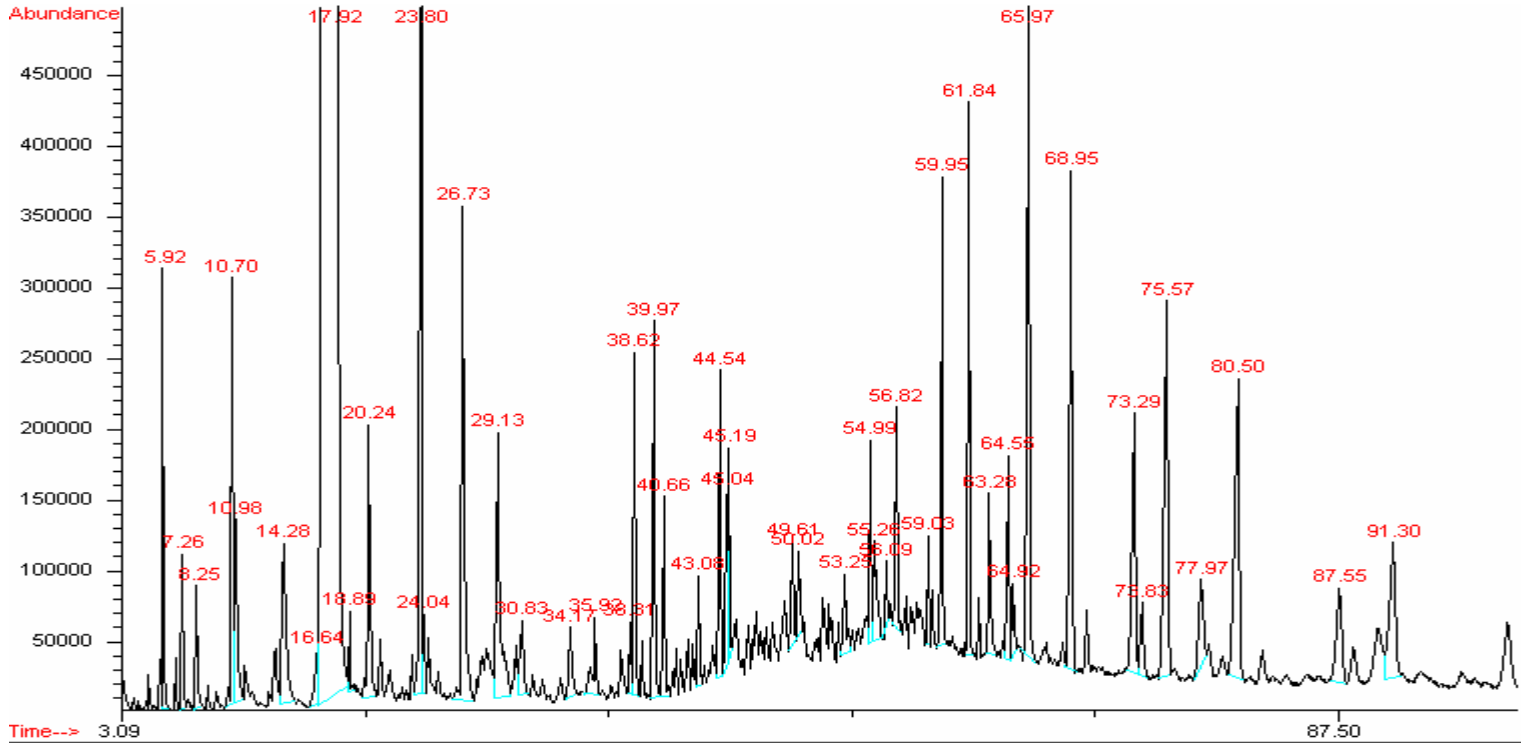
SC-CO₂ Ekstraksiyonu'ndaki bileşen analizinde önemli noktalardan biri, ekstraktta uçucu yağlarla birlikte yüksek oranda vaks maddelerinin de bulunmasıdır. Bu maddeler, nonadekan, hegzadekan, oktadekan, tetrakozan, eikozan, dokoza, trikoza, hegzatriakontan'dır. Uzun zincirli hidrokarbon bileşiklerinden meydana gelen bu vaksın, hidrodestilasyon sırasında destilata geçmesi mümkün olmamaktadır. Çizelge 4.2 incelendiğinde, SC-CO₂ Ekstraksiyonu ile elde edilen *O. onites* ekstraktlarından en fazla vaks içerenin, Türer Tarım'a (% 19.98) ait olan

örnek olduğu görölmektedir. Daha sonra sırasıyla Kütaş (% 14.26) ve Ziraat Fakültesi (% 10.02) örnekleri gelmektedir.

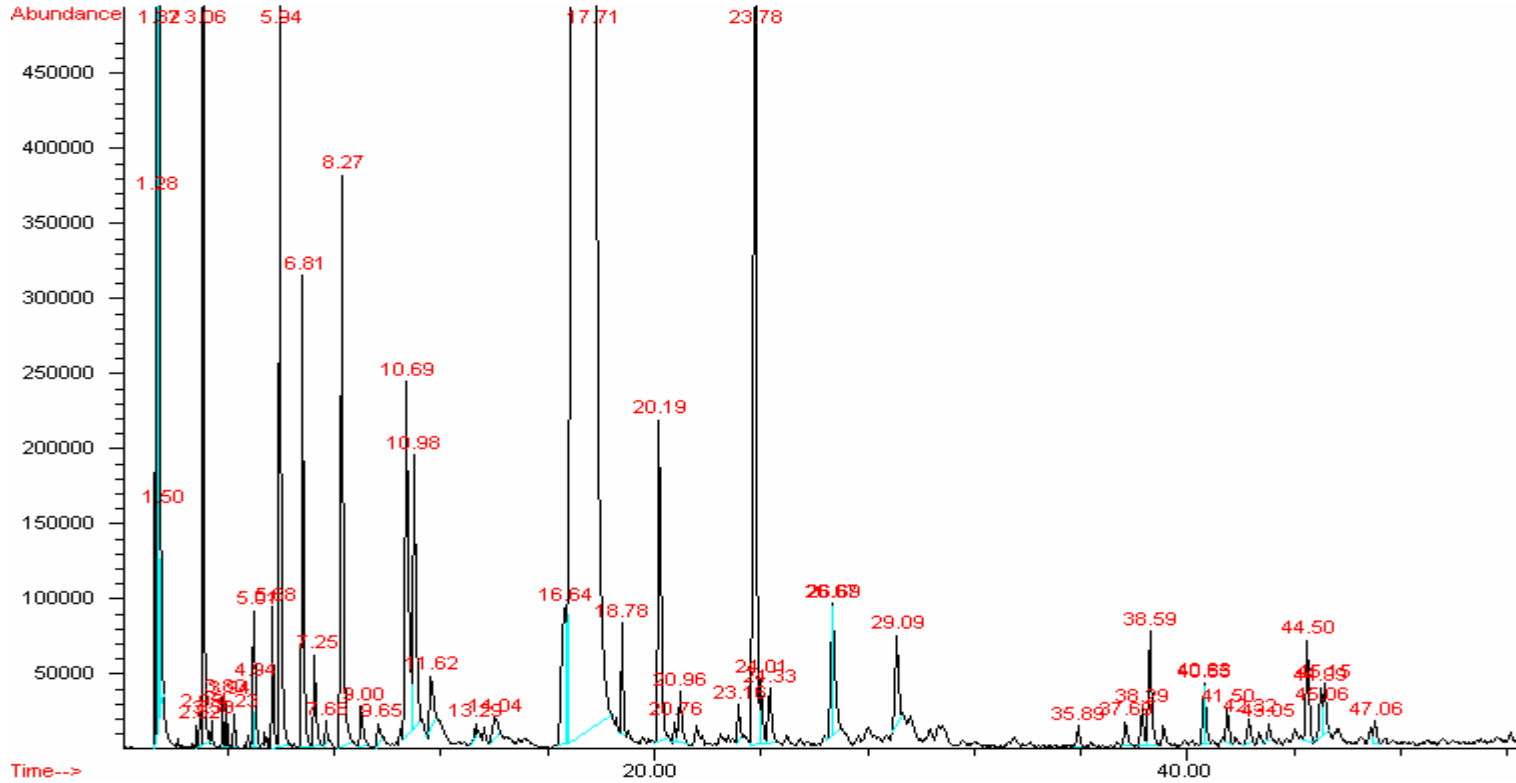
Hidrodestilasyon ve SC-CO₂ Ekstraksiyonu'nda çözücü olarak ekstraktlara eklenen metilen klorürün GC/MS'teki total iyon kromatogramı, Şekil 4.7'de gösterilmektedir.



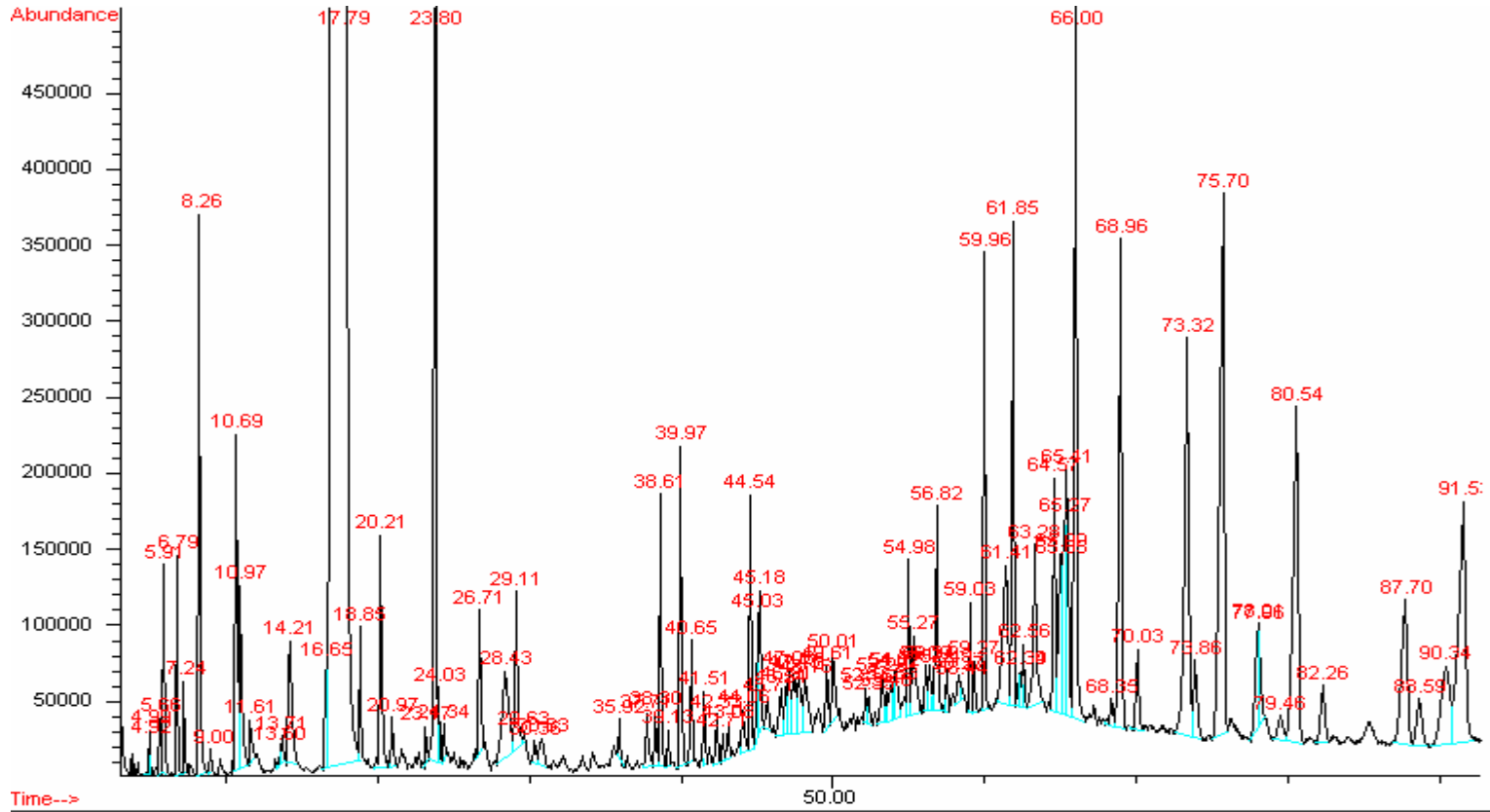
Şekil 4.1: Hidrodestilasyon ile elde edilen (Kütaş) *O. onites* L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.



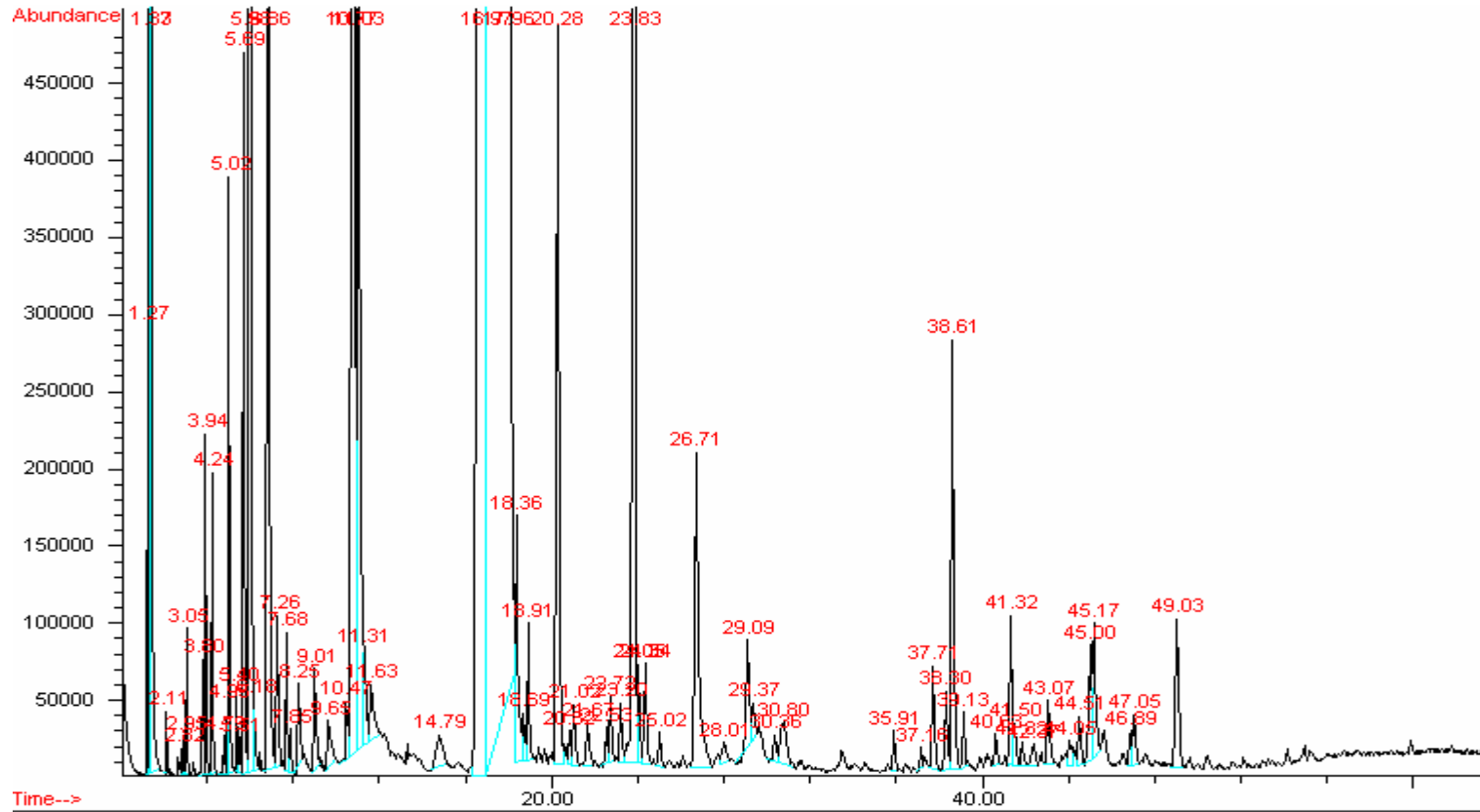
Şekil 4.2: SC-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen (Kütaş) *O. onites* L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.



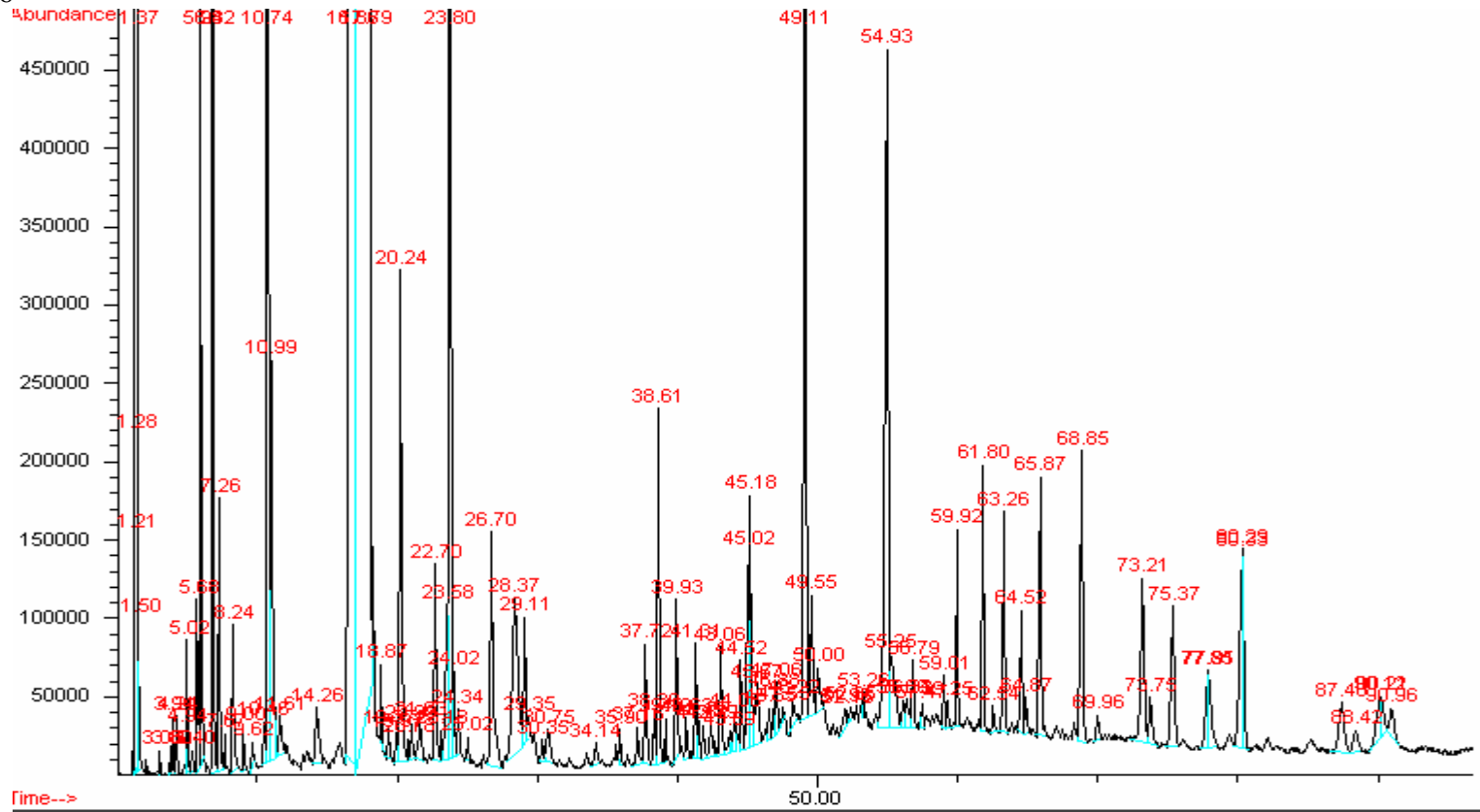
Şekil 4.3: Hidrodestilasyon ile elde edilen (Türer) *O. onites* L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.



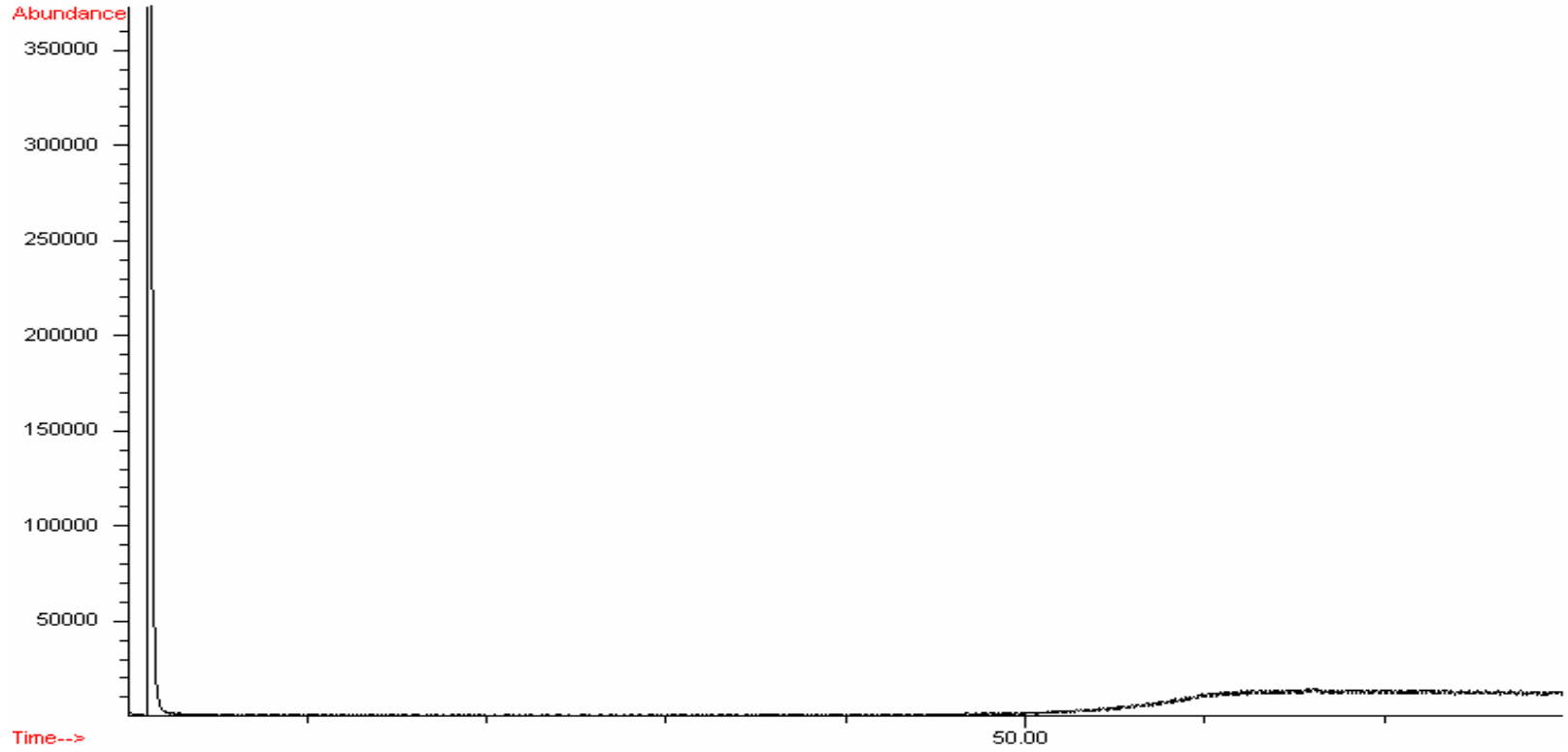
Şekil 4.4: SC-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen (Türer) *O. onites* L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.



Şekil 4.5: Hidrodestilasyon ile elde edilen (Ziraat Fak.) *O. onites* L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.



Şekil 4.6: SC-CO₂ ekstraksiyonu ile elde edilen (Ziraat Fak.) *O. onites* L. ekstraktının GC/MS total iyon kromatogramı.



Şekil 4.7: Çözgen olarak kullanılan metilen kloritin GC/MS total iyon kromatogramı.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu araştırmada, *Origanum onites* L. örneklerinden Clevenger aparatlı hidrodestilasyon ve Süperkritik CO₂ Ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlar, GC/MS ile analize tabi tutulmuştur. Bu amaçla 2 ticari firmadan ve Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden elde edilen örneklerin değerlendirmesi yapılmıştır.

Hidrodestilasyon sonunda en fazla ekstrakt alınan örnek, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilendir (% 4.00 (mL/g)). Daha sonra sırasıyla Kütaş (% 3,20 (mL/g)) ve Türer (% 2.80 (mL/g)) örnekleri gelmektedir. SC-CO₂ Ekstraksiyonu sonucunda en fazla ekstrakt alınan örneğin, yine Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilen örnek olduğu tespit edilmiştir (% 3.89 (g/g)). Daha sonra sırasıyla Türer (% 2.52 (g/g)) ve Kütaş (% 2.17 (g/g)) örnekleri gelmektedir. Her iki yöntemde de, en fazla uçucu yağ elde edilen örnek, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilen örnek olmuştur.

SC-CO₂ Ekstraksiyonu uygulaması sırasında, ekstraksiyon süresince CO₂ gazının üniteden çıkış hızına bağlı olarak balon çeperlerine çarpan ve miktarı tespit edilemeyen bir miktar ekstrakt kaybının olması, uçucu yağ ekstraksiyon veriminin hesaplanan değerden daha yüksek olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, % verim hesaplaması sırasında, iki farklı yöntemdeki değerler farklı birimlerden olduğundan, hidrodestilasyon veriminin g/g olarak ifade edilmesiyle hesaplanan değerlerin biraz daha azalacağı düşünülmektedir. Sonuç olarak, *Origanum onites* L. uçucu yağının SC-CO₂ Ekstraksiyonu kullanılarak elde edilmesiyle, Hidrodestilasyon veriminden daha yüksek bir verim değeri elde edildiği söylenebilir.

Origanum onites L.'den destilasyonla uçucu yağ elde edilmesi üzerine yapılan önceki çalışmalarda yağ veriminin % 1 – 6 arasında değiştiği belirtilmektedir (Ceylan ve ark., 1999; Gönüz ve Özörgücü, 1999; Azcan ve ark., 2000; Kintzios, 2002; Oflaz ve ark., 2002; Boydağ ve ark., 2003; İpek ve ark., 2005; Özel ve Kaymaz, 2004). Bununla birlikte, SC-CO₂ Ekstraksiyonu kullanılarak *O. onites* L.'den uçucu yağ elde edilmesi üzerine gerçekleştirilen herhangi bir literatüre ulaşılamamıştır. Bu çalışmada, Hidrodestilasyon uçucu yağ verimi % 2.80 – 4; SC-CO₂ Ekstraksiyonu uçucu yağ verimi ise, % 2.17 – 3.89 arasında bulunduğundan önceki çalışmalarla paralellik oluşturmaktadır.

Üç örnekten iki farklı ekstraksiyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların GC/MS analiz sonuçlarının temel bileşenlere göre özetlenmiş hali Çizelge 5.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 5.1.: *O. onites* L. ekstraktlarının içerdikleri temel bileşenlere göre GC/MS analiz sonuçları (TE: Tespit Edilememiştir).

Bileşik Adı	Ziraat Fak. (% bileşen)		Türer (% bileşen)		Kütaş (% bileşen)	
	SC-CO ₂ Ekstraksiyonu	Hidrodestilasyon	SC-CO ₂ Ekstraksiyonu	Hidrodestilasyon	SC-CO ₂ Ekstraksiyonu	Hidrodestilasyon
Karvakrol	59,58	66,48	72,46	79,09	77,41	84,74
Timol	15,77	13,73	0,26	0,48	0,12	0,40
Borneol L	1,45	1,94	0,54	0,75	0,68	0,88
β - bisabolen	1,43	1,58	1,67	1,99	1,54	2,04
Asetofenon	0,67	TE	0,43	TE	0,09	TE
β - karyofilen	0,64	0,83	0,39	0,60	0,40	0,65
p - simen	0,57	2,19	0,16	0,86	0,31	0,95
Terpinen - 4 - ol	0,55	1,10	0,33	0,64	0,33	0,73
γ - terpinen	0,55	1,65	0,16	0,43	0,04	0,49
(-) Karyofilen oksit	0,47	TE	0,28	0,48	0,86	1,21
Linalool L	TE	TE	0,58	0,79	TE	TE
1,2 Benzen dikarboksilik asit	0,18	TE	0,48	TE	0,59	TE
TOPLAM VAKS	10,02	TE	19,98	TE	14,26	TE
TOPLAM	91,88	89,50	97,72	86,11	96,63	92,09

Origanum onites L.'den uçucu yağ elde edilmesi üzerine yapılan çalışmalarda temel bileşen olarak tespit edilen Karvakrol miktarının % 50 – 82 arasında değiştiği (Ceylan ve ark., 1999; Azcan ve ark., 2000; Kintzios, 2002; Oflaz ve ark., 2002; Özel ve Kaymaz, 2004; İpek ve ark., 2005), bununla birlikte, bazı kemotiplerin Linalool'ce zengin olduğu (% 80 – 92) belirtilmektedir. Ayrıca, Karvakrol - Linalool veya Karvakrol – Timol'ü birlikte baskın bileşen olarak içeren *O. onites* kemotiplerinin varlığı da tespit edilmiştir (Boydağ ve ark., 2003; Kintzios, 2002; Oflaz ve ark., 2002 – Çizelge 2.4).

Bu çalışmada, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü'nden temin edilen *O. onites* örneklerindeki baskın bileşenlerin Karvakrol (% 59.58 – SC-CO₂ Ekstraksiyonu; % 66.48 – HD) ve Timol (% 15.77 – SC-CO₂ Ekstraksiyonu; % 13.73 – HD) olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, Türer ve Kütaş örneklerinde, baskın bileşik tek başına Karvakrol'dür. Elde edilen GC/MS analiz sonuçları, daha önceki çalışmalarla paralellik göstermektedir.

Yapılan araştırmalarda, kekiğe, kendisine özgü aromayı veren ve kaliteyi belirleyen bileşiklerin, terpenlerden çok, terpenlerin oksijenli türevleri ve benzenoit yapıya sahip aromatik bileşikler olduğu belirtilmektedir (Başer, 2001; Boydağ ve ark., 2003; Özel ve Kaymaz, 2004; Önenç ve Açıkgöz, 2005; İpek ve ark., 2005). Bu bileşiklerin bu araştırmada çalışılan örneklerden elde edilen uçucu yağlardaki toplam miktarı göz önüne alındığında (Çizelge 5.2), Kütaş'tan elde edilen örneğin her iki ekstraksiyon yönteminde de (% 86.75 – HD; % 78.54 – SC-CO₂ Ekstraksiyonu) en yüksek uçucu yağ kalitesine sahip olduğu söylenebilir.

Çizelge 5.2.: *O. onites* L. ekstraktlarının içerdikleri benzenoit yapıya sahip aromatik bileşiklerin ve terpenlerin oksijenli türevlerinin baskın olanlarının GC/MS analiz sonuçları (TE: Tespit Edilememiştir).

Bileşik Adı	Ziraat Fak. (% bileşen)		Türer (% bileşen)		Kütaş (% bileşen)	
	SC-CO ₂		SC-CO ₂		SC-CO ₂	
	Ekstraksiyonu	Hidrodestilasyon	Ekstraksiyonu	Hidrodestilasyon	Ekstraksiyonu	Hidrodestilasyon
Karvakrol	59,58	66,48	72,46	79,09	77,41	84,74
Timol	15,77	13,73	0,26	0,48	0,12	0,40
Borneol L	1,45	1,94	0,54	0,75	0,68	0,88
Terpinen - 4 - ol	0,55	1,10	0,33	0,64	0,33	0,73
Linalool L	TE	TE	0,58	0,79	TE	TE
TOPLAM	77,35	83,25	74,17	81,75	78,54	86,75

Bu araştırmada, üzerinde durulmak istenen diğer bir konu da, çalışılan iki farklı ekstraksiyon yönteminin *Origanum onites* uçucu yağ bileşenleri üzerindeki etkisi ve farklılıklarıdır. SC-CO₂ Ekstraksiyonu uygulaması ile Hidrodestilasyon sırasında ekstrakta geçmeyen ve vaks yapısına giren hidrokarbonlar da elde edilmiştir. Çizelge 5.1’de toplam vaks konsantrasyonları görülmektedir. Buna göre, en fazla vaks yapısına dâhil olan hidrokarbon bileşiklerini içeren örnek, Türer Tarım’dan temin edilen olmuştur (% 19.98). Daha sonra sırasıyla, Kütaş (%14.26) ve Ziraat Fakültesi (% 10.02) örnekleri gelmektedir.

6. KAYNAKLAR DİZİNİ

Akgül, A., 1993, Baharat Bilimi ve Teknolojisi, Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, No:15, Damla Matbaacılık ve Ticaret, Ankara, 1 – 56, 101 – 104.

Anonymous, 2007, <http://www.ics.trieste.it/EssentialOils>, 28.12.2007, 03:03.

Araujo, J. M. A., Sandi, D., 2007, Extraction of Coffee Diterpenes and Coffee Oil Using Supercritical Carbon Dioxide, Food Chemistry, 101 (3), 1087 – 1094.

Arlorio, M., Coisson, J. D., Travaglia, F., Varsaldi, F., Miglio, G., Lombardi, G., Martelli, A., 2005, Antioxidant and Biological Activity of Phenolic Pigments from *Theobroma cacao* Hulls Extracted with Supercritical CO₂, Food Research International, Third International Congress on Pigments in Food, 38 (8 – 9), 1009 – 1014.

Aydın, S., Öztürk, Y., Beis, R., Başer, K. H. C., 1996, Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* Essential Oils for Analgesic Activity, Phytotherapy Research, 10 (4), 342 – 344.

Aymonier, C., Erriguible, A., Marre, S., Serani, A., Cansel, F., 2007, Processes Using Supercritical Fluids: A Sustainable Approach for the Design of Functional Nanomaterials, International Journal of Chemical Reactor Engineering, 5, Article A77.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Azcan, N., Kara, M., Asilbekova, D. T., Özek, T., Başer, K. H. C., 2000, Lipids and Essential Oil of *Origanum onites*, Chemistry of Natural Compounds, 36 (2), 132 – 136.

Bahar, M. B., 2005, Sumak Lezzet Bileşenlerinin Belirlenmesi ve Et Ürünlerinde Kullanımlarının Lezzet Kalitesine Etkisinin Araştırılması, Doktora Tezi, E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Müh. Anabilim Dalı, İzmir.

Başer, K. H. C., 2001, Her Derde Deva Bir Bitki Kekik, Bilim ve Teknik, Mayıs, 74 – 77.

Baydar, H., Sağdıç, O., Özkan, G., Karadoğan, T., 2004, Antibacterial Activity and Composition of Essential Oils from Origanum, Thymbra and Satureja Species with Commercial Importance in Turkey, Food Control, 15, 169 – 172.

Bendahou, M., Musseli, A., Grignon-Dubois, M., Benyoucef, M., Desjobert, J. M., Bernardini, A. F., Costa, J., 2008, Antimicrobial Activity and Chemical Composition of *Origanum glandulosum* Desf. Essential Oil and Extract Obtained by Microwave Extraction: Comparison with Hydrodistillation, Food Chemistry, 106 (1), 132 – 139.

Bnouham, M., Mekhfi, H., Legssyer, A., Ziyat, A., 2002, Medicinal plants used in the treatment of diabetes in Morocco (*Ethnopharmacology Forum*), Int J Diabetes & Metabolism, 10, 33-50.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Bocevska, M., Sovova, H., 2007, Supercritical CO₂ Extraction of Essential Oil from Yarrow, The Journal of Supercritical Fluids, 40 (3), 360 – 367.

Boydağ, İ., Kürkçüoğlu, M., Özek, T., Başer, K. H. C., 2003, Isolation of Some Soluble And Dispersed Materials of Oregano Water, Chemistry of Natural Compounds, 39 (5), 465 – 469.

Capecka, E., Mareczek, A., Leja, M., 2005, Antioxidant Activity of Fresh and Dry Herbs of Some Lamiaceae Species, Food Chemistry, 93, 223–226.

Chun, S. S., Vattem, D. A., Lin, Y. T., Shetty, K., 2005, Phenolic Antioxidants from Clonal Oregano (*Origanum vulgare*) with Antimicrobial Activity against *Helicobacter pylori*, Process Biochemistry, 40, 809–816.

Ceylan, A., Bayram, E., Geren, H., 1999, İzmir Kekiği (*Origanum onites* L.) Islahında Geliştirilen Klonların Agronomik ve Kalite Özellikleri Üzerinde Araştırma, Tr. J. of Agriculture and Forestry, 23 (5), 1163 – 1168.

Çalmaşur, O., Aslan, İ., Şahin, F., 2006, Insecticidal and Acaricidal Effect of Three Lamiaceae Plant Essential Oils Against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn., Industrial Crops and Products, 23, 140–146.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Damjanovic, L., Lepojevic, Z., Zivkovic, V., Tolic, A., 2005, Extraction of Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Seeds with Supercritical CO₂: Comparison with Hydrodistillation, Food Chemistry, 92 (1), 143 – 149.

Dimitrijevic, S. I., Mihajlovski, K. R., Antanovic, D. G., Milanovic-Stevanovic, M. R., Mijin, D.Z., A Study of the Synergistic Antilisterial Effects of a Sub-lethal Dose of Lactic Acid and Essential Oils from *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Origanum vulgare* L., Food Chemistry, 104, 774–782.

Duke, J. A., Bogenschutz-Godwin, M. J., duCellier, J., Duke, P. A. K., 2003, CRC Handbook of Medicinal Spices, CRC Press LLC, A. B. D., 23.

Eşiyok, D., Ötleş, S., Akçiçek, E., 2004, Herbs as a Food Source in Turkey, Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 5, 334 – 339.

Fiori, L., 2007, Grape Seed Oil Supercritical Extraction Kinetic and Solubility Data: Critical Approach and Modeling, The Journal of Supercritical Fluids, 43 (1), 43 – 54.

Gounaris, Y., Skoula, M., Fournaraki, C., Drakakaki, G., Makris, A., 2002, Comparison of Essential Oils and Genetic Relationship of *Origanum × intercedens* to its Parental Taxa in the Island of Crete, Biochemical Systematics and Ecology, 30, 249 – 258.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Gönüz, A., Özörgücü, B., 1999, An Investigation on the Morphology, Anatomy and Ecology of *Origanum onites* L., Tr. J. of Botany, 23, 19 – 32.

Gracia, I., Rodriguez, J.F., Garcia, M.T., Alvarez, A., Garcia, A., 2007, Isolation of Aroma Compounds from Sugar Cane Spirits by Supercritical CO₂, Journal of Supercritical Fluids, 43 (1), 37 – 42.

Guan, W., Li, S., Yan, R., Tang, S., Quan, C., 2007, Comparison of Essential Oils of Clove Buds Extracted with Supercritical Carbon Dioxide and Other Three Traditional Extraction Methods, Food Chemistry, 101 (4), 1558 – 1564.

Hersch – Martinez, P., Leanos – Miranda, P. E., Solorzano – Santos, F., 2005, Antibacterial Effects of Commercial Essential Oils over Locally Prevalent Pathogenic Strains in Mexico, Fitoterapia, 76, 453–457.

Hışıl, Y. ve Ünlü, Z. N., 1996, Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon Teknolojisi ve Gıda Sanayiindeki Uygulamaları, Gıda Teknolojisi,1 (8), 46–54.

Hışıl, Y., Baysal, T., Uyan, S. E., 2000, Supercritical Extraction of Caraway Seed, Black Sea and Central Asian Symposium on Food Technology, October 12 – 16, 2000, Ankara/Turkey, Book of Abstracts, p.4 (oral presentation, 2).

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Hışıl, Y. ve Pazır, F., 2004, Supercritical-CO₂ Extraction of Turkish Mountain Tea (*Sideritis arguta Boiss. et Heldr.*) Abstracts (p.105) – 7th Italian Conference on Supercritical Fluids and Their Applications- 9th Meeting on Supercritical Fluids. June 13-16, 2004, University of Trieste, Trieste, Italy. International Society for the Advancement of Supercritical Fluids.

Isman, M. B., Wan, A. J., Passreiter, M., 2001, Insecticidal Activity of Essential Oils to the Tobacco Cutworm, *Spodoptera litura*, Fitoterapia, 72 (1), 65 – 68.

İpek, E., Zeytinoğlu, H., Okay, S., Tüylü, B. A., Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H. C., 2005, Genotoxicity and Antigenotoxicity of Origanum Oil and Carvacrol Evaluated by Ames Salmonella/Microsomal Test, Food Chemistry, 93, 551 – 556.

Kintzios, S. E., 2002, Oregano: The Genera Origanum and Lippia, Taylor and Francis Group, London, 3 – 4, 114 – 126.

Konstantopoulou, I., Vassilopoulou, L., Mavragani-Tsipidou, P., Scouras, Z. G., 1992, Insecticidal Effects of Essential Oils. A Study of the Effects of Essential Oils Extracted from Eleven Greek Aromatic Plants on *Drosophila auraria*, Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS), 48, 616 – 619.

Kouri, G., Tsimogiannis D., Bardouki, H., Oreopoulou, V., 2007, Extraction and Analysis of Antioxidant Components from *Origanum dictamnus*, Innovative Food Science and Emerging Technologies, 8, 155–162.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., Milos, M., 2004, Use of Different Methods for Testing Antioxidative Activity of Oregano Essential Oil, *Food Chemistry*, 85, 633–640.

Lemhadri, A., Zeggwagh, N. A., Maghrani, M., Jouad, A., Eddouks, M., 2004, Anti-hyperglycaemic Activity of the Aqueous Extract of *Origanum vulgare* Growing Wild in Tafilalet Region, *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 251–256.

Liu, Y., Ding, X., Zhu, D., 2005, Comparison of Technologies on Extracting and Concentrating Natural Vitamin E Using Supercritical CO₂, *International Journal of Food Engineering*, 1 (5), Article 9.

Lucas, A., Garcia, A., Alvarez, A., Gracia, I., 2007, Supercritical Extraction of Long Chain *n*-alcohols from Sugar Cane Crude Wax, *The Journal of Supercritical Fluids*, 41 (2), 267 – 271.

Maarse, H., 1991, *Volatile Compounds in Foods and Beverages*, Marcel Dekker Inc., New York, 469.

Machmudah, S., Kawahito, Y., Sasaki, M., Goto, M., 2007, Supercritical CO₂ Extraction of Rosehip Seed Oil: Fatty Acids Composition and Process Optimization, *The Journal of Supercritical Fluids*, 41 (3), 421 – 428.

Menaker, A., Kravets, M., Koel, M., Oray, A., 2004, Identification and Characterization of Supercritical Fluid Extracts from Herbs, *C. R. Chimie*, 7, 629 – 633.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Mendes, R. L., Reis A. D., Pereira A. P., Cardoso, M. T., Palavra, A. F., Coelho, J. P., 2005, Supercritical CO₂ Extraction of γ -linolenic Acid (GLA) from the Cyanobacterium *Arthrospira (Spirulina) maxima*: Experiments and Modeling, Chemical Engineering Journal, 105 (3), 147 – 151.

Mendes, R. L., Reis, A. D., Palavra, A. F., 2006, Supercritical CO₂ Extraction of γ -linolenic Acid and Other Lipids from *Arthrospira (Spirulina) maxima*: Comparison with Organic Solvent Extraction, Food Chemistry, 99 (1), 57 – 63.

Milos, M., Mastelic, J., Jerkovic, I., 2000, Chemical Composition and Antioxidant Effect of Glycosidically Bound Volatile Compounds from Oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum*), Food Chemistry ,71, 79 – 83.

Mockute, D., Bernotiene, G., Judzentiene, A., 2001, The Essential Oil of *Origanum vulgare* L. ssp. *vulgare* Growing Wild in Vilnius District (Lithuania), Phytochemistry, 57, 65 – 69.

Moreira, M. R., Ponce, A. G., del Vale, C. E., Roura, S. I., 2005, Inhibitory Parameters of Essential Oils to Reduce a Foodborne Pathogen, Lebensm.-Wiss. u.-Technol. - Food Science and Technology, 38, 565 – 570.

Mujtaba, I. M., 2004, Batch Distillation Design and Operation, Series on Chemical Engineering, Vol. 3, Imperial College Press, London, 4 – 10.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Mukhopadhyay, M., 2000, Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide, CRC Press LLC, Florida, 131 – 141.

Nakiboğlu, M., Ürek, R. Ö., Kayalı, H. A., Tarhan, L., 2007, Antioxidant Capacities of *Endemic Sideritis sipylea* and *Origanum sipyleum* from Turkey, Food Chemistry, 104, 630–635.

Nei Nei, H. Z., Fatemi, S., Salimi, A., Mehrnia, M. R., 2007, Mathematical Modeling of Supercritical Fluid Extraction of Fatty Acids from Trout Powder: Correlation of Mass Transfer Parameters, Chemical Product and, Process Modelling, 2 (3), Article 17.

Oflaz, S., Kürkçüoğlu, M., Başer, K. H. C., 2002, *Origanum onites* ve *Origanom vulgare* Subsp. Hırtum Üzerinde Farmokognozük Çalışmalar, Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 29 – 31 Mayıs 2002, 252 – 258.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier L., Lacroix, M., 2006, Antimicrobial Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth of a *Pseudomonas putida* Strain Isolated from Meat, Meat Science, 73, 236–244.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier L., Lacroix, M., 2007, Inhibitory Effects of Selected Plant Essential Oils on the Growth of Four Pathogenic Bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, Food Control, 18, 414–420.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Öneç, S. S., Açıkgöz, Z., 2005, Aromatik Bitkilerin Hayvansal Ürünlerde Antioksidan Etkileri, Hayvansal Üretim, 46 (1), 50 – 55.

Özel, M. Z., Kaymaz, H., 2004, Superheated Water Extraction, Steam Distillation and Soxhlet Extraction of Essential Oils of *Origanum onites*, Anal Bioanal Chem, 379, 1127 – 1133.

Perretti, G. Montanari, L., Fantozzi, P., 2006, Lipid Extraction from *Olea Europea* L. by Supercritical Carbon Dioxide for Analytical Use, International Journal of Food Engineering, 2 (2), Article 6.

Peterson, A., Machmudah, S., Roy, B. C., Goto, M., Sasaki, M., Hirose, T., 2005, Extraction of Essential Oil from Geranium (*Pelargonium graveolens*) with Supercritical Carbon Dioxide, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 81 (2), 167 – 172.

Park, H. S., Choi, H. K., Lee, S. J., Park, K. W., Choi, S. G., Kim, K. H., 2007a, Effect of Mass Transfer on the Removal of Caffeine from Green Tea by Supercritical Carbon Dioxide, The Journal of Supercritical Fluids, 42 (2) 205 – 211.

Park, H. S., Lee, H. J., Shin, M. Y., Lee, K. W., Lee, H., Kim, Y. S., Kim, K.O., Kim, K. H., 2007b, Effects of Cosolvents on the Decaffeination of Green Tea by Supercritical Carbon Dioxide, Food Chemistry, 105 (3), 1011 – 1017.

Pavela, R., 2004, Insecticidal Activity of Certain Medicinal Plants (Short Report), Fitoterapia, 75, 745– 749.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Pavela, R., 2005, Insecticidal Activity of Some Essential Oils Against Larvae of *Spodoptera littoralis* (Short Report), *Fitoterapia*, 76, 691– 696.

Perakis, C., Louli, V., Magoulas, K., 2005, Supercritical Fluid Extraction of Black Pepper Oil, *Journal of Food Engineering*, 71, 386 – 393.

Polat, Ö., Hışıl, Y., Ötleş, S., 1997, The Uses of Essential Oils in Food Industry, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri:B, Gıda Mühendisliği*, 15(1-2), 81 – 87.

Polat, Ö. ve Ötleş, S., 1997, Esansiyel Yağların Ekstraksiyon Yöntemleri, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri:B, Gıda Mühendisliği*, 15(1-2), 155 – 161.

Prieto, J. M., Iacopini, P., Cioni, P., Chericoni, S., 2007, In vitro Activity of the Essential Oils of *Origanum vulgare*, *Satureja montana* and Their Main Constituents in Peroxynitrite-induced Oxidative Processes, *Food Chemistry*, 104, 889–895.

Proestos, C., Sereli, D., Komaitis, M., 2006, Determination of Phenolic Compounds in Aromatic Plants by RP-HPLC and GC-MS, *Food Chemistry*, 95, 44–52.

Regnault-Roger, C. and Hamraoui, A., 1994, Comparison of the Insecticidal Effects of Water Extracted and Intact Aromatic Plants on *Acanthoscelides obtectus*, a Bruchid Beetle Pest of Kidney Beans, *Chemoecology*, 5, 1 – 5.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Reineccius, G., 1994, Source Book of Flavors, Aspen Publishers Inc., 2nd edition, (Rev. ed. of: Source book of flavors / Henry B. Heath. c1981), Gaithersburg, Maryland, 74 – 86.

Reineccius, G., 2005, Flavor Chemistry and Technology, Taylor and Francis Group, A CRC Press Book, 2nd edition, 216 – 219.

Rodriguez-Meizoso, I., Marin, F. R., Herrero, M., Senorans, F. J., Reglero, G., Cifuentes, A., Ibanez, E., 2006, Subcritical Water Extraction of Nutraceuticals with Antioxidant Activity from Oregano. Chemical and Functional Characterization, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 41, 1560–1565.

Rose, J., 1999, 375 Essential Oils and Hydrosols, Frog Ltd., North Atlantic Books, Berkeley, California, 6.

Sağdıç, O., 2003, Sensitivity of Four Pathogenic Bacteria to Turkish Thyme and Oregano Hydrosols, Lebensm.-Wiss. u.-Technol. - Food Science and Technology, 36, 467–473.

Sağdıç, O. ve Özcan, M., 2003, Antibacterial Activity of Turkish Spice Hydrosols, Food Control, 14, 141–143.

Sarker, S. D., Latif, Z., Gray, A. I., 2006, Natural Products Isolation, 2nd Edition, Humana Press Inc., New Jersey, 27 – 46 ve 47 – 76.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Skerget, M., Kotnik, P., Hadolin, M., Hras, A. R., Simonic, M., Knez, Z., 2005, Phenols, Proanthocyanidins, Flavones and Flavonols in Some Plant Materials and Their Antioxidant Activities, *Food Chemistry*, 89, 191–198.

Skoula, M., Gotsiou, P., Naxakis, G., Johnson, C. B., 1999, A Chemosystematic Investigation on the Mono- and Sesquiterpenoids in the Genus *Origanum* (Labiatae), *Phytochemistry*. 52, 649–657.

Soumyanath, A., 2006, Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plants, CRC Pres, Taylor and Francis Group, 51.

Souza, E. L., Stamford, T. L. M., Lima, E. O., Trajano, V. N., 2007, Effectiveness of *Origanum vulgare* L. Essential Oil to Inhibit the Growth of Food Spoiling Yeasts, *Food Control*, 18, 409–413.

Sovova, H., Opletal, L., Bartlova, M., Sajfrtová M., Krenkova, M., 2007, Supercritical Fluid Extraction of Lignans and Cinnamic Acid from *Schisandra chinensis*, *The Journal of Supercritical Fluids*, 42 (1), 88 – 95.

Stahl-Biskup, E. ve Saez, F., 2002, Thyme: The Genus *Thymus*, Taylor&Francis Group, London, 77 – 84.

Sun, M., Temelli F., 2006, Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Carotenoids from Carrot using Canola Oil as a Continuous Co-solvent, *The Journal of Supercritical Fluids*, 37 (3), 397 – 408.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Şahin, F., Güllüce, M., Daferera, D., Sökmen, A. Sökmen, M., Polissiou, M., Agar, G., Özer, H., 2004, Biological Activities of the Essential Oils and Methanol Extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia Region of Turkey, *Food Control*, 15, 549–557.

Şengün, P., 2001, Süperkritik-CO₂ Ekstraksiyonu ile Elde Edilmiş Biberiye Ekstraktının Ayçiçeği Yağındaki Antioksidan Aktivitesinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Müh. Anabilim Dalı, İzmir.

Tahraoui, A. El – Hilaly, J., Israili, Z. H., Lyoussi, B., 2007, Ethnopharmacological Survey of Plants Used in the Traditional Treatment of Hypertension and Diabetes in South-eastern Morocco (Errachidia province), *Journal of Ethnopharmacology*, 110 (1), 105 – 117.

Traboulsi, A. F., Taoubi, K., El-Haj, S., Bessiere, J. M., Rammal S., 2002, Insecticidal Properties of Essential Plant Oils Against the Mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae), *Pest Management Science*, 58 (5), 491 – 495.

Uquiche, E., del Vale, J. M., Ortiz, J., 2004, Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Red Pepper (*Capsicum annuum* L.) Oleoresin, *Journal of Food Engineering*, 65, 55 – 66.

Ünlü, Z. N., 1999, Adaçayının Süperkritik CO₂ Ekstraksiyonu Üzerinde Araştırmalar, Doktora Tezi, E. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Müh. Anabilim Dalı, İzmir.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Ünlü, N. ve Hışıl, Y., 1997, Kapiler Gaz Kromatografisi ile Birleştirilmiş Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE/GC) ve Bu Sistemin Aroma Malzemelerinin Analizinde Kullanımı, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri:B, Gıda Mühendisliği, 15(1-2), 203 – 217.

Vagi, E., Simandi, B., Suhajda, A., Hethelyi, E., 2005, Essential Oil Composition and Antimicrobial Activity of *Origanum majorana* L. Extracts Obtained with Ethyl Alcohol and Supercritical Carbon Dioxide, Food Research International, 38, 51 – 57.

Van Den Broucke, C. O. and Lemli J. A., 1982, Antispasmodic Activity of *Origanum compactum*, Planta Med., 45 (7), 188 – 190.

Vedaraman, N., Srinivasakannan, C., Brunner, G., Ramabrahmam, B. V., Rao, P. G., 2005, Experimental and Modeling Studies on Extraction of Cholesterol from Cow Brain using Supercritical Carbon Dioxide, The Journal of Supercritical Fluids, 34 (1), 27 – 34.

Vera, R. R. and Chane – Ming, J., 1999, Chemical Composition of the Essential oil of Marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island, Food Chemistry, 66, 143 – 145.

Wijsekera, R. O. B., 1991, The Medicinal Plant Industry, CRC Press LLC, A. B. D., 210.

Young, S., 2003, Distillation Principles and Practices, Watchmaker Publishing, printed in Great Britain, 3.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Yu, J., Liu, Y. F., Qiu, A. Y., Wang, X. G., 2007, Preparation of Isoflavones Enriched Soy Protein Isolate from Defatted Soy Hypocotyls by Supercritical CO₂, LWT - Food Science and Technology, 40 (5), 800 – 806.

Zaidul, I. S. M., Norulaini, N. A. N., Omar, A. K. M., Smith Jr., R. L., 2007a, Supercritical Carbon Dioxide (SC-CO₂) Extraction of Palm Kernel Oil from Palm Kernel, Journal of Food Engineering, 79, 1007 – 1014.

Zaidul, I. S. M., Norulaini, N. A. N., Omar, A. K. M., Sato, Y., Smith, R. L., 2007b, Separation of Palm Kernel Oil from Palm Kernel with Supercritical Carbon Dioxide Using Pressure Swing Technique, Journal of Food Engineering , 81 (2), 419 – 428.

Zhiyi, L., Xuewu, L., Shuhua, C., Xiaodong, Z., Yuanjing, X., Yong, W., Feng, X., 2006, An experimental and simulating study of supercritical CO₂ extraction for pepper oil, Chemical Engineering and Processing, 45 (4), 264 – 267.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Şanlıurfa'nın Siverek ilçesinde doğmuş; ilk, orta ve lise öğrenimini Gaziantep'te tamamlamıştır. 2000–2004 yılları arasında Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümünde lisans öğrenimini tamamlamış ve 2004 yılında Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başlamıştır. Aynı yıl, Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Milas İlçe Tarım Müdürlüğü'nde Gıda Kontrolörü olarak çalışmaya başlamıştır ve halen bu görevini devam ettirmektedir.