

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI UÇUCU YAĞLARIN VE ETKEN MADDELERİNİN SOL-JEL
YÖNTEMİYLE ENKAPSÜLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**

Kadriye YÜKSEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

2015

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI UÇUCU YAĞLARIN VE ETKEN MADDELERİNİN SOL-JEL
YÖNTEMİYLE ENKAPSÜLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**

Kadriye YÜKSEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**(Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi
tarafından 2014.02.0121.024 nolu proje ile desteklenmiştir.)**

2015

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI UÇUCU YAĞLARIN VE ETKEN MADDELERİNİN SOL-JEL
YÖNTEMİYLE ENKAPSÜLASYONU VE KARAKTERİZASYONU**

Kadriye YÜKSEL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI**

Bu tez ../../201.. tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği/Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Sevil AKSU

Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Yrd. Doç. Dr. Burcu UYSAL

ÖZET

BAZI UÇUCU YAĞLARIN VE ETKEN MADDELERİNİN SOL-JEL YÖNTEMİYLE ENKAPSÜLASYONU VE KARAKTERİZASYONU

Kadriye YÜKSEL

Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı

1. Danışman: Yrd. Doç. Dr. Sevil AKSU

2. Danışman: Prof. Dr. Birsen Ş. OKSAL

Haziran 2015, 136 sayfa

Uçucu yağlar sahip oldukları koku tat ve biyolojik etkilerinden dolayı gıda, ilaç, kozmetik ve ev temizlik ürünleri gibi endüstrilerde kullanılmaktadırlar. Son zamanlarda alternatif tıbbı duyulan ilginin artmasıyla insanlar arasında kullanımı da artmaktadır. Bu çalışma kapsamında *Origanum minutiflorum* (kekik), *Eugenia caryophyllata* (karanfil), *Eucalyptus camaldulensis* (okaliptus) ve *Cymbopogon citratus* (limon otu) bitkilerinden uçucu yağlar hidrodestilasyon yöntemiyle elde edilmiştir. Elde edilen yağlardan sırasıyla karvakrol, öjenol, ve 1,8-sineol etken maddeleri izole edilmiştir. İzole edilen etken maddeler Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) ve Gaz Kromatografisi (GC-FID), Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR) ve Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) ile karakterize edilmiştir. İzole edilen etken maddeler, standart etken maddeler ve uçucu yağlar sol-jel ve dondurarak kurutma (freeze drying) yöntemleriyle enkapsüle edilmiştir. Toz haldeki enkapsüle uçucu yağların ve etken maddelerin yapısı ve termal özellikleri, Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM), FTIR, Yüzey Alanı ve Porozite (Gözeneklilik) Analizi (BET), Termogravimetrik Analizi (TGA) ve ²⁹Si-NMR Analizi ile karakterize edilmiştir.

Etken maddelerin izolasyonunda kimyasal ekstraksiyon ve kimyasal türevlendirme yöntemleri uygulanmıştır. Sol-jel yöntemiyle enkapsülasyon prosesinde uçucu yağlar, izole edilen etken maddeler ve standart etken maddeler Tween 20 sürfektantı kullanılarak disperse edilmiştir. Sol-jel reaksiyonu için başlangıç maddesi olarak kolloidal silika (Ludox 40) kullanılmıştır. Tween 20 ve kolloidal silika miktarları enkapsüle edilecek her bir materyale göre ayrı ayrı optimize edilmiştir. Dondurarak kurutma yönteminde ise Arabik gam uygulaması ve arabik gam:jelatin:sukroz (1:1:1) oranlarındaki karışım uygulaması ile enkapsülasyon gerçekleştirilmiştir.

Çalışma sonucunda *Origanum minutiflorum* yağından karvakrol % 99.37, *Eugenia caryophyllata* yağından öjenol % 99.86 ve *Eucalyptus camaldulensis* yağından 1,8-sineol % 97.78 saflıkta izole edilmiştir. Sol-jel enkapsülasyonda kapsüllerin çapı 7.85-21.50 nm arasında değişirken enkapsülasyon verimi ise % 5.22-77.76 arasında değişim göstermiştir. Dondurarak kurutma prosesinde ise arabik gam uygulamasında gözenek çapları 12.73-30.29 nm arasında değişirken enkapsülasyon verimi % 9.40-85.72 arasında değişim göstermiştir. Karışım uygulamasında gözenek çapları 2.99-55.66 nm arasında değişirken enkapsülasyon verimi % 16.27-98.66 arasında değişim göstermiştir.

ANAHTAR KELİMELEER: Uçucu yağlar, karvakrol, öjenol, 1,8-sineol, izolasyon, enkapsülasyon, sol-jel yöntemi, dondurarak kurutma.

JÜRİ: Yrd. Doç. Dr. Sevil AKSU (Danışman)
Prof. Dr. Sibel TUNÇ
Yrd. Doç. Dr. Burcu UYSAL

ABSTRACT

ENCAPSULATION AND CHARACTERIZATION OF SOME ESSENTIAL OILS AND ACTIVE SUBSTANCES BY SOL-GEL METHOD

Kadriye YÜKSEL

MSc Thesis in Chemistry

Supervisor : Asst. Prof. Dr. Sevil AKSU

2nd Supervisor: Prof. Dr. Birsen Ş. OKSAL

June 2015, 136 pages

Essential oils are being used in the food, medicine, cosmetic and household cleaners industries because of their odour, flavour and biological effects. In the recent years, the usage of essential oils by people is increasing with the increasing interest to alternative medicine. Within the scope of this study, essential oils were obtained by the hydrodistillation method from the *Origanum minutiflorum* (origanum), *Eugenia caryophyllata* (clove), *Eucalyptus camaldulensis* (eucalyptus) and *Cymbopogon citratus* (lemon balm) plants. The active substances carvacrol, eugenol and 1,8-cineole were isolated from the obtained essential oils. Isolated active substances were characterized by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC-MS) and Gas Chromatography-Flame Ionization Detector (GC-FID), Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (NMR) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR). Isolated active substances, standard active substances and essential oils were encapsulated with sol-gel and freeze drying methods. The structure and thermal characteristics of encapsulated essential oils and active substances which were in powdery form were characterized with Scanning Electron Microscope (SEM), FT-IR, Surface Area and Porosity Analysis (BET), Thermogravimetric Analysis (TGA) and ²⁹Si-NMR Analysis.

Chemical extraction and chemical derivatization methods were practised for isolation of the active substances. Essential oils, isolated active substances and standard active substances were dispersed by using Tween 20 surfactant in the sol-gel encapsulation process. Colloidal silica (Ludox 40) were used as a starting material for the sol-gel reaction. Tween 20 and colloidal silica amounts were optimized individually according to each material which will be encapsulated. Arabic gum and arabic gum:gelatine:sucrose (1:1:1) processes were realized with the freeze drying method.

As a result of the study, carvacrol was isolated from *Origanum minutiflorum* oil with a purity of 99.37 %, eugenol was isolated from *Eugenia caryophyllata* oil with a purity of 99.86 %, 1,8-cineole was isolated from *Eucalyptus camaldulensis* oil with a purity of 97.78 %. In the sol-gel encapsulation, capsule diameters varied between 7.85 nm and 21.50 nm, encapsulation efficiency varied between 5.22 % and 77.76 %. In the freeze drying process pore diameters varied between 12.73 nm and 30.29 nm, encapsulation efficiency varied between 9.40 % and 85.72 % in the arabic gum implementation. In the mixture implementation pore diameters varied between 2.99 nm and 55.66 nm, encapsulation efficiency varied between 16.27 % and 98.66 %.

KEYWORDS: Essential oils, carvacrol, eugenol, 1,8-cineole, isolation, encapsulation, sol-gel method, freeze drying

COMMITTEE: Asst. Prof. Dr. Sevil AKSU (Supervisor)
Prof. Dr. Sibel TUNÇ
Asst. Prof. Dr. Burcu UYSAL

ÖNSÖZ

Doğal bitkisel ürünlerden olan uçucu yağların, ve bunlardan izole edilen etken maddelerinin çevre dostu SiO₂ ile sol-jel enkapsülasyonu ve doğal bileşenlerden olan arabik gam, sukroz, ve jelatin kullanılarak dondurarak kurutma ile enkapsülasyonu uçucu yağların ve etken maddelerinin tarım, gıda, tıp, kozmetik ve ilaç endüstrilerindeki uygulamalarına olanak sağlar. Sıvı halde bulunan uçucu yağlar nano düzeyde enkapsüle edildiğinde etken maddeler korunmakta, raf ömrü uzamakta, kullanımı daha kolay ve güvenli olmaktadır. Ayrıca enkapsülasyonda kullanılan sol-jel proses, oda koşullarında gerçekleşmesi, az maliyetli ve ekolojik yönden zararsız olması gibi avantajlara sahiptir.

Ülkemiz tıbbi ve aromatik bitkiler ve endemizm yönünden oldukça zengindir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve bunlardan elde edilen ürünlerin kullanım alanları giderek artmaktadır. *Origanum minutiflorum*, *Eugenia caryophyllata*, *Cymbopogon citratus*, *Eucalyptus camaldulensis* uçucu yağları ve etken maddeleri antimikrobiyal, antifungal, antioksidan insektisidal ve antikanser gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olmalarından dolayı sağlık alanında kullanımları oldukça yaygındır. Türkiye özellikle kekik bitkisi ve uçucu yağının ihracatında iyi bir noktadadır.

Esansiyel yağların etken maddelerinin izolasyonu ve enkapsülasyonları hakkındaki bilimsel çalışmalar hızla devam etmektedir. Ülkemizde esansiyel yağlar, çoğu endemik ve esansiyel yağ içeriği çok yüksek olan bitkilerden küçük işletmelerde elde edilmekte, gelişmiş ülkelere ya doğrudan ihraç edilmekte ya da iç piyasada tüketilmektedirler. Çevre koşullarından çok çabuk etkilenecek bozulmaları ve etken maddelerinin zamanla azalması, raf ömürlerinin çok kısa olmalarına neden olmaktadır. Uçucu olmaları, sıcaklık, nem ve ışıktan etkilenecek bozulmaları nedeniyle stabilize edilmeleri oldukça önemlidir. Tıbbi ve aromatik bitkilerin ve uçucu yağının hammadde olarak ihracatı yerine, işlenerek, enkapsüle edilerek ve/veya etken maddelerinin elde edilerek eczacılık, tıp, ziraat vb. alanlarda kullanılması ya da bu şekilde ihracatı ekonomiye büyük katkı sağlayacaktır.

Yüksek lisans tez çalışmam süresince bana değerli görüş ve katkılarıyla yol gösteren, sabır, hoşgörü ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım ve hocam Sayın Prof. Dr. Birsen Ş. OKSAL'a (Giresun Üniversitesi Fen Fakültesi), çalışmalarım esnasında bana her konuda yardımcı olan tez danışmanım ve hocam Yrd. Doç. Dr. Sevil AKSU'ya (Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi), çalışmam için gerekli olan FTIR cihazının kullanımına izin veren Sayın Prof. Dr. Ertuğrul ARPAÇ'a (Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi), bitki örneklerin teminini gerçekleştiren Dr. Saadet TUĞRUL AY'a (Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü), *Eucalyptus camaldulensis* bitkisinin teşhisini gerçekleştiren sayın Prof. Dr. Ahmet AKSOY'a (Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi), çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Ayşegül GENÇER, Betül YİTMEZ ve Orçun ÇINAR'a, Akdeniz Üniversitesi Kimya Bölümü öğretim üyelerine ve bu çalışmayı 2014.02.0121.024 proje numarası ile destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde emeği geçen ve çalışmalarım sırasında bana manevi destek olan, annem Müzeyyen DEMİRAY'a, babam Ömer DEMİRAY'a, ablam Funda DEMİRAY'a ve eşim Kerem YÜKSEL'e teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Özellikleri	2
1.1.1. <i>Origanum minutiflorum</i> 'un genel özellikleri	2
1.1.2. <i>Eugenia caryophyllata</i> 'nın genel özellikleri	4
1.1.3. <i>Eucalyptus camaldulensis</i> 'in genel özellikleri	4
1.1.4. <i>Cymbopogon citratus</i> 'un genel özellikleri	5
1.2. Uçucu Yağlar	6
1.2.1. Uçucu yağların kimyasal yapısı	7
1.2.2. Uçucu yağların elde edilme yöntemleri	8
1.2.3. Mekanik yöntem	9
1.2.4. Ekstraksiyon yöntemi	9
1.2.4.1. Organik çözücülerle özütleme	9
1.2.4.2. Anfloraj	9
1.2.4.3. Maserasyon	10
1.2.5. Destilasyon yöntemi	10
1.2.5.1. Su destilasyonu	10
1.2.5.2. Buhar destilasyonu yöntemi	11
1.2.5.3. Su-buhar destilasyon yöntemi	11
1.3. Uçucu Yağlardan Elde Edilen Etken Maddelerin Özellikleri	11
1.3.1. Karvakrol	11
1.3.2. Öjenol	12
1.3.3. 1,8-Sineol	13
1.3.4. Sitral	14
1.4. Enkapsülasyon	15
1.5. Uçucu Yağların Enkapsülasyonu	16
1.6. Sol-Jel Yöntemi ile Enkapsülasyon	18
1.6.1. Sol-jel yöntemi	18
1.6.1.1. Sol-jel reaksiyonları	19
1.6.1.2. Sol-jel yöntemini etkileyen parametreler	25
1.6.1.3. Sol-jel yönteminin uygulama alanları	26
1.6.2. Uçucu yağların sol-jel enkapsülasyonu	26
1.7. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon) Yöntemi ile Enkapsülasyon	27
1.7.1. Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) yöntemi	27
1.7.2. Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) işlem aşamaları	28
1.7.2.1. Dondurma aşaması	29
1.7.2.2. Birinci kurutma aşaması	29
1.7.2.3. İkinci kurutma aşaması	29
1.8. Çalışmanın Amacı	30
2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI	32

3. MATERYAL ve METOT	35
3.1. Materyal	35
3.1.1. Çalışmada kullanılan bitki örneklerinin temin edilmesi	35
3.1.2. Kullanılan kimyasallar ve cihazlar	36
3.2. Metot	39
3.2.1. Bitki materyallerinin hazırlanması ve uçucu yağlarının hidrodestilasyonla eldesi	39
3.2.2. Elde Edilen Uçucu Yağlara Ait Bazı Fizikokimyasal Analizler	40
3.2.2.1. Etil alkoldeki çözünürlüklerinin tayini	40
3.2.2.2. Kırılma indisi tayini	40
3.2.2.3. Optik çevirme açısı tayini (Polarimetrik metot)	41
3.2.3. Uçucu yağların etken maddelerinin izole edilmesi (ayrıştırılması)	41
3.2.3.1. OM uçucu yağından karvakrolün izole edilmesi	42
3.2.3.2. ECar uçucu yağından öjenolün izole edilmesi	42
3.2.3.3. ECam uçucu yağından 1,8-sineolün izole edilmesi	43
3.2.3.4. CC uçucu yağından sitralin izole edilmesi	44
3.2.4. Uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin sol-jel yöntemi ile enkapsülasyonu	44
3.2.4.1. OM uçucu yağının sol-jel enkapsülasyonu	45
3.2.4.2. ECar uçucu yağının sol-jel enkapsülasyonu	45
3.2.4.3. ECam uçucu yağının sol-jel enkapsülasyonu	46
3.2.4.4. CC uçucu yağının sol-jel enkapsülasyonu	46
3.2.4.5. İzole edilen karvakrolün sol-jel enkapsülasyonu	46
3.2.4.6. Standart karvakrolün sol-jel enkapsülasyonu	46
3.2.4.7. İzole edilen öjenolün sol-jel enkapsülasyonu	47
3.2.4.8. Standart öjenolün sol-jel enkapsülasyonu	47
3.2.4.9. İzole edilen 1,8-sineolün sol-jel enkapsülasyonu	47
3.2.4.10. Standart sitralin sol-jel enkapsülasyonu	48
3.2.4.11. Boş sol-jel uygulaması (Kontrol)	48
3.2.5. Uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsülasyonu	49
3.2.6. Gaz kromatografisi-Kütle spektrometrisi (GC-MS) ve Gaz kromatografisi (GC-FID) ile uçucu yağların kimyasal analizi	50
3.2.7. İzole edilen bileşiklerin karakterizasyonu	51
3.2.7.1. Enkapsüle edilen uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin Gaz kromatografisi-Kütle spektrometrisi (GC-MS) ve Gaz kromatografisi (GC-FID) ile saptanması	51
3.2.7.2. İzole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin FTIR analizi	52
3.2.7.3. İzole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin ¹ H-NMR analizi	52
3.2.8. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin karakterizasyonu	52
3.2.8.1. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin etken maddelerin FTIR analizi	53
3.2.8.2. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin ²⁹ Si-NMR analizi	53
3.2.8.3. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin N ₂ adsorpsiyon-desorpsiyon (BET) analizi	53

3.2.8.4. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin SEM analizi	53
3.2.8.5. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin TGA analizi	53
3.2.9. Enkapsülasyon verimi tayini	54
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	55
4.1. Uçucu Yağların Fizkokimyasal Parametre Değerleri	55
4.2. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) ve Gaz Kromatografisi (GC-FID) ile Uçucu Yağların Kimyasal Analizi	56
4.3. Uçucu Yağlardan İzole Edilen Etken Maddelerin Karakterizasyonu	60
4.3.1. Uçucu yağlardan izole edilen etken maddelerin Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometrisi (GC-MS) ve Gaz Kromatografisi (GC-FID) ile kimyasal analizi	60
4.3.2. Uçucu yağlardan izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin FTIR spektrumları	67
4.3.3. Uçucu yağlardan izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin ¹ H-NMR spektrumları	71
4.4. Enkapsüle Edilen Uçucu Yağların ve Etken Maddelerin Karakterizasyonu ...	78
4.4.1. FTIR analizi	79
4.4.2. ²⁹ Si-NMR Analizi	86
4.4.3. N ₂ adsorpsiyon-desorpsiyon analizi (BET)	90
4.4.4. SEM analizi.....	94
4.4.5. TGA analizi.....	103
4.4.6. Enkapsüle edilen uçucu yağ veya etken maddelerin GC ve GC-MS analizleri ile saptanması ve enkapsülasyon veriminin hesaplanması	109
5. SONUÇ	119
6. KAYNAKLAR	123
ÖZGEÇMİŞ	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

cm	Santimetre
cm ³	Santimetreküp
dak	Dakika
eV	Elektronvolt
g	Gram
kg	Kilogram
L	Litre
m	Metre
m	Kütle
mbar	Milibar
MHz	Megahertz
mL	Mililitre
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece
rpm	Dakikadaki devir sayısı
V	Hacim
w	Kütle kesri
α	Alfa
β	Beta
μm	Mikrometre
ω	Omega

Kısaltmalar

AG	Arabik gam
BET	Brunauer-Emmet-Teller
BJH	Barrett–Joyner–Halenda
CC	<i>Cymbopogon citratus</i>
ECam	<i>Eucalyptus camaldulensis</i>
ECar	<i>Eugenia caryophyllata</i>
FCC	Gıda Kimyasalları Kodeksi
FID	Alev İyonlaşma Dedektörü
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrokopisi
GC	Gaz Kromatografisi
GC-FID	Gaz Kromatografisi- Alev İyonlaşma Dedektörü
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi
¹ H-NMR	Proton-Nükleer Manyetik Rezonans
IC	İzole Karvakrol
ICin	İzole Sineol
IE	İzole Öjenol
K	Karışım (Arabik gam, jelatin,sukroz, 1:1:1)
L40	Ludox AS 40, koloidal silika
OM	<i>Origanum minutiflorum</i>
RRI	Bağıl Alıkonma İndeksi

SC	Standart Karvakrol
SCit	Standart Sitral
SE	Standart Öjenol
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
²⁹ Si-NMR	Silisyum-Nükleer Manyetik Rezonans
T20	Tween 20 (Polisorbat 20)
TGA	Termogravimetrik Analiz
t _{gel}	Jel Zamanı
TS ISO	Türk Standartları Uluslararası Standartlar Teşkilatı
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
β-CD	Betasiklodekstrin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. İzopren molekülünün açık kimyasal formülü	8
Şekil 1.2. Karvakrolün açık kimyasal formülü	11
Şekil 1.3. Öjenol'ün açık kimyasal formülü	12
Şekil 1.4. 1,8-sineol'ün açık kimyasal formülü	13
Şekil 1.5. Gerenial ve neral'in açık kimyasal formülü.....	14
Şekil 1.6. Sol-jel yöntemi ile elde edilen ürünlerin şekilsel gösterimi.....	20
Şekil 1.7. Asit katalizli hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları	21
Şekil 1.8. Baz katalizli hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları	22
Şekil 1.9. Çeşitli silisyum-oksijen grupları	22
Şekil 1.10. Jellerin asidik ve bazik şartlara bağlı olarak değişimi	23
Şekil 1.11. Liyofilizatör	28
Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bitkiler (a) <i>Origanum minutiflorum</i> (b) <i>Eugenia caryophyllus</i> (c) <i>Eucalyptus camaldulensis</i> (d) <i>Cymbopogon citratus</i>	35
Şekil 3.2. (a,b) Clevenger düzeneği (c) Elde edilen uçucu yağlar, soldan sağa; CC, ECar, OM, ECam	39
Şekil 3.3. Volümetrik nem tayin düzeneği.....	40
Şekil 3.4. (a) Polarimetre (b) Dijital refraktometre.....	41
Şekil 3.5. OM uçucu yağından karvakrol eldesi	42
Şekil 3.6. İzole edilen (a) karvakrol (b) öjenol ve (c) vakumlu konsantratör	43
Şekil 3.7. ECam uçucu yağından 1,8-sineol eldesini gösteren reaksiyon zinciri.....	43
Şekil 3.8. (a) Kolloidal silika yapısı (b) Tween 20'nin kimyasal yapısı.....	44
Şekil 3.9. Uçucu yağ ve etken maddelerin sol-jel enkapsülasyonu ve asit katalizörlü sol-jel tepkimesi	45

Şekil 3.10. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen uçucu yağlar ve etken maddeler. Oda sıcaklığında kurumaya bırakılan (a) ECar (b) SCit. Toz hale getirilmiş (c) ECar (d) SCit.	48
Şekil 3.11. Dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsülasyon basamakları.	49
Şekil 3.12. Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi (GC-MS)	50
Şekil 4.1. OM uçucu yağının GC kromatogramı	57
Şekil 4.2. ECar uçucu yağının GC kromatogramı	57
Şekil 4.3. ECar uçucu yağının GC kromatogramı.....	58
Şekil 4.4. CC uçucu yağının GC kromatogramı	59
Şekil 4.5. OM uçucu yağından izole edilen karvakrolün GC kromatogramı.....	61
Şekil 4.6. Standart karvakrolün GC kromatogramı.....	61
Şekil 4.7. OM uçucu yağından izole edilen karvakrolün kütle spektrumu	62
Şekil 4.8. Standart karvakrolün kütle spektrumu	62
Şekil 4.9. ECar uçucu yağından izole edilen öjenolün GC kromatogramı	63
Şekil 4.10. Standart öjenolün GC kromatogramı.....	63
Şekil 4.11. ECar uçucu yağından izole edilen öjenolün kütle spektrumu.....	64
Şekil 4.12. Standart öjenolün kütle spektrumu	64
Şekil 4.13. ECar uçucu yağından izole edilen 1,8-sinölün GC kromatogramı	65
Şekil 4.14. Standart 1,8-sinölün GC kromatogramı.....	65
Şekil 4.15. ECar uçucu yağından izole edilen 1,8-sineolün kütle spektrumu	66
Şekil 4.16. Standart 1,8-sineolün kütle spektrumu	66
Şekil 4.17. IC ve SC'ye ait FTIR spektrumu	67
Şekil 4.18. IE ve SE'ye ait FTIR spektrumu.....	68
Şekil 4.19. ICin ve SCin'e ait FTIR spektrumu	69
Şekil 4.20. IC'ün ¹ H-NMR spektrumu (CDCl ₃ 400MHz) (Bölge-1)	71

Şekil 4.21. IC'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-2)	71
Şekil 4.22. SC'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-1).....	72
Şekil 4.23. SC'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-2).....	72
Şekil 4.24. IE'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-1).....	74
Şekil 4.25. IE'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-2).....	74
Şekil 4.26. SE'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-1).....	75
Şekil 4.27. SE'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) Bölge-2)	75
Şekil 4.28. ICin'in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz).....	77
Şekil 4.29. SCin'in ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz).....	77
Şekil 4.30. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen OM, IC, SC ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu	79
Şekil 4.31. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen ECar, IE, SE ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu	80
Şekil 4.32. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen CC, SCit, ECar, ICin ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu.....	80
Şekil 4.33. AG ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen OM, IC, SC ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu	82
Şekil 4.34. AG ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen ECar, IE, SE ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu	82
Şekil 4.35. AG ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen CC, SCit, ECar ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu.....	83
Şekil 4.36. K (Arabik gam:jelatin:sukroz, 1:1:1) ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen OM, IC, SC, CC, SCit ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu	84
Şekil 4.37. K (Arabik gam:jelatin:sukroz, 1:1:1) ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen ECar, IE, SE, ECar, ICin ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu	84
Şekil 4.38. (a) Arabik gam (b) jelatin ve (c) sukrozun kimyasal yapısı.....	85
Şekil 4.39. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen örneklerin ^{29}Si -NMR spektrumları; (a) T20-L40 (b) T20-OM (c) T20-IC (d) T20-SC	86

Şekil 4.40. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen örneklerin ^{29}Si -NMR spektrumları; (a) T20-ECar (b) T20-IE (c) T20-SE (d) T20-CC (e) T20-SCit (f) T20-ECam.....	87
Şekil 4.41. (a) Tween 20'nin kimyasal yapısı (b) monosiklik (c) spirosiklik 5 koordineli $^{\text{P}}\text{Si}$ (penta coordination) Tween 20 kompleksi	88
Şekil 4.42. N_2 adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi (a) T20-L40 (b) T20-OM (c) T20-IC (d) T20-SC (e) T20-ECar (f) T20-IE (g) T20-SE (h) T20-ECam (i) T20-CC (j) T20-SCit.....	90
Şekil 4.43. N_2 adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi (a) AG (b) AG-OM (c) AG-IC (d) AG-SC (e) AG-ECar (f) AG-IE (g) AG-SE (h) AG-ECam (i) AG-CC (j) AG-SCit.....	91
Şekil 4.44. N_2 adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi (a) K (b) K-OM (c) K-IC (d) K-SC (e) K-ECar (f) K-IE (g) K-SE (h) K-Ecam (i) K-SCit	92
Şekil 4.45. T20-L40 (kontrol) ait SEM fotoğrafı (Mag=50.00 KX).....	94
Şekil 4.46. SEM fotoğrafları (Mag=50.00 KX) (a) T20-OM (b) T20-IC (c) T20-SC (d) T20-ECar (e) T20-IE (f) T20-SE.....	95
Şekil 4.47. SEM fotoğrafları (a) T20-ECam (Mag=30.00 KX) (b) T20-ICin (Mag=50.00 KX) (c) T20-CC (Mag=50.00 KX) (d) T20-SCit (Mag=50.00 KX).....	96
Şekil 4.48. AG'a (Boş) ait SEM fotoğrafı (Mag=1000 X)	96
Şekil 4.49. SEM fotoğrafları (a) AG-OM (Mag=2.00 KX) (b) AG-OM (Mag=10.00 KX) (c) AG-IC (Mag=2.00 KX) (d) AG-IC (Mag=20.00 KX) (e) AG-SC (Mag=2.00 KX) (f) AG-SC (Mag=30.00 KX).....	97
Şekil 4.50. SEM fotoğrafları (a) AG-ECar (Mag=1000 X) (b) AG-ECar (Mag=10.00 KX) (c) AG-IE (Mag=1000 X) (d) AG-IE (Mag=10.00 KX) (e) AG-SE (Mag=2.00 KX) (f) AG-SE (Mag=10.00 KX).....	98
Şekil 4.51. SEM fotoğrafları (a) AG-ECam (Mag=2.00 KX) (b) AG-ECam (Mag=20.00 KX) (c) AG-ICin (Mag=5.00 KX) (d) AG-ICin (Mag=20.00 KX) (e) AG-CC (Mag=2.00 KX) (f) AG-CC (Mag=10.00 KX) (g) AG-SCit (Mag=2.00 KX) (h) AG-SCit (Mag=10.00 KX).....	99
Şekil 4.52. K'ya (arabik gam:jelatin:sukroz, 1:1:1) ait SEM fotoğrafı.....	100

Şekil 4.53. SEM fotoğrafları (a) K-OM (Mag=5.00 KX) (b) K-OM (Mag=20.00 KX) (c) K-IC (Mag=2.00 KX) (d) K-IC (Mag=10.00 KX).....	100
Şekil 4.54. SEM fotoğrafları (a) K-SC (Mag=5.00 KX) (b) K-SC (Mag=10.00 KX) (c) K-ECar (Mag=5.00 KX) (d) K-ECar (Mag=20.00 KX) (e) K-IE (Mag=5.00 KX) (f) K-IE (Mag=30.00 KX) (g) K-SE (Mag=5.00 KX) (h) K-SE (Mag=20.00 KX).....	101
Şekil 4.55. SEM fotoğrafları (a) K-ECam (Mag=5.00 KX) (b) K-ECam (Mag=20.00 KX) (c) K-ICin (Mag=500 X) (d) K-ICin (Mag=50.00 KX) (e) K-CC (Mag=5.00 KX) (f) K-CC (Mag=20.00 KX).....	102
Şekil 4.56. T20-L40 (Kontrol, boş): % 11.65 T20, % 88.35 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	103
Şekil 4.57. T20-OM: % 4.63 OM uçucu yağı % 11.11 T20, % 84.26 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	103
Şekil 4.58. T20-IC: % 3.14 IC uçucu yağı % 11.29 T20, % 85.57 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	104
Şekil 4.59. T20-SC: % 2.37 SC uçucu yağı % 11.35 T20, % 86.28 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	104
Şekil 4.60. T20-ECar: % 6.78 ECar uçucu yağı % 10.84 T20, % 82.38 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	105
Şekil 4.61. T20-IE: % 5.49 IE uçucu yağı % 10.99 T20, % 82.52 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	105
Şekil 4.62. T20-SE: % 6.78 SE uçucu yağı % 10.84 T20, % 82.38 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	106
Şekil 4.63. T20-ECam: % 2.83 ECam uçucu yağı % 11.32 T20, % 85.85 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	106
Şekil 4.64. T20-CC: % 1.68 CC uçucu yağı % 11.45 T20, % 86.87 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	107
Şekil 4.65. T20-SCit: % 3.99 SCit uçucu yağı % 11.16 T20, % 84.85 SiO ₂ uygulamasına ait TGA grafiği.....	107
Şekil 4.66. Karvakrole ait kalibrasyon eğrisi.....	115

Şekil 4.67. Öjenole ait kalibrasyon eğrisi	115
Şekil 4.68. 1,8-Sineole ait kalibrasyon eğrisi.....	115
Şekil 4.69. Sitrale ait kalibrasyon eğrisi	116

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Bazı biyolojik birimlere ait boyut çapları	18
Çizelge 1.2. Bazı formülasyon birimlerinin ortalama boyutları	18
Çizelge 2.1. Literatürde yer alan bazı enkapsüle edilen uçucu yağlar ve sağladığı avantajlar	33
Çizelge 2.1.'in Devamı. Literatürde yer alan bazı enkapsüle edilen uçucu yağlar ve sağladığı avantajlar	34
Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler	36
Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar	37
Çizelge 3.2'nin devamı. Çalışmada kullanılan cihazlar	38
Çizelge 4.1. Uçucu yağlara ait ölçülen fizikokimyasal parametre değerleri.....	55
Çizelge 4.2. OM'un uçucu yağ bileşimi	56
Çizelge 4.3. ECar'un uçucu yağ bileşimi.....	57
Çizelge 4.4. ECam'in uçucu yağ bileşimi.....	58
Çizelge 4.5. CC'un uçucu yağ bileşimi.....	59
Çizelge 4.6. İzole edilen etken maddelerin izolasyon verimi değerleri	60
Çizelge 4.7. OM uçucu yağından izole edilen karvakrolce zengin fraksiyonun bileşimi.....	60
Çizelge 4.8. Standart karvakrolün bileşimi	60
Çizelge 4.9. ECar uçucu yağından izole edilen öjenolce zengin fraksiyonun bileşimi	63
Çizelge 4.10. Standart öjenolün bileşimi	63
Çizelge 4.11. ECam uçucu yağından izole edilen sineolce zengin fraksiyonun bileşimi	65
Çizelge 4.12. Standart öjenolün bileşimi	65
Çizelge 4.13. IC ve SC'ye ait FTIR absorpsiyon pikleri	67
Çizelge 4.14. IE ve SE'ye ait FTIR absorpsiyon pikleri.....	68

Çizelge 4.15. ICin ve SCin'e ait FTIR absorpsiyon pikleri	69
Çizelge 4.16. IC ve SC'ye ait ¹ H-NMR kimyasal kayma değerleri.....	73
Çizelge 4.17. IE ve SE'ye ait ¹ H-NMR kimyasal kayma değerleri	76
Çizelge 4.18. ICin ve SCin'e ait ¹ H-NMR kimyasal kayma değerleri	78
Çizelge 4.19. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle ürünlerin elde edilemesinde kullanılan uçucu yağ/etken madde, Tween 20 ve silika miktarları (%)......	78
Çizelge 4.20. Dondurarak kurutma yöntemiyle enkapsüle ürünlerin elde edilmesinde kullanılan uçucu yağ/etken madde ve toplam katı (TK=AG, TK=AG+sukroz+jelatin) miktarları (%)	79
Çizelge 4.21. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen örneklerin FTIR spektrumunda yer alan bağlar ve dalga sayıları.....	81
Çizelge 4.22. Enkapsüle ürünlere ait yüzey alanları, toplam gözenek hacimleri ve çapları.....	93
Çizelge 4.23. Sol-jel enkapsüle ürünlerdeki uçucu yağ/etken madde miktarlarına ait teorik ve deneysel % oranlar	108
Çizelge 4.24. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen OM, IC ve SC'un bileşimi.....	109
Çizelge 4.25. Sol-jel yöntemle enkapsüle edilen ECar, IE ve SE'un bileşimi	109
Çizelge 4.26. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen ECam ve ICin'ün bileşimi	109
Çizelge 4.27. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen CC ve SCit'in bileşimi	110
Çizelge 4.28. Dondurarak kurutma yöntemiyle (AG uygulaması) enkapsüle edilen OM, IC ve SC'nin bileşimi	110
Çizelge 4.29. Dondurarak kurutma yöntemiyle (AG uygulaması) enkapsüle edilen ECar, IE ve SE'nin bileşimi.....	111
Çizelge 4.30. Dondurarak kurutma yöntemiyle (AG uygulaması) enkapsüle edilen ECam ve ICin'in bileşimi	111
Çizelge 4.31. Dondurarak kurutma yöntemiyle (AG uygulaması) enkapsüle edilen CC ve SCit'in bileşimi	112
Çizelge 4.32. Dondurarak kurutma yöntemiyle (K uygulaması) enkapsüle edilen OM, IC ve SC'nin bileşimi	112
Çizelge 4.33. Dondurarak kurutma yöntemiyle (K uygulaması) enkapsüle edilen ECar, IE ve SE'nin bileşimi.....	113

Çizelge 4.34. Dondurarak kurutma yöntemiyle (K uygulaması) enkapsüle edilen ECam ve ICin'in bileşimi	113
Çizelge 4.35. Dondurarak kurutma yöntemiyle (K uygulaması) enkapsüle edilen CC ve SCit'in bileşimi	114
Çizelge 4.36. Enkapsüle ürünlerin (T20-AG-K) hekzan ekstraktlarındaki etken maddelere ait piklerin alan değerleri ve kalibrasyon eğrileri yardımıyla belirlenen etken madde konsantrasyonları	116
Çizelge 4.37. Sol-jel (T20) ve dondurarak kurutma yöntemleriyle (AG-K) enkapsüle edilen uçucu yağ veya etken maddelere ait enkapsülasyon verimleri	117

1.GİRİŞ

Doğadaki tüm hayvanlar, bitkiler ve insanlar bir dengenin ürünüdürler. Tüm bitkiler insanın hizmetindedir ve insanın varoluşundan itibaren bitkilerle olan ilişkisi başlamıştır (Gezgin 2006). İlk çağlardan kalan arkeolojik bulgulara göre insanlar, besin elde etmek ve sağlık sorunlarını gidermek için öncelikle bitkilerden faydalanmışlardır (Koçyiğit 2005). Kuzey Irak'ta Şanidar Mağarası'nda 1957-1961 yılları arasında yapılan kazılarda bulunan Neandertal insan kalıntıları yanında mezarda bulunanlar, bitki-insan ilişkisinin başlangıcına ait ilk veri olarak kabul edilir. 60 bin yıl öncesinden günümüze gelen ve bir şamana ait olduğu düşünülen bu mezarda, civanperçemi, kanarya otu, mor sümbül, gül hatmi, peygamber çiçeği ve efedra gibi bitki türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Ölülerini gömmeye başlayan bir toplumda, ölen kişinin tekrar yaşama döndüğünde kullanacağı düşüncesiyle mezara konulduğu tahmin edilen bu bitkilerin, yeneler ve şifalı olanlar diye ayrılmaya başlandığının da bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Çünkü bu bitki türleri günümüzde de özellikle tıbbi bitki olarak hala önemlidir (Lewin 2000, Heinrich vd 2004).

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Bitkiler besin maddesi olarak kullanılmalarının yanı sıra koku verici ve tat verici olarak da kullanılmaktadırlar. Bitkilerin tedavi amacıyla kullanılması ise ilk uygarlıklara kadar dayanır. Bitkilerden elde edilen ilk etken madde 1805'te Alman Kimyacı Serturme tarafından afyon bitkisinden izole edilen morfindir. Bunu 1820'de kınakının kabuklarından kinin, 1868'de yüksük otu (*Digitalin*) yapraklarından kalp yetmezliği tedavisinde kullanılan digitalin ve 1890'da söğüt dalı kabuğundan asetil salisilik asidin izolasyonu takip etmiştir (Baytop 1984).

Ülkemizdeki bitkisel zenginlik; üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orijin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu, muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşundan ileri gelmektedir (Toroğlu ve Çenet 2006). Yurdumuzda 9000'e yakın farklı doğal bitki türü bulunmaktadır ve bunların % 30'u endemiktir. Buna rağmen bu bitki zenginliğinden yeterince faydalanılamamaktadır (İlçim vd 1998). Türkiye Florası'na "Flora of Turkey and The East Aegean Islands" göre, Türkiye 174 familyaya ait 1251 cins ve 12.000'den fazla tür ve tür altı taksonu (alt tür ve varyete) ile oldukça zengin bir bitki varlığına sahiptir (Davis 1985, 1988, Güner vd 2000). Bu taksonların 234'ü yabancı kaynaklı ve kültür bitkisidir. Geriye kalan diğer türler ise yurdumuzda doğal yayılış gösteren bitkilerdir (Ekim vd 1989, Erik ve Tarıkahya 2004). Tüm Avrupa kıtasının yaklaşık 12.000 kadar bitki taksonuna sahip olduğu düşünüldüğünde yurdumuzun bitki örtüsü bakımından nedenli zengin olduğu görülmektedir (Ekim vd 2000). Endemizm (Yeryüzünün yalnızca belirli bölgelerinde yayılış gösteren) bakımından da yurdumuz oldukça zengindir. Tüm Avrupa ülkelerindeki toplam endemik takson sayısı yaklaşık 2750 iken ülkemizdeki endemik tür sayısı 2891'dir. Bu sayıya endemik olan 497 alt türü ve 390 varyeteyi dahil ettiğimizde toplam endemik takson sayısı 3750'den fazladır (Güner vd 2000).

Sanayileşmenin dünyamıza getirdiği kitle üretimi, ilaç sanayinde sentetik ve yarı sentetik ilaçlar lehinde bir gelişim gösterdiğinden bitkisel ürünlerin bu sektörde

kullanımı git gide azalma eğilimindeydi. Son yıllarda sentetik ilaçların kullanımı sonucu meydana gelen ciddi yan etkiler ve bunların yol açtığı medikal ve ekonomik sorunlar bitkilerle tedaviyi tekrar popüler hale getirmiştir (Özbek 2005). Doğaya dönüş süreci böyle bir ihtiyaçla başlamış, talebin büyüklüğü arzı gerekli kıldığı için bugün bilhassa gelişmiş ülkelerde bitkisel kökenli ilaç ve kozmetik sanayi hızla gelişen sektörler haline gelmiştir (Baser, 1990). Romanya, Macaristan, Çin, Kore, Japonya ve Bulgaristan örneklerindeki gibi birçok ülkede bitkilerle tedavi bir devlet politikası halinde yürütülmektedir (Altan vd 1999, Baytop 1999, Başer 2001, Kandemir ve Beyazoğlu 2002, Ertuğ 2004b, Şimşek vd 2004).

İnsanlık tarihi boyunca birçok hastalık (şeker hastalığı, sarılık, nefes darlığı vb.) bitkiler kullanılarak tedavi edilmeye çalışılmış ve çalışılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünyada yaklaşık 4 milyar insanın sağlık sorunlarını ilk etapta bitkisel ilaçlarla gidermeye çalıştıklarını bildirmektedir (dünya nüfusunun % 80'i). Ayrıca, gelişmiş ülkelerde reçeteli ilaçların yaklaşık % 25'ini bitkisel kökenli etken maddeler (vimbilastin, rezerpin, kinin, aspirin vb.) oluşturmaktadır (Farnsworth vd 1985). Özellikle 1990'lı yıllardan sonra, tıbbi ve aromatik bitkilerin yeni kullanım alanlarının bulunması, doğal ürünlere olan talebin artması; bu bitkilerin kullanım hacmini her geçen gün arttırmaktadır. Günümüzde tıbbi bitkiler piyasasının yıllık yaklaşık 60 milyar dolarlık bir rakama sahip olduğu tahmin edilmektedir (Kumar 2009).

1.1. Çalışmada Kullanılan Bitkilerin Özellikleri

Bu çalışmada *Origanum minutiflorum* (kekik), *Eugenia caryophyllata* (karanfil), *Eucalyptus camaldulensis* (okaliptus) ve *Cymbopogon citratus* (limon otu) bitkileri ile çalışılmıştır. *Origanum minutiflorum*'un endemik ve ihraç edilen türlerimizin başında oluşu, *Eugenia caryophyllata*'nın uçucu yağ oranının yüksek oluşu, *Cymbopogon citratus*'un doğal floramızda yetişmediği halde sıcak bölgelerimizde adapte edilerek yetiştirilebilir olması ve kıyı şeridimizde adaptasyonu başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiş olan *Eucalyptus camaldulensis*'in değerlendirilmesi adına bu bitki türleri seçilmiştir. Ayrıca bitki türlerine ait uçucu yağların göstermiş olduğu yüksek biyolojik aktivite (antimikrobiyal, antioksidan vs.) de bitki türü seçiminde önemli rol oynamıştır.

1.1.1. *Origanum minutiflorum*'un genel özellikleri

Origanum cinsinin kullanımı binlerce yıl öncesine dayanır. İncil'de bahsedilen 'hyssop' (Çürdük, Zufa otu)'un *O. syriacum* L. olduğuna inanılır. Avrupa'daki uzun hikayesine rağmen *Origanum* cinsi bu yüzyılın başında Amerika'ya girmiştir (Bernáth 1996). Ülkemizde *Origanum* türlerinin kullanımı çok eski zamanlarda başlamış olup bitkinin kullanımı paleolitik döneme kadar inmektedir (MÖ 50.000-7.000) (Kitiki 1996). Geleneksel bir baharat ve halk ilacı olan *Origanum* bitkisini eski Yunanlılar güzel kokularında, kozmetik ve ilaçlarda kullanırlar ve "dağların sevinci" anlamına gelen "oregano" adıyla anarlardı (Xhuveli ve Lipe 1996).

Origanum türleri *Lamiaceae* familyasının karakteristik özelliklerine sahip, ya çalimsı ya da otsu çok yıllık bitkilerdir (Davis 1982). Bu türler özellikle Akdeniz ülkelerinde, Avrupa, İran, Anadolu, Kuzey Amerika, Asya'nın bir bölümü ve Sibirya'da yetişir. Ayrıca *Origanum* türlerinin pek çok ülkede kültürü yapılmaktadır (Ietswaart

1980, Putievsky ve Ravid 1982). *Origanum* türleri 10 seksiyonda toplanan 38 tür ve 17 hibritten oluşmaktadır (Ietswaart 1980). Ülkemizde 8 seksiyona ait 21 *Origanum* türü doğal olarak yetişmektedir (Davis 1982).

Anadolu'da "Mercanköşk" adıyla bilinen *Origanum* türleri, tüm dünyada eski çağlardan beri ilaç ve baharat olarak kullanılan bitkilerdir. Dünya piyasasında önemli bir yere sahip olan "Türk Oreganosu" Batı ve Güney Anadolu'da yaygın olarak yetişen *Origanum onites* L.'den elde edilmektedir (Ravid ve Putievsky 1986, Lawrence 1984). "Kekik" olarak belirtilen drog, ülkemizde *Origanum*'lar dahil "Kekik" olarak tanınan tüm bitkileri içine almaktadır. İç piyasaya bakıldığında, iki *Origanum* türünün; *O. vulgare* ssp. *Viride* (İstanbul kekiği) ve *O. onites*'in (İzmir kekiği) kullanıldığı görülür (Baytop 1991, Tanker 1962). Bu türlerin dışında ülkemizde yetişen diğer *Origanum* türleri de yetiştikleri bölgelerde halk tarafından gerek uçucu yağ elde edilerek, gerekse doğrudan herbası kurutulularak, çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Baytop 1984).

Origanum türleri uçucu yağlarında ana bileşenler olarak genellikle karvakrol ve timol taşırlar (Ravid ve Putievsky 1986, Şarer vd 1984, Farag vd 1989a). Ancak karvakrol ve timolü az içeren/ içermeyen *Origanum* uçucu yağlar da vardır (Oberdieck vd 1981, Berrada vd 1988). *Origanum* türlerinden elde edilen uçucu yağlar, başta koleretik ve antimikrobiyal etki olmak üzere bazı terapötik etkilere sahiptirler. Ayrıca ilaç, kozmetik, parfüm, likör ve sabun endüstrisinde de kullanılırlar (Farag vd 1989 (b), Souleles 1991).

Origanum minutiflorum O. Schwarz ve P.H. Davis 35 cm'e kadar boylanabilen çok yıllık yarıçalıdır. İnce tüylüdür. Her gövdede 4'er cm'lik 10 çift dal bulunur. Yapraklar saplı ya da sapsızimsı (yaprak sapı 6 mm kadardır), ovat veya eliptiktir ve yaklaşık 3-16 x 1-12 mm, $\pm$ keskin sivri uçludur. İğneler yaklaşık 2-8 x 3 mm'dir. Brakteler ovat ya da eliptik, 1-3 x 0.5-1.5 mm'dir, nerdeyse küt uçludur. Kaliks yaklaşık 2 mm; üst dudak loblu veya boyunun yaklaşık 2/5'i kadar olabilen $\pm$ genişçe üçgen dişli; alt dudak aşağı yukarı üst dudak kadar uzun, genişçe üçgen dişten oluşmaktadır. Korolla beyaz renkli, 2,5-4 mm'dir. Tohumlar fındıksı, yumurta biçimli, küçük 1 mm, düz ve kahverengi renklidir. Kayalık kireçli yamaçlarda 1500-1800 m'de yayılış gösterir. Endemik, Doğu Akdeniz elemanıdır (Davis vd 1982). Bitki 4 farklı gelişim dönemi göstermektedir;

I. Dönem: Çiçeklenme Öncesi Dönem (Mayıs-Haziran)

II. Dönem: Çiçeklenme Dönemi (Temmuz-Ağustos)

III. Dönem: Tohum Dönemi (Eylül-Ekim)

IV. Dönem: Tohum sonrası Dönem (Kasım-Aralık)

Türün yayılış gösterdiği alanlar;

Tip Örneği: C3 Antalya; Kemer, Tahtalı Dağı, Çukur Yayla 1000 m. 15.viii.1947, P.H. Davis 14185.

Çalbalı Dağı, Kar Çukuru-Feslikan Yaylası arası 1800 m. P.H. Davis 15402.

Gebiz, Bozburun Dağı, Tozlu Çukur Yaylası-Boğaz Ağzı arasında P.H. Davis 15509.

O. minutiflorum 'un yöresel isimleri; Sütçüler-Isparta yöresinde Eşek kekiği, Antalya yöresinde Toga kekiği veya Yayla kekiğidir (Baytop 1997).

1.1.2. *Eugenia Caryophyllata*'nın genel özellikleri

Eugenia caryophyllata (*Jambosa caryophyllata*, karanfil ağacı), vatani Filipinlerin güneyi Moluk adaları olan, 15-20 m boyunda, yaprak dökmeyen büyük ağaçlardır. Günümüzde, Madagaskar, Endonezya, Brezilya, Sri Lanka ve Tanzanya' da kültürü yapılır ve dünya ihtiyacı bu ülkeler tarafından karşılanır. Çiçekler dalların ucunda ve üçlü gruplar halinde bulunur. Çiçekler tomurcuk halinde iken ve yeşil olan ovaryumu koyu kırmızı renk alınca toplanır. Bazı bölgelerde yılda iki kez ürün elde edilir. Boyu 1,5-2 cm'ye ulaşan tomurcuklar uzun kaliks yapıya sahiptir, merkezden açılan dört sepal ve merkezde açılmamış formda bulunan dört sepalden oluşmaktadır. %14-20 civarında uçucu yağ ve bir miktar tanen taşır. Bilinen en eski baharatlar arasındadır. Koku ve tat düzenleyici olarak galenik preparatlara konur. Karanfil esansı, çiçek tomurcuklarından su buharı destilasyonu ile elde edilir, % 80-90 öjenol taşır. Hoş kokuludur, kuvvetli antiseptik ve analjezik etki gösterdiğinden diş hekimliğinde bu amaçla kullanılır. Diş macunu, gargara gibi preparatların bileşimine girer. Gıda sanayiinde ve parfümeride kullanılır (Tanker vd 2007, Kim vd 1998).

Hemen hemen tüm dünya mutfaklarında tüm halde veya öğütülmüş halde baharat olarak kullanılır. Avrupa ve Asya'da sigaralarda kullanılırken Çin ve Japonya kültüründe tütsü olarak kullanılır. Karanfil uçucu yağı ise aromaterapi ve sıklıkla diş ağrılarında ve tedavilerinde kullanılır (Kim vd 1998).

Karanfilin astım ve çeşitli alerjik hastalıkların tedavisinde ağız yolu ile ilaç olarak kullanımının başarılı olduğu belirtilmiştir (Kim vd 1998). Karanfil uçucu yağının başlıca bileşeni öjenoldür. Öjenolün çinko oksit ile karışımı diş hekimliğinde kullanılmaktadır (Lee and Shibamoto 2001). Karanfil uçucu yağı mineral yağı ile karıştırılarak (%1 karanfil yağı) geleneksel japon kılıçlarının kararmasına ve lekelenmesine karşı koruyucu olarak yüzeyinin cilalanmasında kullanılır (Cai and Wu 1996). Ayrıca öjenol ya da metoksifenol türevleri parfüm ve koku endüstrisinde yaygın kullanım alanına sahiptir. Bunlar böcek çekici, analjezik, UV absorbe edici, biyosit ve antiseptik formülasyonlarda kullanılmaktadır (Lee and Shibamoto 2001).

Karanfil uçucu yağı karanfil bitkisinin tomurcuk, sap ve yapraklarından elde edilebilir. Bunlardan her biri farklı kimyasal kompozisyona ve kokuya sahiptir ancak içlerinde en kaliteli ve pahalı olanı tomurcuklardan elde edilen öjenol (% 80-90) , öjenol asetat (% 15) ve beta karyofillen (% 5-12) içeren uçucu yağdır. Sekonder metabolit olan uçucu yağ miktarı, iklim, kültüre alma tekniği, toprak özellikleri ve genetik faktörlere bağlıdır (Arslan vd 2004). Son yıllarda Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde kültüre alma çalışmaları başlamış bulunmaktadır.

1.1.3. *Eucalyptus camaldulensis*'in genel özellikleri

Okalıptüsler, Avustralya'da ve Timor, Yeni Gine ve Filipinler'i de kapsayan kuzeyindeki adalarda doğal olarak bulunmaktadır (Anonim 1979). Okalıptüs cinsi Türkiye'ye ilk defa 1885 yılında *Eucalyptus camaldulensis* türü ile girmiştir. Adana-Mersin demiryolunu yapan Fransız şirketi tarafından demiryolunun etrafına süs bitkisi olarak dikilmek amacıyla getirilmiştir (Adalı 1944). Türün egzotik bir tür olması ve hızlı büyümesi nedeniyle Çukurova bölgesinde park ve bahçelerde hızla yaygınlaşmıştır (Gürses 1990).

Hızlı büyüyen ve 50 m boya ulaşabilen bir türdür. Tanence zengin olan ve levhalar halinde dökülen kabuk, genç iken gümüş renginde, yaşlılarda esmer boz renktedir. Yaprakları mızrak ya da tırpan biçiminde, saplı ve her iki yüzü de mavimsi yeşil renktedir. Çiçekler beyaz renkte olup, 5–10 çiçekli şemsiye kurulları halinde, yaprakların koltuğundadır. Meyve kapsülleri 5–6 mm uzunlukta olup topaç biçimindedir. Tohumlar küçük, çok yüzölçümlü, köşeli ve kahverengidir. Koyu renkli öz ve açık renkli diri odunu vardır (Kayacık 1982).

Su buharı destilasyonu ile elde edilen uçucu yağı renksiz veya hafif sarı renkli olup, başlıca kullanım alanları tıbbi ve farmasötik amaçlıdır (Giamakis vd 2001). Dr. Kubler ve Dr. Zembert, yapraklarından elde edilen yağın psikiyatride kullanıldığını, uçucu olan bu yağın etkisinin terementine benzediğini bildirmişlerdir. Okaliptus yağı, kafur kokusunda olması nedeniyle sinir sistemini etkileyerek rahatlama sağlamaktadır. Bunun yanında lokal olarak kanamaların durdurulmasında, masaj yoluyla migren ve baş ağrısı gidermede, solunum yolları tıkanıklığında, kronik bronşitte, öksürükte, tüberkülozda, yapraklarının çiğnenmesi yoluyla dişeti ve ağız hastalıklarında, sıtmada, pansuman maddesi olarak yaralanma ve iltihaplarda kullanılmaktadır. Okaliptus yapraklarından elde edilen okaliptol (1,8-sineol), ilaç kodeksine girmiş olup günümüzde de kullanılmaktadır (Baytop 2000, Gökçe ve Karlıkaya 2002). Okaliptus türlerinde uçucu yağların % 25-% 90 aralığında en çok yapraklarda bulunduğu ve en fazla bulunan 1,8-sineolün yanı sıra, monoterpen hidrokarbonların ilk üç ana bileşen olduğu, seskuiterpen hidrokarbonları ve oksijenlenmiş monoterpenleri ise daha az miktarlarda içerdikleri bildirilmiştir (Pagula vd 2000).

1.1.4. *Cymbopogon Citratus*'un genel özellikleri

Asya'nın güney ve güneydoğusunda tropikal bölgelerinde yetişen bazı *Cymbopogon* türleri, eczacılık ve parfümeri sanayiinde kullanılan uçucu yağlar içerirler; bu nedenle bu bitkilerin Orta ve Güney Amerika, Afrika ve diğer tropik bölgelerde geniş çapta kültürü yapılır (Tanker vd 2007). İngilizce Lemongrass, Citronella, Squinant ve lemon grass olarak Türkçe limon otu olarak isimlendirilmektedir. Kuru, toz halde ya da taze olarak tüketilen limon otu çay, çorba, balık ve deniz ürünleriyle beraber sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca gıda, parfümeri, sabun, kozmetik, farmasötik ve insektisit endüstrisinde uygulama alanına sahiptirler (Negrelle ve Gomes 2007).

Gramineae familyasından olan *Cymbopogon citratus* türü kısa rizomlu yapıya sahiptir, şerit şeklindeki büyük yapraklarının eni 1.3-2.5 cm boyu 90 cm civarında olup yoğun kümeler halinde bulunurlar. Biyolojik aktivitesinden sorumlu flavonoid ve fenolik bileşikler, terpenoidler ve uçucu yağ içerirler. Su buharı destilasyonu ile % 1-2 oranında elde edilen uçucu yağ limon kokusunda olup, coğrafik orijinine göre kimyasal içeriği değişiklik gösterir. % 70-80 kadar sitral içerir. Ticarete Lemon grass esansı olarak bilinen bu yağdan sitral elde edilir.

Tropik bölge bitkisi olan *Cymbopogon* türleri Türkiye'de doğal olarak yetişmemektedir. Antalya ve Mersin'de bu bitkilerin kültürü alma çalışmaları yapılmış olup bitkilerin çok soğuk geçen kış aylarında korumaya alınması ile yetiştirilebileceği kanıtlanmış bulunmaktadır (Tanker ve Tanker 1990).

1.2. Uçucu Yağlar

Esansiyel yağlar; bitkilerin yaprak, çiçek, kabuk, tohum ve köklerinden, su buharı destilasyonu veya diğer ekstraksiyon yöntemleri ile elde edilen, oda sıcaklığında genellikle sıvı formda olan, kolayca kristallenebilme özelliğine sahip, çoğunlukla renksiz veya açık sarı renkli bileşimlerdir. Bunlar aynı zamanda bulunduğu bitkiye karakteristik özellik sağlayıp bitkiye ait koku, yakıcı lezzeti veren, çok sayıda kimyasal bileşenden oluşan, oda sıcaklığında uçucu özellikte olan ve su ile sürüklenme özelliğine sahip yağimsı karışımlardır. En belirgin özellikleri ise uçucu ve kokulu olmalarıdır. Esansiyel yağlar halk arasında; uçan yağ, eterik yağ, eteri yağ, kokulu yağ, esans yağı, uçucu yağ veya ruh gibi farklı isimlerle anılmaktadır. Esas olarak terpenlerden oluşan suda çözünmeyen, fakat organik çözücülerde kolaylıkla çözünen karışımlardır. Özellikle çiçek ve meyvelerde daha fazla bulunurlar (Sevinç 1995). Uçucu yağın bitkide ya doğrudan doğruya protoplazmada olduğu veya hücre çeperinin özel bir tabakasında meydana geldiği ileri sürülmektedir. Çoğunlukla serbest haldedirler ve bunlara ‘gerçek uçucu yağ’ denir. Bazen de belirli bazı heterozitlerin hidrolizi sonucu ortaya çıkarlar (Tanker ve Tanker 1990).

Uçucu yağlar bazen bitkinin tamamında bazen de sadece belirli kısımlarında bulunur. Yaprak, çiçek, meyve, tohum, kök ve rizomlar bitkinin uçucu yağ taşıyan kısımlarındandır. Uçucu yağ bitkinin her kısmında bulunabilir (Sakar ve Tanker, 1991). Örn: çiçek (Lavanta çiçeği- *Lavandulae flos*, gül- *Rosae flos*), yaprak (Tıbbi Nane yaprağı - *Menthae piperitae folia*), meyva (Anason meyvası- *Anisi fructus*), toprak üstü kısımları (Kekik-*Thymi herba*), kabuk (Tarçın kabuğu- *Cinnamomi Cortex*), rizom (Zencefil- *Zingiberis rhizoma*), kök (Kediotu kökü- *Valerianae radix*), odun (Guayak odunu- *Guaiacum lignum*) vb gibi. Uçucu yağların drogdaki miktarları çok değişiktir. Tipik uçucu yağ içeren droglar en az % 0.01, genellikle % 1–2, bazı durumlarda ise % 10’u aşan oranlarda uçucu yağ taşırlar. Bugüne kadar araştırılan yaklaşık 300 familyadan % 30’unda uçucu yağa rastlanmıştır. Uçucu yağlara genellikle tohumlu bitkilerde rastlanmaktadır. Önemli uçucu yağ taşıyan familyalar *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Coniferae*, *Lamiaceae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rosaceae* ve *Rutaceae*’ dir (Zeybek 1985, Ceylan 1987).

Kimyasal bileşimleri bakımından büyük ayrıcalıklar gösterebildikleri halde fiziksel özellikleri açısından uçucu yağların, ortak yönleri oldukça çoktur. Genellikle sıvıdırlar (anason esansı 15-19 °C’de donar), buharlaştırıldıklarında geride herhangi bir kalıntı bırakmazlar. Kendine özgü kuvvetli ve hoş kokuları vardır, acı ve birçoğu baharlı lezzettedir. Kırılma indisleri yüksektir, çoğunluğu optikçe aktiftir ve spesifik çevirme açıları uçucu yağı tanıtmaya yarayan önemli özelliklerinden biridir. Kırılma indisinde ve polarize ışığı çevirme derecesinde oluşan değişimler uçucu yağın saflığının bozulduğunu gösterir (Demirçakmak 1994, Tanker vd 1990). Uçucu yağların pek çoğu renksiz olduğu halde kırmızı ve mavi renkli uçucu yağlar da vardır. Tarçın ve karanfil yağları kırmızı, papatya yağı mavi mürekkep rengindedir. Ayrıca uzun süre açıkta kalacak olurlarsa renkleri koyulaşır. Uzun süre saklamada, ışık veya oksijenin etkisi ile uçucu yağların bazıları reçineleşir. Bu durumda genellikle bir koku değişimi ve yağın kalitesinin azalışı söz konusu olur. Uçucu yağlar petrol eteri, benzen, eter, etanol gibi organik çözücülerin çoğunda çözünürler. Sulu etanolde çözüneme, uçucu yağları sabit yağlardan ayıran özelliklerden biridir ve belli derecedeki etanolde çözünürlük oranı da, uçucu yağların saflık kontrolünde yararlanılan özelliklerindendir. Uçucu

yağların hacim olarak kaç katı sulu etanolde berrak olarak çözündüğü, kodeks ve farmakopelerde belirtilmiştir.

Bitkide herhangi bir biyolojik olaya katılmayan bu salgı maddelerinin hangi amaçla oluştuğu tam olarak bilinmemektedir. Ancak, bitkinin artık metabolizma ürünlerinin atılmasında rol oynadıkları yani detoksifikasyon ürünü oldukları ileri sürülmektedir (Koltuksuz 2007). Bitki için gerekli oksijeni sağlarlar. Uçucu yağların yaydıkları koku ile böcekleri cezbederek tozlaşmaya yardımcı olduğu, böcekleri kaçırıcı etkide olanların ise bitkinin korunmasında etkili olduğu düşünülebilir. Ayrıca uçucu yağ taşıyan bitkilerin genellikle Akdeniz ve step iklimleri gibi sıcak iklimlerde fazla yetişmesi nedeniyle uçucu yağın bitkinin üzerindeki havayı bağlayarak fazla su kaybını önlediği düşünülmektedir (Tanker ve Tanker 1985, Baytop 1986, Demirçakmak 1994).

Uçucu yağlar parfümeride, aromaterapide, kozmetikte, tütsü olarak, yiyecek ve içeceklerin tatlandırılmasında, tıpta, farmakolojide, tarımda ve ev temizlik ürünlerinde kullanılır. Bu yağlar koku ve tat özelliklerinden dolayı gıda sanayisinde önemli bir konuma sahiptir. Aynı zamanda da eczacılıkta, ilaçların koku ve tatlarını düzeltici olarak kullanılırlar (Başer 2009, Tanker ve Tanker 1985).

Uçucu yağların iritan (uyarıcı), rubefiyen (deriyi kızartan), nervinatik (sinir yatıştırıcı), antiromatizmal, ekspektoran (balgam söktürücü), antitussif (öksürüğü kesen), diüretik (idrar söktürücü), emenagog (adet söktürücü), karminatif (gaz giderici), stomaşik (midevi), koleretik (safra sökücü), anti helmintik (solucan düşürücü), antienflamatuvar, antiseptik, antibiyotik ve sedatif etkileri tespit edilmiştir (Sakar ve Tanker 1991, Zeybek 1985, Ceylan 1987).

Dünyada uçucu yağ üretimi birçok ülkede yapılmaktadır. Uçucu yağ üreten ülkeler arasında gelişmekte olanların yanında gelişmiş ülkeler de bulunmaktadır. Bu durum uçucu yağ bitkilerinin üretiminin gelişmiş ülkelerde karlı olması nedeni ile yapıldığını göstermektedir. Ayrıca fazla bir yatırıma gerek duymadan uçucu yağın elde edilebileceği, uçucu yağın gelişmiş ülkeler yanında az gelişmiş ülkelerde de elde edilmesinden anlaşılmaktadır (Ceylan 1997).

Uçucu yağlar, yükte hafif, pahada ağır ürünlerdir. Örneğin, 1 kg gül yağı elde etmek için 3,5 ila 4 ton taze gül çiçeğinin distile edilmesi gerekir. Uçucu yağın kalitesini içerdiği uçucu bileşikler belirler. Bir uçucu yağın bileşiminde bazen irili ufaklı yüzlerce bileşik bulunabilir. Bu bileşikler Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile birbirinden ayrılarak tanımlanırlar. Kaliteyi etkileyen faktörlerin başında koku ve kimyasal bileşim gelir. Her uçucu yağda, yağa karakteristik özelliğini veren doğal kimyasalların, belli oranlarda bulunması ve istenmeyen kimyasalların ise bulunmaması veya çok az oranda bulunması gerekir (Başer 2009).

1.2.1. Uçucu yağların kimyasal yapısı

Uçucu yağların çoğunun ana bileşenleri, hidrokarbonlar (terpenler, seskiterpenler gibi), esterler, laktonlar, fenoller, aldehitler, asitler, alkoller, ketonlar, eterler vb. şeklindedir (Singh 1993). Bunların arasında oksijenli bileşikler (alkoller, esterler, aldehitler, ketonlar, laktonlar, fenoller vb.), uçucu yağların aromasına katkısından dolayı monoterpen hidrokarbonlardan daha değerlidir ve daha hoş kokuludurlar (Guenther 1948). Esansiyel yağlardaki oksijenli bileşikler, oksidasyona

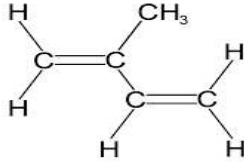
karşı daha kararlıdır ve seyreltik alkolde daha iyi çözünme özelliği gösterirler. Monoterpenler ve seskiterpenler gibi doymamış bileşikler, oksidasyon ve reçineleşmeye daha kolay eğilim gösterirler (Singh 1993), hava ve ışık etkisi altında veya olumsuz saklama koşulları altında koku ve aromalarında bozulma ve alkoldeki çözünürlüğünde azalma görülür (Guenther 1948).

Terpenoitler yapısında beş karbon bulunduran izopren (C_5H_8) (Şekil 1.3.1) moleküllerinin kondensasyonu ile meydana gelirler Uçucu yağların bileşenleri 3 temel grupta toplanabilir:

(a) $(C_5H_8)_n$ genel formülüne sahip olan hidrokarbonlar: $n=2$ ise monoterpenler; $n=3$ ise seskiterpenler; $n=4$ ise diterpenler,

(b) hidrokarbonlardan oluşan oksijenli bileşikler, alkoller, aldehytler, ketonlar, fenoller, esterler ve eterler,

(c) kükürt ya da azot içeren diğer özel bileşiklerdir (Karger vd 1973).



Şekil 1.1. İzopren molekülünün açık kimyasal formülü

Monoterpenler uçucu yağ bileşimlerinde en yüksek oranlarda (% 90) bulunan moleküllerdir. Turunçgil kabuklarında bulunan limonen, çam yapraklarında ve zambındaki α -pinen monoterpenlerin en çok tanınanlarındandır. Seskiterpenlerden ise kereviz yağının taşıdığı β -selinen, ardıç ve sedir yağındaki kadinen ve vadi zambağından elde edilen farnesol en yaygın bilinenlerdir. β -karoten en çok bilinen tetraterpendir (Tyler vd 1988, Heath 1981, Tanker ve Tanker 1985).

1.2.2. Uçucu yağların elde edilme yöntemleri

Uçucu yağ eldesi için 1300'lü yılların başında İspanya ve Fransa'da destilasyon metodu geliştirilmiş, 1550'li yıllara gelindiğinde farmakoloji gibi farklı dalların ihtiyacına cevap verebilmek amacıyla yeni teknikler uygulanmaya başlanmıştır (Rangahau 2001). Uçucu yağlar; bitkisel droglardan uçucu yağ miktarı ve bileşenlerine göre değişik yöntemlerle elde edilebilir (Özek 1990). Bu yöntemler 3 ana grupta toplanmıştır.

1. Mekanik yöntem

2. Ekstraksiyon yöntemi

a) Organik çözücü ile tüketme

b) Sabit yağ ile tüketme

3. Destilasyon yöntemi

- a) Su destilasyonu (Hidrodestilasyon)
- b) Buhar destilasyonu
- c) Su-buhar destilasyonu

1.2.3. Mekanik yöntem

Bazı droglardan destilasyon yöntemi ile uçucu yağ elde edilmek istendiğinde bu droglardaki uçucu yağ bozunmaktadır. Bu durumda bir kısım droga bu yöntem uygulanır. Presleme yöntemiyle elde edilen yağlar genellikle berrak değildir. Bu ekstraktleri berraklaştırmak için süzme, santrifüj, alkol ile seyreltme (fermantasyonu engellemek için), ısıtma (albüminleri çöktürmek için) gibi işlemler uygulanır.

1.2.4. Ekstraksiyon yöntemi

1.2.4.1. Organik çözücülerle ekstraksiyon

Bazı bitkilerin esansları su buharıyla bozunabilir veya bazı bitkilerin uçucu yağı çok az olduğundan esanslarını destilasyonla çıkarmak güçtür. Bu gibi hallerde ekstraksiyon (özütme) metodu kullanılır. Bu işlemde esanslı yapraklar, meyveler, kökler ve musslar uygun bir çözücü solventle ekstrakte edilirler. Solvent, işlenecek bitkisel materyale göre seçilir. En çok kullanılan solventler; benzen, benzen+aseton karışımı ya da benzen+petrol eteri karışımıdır. Ekstraksiyon, normal sıcaklıkta ya da solventin kaynama noktasında gerçekleştirilir. Ekstraksiyon solventi olarak sıvı bütan da kullanılabilir. Son yıllarda ise CO₂ ekstraksiyonu (süper kritik sıvı ekstraksiyonu) en popüler ekstraksiyon biçimi kabul edilmektedir (Pocher 1993). Fakat çok pahalı sistemler olmasından dolayı yaygın değildir. Ekstraksiyon sırasında solvent uçucu yağlarla birlikte bitkisel mumsu, pigmentleri ve başka bazı hidrofobik bitkisel maddeleri de çözer. Bu bakımdan solventin destilasyonunda geriye kalan ürün "concrete" (konkret) dir. Konkret sıvı, yarı katı veya katı olabilir. Bazı konkretlerin % 50'sinden fazlasını sabit yağ, mum ve farklı miktarlarda pigment oluşturur. Konkret, sıcak etanol ile özütlenir ve alkol vakum altında uzaklaştırılırsa saf uçucu yağ veya absölü elde edilir. Kullanılan çözücü inert, kaynama noktası düşük, seçici, ucuz, kolay elde edilebilir ve su ile karışmayan bir çözücü olmalıdır (Curtis ve Williams 1994).

1.2.4.2. Anfloraj

Yağlar yüksek absorpsiyon gücüne sahiptirler ve koku maddesi taşıyan droglar, yağlarla temas ettirilirlirse içeriği kolayca absorplarlar. Bu yöntemin adı Anfloraj (Enfleurage)'dır. Anfloraj tekniği, 1750 yılında bulunmuştur (Boydağ 2004). Yasemin, sümbülteper gibi bazı çiçekler az miktarda yağ içerdiklerinden ya da narin yapılarından dolayı uçucu yağları destilasyonla elde edilemez. Bu gibi durumlarda, anfloraj diye adlandırılan zahmetli ve uzun süren işlem uçucu yağ elde edilmesi için kullanılır. Enfloraj, örneklerin soğuk hayvansal yağa temas ettirilmesiyle gerçekleştirilir. 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 anfloraj yağından ekstraksiyonunda ise petrol eteri kullanılır. Anfloraj yöntemi de Maserasyon gibi zaman alan bir işlemdir (Mukhopadhyay 2000).

1.2.4.3. 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 yağa katılır. Bu işlem, yağ iyice aroma maddeleriyle doyana kadar devam ettirilir. Maserasyon, oldukça fazla zaman alan verimsiz bir işlemdir (Mukhopadhyay 2000).

1.2.5. Destilasyon yöntemi

Uçucu yağların çoğunun kaynama noktası suyun kaynama noktasından yüksek olmasına rağmen, böyle iki fazlı bir sıvı sisteminde kaynama derecesi, ayrı ayrı her iki sıvının kaynama derecelerinden daima daha düşük olacaktır. Böylece uçucu yağlar destilasyon yöntemiyle bozunmaya uğramadan destile edilebilmektedir (İzgü 1973).

Birçok uçucu yağ bu yöntemle elde edilir. Bitkilerden uçucu yağların ayrılması genellikle kısa zamanda meydana gelen anlık bir olay değildir. Bunun için bitkinin suyun içinde bir süre ıslatılarak yumuşatılması gerekir. Bu süre içinde yağı bulunduran hücrelerde parçalanma veya gevşeme meydana gelir (Bayrak 2006).

1.2.5.1. Su destilasyonu

Su ile temasta iken kaynatıldığında üründe bozunmanın olmadığı hallerde uygulanan yöntemdir. Bu yöntemle bitkilerden uçucu yağ elde edilebildiği gibi aromatik su da elde edilebilmektedir. Uçucu yağların çoğunun kaynama noktası suyun kaynama noktasından yüksek olmasına rağmen uçucu yağların su buharıyla sürüklenbilme özelliğinden ve su buharının kısmi basıncının da etkisiyle normal kaynama noktalarının altındaki sıcaklıklarda buharlaşabilmektedirler. Bu işlem için kullanılacak olan su miktarı bitkisel droğu neredeyse örtecek kadardır. Sistem daha sonra dışarıdan bir su banyosu ya da mantolu ısıtıcı yardımıyla ısıtılır. Buharlaşan su ve beraberindeki yağ soğutucuda yoğunlaştırılır ve buradan ayırma kabına gelir. Ayırma kabında yağ ve su yoğunluk farkı esasına dayanılarak ayrılır. Su destilasyonu ile uçucu yağ elde edilmesi sırasında uçucu yağ bitki membranlarından sıcak su ile difüzlendirilmektedir. Kaynar su dokulara nüfuz ederek öncelikle kuvvetli polar maddeleri çözer. Karışım hücre cidarlarından difüzyona uğrar ve ısı etkisiyle hemen buharlaşır. Düşük polariteye sahip veya apolar maddeler ise daha sonra destillenir. Ancak bu işlem sırasında uçucu yağdaki bazı bileşenlerin hidroliz olması gibi veya ısı etkisiyle yağda bozunma ve parçalanması gibi bazı istenmeyen etkiler de ortaya çıkmaktadır (Duru vd 1994).

Küçük ölçekli üretimlerde Clevenger tipi bir aparatla yapılan destilasyon işlemi, endüstriyel uygulamalarda büyük destilasyon kazanlarında (imbik) gerçekleştirilmektedir. Elde edilen uçucu yağ miktarı volumetrik olarak ifade edilir.

1.2.5.2. Buhar destilasyonu yöntemi

Doygun buharla taze bitkilere uygulanan bir yöntemdir. Atmosferik basınçta yapılabildiği gibi nispeten atmosferik basınçtan yüksek basınçta da uygulanabilmektedir. Su destilasyonunda olduğu gibi bu yöntemde ısıdan bozunmayan yağlar için uygulanır. Buhar bitkinin bulunduğu kaba alttan gönderilir. Beraberinde uçucu yağı da sürükleyen buhar soğutucuda yoğunlaştırıldıktan sonra ayırma kabına gönderilerek yağ ve su birbirinden ayrılır (Duru vd 1994).

1.2.5.3. Su-buhar destilasyon yöntemi

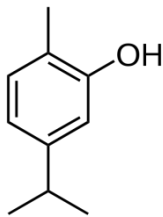
Bu yöntem buhar destilasyonuna benzer ancak destilasyon işleminde kullanılan buhar ayrı bir yerde değil buhar kazanının altında kaynatılan suyla gerçekleştirilir. Genellikle köylerde uygulanan bir yöntemdir. Bu yöntemle su destilasyonuna nazaran daha kısa sürede, daha az hidroliz olmuş, yüksek verimli uçucu yağ elde edilebilir (Başer, 2009).

Esansiyel yağların ekstraksiyonu için günümüzde birçok farklı teknik mevcuttur. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE), basınçlı sıvı ekstraksiyonu (PFE), su buharı ekstraksiyonu (WVE), basınçlı sıcak su ekstraksiyonu (PHWE), katı-faz mikroekstraksiyonu (SPME), ultrason yardımlı ekstraksiyon (UAE), mikrodalga yardımlı ekstraksiyon (MAE), mikrodalga yardımlı hidrodestilasyon (MAHD), çözgensiz mikrodalga ekstraksiyonu (SFME) (Oksal vd 2012, Uysal vd 2011) ve ileri çözgensiz mikrodalga ekstraksiyonu (ASFME) bu tekniklere örnek verilebilir (Sozmen vd 2012).

1.3. Uçucu Yağlardan Elde Edilen Etken Maddeler ve Özellikleri

1.3.1. Karvakrol

Kekik türlerinin yer aldığı Labiateae familyasının tüm cinslerinde ortak özellik, yüksek miktarda uçucu yağ içermeleri ve uçucu yağın ana bileşiminin kekiğe kendine özgü kokusunu veren karvakrol ve/veya timolün olmasıdır (Başer 2001, Baydar vd 2004). Bu maddeler kekiğe kendine özgü kokusunu veren ve antioksidan özellik kazandıran fenolik bileşiklerdir (Başer 2001). Bu bileşikler uçucu yağların %78-82'sini oluşturmaktadır (Botsoglou vd 2003). Şekil 1.2'de görüldüğü gibi Karvakrol; açık formülü; 2-metil-5-(1-metil etil) fenol, kapalı formülü; $C_{10}H_{14}O$, molekül ağırlığı; 150,21 gram/mol olan bir bileşiktir. Sinonimleri; isopropil-o-cresol, pcymen-2-ol, 2-hidroksi-peymen, 5-izopropil-2-metilfenol, iso-timol'dür (De Vincenzi vd 2004).



Şekil 1.2. Karvakrolün açık kimyasal formülü

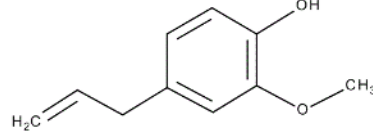
- Bilinen adları: 2-methyl-5-(1-methylethyl) phenol
- CAS kayıt no: 499-75-2
- Kapalı formülü: C₁₀H₁₄O
- Molekül ağırlığı: 150,22 g/mol
- Erime sıcaklığı: 0°C
- Kaynama sıcaklığı: 236-237°C
- Yoğunluğu: 0,976 g/cm³
- Suda çözünürlüğü: 1,25 g/L (25°C)
- Fiziksel durumu: Sıvı
- Renk: Açık sarı
- Safılık düzeyi: % 98 (Azırak 2007).

Karvakrolün çeşitli aktiviteleriyle çok sayıda antioksidan özellikleri belirlendiği için ve kimyasal yapısında hidroksil (-OH) grupları bulunmasından dolayı antioksidan olarak değerlendirilebilir (Kulisic vd 2004, Sökmen vd 2004). Karvakrol, ilaçların yapısında bulunarak pek çok hastalıkları tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Soğuk algınlığı, grip, boğaz ve kulak ağrılarında, akciğer enfeksiyonlarında, bulaşıcı hastalıklarda, yaralanmalarda ağrıyı azaltıcı ve enfeksiyon riskine karşı, artirit, kas ve baş ağrılarında, *E. coli*, hepatit, viral zatürre, menenjit ve Lyme's hastalığında, allerji, bronşit, ishal, diş ve diş eti hastalıklarında, sinüzit, astım, aft ağrılarında, ekzema, sinirlere bağlı ağrılarda, kas burkulması, yorgunluk giderici olarak, prostat, parazitlerde, sırt ağrılarında, sedef hastalığında, döküntülerde, kolit, böcek ısırmasında, gastrit, mantar hastalığında ve et ürünlerinde bakterilere karşı koruyucu olarak da kullanılmaktadır.

İpek vd (2005)'nin yaptıkları çalışmada *Origanum onites*'in yağı ve ana bileşenlerinden olan karvakrol ile yapmış oldukları çalışmada genotoksik ve antigenotoksik etkilerini Ames Salmonella/Microsome testi ile tespit etmişlerdir. Elde edilen sonuçlara göre karvakrolün önemli bir şekilde antimitojenik aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Son yapılan bir araştırmada da karvakrolün genotoksik maddelere karşı insan sağlığını koruyabileceği bildirilmiştir (İpek vd 2005). Karvakrolün memeli ventriküler kardiyomiyositlerinde L-tip kalsiyum kanallarını inaktive ettiği bildirilmiştir (Magyar vd 2004).

1.3.2. Öjenol

Öjenol, karanfil (*Eugenia caryophyllata*), tulsi (*Ocimum sanctum*), şerbetçiotu (*Humulus lupulus* L.), kişniş (*Coriandrum sativum* L.) ve fesleğen (*Ocimum basilicum* L.) gibi bitkilerden elde edilen uçucu yağların içeriğinde bulunur (Dutta vd 2007, Eyres vd 2007, Msaada vd 2007, Li vd 2007a). Öjenol fenil propanoid sınıfı allil zinciri süstitüe olmuş guaiacol (gayakol) bileşiğidir. Açık formülü şekil 1.2.2'de verilmiştir. Zayıf asidik ve uçucu fenolik bir bileşik olan öjenol karanfil uçucu yağının ana bileşeni olup % 72-90 oranında bulunur. (Barceloux 2008, Kamatou 2012) Alkol, kloroform, eter, buzlu asetik asit ve sabit yağ gibi organik çözücülerde ve sulu sodyum hidroksit çözeltisinde çözünür.



Şekil 1.3. Öjenol'ün açık kimyasal formülü

Bilinen adları: Phenol, 4-allyl-2-methoxy /4-allylcatechol-2-methyl ether / P-allylguaiacol/4-allylguaiaco/ 4-allyl-1-hydroxy-2-methoxybenzene / Carophyllic acid / Eugenol / P-eugenol / 1-hydroxy-2-methoxy-4-allylbenzene /2-methoxy-4-allylphenol

- CAS kayıt no: 97-53-0
- Kapalı formülü: C₁₀H₁₂O₂
- Molekül ağırlığı: 164.08373 g/mol
- Erime sıcaklığı: -9,2 – (-9,1) °C
- Kaynama sıcaklığı: 225 °C
- Yoğunluğu: 1,0652 g/cm³
- Suda çözünürlüğü: 2.46 g/L (25 °C)
- Fiziksel durumu: Sıvı
- Renk: Açık sarı (O'Neil 2006)

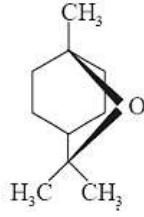
Öjenol'ün trigeminal ganglion nöronlarındaki K⁺ akımını inhibe ettiği (Li ve ark, 2007b), berber dükkânında çalışanlarda meslek hastalığı olarak astım ve rinite yol açabileceği (Quirce vd 2007), *Herpes simplex* virüs aktivitesini önleyici etkiye sahip olduğu (Tragoolpua ve Jatisatienr, 2007), anesteziye etki gösterdiği (Guénette vd 2007), *Candida albicans*'a karşı antimikotik aktiviteye sahip olduğu (He vd 2007; Braga vd 2007) ve dental aferent nöronlarda Na⁺ akımını inhibe ettiği; öjenol'ün gösterdiği analjezik aktiviteye de bu etkinin yol açmış olabileceği (Park vd 2006) bildirilmiştir.

1.3.3. 1,8-sineol

1,8-sineol bir çok uçucu yağda bulunur. Ganapathi bir çalışmasında sineolün 260 uçucu yağda bulunduğunu göstermiştir. Bazı okaliptüs türleri % 30-70 oranlarında 1,8-sineol içerir. *Eucalyptus polybractea* uçucu yağının % 92'sini oluşturduğu Berry ve Swanson tarafından belirlenmiştir. Cajuput yağında (Cajuputi oleum) % 40, Niaouli yağında (Niaouli oleum) % 35-60, defne (*Laurus nobilis*) yaprak yağında ise % 50 oranındadır. Ayrıca kakule (*Elettaria cardamomum*), zencefil (*Zingiber officinale*), lavanta (*Lavandula*) türleri, biberiye (*Rosmarinus officinalis*), reyhan (*Ocimum*) türleri, *Artemisia alpina* yağları gibi birçok uçucu yağda bulunur. 1,8-sineol okaliptüs uçucu yağından fraksiyonlu destilasyonla ayrılabilir (Tyler vd 1981).

1,8-sineol; renksiz, kafur kokusunda ve yakıcı lezzettedir. Dahilen ve haricen uygulanan ilaçların terkibine girer. Dahilen kronik bronşitte nefes açıcı etki gösterir. Haricen enflamasyon tedavisinde kullanılır. Anesteziye ve antiseptiktir. Bunların dışında sineol, oda spreylerinde, losyonlarda ve kozmetik preparatlarda kullanılır (Gunther

1975). Avrupa farmakopesinin okaliptüs yağında aradığı özelliklerden en önemlisi yağın en az % 70 oranında 1,8-sineol içermesidir (Zırira 1992).



Şekil 1.4. 1,8-sineol'ün açık kimyasal formülü

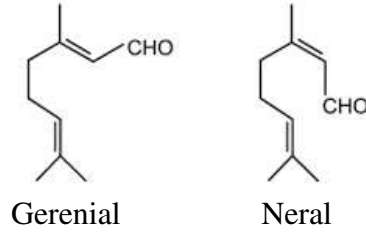
- Bilinen adları: 1,8-epoksi-p-mentan, 1,3,3-trimetil-2-oksabisiklo(2,2,2)oktan, eukaliptol veya kajeputol
- CAS kayıt no: 470-82-6
- Kapalı formülü: $C_{10}H_{18}O$
- Molekül ağırlığı: 154,25 g/mol
- Erime sıcaklığı: 1.5 °C
- Kaynama sıcaklığı: 176-177 °C
- Yoğunluğu: 0.921-0.923 g/cm³
- Suda çözünürlüğü: %0.35 w/w (25 °C)
- Fiziksel durumu: Sıvı
- Renk: Renksiz (Croteau vd 1994, Balacs 1997, O'Neil vd 2006).

Eucalyptus (Sefidkon vd 2009), *Prostanthera* (Palá-Paúl vd 2006), *Thymus* (Miguel vd 2004), *Myrtus* (Flamini vd 2004), *Tanacetum* (Rohloff vd 2004) *Salvia* (Kosar vd 2005), *Hyptis* (Sharma ve Tripathi 2008), *Melaleuca* (Yatagai vd 1998), *Artemisia* (Kalemba vd 2002) ve *Nepeta* (Kaya vd 2007) gibi bitkilerin uçucu yağında % 89.8'e varan farklı miktarlarda 1,8-sineol bulunmaktadır. 1,8-Sineol olgunlaşmış kırmızı üzümün meyvesinde bolca bulunmakta ve yapılan deneylerde kırmızı şarapta bulunan limonen ve α -terpineol'den kimyasal dönüşümle oluşabilmektedir (Fariña vd 2005). Yapılan bir araştırmaya göre *Salvia officinalis* bitkisinin içerdiği 1,8-sineol miktarı toplandığı bölgeye göre büyük farklılıklar göstermektedir (Raal vd 2007). Ayrıca bitkilerin işleme alınan bölümlerine (Aidi Wannes vd 2007), yaşlarına (Masotti vd 2003) ve toplandıkları mevsime (Vuuren vd 2007) göre 1,8-sineol miktarları değişmektedir.

1.3.4. Sitral

Doğada yaygın olarak bulunan α,β -doymamış aldehit olan sitral ($C_{10}H_{16}O$) 3,7-dimetil-2,6-octadienal olarakta adlandırılır. Sitralin cis izomeri neral, trans izomeri gerenial olarak adlandırılır, sitral bu iki aldehit izomerinin genellikle 40:60-60:40 oranında bulunan karışımıdır. Neral ve gerenial aynı molekül formülüne, farklı moleküler yapıya sahiptirler, neral ve gerenialin açık kimyasal yapısı şekil 1.2.4. de gösterilmektedir. En çok limonotunda (*Cymbopogon citratus*) % 70-90 oranında ve *Litsea cubeba* meyvelerinde % 60-75 oranında bulunurlar. Ayrıca fesleğen, melissa, zencefil, gül ve narenciye türlerinde de bulunur. Sitral güçlü limon kokulu bir bileşik olup bitkilerin uçucu yağlarında bulunur. Etanol, dietil eter ve mineral yağlarda

çözünür. Parfüm ve koku endüstrisinde ayrıca diğer kimyasal maddelerin sentezinde kullanılır (Bertero vd 2009, Ekou vd 2012).



Şekil 1.5. Geranial ve neral'in açık kimyasal formülü

- Bilinen adları: 3,7-dimetil-2,6-octadienal
- CAS kayıt no: 5392-40-5
- Kapalı formülü: $C_{10}H_{16}O$
- Molekül ağırlığı: 152.23 g/mol
- Erime sıcaklığı: $< -10\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Kaynama sıcaklığı: $229\text{ }^{\circ}\text{C}$
- Yoğunluğu: 0.888 g/cm^3
- Suda çözünürlüğü: Çözünmez ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$)
- Fiziksel durumu: Sıvı
- Renk: Açık sarı (Bertero vd 2009, Ekou vd 2012)

1.4. Enkapsülasyon

Enkapsülasyon katı, sıvı ve gaz maddenin uygun malzeme ve yöntemlerle kaplanarak kapsüller içinde tutulması, böylece çok küçük bir molekülün veya tüm bileşenlerin korunarak, salımlarını belirli koşullarda ve belirli hızlarda sağlayan teknolojidir. Kaplanan madde “aktif” veya “öz” malzeme, kaplamada kullanılan malzeme ise “kabuk”, “taşıyıcı” veya “enkapsülant” olarak adlandırılır (Wang vd 2009).

Mikroenkapsülasyon ürünlerinin gelişimi 1950’li yıllarda, karbonsuz kopya kağıdı imalatı için basınca duyarlı kaplama araştırmaları sırasında başlamıştır. Günümüzde enkapsülasyon teknolojisi oldukça gelişmiş olup, ilaç, kimya, kozmetik, gıda ve baskı sanayiinde kullanılan bir teknolojidir (Augustin vd 2001, Heinzen 2002).

Biyoaktif bileşenlerin nanoenkapsülasyonu, aktif maddelerin fiziksel kararlılığını artırmak için uygun ve verimli bir yaklaşımdır. Ayrıca diğer bileşenler ile etkileşimlerini önleyerek biyoaktivitenin korunmasını sağlar. Diğer bir deyişle, enkapsülasyon, aktif bileşiklerin etkinlik kaybını azaltabilir. Nano düzeyde enkapsülasyon, antimikrobiyal aktiviteye sahip biyoaktif bileşenlerin, mikroorganizmaların tercihen bulundukları besindeki su oranı yüksek kısımlarında ya da katı-sıvı arayüzeylerinde derişimini artırabilir (Weiss vd 2009).

Enkapsülasyon uygulanarak, depolama veya proses sırasında meydana gelen fonksiyonellik kaybı, aktif bileşen ve kabuk arasındaki uyumsuzluk, kötü aroma oluşumu, yapı bozulması, enzim aktivitesi kaybı azaltılabilir veya engellenebilirken, nem kontrolü, oksidasyona karşı koruma, aktif bileşenlerin sıralı salımı ve biyoyararlılık artırılır (Carvajal vd 2010). Enkapsülasyon çeşitleri tanecik boyutu açısından

- Nanoenkapsülasyon (200 nm=0.2 µm'den küçük)
- Mikroenkapsülasyon (0.2-5,000 µm)
- Makroenkapsülasyon (5,000 µm'den büyük) olarak sınıflandırılabilir (Kınık vd 2003).

Enkapsülasyon teknolojisinde belirlenen amaç doğrultusunda pek çok aktif madde enkapsüle edilerek korunabilir. Son yıllarda uçucu yağlar enkapsüle edilerek kararlı hale getirilmekte, böylece raf ömrü uzamakta ve kullanım olanakları artırılmaktadır.

Enkapsülasyon uygulamalarında en çok kullanılan aktif bileşenler şöyledir:

- Vitamin ve mineraller
- Enzimler ve proteinler
- Organik asitler
- Probiyotikler ve prebiyotikler
- Uçucu yağlar
- Tatlandırıcılar, koruyucular, renklendiriciler, aromalar
- Yağ asitleri (ω-3, konjuge linoleik asit)
- Karotenoidler (β-karoten, likopen)
- Antioksidanlar (tokoferol, flavonoidler, polifenoller)

Enkapsülasyonda aktif bileşenin kaplanmasında çeşitli teknikler kullanılabilir. Bu teknikler üç başlık altında incelenebilir:

- Fiziksel prosesler: püskürtmeli kurutma, ekstrüzyon, akışkan yataklı kaplama ve püskürtmeli soğutma
- Fizikokimyasal prosesler: basit veya karmaşık koaservasyon ve lipozom içine hapsedme
- Kimyasal prosesler: Arayüz polimerizasyonu ve moleküler inklüzyon (Carvajal vd 2010).

1.5. Uçucu Yağların Enkapsülasyonu

Uçucu yağların uygulamalarını yaygınlaştırmak için uçuculuklarının düşürülerek ürünlerin raf ömrünün uzatılması sağlanır. Ayrıca uçuculuğun düşürülmesiyle bileşenlerin gösterdiği biyolojik etkiler de artar. Enkapsülasyon prosesi sayesinde sıvı uçucu yağ, taşıyıcı matrise hapsedilerek kuru ve serbest akışkan bir forma dönüştürülür. Uçuculuğun düşürülmesi için, enkapsülasyon, polimer matris içerisinde dispersiyon oluşturma, kompleks oluşturma, başka bir polimer veya matrisle kovalent bağlanma gibi metotlara başvurularak kontrollü salım formülasyonları elde edilebilir. Son yıllarda bu formülasyonlar kullanılmaktadır. Uçucu yağların enkapsüle edilmesiyle spesifik (etken) maddelerin stabilizasyonu sağlanmakta, uçuculuğun düşürülmesiyle katıldıkları ürünün raf ömrünün uzaması sağlanmaktadır.

Özellikle ilaç salım sistemlerinde bahsedilen birçok metot yardımı ile çok sayıda kontrollü salım formülasyonları elde edilmiştir. Bu alandaki araştırmalarda çok sayıda yayın ve patent yer almaktadır. Bunlardan biri de uçucuların programlı salımı formülasyonudur (Deasy 1984). Şimdiye kadar uçucu yağlar ve terpenler konusunda

birçok araştırmaya rastlamak mümkündür. Bu çalışmalarda, en çok bitki seçimi, uçucu yağ elde etme teknikleri, uçucu yağdan bileşen izolasyonu, izole edilen bileşenin karakterizasyonu ve terpenlerin biyokimyasal oluşumu gibi konulara odaklanılmıştır. Uçucu yağların ürüne dönüştürülmesi anlamında formülasyon çalışmalarına genellikle endüstriyel araştırmalar alanlarında rastlanmaktadır. Bu durum çok sayıda patent çalışmalarına (Porzio 2008, Sair ve Sair 1980a, Sair 1980b, Zasykin ve Porzio 2004, Fulger ve Popplewell, 1997, 1998, McIver 2005) yol açmıştır. Ancak bu konuda çok az sayıda bilimsel yayın mevcuttur.

Mikroenkapsüle edilen uçucu yağların ve terpenlerin kullanım alanları oldukça geniştir. Bunlardan bazıları;

- Tıp
- Gıda, ev temizlik ürünleri ve kişisel bakım ürünleri
- Kozmetik
- Farmasötik
- Biyoteknoloji
- Elektronik
- Fotoğraf
- Kimya endüstrisi
- Tekstil endüstrisi

Uçucu yağlar ve terpenler için kontrollü salım yapan sistemler (enkapsülasyon), nihai ürünün kullanım amacına bağlı olarak aşağıdaki bazı tekniklerle gerçekleştirilebilir.

- Lipozomlar
- Miseller
- Mikrokapsüller ve Mikropartiküller
- Mikroküreler
 - Polimerizasyon Yöntemleri
 - Emülsiyon Polimerizasyonu
 - Dispers Fazda Jelleşme ve Çapraz Bağlanma Yöntemi
 - Emülsiyon Oluşturma/Çözücü Buharlaştırma Yöntemi

Yukarıda belirtilen sistemler kullanılarak elde edilen ürünlerin her birinin insan biyolojik membranlarına karşı olan etkinliği farklıdır. Aşağıdaki çizelgelerde (Çizelge 1.1.-1.2.) biyolojik birimlerin ve uçucu bileşen taşıyan sistemlerin boyutları listelenmiştir (Karlsen 2010).

Çizelge 1.1. Bazı biyolojik birimlere ait boyut çapları

Biyolojik Birimler	Çap (nm)
İnsan kan hücresi	7000-8000
Bakteri	800-2000
İnsan hücre çekirdeği	1000
Virüs	17-300
Biyomembranlardan geçebilir nanoparçacık	60
Kan-beyin bariyerini geçebilir nanoparçacık	4
Hemoglobin molekülü	3.3
DNA sarmalı	3
Su molekülü	0.3

Çizelge 1.2. Bazı formülasyon birimlerinin ortalama boyutları

Ürün formülasyonları	Ortalama Boyutları (nm)
Çözeltiler	0.1
Misel çözeltileri	0.5
Makromoleküler çözeltiler	0.5
Mikroemülsiyonlar	5-20
Lipozomlar (Küçük tek tabakalı veziküller)	20-150
Nanosferler	100-500
Nanokapsüller	100-500
Lipozomlar (Büyük tek tabakalı veziküller)	200-500
Lipozomlar (Çok katmanlı veziküller)	200-1000
Basit emülsiyonlar	500-5000
Mikrokapsüller	5000-30000
Çoklu emülsiyonlar	10000-100000

Farmasötik nanoteknoloji, terapötik olarak aktif bileşiklerin nanopartiküller, nanokapsüller, misel yapılar ve konjugatlar gibi biyouyumlu nano yapıların formülasyonunu geliştirmeye odaklanmıştır. Bu yapılar ilaç salım sistemleri olarak kullanıldığında, kontrollü ilaç salımının sağlanması, biyoyararlanımın artırılması, hedeflenen dokuda ilaç etkisinin uzatılması, kimyasal ve enzimatik bozulmaya karşı terapötik ajanın stabilitesinin artırılması ilaçların güvenliği ve etkinliğinin geliştirilmesinde birçok avantaja sahiptirler. Nano boyuttaki yapılar hücre membranı ve proteinlerle artırılmış bir etkileşime sahiptirler. Nanopartiküllerin boyutu ve yapısı onları biyomedikal cihazlara entegre olmasını kolaylaştırır (Mahapatro ve Singh 2011).

1.6. Sol - Jel Yöntemi ile Enkapsülasyon

1.6.1. Sol - jel yöntemi

İnorganik seramik ve cam malzemelerin sol-jel yöntemi ile eldesi için, 1800’lü yılların ortalarında Ebelman ve Graham’ın silika jel ile yaptıkları çalışmalar, bu alana yönelik ilgiyi yoğunlaştırmıştır. Bu araştırmacılar, tetraetilortosilikatın (TEOS) $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$, asidik koşullar altında camsı yapıda SiO_2 ürünü verdiğini gözlemişlerdir. Roy ve arkadaşları, 1950 ve 1960’lı yıllarda sol-jel yöntemini kullanarak ilk defa Al, Si, Ti, Zr vb. içeren çok sayıda seramik oksit kompozisyonlarını sentezlemişlerdir. Aynı yıllarda Iler’in kolloidal silika tozlarını (Du Pont kolloidal Ludox küre) bulması, ticari

anlamda gelişmeyi sağlamıştır. Stober ise küresel silika olarak isimlendirdiği tozların yapısını ve boyutunu, hidroliz reaksiyonunda katalizör olarak kullandığı amonyak ile kontrol etmiştir (Hench ve West 1989).

Sol-jel yöntemi, iki şekilde tanımlanabilir. Birincisi, sıvı bir ortamda moleküllerin kademeli polikondenzasyon reaksiyonlarıyla bir oksit ağını oluşturmaktır. İkincisi ise solün eldesi, jelleşmesi ve çözgenin uzaklaştırılması ile katı faz yapısının oluşturulmasıdır. Sol jel yöntemi, çöktürme ve kristalizasyon yerine jelleşme ile katı fazın elde edilmesini sağlayan bir yöntemdir. Bu yöntem, ‘yumuşak kimya’ olarak bilinir ve yarı kararlı amorf oksit malzemelerin sentezine yumuşak kimyasal yaklaşım olarak düşünülür (Schubert ve Hüsing 2005).

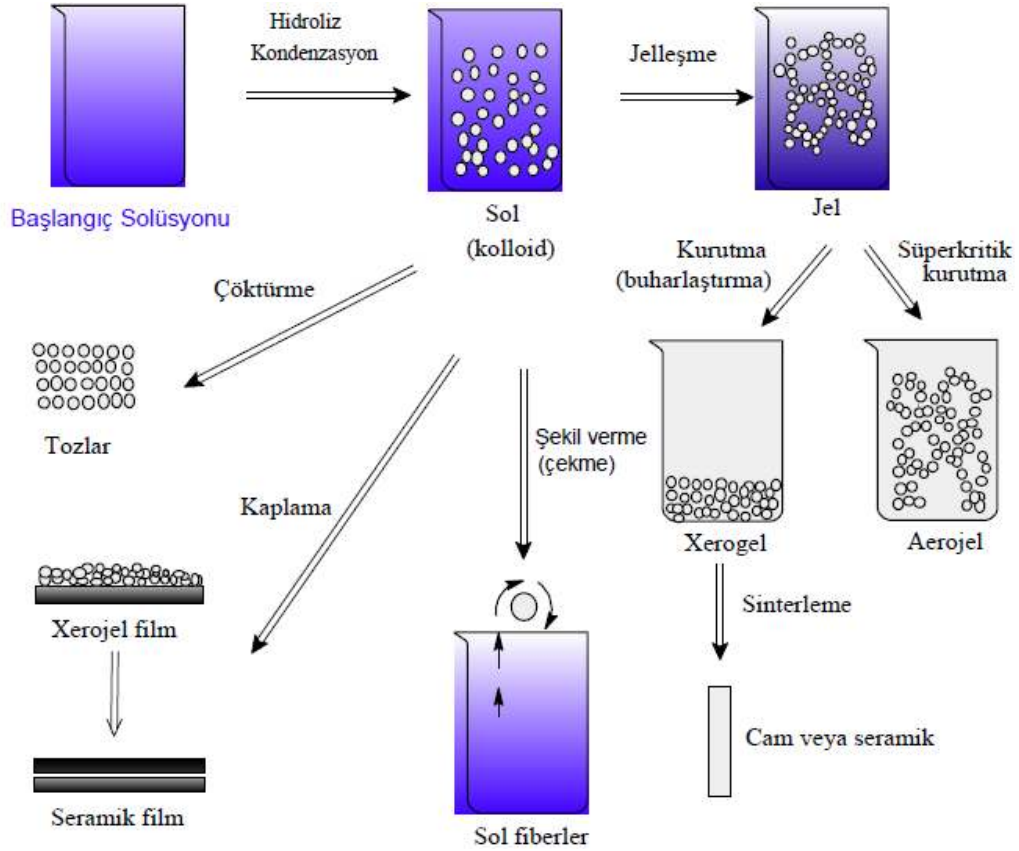
Sol, bir sıvı içerisinde amorf veya kristal yapıdaki kolloidal katı parçacıkların kararlı süspansiyonudur. Kolloid, van-der Waals kuvvetleri ve yüzey yükleri gibi kısa süreli güçlerle etkileşimlerin baskı altına alındığı ve yerçekimi kuvvetlerinin ihmal edildiği oldukça küçük (1-1000 nm) dağılmış süspansiyon şeklinde tanımlanabilir. Aerosollerin solden farkı, gaz fazında damlacıkların veya parçacıkların süspansiyonları olmalarıdır. Jel ise sıvı fazı (ıslak jel) destekleyen veya saran gözenekli, üç boyutlu devamlı katı ağdan oluşur. Jelleşme, film veya fiberin hazırlanması sırasında çözücünün hızla buharlaşmasından sonra oluşur. Birçok sol-jel yönteminde, jelleşme kovalent bağların oluşumundan kaynaklanır ve tersinmezdir. Jel oluşumu ancak jelleşme, vander waals kuvvetleri ve hidrojen bağlarını da içeriyorsa tersinir olabilir (Brinker ve Scherer 1990, Schubert ve Hüsing 2005).

Şekil 1.6. solden yola çıkarak çeşitli malzemelerin eldesi için kullanılan yöntemleri göstermektedir. Tozlar, solden spray-kurutma yoluyla elde edilebilirken fiberler solden direkt olarak çekilme yoluyla elde edilebilir. İnce filmler; daldırma, döndürerek kaplama, püskürtme gibi standart kaplama teknikleriyle hazırlanabilir. İstenilen şeklin eldesi için solün kalıba dökülmesinden sonra jelleşmesi sağlanır.

Xerojel, gözenekler arasındaki sıvının uçurulmasıyla elde edilen kuru jeldir. Islak jelle karşılaştırıldığında hacmi 5-10 kat daha azdır. Kurutma sırasında tek parça jel tahrip olur ve tozlar elde edilir. Islak jel kurutulduğu zaman jelin ağ ve gözenek yapısı kurutmadan sonra bile aynı kalıyorsa elde edilen kuru jel, arojel olarak adlandırılır. Yoğun seramikler veya camlar, arojel veya xerojellere yüksek sıcaklık uygulaması ile elde edilir (Schubert ve Hüsing 2005).

Sol-jel yönteminin basamakları şu şekildedir:

- 1) Moleküllerin hidroliz ve kondenzasyonu ile solün oluşumu
- 2) Jelleşme (sol-jel geçişi)
- 3) Olgunlaştırma
- 4) Kurutma

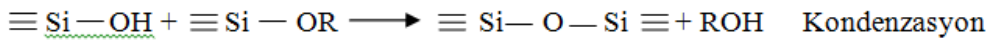


Şekil 1.6. Sol-jel yöntemi ile elde edilen ürünlerin şekilsel gösterimi

1.6.1.1. Sol-jel reaksiyonları

Metal alkoksitler, metal veya yarımetal bir atom ve ona saldıran organik bir ligandan oluşan metalorganik bileşiklerdir. En çok çalışılan bileşik tetraetoksilan (tetraetil ortosilikat, TEOS)'dır. Organometalik bileşikler, direkt metal-karbon bağına sahip bileşikler oldukları için, metal-oksijen-karbon bağına sahip olan metal alkoksitler organometalik bileşik sınıfında değildirler. Metal alkoksitler, su ile kolayca reaksiyon verirler ve bu reaksiyona hidroliz reaksiyonu adı verilir. Suyun ve katalizörün miktarına bağlı olarak hidroliz reaksiyonu tamamlanabilir yani -OR gruplarının hepsi -OH grupları ile yer değiştirebilir veya metal $\text{Si(OR)}_4\text{-X(OH)}_x$ şeklinde kısmen hidrolize uğrayabilir. Kısmen hidroliz olmuş moleküller, kondenzasyon reaksiyonu ile birbirine bağlanabilir. Kondenzasyon, su veya alkol gibi küçük bir molekülü açığa çıkaran bir reaksiyondur. Bu reaksiyon, polimerizasyon süreci ile daha büyük moleküllerin elde edilmesini sağlar (Brinker ve Scherer 1990).

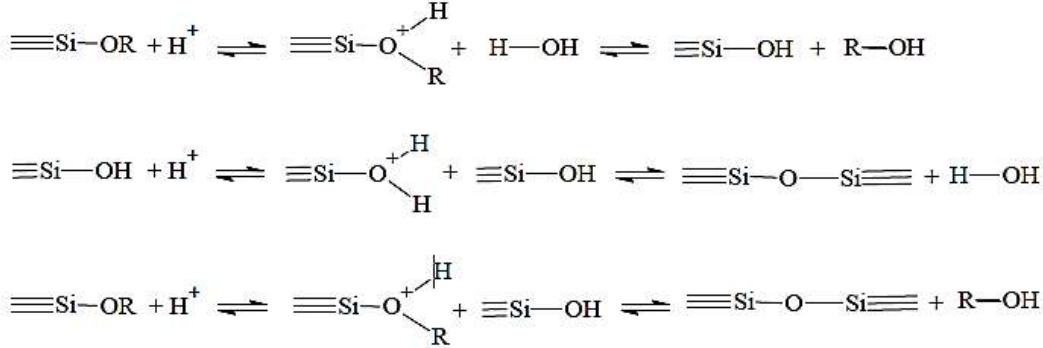
Hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları aşağıda gösterildiği gibidir:



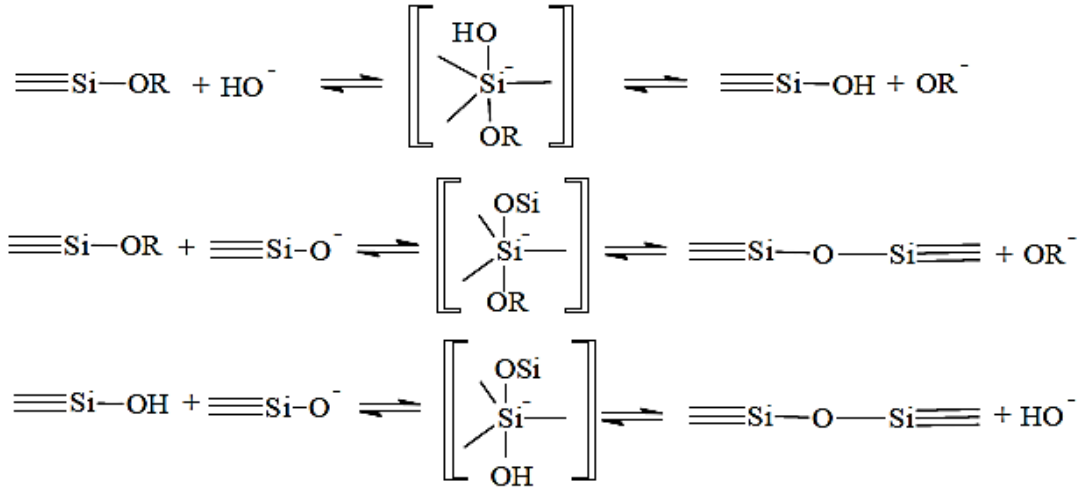
Metal alkoksitlerin reaktivliği, metal atomunun elektronegatifliğine ve koordinasyon sayısına bağlıdır. Metal atomlarının çoğu birkaç kararlı koordinasyon sayısına sahipken silisyumun koordinasyon sayısı genellikle dördür ve geçiş metalleriyle karşılaştırıldığında daha elektronegatifdir. Bu nedenle silisyum alkoksitler, diğer metal alkoksitlerle karşılaştırıldığında daha zayıf Lewis asidi özelliği gösterirler ve daha düşük reaktiviteye sahiptirler. Bu özellik, silisyum alkoksitleri, daha kararlı ve işlenebilmeye uygun hale getirmektedir (Schubert ve Hüsing 2005).

Silisyum alkoksitler, hidrolize karşı oldukça kararlı olduğu için, hidroliz basamağında katalizör olarak asit veya baz kullanımını gerektirir. Reaksiyon, katalizör olarak asit kullanıldığında SN1 mekanizması, baz kullanıldığında SN2 mekanizması üzerinden gerçekleşir. Asit katalizör, baz katalizörden daha hızlı hidrolize yol açar ve jel ağı için elde edilen son yapıda farklı oluşumlara sebep olur (Nedelec 2007).

Asidik şartlarda, Şekil 1.7.'de olduğu gibi Si-OR veya Si-OH grubunun oksijen atomu ilk basamakta hızlıca protonlanır. Protonlanma ile su veya alkol açığa çıkar. Bu şekilde silisyum atomunda elektron yoğunluğu azalır ve silisyum atomu daha elektrofilik hale gelir. Böylece silisyum atomu, su ile hidroliz reaksiyonunu veya silanol gruplarıyla kondenzasyon reaksiyonunu gerçekleştirmeye daha elverişli hale gelir. Bazik şartlarda, Şekil 1.8.'de olduğu gibi OH⁻ veya SiO⁻ iyonları silisyum atomuna saldırır. Hidroliz reaksiyonunda, hidroksit iyonu silisyum atomuna saldırır ve -OR grubu ile -OH grubu yer değiştirir. Kondenzasyon reaksiyonunda ise, nükleofilik SiO⁻ iyonları nötral silisyum atomuna saldırır ve -OR grubu ile -OH grubu yer değiştirir.

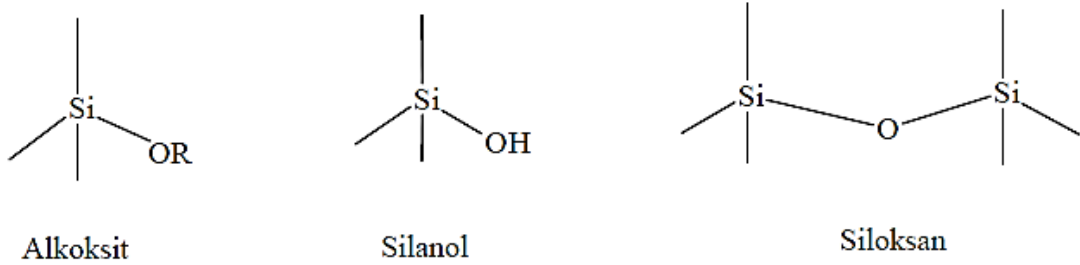


Şekil 1.7. Asit katalizli hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları



Şekil 1.8. Baz katalizli hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları

Tüm mekanizmalar tersinirdir; yani Si-O-Si bağları, -OH ile ayrılabilir ve silanol grupları alkolle reaksiyona girip alkoksit gruplarını oluşturabilir. Geriye doğru reaksiyonun gerçekleşme derecesi, tamamen reaksiyon koşullarına bağlıdır. Sol-jel yönteminde en yaygın kullanılan moleküller, sodyum silikatlar (su camı, Na_2SiO_3) ve silisyum alkoksitlerin sulu çözeltisidir. Jel elde etmek için siloksan bağlarının sayısı fazla, silanol ve alkoksit gruplarının sayısı az olmalıdır. Alkoksit, silanol ve siloksan gruplarının molekül yapıları Şekil 1.9.'daki gibidir.



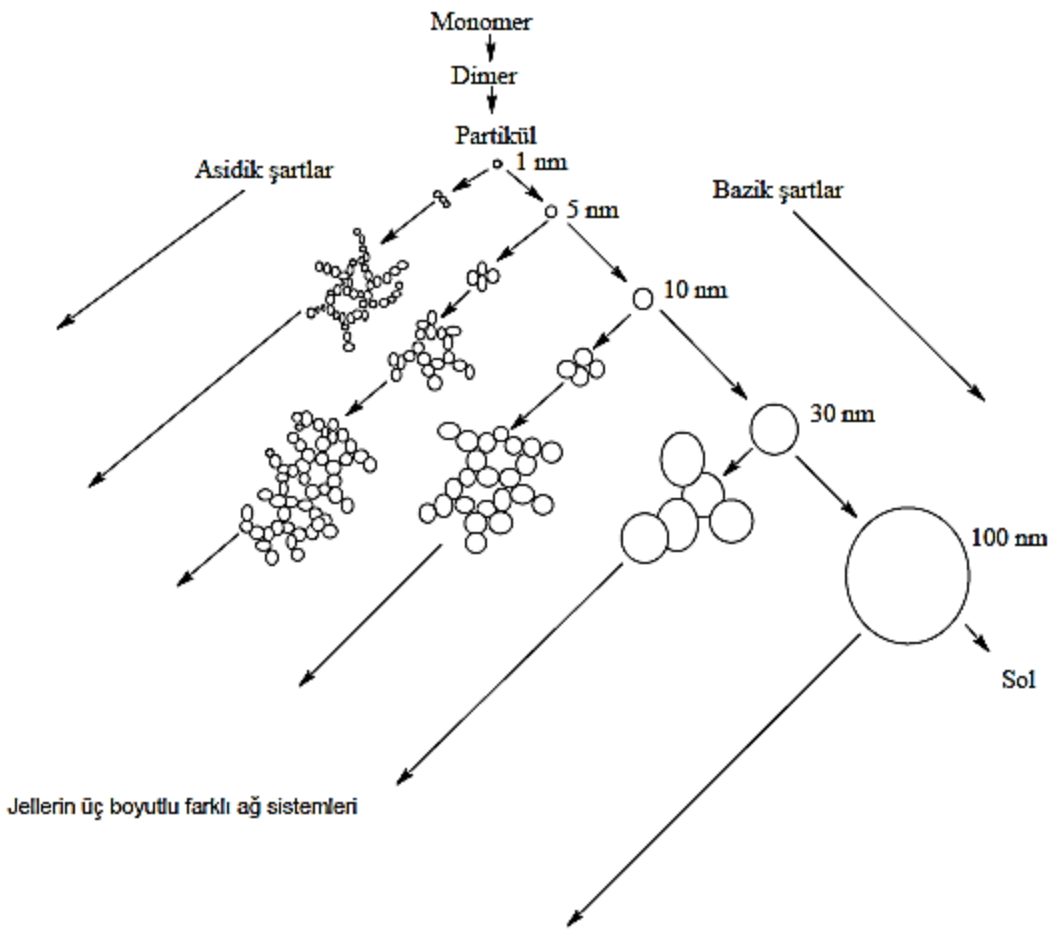
Şekil 1.9. Çeşitli silisyum-oksijen grupları

Jelleşme (sol-jel geçişi): Sol-jel reaksiyonlarının ilk aşamasında Si-OH gruplarının dış yüzeyinde küçük üç boyutlu oligomerik partiküller oluşur. Oligomerler, çekirdek vazifesi görür. Onlar hem büyürler hem de deneysel koşullara bağlı olarak belirgin bir boyutta yığılma gösterirler. Oligomerik partiküllerin toplanması her zaman jelleşmeye sebep olmaz, bunun yerine polimerik yapı daha geniş partiküller oluşabilir. Daha büyük partiküllerin çözeltide askıda kalmaları ya da üç boyutlu ağ oluşumu için yığılmaları solün kararlılığını etkileyen deneysel koşullara bağlıdır.

“Sol” partikülleri toplandığı ve yoğunlaştığı için sol’un viskozitesi artar ve jel oluşur. Devamlı ağ oluştuğu zaman, sol-jel geçişine (jel noktası) ulaşılır. Jel zamanı (t_{gel} : hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları başladıktan sonra jel noktasına ulaşıldığı zaman) reaksiyon kabını ters çevirerek belirlenir. Jel noktasına ulaşılmadan önce koloidal çözelti daha az viskozite özelliği gösterir ve kaptan dökülür. Jel noktasında

viskozite kuvvetli şekilde artar ve kararlı jel hacmi elde edilir. Tüm sıvı, jel hacminde kaldığında, kap ters çevrildiğinde hiç sıvı akmaz. Jel zamanı (t_{gel}), kondenzasyon oranı arttırılarak düşürülebilir.

Sızma teorisi ile matematiksel olarak açıklanan Şekil 1.10'a göre, partiküllerin iki büyük kümesi arasındaki son bağlantı oluştuğunda jel meydana gelir. Son bağlanma, daha önce oluşan bağlardan farklı değildir; yani jelleşme özel bir termodinamik olay değildir. Jel noktasında endotermik, egzotermik ya da farklı kimyasal değişimler yoktur sadece ani bir viskozite artışı ortaya çıkar. İlk jel, düşük elastikiyete sahiptir. Devam eden jelleşme süresinde sol partiküllerinin çapraz bağlanması ve devam eden kümeye dahil olması sadece örneğin elastikiyetinde artışa neden olur.



Şekil 1.10. Jellerin asidik ve bazık şartlara bağlı olarak değişimi

Olgunlaştırma: Jel noktasında viskozitedeki artış ile belirli bir ağ yapı oluşur. Fakat bu yapı sıcaklığa, çözücüye, pH'a veya gözenek sıvısının uzaklaşmasına bağlı olarak zamanla değişebilir. Kimyasal reaksiyonlar jelleşme ile tamamlanmaz ise ıslak jelde (gözenek sıvısı içeren jeller) yeniden yapısal düzenlenmeler meydana gelir. Jellerin sertliğini arttıran bu olay olgunlaştırmadır. Olgunlaştırma sırasındaki fiziksel ve kimyasal değişimler de, jelleşme kadar önem taşımaktadır. Olgunlaştırma, örneğin sertleşmesi ve büzülmesini sağlayan bir yöntemdir. Yüzeyde hidroksi ve alkoksi

grupları arasındaki zayıf etkileşimlerle oluşan yeni bağlar sayesinde büzülme meydana gelir. Bu büzülme jelin gözeneklerinden sıvının dışarı atılmasına yol açar. Jel örnekleri, homojen jel görünümünden sıvı içerisine gömülmüş şeffaf büzülmüş katı monolitlere dönüşür. Olgunlaştırma, oda sıcaklığında örnekler için pH'a, sıcaklığa ve jel kompozisyonuna bağlı olarak aylarca sürebilir.

Olgunlaştırma işleminin uygulanmasının sebepleri:

- Jel ağı, gözenek sıvısı içerir. Gözenek sıvısı ilk olarak soldür; partiküller ve monomerler içerir. Bunlar var olan ağa sıkışır. Bu durum jelin özelliklerinde ve yapıda aşamalı değişimlere sebep olur.
- Jel ağı çok değişkendir yani esnektir. Bu durum kondenzasyon reaksiyonlarına izin verir. Bu, ağın küçülmesine ve gözenek sıvısının atılmasına yol açar. Bazı jellerin bu doğal büzülmesi pıhtılaşma olarak adlandırılır ve jel ağı yeterli esneklik gösterdiği sürece devam eder.
- Hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonları tersinirdir. Bu nedenle küçük partiküller uygun olmayan bölgelerden çözünür (Wright ve Sommerdijk 2001, Schubert ve Hüsing 2005).

Kurutma: Kurutmada ıslak jelden sıvının uçurulması, sıcaklık artırma veya basınç azaltma gibi yöntemlerle karmaşık bir yolla ilerler. Bu işlem üç farklı aşama ile şu şekilde açıklanabilir:

1. Jel yapının içinden yüzeyine sıvı akışı olur. Eğer ağ yumuşak ise alkoksi türevli jel olduğu için jel deforme olur. Büzülme ile iç yüzeydeki -OH grupları birbirine yaklaşır ve birbiriyle reaksiyona girer. Kurutmadan dolayı ağ sertleşir ve gözenek çapı küçüldüğü için sıvının yüzey gerilimi artar.
2. Yüzey gerilimi artık ağı deforme etme yeteneğine sahiptir. Jel daha fazla büzülerek çok sert hale gelir. Jeldeki gerilim o kadar artar ki kırılma ihtimali artar. Kurutmanın bu aşamasında sıvı-gaz ara yüzeyi jel yapıya geri çekilir. Fakat lifli bir sıvı film gözenek duvarlarında kalır. Sıvının büyük bir kısmı jel yapının dış yüzeyinden uçurulur.
3. Burada sıvı film bozulur. Sıvı sadece izole edilmiş ceplerdedir ve gaz fazın difüzyonu ile ağdan ayrılabilir.

Ağın çöküşü için iki aşama önemlidir. Birincisi jel içindeki ağın daha yavaş büzülmesi, çatlaklara neden olur. İkincisi kurutma sırasında eğer farklı çaplarda gözenekler varsa, sıvıların menisküsü geniş gözeneklerde daha hızlı düştüğü için geniş gözenekler küçük gözeneklerden daha hızlı boşalır. Farklı boyuttaki gözenekler arasındaki duvarlar böylece düzgün olmayan basınç ve kırılmalara maruz kalırlar.

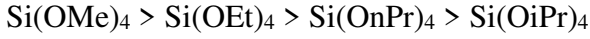
Bu nedenlerden dolayı, ıslak jel yapı geleneksel olarak kurutulduğu zaman genellikle xerojeller (zerojeller) elde edilir. Büzülme probleminden dolayı, sol-jel malzemelerin en önemli uygulama alanlarından biri büzülmenin daha kolay kontrol edilebildiği film ve kaplamalardır. Aerojeller, jel hacmini veya ağ yapısını değiştirmeksizin ıslak jelin gözenek sıvısının hava ile yer değiştirmesine izin veren metotlar uygulandığı zaman elde edilir.

1.6.1.2. Sol-jel yöntemini etkileyen parametreler

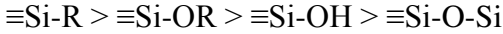
Hidroliz ve kondenzasyon reaksiyonunu etkileyen parametreler şu şekilde sıralanabilir:

- Başlangıç (öncü) malzemelerinin türü
- H₂O/Si oranı
- Katalizörün türü
- Çözücünün türü
- Sıcaklık
- pH
- Karışımındaki bileşenlerin bağıl ve kesin konsantrasyonu

Başlangıç malzemelerinin sterik ve indüktif etkileri: Silisyum alkoksitlerin hidroliz kararlılığı, sterik faktörlerden etkilenir. Alkoksi grupların dallanması veya zincir uzunluğunun artması, silisyum alkoksitlerin hidroliz hızını düşürür. Reaksiyon hızı şu sırada azalır:



Silisyum atomuna saldıran substituentlerin indüktif etkisi çok önemlidir. Silisyum atomunda elektron yoğunluğu şu sıra ile azalır:



Asidik şartlarda silisyum atomunda elektron yoğunluğu yüksek olmalıdır, çünkü geçiş halinde pozitif yük bu şekilde en kararlı hale getirilir. Bu nedenle asidik şartlarda hidroliz ve kondenzasyon için reaksiyon hızı, elektron yoğunluğu ile artar. Bazik şartlarda negatif yük kararlı hale getirilmelidir. Bu nedenle bazik şartlarda hidroliz ve kondenzasyon için reaksiyon hızı, elektron yoğunluğu ile azalır.

Dallanmış ağlar bazik şartlar altında, zincir gibi ağlar asidik şartlar altında elde edilir. Çünkü merkez silisyum atomlarındaki reaksiyonlar yüksek pH' da, terminal (uç) silisyum atomlarındaki reaksiyonlar düşük pH' da desteklenir.

Organik olarak substitue olmuş silisyum alkoksitler (RSi(OR)₃), asidik şartlar altında Si(OR)₄'den daha reaktiftir, bazik şartlar altında daha az reaktiftir (Schubert ve Hüsing 2005).

H₂O/Si oranı (r): Hidroliz reaksiyonunda r değeri istenilen ürüne bağlı olarak 1-25 arasında değişmektedir. Genellikle r değerinin artması, hidroliz oranını artırır; ancak çözücü:silisyum oranını sabit tutarak r değerini arttırmak silisyum konsantrasyonunu azaltacağı için hidroliz ve kondenzasyon oranı azalır. Bu durumda jelleşme süresinde artış olur.

Katalizör (pH değeri): Silisyum alkoksitlerin sol-jel reaksiyonları, asit ya da baz ile katalizlenir. Hidroliz ve kondenzasyon için reaksiyon oranları, pH'a farklı şekillerde bağlıdır. Hidroliz için en düşük reaksiyon oranı pH 7'dir, kondenzasyon için pH 4.5' dir. pH değeri, silisyum alkoksitlerin hidroliz ve kondenzasyon bağıl oranları için belirleyici bir parametredir. pH<5 ise hidroliz desteklenir ve kondenzasyon belirleyici

basamaktır. $pH > 5$ ise hidroliz belirleyici basamaktır ve hidrolizlenmiş türler daha hızlı kondenzasyondan dolayı birden tüketilir.

Çözücü: Çözücü, reaksiyonun başında reaksiyon karışımını homojen hale getirmek için kullanılır. Çözücünün polarite, dipol moment, viskozite, protik veya non-protik davranışı reaksiyon oranını ve böylece son sol-jel malzemesinin yapısını etkiler. Polar ve özellikle protik çözücüler, polar silisyum içeren türleri hidrojen köprüleri ile kararlı hale getirir; non-polar çözücüler ise organotrialkoksisilanlar veya tamamlanmamış hidroliz reaksiyonları için kullanılır (Brinker ve Scherer 1990).

1.6.1.3. Sol-jel yönteminin uygulama alanları

Sol-jel malzemelerin uygulama alanları şu şekilde sınıflandırılabilir:

- İnce film ve kaplamalar
Uygulama alanları: Optik kaplamalar, elektronik kaplamalar, koruyucu kaplamalar, gözenekli kaplamalar.
- Monolitler
Uygulama alanları: Optik camlar ve fiber optik uygulamalar, yakın ağ şeklinde optik bileşikler, aerogel geçirgen yalıtkanlar, dereceli kırılma indisi camları, düşük genleşmeli camlar.
- Jel türevi tozlar, tanecikler, küreler
Uygulama alanları: Yüksek sıcaklık süper iletkenler, dayanıklı bileşim, aşındırıcı tanecikler, nükleer yakıt.
- Fiberler
Uygulama alanları: Takviye malzeme, süper iletken, elektroliz, optik uygulamalar.
- Kompozitler
Uygulama alanları: Fiber takviyeli sol-jel matris, seramik-seramik veya seramik-metal kompozitler, cam veya seramik-organik kompozitler.
- Gözenekli jeller ve membranlar
Uygulama alanları: Membranlar, gözenekli cam tabakalar, katalizör desteği.

Geleneksel kaplama tekniklerine göre sol-jel yönteminin başlıca avantajları, yüksek homojeniteye sahip kaplamaların elde edilebilmesi, büyük veya eğimli malzemelerin basit kaplama cihazları ile kaplanabilmesi, düşük sıcaklıklarının yeterli olması ve diğer metotlarla üretilmeyecek organik-anorganik hibrit malzemeler gibi malzemelerin elde edilebilmesidir.

1.6.2. Uçucu yağların sol-jel enkapsülasyonu

Sol-jel prosesi, öncü moleküllerin nano boyutta materyallere kolloidal sol fazın katı jel fazına geçişi ve en son kurutma süreçleriyle dönüşümünü içermektedir (Nguyen vd 2007). Bilinen avantajları nedeniyle sol-jel prosesi, farklı organik moleküllerin sol-

jel sistemlerindeki inkorporasyonu (katılım, bir araya gelme) yaygın olarak araştırılmaktadır (Gill vd 1998). Silika matrislerin sentezi nispeten ucuzdur ve optik şeffaflık, biyouyumluluk, kimyasal inertlik gibi ilginç özelliklere sahiptir (Gill vd 2000). Sol-jel matrisin içinde hapsolan biyomoleküller kimyasal ve termal bozunmaya karşı direnç kazanır, hem de depolanma süresi uzar (Livage vd 2001). Ayrıca, sol-jel matrisi bazı kararsız bileşiklerin immobilizasyonu için konukçu ortam olarak kullanılırken güçlü bir konak-konuk etkileşimi oluşturması nedeniyle bazı ilginç (örneğin lüminesans) özelliklere de yol açabilir (Yao vd 2001). Çoğu biyoaktif bileşenin sol-jel matrislerde enkapsülasyonundan, üstün özellikleri (floresans vs.) ve yavaş salım sitemine sahip olmasından ötürü biyoişaretleyici olarak yararlanılır. Silika matrisler içerisinde enkapsüle nanopartiküllerden oluşan nanokompozitler nanopartikül özelliklerinin ayarlanması ve stabilitelerinin artırılması için esnek bir yol sağlarlar.

Uçucu yağlar farklı birçok yöntem ile mikroenkapsüle edilmişlerdir. Bunlardan bazıları, püskürtmeli-kurutucu, kompleks koerservasyon ve arayüz polimerizasyonudur. Bunlardan en çok kompleks koerservasyon ve arayüz polimerizasyonu kullanılmaktadır ancak, son yıllarda poliüre, polivinil alkol, polisakkaritler (kitosan) ve alifatik poliesterler (polilactic acid) gibi çeşitli polimerik yapılar ile mikroenkapsülasyon çalışmaları ilgi çekmektedir. Diğer taraftan amorf SiO₂ yapı içerisine uçucu yağların hapsedilerek enkapsülasyon çalışmaları son zamanlarda hız kazanmaktadır (Sousa vd 2014). Silika matris tarafından korunan uçucu yağlar, sıcaklık, nem, ışık gibi etkilere karşı daha dirençli olabilmektedirler. Matris oluşturmak için sol-jel prosesinin seçilmesinin nedeni ise düşük sıcaklık (oda sıcaklığı) koşullarında çalışılabilme olanağı vermesindendir, böylece düşük sıcaklıklarda bozulan uçucu yağ bileşenleri korunur. Sol-jel organik-inorganik hibrit materyaller, belirli kimyasal reaktiviteye sahip organik materyal ile sert, üç boyutlu inorganik malzemenin kombine edilmesiyle oluştuğundan, bu özelliklerin hepsinin tek katı bir yapıda toplandığı özel sınıf malzeme olarak kabul edilirler (Livage vd 1998).

1.7. Dondurarak Kurutma (Liyofilizasyon) Yöntemi ile Enkapsülasyon

Dondurarak kurutma, aroma maddeleri gibi hassas ürünlerin enkapsülasyonunda kullanılan bir yöntemdir. Mikroenkapsülasyon işlemi düşük basınç ve sıcaklık altında gerçekleştiğinden uçucu bileşenler korunmaktadır (Gökmen vd. 2012).

1.7.1. Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) yöntemi

Dondurarak kurutma, donmuş bir ürünün içerisindeki suyun düşük basınç ve sıcaklıkta süblimleşme ile kurutulması esasına dayanır. İşlem esnasında düşük sıcaklık uygulaması, bozulmaya yol açan kimyasal ve mikrobiyolojik reaksiyonların çoğunu durdurduğu için yüksek kaliteli son ürün elde edilmesini sağlar. Dondurarak kurutma işlemi, diğer kurutma yöntemleri ile karşılaştırıldığında, yüksek kaliteli son ürün veren en iyi su uzaklaştırma yöntemidir. Dondurarak kurutma esnasında suyun katı halde bulunması; ürün hacminin azalmasını en aza indirgeyerek, ürünün ilk yapısının ve şeklinin korunmasını sağlar. Dondurarak kurutma prosesi birçok avantaja sahip olmasına rağmen kurutulmuş ürünler için çok pahalı bir yöntemdir. Düşük sıcaklık ve basınç kombinasyonu; ürünün aroma, renk ve şekil özelliklerini korur, rehidrasyon esnasında kuru ürünün süngerimsi yapı kazanmasını sağlayarak, hızlı bir şekilde su emilimini

mümkün kılar ve ürünün taze halde iken sahip olduğu özellikleri geri kazanmasını sağlar (Ratti 2001).

Dondurarak kurutmanın dezavantajları yüksek enerji ve uzun işlem süresi gerektirmesi, göreceli olarak pahalı bir yöntem olması (püskürtmeli kurutmadan 30-50 kat pahalı) ve açık delikli yapıda kapsüller elde edilmesi sebebiyle iyi bariyer özellikleri taşınamamasıdır (Zuidam vd 2010). Ancak suda çözünen bileşenler, doğal aromalar ve ilaçların enkapsülasyonu için basit bir teknik olması ve ısıya duyarlı biyoaktif maddeler için avantajlı olması nedeniyle tercih edilmektedir (Fang vd 2010).

Dondurarak kurutma yönteminin başlıca kullanım alanları kimya ve biyokimya, ilaç, kozmetik ve gıda sanayilerindedir. Bu alanlardan daha az rastlanan uygulamaları ise, sudan zarar görmüş kitaplar, belgeler ve el yazmaları, dokumalar, hayvani yan ürünler, süt ürünleri mayaları ve çeşitli arkeolojik kazı çıktılarının korunması, cerrahi nakil dokuları, bitkiler ve hayvanlar gibi müze sergi objeleri ve araştırma projelerinde gereken bitkisel maddeler üzerindedir. Liyofilizasyon aynı zamanda uçucu maddelerin ayrıştırılarak elde edilmesi ve liyofilize edilen malzemenin arılaştırılması amacıyla da kullanılır.

Dondurarak kurutma sistematik olarak kan plazması, serum, hormon çözeltileri, gıda maddeleri, ilaçlar (antibiyotik), seramikler, süperiletkenler ve tarihsel dökümanlar (arkeolojik buluntular) gibi cansız maddeler, nakil edilebilen organlar, yapay deri ve kemik gibi cansız maddeler, maya, virüs ve bakteri gibi uzun süre yaşaması gereken canlı hücrelerin kurutulması için uygulanır (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).



Şekil 1.11. Liyofilizatör

1.7.2. Dondurarak kurutma (Liyofilizasyon) işlem aşamaları

Dondurarak kurutma, donmuş haldeki gıdaların veya çözeltilerin yapılarında mevcut olan çözücünün süblimleşerek, bağlı suyun ise desorpsiyon yoluyla çok yüksek vakum uygulanarak veya çok yüksek basınç altında uzaklaştırılması işlemidir. Dondurarak kurutma işleminin aşamaları:

- Dondurma aşaması
- Birinci kurutma aşaması
- İkinci kurutma aşaması (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).

1.7.2.1. Dondurma aşaması

İşlemin ilk basamağıdır. Dondurarak kurutma işlemine tabi tutulacak karışım, süspansiyon, çözelti veya tek başına gıda maddesi, suyun donma noktasının altına soğutulur. Maddeler iki farklı donma şekli gösterir.

Genellikle dondurma aşaması sonrasında, başlangıçta sistemde var olan suyun yaklaşık % 65-90'i donmuş halde, yaklaşık %10-35'i donmamış halde yani bağlı su olarak bulunur. Dondurarak kurutulmuş bir sistemdeki gözeneklerin veya partiküllerin büyüklüğü, dağılımı ve birbirleriyle olan ilişkileri dondurma aşamasında oluşan buz kristallerine bağlıdır (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).

1.7.2.2. Birinci kurutma aşaması

Kurutucu bölgenin basıncı; kurutulacak materyalin yapısına bağlı olarak, süblimleşmenin gerçekleşeceği değere düşürülür. Kurutulacak materyalde bulunan su molekülleri süblimleşirken, süblimleşme için gerekli olan ısıyı kurutulacak tabakadan sağlar. Bu duruma bağlı olarak da donmuş tabakanın sıcaklığı daha fazla düşer. Eğer sisteme gerekli olan süblimasyon ısısı herhangi bir kaynaktan sağlanmazsa, kurutulacak materyalin yapısında bulunan donmuş suyun buhar basıncı, kurutma sisteminin içindeki su buharının kısmi basıncı ile dengeye ulaşır. Bunun akabinde materyal içerisinde bulunan suyun süblimleşmesi durur ve kurutma işlemi gerçekleşmez. Bu nedenle sisteme herhangi bir kaynaktan süblimasyon ısısı sağlanmalıdır. Bu ısı sisteme konveksiyon; kondüksiyon veya radyasyon yolları ile sağlanabilir.

Bu aşama süresince çözücünün süblimleşmesi ve bağlı suyun desorpsiyonu sonucu oluşan su buharı, kondensör yardımıyla kurutucu sistemden uzaklaştırılır ve uzaklaştırılan su buharı, kondensör yüzeyinde buz olarak toplanır. Su buharının sistemden uzaklaştırılması ile kurutma sistemindeki su buharının kısmi buhar basıncının, süblimasyon ara yüzeyindeki su buharının basıncından daha düşük olması sağlanır (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).

1.7.2.3. İkinci kurutma aşaması

İkinci kurutma aşamasında, materyalde bulunan donmamış haldeki bağlı su uzaklaştırılır. Donmuş suyun tamamının birinci kurutma aşamasında, bağlı suyun da ikinci kurutma aşamasında uzaklaştırılması beklenir fakat birinci aşamada bir miktar donmuş su süblimleşmeden materyalde kalır. Kurutulacak materyalde bulunan bağlı su; kimyasal adsorpsiyon, fiziksel adsorpsiyon ve kristalizasyon suyu olabilir. Bağlı suyun uzaklaştırılması için gerekli olan süre, serbest suyun uzaklaştırılması için gerekli olan süreye eşit veya bu süreden daha fazla olabilir.

Materyalde bulunan bağlı su vakum etkisiyle uzaklaştırılır. Dikkat edilmesi gereken noktalar, kurutulacak materyalin sıcaklığı ve nemidir. Bu faktörler son ürün kalitesini doğrudan etkiler. İkinci kurutma safhasında materyalin sahip olduğu nem

düzeyi; zaman, yer ve sıcaklığa bağlı olarak değişir. Bu durumda ürünün zaman ve yere bağlı bozulma riskine sahip olduğunu gösterir. Bu safhada uygulanan sıcaklık sürekli olarak kontrol altında tutulmalıdır. Sistem için gerekli olan ısı, birinci kurutma safhasında olduğu gibi kondüksiyon, konveksiyon ve radyasyonla sağlanır (Sadıkoğlu ve Özdemir 2001).

1.8. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada *Origanum minutiflorum* (kekik), *Eugenia caryophyllata* (karanfil), *Eucalyptus camaldulensis* (okaliptus) ve *Cymbopogon citratus* (limon otu) bitkilerinden uçucu yağların eldesi, bu yağlardan etken maddelerinin izole edilmesi ve uçucu yağların ve izole edilen etken maddelerin sol-jel ve/veya dondurarak kurutma (freeze drying) yöntemleriyle enkapsülasyonu ve karakterizasyonu amaçlanmıştır.

Gösterdikleri çeşitli farmakolojik özelliklerinden dolayı uçucu yağlar tıp, ilaç, kimya, kozmetik, gıda, tarım, ev temizlik endüstrisi gibi önemli birçok alanda kullanılmaktadırlar. Bu nedenle çalışmada etken madde olarak fenol, aldehit ve epoksi gruplarını içeren 4 uçucu yağ tercih edilerek farklı gruplar taşıyan uçucu yağların ve etken maddelerinin enkapsülasyon olanaklarının saptanması amaçlanmıştır. Günümüzde gelişen teknoloji ile bitkilerin biyolojik aktivitelerinden sorumlu olan etken maddelerin izolasyonu ve formülasyonu başta farmasötik endüstrisi olmak üzere birçok sektör için önem arz etmektedir. Bu bağlamda çalışmamızda uçucu yağların yanı sıra etkinliği kanıtlanmış olan karvakrolün, *Origanum minutiflorum*'dan, öjenolün, *Eugenia caryophyllata*'dan ve 1,8-sineolün, *Eucalyptus camaldulensis*'den izole edilip enkapsüle edilmelerinin çalışmanın bilimsel literatür değerini artıracığı düşünülmüştür.

Uçucu yağlar ve etken maddeleri enkapsülasyonla kararlı hale getirilerek, zararlı çevresel faktörlerden korunup raf ömrü uzamakta ve kullanım olanakları artırılmaktadır. Çalışmamızda uygulanan prosesler sonucunda nano düzeyde enkapsülasyon gerçekleştirilmiş olduğundan elde edilen ürünlerin kontrollü salım göstermesi ve etkinlik süresinin artması beklenmektedir. Enkapsülasyon prosesi olarak, uçuculukları yüksek ve ısıya karşı duyarlı olan uçucu yağlar ve etken maddeleri için oda koşullarında ve düşük sıcaklıklarda çalışabilme imkanı vermesinden dolayı etkili bir yöntem olan sol-jel yöntemi tercih edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda nanoenkapsülasyon prosesi için sol-jel yöntemine alternatif olarak fiziksel proseslerden biri olan dondurarak kurutma (liyoofilizasyon) yöntemi de uygulanarak iki yöntemin karşılaştırılması çalışmanın diğer bir amacıdır. Dondurarak kurutma yönteminde doğal polisakkaritlerin ve proteinlerin olduğu iki farklı matris sistemi kullanılarak seçilen uçucu yağlar ve etken maddeler için uygun olan sistemin belirlenmesi de projenin amaçlarından biridir. Enkapsülasyon çalışmalarında enkapsülasyon verimi önemli parametrelerden biridir, bu yüzden çalışmada her iki yöntemle elde edilen ürünlerin enkapsülasyon verimlerinin karşılaştırılması da amaçlar arasındadır.

Materyal olarak seçilen türlerden biri olan *Origanum minutiflorum*'un Güney Batı Anadolu'da endemik bir tür olması ve *O. minutiflorum* uçucu yağının sol-jel ve dondurarak kurutma yöntemleriyle nanoenkapsülasyonuna dair literatürde bir çalışmanın olmaması yapılan tez çalışmasının özgün değerini artırıcı niteliktedir.

Literatürde uçucu yağların enkapsülasyonu için kullanılan farklı yöntemlerle ilgili mevcut çalışma sayısı çoktur ancak sol-jel yöntemiyle ilgili çalışma sayısı çok az olmakla beraber çalışmada seçilen türlere ait uçucu yağların ve etken maddelerinin sol-jel enkapsülasyonuna dair bir çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma ile ilk kez seçilen türlere ait uçucu yağların ve bunlardan izole edilen etken maddelerin farmakolojik, ekonomik vb. olumlu özellikleri sebebiyle sol-jel ve dondurarak kurutma yöntemleriyle enkapsülasyonu gerçekleştirilerek, literatüre ve birçok sektöre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

2. KURAMSAL BİLGİLER ve KAYNAK TARAMALARI

Uçucu yağların enkapsülasyonu için birçok yöntem uygulanabilir. Örneğin uçucu yağ stabilizasyonunun sağlanması için püskürterek kurutma ile mikroenkapsülasyon yöntemi kullanılabilir. Püskürterek kurutma tekniği gıda endüstrisinde en sık kullanılan tekniktir (Ré 1998, Reineccius 2004), ekonomik ve esnek bir teknik olup, kolay bulunabilen ekipmanlarla iyi kalitede toz parçacıklar üretilir. Yapılan bazı çalışmalara örnek olarak; arabik gam, maltodekstrin ve modifiye nişastanın enkapsülant olarak kullanıldığı oregano esansiyel yağının enkapsülasyonu (Botrel vd 2012), kekik, sitronella ve mercanköşk uçucu yağlarının süt proteini bazlı matrisler içine enkapsülasyonu (Baranauskienė vd 2006) ve kakule oleoresininin arabik gam ve modifiye nişasta kullanarak mikrokapsülasyonu verilebilir (Krishnan vd 2005).

Literatürde uçucu yağların betasiklodekstrinlerle (β -CD) inklüzyon kompleksi oluşturarak enkapsüle edilmeleri çalışmalarına rastlamak mümkün. Marques ve arkadaşları *Origanum majorana* ve *Allium sativum* uçucu yağlarını inklüzyon kompleksi oluşturarak moleküler enkapsülasyonunu gerçekleştirerek PALS (Positron annihilation lifetime spectroscopy) yöntemi ile β -CD ile enkapsüle edilen uçucu yağların boş hacimlerdeki değişimi belirleyerek materyalin gözenek boyutunu saptamışlardır. Del Toro-Sanchez ve arkadaşları (2010) kekik (thyme) uçucu yağını β -CD ile enkapsüle ederek GC-MS-Headspace analizleri ile yağ bileşimini ve antifungal aktivitesindeki değişimi enkapsülasyon öncesi ve sonrası incelemişlerdir. Headspace analizleri sonucu enkapsüle edilen uçucu yağın % 76'sının salımının gerçekleştiği saptanmıştır. Arana-Sanchez ve arkadaşları (2010) Meksika kekik yağının (*Lippia graveolens* H. B. K.) β -CD ile mikroenkapsülasyonu öncesi ve sonrasındaki antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesindeki değişimi belirlemiş enkapsülasyon işleminin uçucu yağın etkinlik süresini uzattığını belirtmişlerdir.

Răileanu vd (2013), uçucu yağ (konuk molekül) ve β -siklodekstrin (ev sahibi molekül) arasında oluşan inklüzyon kompleksinin avantajları ile sol-jel prosesinin sunduğu avantajlar kombine edilerek, inklüzyon kompleksinin gözenekli silika matris içerisinde tutulması ve daha sonra salımına olanak verildiği görülmüştür. Çalışmada uçucu yağlardan nane (*Menthae piperita*) ve lavanta (*Lavandula angustifolia*) tercih edilirken silisyum kaynağı olarak Ludox® SM-30 kolloidal silika kullanılmış olup sol-jel prosesinde asit katalizörlü hidroliz reaksiyonu tercih edilmiştir.

Sousa ve arkadaşlarının (2014) yaptığı bir çalışmada, okaliptüs (*Eucalyptus globulus* L.) ve limon (*Citrus limon* L.) uçucu yağları çoklu emülsiyon (O/W/O) (multiple emulsions) sisteminde disperse edilerek mikroparçacıklar haline getirildikten sonra sol-jel metodu ile silika kapsülleri hazırlanmıştır. Çoklu emülsiyon sisteminde Tween-20 ve Span-80 sürfektanları, sol-jel reaksiyonu için silisyum kaynağı olarak tetraetil ortosilikat (TEOS) kullanılmıştır. Enkapsüle edilen uçucu bileşenlerin salımı iki boyutlu (GC-GC-TOFMS) sistemi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmanın sonucunda uçucu bileşenlerin silika matris içerisinden salım yetenekleri terpenlerin taşıdıkları fonksiyonel grupları, polariteleri, bağlı uçuculukları gibi kimyasal özellikleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır.

Kaushik ve Roos (2006), limonen uçucu bileşiğini, matris sistemi olarak arabik gam, sukroz ve jelatinin farklı oranlardaki karışımlarını kullanarak dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsüle etmişlerdir. Enkapsüle edilen limonen bileşiği ile matris (toplam katı) 1:9 (w/w) , 1.5:8.5 (w/w) oranlarına göre karıştırılarak ultra yüksek basınçlı homojenizatör kullanılarak emülsiyon haline getirilmiştir. Bu emülsiyonlar daha sonra liyofilizatör ile dondurarak kurutma prosesine tabi tutulmuştur. Uygulamalar arasında eşit oranlarda kullanılarak hazırlanan arabik gam, sukroz ve jelatin matris sisteminin limonen için en ideal ve etkili sistem olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 2.1.'de literatürde yer alan bazı uçucu yağların enkapsülasyonlarına dair enkapsülasyon boyutu, kullanılan metot, kaplama materyalleri ve sağladığı avantajlar gibi bilgiler verilmiştir

Çizelge 2.1. Literatürde yer alan bazı enkapsüle edilen uçucu yağlar ve sağladığı avantajlar

Farmasötik form	Uçucu yağ	Boyut	Polimer	Metot	Avantaj	Referans
Nanoparçacık	Lippia sidoides	335–558nm	Kitosan, kaju gam	Kompleks koaservasyon	Sürekli salım, gelişmiş larvisit etkinlik	(Abreu vd 2012)
Mikroparçacık	Origanum vulgare	<10µm	Nişasta	Süperkritik akışkan teknolojisi	Gelişmiş antimikrobiyal aktivite (Gıda koruyucularda)	(Almeida vd 2013)
Mikroparçacık	Origanum vulgare	3–4.5µm	İnülin	Püskürtmeli kurutucu	Farklı salım profili	(Beirão-da-Costa vd 2013)
Nanoparçacık	Mentha piperita	<100 nm	Kitosan ve sinamik asit	İyonik jelasyon	Gelişmiş antimikrobiyal aktivite ve stabilite	(Beyki vd 2014)
Mikroparçacık	Rosemary	12.1–13.5µm	Arabik gam, maltodekstrin ve modifiye nişasta	Püskürtmeli kurutucu	–	(Fernandes vd 2014)
Nanoparçacık	Lippia sidoides	223–399nm	Aljinat/ Kaju gam	Püskürtmeli kurutucu	Gelişmiş antimikrobiyal aktivite, yavaş salım	(De Oliveira vd 2014)
Mikroparçacık	Pimenta dioica	1172–1224 µm	Kitosan ve k-karajenan	Kompleks koaservasyon	Gelişmiş antimikrobiyal aktivite	(Dima vd 2014)
Mikroparçacık	Satureja hortensis	47–117µm	Aljinat	İyonik jelasyon	Gelişmiş antimikrobiyal aktivite, yavaş salım	(Hosseini vd 2013a, b)
Mikroparçacık	Schinus molle Rev L.	0.2–40µm	Maltodekstrin ve arabik gam	Püskürtmeli kurutucu	Yavaş salım, gelişmiş insektisit etkinlik	(López vd 2014)
Nanoparçacık	Jasmine	74–384nm	Jelatin ve arabik gam	Kompleks koaservasyon	Stabilite artışı	(Lv vd 2014)

Devamı Arkada

Çizelge 2.1.'in Devamı.

Mikroparçacık	Lavandula hybrida	30–100µm	PEG	PGSS (Particles from gas saturated solutions) Prosesi	Gelişmiş biyosit etki	(Varona vd 2010)
Mikroparçacık	Zanthoxylum limonella	209.41–223.17 µm	Aljinat ve jelatin emülsiyon	Çözücü buharlaştırma	Sivrisinek kovucu etki	(Banerjee vd 2013)
Mikroparçacık	Origanum vulgare	–	Niştasta, inülin ve jelatin/sukroz	Püskürtmeli kurutucu	Yüksek antioksidan ve antimikrobiyal aktivite, yüksek kararlılık	(Beirão da Costa vd 2012)
Lipozom	Atractylodes macrocephala Koidz	173 nm	fosfatidilkolin ve kolesterol	RESS (Rapid Expansion of Supercritical Solution) prosesi	Sindirim hastalıklarına karşı etkinlik	(Wen vd 2010)
Mikroparçacık	Cymbopogon citratus	10–250µm	Polivinil alkol	Basit koaservasyon	Antimikrobiyal etki, yavaş salım	(Leimann vd 2009)
Nanoparçacık	Origanum vulgare L.	40–80nm	Kitosan	İyonik jelasyon	Antimikrobiyal etki (Gıda koruyucu) , yavaş salım	(Hosseini vd 2013a, b)
Nanoparçacık	Karvon ve anetol	112–472 nm	Poli (laktid-ko-glikolit)	Emülsiyon Oluşturma/Çözücü Buharlaştırma, nanoçöktürme	Antimikrobiyal etki, yavaş salım	(Esfandiyari-Manesh vd 2013)
Nanoparçacık	Öjenol	80–100 nm	Kitosan	İyonik jelasyon	Antioksidan etki, termal stabilite	(Woranuch ve Yoksan 2013)
Mikroparçacık	Ocimum sanctum Linn	392.30 µm	Jelatin	Basit koaservasyon	Stabilite	(Sutaphanit ve Chitprasert 2014)
Lipozom	Karvakrol ve timol	–	Yumurta L-a-fosfatidilkolin ve kolesterol	Film hidrasyon	Gelişmiş antimikrobiyal aktivite	(Lioliou vd 2009)
Nanoparçacık	Benzil benzoat	125 nm	Polilaktid asit (PLD)	Nanoçöktürme	Hastalık etmenlerine karşı (Pestisit)	(Audrey Ladj-Minost, 2012)
Nanoparçacık	Karvakrol	209.8 nm	Poli (DL-laktik-ko-glikolit) (PLGA)	Nanoçöktürme	Gelişmiş antimikrobiyal aktivite (Biyofilm)	(Iannitelli vd 2011)
Mikroparçacık	Salvia hispanica L.	13.17–28.20 µm	Peynir altı suyu proteini konsantresi, arabik gam veya peynir altı suyu proteini konsantresi, mesquite zıncı	Püskürtmeli kurutucu	–	(Rodea-González vd 2012)

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada kullanılan bitki örneklerinin temin edilmesi

Çalışmada uçucu yağı elde edilmek üzere *Origanum minutiflorum* (OM) ve *Eugenia caryophyllata* (ECar) İnan Tarım Ürünleri Ticaret Şirketinden, *Eucalyptus camaldulensis* (ECam) Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü (BATEM) Antalya/Aksu yerleşkesinden, *Cymbopogon citratus* (CC) BATEM tıbbi ve aromatik bitkiler gözlem bahçesinden (yurt dışından introduksiyon olarak getirilip adaptasyon çalışmaları yapılmıştır) temin edilmiştir. *Eucalyptus camaldulensis*'in teşhisi Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet Aksoy tarafından yapılmıştır.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan bitkiler (a) *Origanum minutiflorum* (b) *Eugenia caryophyllata* (c) *Eucalyptus camaldulensis* (d) *Cymbopogon citratus*

3.1.2. Kullanılan kimyasallar ve cihazlar

Çalışmada kullanılan kimyasal malzemelerin adları, kimyasal yapıları, saflık %'leri ve temin edilen firmaları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Çalışmada kullanılan kimyasal malzemeler

Kimyasal Adı	Kimyasal Yapı	Saflığı	Firma	Kullanım Amacı
n-hekzan	C ₆ H ₁₄	≥ %98	MERCK	Bazı ekstraksiyon basamaklarında kullanılmıştır.
Petrol eteri			VWR	
Sodyum hidroksit	NaOH	≥ %97	MERCK	Etken madde izolasyonunda kullanılmıştır.
Potasyum hidroksit	KOH	≥ %85	SIGMA-ALDRICH	
Sodyum bikarbonat	NaHCO ₃	≥ %99.7	SIGMA-ALDRICH	
Sodyum hidrojen sülfat	NaHSO ₃	%39	MERCK	
Hidroklorik asit	HCl	%37	MERCK	
Nitrik asit	HNO ₃	%95	MERCK	Sol-jel enkapsülasyon prosesinde kullanılmıştır.
Orto-Fosforik asit	H ₃ PO ₄	%85	FLUKA	Etken madde izolasyonunda kullanılmıştır.
Sodyum sülfat	Na ₂ SO ₄	≥ %99.0	MERCK	Uçucu yağlardan suyun uzaklaştırılması için kullanılmıştır.
Alkan kalibrasyon standartı	C ₈ -C ₄₀		SUPELCO	GC ve GC-MS bileşen analizlerinde kullanılmıştır.
Karvakrol	C ₁₀ H ₁₄ O	%99	SIGMA-ALDRICH	Etken maddelerin karakterizasyonu ve enkapsülasyon proseslerinde kullanılmıştır.
Öjenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	≥ %98	SIGMA-ALDRICH	
1,8-sineol	C ₁₀ H ₁₈ O	%99	ALDRICH	
Sitral	C ₁₀ H ₁₆ O	≥ %96	SIGMA-ALDRICH	
Arabik gam			SIGMA	Dondurarak kurutma yöntemiyle enkapsülasyon prosesinde kullanılmıştır.
Jelatin			FLUKA	
Sukroz	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁		BDH	
Tween 20	C ₅₈ H ₁₁₄ O ₂₆		MERCK	Sol-jel enkapsülasyon prosesinde kullanılmıştır.
Ludox AS40	SiO ₂	%40	ALDRICH	

Çalışmada kullanılan cihazlar, markaları ve kullanım amaçları ile birlikte Çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihazın Adı	Cihazın Markası	Kullanım Amacı
Hassas terazi	Radwag / AS220 / C / 2	Tartım işlemlerinde kullanılmıştır.
Magnetik karıştırıcı	Ika-Werke/ RT15	Standart karıştırma işlemlerinde kullanılmıştır.
Saf su cihazı	Purlab Option/ ELGA LA611	Çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır.
pH metre	Mettler Toledo	Sol-jel reaksiyonu sırasında ortamın pH’ını ölçmek için kullanılmıştır.
Seri pipetör, El Tipi Dispenser	Brand/ Handystep electronic	Kimyasalların eklenmesi için kullanıldı.
Etüv	Venticell	Bazı kimyasalların kurutulması için kullanılmıştır.
Öğütücü	Retsch / 6M 200	Kuru bitki örneklerinin öğütülmesinde kullanılmıştır.
Homojenizatör	Ika / T25 Ultra turraks	Emülsiyonların hazırlanmasında kullanılmıştır.
Buz makinesi	Uğur soğutma makineleri / Buzal60	Bazı reaksiyonlarda buz banyosuna buz temin etmek için kullanılmıştır.
Rafli dijital desikatör	Sicco	Enkapsüle uçucu yağların muhafazası için kullanılmıştır.
Çalkalayıcı su banyosu	Heidolph/ Unimax 210	Ekstraksiyon ve çözücü buharlaştırma işlemlerinde kullanılmıştır.
Soğutmalı santrifüj	Hettich Zentrifugen / AEZ24157	Reaksiyon sonucu oluşan partiküllerin çöktürülmesi için kullanılmıştır.
Polarimetre cihazı	OA / polAAr31	Uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart maddelerin optik çevirme açılarının tayininde kullanılmıştır.
Refraktometre cihazı	Krüss / DR6000-T	Uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart maddelerin kırılma indisi tayininde kullanılmıştır.
Vorteks	Daihan / VM-10	Standart karıştırma işlemleri için kullanılmıştır.
Vakumlu konsantratör	Christ / RVC2-18	Uçucu çözenlerin uzaklaştırılması işleminde kullanılmıştır.

Devamı Arkada

Çizelge 3.2'nin devamı.

Cihazın Adı	Cihazın Markası	Kullanım Amacı
Clevenger ısıtıcısı ve aparatı	Wisd Wise Therm – İLDAM	Uçucu yağların hidrodestilasyonu işleminde kullanılmıştır.
Soğutmalı sirkülasyonlu su banyosu	Lauda Alpha RA 8	Uçucu yağların hidrodestilasyonu işleminde kullanılmıştır.
Liyofilizatör	Christ / Beta2-8 LD Plus	Dondurarak kurutma ile enkapsülasyon işleminde kullanılmıştır.
FTIR spektrometresi	Bruker Tensor 27	İzole edilen etken maddelerin yapı tayininde ve enkapsülasyon sonrası karakterizasyonda kullanılmıştır.
GC-MS cihazı	Agilent Technologies / 7990A	Uçucu yağların içerik analizinde, izole edilen etken maddelerin kalitatif ve kantitatif tayininde, enkapsüle uçucu yağların ve etken maddelerin enkapsülasyon verimi tayininde kullanılmıştır.
TG-DTA cihazı	PerkinElmer-DIAMOND	Enkapsüle edilen uçucu yağların sıcaklığa bağlı olarak kütle değişiminin belirlenmesinde kullanıldı.
Sıvı ¹ H-NMR cihazı	Bruker 400	İzole edilen etken maddelerin yapı tayininde kullanılmıştır.
Katı ²⁹ Si-NMR cihazı	Bruker Superconducting FT.NMR Spectrometer Avance TM 300 MHz WB	Uçucu yağların sol-jel reaksiyonu ile enkapsülasyonu sonrasında yapı tayininde kullanılmıştır.
BET cihazı	Micromeritics Gemini VII	Uçucu yağların ve etken maddelerin enkapsülasyon sonrası yüzey alanlarının ve gözenek dağılımlarının belirlenmesinde kullanılmıştır.
SEM cihazı	LEO 440 computer controlled digital	Uçucu yağların ve etken maddelerin enkapsülasyon sonrası morfolojileri hakkında bilgi edinmede kullanılmıştır.

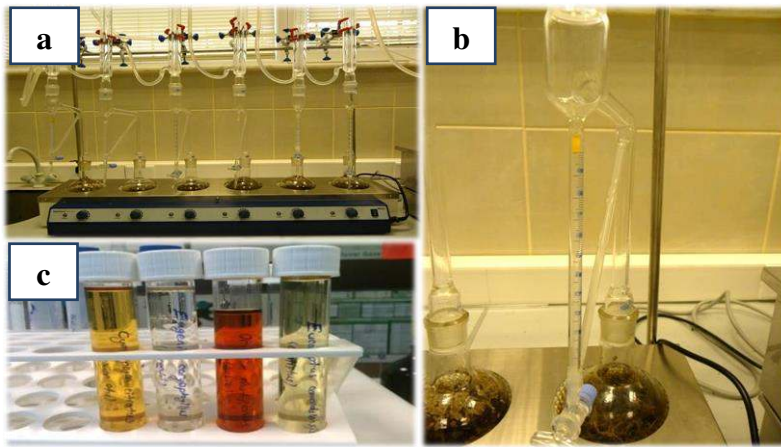
3.2. Metot

Bu tez kapsamında öncelikle seçilen bitkilerin uçucu yağları elde edilerek, bu yağların kimyasal içeriği ve bazı önemli fizikokimyasal parametreleri incelenmiştir. Çalışmanın önemli bir kısmını oluşturan uçucu yağlardan etken maddelerin izolasyonu ve karakterizasyonu çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağların ve etken maddelerin sol-jel ve dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemleri ile enkapsülasyonu yapıldıktan sonra oluşan materyallerin yapısal özelliklerine dair karakterizasyon çalışmaları ve enkapsülasyon verimine ilişkin çalışmalar yapılmıştır.

3.2.1. Bitki materyallerinin hazırlanması ve uçucu yağlarının hidrodestilasyonla eldesi

BATEM, Aksu yerleşkesinden toplanan *Eucalyptus camaldulensis* (ECam) ve BATEM tıbbi ve aromatik bitkiler gözlem bahçesinden hasat edilen *Cymbopogon citratus* bitkileri gölgede kurutulmuştur. *Origanum minutiflorum* (OM) ve *Eugenia caryophyllata* (ECar) ise İnan Tarım Ürünleri firmasından gölgede kurutulmuş formda temin edilmiştir. Deneysel çalışmalarda, ECam bitkisinin genç dalları, ECar'un çiçek tomurcukları, *Origanum minutiflorum* (OM) ve *Cymbopogon citratus* (CC) bitkilerinin ise toprak üstü kısımları kullanılmıştır.

ECar tomurcukları tüm halde, diğer bitki materyalleri ise öğütücüden geçirildikten sonra 20.0 g tartılarak dibi yuvarlak ve şifli 500 mL'lik reaksiyon balonuna alınmıştır. Balonun içerisine 200 mL saf su eklendi ve çalkalandıktan sonra clevenger düzeneğinin ısıtmalı ceket kısmına yerleştirilmiştir. Clevenger aparatı reaksiyon balonuna bağlanarak kuru bitki materyallerinin sulu süspansiyonu 2 saat süreyle hidrodestilasyon işlemine tabi tutulmuştur. Su buharıyla sürüklenen uçucu yağlar soğutma sisteminde yoğunlaşarak dereceli kısma toplanmıştır, sistem oda sıcaklığına geldikten sonra uçucu yağlar sulu fazdan ayrılarak cam tüpe alınmıştır. Bu işlem her bir bitki için 30.0 mL yağ elde edilene kadar tekrarlanmıştır. Elde edilen uçucu yağlar susuz Na₂SO₄ ile suyu uzaklaştırıldıktan sonra izolasyon ve enkapsülasyon çalışmalarına kadar hava ve ışık almayacak şekilde +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.2. (a,b) Clevenger düzeneği (c) Elde edilen uçucu yağlar, soldan sağa; CC, ECar, OM, ECam

Nem tayini:

Hidrodestilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağ veriminin doğru saptanması amacıyla kuru bitki üzerinden verim hesaplaması yapılmıştır. Materyalin içerdiği nem miktarı volumetrik yöntemle belirlenmiştir. Bu amaçla yapılan nem miktar tayininde volumetrik nem tayin düzeneği kullanılmıştır (şekil 3.3). 10 g numune tartılarak 250 mL'lik cam balona yerleştirilip üzerine bitki materyalinin üzerini örtecek kadar su ile doyurulmuş ksilen eklenmiştir. Dereceli cam tüpe biriken su miktarı sabit kalıncaya kadar geri soğutucu altında kaynatılmıştır. Dereceli kısımda ksilen ve su fazları tamamen ayrıldıktan sonra alt kısımda toplanan suyun miktarı mL cinsinden kaydedilip kuru bitki materyalinin tartım miktarı kullanılarak sonuç yüzde cinsinden hesaplanmıştır.



Şekil 3.3. Volümetrik nem tayin düzeneği

3.2.2. Elde Edilen Uçucu Yağlara Ait Bazı Fizikokimyasal Analizler

Elde edilen uçucu yağlarda, etil alkoldeki çözünürlük tayini, kırılma indisi tayini ve optik çevirme açısı tayini gibi bazı kalite parametrelerine bakıldı.

3.2.2.1. Etil alkoldeki çözünürlüklerinin tayini

Türk Standartları Enstitüsünün TS ISO 875 yöntemine göre yapılmıştır. Bir hacim (1V) uçucu yağın farklı konsantrasyonlardaki (% 70-75-80-85-90-95) etil alkol çözeltilerindeki çözünürlüğünün saptanması temeline dayanır. % 70'den başlanarak etil alkol çözeltisi bir hacim (1V) uçucu yağ üzerine damla damla eklenerek uçucu yağın çözünüp, çözünmediği kontrol edilir, çözünürse kaç hacim % 70'lik etil alkolde çözüldüğü kaydedilir, opaklı çözünme gösterirse standart olarak kabul edilen 0.5 mL 0.1M AgNO₃, 5 mL 0.0002 M NaCl ve 1 damla konsantre nitrik asit (d₂₀= 1.38 g/mL) ile hazırlanan AgNO₃ çözeltisi ile karşılaştırılır. AgNO₃ çözeltisindeki opaklanmaya göre aynı, daha az veya daha çok şeklinde yorum yapılır. 20 hacim (20V) % 70'lik etil alkolde çözünmezse % 75'lik etil alkol çözeltisi ile aynı işlemlere devam edilip en son % 95'lik etanole kadar denenerek sonuca ulaşılır.

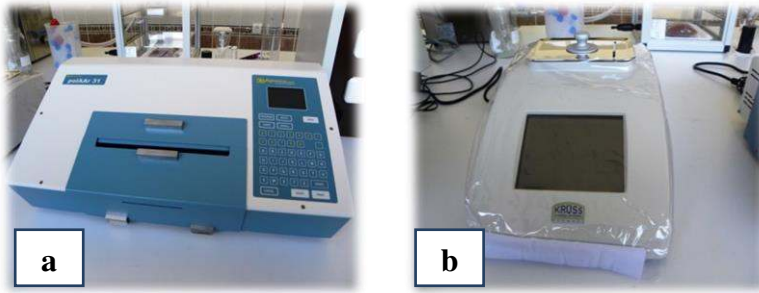
3.2.2.2. Kırılma indisi tayini

Türk Standartları Enstitüsünün TS ISO 280 yöntemine göre yapılmıştır. Dijital refraktometre kullanılarak ölçüm yapılır. 0.0002 duyarlılıkta, 1.3000 ve 1.7000 arasında

kırılma indisi değerleri ölçümü yapabilen, termostatı 0.2 °C duyarlılıkta bir refraktometre kullanılmıştır.

3.2.2.3. Optik çevirme açısı tayini (Polarimetrik metot)

Türk Standartları Enstitüsünün TS ISO 592 yöntemine göre yapılmıştır. Polarimetre cihazı kullanılmıştır. Uçucu yağların optik rotasyonu, 589.3nm $\pm$ 0.3 nm dalgaboyundaki sodyumun D hattı ışınlarının 20 °C sıcaklıkta 100 mm kalınlığındaki esansiyel yağın içinden geçmesi sonucu düz polarize ışığın polarize düzlemdeki sapma derecesinin ölçülmesi temeline dayanır.



Şekil 3.4. (a) Polarimetre, (b) Dijital refraktometre

3.2.3. Uçucu yağların etken maddelerinin izole edilmesi (ayrıştırılması)

Uçucu yağlardan etken maddelerin izolasyonunda etken maddenin kimyasal yapısı göz önünde bulundurulmuştur. Bileşiğin taşıdığı fonksiyonel gruba göre kimyasal türevlendirme ve ekstraksiyon basamakları gerçekleştirilerek uçucu yağ karışımından etken maddeler uzaklaştırılmıştır. Türevlendirerek ayrılan etken maddeler bir takım tersinir tepkimeler ve ekstraksiyonlar sonucu saf olarak ya da etken maddece zengin fraksiyonlar halinde elde edilmiştir.

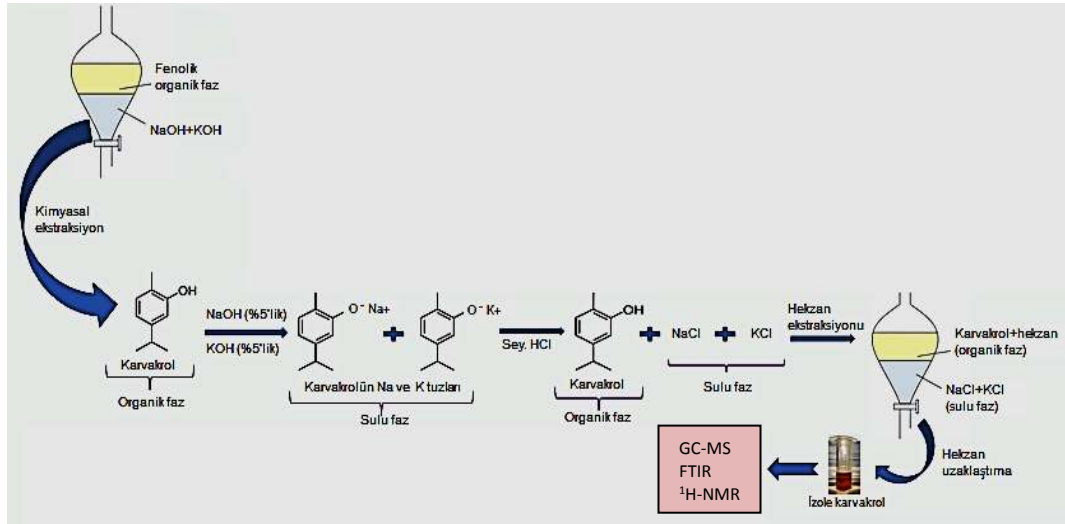
Tanker ve Tanker'in (1990) uçucu yağlarda bulunan fenolik maddelerin miktar tayinine dair belirttiği metottan yola çıkılarak fenollerin alkali tuzlarının suda çözünme özelliği kullanılarak fenolik maddelerin (karvakrol ve öjenol) uçucu yağ içerisinden izolasyonu için yeni bir yöntem optimize edilerek geliştirilmiştir.

Çalışmamızda yer alan ECam uçucu yağından 1,8-sineol izole etmek için Raghavan ve arkadaşlarının (1991) kakule uçucu yağından 1,8-sineolü izole etmek amacıyla 1,8-sineolün orto-fosforik asit ile katılma bileşiği oluşturması özelliğine dayanarak geliştirdikleri metot modifiye edilerek geliştirilmiş ve optimizasyonu gerçekleştirilmiştir.

CC uçucu yağından sitral izolasyonu FCC'de (Food chemical codex) (2003) limon otu yağına dair spesifikasyonda yer alan sitral miktar tayininden yola çıkılarak gerçekleştirilmeye çalışılmıştır.

3.2.3.1. OM uçucu yağından karvakrolün izole edilmesi

OM uçucu yağının etken maddesi olan ‘karvakrol’ fenolik bir bileşik olup hafif asidik karakterdedir. Fenolik bileşiklerin bu özelliğinden yola çıkılarak asit-baz ekstraksiyonu ile izolasyon prosesi gerçekleştirilmiştir. 6.0 mL OM uçucu yağı ayırma hunisine alınarak önce 18.0 mL % 5’lik NaHCO_3 ’la ekstrakte edilerek fenolikler dışında asidik özellikteki bileşiklerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Sulu fazdan 20 mL hekzanla ayrılan karvakrolün de içerisinde bulunduğu organik faza 15.0 mL % 5’ lik KOH ve 15.0 mL % 5’lik (1.25 M) NaOH eklenerek kuvvetli çalkalama işlemi ile karvakrolün Na ve K tuzları halinde sulu faza geçmesi sağlanmıştır. Bu işleme karvakrolün tamamı organik fazdan sulu faza çekene kadar devam edilmiştir. Altta kalan sulu faz diğer bir ayırma hunisinde toplanmıştır. Bu işlem 3 kez tekrar edilmiştir. Ayrılan sulu faza 0.25 M HCl çözeltisinden 180 mL eklenip kuvvetli çalkalanarak tuzları formunda bulunan karvakrol ayrılarak sulu faz üzerinde toplanmıştır. Yüzeyde toplanan karvakrol 20 mL hekzan yardımıyla sulu fazdan ayrılmıştır. Su banyosunda 70 °C’da hekzanın bir kısmı uçurulmuştur. Kalan kısım 40 °C’de 20 dakika vakumlu konsantratörde tutularak hekzanın tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır. Susuz sodyum sülfat ile suyu uzaklaştırıldıktan sonra saf karvakrol analiz ve enkapsülasyon çalışmalarına kadar hava ve ışık almayacak şekilde +4 °C’de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

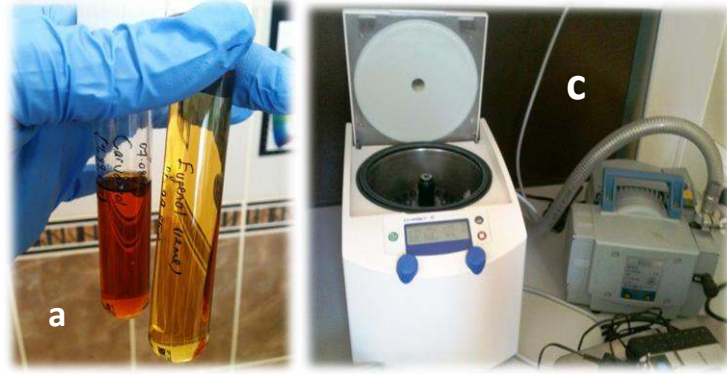


Şekil 3.5. OM uçucu yağından karvakrol eldesi

3.2.3.2. ECar uçucu yağından öjenolün izole edilmesi

5 mL ECar uçucu yağı ayırma hunisine alınarak önce 12.5 mL % 5’lik NaHCO_3 ‘la ekstrakte edilerek fenolikler dışında asidik özellikteki bileşiklerin uzaklaştırılması sağlanmıştır. Sulu fazdan 10 mL hekzanla ayrılan karvakrolün de içerisinde bulunduğu organik faza 5 mL % 5’lik KOH ve 5 mL % 5’lik (1.25 M) NaOH eklenerek kuvvetli çalkalama işlemi ile öjenol Na ve K tuzları halinde sulu faza alınmıştır. Bu işleme öjenolün tümünü organik fazdan sulu faza çekene kadar devam edilmiştir. Altta kalan sulu faz diğer bir ayırma hunisinde toplanmıştır. Bu işlem 3 kez tekrar edilmiştir. Ayrılan sulu faza 0.25 M HCl çözeltisinden 100 mL eklenip kuvvetli çalkalanarak tuzları formunda bulunan öjenol ayrılarak sulu faz üzerinde toplanmıştır. Yüzeyde toplanan öjenol 20 mL hekzan yardımıyla sulu fazdan ayrılmıştır. Su banyosunda 70

°C'de hekzanın bir kısmı uçurulmuştur. Kalan kısım 40 °C'de 20 dak. vakumlu konsantratörde tutularak hekzanın tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır. Susuz sodyum sülfat ile suyu uzaklaştırıldıktan sonra saf öjenol, analiz ve enkapsülasyon çalışmalarına kadar hava ve ışık almayacak şekilde +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.6. İzole edilen (a) karvakrol (b) öjenol ve (c) vakumlu konsantratör

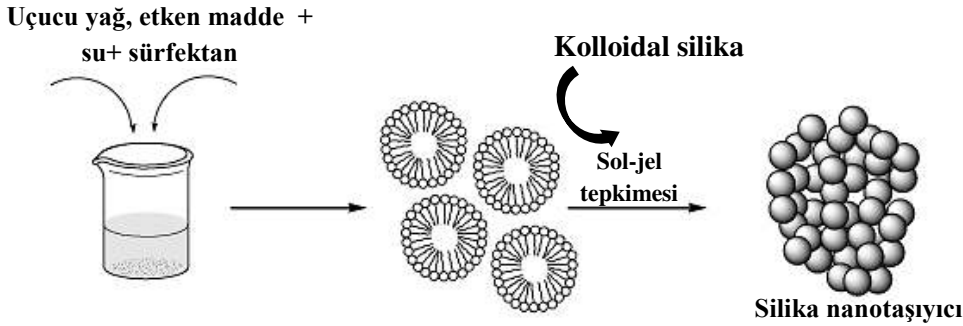
3.2.3.3. ECam uçucu yağından 1,8-sineolün izole edilmesi

0.75 mL ECam uçucu yağı, 0.3 mL H₃PO₄ (% 85'lik) ve 12 mL petrol eteri buz banyosunda bekletildikten sonra H₃PO₄, ECam uçucu yağı içerisine damla damla eklenmiştir. Vorteks ile karıştırıldıktan sonra reaksiyon bitene kadar (5 dak) buz banyosunda bekletilmiştir. Reaksiyon bittiğinde uçucu yağ içerisindeki 1,8-sineolle orto-fosforik asit arasında kırmızı-kahve renginde katılma bileşiği oluşmuştur. Bu bileşiği ortamda bulunan diğer uçucu yağ bileşenlerinden ayırmak amacıyla buz banyosunda bekletilen 3 mL petrol eteri ile yıkanmıştır. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlandıktan sonra ayrılan katılma bileşiği üzerine 2 mL 80 °C saf su eklenerek katılma bileşiğinin bozunması sağlanmıştır. Katılma bileşiğinin bozunması ile 1,8-sineol sulu fazdan ayrılarak üst fazda toplanmıştır. Karışım içindeki bütün 1,8-sineolün sulu fazdan tam olarak ayrılabilmesi için Na₂SO₄ ve 1.5 mL hekzan ile ekstrakte edilmiştir. Hekzan ekstraksiyonu iki kez tekrarlandıktan sonra ayrılan hekzan fazı sıcak su banyosuna alınarak hekzan ve kalan petrol eteri uçurulmuştur. Kalan kısım 40 °C'de 10 dak. vakumlu konsantratörde tutularak kalan hekzanın da tamamen uzaklaştırılması sağlanmıştır. 1,8-sineol enkapsülasyon çalışmasına kadar hava ve ışık almayacak şekilde +4 °C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.7. ECam uçucu yağından 1,8-sineol eldesini gösteren reaksiyon zinciri

Kolloidal silikanın pH değerinin 9'dan 6'ya düşürülmesiyle asidik ortamda asit katalizörlü sol-jel tepkimesi gerçekleştirilmiştir. Kolloidal silika parçacıklarının yüzeyindeki hidroksil gruplarındaki oksijen atomunun protonlanması ile kendi aralarında ve sürfektanın hidrofil uçlarındaki hidroksil gruplarıyla sol-jel reaksiyonuna girerek disperse edilen uçucu yağlar ve etken maddeler üç boyutlu matris yapı içerisindeki gözeneklere hapsolmuşlardır. Oluşan enkapsüle ürünler uçucu yağların ve etken maddelerin karakteristik renk ve kokusunu taşımaktadırlar.



Şekil 3.9. Uçucu yağ ve etken maddelerin sol-jel enkapsülasyonu ve asit katalizörlü sol-jel tepkimesi

3.2.4.1. OM uçucu yağının sol-jel enkapsülasyonu

OM uçucu yağının Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.25 g OM uçucu yağı saf su ile hazırlanan % 2'lik 30 mL T20 (0.6 g) çözeltisinde manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 11.375 g L40 (kolloidal silika) (4.55 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağ dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak OM uçucu yağı silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

3.2.4.2. ECar uçucu yağının sol-jel enkapsülasyonu

ECar uçucu yağının Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.25 g ECar uçucu yağı saf su ile hazırlanan % 2'lik 20 mL T20 çözeltisinde (0.4 g) manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 7.6 g L40 (3.04 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. Uçucu yağ dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak ECar uçucu yağı silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

3.2.4.3. ECam uçucu yağının sol-jel enkapsülasyonu

ECam uçucu yağının Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.25 g ECam uçucu yağı saf su ile hazırlanan % 5'lik 20 mL T20 çözeltisinde (1.0 g) manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 18.96 g L40 (7.584 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. ECam dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak ECam uçucu yağı silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

3.2.4.4. CC uçucu yağının sol-jel enkapsülasyonu

CC uçucu yağının Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.25 g CC uçucu yağı saf su ile hazırlanan % 2'lik 85 mL T20 çözeltisinde (1.7 g) manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 32.23 g L40 (12.892 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. CC dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak CC uçucu yağı silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

3.2.4.5. İzole edilen karvakrolün sol-jel enkapsülasyonu

İzole edilen karvakrolün (IC) Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.25 g IC saf su ile hazırlanan % 2'lik 45 mL T20 çözeltisinde (0.9 g) manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 17.06 g L40 (6.824 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. IC dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak IC silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

3.2.4.6. Standart karvakrolün sol-jel enkapsülasyonu

Standart olarak kabul edilen karvakrolün (SC) (Sigma-Aldrich/%99) Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.25 g SC saf su ile hazırlanan % 2'lik 60 ml T20 çözeltisinde (1.2 g) manyetik karıştırıcıda 45 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 22.8 g L40 (9.12 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir.

SC dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak SC silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

3.2.4.7. İzole edilen öjenolün sol-jel enkapsülasyonu

İzole edilen öjenolün (IE) Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.25 g IE saf su ile hazırlanan % 2'lik 25 mL T20 çözeltisinde (0.5 g) manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 9.5 g L40 (3.8 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. IE dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak IE silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

3.2.4.8. Standart öjenolün sol-jel enkapsülasyonu

Standart olarak kabul edilen öjenolün (SE) (Sigma-Aldrich/ $\geq$ %98) Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.25 g SE saf su ile hazırlanan %2'lik 20 ml T20 çözeltisinde (0.4 g) manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 7.6 g L40 (3.04 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. SE dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak SE silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

3.2.4.9. İzole edilen 1,8-sineolün sol-jel enkapsülasyonu

İzole edilen 1,8-sineolün (ICin) Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.125 g ICin saf su ile hazırlanan % 2'lik 25 mL T20 çözeltisinde (0.5 g) manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1 dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 9.5 g L40 (3.8 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. ICin dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki kolloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak ICin silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

Standart 1,8- sineol tez çalışması boyunca temin edilemediğinden sadece izole 1,8-sineolün sol-jel enkapsülasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.10. Standart sitralin sol-jel enkapsülasyonu

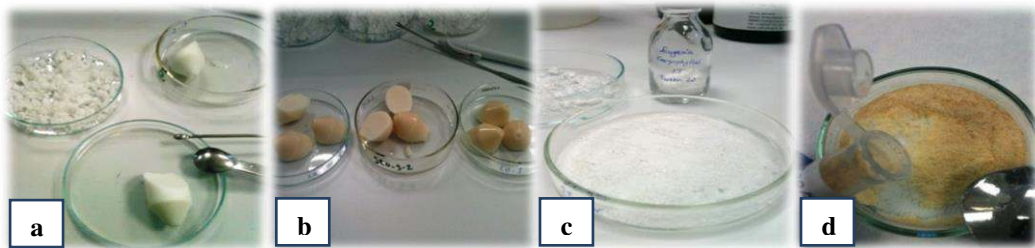
Standart olarak kabul edilen sitralin (SCit) (Sigma-Aldrich/ $\geq 96\%$) Y/S emülsiyonunun hazırlanması için oda koşullarında 0.125 g IC'nin saf su ile hazırlanan % 2'lik 35 mL T20 çözeltisinde (0.7 g) manyetik karıştırıcıda 30 dak süreyle disperse edildikten sonra 14000 rpm'de 1dak homojenizatörden geçirilerek Y/S emülsiyonu oluşturulmuş ve pH değeri 6' ya getirilmiştir. 13.3 g L40 (5.32 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. SCit dispersiyonu manyetik karıştırıcıdaki koloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanarak SCit silika matris içine enkapsüle edilmiştir. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

Saf sitral izole edilemediği için sadece standart sitralin sol-jel enkapsülasyon uygulaması gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.11. Boş sol-jel uygulaması (Kontrol)

% 2'lik 30 mL T20 çözeltisinde (0.6 g) manyetik karıştırıcıda pH değeri 6' ya getirilmiştir. 11.375 g L40 (4.55 g) pH değeri 6'ya getirilerek oda şartlarında ağzı açık bir sistemde hidroliz tepkimesi gerçekleştirilmiştir. T20 çözeltisi manyetik karıştırıcıdaki koloidal silika üzerine seri pipetör yardımıyla damla damla eklenerek kondenzasyon tepkimeleri ile sol-jel reaksiyonu tamamlanmıştır. Jelleşme, dispersiyonun eklenmeye başlanmasından 2-3 dak sonra görülmüş ancak reaksiyonun tamamlanması için 30 dak manyetik karıştırıcıda tutulmuştur.

Kontrol ve diğer tüm uygulamalar jelleşme tamamlandıktan sonra 5000 rpm'de 10 dak santrifüj edilmiştir. Sulu fazdan ayrılan jeller oda sıcaklığında 24 saat kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan jeller analizlere kadar ağzı kapalı numune kaplarına alınarak desikatörde bekletilmiştir. Örnek analiz öncesi havanda toz haline getirilerek kullanılmıştır (Şekil 3.9).

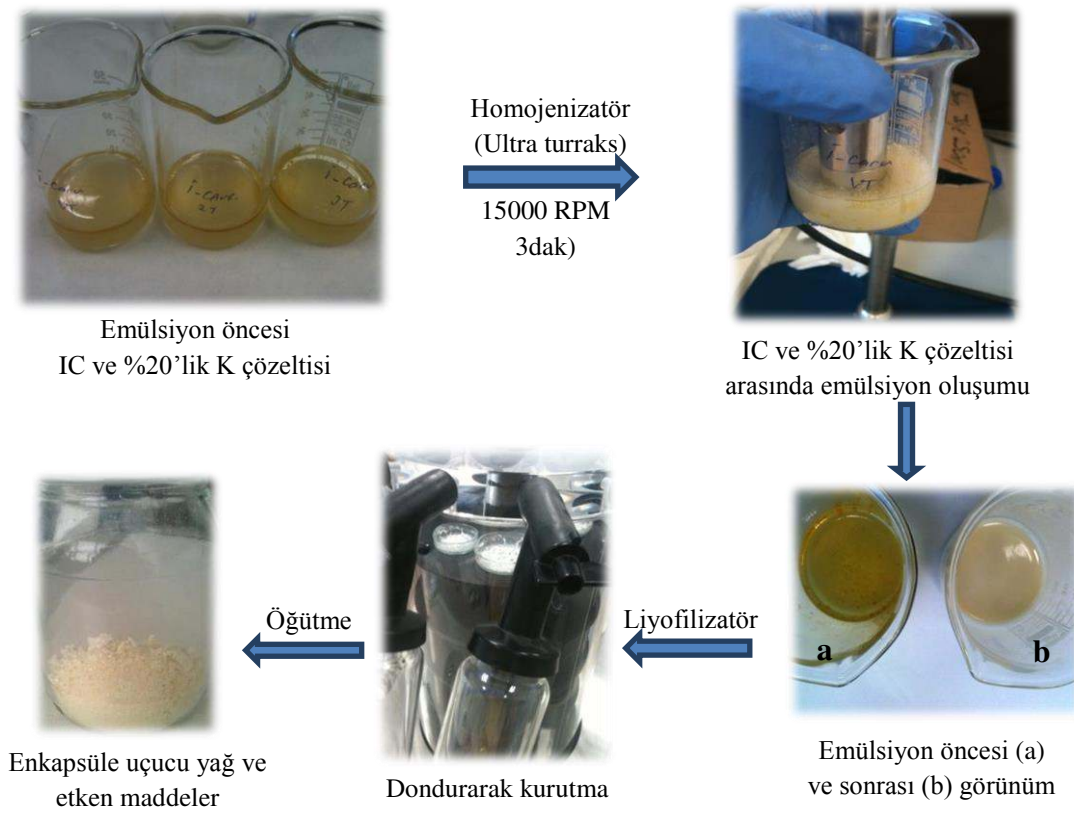


Şekil 3.10. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen uçucu yağlar ve etken maddeler. Oda sıcaklığında kurumaya bırakılan (a) ECar (b) SCit. Toz hale getirilmiş (c) ECar (d) SCit.

3.2.5. Uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsülasyonu

Uçucu yağların ve etken maddelerin dondurarak kurutma yöntemiyle enkapsülasyonu iki basamakta gerçekleştirilmiştir. Birinci basamakta uçucu yağlar ve etken maddelerin su içinde yağ emülsiyonları oluşturulmuştur. İkinci basamakta ise oluşturulan emülsiyonlar liyofilizatörde dondurarak kurutma yöntemiyle enkapsülasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Emülsiyonların hazırlanmasında Arabik gam (AG), jelatin ve sukroz gibi doğal kaynaklı organik emülsiyon oluşturucular kullanılmıştır. Bu yöntemde iki uygulama gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak eşit oranlarda (1:1:1) arabik gam, jelatin ve sukroz alınarak 45°C’de % 20’lik sulu karışım (K) çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan emülgatör karışım çözeltisinin içerisine uçucu yağlar ve etken maddeler toplam katı (TK=arabik gam+jelatin+sukroz) miktarı ile aralarında 1:9 oranı olacak şekilde ilave edildi. Uçucu yağ ve etken maddelerin ilavesinden sonra emülsiyon oluşumu için 15000 rpm’de 3 dak homojenizatörden geçirildi. İkinci uygulamada matris ortamı olarak sadece AG emülgatörü kullanıldı. 45 °C’de % 20’lik sulu çözeltisi hazırlandı ilk uygulamada olduğu gibi AG çözeltisinin içerisine uçucu yağlar ve etken maddeler toplam katı (TK=arabik gam) miktarı ile aralarında 1:9 oranı olacak şekilde ilave edilerek emülsiyon oluşumu için 15000 rpm’de 3 dak homojenizatörden geçirildi (Kaushik ve Roos 2006).



Şekil 3.11. Dondurarak kurutma yöntemi ile enkapsülasyon basamakları.

Cam petri kaplarına aktarılan emülsiyonlar liyofilizatöre konularak 30 dak freezing (dondurma), -18 °C’de, 1,2 mbar vakum altında 2 saat birinci kurutma (main drying) ve son olarak -70 °C’de, 0,0095 mbar vakum altında 20 saat ikinci kurutma (final drying) programları uygulandı (Şekil 3.10). Dondurularak kurutulan emülsiyonlar analizlere kadar ağzı kapalı numune kaplarına alınarak desikatörde bekletildi. Örnek analiz öncesi havanda toz haline getirilerek kullanıldı. K ve AG uygulamalarının her ikisinde de emülsiyonlar, 0.2 g uçucu yağ veya etken madde tartımı alınıp üzerinde 0.9 mL % 20’lik emülgatör çözeltisi (1.8 g) eklenerek aralarında kütlece 1:9 oranı olacak şekilde hazırlanmıştır.

3.2.6. Gaz kromatografisi/Kütle spektrometresi (GC-MS) ve Gaz kromatografisi (GC-FID) ile uçucu yağların kimyasal analizi

Elde edilen uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin eş zamanlı gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi/kütle spektrometresi sistemi ile analizleri gerçekleştirildi. GC sisteminde kolonda ayrılan bileşikler FID dedektör ile tespit edilerek bileşiklerin bağıl yüzdeleri belirlendi. GC-MS (Şekil 4.2) sistemine ait kolonda ayrılan bileşiklerin kütle spektrometresi kısmında tek tek kütle spektrumları alındı. Uçucu yağın bileşenlerinin teşhisinde OIL ADAMS, WILEY ve NIST kütüphanelerinin verileri esas alınmıştır. Uçucu yağ bileşen oranlarında ise FID dedektörünün verileri kullanılmıştır.



Şekil 3.12. Gaz kromatografisi/Kütle spektrometresi (GC-MS)

Örnekler 1:100 oranında hekzan ile seyreltilip Gaz kromatografisi (Agilent 7890A) cihazına 1 µL olarak enjekte edilmiştir. Bileşenlerin ayrımı için kapiler kolon kullanılmıştır. Kolon, bitiminde bir ayraç (splitter) yardımıyla FID ve kütle spektrometresi dedektörüne (Agilent 5975C) akış 1:1 oranında olacak şekilde ikiye ayrılmıştır. Analizde kullanılan taşıyıcı gaz, enjektör sıcaklığı, kolon sıcaklık programı, kütle detektörü için tarama aralığı (m/z) ve elektron bombardımanı iyonizasyon enerjisi aşağıda belirtilmiştir (Özek vd 2010).

GC Analiz Koşulları

Sistem: Agilent Agilent 7890A

Kolon: HP-5MS (Capillary; 30.0 m x 250 µm x 0.25 µm)

Taşıyıcı Gaz: Helyum (0.8 mL/dak)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon: 250 °C

Kolon : 60 °C'de 5 dak, 3 °C /dak artışla 210 °C'ye, 210 °C'de 5 dak. Toplam 60 dak.

Split Oranı: 40:1
Detektör: 250 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

GC-MS Analiz Koşulları

Sistem: Agilent 5975C GC-MSD
Kolon: HP-5MS (Capillary; 30.0 m x 250 µm x 0.25 µm)
Taşıyıcı gaz: Helyum (0.8 mL/dak)
Sıcaklıklar
Enjeksiyon: 250 °C
Kolon : 60 °C'de 5 dak, 3 °C /dak artışla 210 °C'ye, 210 °C'de 5 dak. Toplam 60 dak
Split Oranı: 40:1
Elektron Enerjisi: 70 eV
Kütle Aralığı: 35-450 *m/z*

3.2.7. İzole edilen bileşiklerin karakterizasyonu

Uçucu yağlardan izole edilen bileşiklerin yapı tayinleri için GC ve GC-MS, FTIR spektroskopisi ve sıvı ¹H-NMR analizleri yapılmıştır. GC ve GC-MS analizlerinde bölüm 3.2.6.'de anlatılan metot uygulanmıştır. Analizlerde İzole edilen her bir bileşiğe ait yüksek saflıktaki standartlardan yararlanılmıştır. Bu standartlara ait alıkonma zamanları ile izole edilen maddelere ait alıkonma zamanları karşılaştırılmıştır. ¹H-NMR analizleri Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (ERÜ TAUM) tarafından hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

3.2.7.1. Enkapsüle edilen uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi (GC-MS) ve Gaz kromatografisi (GC-FID) ile saptanması

Enkapsüle edilen uçucu yağların, izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin saptanması için öncelikle elde edilen enkapsüle toz materyalden uçucu yağların veya etken maddelerin ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir. Dondurarak kurutma yöntemiyle enkapsülasyon işleminde yer alan arabik gam ve karışım uygulamaları sonucu elde edilen ürünlerden 1 g tartım alınmıştır. 20 mL saf suda 1 dak süreyle 14000 rpm'deki homojenizatör yardımıyla çözülmüştür, tamamen çözünen ürünlerden bileşenler 10 ml hekzan ile 45 °C'deki çalkalamalı su banyosunda 20 dak ekstrakte edilmiştir. Sol-jel yöntemiyle elde edilen enkapsüle ürünler ise 1g tartım alındıktan sonra 10 ml hekzan ile 14000 rpm'deki homojenizatörden geçirilerek mekanik olarak parçalama ile ekstrakte edilmiştir daha sonra 45 °C'deki çalkalamalı su banyosunda 20 dak tutularak ekstraksiyon tamamlanmıştır (Kaushik ve Roos 2006).

Ayrılan hekzan ekstraktları direk olarak Gaz kromatografisi (Agilent 7890A) cihazına 1 µL olarak enjekte edilerek eş zamanlı gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi/kütle spektrometresi sistemi ile analizleri gerçekleştirilmiştir. Bileşenlerin ayrımı için kapiler kolon kullanılmıştır. Kolon, bitiminde bir ayraç (splitter) yardımıyla FID ve kütle spektrometresi dedektörüne (Agilent 5975C) akış 1:1 oranında olacak şekilde ikiye ayrılmıştır. GC-MS (Şekil 4.2) sistemine ait kolonda ayrılan bileşiklerin kütle spektrometresi kısmında tek tek kütle spektrumları alınmıştır. Bileşenlerin teşhisinde OIL ADAMS, WILEY ve NIST kütüphanelerinin verileri esas

alınmıştır. Ayrılan bileşenlerin bağıl yüzdeleri FID dedektör ile tespit edilerek belirlenmiştir. Analizde kullanılan taşıyıcı gaz, enjektör sıcaklığı, kolon sıcaklık programı, kütle dedektörü için tarama aralığı (m/z) ve elektron bombardımanı iyonizasyon enerjisi aşağıda belirtilmiştir (Özek vd 2010).

GC Analiz Koşulları

Sistem: Agilent Agilent 7890A

Kolon: HP-5MS (Capillary; 30.0 m x 250 μ m x 0.25 μ m)

Taşıyıcı Gaz: Helyum (0.8 mL/dak)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon: 250 °C

Kolon : 60 °C'de 5 dak, 3 °C /dak artışla 210 °C'ye, 210 °C'de 5 dak. Toplam 60 dak.

Split Oranı: 5:1

Detektör: 250 °C, FID (Alev iyonlaşma dedektörü)

GC-MS Analiz Koşulları

Sistem: Agilent 5975C GC-MSD

Kolon: HP-5MS (Capillary; 30.0 m x 250 μ m x 0.25 μ m)

Taşıyıcı gaz: Helyum (0.8 mL/dk.)

Sıcaklıklar

Enjeksiyon: 250 °C

Kolon : 60 °C'de 5 dak, 3 °C /dak artışla 210 °C'ye, 210 °C'de 5 dak. Toplam 60 dak.

Split Oranı: 5:1

Elektron Enerjisi: 70 eV

Kütle Aralığı: 35-450 m/z

3.2.7.2. İzole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin FTIR analizi

Numunelere kızılötesi ışın gönderilerek moleküllerin yalnız kendi titreşim frekanslarında ışını soğurma miktarı ölçülerek maddelerin içinde bulunan fonksiyonel gruplar ve yapıların tayini amaçlanmıştır. Analizler Bruker Tensor 27 marka FTIR spektrometresi cihazında 400 ve 4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında gerçekleştirilmiştir. Sıvı halde bulunan uçucu yağların, izole etken maddelerin ve standart etken maddelerin nemsiz spektroskopik potasyum bromür (KBr) yardımı ile birkaç tonluk basınç altında ince şeffaf bir tablet oluşturularak spektrumları alınmıştır.

3.2.7.3. İzole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin ^1H -NMR analizi

Analizler BRUKER (400 MHz) marka NMR cihazında gerçekleştirilmiştir. Cihazda alınan proton spektrumlarında tarama sayısı 16 scan'dir. Çözücü olarak döterio-kloroform kullanılmıştır.

3.2.8. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin karakterizasyonu

Her iki yöntemle elde edilen enkapsüle ürünlerde enkapsülasyon işleminin gerçekleştiğinin belirlenmesi için FTIR spektroskopisi, BET, SEM ve termal analizleri yapılmıştır. Sol-jel yöntemiyle elde edilen ürünlerde ek olarak olarak katı ^{29}Si -NMR analizi de yapılmıştır. BET, SEM ve termal analizler analizleri Erciyes Üniversitesi

Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi (ERÜ TAUM) tarafından hizmet alımı şeklinde yapılmıştır. ²⁹Si-NMR analizleri Orta Doğu Teknik Üniversitesi Merkez Laboratuvarı AR-GE Eğitim ve Ölçme Merkezi tarafından hizmet alımı şeklinde yapılmıştır.

3.2.8.1. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin FTIR analizi

Analizler Bruker Tensor 27 marka FTIR spektrometresi cihazında 400 ve 4000 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında gerçekleştirilmiştir. Katı halde bulunan enkapsüle örneklerin nemsiz spektroskopik potasyum bromür (KBr) yardımı ile birkaç tonluk basınç altında ince şeffaf bir tablet oluşturularak spektrumları alınmıştır.

3.2.8.2. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin ²⁹Si-NMR analizi

Analizler Katı Hal Bruker Superconducting FT NMR Spektrometresi ile gerçekleştirilmiştir. Cihaz yüksek güç TM 300 MHz (~7 Tesla) süper iletken mıknatısa, 8.500 Hz spin hızına ve 4 mm MAS proba sahiptir. Çözücü olarak dötero değişimli kloroform kullanılmıştır. Sihirli aç spini (Magic Angle Spini) ve çapraz polarizasyon teknikleri kullanılmıştır.

3.2.8.3. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin N₂ adsorpsiyon–desorpsiyon (BET) analizi

Örnekleri yüzey alanı, ortalama gözenek yarıçapı ve gözenek boyutu dağılımı Micromeritics Gemini VII cihazında gerçekleştirilmiştir. Analizlerden önce numunelerin yüzeyinde adsorblanmış gazları ve havayı uzaklaştırmak için azot gazı ile oda sıcaklığında yaklaşık 4 saat degaz işlemi uygulanmıştır. Cihazda referans tüpe karşı numuneden belirlenen noktalarda (p/p⁰) ölçüm yapılmıştır.

3.2.8.4. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin SEM analizi

Numunelerin yüzeylerinin fiziksel yapılarını incelemek için LEO 440 marka tarayıcı elektron mikroskobu (SEM) cihazında kullanılmıştır. Numunelerin ölçüm esnasında elektriklenmelerini önlemek için yüzeyleri 2-3 nm altın ile kaplanmıştır. Numuneler, 500X ve 50.00 KX aralığında farklı ölçeklerde büyütme oranları ile görüntülenmiştir.

3.2.8.5. Enkapsüle uçucu yağ ve etken maddelerin TGA analizi

Analizler Perkin Elmer -Diamond termal analiz cihazında yapılmıştır. Analizler 50-800 °C sıcaklık aralığında 10 °C/dk programlı artışla azot atmosferinde yapılmıştır. Programlı olarak artırılan sıcaklık sonucunda analizi yapılan numunenin kütlesinde meydana gelen azalmalar, sıcaklığın fonksiyonu olarak incelenmiştir.

3.2.9. Enkapsülasyon verimi tayini

Enkapsülasyon işlemleri sonucunda uçucu yağların ve etken maddelerin ne kadarının enkapsüle edildiği kantitatif olarak belirlenerek % enkapsülasyon verimi saptanmıştır. Bunun için bölüm 3.2.8’de yapılan GC ve GC-MS analiz sonuçları kullanılmıştır. Kantitatif çalışma için GC-FID kromatogramlarındaki etken maddeye ait olan pikin alan değerinden yararlanılmıştır.

Deneysel etken madde miktar tayini

Öncelikle seçilen dört uçucu yağa ait etken maddenin farklı konsantrasyonlardaki (ppm) hekzan çözeltileri 3 tekerrürlü olarak hazırlanıp bölüm 3.2.8’deki metota göre GC ve GC-MS analizi yapılmıştır. Her konsantrasyona ait kromatogramda yer alan piklerin alanları saptanmıştır. Konsantrasyon ve alan değerleri ile kalibrasyon eğrileri çizilmiştir. Daha sonra ekstrakte edilen enkapsüle ürünlerin GC-FID kromatogramlarındaki etken maddeye ait pikin alan değerine karşılık gelen konsantrasyon kalibrasyon eğrisi yardımıyla belirlenmiştir. Bu durumda, 1 g örnek kullanılarak elde edilen ekstraktın içindeki etken madde konsantrasyonu saptanmıştır. Konsantrasyonu ve hacmi bilinen ekstrakttaki etken madde miktarı (g) belirlenmiştir.

Teorik etken madde miktar tayini

Her bir enkapsüle ürün içerisindeki uçucu yağ ve etken madde oranı (%) bilinmektedir. Dolayısı ile 1 g enkapsüle ürünlerdeki uçucu yağ veya etken madde miktarı bu oran sayesinde saptanmıştır. Etken maddenin uçucu yağ içerisindeki bağıl yüzdesi de bilindiği için teorik olarak 1 g enkapsüle üründe olması gereken etken madde miktarı hesaplanmıştır.

Uçucu yağların veya etken maddelerin enkapsüle ürünlerdeki deneysel ve teorik olarak saptanan miktarlarından yararlanarak enkapsülasyon verimi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır (Kaushik ve Roos 2006).

$$\text{Enkapsülasyon verimi (\%)} = \frac{m_{\text{Enkapsüle edilen uçucu yağ (Deneysel)}}}{m_{\text{Başlangıçtaki uçucu yağ (Teorik)}}} \times 100$$

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Uçucu Yağların Fizikokimyasal Parametre Değerleri

Clevenger düzeneği kullanılarak hidrodestilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu yağların bazı kalite parametreleri olan etil alkoldeki çözünürlükleri, kırılma indisi ve optikçe çevirme açısı değerleri çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Uçucu yağlara ait ölçülen fizikokimyasal parametre değerleri

Uçucu Yağlar	Etil alkoldeki çözünürlük (20 °C)*	Kırılma indisi (20 °C)	Optik çevirme açısı (°) (20 °C)
OM	1.2V % 80’lik EtOH (v/v)	1.5082	-1.8
ECar	2V % 70’lik EtOH (v/v)	1.5307	-0.5
ECam	5V % 70’lik EtOH (v/v)	1.4700	1.5
CC	2V % 70’lik EtOH (v/v)	1.4884	-0.2

* Bir hacim (1V) uçucu yağın çözündüğü etil alkol çözeltisinin hacmi

Uçucu yağların kalite özellikleri belirlenirken fizikokimyasal parametreleri spesifikasyonlar, farmakopeler, TSE (Türk Standartları Enstitüsü), ISO (International Organization for Standardization), DIN (Alman Endüstri Standartları), ASTA (Amerikan baharat ticaret organizasyonu) gibi standartlarda yer almalı ve elde edilen veriler bu standartlardaki değerlerle uyum göstermelidir. OM uçucu yağı Türkiye’ye endemik bir tür olduğundan yurtdışı kaynaklı standartlarda ve farmakopelerde yer almamaktadır. TSE’de ise OM yağına ve diğer kekik türlerine ait standartlar bulunmamaktadır.

ECar uçucu yağına ait TSE standartlarında etil alkoldeki çözünürlüğü için 20 °C 'de 1V uçucu yağ, 2V % 70'lik (V/V) EtOH ' de berrak bir çözelti vermelidir şeklinde belirtilirken kırılma indisi 1.528-1.538 aralığında, optik çevirme açısı (-1.5) – (0) aralığında olması gerektiği belirtilmiştir (TS 10362 1992). Çalışmada elde edilen ECar uçucu yağına ait parametreler TSE’de belirtilenlerle uyum içindedir.

ECam uçucu yağı için bir spesifikasyon bulunmazken genellikle *Eucalyptus globulus* türüne ait standartlara rastlamak mümkündür ya da genel olarak okaliptüs yağına dair aralıklardan bahsedilmiştir. İngiliz farmakopesine göre okaliptüs yağı minimum % 70 1,8-sineol içermeli, 20 °C'de 1V uçucu yağ, 5V % 70 'lik (V/V) EtOH ' de berrak bir çözelti vermelidir şeklinde belirtilirken kırılma indisi 1.458-1.470 aralığında optik çevirme açısı ise 0 – (+10) aralığında olması gerektiği belirtilmiştir (Coppen ve Hone 1992). Çalışmada elde edilen ECam uçucu yağına ait parametreler İngiliz Farmakopesi’nde belirtilenlerle 1,8-sineolün bağlı yüzdesi dışında uyum içindedir. Bizim ECam uçucu yağımızın sineol miktarı % 59.09’dur.

FCC’de (Food Chemical Codex) yer alan spesifikasyonda genel olarak *Cymbopogon* türlerine ait olan parametre değerleri mevcuttur. Spesifikasyona göre sitral değerinin % 75’den az olmaması gerekmektedir. 20 °C 'de 1V uçucu yağ, 2V % 70 'lik (V/V) EtOH ' de berrak bir çözelti vermelidir şeklinde belirtilirken kırılma indisi 1.483-1.489 aralığında optik çevirme açısı ise (-10) – 0 aralığında olması gerektiği belirtilmiştir (FCC 2003). Çalışmamızda elde ettiğimiz CC uçucu yağı % 86.91 sitral

içerirken, sahip olduğu fizikokimyasal parametre değerleri spesifikasyondaki değer aralıklarıyla uyum içindedir.

4.2. Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) ve Gaz Kromatografisi (GC/FID) ile Uçucu Yağların Kimyasal Analizi

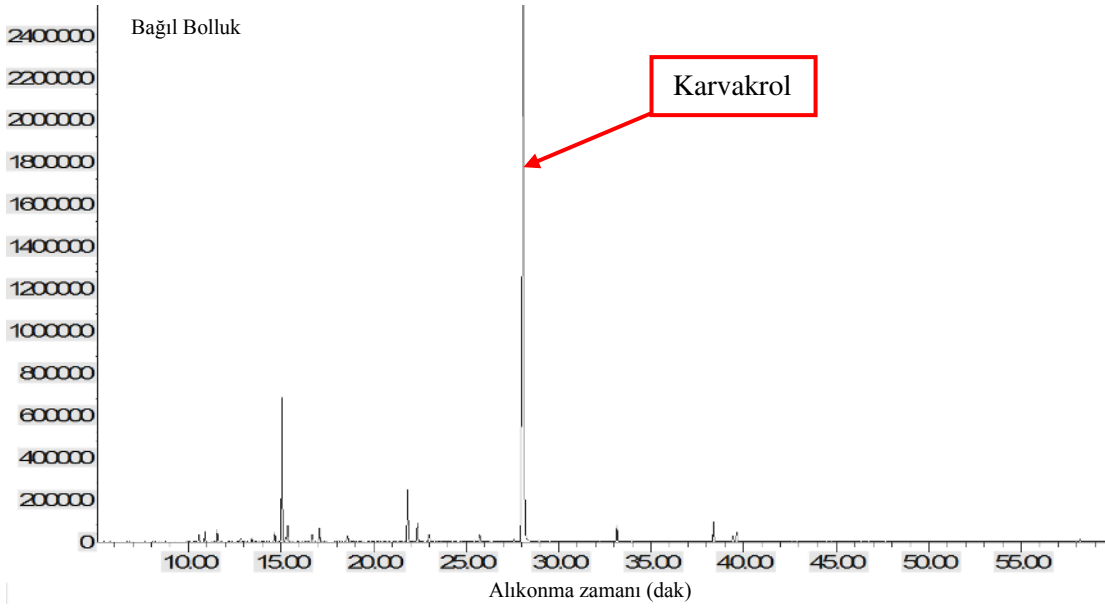
Clevenger düzeneği ile yapılan hidrodestilasyon işlemiyle elde edilen uçucu yağ miktarları ve volumetrik nem tayini sonucunda saptanan nem miktarlarından yararlanarak her bitkiye ait olan uçucu yağ oranı (%) hesaplanmıştır. OM bitkisinin toprak üzeri kısımlarından % 3.933, ECar tomurcuklarından % 10.417, ECam genç dallarından % 2.217 ve CC bitkisinin toprak üstü kısımlarından % 2.258 oranı ile uçucu yağ elde edilmiştir.

Clevenger düzeneği ile yapılan destilasyon işlemleri sonucunda elde edilen uçucu yağların kimyasal kompozisyonları, bölüm 3.2.6' da belirtildiği gibi GC ve GC-MS analizleri ile aydınlatılmış, kromatogramları, kimyasal bileşenleri ve yüzde oranları aşağıda tablolar/şekiller halinde verilmiştir.

Çizelge 4.2. OM'un uçucu yağ bileşimi

Pik	RRI	Bileşik*	%
1	927	α -Tujen	0.49
2	935	α -Pinen	0.76
3	949	Kamfen	0.91
4	978	β -Pinen	0.42
5	992	β -Mirsen	0.42
6	1018	α -Terpinen	0.58
7	1027	Simen	8.47
8	1030	Limonen	0.43
9	1033	1,8-Sineol	1.09
10	1060	γ -Terpinen	0.49
11	1068	Sis-sabinen hidrat	0.98
12	1100	Trans-sabinen hidrat	0.68
13	1169	Borneol	3.57
14	1180	Terpinen-4-ol	1.27
15	1193	α -Terpineol	0.52
16	1254	Timokinon	0.65
17	1307	Karvakrol	74.51
18	1425	β -Karyofillen	1.06
19	1558	Timohidrokinon	1.28
20	1586	Spatulenol	0.39
21	1591	Karyofillen oksit	0.64

* %0.4'ten büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

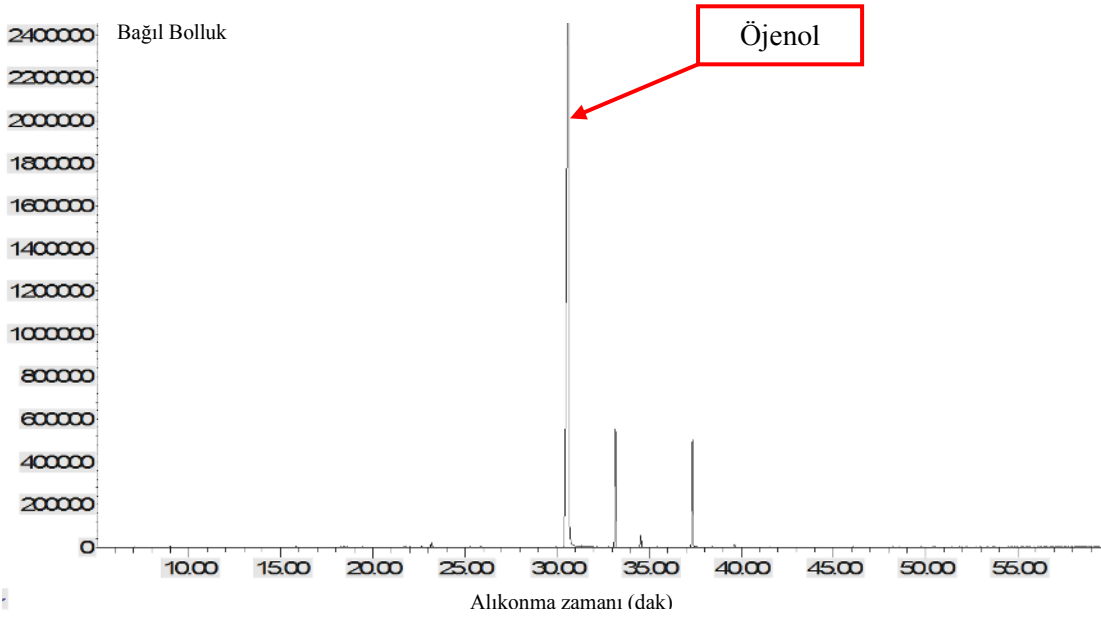


Şekil 4.1. OM uçucu yağının GC kromatogramı

Çizelge 4.3. ECar'un uçucu yağ bileşimi

Pik	RRI	Bileşik	%
1	1365	Öjenol	87.07
2	1425	β -Karyofillen	7.26
3	1460	α -Humulen	0.79
4	1533	Öjenol asetat	4.88

* %0.4'ten büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

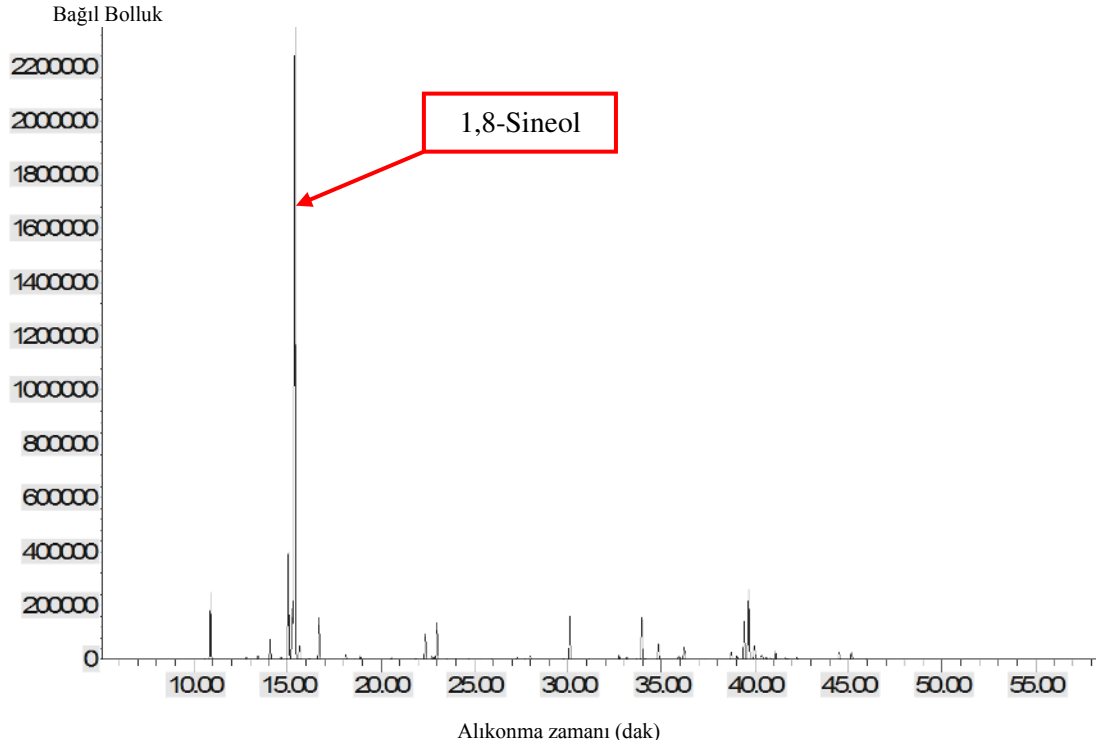


Şekil 4.2. ECar uçucu yağının GC kromatogramı

Çizelge 4.4. ECam'in uçucu yağ bileşimi

PİK	RRI	Bileşik	%
1	935	α -Pinen	4.85
2	992	β -Mirsen	0.38
3	1006	Fellandren	1.38
4	1027	Simen	7.05
5	1030	Limonen	4.57
6	1033	1,8-Sineol	59.09
7	1039	β -Osimen	1.06
8	1060	γ -Terpinen	2.80
9	1090	α -Terpinolen	0.44
10	1180	Terpinen-4-ol	1.99
11	1193	β -Feñil alkol	2.44
12	1445	Aromadendren	2.64
13	1467	9-Epi-karyofillen	1.01
14	1501	Viridifloren	1.44
15	1567	β -Longipinen	0.52
16	1586	Spatulenol	2.32
17	1593	γ -Gurjunen	4.26
18	1725	Farnesol	1.17

* %0.3'ten büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

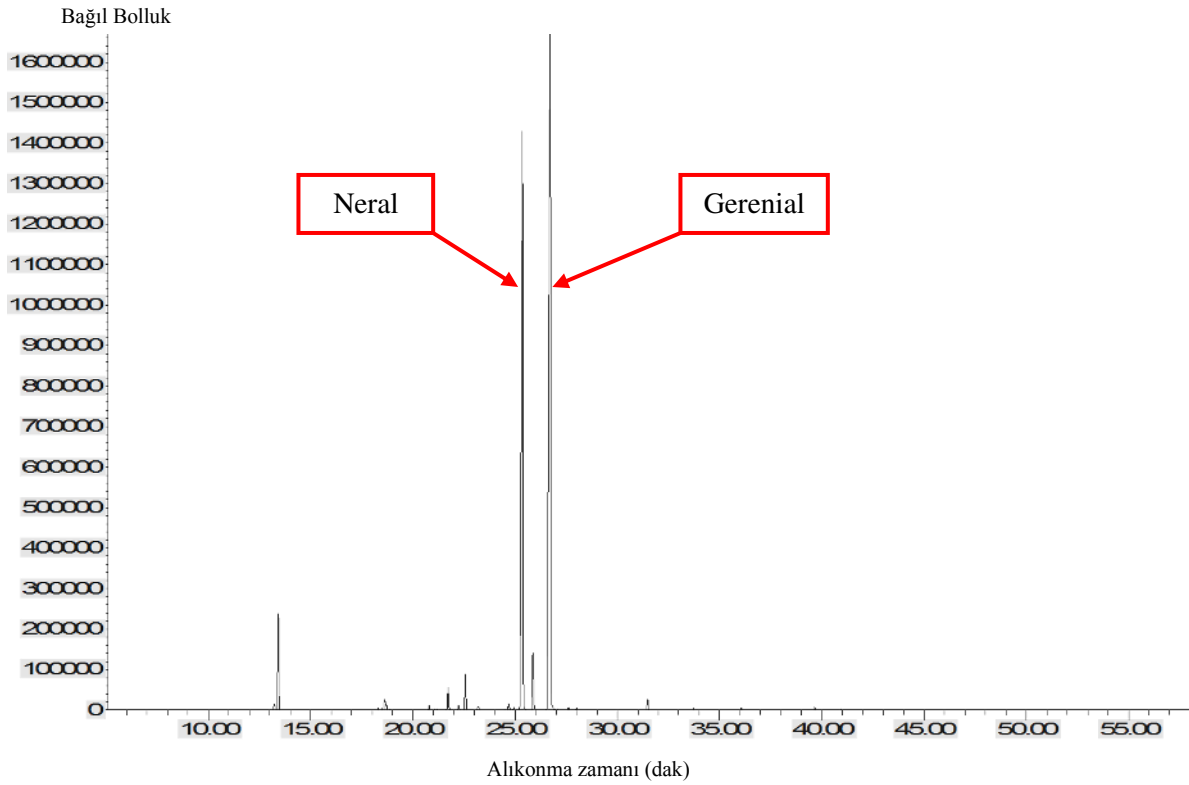


Şekil 4.3. ECam uçucu yağının GC kromatogramı

Çizelge 4.5. CC'un uçucu yağ bileşimi

Pik	RRI	Bileşik	%
1	987	6-Methyl-5-hepten-2-on	0.38
2	992	β -Mirsen	5.18
3	1101	Linalol	0.34
4	1146	Ekzo-izositral	0.32
5	1166	Cis-verbenol	1.19
6	1184	Cis-krizantenol	1.81
7	1230	Sitronellol	0.54
8	1247	Neral	35.90
9	1258	Geraniol	3.23
10	1278	Geranial	50.58
11	1385	Geranil izobütirat	0.53

* %0.3'ten büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)



Şekil 4.4. CC uçucu yağının GC kromatogramı

4.3. Uçucu Yağlardan İzole Edilen Etken Maddelerin Karakterizasyonu

OM uçucu yağından karvakrol % 87.70, ECar uçucu yağından öjenol % 94,71 ve ECam uçucu yağından 1,8-sineol % 52.27 verimle izole edilerek ayrılmıştır (Çizelge 4.6)

Çizelge 4.6. İzole edilen etken maddelerin izolasyon verimi değerleri

Uçucu yağ	Uçucu yağ miktarı (mL)	Etkin madde	Etkin maddenin bağlı yüzdesi (%)	Teorik etken madde miktarı (mL)	Deneyisel etken madde miktarı (mL)	İzolasyon verimi (%)
OM	6	Karvakrol	74.51	4.47	3.92	87.70
ECar	5	Öjenol	87.07	4.35	4.12	94.71
ECam	0.75	1,8-sineol	59.09	0.44	0.23	52.27

İzole edilen etken maddelerin karakterizasyonu için GC ve GC/MS, FTIR ve sıvı ¹H-NMR analizleri gerçekleştirildi. Aynı analizler standart etken maddelere de uygulanarak izole etken maddelerin analiz sonuçlarıyla karşılaştırıldı. Karşılaştırma sonucu elde edilen izole etken maddelerin yüzde saflık değerleri belirlendi.

4.3.1 Uçucu yağlardan izole edilen etken maddelerin Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC-MS) ve Gaz Kromatografisi (GC-FID) ile kimyasal analizi

İzolasyon işlemleri sonucunda elde edilen etken maddelerin kimyasal kompozisyonları, bölüm 3.2.6’da belirtildiği gibi GC ve GC-MS analizleri ile aydınlatılmış, kromatogramları, kütle spektrumları kimyasal bileşenleri ve yüzde oranları aşağıda tablolar/şekiller halinde verilmiştir.

Karvakrol

Çizelge 4.7. OM uçucu yağından izole edilen karvakrolce zengin fraksiyonun bileşimi

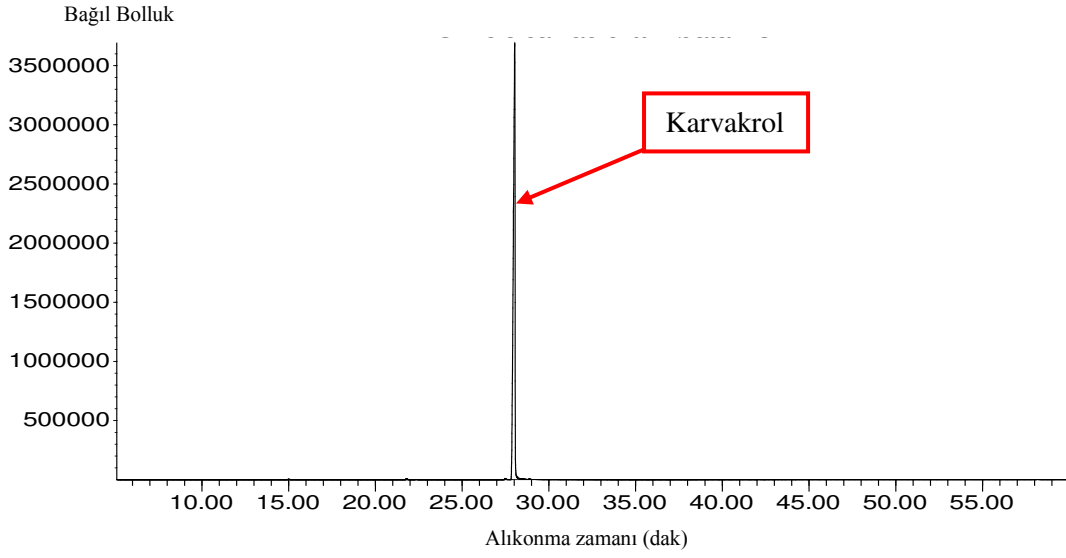
Pik	RRI	Bileşik *	%
1	1292	Timol	0.27
2	1305	Karvakrol	99.37

* %0.2’den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

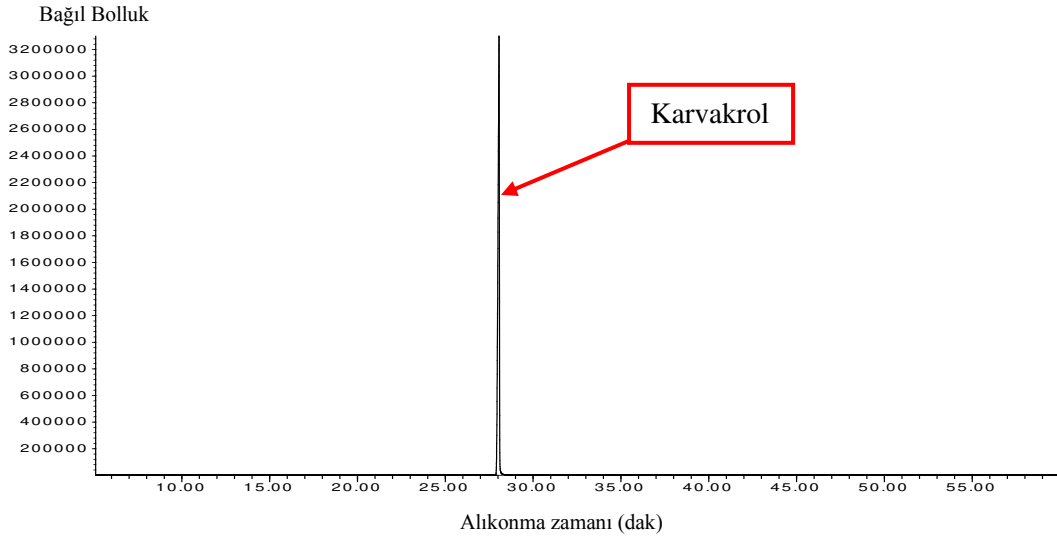
Çizelge 4.8. Standart karvakrolün bileşimi

Pik	RRI	Bileşik *	%
1	1305	Karvakrol	99.70

* %0.4’ten büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

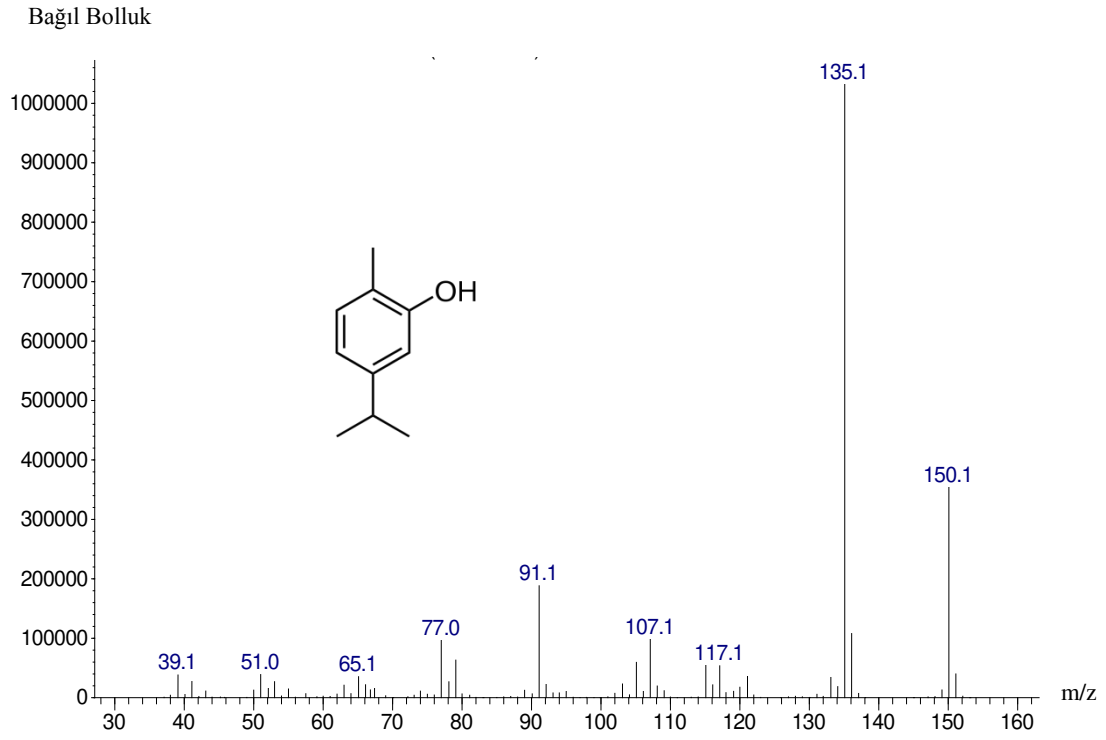


Şekil 4.5. OM uçucu yağından izole edilen karvakrolün GC kromatogramı

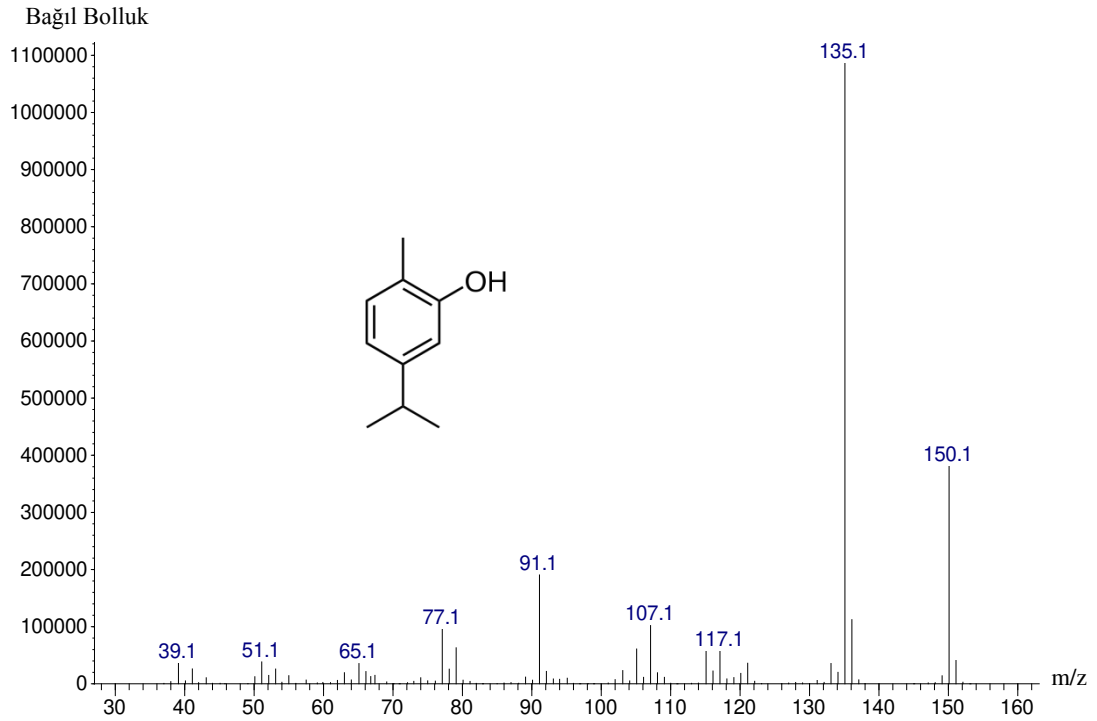


Şekil 4.6. Standart karvakrolün GC kromatogramı

GC ve GC-MS sonuçlarına göre IC ve SC aynı RRI değerlerine (Çizelge 4.7-4.8) sahip olup IC' nin bağıl yüzdesi SC'nin bağıl yüzde değerine çok yakın olarak belirlenmiştir. IC ve SC'ye ait kütle spektrumları şekil 4.7 ve 4.8'de görüldüğü gibi birbirini ile uyum içindedir. OM uçucu yağından karvakrol GC ve GC-MS analiz sonuçlarına göre % 99.37 bağıl yüzde oranı ile izole edilmiştir.



Şekil 4.7. OM uçucu yağından izole edilen karvakrolün kütle spektrumu



Şekil 4.8. Standart karvakrolün kütle spektrumu

Öjenol

Çizelge 4.9. ECar uçucu yağından izole edilen öjenolce zengin fraksiyonun bileşimi

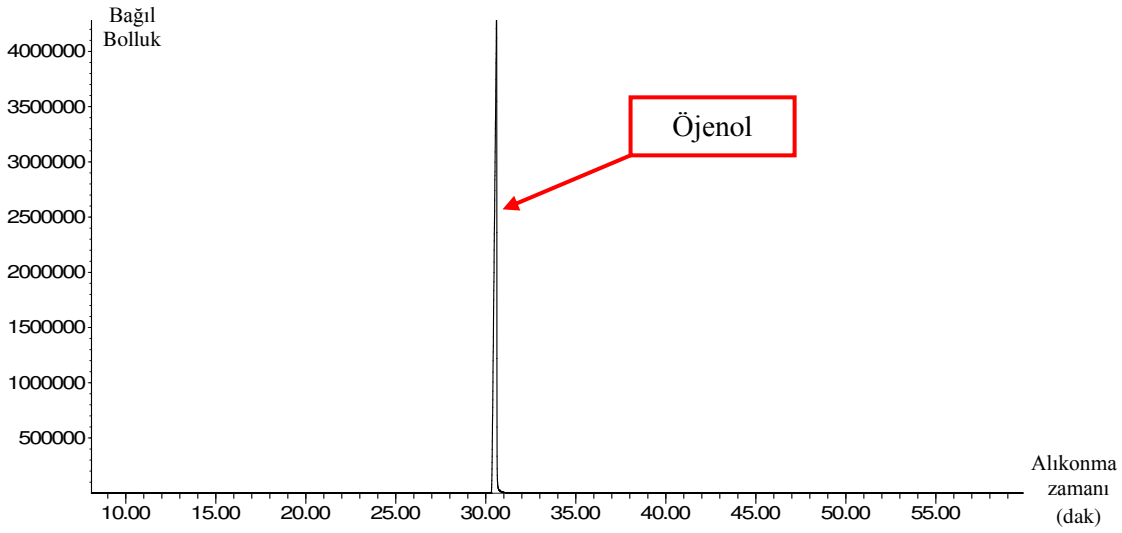
Pik	RRI	Bileşik *	%
1	1364	Öjenol	99.86

* %0.2'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

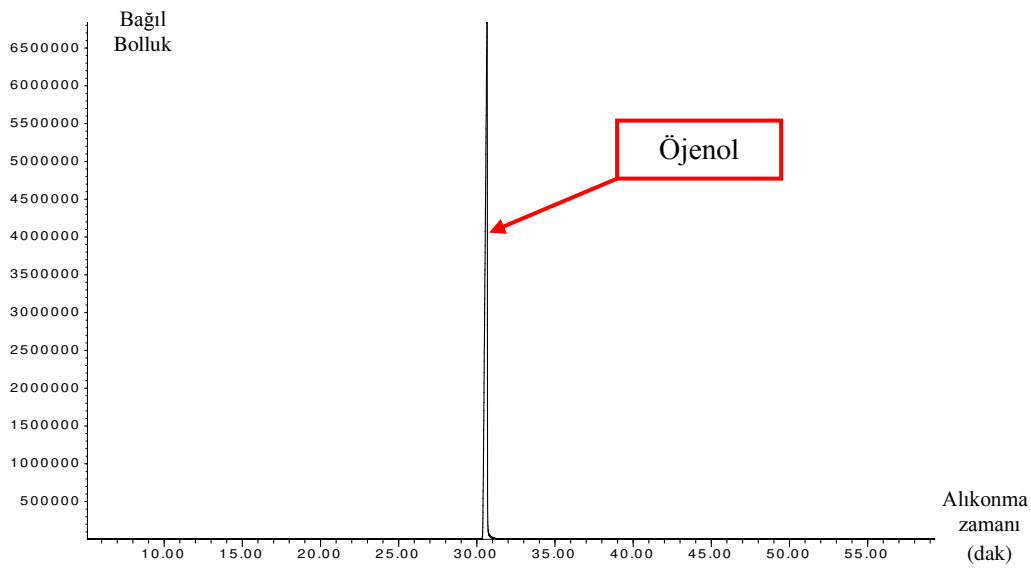
Çizelge 4.10. Standart öjenolün bileşimi

Pik	RRI	Bileşik *	%
1	1366	Öjenol	99.76

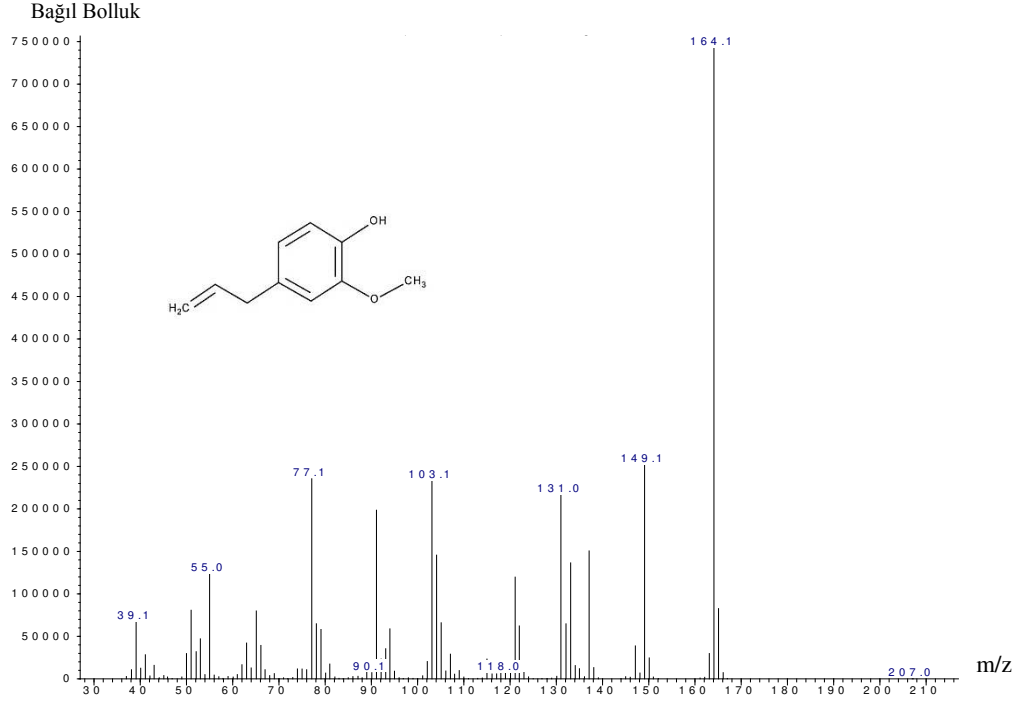
* %0.2'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)



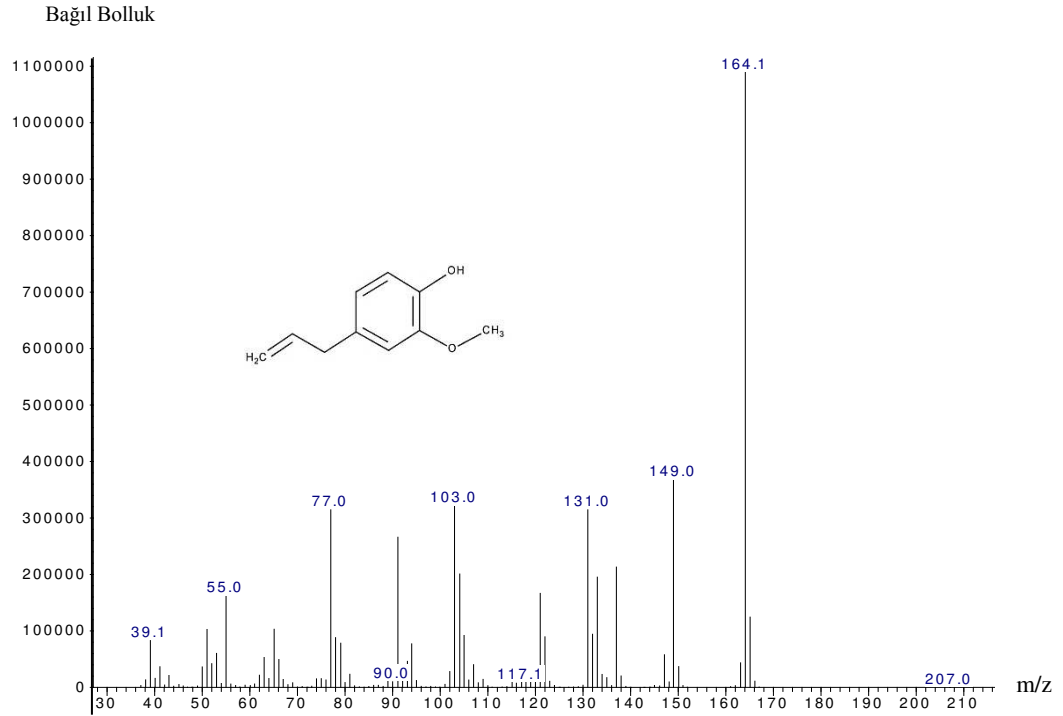
Şekil 4.9. ECar uçucu yağından izole edilen öjenolün GC kromatogramı



Şekil 4.10. Standart öjenolün GC kromatogramı



Şekil 4.11. ECar uçucu yağından izole edilen öjenolün kütle spektrumu



Şekil 4.12. Standart öjenolün kütle spektrumu

GC ve GC-MS sonuçlarına göre IE ve SE yakın RRI değerlerine (Çizelge 4.9-4.10) sahip olup IE' nin bağıl yüzdesi SE'nin bağıl yüzdesinden daha yüksek bir değer olarak belirlenmiştir. IE ve SE'ye ait kütle spektrumları Şekil 4.11 ve 4.12'de görüldüğü gibi birbirini ile uyum içindedir. ECar uçucu yağından öjenol GC ve GC-MS analiz sonuçlarına göre % 99.86 bağıl yüzde oranı ile izole edilmiştir.

1,8-Sineol

Çizelge 4.11. ECam uçucu yağından izole edilen sineolce zengin fraksiyonun bileşimi

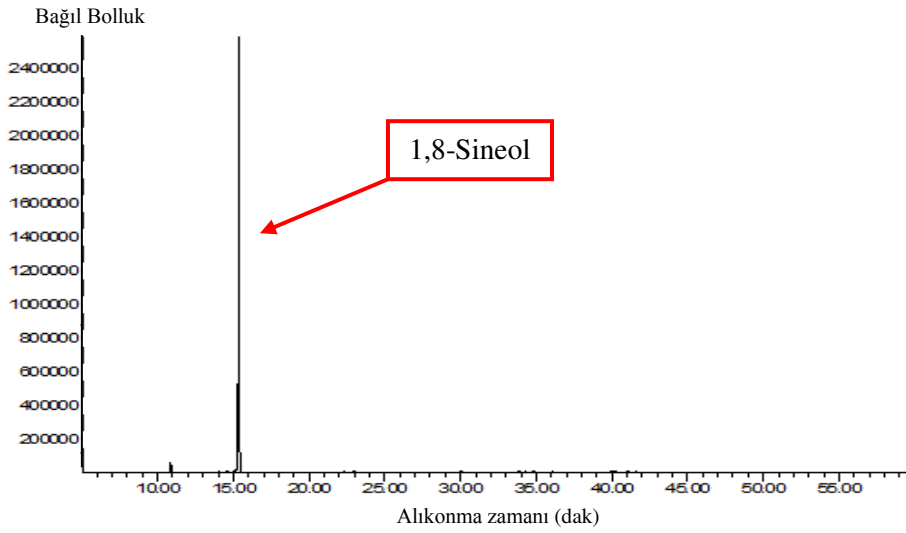
Pik	RRI	Bileşik *	%
1	934	α -Pinen	1.49
2	1033	1,8-Sineol	97.78

* %0.4'ten büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

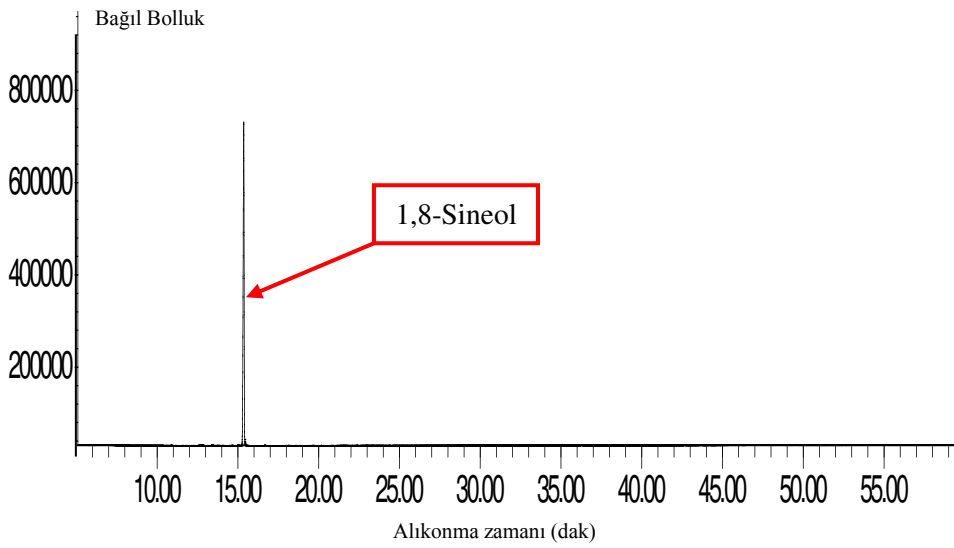
Çizelge 4.12. Standart öjenolün bileşimi

Pik	RRI	Bileşik *	%
1	1033	1,8-Sineol	99.76

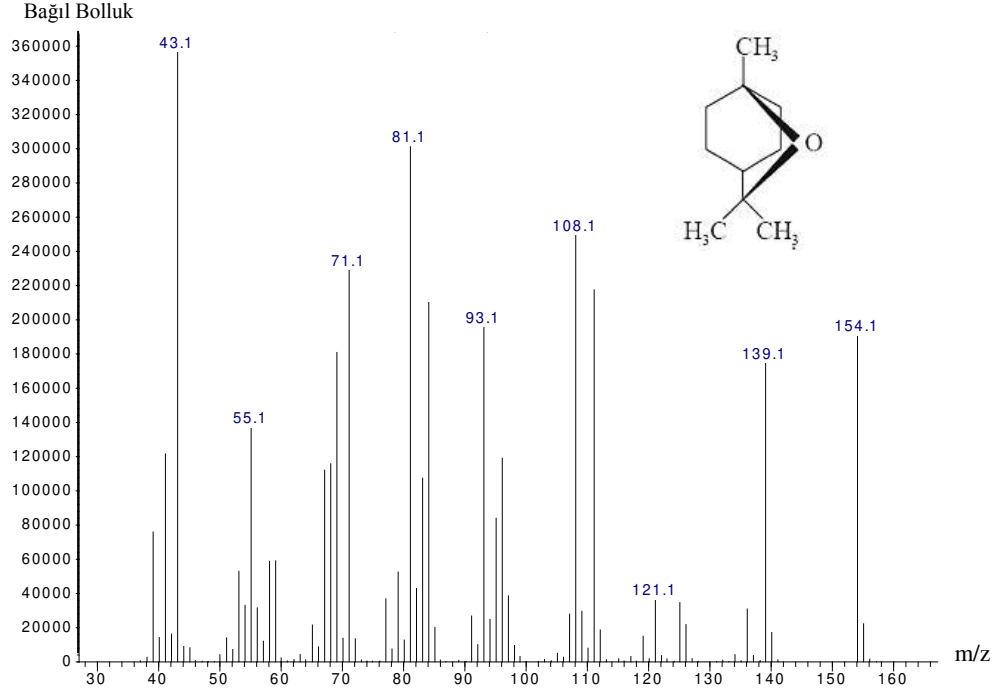
* %0.4'ten büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)



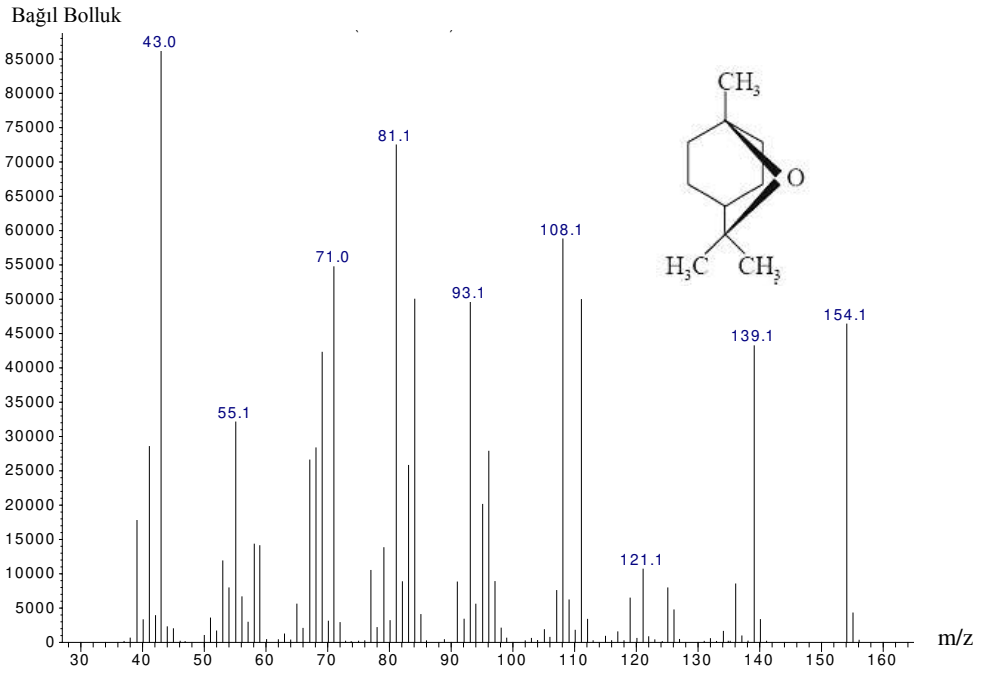
Şekil 4.13. ECam uçucu yağından izole edilen 1,8-Sinolün GC kromatogramı



Şekil 4.14. Standart 1,8-Sinolün GC kromatogramı



Şekil 4.15. ECam uçucu yağından izole edilen 1,8-Sineolün kütle spektrumu

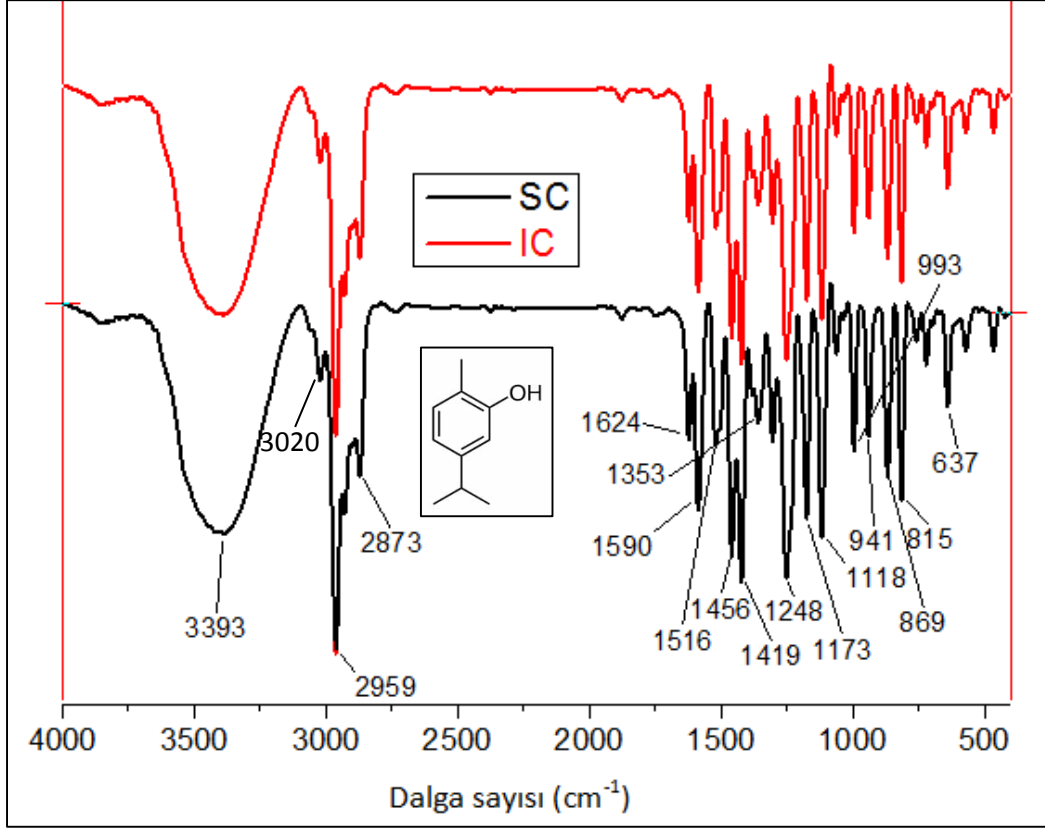


Şekil 4.16. Standart 1,8-Sineolün kütle spektrumu

GC ve GC/MS sonuçlarına göre ICin ve SCin aynı RRI değerlerine (Çizelge 4.11-4.12) sahip olup ICin'ün bağıl yüzdesi SCin'ün bağıl yüzdesine yakın bir değerdedir. ICin ve SCin'e ait kütle spektrumları şekil 4.15 ve 4.16'da görüldüğü gibi birbirini ile uyum içindedir. ECam uçucu yağından 1,8-Sineol GC ve GC-MS analiz sonuçlarına göre % 97.78 bağıl yüzde oranı ile izole edilmiştir.

4.3.2. Uçucu yağlardan izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin FTIR spektrumları

Karvakrol



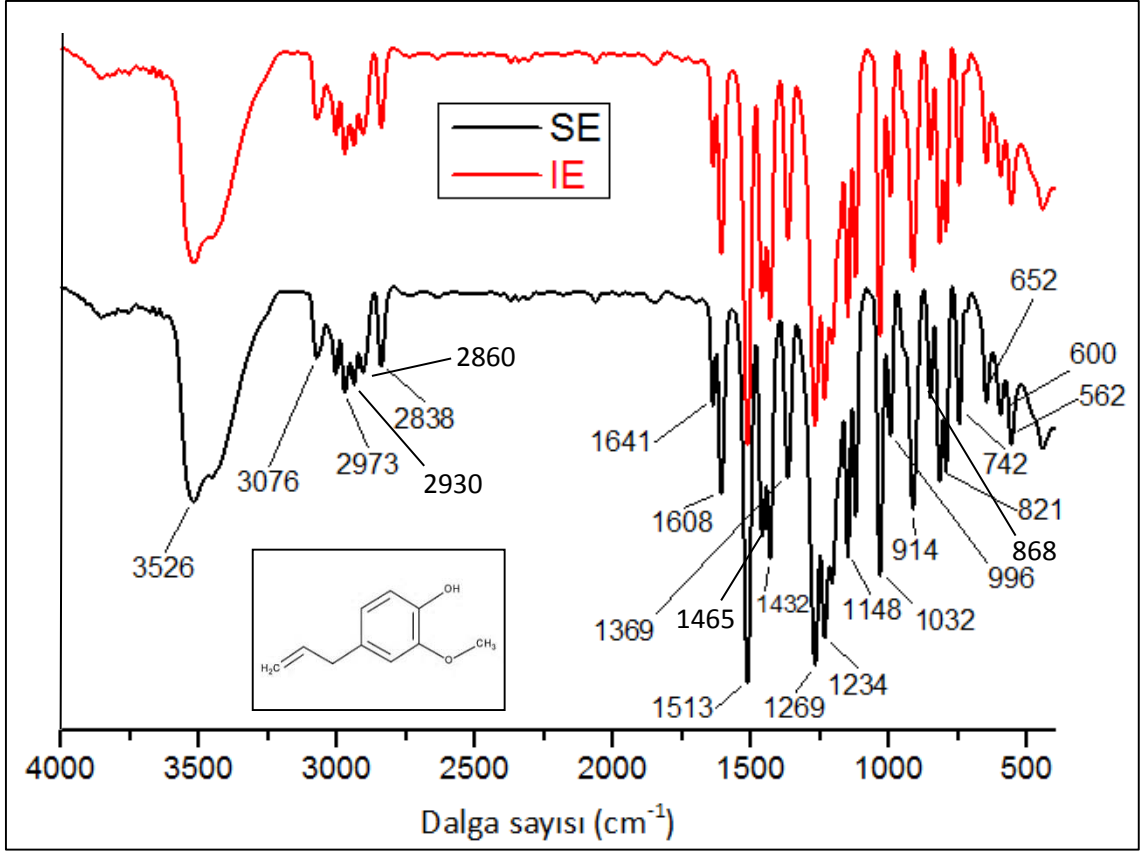
Şekil 4.17. IC ve SC'ye ait FTIR spektrumu

IC ve SC'nin yapı tayini için FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir. Çizelge 4.13'de IC ve SC'ye ait absorpsiyon pikleri verilmiştir.

Çizelge 4.13. IC ve SC'ye ait FTIR absorpsiyon pikleri

Dalga sayısı (cm ⁻¹) Titreşim modu	Karvakrolün kimyasal fonksiyonel grupları
3393 gerilme	Fenol C–OH
1419-1456 eğilme	Fenol C–OH
1248 gerilme	Fenol (=C–O)
1516, 1590, 1624 gerilme	Aromatik (C=C)
1353 gerilme	Dallanmış alkan (–CH(CH ₃) ₂)
3020 gerilme	Aromatik (C–H)
815,869 eğilme	Aromatik (C–H)
2873 (simetrik), 2959 (asimetrik) gerilme	Metil (–CH ₃)
941-1173 gerilme	Trisüstitüe benzen

Öjenol



Şekil 4.18. IE ve SE'ye ait FTIR spektrumu

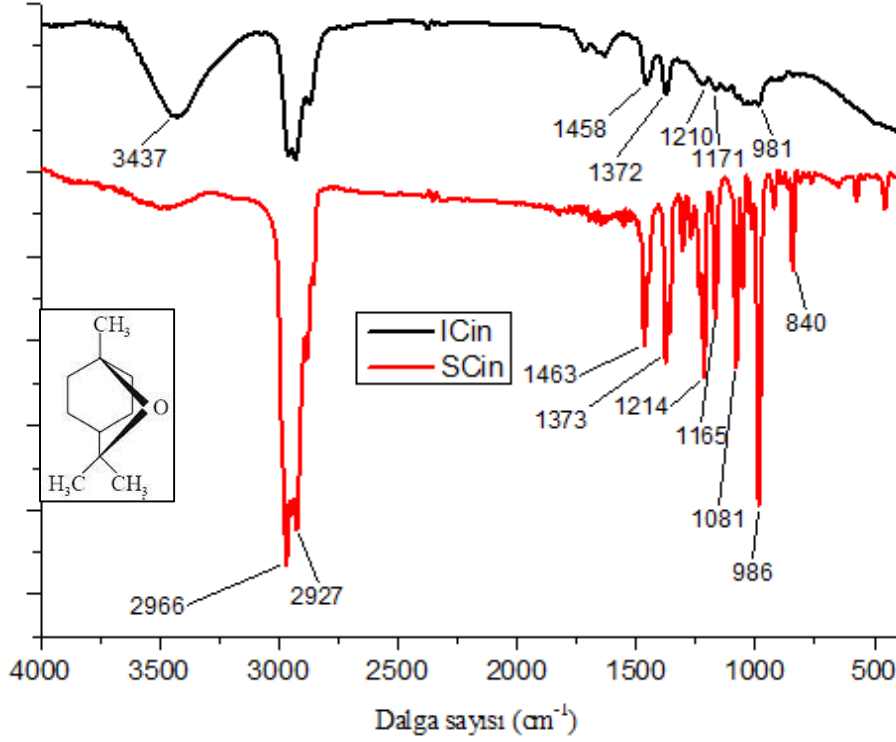
IE ve SE'nin yapı tayini için FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir Çizelge 4.14'te IE ve SE'ye ait absorpsiyon pikleri verilmiştir.

Çizelge 4.14. IE ve SE'ye ait FTIR absorpsiyon pikleri

Dalga sayısı (cm ⁻¹) Titreşim modu	Öjenolün kimyasal fonksiyonel grupları
3526 gerilme	Fenol (C–OH)
1369, 1432 eğilme	Fenol (C–OH)
1234 gerilme	Fenol (=C–O)
1032 gerilme	Eter (–C–O–C–)
1513, 1608, 1641 gerilme	Aromatik(C=C)
3076 gerilme	Aromatik (C–H)
821,868 eğilme	Aromatik (C–H)
2838 (simetrik), 2973 (asimetrik) gerilme	Metil(–CH ₃)
941-1173	Trisüstitüe benzen (1,2,4)
742, 1465 eğilme	Metilen(–CH ₂ –)
2860 (simetrik), 2930 (asimetrik) gerilme	Metilen(–CH ₂ –)
914, 996 eğilme	Vinil (C=CH ₂)

İzole edilen karvakrolün ve öjenolün FTIR spektrumları (Şekil 4.17.-4.18.) standart karvakrol ve öjenolünkilerle uyum içinde olup GC ve GC-MS sonuçlarını desteklemektedir. Ayrıca izole karvakrolün ve öjenolün FTIR spektrumları literatürle de (Kasim vd 2005, Dhoot 2008) uyumludur.

1,8-Sineol



Şekil 4.19. ICin ve SCin'e ait FTIR spektrumu

ICin ve SCin'nin yapı tayini için FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir Çizelge 4.15'te ICin ve SCin'e ait absorpsiyon pikleri verilmiştir.

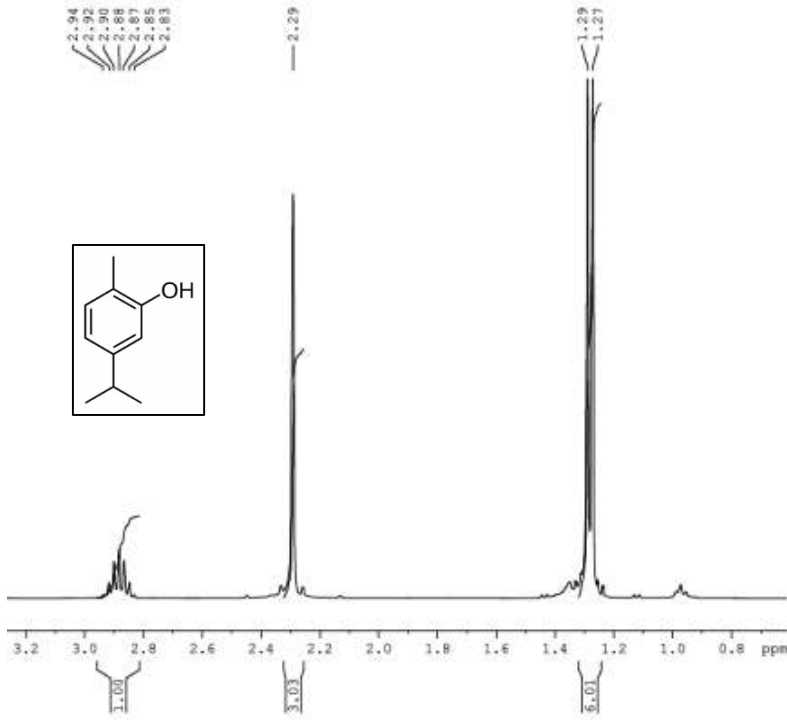
Çizelge 4.15. ICin ve SCin'e ait FTIR absorpsiyon pikleri

Dalga sayısı (cm ⁻¹) Titreşim modu	1,8-sineolün kimyasal fonksiyonel grupları
3437 gerilme	-OH
2927 (asimetrik) gerilme	Metilen(-CH ₂ -)
2966 (asimetrik) gerilme	Metil(-CH ₃)
1373 gerilme	(CH ₃ -C-O)
1071, 1081	(-C-O-C-)
1214	(-C-O-C-)
981, 986 eğilme	Metilen(-CH ₂ -)
1458,1463 eğilme	Metilen(-CH ₂ -)
1165 sallanma	Metilen(-CH ₂ -)
843gerilme	C-H (Metil)

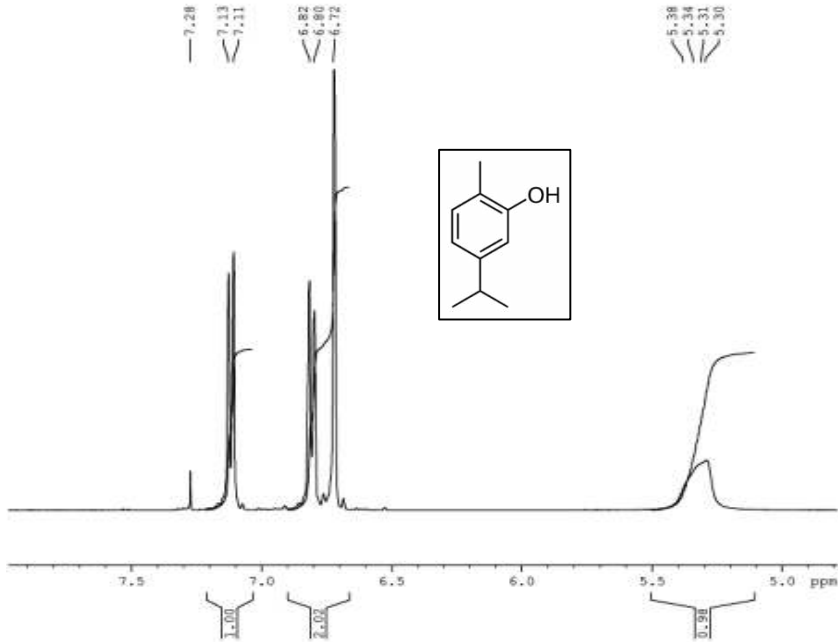
ICin ve SCin örneklerine ait absorpsiyon bandları çizelge 4.15'te verilmiş olup literatürle (Schulz vd 2005, Reena vd 2011) uyum içindedir. Şekil 4.19'da görülen ICin ve SCin'e ait spektrumlar karşılaştırıldığında ICin'de 3437 cm^{-1} 'de $-\text{OH}$ gerilme bandları görülmektedir. Bunun sebebi saflaştırma basamağında suyun yeteri kadar uzaklaştırılamamış olması ya da aktif epoksi halkasının kolayca birleşme reaksiyonları vererek, epoksi halkasının açılması ve hidroksil grubunun meydana gelmesiyle gerçekleşmiş olabilir (Paul ve Ranby 1976). Ayrıca ICin örneğinde $843\text{-}1463\text{ cm}^{-1}$ arasında yer alan piklerin şiddetlerinde azalma görülmüştür. Bunun sebebi de analiz sırasında yapılan hatadan kaynaklı olarak örneğin daha az kullanılmış olması ya da pelet hazırlığı aşamasında uçuculuğu yüksek olan 1,8-sineolün kaybı olabilir.

4.3.3. Uçucu yağlardan izole edilen etken maddelerin ve standart etken maddelerin ^1H -NMR spektrumları

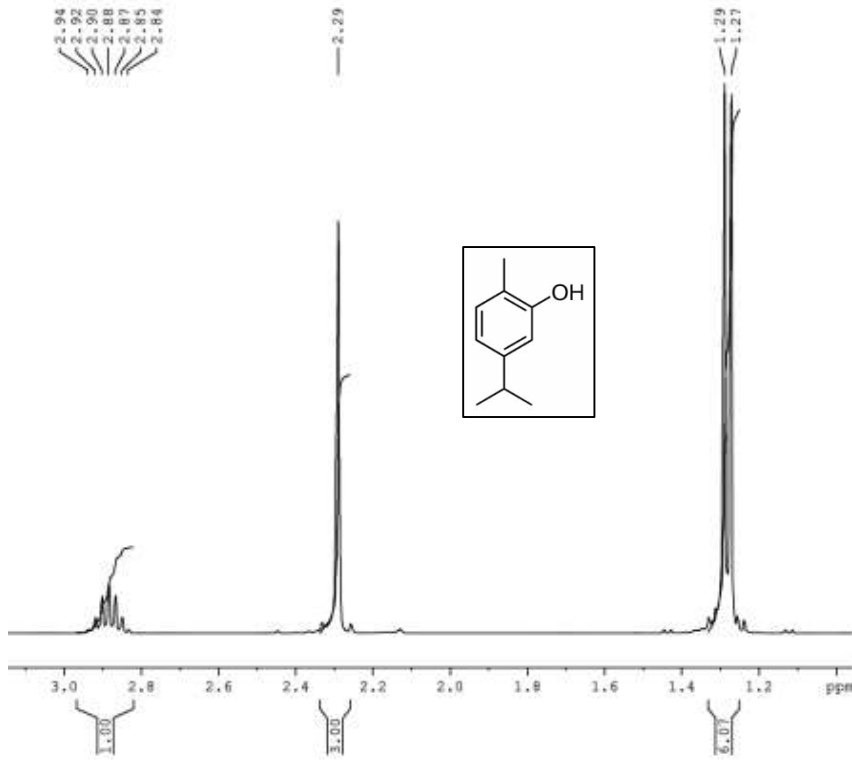
Karvakrol



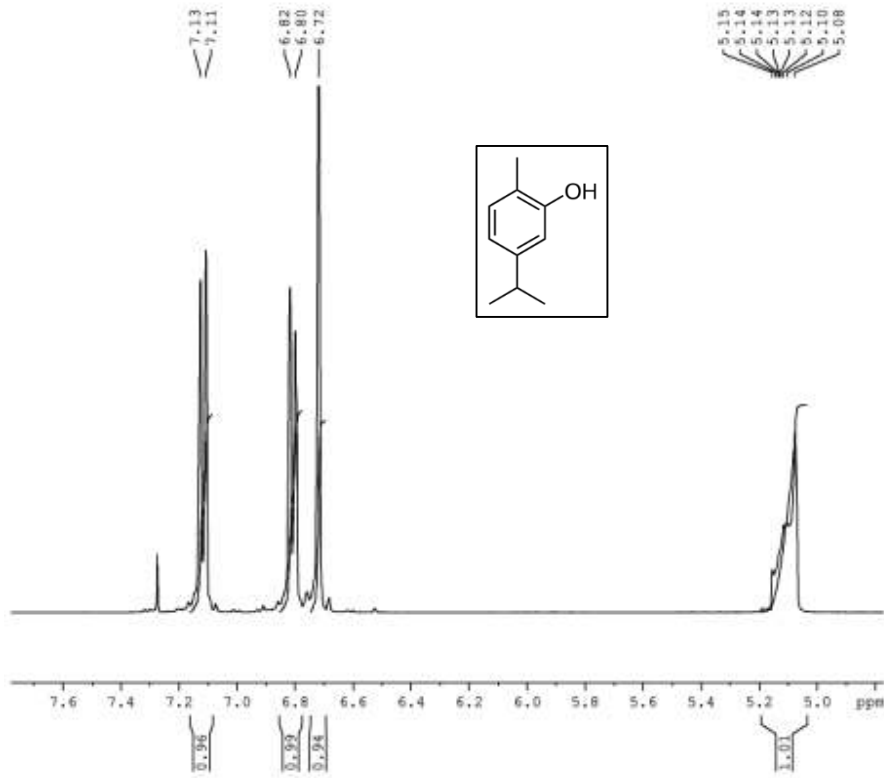
Şekil 4.20. IC'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-1)



Şekil 4.21. IC'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-2)

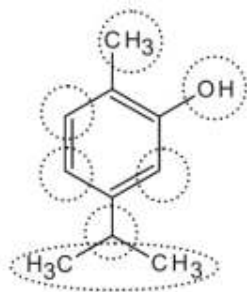


Şekil 4.22. SC'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-1)



Şekil 4.23. SC'ün ^1H -NMR spektrumu (CDCl_3 400MHz) (Bölge-2)

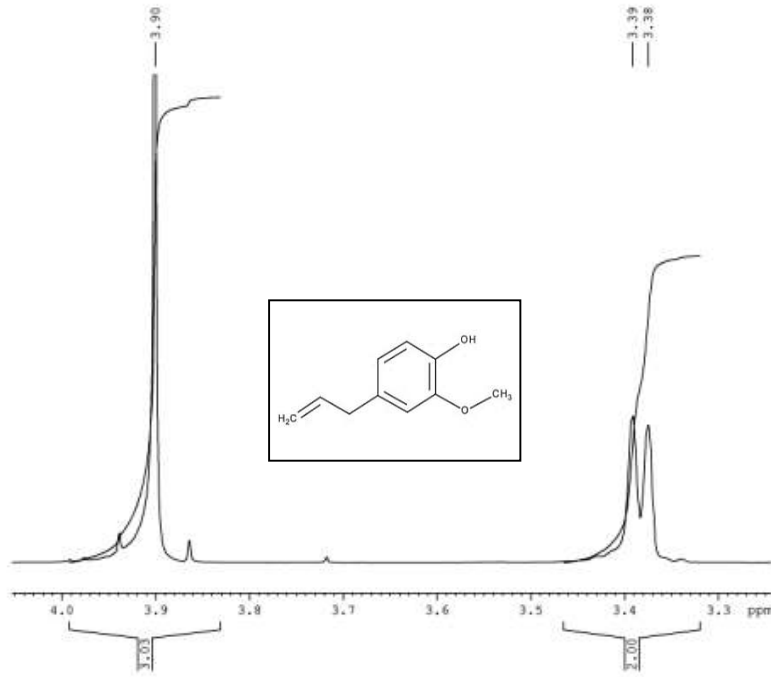
Çizelge 4.16. IC ve SC'ye ait ¹H-NMR kimyasal kayma değerleri

Pik sayısı	δ (ppm)* (IC)	δ(ppm)* (SC)	İntegral*	H sayısı	Yapı	
Dublet (2)	1.27	1.27	6	6H	CH ₃ -CH-CH ₃	
Singlet (1)	2.29	2.29	3	3H	-CH ₃	
Septet (7)	2.88	2.88	1	H	CH ₃ -CH-CH ₃	
Singlet (1)	5.30	5.13	1	H	-OH	
Singlet (1)	6.72	6.72	1	H	Aromatik 6-H	
Dublet (2)	6.80	6.80	1	H	Aromatik 4-H	
Dublet (2)	7.11	7.11	1	H	Aromatik 3-H	

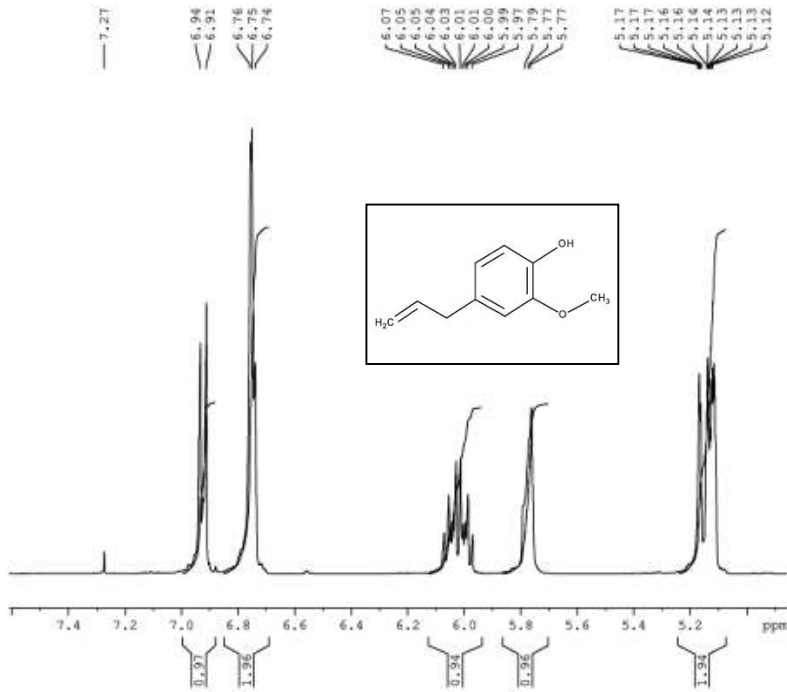
*Spektrumdan okunan yaklaşık değerler

IC ve SC'ye ait ¹H-NMR spektrumları ve kimyasal kayma değerleri şekil 4.20-4.23'de ve çizelge 4.16' da belirtilmiş olup uyum içinde oldukları görülmektedir (Meusinger 2009). Çizelgede de görüldüğü gibi IC, SC ile -OH grubuna ait hidrojenin dışında aynı kimyasal kayma değerlerine sahiptir. Bu durum GC ve GC-MS ve FTIR analizlerini desteklemekte olup saflaştırma basamağının başarılı olduğunun göstergesidir.

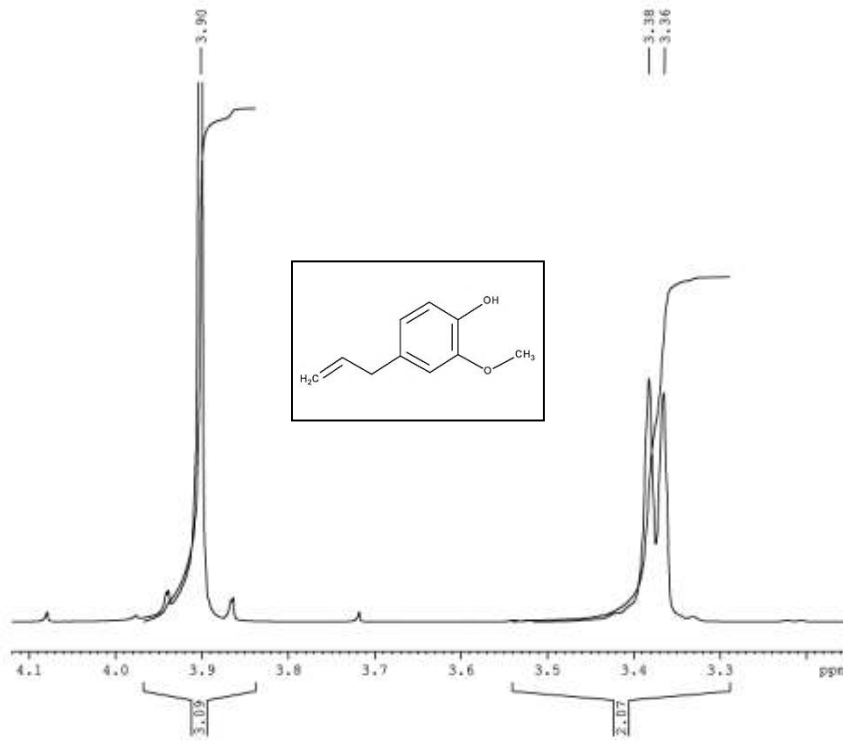
Öjenol



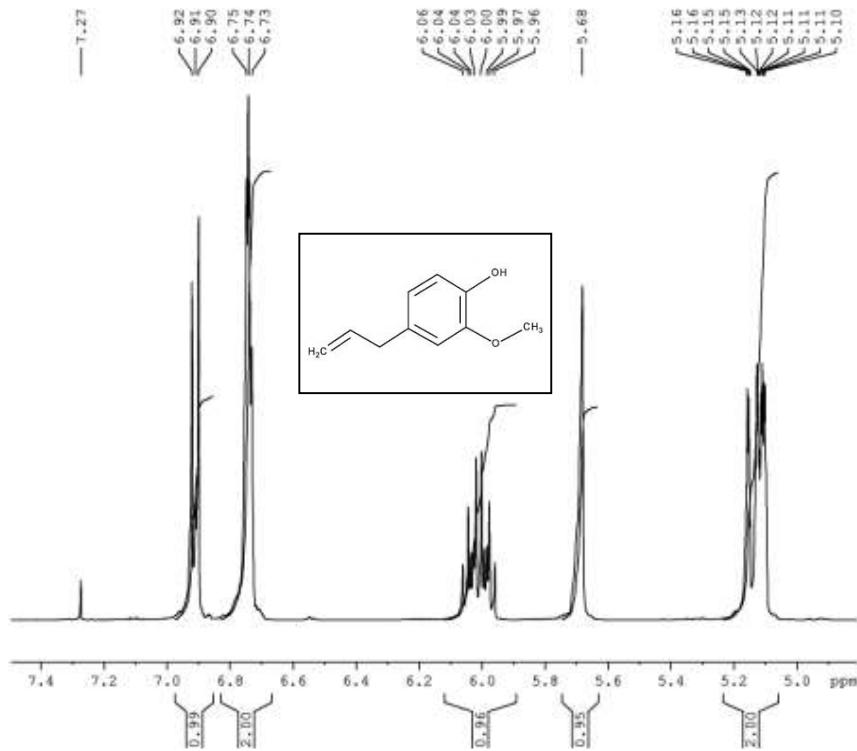
Şekil 4.24. IE'ün ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃ 400MHz) (Bölge-1)



Şekil 4.25. IE'ün ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃ 400MHz) (Bölge-2)



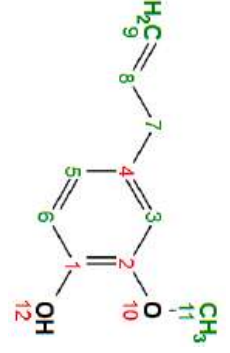
Şekil 4.26. SE'ün ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃ 400MHz) (Bölge-1)



Şekil 4.27. SE'ün ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃ 400MHz) (Bölge-2)

Çizelge 4.17. IE ve SE'ye ait ^1H -NMR kimyasal kayma değerleri

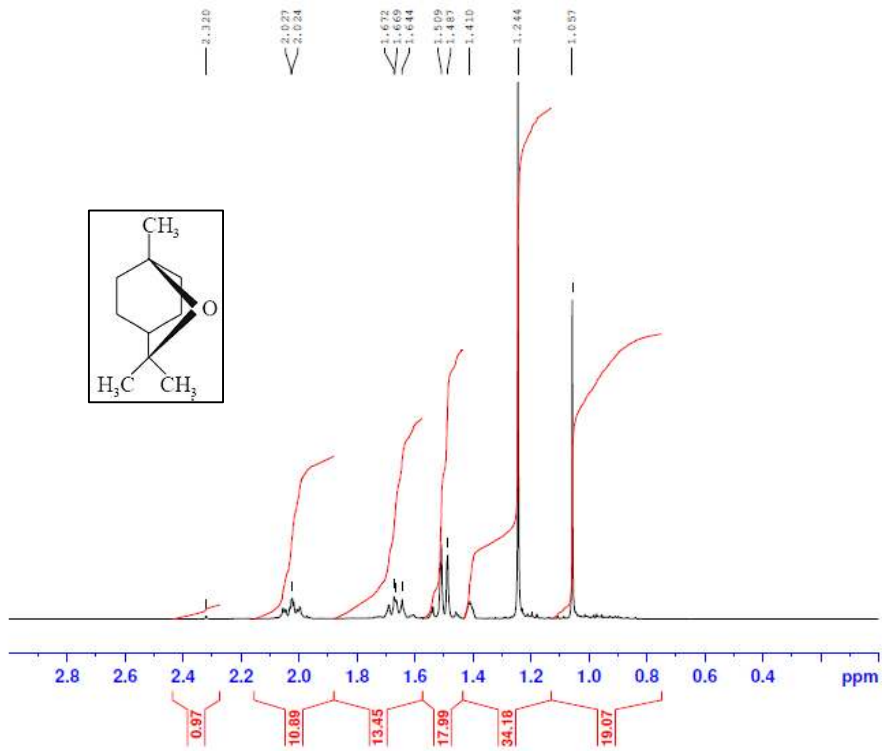
Pik sayısı	δ (ppm)* (IE)	δ (ppm)* (SE)	İntegral*	H sayısı	Yapı	
Dublet (2)	3.38	3.36	2	2H	$\text{CH}-\text{CH}_2-\text{Ar}$	
Singlet (1)	3.90	3.90	3	3H	$\text{O}-\text{CH}_3$	
Multiplet	5.14	5.12	2	2H	$\text{CH}_2=\text{CH}$	
Multiplet	6.03	6.03	1	H	$\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CH}_2$	
Singlet (1)	5.77	5.68	1	H	$-\text{OH}$	
Singlet (1)	6.75	6.74	1	H	Aromatik 3- H	
Dublet (2)	6.74-6.94	6.73-6.92	2	2H	Aromatik 5,6- H	



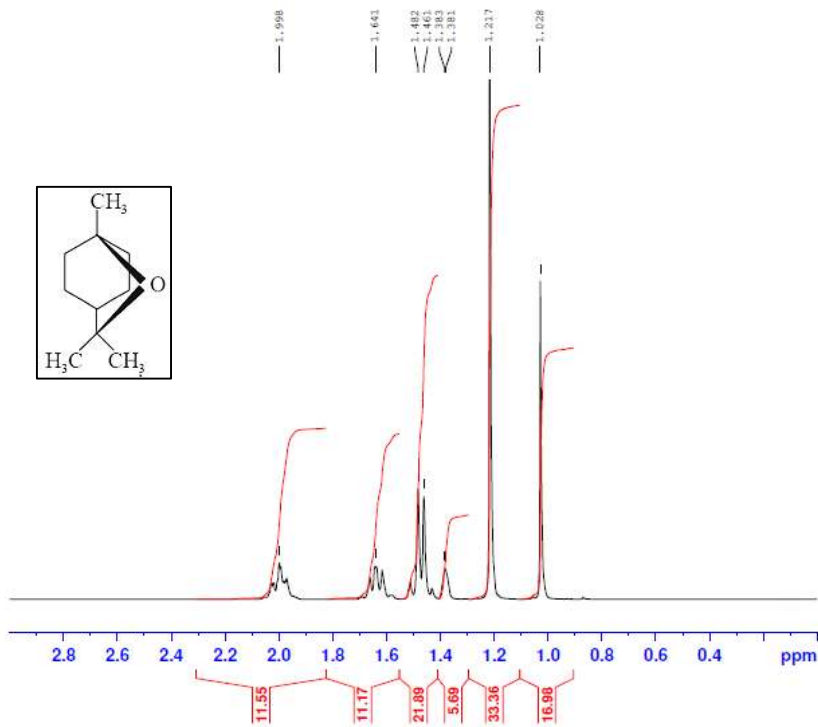
*Spektrumdan okunan yaklaşık değerler

IE ve SE'ye ait ^1H -NMR spektrumları ve kimyasal kayma değerleri şekil 4.24-4.27'de ve çizelge 4.17'de belirtilmiştir (Lide ve Milne 1995). Çizelgede de görüldüğü gibi IE ve SE çok yakın kimyasal kayma değerlerine sahiptir. Bu durum GC ve GC-MS ve FTIR analizlerini desteklemekte olup saflaştırma basamağının başarılı olduğunun göstergesidir.

1,8-sineol

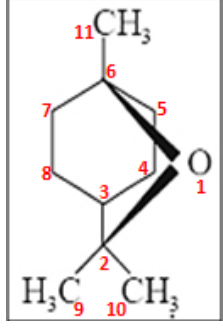


Şekil 4.28. ICin'in ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃ 400MHz)



Şekil 4.29. SCin'in ¹H-NMR spektrumu (CDCl₃ 400MHz)

Çizelge 4.18. ICin ve SCin'e ait ¹H-NMR kimyasal kayma değerleri

Pik sayısı	δ (ppm)* (ICin)	δ(ppm)* (SCin)	İntegral*	H sayısı	Atom No	
Singlet	1.06	1.03	3	3H	11	
Singlet	1.24	1.22	6	6H	9,10	
Multiplet (M1)	1.41	1.41	1	H	3	
Multiplet (M2)	1.49	1.46	4	4H	4,5,7,8	
Multiplet (M3)	1.67	1.64	2	2H	5,7	
Multiplet (M4)	2.02	2.00	2	2H	4,8	

*Spektrumdan okunan yaklaşık değerler

ICin ve SCin'e ait ¹H-NMR spektrumları ve kimyasal kayma değerleri şekil 4.28 ve 4.29'da ve çizelge 4.18'de belirtilmiştir. Wishart ve arkadaşlarının 2013 yılında yayınladığı ve oluşturduğu HMDB (The Human Metabolome Database) isimli veri bankasında yer alan 1,8-sineol için önerdiği ¹H-NMR spektrumunda kimyasal kayma değerleri M1, 1.44 ppm- M2, 1.56 ppm, M3, 1.62 ppm- M4, 2.04 ppm olup ICin ve SCin'in kimyasal kayma değerlerine oldukça yakındır. Ayrıca ICin ve SCin birbirine çok yakın kimyasal kayma değerlerine sahiptir. Bu durum GC ve GC-MS ve FTIR analizlerini desteklemekte olup saflaştırma basamağının başarılı olduğunun göstergesidir.

4.4. Enkapsüle Edilen Uçucu Yağların ve Etken Maddelerin Karakterizasyonu

Elde edilen uçucu yağlar, izole edilen etken maddeler ve standart etken maddeler sol-jel ve dondurarak kurutma yöntemleriyle enkapsüle edildi. Enkapsüle ürünlerdeki uçucu yağ, etken maddeler ve enkapsülasyonda kullanılan materyallerin kütlece yüzde oranları çizelge 4.19 ve 4.20'de verilmiştir.

Çizelge 4.19. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle ürünlerin elde edilemesinde kullanılan uçucu yağ/etken madde, Tween 20 ve silika miktarları (%)

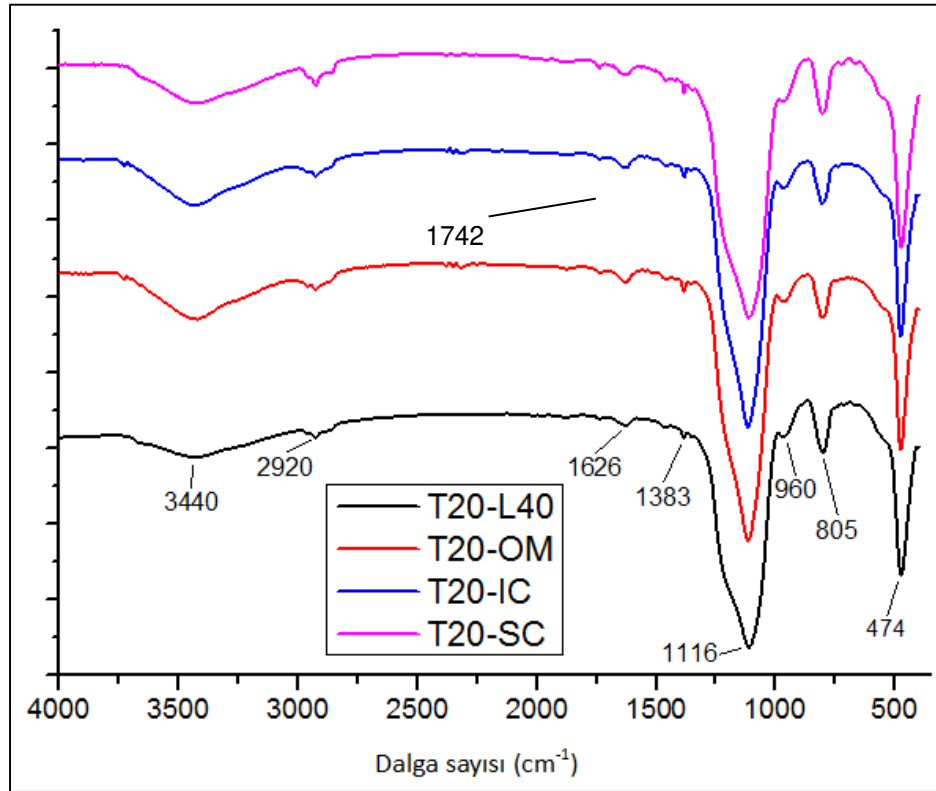
Sol-jel uygulaması			
Uygulama adı	Uçucu yağ veya etken madde (%)	Tween 20 (%)	SiO ₂ (%)
T20-L40	-	11.65	88.35
T20-OM	4.63	11.11	84.26
T20-ECar	6.78	10.84	82.38
T20-ECam	2.83	11.32	85.85
T20-CC	1.68	11.45	86.87
T20-IC	3.14	11.29	85.57
T20-SC	2.37	11.35	86.28
T20-IE	5.49	10.99	83.52
T20-SE	6.78	10.84	82.38
T20-İCin	2.82	11.30	85.88
T20-SCit	3.99	11.16	84.85

Çizelge 4.20. Dondurarak kurutma yöntemiyle enkapsüle ürünlerin elde edilmesinde kullanılan uçucu yağ/etken madde ve toplam katı (TK=AG, TK=AG+sukroz+jelatin) miktarları (%)

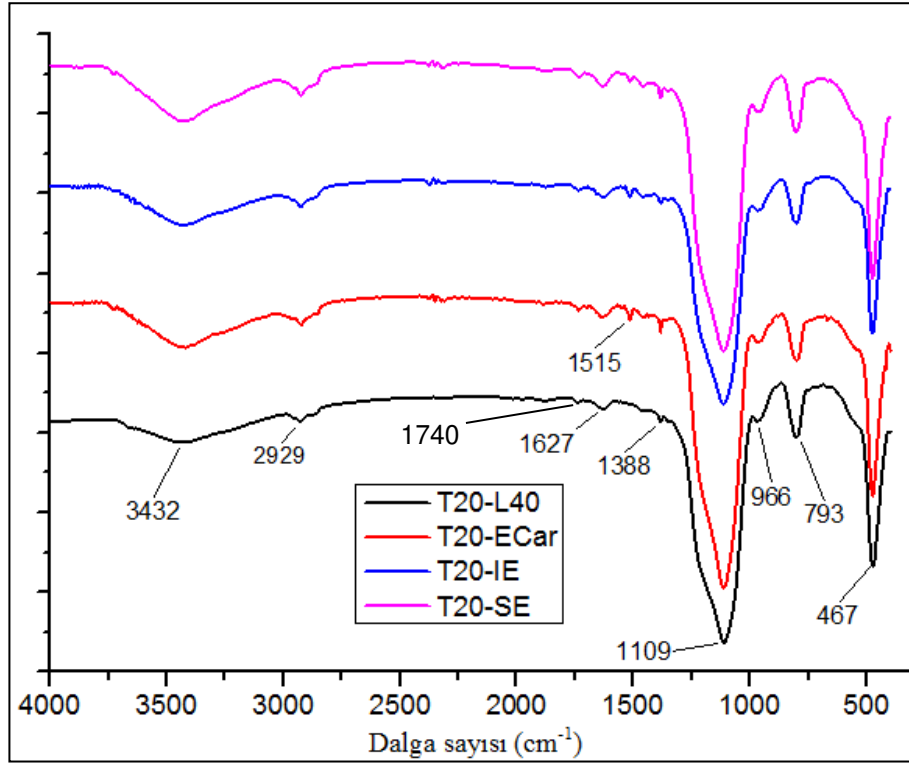
Dondurarak kurutma uygulaması			
Uygulama adı	Uçucu yağ veya etken madde (%)	Arabik gam (%)	Karışım (Arabik gam:jelatin:sukroz) (1:1:1) (%)
Arabik gam (AG)	10	90	-
Karışım (K)	10	-	90

4.4.1. FTIR analizi

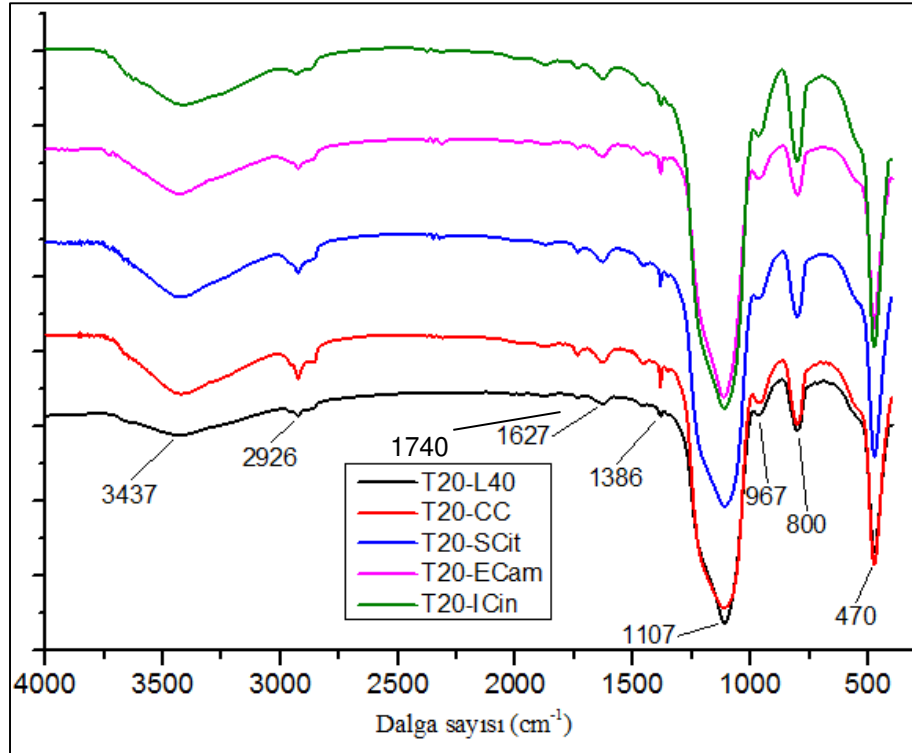
Sol-jel reaksiyonu sonucu oluşan yapı içerisine enkapsüle olan uçucu yağların ve etken maddelerin FTIR spektrumları alınarak yapılarda yer alan bağlara ait absorpsiyon pikleri yorumlandı.



Şekil 4.30. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen OM, IC, SC ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu



Şekil 4.31. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen ECar, IE, SE ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu



Şekil 4.32. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen CC, SCit, ECam, ICin ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu

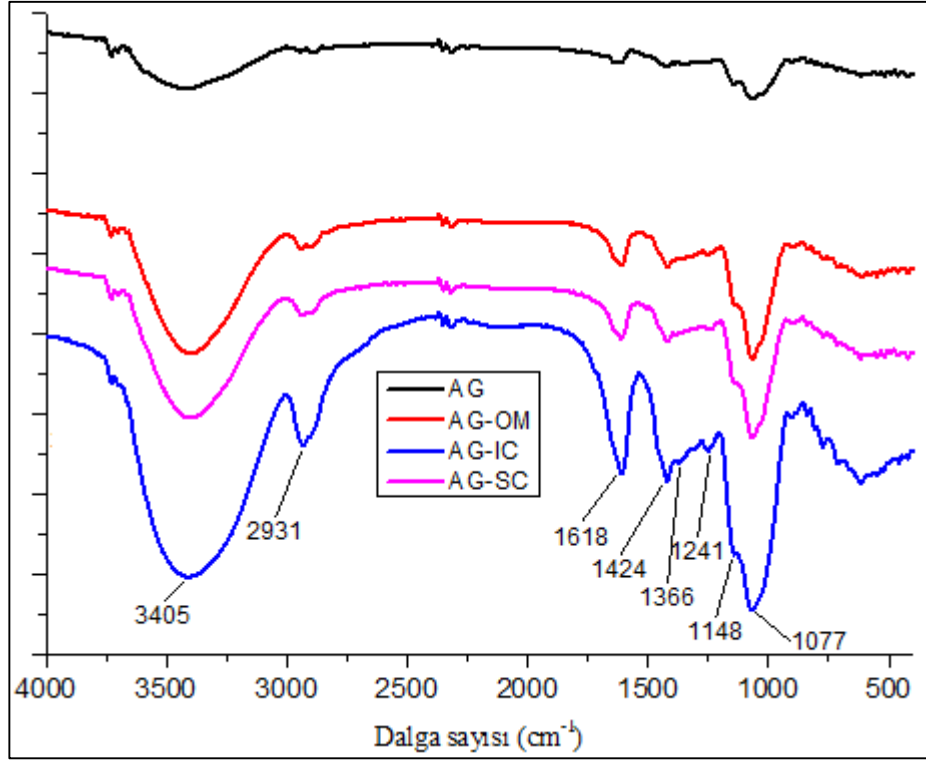
Çizelge 4.21. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen örneklerin FTIR spektrumunda yer alan bağlar ve dalga sayıları

Bağlar ve titreşim modu	Dalga sayısı (cm ⁻¹)		
	Şekil 4.30	Şekil 4.31	Şekil 4.32
Si-O-Si ve Si-O-C asimetrik gerilme	1116	1109	1107
Si-O-Si simetrik gerilme	805	793	800
Si-O-Si eğilme	474	467	470
Si-OH gerilme	960	966	967
Si-OH, absorbe edilen su molekülleri, C-OH	3440,1626	3432,1627	3437,1627
C-H gerilme	2920	2929	2926
C-H gerilme (Metil)	1383	1388	1386
C=O gerilme (Ester)	1742	1740	1740

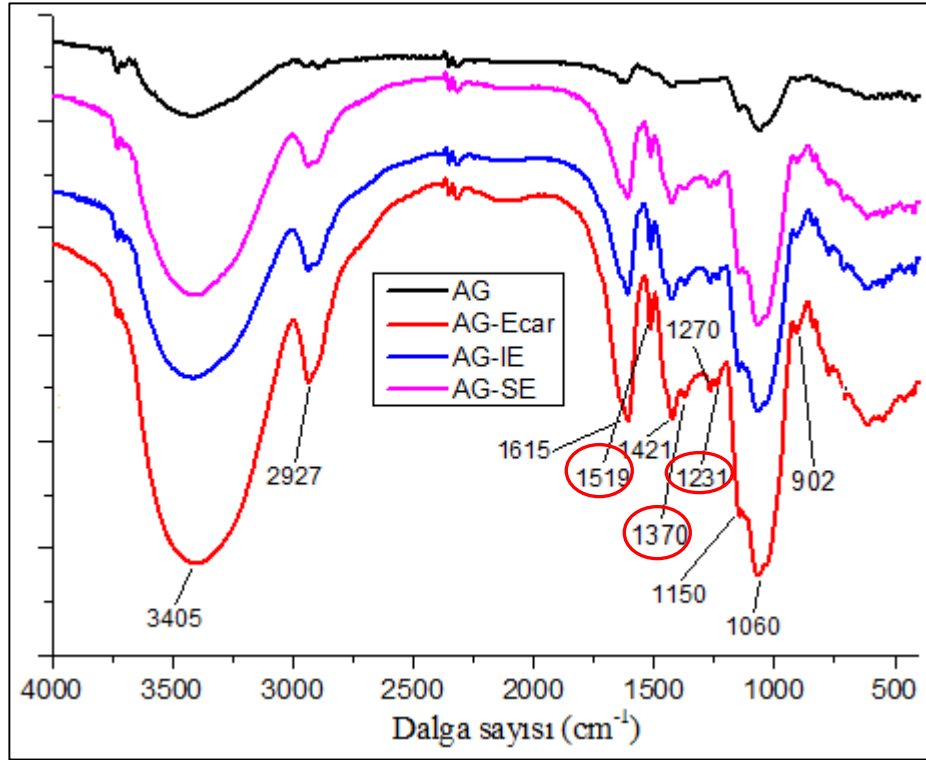
Sol-jel reaksiyonu sonucu oluşan yapıda yer alan bağlara ait titreşim bandları ve dalga sayıları Çizelge 4.21’de verilmiştir. Si-O-Si bağlarına ait gerilme ve eğilme bandları 1107-1116 cm⁻¹ arasında, 793-805 cm⁻¹ arasında ve 467-474 cm⁻¹ arasında yer almaktadır. Bu üç pikin yanında zayıf Si-OH gerilme bandları 960-967 cm⁻¹ arasında yer almaktadır. 1626,1627 cm⁻¹ ve 3432-3440 cm⁻¹’de görülen gerilme bandları da Si-OH ve adsorbe edilen su moleküllerinden kaynaklanmaktadır (Zhang vd 2011). Ayrıca 1105 cm⁻¹’de görülen (Stuart 2004, Jing vd 2002) Si-O-C asimetrik gerilme bandları Si-O-Si asimetrik gerilme bandlarıyla hemen hemen aynı yerde gelmektedir. 1107-1116 cm⁻¹’de görülen pikin şiddetli ve büyük oluşu Si-O-C ve Si-O-Si asimetrik gerilme bandlarının örtüşmesi sonucu gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu durumda koloidal silikanın kendi arasında ve sürfektantla sol-jel reaksiyonu gerçekleşerek Si-O-C ve Si-O-Si bağlarını oluşturduğunu söyleyebiliriz.

Uçucu yağları disperse etmek için kullanılan, Şekil 3.7’de kimyasal formülü gösterilen Tween 20 yüzey aktif maddesine ait pikler ~1383 ile 2929 cm⁻¹ arasında bulunmaktadır. 1383-1386 cm⁻¹ ve 2910-2929 cm⁻¹’deki pikler C-H gerilme bandlarını gösterirken, 1740-1742 cm⁻¹ arasında görülen pikler C=O (Ester) gerilme bandlarını gösterir. Genellikle 1070-1150 cm⁻¹ arasında görülen C-O bağına ait piklerin şiddetli Si-O-Si gerilme bandları ile maskelendiği düşünülmektedir.

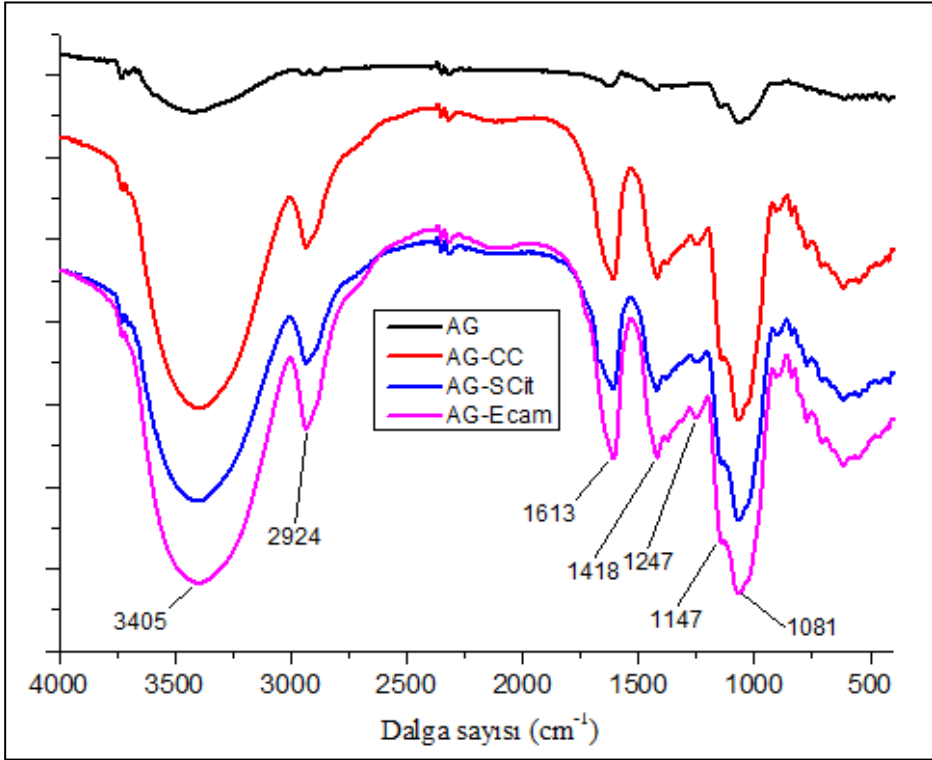
Sol-jel enkapsüle ürünlerde uçucu yağ oranı teorik olarak % 1.68 ile 6.78 arasında değişim göstermektedir. Sentez, kurutma ve FTIR analizi öncesi pellet hazırlama aşamalarında enkapsüle edilen uçucu yağ miktarında azalmaların meydana geldiği düşünülerek FTIR spektrumunda uçucu yağlara ve etken maddelere ait karakteristik piklere ECar, IE ve SE örnekleri dışında rastlanamamıştır. Bu örneklerde uçucu yağ ve etken madde oranı (% 5.49-6.78) diğerlerine göre daha fazla olduğu için öjenole ait aromatik C=C gerilme bandları 1515 cm⁻¹’de görülmektedir.



Şekil 4.33. AG ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen OM, IC, SC ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu

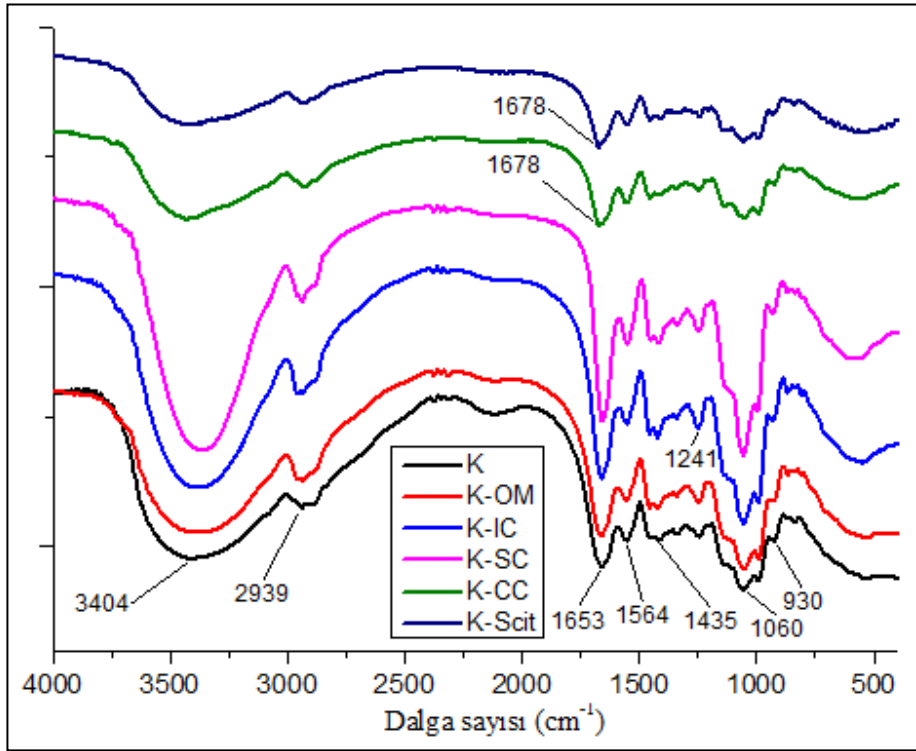


Şekil 4.34. AG ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen ECar, IE, SE ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu

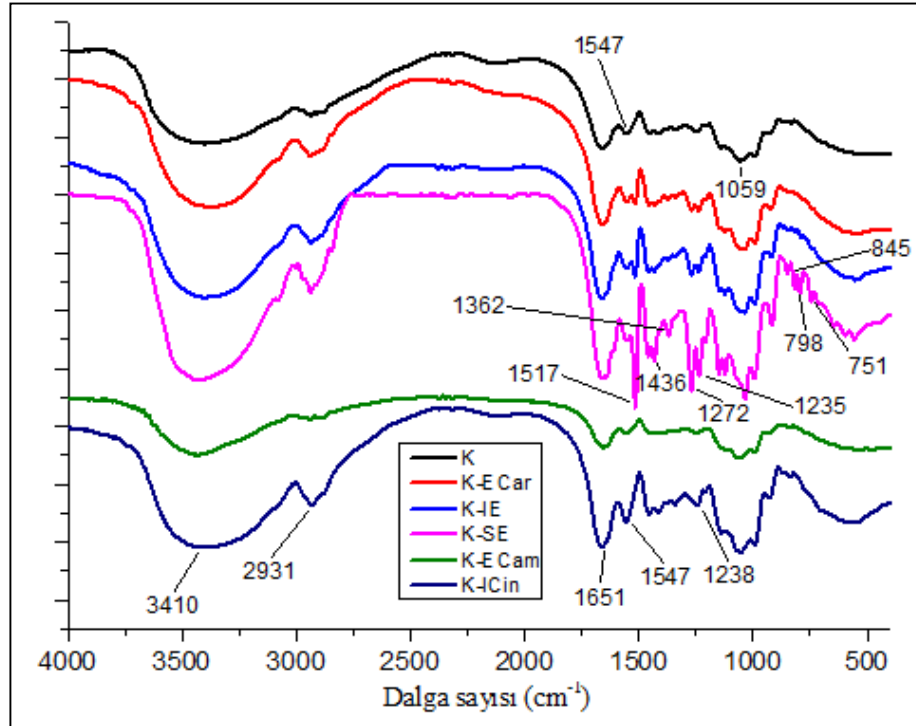


Şekil 4.35. AG ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen CC, SCit, Ecam ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu

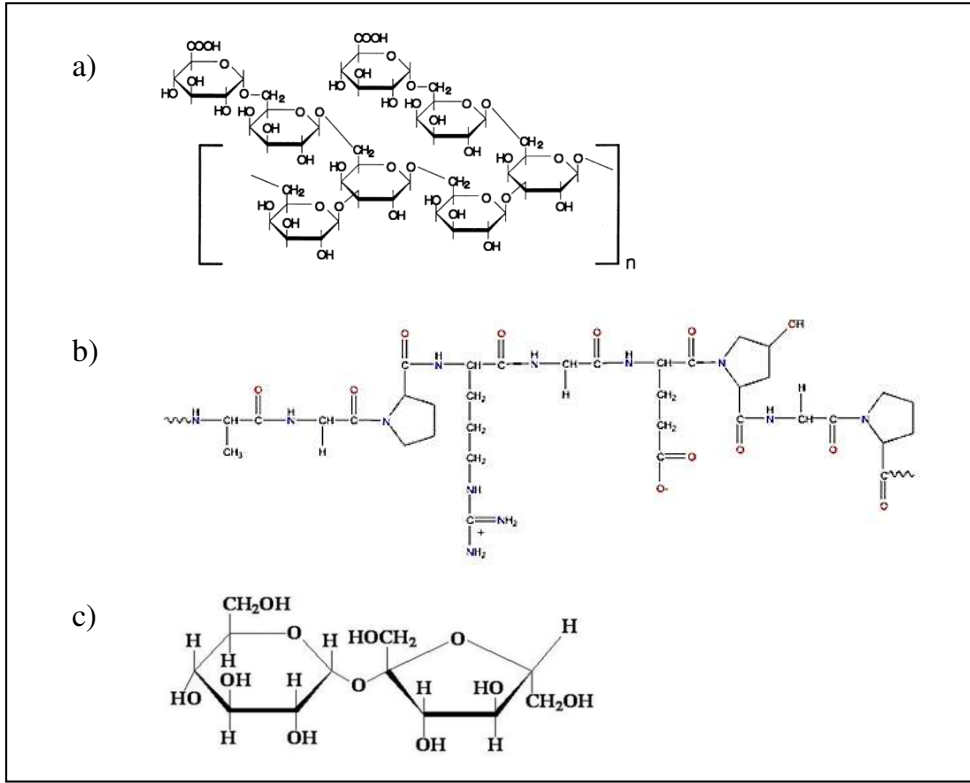
AG ile yapılan dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen enkapsüle ürünlere ait FTIR spektrumları Şekil 4.33, 4.34 ve 4.35’de görülmektedir. Arabik gamdan geldiği düşünülen 3405 cm^{-1} ’de geniş ve şiddetli —OH gerilme bandları, $2924\text{--}2931\text{ cm}^{-1}$ ’de C—H gerilme bandları ve $1060\text{--}1081\text{ cm}^{-1}$ ’de C—O gerilme bandları, $1148\text{--}1150\text{ cm}^{-1}$ ’de C—O—C simetrik gerilme bandları, $1613\text{--}1618\text{ cm}^{-1}$ ve $1418\text{--}1424\text{ cm}^{-1}$ ’de sırasıyla asimetrik ve simetrik C=O gerilme bandları görülmektedir (Colthup vd 1990). Şekil 4.30’da 1231 cm^{-1} ’de görülen fenol =C—O gerilme bandları, 1370 cm^{-1} ’de görülen fenol =C—O eğilme bandları, 1519 cm^{-1} ’de görülen aromatik C=C gerilme bandları ve 902 cm^{-1} ’de görülen vinil C=CH_2 gerilme bandları öjenolden ileri gelmektedir. Şekil 4.29’da 1241 cm^{-1} ’de görülen fenol =C—O gerilme bandları ve 1366 cm^{-1} ’de görülen fenol =C—O eğilme bandları karvakrolden ileri gelmektedir. Etkin maddelere dair piklerin varlığı uçucu yağların ve etken maddelerin enkapsüle edildiğinin göstergesidir.



Şekil 4.36. K (Arabik gam:jelatin:sukroz, 1:1:1) ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen OM, IC, SC, CC, SCit ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu



Şekil 4.37. K (Arabik gam:jelatin:sukroz, 1:1:1) ile dondurarak kurutma yöntemiyle elde edilen ECar, IE, SE, ECam, ICin ve kontrol (boş) uygulamalarına ait FTIR spektrumu

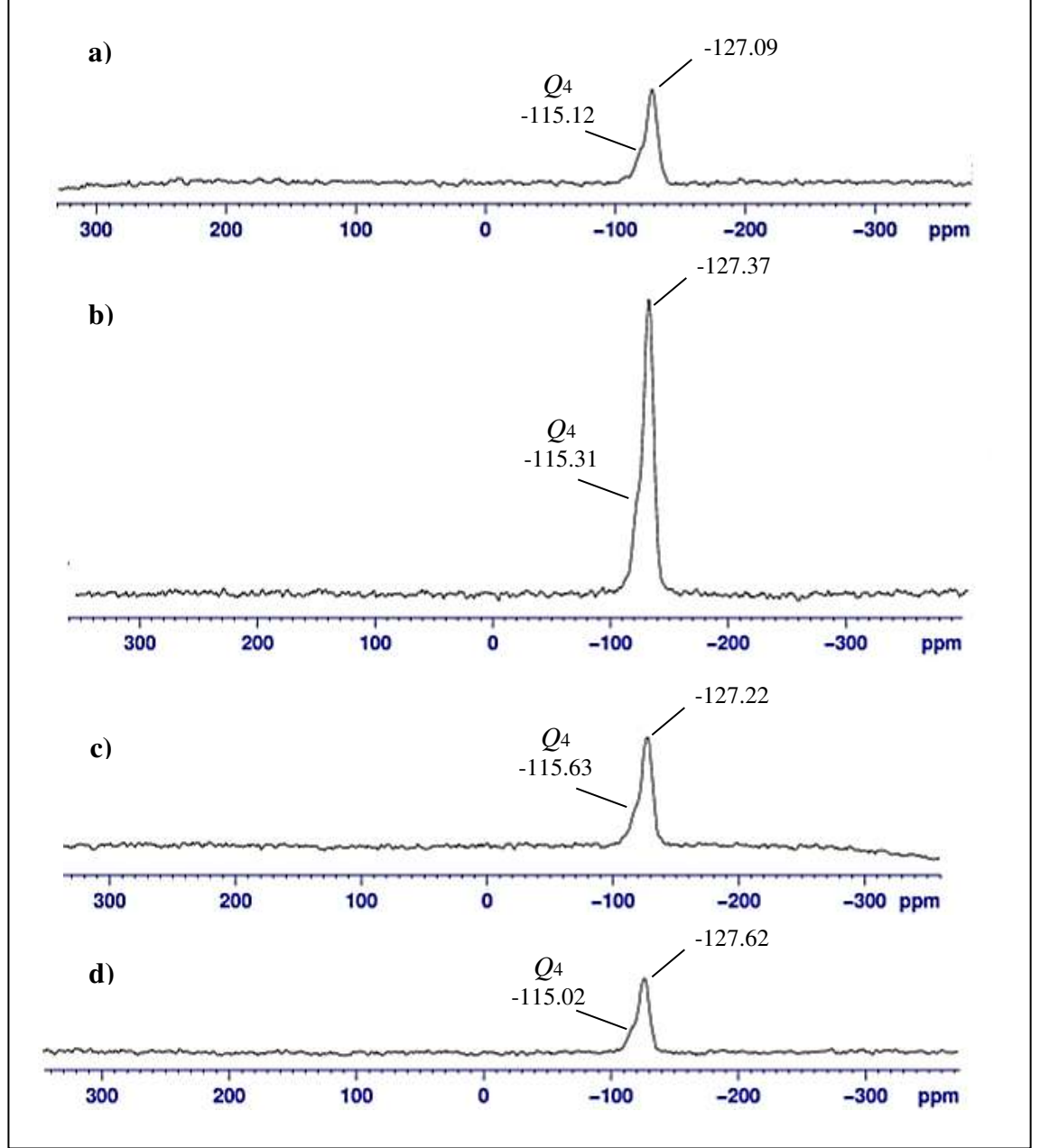


Şekil 4.38. (a) Arabik gam (b) jelatin ve (c) sukrozun kimyasal yapısı

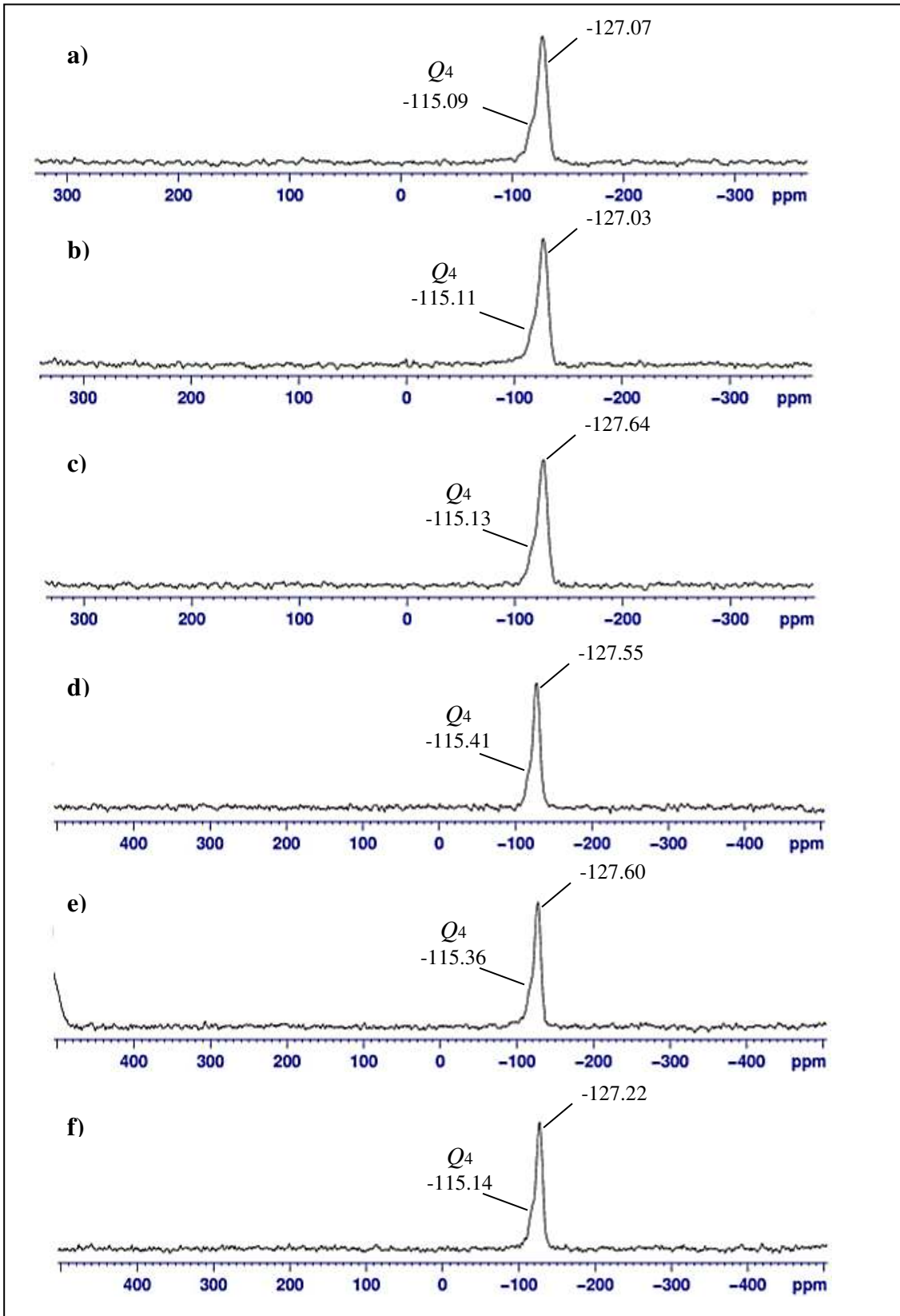
Dondurarak kurutma yönteminde arabik gam, jelatin ve sukrozdan oluşan karışım (K) uygulaması ile enkapsüle edilen uçucu yağ veya etken maddelerin FTIR spektrumları Şekil 4.36 ve 4.37’de görülmektedir. Jelatinin yapısında yer alan C=O (Amit) grubuna ait $1651-1653\text{ cm}^{-1}$ ’de gerilme bandları, $1547-1564\text{ cm}^{-1}$ ’de ise N–H eğilme bandları görülmektedir (Nguyen ve Lee 2010). Arabik gam ve sukroza ait pikler ise AG uygulamasında bahsedildiği gibidir. AG uygulamasında olduğu gibi ECar, IE ve SE enkapsüle ürünlerdeki fenolik etken maddeye ait 1517 ve 1362 cm^{-1} ’de =C–O gerilme ve eğilme bandları görülmektedir. Şekil 4.36’da 1678 cm^{-1} ’de görülen pik neral ve geranial etken maddelerinden gelen C=O (Aldehit) grubuna ait gerilme bandlarıdır.

4.4.2. ^{29}Si -NMR Analizi

Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen uçucu yağ ve etken maddelerin ^{29}Si -NMR spektrumları Şekil 4.39 ve Şekil 4.40’da verilmiştir.



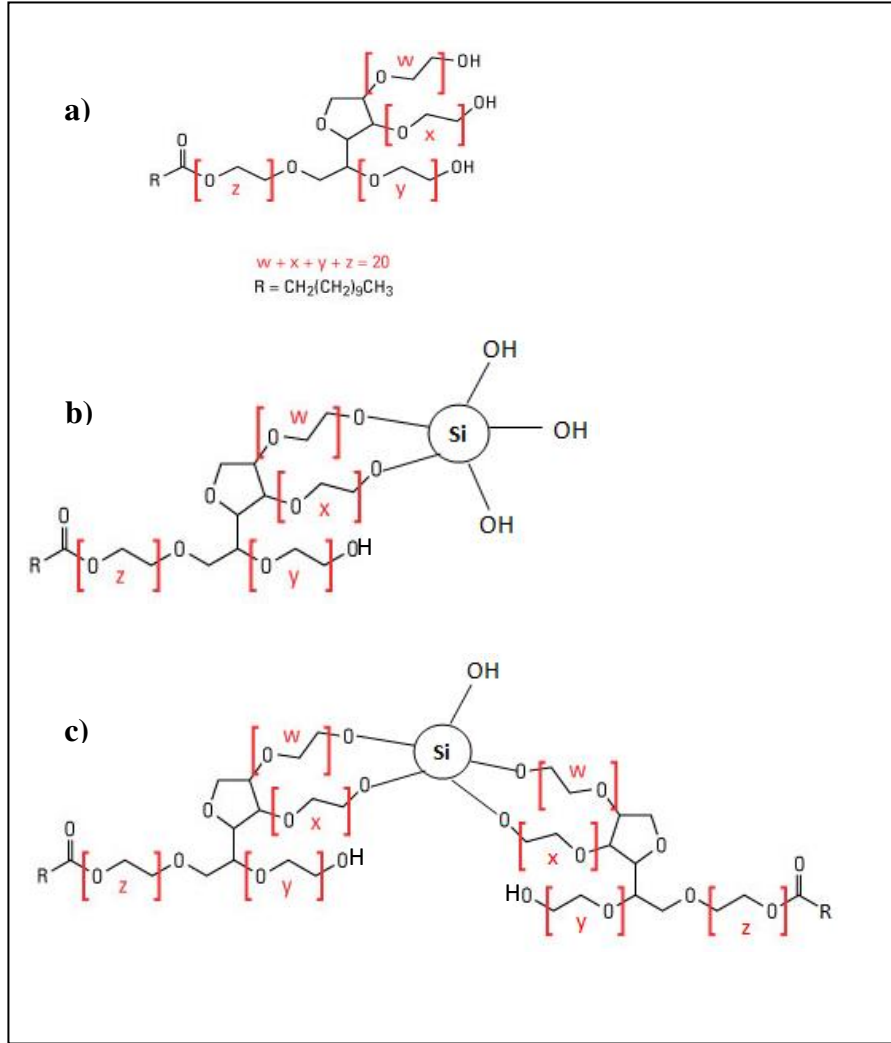
Şekil 4.39. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen örneklerin ^{29}Si -NMR spektrumları;
(a) T20-L40 (b) T20-OM (c) T20-IC (d) T20-SC



Şekil 4.40. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen örneklerin ^{29}Si -NMR spektrumları;
(a) T20-ECar (b) T20-IE (c) T20-SE (d) T20-CC (e) T20-SCit (f) T20-ECam

Sol-jel reaksiyonu sonucu oluşan enkapsüle ürünlerin ^{29}Si -NMR spektrumlarında (Şekil 4.39-4.40) -127.22 ve -127.64 ppm aralığında gözlenen piklerden dolayı yapıda hiperkoordine silika kompleks yapıların oluştuğu düşünülmektedir. Sahai ve Tossel' e (2001) göre kimyasal kaymanın çok daha negatif değerler alması, 5 koordineli ^{29}Si (penta coordination) ve 6 koordineli ^{29}Si (hexa coordination) ile poli alkol içeren yapılar arasında silikon-poli alkol monosiklik ve spirosiklik yapıların oluşması durumunda ortaya çıkmaktadır. HF/6-311+G(2d,p)//HF/6-31G level27 programına göre tetrametilsilan (TMS) standart olarak kabul edilerek kimyasal kayma değerleri, hiperkoordine silika ^{29}Si için -128 ppm olarak hesaplanmıştır (Sahai ve Tossel 2001).

Sonuçların literatür verileriyle uyumlu olduğu düşünülerek sol-jel enkapsüle ürünlerin yapısında bulunan Şekil 4.41-a'da yer alan sürfektan (Tween 20), yapısındaki -OH grupları sayesinde poli alkol gibi davranarak Si atomu ile 5 koordineli monosiklik veya spirosiklik yapılar oluşturmuş olabilir (Şekil 4.41-b-c).

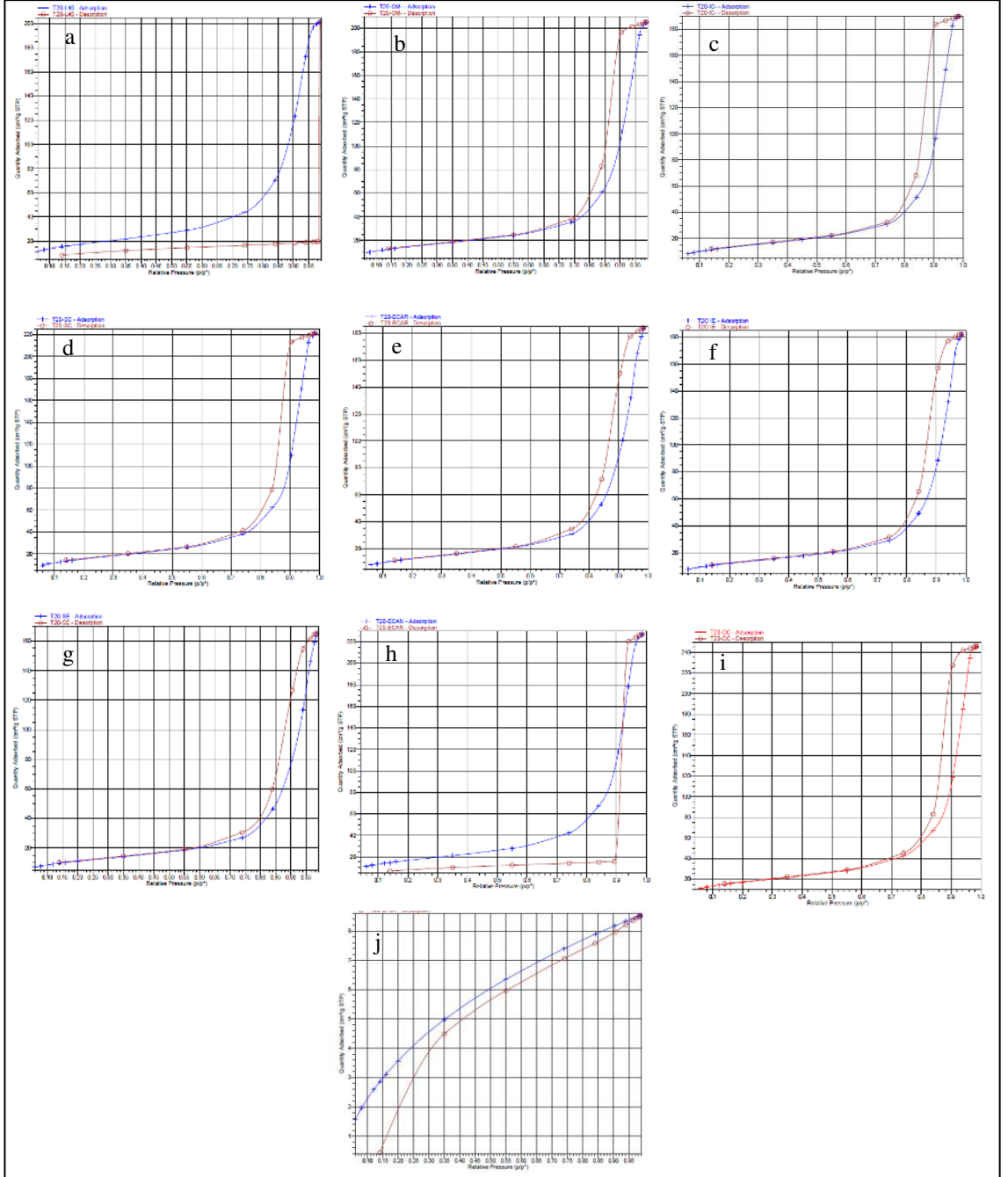


Şekil 4.41. (a) Tween 20'nin kimyasal yapısı (b) monosiklik (c) spirosiklik 5 koordineli ^{29}Si (penta coordination) Tween 20 kompleksi

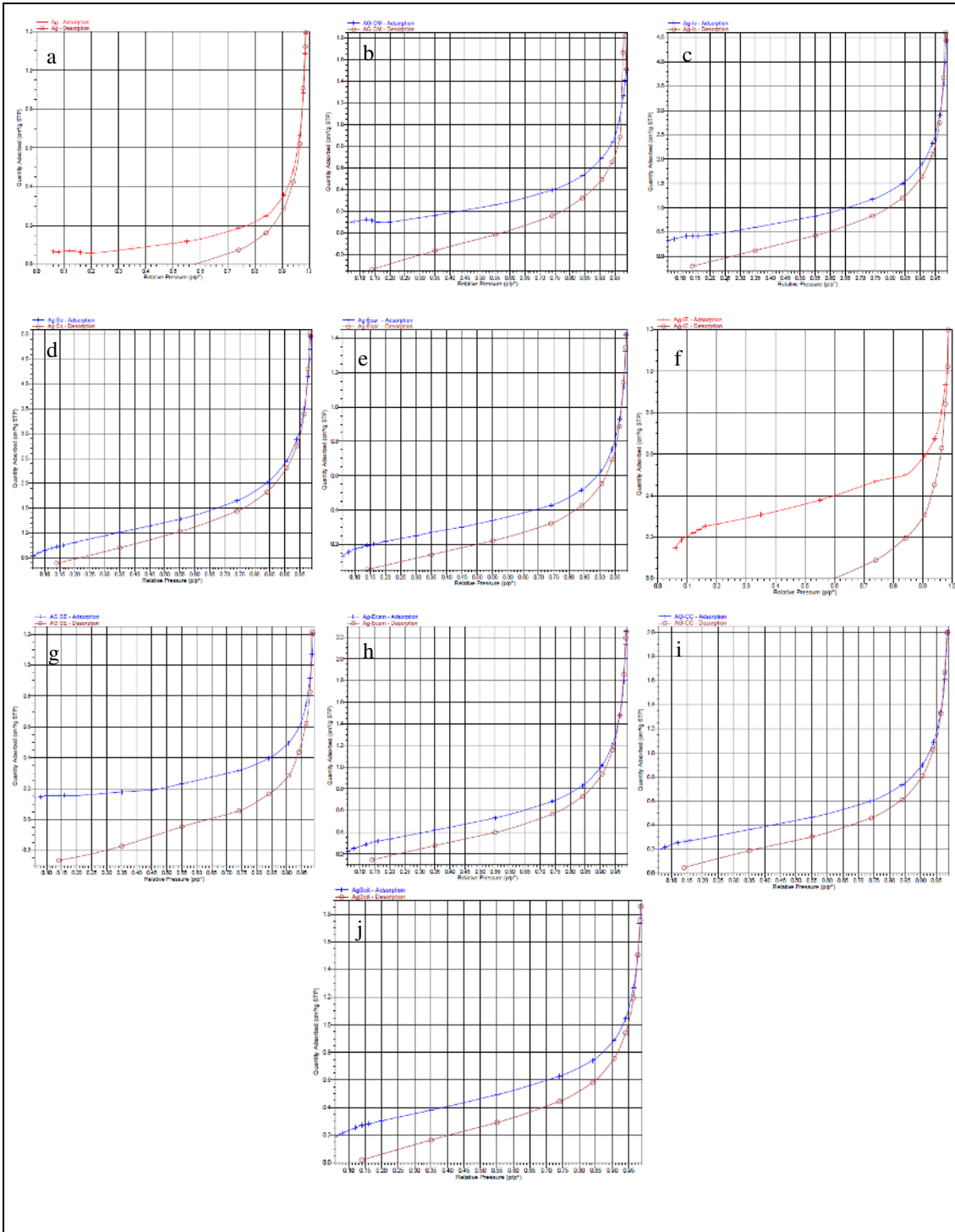
^{29}Si -NMR spektrumlarında -115.02 ve -115.63 ppm aralığında omuz şeklinde gözlenen pikler, yapıda Q_4 ($\text{Si}(\text{OSi})_4$) merkezlerinin de varlığını göstermektedir. Bu durum hiperkoordine yapıların yanı sıra tetrahedral silisyum çevrelerinde oluştuğunun göstergesidir.

4.4.3. N₂ adsorpsiyon–desorpsiyon analizi (BET)

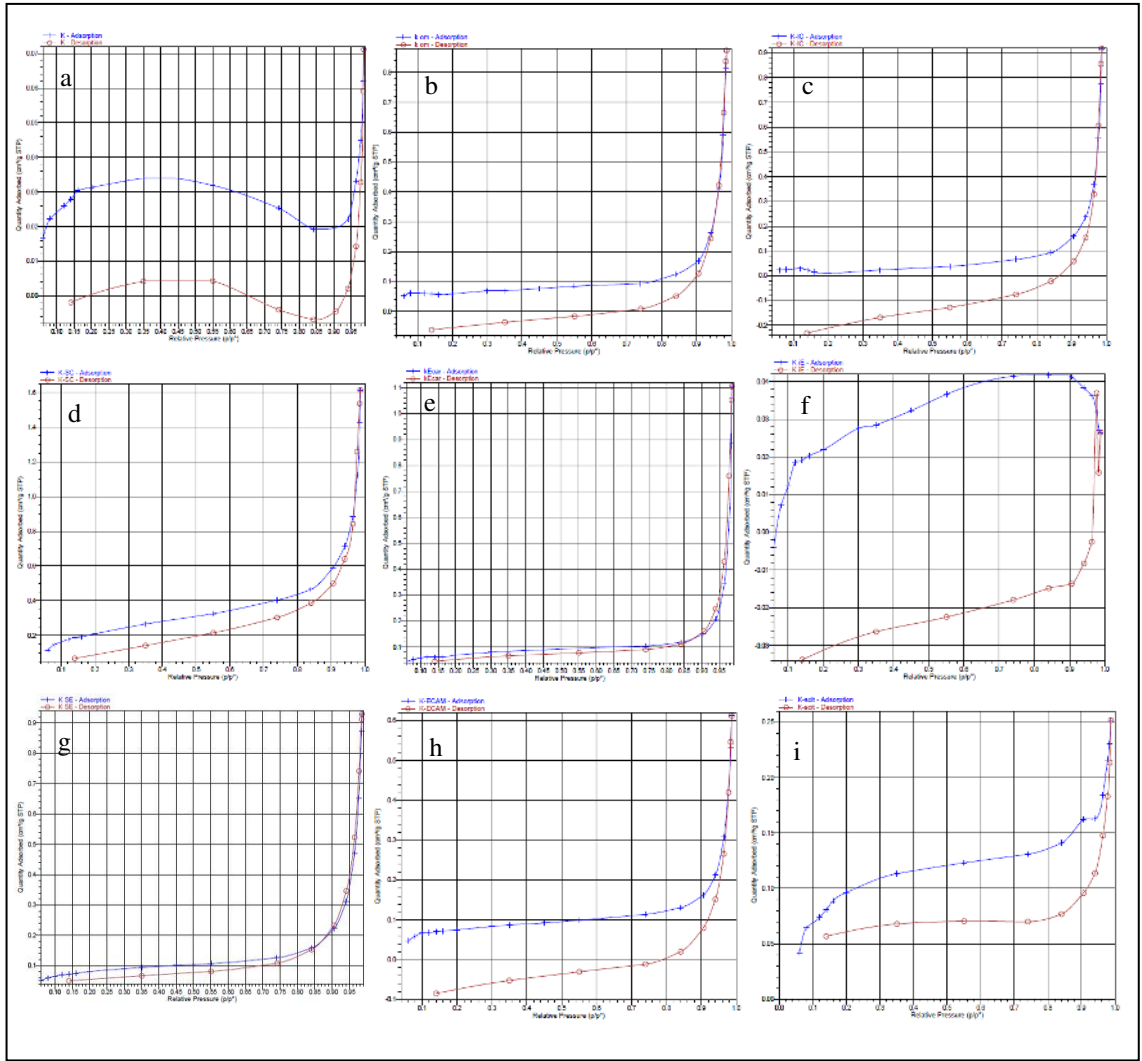
Analizler statik volumetrik metotla, azot gazı yardımıyla *Brunauer, Emmett ve Teller* (BET) metoduna göre gerçekleştirilmiştir. Numune yüzeyini tek bir moleküler tabakayla kaplamak için gerekli gaz miktarı tayin edilerek yüzey alanı toplam gözenek hacmi ve ortalama gözenek çapı hesaplanmıştır. N₂ adsorpsiyon-desorbsiyon izotermi Şekil 4.42, 4.43 ve 4.44’te verilmiştir.



Şekil 4.42. N₂ adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi (a) T20-L40 (b) T20-OM (c) T20-IC (d) T20-SC (e) T20-ECar (f) T20-IE (g) T20-SE (h) T20-ECam (i) T20-CC (j) T20-SCit



Şekil 4.43. N₂ adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi (a) AG (b) AG-OM (c) AG-IC (d) AG-SC (e) AG-ECar (f) AG-IE (g) AG-SE (h) AG-ECam (i) AG-CC (j) AG-SCit



Şekil 4.44. N₂ adsorpsiyon/desorpsiyon izotermi (a) K (b) K-OM (c) K-IC (d) K-SC (e) K-ECar (f) K-IE (g) K-SE (h) K-Ecam (i) K-SCit

Çizelge 4.22. Enkapsüle ürünlere ait yüzey alanları, toplam gözenek hacimleri ve çapları

	BET yüzey alanı (m²/g)	Gözenek hacmi (cm³/g)	Gözenek Çapı (BJH By 4V/A (nm)	Gözenek Çapı (4V/A by BET) (nm)
T20-L40	50.4752	0.2968	104.7340	2.4163
T20-OM	43.1432	0.3189	12.3773	103.0578
T20-IC	21.3829	0.29429	13.0305	54.9624
T20-SC	44.2081	0.3437	12.7217	30.9524
T20-ECar	37.0111	0.2856	13.0789	30.7682
T20-IE	19.9307	0.282	13.4041	56.5815
T20-SE	31.4350	0.2569	13.5451	32.5198
T20-ECam	48.1822	0.3514	21.4966	29.1526
T20-CC	48.4019	0.3821	13.0785	31.4273
T20-SCit	4.9016	0.0059	7.8487	10.7269
AG	0.2270	0.0019	31.2508	30.5767
AG-OM	0.4708	0.0028	29.6408	23.9268
AG-IC	1.4156	0.0072	19.2205	20.0856
AG-SC	0.5028	0.0073	12.7324	61.7983
AG-ECar	0.1399	0.0021	15.0287	59.5785
AG-IE	0.3289	0.0019	30.2947	19.2337
AG-SE	0.1127	0.0019	30.0093	66.6362
AG-ECam	0.6740	0.0033	19.4234	20.1432
AG-CC	0.3273	0.0031	19.0929	37.7373
AG-SCit	0.3897	0.0028	18.8826	27.8964
K	0.0643	0.0001	72.9031	5.6876
K-OM	0.0645	0.0014	35.6950	80.2898
K-IC	0.0633	0.0014	55.6584	83.5392
K-SC	0.1803	0.0024	25.2209	52.6980
K-ECar	0.0628	0.0018	29.6778	103.6843
K-IE	0.0035	0.0001	2.9921	27.6652
K-SE	0.0740	0.0014	26.4918	76.2600
K-ECam	0.0495	0.0010	42.2011	68.2394
K-SCit	0.1688	0.0004	39.4043	7.8325

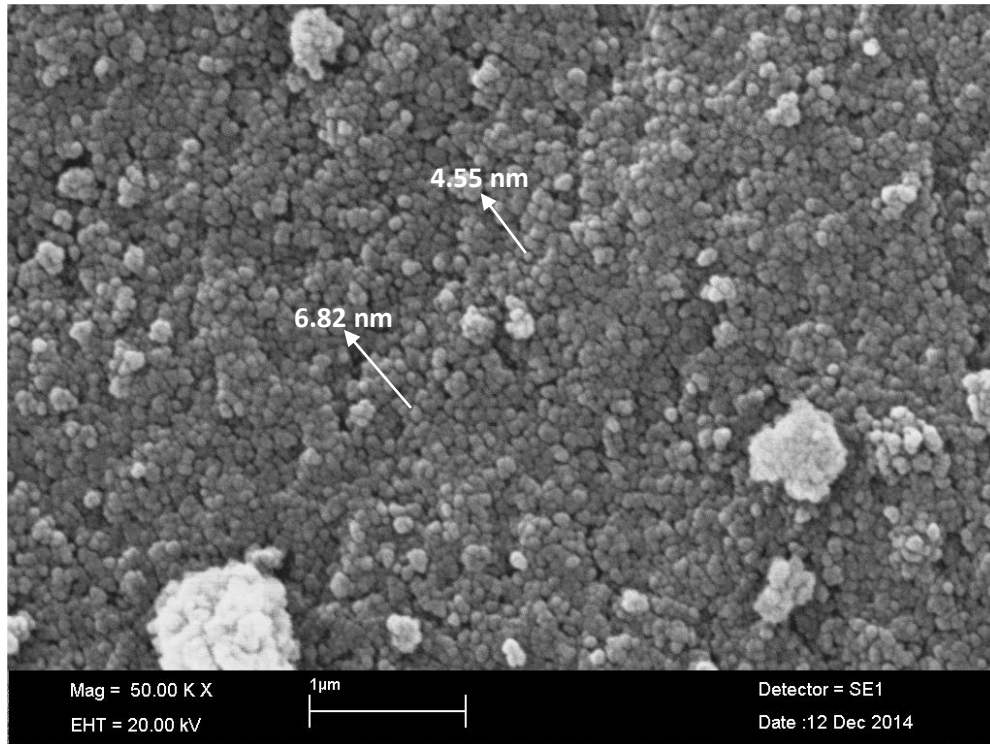
Enkapsüle ürünler için Çizelge 4.22’de belirtildiği üzere T20 (sol-jel) uygulamasında BET yüzey alanları 4.90-48.40 m²/g aralığında, BJH (Barrett-Joyner-Halenda) desorpsiyon ortalama gözenek çapı değerleri 7.85-21.50 nm aralığında ve toplam gözenek hacmi değerleri de 0.0059-0.38 cm³/g aralığında değişim göstermiştir. AG (dondurarak kurutma) uygulamasında BET yüzey alanları 0.11-1.42 m²/g aralığında, BJH (Barrett-Joyner-Halenda) desorpsiyon ortalama gözenek çapı değerleri 12.73-30.29 nm aralığında ve toplam gözenek hacmi değerleri de 0.0019-0.0073 cm³/g aralığında değişim göstermiştir. K (dondurarak kurutma) uygulamasında BET yüzey alanları 0.0035-0.1803 m²/g aralığında, BJH (Barrett-Joyner-Halenda) desorpsiyon ortalama gözenek çapı değerleri 2.99-55.66 nm aralığında ve toplam gözenek hacmi değerleri de 0.0001-0.0024 cm³/g aralığında değişim göstermiştir. Gözenek çaplarına bakıldığında sol-jel enkapsüle ürünlerin mezogözenekli yapıda olduğu, AG ve K

uygulamalarının enkapsüle ürünlerinin ise heterojen makro ve mezo gözenekli yapılarda olduğu anlaşılmaktadır. Çizelge 4.22’de görüldüğü gibi uçucu yağ veya etken maddelerin enkapsüle edildiği uygulamalarda gözenek çapları kontrol (boş) uygulamalarının (T20-L40, AG ve K) gözenek çaplarına göre daha düşüktür. Bu durum gözeneklerin uçucu yağ veya etken maddeler ile dolu olduğunu ve enkapsülasyonun gerçekleştiğini göstermektedir. Azot adsorpsiyon-desorpsiyon izotermi arasında mezogözenekli katılara özgü bir özellik olan histerisis görülmektedir. T20 uygulamalarında 5. tip adsorpsiyon izotermi görülmektedir. 5. tip adsorpsiyon izotermi, mezogözenekli yapılar için karakteristik olup keskin kapiler kondenzasyon basamağı 0,6 p/p° değerindedir. Saptanan birbirine paralel ve dar adsorpsiyon ve desorpsiyon dalları H1 tip histerisisin varlığını gösterir. H1 tip histerisis düzenli dar mezogözeneklerden meydana gelen küresel partiküllerde görülmektedir (Sing vd 1985).

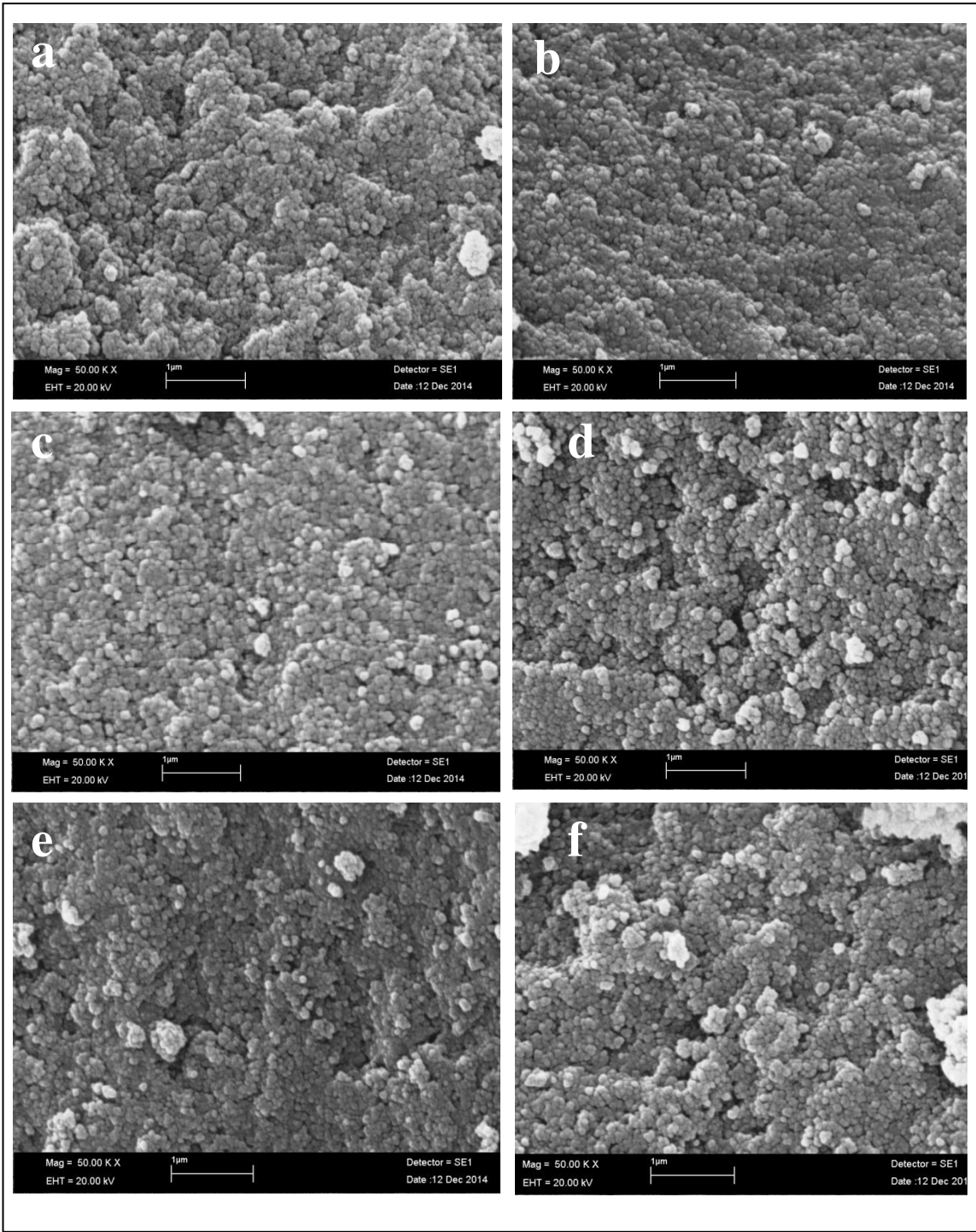
AG ve K uygulamalarında 3. tip adsorpsiyon izotermi ve H3 tipi histerisis görülmektedir. Beklendiği gibi bu tür histerisis heterojen dağılım gösteren katmanlı yarık gözenekli polimer yapılarda ortaya çıkmaktadır (Sing vd 1985, W. Fan vd 2008). Tutunan gazın dar gözenekli yapılardan uzaklaştırılamamasından kaynaklı kapanmayan histerisis gözlenmektedir (Idris vd 2013). K uygulamalarında ECar (Şekil 4.44-e) ve SE (Şekil 4.44-g) dışında gözlenen geniş histerisis yapıların düzensiz, tanımlanamayan şekle sahip olduklarını gösterir (Holland vd 2010).

4.4.4. SEM analizi

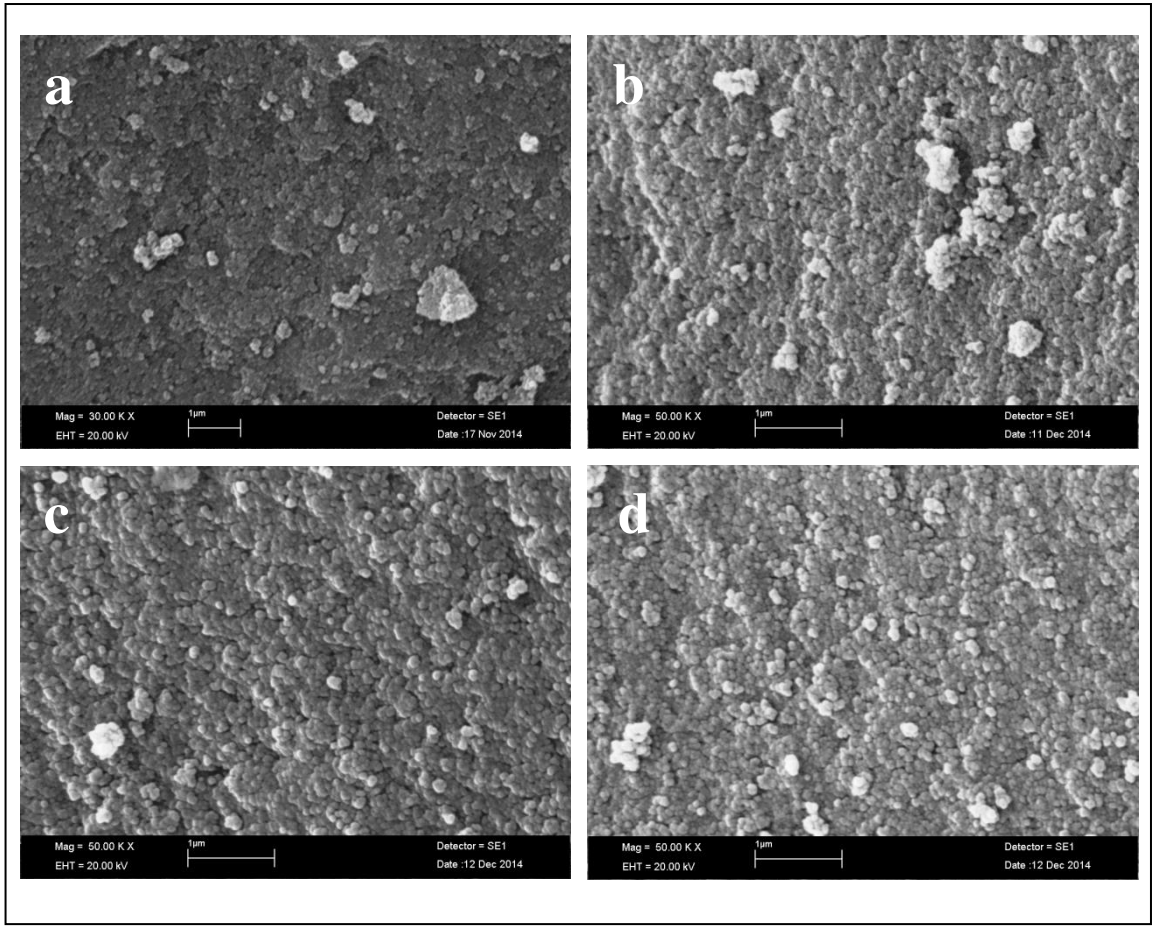
Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) resimleri (Şekil 4.45- 4.55) ile örneklerin morfolojisi ortaya konmuştur.



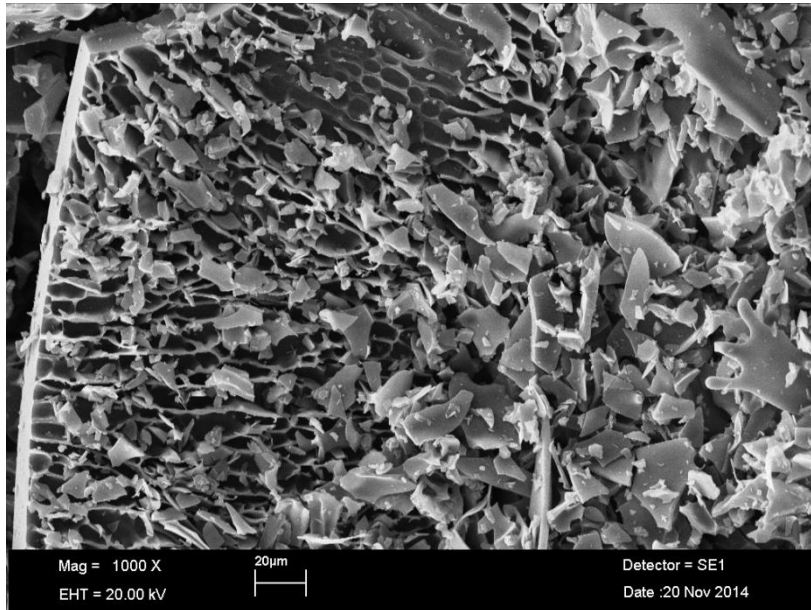
Şekil 4.45. T20-L40 (kontrol) ait SEM fotoğrafı (Mag=50.00 KX)



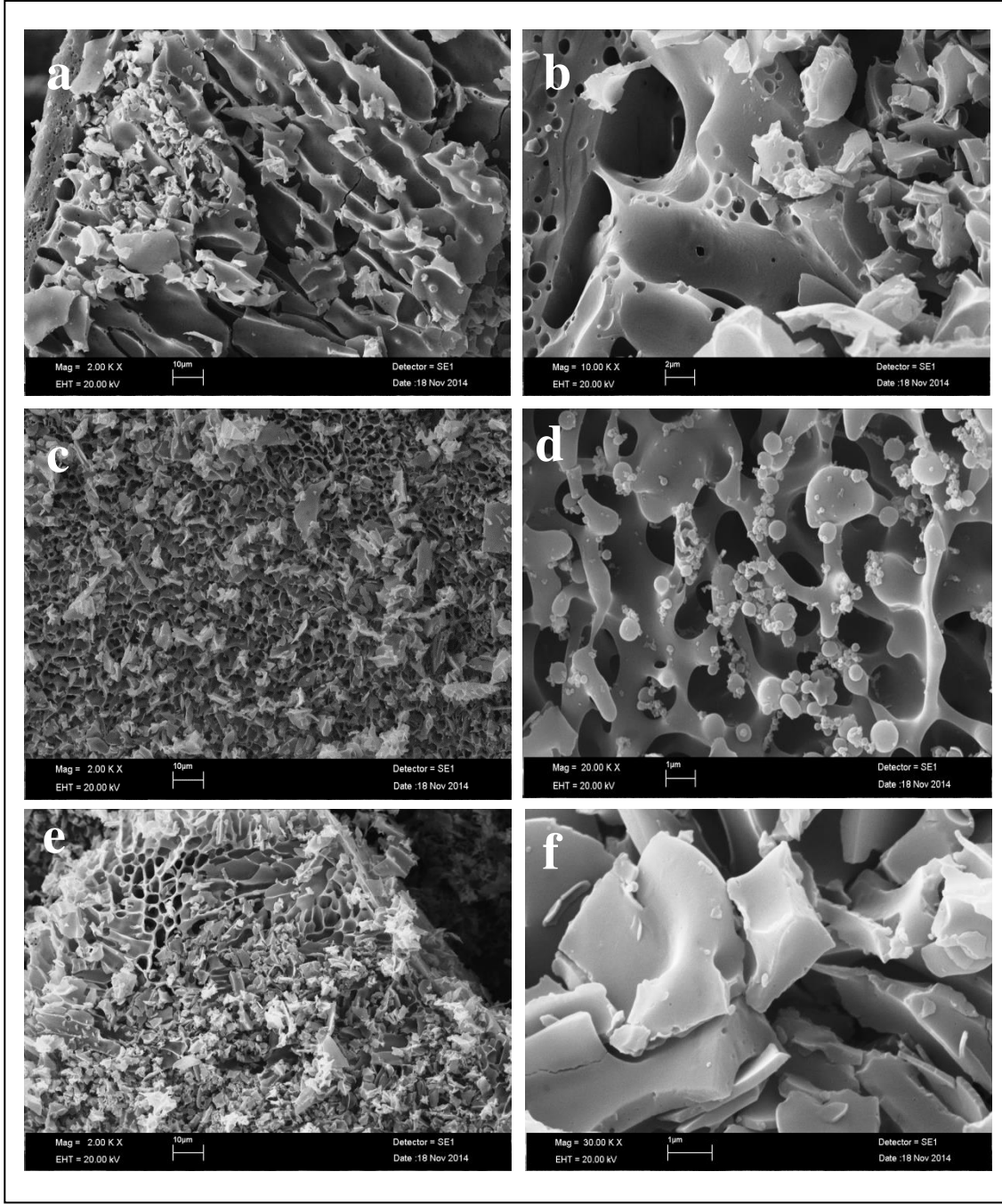
Şekil 4.46. SEM fotoğrafları (Mag=50.00 KX) (a) T20-OM (b) T20-IC (c) T20-SC (d) T20-ECar (e) T20-IE (f) T20-SE



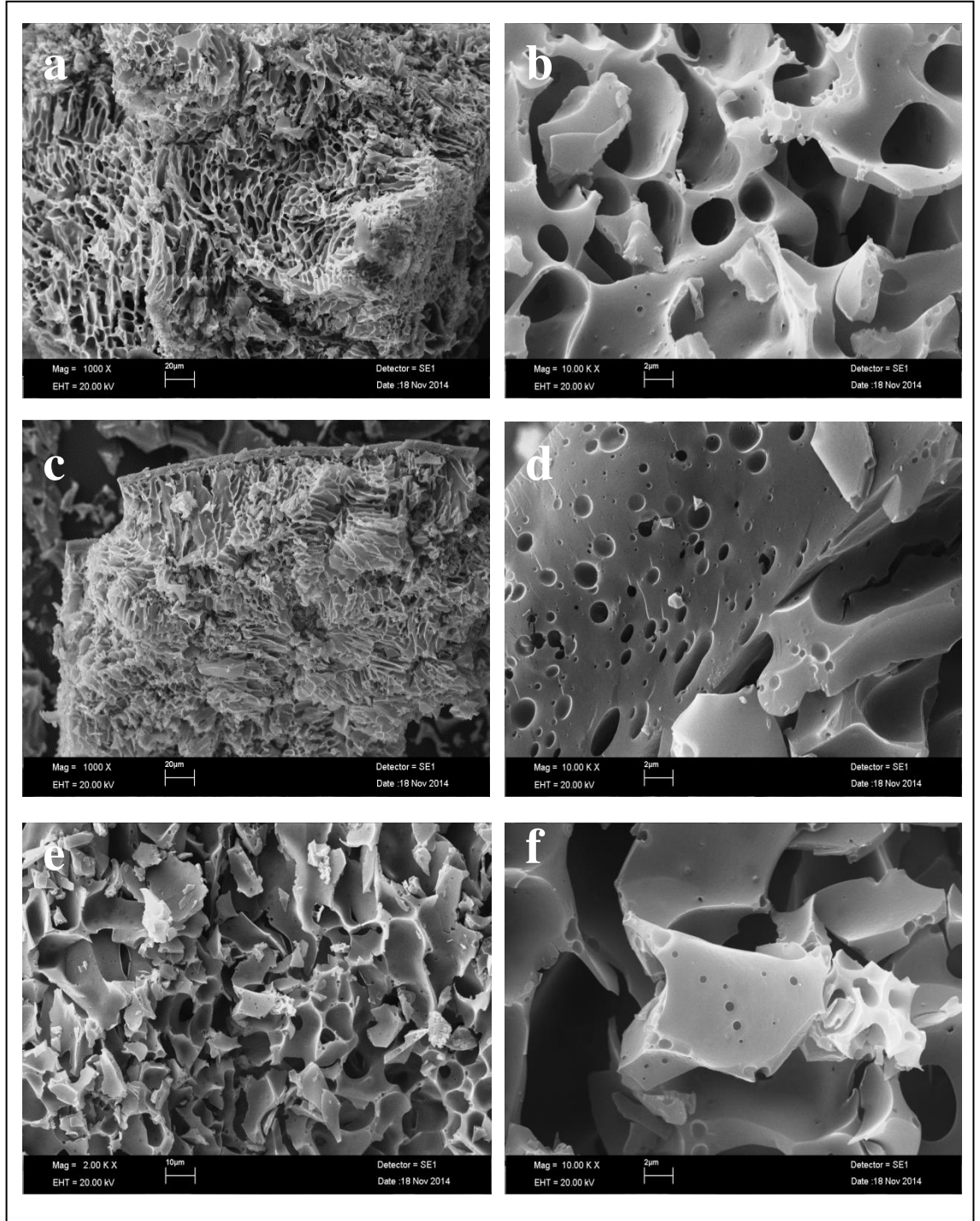
Şekil 4.47. SEM fotoğrafları (a) T20-ECam (Mag=30.00 KX) (b) T20-ICin (Mag=50.00 KX) (c) T20-CC (Mag=50.00 KX) (d) T20-SCit (Mag=50.00 KX)



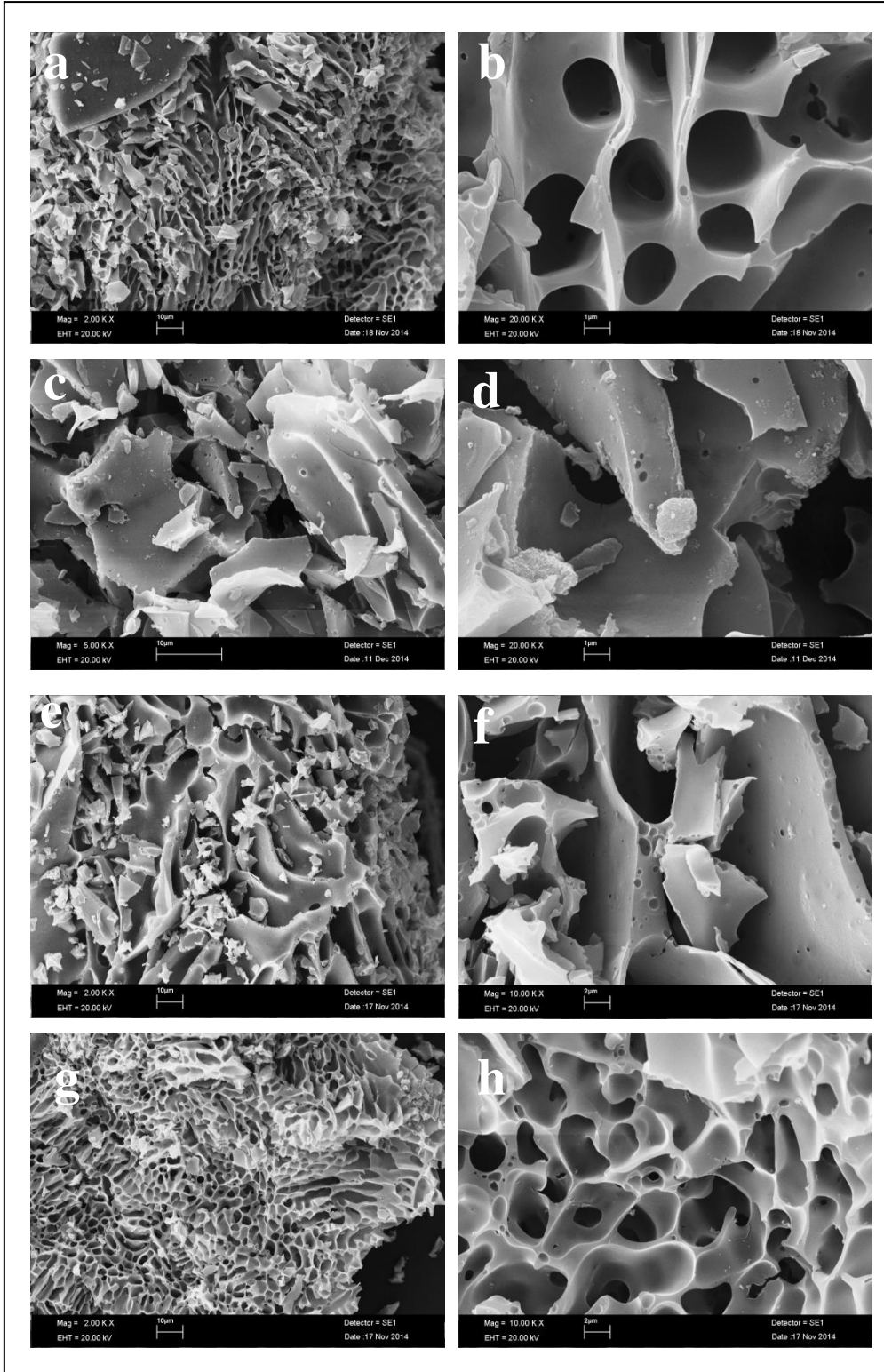
Şekil 4.48. AG'a (Kontrol) ait SEM fotoğrafı (Mag=1000 X)



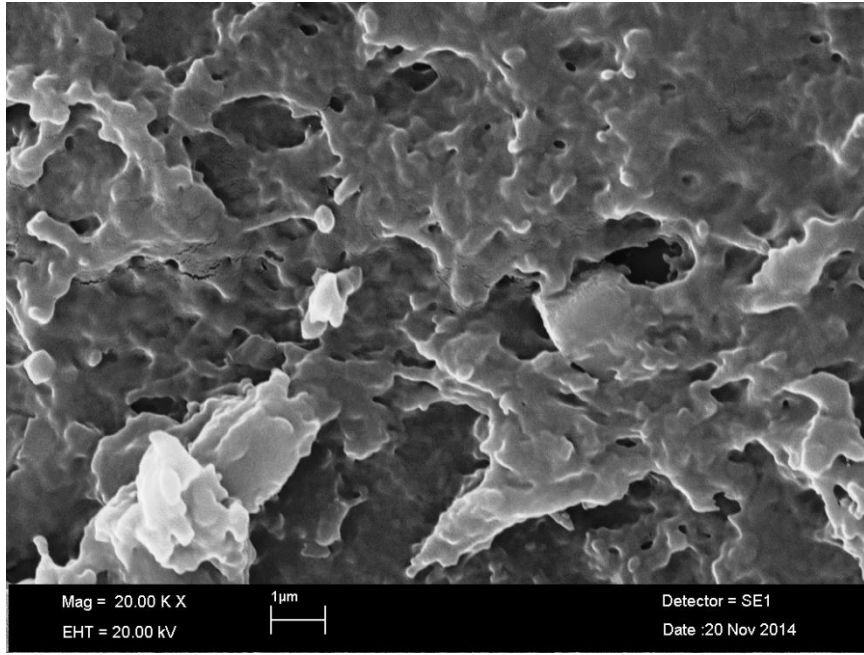
Şekil 4.49. SEM fotoğrafları (a) AG-OM (Mag=2.00 KX) (b) AG-OM (Mag=10.00 KX) (c) AG-IC (Mag=2.00 KX) (d) AG-IC (Mag=20.00 KX) (e) AG-SC (Mag=2.00 KX) (f) AG-SC (Mag=30.00 KX)



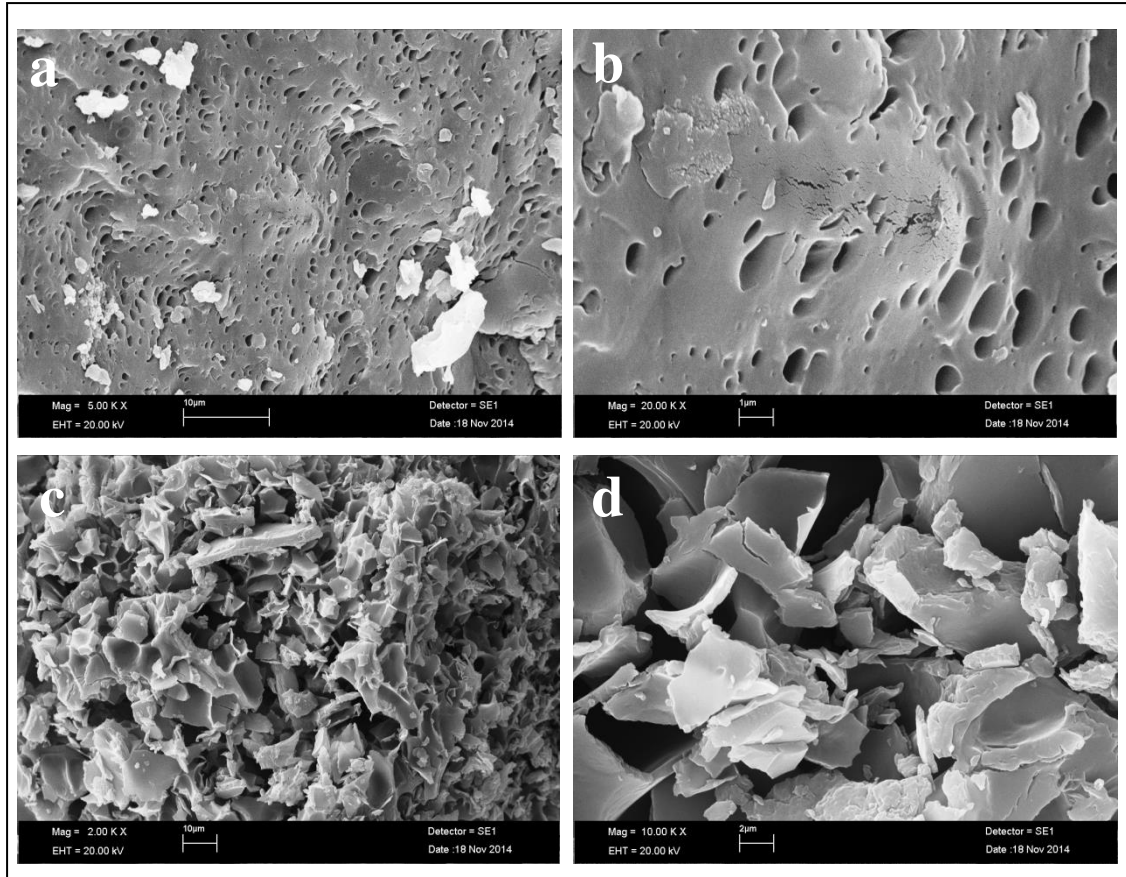
Şekil 4.50. SEM fotoğrafları (a) AG-ECar (Mag=1000 X) (b) AG-ECar (Mag=10.00 KX) (c) AG-IE (Mag=1000 X) (d) AG-IE (Mag=10.00 KX) (e) AG-SE (Mag=2.00 KX) (f) AG-SE (Mag=10.00 KX)



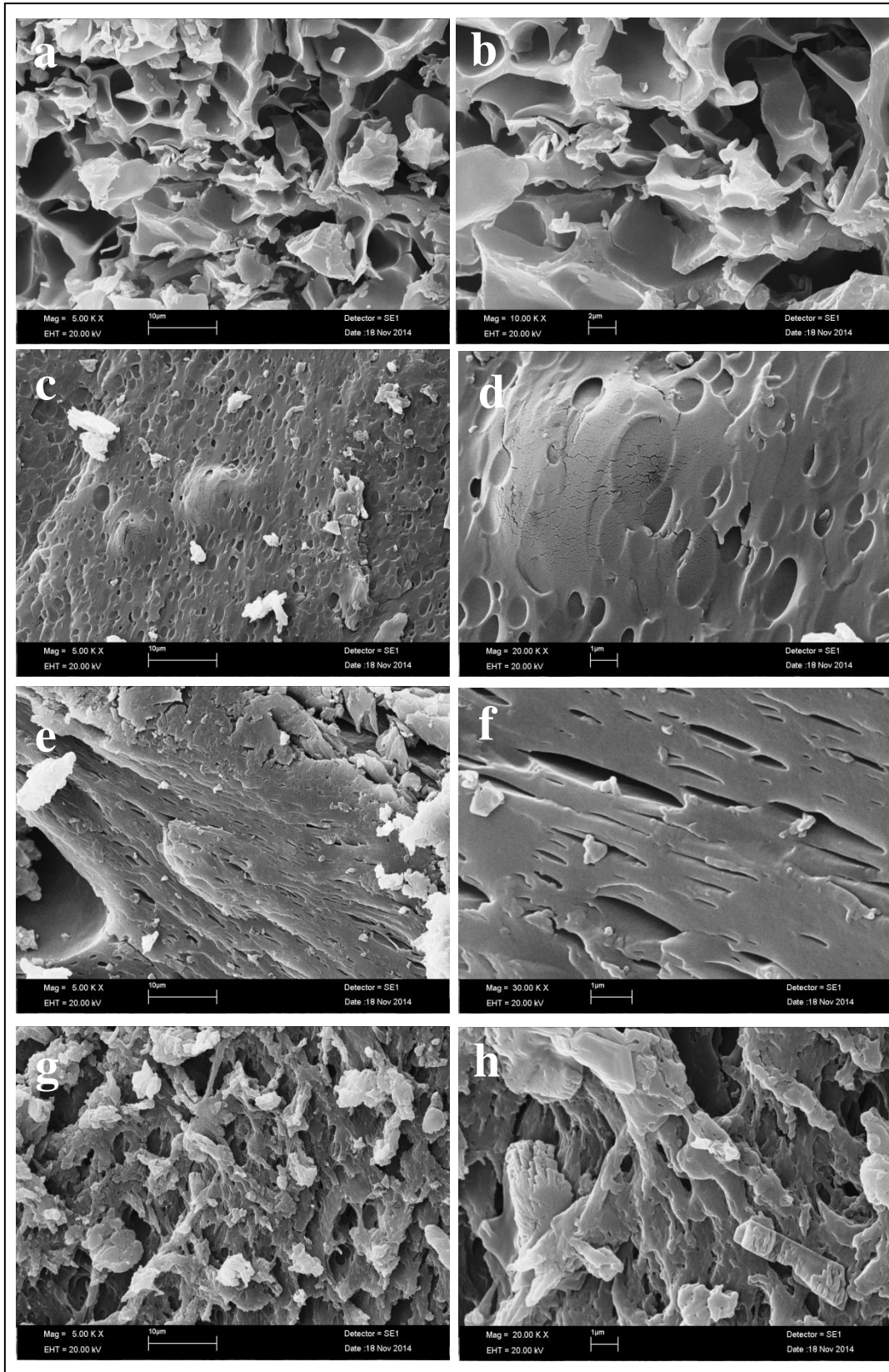
Şekil 4.51. SEM fotoğrafları (a) AG-ECam (Mag=2.00 KX) (b) AG-ECam (Mag=20.00 KX) (c) AG-ICin (Mag=5.00 KX) (d) AG-ICin (Mag=20.00 KX) (e) AG-CC (Mag=2.00 KX) (f) AG-CC (Mag=10.00 KX) (g) AG-SCit (Mag=2.00 KX) (h) AG-SCit (Mag=10.00 KX)



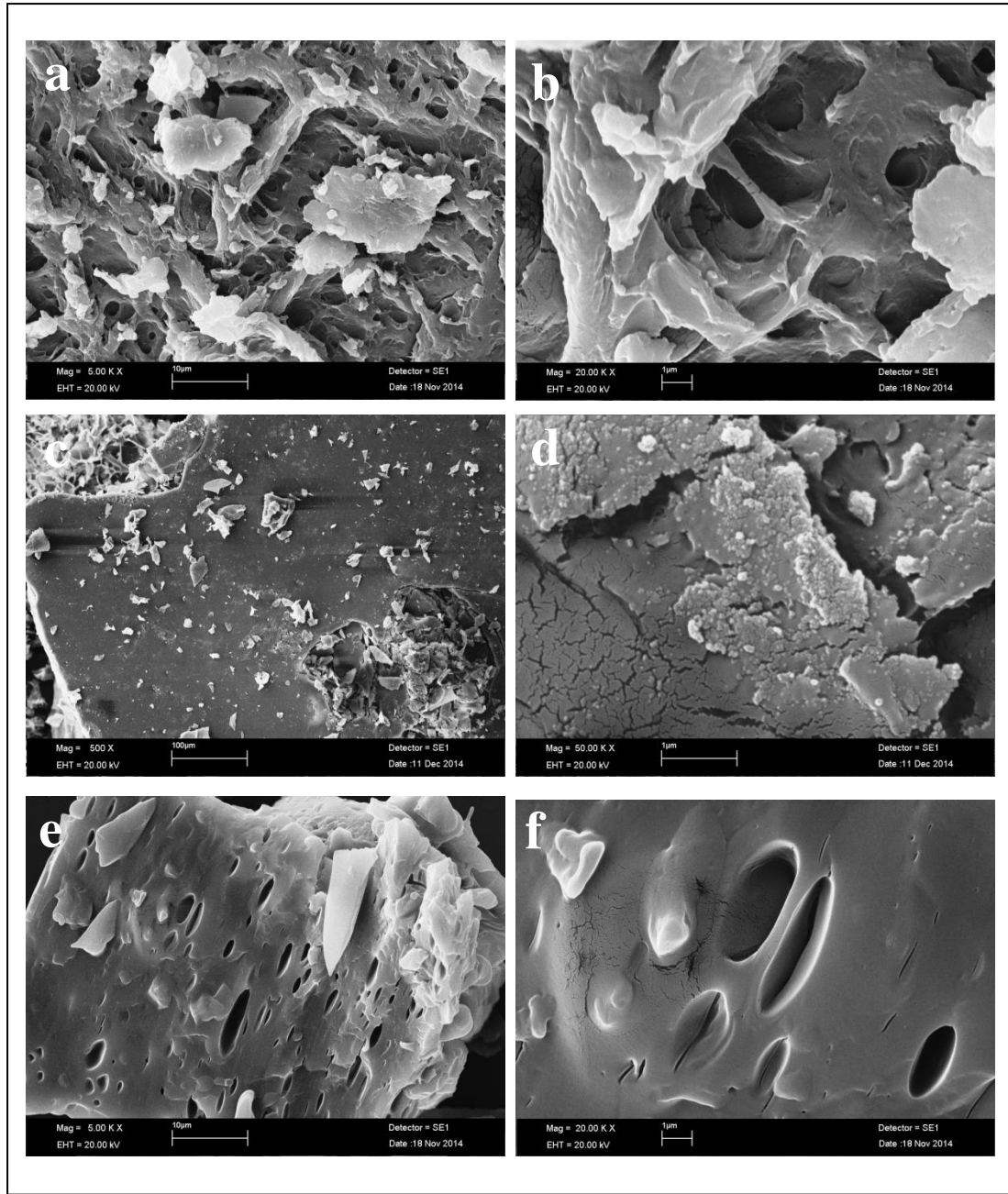
Şekil 4.52. K'ya (arabik gam:jelatin:sukroz, 1:1:1) (Kontrol) ait SEM fotoğrafı (Mag=20.00 KX)



Şekil 4.53. SEM fotoğrafları (a) K-OM (Mag=5.00 KX) (b) K-OM (Mag=20.00 KX) (c) K-IC (Mag=2.00 KX) (d) K-IC (Mag=10.00 KX)



Şekil 4.54. SEM fotoğrafları (a) K-SC (Mag=5.00 KX) (b) K-SC (Mag=10.00 KX) (c) K-ECar (Mag=5.00 KX) (d) K-ECar (Mag=20.00 KX) (e) K-IE (Mag=5.00 KX) (f) K-IE (Mag=30.00 KX) (g) K-SE (Mag=5.00 KX) (h) K-SE (Mag=20.00 KX)

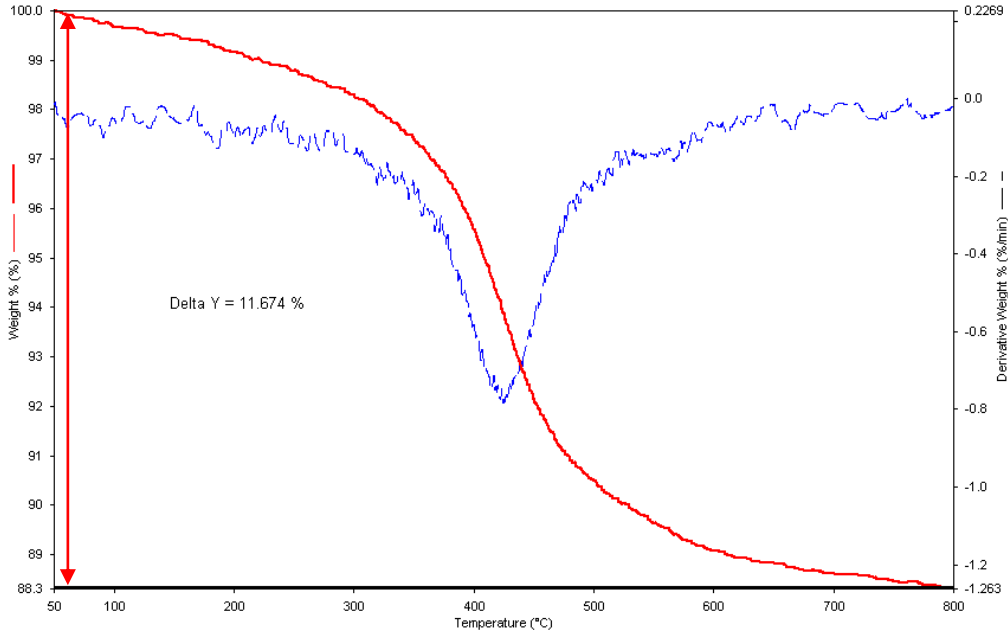


Şekil 4.55. SEM fotoğrafları (a) K-ECam (Mag=5.00 KX) (b) K-ECam (Mag=20.00 KX) (c) K-ICin (Mag=500 X) (d) K-ICin (Mag=50.00 KX) (e) K-CC (Mag=5.00 KX) (f) K-CC (Mag=20.00 KX)

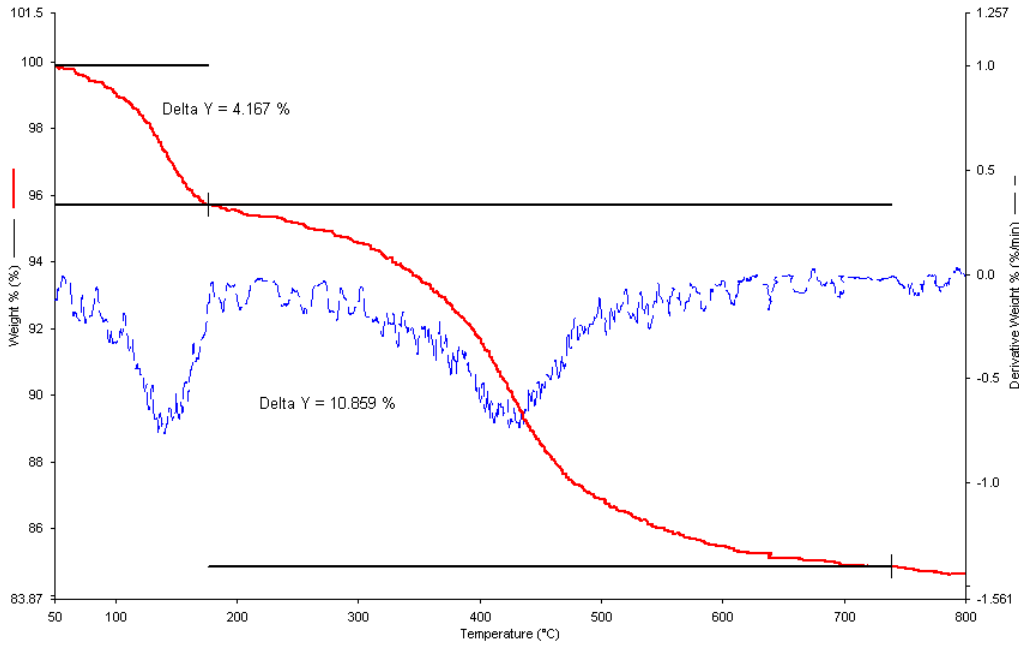
Sol-jel yöntemi ile gerçekleştirilen enkapsüle ürünler küresel partikül morfolojisine sahipken dondurarak kurutma yöntemi ile elde edilen ürünlerde AG ve K uygulamalarında ise katmanlı, açık ve delikli yapıda kapsüller görülmektedir. Ancak K uygulamalarında yarıkların daha dar ve daha sıkı olduğu görülmektedir. Sonuçlar BET analizlerini desteklemektedir.

4.4.5. TGA analizi

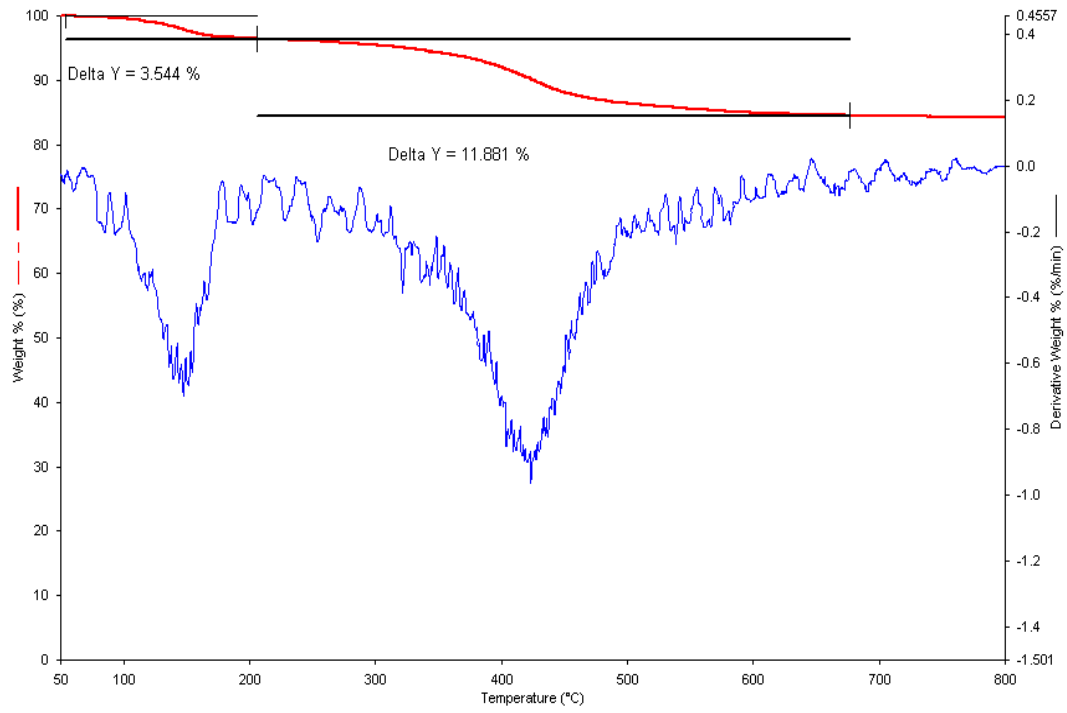
Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen örneklerin termal davranışları termal gravimetrik analiz (TGA) ile incelendi. TGA, 10 °C/dak artışla N₂ atmosferinde 50 °C'den 800 °C'ye kadar ısıtma işlemi uygulanarak yapıldı. Uygulamalara ait TGA grafikleri Şekil 4.56-4.65 arasında verilmiştir.



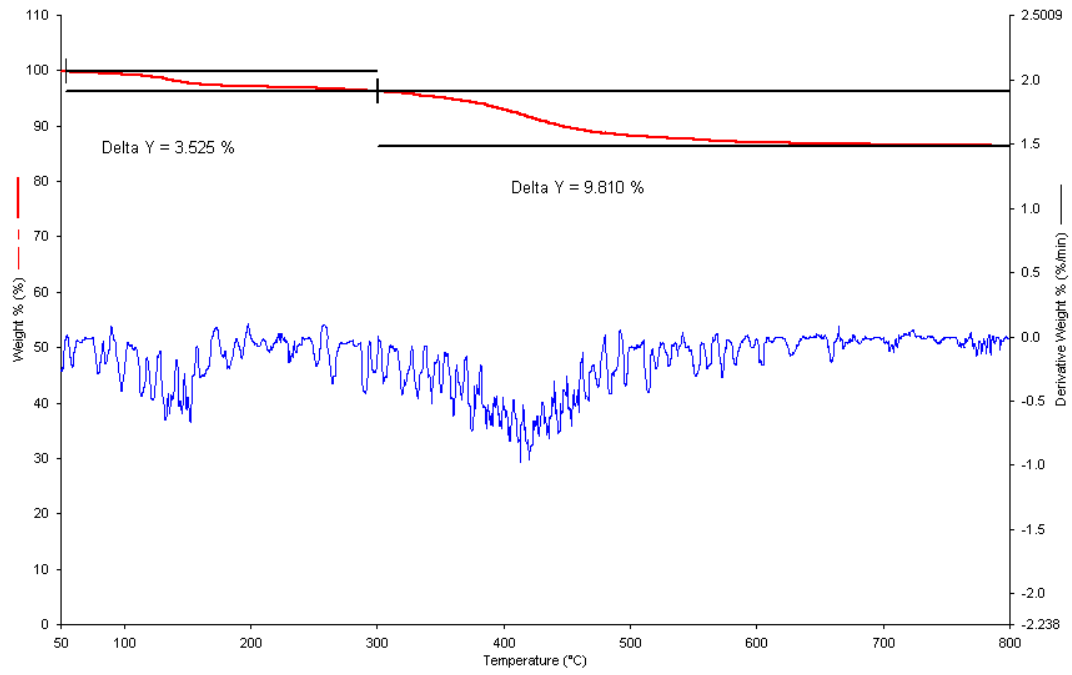
Şekil 4.56. T20-L40 (Kontrol, boş): % 11.65 T20, % 88.35 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



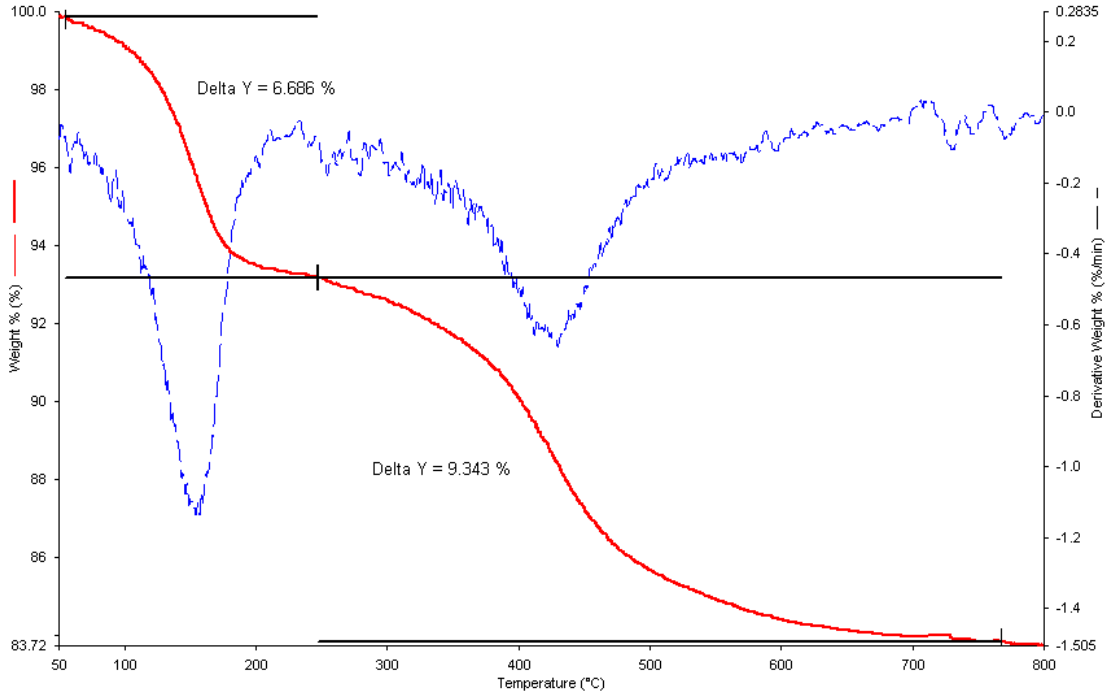
Şekil 4.57. T20-OM: % 4.63 OM uçucu yağı % 11.11 T20, % 84.26 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



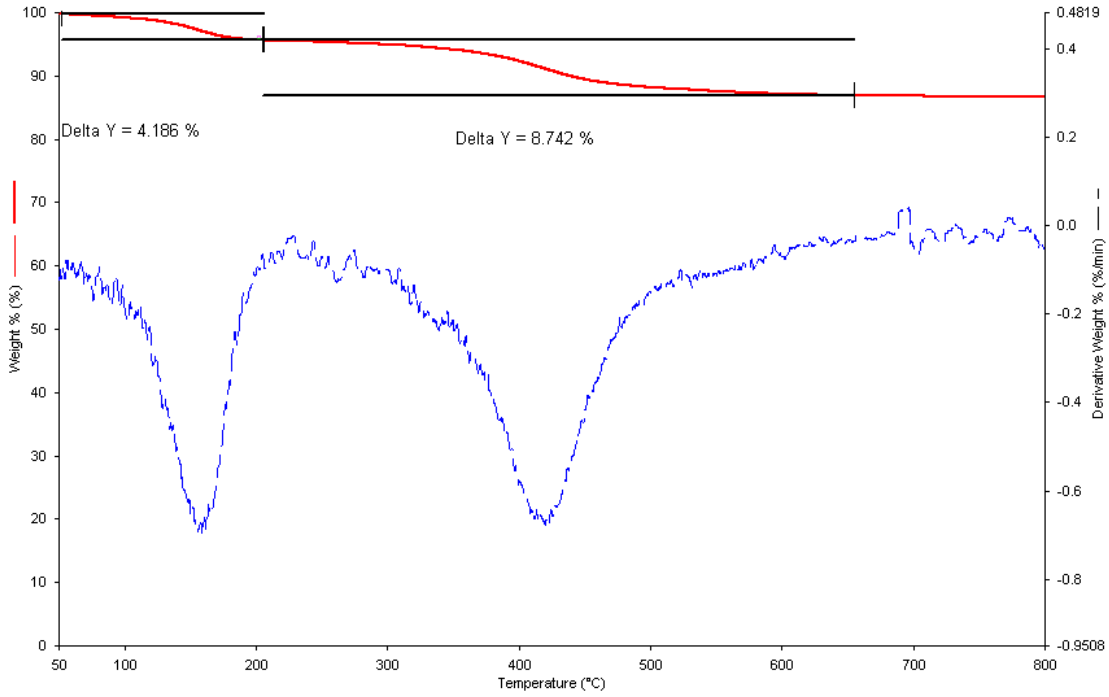
Şekil 4.58. T20-IC: %3.14 IC uçucu yağı, % 11.29 T20, % 85.57 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



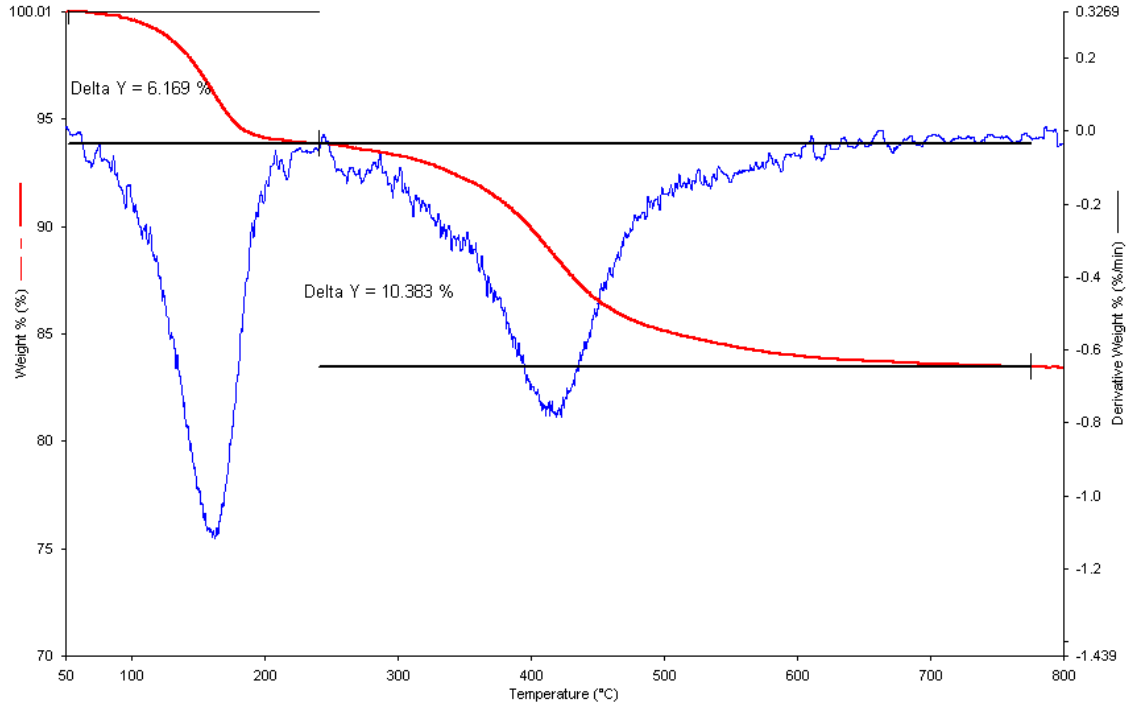
Şekil 4.59. T20-SC: %2.37 SC uçucu yağı, % 11.35 T20, % 86.28 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



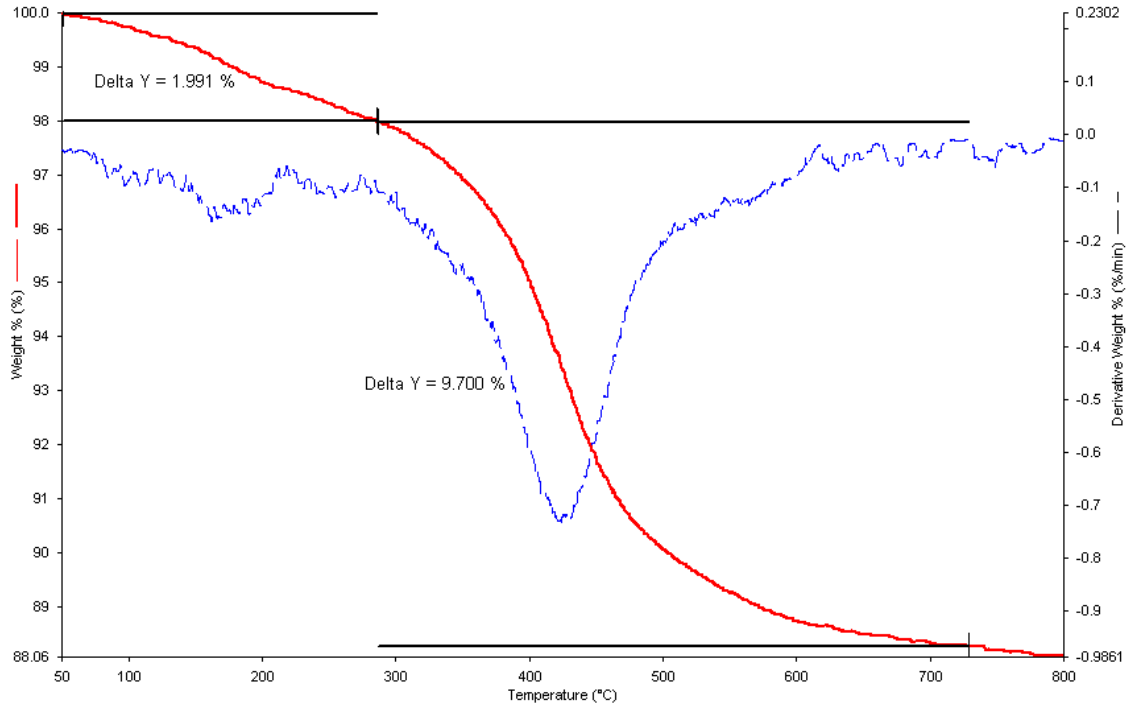
Şekil 4.60. T20-ECar: % 6.78 ECar uçucu yağı, % 10.84 T20, % 82.38 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



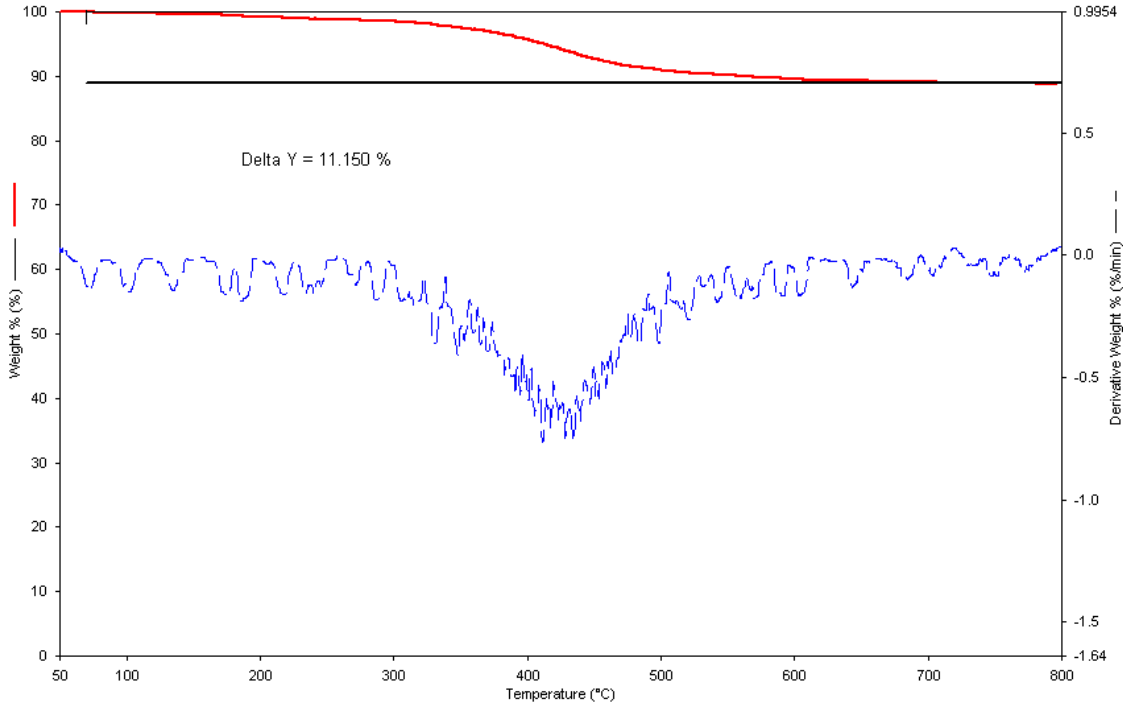
Şekil 4.61. T20-IE: % 5.49 IE uçucu yağı % 10.99 T20, % 82.52 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



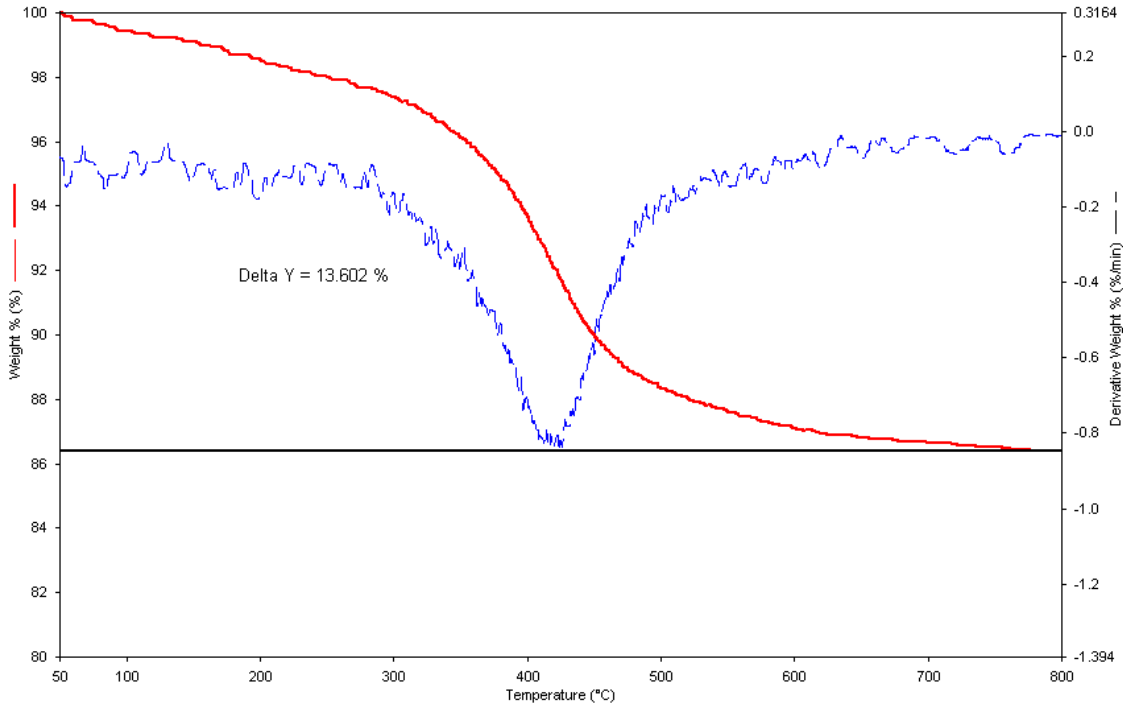
Şekil 4.62. T20-SE: % 6.78 SE uçucu yağ, %10.84 T20, % 82.38 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



Şekil 4.63. T20-ECam: % 2.83 ECam uçucu yağ, % 11.32 T20, %85.85 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



Şekil 4.64. T20-CC: % 1.68 CC uçucu yağı, % 11.45 T20, % 86.87 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği



Şekil 4.65. T20-SCit: % 3.99 SCit uçucu yağı, % 11.16 T20, %84.85 SiO₂ uygulamasına ait TGA grafiği

Çizelge 4.23. Sol-jel enkapsüle ürünlerdeki uçucu yağ/etken madde miktarlarına ait teorik ve deneysel % oranlar

Uygulama adı	Teorik Değerler		TGA analizi		% Enkapsülasyon Verimi
	Uçucu yağ/ etken madde (%)	Tween 20 (%)	Uçucu yağ veya etken madde (%)	Tween 20 (%)	
T20-L40	-	11.65	-	11.67	-
T20-OM	4.63	11.11	4.17	10.86	90.06
T20-ECar	6.78	10.84	6.69	9.34	98.67
T20-ECam	2.83	11.32	2.00	9.70	70.67
T20-CC	1.68	11.45	-	11.15	-
T20-IC	3.14	11.29	3.54	11.88	-
T20-SC	2.37	11.35	3.53	9.81	-
T20-IE	5.49	10.99	4.19	8.74	76.32
T20-SE	6.78	10.84	6.17	10.38	91.00
T20-SCit	3.99	11.16	-	13.60	-

Şekil 4.56’da verilen T20-L40 kontrol uygulamasında ağırlık kaybının yaklaşık 400°C’de gerçekleştiği ve % 11.67 olduğu görülmektedir. Bu kayıp sol-jel enkapsülasyon işleminde kullanılan sürfektanın yapıdan uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. Uçucu yağ/etken maddelerin enkapsüle edildiği diğer uygulamalarda ise 200°C’nin altında sürfektandan önce ağırlık kayıpları meydana gelmiştir. Uçucu yağ/etken maddelerin uçuculuğu yüksek olduğundan bu kayıplar uçucu yağ/etken maddelerden ileri gelmektedir.

Çizelge 4.23’te özetlenen TGA sonuçlarına göre, T20-CC enkapsülasyon ürününe uçucu yağ a ait ağırlık kaybının gözlenememesinin nedeninin, CC uçucu yağ miktarının oldukça az olmasından kaynaklanmakta olduğu düşünülmektedir. T20-SCit enkapsülasyon ürününe etken maddeye ait ağırlık kaybının sürfektanla birlikte olduğu, deneysel T20 yüzdesinden (%13.60) anlaşılmaktadır. T20-IC ve T20-SC uygulamalarında TGA analizi sonucu saptanan uçucu yağ değerleri teorik değerlerin üzerinde bulunmuştur. Bu durum enkapsülasyon ürünlerinin içerdiği nemden kaynaklanabilir. Enkapsülasyon verimleri en düşük T20-ECam uygulamasında % 70.67, en yüksek T20-ECar uygulamasında % 98.67 olarak bulunmuştur. ECar uçucu yağında görülen yüksek enkapsülasyon veriminin sebebi enkapsüle ürünlerdeki ECar uçucu yağ oranının diğerlerine göre daha yüksek olması (% 6.78) ve sahip olduğu öjenol etken maddesinin diğer etken maddelere göre daha kararlı olması olabilir. Öjenol, etken maddeler içerisindeki en yüksek molekül ağırlığına ve polariteye sahip olan bileşiktir. Bu durumdan ötürü öjenolün uçuculuğunun diğer etken maddelerden daha düşük olduğu söylenebilir.

4.4.6. Enkapsüle edilen uçucu yağ veya etken maddelerin GC ve GC-MS analizleri ile saptanması ve enkapsülasyon verimlerinin hesaplanması

Enkapsüle edilen uçucu yağ/etken maddeler bölüm 3.2.8’de belirtildiği gibi önce ekstrakte edildi daha sonra GC ve GC-MS sisteminde içerik analizi gerçekleştirildi. Enkapsüle edilen uçucu yağların/etken maddelerin GC ve GC-MS analizi sonucu elde edilen bileşimleri Çizelge 4.24-4.35’de özetlenmiştir.

Çizelge 4.24. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen OM, IC ve SC’un bileşimi

			T20-OM	T20-IC	T20-SC
Pik	RRI	Bileşik*	%	%	%
1	1169	Borneol	4.01	-	-
2	1180	Terpinen-4-ol	1.17	-	-
3	1254	Timokinon	1.72	-	-
4	1307	Karvakrol	87.45	99.35	99.90
5	1425	β -Karyofillen	1.43	-	-
6	1591	Karyofillen oksit	1.30	-	-

* %1.0’den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.25. Sol-jel yöntemle enkapsüle edilen ECar, IE ve SE’un bileşimi

			T20-ECar	T20-IE	T20-SE
Pik	RRI	Bileşik*	%	%	%
1	1365	Öjenol	88.73	99.92	99.95
2	1425	β -Karyofillen	3.21	-	-
3	1533	Öjenol asetat	7.00	-	-

* %1.00’den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.26. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen ECam ve ICin’ün bileşimi

T20-ECam				T20-ICin			
PİK	RRI	Bileşik*	%	PİK	RRI	Bileşik*	%
1	1030	Limonen	1.38	1	1033	1,8-Sineol	77.45
2	1180	Terpinen-4-ol	3.09	2	1193	α -terpineol	6.05
3	1193	α -Terpineol	7.75	3	1445	Aromadendren	4.79
4	1353	α -Terpinil asetat	5.96	4	1501	Viridifloren	4.79
5	1415	α -Gurjunen	1.12	5	1593	Viridiflorol	2.91
6	1445	Aromadendren	14.00				
7	1501	Viridifloren	3.12				
8	1567	Epiglobulol	3.04				
9	1586	Spatulenol	13.31				
10	1593	Viridiflorol	26.97				
11	1610	α -Guaïen	2.36				
12	1630	Kriptomeridial	2.68				
13	1724	Farnesil asetat	4.18				
14	1744	İzobisiklogermakrenal	4.06				

* %1’den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.27. Sol-jel yöntemiyle enkapsüle edilen CC ve SCit'in bileşimi

T20-CC				T20-SCit			
Pik	RRI	Bileşik*	%	Pik	RRI	Bileşik*	%
1	1247	Neral	30.90	1	987	6-metil-5-hepten-2-on	5.32
2	1257	Geraniol	7.08	2	1098	Rosefuran	3.73
3	1278	Geranial	50.58	3	1146	Ekzoizositral	3.94
4	1385	Geranil asetat	8.26	4	1166	Isoverbanol	2.35
				5	1177	Rosefuran epoksit	3.19
				6	1184	Cis-krisantenol	3.68
				7	1230	Sitronellol	12.00
				8	1236	2,3-epoksigeranial	5.08
				9	1247	Neral	21.45
				10	1257	Geraniol	11.52
				11	1278	Geranial	30.92
				12	1361	Geranik asit	8.00
				13	1591	Karyofillen oksit	7.00

* %1.0'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.28. Dondurarak kurutma yöntemiyle (AG uygulaması) enkapsüle edilen OM, IC ve SC'nin bileşimi

AG-OM				AG-IC			AG-SC		
Pik	RRI	Bileşik	%	RRI	Bileşik	%	RRI	Bileşik	%
1	1027	Simen	3.64	1307	Karvakrol	98.65	1030	Limonen	0.50
2	1030	Limonen	0.46				1307	Karvakrol	98.53
3	1033	1,8-Sineol	0.93						
4	1068	Sis-sabinen hidrat	0.82						
5	1100	Linalol	0.72						
6	1169	Borneol	3.88						
7	1180	Terpinen-4-ol	1.33						
8	1193	α -Terpineol	0.61						
9	1307	Karvakrol	77.60						
10	1425	β -Karyofillen	0.65						
11	1586	Spatulenol	0.94						
12	1591	Karyofillen oksit	1.39						

* %0.4'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.29. Dondurarak kurutma yöntemiyle (AG uygulaması) enkapsüle edilen ECar, IE ve SE'nin bileşimi

AG-ECar				AG-IE			AG-SE		
Pik	RRI	Bileşik	%	RRI	Bileşik	%	RRI	Bileşik	%
1	1371	Öjenol	88.25	1371	Öjenol	99.64	1371	Öjenol	99.88
2	1425	β -Karyofillen	1.98						
3	1460	α -Humulen	0.25						
4	1533	Öjenol asetat	7.95						
5	1591	Karyofillen oksit	0.41						

* %0.4'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.30. Dondurarak kurutma yöntemiyle (AG uygulaması) enkapsüle edilen ECam ve ICin'in bileşimi

AG-ECam				AG-ICin		
PİK	RRI	Bileşik*	%	RRI	Bileşik*	%
1	935	α -Pinen	7.15	935	α -Pinen	0.66
2	992	β -Mirsen	0.56	1016	İzosineol	0.69
3	1006	Fellandren	1.77	1027	Simen	0.67
4	1027	Simen	9.74	1033	1,8-Sineol	87.63
5	1030	Limonen	7.73	1090	α -Terpinolen	0.56
6	1033	1,8-Sineol	14.50	1136	Terpinen-1-ol	0.56
7	1039	Cis-Ocimen	1.39	1193	α -Terpineol	1.76
8	1060	γ -Terpinene	3.49	1593	Viridifol	0.92
9	1090	α -Terpinolen	0.63			
10	1193	α -Terpineol	5.98			
11	1353	α -Terpinil asetat	4.52			
12	1445	Aromadendren	3.08			
13	1467	9-epi-karyofillen	1.51			
14	1501	Viridifloren	1.39			
15	1567	Epiglobulol	1.26			
17	1575	δ -Selenin	0.75			
18	1586	Spatulenol	5.53			
19	1593	Viridiflorol	12.06			
20	1610	Rosifoliol	1.07			
21	1624	İzo-Leptospermon	1.02			
22	1661	Paçulen (Patchoulene)	0.62			
23	1725	Farnesol	3.16			
24	1744	İzobisiklogermakrenal	1.81			

* %0.4'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.31. Dondurarak kurutma yöntemiyle (AG uygulaması) enkapsüle edilen CC ve SCit'in bileşimi

AG-CC				AG-SCit		
PİK	RRI	Bileşik*	%	RRI	Bileşik*	%
1	992	β -mirsen	3.03	1146	Ekzo-izosital	1.08
2	1033	1,8-Sineol	0.43	1184	İzosital	1.07
3	1100	Linalol	0.57	1230	Sitronellol	0.74
4	1166	Trans-verbenol	0.74	1247	Neral	30.65
5	1184	İzosital	1.33	1258	Geraniol	0.75
6	1231	β -Sitronellol	0.64	1278	Geranial	57.93
7	1236	2,3-epoksi geranial	0.53	1360	α -Damaskon (α -Damascone)	1.24
8	1247	Neral	32.44	1425	β -Karyofillen	0.62
9	1258	Geraniol	3.55	1590	Karyofillen oksit	0.62
10	1278	Geranial	49.87			
11	1361	Geranik asit	1.16			
12	1377	8-hidroksi-neo-mentol	0.47			
13	1385	Geranil asetat	0.69			
14	1591	Karyofillen oksit	0.42			

* %0.4'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention)

Çizelge 4.32. Dondurarak kurutma yöntemiyle (K uygulaması) enkapsüle edilen OM, IC ve SC'nin bileşimi

K-OM				K-IC			K-SC		
PİK	RRI	Bileşik*	%	RRI	Bileşik*	%	RRI	Bileşik*	%
1	927	α -Tujen	0.28	1307	Karvakrol	98.77	1307	Karvakrol	98.73
2	935	α -Pinen	0.46						
3	949	Kamfen	0.52						
4	1018	α -Terpinen	0.42						
5	1027	Simen	5.85						
6	1030	Limonen	0.41						
7	1033	1,8-Sineol	0.94						
8	1068	Cis-sabinen hidrat	0.85						
9	1169	Borneol	3.55						
10	1180	Terpinen-4-ol	1.32						
11	1193	α -Terpineol	0.55						
12	1307	Karvakrol	81.11						
13	1327	α -Tujaplisin (α -Thujaplicin)	1.00						
14	1425	β -Karyofillen	2.95						
15	1586	Spatulenol	0.48						
16	1591	Karyofillen oksit	0.76						

* %0.4'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.33. Dondurarak kurutma yöntemiyle (K uygulaması) enkapsüle edilen ECar, IE ve SE'nin bileşimi

K-ECar				K-IE			K-SE		
Pik	RRI	Bileşik*	%	RRI	Bileşik*	%	RRI	Bileşik*	%
2	1371	Öjenol	88.25	1371	Öjenol	98.64	1371	Öjenol	98.05
3	1425	β -Karyofillen	1.98						
4	1460	α -Humulen	0.25						
5	1533	Öjenol asetat	7.95						
6	1591	Karyofillen oksit	0.41						

* %0.4'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkönme Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.34. Dondurarak kurutma yöntemiyle (K uygulaması) enkapsüle edilen ECam ve ICin'in bileşimi

K-ECam				K-ICin		
Pik	RRI	Bileşik*	%	RRI	Bileşik*	%
1	935	α -Pinen	5.11	935	α -Pinen	1.03
2	992	β -mirsen	0.54	1016	1,4-Sineol	0.52
3	1006	Fellandren	1.81	1027	Simen	1.08
4	1027	Simen	13.67	1033	1,8-Sineol	86.71
5	1030	Limonen	7.55	1060	γ -Terpinen	0.49
6	1033	1,8-Sineol	22.50	1090	α -Terpinolen	0.67
7	1039	Cis-osimen	1.65	1136	Terpinen-1-ol	0.678
8	1060	γ -terpinen	4.00	1193	α -Terpineol	2.25
9	1090	α -Terpinolen	0.75	1199	İzoterpinolen	0.51
10	1180	Terpinen-4-ol	5.34	1353	α -Terpinil asetat	0.41
11	1193	α -Terpineol	5.84	1572	Kubeben-11-ol	0.44
12	1353	Terpinen-4-ol asetat	4.90	1584	İzovalensenol	0.46
13	1445	Aromadendren	0.74	1593	Viridiflorol	1.27
14	1501	Viridifloren	0.45			
15	1586	Spatulenol	5.33			
17	1593	Viridiflorol	11.96			
18	1610	Rosifoliol	0.97			
19	1617	Murola-4,10-dien-1- β -ol	0.46			
20	1624	İzo-leptospermon	0.79			
21	1661	Tau-murolol	0.61			
22	1726	Trans- β -farnesen	2.39			
23	1744	İzobisiklogermakrenal	1.64			

* %0.4'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkönme Zamanı (Relative Retention Index)

Çizelge 4.35. Dondurarak kurutma yöntemiyle (K uygulaması) enkapsüle edilen CC ve SCit'in bileşimi

PİK	K-CC			K-SCit		
	RRI	Bileşik*	%	RRI	Bileşik*	%
1	992	β -mirsen	5.58	1166	Verbenol	0.95
2	1100	Linalol	0.53	1184	İzositral	1.56
3	1166	Cis-Verbenol	1.16	1231	β -Sitronellol	0.55
4	1184	Cis-Krisantenol	1.81	1247	Neral	33.95
5	1231	β -Sitronellol	0.53	1258	Geraniol	0.51
6	1247	Neral	33.35	1278	Geranial	61.48
7	1258	Geraniol	3.36			
8	1278	Geranial	49.94			
9	1385	Neril asetat	0.56			

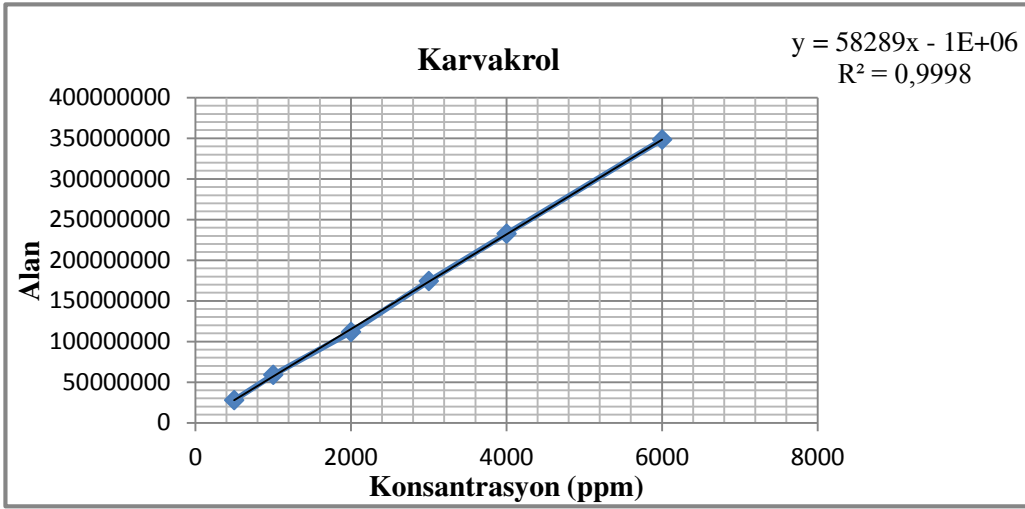
* %0.4'den büyük bileşikler - RRI: Nisbi Alıkonma Zamanı (Relative Retention Index)

Enkapsüle örneklerin hekzan ile ekstrakte edilmesinden sonra GC ve GC-MS sisteminde yapılan içerik analizleri sonucunda enkapsülasyon öncesindeki uçucu yağ kompozisyonlarından (Çizelge 4.2-4.3-4.4-4.5) farklılık gösterdiği görülmektedir. Bunun sebebi daha uçucu bileşenlerin enkapsülasyon prosesleri sırasındaki kaybı ve sol-jel uygulamasında bileşenlerin asidik ortamda girebileceği reaksiyonlar sonucu oluşan yeni türevlerin varlığı olabilir. Ayrıca enkapsülasyon sonrası saptanan yeni bileşiklerin aktif Si-OH bağlarının uçucu yağ bileşenleriyle raksiyona girerek oluştuğu da düşünülmektedir. Bu duruma aktif epoksi halkasına sahip olan 1,8-sineol örnek olarak verilebilir. 1,8-Sineol miktarındaki azalmalar ve yeni bileşiklerin oluşumu, epoksi halkasının bozunması sonucu meydana gelmiş olabilir. Aynı şekilde SCit uygulamalarında saptanan yeni bileşiklerinde aktif Si-OH bağlarının etkisi sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Daha uçucu bileşenlerin prosesler sırasındaki kaybı durumuna örnek olarak ECam ve OM uygulamaları verilebilir uçucu yağ içeriğinde %59.09 oranında bulunan 1,8-sineol, sol-jel uygulamasında tespit edilemeyen düzeyde, dondurarak kurutma uygulamasında ise % 14.50 (AG uygulaması) ve % 22.50 (K uygulaması) civarında olduğu tespit edilmiştir. OM uygulamasında da uçucu yağ içeriğinde mevcut olan uçucu bileşenlerin kaybı ile enkapsülasyon öncesi OM uçucu yağında % 74.51 olan karvakrol oranı, % 88.73 (T20 uygulaması) ve % 88.25 (AG ve K uygulaması) değerlerine yükselmiştir. Karvakrolün kaynama noktası ve molekül ağırlığı diğer bileşenlerden daha yüksek olduğu için enkapsüle ürünlerde kaybı daha az, bağıl yüzdesi daha yüksek olmaktadır.

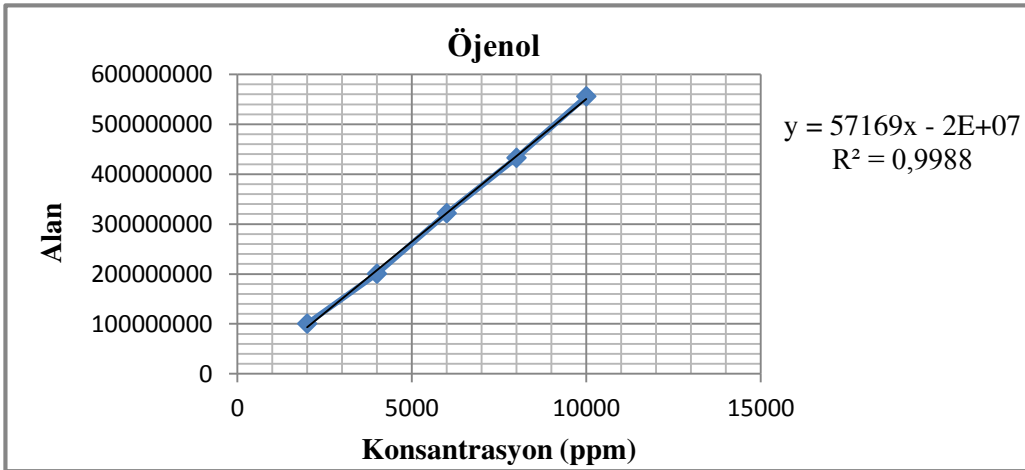
ECar'da etken madde olan öjenol oranı enkapsülasyon öncesi ve sonrası önemli bir değişim göstermemiştir. Aynı şekilde CC'de etken madde (Neral, gerenial, gereniol) oranlarında enkapsülasyon uygulamaları sonucunda önemli bir değişim görülmemiştir.

Enkapsülasyon verimi hesaplanması

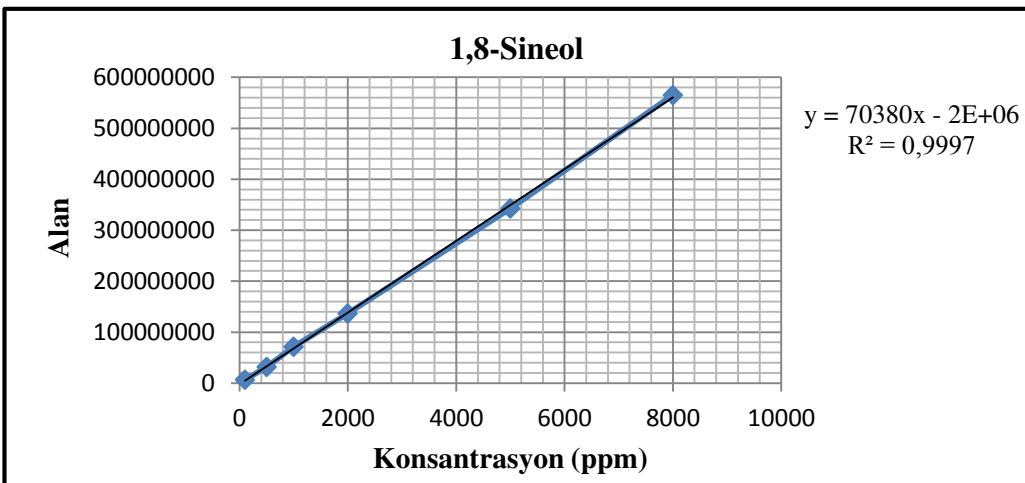
Bölüm 3.2.7.1'de anlatıldığı gibi enkapsüle ürünlerin ekstraksiyonu gerçekleştirilerek enkapsüle edilmiş olan uçucu yağ veya etken maddeler hekzan fazına alınmıştır. Daha sonra bu ekstraktlar direk olarak GC ve GC-MS sistemine enjekte edilerek ve etken maddelerine ait kalibrasyon eğrilerinden yararlanarak kantitatif tayinleri yapılmıştır.



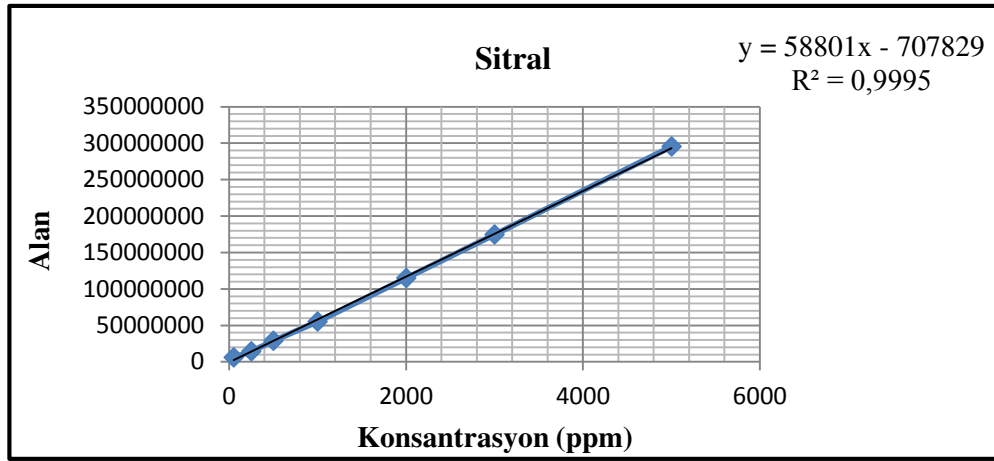
Şekil 4.66.Karvakrole ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.67. Öjenole ait kalibrasyon eğrisi



Şekil4.68. 1,8-Sineole ait kalibrasyon eğrisi



Şekil 4.69. Sitrile ait kalibrasyon eğrisi

Çizelge 4.35'te ekstraktlardaki etken maddelere ait pikin alan değerleri ve bu alan değerlerine karşılık gelen konsantrasyonlar Şekil 4.66-4.69'deki kalibrasyon eğrileri yardımıyla belirlenmiştir.

Çizelge 4.36. Enkapsüle ürünlerin (T20-AG-K) hekzan ekstraktlarındaki etken maddelere ait piklerin alan değerleri ve kalibrasyon eğrileri yardımıyla belirlenen etken madde konsantrasyonları.

Uygulama Adı	Alan	Konsantrasyon (ppm)	Uygulama Adı	Alan	Konsantrasyon (ppm)
T20-OM	146443774	2529.53	K-OM	213003983	3671.43
T20-IC	125555328	2171.17	K-IC	275879745	4750.12
T20-SC	87311915	1515.07	K-SC	278764467	4799.61
T20-ECar	242053549	4583.84	K-ECar	221844307	4230.34
T20-IE	197478880	3804.14	K-IE	256740837	4840.75
T20-SE	228447899	4345.85	K-SE	254435783	4800.43
T20-ECam	t.e.*	t.e.*	K-ECam	61561586	903.12
T20-CC	3778099	76.29	K-ICin	112059236	1620.62
T20-SCit	23024843	403.61	K-CC	472083964	8040.54
AG-OM	1735279507	29787.43	K-SCit	510315198	8690.72
AG-IC	281219017	4841.72			
AG-SC	121456446	2100.85			
AG-ECar	329193397	6108.09			
AG-IE	392305686	7212.05			
AG-SE	329168815	6107.66			
AG-ECam	34946685	524.96			
AG-ICin	128569680	1855.21			
AG-CC	436807480	7440.61			
AG-SCit	450111794	7666.87			

* Tespit edilemedi

Uçucu yağların veya etken maddelerin enkapsüle ürünlerdeki deneysel ve teorik olarak saptanan etken madde miktarlarından yararlanarak enkapsülasyon (Enk.) verimi Bölüm 3.2.9’da belirtildiği gibi hesaplanmış ve Çizelge 4.36’da belirtilmiştir.

Çizelge 4.37. Sol-jel (T20) ve dondurarak kurutma yöntemleriyle (AG-K) enkapsüle edilen uçucu yağ veya etken maddelere ait enkapsülasyon verimleri

Enk. uygulaması (Sol-jel)	Enk. verimi (%)	Enk. uygulaması (Dondurarak kurutma)	Enk. verimi (%)	Enk. uygulaması (Dondurarak kurutma)	Enk. verimi (%)
T20-OM	73.54	AG-OM	40.05	K-OM	98.66
T20-IC	69.33	AG-IC	48.59	K-IC	95.43
T20-SC	64.68	AG-SC	21.00	K-SC	96.19
T20-ECar	77.76	AG-ECar	70.31	K-ECar	97.14
T20-IE	69.22	AG-IE	72.17	K-IE	96.89
T20-SE	64.29	AG-SE	61.28	K-SE	96.21
T20-ECam	t.e.*	AG-ECam	9.40	K-ECam	16.27
T20-CC	5.22	AG-ICin	38.17	K-ICin	33.33
T20-SCit	10.58	AG-CC	85.72	K-CC	92.61
		AG-SCit	80.91	K-SCit	91.69

* Tespit edilemedi

Çizelge 4.36’da belirtilen enk. verimlerine bakıldığında en yüksek oranlar % 16.27 ile % 98.66 arasında değişim gösterdiği ve bu oranların dondurarak kurutma (K) uygulamalarına ait olduğu görülmektedir. Uçuculuğu yüksek olan ECar ve CC uçucu yağları ve etken maddeleri (1,8-sineol, neral, geranial) için enk. verimi değerleri diğerlerine göre daha düşüktür. T20-ECam uygulamasında enk. verimi sonuçları GC-MS analizinde tespit edilemediğinden belirlenememiştir.

Sonuçlara bakıldığında enkapsülasyon veriminin dondurarak kurutma yönteminde sol-jel yöntemine göre daha başarılı olduğu gözükmemektedir. Ancak, sol-jel enkapsülasyon ürünlerinde enkapsüle edilen uçucu yağ veya etken maddelerin saptanması için yapılan GC ve GC-MS analizleri öncesinde mekanik olarak parçalanarak bileşenlerin hekzan fazına alınması aşaması tam olarak gerçekleşmemiş olabileceğinden dolayı sol-jel enkapsüle ürünlerde TGA analizi sonucu saptanan enkapsülasyon verimi sonuçlarının dondurarak kurutma prosesleriyle karşılaştırma yaparken göz önünde bulundurulması gerektiği düşünülmektedir. TGA analizi sonucunda enkapsülasyon verimi sol-jel ürünler için 70.67-98.67’dir. Bu değerler yukarıda bahsedilen diğer yöntem ile belirlenen değerlere göre daha iyidir. Dondurarak kurutma ile elde edilen enkapsüle ürünlerde uçucu yağ veya etken madde kayıplarının dondurarak kurutma (liyofilizasyon) basamağında uygulanan vakum ve öğütme sırasında meydana geldiği düşünülmektedir.

Kaushik ve Roos (2006) yaptıkları çalışmada dondurarak kurutma yöntemiyle limoneni Arabik gam, jelatin, sukroz (1:1:1) karışımı ve Arabik gam ile enkapsüle etmişlerdir. Enkapsülasyon verimi en iyi Arabik gam uygulamasında (% 75.3) daha sonra karışım uygulamasında (% 50.9) belirlenmiştir. Bizim sonuçlarımızda en iyi sonuçlar karışım uygulamasına aittir bu durum enkapsüle edilen uçucu yağ veya etken

madde özelliklerinin ve dondurarak kurutma basamağındaki koşulların farklılığından ileri gelebilir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada, *Origanum minutiflorum* (OM), *Eugenia caryophyllata* (ECar), *Eucalyptus camaldulensis* (ECam) ve *Cymbopogon citratus* (CC) uçucu yağları elde edilmiş, bu uçucu yağlardan izole edilen etken maddeler ve standart etken maddeler sol-jel yöntemi ve dondurarak kurutma yöntemi kullanılarak enkapsüle edilmişlerdir. Saflaştırma sonucu elde edilen izole etken maddelerin yapısal analizleri yapılmış, elde edilen enkapsüle ürünlerin yapısı, termal davranışları ve enkapsülasyon verimleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıdaki gibidir:

- Enkapsüle edilmek üzere hidrodestilasyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların kalite özellikleri genel olarak TSE, farmakopeler ve spesifikasyonlardaki değer aralıkları ile uyum içinde olduğu bulunmuştur. OM yağına ait Türkiye ya da dış kaynaklı herhangi bir standart yoktur. ECar uçucu yağında ise sadece 1,8-sineol bağıl yüzdesi dışında tüm parametreler İngiliz Farmakopesi'nde (BP, 1988) belirtildiği gibidir. İngiliz Farmakopesi'nde en az % 70 olması gereken 1,8-sineol bağıl yüzdesi elde edilen ECar uçucu yağımızda % 59.09'dur. ECar uçucu yağı TSE standardı ile CC uçucu yağı ise FCC'de (Food Chemical Codex) yer alan spesifikasyonu ile uyum içinde olduğu belirlenmiştir.
- GC ve GC-MS teknikleri ile yapılan içerik analizleri sonucu OM uçucu yağında %74.51 karvakrol, ECar'da % 87.07 öjenol, ECar'da % 59.09 1,8-sineol ve CC'da % 35.90 neral ve % 50.58 geraniol etken maddeleri bulunmuştur.
- OM bitkisinin toprak üzeri kısımlarından % 3.933, ECar tomurcuklarından % 10.417, ECar genç dallarından % 2.217 ve CC bitkisinin toprak üstü kısımlarından % 2.258 oranı ile uçucu yağ elde edilmiştir. Bitkilerin uçucu yağ oranları endüstriyel anlamda işlenmeye değer olup, Türkiye'de de bazıları işlenerek uçucu yağ elde edilip ihraç edilmekte ya da iç piyasada tüketilmektedir.
- Bu çalışmada daha önce ülkemize introduksiyon yoluyla getirilerek adapte edilen CC bitkisinin de uçucu yağı elde edilmiştir. Kalite parametrelerine bakıldığında standartlara uygun CC uçucu yağ elde edilebildiği görülmüştür. Bu da adaptasyonun başarılı olduğunu göstermektedir.
- Uçucu yağlardan etken maddelerin saflaştırılmasında izolasyon verimi ECar uçucu yağından öjenol eldesinde % 94.71, OM uçucu yağından karvakrol eldesinde % 87.7 ve ECar uçucu yağından 1,8-sineol eldesinde % 52.27 değerindedir. En iyi izolasyon veriminin öjenol izolasyonunda daha sonra sırasıyla karvakrol ve 1,8-sineol izolasyonunda olduğu görülmektedir. İzolasyon veriminin etken maddenin uçucu yağ içerisindeki bağıl yüzdesi ile artış gösterdiği gözlenmiştir.
- Uçucu yağların etken maddelerinin saflaştırma basamağından sonra yapılan GC ve GC-MS analizleri sonucuna göre karvakrol % 99.37 bağıl yüzde ile standart karvakrole (% 99.70) çok yakın bir saflık derecesinde elde edilirken, öjenol % 99.86 bağıl yüzde ile standart öjenolden (% 99.76) daha iyi bir saflık derecesinde elde edilmiştir. 1,8-sineol ise % 97.78 bağıl yüzde ile standart 1,8-sineole (% 99.76) oldukça yakın bir saflık derecesinde elde edilmiştir.

- İzole edilen karvakrol, öjenol ve 1,8-sineolün yapı tayinlerinde GC ve GC-MS sonuçlarını desteklemek üzere FTIR ve ¹H-NMR analizleri de gerçekleştirilmiştir. Karvakrol, öjenol ve 1,8-sineolün FTIR, ¹H-NMR ve kütle spektrumları bulgular kısmında açıklandığı gibi standart etken maddelerin spektrumları ile uyum içindedir. Sonuçlar saflaştırma basamağının başarı ile gerçekleştirildiğini göstermektedir. İzolasyon için kullanılan yöntemlerin kolay ve ucuz oluşu endüstriyel boyutta uygulanabilirliği açısından ümit vericidir. Fenolik maddelerin (karvakrol ve öjenol) izolasyon veriminin epoksi grubu taşıyan (1,8-sineol) etken maddelere göre daha iyi olduğu görülmektedir.
- Sıvı halde bulunan uçucu yağlar ve etken maddeler SiO₂ ile sol-jel enkapsülasyonu yapılarak katı toz parçacıklar haline getirildiğinde etken maddeler korunmakta, raf ömrü uzamakta, kullanımı daha kolay ve güvenilir olmaktadır. Ayrıca enkapsülasyonda kullanılan sol-jel prosesi, oda koşullarında gerçekleşmesi kolay, düşük maliyetli ve ekolojik yönden zararsız olması gibi avantajlara sahiptir. Sol-jel yöntemiyle elde edilen enkapsüle hibrit materyalin yapı özelliklerinin tayini için FTIR, ²⁹Si-NMR, BET, SEM ve TGA analizleri gerçekleştirilmiştir.
- Sol-jel enkapsüle (T20 uygulaması) ürünlerde FTIR analizleri sonucunda Si-O-Si, Si-O-C, Si-OH ve sürfektana ait bağlar belirlenmiştir. ECar gibi uçucu yağ yüzdesi yüksek olan örneklerde etken maddeye ait pikler de gözlemlenebilmiştir. ²⁹Si-NMR analizi sonucunda kimyasal kayma değerlerinin beklenenden daha negatif alanlara (-127.22 ve -127.64 ppm) kayması, yapıda sürfektanla silika arasında oluşan 5 koordineli hiperkoordine silika kompleks yapıların oluştuğunu göstermektedir. Bu durum silikon-poli alkol monosiklik ve spirosiklik yapıların oluşması durumunda ortaya çıkmaktadır (Sahai vd 2001). Spektrumun Q₄ bölgesindeki düşük şiddetli piklerin varlığı Si(OSi)₄ çevrelerinin de oluştuğunu göstermektedir.
- Sol-jel enkapsüle (T20 uygulaması) ürünlerde BET analizleri sonucu nano boyutta (7.85-21.50 nm) düzenli ve dar mezogözeneklerden meydana gelen küresel partiküllerin varlığı belirlenmiş ve SEM görüntüleriyle desteklenmiştir.
- Sol-jel enkapsüle ürünlerde (T20 uygulaması) TGA analizi sonucunda T20-L40 kontrol uygulamasında 400 °C'deki % 11.67'lik tek ağırlık kaybının yapıdaki sürfektana ait olduğu belirlenmiştir. Uçucu yağ içeren enkapsüle ürünlerde ise önce 200 °C'nin altında % 2.00-6.69 sonra 400 °C'de % 8.74-11.88 arasında ağırlık kayıpları gözlenmiştir. İlk ağırlık kaybı uçucu yağların ve etken maddelerin kaynama noktalarının 200 °C civarı ve altında olması dolayısıyla uçucu yağ ve etken maddelerin uzaklaşmasından kaynaklanmaktadır. Sonraki kayıp ise sürfektana aittir. Ağırlık kayıpları enkapsüle ürünlerin hazırlanması sırasındaki maddelerin (Uçucu yağ, etken madde, sürfektant) teorik değerlerine yakındır. Sol-jel enkapsüle ürünlerin TGA analizi sonuçlarına göre hesaplanan enkapsülasyon verimleri en düşük T20-ECam uygulamasında % 70.67, en yüksek T20-ECar uygulamasında % 98.67 olarak bulunmuştur.
- Uçucu yağlar ve etken maddeler sol-jel yöntemine alternatif olarak dondurarak kurutma (liyofilizasyon) yöntemi ile de enkapsüle edilmişlerdir. Bu yöntem AG (arabik gam) ve K (arabik gam:jelatin:sukroz/1:1:1) olmak üzere iki ayrı uygulama şeklinde

gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde kaplama materyali olarak doğal polimerlerin tercih edilmesi enkapsüle ürünlerin gıda ve sağlık alanında kullanılabilirliğini artırmaktadır. Elde edilen materyallerin yapı özelliklerinin tayini için FTIR, BET ve SEM analizleri gerçekleştirilmiştir.

- AG ve K uygulamalarına ait FTIR analizi sonucu arabik gam, jelatin ve sukroza ait karakteristik piklerin yanında uçucu yağlara ve/veya etken maddelere ait karakteristik pikler de gözlenmiştir. BET analizi sonucunda AG (dondurarak kurutma) uygulamasında ortalama gözenek çapı değerlerinin 12.73-30.29 nm aralığında K (dondurarak kurutma) uygulamasında ortalama gözenek çapı değerlerinin 2.99-55.66 nm aralığında olduğu ve heterojen dağılım gösteren katmanlı yarık gözenekli polimer yapıların düzensiz, tanımlanamayan şekle sahip oldukları görülmektedir. SEM görüntüleri BET analizinde belirtildiği gibi heterojen açık, yarık ve makro ve mezo gözenekli yapıların varlığını ortaya koymaktadır.
- Uçucu yağların veya etken maddelerin enkapsülasyon sonrası GC ve GC-MS analizleri sonucunda enkapsülasyon öncesindeki uçucu yağ kompozisyonlarından bazı farklılıklar gösterdiği görülmektedir. Bunun sebebi daha uçucu bileşenlerin enkapsülasyon prosesleri sırasındaki kaybı ve sol-jel uygulamasında bileşenlerin asidik ortamda girebileceği reaksiyonlar sonucu oluşan yeni türevlerin varlığı olabilir. Ayrıca enkapsülasyon sonrası saptanan yeni bileşiklerin aktif Si-OH bağlarının uçucu yağ bileşenleriyle raksiyona girerek oluştuğu da düşünülmektedir.
- GC, GC-MS yöntemi ile enkapsülasyon verimleri T20 (sol-jel) uygulamalarında % 5.22-77.76 arasında, AG (dondurarak kurutma) uygulamasında % 9.40-85.72 arasında, K uygulamasında (dondurarak kurutma) % 16.27-98.66 arasında değişim göstermektedir. Uygulamalar arasında enkapsülasyon verimi sıralaması K>AG>T20 şeklindedir. Ayrıca dondurarak kurutma yönteminde K uygulamasının AG uygulamasından daha iyi enkapsülasyon verimine sahip olmasının yanında 1:1:1 oranındaki arabik gam, jelatin ve sukrozdan oluşan karışım uygulamasının AG uygulamasına göre daha ekonomik oluşu da K uygulamasının uçucu yağların veya etken maddelerin enkapsülasyonunda tercih edilebileceğini göstermektedir.
- Kaynama noktası düşük, uçuculuğu yüksek olan ECar uçucu yağının enkapsülasyon verimi T20 (sol-jel) uygulamasında tespit edilemezken, AG ve K uygulamalarında sırasıyla % 9.40 ve % 16.27'dir. Bu durumda uçuculuğu yüksek olan uçucu yağların enkapsülasyon prosesleri sırasında kayba uğradığı ya da enkapsüle olduktan sonra salımlarının daha hızlı olduğu sonucu çıkarılabilir.

Sonuç olarak OM, Güney Batı Anadolu'da endemik bir tür olması ve tarımının yapılması sebebiyle katma değeri yüksek ürünler haline getirilerek değerlendirilme potansiyeli yüksek olan bir bitkidir. OM bitkisinin uçucu yağı elde edilerek, etken madde izolasyonu yapılabilir, uçucu yağı, izole etken maddeleri ya da bazı fraksiyonları enkapsüle edilerek birçok amaca yönelik farmasötik formülasyonlar haline getirilebilir. ECar bitkisi Türkiye'nin doğal florasında olmayıp dışarıdan ithal yoluyla temin edilmesine rağmen uçucu yağ veriminin yüksek olması ve ECar bitkisinin kıyı şeridimizde azımsanmayacak kadar bol bulunması nedeniyle uçucu yağları elde edilip işlenerek değerlendirilebilir. CC bitki türünün ülkemizde adaptasyonunun

gerçekleştirilmiş olması ve standartlara uygun uçucu yağ elde edilebilmesinden ötürü CC bitkisinin tarımının yaygınlaştırılması ve işlenerek bitmiş ürün haline getirilmesi ülke tarımına ve ekonomisine büyük katkılar sağlayabilir.

Enkapsülasyon için sol-jel yöntemi ve dondurarak kurutma yöntemlerini karşılaştırsak, sol-jel yönteminde homojen, daha düzenli küresel kapalı mezogözenekli yapılar elde edilirken, dondurarak kurutma yönteminde heterojen, yarık makro ve mezo gözenekli yapılar elde edilmiştir. Bu da sol-jel yöntemine göre etken madde salımının daha hızlı olabilirliği dezavantajını ortaya koymaktadır. Böylece materyalin raf ömrü kısalarak etkinliğinin azalması söz konusu olabilir. Sol-jel yöntemi oda koşullarında uygulanması kolay ve ekonomik bir yöntem iken dondurarak kurutma yöntemi enerji tüketimi açısından çok daha maliyetli bir uygulamadır. Dondurarak kurutma yönteminde elde edilen enkapsüle ürünler suda çözünürken sol-jel enkapsüle ürünler çözünmez bu durum her iki materyale kullanım alanlarına göre avantaj ve dezavantajlar sağlayabilir. Her iki yöntemde de kaplama materyali olarak kullanılan silika, arabik gam, jelatin ve sukroz çevre dostu doğal ürünler olduğundan toksik etki göstermemektedir.

Elde edilen enkapsüle ürünlerin, kontrollü salım mekanizmaları ve biyolojik aktiviteleri gibi daha ileri çalışmalar yapılabilir. Farklı farmakolojik etkiye sahip olan uçucu yağlar, ekstraktlar ve etken maddelerin enkapsülasyon olanakları çalışılabilir. Uçucu yağların veya etken maddelerin sol-jel ve dondurarak kurutma ile enkapsülasyon proseslerinin optimizasyon ve standardizasyon çalışmaları yapılarak yeni farmasötik formülasyonlar geliştirilebilir. Bu formülasyonlar tıp ve sağlık alanlarında, insektisit ve herbisit olarak tarımda, gıda koruyucu, gıda katkı maddesi ya da gıda takviyesi olarak gıda sektöründe, ev temizlik ürünleri, deterjanlar ve yumuşatıcılarda koku verici olarak kullanılabilirler. Özellikle nanopartiküllerin etken maddeyi kontrollü salımı ve dokulara nüfus etme özelliği taşıması yönünden sol-jel enkapsülasyon ile elde edilen nanomateryallerin ileride tıbbi amaçlı kullanımı yaygınlaşabilir. Bu kapsamda yapılan çalışma ile ilk kez, seçilen türlere ait uçucu yağların ve bunlardan izole edilen etken maddelerin sol-jel ve dondurarak kurutma yöntemleriyle enkapsülasyonu gerçekleştirilerek literatüre ve birçok sektöre katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- ARANA-SÁNCHEZ, A., ESTARRON-ESPÍNOSA, M., OBLEDO-VÁZQUEZ, E.N., PADILLA-CAMBEROS, E., SÍLVA-VÁZQUEZ, R., LUGO-CERVANTES, E., 2010. *Lett. Appl. Microbiol.*, 50:585–590.
- ABREU, F.O.M.S., OLIVEIRA, E.F., PAULA, H.C.B., DE PAULA, R.C.M. 2012. Chitosan/cashew gum nanogels for essential oil encapsulation. *Carbohydr. Poly.*, 89: 1277–1282.
- ADALI, F. 1944. Sağlık Ağacı Okaliptüs, Ziraat Vekaleti Neşriyat Genel Müdürlüğü, Pratik Kitaplar Sayı:3, İstanbul.
- AIDI WANNES, W., MHAMDI, B., MARZOUK, B., 2007. Essential oil composition of two *myrtus communis* L. varieties grown in North Tunisia, Ital. *J. Biochem.*, 56 (2): 180-186.
- ALMEIDA, A.P., RODRÍGUEZ-ROJO, S., SERRA, A.T., VILA-REAL, H., SIMPLICIO, A.L., DELGADILHO, I., BEIRÃO DA COSTA, S., BEIRÃO DA COSTA, L., NOGUEIRA, I.D., DUARTE, C.M.M., 2013. Microencapsulation of oregano essential oil in starch-based materials using supercritical fluid technology. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 20: 140–145.
- ALTAN, Y., UĞURLU, E., SEVİNÇ, Ö.S., 1999. Akçakertik Florası Manisa (Demirci) 1. International Symposium on Protection of Natural Environment and Ehlami Karaçam 23-25 September, Kütahya.
- ANONİM, 1979. Eucalypts for planting, FAO Forestry Series, No.11, Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome.
- ANONİM, 1992. Türk Standartları Enstitüsü, TS 10362, Karanfil Tomurcuk Yağı. Ankara.
- ANONİM, 2009. Türk Standartları Enstitüsü, TS ISO 280, Eteri Yağlar - Kırılma İndisi Tayini (Essential Oils - Determination of Refractive Index). Ankara.
- ANONİM, 2012. Türk Standartları Enstitüsü, TS ISO 592, Eteri Yağlar-Optik Çevirme Açısı Tayini-Polarimetrik Metot (Essential Oils - Determination of Optical Rotation), Ankara.
- ANONİM, 2012. Türk Standartları Enstitüsü, TS ISO 875, Eteri Yağların Etil Alkoldeki Çözünürlüklerinin Tayini (Essential Oils - Evaluation of Miscibility in Ethanol), Ankara.
- ARSLAN, N., GÜRBÜZ, B., SARIHAN, E.O. 2004. Variation in essential oil content and composition in Turkish anise (*Pimpinella anisum* L.) populations. *Turk. J. Agric. For.*, 28:173-177.

- AUGUSTIN, M.A., SANGUANSRI, L., MARGETTS, C. & YOUNG, B. 2001. Microencapsulation of food ingredients. *Food Australia*, 53: 220–223.
- AZİRAK, S. 2007. Thymol ve Carvacvarol'un in vivo genotoksik etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- BALACS, T. 1997. Sineole-Rich Eucalyptus, *International Journal of Aromatherapy*, 8 (2): 15-21.
- BANERJEE, S., CHATTOPADHYAY, P., GHOSH, A., GOYARY, D., KARMAKAR, S., VEER, V., 2013. Influence of process variables on essential oil microcapsule properties by carbohydrate polymer-protein blends. *Carbohydr. Polym.*, 93: 691–697.
- BARANAUSKIENÉ, R., VENSKUTONIS, P. R., DEWETTINCK, K., VERHÉ, R. 2006. Properties Oforegano (*Origanum vulgare* L.), Citronella (*Cymbopogon nardus* G.) And Marjoram (*Majorana hortensis* L.) Flavors Encapsulated Into Milk Protein-Based Matrices. *Food Research International*, 39: 413–425.
- BARCELOUX, D.G. 2008. Medical Toxicology of Natural Substances. Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants and Venomous Animals; Wiley: Hoboken, NJ, USA.
- BAŞER, K.H.C. 1990. Tıbbi Bitki Ve Baharatların Dünyada Ve Türkiye'deki Ticareti Ve Talep Durumu, *Tarım Orman Ve Köy İşleri Bakanlığı Dergisi*, 53: 18-22.
- BAŞER, K.H.C. 2001. Her derde deva bir bitki kekik. *Bilim ve Teknik*, Mayıs: 74-77.
- BAŞER, H. C. 2001. Phytochemical diversity in the flora of Turkey. Plants of the Balkan Peninsula: into the Next Millenium, Proceeding of the 2nd Balkan Botanical Congress 14–18 May, Vol. I (Ed. N. Özhatay), pp 517–528, İstanbul.
- BAŞER, K. H. C. 2009. *Uçucu Yağlar ve Aromaterapi*, *Fitomed Dergisi*, 7: 8-16.
- BAYDAR H, SAGDIC 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.
- BAYRAK, A. 2006. Gıda Aromaları. *Gıda Teknolojisi Dernegi*, 268-273, Ankara
- BAYTOP, T. 1999. Therapy with medicinal plants in Turkey (Past and Present). No:3255, 2nd edition, Istanbul Publications of the Istanbul Universty, Istanbul.
- BAYTOP, T. 1997. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Atatük kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu Türk Dili Kurumu Yayınları, No: 578, Ankara, 512 s.
- BAYTOP, A. 1991. Farmasötik Botanik Ders Kitabı, İstanbul Üniversitesi Basımevi, İstanbul.

- BAYTOP, T. 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniv. Yay. No. 3637, Ecz. Fak.No.40, ss. 240-376, İstanbul.
- BAYTOP, T. 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi, Yayın No:3255, İstanbul.
- BAYTOP, T. 2000. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitabevleri. 3. Baskı, ss. 13-3, İstanbul.
- BAYTOP, T. 1986. Uçucu yağlar, Farmakognozi. Cilt 2, İstanbul Üniversitesi Yayınları, ss. 146-151, İstanbul.
- BAYTOP, T.1999. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi. Nobel Tıp Kitapevleri, ss. 4-10, İstanbul.
- BEIRÃO DA COSTA, S., DUARTE, C., BOURBON, A.I., PINHEIRO, A.C., SERRA, A.T., MOLDÃO MARTINS, M., NUNES JANUÁRIO, M.I., VICENTE, A.A., DELGADILLO, I., DUARTE, C., BEIRÃO DA COSTA, M.L. 2012. Effect of the matrix system in the delivery and in vitro bioactivity of microencapsulated Oregano essential oil. *J. Food Eng. Int. Conf. Food Innov. – FoodInnova*, 110: 190–199.
- BERNÁTH, J. 1996. Some Scientific And Practical Aspects Of Production And Utilization Of Oregano in Central Europea. Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, CIHEAM, Valenzano (Bari), ss. 76-91 Italy.
- BERRADA, M., IGRI, M.A. ET AL. 1988. Results of the Analysis of the Essential Oil of *Origanum majorana* L. Grown in Morocco, *Biruniya*, 4 (1): 27-33.
- BERTERO N. M., TRASARTÌ A. F., MORAWECK B., BORGNA A., MARCHÌ A. J. 2009. Elective liquid-phase hydrogenation of citral over supported bimetallic Pt–Co catalysts. *Applied Catalysis A: General*, 32: 358.
- BEYKI, M., ZHAVEH, S., KHALILI, S.T., RAHMANI-CHERATI, T., ABOLLAHI, A., BAYAT, M., TABATABAEI, M., MOHSENIFAR, A. 2014. Encapsulation of *Mentha piperita* essential oils in chitosan–cinnamic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. *Ind. Crops Prod.*, 54: 310–319.
- BOTREL, D. A., BORGES, S. V., FERNANDES, R. V. B., VIANA, A. D., COSTA, J. M. G., MARQUES, G.R. 2012. Evaluation of spray drying conditions on properties of microencapsulated oregano essential oil. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 2289–2296.
- BOTSOGLU, N.A., GRIGOROPOULOU, S.H., BOSTOGLU, E., GOVARIS, A., PAPGEORGIOU, G. 2003 b. The effects of dietary oregano essential oil and α -tocopheryl acetate on lipid oxidation in raw and cooked turkey during refrigerated storage. *Meat Science*, 65: 1193-1200.

- BOYDAĞ, I. 2004. *Origanum Onites* L. (Kekik) Yağ Altı Suyunun Uçucu Bileşikleri, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye.
- BRAGA, P.C., SASSO, M.D., CULICI, M., ALFIERI, M. 2007. Eugenol And Thymol, Alone or in Combination, Induce Morphological Alterations in The Envelope of *Candida Albicans*. *Fitoterapia*, 78(6): 396-400.
- BRINKER, J. ve SCHERER, G.W. 1990. Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing, Academic Press, Boston, 908 p.
- CAI L, WU CD. 1996. Compounds from *Syzygium aromaticum* possessing growth inhibitory activity against oral pathogens. *J Nat Prod.*, 59: 987–990.
- CEYLAN, A. 1987. Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ içerenler), 481, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ofset Basımevi, ss. 1-5, Bornova-İzmir.
- CEYLAN, A. 1997. Tıbbi Bitkiler (Uçucu Yağ Bitkileri). Cilt II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, İzmir
- COLTHUP, N. B., DALY, L. H., WİBERLEY, S. E. 1990. Introduction to İnfrared and Raman Spectroscopy, Academic Press, Inc., 3rd ed., 319,. San Diego, CA.
- COPPEN, J.J.W. ve HONE, G.A. 1992. Eucalyptus oils: a review of production and markets. *NRI Bulletin* 56.
- CROTEAU, R., ALONSO, W.R., KOEPP, A.E., JOHNSON, M.A. 1994. Biosynthesis of Monoterpenes: Partial Purification, Characterization, and Mechanism of Action of 1,8-Sineole Synthase. *Arch. Biochem. Biophys.*, 309 (1): 184-192.
- CURTIS, T., WILLIAMS, D. G. 1994. Introduction to perfumery. Ellis Horwood, ss. 220-221, New York.
- DAVIS, P. H., MILL, R.R., TAN, K. 1988. Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol. 10, Edinburgh University Press. Edinburgh.
- DAVIS, P.H. 1965-1985. Flora Of Turkey And The East Aegean Islands. Vol. 1-9. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- DAVIS, P.H.1982. Flora of Turkey, Vol VII, University Press, Edinburgh.
- DAVIS, P.H., MILL, R.R. ve TAN, K. (eds.).1982. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh Univ. Press., Vol. 7, pp. 186-187 and pp. 307-308. Edinburgh.
- DE OLIVEIRA, E.F., PAULA, H.C.B., PAULA, R.C.M. 2014. Alginate/cashew gum nanoparticles for essential oil encapsulation. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 113: 146–151.

- DE VINCENZI M, STAMMATI A., DE VINCENZI A. AND SILANO M. 2004. Constituents of Aromatic Plants: Carvacrol. *Fitoterapia*, 75: 801–804.
- DEASY, P.B. 1984. *Microencapsulation and Related Drug Processes*. New York: Marcel Dekker.
- DEL TORO-SANCHEZ, C.L., AYALA-ZAVALA, J.F., MACHÍ, L., SANTACRUZ, H., VILLEGAS-OCCHOA, M.A. , ALVAREZ-PARILLA, E., GONZALES-AGUILAR, G.A. 2010. *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, 67: 431–441.
- DEMİRÇAKMAK, B. 1994. *Cedrus libani* Uçucu Yağının Bileşimi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye
- DHOOT, G. 2009. Estimation of Eugenol Diffusion Coefficient in LLDPE Using FTIR-ATR Flow Cell and HPLC Techniques. *ProQuest LLC*, ss. 44-45, United States
- DIMA, C., COTÂRLET, M., ALEXE, P., DÎMA, S., 2014. Microencapsulation of essential oil of pimento [*Pimenta dioica* (L) Merr.] by chitosan/k-carrageenan complex coacervation method. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* 22: 203–211.
- DURU, M.E., HARMANDAR, M., NEGUERULA, A.V., PEREZ-ALONSO, M.J. 1994. *Rosmaninus officinalis* L. yapraklarından elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimlerinin analizi, X. Ulusal Kimya Kongresi, Uludağ Üniversitesi, Bursa, s.200.
- DUTTA, D., DEVİ, S.S., KRİSHNAMURTHİ, K., KUMAR, K.V., YAS, P., MUTHAL, P.L., NAOGHARE, P., CHAKRABARTİ, T. 2007. Modulatory Effect Of Distillate of Ocimum Sanctum Leaf Extract (Tulsi) on Human Lymphocytes Against Genotoxicants. *Biomed Environ Sci.*, 20(3): 226-234.
- EKİM, T., KOYUNCU, M., ERİK, S. İLARSLAN, R. 1989. Türkiye'nin Tehlike Altındaki Nadir Ve Endemik Bitkileri, Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Yayınları.
- EKİM, T., KOYUNCU, M., VURAL, M., DUMAN, H., AYTAÇ, Z., ADIGÜZEL, N. 2000. Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı, Ankara (Eğrelti Ve Tohumlu Bitkiler), Red Data Book Of Turkish Plants (*Pteridophyta* And *Spermatophyta*), Ankara, 246s.
- EKOU T., FLURA A., EKOU L., ESPECEL C., ROYER. 2012. Elective hydrogenation of citral to unsaturated alcohols over mesoporous Pt/Ti–Al₂O₃ catalysts. Effect of the reduction temperature and of the Ge addition. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 148: 353– 354.
- ERİK, S., TARIKAHYA, B. 2004. Türkiye Florası Üzerine. *Kebikeç İnsan Bilimleri İçin Kaynak Araştırmaları Dergisi*, 17: 139-163.

- ERTUĞ, F. 2004. Bodrum Yöresinde Halk Tıbbında Yararlanılan Bitkiler. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29–31 Mayıs 2002, Bildiriler kitabı, ss. 76–93, Eskişehir.
- ESFANDYARI-MANESH, M., GHAEDI, Z., ASEMI, M., KHANAVI, M., MANAYI, A., JAMALIFAR, H., ATYABI, F., DINARVAND, R. 2013. Study of antimicrobial activity of anethole and carvone loaded PLGA nanoparticles. *J. Pharm. Res.*, 7: 290–295.
- EUGENOL GUIDANCE FOR INDUSTRY. 2007. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Veterinary Medicine.
- EYRES, G.T., MARRIOTT, P.J., DUFOUR, J.P. 2007. Comparison of Odor-Active Compounds in The Spicy Fraction of Hop (*Humulus Lupulus* L.) Essential Oil From Four Different Varieties. *J Agric Food Chem.*, 55(15): 6252-6261.
- FAN, W. 2008. Hierarchical Nanofabrication of Micro- porous Crystals with Ordered Mesoporosity. *Nature Materials*, 7: 984-991.
- FANG, Z. ve BHANDARI, B., 2010. Encapsulation of polyphenols - a review, *Trends in Food Science & Technology*, 21: 510-523.
- FARAG, R.S., BADEI A.Z.M.A. ET AL. 1989. Antioxidant Activity of Some Spice Essential Oils on Linoleic Acid Oxidation in aqueous Media, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 66 (6): 792-799.
- FARAG, R.S., DAW, Z.Y. et al. 1989. Influence of Some Spice Essential Oils on *Aspergillus parasiticus* Growth and Production of Aflatoxins in a Synthetic Medium, *J. Food Science*, 54 (1): 74-76.
- FARIÑA, L., BOIDO, E., CARRAU, F., VERINI, G., DELLACASSA, E. 2005. Terpen Compounds As Possible Precursors of 1,8-Sineole in Red Grapes and Wines, *J. Agric. Food Chem.*, 53 (5): 1633-1636.
- FARNSWORTH, N. R., AKEREV, O. BİNGEL, A.S. 1985. The Bulletin Of Who. 63: 9865-9871.
- FERNANDES, R.V., BORGES, S.V., BOTREL, D.A. 2014. Gum arabic/starch/maltodextrin/ inulin as wall materials on the microencapsulation of rosemary essential oil. *Carbohydr. Polym.* 101: 524–532.
- FLAMINI, G., CIONI, P.L., MORELLI, I., MACCIONI, S., BALDINI, R. 2004. Phytochemical Typologies in Some Populations of *Myrtus communis* L. on Caprione Promontory (East Liguria, Italy), *Food Chem.*, 85 (4): 599-604.
- FULGER, C. ve POPPLEWELL, M. 1997. Flavour encapsulation. U.S. Patent 5.601.845.

- FULGER, C. ve POPPLEWELL, M. 1998. Flavour encapsulation. U.S. Patent 5.792.505.
- GEZGİN, D. 2006. Bitki Mitosları. Sel Yayıncılık.
- GIAMAKIS, A., KRETSI, O., CHINOU, I., SPYROPOULOS, C.G. 2001. *Eucalyptus camaldulensis*: volatiles from immature flowers and high production of 1,8-sineole and beta-pinene by in vitro cultures. *Phytochemistry*, 58(2):351-5.
- GILL, I., BALLESTEROS, A. 2000. *Tibtech*, 18: 282.
- GILL, I., BALLESTEROS, A. 1998. *J. AM. Chem. Soc.*, 120: 8587.
- GÖKÇE, N., KARLIKAYA, E. 2002. Okaliptüs (*Eucalyptus Globulus*): Sıtma Ağacı *Eucalyptus (Eucalyptus Globulus)*: Malaria Tree. *Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 19(3-4):189-194.
- GÖKMEN, S., PALAMUTOĞLU, R. VE SARIÇOBAN, C. 2012. Gıda endüstrisinde enkapsülasyon uygulamaları. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, Vol. 7: 36-50.
- GUÉNETTE, S.A., HÉLIE, P., BEAUDRY, F., VACHON, P. 2007. Eugenol For Anesthesia of African Clawed Frogs (*Xenopus Laevis*). *Vet Anaesth Analg*, 34(3): 164-170.
- GUENTHER, E. 1948. The Essential Oils. Vol. 1. D. Van Nostrand Co., Inc., New York.
- GUNTHER, E. 1975. The Essential Oils. Vol. 1, Robert E. Krieger Publishing Company, Huntington, New York.
- GÜNER, A., ÖZHATAY, N., EKİM, T., BASER, K.H.C. 2000. Flora Of Turkey, Volume 11, Edinburgh University Press. Edinburgh.
- HE, M., DU, M., FAN, M., BIAN, Z. 2007. In Vitro Activity of Eugenol Against *Candida Albicans* Biofilms. *Mycopathologia*, 163(3): 137-143.
- HEATH, H. B. 1981. Source Book of Flavors, The Avi Publishing Company Inc., pp. 84-95, Connecticut.
- HEINRICH, M., BARNES, J., GIBBONS, S., WILLIAMSON, E.M. 2004. Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy. Churchill Livingstone, Edinburgh.
- HEINZEN, C. 2002. Microencapsulation solve time dependent problems for foodmakers. *European Food and Drink Review*, 3: 27-30.
- HENCH, L. and WEST, J. 1989. The Sol-Gel Process, *Chem. Rev.* 90: 33-72.

- HOLLAND, N., FRIBY, J., OWENS, E., HUGHES, H., DUGGAN, P., MCLOUGHLIN, P. 2010. The influence of polymer morphology on the performance of molecularly imprinted polymers. *Polymer*, 51: 1578–1584.
- HOSSEINI, S.F., ZANDI, M., REZAEI, M., FARAHMANDGHAHI, F., 2013a. Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydr. Polym.* 95: 50–56.
- HOSSEINI, S.M., HOSSEINI, H., MOHAMMADIFAR, M.A., MORTAZAVIAN, A.M., MOHAMMADI, A., KHOSRAVI-DARANI, K., SHOJAEI-ALIABADI, S., DEHGHAN, S., KHAKSAR, R., 2013b. Incorporation of essential oil in alginate microparticles by multiple emulsion/ ionic gelation process. *Int. J. Biol. Macromol.* 62: 582–588.
- IANNITELLI, A., GRANDE, R., DI STEFANO, A., DI GIULIO, M., SOZIO, P., BESSA, L.J., LASERRA, S., PAOLINI, C., PROTASI, F., CELLINI, L. 2011. Potential antibacterial activity of carvacrol loaded poly(DL-lactide-co-glycolide) (PLGA) nanoparticles against microbial biofilm. *Int. J. Mol. Sci.* 12: 5039–5051.
- IDRIS, S.A., ALOTAIBI, K.M., PESHKUR, T.A., ANDERSON, P., MORRIS, M., GIBSON, L.T. 2013. Adsorption kinetic study: Effect of adsorbent pore size distribution on the rate of Cr (VI) uptake. *Microporous. Mesoporous. Mater.* 165: 99–105.
- IETSWAART, J.H. 1980. A Taxonomic Revision of the *Origanum* (Labiatae). Leiden University Press, The Hague.
- INSTITUTE OF MEDICINE (U.S.). Committee on Food Chemicals Codex. 2003. Food Chemicals Codex. National Academies Press, Fifth Edition, pp. 249-250, Washington.
- IPEK, E., ZEYTINOGLU, H., OKAY, S., TUYLU, B.A., KURKCUOGLU, M., BASER, K.H.C. 2005. Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by Ames Salmonella/microsomal test, *Food Chemistry*, 93: 551-556.
- İLÇİM, A., DIĞRAK, M., BAĞCI, E. 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. *Tr. J. Of Biology*, 22: 119-125.
- İZGÜ, E. 1973. Genel ve Endüstriyel Farmasi. *Ayyıldız Matbaası*, Ankara.
- JING, S.Y., LEE, H.J., CHOI, C.K. 2002. Chemical Bond Structure on Si-O-C Composite Films with a Low Dielectric Constant Deposited by Using Inductively Coupled Plasma Chemical Vapor Deposition. *Journal of the Korean Physical Society*, 41: 769-773.
- KALEMBA, D., KUSEWICZ, D., SWIADER, K. 2002. Antimicrobial Properties of the Essential Oil of *Artemisia asiatica* Nakai, *Phytother. Res.*, 16 (3): 288-291.

- KAMATOU, G.P., VERMAAK, I. and VILJOEN, A.M. 2012. Eugenol; From the Remote Maluku Islands to The International Market Place: A Review of a Remarkable and Versatile Molecule. *Molecules*, 17: 6953-6981.
- KANDEMİR, A. ve BEYAZOĞLU, O. 2002. Köse Dağlarının (Gümüşhane) Tıbbi Ve Ekonomik Bitkileri Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 6 (3): 148–157.
- KARGER B. L, SNYDER L. R. and HORVATH C. 1973. An Introduction to Separation Science. John Wiley and Sons, pp. 181-209, London.
- KARLSEN, J. 2010. Encapsulation and Other Programmed Release Techniques for Essential Oils and Volatile Terpenes. In: Başer, K. H. C., Buchbauer, G. (Editors). Handbook of Essential Oils Science, Technology, And Applications, CRC, pp. 855-860, New York.
- KASIM, H.K. and AMAL, S.A. 2005. Qualitative and Quantitative Evaluation of some Organic Compounds in Iraqi Thyme. *National J. of Chemistry*. 19: 366-379.
- KAUSHİK, V., ROOS, Y.H. 2007. Limonene encapsulation in freeze-drying of gum Arabic–sucrose–gelatin systems. *LWT*. 40:1381–1391.
- KAYA, A., DEMIRCI, B., BASER, K.H.C. 2007. Micromorphology of Glandular Trichomes of *Nepeta congesta* Fisch. & Mey. var. *congesta* (Lamiaceae) and Chemical Analysis of the Essential Oil, *S. Afr. J. Bot.*, 73 (1): 29-34.
- KAYACIK, H., 1982 : Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği. İstanbul Üniversitesi Yayın No: 3013, Orman Fak. Yayın No: 321, İstanbul.
- KINIK, Ö., KAVAS, G., YILMAZ, E. 2003. Mikroenkapsülasyon tekniği ve süt teknolojisindeki kullanım olanakları. *Gıda*, 28(4): 401-407.
- KIM H.M., LEE E.H., HONG S.H. 1998. Effect of *Syzygium aromaticum* extract on immediate hypersensitivity in rats. *J. of Ethnopharmacol*, 60: 125–131.
- KITIKI, A. 1996. Status of Cultivation and Use of Oregano in Turkey, Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, CIHEAM, pp. 122-132, Valenzano (Bari).
- KOÇYİĞİT, M. 2005. Yalova ilinde Etnobotanik Bir Arastırma, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- KOLTUKSUZ, G. 2007. *Actinolema macrolema* Boiss. (Apiaceae) uçucu yağı üzerinde araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye.
- KOSAR, M., TUNALIER, Z., OZEK, T., KURCUGLU, M., BASER, K.H.C. 2005. A Simple Method to Obtain Essential Oils From *Salvia triloba* L. and *Laurus nobilis* L. by Using Microwave-Assisted Hydrodistillation, *Z. Naturforsch. C.*, 60 (5-6): 501-504.

- KRISHNAN, S., KRISHIRSAGAR, A. C., SINGHAL, S. 2005. The Use Of Gum Arabic Andmodified Starch İn The Microencapsulation Of Food Flavor Agent. *Carbohydrate Polymers*, 62; 309–315.
- 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.
- KUMAR, S.A. 2009. Plants-Based Medicines İn India.
- LADJ-MINOST, A. 2012. Répulsifs d'arthropodes à durée d'action prolongée: étude pharmacotechnique, devenir in situ et efficacité. PhD Thesis. Université Claude Bernard, Lyon I.
- LAWRENCE, B.M.1984. The Botanical and Chemical Aspects of Oregano, *Perfum. Flavour*, 9(5): 41-49.
- LEE KG, SHİBAMOTO T. 2002. Antioxidant property of aroma extract isolated from clove buds (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry). *Food Chem*,74: 443–448.
- LEIMANN, F.V., GONCALVES, O.H., MACHADO, R.A.F., BOLZAN, A. 2009. Antimicrobial activity of microencapsulated lemongrass essential oil and the effect of experimental parameters on microcapsules size and morphology. *Mater. Sci. Eng. C*, 29: 430–436.
- LEWIN, R. 2000. Modern İnsanın Kökeni. TÜBİTAK Popüler Bilim Kitapları, Çeviri: N. Özüaydın, 7. basım, TÜBİTAK, Ankara.
- LI, H.Y., PARK, C.K., JUNG, S.J., CHOI, S.Y., LEE, S.J., PARK, K., KIM, J.S., OH, S.B. 2007b. Eugenol Inhibits K⁺ Currents in Trigeminal Ganglion Neurons. *J Dent Res*, 86(9): 898-902.
- LI, Z., WANG, X., CHEN, F., KIM, H.J. 2007a. Chemical Changes and Overexpressed Genes in Sweet Basil (*Ocimum Basilicum* L.) Upon Methyl Jasmonate Treatment. *J Agric Food Chem*, 55(3): 706-713.
- LIDE, D.R., MILNE, G.W.A. 1995. Handbook of Data on Common Organic Compounds. CRC, Vol 2, p.1741, USA.
- LIOLIOS, C.C., GORTZI, O., LALAS, S., TSAKNIS, J., CHINOU, I. 2009. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. *Food Chem.*,112: 77–83.
- LIVAGE, J., BETEILLE, F. , ROUX, C. , CHATRY, M. , DAVIDSON, P. 1998. *Acta Matter*, 46: 743–750.
- LIVAGE, J., CORADIN, T., ROUX, CONDENS C. 2001. *Matter*, 13: 673.

- LÓPEZ, A., CASTRO, S., ANDINA, M.J., URES, X., MUNGUÍA, B., LLABOT, J.M., ELDER, H., DELLACASSA, E., PALMA, S., DOMÍNGUEZ, L., 2014. Insecticidal activity of microencapsulated *Schinus molle* essential oil. *Ind. Crops Prod.*, 53: 209–216.
- MAGYAR, J., SZENTANDRASSY, N., BANYASZ, T., FULOP, L., VARRO, A., NANASI, PETER P., 2004, Effects of Terpenoid Phenol Derivatives on Calcium Current in Canine and Human Ventricular Cardiomyocytes. *Eur J Pharmacol*, 487: 29-36.
- MAHAPATRO, A. AND SINGH, D.K. 2011. Biodegradable nanoparticles are excellent vehicle for site directed in-vivo delivery of drugs and vaccines. *Journal of Nanobiotechnology*, 9:55.
- MARQUES, M.F.F., GORDO, P.M., SANTOS, S.D., MARQUES, R.F., DA SILVA, A.M., KAJCSOS, Z. 2013. Encapsulation of Natural Flavors in Cyclodextrins: Free Volume Studies by PALS. *Positron And Positronium Chemistry X*, vol 733: 88-91.
- MASOTTI, V., JUTEAU, F., BESSIÈRE, J.M., VIANO, J. 2003. Seasonal and phenological variation of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. *J. Agric. Food Chem.*, 51 (24): 7115-7121.
- MCIVER, B., 2005. Encapsulation of flavour and/or fragrance composition. U.S. Patent 6.932.982.
- MEUSINGER, R. 2010. NMR-Spektren richtig ausgewertet: 100 Übungen für Studium und Beruf. Springer. pp.12-13, Heidelberg.
- MIGUEL, G., SIMÕES, M., FIGUEIREDO, A.C., BARROSO, J.G., PEDRO, L.G., CARVALHO, L. 2004. Composition and Antioxidant Activities of The Essential Oil Of *Thymus Caespitius*, *Thymus Camphoratus* and *Thymus Mastichina*, *Food Chem.*, 86 (2): 183-188
- MSAADA, K., HOSNI, K., TAARIT, M.B., CHAHED, T., MARZOUK, B. 2007. Variations in The Essential Oil Composition From Different Parts of *Coriandrum Sativum* L. Cultivated in Tunisia. *Ital J Biochem*, 56(1): 47-52.
- MUKHOPADHYAY, M. 2000. Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide. CRC Press LLC, Florida, pp. 131 – 141.
- NEDELEC, J.M. 2007. Sol-Gel Processing of Nanostructured Inorganic Scintillating Materials. *J. Nanomet.*, 8: doi:10.1155/2007/36392.
- NEGRELLE, R. R. B., VE GOMES, E. C. 2007. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: Chemical composition and biological activities. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s, 9: 80–92.

- NGUYEN, T.H., LEE, B.T. 2010. Fabrication and Characterization of Cross-Linked Gelatin Electro-Spun Nano-Fibers, *J. Biomedical Science and Engineering*, 3: 1117-1124.
- NGUYEN-NGOC, H., TRAN-MINH, C. 2007. *Mater. Sci. Eng. C*, 27:607.
- O'NEIL, M.J., THE MERCK INDEX, MERCK CO. INC. 2006. Whitehouse Station, N.J., pp. 305-306, 664, USA.
- OBERDIECK, R., EIN BEİTRAG ZUR KENNTNIS. 1981. Analytik von Majoran (Majorana hortensis Moench.), *Dtsch. Lebensm. -Rundsch-11* (2): 63-74.
- OKSAL, B.S., UYSAL, B., GENCER, A., SOZMEN, F. 2012. Antibacterial activity of essential oil obtained from *Origanum majorana* L. by solvent-free microwave extraction. *Planta Medica*.78 (11): 1267-1267.
- O'NEIL, M.J. (ED.). 2006. The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., Inc., p. 665.
- ÖZBEK, H. 2005. Cinsel ve Jinekolojik Sorunların Tedavisinde Bitkilerin Kullanımı. *Van Tıp Dergisi*, 12 (2):170-174.
- ÖZEK, T. 1990. Micromeria congesta Uçucu Yağının Bileşimi. Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- ÖZEK, T., TABANCA, N., DEMİRCİ, F., WEDGE D.E. ve BAŞER, K.H.C. 2010. Enantiomeric Distribution of Some Linalool Containing Essential Oils and Their Biological Activities. *Rec. Nat. Prod.* 4:4,180-192.
- PAGULA, P.F., BASER, K.H.C., KURKCUOĞLU, M. 2000. Essential oil composition of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. from Mozambique. *J. Essent. Oil Res.*, 12: 333-335.
- PALÁ-PAÚL, J., COPELAND, L.M., BROPHY, J.J., GOLDSACK, R.J. 2006. Essential Oil Composition of Two Variants of *Prostanthera Lasianthos* Labill. From Australia, *Biochem. Syst. Ecol.*, 34 (1): 48-55.
- PARK, C.K., LI, H.Y., YEON, K.Y., JUNG, S. J., CHOI, S.Y., LEE, S.J., LEE, S., PARK K., KIM, J.S., OH, S.B. 2006. Eugenol Inhibits Sodium Currents in Dental Afferent Neurons. *J Dent Res*, 85(10): 900-904.
- PAUL, S., ve RANBY , B. 1976. *J. Polym. Sci., Polym. Chem.*, 14, 2449.
- PORZIO, M. 2008. Melt extrusion and melt injection. *Perfumer Flavorist*, 33: 48-53.
- PUTIEVSKY, E., RAVID, U. 1982. Variations in Yield Parameters in a Wild Population of *Origanum vulgare* L., *World Crops. Prod., Util, Descr.*, 7: 237-248.

- QUINTANILLA-CARVAJAL, M.X., CAMACHO-DIAZ, B. H., MERAZ-TORRES, L.S., CHANNONA-PEREZ, J. J., ALAMILLA-BELTRAN, L., JIMENEZ-APARICIO, A., AND GUTIERREZ-LOPEZ, G. F. 2010. Nanoencapsulation: A new trend in food engineering processing. *Food Engineering Reviews*, 2 (1): 39-50.
- QUIRCE, S., FERNÁNDEZ-NIETO, M., DEL POZO, V., SASTRE, B., SASTRE, J. 2007. Occupational Asthma and Rhinitis Caused by Eugenol in A Hairdresser. *Allergy*.
- RAAL, A., ORAV, A. ARAK, E. 2007. Composition of Essential Oil of *Salvia officinalis* L. from Various European Countries, *Nat. Prod. Res.*, 21 (5): 406-411.
- RAGHAVAN, B., ABRAHAM, K.O., SHANKARACHARYA, N.B. and SHANKARANARAYANA, M.L. 1991. Cardamom- Studies On Quality Of Volatile Oil And Product Development. *Indian spices*, 28(93): 20-24.
- RĂILEANU, M., TODAN, L., VOICESCU, M., CIUCULESCU, C., MAGANU, M. 2013. A Way For Improving The Stability Of The Essential Oils In An Environmental Friendly Formulation. *Materials Science and Engineering C*, 33: 3281-3288.
- RANGAHAU, M. K. 2001. Essential oils and their production. *Crop and Food Research*, Nr. 39.
- RATTI, C. 2001. Hot air and freeze drying of high-value foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 49: 311-319.
- RAVID, U., PUTIEVSKY, E. 1986. Carvacrol and Thymol Chemotypes of East Mediterranean Wild Labiate Herbs, *Progress in Ess. Oil Res.*, Ed: BRUNKE, E.J., WALTER DE GRUYTER & Co., Germany.
- RÉ, M. I. 1998. Microencapsulation by spray drying. *Drying Technology*, 16:1195–1236.
- REENA, G., SANGITA AND VERINDER, K. 2011. FT-IR Studies of e-plastic Obtained From Obsolete Computers. *J. Chem. Pharm. Res.*, 3(5): 660-667
- REINECCIUS, G. A. 2004. The spray drying of food flavors. *Drying Technology*, 22: 1289–1324.
- RODEA-GONZÁLEZ, D.A., CRUZ-OLIVARES, J., ROMÁN-GUERRERO, A., RODRÍGUEZ-HUEZO, M.E., VERNON-CARTER, E.J., PÉREZ-ALONSO, C. 2012. Spray-dried encapsulation of chia essential oil (*Salvia hispanica* L.) in whey protein concentrate-polysaccharide matrices. *J. Food Eng.*, 111: 102–109.

- ROHLOFF, J., MORDAL, R., DRAGLAND, S. 2014. Chemotypical Variation of Tansy (*Tanacetum vulgare* L.) From 40 Different Location in Norway, *J. Agric. Food Chem.*, 52 (6): 1742-1748.
- ROWE, J.W. 1989. Natural Products of Woody Plants. Vol.2, Springer, Germany.
- SADIKOGLU, H., OZDEMIR, M. 2001. Dondurarak Kurutma Teknolojisi. *Termoklima*, 102: 53-61.
- SAHAI, N. ve TOSSELL, J.A. 2002. ²⁹Si NMR Shifts and Relative Stabilities Calculated for Hypercoordinated Silicon-Polyalcohol Complexes: Role in Sol-Gel and Biogenic Silica Synthesis. *Inorg. Chem.*, 41: 748-756.
- SAİR, L. Ve SAİR, R. 1980A. Encapsulation of active agents as microdispersions in homogeneous natural polymers. U.S. Patent 4.230.687.
- SAİR, L., 1980b. Food supplement concentrate in a dense glass house extrudate. U.S. Patent 4.232.047.
- SAKAR, M.K., TANKER, M. 1991. Fitokimyasal analizler tanım, miktar tayini ve izolasyon, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 67, ss. 181-190, Ankara.
- SCHUBERT, U. and HÜSING, N. 2005. Synthesis of Inorganic Material. Weinheim, Germany, 361 p.
- SCHULZ, H., OZKAN, G., BARANSKA, M., KRUGER, H., OZCAN, M. 2005. Characterisation of Essential Oil Plants From Turkey by IR and Raman spectroscopy. *Vibrational Spectroscopy*, 39: 249–256
- SEFIDKON, F., BAHMANZADEGAN, A., ASSAREH, M.H., ABRAVESH, Z., SEASONAL. 2009. Variation in Volatile Oil of *Eucalyptus* Species in Iran, *J. Herbs Spices Med. Plants*, 15 (1): 106-120.
- SEVINÇ A, MERDUN B. 1995. Türkiye’de Yetişen Uçucu Yağ İçeren Bitkiler ve Kullanım Alanları. Bitirme Ödevi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü.
- SHARMA, N., TRIPATHI, A. 2008. Integrated Management of Postharvest Fusarium Rot of Gladiolus Corms Using Hot Water, UV-C and *Hyptis suaveolens* (L.) Poit. *Essential oil, Postharvest Biol. Technol.*, 47 (2): 246-254.
- SING, K.S.W., EVERETT, D.H., HAUL, R.A.W., MOSCOU, L., PIEROTTI, R.A., ROUQUEROL, J., SIEMIENIEWSKA, T. 1985. Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Recommendation 1984). *Pure Appl. Chem.*, 57: 603–619.
- SINGH, KP. 1993. Challenges and opportunities in essential oil processing industries. *Research & Industry*, 38 (2): 83-89.

- SOULELES. 1991. Volatile Constituent of *Origanum dubium* Leaves and Stem Bark. *Planta Med.* 57 (1): 77-78.
- SOUSA F. L., SANTOS M., ROCHA, S. M., and TRINDADE, T. 2014. Encapsulation of Essential Oils in SiO₂ Microcapsules and Release Behaviour of Volatile Compounds. *J of Microencapsulation*, Early Online: 1–9.
- SOZMEN, F., UYSAL, B., KOSE, E.O., AKTAS, O., CINBILGEL, I., OKSAL, B.S. 2012. Extraction of the Essential Oil from Endemic *Origanum bilgeri* P.H.Davis with Two Different Methods: Comparison of the Oil Composition and Antibacterial Activity. *Chemistry & Biodiversity*, 9 (7): 1356-1363.
- SOKMEN A, GULLUCE M, AKPULAT HA, DAFERERA D, TEPE B, POLISSIOU M, SOKMEN M, SAHIN F. 2004. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic *Thymus spathulifolius*, *Food Control.*, 15: 627-634.
- STUART, B.H. 2004. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. Wiley, , England, p.84.
- SUTAPHANIT, P., CHITPRASERT, P. 2014. Optimisation of microencapsulation of holy basil essential oil in gelatin by response surface methodology. *Food Chem.* 150: 313–320.
- SARER, E., SCHEFFER, J J.C. ET AL. 1984. Composition of the Essential Oil of *Origanum majorana* Grown in Different Localities in Turkey, *Aromat. Plants, Proc. Int. Symp.* 15th, 209-212.
- ŞİMŞEK, I., AYTEKİN, F., YEŞİLADA, E. Ve YILDIRIMLI, Ş. 2002. Anadolu’da HALK arasında bitkilerin kullanılış amaçları üzerinde etnobotanik bir çalışma. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs, Bildiriler kitabı (Ed.BAŞER, K. H. C. ve KIRIMER, N.), ss. 434-457, Eskişehir.
- TANKER, M. 1962. Türkiye’de Kekik Olarak Kullanılan *Origanum heracleoticum* L., *Majorana onites* (L.) Benth., *Satureia spicigera* (C. Koch) Boiss. Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi . Tıp Fakültesi Eczacı Okulu, İstanbul.
- TANKER, M., TANKER, N. 1985. Uçucu yağlar, Farmakognozi. Cilt 2, Ankara Üniversitesi Basımevi, ss. 269-297, Ankara.
- TANKER, M., TANKER, N. 1990.Farmakognazi. Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları No:65, 2.cilt, 280, 281, 293, 294, 309, Ankara.
- TANKER, N., KOYUNCU, M., COŞKUN, M. 2007. Farmasötik Botanik. Ankara Üniv. Eczacılık Fak. Yayınları No:93, 3. Baskı, ss. 137, 272, Ankara.

- TOROĞLU, S., ÇENET, M. 2006. Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metotlar, KSÜ. *Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2): 12-20.
- TRAGOOLPUA, Y., JATISATIENR, A. 2007. Anti-Herpes Simplex Virus Activities Of *Eugenia Caryophyllata* (Spreng.) Bullock & S. G. Harrison and Essential Oil, Eugenol.
- TYLER, V. E., BRADY, L. R. and ROBBERS, J. E. 1981. Pharmacognosy, 8th Ed., Lea and Febiger, pp. 138-139, Philadelphia.
- TYLER, V. E., BROADY, L. R., ROBBERS, J. E. 1988. Pharmacognosy. 9nd Ed., Lea and Febiger, pp. 103-110, Philadelphia.
- UYŞAL, B., SOZMEN, F., AKTAS, O., OKSAL, B.S., KOSE, E.O. 2011. Essential oil composition and antibacterial activity of the grapefruit (*Citrus Paradisi*. L) peel essential oils obtained by solvent-free microwave extraction: comparison with hydrodistillation. *International Journal Of Food Science And Technology*, 46 (7):1455-1461.
- VARONA, S., KARETH, S., MARTÍN, Á., COCERO, M.J. 2010. Formulation of lavandin essential oil with biopolymers by PGSS for application as biocide in ecological agriculture. J. Supercrit. Fluids Special Issue – Supercrit. Fluid Process. *Biopolym. Biomater*, 54: 369–377.
- VUUREN, S.F.V., VILJOEN, A.M., OZEK, T., DEMIRCI, B., BASER, K.H.C. 2007. Seasonal And Geographical Variation Of *Heteropyxis Natalensis* Essential Oil and the Effect Thereof on the Antimicrobial Activity, *S. Afr. J. Bot.*, 73 (3): 441-448.
- WANG, X., LI, X., CHEN, L., XIE, F., YU, L. VE LI, B. 2011. Preparation and Characterisation of Octenyl Succinate Starch As a Delivery Carrier For Bioactive Food Components. *Food Chemistry*, 126: 1218-1225.
- WEISS, J., GAYSINKSY, S., DAVIDSON, M., MCCLEMENTS, J. 2009. Nanostructured encapsulation systems: Food antimicrobials. In G. V. Barbosa-Cánovas, A. Mortimer, D. Lineback, W. Spiess, & K. Buckle (Eds.), IUFoST world congress book: Global issues in food science and technology, Elsevier Inc., pp. 425–479. Amsterdam.
- WEN, Z., LIU, B., ZHENG, Z., YOU, X., PU, Y., LI, Q. 2010. Preparation of liposomes entrapping essential oil from *Atractylodes macrocephala* Koidz by modified RESS technique. *Chem. Eng. Res. Des.*, 88: 1102–1107.
- WISHART, D.S., JEWISON, T., GUO, A.C., WILSON, M., KNOX, C., LIU, Y., DJOUMBOU, Y., MANDAL, R., AZIAT, F., DONG, E., BOUATRA, S., SINELNIKOV, I., ARNDT, D., XIA, J., LIU, P., YALLOU, F., BJORND AHL, T., PEREZ-PINEIRO, R., EISNER, R., ALLEN,

- F., NEVEU, V., GREINER, R., SCALBERT, A. 2013. HMDB 3.0 The Human Metabolome Database in 2013. *Nucleic Acids Research*, Vol. 37, Database issue D603–D610.
- WORANUCH, S., YOKSAN, R. 2013. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles. I. Thermal stability improvement of eugenol through encapsulation. *Carbohydr. Polym.*, 96: 578–585.
- WRIGHT, J.D. and SOMMERDIJK, N.A.J.M. 2001. Sol-gel Materials Chemistry and Applications. CRC pres. London, Newyork Washington D.C
- XHUVELI, L. AND LIPE, Q. 1996. Oregano (*Origanum vulgare* L.) in Albania, Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano, CIHEAM, pp. 133-137, Valenzano (Bari).
- YAO, Y., ZHANG, M., SHI, J., GONG, M., ZHANG, H., YANG, Y. 2001. *Mater. Lett*, 48: 44.
- YATAGAI, M., OHIRA, T., NAKASHIMA, K. 1998. Composition, Miticidal Activity And Growth Regulation Effect on Radish Seeds of Extracts From *Melaleuca* Species, *Biochem. Syst. Ecol.*, 26 (7), 713-722.
- ZASYPKIN, D. ve PORZIO, M. 2004. Glass encapsulation of flavours with chemically modified starch blends. *J. Microencapsulation*, 21: 385–397.
- ZEYBEK, N. 1985. Farmasötik Botanik, Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No:1, Ege Üniversitesi Basımevi, ss. 340-342. Bornova, İzmir.
- ZHANG, Q., CHEN, C., WANG, M., CAI, J., XU, J., XIA, C. 2011. Facile Preparation of Highly-Dispersed Cobaltsilicon Mixed Oxide Nanosphere and It's Catalytic Application in Cyclohexane Selective Oxidation. *Nanoscale Research Letters*, 6:586.
- ZRIRA, S.S., BENJILALI, B.S., FECHTAL, M.M. and RICHARD, H.H. 1992. Essential Oils of Twenty-Seven *Eucalyptus* Species Grown in Morocco, *J. Essent. Oil Res.*, 4: 259-264.
- ZUIDAM, N. J. VE SHIMONI, E. 2010. Overview of Microencapsulates for Use in Food Products and Processes and Methods to Make Them. In: N.J. Zuidam and V.A. Nedović (eds.), *Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing*

ÖZGEÇMİŞ



Kadriye YÜKSEL 1983 yılında Ankara’da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Ankara’da tamamladı. Lisans öğrenimi için 2001 yılında girdiği Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümünden 2006 yılında Kimyager olarak mezun oldu. 2006-2011 yılları arasında özel dershanelerde kimya öğretmeni olarak çalıştı. 2011 yılında Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü’nde Kimyager olarak göreve başladı. 2012 yılında Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü bünyesinde Yüksek Lisans eğitimine başlamış olup evlidir.

Bilimsel toplantılarda sunulan poster bildirileri;

YÜKSEL, K. , ÇINAR, O. , ÇINAR, A. , TUĞRUL AY S. 2015. Determination of Total Phenolic and Total Flavonoid Content of *Phlomis Lycia*.. The 2nd Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, Antalya

YÜKSEL, K., TANRISEVEN, M. 2014. Ticari Kekik Yağından İzole Edilen Karvakrolün Antibakteriyal Etkinliğinin İncelenmesi. 21. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Kayseri.

ÇINAR, O., YÜKSEL, K., TANRISEVEN, M. 2014. Farklı Dönemlerde Toplanan *Schinus molle* Yapraklarının Uçucu Yağ Bileşimi ve Antimikrobiyal Aktivitesinin İncelenmesi. 21. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Kayseri.

ÇINAR, O., AYAS, F., DEMİRAY, K. 2013. Analyses of Essential Oil Components of *Teucrium Chamaedrys*, *Achillea Wilhelmsii* C. Koch and *Ballota Nigra* Using GC-MS. The 1st Mediterranean Symposium on Medicinal and Aromatic Plants, K.K.T.C.

TUĞRUL AY, S., ÇINAR, O., DEMİRAY, K., AYAS, F. 2012. Antalya Florasında Doğadan Toplanan *Sideritis congesta* Türünün Kalite Özelliklerinin Belirlenmesi. Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Sempozyumu, Tokat.

Bilimsel Etkinlikler ;

Proje

Bazı Ticari Tıbbi ve Aromatik Bitki Yağlarının Kalite Özelliklerinin Araştırılması (TAGEM Projesi-Proje Yürütücüsü).

Farklı Depolama Koşullarının Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitki Yağlarının Kalite Özellikleri Üzerine Etkisi (TAGEM Projesi-Yardımcı Araştırmacı).

Bazı Uçucu Yağlar ve Antioksidan Bileşiklerin Kurutulmuş Domateslerin Ürün Kalitesi ve Raf Stabilitesi Üzerine Etkilerinin Araştırılması (TAGEM Projesi-Yardımcı Araştırmacı).

Beslenme ve Gıda İçin Biyoçeřitlilik (Biodiversity For Food And Nutrition) (GEF Projesi)

Tıbbi Adaçayı (*Salvia officinalis* L.) Islahı Araştırmaları (TAGEM Projesi-Yardımcı Araştırmacı).

Antalya Koşullarında *Stevia rebaudiana* Bertoni Bitkisinin Kültüre Alınması ve Adaptasyonu zerine Bir Araştırma (TAGEM Projesi-Yardımcı Araştırmacı).

BATEM’de Geliřtirilen Yeni Turunil eřitlerinin Bazı Fiziksel ve Kimyasal zelliklerinin Hasat Tarihleri ve Raf Stabilitesi Bakımından Belirlenmesi (TAGEM Projesi-Yardımcı Araştırmacı).

Farklı n Uygulamaların ve Muhafaza Koşullarının ‘Hicaznar’ Nar eřidinin Depo mr ve Meyve Kalitesi zerine Etkileri (TAGEM Projesi-Yardımcı Araştırmacı).

Susam Yetiştiriciliğinde Yzeyst ve Yüzeyaltı Damla Sulama Yöntemlerinin Su Kullanım Etkinliėine Etkisi (TAGEM Projesi-Yardımcı Araştırmacı).