T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN FARKLI NANE (*Mentha Spp.*) TÜRLERİNDEN MENTOL ÜRETİMİNİN ARAŞTIRILMASI

Cenk SUBUTAY

DANIŞMAN
Doç. Dr. Dilek ÖZMEN

II. DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Metin HASDEMİR

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Temel İşlemler ve Termodinamik Programı

İSTANBUL-2019

İSTANBUL-2019

Bu çalışma, 13.01.2020 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Temel İşlemler ve Termodinamik Programında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

Doç. Dr. Dilek ÖZMEN(Danışman)
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. Lutfullah SEVGİLİ
İstnabul Üniversitesi - Cerrahpaşa
Mühendislik Fakültesi

Prof. Dr. Jale GÜLEN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Kimya – Metalürji Fakültesi

20.04.2016 tarihli Resmi Gazete'de yayımlanan Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliğinin 9/2 ve 22/2 maddeleri gereğince; Bu Lisansüstü teze, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa'nın abonesi olduğu intihal yazılım programı kullanılarak Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün belirlemiş olduğu ölçütlere uygun rapor alınmıştır.

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi için beni cesaretlendiren, destek ve katkılarını esirgemeyen I. Danışmanım Doç. Dr. Dilek ÖZMEN'e ve II. Danışmanım Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Metin HASDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmadaki katkılarından dolayı Prof. Dr. Lutfullah Muhammed SEVGİLİ, Doç. Dr. Belma HASDEMİR, Doç. Dr. Hülya ÇELİK ONAR, Doç. Dr. Solmaz AKMAZ, Doç. Dr. Serkan EMİK hocalarıma, Abdi İbrahim İlaç ve San. Tic. A.Ş ve çalışanlarına, Anamed A.Ş'ye ve Anamed A.Ş. çalışanı Sayın Erkan Mankan'a teşekkür ederim. Tez için gerçekleştirilen analizlerin tamamlanması için yardımcı olan İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimya Mühendisliği öğrencisi Özge KARAVİL'e teşekkür ederim.

Hayatımın her alanında olduğu gibi, tez çalışmamı hazırlarken de her aşamada bana yardımcı olan sevgili anneme ve sevgili babama sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Aralık 2019 Cenk SUBUTAY

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ ..... **iv**
İÇİNDEKİLER ..... **v**
ŞEKİL LİSTESİ ..... **viii**
TABLO LİSTESİ ..... **x**
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ ..... **xi**
ÖZET ..... **xii**
SUMMARY ..... **xiii**
1. GİRİŞ **1**
2. GENEL KISIMLAR **2**
2.1. NANE (*MENTHA SPP.*) BİTKİSİ **2**
2.2. NANE (*MENTHA SPP.*) TÜRLERİ **3**
2.2.1. Türkiye'de Nane (*Mentha Spp.*) Türleri **3**
2.2.2. Dünya'da Nane (*Mentha Spp.*) Türleri **4**
2.3. NANENİN (*MENTHA SPP.*) KULLANIM AMAÇLARI **5**
2.4. UÇUCU YAĞLAR **7**
2.4.1. Uçucu Yağların Tanımlanması **7**
2.4.2. Uçucu Yağ Özellikleri **8**
2.4.3. Uçucu Yağların Sınıflandırılması **9**
2.4.4. Uçucu Yağ Elde Etme Metotları **10**
2.4.4.1. Mekanik Metotlar **11**
2.4.4.2. Destilasyon Metotları **12**
2.4.4.3. Ekstraksiyon Metotları **16**
2.5. MENTOL ELDE ETME YÖNTEMLERİ **26**
2.5.1. Fiziksel Özellikleri **26**
2.5.2. Mentol Üretimi **27**
2.5.2.1. Sentetik Mentol Üretimi **27**
2.5.2.2. Uçucu Yağlardan Mentol Elde Etme Yöntemleri **29**
3. MALZEME VE YÖNTEM **30**
3.1. NANE YAĞI ELDE YÖNTEMLERİ **30**
3.1.1. Soxhlet Ekstraksiyonu **30**

3.1.2. Clevenger Aparatı ile Destilasyon 30
3.1.3. Mikrodalga Ekstraksiyonu 31
3.1.3.1. Ev Tipi Mikrodalga ile Mikrodalga Ekstraksiyonu 31
3.1.3.2. Mikrodalga Clevenger Aparatı ile Mikrodalga Ekstraksiyonu 32
3.2. KRİSTALİZASYON YÖNTEMİ İLE NANE YAĞINDAN MENTOL ELDESİ 33
3.2.1. Doğrudan Kristalizasyon Yöntemi 33
3.2.2. Kademeli Kristalizasyon Yöntemi 33
3.3. NANE YAĞINDA BULUNAN MENTOLÜN TAYİNİ 36
3.3.1. Kalitatif Analiz 36
3.3.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC Yöntemi) 36
3.3.2. Kantitatif Analiz 37
3.3.2.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizleri 37
3.3.2.2. Titrasyon Metodu ile Mentolün Kantitatif Analizi 38
3.3.2.3. GC-MS Metodu ile Mentol Analizi 41
3.4. MENTOL ERİME NOKTASI TAYİNİ 41
4. BULGULAR 42
4.1. NANE YAĞI VERİLERİ 42
4.1.1. Soxhlet Ekstraksiyonu Verileri 42
4.1.2. Clevenger Aparatı ile Destilasyon Verileri 42
4.1.3. Mikrodalga Ekstraksiyon Verileri 44
4.1.3.1. Ev Tipi Mikrodalga ile Mikrodalga Ekstraksiyonu Verileri 44
4.1.3.2. Mikrodalga Clevenger Aparatı ile Mikrodalga Ekstraksiyon Verileri 45
4.2. NANE YAĞINDAN MENTOL ELDE YÖNTEMLERİ DENEY VERİLERİ 45
4.2.1. Doğrudan Kristalizasyon Verileri 45
4.2.2. Kademeli Kristalizasyon Verileri 45
4.3. MENTOLÜN TAYİNİ VERİLERİ 46
4.3.1. Kalitatif Analiz Verileri 46
4.3.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC Yöntemi) Verileri 46
4.3.2. Kantitatif Analiz Verileri 46
4.3.2.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analiz Verileri 46
4.3.2.2. Titrasyon Metodu ile Mentolün Kantitatif Analiz Verileri 46
4.3.2.3. GC-MS Metodu ile Mentol Analiz Verileri 46
4.4. MENTOL ERİME NOKTASI TAYİNİ VERİLERİ 49
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 50

KAYNAKLAR **52**
EKLER **66**
ÖZGEÇMİŞ **67**

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: Basit Destilasyon Düzeneği **12**
Şekil 2.2: Su Destilasyon Düzeneği **13**
Şekil 2.3: Clevenger Aparatı **14**
Şekil 2.4: Buhar Destilasyon Ünitesi **15**
Şekil 2.5: Vakum Destilasyonu **16**
Şekil 2.6: Maserasyon Yönteminin Uygulandığı Soğutmalı ve Çalkalamalı İnkübatör **18**
Şekil 2.7: Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı **19**
Şekil 2.8: Mikrodalga Ekstraksiyonunda Açık ve Kapalı Sistem **21**
Şekil 2.9: Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu **22**
Şekil 2.10: Ses Dalgaları Destekli Sıvı Ekstraksiyonu Sistemleri **23**
Şekil 2.11: Dinamik Ses Dalgaları Destekli Sıvı Ekstraksiyonunun Analiz Sistemine Bağlanmasının Şematik Gösterimi **23**
Şekil 2.12: Laboratuar Ölçekli Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Sistemi **25**
Şekil 2.13: Mentolün 8 Farklı Konfigürasyonu **27**
Şekil 2.14: Mirsen ile Mentol Sentezi **28**
Şekil 2.15: Timol'ün Katalitik Hidrojenlenmesiyle Elde Edilen Mentol **29**
Şekil 3.1: Soxhlet Ekstraksiyonu Deney Düzeneği **30**
Şekil 3.2: Clevenger Aparatı ile Destilasyon Deney Düzeneği **31**
Şekil 3.3: Ev Tipi Mikrodalga Ekstraksiyonu Aparatı **31**
Şekil 3.4: Mikrodalga Clevenger Aparatı **32**
Şekil 3.5: Kullanılan Dondurucu ve İşlem Sonrası Elde Edilen Mentol Numunesi **33**
Şekil 3.6: Susuz Sodyum Sülfat Eklenmesi Sonrası Numuneler **34**
Şekil 3.7: İkinci Aşama Öncesi Mentolden Yağın Ayrıştırılması İşlemi **34**
Şekil 3.8: İkinci Aşama İşlemleri **35**
Şekil 3.9: İkinci Aşama Sonrası Süzme İşlemi **36**
Şekil 3.10: İnce Tabaka Kromatografisi **37**
Şekil 3.11: HPLC Cihazı ve UV Dedektör **38**
Şekil 3.12: Faz Oluşumu Gözlenen Numune **39**
Şekil 3.13: Titrasyon Öncesi Asetilendirilmiş ve Asetilendirilmemiş Numuneler **40**
Şekil 3.14: Titrasyon Sonrası Numunelerin Görüntüsü **40**

Şekil 3.15: Büchi Erime Noktası Tayin Cihazı **41**
Şekil 4.1: Destilasyon Deney Ortalama Verim – Deney No Grafiği **44**
Şekil 4.2: GC-MS Analizi Pik Görüntüsü (Clevenger ile Elde Edilen Nane Yağı) **48**
Şekil 4.3: GC-MS Analizi Pik Görüntüsü (Mikrodalga E. ile Elde Edilen Nane Yağı) **48**

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2.1: Nane Yağının Fiziksel Özellikleri **6**

Tablo 2.2: Mentolün Fiziksel Özellikleri **7**

Tablo 2.3: Bitkisel Materyallerin Ekstraksiyonunda Kullanılan Yöntemlerin Uygulanma Koşulları **17**

Tablo 2.4: Akışkanların Fizikokimyasal Özelliklerinin Karşılaştırılması **24**

Tablo 4.1: Clevenger Aparatı ile Destilasyon Deney Verileri **43**

Tablo 4.2: Clevenger Aparatı ile Destilasyon Verim Tablosu **43**

Tablo 4.3: Kademeli Kristalizasyon Yöntemi ile Mentol Eldesi **45**

Tablo 4.4: Nane Yağının GC-MS Analiz Sonucu **47**

Tablo 4.5: Erime Noktası Tayini Deney Sonuçları Tablosu **49**

Tablo 5.1: Nane Yağında En Çok Bulunan Bileşenlerin Bazı Literatür Değerleri ile Karşılaştırılması **51**

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	Açıklama
g	: Gram
µg	: Mikrogram
L	: Litre
ml	: Mililitre
dk	: Dakika
nm	: Nanometre
M	: Molarite

Kısaltmalar	Açıklama
HPLC	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografi (High Pressure Liquid Chromatography)
UV	: Ultraviyole (Görünür Dalga Boyu)
PDA	: Işık Diyot Dedektörü (Photodiode Array)
RC	: Rejenere Selüloz (Regenerated Cellulose)
RT	: Tutma Süresi (Retention Time)

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TÜRKİYE'DE YETİŞTİRİLEN FARKLI NANE (*Mentha Spp.*) TÜRLERİNDEN MENTOL ÜRETİMİNİN ARAŞTIRILMASI

Cenk SUBUTAY

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Doç. Dr. Dilek ÖZMEN

II. Danışman : Dr. Öğr. Üyesi İbrahim Metin HASDEMİR

Mentol, rahatlatıcı, antiseptik özelliklere sahip olan nane yağının, en önemli bileşenlerindendir. Tıp, kozmetik ve gıda gibi birçok sektörde ve bu sektörlerin alt kollarında çokça kullanılan bir kimyasal bileşen olan mentol, çeşitli ekstraksiyon metotları ile doğrudan bitkiden veya sentetik olarak elde edilebilir.

Çalışmada, Türkiye'de yaygın olarak üretilen bir tarım ürünü olan naneden mikrodalga ekstraksiyonu, su buharı destilasyonu gibi çeşitli yöntemlerle nane yağı elde edilmiştir. Sonraki aşamada ise yağın kalitatif ve kantitatif analizi yapılarak, farklı yöntemlerle elde edilen yağların kimyasal içeriklerindeki ve içerdikleri mentol miktarındaki farklar karşılaştırılmıştır.

Aralık 2019, 80 sayfa.

Anahtar kelimeler: Nane, nane yağı, mentol, clevenger, ince tabaka kromatografisi.

SUMMARY

M.Sc. THESIS

INVESTIGATION OF MENTHOL PRODUCTION FROM DIFFERENT MINT (*Mentha Spp.*) SPECIES GROWN IN TURKEY

Cenk SUBUTAY

Istanbul University-Cerrahpasa

Institute of Graduate Studies

Department of Chemical Engineering

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Dilek ÖZMEN

Co-Supervisor : Dr. İbrahim Metin HASDEMİR

Menthol is one of the most important components of mint oil which has relaxing, antiseptic properties. Menthol a chemical component that is widely used in many sectors such as medicine, cosmetics and food and in the branches of those sectors, can be obtained by artificial means or by various extraction and distillation methods.

In this study, mint oil was obtained by various methods such as microwave extraction, distillation from the mint, an agricultural product produced in a wide range in Turkey. In the next stage, qualitative and quantitative analysis of the oil was carried out and the differences in the chemical contents of the oils obtained by different methods and the amount of mentol contained were compared and purification of the menthol from the oil was performed.

December 2019, 80 pages.

Keywords: Mint, mint oil, menthol, clevenger, thin-layer chromatography.

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihinin en eski dönemlerinden itibaren bitkiler; insanların beslenmesinden barınmasına, şifa bulmasına kadar hemen hemen her alanda kullanılmıştır. İnsanların bitkilerden elde ettiği şeylerden biri de uçucu yağlardır (Grassmann and Elstner, 2003). İlaç sanayinden, kozmetik, aromaterapi, alternatif tıp dahil hemen her alanda kullanılan uçucu yağlar bitkilerin kök, meyve ve kabuk kısımlarından elde edilmekte olup; kokulu ve uçucu olma özelliğine sahiptirler(Wallace, 2004).

Apiaceae (Maydonozgiller), *Asteraceae* (Papatyagiller), *Brassicaeae* (Turpgiller), *Chenopodiaceae* (Sirkengiller) gibi çeşitli familyalardan gelen bitkilerden uçucu yağ elde edilmesi için çeşitli metotlar geliştirilmiştir. Bunlar mekanik metotlar, destilasyon metotları ve ekstraksiyon metotları olmak üzere 3'e ayrılmaktadır. Mekanik metotlar presleme üzerine yoğunlaşırken, ekstraksiyon metotları ile bitkiden yağın ayrılması için bir çözücü eşliğinde işlem yapılmaktadır (Oussalah ve diğ., 2006).

Çalışmada Türkiye'deki farklı nane türlerinden mentol üretimi ele alınmıştır. Nane, biberiye (*Rosmarinus officinalis)* familyasından gelen; antiseptik ve ferahlatıcı özelliklere sahip bir bitkidir. Beslenmeden tıp, kozmetik ve daha birçok alanda kullanılan naneden mentol uçucu yağı üretilebilmektedir (Kılıç, 2008). Mentol ise, Paramentanoller sınıfından $C_{10}H_{20}O$ formülüne sahip bir moleküldür. Dört çift izomerden oluşan mentol birçok alanda kullanılmaktadır (Schelz, 2006). Çalışma kapsamında Türkiye'de yetiştirilen farklı nane türleri incelenerek, bu türlerden çeşitli yöntemler ile nane yağı ve mentol eldesi araştırılmıştır. Böylece literatüre geniş bir kaynak sunulması ve yeni araştırmalara öncü olması hedeflenmektedir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. NANE (*MENTHA SPP.*) BİTKİSİ

Kökeni özellikle Orta Avrupa ve Asya olan nane bitkisi oldukça çeşitlilik gösteren ve geniş bir yayılma alanına sahip olan bir bitkidir (Yıldırım, 2014). Türkiye'de kültür bitkisi olarak yetiştirilebilmektedir. Özellikle Batı Anadolu'da yayılmış olan nane tarihi ve kullanılışı çok eski zamanlara dayanan bir bitki olmaktadır. *Lamiaceae* ailesinden gelen nane bitkisinin yaygın olarak bulunan 13 ila 18 türü olsa da tahmini olarak dünya üzerinde bilinen 90 türü bulunmaktadır (Özgün, 2015).

Bol saçak kökten oluşan nanenin köklerinin büyük bölümü toprağın ilk yirmi ila otuz santimetrelik kısmına tutunsa da, köklerin sıklıkla seksen ila yüz santimetre derinliğe kadar indiği görülmektedir. Köklerin devamında yüzeye çıkan stalonların oluşturduğu nane sapları genellikle dört köşeli olmakta ve boğumlarından yaprak ve yan dallar çıkmaktadır. Bitkinin yaprakları da sapları da hafif tüylü, ya da tamamen tüysüz olabilir ancak bu bitkinin yapısı ya da kalitesi ile ilgili herhangi bir değişime neden olmamaktadır. Kumlu topraklardan killi humuslu topraklara kadar çeşitli toprak çeşitlerinde gelişim gösterebilen nanenin yetiştiği iklim özellikleri de yine toprak seçimi kadar geniştir. Toprak ya da iklim bakımından seçici bir bitki olmayan nanenin ılık ve rutubetli ortamlarda daha iyi gelişim gösterdiği, kurak ve sıcak ortamlarda büyümesinin daha sınırlı olduğu saptanmıştır. Ancak tamamen yetişmemesi neredeyse hiç görülmeyen bir durum olduğundan, nane yetiştiriciliği pek çok çeşitli alanda yapılabilmekte, sadece alınan verim değişiklik gösterebilmektedir (MEB, 2013). Aromatik ve uzun ömürlü bir bitki olan nanenin yetişme ortamları da oldukça çeşitlidir, ancak özellikle nemli topraklarda yetiştiği görülür. Boyutları on santimetreden bir metreye kadar değişkenlik gösteren nane bitkisinin yayılma hızı ve yayılabildiği alanın genişliği nedeniyle bazı durumlarda yetiştiği alanın kontrol altında tutulması gerekmektedir (Aflatuni, Ulusitalaflao, Ek ve Hohtola, 2005).

Mentha'nın tüm türlerinin optimum gelişime ulaşması ve maksimum verimin alınması için en yüksek 30°C derece ve en düşük 11°C sıcaklık aralığında üretimi, vejetatif üreme döneminden generatif üreme dönemine geçişi için günde 14 saat üzerinde güneşlenme süresi gerekliliği, en yüksek herbe verimine tam çiçeklenme döneminde ulaşıldığı bilinmektedir (Marotti, Dellacecca, Piccaglia ve Giovanelli, 1993).

Özellikle göl, dere ya da nehir çevrelerinde daha sık yetiştiği görülse de nanelerin pek çok koşul altında büyüyebildiği saptanmış ve doğrudan güneşe maruz kaldıklarında bile bu durumun değişmediği belirlenmiştir. Dahası, naneler diğer pek çok tarım ürünü ve bitkiye kıyasla, tüm yıl boyunca yetişmeyi sürdüren bitkiler sınıfındadır. Çok küçük bir miktarının dahi hızla yetişebilmesi ve çoğalabilmesi nedeniyle istilacı bir bitki olarak da görülebilen türleri de mevcuttur. En bilinen, en sık rastlanan ve kullanılan türleri *Mentha Piperita, Mentha Spicata, Mentha Gracilis* ve *Mentha Arvensis* olan nanenin aromatik kullanımlarının yanında kuliner ve medikal kullanımı da oldukça yaygındır (Bunsawat, Elliott, Hertweck, Sproles ve Alice, 2004).

2.2. NANE (*MENTHA SPP.*) TÜRLERİ

Nane, türleri oldukça yaygın ve çeşitli olan bir bitkidir. Mentol, karvon, menton ve pulegon gibi etken bileşenler içerir (Özgün, 2015). Pek çok türü olmasına karşın nanenin her türünün yetiştiriciliği ya da kullanımı mevcut olmamakta, nane bitkisi üstünde yapılan çalışmalar ve geliştirmeler genellikle dünya çapında nanenin en önemli üç türü üzerinde yapılmaktadır. Bunları *Mentha Piperita, Mentha Arvensis ve Mentha Spicata* olarak sıralayabiliriz. Bu üç türün üzerinde yaygın çalışmalar ve kullanım olması, özellikle dünya çapında kültürü ağırlıklı olarak yapılan nane türleri olmaları açısından önem taşımaktadır. Bu üç tür haricinde içerdiği bileşenlerden dolayı özel olarak ilgi ve araştırmaya maruz kalan nane türleri için *Mentha Citrata, Mentha Aquatica, Mentha Gentilis ve Mentha Variegata* sayılabilir. Ancak nanenin tür çeşitliliği bunlarla sınırlı değildir (Baydar, 2005).

2.2.1. Türkiye'de Yetiştirilen Nane (*Mentha Spp.*) Türleri

Türkiye'de mentha türlerinden elde edilen nane yaprağı ve yine bu bitkilerden elde edilen nane yağı çoğunlukla kullanılan bir baharat türü olarak tercih edilmesinin yanında aynı zamanda hastalık tedavilerinde alternatif tıp yöntemi olarak da başvurulan bir bitkidir (Erdemir, 1999).

Türkiye'de yapılan farklı çalışmalarda Mentha'nın 7 türü ve 12 taksonunun olduğu belirtilmiştir. Bu yedi tür *Mentha Pulegium* (Yarpuz), *Mentha Arvensis* (Kır Nanesi), *Mentha Aquatica* (Su Nanesi), *Mentha Rotundifolia, Mentha Longifolia, Mentha Spicata ve Mentha Nigricans* olarak sınıflandırılmıştır (Yıldırım, 2014). Ancak bütün bu türler Türkiye florasında bulunmasına karşın Türkiye'de yetişen en yaygın mentha türleri *Mentha Pulegium, Mentha Rotundifolia, Mentha Longifolia* ve *Mentha Aquatica*'dır (Özgün, 2015).

Mentha Pulegium içeriğinde pulegon bulundurmakta, *pulegon monoterpenik, monosiklik* yapılı ve çift bağlı bir keton içermekte ve nane kokusunda bir madde olarak bilinmektedir. Ancak nane kokusu taşımasına karşın etki ve koku bakımından mentolden farkı olması nedeniyle eş değerde kullanılamaz ve kristallendirilemez. *Monoterpenik* yapısı nedeniyle *pulegonun hepatotoksik* ve *pneumotoksik* etkileri vardır. Uçucu yağının Anadolu'da nane yağına eş bir ürün olarak kullanıldığı görülmektedir. *Pulegonun* eczacılıkta önemi büyüktür. Çünkü *pulegon* kendi başına mentol içeriğine sahip olmasa da basınç altında katalizörle ve hidrojenle redükliyerek mentole dönüştürülmesi, keton grubunun alkol grubuna dönüşmesiyle pulegonda bulunan çifte bağın doyarak mentol üretmesi mümkündür. Bu yöntem yapay mentol yöntemleri arasında önemli bir yöntemdir (Ertürk, Çelik, Kaygusuz ve Aydın,2010). *Mentha Pulegium* yaprağında bulunan GSH (İndirgenmiş Glutatyon) miktarının 185.71±10.61 µg/g; GSSG (Yükseltgenmiş Glutatyon) miktarının ise 280.48±24.58 g/g olduğu belirtilmektedir (Çöteli, Erden ve Karataş, 2013).

Su nanesi olarak bilinen *Mentha Aquatica* Anadolu'nun pek çok bölgesinde doğal olarak yetişmektedir. Uçucu yağı mentofuran bakımından zengin olarak kabul edilen *Mentha Aquatica*'nın uçucu yağ bileşeni miktarı mevsim, iklim ve bitki yapısına göre farklılık gösterir (Jagetia ve Baliga, 2002).

2.2.2. Dünya'da Nane *(Mentha Spp.)* Türleri

Oldukça eski zamanlardan beri yaygın bir biçimde antiseptik, spazmolitik, korrigen ve karminatif olarak kullanılan Mentha'nın 1696 yılında ilk kez tedavi amaçlı kullanılabileceği belirtilmiş ve *Mentha Palustris* olarak adlandırılmıştır. Daha sonra aynı tür 1753 yılında *Mentha Piperita* şeklinde tanımlanmış, 20. yüzyılın başlarında ise göçmenler tarafından Amerika kıtasına yayılmıştır (Yıldırım, 2014).

Dünya çapında en çok yetişen ve kullanılan üç nane türü *Mentha Piperita, Mentha Arvensis ve Mentha Spicata*'dır (Özgün, 2015). *Mentha Piperita*, yani bahçe nanesi ya da tıbbi nane, Güney Avrupa kökenli, otuz ila yüz santimetre arasında boyu değişen, sulak ve ılıman iklimlerde üretilen bir bitkidir. Amerika, Avrupa ve Asya'da üretimi görülür. *Officinalispallens* (beyaz) ve *officinalisrubescens* (siyah) olmak üzere iki varyetisi önemle ön plana çıkmaktadır. Beyaz varyetesi yeşil gövdeli ve beyaz çiçekli bitki verirken, siyah varyetesi kırmızımsı gövdeli ve leylak tonlu çiçek vermektedir. Tohum vermeyen bir bitki olduğundan çoğaltılması için farklı

yöntemler kullanılması gerekmektedir. Stalon sürgün veya ayırma yöntemi genelde tercih edilen çeşitlerdir. Çiçek açma dönemindeki taze *Mentha Piperita* bitkisinden %0.5-2 verim alınabilmekte, su buharı destilasyonu yardımıyla uçucu yağ elde edilebilmektedir, ki siyah naneden elde edilen uçucu yağ "*mitcham esansı*" olarak adlandırılmaktadır (Özgün, 2015). *Mentha Piperita*'dan elde edilen uçucu yağın başlıca bileşenleri ise mentol (%30-60), menton (%10-30), mentofuran (%1-10), mentil asetat (%3-10), γ-terpinen (%3-10), α- ve β- pinen, 1,8-sineol, limonen, linalol, etil amilkarbinol, pulegon ve piperitondur (Akgül, 1993).

Dünya çapında üretilen ve damıtılan tüm nane yağları içinde en verimli yağ elde edilen ve en kaliteli sonucu veren nane türü *Mintha Piperita - Officinalis* türüdür. Ayrıca İngiltere'de de en çok üretilen nane varyetesi olarak bilinmektedir (Baydar, 2005).

Mentha Arvensis, ya da halk arasında bilinen adı ile tarla nanesi, özellikle Japonya'da kültürü yapılan çok yıllık bir nane türüdür. En yaygın bulunan iki varyetesi *piperascens holmes* ve *glabrata holmes* olarak kabul edilmektedir. *Mentha Arvensis*'ten damıtılan uçucu yağın mentol oranı %90'dır, bu nedenle mentol elde edilmek istendiğinde çok fazla kullanılan bir nane türüdür. Doğal mentol üretimi *Mentha Arvensis*'ten elde edilen uçucu yağın soğukta kristallendirilmesi sonucu sağlanabilir. Dahası, ilk kristallendirmeden kalan yağın fraksiyonlu destilasyon ile ayrılıp yeniden kristallendirilmesi elde edilen doğal mentolün veriminin yükseltilmesini sağlamaktadır (Tanker ve Tanker, 1976).

Mentha Spicata, ya da yeşil nane, kısa boylu, parlak yeşil renkli ve mavi çiçekli bir türdür. Uçucu yağı çiçekli taze bitkiden, su buharı destilasyonu yoluyla damıtılmakta ve % 0.6 verim sunmaktadır. Uçucu yağının başlıca bileşenleri l-karvon (%40-70), limonen (%20), karveoller, karvon izomerleri, karvil asetatlar, ayrıca mentol, borneol, linalol, menton, jasmon, perilalkol, monoterpenler ve seskiterpenlerdir (Akgül, 1993).

2.3. NANENİN (*MENTHA SPP.*) KULLANIM AMAÇLARI

Mentha türlerinin çeşitli kullanımlarına tarih boyunca rastlanmıştır. Bu kullanımlar kuliner olabileceği gibi medikal de olabilmektedir (Özgüven, Kırıcı, Mengel, 1995). Mentha'nın medikal kullanımının tarihi antik Yunana uzanmaktadır. Antik Yunan bitkisel farmakopesinde doğal olarak yetişmiş çeşitli Mentha türlerinin yapraklarının sindirime yardımcı ya da safra kesesi hastalıkları tedavisinde dahili olarak kullanıldığı, üst solunum yolları problemlerinde ise

semptom giderici ve öksürük önleyici olarak inhalasyon yöntemiyle alındığı bilinmektedir. Naneden elde edilen mentolün ayrıca solunum tıkanıklığı tedavisinde, baş ve kas ağrılarının giderilmesinde kullanıldığı görülmektedir (Kokkini, 1991). Ortodonti alanında nane özü diş macunu, ağız çalkalama suyu gibi ürünlerde aroma verici olarak kullanılmaktadır. Bunun dışında özellikle sindirim sistemi hastalıklarında Mentha bitkisine sıklıkla başvurulur. Mentha ishalde, dizanteri gibi hastalıklarda, bağırsak kurdu ya da solucanlarını düşürmede başvurulan, mide kramplarını, gaz ve sancıyı gidermede tercih edilen bir bitkidir. Aynı zamanda gıda olarak da kullanılan bir başka Mentha türü olan *Mentha Spicata*'nın yaprakları antiseptiktir, bu nedenle sinirsel kökenli mide bulantılarına bulantı kesici ve gaz söktürücü olarak kullanılır (Başer, 1997). Mentha ayrıca, safrayı ve karaciğeri de harekete geçirmektedir. Menthadan elde edilen mentolün uçucu yağının şakaklara sürülmesi baş ağrısı tedavisi yöntemi olarak kullanılır. Konu ile ilgili yapılan çalışmalarda mentha uçucu yağlarının tansiyon kaynaklı baş ağrılarında da ağrı kesici etki sağladığı ortaya konmuştur (Ceylan,1987). Sporculara ise spor yaptıktan sonra yine mentol uçucu yağıyla yapılan masajın kas gevşetici etkisinin yanında bağışıklık sistemini takviye ederek soğuk algınlığından koruduğu da bilinmektedir. Yine bir medikal kullanım olarak mentha uçucu yağının sedatif etkisi bulunmaktadır, bu sayede kalp çarpıntısını dindirme ve sinir halinde rahatlatma amaçlı kullanılabilmektedir (Langiston, Leopold, 1954).

Kuliner alanda ise çay ve baharat olarak oldukça tüketilen Mentha türlerinin pek çok türü farklı ülkelerde bitki çayı olarak kullanılmaktadır. *Mentha Arvensis* ve *Mentha Piperita* içeriğindeki yüksek mentol oranı nedeniyle Çin, Amerika ve Hindistan'da özel olarak tarımı yapılmaktadır (Özgün, 2015). Dünyada da Mentha bitkisinden üretilen uçucu yağ miktarı Citrus yağlarından sonra ikinci sıradadır ve gün geçtikçe artmaktadır (Kokkini, 1991). Tablo 2.1'de nane yağının fiziksel özellikleri ve Tablo 2.2'de mentolün fiziksel özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.1: Nane Yağının Fiziksel Özellikleri (Pubchem, 2019)

Yoğunluk (g/cm^3, 25°C)	0.896-0.908
Kırılma İndisi (n_D^{25})	1.460-1.464
Çözünürlük	Alkolde çözünür, suda çözünmez
Kaynama Noktası (°C)	215

Tablo 2.2: Mentolün Fiziksel Özellikleri (Turner ve Harris, 1952)

Molekül Kütlesi (g/mol)	156.27
Molekül Formülü	$C_{10}H_{20}O$
CAS Numarası	89-78-1
Erime Noktası	42.5°C
Kaynama Noktası	212°C
Yoğunluk (g/cm^3, 25°C)	0.904
Çözünürlük	Alkolde çözünür, suda çözünmez
Kırılma İndisi (n_D^{25})	1.467

2.4.UÇUCU YAĞLAR

Uçucu yağ elde etmenin tarihi 1300'lü yıllarda, Avrupa'nın İspanya ve Fransa ülkelerinde geliştirilen destilasyon metodu ile başlamış, 1550'li yıllarda ise farmakoloji gibi daha çeşitli ve tamamen farklı dalların ihtiyaçlarını da karşılayabilmek amacıyla geliştirilmesi devam etmiş ve yeni tekniklerin üretimine neden olmuş bir alandır. Günümüzde klasik destilasyon yöntemi hala kullanılıyor olsa da ağırlıklı olarak ileri teknolojiden yararlanan modern yöntemler tercih edilmektedir (Rangahau, 2001). Laboratuvarda teşhisi yapılan bitki örneklerinin uçucu yağları clevenger cihazı aracılığıyla minimum üç, maksimum altı saatte, hidrodestilasyon yöntemi ile elde edilmektedir. Bahsi geçen aletin Avrupa ve İngiltere farmakopisine göre çeşitli tipleri vardır (Başer, Kürkçüoğlu ve Aytaç, 1998).

Kozmetik, parfümeri, farmakoloji, gıda sanayi gibi pek çok alanda görülen uçucu yağ ihtiyacını karşılamak için tarih boyunca pek çok yöntem geliştirilmiştir. Özellikle su destilasyonu, ekstraksiyon ve presleme yöntemleri yaygın olarak kullanılan yöntemlerdendir (Şebik, 2011).

2.4.1. Uçucu Yağların Tanımlanması

Uçucu yağlar, aromatik materyalden elde edilen, kalıcı olmayan, uçucu koku bileşikleri tarafından oluşturulmuş homojen karışımlardır. Pek çok bitkinin kendine has ve tercih edilirliği yüksek aromatik kokularının bulunması, bitkilerin pek çok farklı bilimsel ve kozmetik alanda faydaları ve koku çeşitliliği uçucu yağ ihtiyacının temelini oluşturur. Bitkilerin yaydığı kokular bitkinin içeriğindeki maddeler nedeniyle ortaya çıkar ve doğru yöntemle bitkiden ayrıştırıldığı

koşulda uçucu yağ elde edilmektedir. Bu maddelerin yağ olarak sınıflandırılmasının nedeni su yüzeyinde bir tabaka halinde formunu korumasıdır. Açıkta bırakıldıklarında buharlaşmaları nedeniyle uçucu olarak sınıflandırılırlar, ancak özellikle kokuları ile bilindiklerinden pek çok kaynakta esans olarak da adlandırılmaktadırlar (Bal, 2001).

Uçucu yağ sağlanabilen bitkiler ağırlıklı olarak *Lamiaceae, Myrtaceae, Rutaceae, Coniferae, Compositae, Umbelliferae* ve *Graminae* familyaları üyelerinden çıkarlar (Şebik, 2011).

2.4.2. Uçucu Yağ Özellikleri

Esansiyel yağ olarak da ifade edilebilen uçucu yağların oda sıcaklığında sıvı halde bulunduğu, genellikle renksiz veya açık sarı renkte olduğu, kuvvetli bir kokuya sahip olduğu bilinmektedir, bu yağlar aynı zamanda kolay kristalleşebilen doğal ürünlerdir. İhtiyaç duyulmadıkça su ile karıştırılmazlar (Biçer, Özkan ve Ergen, 2003). Protoplazmada ya da hücre duvarındaki reçine tabakasının ayrışmasıyla oluştuğu ileri sürülen uçucu yağların aynı zamanda glikozitlerin hidrolizi yolu ile de meydana geldiği daha önce yapılmış çalışmalarda saptanmıştır (Erdemgil, 1992).

Ağırlıklı olarak uçucu yağlar maddesel açıdan sudan hafif olmalarıyla bilinirler, ancak tarçın yağı, karanfil yağı, hardal yağı gibi bazı yüksek aromalı veya kükürtlü uçucu yağların yoğunluğu daha fazladır. Su ile sürüklenebilirler ve filtre kağıdı üzerinde leke bırakmazlar. Uçucu yağların yağ asidi trigliserit yapıda değildir, ancak belirli ışık ve hava koşullarına maruz bırakıldıklarında zaman içinde oksitlenerek reçineleştikleri gözlemlenmiştir (Ceylan, 1987).

Hidrofobik alkollerde, *apolar* ya da zayıf *polar* özellik gösteren çözücüler içinde, petrol eteri, kloroform, benzen, eter, etanol gibi organik çözücülerde, mumlar ve yağlarda çözünürler. Genellikle çok sayıda bileşiğin karışımıyla oluştuklarından kimyasal bileşimleri oldukça karmaşık olan uçucu yağlar genellikle hidrokarbonlar ve hidrokarbonların oksijenli türevlerinden meydana gelirler. Bu duruma uygun hidrokarbon türevleri için alkoller, asitler, esterler, aldehitler, ketonlar, fenol ve fenol eterleri, kinonlar, laktonlar, furan türevleri, oksitler, aminler ve kükürtlü bileşikler sayılabilir (Kılıç, 2008).

Uçucu yağ içeriğinde yer alan maddeler ağırlıklı olarak terpen kökenlidir. Bunlar izopren türevi olup, monoterpen, seskiterpen ve diterpenlerle bunların oksijenli türevlerine uçucu yağlarda sıklıkla rastlanır. Glikozit halde, reçinelerle (oleorezin) ve zamkla (oleogummirezin) birlikte bulunabilirler (Başer, Kırımer, Koşar ve Tunalıer, 2005).

Uçucu yağların alınacağı bitkilerin önemini belirleyen asıl unsur bitkinin etken maddesidir. Başta bitkinin genetik yapısı olmakla birlikte, iklim, çevresel etkenler, kültürel uygulamalar, bitkinin yetiştiriciliğinin yapıldığı bölge ve bitkinin morfogenetik değişkenliği ile ontogenetik değişkenliği gibi pek çok faktöre bağlı olarak değişiklik gösterir (Uyanık, 2013).

Kırılma indisleri oldukça yüksek olan uçucu yağların çoğunluğu optikçe aktiftir. Kırılma indisinde ve polarize ışığı çevirme derecesinde değişim saptanması uçucu yağın saflığının bozulduğunu göstermektedir (Tanker, Şarer, Tanker, 1976). Bazen bitkinin tamamından, bazen ise bitkinin yalnızca belirli kısımlarından elde edilebilen uçucu yağlar, bitkinin yaprak, çiçek, meyve, tohum, kök ve rizozomlarından elde edilebilir. Bitkinin her kısmında bulunabileceği gibi yalnızca bir kısmında, ya da birden fazla kısmında da bulunabilirler (Yakar ve Bilge, 1987). Uçucu yağların bulunduğu bitki kısmı, bitkinin bağlı olduğu familyaya göre çeşitlilik gösterebilir, salgı tüyleri, salgı cepleri, salgı kanalları ya da salgı hücrelerinde bulunabilir (Başer, Kırımer, Koşar ve Tunalıer, 2005).

2.4.3. Uçucu Yağların Sınıflandırılması

Uçucu yağların sınıflandırılmaları pek çok yöntemle yapılabilir. Bunların çeşitliliği ise uçucu yağın belirlenmek istenen kalitesine ve yağın elde edildiği bitki familyasına göre değişiklik gösterebilmektedir (Başer, 1999).

Uçucu yağların yoğunluğu sınıflandırma için bir ölçüttür. Yoğunluğuna göre uçucu yağlar üçe ayrılır; esans, balsam ve reçine. Akışkan olan esanslar likit halde bulunurlar ve oda sıcaklığında buharlaşırlar. Uçucu yağların elde edilmesi bitkinin işlemden geçirilmesi sonucu olur. Balsamlar doğrudan ağaçtan ya da bitkiden elde edilmiş, buharlaşabilen yoğunluğu daha yüksek doğal maddelerdir. Yüksek benzoik asit içeriğine sahip olabilirler. Uçucu yağlar kadar uçucu değillerdir ve polimere dönüştürme işleminde tepkimeye daha az girerler. Likit halde bulunan amber bir balsam örneğidir. Reçineler ise farklı formlarda bulunabilirler. Katı ya da yarı katı halde bulunan, uçucu yağ miktarı açısından fakir olan reçineler ile uçucu yağ ve

reçinenin homojen karışımından oluşan, yağ bakımından zengin ayrıca buhar destilasyonuyla kolaylıkla reçinenin ve uçucu yağın birbirinden ayrılabildiği oleoreçineler ve sakız reçineleri bulunmaktadır.

Doğallığına göre sınıflandırmada ise; uçucu yağı doğal uçucu yağ, yapay uçucu yağ ve sentetik uçucu yağ olmak üzere üç başlıkta incelenir. Doğal uçucu yağlar; edinilen uçucu yağın saf biçimde kaldığı haldir, bitkiden doğrudan elde edilmiş, daha sonra da herhangi bir kimyasal işlem görmemiş yağlar doğal uçucu yağ olarak sınıflandırılır. Yapay uçucu yağlarda uçucu yağın saflığının bozulduğu, ya da elde edilen küçük miktarda doğal uçucu yağın yapay yöntemlerle çoğaltıldığı, ya da zenginleştirildiği, kimyasal bir işlem geçirdiği durumlardır. Sentetik uçucu yağlarda ise durum uçucu yağ dokusunda ve yapısında bir maddenin dışarıda laboratuvar ortamında elde edilmesidir. Uçucu yağı oluşturan bileşenlerin ya da kimyasal sentezlerin dış etkiyle oluşturulduğu ve birleştirildiği, ancak doğal uçucu yağ elde etme işlemine kıyasla çok daha hızlı, kolay ve ucuz olması nedeniyle piyasa tarafından oldukça tercih edilen bir uçucu yağ formudur (Guillen, Cabo, 1996).

Kimyasal sınıflama; yağın içeriğindeki kimyasal bileşenlerin ölçülmesine yardımcı olan bir yöntemdir. Turunçgil bazlı uçucu yağların hidrokarbon içeriği ayırıcı olabilirken bazı nane türlerinde hidroksil grubundan izler görülmesi gibi temel kimyasal bağlar uçucu yağın geldiği familyayı bulmamıza, ya da uçucu yağın edinildiği bitkiyi kendi familyası içinde sınıflandırmamıza yardımcı olur (Reichling, Schnitzler, Suschke ve Saller, 2009).

Son olarak da piyasada uçucu yağlar aromalarına göre sınıflandırmaktadır. Çiçekçi, turunçgil bazlı, odunsu, oryantal ya da baharatlı gibi koku alt tonlarına göre yapılan sınıflandırmalar sadece uçucu yağlar için değil, aynı zamanda parfüm, kolonya gibi diğer uçucu maddeleri sınıflandırmak için de kullanılan yöntemlerdir (Başer, 1999).

2.4.4. Uçucu Yağ Elde Etme Metotları

Bitkiler, insan ve hayvanlardan sonra üçüncü canlı grubunda yer almaktadır. Bitkilerden her alanda faydalanıldığı gibi besin, kozmetik vb. çeşitli alanlarda kullanılmak üzere yağ elde etmede de yararlanılmaktadır (Vas and Vekey, 2004).

Uçucu yağlar elde edilmesi, depolanması ve muhafazası emek isteyen maddelerdir. Genellikle uzun sürede elde edilirler ve ısı, ışık, hava geçirmeyecek şekilde koyu renkli cam şişelerde muhafaza edilirler (Yaylı ve diğ., 2005).

İçerisinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları da graniol, nerol, menthol, caren şeklindedir. Uçucu yağ elde edilmesi sürecinde bu bileşiklerin ayrılması gereklidir (Guenther, 1948).

Uçucu yağ elde etme üzerine 14.yüzyıldan beri çeşitli metotlar geliştirilmiştir. 1300'lü yılların başında İspanya ve Fransa'da damıtma yöntemleri uygulanmış, 16.yüzyılla birlikte özellikle eczacılık alanındaki gelişmelerle birlikte çeşitli yeni yöntem arayışları başlamıştır. Uçucu yağları elde etme metotlarında özellikle dikkat edilen husus, metotun bitkinin doğalına zarar vermemesi ve elde edilen yağların doğala en yakın şekilde sağlanması olmuştur (Rangahau, 2001). Bilhassa günümüzde sanayi ve teknolojinin gelişmesiyle işlenen ürünlerin sayısı oldukça arttığı için uçucu yağlar söz konusu olduğunda aroma, renk ve koku gibi birçok özelliğin korunarak bitkiden ayrışması adına yeni metotlar üzerinde çalışılmıştır (Hışıl ve Ünlü, 1996).

Uçucu yağ elde etme metotları bitkinin cinsine, bitkide yer alan yağ miktarına, bitki kısmının özelliklerine bağlı olarak değişmektedir (Bayrak, 2006).

Metot seçimi ne olursa olsun, uçucu yağ elde edilecek olan bitki işleme tabi tutulmadan evvel çeşitli şekillerde hazırlanır. Bitkinin toplanması, doğallığını muhafaza edecek şekilde korunması, kurutulma ve öğütülmesi, pres veya çeşitli metotlar için hazırlanması önemlidir (Sarker vd., 2006). Örneğin; ekstraksiyon metotları içerisinde yer alan mesarasyon için bitkinin inkübatöre girmeden evvel çözücü ile bekletilmesi gereklidir (Wijesekera, 1991).

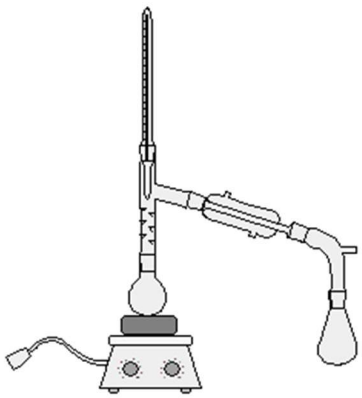
2.4.4.1. Mekanik Metotlar

Literatürlerde pressing (baskılama) olarak da geçen mekanik metotlar özellikle turunçgil gibi bitkilerin kabuklarında uçucu yağların çok fazla olmasında ötürü kullanılan bir metottur. Yöntemde yağ elde edilecek olan bitki veya bitkinin ilgili kısmı soğuk hidrolik preslere konulur ve onların baskılanması/sıkılmasıyla yağ elde edilir (Ceylan, 1983).

2.4.4.2.Destilasyon Metotları

Destilasyon yöntemi sıvı karışımların birbirinden kolayca ayrılması için uygulanan bir damıtma yöntemidir. Yöntem temelde kaynama noktaları birbirinden farklı olan sıvıların ayrılmasında kullanılmaktadır. Uçucu yağların bitkilerdeki oranına göre kaynama noktaları farklı olabileceği için destilasyon metotları da uçucu yağ elde etme amaçlı bitkilere uygulanan bir yöntemdir (Sefidkon ve diğ., 2007).

Destilasyon iki veya daha fazla sıvı bileşeni veya buhar halindeki maddeyi ayırmak için kullanılan bir yöntemdir. Yani destilasyondaki amaç iki veya daha fazla sayıdaki uçucu maddeyi birbirinden ayırmaktır. Bu yöntem ile birbirinden ayrılacak olan yağlar genellikle kaynama noktası düşük bileşikler, kaynama noktası yüksek bazı bileşikler ve suda çözünen bileşiklerdir (Lawrence, 1995). Şekil 2.1'de basit destilasyon düzeneği gösterilmektedir.



Şekil 2.1: Basit Destilasyon Düzeneği (Lawrence, 1995)

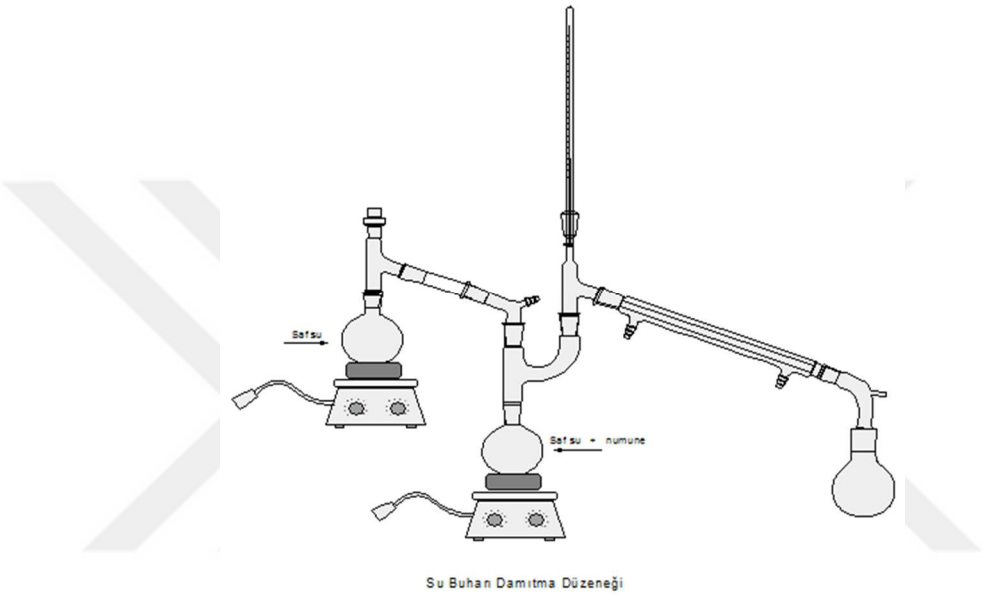
Destilasyon metotları kendi içerisinde su destilasyonu, buhar destilasyonu, hidrodifüzyon, fraksiyonel destilasyon, vakum destilasyonu, su-buhar destilasyonu, mikrodalga destekli destilasyon olmak üzere gruplara ayrılmaktadır (Sefidkon ve diğ., 2007).

- **Su Destilasyonu (Hydrodistillation)**

Kaynatıldığında bozulmayan uçucu bileşiklerin ayrılmasında kullanılan su destilasyonu, geleneksel ve çok kullanılan bir yöntemdir (Jadhav, 2004). Yöntemde bir cam balon içerisinde su ve bitki materyali konulur ve 2-8 saat aralığında bitkinin kaynatılması beklenir. Burada amaç yağ moleküllerinin su ile birlikte soğutucuda ayrışmasını sağlayarak uçucu yağı elde etmektir. Ester içeren yani oksijenli asidin alkolle karıştığı kimyasal bileşikler su destilasyonu ile

ayrışmazlar. En iyi sonucu kök veya odun unu gibi toz olan materyallerde vermektedir (Thapa, 1989).

Su destilasyonlarında sıvının pH değeri kontrol edilememektedir. Bu da yüksek sıcaklıkta çeşitli termal reaksiyonlar olmasına sebebiyet verebilmektedir (Wijesekera, 1993). Şekil 2.2'de su destilasyon düzeneği gösterilmiştir.



Şekil 2.2: Su Destilasyon Düzeneği (Wijesekera, 1993)

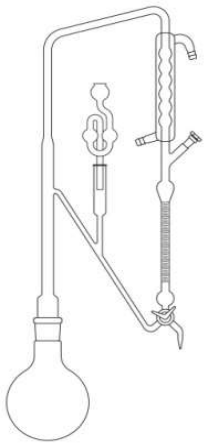
Su destilasyonunda bitkisel materyal düzenekte sürekli olarak su ile temas etmelidir. Bu nedenle buharlaşmanın olmasının ardından tekrar suyun eklenmesine dikkat edilmelidir (Tanker and Tanker, 1976). Aksi takdirde materyalin yanması veya kokunun kömür, yanık kokusuna dönüşümü görülebilmektedir. Bunun yanı sıra yağın doğal yapısına da zarar gelebilmektedir (Ünlü ve Hışıl, 1997). Destilasyon kazanının yanına konulacak olan damıtma tüpü kazandaki su miktarının sabit kalmasını sağladığı için oldukça önemlidir (Lawrence, 1995).

Su destilasyonu ile elde edilen yağlar diğer uçucu yağlara göre çok daha düşük kalitede olmaktadır. Öztekin ve Soysal (2015) bu durumun nedenini şöyle sıralamıştır: (Öztekin ve Soysal, 2015)

- Ester gibi bileşenlerin hidroliz duyarlılığı
- Fenollerin, oksijence zengin suda dahi tamamen bileşenden uzaklaşmaması
- Genellikle küçük ölçekte uygulanan su destilasyonu zaman aldığı için iyi – kötü yağların tam anlamıyla ayrışmaması
- Yerel çapta uygulanan destilasyon işleminin iyileştirilmesine üreticilerin önem vermemesi
- Buhar destilasyonuna göre harcanan enerjinin verim düşürmesi

Su ile destilasyon yöntemi Türkiye'de uçucu yağ üretiminde oldukça kullanılan bir metottur. Özellikle gül yağı üretiminde kullanılmaktadır. Bu denli yaygın kullanımının iki nedeni vardır. İlki kazan, yoğuşturucu ve toplama kabı düzeneğinin basit olması, ikincisi ise maliyet olarak ucuz olmasıdır. Buhar destilasyon düzeneğinin pahalılığına göre su destilasyon düzeneği daha az sermaye gerektirmektedir. Fakat buhar düzeneği ile kıyaslandığında verimi daha düşüktür (Başer, 1992).

Clevenger Aparatı Kullanarak Yağ Elde Etme İşlemi: Su destilasyonunun daha küçük ölçekli uçucu yağ üretiminde destilasyon düzeneğine clevenger aparatı eklenerek yapılmaktadır. Bunlar endüstriyel olmayan üretimler için geçerlidir (Chemat ve diğ., 2011). Şekil 2.3'de clevenger aparatı gösterilmektedir.

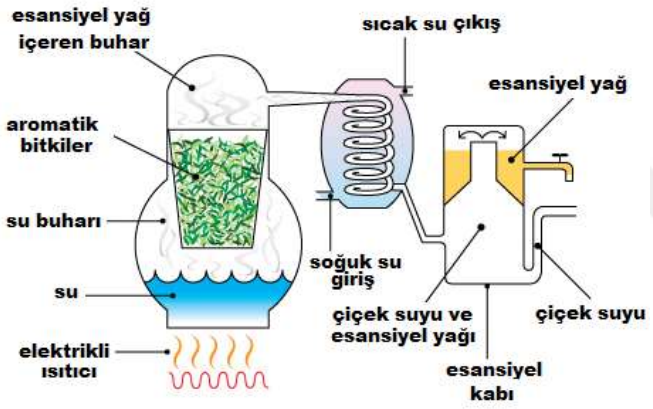


Şekil 2.3: Clevenger Aparatı (Chemat ve diğ., 2011)

Su destilasyonunda görülen degredasyon işlemleri clevenger aleti için de geçerlidir. Suyun sıcaklığına ve kaynama noktasına dikkat edilmeli, kazanda su olduğu sürekli gözlemlenmelidir (Rowe, 1989). Aksi durumlarda bu sistemde de aynı riskler oluşmaktadır (Sefidkon ve diğ., 2007).

- **Buhar Destilasyonu (Steam Distillation)**

Buhar destilasyonu yönteminde bitki cam kap ve yağın birikeceği kap yerleştirilir ve basınç yardımıyla bitkiye buhar verilir. Bitki yüzeyinde oluşan su kabarcıkları bitkideki yağı beraberinde taşıyarak yardımcı kaba sürükler (Linskens and Jackson, 1997). Buhar destilasyonu özellikle eterik yağların oluşmasında kullanılan bir destilasyon metodudur. Şekil 2.4'te buhar destilasyon ünitesi gösterilmektedir.



Şekil 2.4: Buhar Destilasyonu Ünitesi (Linskens and Jackson, 1997)

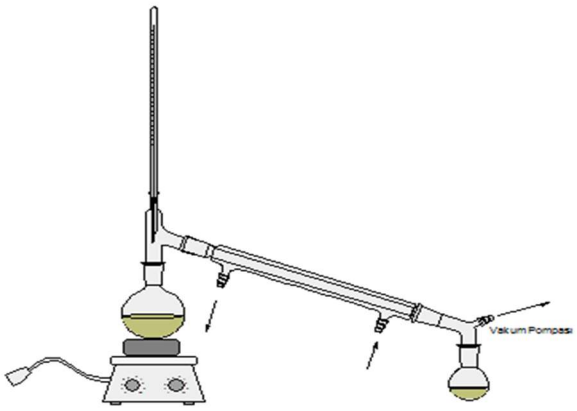
Sıcaklıkta bozunabilen ve hidrolize edilen bitki materyallerine uygulanan buhar destilasyonu buharın hızı ve ısısının kontrol edilebilmesi yönünden oldukça avantajlıdır. Bu sayede su destilasyonunda yaşanacak degredasyon sorunları buhar destilasyonunda ortaya çıkmamaktadır (Boydağ, 2004).

Buhar destilasyonunun birçok avantajı bulunmasına karşın dezavantajı ise destilasyon ünitesinin oldukça pahalı olması ve yüksek sermaye gerektirmesidir. Eterik yağların ekstraksiyonu yapılan bu düzenek, sermayeye yapılan yatırımı ancak 10 sene içerisinde alabilmektedir (Öztekin ve Soysal, 2015).

- **Vakum Destilasyonu (Vacuum Distillation)**

Vakum destilasyonu, çoğunlukla kaynama noktası yüksek olan bazı bileşiklerin ayrılmasında kullanılmaktadır. Destilasyonda bileşiği ayırma adına kaynama noktasını artırmak yerine basıncı azaltarak vakum uygulaması yapılır. Bunun sonucunda tüm bileşikler ayrılarak yağ elde edilir (Kılıç, 2008).

Bir sıvının kaynama noktası buhar basıncının dış basınca eşit olmasıyla birlikte başlamaktadır. Bu nedenle vakumla destilasyon yönteminde dış basıncın düşürülerek bileşiğin daha düşük bir sıcaklıkta kaynatılarak damıtılması ve ayrışması sağlanır. Vakum destilasyonunda basıncı düşürmek adına vakum pompası veya su trompu kullanılmaktadır. Şekil 2.5'te vakum destilasyon düzeneği gösterilmektedir.



Şekil 2.5: Vakum Destilasyonu (Kılıç, 2008)

2.4.4.3. Ekstraksiyon Metotları

Ekstraksiyon metotları çeşitli çözücü maddelerin kullanılmasıyla bitki dokusundaki antimikrobiyal maddenin ayrılmasını ifade eder. Ekstraksiyon işlemi öncesinde bitkinin yıkanması, kurutulması gibi işlemlerinin yapılması gerekir. Tüm bu işlemlerde amaç, çözünür bitki kısımlarını çözünmeyen kısımlardan ayırmaktır (Abascal and Yarnell, 2002).

Ekstraksiyon metotları geleneksel ve modern metotlar olmak üzere iki grupta incelenebilir. ayrılmaktadır. Geleneksel metotlar soxhlet ekstraksiyonu, maserasyon ve sonikasyondur. Modern ekstraksiyon metotları ise süperkritik akışkan ekstraksiyonu, mikrodalga ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu şeklindedir (Sasidharan, 2012). Tablo 2.3'te ekstraksiyon metotlarının uygulama koşulları gösterilmiştir.

Tablo 2.3: Bitkisel Materyallerin Ekstraksiyonunda Kullanılan Yöntemlerin Uygulama Koşulları (Sasidharan, 2012)

	Soxhlet	**Sonikasyon**	**Maserasyon**	**Süperkritik**	**Mikrodalga**	**Basınçlı Sıvı**
Çözücüler	Metanol, etanol veya alkol-su karışımı	Metanol, etanol veya alkol-su karışımı	Metanol, etanol veya alkol-su karışımı	Karbondioksit ya da karbondioksit modifiyeleri	Metanol, etanol veya alkol-su karışımı	Metanol
Sıcaklık	Kullanılan çözücüye bağlı	Isıtılabilir	Oda sıcaklığı	40-100	80-150	80-200
Basınç	Uygulanmaz	Uygulanmaz	Uygulanmaz	250-450 atm	Sistemin türüne bağlı	10-20 bar
Zaman	3-18 Saat	1 Saat	3-4 Gün	30-100 dakika	10-40 dakika	20-40 dakika
Çözücü hacmi (ml)	150-200	50-100	Örnek miktarına bağlı	Kullanılmaz	20-50	20-30

Ekstraksiyon metotları içerisinde her biri için kullanılan çözücü, sıcaklık, uygulanan basınç, bekleme süresi ve kullanılan çözücü miktarı oldukça önemlidir (Wang and Weller, 2006). Materyal bitkinin yapısına bağlı olarak bir çözücü kullanılır. Yine kullanılan çözücü için gereken hacim bitkinin yapısındaki bileşiğin miktarına ve kullanılan ekstraksiyon metoduna bağlı değişmektedir (Şahin, 2006).

- **Maserasyon**

Maserasyon, ıslatıp yumuşatma anlamına gelen bir ekstraksiyon metodudur. Metotta uçucu yağ çıkarılacak olan bitki kurutulmuş haliyle işleme sokulur. Kuru bitki ve çözücü belirlenen sıcaklığa göre inkübasyonu yapılacak olan inkübatöre konulur (Sozio, 1956). Daha önce bir kapta maserasyon etkisini artırmak için kuru bitki ve çözücü iyice karıştırılabilir (Chen and Spiro, 1995). Bu durum çözücünün bitki hücrelerinde daha çabuk ayrışmasını sağlar (Naves and Mazuyer, 1947).

Maserasyon işlemi kimi bitkilerin eterik yağlarında glikozitik olarak bağlı olduğundan yapılmaktadır. İşlem sırasında yağın çıkarılması için yumuşatma uygulanır (Legast and Peyron, 1983). Maserasyon işlemi genellikle acı badem tohumları, keklik üzümü gibi bitkilere uygulanmaktadır (Meyer-Warnod, 1984). Şekil 2.6'da maserasyon yöntemi için kullanılan inkübatör gösterilmektedir.



Şekil 2.6: Maserasyon Yönteminin Uygulandığı Soğutmalı ve Çalkalamalı İnkübatör
(Meyer-Warnod, 1984)

Maserasyon yöntemi özellikle uçucu yağların ayrışmasında, esansiyel yağ üretiminde çok sık kullanılan bir yöntem olarak bilinmektedir. Maserasyon yönteminin adımları şu şekilde sıralanabilir: (Azmir vd., 2013)

- Kullanılacak bitki materyalinin kurutulması
- Bitki materyali ile çözücünün bir kapta bekletilmesi
- İnkübatörde uçucu yağ elde etme adına maserasyonun gerçekleşmesi
- Maserasyon sonucu yağın ayrışması

Maserasyon işlemi oldukça eski bir metottur. Hem uzun zaman almakta, hem de harcanan emeğe kıyasla verimi az olmaktadır. Maserasyonun zorluğu materyalin belli bir sıcaklıkta yağa batırılıp bekletilmesi sürecidir. Bu süreçte hem sıcaklığın sabit kalması, hem de çözünmeyi beklemek gerekmektedir (Mukhopadhyay, 2000).

- **Soxhlet Ekstraksiyonu**

Katı veya yarı katı numuneler için kullanan soxhlet ekstraksiyonu, bilinen en eski ekstraksiyon yöntemlerinden biridir. Ekstraksiyon için kullanan soxhlet cihazı uygun fiyatlı ve temini kolay olduğu için yöntem sıklıkla kullanılmaktadır. Organik bileşiklerin katı örneklerden

ekstraksiyon edilmesi için kullanılan yöntem özellikle endüstri alanında; petrol, kozmetik, altın sektöründe tercih edilmektedir (Yemişçioğlu ve Özdikicierler, 2013).

Soxhlet ekstraksiyonu için özel bir cihaz geliştirilmiştir. Cihaz; soxhlet ekstraktörü, solvent şişesi, sifon adı verilen sıvı akışı borusu, yoğuşturucu ve ısıtma sistemlerinden oluşmaktadır. Katı veya yarı katı malzeme cihazın ortasındaki bölmeye yerleştirilir. Çözücü solvent şişesine konulur (Geankoplis, 1983). Solventin kaynamaya başlamasıyla yükselen buharlar yoğuşturucuya gelir; örneğe damlar. Ekstraksiyonun gerçekleşmesi için 6-24 saat aralığında zaman ve 100-500 ml çözücü gereklidir (Perry and Green, 1985). Şekil 2.7'de soxhlet ekstraksiyon cihazı gösterilmektedir.



Şekil 2.7: Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı (Perry and Green, 1985)

Soxhlet ekstraksiyonunun temelinde bir çözelti veya süspansiyon içerisindeki organik bileşiği çözücü yardımıyla ayırma amacı vardır. Bu durum saflaştırma işlemi ile karıştırılmamalıdır. İşlemde çok fazla miktarda organik çözücü (100-500 ml arasında) kullanılması bu tür bir algıya neden olmaktadır (Kellner ve diğ., 2004).

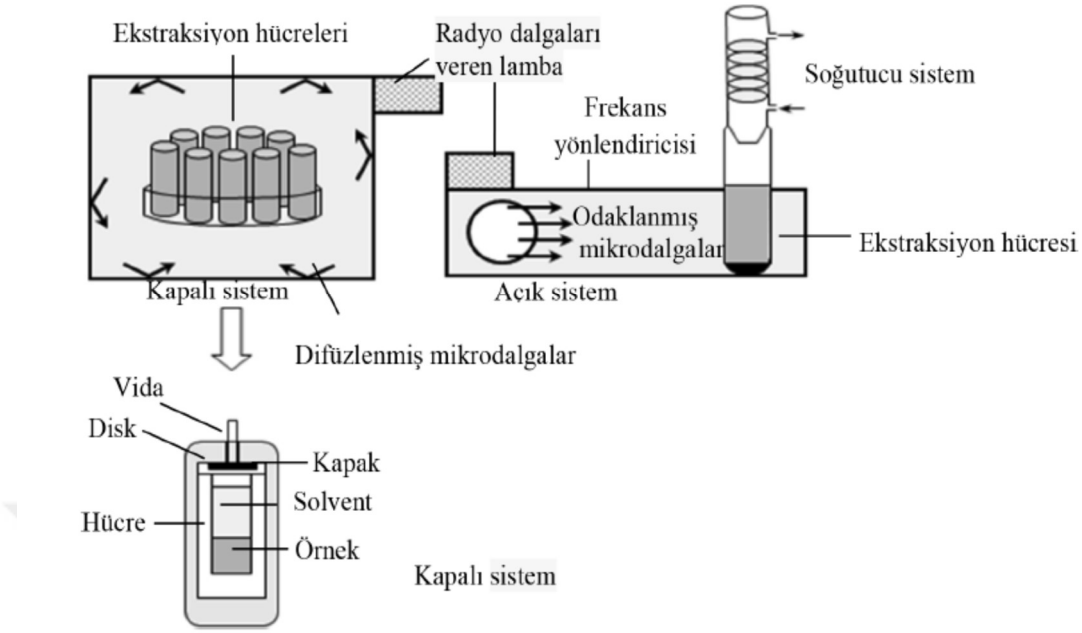
Cihaz kullanılmadan önce örnek bölmesinin iyi şekilde temizlenmesi gereklidir. Bunun için iyi bir çözücü kullanılmalı ve ardından cihaz kurumaya bırakılmalıdır. Bununla birlikte cihaz özelliği açısından kullanımda zarar gelmeyecek saf çözücünün tercih edilmesi gereklidir (De Castro ve Priego-Capote, 2010).

Soxhlet ekstraksiyonunun, diğer katı-sıvı ekstraksiyon modelleri ile karşılaştırıldığında çeşitli avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. En önemli avantajı maliyetinin oldukça az olması ve diğer katı-sıvı ekstraksiyon cihazlarına oranla çok daha fazla kütleyi ekstrakte edebilmesidir (Diagne ve diğ., 2002). Aynı zamanda numune sürekli olarak taze çözücüye maruz kalabilir. Soxhlet ekstraksiyonunun dezavantajı ise genellikle ekstraksiyonun süresinin uzunluğudur. Soxhlet ekstraksiyonu çevresel analizlerde ve gıda analizlerinde de kullanılmaktadır (De Castro and Garcia-Ayuso, 1998).

- **Mikrodalga Ekstraksiyonu**

Mikrodalga; boyları 1 mm-1 m arasında değişen, frekansı 1-300 Ghz arasında olan elektro-manyetik dalgalardır. İyonların iletimi ve dipol rotasyonu ile ısınma molekülün yapısını doğrudan etkilediği için mikrodalga bugün birçok alanda kullanılmaktadır (Letellier, 2000). Yüksek ısı alabilme imkânı onun ekstraksiyon alanında da kullanımını sağlamıştır. Genellikle katı örnekler için kullanılan yöntemin, sıvı örnekler için de kullanıldığı görülmüştür. Terpenler, alkoloidler, uçucu yağlar ve karotenoidlerin ekstraksiyonunda sık sık kullanılan geliştirilmiş ekstraksiyon yöntemidir (Tokkan ve diğ., 2012).

Mikrodalga ekstraksiyonu kullanılan solvent miktarını azalttığı ve ekstraksiyon süresini kısalttığı için kısa sürede yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Mikrodalga ekstraksiyonunda kapalı kap ve açık kap sistemi olmak üzere iki sistem bulunmaktadır (Camel, 2000). Kapalı kap sisteminde basınç ve sıcaklık kontrol altında tutulabilmektedir (Renoe, 1994). Hücrelerin hepsinin aynı anda ışınlandığı bu sistem ekstraksiyonda daha iyi sonuç vermektedir. Nitekim açık kap sistemindeki sıcaklık çözücünün kaynama noktasına bağlı kalmakta olduğu için istenen sonuç her zaman alınmayabilir (Saim ve diğ., 1997). Şekil 2.8'de mikrodalga ekstraksiyonu gösterilmektedir.



Şekil 2.8: Mikrodalga Ekstraksiyonunda Açık ve Kapalı Sistem (Saim ve diğ., 1997)

Mikrodalga destekli solvent ekstraksiyonu genellikle 10-30 dakika arasında ekstrasyon işlemini tamamladığı için zaman anlamında oldukça avantaj sağlar (Lopez-Avila, 1999). Bununla birlikte ekstraksiyonda kullanılan solvent miktarı da 20-50 ml arasında olduğundan diğerlerine göre daha azdır. Ekstraksiyon yönteminin dezavantajları ise polar çözücülerde mikrodalga ışımasının yutulması ve sistemin temizlenme gereksinimidir (Blanco, 2000).

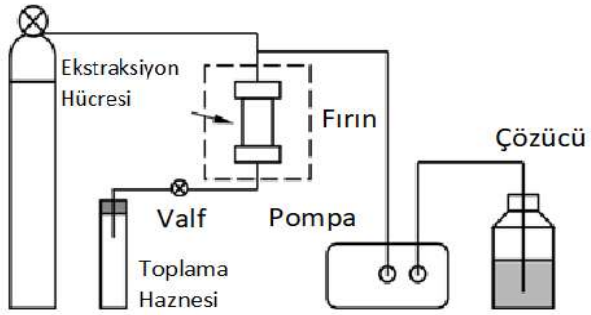
- **Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu**

Hızlandırılmış sıvı ekstraksiyonu olarak da bilinen basınçlı sıvı ekstraksiyonu, yeni bir teknik olarak basıncın kullanılmasıyla oldukça yüksek sıcaklıkta çözünme sağlanmasına olanak verir. Katı-sıvı ekstraksiyon modeli olarak genellikle henüz endüstriyel alanda kullanılmayan bu yöntem, daha çok laboratuvar ortamlarında kullanılmaktadır (Carabias-Martinez ve diğ., 2005).

Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonunda sıcaklığın atmosferik kaynama sıcaklığının oldukça üstüne çıkabilmesi durumu, çözücünün etkisini ve çözünme hızını da artırmaktadır (Hoşgün ve Bozan, 2013). Buna göre de ekstraksiyon çok daha hızlı ve verimli şekilde sağlanmaktadır. Ekstraksiyon yönteminde kullanılan çözücü su veya organik çözeltiler olabilmektedir (Büyüktuncel, 2012). Ekstraksiyon yönteminde statik ve dinamik olmak üzere iki mod bulunur. Statik modda numune belirli bir sıcaklık ve basınçta kalırken, dinamik modda ise sürekli olarak

bir çözücü akışı olmaktadır (Çam ve Hışıl, 2006). Şekil 2.9'da basınçlı sıvı ekstraksiyonu gösterilmektedir. Statik modda iken ekstraksiyonun gerçekleşme aşamalarının şu şekildedir: (Camel, 2001)

- Ekstraksiyon hücresine örnek konulur.
- Hücre içerisine organik solvent eklenir.
- Sıcaklık ve basınç ayarlanır.
- İlgili zaman aralığında ekstraksiyon gerçekleşir.
- Basıncın serbest bırakılmasıyla tüm solventin toplama kabına transfer edilmesi sağlanır.

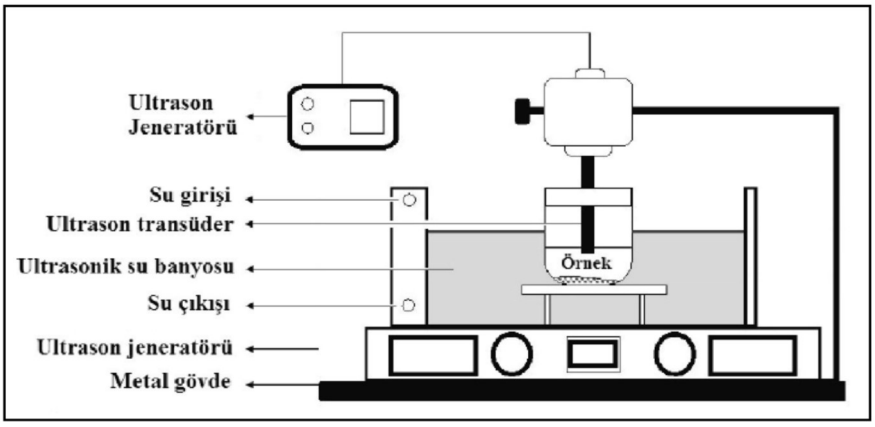


Şekil 2.9: Basınçlı Sıvı Ekstraksiyonu (Camel, 2001)

Basınçlı sıvı ekstraksiyonunun en önemli avantajları 20-50 ml arasında solvent gerektirmesi ve 10 ile 40 dakika arasında bir ekstraksiyon süresinin olmasıdır. Kullanımı kolay olan cihazın yanı sıra, ekstraksiyon sonrası filtrasyon gerektirmemesi de tercih edilmesinde oldukça önemlidir (Mockel, 1987). Buna karşın pahalı olması da dezavantajları arasında yer almaktadır (Richter, 1996).

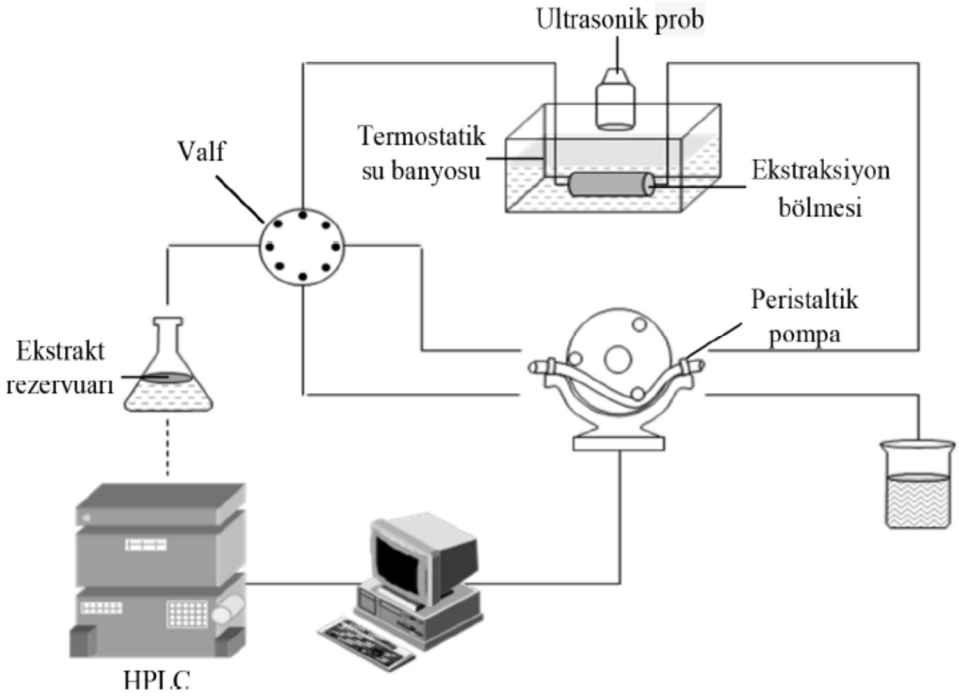
- **Ses Dalgaları Destekli Sıvı Ekstraksiyonu**

Diğer bir adı ultrason destekli ekstraksiyon olan yüksek frekanslı ses dalgaları destekli sıvı ekstraksiyonu, yayılan ses dalgaları sayesinde hücre duvarını mekanik olarak parçalayarak çözücünün hücre içerisine iletilmesine olanak verir. Böylece ekstraksiyon işlemi de hızla gerçekleşir (Şeran, 2013). Ultra-ses dalga destekli sıvı ekstraksiyonunda verimi artırmak için çözücü türü, sıcaklık ve sonikasyon genliği koşullarını değiştirmek mümkündür. Zamanla yöntemin dinamik ses dalgası destekli olanı da geliştirilmiştir. Şekil 2.10'da ses dalgaları destekli sıvı ekstraksiyon yöntemi gösterilmektedir.



Şekil 2.10: Ses Dalgaları Destekli Sıvı Ekstraksiyonu Sistemleri (Sevindik ve Selli, 2017)

Ses dalgaları destekli sıvı ekstraksiyonu, tıpkı mikrodalga ekstraksiyonu gibi statik ve dinamik olmak üzere iki sistemde geliştirilmiştir. Dinamik ekstraksiyonun diğerine göre avantajı analitlerin katı matriksten çözücüye iletildiği sürede uzaklaşması ve sürekli olarak taze çözücü temas etmesidir (Tadeo, 2007). Şekil 2.11'de dinamik ses dalgaları destekli sıvı ekstraksiyonu gösterilmektedir.



Şekil 2.11: Dinamik Ses Dalgaları Destekli Sıvı Ekstraksiyonunun Analiz Sistemine Bağlanmasının Şematik Gösterimi (Tadeo, 2007)

Gıdalarda kullanımında özellikle ultrason dalgalarının düşük ve yüksek dereceli olarak kullanılma durumu vardır (Ercan ve Soysal, 2011). Son yıllarda esansiyel yağ elde etmede, şifalı ot üretiminde sıkça uygulanan bir ekstraksiyon yöntemi olmuştur (Tavman ve diğ., 2009).

Ekstraksiyonun en önemli avantajı fazla miktarda örnek kütlesi ekstrakte etmesi, düşük maliyetli olması ve ekstrakte işlemini 2-20 dakika arası gibi kısa bir sürede gerçekleştirmesidir. Buna karşın kullanılan çözücü miktarının her işlemde 20-200 ml arasında değişmesi ve filtrasyon gerektirmesi de yöntemin dezavantajları arasındadır (Santos and Capelo, 2007).

- **Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu**

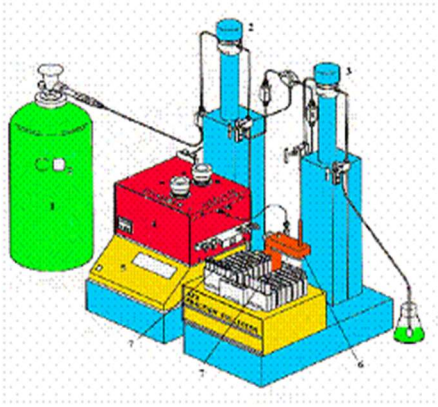
Süperkritik akışkan ekstraksiyonu, yüksek saflıkta ürün elde etme anlamında cazip geldiği için kullanılan ve oksidasyon olmadığı için ürünlerin istenen koku ve kıvamı sağlaması adına tercih edilen bir ekstraksiyon yöntemidir (Ersen ve diğ., 2001). Kullanılan çözücü süperkritik akışkan özellik gösteren, yani sıcaklık ve basıncı kritik sıcaklık ve kritik basınç değerlerinin üzerinde olan bir çözücüdür (Başer, 2010). Nitekim süperkritik akışkanların en önemli özelliği sıvı ile gaz arasında olmasıdır (Cocero, 2000). Tablo 2.4'de akışkanların fizikokimyasal özelliklerinin karşılaştırılması yapılmıştır.

Tablo 2.4: Akışkanların Fizikokimyasal Özeliklerinin Karşılaştırılması (Cocero, 2000)

Özellik	Sıvı	Süperkritik Akışkan	Gaz
Yoğunluk (kg/m^3)	600-1600	200-1000	1
Viskozite (kg/m.s)	$1.0x10^{-3}$	$1.0x10^{-4}$	$1.0x10^{-5}$
Yayınırlık (m^2/s)	$1.0x10^{-9}$	$1.0x10^{-7}$	$1.0x10^{-4}$

Akışkan özelliği ekstraksiyon edilecek malzemenin de seçici olarak ekstrakte edilmesine olanak sağlar (Çolak ve Tülek, 2003). Süperkritik akışkan olarak genellikle CO_2 kullanılmaktadır (Lang ve Wai, 2001). Süperkritik CO_2'in en önemli özellikleri; yanıcı olmaması, kimyasal ve radyoaktif maddelere karşı duyarlı olması, yüksek çözünme sağlaması ve kolay temin edilebilmesidir (Pool-Zebel ve diğ., 1997).

Süperkritik akışkan ekstraksiyon sisteminde; CO_2 tüpü, şırınga pompası, katkı maddesi ekleme pompası, ekstraktör, kontrol birimi, basınç düşürme birimi ve ürün toplama kabı bulunmaktadır. Sistemde yer alan sıvı akışkan pompa ile ısıtıcıya iletilir. Burada ısınma gerçekleşirken ekstraktör devreye girer. Burada çözünen karışım ayırıcıya gönderilir. Ayırıcıdaki madde ise soğutucu tarafından süperkritik gazdan ayrılarak doğrudan elde edilir (Kayan, 2009). Şekil 2.12'de süperkritik akışkan ekstraksiyon sistemi gösterilmektedir.



:. Deney sisteminin şematik gösterimi. 1) CO_2 tüpü, 2) Şırınga pompa, 3) Katkı maddesi eklemek için şırınga pompa, 4) Ekstraktör, 5) Kontrol birimi, 6) Basınç düşürme birimi, 7) Ürün toplama kabı

Şekil 2.12: Laboratuar Ölçekli Süperkritik Akışkan Ekstraksiyon Sistemi (Kayan, 2009)

Süperkritik sıvı ekstraksiyonunun kullanılmasının çeşitli avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. En önemli avantajı ekstraksiyon süresinin 20-60 dakika arasında sürmesi ve kullanılan çözücünün 10-20 ml arasında az miktarda kullanılmasıdır. Isısal olarak kararsız olan analitler için ısı değiştirme seçeneklerinin olması ve CO_2'in toksik olmaması da oldukça önemlidir (Iso ve diğ., 2000). Işık, su ve ısıya hassas olan gıda bileşenleri, doğal maddeler ve endüstri üretiminde kullanılan çeşitli maddelerin (kahve-kafein ayrılması, sığır eti-yağ ayrılması, tütün atıklarından nikotin ayrılması vb.) ayrılmasında süperkritik akışkan ekstraksiyonu kullanılmaktadır (Krukonis, 1998). Ekstraksiyonun dezavantajlı yönleri ise; maliyetli olması, polar analitlerin ekstraksiyonunda verimli olmaması ve matrikse bağlı olması şeklinde sıralanabilir (Mukhopadhyay, 2000).

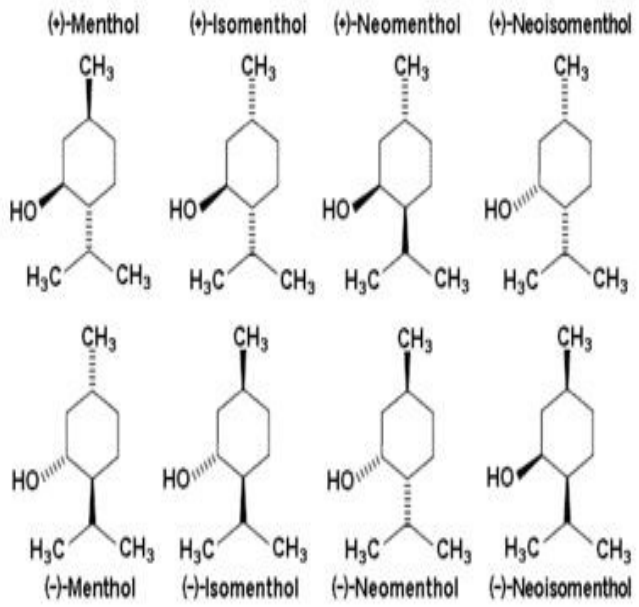
2.5. MENTOL ELDE ETME YÖNTEMLERİ

Halk arasında eterik yağ olarak da bilinen uçucu yağlar; bitkilerden elde edilen yağlardır (Baytop, 1984). Oda sıcaklığında sıvı halde bulunan, fakat uçucu özelliği ile ad kazanan yağlar terpenler, organik asitler, alkoller, fenoller ve ketonlar şeklindedir (Chalchat ve diğ., 1997). Orijinal adı Mint olan naneden üretilen nane yağının uçucu yağlar arasında oldukça büyük önemi vardır (Ruminska ve diğ., 1984). *Rosmarinus officinalis* (biberiye) familyasından olan naneden üretilen yağ, antiseptik ve ferahlatıcı özelliğe sahip olmakla birlikte eczacılık, alternatif tıp, kozmetik gibi birçok alanda da kullanılmaktadır (Stashenko ve diğ., 2004). Çalışmanın bu bölümünde mentha bitkisinden elde edilen mentol tanıtılacak ve mentol elde etme metodları üzerinde durulacaktır.

2.5.1. Fiziksel özellikleri

Mentol, $C_{10}H_{20}O$ formülüne sahip bir moleküldür. Paramentanoller sınıfından olan mentol katı halde bir bileşiktir ve erime noktası 42.5°C'dir. Mentol dört çift izomerden oluşmaktadır. Bunlar; (±)- mentol, (±)-izomentol, (±)-neomentol(±), (±)-neo-izomentol şeklindedir (Galeottia vd., 2002). Uzun kristal bir yapıda olan ve oda sıcaklığında katı bir yapısı olan molekülün yağsı bir yapısı da bulunmaktadır (Murray, 1988). Su içerisinde çözünmeyen mentol, alkol ve yağlarda kolaylıkla çözünebilen bir yapıya sahiptir (Eccles, 1994)

Oldukça önemli bir tatlandırıcı özelliği olan mentol diş macunları, losyonlar ve çeşitli kozmetik ürünlerinde ferahlatıcı kokusu nedeniyle kullanılmaktadır (Saha ve diğ., 1986). Dört izomer halkası içerisinde yalnızca mentol nane kokusunu içerdiği için oldukça değerlidir (Yadegarinia, 2006). Şekil 2.13'te mentolün konformasyonları gösterilmektedir.



Şekil 2.13: Mentolün 8 Farklı Konfigürasyonu (Yadegarinia, 2006)

Mentol; kimyasal özelliğinden ötürü soğutma hissi yarattığı için kozmetik ve tıp alanında da kullanılmaktadır (Sartoratto, 2004). İbuprofen ile kullanıldığında yatıştırıcı etkinliği artan mentol, özellikle koku özelliğiyle birçok alanda kullanılmaktadır (Nori-Shargh ve diğ., 2000).

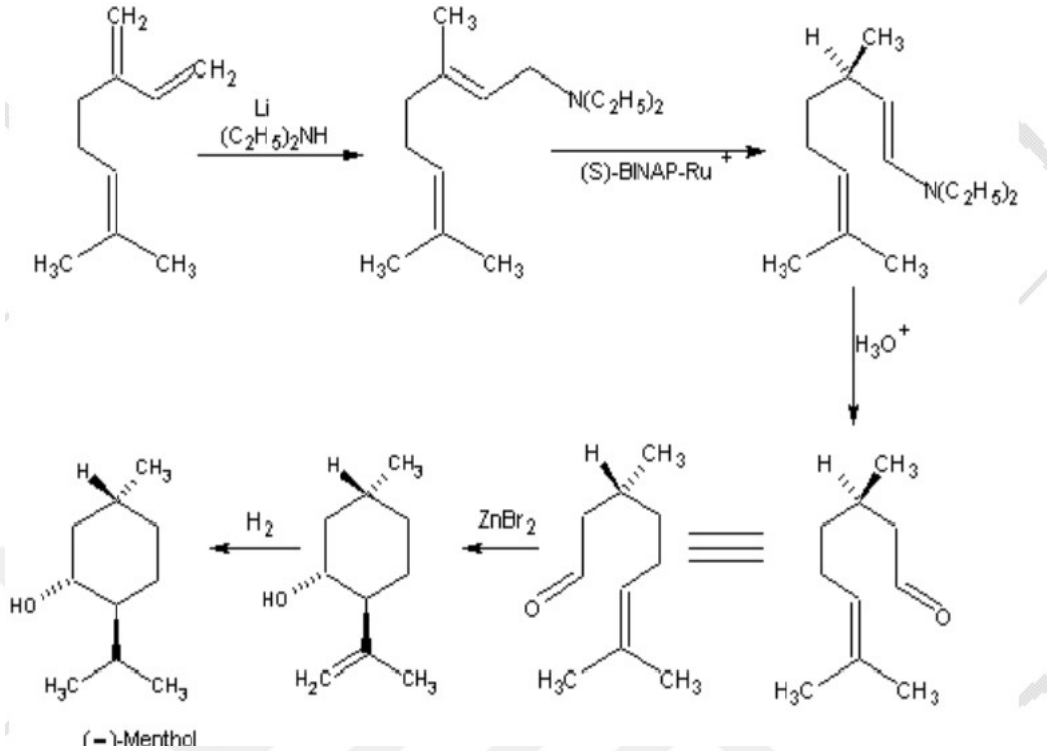
2.5.2. Mentol Üretimi

*2.5.2.1.*Sentetik mentol üretimi

Endüstriyel üretimde temelde şu dört yöntem kullanılmaktadır: (Denys, 1990)

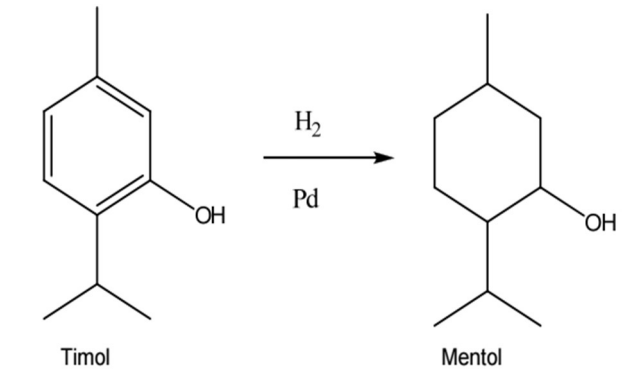
- Sitralden Mentol Sentezi
- Symrise Prosesi ile Mentol Sentezi
- Mirsen ile Mentol Sentezi
- Timol'ün Katalitik Hidrojenasyonu

Sitralden mentol üretimi oldukça eski bir yöntemdir. Sitralin sitronelale hidrojenlenmesi, ardından sitronelalin izopulegole izomerlenmesi, devamında da mentole hidrojenlenmesi gerçekleşir (Trasarti ve diğ., 2004). Şekil 2.14'te mirsen ile mentol sentezi gösterilmektedir.



Şekil 2.14: Mirsen ile Mentol Sentezi (Leffingwell, 2011)

Symrise Prosesi ile Mentol Sentezinde, timolün heterojen katalizli hidrojenasyonunda %60 mentol, %30 neomentol, %10 ise izomentol karışımı oluşur. Bu karışım damıtma yapılarak mentolce zengin olan kısmı geri kazanılır (Etzold ve diğ., 2009). Mirsen ile mentol sentezindeyse rasemik mentol hidrojenizasyonu yapılarak mentol elde edilir. Timol'ün Katalitik Hidrojenasyonunda da rasem şeklinde mentol, ftalesteri, brusinle antipodlarına ayrılır (Koyunoğlu, 2008). Şekil 2.15'te timolün katalitik hidrojenlenmesiyle elde edilen mentol yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.15: Timol'ün Katalitik Hidrojenlenmesiyle Elde Edilen Mentol (Koyunoğlu, 2008)

2.5.2.2. Uçucu Yağlardan Mentol Elde Etme Yöntemleri

Mentha bitkisinden mentol elde etme metotları genellikle destilasyon yöntemleridir. Kullanılan materyaller genellikle öğütülerek destilasyon cihazlarına konulmaktadır. Numune içerisine su eklenerek, 2-8 saat arasında bekletilir ve yağ malzemeden bu süre içerisinde ayrılır. (Cerit, 2008)

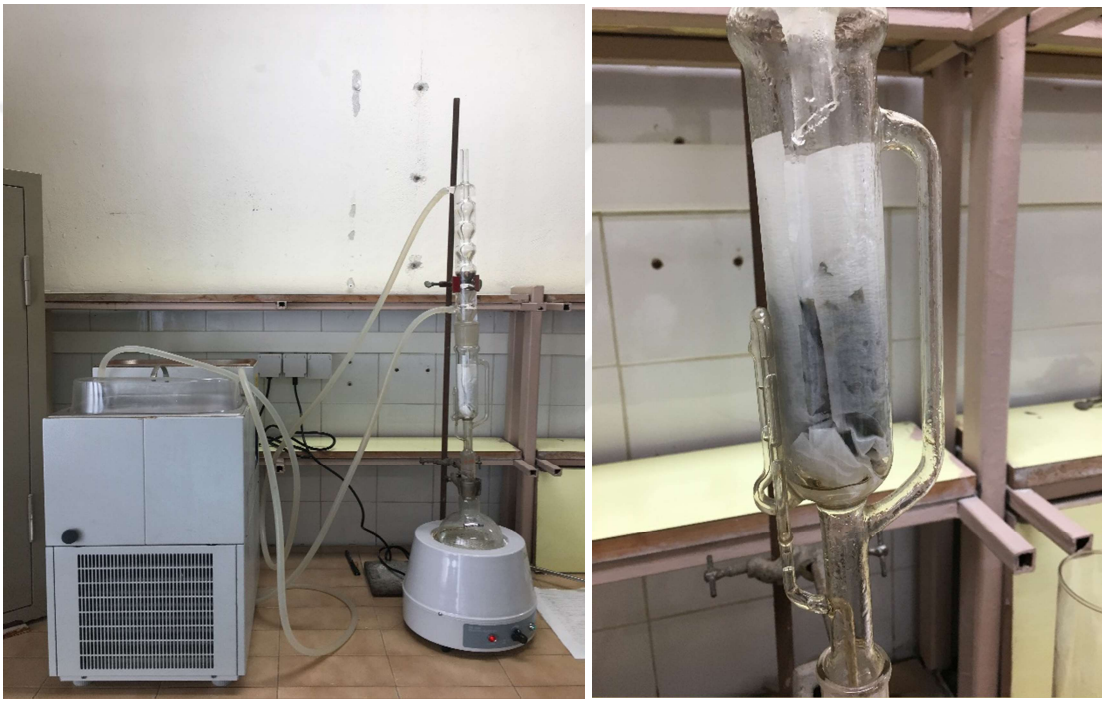
Özgüven ve Kırıcı (1998) yaptıkları çalışmada farklı ekolojilerdeki mentha bitkisinden mentol elde etmeye çalışmışlardır. Yine clevenger düzeneği kullanılmıştır. Adana ve Pozantı'dan alınan iki farklı bitki boyutu üzerinde çalışılmıştır. Adana'dan alınan materyalin kuru olması diğer materyale göre daha iyi sonuç alınmasını sağlamıştır (Özgüven ve Kırıcı, 1998).

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1. NANE YAĞI ELDE YÖNTEMLERİ

3.1.1. Soxhlet Ekstraksiyonu

Soxhlet ekstraksiyonu deneyinde çözücü olarak 200 ml saf su, 1 L'lik balona alınmıştır. 150 g yaş nane kartuşun içerisine alınmış ve soxhlet aparatına konulmuştur. Soxhlet deney düzeneği Şekil 3.1'deki gibi kurulmuştur.



Şekil 3.1: Soxhlet Ekstraksiyonu Deney Düzeneği

Soğutucu sıcaklığı 20°C'ye ayarlanır. Sistemin yapmış olduğu sifon sayısı not alınır. 22 kez sifon gerçekleşmiştir.

3.1.2. Clevenger Aparatı ile Destilasyon

2 L'lik bir balon içerisine 400 ml saf su eklenir. Balon içerisine 250 g kuru nane tartılarak, eklenir. Isıtıcı açılır ve soğutma suyu sıcaklığı 10°C' ye ayarlanır. 2 saat süreyle destilasyon gerçekleştirilir. Isı kaybını önlemek amacıyla sistemin etrafı cam yünü ve alüminyum folyo ile sarılır. Elde edilen yağ belirli sürelerde clevenger aparatı içerisinden uzun şırınga ile alınır ve hemen soğutularak yaklaşık -18°C'de saklanır. İşlem sonrasında yağın içerisini bir miktar susuz

sodyum sülfat atılarak yağ içerisinde az miktarda kalmış olan suyun uzaklaştırılması sağlanır. Şekil 3.2'de clevenger aparatı ile destilasyon düzeneği gösterilmiştir.



Şekil 3.2: Clevenger Aparatı ile Destilasyon Deney Düzeneği

3.1.3. Mikrodalga Ekstraksiyonu

3.1.3.1. Ev Tipi Mikrodalga ile Mikrodalga Ekstraksiyonu

Ev tipi mikrodalga ile ekstraksiyon için Oilextech marka EssenEx 100A model bir aparat kullanılmıştır. Şekil 3.3'te ev tipi mikrodalga ekstraksiyon aparatı görülmektedir.



Şekil 3.3: Ev Tipi Mikrodalga Ekstraksiyonu Aparatı

Analiz için ev tipi bir mikrodalga cihazı kullanılmıştır. Sistemin çalışabilir olduğunu kanıtlamak için ilk olarak portakal kabuğu rendesi kullanılarak portakal yağı elde edilmiştir. Analiz için ilk olarak portakalların kabuğu rendelenmiştir. Bu süreçte kabukların sadece turuncu olan kısımları alınmış, beyaz olan kısımlarının alınmamasına özen gösterilmiştir. Gerekli miktarda kabuğu elde edilmesi sonrasında cam aparatın iç çeperlerine doğru kabuklar yerleştirilmiştir. Aparatın orta kısmı boş bırakılmış, bu kısma metal delikli aparat ve içerisine boş bir beher yerleştirilmiştir. Şekil 3.3'te ilk resimde gösterilen buz oluşturma aparatları içerisine saf su konularak, buz oluşturulmuştur. Cam aparatın üst kısmına, buz vida ile tutturularak, beherin üzerine gelecek şekilde kapak kapatılmıştır. Daha sonrasında cam aparat mikrodalga içerisine alınmış, yanına yaklaşık 10 ml su ile dolu bir cam beher konulmuştur. Deney çeşitli güç ve sürelerde tekrar edilmiştir.

Nane ile yapılan mikrodalga ekstraksiyonu için ise kuru ya da yaş naneler tartılarak cam aparat içerisine konulmuş ve yukarıda portakal kabuğu ile yapılan deney ile aynı şekilde tekrarlanmıştır. Nane ile bu yöntemde nane yağı elde edilememiştir.

3.1.3.2. Mikrodalga Clevenger Aparatı ile Mikrodalga Ekstraksiyonu

Bu analiz için 150 g kuru nane kullanılmıştır. Deney düzeneğinde 2 L'lik reaktör kabı kullanılmıştır. 150 g kuru nane ile 150 ml saf su konulmuştur. Analiz 1000 Watt ve 30 dakika süreyle yapılmıştır. Analiz için "Milestone Inc." Marka "NEOS Rapid, Solvent-Free Microwave Extraction of Essential Oil" modeli kullanılmıştır. (Anamed, 2019) Şekil 3.4'te mikrodalga clevenger aparatı gösterilmiştir.



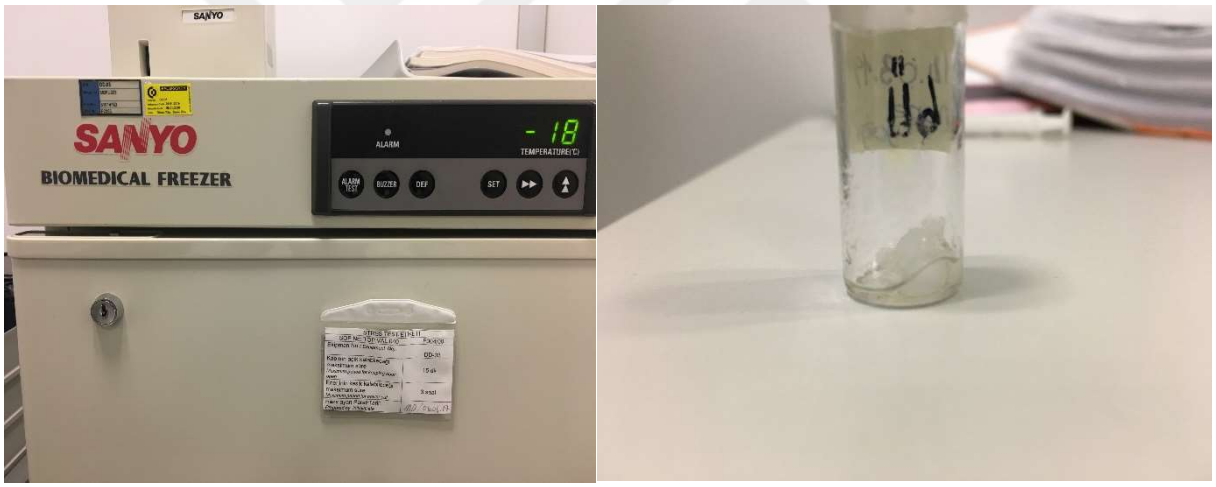
Şekil 3.4: Mikrodalga Clevenger Aparatı (Anamed, 2019)

3.2. KRİSTALİZASYON YÖNTEMİ İLE NANE YAĞINDAN MENTOL ELDESİ

3.2.1. Doğrudan Kristalizasyon Yöntemi

Bu yöntemde elde edilen nane yağı numuneleri, biyomedikal dondurucu kullanarak dondurulmuştur. Numuneler -18℃ ile -20℃ arasında 24 saat bekletilmiştir. Sonrasında numunelerin içerisindeki yağ ile kristalleri ayırmak için, numune içerinde bulunan yağ dondurucu içerisinde, soğutulmuş şırınga ile alınmıştır. Bu ayırım sonrası kristaller kuru bir vial içerisinde, 5 saat daha dondurulmuştur.

Fakat bu yöntemde kristaller içerisindeki yağ miktarı tam olarak alınamamıştır ve bu nedenle dondurucudan çıkarılan numunelerin içindeki kristaller kısa bir süre sonra içerisinde bulunan az miktardaki yağ nedeniyle tekrar çözünmektedir. Şekil 3.5'da kullanılan dondurucu ve elde edilen mentol numunesi gösterilmiştir.



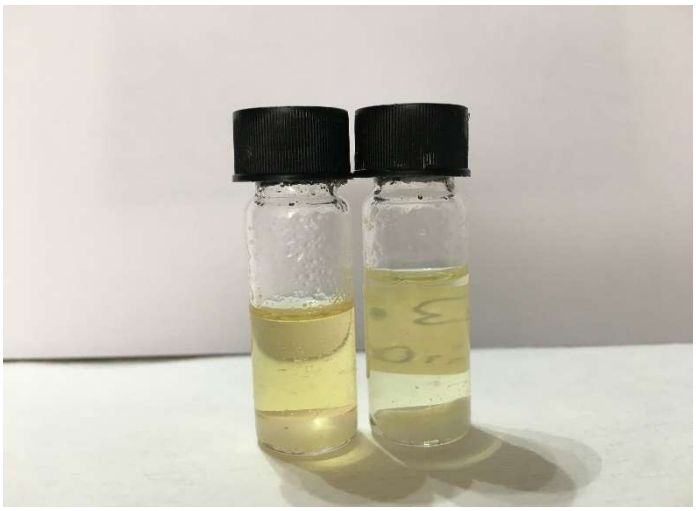
Şekil 3.5: Kullanılan Dondurucu ve İşlem Sonrası Elde Edilen Mentol Numunesi

3.2.2. Kademeli Kristalizasyon Yöntemi

İlk yöntemde kristallerin erimesi nedeniyle tam sonuç elde edilememiş ve aşağıdaki metot denenmiştir (Alvi ve diğ. 2001).

Bu metot 2 aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada nane yağı numunesine, Na_2SO_4 eklenir ve içerisindeki suyu uzaklaştırmak amacıyla süzülür. (Süzme işlemi, bir numune için ince süzgeç kağıdı ile, diğer numune için ise 0.45 RC filtre ile yapılmıştır. 0.45 RC filtre ile yapılan süzme işlemi sonrası verim daha yüksek olmuştur.) Süzülme sonrası geride kalan yağ miktarı tartılarak belirlenir. Daha sonrasında bu numune +14℃, +10℃ ve -5 ℃ derecelerde

sırasıyla 8’er saat bekletilir. Bekletilme sonrasında numunedeki yağ ile kristal yapı, dondurucu içerisinde hızlıca, soğutulmuş şırınga ile ayrılır. Kristal yapı yağ içerisndeki mentoldür ve kuru bir viale alınarak tartılır. Şekil 3.6’de sodyum sülfat eklenmesi sonrası numuneler ve Şekil 3.7’de numuneden yağın uzaklaştırma işlemi gösterilmiştir.



Şekil 3.6: Susuz Sodyum Sülfat Eklenmesi Sonrası Numuneler



Şekil 3.7: İkinci Aşama Öncesi Mentolden Yağın Ayrıştırılması İşlemi

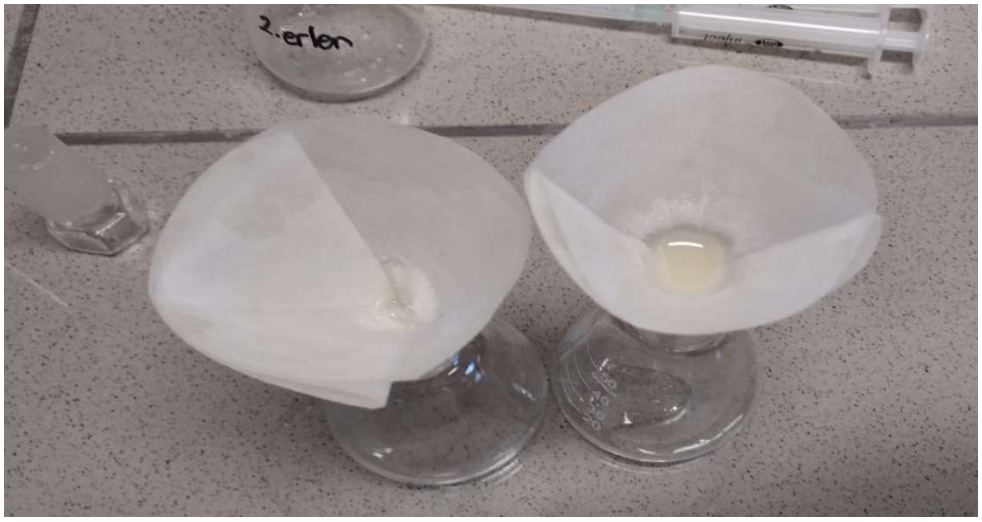
İkinci aşamada Mentolden ayrıştırılmış olan kalan yağ numunesi tartılır. Yaklaşık 140 g'a 8 g borik asit olacak şekilde, eldeki yağ miktarına göre uygun borik asit miktarı yağ numunesine eklenir. 1. ve 2. numuneler için 0.11 g, 3. numune için 0.46 g ve 4. numune için 0.48 g borik asit eklenip, karıştırılmıştır. Elde edilmiş olan yağ ve borik asit karışımı erlene alınır, geri soğutuculu sistem ile 3 saat destile edilir. Destilasyon sonrasında, erlenin alt yüzeyinde sabunsu bir yapı oluşur. Sabunsu yapının üzerindeki sıvı, filtrasyon ile ayrılır. Sıvı kısmı atılır. Sabunsu

kısmın üzerine %15'lik NaOH çözeltisi eklenir. (140 g için 70 g %15 NaOH eklenmelidir.) 1. numune için 1.02 g, 2. numune için 0.98 g, 3. numune için 4.08 g ve 4. numune için 4.45 g %15'lik NaOH çözeltisi eklenmiştir. Çözelti eklenmesi sonrası, karıştırılır. Kristal yapı (katı yapı) sıvıdan uzaklaştırılır. Oda sıcaklığında bu kristal(katı) yapının kurutulması sağlanır. Kurutma sonrası tartılır. Böylelikle elde edilen kristal yapı yağ içerisinde bulunan isomentol, racemic mentol ve menton miktarı bulunur.

İki aşamada elde edilen miktarlar bir araya getirilir ve toplam miktar, yağ numunesi içerisindeki toplam mentolü oluşturmaktadır (Alvi ve diğ. 2001). Şekil 3.8'te ikinci aşama işlemleri, Şekil 3.9'te ikinci aşama sonrası süzme işlemi gösterilmiştir.



Şekil 3.8: İkinci Aşama İşlemleri



Şekil 3.9: İkinci Aşama Sonrası Süzme İşlemi

3.3. NANE YAĞINDA BULUNAN MENTOLÜN TAYİNİ

3.3.1. Kalitatif Analiz

3.3.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC Yöntemi)

İnce tabaka kromatografisi için Avrupa Farmokopesinde bulunan Levomentol ve Mentol Rasemik tanıma analizi uygulanmıştır.

Standart olarak 25 mg saf mentol tartılarak, 5 ml'lik balon jojeye eklenmiş ve bir miktar metanol eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 10 dakika bekletilmiş ve 5 ml'ye metanol ile tamamlanmıştır. Numune için ise 25 mg nane yağı tartılmış, 5 ml'lik balon jojeye eklenmiş ve bir miktar metanol eklenmiştir. Ultrasonik banyoda 10 dakika bekletilmiş ve 5 ml'ye metanol ile tamamlanmıştır.

Mobil faz için 5 ml etil asetat ile 95 ml toluen karıştırılmıştır. Tankın doyurulması sonrasında "Merck" marka "TLC Silica Gel Plate" kullanılmıştır. 2 µL numune ve standartlardan ekim yapılmıştır. Sonrasında 100°C'ye ayarlanmış etüvde ekim yapılan tabaka 10 dakika bekletilmiştir. Sonrasında hazır olarak alınmış anisaldehit çözeltisi püskürtülmüş ve kromatogramda oluşan şekiller karşılaştırılmıştır. UV cihazında 254 nm'de tabaka gözlemlenmiştir. (Avrupa Farmokopesi, 9.0) Şekil 3.10'te ince tabaka kromatografisi gösterilmektedir. Ekte ince tabakanın gerçek boyutlu resmi verilmiştir.



Şekil 3.10: İnce Tabaka Kromatografisi

3.3.2. Kantitatif Analiz

3.3.2.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analizleri

- **UV Dedektörlü Analiz**

İlk olarak Phenomenex kolon firmasının sitesinde bulunan metot ile mentol analizi Waters Marka (Waters 2695 Separations Module Model) HPLC cihazı ile Waters Marka (Waters 2489 UV Visible Detector Model) UV cihazı kullanılarak analiz yapılmıştır. Luna 5 µm C8 150x4.6 mm kolon kullanılmıştır. Mobil Faz A olarak %100 Metanol ve Mobil Faz B olarak pH 2.5 Sodyum Fosfat Tampon Çözeltisi kullanılmıştır. UV cihazı 242 nm ayarlanmıştır. İsokritik olarak Mobil Faz A: Mobil Faz B (65:35) (v/v) oranında, 40 dakikalık okuma süresi ile numune ve standart 10 µL enjekte edilmiştir. Kolon sıcaklığı 30°C ve numune saklama sıcaklığı 22°C'ye ayarlanmıştır.

Standart hazırlanışı için; 50 mg saf mentol, bir miktar %80'lik metanol çözeltisi ile 100 ml'lik balon joje içerisinde çözündürülmüş ve hacmine aynı çözelti ile seyreltilmiştir. Ayrıca seyreltilmiş standart çözeltisi hazırlığı için de bu stok çözeltiden 1 ml alınarak 100 ml'lik balon jojeye aktarılmış ve hacmine aynı çözücü ile tamamlanmıştır. (2 adet standart hazırlanmıştır.)

Numune hazırlanışı için ise 50 mg numune tartılarak, standart hazırlanışı ile aynı konsantrasyonlarda stok ve seyreltilmiş numune hazırlanmıştır (2 adet numune hazırlanmıştır.)

HPLC cihazına Empower 2.0 yazılımı kullanılarak oluşturulan analiz listesine; 1 enjeksiyon kör numune, 6 enjeksiyon standart-1, 2 enjeksiyon standart-2, 2'şer enjeksiyon numune-1 ve numune-2, kontrol standardı olarak ise standart-1'den 2 enjeksiyon olacak şekilde eklenmiştir. (Phenomenex, 2019) Şekil 3.11'da HPLC cihazı ve UV dedektör gösterilmiştir.



Şekil 3.11: HPLC Cihazı ve UV Dedektör

- **PDA Dedektörlü Analiz**

UV dedektörlü analizde kullanılan 242 nm'de standart ve numune enjeksiyonlarında pik görülmemesi nedeniyle 3 boyutlu (aynı anda birden fazla dalga boyunda) analizi gerçekleştirebilmek için Waters Marka (Waters 2695 Separations Module Model) HPLC cihazı ile Waters Marka (Waters 2998 Photodiode Array Detector Model) PDA cihazı kullanılarak mentol analizi tekrar edilmiştir. Fakat sonuç alınamaması üzerine farklı bir metot denenmiştir.

3.3.2.2. Titrasyon Metodu ile Mentolün Kantitatif Analizi

HPLC metodu ile yapılan çalışmalar sonrasında sonuç alınamamıştır. Bunun üzerinde aşağıda detayları anlatılan Japon Farmokopesi'nde bulunan metot denenmiştir.

Bu metotta amaç nane yağının içerisindeki toplam mentol miktarının bulunmasıdır. Metot iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşama olarak boş bir erlen içerisine 10 g nane yağı tartılır. 10 ml asetik anhidrit ve 2 g susuz sodyum asetat eklenir. Erlen, geri soğutucu ile birlikte 1 saat kaynatılır. 1 saat sonra erlen soğutulur. Soğutma sonrası üzerine 30 ml saf su eklenir. Erlen kaynamış su içerisinde 15 dk karıştırılarak ısıtılır. Sonrasında karışım ayırma hunisine alınır.

En az 1 saat bekletilir. Bekletme sonrası faz oluşumu gözlenir. Üst faz, yağdır ve bu yağ asetilleendirilmiş yağ olarak adlandırılmaktadır. Şekil 3.12'de numune gösterilmektedir.



Şekil 3.12: Faz Oluşumu Gözlenen Numune

İkinci aşama elde edilen asetillendirilmiş yağ, asetilendirilmemiş yağ numunesi ve herhangi bir yağ eklemeden yapılan kör numune için titrasyon analizleri gerçekleştirilir. İki adet erlen alınır. Birinci erlene 2 g asetilendirilmiş yağ, diğer erlene ise 5 g asetilendirilmemiş yağ tartılır. Üzerlerine 5 ml etanol ve 2 damla fenolftaleyn çözeltisi damlatılır. Erlenler dikkatlice karıştırılır ve 25 ml 0.5 M potasyum hidroksit-etanol çözeltisi eklenir.

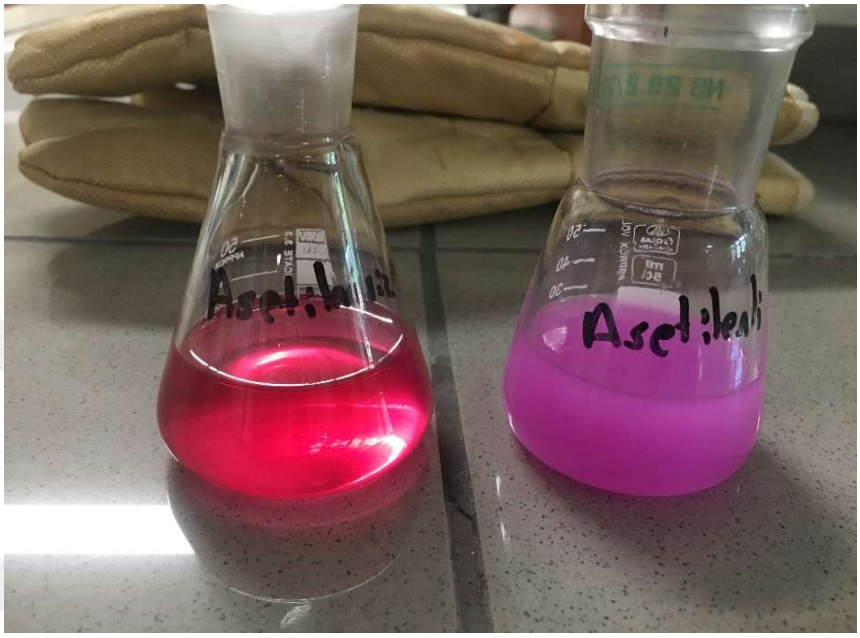
Erlenler el ile dikkatlice karıştırılması sonrasında geri soğutucular ile birlikte 1 saat kaynatılır. 1 saat sonrasında erlenlerin üzerine hemen 25 ml saf su eklenir, karıştırılır ve soğumaya bırakılır. Soğutma sonrası iki çözelti de 0.5 M HCI ile titre edilir ve harcanan miktarlar not edilir.

İkinci aşama hiçbir yağ eklemeden kör numune çözeltisi olarak tekrarlanır ve kör numune çözeltisi için de harcanan 0.5 M HCI kaydedilir.

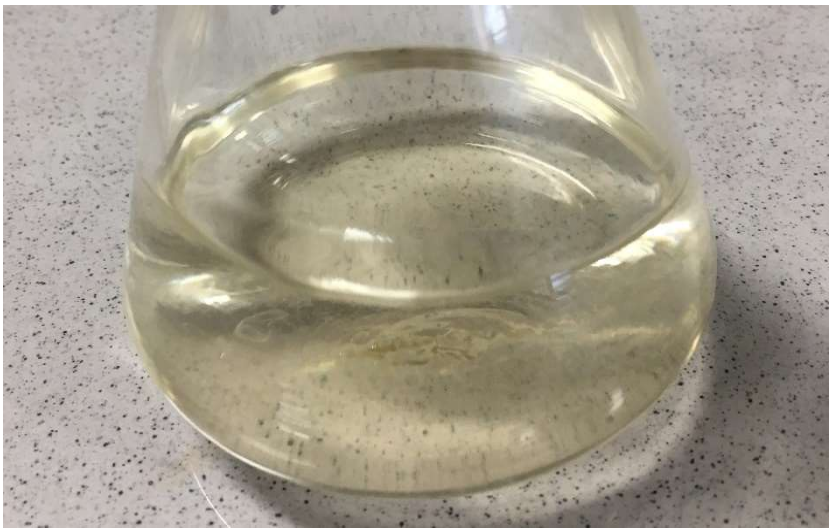
Analizin tamamlanması sonrası Denklem (3.1) ile hesaplama yapılır ve yağ içerisindeki toplam yağ miktarı bulunur.

$$\%\ \text{Toplam Mentol} = \frac{7.814x(c-a)x(1-((0.021x(c-b))/(asetillendirilmemiş_yağ(g))))}{(asetilendirilmiş_yağ(g))-0.021x(c-a)} \quad (3.1)$$

a ve b sırasıyla asetillendirilmiş ve asetilendirilmemiş yağ numunelerini titre etmek için kullanılan 0.5 M HCI çözeltisi miktarını, c ise kör numunede titrasyon için kullanılan 0.5 M HCI miktarını belirtmektedir. (Japanese Pharmacopoeia, 11th Edition.) Şekil 3.13'de asetillendirilmiş ve asetilendirilmemiş numuneler ve Şekil 3.14'da titrasyon sonrası numunelerin görüntüsü verilmiştir.



Şekil 3.13: Titrasyon Öncesi Asetilendirilmiş (kırmızı renkli) ve Asetilendirilmemiş (pembe renkli) Numuneler



Şekil 3.14: Titrasyon Sonrası Numunelerin Görüntüsü

3.3.2.3. GC-MS Metodu ile Mentol Analizi

Nane yağındaki mentol miktarının analizi ile ilgili makaleler incelendiğinde, uygulanabilir birkaç farklı metot bulunmuştur. Metotlar arasındaki farklar kolon özellikleri, numune hazırlanması sırasında kullanılan organik çözücü ve farklı sıcaklık kullanılması olarak özetlenebilir. Kullanılabilecek kolon, taşıyıcı gaz gibi parametreler incelendiğinde aşağıdaki metodun kullanımına karar verilmiştir.

Metot:

Kolon: Kapiler Kolon: HP-5 MS kapiler kolon (30 m x 0.25 mm x 0.25 µm)
Sıcaklık: Enjektör sıcaklığı 250ºC'ye MS transfer sıcaklığı ise 250ºC'ye ayarlanmıştır. Kolon sıcaklığı ilk 3 dk için 50ºC'ye, ardından 10ºC/dk'lık artışlarla 150ºC'ye artırılarak ve bu sıcaklıkta 10 dk tutulduktan sonra 250ºC/dk'ya yükseltilmiştir.
Enjeksiyon: split oranı 50/1
Taşıyıcı Gaz: helyum (1.23 ml/min)
Hazırlanışı: Örnekler 1/10 (v/v) oranında aseton ile seyreltilerek 1.0 µl enjekte edilmiştir. (Arslan ve diğ., 2010)

3.4. MENTOL ERİME NOKTASI TAYİNİ

Büchi marka B-540 Model cihaz kullanılmıştır. Deneyler sonunda elde edilen mentolden belli bir miktar, kapiler tüpe 4-6 mm yüksekliğinde olacak şekilde konur ve cihaza yerleştirilir (Büchi, 2019). Büyüteçli pencereden numunenin erimeye başladığı ilk sıcaklık ile tamamının eridiği sıcaklık kaydedilir. Şekil 3.15'te Büchi erime noktası cihazı gösterilmektedir.



Şekil 3.15: Büchi Erime Noktası Tayin Cihazı

4. BULGULAR

4.1. NANE YAĞI VERİLERİ

4.1.1. Soxhlet Ekstraksiyonu Verileri

Soxhlet ekstraksiyonu sonucunda su ile yağ karışımı gözlemlenmesi beklenen sıvıda, yağ-su ayrımı gözlemlenmemiştir. Kartuş içerisine konulabilen az miktarda nane ile yapıldığı için, nane yağı veriminin düşük olduğu anlaşılmıştır. Bu yüzden deneyler clevenger aparatı ile destilasyon yöntemi ile yapılmaya devam edilmiştir.

4.1.2. Clevenger Aparatı ile Destilasyon Verileri

Clevenger Aparatı ile yapılan destilasyon deneyleri sırasında parametreler değiştirilerek, optimum koşul bulunmaya çalışılmıştır. Çalışılan farklı koşullar şöyle sıralanabilir:

- Farklı yörelerden nanelerin kullanımı,
- Yaş veya kuru nane kullanımı,
- Kullanılan nane miktarı,
- Kullanılan saf su miktarı,
- Soğutma suyu sıcaklığı,
- Destilasyon süresidir.

Clevenger aparatı ile destilasyon deneylerinin verileri bir sonraki sayfada bulunan Tablo 4.1’de verilmiştir:

Tablo 4.1: Clevenger Aparatı ile Destilasyon Deney Verileri

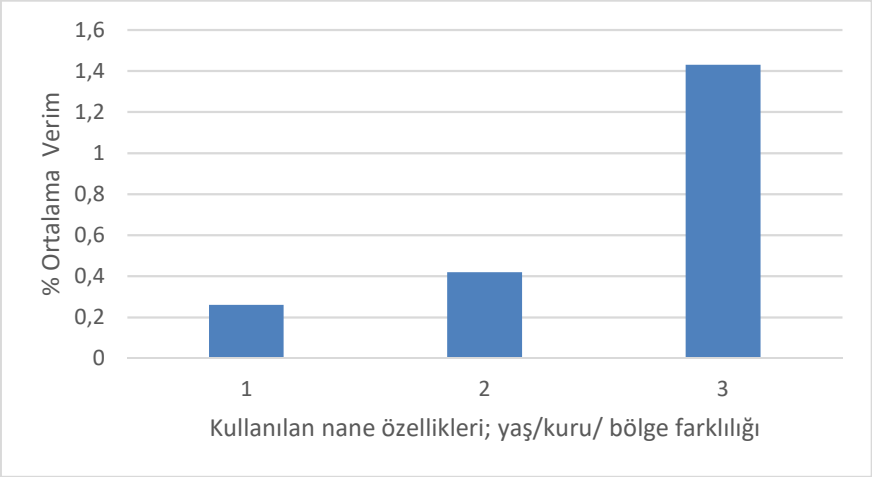
Deney No	Kullanılan Nane Miktarı (g)	Kullanılan Nane Yöresi	Yaş / Kuru Nane	Kullanılan Saf Su Miktarı (ml)	Elde Edilen Nane Yağı (g)	Süre (dk)	Verim (%)
1	100,29	Marmara Bölgesi	Yaş Nane	400	0,281	120	0,28
2	100,71	Marmara Bölgesi	Yaş Nane	250	0,244	120	0,24
3	100,98	Marmara Bölgesi	Yaş Nane	500	0,261	120	0,26
4	99,04	Marmara Bölgesi	Kuru Nane	250	0,406	90	0,41
5	102,94	Marmara Bölgesi	Kuru Nane	400	0,502	120	0,49
6	206,94	Marmara Bölgesi	Kuru Nane	500	0,933	120	0,45
7	152,21	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	1,573	120	1,03
8	198,54	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	1,924	120	0,97
9	200,63	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	1,986	120	0,99
10	202,08	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	1,799	120	0,89
11	299,05	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,630	120	0,88
12	300,02	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,521	120	0,84
13	299,78	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,847	120	0,95
14	249,79	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	500	3,322	120	1,33
15	251,24	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	500	3,241	120	1,29
16	259,39	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	250	2,308	120	0,89
17	246,05	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	250	2,188	120	0,89
18	250,61	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	250	2,204	120	0,88
19	235,95	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,760	90	1,17
20	252,57	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,952	90	1,17
21	249,16	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,662	120	1,47
22	248,36	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	4,668	120	1,88
23	244,68	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,939	120	1,61
24	247,73	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,478	120	1,40
25	254,33	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	4,170	120	1,64
26	241,89	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,483	120	1,44
27	250,06	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,580	120	1,43
28	251,65	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,724	120	1,48
29	233,89	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,270	120	0,97
30	250,70	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	4,110	120	1,64
31	248,12	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,105	120	0,85
32	251,24	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	4,069	120	1,62
33	256,87	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,827	120	1,49
34	244,31	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,616	120	1,48
35	250,11	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,652	120	1,46
36	254,16	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,952	120	1,16
37	248,56	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,970	120	1,19
38	240,99	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,968	120	1,23
39	250,16	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,527	120	1,41
40	247,85	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,421	120	1,38
41	236,44	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,954	120	1,25
42	251,59	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,649	120	1,45
43	254,12	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	4,191	120	1,65
44	208,43	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,936	120	1,41
45	234,76	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,920	120	1,67
46	250,04	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	4,076	120	1,63
47	249,07	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	2,940	120	1,18
48	250,16	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,603	120	1,44
49	251,37	Gaziantep Yöresi	Kuru Nane	400	3,920	120	1,56

Tablo 4.2'de ise farklı koşullar sonucu elde edilen verim değerleri verilmiştir:

Tablo 4.2: Clevenger Aparatı ile Destilasyon Verim Tablosu

Parametre	Deney Numara Aralığı	Verim (%)
Marmara Bölgesi	1-6	0.36
Gaziantep Yöresi	21-49	1.43
Yaş Nane	1-3	0.26
Kuru Nane	21-49	1.43
90 dakika	19-20	1.17
120 dakika	21-49	1.43
200 g Nane	8-10	0.95
250 g Nane	21-49	1.43
300 g Nane	12-13	0.89
250 ml Saf Su	16-18	0.89
400 ml Saf Su	21-49	1.43
500 ml Saf Su	14-15	1.31

Şekil 4.1'de 1. Sütun Marmara Bölgesi'nde yetişen yaş nanelerden elde edilen nane yağı verim ortalamasını, 2. Sütun Marmara Bölgesi'nde yetişen yaş nanelerin kurutulma sonrası kullanımı ile elde edilen nane yağı verim ortalamasını ve 3. Sütun ise Gaziantep Yöresi'nde yetişen nanelerin kurutulması sonrası kullanımı ile elde edilen nane yağı verim ortalaması % olarak verilmiştir:



Şekil 4.1: Destilasyon Deney Ortalama Verim- Deney No Grafiği (1. Marmara Bölgesi-yaş nane, 2. Marmara Bölgesi kuru nane, 3. Gaziantep Yöresi kuru nane)

Analizlerin yapılması sırasında, ilk olarak Marmara Bölgesi'nde yetişen yaş naneler kullanılmıştır. Yapılan bu deneylerin verimi oldukça düşük çıkmıştır. Marmara Bölgesi'nde yetişen kurutulmuş nanelerin kullanılması verimin artmasını sağlamıştır. Fakat en yüksek verim, Gaziantep Yöresi'nde yetişen *Mentha Piperita* türündeki kuru naneler ile elde edilmiştir.

En iyi sonuç, 250 g Gaziantep Yöresi'nden alınan kuru naneler ile 400 ml saf su kullanılarak, 10°C soğutma suyu sıcaklığı ile 2 saat gerçekleştirilen deney ile elde edilmiştir.

4.1.3. Mikrodalga Ekstraksiyonu Verileri

4.1.3.1. Ev Tipi Mikrodalga ile Mikrodalga Ekstraksiyonu Verileri

Ev tipi mikrodalga aparatı ile yapılan mikrodalga ekstraksiyonu deneylerinde, kuru ve yaş nane ile farklı koşullarda deneyler yapılmış fakat sonuç alınamamıştır. Sonuç alınamaması üzerine, sistemin çalışılabilirliğini test edebilmek amacıyla portakal kabuğu rendesinden portakal yağı analizi yapılmış ve portakal yağı elde edilebilmiştir. Portakal yağı elde edilebilirken, nane yağının elde edilememesi, iki maddenin özelliklerinin farkı olmasından kaynaklıdır.

4.1.3.2. Mikrodalga Clevenger Aparatı ile Mikrodalga Ekstraksiyonu Verileri

Laboratuar tipi mikrodalga clevenger aparatı ile yapılan mikrodalga ekstraksiyonunda, verim % 0.56 olarak bulunmuştur. Analiz 150 g Gaziantep Yöresi'nden alınan kuru naneler ile, 150 ml saf su kullanılarak 2 L'lik reaktör kabı ile 1000 Watt ve 30 dakika süre ile yapılmıştır.

4.2. NANE YAĞINDAN MENTOL ELDE YÖNTEMLERİ DENEY VERİLERİ

4.2.1. Doğrudan Kristalizasyon Verileri

Doğrudan -18℃'de soğutularak yapılan mentol eldesi yönteminde deneyler sonucu mentol ayrıştırılmıştır fakat oda koşullarında kristallerin eridiği tespit edilmiştir. Deney verimi % 27.61 olarak bulunmuştur. Yaklaşık 250 g'lık 3 adet yağ eldesi sonucunda elde edilen, 9.20 g yağdan 2.54 g mentol elde edilmiştir.

4.2.2. Kademeli Kristalizasyon Verileri

Kademeli kristalizasyon yöntemi ile mentol eldesi deneylerinde deney 4 kez tekrarlanmıştır. Deneye ait veriler aşağıdaki tabloda bulunmaktadır:

Tablo 4.3: Kademeli Kristalizasyon Yöntemi İle Mentol Eldesi

Deney No	Kullanılan Yağ Miktarı (g)	Elde Edilen Mentol (1. Aşama Sonrası) (g)	Elde Edilen Isomentol, Racemic Mentol ve Menton (2. Aşama Sonrası) (g)	Elde Edilen Toplam Mentol Miktarı (g)	Toplam Verim %
29	2.062	0.524	0.095	0.619	30.02
31	1.982	0.511	0.063	0.574	28.96
37,38,41	8.127	1.869	0.329	2.198	27.05
36,44,47	8.828	2.384	0.446	2.830	32.06
Toplam	**20.999**	**5.288**	**0.933**	**6.221**	**29.58**

4.3.MENTOLÜN TAYİNİ VERİLERİ

4.3.1. Kalitatif Analiz Verileri

4.3.1.1. İnce Tabaka Kromatografisi (TLC Yöntemi) Verileri

Elde edilen nane yağlarında bulunan mentolün tayini için çeşitli metotlar kullanılmıştır. İlk olarak kalitatif analiz olarak Avrupa Farmokope'sinde bulunan ince tabaka kromatografisi metodu kullanılmıştır. Şekil 3.5'te görüldüğü gibi ince tabaka kromatografisi ile elde edilen nane yağında mentolün bulunduğu kanıtlanmıştır.

4.3.2. Kantitatif Analiz Verileri

4.3.2.1. Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Analiz Verileri

Kantitatif analiz metodu olarak çeşitli makalelerde belirtilen yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) analizleri yapılmıştır, fakat bu analizlerden sonuç alınamamıştır.

4.3.2.2. Titrasyon Metodu ile Mentolün Kantitatif Analiz Verileri

HPLC deneylerinden sonuç alınamaması üzerine Japon Farmokopesi'ndeki titrasyon metodu denenmiş ve bu metot ile kantitatif sonuçlar elde edilmiştir. Bölüm 3.3.2.2'deki titrasyon metodu 4.0120 g asetilendirilmemiş yağ ve 2.7124 g asetilendirilmiş yağ ile gerçekleştirilmiş ve Denklem 3.1'deki a değeri (asetilendirilmiş yağ için gereken 0.5 M HCI miktarı) 4.0 ml, b değeri (asetilendirilmemiş yağ için gereken 0.5 M HCI miktarı) 49.1 ml ve c değeri (kör numune için gereken 0.5 M HCI miktarı) 29.0 ml olarak bulunmuştur.. Bunun sonucunda mentol miktarı % 31.65 olarak bulunmuştur.

Titrasyon deneyleri sonrasında en yüksek verim Gaziantep Yöresi'nde yetişen kuru nanelerden elde edilen nane yağında bulunmuştur. Ortalama yağ içerisindeki mentol miktarı % 31.65 olarak bulunmuştur. Deney verim sonucuna göre 250 g kuru naneden elde edilen 3.58 g yağ içerisinde 1.13 g mentol bulunmaktadır.

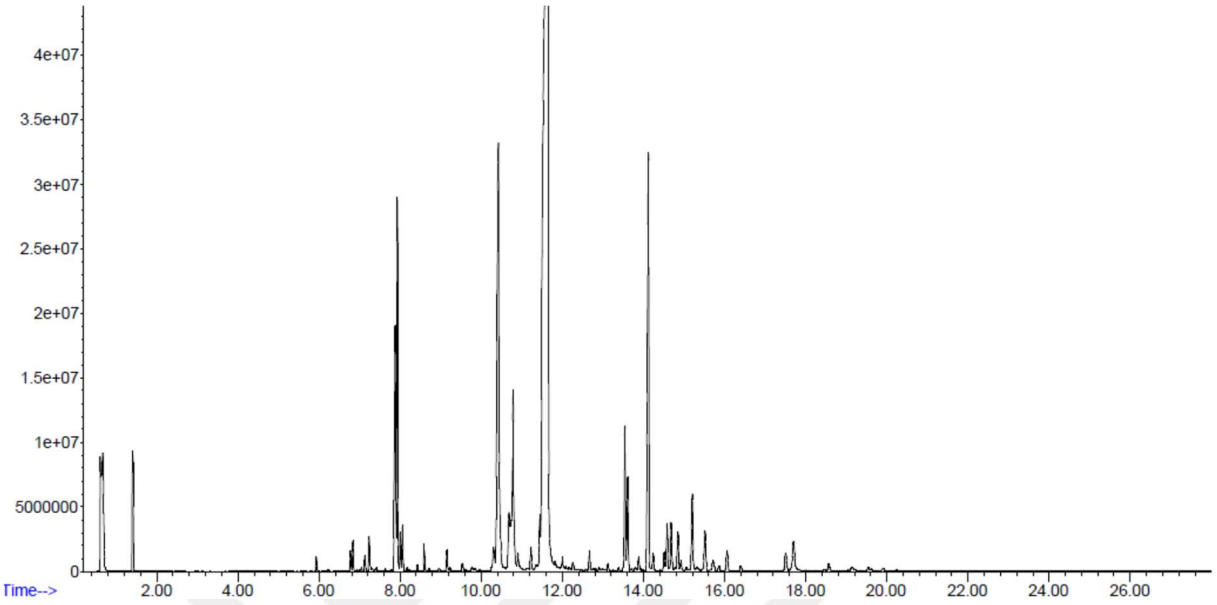
4.3.2.3. GC-MS Metodu ile Mentol Analiz Verileri

Clevenger aparatı ile destilasyon yöntemi metoduyla Gaziantep Yöresi'nden temin edilen kuru nanelerle elde edilen nane yağı, bölüm *3.3.2.3*'te verilen metot ile GC-MS analizi yapılmıştır. Mentol içeriği % 10.843 olarak bulunmuş ve nane yağı içerisinde en çok bulunan bileşen %43.466 ile Carvone olmuştur. GC-MS sonuçları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.4: Nane Yağının GC-MS Analiz Sonucu

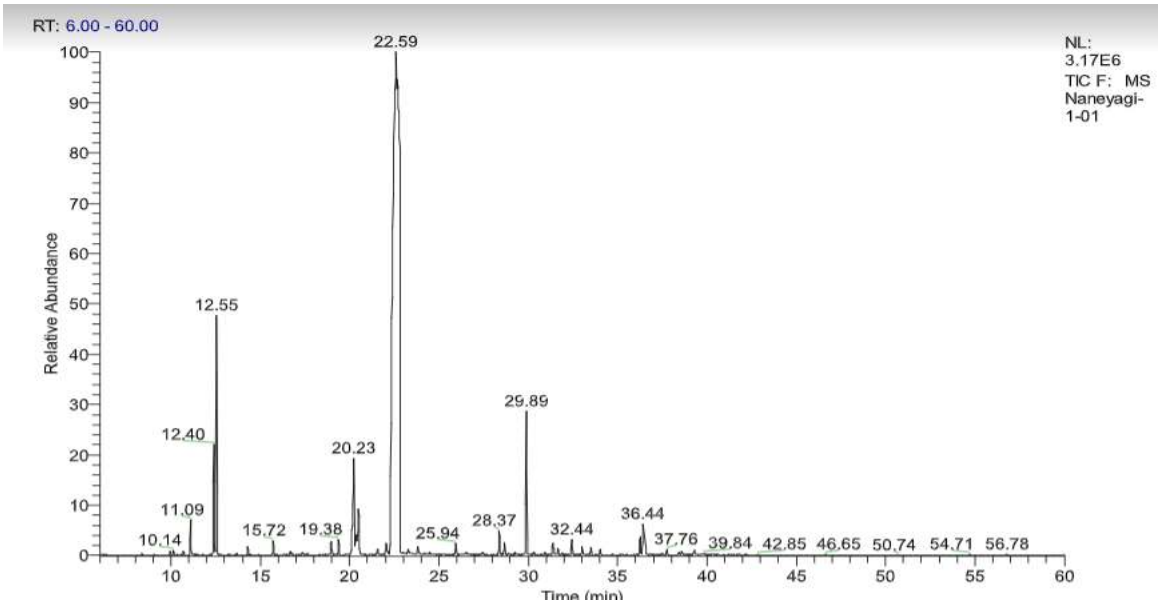
	Alıkonma İndeksi						
	Bileşen	**Pik No.**	**R.T**	**İlk**	**Maksimum**	**Son**	**% Alan**
1	α pinen	4	5,936	999	1009	1024	0,187
2	1,4 hexadien	6	6,779	1146	1156	1176	0,244
3	β pinen	7	6,837	1161	1166	1176	0,374
4	β myrecene	11	7,134	1211	1218	1230	0,187
5	3 octanol	12	7,235	1230	1236	1246	0,464
6	**dL limonene**	**17**	**7,877**	**1338**	**1348**	**1352**	**3,849**
7	**p-Mentha-1(7),8-diene**	**18**	**7,932**	**1352**	**1357**	**1365**	**4,485**
8	l-Limonene	19	8,003	1365	1370	1376	0,445
9	1,8-Cineole	20	8,061	1376	1380	1393	0,523
10	p-Mentha-1,4 -diene	24	8,593	1468	1473	1485	0,335
11	delta-3-carene	27	9,154	1564	1571	1581	0,300
12	p-Mentha-1,3,8-triene	29	9,532	1630	1637	1647	0,144
13	Pseudolimonene	35	10,303	1755	1772	1779	0,557
14	**Menthol**	**36**	**10,422**	**1779**	**1793**	**1814**	**10,843**
15	α limonene	38	10,691	1824	1840	1845	1,351
16	1,5-Cyclooctadiene	39	10,740	1845	1848	1849	0,508
17	**Dihydrocarvone**	**40**	**10,784**	**1849**	**1856**	**1872**	**3,419**
18	d-Dihydrocarvone	41	10,904	1872	1877	1907	0,401
19	Mentha-1,4,8-triene	42	11,228	1926	1933	1947	0,339
20	2,6-Dimethyl-1,3,5,7-octatetraene	45	11,445	1964	1971	1974	0,779
21	**Carvone**	**46**	**11,647**	**1974**	**2007**	**2032**	**43,466**
22	2-Cyclohexen-1-one	47	11,817	2032	2036	2059	0,274
23	anisole	49	12,087	2079	2084	2092	0,060
24	Dihydrocarvyl acetate	52	12,665	2177	2185	2197	0,246
25	1,5,8-p-menthatriene	53	12,779	2201	2205	2209	0,021
26	bicyclogermacrene	54	12,828	2209	2213	2219	0,021
27	Piperitenone	55	12,905	2219	2227	2235	0,062
28	Mentha-1,4,8-triene	57	13,130	2259	2266	2281	0,094
29	Copaene	58	13,389	2306	2311	2322	0,037
30	beta-Bourbonene	59	13,544	2322	2338	2343	1,842
31	β-Elemene	60	13,611	2343	2350	2358	1,270
32	megastigma-4 6(e) 8(z)-triene	62	13,800	2375	2383	2391	0,060
33	Isocaryophyllene	63	13,882	2391	2397	2403	0,178
34	**beta-Caryophyllene**	**65**	**14,124**	**2424**	**2440**	**2448**	**7,429**
35	alpha.-Amorphene	66	14,241	2448	2460	2472	0,268
36	Germacrene D	67	14,511	2498	2507	2513	0,316
37	trans-.beta.-Farnesene	68	14,581	2513	2519	2527	0,669
38	alpha.-Humulene	69	14,686	2530	2538	2548	0,745
39	delta.-Cadinene	70	14,849	2557	2566	2573	0,617
40	1,6-Cyclodecadiene	71	14,926	2573	2580	2592	0,174
41	beta.-Gurjunene	72	15,061	2592	2603	2610	0,071
42	alpha.-Cubebene	73	15,204	2618	2628	2641	1,258
43	Eremophilene	74	15,317	2641	2648	2664	0,113
44	1H-Cycloprop[e]azulene	75	15,519	2664	2683	2695	0,766
45	alpha.-selinene	76	15,720	2703	2719	2733	0,255
46	α-Muurolene	77	15,867	2733	2733	2755	0,096
47	L-calamenene	78	16,062	2755	2778	2800	0,405
48	alpha.-cadinene	79	16,402	2824	2838	2854	0,102
49	Isolongifolene	80	17,508	2999	3031	3044	0,446
50	Isolongifolene, 9,10-dehydro	81	17,700	3044	3065	3113	0,891
51	Cadina-1,4-diene	83	18,570	3205	3217	3244	0,73
							92,716

Yapılan analizin pik görüntüsü Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2: GC-MS Analizi Pik Görüntüsü (Clevenger ile Elde Edilen Nane Yağı)

GC-MS analizi mikrodalga clevenger aparatı ile elde edilen nane yağı numunesi için de tekrarlanmıştır. Clevenger aparatı ile elde edilen yağın GC-MS analizindeki RT (Retention Time - Alıkonma Zamanı), mikrodalga ekstraksiyonu ile elde edilen yağın GC-MS analizindeki RT ile benzerdir. Bu analize ait pik görüntüsü Şekil 4.3'te verilmiştir. (Clevenger Metodu Elde Yağı Mentol RT: 10.42, Mikrodalga Metodu Elde Yağı Mentol RT: 10.14)



Şekil 4.3: GC-MS Analizi Pik Görüntüsü (Mikrodalga E. ile Elde Edilen Nane Yağı)

4.4. MENTOL ERİME NOKTASI TAYİNİ VERİLERİ

Elde edilen mentol numunelerine, Büchi marka B-540 Model cihaz ile erime noktası tayini yapılmıştır, analiz sonucu ile nane yağından kristalizasyon yöntemi ile ayrılan maddenin mentol olduğu kanıtlanmıştır. Erime tayini deney sonuçları Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.5: Erime Noktası Tayini Deney Sonuçları Tablosu

	1. Numune*	2. Numune**	3. Numune***
Erime Başlangıç Noktası (°C)	42.2	42.6	42.4
Erime Bitiş Noktası (°C)	42.7	43.3	43.3

*1. Numune: 29 deney numaralı nane yağından elde edilen mentol ile yapılmıştır.
**2. Numune: 37,38,41 numaralı nane yağından elde edilen mentol ile yapılmıştır.
***3. Numune: 36,44,47 numaralı nane yağından elde edilen mentol ile yapılmıştır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Ülkemizde yaygın ve üretimi kolay bir bitki olan nanenin, bileşenlerinden biri olan mentolün, ilaç endüstrisi, gıda ve sağlık alanlarında kullanımı da oldukça yaygındır. Mentol sentetik yöntemler ile veya nane yağından elde şeklinde üretilmektedir. Ülkemizde ve dünyada gittikçe önemli hale gelen doğal üretim göz önüne alındığında, nane yağından mentol eldesi önemlidir. Kullanım alanı oldukça fazla olmasına rağmen, ülkemizde mentol üretimi yok denilecek kadar azdır. Üretim maliyetine oranla, yüksek kar getirisi olan saf mentolün, nane yağı içerisindeki oranı, nane türüne göre değişkenlik göstermektedir. Birçok farklı türü olan nanenin, mentol içeriği en yüksek olan türü *Menta Arvensis*'tir. *Mentha Arvensis* türünün nane yağı içerisindeki mentol yüzdesi % 80'lere kadar çıkmaktadır (Kokkini ve diğ., 2003). Ülkemizde *Mentha Arvensis* türündeki nane üretimi sadece deneysel ölçekli olarak yetiştirilmektedir.Ülkemizde yetişebilen ve genellikle kurutulup, kullanıma sunulan bir tür nane olan *Mentha Piperita* türünde de mentol içeriği % 50.98'e kadar çıkabilmektedir (Clarke, 2008).

Naneden, mentol eldesi için ilk aşama nane yağı eldesidir. Günümüzde kullanımı yaygınlaşmış mikrodalga ekstraksiyonu, basınçlı sıvı ekstraksiyonu, süperkritik akışkan ekstraksiyonu gibi yöntemlerle de elde edilebilen nane yağı, clevenger aparatı ile su destilasyonu yöntemi ile de üretilebilmektedir.

Yapılan analizlerde nane yağı üretiminde, clevenger aparatı ile buhar destilasyonu metoduyla üretilen nane yağı verimi mikrodalga ekstraksiyonuna göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca nanenin yetiştirildiği bölge, nanenin kuru ya da yaş oluşu, kullanılan nane ve su miktarları da nane yağı üretimini etkilemektedir.

Literatürde *Mentha piperita* bitkisinin yağ veriminin % 1-2 en fazla % 3.5'e kadar çıkabildiği görülmüştür (Ceylan, 1987) Nane yağının içerisindeki mentol miktarının ise, bitkinin büyümesi sırasında %32.92 ile % 39.65 arasında, % 34.29 ile % 42.83 arasında veya % 22.56 ile % 32.77 arasında değişebildiği görülmüştür (Verma ve diğ., 2010).

Nane yağı içerisinde, mentol gibi birçok bileşen bulunmaktadır. Bunların arasında en yüksek miktarda bulunan bileşenler Tablo 5.1'de verilmiştir:

Tablo 5.1: Nane Yağında En Çok Bulunan Bileşenlerin Bazı Literatür Değerleri ile Karşılaştırılması

Bileşen	Deneysel Sonuçlar	Literatür 1*	Literatür 2*	Literatür 3*
		% Alan		
Mentol	10.8	3.0	40.7	13.0
Carvone	43.5	43.7	0.2	4.5
β-Caryophyllene	7.4	6.4	1.7	0.9
Dihydrocarvone	3.4	1.9	-	-
dl-Limonene	3.8	8.4	2.6	10.5

* Literatür 1: Hawrly ve diğ., 2015, Literatür 2: Schmidt ve diğ., 2009, Literatür 3:Buleandra ve diğ., 2016

Tablo 4.3'te görüldüğü gibi, yapılan deneyler sonucu nane yağından elde edilen mentol miktarı verimi yaklaşık % 29.58 olarak bulunmuştur. Genel üretim miktarlarına bakıldığında toplam 20.999 g nane yağından 6.221 g mentol üretilebilmektedir.

Çalışmalar sonucunda elde edilen % mentol miktarı, titrasyon metodu ile 31.65, kademeli kristalizasyon ile 29.58 olarak bulunmuştur. GC-MS analizinde ise mentolün % pik alanı 10.8'dir. Titrasyon ve kademeli kristalizasyon yöntemleri ile elde edilen sonuçlar birbiri ile uyumlu olup, toplam mentolü (mentol + menton + izomentol + rasemik mentol) göstermektedir. GC-MS sonucu ile yalnızca mentole ait % pik alanı ifade edilmektedir.

Ülkemiz iklim koşulları ve tarıma elverişli toprakları düşünüldüğünde, yüksek mentol içeren nane türlerinin yetiştirilmesi ve yetiştirilen bu nanelerden sanayi ölçekli mentol üretimine başlanması, ülkemiz ekonomisi açısından pozitif sonuçlar doğuracaktır. Doğal ve organik tarım, kimyasal içermeyen doğal ürünlerin kullanımı, her geçen gün artmaktadır.

KAYNAKLAR

Abascal, K. ve Yarnell, E. (2002). Herbs and Drug Resistance. Potential of Botanical in Drug-Resistant Microbes, Alternative & Complementary Therapies 1, 237-241.

Aflatuni, A., Ulusitalo, J., Ek, S. ve Hohtola, A. (2005). *Variation in the Amount of Yield and in the Extract Composition Between Conventionally Produced and Micropropagated Peppermint and Spearmint.* Journal of Essential Oil Reesearch. Ocak/Şubat sayısı.

Akgül, A (1993). Baharat Bilimi ve Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları.

Alvi, M.N., AHMAD, S. ve Rehman K. (2001) *Short Communication Preparation of Menthol Crystals from Mint (Mentha Arvensis).* International Journal of Agricultural & Biology. Mart/Nisan sayısı.

Anamed, http://www.anamed.com.tr/UserFiles/Documents/brochure_neos_rev._00-2010.pdf Erişim Tarihi:26.11.2019.

Arslan, Y., Katar, D., Subaşı, İ., Ankara Ekolojik Koşullarında Japon Nanesi (*Mentha arvensis L*) Bitkisinde Uçucu Yağ ve Bileşenlerinin Ontogenetik Varyabilitesinin Belirlenmesi, GOÜ, Ziraat Fakültesi Dergisi, (2010), 39-43

Azmir, J., Zaidul, I.S.M., Rahman, M.M., Sharif, K.M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M.H.A., Ghafoor, K., Norulaini, N.A.N. ve Omar, A.K.M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials, *Journal of Food Engineering* 117, 426-436.

Bal, Y (2001). Bitkilerden Etken Madde İzolasyonu ve Özelliklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.

Başer, K, H, C. (1999). Industiral Utilization of Medicinal and Aromatic Plants. Acta Hortic. 177-192. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1999.503.26 Erişim Tarihi: 19.05.2018.

Başer, K.H.C (1997). İlaç ve Baharat Bitkilerin, İlaç ve Alkollü İçki Sanayilerinde Kullanımı. İstanbul Ticaret Odası. Sayı 39. İstanbul.

Başer, K.H.C., Kirimer, N., Koşar, M. ve Tunalıer, Z., (2005). Bitkisel drogların kimyasal incelenmesi, Farmakognozi III Uygulamaları El Kitabı, Eskişehir, 13-15.

Başer, K.H.C., Kürkçüoğlu, M. ve Aytaç, Z. (1998). Composition of the Essential Oil of Salvia euphratica Montbret et Aucher ex Bentham var. euphratica from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal.* Sayı 13. Sayfa 63-64.

Başer, K.H.C. (Ed), (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkisel Ürünlerin Üretimi ve Kalite Kontrolü, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir.

Başer, K.H.C. (1992). Turkish Rose Oil. Perfum. Flav. Vol: 17, (3), pp 45-52.

Baydar, H (2005). Tıbbi, Aromatik ve Keyf Bitkileri Bilimi ve Teknolojisi. *Süleyman Demirel Üniversitesi*. Sayı 51. 113-115.

Bayrak, A. (2006). Gıda Aromaları, Gıda Teknolojisi Derneği Yayın No: 32, Ankara.

Baytop, T. (1984). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, İ.Ü. Yay. No: 3255, İstanbul.

Biçer, A.; Özkan, G.; Ergen, A (2003). Lavanta Bitkisi Çiçeklerinden Süperkritik CO2 ile Uçucu Yağların Ekstraksiyonuna Basıncın Etkisi. *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*. Ankara.

Blanco, E.V., Mahia, P.L., Lorenzo, S.M., Rodriguez, D.P., Fernandez, E.F. (2000). Optimization of microwave-assisted extraction of hydrocarbons in marine sediments: comparison with the Soxhlet extraction method. Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 366(3), 283.

Boydağ, I. (2004). Origanum Onites L. (Kekik) Yağ Altı Suyunun Uçucu Bileşikleri, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye.

Buleandra, M., Oprea, E., Badea, I.,A., (2016), Comparative Chemical Analysis of Mentha piperita and M. spicata and a Fast Assessment of Commercial Peppermint Teas, Natural Product Communications, Volume: 11.

Bunsawat, J., Elliott, N., Hertweck, K., Sproles, E. ve Alice, L. (2004). Phylogenetics of Mentha (Lamiaceae): Evidence from Chloroplast DNA Sequences. *Systematic Botany*. 959-964. http://www.jstor.org/stable/25064024 Erişim Tarihi: 19.05.2018.

Büchi,http://www.labudstyr.dk/wp-content/uploads/2012/12/Smeltepunktsapparat-Buchi-Model-B-540.pdf Erişim Tarihi: 14.12.2019

Büyüktuncel, E., (2012). Gelişmiş Ekstraksiyon Teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 32(2). 209-242.

Camel, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. TracTrends in Analytical Chemistry, 19(4), 229.

Camel, V. (2001). Recent extraction techniques for solid matrices-supercritical fluid extraction, pressurized fluid extraction and microwave-assisted extraction: their potential and pitfalls. Analyst, 126(7), 1182.

Carabias-Martinez, R., Rodriguez-Gonzalo, E., Revilla-Ruiz, P., Hernandez-Mendez, J. (2005). Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. Journal of Chromatography A .1089: pp.1-17.

Cerit, L.S. (2008). Bazı Baharat Uçucu Yağlarının Antimokrobiyal Özellikleri. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Denizli.

Ceylan, A. (1983). Tıbbi Bitkiler-II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, Bornova-İzmir.

Chalchat, J.C., Garry, R.P., Michet, A. (1997). Variation of the chemical composition of essential oil of M. piperita L. during the growing time, J. of Essential Oil Research, 9(4), pp.463-465.

Chemat, F., Huma, Z. ve Khan, M.K. (2011). Applications of ultrasound in food technology: processing, preservation and extraction. Ultrasonics Sonochemistry 18: 813-835.

Chen, S-C. ve Spiro, M. (1995). Kinetics of Microwave Extraction of Rosemary Leaves in Hexane, Ethanol, and a Hexane+Ethanol Mixture. Flav. Fragr. J., Vol: 10, pp. 101-112.

Clarke, S. (2008). Composition of essential oils and other materials. Essential Chemistry for Aromathreapy, Vol: 7, pp:123.

Cocero M.J., Gonzalez S., Perez S. and Alonso E. (2000). Supercritical extraction of unsaturated products: Degradation of β- carotene in supercritical extraction processes. J of Supercritical Fluids.

Coelho, JP., Cristino, AF., Matos, PG., Rauter, AP., Nobre, BP., Mendes, RL, Barroso, CG., Mainar A, Urieta, CS., Fareleira, JMNA., Sovová, H. ve Palavra, AF.. (2012). Extraction of Volatile Oil from Aromatic Plants with Supercritical Carbon Dioxide: Experiments and Modeling, Molecule, 17(9): 10550-10573.

Çam, M., Hışıl, Y., (2006). Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu ve Uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 79-86.

Çolak, N., Tülek Y., (2003). Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu, Gıda dergisi 28(3) : 313-320.

Çöteli, E., Erden, Y. ve Karataş, F. (2013). Yarpuz (Mentha pulegium L.) Bitkisindeki Malondialdehit, Glutatyon ve Vitamin Miktarları ile Total Antioksidan Kapasitesinin Araştırılması. Süleyman Demirel Üniversitesi. *Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. Isparta.

De Castro, M.D.L., Garcia-Ayuso, L.E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. Analytica Chimica Acta, 369(1-2).

De Castro, M.D.L., Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. Journal of Chromatography A, 1217(16), pp.23-83.

Denys,J.Charles.,James,E.Simon.,(1990). Comparison Of Extraction Methods for the Determination of Essential oil content and composition of Basil J.Amer.Soc.Host.Sci.115(3) pp. 458-62.

Diagne, R.G., Foster, G.D., Khan, S.U.: Comparison of Soxhlet and microwave-assisted extractions for the determination of fenitrothion residues in beans. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(11), 3204 (2002).

Eccles,R.,Menthol and related cooling compounds,J.Ezc.Pharmacol.,1994,46 (8) ,618-630.

European Pharmacopoeia, 9.0, pp: 2894-2895, 2998-2999

Ercan, S.Ş., Soysal, Ç., (2011). Ultrasonun Gıdalarda ve Enzimlerin İnaktivasyonunda.Kullanılması, Gıda/The Journal of Food, 36(4), pp.225-231.

Erdemgil, F. Z (1992). *Origanum Onites L. Uçucu Yağının Bileşimi.* Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Eskişehir.

Erdemir, A. (1999). Nane ilacının Osmanlı Türk Tıbbındaki Yeri ve Bazı Orijinal Belgeler. 13. Türk Tarih Kongresi. Kongre Özet Kitabı. Ankara.

Ersen, A., Özkan, G., Biçer, A., (2001). Süperkritik CO2 Ekstraksiyonu ile Gül ve Nane Bitkilerindeki Esansiyel Yağların Eldesi XV. Ulusal Kimya Kongresi, İstanbul, KM-S10.

Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R. ve Aydın, H. (2010). Ticari Olarak Satılan Kekik ve Nane Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*. Sayı 32. 281-286.

Etzold,B., Jess,A., Nobis,M. (2009)., Epimerisation of menthol stereoisomers : Kinetic studies of the heterogeneously catalysed menthol production. Catalysis today.140, pp.30-36.

Fakhari, A. R., Salehi, P., Heydari, R., Ebrahimi, S. N., Haddad, P. R. (2005). Hydrodistillation-Headspace Solvent Microextracti On, A New Method For Analysis Of The Essential Oil Components Of Lavandula angustifolia Mill. J.of Chromatography A, 1098, 14-18.

Galeottia,N.,Manellia,LCD,Manzantib,G.,Bartolinia,A.,Ghelardini,C. (2002). Mentol dogal bir analjezik bileşik ,'Neuroscience Letters, 322 (3), pp. 145-148.

Geankoplis C.J., (1983). Transport Processes and Unit Operations, 2nd ed., Allyn and Bacon Inc., Boston.

Govaerts, R. (2003). World Checklist of Selected Plant Families Database in ACCESS: 1-216203. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew.

Guenther, E. (1948). The Essential Oils, Vol. 1-6, Robert E. Krieger Publishing Co., Inc., Malabar, Florida.

Guillen, M.D. ve Cabo, N (1996). Characterization of the Essential Oils of some Cultivated Aromatic Plants of Industrial Interest. *Journal Science Food Agriculture*. 70 (4), 359-363.

Grassmann, J. ve Elstner, E.F., (2003). Essential Oils/properties and uses. Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition (Elsevier Science Ltd.): pp.2177-2184.

Handa, S.S., Khanuja, S.P.S., Longo, G. and Rakesh, D.D. (2008). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants, International Centre for Science and High Technology, Trieste.

Hawryl, M.A., Wozniak, K.S., Swieboda, R., Niemiec, M., Stepak, K., Hajnos, M.W., Hawrly, A., Szymczak, G., (2015). GC-MS Fingerprints of Mint Essential Oils, Open Chemistry, 13, 1326-1132

Hoşgün, E.Z., Bozan, B., (2013). Üzüm Çekirdeği Yağının Basınçlı Çözücü ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Parametrelerinin Cevap Yüzey Yöntemi ile Optimizasyonu. 11. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi.

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

Jadhav, B.K., Khandelwal, K.R., Ketkar, A.R., Pisal, S.S. (2004). Formulation and evaluation of mucoadhesive tablets containing eugenol for the treatment of periodontal diseases. Drug Dev Ind Pharm. 30 (2): 195–203.

Jagetia, G.C. ve Baliga, M.S. (2002). Influence of the Leaf Extract of Mentha Arvensis Linn. (Mint) on the Survival of Mice Exposed to Different Doses of Gamma Radiation. *Strahlentherapie und Onkologie*. 91-98.

Japanese Pharmacopoeia, 11th Edition.

Iso, S., Uno, S., Meguro, Y., Sasaki, T., Yoshida, S.,(2000), 'Pressure dependence of extraction behavior of plutonium(IV) and Uranium(VI) from nitric acid solution to supercritical carbon dioxide containing tributylphosphate',Nuclear Energy,.

Kaya, D, Ergönül, PG. (2015). Obtaining methods of volatile oils. GIDA-Journal of Food, 40(5), 303-310.

Kayan, B., (2009). Taxus Baccata L.'nin farklı ekstraksiyon yöntemleri ile ekstraksiyonu ve ekstraksiyon verimlerinin karşılaştırılması, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Kimya Bölümü, Mersin.

Kılıç, A. (2008). Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10 (13), 37-45

Kılıç, A. (2008). Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. Bartın Orman Fakültesi, Bartın. Cilt 10, Sayı 13.

Kokkini, S. (1991). Essential Oils as Taxonomic Markers in Mentha L. In Advances in Labiatae Science. New Series 12. Berlin. 61- 75.

Kokkini, S., Karousou, R., Hanlidou, E. (2003) Herbs of the Labiatae. Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition, Academic Press, USA. Pp: 3082 - 3090

Koyunoğlu, Semra. (2008). paeonıa türleri içerisindeki monoterpen glikozitlerinin yapı tayinleri ve kromotografik analizleri için yöntem geliştirilmesi, doktora tezi, Hacettepe üniversitesi sağlık bilimleri enstitüsü.

Krastanov, A.I., Chemical Composition, Olfactory Evaluation and Antioxidant Effects of Essential Oil from Mentha piperita. https://www.researchgate.net/figure/Chemical-composition-of-peppermint-oil_tbl1_26826417 Erişim Tarihi: 14.12.2019

Krukonis V. (1998). In European Pharmaceutical Contractor (EPC), May, London. pp 2-10.

Kubeczka, K.H., Formacek V., (2002), Essential Oils Analysis by Capillary Gas Chromatography, Vol.2, Wiley, New York.

Lang, Q. and Wai, C. M., (2001). Supercritical fluid extraction in herbal and naturall product studies-a practical review. Talanta.

Langiston, R. ve Leopold, A. C (1954). Phtoperiodic Response of Peppermint. *American Society for Horti-Science*. 347-352.

Lawrence, B.M. (1995). The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products In: A Manual on the Essential Oils and Aroma Chemicals Industries, K. Tuley de Silva (Eds.), UNIDO, Vienna.

Leffingwell, http://www.leffingwell.com/menthol10/menthol10.htm, Erişim Tarihi: 12.01.2020.

Legast, E., ve Peyron, L. (1983). Hydrodiffusion Industrial Technology to Produce Essential Oils. Proceedings of 9th International Congres of Essential Oils, Tech. Book. No: 1, pp. 69-73, (Singapore).

Letellier, M., Budzinski, H. (1999). Microwave assisted extraction of organic compounds. Analusis, 27(3), 259.

Linskens, H. F. ve Jackson, J.F, (1997b). Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 12: Essential Oils and waxes, Springer, Germany.

Linskens, H.F. ve Jackson, J.F. (1997a). Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 19: Plant Volatile Analysis, Springer, Germany.

Lopez-Avila, V. (1999). Sample preparation for environmental analysis. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 29(3), 195.

Luque-Garcia, J.L., de Castro, M.D.L. (2004). Focused microwave-assisted Soxhlet extraction: devices and applications. Talanta, 64(3), 571.

Marotti, M., Dellacecca, V., Piccaglia, R. ve Giovanelli, E. (1993). Effect of Harvesting Stage on the Yield and Essential Oil Composition of Peppermint Acta-Horticulturae. 370-379.

Meyer-Warnod, B. (1984). Natural Essential Oils. Extraction Processes and Application to Some Major Oils. Perfum. *Flav*., 94(2), pp. 93-104.

Milli Eğitim Bakanlığı (2013). Yapraklarından Faydalanılan İlaç ve Baharat Bitkileri Yetiştiriciliği. Tarım Teknolojileri. Ankara. http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Yapraklar%C4%B1ndan%20Faydalan%C4%B1lan%20%C4%B0la%C3%A7%20Ve%20Baharat%20Bitkileri%20Yeti%C5%9Ftiricili%C4%9Fi.pdf Erişim Tarihi: 19.05.2018.

Mockel, H.J., Welter, G., Melzer, H. (1987). Correlation between Reversed-Phase Retention and Solute Molecular-Surface Type and Area .1. Theoretical Outlines and Retention of Various Hydrocarbon Classes. Journal of Chromatography, 388(2), 255.

Mukhopadhyay M. (2000). Natural food colors. Natural extract using supercritical carbon dioxide, CRC Press LLC, Boca Raton, Florida, USA

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

Murray, M.J., Marble, P., Lincoln, D., Mefendehl, F.W. (1988). Peppermint oil quality differences and the reason for them, Flavors and Fragrances: A World Perspective, Proceedings of the l0th Int. Congress of Ess. Oils, Fragrances and Flavors Washington, DC. U.S.A., 16-20 Nov. 1986, Elsevier Sci.P.b. Amsterdam.

Naves, Y.R. ve Mazuyer, G. (1947). Natural Perfume Materials. Reinhold Publ. Corp., Newyork.

Nori-Shargh, D., Norouzi-Arasi, H., Mohammadi, S., Mirza, M., Jaimand, K. (2000). Volatile Component of Mentha longifolia (L.) Huds. From Iran. Journal of Essential Oil Research. 12 (1): 111-112.

Oussalah, M., Caillet, S., Saucier, L., Lacroix, M., (2006). Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a Pseudomonas putida strain isolated from meat. Meat Science. 73:236-244.

Özgün, N. (2015). Nane Uçucu Yağının Siklodekstrinler İle Mikroenkapsülasyonu. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı.

Özgüven, M., Kırıcı, S. (1998). Farklı Ekolojilerde Nane (Mentha) Türlerinin Verim ile Uçucu Yağ Oran ve Bileşenlerinin Araştırılması. TÜBİTAK, 23, ss. 465-472.

Özgüven, M., Kırıcı, S. ve Mengel, C. (1995). Wild Mentha Species in Southern Turkey and their Essential Oils. The 43 Annual Congress of the Society for Medicinal Plant Research Halle. Germany, September.

Öztekin, S., Soysal, Y. (2015). Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde Ekstaksiyon Yöntemleri. Tarımsal Mekanizasyon 18. Ulusal Kongresi, 731-745.

Öztürk, B., Konyalıoğlu, S., Ertaş, H. ve Gökgünneç, L. (2002). Türkiye'de Doğal Yayılış Gösteren Bazı Mentha L. Taxonlarının Karşılaştırmalı Uçucu Yağ Bileşenleri ve Antioksidan Etkileri. 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Eskişehir. 29-31.

Perry R.H., Green D., (1985). Perry's Chemical Engineers' Handbook, 6th ed., Mc Graw Hill., New York.

Phenomenex, https://www.phenomenex.com/Application/Detail/2571, Erişim Tarihi: 26.11.2019.

Pool-Zebel, B.L., Bub, A., Muller, H., Wollowski, I. and Hochkemmet, G. (1997). Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: First result of human intervention trial with carotenoid-rich foods. Carcinogenesis.

Pubchem, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Peppermint-oil#section=Therapeutic-Uses, Erişim Tarihi: 09.12.2019.

Rangahau, M. K (2001). Essential oils and their production. *Crop and Food Research*. Sayı 39. Ekim. Springer, Germany.

Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U. ve Saller, R. (2009). Essential Oils of Aromatic Plants with Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Cytotoxic Properties – an Overview. Forsch Komplementmed. 79-90.

Renoe, B.W. (1994). Microwave-Assisted Extraction. American Laboratory, 26(12), 34

Richter, B.E., Jones, B.A., Ezzell, J.L., Porter, N.L., Avdalovic, N., Pohl, C. (1996). Accelerated solvent extraction: A technique for sample preparation. Analytical Chemistry, 68(6), 1033.

R. Kellner, M.M., M.Otto, M.Valcarcel, H.M. Widmer, (2004). Sample Preparation, in Analytical Chemistry: Modern Approach to Analytical Science. Wiley: Weinheim. pp. 506-508.

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

Ruminska, A., Suchorska, K., Weglarz. Z. (1984). Growth and development of peppermint (Mentha piperita L.) in the first and second year of cultivation, Annals of Warsaw Agricultural Uni. SGGW-AR., Horticulture No: 12, pp.33-39.

Saha, B.N., Baruah, A.K.S., Bordoloi, D.N., Mathur, R.K., Baruah, J.N. (1986). Mentha piperita -A promising crop for Arunachal Pradesh, In. Perfumer, 30(2) 355-359.

Saim, N., Dean, J.R., Abdullah, M.P., Zakaria, Z. (1997) Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil using Soxhlet extraction, pressurised and atmospheric microwave-assisted extraction, supercritical fluid extraction and accelerated solvent extraction. Journal of Chromatography A, 791(1-2), 361.

Santos, H.M., Capelo, J.L. (2007) Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment. Talanta, 73(5), 795.

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

Sasidharan, S., Latha, L.Y., Ping, K.Y. ve Lachumy, S.J. (2012). Screening methods in the study of fungicidal property of medicinal plants", Fungicides for Plant and Animal Diseases 5, 107-118.

Sartoratto,A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T., Rehder, V.L.G. (2004). Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aromatic Plants Used in Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 35: pp.275-280.

Sefidkon, F., Abbasi, K., Ahmedi, S., Jamzad, Z., (2007). The effect distillation methods and stage of plant growth on the essentiol oil content and compasitıon of rechingerı jamzad, Food Chemistry, 100, 1054-1058.

Sethi, S., Dutta, A., Gupta, B.L. ve Gupta, S. (2013). Antimicrobial activity of spices against isolated food borne pathogens", International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 5, 260-262.

Sevindik, O., Selli, S., (2017), Üzüm Çekirdek Yağı Eldesinde Kullanılan Ekstraksiyon Yöntemleri, Gıda, 42 (1), 95-103 .

Sezik, E. ve Ezer, N. (1983). Türkiye'de Halk İlacı ve Çay Olarak Kullanılan Bitkiler Üzerinde Morfolojik ve Anatomik Araştırmalar. I. Sideritis congesta Davis et Huber Morath. *Doğa Bilim Dergisi.*

Schmidt, E., Bail, S., Buchbauer, G., (2009) Chemical Composition, Olfactory Evaluation and Antioxidant Effects of Essential Oil from Mentha x piperita, Natural Product Communications Vol:4 (8), pp:4

Schelz, Z.,Molnar, J., Hohmann, J., (2006). Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. Fitoterapia. 77: pp.279-285.

Sozio, H. (1956). Essential Oils. Products of Enflaurage. Perfum. Essential Oil Rec., Vol: 47, pp. 160-162.

Stashenko, E., Jaramillo, B. E., Martinez, J.R., (2004) Compoarison Of Different Extraction Methods Fort He Analysis Of Volatile Secondary Metabolites Of Lippia alba (Mill) N.E. Brown, Grown In Colombia And Evaluation Of Its In Vito Antioxidant Activity, J. Of Chromatography A, 1025, 93-103.

Şahin, E. (2006). Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri, Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul, s. 4-5.

Şebik, T. (2011). Piyasadan Temin Edilen Bazı Biberiye, Kekik ve Lavanta Yağlarında Kalite Tayini. Bitirme Tezi. Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi. Kayseri.

Şeran, E.B., (2013). Yağlı Tohumlara Uygulanan Ultrasonik Destekli Ön İşlem İle Soğuk Pres Yağlarında Verim Ve Kalitenin Arttırılması. İTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü.

Tadeo, J.L., Sanchez-Brunete, C., Albero, B., Garcia-Valcarcel, A.I. (2010). Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples. Journal of Chromatography A, 1217(16), 2415.

Tanker, M. ve Tanker, N., (1976). Farmakognozi Cilt II, Reman Matbaası, İstanbul.

Tanker, M.; Tanker, N (1976). Farmakognozi. Ankara Üniversitesi Basımevi, 2; 185, İstanbul.

Tavman, Ş., Kumcuoğlu, S., Akkaya, Z., (2009). Bitkisel Ürünlerin Atıklarından Antioksidan Maddelerin Ultrason Destekli Ekstraksiyonu. Gıda Dergisi, 34(3).

Thapa, B.B. (1989). Extraction of essential oil, National Workshop on Chemical Investigation and Processing of Aromatic Plants, Nepal, 71-81.

Tokkan, D., Kuşlu, S., Çalban, T., Çolak, S., (2012). Anod Çamurundaki Gümüşün Amonyum Tiyosülfat Çözeltilerinde Mikrodalga Enerjisi ile Ekstraksiyonunun Optimizasyonu. 10. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi.

Toroğlu, S. ve Çenet, M., (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metotlar. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(2), 12-19.

Trasarti, A.F. , Marchi, A.J. and Apesteguía, C.R. (2004). Highly selective synthesis of menthols from citral in a one-step process. J. Catal. 224, pp.484-488.

Turner, E.E., Harris, M.M., Organic Chemistry, Longmans, Green&Co., London, 1952

Ulusoy, K., Karakaya, M., (2011). Gıda Endüstrisinde Ultrasonik Ses Dalgalarının Kullanımı. Gıda Dergisi, 36(2).pp. 113-120.

Uyanık, M (2013). Oğulotu (Melissa officinalis L.)'nda Onkogenetik, Morfogenetik ve Diurnal Varyabilitesinin Ankara Koşullarında Belirlenmesi. Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Ankara.

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

Vas, G., Vekey, K., (2004). Solid-Phase Microextraction: Apowerful Sample Preparation Tool Prior To Mass Spectrometric Analysis. *J.of Mass Spectrometry*, 39:233-254.

Verma, R.M., Rahman, L., Verma, R., Chauhan, A., (2010), Essential Oil Composition of Menthol Mint (Mentha arvensis L.) and Peppermint (Mentha piperita L.) Cultivars at Different Stages of Plant Growth from Kumaon Region of Western Himalaya, 13-18.

Wallace, R.J., (2004). Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proceeding of the Nutrition Society. 63: pp.621-629.

Wang, L. and Weller, C.L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants, *Trends in Food Science* (17), 300-312.

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

Wijesekera, R.O.B. (1993). Practical manual on the essential oils industry, agrotechnology, Processing, Quality Assesment, UNIDO, 100-121.

Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., Rasooli, I. (2006). Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus communis L. essential oils. Phytochemistry. 67: pp.1249-1255.

Yakar, N.; Bilge, E (1987). *Genel Botanik.* İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Yayınları. Gençlik Basımevi, İstanbul. 25-27.

Yamani,Y., Khajeh, M., Ghasemi, E., Mirza, M., Javidnia, K. (2007). Comparison Of Essential Oil Compositions Of Salia Mirzayanii Obtained By Supercritical Carbondioxide Extraction And Hydrodistilaltion Methods. *Food Chemistry,* 108, 341-346.

Yaylı N., Yaşar A., Güleç C., Usta A., Kolaylı S., Coşkunçelebi K., Karaoğlu Ş., (2005). 'Composition and antimicrobial activity of essential oils from Centaurea sessilis and Centaurea armena' Phytochemistry 66, 1741–1745.

Yemişçioğlu, F., Özdikicierler, O. (2013). Aytaç Saygın Gümüşkesen, Ayşegül Ermek Sönmez, Bitkisel Yağ Rafinasyon Artıklarının Değerlendirilmesi, Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, İzmir.

Yıldırım, E (2014). Melisa, Adaçayı ve Nane Yağlarının Bilimsel Olarak İncelenmesi, Piyasa Analizi ve Kalite Tayini. Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, 22-34.

EKLER



Ek: İnce Tabaka Kromatografisi Analizi Orijinal Boyutlu Görünümü

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Cenk SUBUTAY
Doğum Yeri	İstanbul
Doğum Tarihi	14.03.1993
Uyruğu	☑ T.C. ❒ Diğer:
Telefon	+90 535 972 23 00
E-Posta Adresi	cenksubutay@gmail.com
Web Adresi	-



Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Anadolu Üniversitesi
Fakülte	Mühendislik Fakültesi
Bölümü	Kimya Mühendisliği
Mezuniyet Yılı	21.09.2016

Yüksek Lisans	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Kimya Mühendisliği
Programı	Temel İşlemler ve Termodinamik
Mezuniyet Yılı	13.01.2020

Doktora	
Üniversite	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa
Enstitü Adı	Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Anabilim Dalı	Anabilim Dalı Adı
Programı	Program Adı

Makale ve Bildiriler
Subutay, C., Karavil, Ö., Hasdemir, İ.M., Özmen, D., 2019, Türkiye'de Yetiştirilen Nane (*Mentha Spp.*) Bitkisinden Mentol Eldesi, 31. Ulusal Kimya Kongresi Bildiri Özetleri Kitabı, 10-13 Eylül 2019, Yıldız Teknik Üniversitesi Davutpaşa Kampüsü, İstanbul, 173.