

17 37 56

ROSA DAMASCENA
var. SEMPERFLORENS
(MİDAS GÜLÜ)' İN
UÇUCU BİLEŞİKLERİ

Ecz. ABDULLAH GEYLANI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

***Rosa damascena* var. *semperflorens*
(Midas Gülü)' in Uçucu Bileşikleri**

Abdullah GEYLANI

Yüksek Lisans Tezi

**Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Famakovognozi Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Programı**

Mart 2004

Danışman: Yard.Doç.Dr. Temel ÖZEK

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Abdullah GEYLANI' nin "*Rosa damascena var. semperflorens* (Midas Gülü)'in Uçucu Bileşikleri" başlıklı, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalındaki, Yüksek Lisans tezi 24.02.2004 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

ÜYE (Tez Danışmanı): Yard.Doç.Dr. Temel ÖZEK

ÜYE

Prof.Dr.K.Hüsnü Can BAŞER

ÜYE

Prof.Dr. Gülendamar TÜMEN

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 05.03.2004 tarih ve 7 Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Prof.Dr. Yusuf ÖZTÜRK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Rosa damascena var. *semperflorens* (Midas Gülü)'in Uçucu Bileşikleri

Abdullah GEYLANI

Anadolu Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmakognozi Anabilim Dalı

Danışman: Yard.Doç.Dr. Temel ÖZEK
2004

M.Ö. 8. yy dan beri Anadolu'da yetiştirilen bir gül çeşidi olduğu muhtelif kaynaklarda kayıtlı olan Midas Gülü (Yediveren Şam Gülü) *Rosa damascena* var. *semperflorens* 'nün çiçeklerinden su distilasyonu ve mikrodalga distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ, fitosol ekstraksiyonu, çözücü ekstraksiyonu ile hazırlanan konkret ve absolü ve tepe boşluğu-KFME ile zaptedilen uçucular'ın GK ve GK/KS analizleri yapılarak bileşimleri belirlendi. Veriler paralel çalışmayla elde edilen Isparta Gül yağı değerleri ile karşılaştırıldı.

Midas Gül yağında ana bileşenler sitronellol (% 16.6), geraniol (% 12.9) ve nerol (% 5.9) olarak bulundu. Sitronellol/geraniol oranının 1'e yakın olmasıyla Isparta Gül Yağından farklı olduğu ortaya konuldu.

Anahtar Kelimeler: *Rosa damascena* var. *semperflorens*, Rosaceae, Gül yağı, Gül konkreti, Gül absolüsü, KFME, mikrodalga distilasyonu, distilasyon, ekstraksiyon, fitosol ekstraksiyonu.

ABSTRACT

Master Of Science Thesis

Rosa damascena var. *semperflorens* (Midas Rosa)

Abdullah GEYLANI

Anadolu University
Graduate School of Health Sciences
Pharmacognosy Department

Supervisor: Yard.Doç.Dr. Temel ÖZEK
2004

Fresh flowers of *Rosa damascena* var. *semperflorens* (Midas Gülü, Yediveren Şam Gülü) that has been cultivated in Anatolia since the 8th century BC according to various sources were subjected to water distillation and micro distillation to obtain rose oil; phytosol extraction and solvent extraction to obtain rose concrete and rose absolute; and HS-SPME trapped volatiles. Oils, extracts and volatiles were analyzed by GC and GC/MS to identify their components. These data were compared with those of Isparta Rose Oil obtained in a paralel experiment.

Main components of the Midas rose oil were characterized as citronellol (16.6 %), geraniol (12.9 %) and nerol (5.9 %). The ratio of citronellol/geraniol was found as near 1, different from that of Isparta rose oil.

Key words: *Rosa damascena* var. *semperflorens*, *Rosaceae*, Rose oil, Rose concrete, Rose absolute, SPME, microwave distillation, distillation, extraction, phytosol extraction.

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım süresince bilgi ve tecrübesiyle beni yönlendiren, GK/KS Analizlerinde yardımcı olan Tez Danıőmanım Yard.Doç.Dr. Temel ÖZEK' e

Çalıőmalarım süresince bana kütüphanesini açan, bilgisini ve desteğini esirgemeyen Sayın Hocamız Prof.Dr. Kemal Hüsnü Can BAŞER'e

Deęerli öneri ve eleőtirilerinden yararlandığım ve kaynak taramalarında yardımcı olan Prof.Dr. Neőe KIRIMER' e

Çalıőmalarıma yön veren bilgi tecrübelerinden yararlandığım ve GK analizleri sırasında yardımcı olan Yard.Doç.Dr. Mine KÜRKÇÜOğLU' na

Analiz çalıőmalarına imkan veren Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırma Merkezi (BİBAM)'ne

Mikrodalga Distilasyon çalıőmalarımda yardımcı olan Yard. Doç. Dr. Müberra KOŐAR' a

Tez yazım aőamasında benden manevi desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaőım Ecz. Yasemin KILINÇASLAN' a

Labratuvar çalıőmalarımda desteğini esirgemeyen arkadaőlarım Biyolog őenay ARIKAN ve Fatih GÖGER'e teşekkür ederim.

Abdullah GEYLANI

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZİLGELER DİZİNİ.....	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. KAYNAK TARAMASI.....	2
2.1. <i>Rosa</i> L. Cinsi.....	2
2.1.1. Botanik Özellikleri ve Yayılışı.....	2
2.1.2. Tarihçesi.....	4
2.1.3. Kullanımı.....	6
2.2. Uçucu Yağların Tanımı ve Özellikleri.....	6
2.2.1. Uçucu Yağların Yapısı.....	8
2.2.2. Monoterpenler ve Sınıflandırılmaları.....	9
2.2.3. Seskiterpenler.....	10
2.3. Uçucu Yağlar Elde Etme Yöntemleri	11
2.3.1. Distilasyon.....	11
2.3.1.1. Su Distilasyonu.....	11
2.3.1.2. Buhar Distilasyonu.....	12
2.3.1.3 Su Buhar Distilasyonu.....	12
2.3.1.4. Kuru Distilasyon.....	13
2.3.1.5. Hidrodifüzyon.....	13

İÇİNDEKİLER

2.3.1.6. Mikrodalga Distilasyonu.....	13
2.3.2. Uçucu Bileşiklerin Ekstraksiyonu.....	14
2.3.2.1. Organik Çözücülerle Ekstraksiyon.....	15
2.3.2.2. Sabit Yağlarla Ekstraksiyon.....	15
2.3.2.3. Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon (Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon).....	16
2.3.2.4. Fitosol Tekniğiyle Ekstraksiyon.....	17
2.3.3. Soğukta Sıkma Yöntemi.....	17
2.4. Tepeboşluğu.....	17
2.4.1. Tepeboşluğu Analiz Yöntemleri.....	18
2.4.1.1. Vakum -Tepeboşluğu Yöntemi.....	18
2.4.1.2. Kapalı Sistem -Tepeboşluğu Yöntemi.....	19
2.5. Kat Faz Mikro Ekstraksiyon (KFME).....	20
2.5.1. KFME Enjektörü.....	21
2.5.2. KFME Teorisi.....	24
2.5.2.1. Daldırmalı-KFME.....	24
2.5.2.2. Tepeboşluğu-KFME.....	24
2.5.3. KFME'nun Avantajları.....	26
2.5.4. Uygulama Alanları.....	27
2.6. Türk Gül Yağı Üretimi.....	27
2.6.1. Endüstriyel Distilasyon Tekniği.....	28
2.6.2. Köy Distilasyonu Tekniği.....	29
2.7. Gül Konkreti ve Absolü.....	29
2.8. Türk Gül Yağının Bileşim Grafikleri.....	30
2.9. Türk Gül Konkreti ve Absolünün Bileşimi.....	32
2.10. Gül -Tepeboşluğu ve KFME Ürünlerinin Bileşimi.....	34

İÇİNDEKİLER

3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	36
3.1. Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler.....	36
3.1.1. Bitkisel Materyal.....	36
3.1.2. Kimyasal Maddeler.....	36
3.1.3. Aletleler.....	36
3.2. Deneysel Çalışma.....	36
3.2.1. Distilasyon.....	37
3.2.1.1. Su Distilasyonu.....	37
3.2.1.2. Mikrodalga Distilasyon.....	37
3.2.2. Tepeboşluğu ve KFME Çalışmaları.....	38
3.2.3. Absolü Eldesi.....	39
3.2.4. Gaz Kromatografisi (GK).....	39
3.2.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK/KS).....	39
4. DENEYSEL BULGULAR.....	40
4.1. Gül Yağı Çalışması.....	40
4.1.1. Su Distilasyonu.....	40
4.1.2. Mikrodalga Distilasyon.....	40
4.2. Tepeboşluğu KFME Çalışması.....	43
4.3. Gül Absolü Çalışması	44
5. SONUÇ VE TARTIŞMA	46
KAYNAKLAR.....	48
ÖZGEÇMİŞ.....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Vakum Tepeboşluğu Cihazının Şeması.....	19
2.2. Kapalı Sistem Tepeboşluğu Cihazın Şeması.....	20
2.3. KFME Enjektörü.....	22
2.4. Tepeboşluğu-KFME.....	25
3.1. Clevenger Apareyi.....	37
3.2. Mikrodalga Cihazının Şeması.....	38

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
2.5. KFME Fiberlerinin Özellikleri ve Kullanım Amaçları.....	23
2.8.1. Gülbirlik Gül Yağının 17. Yılı.....	31
2.8.2. Gülbirlik Gül Yağının 17. Yılı Gül Kokusuna Katkı Sağlayan Diğer Önemli Maddeler.....	31
2.8.3. Gülbirlik Gül Yağının 17. Yılı Madde Grupları.....	31
2.9.1. Erçetin 1992 Gül Konkretinin Bileşimi.....	32
2.9.2. Gül Absolünün Bileşimi.....	33
2.9.3. Türk Gül Absolünün Ana Bileşenleri.....	34
2.10.1. Gül Konkretin Tepeboşluğu Analiz Sonuçları.....	34
2.10.2. Gül Konkretinin KFME Analiz Sonuçları.....	35
3.2.1. Mikrodalga Distilasyona <i>Rosa damascena</i> var. <i>Semperflorens</i> 'in Yüklenen Miktarları.....	37
3.2.2. Mikrodalga Distilasyon'un Deney Koşulları.....	38
4.1.1. Uçucu Yağlar ve Fitosol GK Analiz Sonuçları.....	40
4.2. Gül Çiçeği Tepeboşluğu-KFME Çalışması GK Analiz Sonuçları.....	43
4.3. Gül Absolüsü GK Analiz Sonuçları.....	44
5.1. Uçucu Yağ GK Analiz Sonucu.....	46

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

GK	: Gaz Kromatografisi
GK/KS	: Gaz Kromatografisi/ Kütle Spektrometresi
KFME (SPME)	: Katı Faz Mikro Eksraksiyonu
D-KFME	: Daldırmalı-Katı Faz Mikro Ekstraksiyon
TB-KFME (Headspace-SPME)	: Tepeboşluğu- Katı Faz Mikro Ekstraksiyon
RT	: Tutunma Zamanı(Bileşiğin Kolona Giriş ve Çıkış Arasında Kalan Süre)
FID	: Alev İyonlaşma Dedektörü
PDMS/DVB	: Polidimetil siloksan/divinilbenzen

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Isparta gülü Türkiye'nin önemli bir kültür bitkisidir. Aynı zamanda gül yağı sanayi ve gülyağı, gül suyu ile gül konkreti ülkenin önemli ekonomik varlıklarıdır. Isparta ve Burdur çevresinde 19. yy'ın sonlarında başlayan kültür günümüzde de devam etmektedir. Bu bölgede yetiştirilen tür *Rosa damascena* Miller' dir. Bu türün var. *trigintipetala* olduğu bildirilmiştir (Baytop, 2001). Aynı kaynakta, Yediveren Şam gülü adıyla bilinen var. *semperflorens*'ten de bahsedilmektedir. Bu gülün Frigya kralı Midas'ın bahçelerinde yetiştirdiği tarihi gül olduğu belirtilmektedir.

Rosa damascena var. *semperflorens*'in uçucu yağının ve absolünün bileşimlerinin ortaya çıkarılması ve Isparta gülü ile karşılaştırılması amacıyla bu çalışma gerçekleştirilmiştir. Frigya kralı Midas Eskişehir civarında yaşamış olduğundan ve Saray bahçesinin halen çiftlik olarak kullanılabilceği düşüncesinden hareketle bu gülün yabanileşmiş halde olsa dahi kaybolmamış olabileceği varsayımıyla Prof. Dr. K. Hüsnü Can Başer' in hatırladığı bir bilgiden hareketle, Eskişehir Mahmudiye kazasında Çifteler Harası Çayırıyla sınır olan Dolap Başı piknik alanı çevresinde bu güle yabancı halde rastlanmıştır. Çalışma materyali çiçeklenme zamanında bu bölgeden toplanmıştır. Prof. Başer gülü *Rosa damascena* var. *semperflorens* olarak teşhis etmiş ve Midas gülü adını vermiştir (İŞCAN, 2002). Bu türün botanik tayinini doğrulamak amacıyla İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Asuman Baytop ziyaret edilmiştir. Kendisi örnekleri inceledikten sonra Eylül ayında toplanan örneklerin tomurcuklu olması ile diken özelliklerinden bir yediveren gülü olduğuna karar vermiş ve Mayıs sonunda toplanan çiçekli örneklerden bunun *Rosa damascena* olduğunu söylemiştir. *Rosa damascena* var. *trigintipetala* bir yediveren gül olmadığından ve örnekler var. *semperflorens* özelliklerine tam benzerlik gösterdiğinden bu varyeteye ait olduğu Prof. Baytop tarafından da onaylanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

Bu bölümde *Rosa* cinsi ve *Rosa damascena* türü ile ilgili kaynak taramaları özetlenmiştir.

2.1. *Rosa* L Cinsi

Rosa cinsi, bitkiler aleminin Spermatophyta (Tohumlu Bitkiler) bölümünün Angiospermae (Kapalı Tohumlular) alt bölümünden Rosales sınıfı Rosaceae familyasının 35 cinsinden biridir. Dünya'da yaklaşık 1350 *Rosa* türü bulunmaktadır (Index Kewensis,1994). Türkiye florasında ise *Rosa*'nın 24 türü kayıtlıdır (Nilsson, 1972). Gül yağı eldesinde kullanılan tür, kültürü yapılan *Rosa damascena* Mill. dir. *Rosa damascena* vatanı belli olmayan bir türdür. *R. moschata* J.Herm ile *R. gallica* L.'nin hibriti olduğu ileri sürülmekle birlikte bu türün çok eski dönemlerde *R. gallica* L. ile *R. phoenicia* Boiss. türlerinden meydana gelen doğal bir melez olduğu kayıtlarda bulunmaktadır (Baytop, 1990).

2.1.1. Botanik Özellikleri ve Yayılışı

Gül (*Rosa*) türleri kışın yapraklarını döken çalimsı veya tırmanıcı ve genellikle dikenli, pembe, beyaz, kırmızı veya sarı çiçekli bitkilerdir. Yapraklar tüysü ve 3-9 yapraklıdır. Çiçekler bahçe güllerinde olduğu gibi katmerli veya yabani güllerdeki gibi yalın kattır. Çiçeklerin birçoğu bir arada veya tek başına, genellikle kokulu, stiluslar serbest veya bir sütun şeklinde birleşmiş, tüylü veya çıplaktır. Kaliks parçaları kalıcı veya düşücü, stigmalar reseptakulum deliğini kapatır veya kapatmazlar (Baytop, 2001).

Rosa cinsi süs bitkisi olarak Kuzey yarımkürenin ikliminin çok sert bölgeleri dışında yaygın olarak yetişir. Güney yarımkürede bulunmamaktadır (Anon, 1987). Genellikle Kuzey yarımkürede yetişen 250 kadar yabani *Rosa* türü bilinmektedir (Testu, 1984). Türkiye Florasında 24 türü kayıtlıdır (Nilsson,1972). *Rosa* türleri pek çok kültür formları ile, çiçeklerinden dolayı süs bitkisi ve kesme çiçek olarak yetiştirilen ve ekilen bitkiler olarak ekonomik değer taşımaktadır. Türkiye için ekonomik değeri önemli bir ürün de gül yağıdır. Gül yağı elde etmek için İsparta ve Burdur yöresinde *Rosa x damascena* (İsparta Gülü)'nin kültürü yapılmaktadır.

Rosa damascena Miller: Şam gülü, adlarıyla bilinen çiçekleri pembe renkli, az katmerli, keskin kokulu, çok senelik dikenli bir çalıdır. Çiçekler apokarptır. Gövde silindirik biçimli, içi dolu, esmer renkli, çok dallı ve dallar sık dikenlidir. Yapraklar imparipennat, alternan dizilişli, saplı ve stipulalı, 3-7 foliolüldür. Folioller 3-4 cm uzunluğunda oval, basit dişli kenarlı ve alt yüzleri tüylüdür. Çiçekler genellikle salgı tüyleri taşır. Kaliks, korolla ve stamenler hipantiyumun ağzına bağlı bulunurlar. Kaliks 5 sepallidir ayrıca korollodan daha uzun ve çok parçalıdır. Korolla çok petalli, petaller oval yapıda, soluk pembe renkli, tabanları beyaz lekeli. Stamen ve pistil çok sayıdadır. Dişi organlar çanak şeklini almış çukur yapıdaki reseptakulumun içinde bulunur. Stiluslar uzundur ve stigma baş şaklıdır. Reseptakulum zamanla etlenerek kızarıp ovaryumların her biri nuks yapısına dönüşür. Bu tür Burdur ve Isparta yöresinde gül yağı ve gülsuyu elde etmek için yetiştirilir. Yılda bir defa (Mayıs ortası) çiçek açar (Baytop, 2001; Baytop, 1994).

Rosa x damascena'nın varyeteleri: *Rosa x damascena* var. *semperflorens*, *Rosa x damascena* var. *trigintipetala*, *Rosa x damascena* var. *versicolor*

Rosa x damascena var. *semperflorens* (Loisel. et Michel) Rowley (*R. bifera* (Poiret) Persoon), *Rosa x damascena* "semperflorens", *Rosa x damascena* "Bifera": Yediveren Şam Gülü, Midas Gülü, Dört mevsim (Fransızca'dan tercüme), Sonbahar Şam gülü adlarıyla bilinen bu gül *Rosa damascena*'nin varyetesidir. Çiçekler çok katmerli ve pembe renktedir. Bir metreye kadar yükselebilen, kuvvetli ve sık çalı şeklindedir (Baytop, 2001; Testu, 1984; Phillips ve Rix, 1988). Dikenli çalı, 1 m kadar yüksekliğinde. Gövde ve dallar üzerindeki dikenler seyrek, geri kıvrık, tabanda geniş, yassı. Yapraklar imparipennat, stipulalı, 3-5 foliolü. Folioller 1.35-3.7 cm x 0.5-2.9 cm, ovat, ovat-eliptik, tepede obtus veya rotundat, kenarda serrate, tabanda obtus-rotundat. Alt yüzde ince tüylü, tüyler özellikle damarlar üzerinde ve yaprak kenarlarında yoğun. Çiçekler dal uçlarında genellikle 2-3 adet, hermafrodit, kuvvetli kokulu. Çiçek sapı ince örtü ve salgı tüylü, dikensi kıllı. Kaliks 5 sepalli, yeşil, hipantium fincansı veya ovoid, şişkin olan orta kısımdan yaprak sapına doğru yoğun salgı tüylü ve dikensi kıllı, aralarında ince tüylü. Sepaller geniş lanseolat, dış yüzde yoğun salgı tüylü ve

dikensi kıllı, kenarlarda ve iç yüzde ince tüylü. Korolla çok petalli, petaller pembe renkli, kaideleri beyaz lekeli, 1.8-2.8 cm x 1.3-2.4 cm, oval. Stamenler çok sayıda. Ovaryumlar hipantiyum içinde. Stilus çok yoğun uzun tüylü. Stigma baş şeklinde. Reseptakulum olgunlukta etlenip, kırmızımsı bir renk alır ve içinde tüylü nuksları taşır.

Rose x damascena “Versicolor” (*Rose damascena* var. *versicolor* Weston) Alacalı Şam gülü adıyla bilinmektedir. Çok katmerli, petaller kısmen soluk pembe ve kısmen de koyu pembe renkli, çok parçalı.

Rosa x damascena Miller var. *trigintipetala* (Dieck) Keller, Gartenfi. 38: 129 (1889), Hegi, Fl. M. Europ. V2:993 (1923). Isparta gülü, Yağ gülü, Damla gülü, Edirne gülü, İyi gül, Kızanlık gülü ve Pembe gül adlarıyla bilinmektedir. Çiçekler yarı katmerli, 8 cm kadar çapta, pembe renkli ve petal adedi 30 kadar (*trigintipetala*), çiçek sapı çıplak (*Rosa damascena* var. *semperflorens*'ten farkı).

Çabuk büyümesi, çok çiçekli olması (bir dalda 12 kadar) ve yüksek oranda uçucu yağ taşınması nedeniyle, gül yağı ve gülsuyu elde edilmesi için Anadolu (Isparta ve Burdur) ve Bulgaristan (Eski Zağra, Karlıova ve Kızanlık) da yetiştirilmektedir. İlk nerede ve ne zaman yetiştirilmiş olduğu bilinmemektedir (Baytop, 2001; Testu, 1984).

2.1.2. Tarihçesi

Oligosen fosillerinin vermiş oldukları bilgilere göre *Rosa* türleri insanlardan çok önceki dönemlerden (yaklaşık 35 milyon yıl) beri dünya üzerinde bulunmaktadır (Phillips ve Rix, 1988; Testu, 1984).

Bahçe güllerinin milattan 300 yıl önce ilk olarak Çin'de yetiştirildiği bilinmektedir (Wolf ve Mcnair, 1983).

Son eski çağda Milet (Söke)'in güneyi ve Eskişehir yakınlarında gül bahçeleri bulunduğu kayıtlıdır.

Gordion'daki Kral Midas'ın gül bahçelerinde katmerli ve kokulu gül çeşitleri (*R. x. damascena* var. *semperflorens*, Yediveren Şam gülü) yetiştirdiği bilinmektedir. Çok eski bir gül çeşididir (Belmont, 1896).

Ünlü tarihçi Heredot, Kral Midas'ın Pers ordusuna yenilmesi sonucu Eskişehir sarayını terk ederek güllerini de beraberinde götürerek Makedonya'da yeni bahçesinde yetiştirdiğinden bahsetmektedir. Bu gül türü oradan Avrupa'nın diğer ülkelerine yayılmıştır. Bilhassa İtalya'da süs bitkisi olarak yetiştirilmektedir.

Kesin bir kayıt bulunmamasına rağmen gül tanımının İran'da başlamış olduğu düşünülmektedir (Baytop, 1963; Hill, 1952).

Gül yağı ve gülsuyunun üretiminden ilk bahseden kişi İbni Haldun'dur. Eserlerinde en iyi gül yağının distilasyon yöntemiyle elde edildiğini belirtmiştir. Yağ altı suyunun gülsuyu olarak kullanımı 8. ve 9. yüzyılda ticari önemi kazanmıştır. Hindistan ile Çin en büyük ithalatçılar arasında yer almıştır (Başer ve ark., 1990; Gunther, 1975; Ranade, 1980).

Gül yağının ilk defa İran ve Hindistan'da üretildiği tahmin edilmektedir. Distilasyon yöntemi kullanılarak elde edildiği ve bu ürüne Türk-Hint imparatoru Cihangir Şah'ın adıyla "Atar-Cihangir" ismi verildiği yayınlarda kayıtlıdır (Baytop, 1990).

17. yüzyıllarda gül yetiştiriciliği İran'dan Hindistan, Kuzey Afrika ve Türkiye'ye doğru yayılmıştır.

17. yüzyılda Katip Çelebi Edirne civarında gül bahçelerinden ve gülsuyunun üretiminden bahseder (Baytop, 1963).

17. yüzyıl sonlarında Osmanlı İmparatorluğu toprakları içinde yer alan Kızanlık, Eski Zağra ve Karlıova bölgelerini içine alan Bulgaristan, gül ekimi ve üretiminin en önemli merkezi olmuştur. 1750 yılında Bulgarlar dünya piyasasında en büyük gül yağı üreticisi olmuşlardır (Hill, 1952; Baytop, 1987). Taze gül çiçeklerinden gül yağının üretimi açık ateş üzerinde bakır imbiklerde su distilasyonu yöntemiyle elde ediliyordu. Toplanan yağlar Gelibolu, İzmir ve İstanbul limanlarından ülkelere gönderiliyordu. 1850'de elde edilen ürünün yıllık miktarı 1500-1800 kg'dır (Baytop, 1990).

1877-1878 yılları arası Türk Rus savaşından sonra Anadolu'ya gelen Türk göçmenler tarafından yağ gülü (*Rosa damascena*) ve gül yağı üretimine başlamıştır.

1880'den itibaren Osmanlı Padişahı Sultan II. Abdulhamit gül ekimi ve üretimini bir düzene koymuştur (Başer ve ark., 1990; Baytop, 1990).

Anadolu'da ilk gül yağı ve gülsuyu üretimi 1885 yılında Bursa'da ilk distilasyon ünitesi kurulmuş, daha sonra 1886 yılında İstanbul'da Çavuşbaşı çiftliğinde üretim devam etmiştir (Baytop, 1990).

Gül üretimi daha sonra Isparta ve Burdur yöresine kaymıştır. Bu bölgede kısa sürede Anadolu'da üretim merkezi haline gelmiştir.

Günümüzde gül yağı ve gülsuyu üretimi yalnızca Isparta ve Burdur bölgesinde yapılmaktadır. Köy imbikleriyle yapılan üretimin yerini 1934'te Isparta'da fabrika kurulmasıyla geniş ve modern endüstriyel üretim almıştır.

2.1.3. Kullanımı

Parfümeri alanında tüm doğal hammaddelerin en önemlisi ve en eskisi gülyadır. Aynı zamanda gül konkretinden ve gül absolüsünden benzer amaçlarla faydalanılır. Gülyadı ve başlıca bileşenleri kozmetik, ilaç ve gıda sanayiinde koku ve aroma verici olarak kullanılır (Bayrak ve Şencan, 1995).

Gülyadı eldesinde yan ürün olarak elde edilen gülsuyu antiseptik etkiye sahiptir. Bu etkisinden dolayı haricen ve özellikle göz hastalıklarında antiseptik olarak kullanılır (Baytop, 1999).

Gülsuyu hafif astrenjan etkisi vardır. Bu nedenle el-yüz sularının hazırlanmasında kullanılmaktadır (Bayrak ve Şencan, 1995).

Gülsuyu, parfümeri sanayiinde gül kremi ve traş losyonlarında, gıda sanayiinde tatlılarda, şekerlemelerde ve şuruplarda kullanılmaktadır (Anon, 1987).

2.2. Uçucu Yağların Tanımı ve Özellikleri

Uçucu yağlar aromatik bitkilerden yada bitkisel droglardan su veya su buharı distilasyonu ile elde edilen, kendine özgü koku, tat ve görünüme sahip uçucu ve yağimsi karışımlardır. Uçucu yağlar genelde berrak ve renksiz veya açık sarı, mavi, yeşil renkte olabilirler (Tisserand ve Balacs, 1995).

Uçucu yağlar oda sıcaklığında genellikle sıvı halde bulunurlar ve açıkta bırakıldıklarında kolaylıkla buharlaşabildiklerinden "uçucu yağ", "eterik yağ";

güzel kokulu olduklarından ve parfümeride kullanıldıklarından “esans” gibi adlar alırlar (Evans, 2002).

Uçucu yağlar bitkilerin başta çiçek ve yaprakları olmak üzere birçok organında (herba, kabuk, kök, odun, meyve, tohum, rizom, zamk v.b.) bulunabilirler. Uçucu yağlar bitkinin bağlı olduğu familyaya göre özel salgı organları olan salgı tüylerinde, salgı kanallarında, salgı ceplerinde yada salgı hücrelerinde bulunurlar. Bazen Piperaceae familyasında olduğu gibi değişikliğe uğramış parenkima dokusu içinde yayılırlar. Bazen de gül çiçeklerinde olduğu gibi petallerin epiderma veya parenkima hücrelerinde dağılmış olarak bulunurlar (Tanker, 1990; Evans, 2002).

Uçucu yağların çoğu sudan hafiftirler ve suyla karışmadıkları için suyun üzerinde toplanırlar. Petrol eteri, benzen, etanol, eter, hekzan gibi organik çözücülerde belirli oranda ve kokularının suya geçmesine yetecek derecede de suda çözünürler. Sulu etanol’de çözünebilmeleri uçucu yağları sabit yağlardan ayıran en önemli özelliktir ve saflık kontrollerinde uçucu yağın belli derecedeki etanol’de çözünürlük oranından faydalanılır. Uçucu yağların saflığı genellikle yoğunluk, kırılma indis, polarize ışığı çevirme derecesi gibi fizikokimyasal özelliklerle belirlenir. Çoğu optikçe aktif olup kırılma indisleri yüksektir. (Tayler ve ark., 1988; Tanker, 1990).

Bitkide herhangi bir biyolojik etkisi olmayan bu karışımların hangi amaçla olduğu tam olarak bilinmemektedir. Ancak bitkide detoksifikasyon ürünü olduğu, yaralanma sonucu meydana gelen reçinelerin çözünmesini sağladığı düşünülmektedir. Yayıdıkları koku sayesinde böcekleri çekerek tozlaşmaya, böcekleri bitkiden uzaklaştırılarak da bitkiyi korumaya yardımcı oldukları bilinmektedir. Ayrıca uçucu yağ taşıyan bitkilerin genellikle sıcak iklimlerde yetişmesinden dolayı uçucu yağın bitkinin üzerindeki havayı bağlayarak su kaybının önlediği düşünülmektedir (Evans, 2002).

Uçucu yağ bakımından zengin bitki materyalinden elde edilen organik bileşikler gıda endüstrisinde tat verici ve baharat olarak kullanılmaktadır.

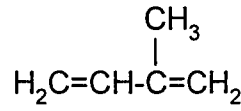
Eczacılıkta ise ilaçların koku ve tatlarını düzeltici olarak uçucu yağ veya aromatik bitkisel ekstraktlardan yararlanılır.

Uçucu yağların bir çok tedavi edici özelliği vardır. İdrar söktürücü, rahatlatıcı, ağrı kesici, yara iyi edici, kurt düşürücü, midevi ve hazmı kolaylaştırıcı. İdrar yolları üzerinde antiseptik ve uyarıcı etkileri olduğu bilinmektedir.

Uçucu yağlar parfümeri alanında da koku karışımlarının ve aromatik bileşiklerin hazırlanmasında kullanılırlar (Otte, 1994; Tisserand ve Balacs, 1995).

2.2.1. Uçucu Yağların Yapısı:

Uçucu yağlar birçok bileşiğin karışımından oluşmuş kompleks yapılardır. Uçucu yağlar genellikle terpenik hidrokarbonlar ve oksijenli hidrokarbon türevlerinden meydana gelmişlerdir. Terpenler $(C_5H_8)_n$ formülüne uyan hidrokarbonlardır. İzopren molekülünün kondensasyonu ile meydana gelirler.



İzopren

İki izopren molekülünden oluşan 10 karbonlu terpene “monoterpen”, 15 karbonlu terpenik bileşikler “seskiterpen”, 20 karbonlular “diterpen”, 30 karbonlular “triterpen” ve çok sayıda izoprenin kondensasyonu ile meydana gelen terpenler ise “politerpen” adını almaktadır (Tayler ve ark., 1988; Heath, 1981).

Uçucu yağların bileşimindeki yapılar şu şekilde sınıflandırılabilirler (Guenther, 1975; Tanker, 1990; Samuelsson, 1992).

1. Hidrokarbonlar

- I. Siklik Terpenler
- II. Alifatik ve Aromatik Hidrokarbonlar
- III. Monoterpenler
- IV. Seskiterpenler (Monosiklik, Bisiklik, Trisiklik)
- V. Diterpenler

2. Alkoller

I. Alifatik Alkoller

Doymuş alifatik alkoller

Doymamış alifatik alkoller

Alifatik terpen alkol

II. Siklik Terpen Alkol

Monosiklik terpen alkol

Bisiklik terpen alkol

Trisiklik terpen alkol

III. Seksiterpen Alkoller

IV. Aromatik Alkoller

V. Diğerleri

3. Aldehitler

I. Alifatik Aldehitler

Doymuş alifatik aldehitler

Doymamış alifatik aldehitler

Alifatik terpen alkoller

Siklik terpen aldehit

Aromatik aldehit

4. Ketonlar

Siklik terpen keton (monosiklik terpen keton)

5. Fenol ve fenol eterleri

6. Kinonlar

7. Asitler

8. Esterler (Terpen esterleri ve Aromatik esterler)

9. Laktonlar

10. Furan türevleri

11. Oksitler

12. Azot ve kükürt içeren bileşikler.

2.2.2. Monoterpenler ve Sınıflandırılmaları

Monoterpenler, iki izopren molekülünün bağlanmasından oluşan 10 karbonlu bileşiklerdir. Monoterpenler bitkilerde, omurgalı hayvanlarda, böceklerde, deniz organizmalarında ve alglerde yaygın olarak bulunurlar. Parfümeride ve gıda endüstrisinde tat verici olarak kullanılırlar. Antifungal, antibakteriyal, antioksidan ve anti kanser etkilerinin olduğu bilinmektedir (Meth-Cohn, 1999).

Sınıflandırılmaları:

1. *Asiklik monoterpenler*: Düz zincir halindedir. Halka yoktur, üç çifte bağ taşırlar. Asimetrik karbon atomundan dolayı optikçe aktifler. (mirsen, osimen, geraniol, nerol, linalol v.b.)
2. *Monosiklik monoterpenler*: Bir halka ve 2 çifte bağ içerirler. (limonen, mentol, karvon v.b.)
3. *Bisiklik monoterpenler*: iki halka ve bir çifte bağ taşırlar. (α -pinen, sabinol, kafur, v.b.)
4. *Trisiklik monoterpenler*: Üç halka taşırlar ve çifte bağ içermezler. (teresantalik asit)

2.2.3. Seskiterpenler

Seskiterpenler farnesil pirofosfattan oluşan, $C_{15}H_{24}$ kapalı formülüne sahip terpenik yapılardır. Düz, monosiklik, bisiklik veya trisiklik yapıda bulunabilirler (Samuelsson, 1992).

Seskiterpenler iskelet yapılarına göre altı sınıfa ayrılırlar (Overton, 1977; Devon, ve Scot, 1972).

1. *Asiklik seskiterpenler*: Papatya uçucu yağında bulunan β -farnesen, elma ve armut gibi meyvelerde bulunan α -farnesen, peru balsamı ve turunçgil çiçeklerinde bulunan nerolidol başlıca örneklerdir.
2. *Monosiklik seskiterpenler*: *Citrus junos* kabuk yağında bulunan germakren B ve *Kadsura japonica* kuru meyvalarında bulunan germakren C bu gruba örnek olarak verilebilir.

3. Bisiklik Seskiterpenler: *Bulnesia sarmienti* odun yağında bulunan α -guayen, β -bulnesen, α -bulnesen, bulnesol bu gruba örnektir.
4. Trisiklik seskiterpen: Geranium bourbon uçucu yağında bulunan α -burbonen, β -burbonen ve *Eupatorium serotinum* da bulunan α -kubeben, β -kubeben başlıca örneklerdir.
5. Tetrasiklik seskiterpenler: *Helminthosporium sativum* yağında bulunan sativen, siklosativen ve kopakamfenik asit başlıca örneklerdir.
6. N-heterosiklik Seskiterpen: *Dendrobium nobile* (Orchidaceae) bitkisinin minör alkaloidleri dendrin, dendrobin ve dendroksin bu gruba örnek olarak verilebilir.

2.3. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağlar bitkisel materyallerden; sudaki çözünürlüklerine, uygulanan ısıya ve suya dayanıklılıklarına, miktarlarına, yoğunluklarına, uçuculuklarına ve bileşenlerine göre farklı metotlarla elde edilebilirler.

Uçucu yağların elde edilmesinde genel olarak üç temel yöntem uygulanır (Wijesekera, 1993).

2.3.1. Distilasyon

Distilasyon buharlaştırma ve yoğunlaştırma prensiplerine dayanarak sıvı karışımdaki maddelerin ayrılması için yaygın olarak kullanılan bir metottur. Uçucu ve yarı uçucu yağların elde edilmesinde kullanılan ilk seçenektir. Sıvı karışımdaki maddelerin her birinin farklı buhar basıncına sahip olmasından yararlanılarak distilasyon yöntemi ile ayırma işlemi gerçekleştirilir. Bu ayırma işlemi homojen bir fazdan diğer bir faza maddenin geçişi ile olur. Transfer için gerekli olan sürükleyici faktör konsantrasyon farkıdır.

Distilasyonda uçucu yağ ısı ile oluşan su buharı ile birlikte buharlaşır ve diğer uçucu olmayan bileşiklerden ayrılır. Su buharı ile sürüklenen uçucu yağ buharları soğutucuda yoğunlaşır ve yoğunluğuna göre toplama kabında suyun üstünde veya altında birikir (El-Gammal, 1991).

Distilasyon tipleri aşağıda açıklanmaktadır:

2.3.1.1. Su Distilasyonu

Su ile kaynatıldığında bozunmayan taze ve kuru bitkisel materyale uygulanabilen en eski yöntemdir. Su distilasyonu ile hem uçucu yağ hem de aromatik su elde edilebilir

Uçucu yağların kaynama noktaları suyun kaynama noktasından oldukça yüksektir ve uçucu yağ su buharı ile sürüklenerek soğutucuda yoğunlaştırılıp toplama kabında (florentin kabı) birikir.

Bu işlem için taze materyal distilasyon apareyine yerleştirildikten sonra bitkisel drogun üzerini örtecek kadar su eklenmelidir. Daha sonra sistem dıştan ısıtılır. Buharlaşan su ve yağ soğutucudan geçerek yoğunlaşır ve toplama kabında birikir. Bütün uçucu kısımlar toplama kabında birikene kadar distilasyon devam eder. Burada yağ ve su yoğunluk farkı prensibine dayanılarak ayrılır (Guenther, 1975). Yoğunluğu sudan az olan uçucu yağ suyun üzerinde, çok olan suyun altında toplanır. Toplama kabında uçucu yağın altında veya üstünde kalan sulu kısım aromatik sudur (El-Gammal, 1991; Wijesekera, 1993).

2.3.1.2. Buhar Distilasyonu

Taze veya kuru materyale uygulanabilen bu yöntemde materyalin distilasyon tankına yerleştirildikten sonra iyice sıkıştırılması gerekir. Alttan gönderilen dış kaynaklı buhar yağı beraberinde sürükleyerek soğutucuya getirir. Soğuduktan sonra sıvılaşan su-yağ karışımı toplama kabında (florentin kabı) yoğunluk farkından dolayı ayrılır.

Buhar distilasyonu sırasında ester yapıdaki bazı maddeler ısı etkisiyle hidrolize uğrayabilir. Bunu engellemek veya en az düzeye indirebilmek için hücre zarında su ve buharın difüzyon hızını iyi düzenleyebilmek ve distilasyonu hızlı yapmak gerekir (Garnero ve ark., 1976; Tayler ve ark., 1988; Evans, 2002).

2.3.1.3. Su-Buhar Distilasyonu

Bu yöntemde bitkisel materyal ızgara üzerine konulur. Kazanın alt kısmındaki ızgaranın altında bulunan hazne su ile doldurulur. Buhar bu haznede bulunan suyun buharlaşması ile elde edildiği için buhar distilasyonu yönteminden farklıdır. Buhar kazanın altındaki ateş kaynağıyla suyun ısıtılmasıyla elde edilir.

Bu buhar ızgaranın üzerindeki bitkisel materyal içinden geçerken yağı alarak sürükler.

Taze çiçekler birbirine yapışarak buharın geçişine engel oldukları için bu bitkisel materyallerde (örn. Gül) buhar distilasyonu yerine su distilasyonu yöntemi uygulanır (Lawrence, 1995; Tayler ve ark., 1988; Başer, 1992).

2.3.1.4. Kuru Distilasyon

Kuru ısıtma ile yüksek sıcaklık elde edilerek uygulanan bu yöntemde bileşiklerin yapıları değişime uğrar. Bu değişime “Pirojenasyon” adı da verilir. Genellikle katran eldesinde kullanılan bu yöntem özel çelikten yapılmış imbiklerde uygulanır. Odun, gaz veya kömürle ısıtılan bu imbiklere doldurulan tamamen taze olan materyal yüksek sıcaklıkta havasız ortamda kuru kuruya distile edilir. Daha sonra distilasyon ürünü soğutucudan geçirilerek toplama kabında biriktirilir (Vergheze, 1986; Lawrence, 1995).

2.3.1.5. Hidrodifüzyon

Buhar distilasyonu yöntemine benzemesine rağmen buharın kazana üst kısımdan girip materyal arasından geçerek aşağı doğru inmesiyle buhar distilasyonundan ayrılır.

Bitkisel materyal kazan içinde bulunan sepete yerleştirildikten sonra sistemin dışındaki bir buhar jeneratöründen sepet içindeki drog üzerine düşük basınçta buhar gönderilir. Buhar materyalin içinden geçerken uçucu yağı sürükler ve kazanın alt kısmında bulunan soğutucuda uçucu yağ yoğunlaşır. Florentin kabında toplanan su ve yağ birbirinden ayrılır.

Buhar distilasyonuna göre daha yüksek verim elde edilir. Bunun nedeni buharın bitkisel dokuların iç kısmına kadar ulaşmasıdır. Ancak uçucu olmayan bazı sabit yağların veya suyla ekstre olabilen maddelerin uçucu yağ geçmesinden dolayı bu teknik geniş bir endüstriyel kullanım alanına sahip değildir (Lawrence, 1995).

2.3.1.6 Mikrodalga Distilasyon

Mikrodalga teknolojisinin rutin laboratuvar kimyası ve büyük ölçekli kimyasal işlemlerini hızlandırma potansiyeli 1986'dan beri gelişme halindedir (Nüchter ve ark., 1999).

Mikrodalga ekstraksiyonu, çözünebilen ürünlerin birçok farklı maddeden mikrodalga enerjisi yardımıyla ekstraksiyonunu sağlayan basit bir tekniktir (Luque ve ark., 1999).

Mikrodalgalar çok kısa, görünmeyen ve ışık hızıyla hareket eden elektromanyetik enerji dalgalarıdır. Enerjileri ve frekanslarına bağlı olarak kızılötesi ve radyo dalgaları arasında yer alırlar (Gallawa, 2000).

Elektromanyetik enerji, geleneksel ısıtma araçları formundaki termal enerjiden çok daha verimlidir. Bitki dokularına girmesi ve aktif bileşenleri çok kısa sürede serbest bırakması ile seçici olarak kullanılabilir. Mikrodalgalar materyali çok hızlı ısıtmakta, bu ise geleneksel ısıtma yöntemleriyle karşılaştırıldığında ısı ile bozunma riskini azaltmaktadır. Mikrodalgaların bitki dokusuna nüfuzu, bitki materyalinin dielektrik özelliğine bağlıdır (Seifert ve Bertram, 1999).

Mikrodalga ekstraksiyon tekniği, hem sıvı faz ekstraksiyona (çözücü olarak bir sıvının kullanıldığı) hem de gaz faz ekstraksiyona (gazın ekstraktan olduğu) uygulanabilmektedir. Sıvı faz ekstraksiyonu, bitkilerden uçucu yağların izolasyonu için kullanılmaktadır (Luque ve ark., 1999).

Mikrodalga işlemi şu şekilde yapılır (Nüchter ve ark., 1999).

1. Kurutma
2. Ekstraksiyon
3. Distilasyon (Buhar distilasyonu veya reaktif distilasyonu)
4. Adsorpsiyon
5. Desorpsiyon

2.3.2. Uçucu Bileşiklerin Ekstraksiyonu

Karışımındaki bir maddenin bir fazdan diğer bir faza çekilmesi işlemine ekstraksiyon denir.

Bitkisel materyallerden etken maddenin izolasyonunda kullanılacak ilk işlem ekstraksiyondur. Ekstraksiyonda ilk olarak etken maddenin kimyasal yapısına ve fiziksel özelliklerine uygun şartlar sağlanmalıdır. Uygun çözücünün seçilmesi çok önemlidir.

Bitkisel materyalin ekstraksiyonu katı bir ortamdan katı bileşiklerin ayrılması esasına dayanır. “Katı-sıvı ekstraksiyonu” olarak bilinen bu tip ekstraksiyonda katı bir sıvı ile ekstre edilir. Ekstrenin fraksiyonlanmasında uygulanacak yöntem “sıvı-sıvı ekstraksiyonu” dur (Lawrence, 1995).

Ekstraksiyon 4 ana grup altında toplanır.

1. Organik Çözücülerle Ekstraksiyon
2. Sabit Yağlarla Ekstraksiyon
3. Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon (Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon)
- 3.1. Fitosol Tekniğiyle Ekstraksiyon (Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon)

2.3.2.1. Organik Çözücülerle Ekstraksiyon.

Taze bitkisel drog uygun bir organik çözücü ile ekstre edilir. Çözücü olarak diklorometan, benzen, hekzan, heptan, aseton ve petrol eteri seçilebilir. Çözücü seçiminde çözücünün inert düşük kaynama noktasına sahip olmasına ve kolay bulunabilmesine dikkat edilmelidir. Isıya duyarlı ve buhar distilasyonu ile elde edilmeyecek kadar küçük miktarlarda bulunan yağlar bu yöntem ile elde edilir. Çözücünün düşük basınçta uçurulması sonucu elde edilen uçucu yağ, sabit yağ, mumlar ve renk maddelerinden oluşan yarı katı ürüne “konkret” adı verilir. Konkretin sıcak etanol ile tüketilmesi ve alkolün vakum altında uzaklaştırılması sonucu kalan ve “absolü” adı verilen sıvı kısım parfümeride kullanılmaktadır. Bu yöntemle Türkiye’de gül ve tütün konkretleri elde edilmektedir (Lawrence, 1995).

2.3.2.2. Sabit Yağlarla Ekstraksiyon.

Uçucu yağların taze bitkisel materyalden kokusuz, renksiz ve yumuşak bir sabit yağ karışımı ile ekstre edilmesi işlemidir. “Enfleurage” denilen bu işlem uçucu yağ eldesinde kullanılan en pahalı yöntemdir. Bu işlem için en çok don yağı ve saf domuz yağı kullanılmaktadır. Kokusuz sabit yağ ince bir yüzey üzerine yayılır. Taze drogda bu yağ tabakası üzerine serilir. Bir süre temasta bırakılan materyal alınıp yerine yenisi yerleştirilir. Uçucu yağların sabit yağa geçmesi ile bir süre sonra donan sabit yağ kazınarak alınır. “Pomat” adı verilen bu ürün etanol ile tüketilir. Etanolün düşük basınçta yoğunlaştırılması ile uçucu yağ elde edilir. Bu yöntem özellikle nadide çiçeklerin petallerine uygulanır.

Bazı çiçeklerin ise koparma işlemi sonucu fizyolojik aktiviteleri kaybolur. Bu çiçekler belli sıcaklıktaki (60-70°C) yağa daldırılarak ekstre edilir. Yağ donuncaya kadar uçucu yağı alınan çiçek yerine tazesini yerleştirilir. Daha sonra yağ süzülerek “pomat” adı verilen ürün elde edilir. Pomatın etanol ile ekstraksiyonu sonucu absölü elde edilir (Lawrence, 1995)

2.3.2.3. Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon (Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu çözücü olarak süperkritik akışkanların kullanıldığı genel bir çözücü ekstraksiyon yöntemidir.

Süperkritik akışkanlar gaz ve sıvı arasında fiziko-kimyasal özelliklere sahip çözücülerdir (Williams ve Clifford, 2000).

Etilen, CO₂, etan, nitröz asit, propilen, propan, amonyak, hekzan ve su süperkritik akışkan olarak kullanılabilir maddelerdir. Ancak en çok kullanılan ve en güvenli süperkritik akışkan CO₂' dir (Taylor, 1996).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonu çok cazip bir numune hazırlama yöntemidir. Çünkü gaza benzer kütle transferine ve sıvıya benzer çözücü karakterine sahiptir (Zhang ve ark., 1994).

Süperkritik akışkan ekstraksiyonunun genel prensibi akışkanların yüksek basınç altında sıvı ve süperkritik evre bölgesinde çözücü özellik kazanma esasına dayanır. Bu çözücü özellikleri ile basınç ve sıcaklık değişimlerinin sayesinde istenildiği gibi yönlendirilebilirler (Williams ve Clifford, 2000).

Diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre ekstraksiyon süresi daha kısadır. Bu yöntemin yüksek seçicilik özelliği sayesinde ürün saf olarak elde edilebilir. Yöntem, oksijen içermeyen kapalı kaplarda yapıldığı için numune oksidasyonu en aza indirilebilir. Kullanılan süperkritik akışkanların genelde kritik sıcaklıkları 100 °C'den düşüktür. Bu sayede sıcakta yapısı bozulabilen uçucu maddelerin ekstraksiyonu gerçekleştirilebilir. Bu metotla çok az miktarda numuneden madde saflaştırması ve analizi mümkün olabilir.

Süperkritik akışkanlarla nonpolar maddeler kolaylıkla saflaştırılabilirken, polar madde ekstraksiyonunda bu yöntem pek kullanılmamaktadır (Acs, 1997).

Yüksek basınca dayanıklı sistem ve fazla miktarda CO₂ gerektirdiğinden pahalı bir yöntemdir (Zhang ve ark., 1994).

2.3.2.4. Fitosol Tekniği ile Ekstraksiyon (Sıvılaştırılmış Gazlarla Ekstraksiyon).

Çözücü olarak 1,1,1,2-tetrafloroetan gazı kullanılır. Materyal ekstraksiyon kabına konulduktan sonra 5 bar basınç altında sıvılaştırılmış gaz ekstraksiyon kabına gönderilir. İşlem sıvılaştırılmış gazın, yüksek basınçlı ekstraksiyon kabında sıvı ile maddenin bir süre temasta bırakılmasıyla gerçekleşir.

Ekstraksiyon işleminden sonra ekstre süzülerek atmosferik basınçtaki toplama kabına gönderilirken çözücü gaz fazına geçer ve ikinci bir ekstraksiyon işleminde kullanılmak üzere toplanır (Kürkçüoğlu, 1995).

2.3.3. Soğukta Sıkma ile Ekstraksiyon.

Özellikle narenciye esansı gibi diğer distilasyon yöntemleriyle bozulan uçucu yağların elde edilmesinde soğukta sıkma veya benzeri mekanik yollar uygulanmaktadır. Bu yağların elde edilmesinde meyve perikarplarındaki yağ içeren hücreler patlatılır. Oluşan yağ su ile yıkanarak emülsiyon haline getirilir ve santrifüj ile ayrılarak saflaştırılır. Bu yöntemle uçucu yağların üretimi için günümüzde iki tip ekstraktör kullanılmaktadır. In-line FMC adı verilen ekstraktör ile meyvenin alt ve üst kısımları kesilir. Policitrus ekstraktörde ise meyveler helezon şeklinde ve rendelerle kaplı ekstraktör içinde ilerliyerek yağ hücreleri parçalanır ve uçucu yağ su ile sürüklenerek toplanır. Bu ekstraktörlerin en büyük avantajı meyve suyunun ve uçucu yağın aynı zamanda elde edilmesidir (Başer ve ark., 1990).

2.4. Tepeboşluğu (Headspace).

Tepeboşluğu analizi son yirmi beş yıldan beri çiçeklerde bulunan uçucu bileşenlerin doğrudan analizi için kullanılmaktadır. Koku endüstrisinin bu alandaki çalışmaları altmışlı yıllardan öncelere dayanmaktadır.

Koku endüstrisi için oldukça önemli olan gül, leylak, zambak, gibi kokulu çiçekler bu alanda en çok kullanılan bitkisel materyalledir (Brunke ve ark., 1992; Kürkcüoğlu, 1995).

2.4.1. Tepeboşluğu Analiz Yöntemleri

Yaklaşık 15 yıldır koku araştırma laboratuvarlarında analitik Tepeboşluğu metodu kullanılmaktadır. Bu amaçla çiçeklerin uçucu bileşenlerinin analizi için kullanılan iki yöntem vardır. Bunlar Vakum Tepeboşluğu Yöntemi ve Kapalı Sistem Tepeboşluğu Yöntemi'dir. Tepeboşluğu yöntemi, koku veren herhangi bir maddenin kapalı bir kap içerisinde tutulması, gerekirse ısıtılması ve bu şekilde kabin materyalin üzerinde kalan kısmında oluşan (headspace) kokulu havanın gaz kromatografisi gibi hassas yöntemlerle analiz edilmesi esasına dayanır. Çevre araştırmalarında çok yoğun olarak kullanılan bu teknik son yıllarda geliştirilmiş ve arazide de uygulanabilir hale gelmiştir.

Canlı veya taze kesilmiş çiçeklerin kokularının bu teknikle zaptedilmesi için kapalı bir ortama alınan çiçek ya yüksek vakuma tabi tutulur veya üzerinden bir hava pompası yardımıyla sürekli olarak geçirilen temiz havanın bitkinin kokusunu sürükleyip bir adsorban tabakasında bırakması sağlanır. Koku ile zenginleşen adsorban uygun bir çözücü ile elüle edilerek koku maddeleri serbest hale geçirilir. Bu ekstrenin gaz kromatografik analizi çiçeğin gerçek kokusunu oluşturan bileşenlerin kompozisyonunu açığa çıkarır.

Bu yöntem koku ve tat sanayilerinde sabun, deterjan gibi ticari ürünlerin koku kompozisyonlarının ortaya çıkarılması amacıyla sıkça kullanılmaktadır (Brunke ve ark., 1992; Kürkcüoğlu, 1995).

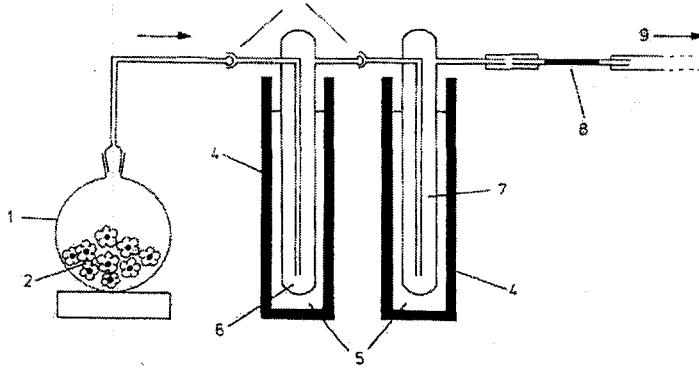
2.4.1.1. Vakum Tepeboşluğu Yöntemi

Burada uçucu bileşenler -196°C de sıvı azot ile yüksek vakumda ve dondurularak alınır. Şekil 2.1'de bu sistem verilmiştir. Bu yöntemde yuvarlak

dipli bir balon çiçek materyali ile doldurulup cam bir tüp ile iki tane soğuk tuzağa bağlanır. Vakum uygulandığı zaman uçucu bileşenler çiçekteki su ile birlikte buharlaşır ve 1. soğutucu yoğunlaşır. Bu soğutucular -196°C de sıvı azot ile soğutulmuştur. 2. soğutucu ile kömür pompadan gelebilecek kirliliklerin tutulması amacıyla sisteme dahil edilmiştir.

Bu test sonucunda uçucu bileşenler organik solvent ile alınır ve Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometrisi (GK / KS) sisteminde analiz edilir.

Vakum headspace tekniği yaşayan çiçeklerin uçucu bileşenlerinin zaptedildikten sonra analizlerini sağlar. Fakat bu yöntemin çiçek, yaprak ve meyveler koparıldıktan sonra uygulanması bir dezavantajdır. Zira bu durumda bazı bileşenler kaybolur veya değişikliğe uğrar (Brunke ve ark., 1992).



1 Dibi yuvarlak balon

2 Koparılmış taze çiçekler

3 Küresel şlifler

4 termos

5 Sıvı azot (-196°C)

6 1. soğutucu suyun ve uçucu bileşiklerin tutulması için

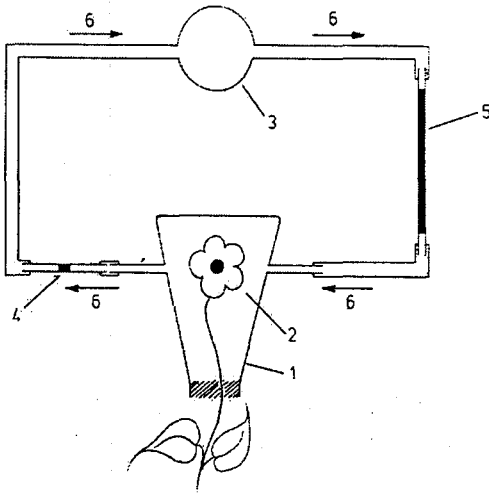
7 ve 8 2. soğutucu ve aktif karbon tüpü: vakum pompasından gelen uçucu kirliliklerin tutulması için

9 Vakum pompasına giriş

Şekil 2.1. Vakum Headspace Cihazının Şeması

2.4.1.2. Kapalı Sistem Tepeboşluğu Yöntemi

Bu yöntem adsorpsiyon ile tutma esasına dayanır. Burada kokulu bileşikler çiçeklerden bir taşıyıcı gaz ile alınır ve bir adsorbanda (aktif karbon veya organik polimer) tutunur. Bu yöntem doğal yetişme ortamında veya laboratuarda yetiştirilen bitkilerde uygulanabilir. Şekil 2.2’de bu sistem şematize edilmiştir. Burada devamlı hava sirkülasyonu sağlayan bir hava pompası ve çiçekten alınan uçucu bileşenlerin adsorbe olduğu yaklaşık 20 mg kapasiteli bir aktif karbon tüpü vardır. Devamlı hava sirkülasyonu ile uçucu bileşenler çiçeklerden ayrılır ve aktif karbon üzerinde adsorbe olurlar. Pompadan gelecek olan kirlilikleri tutmak için ise ikinci bir aktif karbon tüpü pompa çıkışına bağlanmıştır. Cam hazneler hem koparılmış hem de koparılmamış materyalleri içine koyabilmemiz için uygun büyüklükte olmalıdır. Arazide 9 volt’luk bir hava pompası, konik ve bağlantılara uygun bir cam hazne ile çalışılır. Bu nedenle dışarıda çalışılırken sapların hazneye girdiği bölge sıkıca kapatılmalıdır. Böylece çiçekler zarara uğramadan uygun işlem yapılmış olur. İşlem sonunda adsorban tabaka uygun bir organik çözücü ile yıkanır ve doğrudan analiz edilir (Lawrence, 1991; Kürkçüoğlu, 1995).



- 1 Konik cam hazne
- 2 Canlı veya koparılmış taze çiçekler
- 3 Hava pompası
- 4 Aktif karbon tüpü 1: çiçeklerden gelen kokulu bileşiklerin toplandığı kısım
- 5 Aktif karbon tüpü 2: havanın temizlendiği bölüm
- 6 Akış yönü

Şekil 2.2. Kapalı Sistem Headspace Cihazın Şeması

2.5. Katı Faz Mikro Ekstraksiyon-KFME (Solid Phase Microextraction-SPME)

Katı faz mikro ekstraksiyonu sıvı örneklerden organik bileşiklerin analizi için daha kısa sürede örnek hazırlanması amacıyla geliştirilmiş yeni bir tekniktir (Pawliszyn, 1997).

Kanada'da 1988 yılında Prof. Dr. Janusz Pawliszyn ve çalışma arkadaşları tarafından Waterloo Üniversitesi'nde geliştirilmiştir. Bu araştırmacıların adsorpsiyon ve desorpsiyon tekniklerini geliştirmesiyle bulunan bu yöntemle pahalı organik çözücüler ve uzun süreli örnek hazırlanmasındaki pek çok olumsuzluk ortadan kaldırılmıştır. İlk kez 1993 yılında Supelco firması tarafından ticari örneği piyasaya sunulmuştur (Welkhoff ve ark., 1998).

KFME ile ilgili ilk çalışma 1990 baharında bir seri kaplanmış silika elyafın özel dizaynı mikroyektörler içine yerleştirilmesi ile gerçekleştirilmiştir (Pawliszyn, 1997).

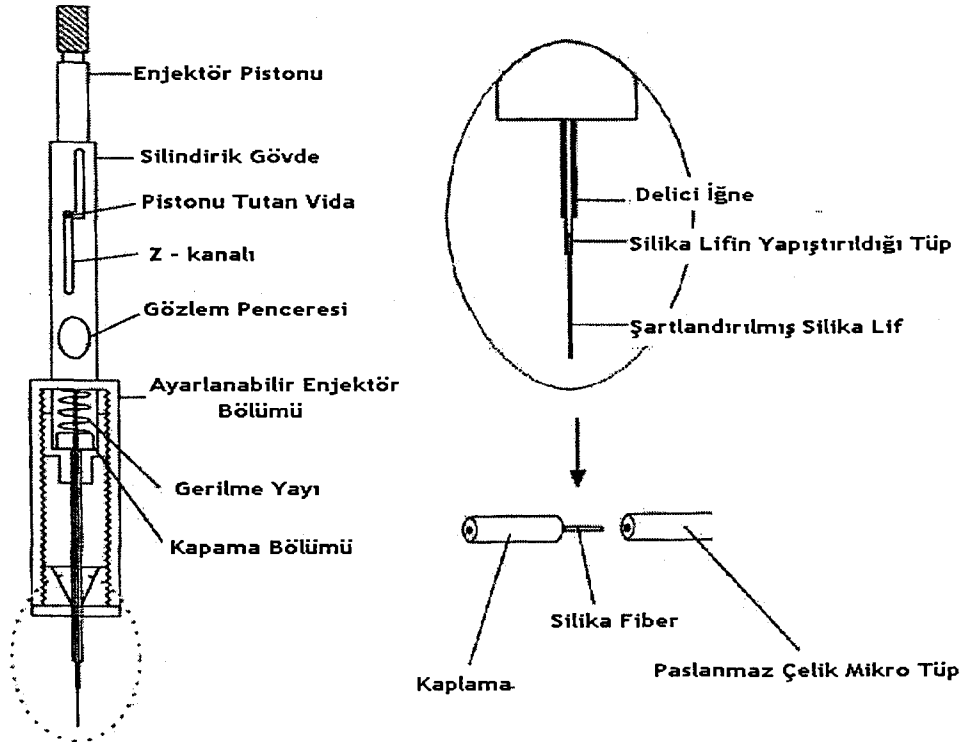
Aromatik materyallerden uçucu maddenin analizinde Headspace veya "Purge ve Trap" yöntemleri, yarı uçucu veya uçucu olmayan maddelerin analizinde ise sıvı-sıvı veya katı-sıvı ekstraksiyon kullanılmaktadır.

KFME çözücü ve karmaşık bir cihaz veya düzeneğe ihtiyaç duymaksızın ve diğer ekstraksiyon yöntemlerine oranla çok daha hızlı, hem sıvı hem de gaz halindeki uçucu yada uçucu olmayan maddelerin ekstraksiyonu için uygulanan gaz kromatografisi, gaz kromatografisi/kütle spektrometresi veya yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile uyumlu bir yöntemdir. Örneğin analize hazırlanması sırasında oluşan analitik kayıplar bu metotla önlenebilir (Gürbüz, 1998).

Bu yöntem analiz ürünlerinin kaplama ve numune karışımı arasındaki partiyonları (dağılımları) ve analitik analizlerin yapılacağı cihaza, yoğunlaştırılmış ürünlerin desorpsiyonu olmak üzere iki işlem basamağından oluşur. İlk olarak kaplanmış fiber (elyaf-lif) numune ile temasta bırakılır ve istenen analiz ürünleri karışım içinden kaplanmış fibere geçer ve ekstre edilir. Daha sonra analiz ürünleri ile yoğunlaşmış fiber desorpsiyon işleminin yapılacağı analitik ölçüm (GK,GK/KS) cihazına bağlanır. Burada ayrıştırma işlemi gerçekleştirilir. Kısaca KFME işlemi hava, su, toprak gibi materyallerden organik bileşiklerin ayrıştırılmasında kullanılır (Zhang ve ark., 1994).

2.5.1. KFME Enjektörü.

KFME ünitesi 1cm uzunluğunda 5mm çapında adsorbanla kaplı silika bir fiber (elyaf-lif)'e sahiptir. Bu fiber paslanmaz çelik kaplı bir koruyucu kulpa bağlı olup şekil olarak modifiye bir mikrolitre enjektörüne benzemektedir (Şekil 2.3). Adsorban kaplı fiber bir sünger özelliği gösterir. Organik bileşikler bu yüzeye bağlanıp daha sonra da analiz edilir. Bu dizayn ile numune kolaylıkla analizin gerçekleşeceği cihaza (GK, GK/KS, YBSK) verilebilir (Pawliszyn, 1997).



Şekil 2.3. KFME enjektörü

Fiber paslanmaz çelikten yapılmış ince bir tüpün ucuna yerleştirilir. Bu tüpte özel olarak yapılmış şırınganın ucuna yerleştirilir. Fiber önce şırınga iğnesi içine çekilir sonra pistonu basılarak yavaşça aşağı inmesi sağlanır. Önceden

belirlenmiş bir zamanda fiber kaplamanın numune ile teması sağlanır. Ekstraksiyon tamamlandığında analiz ürünlerinin fiber kaplamadan termal desorpsiyon yolu ile analiz cihazına geçişi ve ölçümü sağlanır (Zhang ve ark. 1994).

KFME enjektörleri elle veya otomatik olarak kullanılabilir. Şırıngası sıradan bir şırınga rahatlığında kullanılabilir. Sadece pistonu basma süresine dikkat edilmesi gerekir (Zhang ve ark., 1994).

Günümüzde en başarılı fiber kaplaması polidimetilsiloksan (polyimide)'dir. Kaplamanın faz kalınlığı 15-150 µm arasında değişebilir. polidimetilsiloksan kaplı fiberler klorlanmış hidrokarbonların analizi için kullanılmaktadır. Diğer kaplama maddeleri sıvı kristal poliakrilit ve karbovaktır. Fiber kaplanmamış olaraktan kullanılabilir. Kaplama sülfürik asit ile çıkarılabilir (Arthur ve ark., 1992).

KFME ile başarılı bir çalışma yapabilmek için dikkat edilmesi gereken önemli etken adsorbe edilecek bileşiğin yapısına uygun adsorbanlı fiberin seçilmesidir.

KFME adsorbanlarının özellikleri ve kullanım amaçları Çizelge 2.5'de belirtilmiştir (Anon, 1998a).

Çizelge 2.5. KFME fiberlerinin özellikleri ve kullanım amaçları

ADSORBAN ADI	KAPLAMA KALINLIĞI	KULLANIM ALANI	ÖZELLİK	ÖNERİLEN ANALİZ YÖNTEMİ
Polidimetilsiloksan (PDMS)	100µm	Uçucular	Kırmızı/düz	GK/YBSK
	30µm	Nonpolar yarı uçucular	Sarı/düz	GK/YBSK
	7µm	Orta nonpolar yarı uçucular	Yeşil/düz	GK/YBSK
Polidimetilsiloksan/ Divinilbenzen (PDMS/DVB)	65µm	Polar uçucular	Mavi/düz	GK
	60µm	Genel	Kahverengi/çen tikli-düz	YBSK

Çizelge 2.5. (devam) KFME fiberlerinin özellikleri ve kullanım amaçları

Karboksen/ Polidimetilsiloksan (Carboxen/PDMS)	75µm	Eser miktardaki uçucular	Siyah/düz	GK
Poliakrilat (PA)	85µm	Polar yarı uçucular	Beyaz/düz	GK/YBSK
Karbovaks/ Divinilbenzen (CW/DVB)	65µm	Polar maddeler	Turuncu/ düz	GK
Karbovaks/ Templeted resin (CW/TPR)	50µm	Süpfektanlar	Mor/ çentikli-dişli	YBSK

2.5.2. KFME Teorisi.

KFME'nun genel prensibi ekstraksiyon işleminin yapıldığı fiber kaplama ile numune karışımı arasındaki analiz ürünlerinin dağılımı (partisyon)'dır.

KFME'da iki farklı uygulama şekli vardır.

2.5.2.1 Daldırmalı-Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (D-KFME) (Immersion-Solid Phase Micro Extraction-Im-SPME)

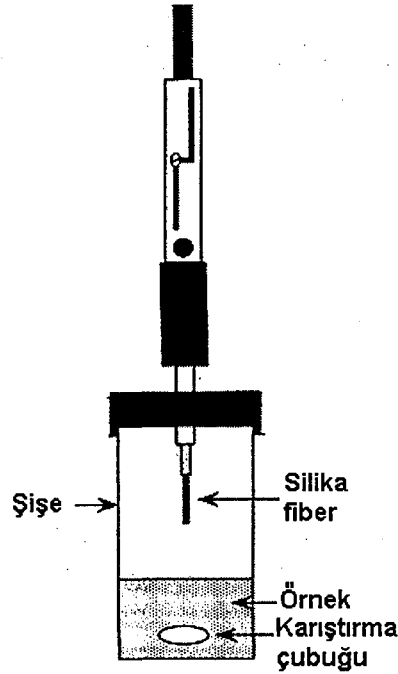
KFME tekniğinden bahsedilirken bu metot hatırlanmaktadır. Bu metotta absorbe edilecek bileşiğin yapısına uygun bir kaplama materyali ile kaplanmış KFME silika fiber analiz edilecek örneğin içerisine daldırılır. Örnekteki organik bileşikler fiberdeki kaplama materyaline (sabit faza) adsorbe olurlar. Örnek şişesinin lastik kapağı enjektörün sivri ucuyla delindikten sonra bu uç içerisindeki fiber analiz edilecek numuneye daldırılmaktadır. Lifin numuneye daldırma derinliği ve numune hacmi, başarılı bir sonuç elde edilmesinde oldukça önemlidir. Organik bileşikler adsorbsiyon dengesi oluşuncaya kadar sabit faz içine ayrılır. Enjektör numune çözeltisinden uzaklaştırılmadan önce fiber paslanmaz çelik ucun içerisine çekilmelidir (Anon, 1998b; Schulz, 1997).

2.5.2.2 Tepeboşluğu-Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (TB-KFME) (Headspace-Solid Phase Micro Extraction-HS-SPME)

TB-KFME işleminde kaplama, tepeboşluğu ve numune olmak üzere üç faz vardır. Bu üç faz için analiz ürünlerinin kimyasal potansiyel farklılığı, analiz ürünlerinin numuneden kaplamaya geçişine etki eder (Zhang ve ark. 1994).

Bu uygulamada sıvı yada katı örneğin bulunduğu şişenin lastik kapağı enjektörün sivri ucuyla delindikten sonra bu uç içindeki fiber numuneye değmeyecek şekilde çıkarılır. Bundan sonraki işlem basamakları D-KFME tekniği ile aynıdır.

Bu yöntemin farklı bir uygulama şeklide çiçek veya güzel kokuya sahip bir dokuya dokunmadan KFME enjektörünü yaklaştırarak aromatik koku moleküllerinin KFME fiberine adsorblanmasıdır (Şekil 2.4.) (Anon, 1998b; Schulz, 1997).



Şekil 2.4. Tepeboşluğu-KFME

Hem TB-KFME hem de D-KFME koku bileşiklerinin tutulması için kullanılabilir. Bu yöntemlerde analiz edilecek bileşikler KFME fiberine adsorplandıktan sonra, analizin yapılacağı sistemin enjeksiyon portuna enjekte edilirler. Enjeksiyon sırasında fiberin, ince enjektör ucu içerisinden dışarı itilmesi ile üzerindeki bileşikler termal desorpsiyona uğrattılır. Böylelikle KFME aşağıdaki analiz teknikleri ile kullanılabilir.

- Gaz Kromatografisi (GK)
- Gaz Kromatografisi / Kütle Spektrometrisi (GK/KS)
- Fourier-Transform Infrared Spektrofotometri (FTIR)
- Çok Boyutlu Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometrisi (ÇB-GK/KS)
- Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (YBSK)
- Kapiller Elektroforez vb (Zhang ve ark., 1994; Braja ve ark., 1998).

2.5.3 KFME'nun Avantajları

KFME çözücü kullanmadan örnek hazırlanabilmesiyle kompleks ve pahalı gereçleri ortadan kaldıran, her geçen gün gelişmekte olan yeni bir örnek hazırlama tekniğidir (Welkhoff ve ark., 1998).

KFME ile hem uçucu hem de yarı uçucu bileşikler analiz edilebilir (Shirey ve Sidisky).

KFME adsorbsiyon ve desorbsiyon tekniklerini bir arada içerdiği için örnek hazırlanmasını kolaylaştırır. Adsorbsiyon işlemi en yüksek dağılım sabitli bileşenin kesin ekstraksiyonu için gerekli olan süreye göre 2-30 dakika arasında değişmektedir (Pawliszyn, 1997; Başer, 1999).

KFME tekniğinin önemli bir avantajı da diğer kromatografik veya spektroskopik analiz yöntemleriyle kombine halde kullanılabilmesidir (Welkhoff ve ark., 1998).

Fiber kaplama materyalinin çeşitliliğinden dolayı KFME'nun uygulama alanı oldukça geniştir. Fiber uygun şekilde kullanıldığında tekrar tekrar kullanılabilme özelliğine sahiptir.(50-100 kez) Fiber organik çözücülerle kolaylıkla temizlenebilir. Bu nedenle diğer yöntemlere göre oldukça ekonomiktir (Pawliszyn, 1997; Başer, 1999).

KFME ile tek bir fiber kullanılarak bir dizi maddenin tespiti yapılabilir. Ayrıca farklı tipteki fiberlerle daha spesifik sonuçlar elde edilebilir (Shirey ve Sidisky)

Bioafinitesi olan fiber kaplamalar sayesinde vücut sıvılarından veya hücrelerden protein veya buna benzer biyolojik materyaller ekstre edilebilir.

KFME katı faz ekstraksiyondaki ucuzluk, kolay kullanım avantajlarına sahip iken katı faz ekstraksiyonun sahip olduğu tıkanma ve çözücü kullanımı gibi dezavantajları yoktur.

KFME sahip olduğu uygun ve basit geometrik şekil sayesinde alan analizlerine imkan tanıyan ve bu elde edilen ürünleri laboratuara analiz için taşıyabilen pratik bir tekniktir. Su veya gaz karışımı numunelerinde bu teknik oldukça kullanışlıdır.

KFME / KS analiz uygulamaları ilaç içindeki femtogram seviyesindeki ürünlerin bile yakalanmasını sağlar (Zhang ve ark., 1994).

İyon yakalayıcı dedektör ile (ECD) trilyonda bir kısım (ppt) tespit sınırına ulaşılabilir. Bileşenlerin limitleri dinamik bir sırayla tespit edilebilir (Pawliszyn 1997; Başer, 1999).

Bu avantajlardan dolayı KFME tek başına diğer örnek hazırlama tekniklerinin yerini alabilecek, verimi yüksek, maliyeti ucuz ve diğer tekniklere alternatif olarak geliştirilen kolaylıkla uygulanabilen bir örnek hazırlama tekniğidir.

1.5.4. Uygulama Alanları

KFME hızlı, nispeten daha basit ve güvenilir bir analitik sistem olduğu için çok fazla kullanım alanı bulabilen bir tekniktir (Welkhoff ve ark., 1998).

İlk uygulamaları arasında “İçme Sularında Uçucu Maddelerin Analizi” yer almaktadır. KFME kullanım alanlarını şu şekilde örnekleyebiliriz

- Gıda sanayinde organik ve anorganik bileşiklerin analizi
- Hava, su, toprak gibi materyallerde bulunan organik kirliliklerin tespiti
- Farmakolojide ilaç hammaddelerinin analizleri
- Sabun, duş jelleri, deodorant, şampuan gibi kozmetik ürünlerin ve deterjanlarla temizleyicilerin analizleri
- Tıp alanında toksin, üre, nitrat ve pestisit kalıntılarının tespiti

- Kandaki uyuşturucu ve alkol miktarlarının toksik analizi (Pawliszyn, 1997; Başer, 1999)

- Katı ve sıvı besinlerdeki koku bileşiklerinin tespit edilmesi için kullanılır (Shirey ve Sidisky).

2.6. Türk Gülyağı Üretimi

Ülkemizde ekonomik olarak üretimi ve ticareti yapılan uçucu yağların başında gülyağı gelir (Bayrak ve Şencan, 1995).

Türkiye ve Bulgaristan'da gülyağı, taze gül çiçeklerinin (*Rosa damascena* Miller) hidrodistilasyonu ile elde edilir. Bu tür *Rosa gallica* L. ve *Rosa phoenicia* Boiss.'in melezidir. Tarımı yapılan varyete "trigintipetala" (30 petalli) adıyla bilinmektedir (Başer ve ark., 1990).

Günümüzde sadece Anadolu'daki Isparta ve Burdur yörelerinde gülyağı ve gülsuyu üretimi yapılmaktadır.1934'ten beri köy tipi üretimin yerini endüstriyel üretim almıştır (Başer ve ark., 2003)

Türkiye' de gülyağı üretiminde iki teknik uygulanmaktadır.

1. Endüstriyel distilasyon
2. Köy distilasyonu

2.6.1. Endüstriyel Distilasyon Tekniği

Türkiye'de endüstriyel üretimde genellikle 3000 L' lik bakır veya paslanmaz çelik imbicler kullanılır. Her imbic 400-500 kg çiçek ve 1500-2000 L' lik su alır. İmbicler buhar ceketlidir ve distilasyon 1.5 saat sürer. Gül yağındaki parafinlerin distillenebilmesi için soğutucu sıcaklığı 35°C de tutulur (Başer ve ark., 1990).

Kazanlara yüklenen gül çiçeği-su oranı 1/3 olarak ayarlanır. 400-500 kg gül çiçeği ve 1500-2000 L' lik su kazanlara yüklenir ve 2-3 atü indirek buhar kazanlara verilerek kaynama süresi kısaltılmaktadır. Kazan içinde buharlaşan su ile yağ sürüklenerek soğutucuya gelir. İçinde helezon şeklinde borular ve su ceketi bulunan soğutucu paslanmaz çelikten yapılmıştır (Başer, 1992; Başer ve ark., 1993). Soğutucuda yoğunlaşan su-y yağ karışımı 200 litrelik paslanmaz çelik florentin kaplarında toplanır. Ayrılan yağa "ham yağ", "ilk yağ" veya "direk yağ"

denir. Distilatın tadı acı oluncaya kadar distilasyona devam edilir (Başer ve ark., 1990).

Gülyağı, veriminin düşüklüğü nedeniyle 3. veya 4. yüklemekten sonra su üzerinde toplanmaya başlar. “Yağ altı suları” veya “ilk sular” 5000 litrelik paslanmaz çelik tanklarda biriktirilir ve 3000 litrelik imbiklerde 1-1.5 saat distile edilerek “ikinci yağ”, “pişmiş yağ” veya “endirek yağ” elde edilir. İkinci distilasyonun distilatı, yağın alınmasıyla suyla seyreltilip % 0.1 sodyum benzoat ilavesinden sonra gülsuyu olarak satılır. İlk ve ikinci yağların birleştirilmesiyle esas gülyağı elde edilir (Başer ve ark., 2003).

2.6.2. Köy distilasyonu Tekniği

Köy üretiminde çiçekler 150-1000 litrelik su dolu galvaniz saç veya kalaylı bakır imbiklerde açık alevde distile edilir. Çoğu imbikler 300 litrelik, baş ve gövde kısmından ibarettir. Gövde kısmının iki yanında saplar vardır ve toplam üst kısmından daha geniştir. Gövdenin üst kısmına yerleştirilen ve çıkabilen küresel baş, ılık sudaki havuzdan geçen bir boru ile, 9 L 'lik cam toplama kabına bağlıdır. 300 L 'lik imbiğe 10 kg çiçek ve 60 L su konur ve 1 saat distile edilir. Bu süre sonunda 2 şişe dolusu (18 L) distilat elde edilir. Ancak konsantrasyon azlığından yağ ayrılmaz. 100 kg çiçeğin distilasyonu sonucu toplanan 200 L civarındaki distilatın distillenmesiyle toplanan 20 L distilatın üst yüzeyinde toplanan yağ alınır. Sulu kısım ise saf su ile seyreltikten sonra gül suyu olarak satılır (Başer ve ark., 1990).

2.7. Gül Konkreti ve Absolü

Konkret genellikle kabuk, çiçek, yaprak, ot ve kök gibi bitkisel materyallerden uygun organik çözücüler (benzen, hekzan, heptan gibi) kullanılarak hidrokarbon tipi solvent ekstraksiyon yöntemi sonucu elde edilen bir üründür.

Konkretin alkol (etanol) ile tüketilmesi sonucu alkole geçen kokulu maddelerden oluşan alkollü ekstreden mum, yağ gibi maddelerin dondurularak uzaklaştırılması sonucu kalan kısma ise absolü adı verilir.

Gül konkretinin hazırlanmasında gül petalleri organik bir çözücü ile tüketilir. Tüketme işlemi tamamlandıktan sonra çözücü düşük basınç altında yoğunlaştırılarak uzaklaştırılır.

Endütriyel olarak konkret eldesinde 3000 L kapasiteli kazanlara 600-750 kg gül çiçeği yüklenir. Sonra gül kazanının yarısına kadar n-hekzan ilave edilir. 60-65°C'de 20 dakika ekstre edilir. Yağlı hekzan yağ kazanına aktarıldıktan sonra kazana tekrar hekzan verilerek 20 dakika ekstraksiyon işlemi tekrarlanır. Buradan elde edilen yağlı hekzanda kazana aktarılır. Konkret vakum kazanına alınarak hekzan vakum uygulanması sonucu konkretin içerisinde tamamen uzaklaştırılır. Böylece saf konkret elde edilir. Konkret sıcakken 5L 'lik tenekelere doldurulur. Yaklaşık 375-400 kg gül çiçeğinden 1kg konkret elde edilir.

Konkretten absöü eldesinde en çok kullanılan çözücü etil alkoldür. Konkret alkolle tüketildikten sonra -15/-20°C'de bekletilir. Daha sonra filtre edilerek alkol düşük basınç altında uzaklaştırılır ve absöü elde edilir. Absöü daha sonra moleküler distilasyon metoduyla içerdiği uçucu olmayan maddelerden tamamıyla ayrılabilir.

Konkretin yapısındaki alkollerin % 75'i feniletıl alkolden oluşmaktadır. Distilasyonla elde edilen gülyağında feniletıl alkol miktarı düşüktür. Çünkü feniletıl alkol suda kolaylıkla çözüdür (Kürkçüoğlu ve Başer, 2003).

Gül konkreti ve gülyağı parfümeride ve ilaç sanayinde koku verici olarak kullanılmaktadır (Keleme, 1993).

2.8. Türk Gülyağının Bileşimi

Gülyağı taze güllerden su distilasyonu yöntemiyle elde edilir. Yağ verimi genellikle %0.02'dir. Gülyağı üretimi sonucunda kalan aromatik su gülsuyu adıyla pazarlanır. Taze gül çiçeklerinin n-hekzan ile ekstraksiyonu sonucu gül konkreti, konkretin etanolle ekstraksiyonu sonucu ise gül absölüsü elde edilir.

Türkiye'de yılda ortalama 7.000 ton gül işlenerek, 1600 kg gülyağı ve yaklaşık 2400 kg gül konkreti elde edilir. 1 kg gülyağı elde etmek için 3500 ila 4000 kg taze güle ihtiyaç vardır.

Gül yağında başlıca asiklik terpenik maddeler bulunur. Yağın yaklaşık %30-43'ünü sitronellol, % 10-15'ini geraniol oluşturmaktadır. Gülbirlik gülyağının genel bileşimi Çizelge 2.8.1'de görölmektedir. Ayrıca gül kokusuna katkı sağlayan diğer önemli maddeler Çizelge 2.8.2'de, madde gruplarının gülyağındaki yüzde miktarları da Çizelge 2.8.3'te bulunmaktadır (Başer ve ark., 2003).

Çizelge 2.8.1. Gülbirlik Gülyağının 17 yılı (Başer ve ark., 2003)

Bileşik	Ana Bileşenlerin Yağdaki Miktarları (%)	
	MİN.	MAX.
Sitronellol	30.9	43.9
Geraniol	9.3	14.1
Nonadekan	8.3	14.7
Nerol	5.2	7.6
1-nonadekan	2.4	4.9
metil öjenol	2.6	4.0
heneikosan	2.5	4.2
geranil asetat	1.0	2.2
linalool	0.6	2.1
feniletil alkol	1.2	1.9
β -karyofillen	0.7	1.6
sitronellil asetat	0.7	1.4
germakren D	0.7	1.4
(2E-6E)-farnesol	0.6	1.4

Çizelge 2.8.2. Gülbirlik Gülyağının 17 yılı-Gül kokusuna katkı sağlayan diğer önemli maddeler

Bileşik	%	Örnek sayısı (yıl)
β -damassenon	0.03	1(2000)
<i>cis</i> -rozoksit	0.3-1.0	17
<i>trans</i> -rozoksit	0.1-0.5	17
rozfuran	<0.1-0.1	9
nerol oksit	<0.1-0.2	16
izonerol oksit	0.01-0.02	6
rozfuran epoksit	0.02-0.04	3
(E)-3,7-dimetil-5-okten-1,7-diol	0.1-0.4	8
(2Z, 5E)-3,7-dimetil-2,5-oktadien-1,7-diol	0.02-0.1	3
(2E, 5E)-3,7-dimetil-2,5-oktadien-1,7-diol	0.02	1

Çizelge 2.8.3. Gülbirlik Gülyağının 17 yılı- Madde grupları (%)

Madde Grupları	Yağdaki Miktarları (%)		
	Min.	Max.	İstisna (yıl)
Terpenoitler	61.9	77.4	
Oksijenli monoterpenler	64.0	71.3	56.7 (1991)
Seksiterpen hidrokarbonlar	2.9	5.3	
Oksijenli seksiterpenler	0.5	2.0	
Monoterpen hidrokarbonlar	0.3	1.9	2.3 (2000)
Hidrokarbonlar	17.8	22.8	30.5 (1991)
Fenilpropanoitler	3.1	4.8	5.4 (1990)
Diğerleri	0,5	1.8	

2.9. Türk Gül Konkreti ve Absolünün Bileşimi

Konkretten absolü eldesinde ultrasonik banyo kullanılarak yapılan ekstraksiyon yöntemi kullanıldı. Konkret ve etanol karışımı ultrasonik banyo kullanılarak çözündürüldü. Karışım bir gece boyunca buzlukta bekletildi. Daha sonra siyah bant filtre kağıdı kullanılarak vakum altında süzülür. Bu metot Erçetin 1992 gül konkretinde altı safhada (K1, K2, K3, K4, K5, K6) -20°C'de uygulandı. Bu altı safhadaki konkretin bileşimi Çizelge 2.9.1'de belirtilmiştir. Yapılan GK ve GK/KS analiz sonuçları Çizelge 2.9.2'de görülmektedir.

Çizelge 2.9.1. Erçetin-1992 gül konkretinin bileşimi

Ana bileşikler	K1	K2	K3	K4	K5	K6
heptadekan	0.4	0.8	1.1	1.2	1.4	0.9
sitronellol	8.7	7.5	6.9	3.7	1.9	1.0
nerol	2.0	1.7	1.6	0.8	0.4	0.2
geraniol	5.0	4.4	4.2	2.2	1.3	0.6
benzil alkol	1.2	0.9	0.7	0.3	0.1	0.02
feniletıl alkol	65.4	55.7	46.7	22.1	8.3	3.6
nonadekan	2.1	6.9	15.5	37.6	53.4	56.9
1-nonadeken	4.4	3.3	3.3		1.2	
eikosan	0.1	0.4	1.0	2.7	4.0	4.9
heneikosan	0.1	1.1	3.1	8.8	11.9	15.9
öjenol	1.4	1.3	1.2	0.7	0.4	0.4
trikosan	tr?	0.2	-	1.0	0.4	0.3
Ürün (%)	36.4	23.4	3.2	1.0	0.4	0.3
Toplam ürün : 64.7%						

Çizelge 2.9.2. Gül absölitünün bileşimi

Ana Bileşenler	A	B	C	D	E	F	G	H	I
etanol	0.01	-	0.1	0.02	0.2	1.3	0.6	0.1	1.3
germakren D	0.2	0.1	0.1	0.2	1.6	1.9	1.1	0.1	1.1
heptadekan	0.8	0.02	1.9	0.7	-	-	-	-	-
sitronellol	18.7	3.6	9.7	8.8	10.4	9.6	7.2	8.1	11.9
nerol	5.7	1.2	2.8	2.0	3.3	4.4	2.9	2.0	2.5
geraniol	14.0	2.9	7.0	5.2	8.4	10.9	7.4	5.3	6.1
benzil alkol	0.5	1.6	0.7	0.9	0.9	0.6	1.2	1.2	0.8
feniletil alkol	44.1	86.0	46.7	63.0	54.0	49.6	61.1	65.9	53.3
nonadekan	2.6	0.2	13.0	3.3	6.5	6.1	4.7	6.8	4.9
nonadeken	1.0	0.1	5.0	3.8	4.6	5.0	4.9	0.03	3.4
metil öjenol	1.4	1.4	0.9	0.8	1.2	0.8	0.8	0.8	1.2
heneikosan	0.3	-	2.9	0.3	0.5	0.4	0.3	0.3	0.4
öjenol	2.3	0.7	0.5	1.4	1.6	2.1	1.5	1.1	1.5
Ürün (%)	12	10	64	60	61	62	59	60	58

A-%12 uçucu yağ verimi olan Gülbirlik-1991 gül konkretinin bileşimi

B-Yağ içermeyen distilatın dietil eter ile üç kez ekstraksiyonu sonucu eterin vakum altında uzaklaştırılması ile elde edilen % 10 uçucu yağ verimi olan karışımın bileşimi

C- Gülbirlik-1991 gül konkretinin etanol kullanılarak ekstraksiyonu sonucu elde edilen % 63.6 verimli absölitünün GC ve GC/MS analizlerinin türün sonuçları

D-Erçetin-1992 gül konkretinin ultrasonik banyo ile yapılan ekstraksiyonu sonucu elde edilen absölitünün bileşimi

E-Gülbirlik-1991 gül konkretinin etanol ile ultrasonik banyo kullanılarak yapılan ekstraksiyonu sonucu elde edilen %61 verimli absölitünün bileşimi

F- Konur-1991 gül konkretinden aynı metot uygulanarak elde edilen absölitünün bileşimi

G- Erçetin-1991 gül konkretinden aynı metot uygulanarak elde edilen absölitünün bileşimi

H- Gürkan-1991 gül konkretinden aynı metot uygulanarak elde edilen absölitünün bileşimi

I- Gülbirlik-1994 gül konkretinden aynı metot uygulanarak elde edilen

Türk gül absolüsünün bileşimi Çizelge 2.9.3'te belirtilmiştir.

Çizelge 2.9.3. Türk gül absolüsünün ana bileşenleri

Anabileşen	%
feniletil alkol	67.50
sitronellol	8.3
geraniol	5.1
nerol	2.1
öjenol	1.5
metil öjenol	0.7
nonadekan	2.0
nonadeken	2.8

2.10. Gül Tepeboşluğu - KFME Ürünlerinin Bileşimi

Adsorban olarak ayrı ayrı aktif kömür ve porapak Q kullanılan kapalı sistem tepeboşluğu konkret analizlerinde elde edilen sonuçlarda çok az farklılıklar vardır. Feniletil alkol ve sitronellol ana bileşik olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte absolüden farklı olarak α -pinen ve mirsen gibi hidrokarbonlar önemli miktarlarda bulunmaktadır. Bileşenler Çizelge 2.10.1'te verilmiştir.

Çizelge 2.10.1. Gül konkretinin Tepeboşluğu analiz sonuçları

Ana Bileşik	Gül konkreti (Erçetin 1992)	
	Aktif kömür	Porapak Q
feniletil alkol	44	47
sitronellol	9	3
geraniol	3	1
Nerol	2	1
Öjenol	-	0.2
metil öjenol	-	0.1
α -pinen	9	10
Mirsen	5	3
β -pinen	2	2
sabinen	1	1

Gül konkretinde Tepeboşluğu-KFME analizleri yapılmış. Sonuç olarak ısı uygulayarak ve ısı uygulanmadan yapılan yöntemde gül konkreti gül absolüsü ile karşılaştırılarak aşağıdaki Çizelge 2.10.2'de sonuçlar elde edilmiştir

Çizelge 2.10.2. Gül konkretinin KFME analiz sonuçları

Ana Bileşik	Gül Koncreti (Gülbirlik 1997)		
	Gül Absolüsü (%)	Tepeboşluğu-KFME	
		Oda sıcaklığı	Sıcaklık uygulanması
feniletıl alkol	50	43	51
sitronellol	18	17	18
geraniol	6	5	6
nerol	3	4	3
öjenol	2	1	2
metil öjenol	2	2	2
nonadekan	5	0.1	0.7
1-nonadeken	3	-	-

3. MATERYAL VE YÖNTEMLER

Bu bölümde ilk olarak çalışmalarımızda kullanılan bitkisel materyal, kimyasal maddeler ve daha sonra yapılan deneysel çalışmalar hakkında bilgi verilmiştir.

3.1. Kullanılan Bitkisel Materyal, Kimyasal Maddeler ve Aletler

3.1.1. Bitkisel Materyal

Gül Çiçekleri: Eskişehir'in Mahmudiye ilçesinden 16.06.2003 tarihinde toplanan taze gül çiçekleri ile Isparta firması tarafından yollanmış Isparta gülü çiçekleri.

3.1.2. Kimyasal Maddeler.

n-hekzan, dietileter, etanol, 1,1,1,2-tetrafloroetan gazı

3.1.3. Aletler

- Clevenger apareyi (Ph.Eur.)
- Rotavapor (BÜCHI-490)
- KFME Enjektörü (Supelco)
- Gaz Kromatografisi (HP-6890)
- Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GCD-G1800A)
- Mikrodalga Distilasyon Cihazı (MILESTONE)

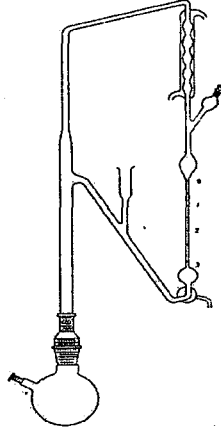
3.2. Deneysel Çalışma

Bu bölümde *Rosa damascena* Miller ve *Rosa damascena var. semperflorens* çiçeklerinden gül yağı eldesi, gül yağının fraksiyonlanması ve konkretlerden absölü eldesi gerçekleştirilmiştir. Gül yağları ve absölülerin Tepeboşluğu, KFME, GK ve GK/KS analizleri yapılmıştır.

3.2.1. Distilasyon

3.2.1.1. Su Distilasyonu

Gül çiçeklerinden uçucu yağ elde etmek amacıyla laboratuvar ortamında Clevenger apareyinde 200 g gül çiçeği 2 l'lik balona doldurulduktan sonra üzerine 1 l distile su ilave ederek 3 saat süreyle distilasyon yapıldı. Clevenger apareyi Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.1. Clevenger Apareyi

3.2.1.2. Mikrodalga Distilasyon

Çalışma için mikrodalga distilasyon cihazının (Şekil 2.2) dibi yuvarlak balonlarına ayrı ayrı 5 yükleme yapıldı ve taze bitkisel materyal kendi suyu ile doğrudan distilasyona tabi tutuldu. Materyal olarak *Rosa damascena var. semperflorens* kullanıldı. Yüklenen gül miktarları Çizelge 3.2.1'de verilmiştir.

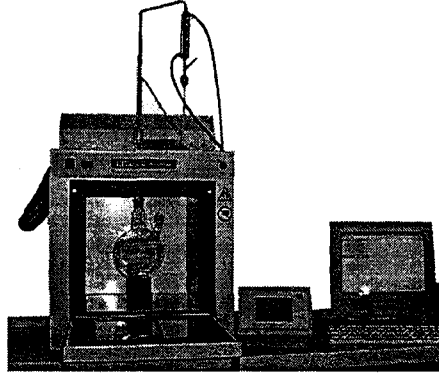
Çizelge 3.2.1 .*Rosa damascena var. semperflorens*"in yüklenen miktarları

1.Yükleme	2. Yükleme	3.Yükleme	4.Yükleme	5. Yükleme
200 g	312 g	302 g	301 g	300g

Rosa damascena var. semperflorens"in kullanılan miktarları her yükleme için aynı deney koşulları sağlanarak mikrodalga distilasyon yöntemi uygulanmıştır. Yöntemin çalışma programı Çizelge 3.2.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2.2. Mikrodalga distilasyonun deney koşulları

Aşama	Zaman	Mikrodalga gücü	Sıcaklık
1.Aşama	5 dk.	800 W	Oda Sıcaklığından- 100°C'ye Çıkış
2.Aşama	15 dk.	800 W	100°C de Sabit
3.Aşama	1 dk.	800 W	100°C' den 110°C'ye Çıkış
4.Aşama	9 dk.	800 W	110°C' de Sabit
Havalandırma	5.dk	-	-



Şekil 3.2. Mikrodalga Distilasyon Cihazı

3.2.2. Tepeboşluğu ve KFME Çalışmaları

İki boğazlı özel balonun içine bir miktar taze gül çiçekleri konuldu. Balon kapatıldıktan sonra yan tarafında bulunan boğazdan KFME enjektörünün fiberi balon içindeki örneğe daldırılmadan yaklaştırıldı. Bu şekilde oda sıcaklığında, 1 saat KFME uygulandı. Bu işlem için 65 µm polidimetil silikosan/divinilbenzen (PDMS/DVB)-Blue fiber kullanıldı. İşlem sonu KFME fiberine adsorplanan bileşikler GK/KS'e enjekte edilerek analiz edildi.

3.2.3. Absolü Eldesi

Belirli miktar konkret alınarak üzerine distile edilmiş etanol ilave edildi ve ultrasonik banyoda çözüldü, bir gece derin dondurucuda (-20° C) bekletildi. Daha sonra süzme işlemi siyah bant süzgeç kağıdından vakum uygulanarak süzüldü. Filtrenin üstünde kalan konkret tekrar distile edilmiş etanolde çözülerek derin

dondurucuda bir gece daha bekletildi. Tekrar vakum uygulanarak süzüldü. Elde edilen süzüntüler birleştirilerek rotavaporda yoğunlaştırıldı ve absölu elde edildi.

3.2.4. Gaz Kromatografisi

Gül yağı ve gül absölu içerisinde bulunan bileşenler gaz kromatografisi kolonunda tutunma sürelerine göre ayrılmış ve relatif oranlarına göre değerlendirilmiştir.

Gaz Kromatografisi Analiz Koşulları:

Sistem	: HP 6890
Kolon	: Innowax FSC kolon (60 m x 0.25 mm i.d.x 0,25 µm film kalınlığı)
Dedektör	: FID
Split Oranı	: 50:1
Taşıyıcı Gaz	: Azot
Sıcaklıklar	
Enjeksiyon	: 250°C
Kolon	: 60°C-10 dakika // 4°C /dakika -220°C//220°C-10 dakika // 1°C/dakika//240°C
Dedektör	: 250°C

3.2.5. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GK/KS)

Gül yağı ve absölu içindeki bileşenler gaz kromatografisi kolonunda ayrılıp iyonlaştırıldıktan sonra her birinin tek tek kütle spektrumları alınmıştır.

GK/KS Koşulları:

Sistem	: Hewlett-Packard GCD-G1800A
Kolon	: Innowax FSC kolon (60 m x 0.25 mm i.d.x 0,25 µm film kalınlığı)
Taşıyıcı gaz	: Helyum
Split Oranı	: 50:1
Sıcaklıklar	
Enjeksiyon	: 250°C
Kolon	: 60°C-10 dakika // 4°C /dakika-220°C // 220°C-10 dakika // 1°C/dakika//240°C

KS:

Elektron enerjisi	: 70 ev
Kütle aralığı	: 35-400 m/z

4. DENEYSEL BULGULAR

4.1 Gül Yağı ve Çalışmaları

4.1.1. Su Distilasyonu

Rosa damascena var. semperflorens Eskişehir'in Mahmudiye ilçesinden toplanan taze gül çiçekleri Clevenger apareyinde bölüm 3.2.1.1. de tarif edildiği şekilde su distilasyonuna tabi tutuldu 600 g taze gülden yağ verimi % 0.05 bulundu. *Rosa x damascena var. trigintipetala* (Isparta gülü) gül çiçekleri Isparta'dan toplandı ve bir gece buz dolabında bekletildikten sonra Eskişehir'e gönderildi ve Clevenger apareyinde distilasyona tabi tutuldu. İşlenen 600g gülden %0.05 verimle yağ elde edildi. Her iki gül yağının bileşimleri GK/KS yöntemi ile BAŞER uçucu bileşenleri kütüphanesi kullanarak, bileşenlerin relatif yüzdeleri ise GK yöntemi ile FID kullanarak belirlenmiştir. Analiz sonuçları tablo 4.1.1.'de verilmiştir.

4.1.2. Mikrodalga distilasyonu

Rosa damascena var. semperflorens taze gül çiçekleri mikrodalga distilasyon sisteminde bölüm 3.2.1.2'de tarif edildiği şekilde distilasyona tabi tutuldu 1412 g gülden %0.03 verimle yağ elde edildi. *Rosa x damascena var. trigintipetala* (Isparta gülü) çiçeklerinden (912g) ise yağ verimi %0.03 olarak bulundu. Her iki yağın bileşimleri GK/KS yöntemi ile "BAŞER uçucu bileşenleri kütüphanesi" kullanarak, bileşenlerin relatif yüzdeleri ise GK yöntemi ile FID kullanarak belirlenmiştir. Analiz sonucu Çizelge 4.1.1.'de verilmiş.

Çizelge 4.1.1. Uçucu Yağlar ve Fitosol GK Analiz Sonuçları

RT	Bileşikler	A %	B %	C %	D %	E %
6.24	etanol	e				e
7.33	pentanal	e			0.1	0.2
8.51	α -pinen	e	0.2		0.2	0.1
14.81	mirsen	e	e			0.4
15.89	heptanal	e			0.1	
16.46	limonen	e			0.1	e
18.17	(Z)- β -osimen	e				0.7

Çizelge 4.1.1. (Devam) Uçucu Yağlar ve Fitosol GK Analiz Sonuçları

18.94	(E)- β -osimen	e			0.2	
20.66	Octanal	e			1.3	0.4
21.02	Tridekan	e			0.3	
21.77	2-heptanol	e			1.0	0.6
22.68	6-metil-5-hepten-2-on	e			0.5	0.3
23.13	Hekzanol	e	e		0.5	*e
23.16	1-hekzanol	e				e
23.29	cis-roze oksit	0.2	0.6			3.0
23.87	trans-roze oksit	0.8	0.2		8.0	
24.41	(Z)-3-hekzanol	e			0.2	
24.95	Nonanal	0.1			1.2	1.3
25.86	Perillen	e			0.6	
27.02	1-heptanol	e			0.4	0.1
27.76	nerol oksit	e			0.2	0.2
28.10	Sitronellal	e			3.0	
28.84	pentadekan	0.2	0.4		12.3	30.4
29.26	2-nonanol	0.5			0.3	
29.56	β -burbonen	0.1			4.3	
30.22	Linalol	0.4	0.2			0.5
30.53	Oktanol	0.1			0.4	
31.42	β -ylangen	0.1			1.0	0.2
31.95	α -guaien		0.8		9.1	1.6
32.05	β -kopaen	0.4			e	
32.22	β -karyofillen	1.7	0.7		e	
33.75	alloammadendren	0.4			8.8	30.2
33.99	Sitronellil asetat	1.1	0.8	e	2.3	
34.49	α -humulen	0.7	0.5		e	
34.72	Neral	0.3			0.1	
35.07	α -terpineol					e
35.33	heptadekane		2.3		2.1	2.4
35.15	γ -muurolen	9.9		0.4	0.1	2.8
35.74	Germakren D	1.3	1.5		1.0	
35.75	Heptadeken			0.3	0.2	
35.89	neril asetat	0.4			e	
36.07	α -muurolen	0.3			0.5	
36.20	Geranial	0.5	0.2	e	e	
36.66	(E,E)- α - farnesen				0.2	0.2
36.82	geranil asetat	2.9	e	0.2	12	9.0
37.06	Sitronellol	16.6	37.7	0.5	0.5	0.3
37.56	neril propionat				0.3	
37.98	Nerol	5.9	1.1	0.2	0.1	
38.05	Oktadekan					0.5
38.37	2-tridekanon	0.1		e		0.3
38.57	2-fenil etil asetat	0.8	0.3			0.1
39.28	Geraniol	12.9	3.2	1.1	0.8	0.3
40.11	benzil alkol				e	
40.56	Epikubebol	e			0.3	
40.89	Nonadekan	4.5	21.9	10	0.2	
41.04	fenil etil alkol	0.9	1.2	1.0	0.3	
41.29	1-nonadeken			0.8	5.2	1.6
41.95	kubebol				0.1	
43.38	eikosan	0.1	2.0	2.9	0.2	0.2

Çizelge 4.1.1. (Devam) Uçucu Yağlar ve Fitosol GK Analiz Sonuçları

43.63	metil öjenol	0.9	3.7	e	4.0	
43.98	2-pentadekanon	e				0.1
44.19	(E)-nerolidol	0.3				e
44.66	pentadekanal				0.2	
44.79	germakren D 4-ol				e	
44.73	humulene epoxide- III	e			0.4	0.3
44.99	kubenol	e				e
45.15	1-epikubenol	e			e	0.5
45.34	Elemol	0.4			1.3	0.1
45.59	tetradesil asetat	e			2.1	
46.03	heneikosan	6.6	8.8	19.0		E
46.70	heneikosen	0.1			e	
47.54	öjenol	0.7			0.7	0.3
47.62	γ-ödesmol				0.1	
47.96	t-muurolol	0.4			e	E
47.99	sitronellil kaprilat					0.1
48.19	dokosan	0.3		1.9	0.2	
48.83	α-ödesmol	0.2				E
49.03	β-eudesmol	0.5			0.1	0.2
49.79	(2E,6E)-farnesal	3.2			0.2	0.1
50.62	trikosan	1.0	2.4	16.2		0.4
51.22	14-okzo-α-muurolen	6.7			0.1	
51.48	trikosen			3.7	0.1	E
51.67	(2E,6E)-farnesol	3.9		4.6		0.7
51.68	(E-E)-farnesol					0.1
52.75	sitronellil nonanoat					E
52.89	tetrakosan	0.3			0.2	
55.57	sitronellil benzoat					E
55.89	pentakosan	1.1	1.0	3.3	1.3	0.4
56.92	karota-1,4-dien-14-ol	2.8			0.3	
57.36	pentakosen				1.3	0.1
58.05	eikosanal				2.1	
59.35	sitronellil dekanooat					E
59.59	heksakosan				e	
63.85	heptakosan	0.6	0.8	1.5	1.0	0.6
64.60	fenil etil benzoat	e			0.5	0.3
65.83	9-heptakosen		0.2	1.1	0.5	E
74.02	nonakosan			0.6		E
75.60	nonakosen		0.3	3.3		3.0

e: Eser (%0.1'den az)

A: *Rosa damascena* var. *semperflorens* uçucu yağ (Su distilasyon)

B: *Rosa x damascena* var. *trigintipetala* uçucu yağ (Su distilasyon)

C: *Rosa damascena* var. *semperflorens* fitosol (Ekstrakt)

D: *Rosa damascena* var. *semperflorens* uçucu yağ (Mikrodalga distilasyon)

E: *Rosa x damascena* var. *trigintipetala* uçucu yağ (Mikrodalga distilasyon)

4.2. Tepeboşluğu-KFME Çalışması

Bu çalışmada *Rosa damascena* var. *semperflorens* çiçeklerinin doğal koku bileşiklerini belirlemek amacıyla Tepeboşluğu-KFME işlemi yapıldı. Bu işlem sonucunda KFME fiberine adsorblanan bileşikler GK/KS sistemine enjekte edildi. Yapılan analiz sonucunda bulunan bileşikler Çizelge 4.2.de verilmiştir.

Çizelge 4.2. Gül Çiçeği Tepeboşluğu-KFME Çalışması Analiz Sonuçları

RT.	Bileşikler	%
19.00	(E)- β -osimen	0.3
28.78	pentadekan	0.4
29.61	β -burbonen	0.1
32.07	β -kopaen	0.3
32.24	β -karyofillen	2.3
34.03	sitronellil asetat	0.1
34.53	α -humulen	0.4
34.80	neral	0.7
35.04	α -muurolen	9.3
35.72	germakren-D	0.7
35.93	neril asetat	0.2
36.26	geranial	0.3
36.62	(E-E)- α -farnesen	0.1
36.81	geranil asetat	1.6
36.94	sitronellol	16.1
37.97	nerol	7.5
38.63	2-feniletıl asetat	0.9
39.21	geraniol	8.2
40.13	benzil alkol	0.6
40.75	nonadekan	0.3
41.09	feniletıl alkol	48.8
43.70	metil öjenol	0.2

4.3. Gül Absolü Çalışması

Rosa damascena var. *semperflorens* gül çiçeklerinden absolü elde etmek için bölüm 3.2.3. te tarif edildiği şekilde yapıldı ve 0.66 g konkretten %49.1 verimle absolü elde edildi.. Elde edilen absolünün kompozisyonu GK/KS yöntemi ile “BAŞER uçucu bileşenleri kütüphanesi” kullanarak, bileşenlerin relatif yüzdeleri ise GK yöntemi ile FID kullanarak belirlenmiştir. Analiz sonuçları Çizelge 4.3.de verilmiş.

Çizelge 4.3. Gül Absolüsü GK Analiz Sonuçları

RT	Bileşikler	A	B	C	D
7.33	pentanal	e	0.1	0.5	0.1
10.92	heksanal	e	e		e
15.89	heptanal	e	e	e	e
24.41	(Z)-3-heksanol				e
24.95	nonanal	e	e	e	e
26.35	(E)-2-oktenal			e	0.1
28.84	pentadekan		e	e	e
31.95	α -guayen				e
32.22	β -karyofillen	0.3			e
33.52	(E)-2-dekanal		0.1		0.1
33.75	alloaromadendren		e		
33.99	sitronellil asetat				e
34.49	α -humulen		e		
35.33	heptadekan	e	e	e	e
35.15	γ -muurolen	2.4	0.3		
35.74	germakren D				e
35.75	heptadeken	e			
36.07	α -muurolen	e			0.1
37.06	sitronellol	4.7	0.2		e
37.95	2-fenil etil format	0.3			
37.98	nerol	e			0.1
38.05	oktadekan	e		e	e
38.45	(E,E)-2,4-dekadienal		0.1		
38.57	2-fenil etil asetat	e			e
39.28	geraniol	1.4	0.2		e
40.11	benzil alkol	4.0			
40.25	(E)-geranil aseton	1.0			
40.89	nonadekan		11.0	2.4	3.9
41.44	nonadeken		0.3		0.2

Çizelge 4.3.(devam) Gül Absolütü GK Analiz Sonuçları

41.04	fenil etil alkol	48.7			
43.38	eikosan	1.0	4.4	3.9	1.7
43.63	metil öjenol	e	0.2		0.1
46.03	heneikosan	2.2	24.0	44.0	36.1
46.70	heneikosen	0.6	1.0		0.1
46.89	heneikosen izomer		9.6		
47.54	öjenol	0.5			
48.19	dokosan	e	1.5	3.3	3.5
49.97	sitronellik asit	1.2			
50.62	Trikosan	1.0	7.0	17.0	15.3
50.92	β -bisabolenal	1.6			
51.48	Trikosen	0.4	1.5		0.3
51.67	(2E,6E)-farnesol	0.3			
52.89	Tetrakosan			0.7	1.0
55.89	pentakosan		1.1	2.0	1.4
61.12	9-hekzakosen			1.1	
63.85	heptakosan		0.7	1.3	0.3
64.60	fenil etil benzoat	0.4			
65.83	9-heptakosen		0.5	1.1	1.4
68.60	fenil etil fenil asetat	1.3			
74.02	nonakosan		0.3	1.0	0.1
75.11	hekzadekanoik asid	4.0			
75.60	nonakosen	4.2	5.0	1.7	9.3

e: Eser

A: *Rosa damascena* var. *semperflorens* absolü 1. çalışması ve 1. işlemi

B: *Rosa damascena* var. *semperflorens* absolü 1. çalışması ve 2. işlemi

C: *Rosa damascena* var. *semperflorens* absolü 1. çalışması ve 3. işlemi

D: *Rosa damascena* var. *semperflorens* absolü 1. çalışması ve 4. işlemi

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Rosa damascena var. *semperflorens* çiçekleri Mayıs ayında Eskişehir'in Mahmudiye İlçesinden toplanmış ve taze halde kullanılmıştır. Su distilasyonu, mikrodalga ve tepeboşluğu-KFME ile uçucu yağ, fitosol yöntemi ile uçucu bileşikler elde edilmiştir. Ayrıca konkret ve absölü hazırlanmıştır. Uçucu bileşiklerin tanımlanması için GK/KS sistemi relatif yüzdelerinin belirlenmesi için GK kullanılmıştır.

Karşılaştırma amacıyla aynı dönemde Isparta'dan getirilen Isparta gülü çiçeklerinden elde edilen uçucu yağ kullanılmıştır. Midas gülü uçucu yağ verimi ile Isparta gülü uçucu yağ verimi Clevenger apereyinde yapılan su distilasyonunda % 0.05 olarak aynı bulunmuştur.

Gül yağının ana bileşikleri olan sitronellol, nerol ve geraniol miktarları bakımından iki varyetenin karşılaştırılması Çizelge 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5.1 Uçucu yağ GK analiz sonucu

Bileşikler	Türk Gül Yağı *	A	B	C	D	E
Sitronellol	32-42	37.7	16.6	30.4	12.3	16.1
Nerol	4-10	1.1	5.9	-	4.3	7.5
Geraniol	7-25	1.2	12.9	1.6	9.1	8.2
fenil etil alkol	1-2	1.2	0.9	-	2.3	48.8
sitronellol/Geraniol oranı	3.79	31.4	1.3	19.0	1.4	2.0

* Kürkçüoğlu, 1995; Başer ve ark., 2003

A: Isparta gülü Clevenger distilasyonda elde edilen uçucu yağın analizi

B: Midas gülü Clevenger distilasyonda elde edilen uçucu yağın analizi

C: Isparta gülü mikrodalga distilasyonda elde edilen uçucu yağın analizi

D: Midas gülü mikrodalga distilasyonda elde edilen uçucu yağın analizi

E: Midas gülü tepeboşluğu-KFME analizi

Bu çizelgeye göre Midas gülünün uçucu bileşiklerinin su distilasyonu, mikrodalga distilasyonu ve tepeboşluğu-KFME sonucu benzer oranlarla bulunduğu, ancak bu çalışmada işlenen Isparta gülü ile benzer olmadığı görülmektedir.

Bu çalışmada işlediğimiz Isparta gülünden elde edilen yağdaki nerol ve geraniol miktarları standart Türk gül yağındaki miktarlardan büyük sapma

göstermektedir. Sitronellol / geraniol oranı standart gül yağlardaki orandan çok büyük değerler ortaya koymaktadır. Bu oranın büyüklüğü çalışılan materyalin fermente olduğu sonucunu ortaya koymaktadır. Bu sebeple Midas gülü uçucu yağlarının kompozisyonlarının karşılaştırılmasının standart Türk gül yağı ile daha doğru olacaktır. (Başer ve ark., 1992; Başer ve ark., 2003).

Midas gülü'nün yağında sitronellol/geraniol oranı 1'e yakındır. Bu özelliğiyle hem Bulgar hem de Türk köy tipi gül yağlarına benzerlik göstermektedir. Gül alkollerinin oranları genelde Isparta gül yağındakinden düşüktür. Bu var. *semperflorens*'in bir özelliğidir. Isparta gül yağıyla aynı yağ verimini vermiş olması ilginçtir. Midas gülünün tarımının yapılmasıyla farklı bir gül yağının elde edilmesi mümkündür. Bu konuda yapılacak çalışmalarla Eskişehir şartlarına uygun yüksek verimli özel bir gül yağı elde edilebilir.

Tepeboşluğu-KFME çalışmasında ana bileşik olarak fenil etil alkol (%48.8) bulunmuştur. Sitronellol (%16.1), nerol (%7,5) ve geraniol (%8.2) miktarları yağdaki miktarlarına benzerlik göstermektedir. Bu duruma Isparta gülü yağıyla yapılan çalışmalarda da rastlandığından doğru bir sonuçtur.

Mikrodalga distilasyon çalışmalarında distilasyon işlemi klasik distilasyona nazaran daha kısa sürede sonuçlanmıştır. Bu teknikte uçucu yağ verimleri her iki varyete de %0.03 bulunmuştur. Bu önem verilmesi gereken bir husustur. Zira, gül yağının daha ekonomik şekilde elde edilmesi bu teknikle mümkün olabilir.

Absolü çalışmalarında elde edilen sonuçlar ana bileşenleri gül absolüsünün bileşenleriyle karşılaştırıldığında Midas gülü absolüsünde fenil etil alkol (%48.7) ün Isparta gülüne benzer şekilde ana bileşik olduğu, nerol ve geraniol oranlarının daha düşük, ancak heneikosan miktarının yüksek olduğu görülmüştür.

Fitosol ekstraksiyonu ile elde edilen ekstrede bileşiklerin (Çizelge 4.1.1) çoğunluğunu hidrokarbonların oluşturduğu görülmüştür. Daha önce Isparta gülü ile yapılan benzer bir çalışmada fitosol ekstresi fenil etil alkolce (%51-62) zengin bulunmasına rağmen bu çalışmada bu madde sadece %1 oranında bulunmuştur.

Bu çalışmanın 2004 yılı Mayıs ve Eylül mahsulü Midas Gülleriyle tekrarlanması uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

ACS Sympoium Series, Supercritical Fluids, 1997.

ANON., Gülcülük, Gülbirlik, Isparta (1987).

ANON., SPME Theory, Supelco Chromatography Products Catalogue, 324-323, Germany (1998a).

ANON., Solid Phase Microextraction: Solventless Sample Preparation of Monitoring Flavor Compounds by Capillary Gas Chromatography. Supelco Bulletin 869 A, Sigma-Aldrich Co.1-7 (1998b).

ARTHUR, C., POTTER, D., BUCHHOLZ, K.D., MOTLAG, S., PAWLASZYN, J., Solid Phase Microextraction for the direct analysis of Water: Theorand Practice LC-GC the Magazin of Separation Science, 10 (9) 656-661 (1992).

BAŞER, K.H.C., KÜRKÇÜOĞLU, M., KONUR, O.Z., Türk Gülyağının Üretimi ve Özellikleri, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni, Gül Özel Sayısı,(4), 13-15 (1990).

BAŞER, K.H.C., Turkish Rose Oil, Perfum. Flav., 17, 45-52 (1992).

BAŞER, K.H.C., KÜRKÇÜOĞLU, M., KONUR, Z., The Production and Properties of Turkish Rose Oil, International Conference on Essential Oils for Perfumery & Flavours, 26-30 May 1990, Antalya, Turkey, Eds. BAŞER, K.H.C., GÜLER, N., İstanbul, Turkey, 63-68 (1993).

BAŞER, K.H.C., Essential Oil Extraction from Natural Products; Non-Traditional Methods, Training Course on Process Simulation and Essential Oil Extraction from Aromatic Plants, Trieste-Italy (1999).

BAŞER, K.H.C., KÜRKÇÜOĞLU, M., ÖZEK, T., Turkish Rose Oil Research: Recent Results, Perfum. Flav., 28, 34-42 (2003).

BARAJ, D.M.,SUBHA, M.P., TRENKLE, R.W., WILSON, R.A., Anovel technology to study the Emission of Fragrance from the Skin. Perfumer & Flavorist, 23 (1) 18-25 (1998).

BAYRAK, A., ŞENCAN, D., Gülyağından, gülsuyuna geçen bazı monoterpen alkollerin gaz kromatografisiyle belirlenmesi. Standart, Aralık, 70-77 (1995).

BAYTOP, T., Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri, İstanbul Üniversitesi No. 1039, İstanbul (1963).

BAYTOP, T., Tıbbi bitkilerin yetiştirilmesi ile ilgili bazı teşvik uygulamaları, VI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı Bildiri Kitabı, ED. B. Şener, Ankara, s. 35-39 (1987).

BAYTOP, T., Osmanlı İmparatorluğu Döneminde Anadolu'da Yağ Gülü Yetiştirilmesi ve Gülyağı, TAB Bülteni 4, s. 8-10 (1990).

BAYTOP, T., Türkçe Bitki Adları Sözlüğü, Türk Dil Kurumu Yay. No. 578, Ankara (1994).

BAYTOP, T., Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, 2. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul (1999).

BAYTOP, T., Türkiye'de Eski Bahçe Gülleri, T.C Kültür Bakanlığı Yayınlar/2593, Ankara (2001).

BELMONT, A., Dictionnaire historique et artistique de la Rose 145, Melun (1896).

BICCHI, C., JOULAIN, D., Headspace-Gas chromatographic Analysis of Medicinal and Aromatic Plants and Flowers, Flav. And Fragr. J., 5, 131-145 (1990).

BOSABALIDIS, A., TSEKOS, I., Glandular Scale Development and Essential Oils Secretion in *origanum dictamnus* L., *Planta Med.* (156), 496-504 (1982).

BRUNKE, E.J., HAMMERSCHMIDT, F.J., SCHMAUS, G., Headspace Analysis of Flower Fragrances, *Dragoco Report*, (1), 3-31 (1992).

DEVON, T.K., SCOTT, A.I., *Handbook of Naturally Occuring Compounds: Terpenes-2*, Academic Press, New York (1972).

EL-GAMMAL, S.Y., Extraction of volatile oils throughout history, *Hamdard Medicus*, 34 (4), 57-58 (1991).

EVANS, W.C., *Trease and Evans Pharmacognosy*, 15 the Edition, W.B. Saunders, Edinburh, pp. 253-288 (2002).

GALLAWA, J.C., *Basic Principles of Microwave Energy* (2000). www.gallawa.com/microdech (20.10.2003).

GARNERO, J., GUICHARD, G., BUTIL, P., e'Huile essentielle et la Concrete de Rose de Turquie, Parfums, Cosmetiques, Aromes, (8), 33-46 (1976).

GUENTHER, E., The Essential Oils, R.E. Krieger Publ. Co., Florida, C.1, s. 5 (1975).

GÜRBÜZ, O., Gaz Kromatografisinde Katı Faz Mikroekstraksiyon Tekniği, Gıda, Kasım, 40-42 (1998).

HEATH, H.B., Source Book of Flavors, The Avi Publishing Company Inc., Connecticut, s. 84-95 (1981).

HILL, A.F., Economic Botany, McGraw-Hill Book Company, London (1952).

INDEX KEWENSIS, Kew Gardens, London (1994).

İŞCAN, N, Frigya, Ak Ofset, Eskişehir (2002).

KELEME, D., The Rose, The Queen of Fragrances, Contact, (58), 9-12 (1993).

KÜRKÇÜOĞLU, M., Türk Gülyağı, Konkreti ve Absolütün Üretimi ve Özellikleri, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir (1995)

KÜRKÇÜOĞLU, M., BAŞER, K.H.C., Studiesn Turkish Rose Concrete, Absolute and Hydrosol, Khim. Prir. Soedin, 5, 375-379 (2003).

LAWRENCE, B., Rose Oil and Extracts, Perf. and Flav., 16, 43-77 (1991).

LAWRENCE, B.M., The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products, In: A Manual on the Essential Oils and Industry, Ed. K. Tuley De Silva, United Nations Industrial Development Organization, Vienna, Austria, pp. 57-154 (1995).

LUQUE de CASTRO, M. D., JIMÈNÈZ-CARMONA, M.M., FERNÁNDEZ-PÉREZ, V., Towards more rational techniques for the isolation of valuable essential oils from plants, Trends in Analytical Chemistry, 18 (11), 708-716, (1999)

METH-COHN, O., Comprehensive Natural Products Chemistry, Elsevier, (1999).

NILSSON, Ö., Rosa L., In: Flora of Turkey and the East Aegean Islands, ed: P.H. Davis, Vol. 4, 106-128, Edinburgh University Pres, Edinburgh, (1972).

NÜCHTER, M., ONDRUSCHKA, B., LAUTENSCHLÄGER, W., WYBUWA, K., GÖRIG, A., Microwave and Essential Oils, 30th International Symposium on Essential Oils, Leipzig, Germany, September, 5-8 (1999).

OTTE, S., Essential Oils-Rediscovered Remedies, Dragoco Report, (3), 91-110 (1994).

OVERTON, K.H., Terpenoids and Steroids, J.W. Arrowsmith Ltd., Bristol, C. 1-7 (1977).

PAWLISZYN, J., Solid phase Microextraction-Theory and Practice, Willey-VHC, Newyork, USA (1997).

PHILLIPS, R., RIX, M., Roses. Pan Boks Ltd, London (1988).

RNADE, G.S., The Rose Fragrance, Indian Perfumer, 24, 49-56 (1980).

SAMUELSSON, G., Drugs of Natural Origin A Textbook of Pharmacognosy, Sweedish Pharmaceutical Press, (1992).

SCHULZ, H., Improving the quality of essential oil plants through cultivation. Dragoco Report, 6, 225-243 (1997).

SEIFERT, P., BERTRAM, D.C.C., Microwave extraction of botanicals “ a high tech gren approach”, Cosmetics, Aerosols and Toiletries in Australia, 8, 1999. www. ascc. com. au (20.10. 2003).

SHIREY, R.E., SIDISKY, L.M., Analysis of Flavors and Off-Flavors in Foods and Beverages Using SPM, Supelco, Supelco Park, Belle Fonte, PA, 16823, USA.

TANKER, M.N., Farmakognozi, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, NO: 65, Cilt 2, s. 269, 282-295, Ankara (1990).

TAYLER, V.E., BROADY, L.R., ROBBERS, J.E., Pharmacognosy 9nd ED., Lea and Febiger, Philedelphia, s. 103-110 (1998).

TAYLOR, L.T., Supercritical Flid Extraction, Wiley s. 7-21 (1996).

TESTU, C., Les Roses anciennes, Paris (1984).

TISSERAND, R., BALACS, T., Essential Oils Safety, A Guide for Health Care Professionals, Churchill Livingstone, s. 7-8, 20 (1995).

VERGHESE, on Essential Oils, S.T. Redd. & Sons, India, s. 19-25 (1986).

WELKHOFF, P., BRENNECKE, S., BRETSCHEIDER, W., Modern methods and extraction techniques isolating volatile flavor compounds. Contact, 2, 16-23 (1998).

WIJESEKERA, R.O.B., Practical Manual on the Essential Oils Industry, Agrotechnology, Processing, Quality Assessment, UNIDO, s. 100-121 (1993).

WILLIAMS, J.R., CLIFFORD, A.A., Supercritical Fluid Methods and Protocols methods in biotechnology, pp. 1-13 (2000).

WOLF, R., MCNAIR, J., All about roses, Ortho boks, San Romanca, (1983)

ZHANG, Z., YANG, M.J., PAWLISZYN, J., Solid phase Microextraction, Anal. Chem., 66 (17) 844-853 (1994).