



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

***Salvia staminea* BİTKİSİNİN UÇUCU  
BİLEŞENLERİNİN GC-MS, HEADSPACE  
YÖNTEMLERİ YOLUYLA ANALİZİ VE  
KARŞILAŞTIRMASI**

Nevin ULAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Doç. Dr. Ahmet YAŞAR

TRABZON - 2014

## ONAY

Bu tez Yüksek Lisans Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Doç. Dr. Ahmet YAŞAR

Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim dalı Yüksek Lisans öğrencisi Nevin ULAŞ'ın hazırladığı " *Salvia Staminea* Bitkisinin Uçucu Bileşenlerinin GC-MS, Headspace Yöntemleri Yoluyla Analizi ve Karşılaştırması" başlıklı tez KTÜ Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Doç. Dr. Ahmet YAŞAR .....

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ahmet YAŞAR .....

Yrd. Doç. Dr. Dilek KUL .....

Prof. Dr. Murat KÜÇÜK .....

Tarih: 09/06/2014

Bu tez KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .... / .... / ..... tarih ve .... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ahmet KALKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## BEYAN

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum "*Salvia Staminea* Bitkisinin Uçucu Bileşenlerinin GC-MS, Headspace Yöntemleri Yoluyla Analizi ve Karşılaştırması" başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Doç. Dr. Ahmet YAŞAR 'ın sorumluluğunda tamamladığımı, verileri kendim topladığımı, analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, antimikrobiyal aktiviteleri ilgili makamlara yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

08/05/2014

Nevin ULAŞ

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu çalışma Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Araştırma laboratuvarında yapılmıştır. Değerli katkılarından, anlayışından ve güler yüzünden dolayı başta hocam sayın Doç. Dr. Ahmet YAŞAR olmak üzere bilgilerinden faydalandığım hocalarım sayın Yrd. Doç. Dr. Dilek KUL'a, analizlerini yaptığım bitki örneklerinin teşhisini sağlayan ve tezime katkıda bulunan Doç. Dr. Kamil COŞKUNÇELEBİ'ye, biyolojik aktivite çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Şengül Alpay KARAOĞLU ve Yrd. Doç. Dr. Arzu ÖZEL'e, sonsuz minnet ve şükranlarımla teşekkür ederim.

Ayrıca, laboratuvar cihaz ve kimyasal malzemelerinde her türlü yardım ve desteğini bizden esirgemeyen Prof. Dr. Nurettin YAYLI' ya çok teşekkür ederim.

Sağlık Bilimleri Enstitüsüne ve manevi desteklerinden dolayı çok kıymetli arkadaşım Büşra KAYA'ya, tez yazım sırasında yardımlarını benden esirgemeyen Ecz. Nihan GÜRCAN'a ve Analitik Kimya Anabilim Dalında burada adı geçmeyen tüm arkadaşlarıma ve desteklerini üzerimden hiç esiremeyen canım aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma, K.T.Ü. B.A.P. biriminin desteklediği 1238 kodlu projenin desteğiyle tamamlanmıştır. Araştırma fonu yönetimine ve tüm personeline hizmetlerinden dolayı teşekkür ederim.

Nevin ULAŞ

**İÇİNDEKİLER****Sayfa No**

İç Kapak Sayfası

**ONAY****BEYAN****TEŞEKKÜR****İÇİNDEKİLER**

vi

**ŞEKİLLER DİZİNİ**

ix

**TABLolar DİZİNİ**

x

**SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ**

xi

**1. ÖZET**

1

**2. SUMMARY**

2

**3. GİRİŞ VE AMAÇ**

3

**4. GENEL BİLGİLER**

5

4.1. Uçucu Yağlar

5

4.2. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

5

4.2.1. Buhar Destilasyonu

6

4.2.2. Soğuk Presleme

6

4.2.3. Enflarüj

7

4.2.4. Çözücü Ekstraksiyon

7

4.2.5. Süper Kritik Sıvı Ekstraksiyonu

8

4.2.6. Katı Faz Mikro Ekstraksiyon

8

4.2.7. Mikro Dalga Ekstraksiyon

9

4.2.8. Headspace

9

4.3. Uçucu Yağların Etkileri

10

4.4. Terpenler

11

4.5. Terpenlerin Sınıflandırılması

12

4.5.1. Monoterpenler

12

4.5.2. Seskiterpenler

13

|          |                                                |    |
|----------|------------------------------------------------|----|
| 4.5.3.   | Diterpenler                                    | 13 |
| 4.5.4.   | Sesterpenler                                   | 14 |
| 4.5.5.   | Triterpenler                                   | 14 |
| 4.5.6.   | Tetraterpenler                                 | 14 |
| 4.5.7    | Politerpenler                                  | 15 |
| 4.6      | Spektroskopik Yöntemler                        | 15 |
| 4.6.1    | Kromatografik Yöntemler                        | 17 |
| 4.6.2    | Gaz Kromatografisi                             | 18 |
| 4.6.2.1. | Taşıyıcı Gaz                                   | 18 |
| 4.6.2.2. | Enjeksiyon Bölmesi                             | 18 |
| 4.6.2.3. | Kolon                                          | 19 |
| 4.6.2.4. | Dedektör                                       | 19 |
| 4.7.     | Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri    | 20 |
| 4.7.1    | Antimikrobiyal Maddelerin Sınıflandırılması    | 20 |
| 4.8.     | Antioksidan Aktivite                           | 21 |
| 4.9.     | Antioksidan Tayin Yöntemleri                   | 22 |
| 4.9.1.   | DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi             | 22 |
| 4.9.2.   | SOD Yöntemi                                    | 22 |
| 4.9.3.   | Demir indirgeme Antioksidan Gücü Tayini (FRAP) | 22 |
| 4.10.    | <i>Labiatae (Lamiaceae)</i> Familyası          | 23 |
| 4.10.1.  | <i>Salvia</i> Cinsi                            | 23 |
| 5.       | <b>GEREÇ ve YÖNTEM</b>                         | 24 |
| 5.1.     | Enstrümantasyon                                | 24 |
| 5.2.     | Deneysel Koşullar                              | 24 |
| 5.3      | Çalışmada Kullanılan Bitki                     | 26 |
| 5.4.     | Uçucu Yağların İzolasyonu                      | 26 |
| 5.5.     | Bileşenlerin Aydınlatılması                    | 27 |
| 5.6.     | Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları            | 27 |
| 5.6.1.   | Agar Jel Difüzyon Metodu                       | 27 |
| 5.7.     | Antioksidan Aktivite Çalışmaları               | 28 |

|        |                                    |    |
|--------|------------------------------------|----|
| 5.7.1. | SOD Yöntemi                        | 28 |
| 5.7.2. | DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi | 28 |
| 5.8.   | Kullanılan Alet ve Cihazlar        | 29 |
| 6.     | <b>BULGULAR</b>                    | 30 |
| 6.1    | Clevenger Yöntemi                  | 30 |
| 6.2.   | SPME Yöntemi                       | 30 |
| 6.3.   | Headspace Yöntemi                  | 30 |
| 6.4.   | Antimikrobiyal Aktivite Bulguları  | 36 |
| 6.5.   | Antioksidan Aktivite Bulguları     | 37 |
| 6.5.2. | DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi | 37 |
| 6.5.1. | SOD Yöntemi                        | 37 |
| 7.     | <b>TARTIŞMA ve SONUÇ</b>           | 39 |
| 8.     | <b>SONUÇLAR</b>                    | 41 |
| 9.     | <b>EKLER</b>                       | 42 |
| 10.    | <b>KAYNAKLAR</b>                   | 45 |
| 11.    | <b>ÖZGEÇMİŞ</b>                    | 49 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

| <b><u>Şekil</u></b>                                                                            | <b>Sayfa</b> |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Şekil 1.</b> Cis- fitol'un molekül şekli                                                    | 13           |
| <b>Şekil 2.</b> Haslen'in molekül Şekli                                                        | 14           |
| <b>Şekil 3.</b> Skalen'in molekül şekli                                                        | 14           |
| <b>Şekil 4.</b> Doğal kauçuk                                                                   | 15           |
| <b>Şekil 5.</b> Antioksidan çeşitleri                                                          | 21           |
| <b>Şekil 6.</b> Bitkide bulunan monoterpen sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları     | 34           |
| <b>Şekil 7.</b> Bitkide bulunan monoterpenoid sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları  | 34           |
| <b>Şekil 8.</b> Bitkide bulunan seskiterpen sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları    | 34           |
| <b>Şekil 9.</b> Bitkide bulunan seskiterpenoid sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları | 35           |
| <b>Şekil 10.</b> Bitkide bulunan diterpenoid sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları   | 35           |
| <b>Şekil 11.</b> Bitkide bulunan diterpen sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları      | 35           |
| <b>Şekil 12.</b> <i>Salvia staminea</i> bitkisinin SOD yöntemi kalibrasyon grafiği             | 37           |
| <b>Şekil 13.</b> <i>Salvia staminea</i> bitkisinin DPPH yöntemi kalibrasyon grafiği            | 38           |



## TABLOLAR DİZİNİ

| <b><u>Tablo</u></b>                                                                 | <b>Sayfa</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>Tablo 1.</b> Terpenlerin Sınıflandırılması                                       | 12           |
| <b>Tablo 2.</b> Clevenger için GC deneysel koşulları                                | 24           |
| <b>Tablo 3.</b> SPME deneysel koşulları                                             | 25           |
| <b>Tablo 4.</b> Headspace- GC- MS deneysel koşulları                                | 25           |
| <b>Tablo 5.</b> Çalışmada kullanılan cihazlar ve satın alındıkları firmalar         | 29           |
| <b>Tablo 6.</b> <i>Salvia staminea</i> bitkisinin kimyasal sınıf dağılımı           | 30           |
| <b>Tablo 7.</b> <i>Salvia staminea</i> kimyasal sınıf dağılımındaki ana bileşenler  | 31           |
| <b>Tablo 8.</b> <i>Salvia stamenia</i> bitkisinin belirlenen tüm uçucu bileşenleri  | 33           |
| <b>Tablo 9.</b> <i>Salvia stamenia</i> bitkisinin antimikrobiyal aktivite sonuçları | 36           |

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

### Kısaltmalar

|                  |                                         |
|------------------|-----------------------------------------|
| BHI              | Brain Heart Infusion Agar               |
| Cl <sub>2</sub>  | Klor Gazı                               |
| EYD              | Elektron Yakalama Dedektörü             |
| F <sub>2</sub>   | Flor Gazı                               |
| FID              | Alev İyonizasyon Dedektörü              |
| FSOT             | Erimiş Silisten Kapiler Kolon           |
| GC               | Gaz Kromatografisi                      |
| GC-MS            | Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi |
| H <sub>2</sub>   | Hidrojen Gazı                           |
| HS               | Headspace                               |
| He               | Helyum                                  |
| IR               | İnfrared (kızıl ötesi) Spektroskopisi   |
| MIC              | Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu       |
| MS               | Kütle Spektroskopisi                    |
| MDE              | Mikro Dalga Ekstraksiyon                |
| N <sub>2</sub>   | Azot                                    |
| RI               | Alıkonma İndeksi                        |
| SCOT             | Destek Kaplı Kapiler Kolon              |
| SDA              | Sabouraud Dekstroz Agar                 |
| SFE              | Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyon       |
| SPME             | Katı Faz Mikro Ekstraksiyon             |
| İTK              | İnce Tabaka Kromatografisi              |
| UV-VIS           | Mor Ötesi-Görünür Bölge                 |
| FSOT             | Duvar Kaplı Kapiler Kolon               |
| PDMS             | Polidimetiksiloksan                     |
| DVB              | Divinilbenzen                           |
| CW               | Karbovaks                               |
| PA               | Poliakrilat                             |
| IC <sub>50</sub> | Yarı Maksimum İnhibisyon Konsantrasyonu |

**Singeler**

|    |               |
|----|---------------|
| nm | Nanometre     |
| µg | Mikrogram     |
| µL | Mikrolitre    |
| M  | Molar         |
| eV | Elektron volt |

## ÖZET

Bu çalışmada, Türkiye’de doğal olarak yetişen, açık havada kurutulmuş Lamiaceae ailesine mensup *Salvia staminea* türü, meyve, yaprak ve gövde kısımları ayrılmadan çalışıldı. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşenleri GC-MS yöntemi ile analiz edildi. Analiz clevenger, katı faz mikro ekstraksiyon ve headspace olmak üzere 3 farklı yöntem kullanılarak yapıldı. Toplamda 38 uçucu yağ belirlendi ve bu uçucu yağların 30 tanesinin terpen sınıfından olduğu saptandı. Bu bitkinin ana bileşenlerini monoterpenoid grubunun oluşturduğu gözlemlendi. Uygulanan üç yöntemde de monoterpenoid sınıfından olan Linalil Asetat bileşiği maksimum miktarda bulunan terpen olarak gözlemlendi. Antimikrobiyal çalışmalar 6 bakteri ve 1 mantar üzerinde yapıldı. Uçucu yağın daha çok gram pozitif bakteriler üzerinde ve mantar üzerinde aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Yapılan antioksidan çalışmalarında bitki uçucu yağ ekstraktının sahip olduğu IC<sub>50</sub> değeri baz alınarak antioksidan aktivitesinin çok etkin olmadığı gözlemlendi.

**Anahtar Kelimeler:** *Salvia staminea*, GC-MS, Antioksidan aktivite, Antimikrobiyal aktivite, Uçucu yağlar

## SUMMARY

In this study, air- dried *Salvia staminea* genus which is naturally grown in Turkey was studied without separating its fruit, leaf and body parts. Chemical components of the essential oils which is obtained from the plant were analyzed by using GC-MS method. The analysis was made using three different methods which were liquid injection, solid phase micro extraction and headspace. In total 38 essential oils determined and 30 of them were found to be the class oh the terpenes. It was observed that main components of this plant were composed from monoterpenoid class. In these three methods, Linalyl Acetate compound which belong to monoterpenoid class had the maximum amount of these terpenes. Antimicrobial studies were performed on six bacteria and one yeast. It was observed that essential oil has more activity on gram-positive bacterias and fungi. It was observed that in the study of antioxidant activity, when it compared to IC<sub>50</sub> value of essential oil extract of the plant, was not very effective.

**Key Words:** *Salvia staminea*, GC-MS, Antioxidant activity, Antimicrobial activity, Essential Oils

### 3. GİRİŞ ve AMAÇ

Son 25 yıldır bitkilerin, ilaç ve ilgili diğer sanayilerde kullanımında büyük artış gözlenmektedir. Yirminci yüzyılın başlarında teknolojik gelişmelerin getirdiği yenilikler, sosyal ve politik değişimler bitkilerin ilaç olarak kullanımının hızla azalmasına neden olmuştur. Aynı zamanda ilaç sanayinde kitle üretimi sentetik ilaçların üretilmesi de bunda etkili olmuştur(1). Gelişmiş ülkeler özellikle tedavide bitkisel kaynaklara yönelmiş durumdadırlar. Tedavide kullanılan ilaçların önemli bir kısmını doğal kaynaklı ilaçlar oluşturmaktadır. Doğal kaynaklı ilaçların kullanım oranı gelişmiş ülkelerde %60, gelişmekte olan ülkelerde ise %4 civarındadır.

*Allium, Origanum, Mentha, Salvia* ve *Thymus* türlerinde olduğu gibi bu bitki cinslerinin bazı türleri besin maddesi olarak kullanılmalarının yanı sıra, koku verici ve tat verici olarak da kullanılmaktadır. Bitkilerin tedavi amacıyla kullanılması ilk uygarlıklara kadar dayanmaktadır(2). Doğal kaynaklı birçok bitki soğuk algınlığından kansere birçok hastalığın tedavisinde, halk arasında geleneksel ilaç olarak kullanılmaktadır.

Doğal yoldan faydalanılan bitkilerin daha sonra sentetik türevleri sentezlenerek insanların hizmetine sunulmuş fakat hem pahalı, hem yan ürünlerin varlığı hem de bitkisel kaynaklı ilaçlara göre tek etkiye sahip olmalarından ötürü, son yıllarda bitkisel kaynaklı ilaçlara geri dönüş olmuştur.

Günümüzde eczanelerde satılan ilaçların birçoğu bitkisel kaynaklı ya da bitkisel kaynaklı bileşenlerin sentezlenmiş türevleridir.

Türkiye florasında 87 *Salvia* türünden 44 tanesi Anadolu'ya endemik yayılış göstermektedir. Bu tür bitkiler, başta uçucu yağ olmak üzere taşıdıkları terpenoidler ve fenolik bileşiklerden dolayı tıp, kozmetik ve gıda sektöründe kullanılmaktadır.

Bu çalışmada antienflamatuar özellikleri olduğu bilinen (3) *Salvia staminea* adlı bitki türü Clevenger aparatı kullanılarak ekstraksiyon işlemine tabi tutulmuş, elde edilen yağlar GC-MS, GC-FID ve Headspace metodlarıyla çalışılıp uçucu bileşenleri belirlenmiş, kütüphane taraması Wiley GC-MS Kütüphanesi ve NIST05 kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri ve antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir.

Bu çalışma *Salvia staminea* bitkilerinin uçucu yağlarının Clevenger ekstraksiyonla elde edilen özütünün Süperoksit dismutaz inhibisyonu aktivitesi ve DPPH serbest radikal giderim aktivitesi, standart antioksidant olan askorbik asit ile karşılaştırılarak belirlendi. Tüm uçucu yağlarda konsantrasyon artışına bağlı olarak serbest radikal giderim aktivitesinin ve toplam antioksidant aktivitesinin de arttığı görüldür. DPPH serbest radikal giderim aktivitesi analizinde inhibisyon değeri 60.4µM olarak bulunmuştur. Antimikrobiyal çalışmalar sonucu elde edilen uçucu yağların kullanılan mantar türüne ve daha çok gram pozitif bakterilere karşı etkin olduğu belirlendi.

## **4. GENEL BİLGİLER**

### **4.1. Uçucu Yağlar**

Uçucu yağlar kendine has kokusu rengi tadı olan, uçucu özelliğe sahip ve oda sıcaklığında sıvı ya da donmuş halde bulunabilen yağimsı maddelerdir. Bu yağlar diğer yağlardan farklı olarak su buharı ile sürüklenebilirler ve süzgeç kâğıdı üzerinde leke bırakmazlar. Daha çok petrol eteri, benzen, eter, gibi organik çözücüde çözünürler. Belli derecedeki etil alkoldeki çözünürlükleri de saflık kontrolünde kullanılmaktadır. Kırılma indisi yüksek olan genellikle optikçe aktif maddelerdir. Aynı şekilde polarize ışığı çevirme açısındaki farklılık da saflık kontrolü için kullanılmaktadır.

Uçucu yağlar daha çok sıcak iklim bölgelerinde bulunan bitkilerde çeşitlilik göstermektedir. Ülkemiz bulunduğu coğrafi konumu sebebiyle Akdeniz ikliminin özelliklerini ülke genelinde göstermektedir. Türkiye özellikle uçucu yağ içeren bitkiler bakımından çok zengin bir floraya sahip olmasına rağmen 5-10 yıl öncesine kadar gül dışında hiç bir bitkinin büyük bir üretim alanı bulunmamaktaydı, ancak son yıllarda gülyağı dışındaki uçucu yağ tesislerinin sayısında da artış olmuştur. Özellikle Antalya, Manisa, Mersin, Muğla ve Hatay illerinde kurulu tesislerde kekik, defne, kır nanesi, biberiye, kimyon, mersin, limon yaprağı, anason, melisa ve sigala ağacı gibi aromatik bitkilerden uçucu yağ üretilmektedir. Aynı şekilde lavanta bitkisi de Isparta bölgesinde üretilmekte ve diğer bitkilere göre daha yüksek oranda yağ içermektedir. Eskiden sadece uçucu yağ üreticisi durumunda olan ülkemiz son yıllarda çeşitlilik yönünden zenginleşmiş ve dünya ticaretinde kendine ait yerini hazırlamaya başlamıştır(4).

### **4.2. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri**

Bitkilerden uçucu yağ elde etmek amaçlı kullanılan yöntemler;

- Buhar Destilasyonu
- Soğuk Presleme
- Enflarüj
- Çözücü Ekstraksiyonu
- Süper Kritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE)



- Katı faz mikro ekstraksiyon (SPME)
- Mikrodalga ekstraksiyon (MDE)

en yaygın kullanılanlardır.

#### 4.2.1. Buhar Destilasyonu

Uçucu yağ eldesinde kullanılan en yaygın yöntem buhar destilasyonu yöntemidir. Kurutulmuş bitkiler ekstraksiyon işleminin yapılacağı balona konulduktan sonra üzerine çözücü olarak su ilave edilir. Su buharı ile yürüyen uçucu yağlar geri soğutucu yardımıyla uygun bölmede toplanır. Yeteri kadar madde alındıktan sonra ekstraksiyon işlemi bitirilir. Dekantasyon işlemi ile uçucu yağ düzenekten alınır. Düzenek Resim 1'de gösterilmiştir



**Resim 1.** Clevenger ekstraksiyon düzeneği

#### 4.2.2. Soğuk Presleme

Bu işlem daha çok destilasyon sırasında yapısı bozulan greyluft portakal gibi turunçgillerin uçucu yağlarını elde etmek amacıyla kullanılır, meyveler sert bir yüzeyde yuvarlanarak press işlemine tabii tutulur. Bu sırada uçucu yağların bulunduğu keseciklerin patlaması sonucu ortaya çıkan uçucu yağ meyve suyunun üzerinde toplanır ve santrifüj işlemiyle karışımdan ayrılır (5, 6).

#### 4.2.3. Enflarüj

Uçucu yağ bileşimi düşük olan bazı bitkilerin uçucu yağlarını elde etmek amacıyla kullanılır. Bitkisel ya da hayvansal kaynaklı yağ, uçucu yağ bileşenlerini absorblayıcı olarak kullanılır ve daha sonra alkol ile yıkanarak uçucu bileşenlerin alkolde çözünmesi sağlanır. Alkol uçurularak uçucu yağ elde edilir.

#### 4.2.4. Çözücü Ekstraksiyon

Çok ucuz bir yöntem olmasının yanı sıra aromatik tüm bileşenlerin çözücü içerisine geçmesini sağlayan, yüksek verimli bir yöntemdir. Çözücü olarak genellikle hegzan gibi organik çözücüler tercih edilmektedir. Resim 2'de reaksiyon düzeneği gösterilmiştir.



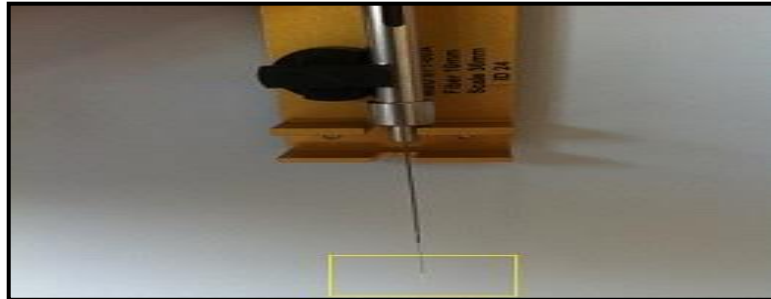
**Resim 2.** Çözücü ekstraksiyonu reaksiyon düzeneği

#### 4.2.5. Süper Kritik Sıvı Ekstraksiyonu (SFE)

Buhar destilasyonu ile elde edilemeyen birçok uçucu yağ bu yöntem ile elde edilmektedir. Bu yöntemde ekstraksiyon yapılmak istenen materyal karbon dioksit gazına yüksek basınçta maruz bırakılır. Yüksek basınç altında karbon dioksit gazı sıvılaşır uçucu yağları bünyesinde bulunduran karbondioksit gazı sonra basınç düşürülmesiyle ortamdan buharlaştırılarak uzaklaştırılır ve geri dönüşümlü bir şekilde ekstraksiyon işlemi tamamlanmış olur. Bu şekilde daha düşük sıcaklıklarda karbondioksit gazının sıvılaşması sağlanarak ekstraksiyon işlemi gerçekleştirilir ve daha keskin kokulu ve yüksek verimli uçucu yağ elde edilmiş olur (7).

#### 4.2.6. Katı Faz Mikro Ekstraksiyon (SPME)

Katı faz mikro ekstraksiyon (SPME) çok basit ve çözücü gerektirmeyen bir yöntemdir. Yöntemin temeli polimerik sabit faz ile kaplanmış fuse silika fiber üzerine uçucu yağların absorpsiyonu ve daha sonra bu fiber yapı üzerinde absorblanmış maddelerin enjeksiyon portunda ısıtılmasıyla desorpsiyonuna dayanmaktadır. Katı faz mikro ekstraksiyonunda kullanılan fiber uç analiz için çok önemlidir. Fiber tiplerinden polidimetiksiloksan (PDMS) kaplı fiber apolar özellikteki hidrokarbonlar için, polidimetiksiloksan/divinilbenzen (PDMS/DVB) polar uçucular için kullanılmaktadır. Karboksen/polidimetiloksan (Karboksen/PDMS) fiber gazlar ve düşük molekül ağırlıklı bileşikler için, karbovaks/divinilbenzen/polidimetiksiloksan (CW/DVB/PDMS) asitler için, poliakrilat (PA) ve karbovaks kaplı fiber fenoller ve karboksilik asitler gibi polar uçucular için kullanılmaktadır. Absorbsiyon için kullanılan fiber uç örneği Resim 3'de gösterilmektedir.



**Resim 3.** Katı faz mikro ekstraksiyon fiber ucu

#### 4.2.7. Mikro Dalga Ekstraksiyon (MDE)

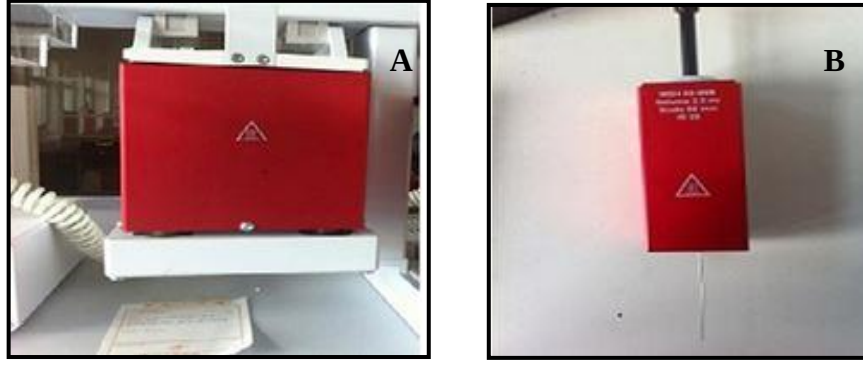
Sıcaklık ve basıncı kontrol edilebilen kapalı sistem ekstraksiyonudur. Bu yöntemin avantajı az çözücü kullanılarak kısa bir sürede ekstraksiyon işleminin tamamlanmasıdır. Diğer bir avantajı ise tüm materyalin aynı anda ısıtılmasıdır. Mikro dalga enerjisinin etkinliği büyük oranda çözücü içeriğine, bitki materyaline ve uygulanan mikro dalga gücüne bağlıdır. Polar çözücülerin ve iyonik maddelerin kullanılması durumunda daha hızlı bir enerji yayılımı söz konusu olduğundan daha etkin sonuç alınmaktadır. Mikro dalga ekstraksiyon yöntemi için kullanılan laboratuvar tipi fırın Resim 4' de gösterilmektedir.



**Resim 4.** Laboratuvar tipi mikro dalga fırın

#### 4.2.8. Headspace

Küçük hacimlerdeki örneklerin, çözücü kullanılmadan, uçucu moleküllerinin analizini sağlayan çok hassas bir yöntemdir. Bu yöntemde vialin yarısına kadar bitki koyulur ve ısıtma bölgesinde ısıtıldıktan sonra buharlaşan uçucu molekülleri analiz edilir (8). Headspace analiz için kullanılan uç ve ısıtma paneli Resim 5'de gösterilmektedir.



**Resim 5.** (A) Headspace ısıtma paneli, (B) Headspace ekstraksiyon ucu

### 4.3. Uçucu Yağların Etkileri

Uçucu yağ oranı %10 ile %0.01 arasında değişen bitkiler, günümüzde kozmetik, ilaç ve yiyecek tatlandırıcısı olarak kullanılmaktadırlar. Uçucu yağlar son derece konsantre olup ortalama 1 kg uçucu yağ elde etmek için bin ile ikibin kg arasında bitki kullanılmaktadır. Bazı uzmanlar uçucu yağların, bitkinin enfeksiyonlarla savaşmak ve mikrop ve parazitleri kovmak için kullanılan bileşikleri içerdiğini ileri sürmektedir. Araştırmacılar uçucu yağlardan yüzlerce kimyasal izole etmişler ve birçok uçucu yağın antibakteriyel, antienflamatuvar, antifungal ve antiparazit özellik taşıdığını göstermişlerdir (3).

Uçucu yağlar çok karmaşık bir içeriğe sahiptirler. Genel olarak içerikleri alkoller, esterler, terpenler, aldehytler ve kumarinlerden oluşur. Bu maddeler uçucu yağlara antiseptik, antispazmatik, analjezik, antivirütik, bakterisidik, antitoksik, tonik, diüretik, sedatif ve antidepresan gibi çeşitli etkiler kazandırır. Uçucu yağlar kolaylıkla havaya karışarak burundaki alfaktör sinir uçları aracılığıyla beyni etkileme kapasitesine sahiptirler. Bu yolla merkezi sinir sistemi ve limbik sistem üzerinde etki gösterirler. Uçucu yağların bazı duygularımızı düzenlemesindeki ve psikolojik birtakım sorunlarımızı çözebilmesindeki sır burada yatmaktadır. Bu nedenle uçucu yağlar, parfüm, oda spreyi, inhalasyon ve aroma lambaları ile uygulanarak yoğun stres, huzursuzluk, endişe ve uyku problemleri gibi pek çok sorunun çözülmesine yardımcı olmak için de kullanılır (9).

Bitkilerden elde edilen bu maddeler oldukça fazla sayıda olmakla birlikte kanser tedavisinde kullanılan bazı antineoplastik ilaçlar da dahil, çok önemli ilaçlar elde

edilmektedir. Ülkemizin bu açıdan bir avantajı, çok zengin bir floraya sahip olması ve ilaç elde edilebilecek bitkilerin yetişmesidir (10).

Bitkinin yetiştiği yer, mevsim koşulları, bitki yapraklarının veya diğer kısımlarının toplandığı mevsim gibi çok çeşitli faktör, bitkinin içindeki uçucu maddenin miktarını, çeşitliliğini ve dolayısıyla etkinliğini değiştirebilmektedir. Bu gerekçeyle, bu tür bitkilerden sağlanacak ilaçlar, kozmetik ürünler, gıda tatlandırıcılarının standardize edilmiş koşullardan elde edilmesi son derece önemlidir (11).

Ülkemizde 50'nin üzerinde uçucu yağ üretilmekte ya da ithal edilmektedir. Bunların önemli bir bölümü çeşitli rahatsızlıklar için ve alternatif tıbbi tedavilerde ilaç kategorisine girmeden kullanılmakta, bir kısmı da cilt ve saçlarda, kozmetik ürünlerinde birlikte veya yalnız kullanılmaktadır. Türkiye'de uçucu yağ üretiminin büyük bir payını gülyağı oluşturmaktadır. Türkiye'de son yıllarda gülyağının dışında; kekik, defne, kır nanesi, biberiye, kimyon, mersin ve limon yaprağı gibi aromatik bitkilerden uçucu yağlar üretilmektedir. Eskiden gülyağı dışında, sadece aroma bitki üreticisi olan ülkemiz, son yıllarda uçucu yağ üreticisi olma yolunda önemli adımlar atmaktadır (4).

#### 4.4. Terpenler

Terpenler, bitkilerden elde edilen uçucu yağlarda en fazla bulunan doğal bileşiklerdir. Terpenler, reçine ve reçineden üretilen turpentinin ana bileşikleridir. Terpen ismi turpentin kelimesinden türemiştir. Terpenlerin çoğu hidrokarbonlardır. Ancak, alkoller, ketonlar ve aldehitler gibi oksijen içeren bileşikleri de olabilir. Terpenlerin karbon ve hidrojen haricinde hetero atom içeren bileşiklerine terpenoid denir. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler koku, tat ve terapik özellikteki maddelerdir (12).

Terpenler molekül formülü  $C_5H_8$  olan 2-metil-1,3-butadien (izopren) birimlerinin birleşmesiyle oluşurlar. Bu kurala  $C_5$  kuralı ya da izopren kuralı denir. Bu birleşme baş-kuyruk şeklinde olabileceği gibi kuyruk-kuyruk şeklinde de olabilir.

Terpenlerin 10 ya da 15 karbonlu olanları bitkilerden su buharı destilasyonu ile daha fazla karbonlu olanlar ise ekstraksiyon yöntemleri ile ayrılırlar.

#### 4.5. Terpenlerin Sınıflandırılması

Ruzicka tarafından ortaya atılmış olan “İzopren Kuralına” göre bütün terpenlerin karbon iskeletleri izopren birimlerinin iki ya da daha fazlasının birleşmesiyle oluşmuştur (13).

**Tablo 1.** Terpenlerin sınıflandırılması

| İzopren Sayısı | Karbon Sayısı | Sınıfı         | Kapalı Formülü                                |
|----------------|---------------|----------------|-----------------------------------------------|
| 1              | 5C            | Hemiterpenler  | C <sub>5</sub> H <sub>8</sub>                 |
| 2              | 10C           | Monoterpenler  | C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>               |
| 3              | 15C           | Seskiterpenler | C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>               |
| 4              | 20C           | Diterpenler    | C <sub>20</sub> H <sub>32</sub>               |
| 5              | 25C           | Sesterpenler   | C <sub>25</sub> H <sub>40</sub>               |
| 6              | 30C           | Triterpenler   | C <sub>30</sub> H <sub>48</sub>               |
| 8              | 40C           | Tetraterpenler | C <sub>40</sub> H <sub>64</sub>               |
| n              | 5nC           | Politerpenler  | (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>5</sub> |

##### 4.5.1. Monoterpenler

Monoterpenler 10 karbonlu olup bitkiler âleminde yaygın olarak bulunan uçucu, bileşiklerdir. İki izopren biriminden meydana gelirler. *Trans*-geranil pirofosfat, *cis*-geranil pirofosfata dönüşerek siklik monoterpenlerin biyosentezinde ana bileşen rolünü oynar. Parfüm ve gıda maddelerinde koku verici olarak kullanılırlar, bazıları antifungal, antibakteriyal ve antikanser etkiye sahiptirler. Monoterpenler taşıdıkları ana iskelete göre sınıflandırılırlar (14).

Monoterpenler yapılarına göre üç grupta incelenirler;

- Asiklik monoterpenler: Düz zincirli dirler, çifte bağ taşıyabilirler. Optikçe aktiflikleri yapılarında taşıdıkları asimetric karbon atomundan ileri gelmektedir. Osimen, Sitral, Sitronellal ve Geraniol örnek olarak gösterilebilir.
- Monosiklik monoterpenler: Bir halka ve çifte bağ taşırlar. Terpinen, Terpinen-4-ol, Menton ve Kuminal örnek olarak gösterilebilir.

- Bisiklik monotерpenler: İki halka ve çiftе bağ taşırlar.  $\beta$ -pinen, verbenol, mirtenol ve kamfor örnek olarak verilebilir.

Trisiklik monotерpenler: Üç halka taşırlar, palasonin ve kantaridin örnek olarak verilebilir.

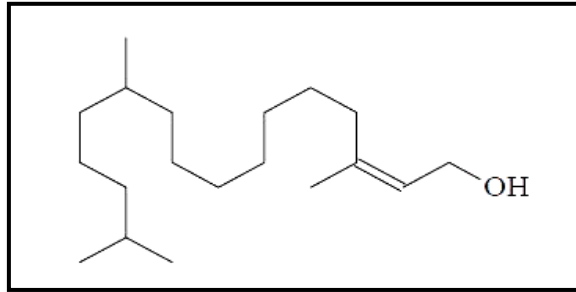
#### 4.5.2. Seskiterpenler

Seskiterpenler, birçok farklı organizmada rastlanan büyük bir madde grubudur. Bu bileşiklerin çoğunun yapısı, kromatografik ve spektroskopik metotlar kullanılarak son 25 yılda aydınlatılmıştır. Seskiterpenler farnesil pirofosfat'ın *trans* ve *cis* izomerlerinden oluşmaktadır. Seskiterpenler iskelet yapılarına göre 6 sınıfa ayrılırlar.

- Asiklik seskiterpenler: Düz zincirli dirler, çiftе bağ taşırlar ve asimetrik karbon atomları bulundurmaları nedeniyle optikçe aktif tirler.
- Monosiklik seskiterpenler: Bir halka ve çiftе bağ taşırlar.
- Bisiklik seskiterpenler: İki halka ve çiftе bağ taşırlar.
- Trisiklik seskiterpenler: Üç halka taşırlar.
- Tetrasiklik seskiterpenler: Dört halka taşırlar.
- Azotlu heterosiklik seskiterpenler: Birçok halkalı yapı ve azot atomu barındıran terpenlerdir.

#### 4.5.3. Diterpenler

Diterpenler dört izopren biriminin birleşmesiyle oluşan moleküllerdir, oksijen içeren bileşiklerine diterpenoidler denir. Diterpenler fitol, retinal, retinol gibi biyolojik olarak önemli bileşikler için temel oluştururlar (9).

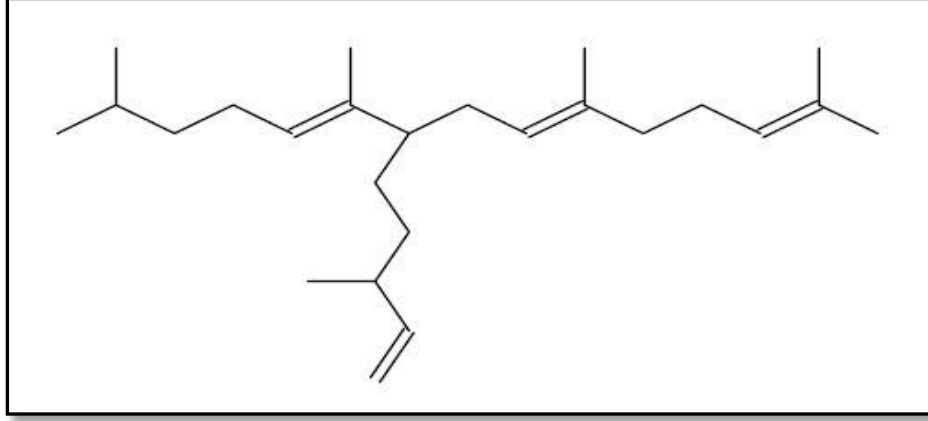


Şekil 1. Cis- fitol'un molekül şekli



#### 4.5.4. Sesterpenler

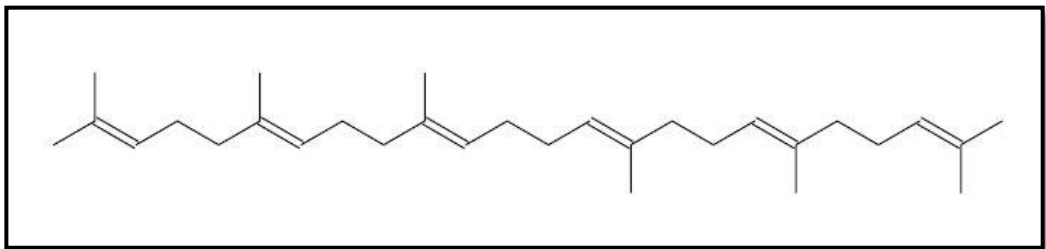
Sesterpenler genellikle böcek koruyucu vakslardan ve mantar kaynaklarından izole edilirler. Çeşitli doymamış ve dallanmış sesterpenler haslen olarak bilinirler.



Şekil 2. Haslen'in molekül şekli

#### 4.5.5. Triterpenler

Altı izopren birimi içeren bileşiklere triterpen denir. Doğal bileşiklerin geniş bir grubunu oluşturan ve oksijen içeren bileşikler olan triterpenoidler, steroid ve steroller içerirler. Skualen bütün triterpenoidlerin önemli bir biyolojik parçasıdır.(34)



Şekil 3. Skalen'in molekül şekli

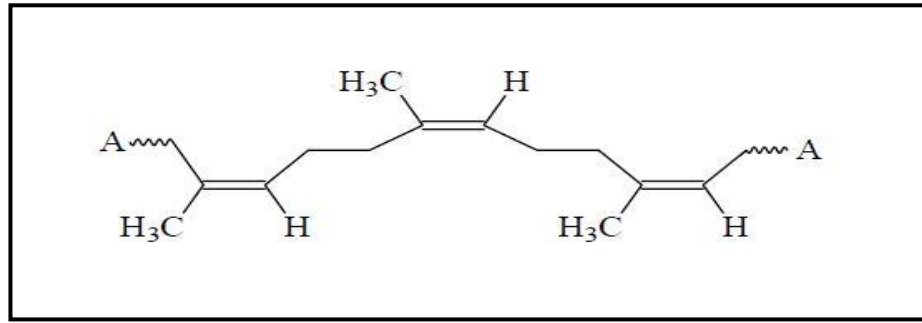
#### 4.5.6. Tetraterpen

Sekiz izopren birimi içeren tetraterpenler karotenoidler olarak da bilinirler. Karotenoidler kuvvetli absorbsiyon gösteren parlak moleküllerdir. Klorofilden sonra

doğada en yaygın bulunan renk pigmentleridir. Hidrokarbon karotenoidler karotenler olarak bilinirken, bunların oksijenli türevleri ksantofil olarak bilinir. Doğada yaygın olarak bulunan karotenoidler, fruktosantin (alglerde), lutein, violaksantin ve neoksantindir. Beslenme fizyolojisi açısından en önemlisi olan  $\beta$ -karoten doğada yaygın halde bulunmaktadır ve ilk olarak Waackenroder tarafından havuçtan izole edilmiştir (15).

#### 4.5.7. Politerpenler

Birçok izopren biriminin oluşturduğu uzun zincirler içeren terpenlerdir. Doğal kauçuk cis konumunda çift bağli poliizopren içerirken, bazı bitkiler gutta precha olarak bilinen doğal kauçuğun trans izomeri olan bir poliizopren üretirler.



Şekil 4. Doğal kauçuk

#### 4.6. Spektroskopik Yöntemler

Bir örnekteki atom, molekül veya iyonların bir enerji düzeyinden diğerine geçişleri sırasında absorblanan veya yayılan elektromanyetik ışımanın ölçülmesi ve yorumlanmasına spektroskopi denir. Kısaca, spektroskopi maddenin enerji ile olan ilişkisinin incelenmesidir.

Spektroskopik yöntemler, Atomik Spektroskopi ve Moleküler Spektroskopi olmak üzere temelde iki gruba ayrılır. Atomik spektrum sadece elektronların bir enerji düzeyinden diğerine geçişlerini içerir. Moleküler spektrum, elektronik düzeyler arasındaki geçişlere ek olarak dönme ve titreşim enerji düzeyleri arasındaki geçişleri de

içerir. Bu nedenle moleküllerin moleküler spektrumları atom spektrumlarına oranla daha karmaşıktır (9).

Spektroskopik yöntemler içinde en çok kullanılan yöntemler UV-VIS (Mor Ötesi Görünür Bölge), IR (Kırmızı Ötesi), NMR (Nükleer Magnetik Rezonans), MS (Kütle Spektroskopisi) ve Kromatografidir.

Mor Ötesi-Görünür Bölge Spektroskopisi; modern analitik laboratuvarların oturmuş, güvenilir, kesin ve vazgeçilmez bir yöntemidir. UV-VIS spektroskopisi kullanılarak bilinmeyen maddeler tanımlanabilir ve bilinen maddelerin konsantrasyonları tayin edilebilir. UV- VIS spektroskopisi için solventler iyi çözme özelliğine sahip olmalıdır ve geniş bir UV aralığında UV ışınını geçirmelidir (16).

Infrared spektroskopisi, maddenin infrared ışınlarını absorblaması ilkesine dayanır. IR bölgesi 3 temel bölgeden oluşmaktadır; bunlar yakın IR (780-2500 nm), orta IR (2500-25 000 nm) ve uzak IR (50 000-100 000 nm) bölgeleridir. Homonükleer moleküller ( $H_2$ ,  $C_{12}$ ,  $F_2$ ) hariç, bütün moleküller infrared spektrumu verirler. IR spektroskopisi yapı aydınlatılmasında ve özellikle fonksiyonel grupların varlığının tespitinde kullanılan çok önemli bir spektroskopik yöntemdir.

Nükleer Magnetik Rezonans Spektroskopisi; moleküllerdeki belirli çekirdeklerin kuvvetli bir magnetik alandayken, radyo dalgalarını absorblamasına dayanır. Bir molekülün NMR spektrumu alınabilmesi için molekülün spin kuantum sayısının sıfırdan farklı olması gerekir ( $I \neq 0$ ). NMR, bir moleküldeki C ve H atomlarına ilişkin bilgiler verir. Özellikle sentezlenen bileşiklerin yapılarını aydınlatmada çok önemli bir yere sahiptir.

MS; analitik yöntemler içinde en geniş uygulama alanına sahip, maddelerin elementel bileşimlerinin belirlenmesinde, kalitatif ve kantitatif analizlerde, moleküllerin yapılarının aydınlatılmasında ve bir numunedeki atomların izotopik oranlarının bulunmasında kullanılan bir yöntemdir. Kütle spektroskopisinde, madde yüksek enerjili elektron demetiyle bombardıman edilerek (+) yüklü parçacıklar oluşur. Bu parçacıklar, m/z oranlarına göre ayrılarak spektrum elde edilir. Bu spektrumdan yararlanıp maddenin molekül ağırlığı ve molekül formülü belirlenir (9).

#### **4.6.1. Kromatografik Yöntemler**

İlk kez Rus botanikçi Mikhail Tswett tarafından geliştirilen bir yöntem olan kromatografi bir karışımda bulunan maddelerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbirleriyle karışmayan iki fazlı bir sistemde ayırma ve saflaştırma işlemidir. Tswett bu yöntemi bitki pigmentlerinin renkli bileşenlerini ayırmakta kullanmıştır. Kullandığı kolonda renkli bantlar oluştuğundan bu ayırma yöntemine kromatografi adını vermiştir. Kromatografi'nin sınıflandırılması üç şekilde yapılmaktadır. Bunlar; ayrılma mekanizmalarına göre, uygulama biçimine göre ve faz tiplerine göre yapılmaktadır.

##### **4.6.1.1. Ayrılma Mekanizmalarına Göre Kromatografi**

Ayrılma Mekanizmalarına göre kromatografi çeşitleri aşağıdaki gibidir.

- Adsorbsiyon Kromatografisi
- Partisyon Kromatografisi
- İyon Değiştirme Kromatografisi
- Jel filtrasyon Kromatografisi
- İyon Çifti Kromatografisi
- Afinite Kromatografisi

##### **4.6.1.2. Uygulama Biçimine Göre Kromatografi**

Uygulama biçimine kromatografi çeşitleri 2 çeşittir ve aşağıdaki gibidir.

Düzlemsel Kromatografi

- Kâğıt Kromatografisi
- İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)

Kolon Kromatografisi

- Gaz Kromatografisi (GC)
- Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

#### **4.6.1.3. Faz Tiplerine Göre Kromatografi**

Faz tiplerine kromatografi çeşitleri aşağıdaki gibidir.

Sıvı Kromatografisi

- Sıvı-Katı Kromatografisi
- Sıvı-Sıvı Kromatografisi

Gaz Kromatografisi

- Gaz-Katı Kromatografisi
- Gaz-Sıvı Kromatografisi

#### **4.6.2. Gaz Kromatografisi**

Gazların, uçucu yağların ve yüksek sıcaklıkta bozunmayan buharlaştırılabilen bütün maddelerin analiz edilebildiği kromatografik yöntemdir. Gaz kromatografisi ile kalitatif analizler yapılabileceği gibi kantitatif analizlerde yapılabilmekte ve kendisine ait kütüphaneleriyle çalışmalara kolaylık sağlamaktadır. Bu şekilde diğer kromatografik yöntemlerden daha avantajlı bir konumdadır. Gaz kromatografisi cihazı taşıyıcı gaz, enjeksiyon bölmesi, kolon, dedektör ve kayıt edici kısımlarından oluşmaktadır.

##### **4.6.2.1. Taşıyıcı Gaz**

Enjekte edilen maddeyi önüne katarak sürükleyen kolon içerisindeki dolgu maddesi ya da taşınan madde türleriyle reaksiyona girmeyen inert gazlardan oluşmaktadır. Genellikle kullanılan gazlar; He, Ar, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> ve CO<sub>2</sub> dir. Hidrojen gazı, iyi bir taşıyıcı gaz olmasının yanında analit ile reaksiyona girip yeni maddeler oluşturabileceği için pek kullanılmamaktadır. Bu nedenle genellikle He ve N<sub>2</sub> taşıyıcı gaz olarak tercih edilmektedir.

##### **4.6.2.2. Enjeksiyon Bölmesi**

Enjeksiyon kısmı kolonun başında bulunan ve içinde buharlaştırıcı olan kısımdır. Bu bölmenin sıcaklığı iyi ayarlanmalıdır. Maddeyi buharlaştırabilecek kadar sıcak olmalı ancak maddeyi aşırı ısıtıp bozunmasına sebep olacak kadar yüksek olmamalıdır. İyi ayarlanmazsa ayırma iyi olmaz hem kolonun hem de kromatogramın kirlenmesine sebebiyet verir.

Enjektör split ve splitless olmak üzere iki modda çalışır. Split modda analiz için kullanılacak maddenin bir kısmı enjekte edilerek çalışılırken, splitless modda tüm madde kullanılır. Split mod derişik numuneler için kullanılır, bu şekilde kolonun kirlenmemesi sağlanır, ayrıca daha düzgün kromatogramlar elde edilir. Splitless mod genellikle çok seyreltik numuneler için madde kaybı olmadan analiz sağlanması için kullanılmaktadır.

#### **4.6.2.3. Kolon**

Gaz kromatografisinde kullanılan kolonlar genelde iki çeşittir. Bunlar dolgulu kolonlar ve kapiler kolonlar olmak üzere iki çeşittir. Dolgulu kolonlar sabit faz ve destek maddeleri ile istenen uzunlukta ve iç çapta temin edilip kullanılır. Dolgulu kolonlar genellikle cam, paslanmaz çelik, bakır, alüminyum veya teflon gibi malzemelerden yapılmaktadırlar. Bu kolonlar, sabit sıvı fazla kaplı olup homojen ve inert katı madde ile doldurulmuştur. Kolonlar 2-3 m uzunluğunda, 2-4 mm çapındadırlar. Diğer tür olan kapiler kolonlar dolgulu kolonlara göre daha kullanışlı, ayırma gücü yüksek ve verimlidir. WCOT kolon gaz kromatografisinde kullanılan en yaygın kolon türüdür. Kolon duvarları sıvı bir fazla kaplanmışır. Bunun haricinde SCOT ve FSOT kolonları da kullanılmakta olup, ısıya dayanıklılığı bakımından en kullanışlı olanı FSOT kolondur.

#### **4.6.2.4. Dedektör**

Gaz kromatografisinde birden çok dedektör kullanılabilir. Bunlardan bazıları;

- MS (Kütle Spektrumu)
- FID(Alev İyonizasyon Dedektörü)
- EYD(Elektron Yakalama Dedektörü)
- TİD(Termal İletkenlik Dedektörü)

GC-MS kombinasyonu kullanıldığında analiz şu şekilde ilerlemektedir. Öncelikle kolona giren maddeler polarlık derecelerine göre ayrılıp dedektör kısmına gelirler ve moleköl ağırlıklarına göre fragmentler oluşturarak dedekte edilirler.

GC-FID kombinasyonunda polarlık derecesine göre ayrılan maddeler alev içerisinde iyonlaştırılır. Seçici bir dedektör olup azot, oksijen ve karbondioksit gibi

alevde iyonlaşmayan moleküllere karşı duyarlı olmayıp hidrokarbonlara karşı duyarlı olan dedektördür.

GC-EYD kombinasyonunda kolondan çıkan maddelere düşük enerjili  $\beta$  ışınları gönderilir. Ortamda organik madde yoksa bu iyonizasyon sonunda sabit bir akım görülür. Organik madde bulunması durumunda ise elektronlar madde tarafından yakalanacağından akım düşer bu akım kaybı ölçülür ve sinyal meydana gelir.

GC-TİD kombinasyonunda gaz akımındaki ısısal iletkenliğin değişmesi algılanır; bu amaçla kullanılan cihaza "katharometre" denir. Cihazın hassas elementi elektrikle ısıtılan bir kaynaktır; kaynağın sıcaklığı, sabit elektrik gücünde, etrafındaki gazın ısı iletkenliği ile değişir. Isıl iletkenlik dedektörleri basit, kaba ve ucuzdur. Bunlar diğer bazı dedektörler kadar hassas değildir (17).

#### **4.7. Antimikrobiyal Maddelerin Genel Özellikleri**

Antimikrobiyal madde; çok az yoğunlukta dahi mikroorganizma gelişimini engelleyen, biyolojik kökenli ikincil metabolitlerdir. Mikroorganizmalardan elde edilen, küçük dozlarda diğer mikroorganizmaları öldüren ve insan organizmasına zararlı etkisi görülmeyen doğal veya sentezlenmiş maddeler olarak da tanımlanmaktadır (18). Bunun yanı sıra ilaçlarda da antimikrobiyal maddeler vücut savunması için kullanılmaktadır. Bu maddeler mikroorganizmalara karşı çeşitli etkiler göstermektedir. Birçoğu hem bakteri hem de mantarlar üzerinde güçlü bir aktiviteye sahiptirler.

Bu maddeler;

- ✓ Fizyolojik yönden sakıncalı olmamalı
- ✓ Saf olmalı, toksikolojik yönden sakıncalı olmamalı
- ✓ Mümkün olduğunca geniş spektrumlu olmalı
- ✓ Duyusal özellikleri etkilememeli
- ✓ Madde bileşenleri ile reaksiyona girmemeli

##### **4.7.1. Antimikrobiyal Maddenin Sınıflandırılması**

Antimikrobiyal maddeler bakteriler ve mantarlar üzerine 5 farklı şekilde etki ederler (19). Hücre duvarı sentezini inhibe ederler, sitoplazma zarının ve fonksiyonunun bozulmasını sağlarlar, protein sentezini inhibe ederler, nükleik asit

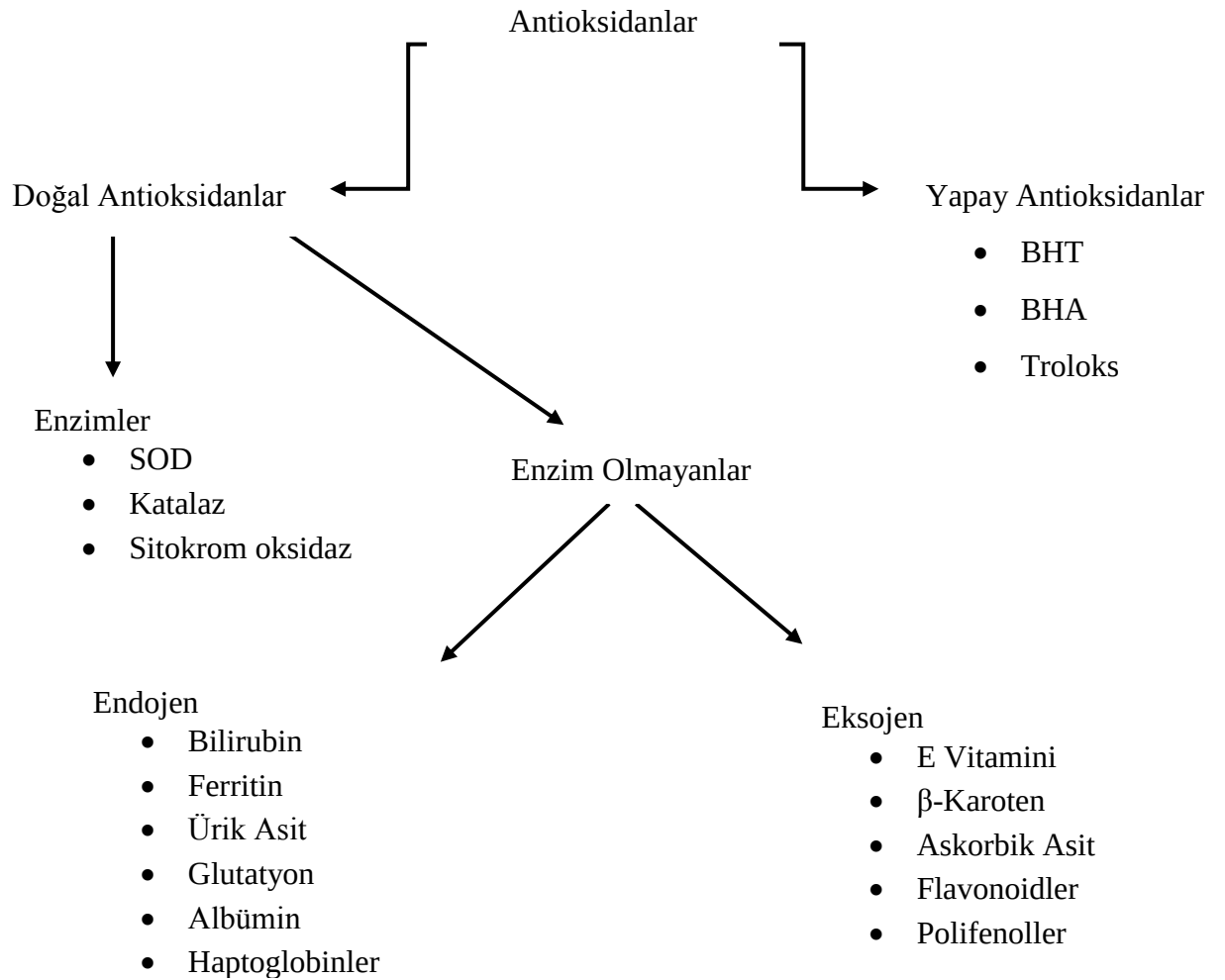
sentez ve fonksiyonlarının bozulmasını sağlarlar ve kimyasal yapıdaki benzerliklerden dolayı metabolizmaları bozularak etki ederler.

#### 4.8. Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar serbest radikalleri nötralize ederek oksidasyonunu engelleyen, yavaşlatan, durduran bileşikleridir. Peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek veya aktif oksijen türlerini toplayarak lipid oksidasyonunu inhibe ederler (20).

Antioksidan savunma mekanizmaları çeşitli olup başlıcaları şöyledir; Radikal metabolit üretiminin engellenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, Hücre deformasyonunun onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonların durdurulması, endojen antioksidan kapasitesinin artırılması şeklindedir.

Antioksidanlar, doğal ve yapay olmak üzere başlıca iki gruba ayrılır.



Şekil 5. Antioksidan çeşitleri



#### **4.9. Antioksidan Tayin Yöntemleri**

Günümüzde önemi gittikçe artan antioksidanların tayin metotları buna paralel olarak artış göstermiştir. Antioksidanlar temelde oksidasyonu yavaşlatan veya durduran bileşiklerdir. Biyolojik sıvıların ve çeşitli özütlerin toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesine yönelik son 20 yılda pek çok metot geliştirilmiştir. Bitkisel veya doğal özütlerin toplam antioksidan kapasitesinin belirlenmesinde DPPH ve Folin metodu gibi yöntemler singlet oksijen transferine FRAP ve CUPRAC gibi yöntemler ise hidrojen atomu transferine dayanmaktadır (7).

##### **4.9.1. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi**

Sentetik olarak üretilen bir radikal olan DPPH (2,2- difenil-1-pikrilhidrazil) 517nm de maksimum absorbans oluşturur. Antioksidan madde veya maddelerle muamele edildiğinde DPPH 'tan kaynaklanan mor rengin şiddeti azalarak absorbansın düşüşüne sebep olmaktadır. Dolayısıyla DPPH derişimini yarıya düşüren numune içeriği  $\mu\text{g mL}^{-1}$  cinsinden  $\text{IC}_{50}$  olarak tayin edilir.  $\text{IC}_{50}$  değeri ne kadar düşükse antioksidan kapasite o kadar yüksektir.

##### **4.9.2. SOD Yöntemi**

Süperoksit Dismutaz enzimi, oksijenli solunum sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ve moleküler oksijene ( $\text{O}_2$ ) dismutasyonunu hızlandırır. Yöntemde, ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorid (INT) ile tepkimeye giren ve kırmızı renkli formazon boyası oluşturan süperoksit radikalleri üretilmektedir. Enzim aktivitesi ölçümü ise 505 nm'de SOD enziminin reaksiyonu sonucu inhibisyonuna dayandırılır.

##### **4.9.3. Demir indirgeme Antioksidan Gücü Tayini (FRAP)**

Metot sulu çözeltide bulunan ( $\text{Fe}^{3+}$ )'ün ( $\text{Fe}^{2+}$ )'ye indirgenmesine dayanır. Çözeltiye antioksidan içeren bir örneğin eklenmesi sonucu,  $\text{Fe}^{3+}$ -tripiridiltiazin kompleksinin renkli yapıdaki ( $\text{Fe}^{2+}$ ) yapısına indirgenmesine dayanmaktadır. FRAP yöntemi nispeten basit bir yöntem olup, kolaylıkla standardize edilebilmektedir. FRAP yönteminin dezavantajı, özellikle bitkilerde bulunan ve önemli antioksidan aktivite gösteren glutatyonlar gibi bazı antioksidanlarla çok yavaş tepkimeye girmesidir. Ancak

glutatyonlar, metot için uygun dalga boyu aralığında (593 nm) çok iyi absorbe edilemedikleri için bu dezavantaj ortadan kalkmakta ve meyve ve sebzelerde antioksidan aktivite tayininde FRAP metodu geçerli bir yöntem olarak kabul edilmektedir (7).

#### **4.10. *Labiatae (Lamiaceae)* Familyası**

*Salvia* cinsi *Labiatae (Lamiaceae)* familyasının üyesidir. Adaçayı, dağ çayı, nane, kekik ve yaylaçayı da dahil olmak üzere birçok faydalı bitkiyi içine alan yaklaşık 200 cins ve 3000 türe sahip olan geniş bir ailedir. Ülkemizde Ballıbabagiller olarak bilinen çoğunlukla güzel kokulu, bir ya da çok yıllık, otsular, nadiren çalılar veya ağaçları kapsayan çiçekli bitkiler familyasıdır (21).

##### **4.10.1. *Salvia* Cinsi**

*Labiatae* familyasına bağlı olan ve uçucu yağ bakımından zengin içeriğe sahip *Salvia* türleri ülkemizde özellikle Akdeniz Bölgesinde yaygın durumdadır. Bu cinse bağlı bitkiler genellikle tek yıllık otsu bitkilerdir ve daha çok otsu, çalımsı türlerden oluşmuşlardır.

## 5. GEREÇ ve YÖNTEM

### 5.1. Enstrümantasyon

Yapılan çalışmada Shimadzu QP20104 Ultra (Japonya) marka gaz kromatografisi cihazı ve Shimadzu 2010 plus FID, Shimadzu Class-5000 Chromatography Workstation yazılımları ve dedektör olarak Shimadzu marka kütle spektrometresi kullanılmıştır (Resim 6).

### 5.2. Deneysel Koşullar

*Labiatae (Lamiaceae)* familyasına ait olan *Salvia staminea* bitkisi için elde edilen spektrumların alındığı koşullar Tablo 2'deki gibidir.

**Tablo 2.** Clevenger için GC deneysel koşulları

|                               |                                |
|-------------------------------|--------------------------------|
| Sıcaklık                      | 60 °C 'dan 240°C (dakikada 3°C |
| Akış Hızı                     | 1.0 mL dak <sup>-1</sup>       |
| Toplam Analiz Süresi          | 62dak                          |
| Enjekte Edilen Numune Miktarı | 2µL                            |
| Enjektör Sıcaklığı            | 250 °C                         |
| Taşıyıcı Gaz                  | Helyum                         |
| Kolon                         | RTX-5M 30 m Kapiler Kolon      |
| İyonizasyon Voltajı           | 70 eV                          |



**Resim 6.** GC-MS cihazı

Bitki yaprakları 0.2 cm ve daha küçük parçalar olacak şekilde parçalandıktan sonra bir havan içinde ezildi. Toz haline getirilen materyalden 7 g tartılıp 10 mL hacimli bir erlen içerisine koyulup bölme içerisine yerleştirildi. 10 dakika ekstraksiyon yapıldıktan sonra RTX-5M kapiler kolonu içerisinde 62 dakikada analiz edildi.

**Tablo 3.** SPME deneysel koşulları

|                      |                               |
|----------------------|-------------------------------|
| Kolon                | RTX-5M 30 m Kapiler Kolon     |
| Toplam Analiz Süresi | 62 dak                        |
| Kullanılan Fiber Uç  | DVB/Karboksen/PDMS Kararlı Uç |
| Enjeksiyon Sıcaklığı | 250 °C                        |
| Ekstraksiyon Süresi  | 10 dak                        |

Headspace-GC-MS analizi için Shimadzu QP2010 Ultra GC-MS cihaza entegre edilmiş Shimadzu AOC-5000 plus auto sampler kullanıldı.

**Tablo 4.** Headspace - GC-MS deneysel koşulları

|                      |        |
|----------------------|--------|
| Sıcaklık             | 70 °C  |
| Isıtma Süresi        | 10 dak |
| Enjeksiyon Sıcaklığı | 250 °C |
| İyonizasyon Voltajı  | 70 eV  |
| Enjeksiyon Hacmi     | 0.5 mL |
| Taşıyıcı Gaz         | Helyum |

GC-MS çalışmaları daha önceki çalışmalarda tarif edildiği gibi yapıldı. Bütün bileşenlerin alıkonma zamanları *n*-alkanları (C<sub>6</sub>-C<sub>32</sub>) standart olarak kullanılarak yapılan Kovats metodu ile belirendi. Kullanılan standartlar;  $\alpha$ -pinen, geraniol, *n*-heptadekan, kamfen, *n*-tetradekan, *n*-oktadekan, linalool ve *n*-pentadekandır.

Spektral data eşleştirmeleri ve karşılaştırmaları NIST (National Institute of Standards and Technology) ve Wiley kütüphanelerinden yararlanılarak yapıldı.

### 5.3 Çalışmada Kullanılan Bitki

*Salvia staminea* 2010 yılı Temmuz ayında Türkiye'nin 1740 m yüksekliğindeki Bayburt ilinin Kopuz Köyünden toplandı. Bitki doğrulanması Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü'nden Prof. Dr. Kamil Coşkunçelebi tarafından yapıldı. Tüm bitki materyali Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü herbaryumunda toplanmış, analiz süresine kadar oda sıcaklığında açık havada kurutuldu.



**Resim 7.** *Salvia Staminea* bitkisi

### 5.4. Uçucu Yağların İzolasyonu

Kurutulmuş *Salvia staminea* bitkisi çiçek ve yaprak kısımları ayrılmadan bir bütün halinde çalışıldı. Bu bitkiden 50g alınıp parçalayıcıda öğütüldükten sonra Clevenger düzeneği (Resim 1) balonuna koyuldu. Balona numunenin tamamı ıslanacak şekilde 400 mL kadar destile su eklendi. Sistem Clevenger düzeneğinde 3 saat su buharı destilasyonuna tabi tutuldu. Soğutma banyosuyla -15° C'ye soğutularak düzenek içerisindeki suyun üzerinde toplandı. Uçucu yağlar, HPLC kalitesindeki 0.5 mL n-hegzan ile çözülerek alındı. +4° C'de kahverengi şişelerde

saklanan bu yağların 2 µL'si GC-MS cihazına enjekte edilerek analizleri yapıldı. Nemsiz bazda hesaplanan yağ verimi yüzdesi %0.15 olarak hesaplandı.

### 5.5. Bileşenlerin Aydınlatılması

Shimadzu QP20104 Ultra marka gaz kromatografisi cihazı ve Shimadzu 2010 plus FID, Shimadzu Class-5000 Chromatography Workstation yazılımları kullanılmıştır. İzole edilen uçucu yağların kütle spektrumlarıyla cihazda bulunan NIST ve Wiley kütüphanelerindeki kütle spektrumları karşılaştırılarak bu yağların bileşenleri aydınlatıldıktan sonra, bileşenlerin alıkonma indekslerinin yayınlanmış literatür verileriyle karşılaştırılması sonucu bu bileşenlerin tespiti doğrulandı (22).

### 5.6. Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Test için kullanılacak olan bütün mikroorganizmalar Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsünden alındı. Mikroorganizmalar; *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922, *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. pseudotuberculosis*) ATCC 911, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC 29212, *Bacillus cereus* (*B. cereus*) 709 Roma, *Mycobacterium smegmatis* (*M. smegmatis*) ATCC607 ve *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 60193. Clevenger ekstresinden hazırlanan stok çözeltiler 38.27 µg/ mL olacak şekilde hegzan ile çözülerek hazırlandı.

#### 5.6.1. Agar Jel Difüzyon Metodu

Her bakteri Mueller Hinton (MH) suyu içerisinde süspanse edildi. Mantarlar gibi mayalar da, maya özsuğu içinde süspanسیون haline getirildi. Daha sonra mikroorganizmalar mL başına 10<sup>6</sup> koloni oluşturan miktara seyreltildi. Mantarlar gibi mayalar içinde Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) (Difco, Detriot, MI) kullanıldı. *M. smegmatis* için Brain Heart Infusion Agar (BHI) (Difco, Detriot, MI) kullanıldı. Bunlar MH, BHI ve SD agar yüzeyi üzerine aşılandı ve daha sonra kurutuldu. Beş milimetre çaplı kuyucuklar steril bir mantar delici kullanılarak kesildi ve stok ekstre maddelerin 50 µL'si üzerine eklenmiştir. Plakalar 35° C'de 18 saat inkübasyona bırakıldı. *Mycobacterium smegmatis* 3 gün içinde BHI agar jel üzerinde büyüdüğü gözlemlendi (23).

Antimikrobiyal aktivite, test organizmalarına karşı inhibisyon miktarını ölçerek değerlendirildi. Ampisilin (10 µg), streptomisin (10 µg) ve flukonazol (5 µg) standart olarak kullanıldı ve hegzan çözücü kontrolü için kullanıldı.

## **5.7. Antioksidan Aktivite Çalışmaları**

### **5.7.1. SOD Yöntemi**

Yapılan tamamıyla doğal enzimden farklı olsa bile özellikle Mangan, Bakır veya Çinko gibi çeşitli geçiş metallerinin karışık ligandlı kompleksleri metal merkezinin etrafındaki esnek geometrik dönüşümleri ile SOD aktivitesi sergilenmektedir. Bu bilgilerden hareketle ligand ve komplekslerin süperoksit radikallerini süpürme yetenekleri sıgır eritrositlerinden elde edilmiş olan ticari olarak temin edilen SOD enzimi ile kıyaslanarak incelendi.

Süperoksit dismutaz aktivitesinin belirlenmesi amacıyla Beauchamp ve Fridovich (1971) tarafından geliştirilen nitro mavisi tetrazolyum indirgeme metodu kullanıldı. O<sub>2</sub>'nin miktarı ve baskılanma oranı 560 nm'deki absorbansı ölçülerek belirlendi. Süperoksit radikalleri 0.1 mM etilendiamin tetraasetikasit, 2 µM riboflavin, 13 mM L-metiyonin ve 75 µM nitro mavisi tetrazolyum içeren 50 mM fosfat tamponundan (pH 7.8) oluşan sistem ile üretildi. Komplekslerin farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış çözeltileri radikal üreten bu çözelti sistemlerine ilave edilerek her bir reaksiyon karışımı 5 dakika floresan ışığında inkübe edildikten sonra örneklerin absorbansı 560 nm'de ölçüldü. Test edilen kompleksi içermeyen karışımın absorbansı kör olarak kullanılarak nitro mavisi tetrazolyum indirgenmesinin yüzde inhibisyonu hesaplandı.

Çalışılan her bir konsantrasyon için inhibisyon değerleri elde edilerek (ligand/Kompleks) Konsantrasyon/ % İnhibisyon eğrileri çizildi. Bu eğriler sayesinde IC<sub>50</sub> değeri hesaplandı. Aynı denemeler doğal SOD enzimi ile de yapılarak elde edilen IC<sub>50</sub> değeri, incelenen örnekler için elde edilen değerle karşılaştırılarak kompleksin SOD eşdeğeri olup olamayacağı değerlendirildi.

### **5.7.2. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi**

2,2-Difenil-2-pikril-hidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesinin tespiti bileşeklerin antioksidan özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla yaygın olarak

kullanılan basit, hızlı ve uygun bir metoddur. DPPH bir elektron ya da hidrojen radikali kabul edilen ve böylece kararlı diyamagnetik bir moleküle dönüşebilen kararlı bir serbest radikaldir. DPPH tek bir elektrona sahiptir bu yüzden 517 nm'de güçlü bir absorpsiyon bandına sahiptir. Antioksidanlarla muamele, DPPH'tan kaynaklanan mor rengin şiddetini azalarak absorbansın düşüşüne sebep olacaktır. Farklı numune konsantrasyonu ile muamele edilen DPPH'nin absorbansındaki değişim ölçülerek absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonlarla grafik çizilerek  $y=ax+b$  denkleminde DPPH konsantrasyonunu yarıya düşüren numune miktar  $\mu\text{g mL}^{-1}$  cinsinden belirlenmekte ve IC50 değeri olarak ifade edilmektedir.

Elde edilen ekstrakt ve standart olarak askorbik asit değişik konsantrasyonlarda hazırlandı. Standart 0.5 - 0.25- 0.125  $\text{mg mL}^{-1}$  seyreltik konsantrasyonlarında hazırlandı. Öncelikle gerekli tüplere numuneler pipetlendi sonra numune çözeltileri üzerine eşit hacimde (750  $\mu\text{L}$ ) DPPH• çözeltisi, eklenerek vorteksledi ve oda sıcaklığında 50 dakika inkübasyona bırakıldı. Sure sonunda DPPH'nin maksimum absorbans verdiği 517 nm'de absorbanlar okundu. Hesaplamalarda paralellerin ortalaması alınarak kor değerleri bu ortalama dan çıkarıldı. Bulunan absorbanlara karşılık gelen konsantrasyonlar grafiğe geçirilerek IC50 değerleri  $\text{mg/mL}$  cinsinden hesaplandı.

##### 5.8. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Çalışmada kullanılan cihazlar ve satın alındıkları firmalar Tablo 5'te verilmektedir.

**Tablo 5.** çalışmada kullanılan cihazlar ve satın alındıkları firmalar

| Cihaz                    | Satın Alındığı Firma ve Menşei     |
|--------------------------|------------------------------------|
| GC-MS                    | Shimadzu (Japonya)                 |
| Clevenger                | Wisetherm Heating Mantle( Almanya) |
| Sıcaklık Kontrol Sistemi | Poly Science Chiller ( USA)        |
| Tartı                    | Gec Avery ( İngiltere)             |



## 6. BULGULAR

Bu çalışmada *Salvia staminea* bitkisinin uçucu yağ bileşenlerini tayin etmek için GC-MS cihazı ayrıca SPME ve Headspace Yöntemleri de kullanıldı. Ham bitkiden üç farklı yöntemle elde edilen GC-MS analizi sonuçları karşılaştırılıp yorumlandı. Bu bitkiden clevenger yöntemi ile toplam otuz , SPME yöntemi ile on beş ve headspace yöntemi ile sadece iki tane uçucu yağ bileşeni izole edildi.

### 6.1. Clevenger Yöntemi

*Salvia Staminea* bitkisine uygulanan clevenger ekstraksiyon sonucu elde edilen uçucu yağların spektrumlarında 30 tane uçucu yağ bileşeni tespit edildi. Bunlar; 7 monoterpen, 9 monoterpenoid, 7 seskiterpen, 3 seskiterpenoid 2 diterpen, 2 diterpenoid sınıflarından oluşmaktadır. Buna bağlı olarak elde edilen bileşik sayısı ve yüzde alanları Tablo 6'da, anabileşenleri ve sınıflara göre dağılımı Tablo 7'dedir.

### 6.2. SPME Yöntemi

Doğrudan bitkinin ısıtılması ve uçucu halen geçen moleküllerin fiber uçta toplanması sonucu elde edilen analiz sonucunda 17 tane uçucu yağ bileşeni tespit edildi. Bunlar; 5 monoterpen 7 monoterpenoid, 3 seskiterpen sınıflarından ve 2 tane diğer uçuculardan oluşmaktadır.

### 6.3. Headspace Yöntemi

Bitkiye uygulanan bu çalışmada terpen sınıflarından sadece monoterpenoid sınıfı bileşikler tespit edildi. Bu analiz sonucunda sadece ana bileşen türünün tespit edildiği belirlendi.

**Tablo 6.** *Salvia staminea* bitkisinin kimyasal sınıf dağılımı

| Bileşik Sınıfı | Clavenger |                     | SPME  |                     | HS    |                     |
|----------------|-----------|---------------------|-------|---------------------|-------|---------------------|
|                | %Alan     | Bileşiklerin Sayısı | %Alan | Bileşiklerin Sayısı | %Alan | Bileşiklerin Sayısı |
| Monoterpen     | 4.73      | 7                   | 1.57  | 5                   | -     | -                   |
| Monoterpenoid  | 58.47     | 9                   | 96.76 | 7                   | 99.99 | 2                   |
| Seskiterpen    | 8.91      | 7                   | 0.88  | 3                   | -     | -                   |
| Seskiterpenoid | 18.36     | 3                   | -     | -                   | -     | -                   |
| Diterpen       | 3.50      | 2                   | -     | -                   | -     | -                   |
| Diterpenoid    | 5.41      | 2                   | -     | -                   | -     | -                   |
| Diğerleri      |           |                     | 0.64  | 2                   | -     | -                   |

**Tablo 7.** *Salvia staminea* bitkisindeki kimyasal sınıf dağılımındaki anabileşenler

| Bileşik Sınıfı | Clevenger         |        |      | SPME           |        |      | HS             |        |      |
|----------------|-------------------|--------|------|----------------|--------|------|----------------|--------|------|
|                | Ana Bileşen       | % Alan | RI   | Ana Bileşen    | % Alan | RI   | Ana Bileşen    | % Alan | RI   |
| Monoterpen     | Myrsen            | 2.01   | 995  | Myrsen         | 0.81   | 995  |                |        |      |
| Monoterpenoid  | Linalil Asetat    | 23.30  | 1257 | Linalil Asetat | 85.07  | 1257 | Linalil Asetat | 87.55  | 1251 |
| Seskiterpen    | Valensen          | 2.36   | 1490 | E-Karyofilen   | 0.17   | 1411 |                |        |      |
| Seskiterpenoid | Spatünelol        | 10.02  | 1585 |                |        |      |                |        |      |
| Diterpen       | $\beta$ -Springen | 2.45   | 1920 |                |        |      |                |        |      |
| Diterpenoid    | Sclareol          | 4.85   | 2233 |                |        |      |                |        |      |
| Diğerleri      |                   |        |      | Siklohegzanon  | 1.24   | 902  |                |        |      |

Bu çalışmada, Haziran 2010 yılında toplanan ham bitkisel maddeden elde edilen sonuçlar Tablo 6 ve 7'de gösterilmiştir. Uygulanan çalışmalarda Clevenger, SPME ve Headspace yöntemleri için sırasıyla 30, 17 ve 2 tane uçucu yağ saptandı. Üç yöntem içinde Linalool ve Linalil Asetat ana bileşenler olarak tespit edilmiştir. (Tablo 6, 7 )

*Salvia staminea* bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları daha önce çalışıldı.(35) Bu çalışmanın farklı olması, bitki materyalinin doğadan temin edilerek çalışılmış olmasından kaynaklanmaktadır. Daha önce yapılan çalışmada bitkiler farmakognozik bahçeden temin edilerek çalışılmıştır. Dolayısı ile, bu çalışma doğrudan doğadan temin edilerek elde edilen bitki bileşenlerinin GC-MS analizi, antibakteriyel ve antifungal aktiviteleriyle ilgilidir. Oldukça ilginçtir ki, aynı bitki olmasına karşı doğadan temin ettiğimiz bitki ile farmakognozi bahçesinden elde edilen bitki bileşenleri birbirlerinden oldukça farklıdır (24).

Toplam olarak *Salvia staminea* bitkisinin uçucu yağ bileşen yüzdeleri, yapılan yöntemlere göre Clevenger için % 99.23, SPME için % 99.85 ve HS için % 99,99 olarak belirlendi. Bunun yanı sıra 7 uçucu yağ sınıfına göre yüzde bileşimleri

Tablo 6 'da göstermiştir. Tablolarda da görüldüğü üzere monoterpenoidler uçucu bileşenlerin ana bileşen grubunu oluşturdu. Clevenger ekstraksiyonunda %58.47, SPME için %96.76 ve HS için % 99.99 monoterpenoid grubu bulundu.

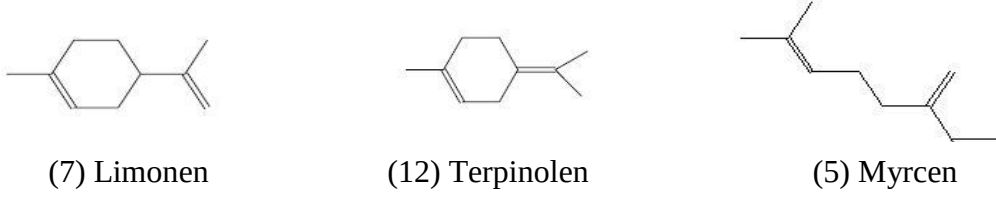
*Salvia Staminea* bitkisi içerisinde uçucu yağlardan linalol ve linalil asetat en büyük terpen türleridir. Tablo 7' de yüzde bileşimleri gösterildi. Karşılaştırma amaçlı yapılan bu çalışma her üç hidrodestilasyon yöntemiyle elde edilen uçucu bileşenlerin benzer olduğunu gösterdi. Temel gruplardan daha az miktarda olan farklı grupların yüzdeleri de Tablo 7 'de yer almaktadır.

*Salvia staminea* bitkisinin literatürde bulunan uçucu yağ verilerine bakıldığında temel bileşenlerinin  $\alpha$ -pinen, kamfen,  $\beta$ -pinen, limonen, ökaliptol ve  $\beta$ -chamigrene olduğu görüldü. Bu çalışma aynı bitkinin farklı coğrafya, iklim ve toplama zamanına bağlı olarak uçucu yağlar bakımından farklılık gösterdiğini gösterdi.

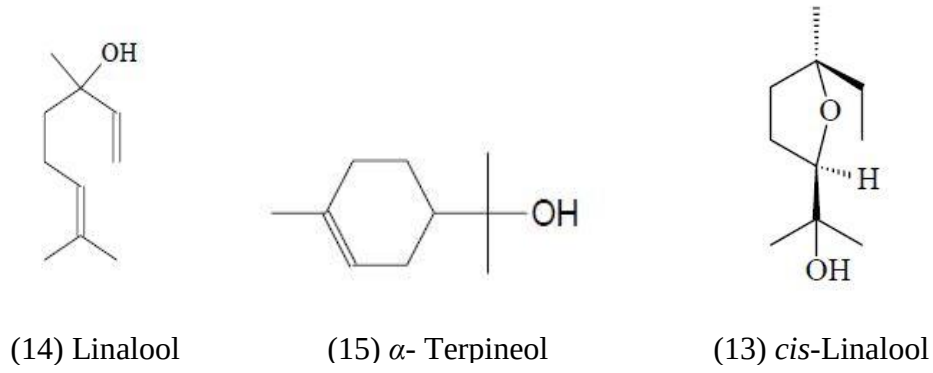
**Tablo 8.** *Salvia staminea* bitkisinin belirlenen tüm uçucu bileşenleri

| Bileşikler |                             | HD    |        | SPME  |        | HS    |        | Deney.<br>RI | Sapt.<br>(RI/MS) | Ref. |
|------------|-----------------------------|-------|--------|-------|--------|-------|--------|--------------|------------------|------|
|            |                             | B (%) | % Alan | B (%) | % Alan | B (%) | % Alan |              |                  |      |
| 1          | Aseton                      |       |        | 92    | 0.52   |       |        | 666          |                  |      |
| 2          | Asetik asit                 |       |        | 99    | 0.12   |       |        | 681          |                  |      |
| 3          | Hegzanal                    | 96    | 0.44   |       |        |       |        | 807          | 801              | (25) |
| 4          | Siklohegzanon               | 98    | 1.24   |       |        |       |        | 902          | 895              | (24) |
| 5          | Myrcen                      | 90    | 2.01   | 95    | 0.81   |       |        | 992          | 997              |      |
| 6          | Dehidroksi-Z-Linalool oksit | 95    | 1.83   |       |        |       |        | 997          | 991              | (24) |
| 7          | Limonen                     | 95    | 0.19   | 92    | 0.26   |       |        | 1027         | 1029             |      |
| 8          | $\Delta$ -3-Carene          | 81    | 0.21   |       |        |       |        | 1035         | 1031             |      |
| 9          | cis-Ocimen                  | 97    | 0.66   | 94    | 0.17   |       |        | 1042         | 1037             | (24) |
| 10         | E- $\beta$ -Ocimen          | 95    | 1.49   | 96    | 0.22   |       |        | 1045         | 1050             |      |
| 11         | trans-Linalool oksit        |       |        | 99    | 0.11   |       |        | 1076         | 1073             | (24) |
| 12         | Terpinolen                  | 91    | 0.17   |       |        |       |        | 1082         | 1089             |      |
| 13         | cis-Linalool oksit          |       |        | 95    | 0.12   |       |        | 1096         | 1087             | (24) |
| 14         | Linalool                    | 91    | 22.05  | 98    | 9.02   | 96    | 12.44  | 1102         | 1097             |      |
| 15         | $\alpha$ - Terpineol        | 91    | 4.98   |       |        |       |        | 1193         | 1189             |      |
| 16         | Linalil format              |       |        | 97    | 1.72   |       |        | 1215         | 1216             | (24) |
| 17         | Linalil Asetat              | 91    | 23.30  | 90    | 85.07  | 97    | 87.55  | 1257         | 1257             |      |
| 18         | Geraniol                    | 91    | 1.04   |       |        |       |        | 1260         | 1253             |      |
| 19         | Geranil Format              | 83    | 0.58   |       |        |       |        | 1287         | 1298             |      |
| 20         | $\alpha$ -Kubeben           | 98    | 2.28   |       |        |       |        | 1342         | 1351             |      |
| 21         | 8-Asetoksilinalool          |       |        | 85    | 0.34   |       |        | 1342         |                  |      |
| 22         | $\alpha$ -terpenil asetat   |       |        | 85    | 0.24   |       |        | 1355         | 1349             | (26) |
| 23         | Geranil asetat              | 95    | 1.16   | 85    | 0.25   |       |        | 1383         | 1379             | (24) |
| 24         | $\alpha$ -Kopaen            | 98    | 1.61   | 94    | 0.60   |       |        | 1386         | 1374             |      |
| 25         | $\beta$ -Bourbonen          |       |        | 93    | 0.11   |       |        | 1395         | 1388             | (24) |
| 26         | E-Karyofilen                | 99    | 0.80   | 95    | 0.17   |       |        | 1411         | 1419             |      |
| 27         | $\alpha$ -Humulen           | 90    | 0.25   |       |        |       |        | 1461         | 1454             |      |
| 28         | Geranil Propanoat           | 90    | 1.70   |       |        |       |        | 1470         | 1478             |      |
| 29         | Valencen                    | 95    | 2.36   |       |        |       |        | 1490         | 1496             |      |
| 30         | $\Delta$ -Kadinen           | 99    | 0.86   |       |        |       |        | 1523         | 1523             |      |
| 31         | $\alpha$ -Kalakoren         | 89    | 0.75   |       |        |       |        | 1549         | 1546             |      |
| 32         | Spathulenol                 | 99    | 10.02  |       |        |       |        | 1585         | 1578             |      |
| 33         | Karyofilen oksit            | 93    | 5.45   |       |        |       |        | 1595         | 1582             |      |
| 34         | Sclareoloksit               | 91    | 2.89   |       |        |       |        | 1903         | 1906             | (27) |
| 35         | $\beta$ -Springen           | 95    | 2.45   |       |        |       |        | 1920         | 1922             | (28) |
| 36         | Sclaren                     | 96    | 1.05   |       |        |       |        | 1986         | 1975             |      |
| 37         | Manoil oksit                | 99    | 0.56   |       |        |       |        | 2008         | 1998             |      |
| 38         | Sclareol                    | 85    | 4.85   |       |        |       |        | 2233         | 2223             |      |
| Toplam     |                             |       | 99.23  |       | 99.85  |       | 99.99  |              |                  |      |

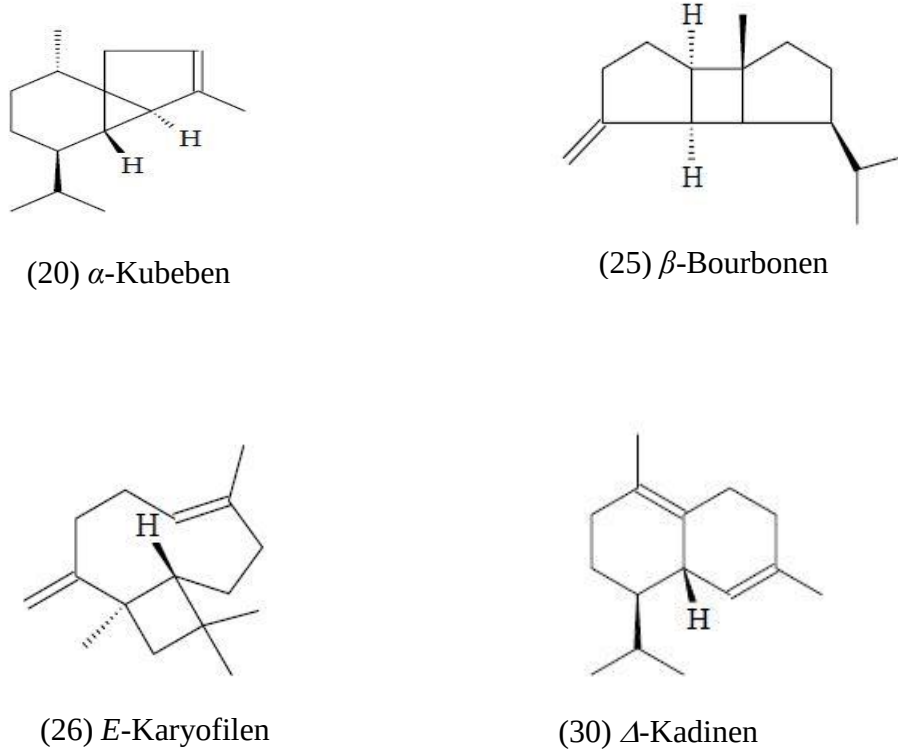
Yapılan bu çalışma ile terpen sınıflarına ait bir çok bileşik tespit edildi.



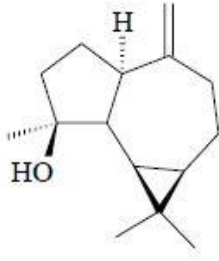
**Şekil 6.** Bitkide bulunan monoterpen sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları



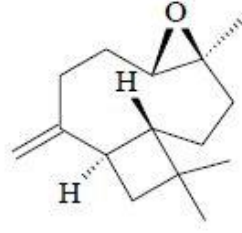
**Şekil 7.** Bitkide bulunan monoterpenoid sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları



**Şekil 8.** Bitkide bulunan seskiterpen sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları

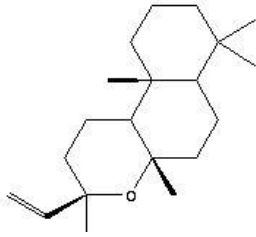


(32) Spathulenol

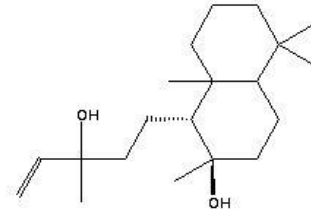


(33) Karyofilen Oksit

**Şekil 9.** Bitkide bulunan seskiterpenoid sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları

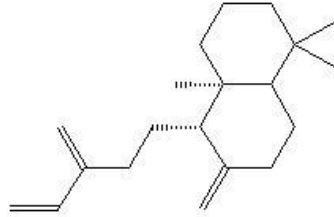


(37) Manoil Oksit



(38) Sklareol

**Şekil 10.** Bitkide bulunan diterpenoid sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları



(36) Sklaren

**Şekil 11.** Bitkide bulunan diterpen sınıfına ait bazı bileşiklerin molekül yapıları

Tablo 7'de sınıflarına göre ayrılan terpenlerin maksimum miktarda bulunan bileşiklerini gösterilmektedir. *Salvia staminea* bitkisinin uçucu yağ içeriğinin neredeyse tamamını terpen sınıfı oluşturdu. Clevenger yöntemiyle yapısı aydınlatılan 38 uçucu yağın 30 tanesi terpen sınıfına ait idi. Yapısı aydınlatılan terpenlerden monoterpenler % 4.73, monoterpenoidler % 58.47, Seskiterpenler % 8.91, seskiterpenoidler % 18.36, diterpenler %3.50, diterpenoidler, %5.41'lik bir alan kaplamakta idi. Monoterpenler %58.47'lik bir oranla en yüksek miktarda terpen bulunduran gruptur.

#### 6.4. Antimikrobiyal Aktivite Sonuçları

*Salvia staminea* bitkisine ait uçucu yağlarının sahip olduğu antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için yapılan antimikrobiyal aktivite testleri Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) yöntemine göre yapıldı. Bu antimikrobiyal aktivite testi *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922, *Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. pseudotuberculosis*) ATCC 911, *Pseudomonas auroginosa* (*P. auroginosa*) ATCC 43288, *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ATCC 25923, methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) ATCC 29212, *Listeria monocitogenes* ATCC 43251, *Bacillus cereus* (*B. cereus*) 709 ROMA, *Mycobacterium smegmatis* (*M. smegmatis*) ATCC607, *Candida albicans* (*C. albicans*) ATCC 60193 and *Saccharomyces cerevisiae* (*S. cerevisiae*) RSKK 251 bakteri ve mantarlarına karşı standart antimantar ve antibakteriyel ajan olarak Ampicillin kullanılarak yapıldı.

**Tablo 9.** *Salvia staminea* bitkisinin antimikrobiyal aktivite sonuçları

| Num                | Stokµg/ml       | Mikroorganizmalar ve inhibisyon alanı (mm) |    |    |    |    |    |    |
|--------------------|-----------------|--------------------------------------------|----|----|----|----|----|----|
|                    |                 | Ec                                         | Yp | Sa | Ef | Bc | Ms | Ca |
| <i>S. steminea</i> | 229.3 mg/600 µL | -                                          | -  | 20 | 15 | 23 | -  | 6  |
| Ampicillin         | 10mg/µL         | 10                                         | 18 | 35 | 10 | 15 | 10 | -  |

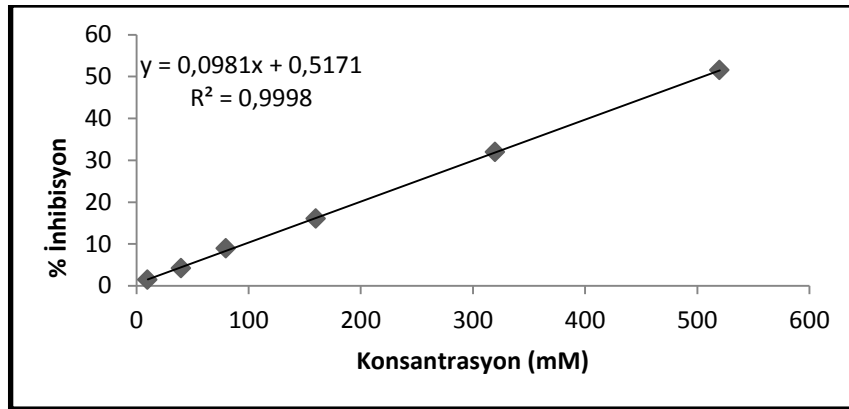
Dh: *Dicronella heteromella*, Pd: *Pallustriella decipiens*, Pc: *Pallustriella comutator* Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, Yp: *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, Sa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ef: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, Bc: *Bacillus cereus* 702 Roma, Ms: *Mycobacterium smegmatis* ATCC607, Ca: *Candida albicans* ATCC 60193

Elde edilen uçucu yağların 6 tür bakteri ve 1 tür mantar ile yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmalarında daha çok gram pozitif bakterilere karşı aktivite gözlenmiş, gram negatif bakterilere aktivite göstermemiştir. *Salvia staminea* bitkisine ait uçucuların bu mantar türü üzerinde aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Minimum İnhibison Konsantrasyonları temel alınarak aktiviteleri belirlenen bakteri ve mantarlar Tablo.9'da yer almaktadır.

## 6.5. Antioksidan Aktivite Sonuçları

### 6.5.1. SOD Yöntemi

Süpermutaz dismutaz inhibisyonu sonucu aktivitesi belirlenmek istenen *Salvia Staminea* bitkisinin yapılan testler sonucunda; standart madde olarak kullanılan  $0.025 \mu\text{g mL}^{-1}$  SOD için elde edilen  $\text{IC}_{50}$  değerinin yanında bitkinin  $504.4 \mu\text{g mL}^{-1}$ 'lik değeri bu bitki uçucularının çok iyi bir antioksidan özelliğe sahip olmadığını gösterdi. Şekil 12'de  $\text{IC}_{50}$  değerinin hesaplanabilmesi için çizilen kalibrasyon grafiği verildi.



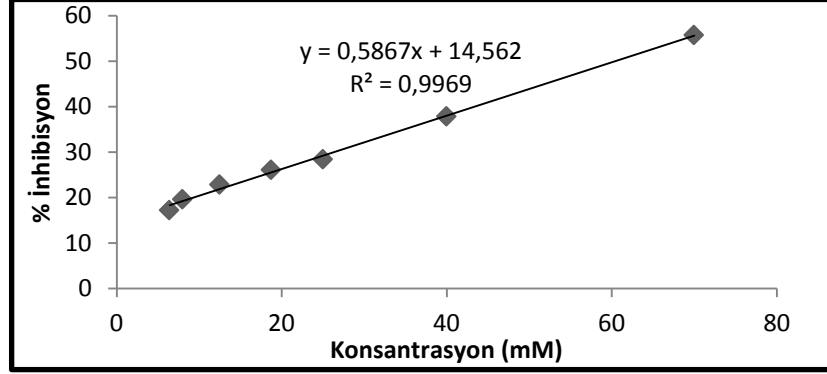
Şekil 12. *Salvia staminea* bitkisinin SOD yöntemi kalibrasyon grafiği

### 6.5.2. DPPH Radikali Temizleme Aktivitesi

Radikal süpürme aktivitesi olarakta bilinen DPPH radikali temizleme aktivitesi testlerine göre standart madde olarak kullanılan Askorbik asitin  $28.2 \mu\text{g mL}^{-1}$  'lık derişimine karşın belirlenen *Salvia staminea* bitkisinin  $\text{IC}_{50}$  değeri  $60.4 \mu\text{g mL}^{-1}$  olarak bulundu. Literatür verileri ile karşılaştırıldığı zaman diğer *Salvia* türlerine uygulanan bu test verileri ile elde ettiğimiz verilerin uyumluluk gösterdiği görüldü (29,30,31).



Radikal temizleme aktivitesi çalışmasında IC<sub>50</sub> değerinin bulunması için çizilen kalibrasyon grafiği Şekil 13'te görülmektedir.



**Şekil 13.** *Salvia staminea* bitkisinin DPPH yöntemi kalibrasyon grafiği

## 7. TARTIŞMA ve SONUÇLAR

Bu çalışmada *Salvia staminea* bitkisine ait uçucu yağlar GC-MS/ FID, SPME ve HS teknikleri kullanılarak analiz edildi. Elde edilen uçucu yağın kimyasal bileşimi aydınlatıldı, yağ verimi % 0.15 olmasına rağmen kimyasal bileşiminin oldukça zengin olduğu ve bunun büyük bir kısmının monoterpenoid hidrokarbonların oluşturduğu görüldü. Toplamda var olan otuz sekiz uçucu yağın otuz'unun terpenlere ait olduğu belirlendi.

Bu bitkilerdeki yapısını aydınlatamadığımız ya da saptayamadığımız bileşiklerin yapısını başka tür spektroskopik yöntemlerle aydınlatmak mümkündür.

Görüldüğü gibi yapısı aydınlatılan birçok bileşik terpen türü bileşiklerdir ve terpenlerin günümüzde ilaç, gıda, kozmetik gibi birçok alanda kullanılır olması nedeniyle bu tür bileşikler bakımından zengin içeriğe sahip olan bu bitkinin içeriğini aydınlatılmış olması son derece önemlidir. Bu doğal bileşikler bitkilerin uçucu yağlarından izole edilip saf hale getirilebilirler. Bunun yanı sıra monoterpenoidler özellikle şahsi bakım ürünlerinde ve evlerde kullanılan genel temizlik malzemelerinde esans maddesi olarak kullanıldıklarından ve bu monoterpenoidlerin bu türde bulunan bileşimi neticesiyle bitkinin kozmetik ve temizlik sektöründe yer almasını sağlayabilir.

Diğer *Salvia* türleriyle karşılaştırıldığında doğada yetişen *Salvia staminea* bitkisinin ana bileşeni olan Linalil Asetat'ın diğerlerinde bulunmadığı, ikinci ana bileşeni olan Limonen'in de diğer türlerde çok az olduğu görüldü. Linalool içerikleri sırasıyla *Salvia candidissima* Vahl. bitkisinde 0.31, *Salvia chionantha* bitkisinde 0.42, *Salvia potentillifolia* bitkisinde 0.43 olduğu görüldü. Farmasötik bahçeden toplanarak uçucu bileşenleri incelenen *Salvia staminea* bitkisinin ana bileşenlerinden biri olan ve *Salvia candidissima* Vahl. bitkisinin ana bileşeni olan  $\beta$ -pinen miktar bakımından benzerlik göstermektedir (28, 29, 30) Diğer bitkilerle farklılığın nedeni bitkilerin farklı ekosistemlerde yetişmesi, ekstraksiyon sırasında kullanılan çözücünün cinsi ve toplama zamanındaki farklılıklardır. Bununla birlikte bitkilerin doğal ortamlarından ayrılmalari durumunda stres faktörleri oluşmakta ve üründe nitelik ve nicelik bakımından kayıplara sebebiyet vermektedir. Buda ürünün kalitesinin ve miktarının azalmasına sebep olmaktadır. Bu faktörler biyotik olabileceği gibi abiyotik'te olmaktadır. Fiziksel ve kimyasal koşullar (kar, rüzgar gibi mekanik etkiler ve pestisitler, zirai ilaçlar gibi

kimyasallar) bitkilerin adaptasyon seviyesine göre bitkiye etki edebilmektedir. Işık stresi oluşması bitkinin doğrudan fotosentez mekanizması üzerine etki eder. Fotosentez sonucu oluşan karbohidratların üretiminin azalması doğrudan bitkinin üreteceği besin miktarını azaltmakta ve buna bağlı olarak bitki gelişiminin yavaşlamasına neden olmaktadır.

*Salvia* türlerindeki bu farklılıkların yanı sıra terpenlerin bir çoğu hepsinde ortak olarak bulunmaktadır ve içerikleri yönünden büyük oranla benzeştikleri de görülmektedir. İçeriklerinde'ki bu benzerlikler biyolojik aktivite sonuçlarının da birbirlerine yakın çıkmasını açıklamaktadır. Varlığı saptanan bileşiklerden  $\beta$ -karyofilen,  $\alpha$ -kopaen,  $\alpha$ -humulen, spatulenol,  $\beta$ -kadinen başta olmak üzere bir çok terpen diğer *Salvia* türlerinde de benzer olarak görülmüştür.

İzole edilip saf hale getirilen bu bileşiklerin antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri incelenebilir, tıbbi amaçla kullanılabilirliği araştırılabilir.

Bu çalışmada elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri 6 bakteri ve 1 mantar üzerinde test edilmiş olup daha çok gram pozitif bakterilere karşı aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca standart olarak kullanılan maddelerin aktivite göstermediği mantar türü üzerinde de aktivite gösterdiği gözlenmiştir. Elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri bu 6 bakteri ve 1 mantar haricinde farklı mikroorganizmalar üzerinde de incelenip aktivite gösterip göstermedikleri sonraki çalışmalarda araştırılabilir.

Bitki üzerinde yapılan antioksidan çalışmalarında, DPPH yönteminin sonucu SOD yöntemine göre bitkinin daha iyi antioksidan olduğunu göstermektedir. Laboratuvar imkanları gereği sınırlı kalmış olan bu çalışma bitkinin antioksidan aktivitesi hakkında net bir bilgi verememektedir. Bitkiler üzerinde yapılan antioksidan çalışma sayısının fazla olması aktivite üzerinde daha net yorum yapılabilmesi için gerekmektedir.

İçerdiği fenolik gruplar sayesinde iyi bir antioksidan özelliği bulunan bu bitkinin toksikolojik etkileri araştırıldıktan sonra kürlerinden ve çaylarından yararlanılabilir.

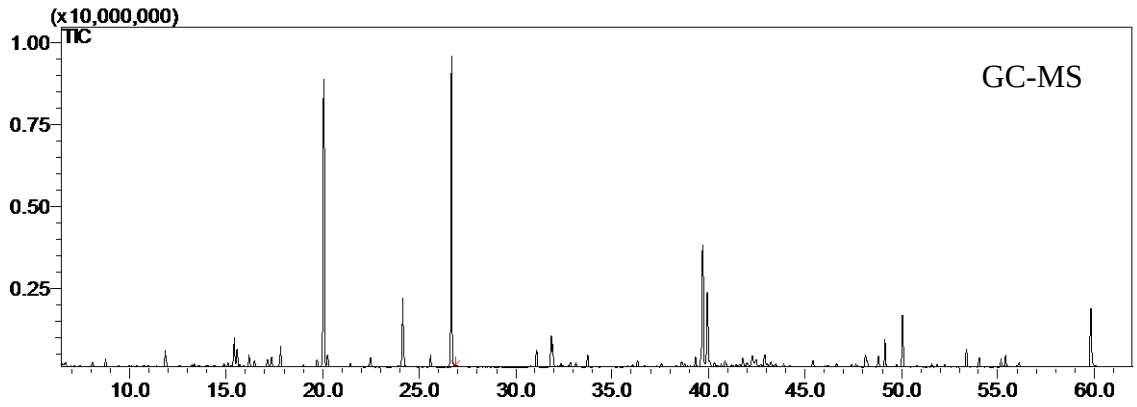
Sonuç olarak *Salvia staminea*'nın doğadan toplanarak uçucu içeriğinin ilk kez bu tezde çalışılmış olması bu çalışmaya özgünlük kazandırdı (32).

## 8. SONUÇLAR

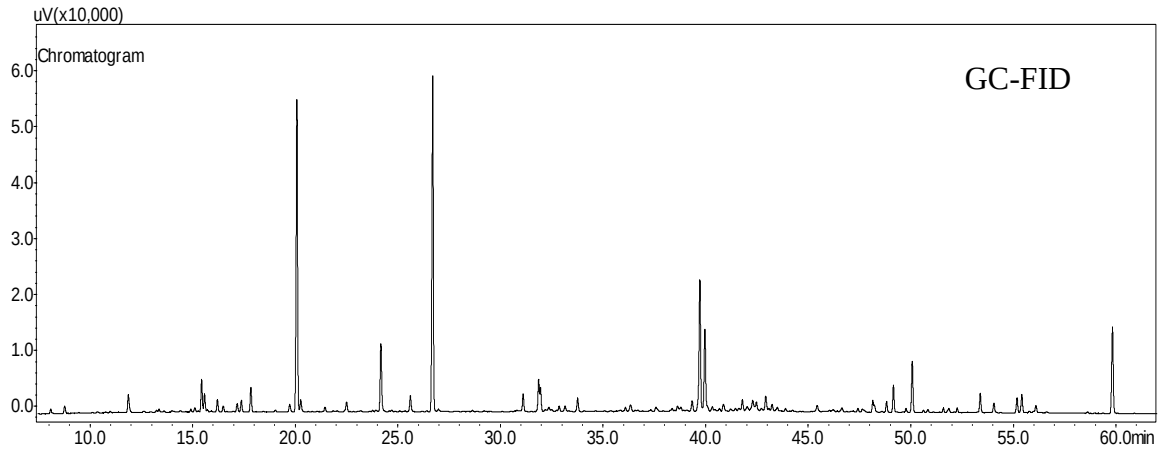
Bu çalışmada *Salvia steminea* bitkisine ait uçucu yağlardan GC-MS/ FID, SPME ve HS teknikleri kullanılarak sırasıyla 30, 17 ve 2 adet toplamda 38 bileşiğin yapısı aydınlatıldı. Bu bitkinin yapısını aydınlatamadığımız ya da saptayamadığımız bileşiklerin yapısını başka tür spektroskopik yöntemlerle aydınlatmak mümkündür. Yaptığımız analizde yapısı aydınlatılan birçok bileşik terpen türü bileşikler idi. Terpenlerin günümüzde ilaç, gıda ve kozmetik gibi birçok alanda kullanılması ve bitkide özellikle HS yöntemiyle iki tür bileşiğin elde edilmiş olması nedeniyle bu iki bileşik bu bitkiden kolaylıkla izole edilebilir saf hale getirilebilirler. İzole edilebilirliği ile birlikte doğrudan maddelerden izolasyon yapılabilirliği araştırılabilir.

Antienflamatuar özellik taşıdığı bilinen Linalil Asetat ve Linalool bileşiklerini (33) bolca yapısında bulunduran bu bitki iltihap kurutucu ilaçların yapımında da kullanılabilir. Buna ilaveten eczacılık, farmasötik ve gıda endüstrisinde katkı maddesi olarak da kullanılabilir. Bu sebeple daha sonraki çalışmalarda bu bileşenlerin belirlenmesi ve aktivite çalışmalarının *in vivo* ortamda yapılarak, *in vitro* ortamda yapılan denemelerin sonuçları *in vivo* yapılan deneme sonuçları ile karşılaştırılıp, birbiri ile uyumlu olup olmadığı test edilebilir.

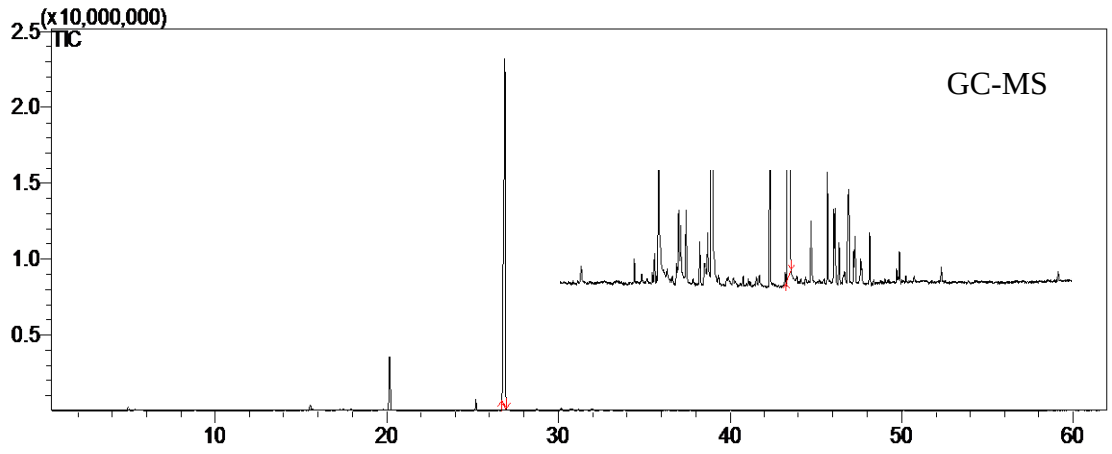
## 9.EKLER



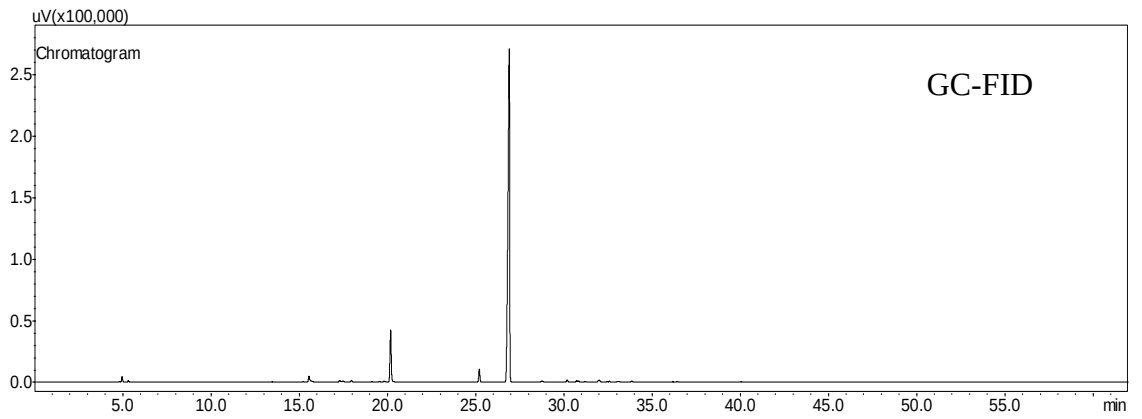
**Ek 1.** Clevenger ekstraksiyonu sonucu GC-MS kromatogramı



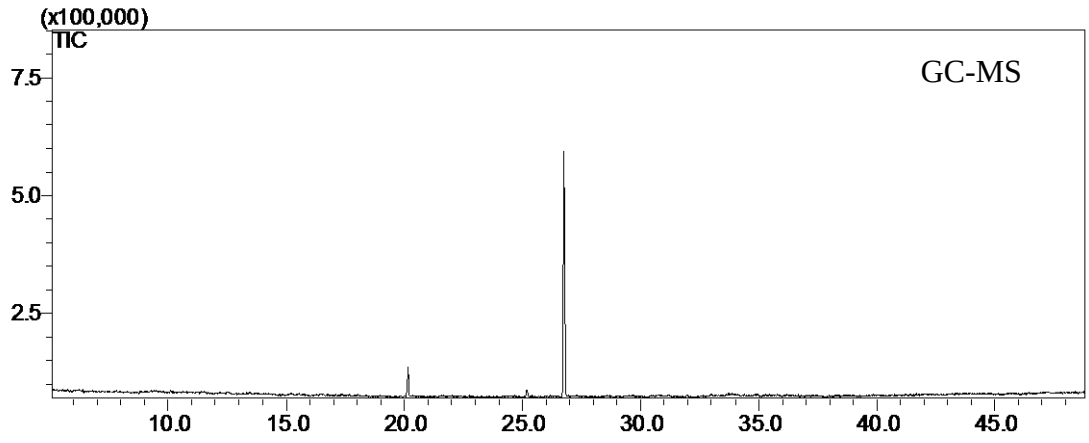
**Ek 2.** Clevenger ekstraksiyonu sonucu GC-FID kromatogramı



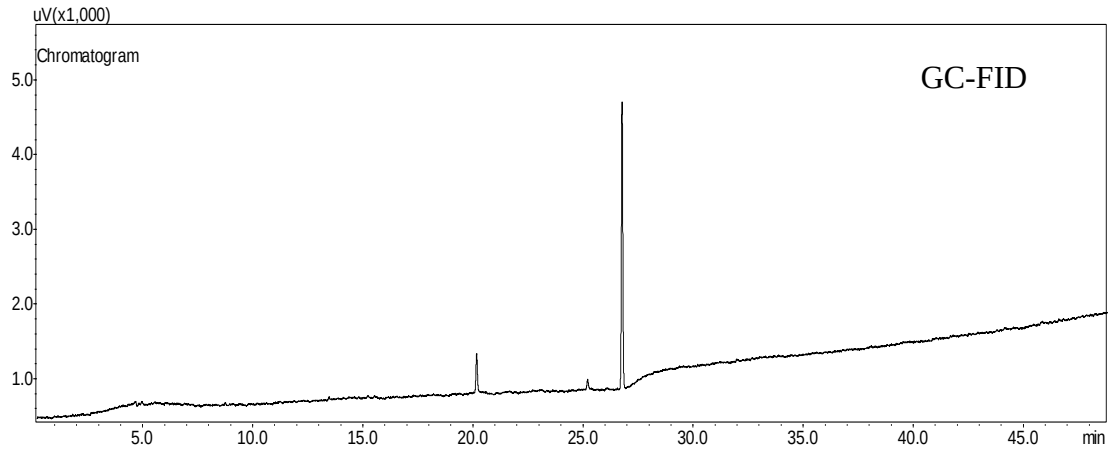
**Ek 3.** SPME ekstraksiyonu sonucu GC-MS kromatogramı ve yakınlaştırılmış kromatogram



**Ek 4.** SPME ekstraksiyonu sonucu GC-FID kromatogramı



**Ek 5.** Headspace ekstraksiyonu sonucu GC-MS kromatogramı



**Ek 6.** Headspace ekstraksiyonu sonucu GC-FID kromatogramı

## 10. KAYNAKLAR

1. Bayram E, Kırıcı E, Tansi S, Yılmaz G, Arabacı O, Kızıl S, Telci İ (2010). Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları. Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, Ankara, 11-15 Ocak 2010, 437-457
2. Baser KHC, Kurkcuoglu M, Aytac Z (1998). Composition Of Essential Oil Of *Salvia Euphratica* Montbret Et Aucher Ex Bentham Var. *Euphratica* From Turkey. *Flavour And Frag J* 13: 63-64
3. Bektas Tepe (2007) Antioxidant Potentials And Rosmarinic Acid Levels Of The Methanolic Extracts Of *Salvia Virgata* (Jacq), *Salvia Staminea* (Montbret & Aucher Ex Bentham) And *Salvia Verbenaca* (L.) From Turkey 5
4. Songül B (2006) Uçucu Yağlar Başbakanlık Dış Ticaret Müsteşarlığı İhracatı Geliştirme Etüd Merkezi
5. Kılıç A (2008). Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri. Bartın Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi 10 13.
6. Boyanay KÖ (2013). Turunçgil Yapraklarından Çeşitli Ayırma Yöntemleri İle Uçucu Yağ Eldesi ve Bileşiminin İncelenmesi. Yüksek Lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
7. Ekstraksiyon çeşitleri; süper kritik akışkan ekstraksiyonu <http://www.kimyaevi.org/tr/genel/belgegoster.aspx?f6e10f8892433cff679a66406202ccb01a2abceeaaf365e0>. Erişim Tarihi : 25.02.2014
8. Zehra A, Ayşegül D (2004). Gıdalarda Katı Faz Mikroekstraksiyon Tekniği İle Flavor Analizi. *Gıda Dergisi* 29(2): 169-175.
9. İskender NY (2007). Türkiye Doğal Vıburnum L. (*Caprifoliaceae*) Türlerinin Uçucu Yağ Bileşimleri ve Antimikrobiyal Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
10. Melli M. Türk Tabipler Birliği Bitkilerden ilaç edinmesi ve bitkilerin ilaç olarak kullanılması. Bu siteden erişilebilir. <http://www.ttb.org.tr/index.php/haberler/bitkilerden-alde-edilmesi-527.html> Erişim Tarihi:25.2.2014.



11. Atasü E, K Peteers İ (1981). Türkiye’de Yetişen *Withania Somnifera* Dun. Bitkisinin Kimyasal Bileşimi. Ankara Eczacılık Fakültesi Mec. Ankara.
12. Linskens HF, Jackson JF (1997). Modern Methods Of Plant Analysis, Vol. 19: Plant Volatile Analysis Springer, Germany.
13. Devon TK, Scott AI (1972). Handbook Of Naturally Occuring Compounds. Vol. 2, Terpenes, Academic Pres, New York.
14. Devon T. K Scott A I (1972)Handbook Of Naturally Occuring Compounds, Vol. 2, Terpenes, Academic Pres, New York.
15. <http://www.kimyaevi.org/tr/genel/belgegoster.aspx?f6e10f8892433cff7ee1f146ee5030e8d40dbaf123ec275>(Erişim tarihi:14.3.2014).
16. Merck chemicals laboratuar ürünleri UV-Spektrometresi tanıtım [http://www.merckmillipore.com/turkey/chemicals/uvvisspectroscopy/c\\_\\_ycb.s1l\\_pkaaewauıfvhtl](http://www.merckmillipore.com/turkey/chemicals/uvvisspectroscopy/c__ycb.s1l_pkaaewauıfvhtl) (Erişim tarihi:26.4.2014).
17. <http://www.analitık.hacettepe.edu.tr/demolar/kromatografi.pdf>
18. Talaro K, Talaro A (1993). Wm C. Brown Publishers Foundations in Microbiology 10: 296-310.
19. İskefiyeli Z. (2010) Ormangülü (*Rhododendron*) Uçucu Yağ Ve Ekstraktlarının Kimyasal Bileşimleri Ve Biyolojik Aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.
20. Kaya B, Ulaş N, Tunçel B (2011). Farklı Ph Larda Ekstraksiyonun Ve Test Ph'sının Antioksidan Aktivite Üzerine Etkisi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Bitirme Tez Çalışması.
21. Lamiaceae familyası genel bilgi erişim <http://tr.wikipedia.org/wiki/ball%c4%b1babagiller> Erişim tarihi:24.3.2014
22. Adams (2004) Javidnia Et Al., (2005); Jovanovic Et Al., (2004); Güleç Et Al., (2007); Küçük Et Al., (2006); Skaltsa Et Al., (2001), (2003); Yaylı Et Al., (2005); Couladis Et Al., (2002).
23. Woods GL, Brown-Elliott BA, Desmond EP, Hall GS, Heifets L, Pfyffer GE, Ridderhof JC, Wallace RJ, JR Warren NC, Witebsky FG (2003). Susceptibility

- Testing Of Mycobacteria, Nocardiae, And Other Aerobic Actinomycetes; Approved Standard. Nccls Document M24-A, 23 (18).
24. Topçu G, Kolak U, Öztürk M, Boğa M, Damla SH, Bahador F, Çulhaoğlu B, Dirmenci T (2013). Investigation Of Anticholinesterase Activity Of A Series Of Salvia Extracts And The Constituents Of Salvia Staminea. The Natural Products J 3: 3-9.
25. Adams RP (2004). Identification Of Essential Oil Components By Gas Chromatography-Mass Spectroscopy, Allured, Carol Stream, Il, Usa.
26. Pino Ja J (2005). Agric Food Chem 53:2213
27. National Institute Of Standards And Technology. Nist\Epa 365 \Nih Mass Spectral Library, Version 2.0, 2008
28. Güllüce H, Özer, Barış D, Daferera F, Şahin MP (2006). Turk J Biol 30: 231-233.
29. Diri HA (2006). Salvia Candidissima Vahl. Uçucu Bileşenlerinin Karakterizasyonu Ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
30. Kıvrak İ (2006). Salvia Potentillifolia Boiss & Heldr. Ex Bitkisinin, Bileşenlerinin Karakterizasyonu Ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
31. Gülsen T (2010). Salvia Chionantha'nın Uçucu Bileşenlerinin Karakterizasyonu, Antioksidan Ve Antikolinesteraz Aktivitelerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi Muğla Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.
32. Bitkilerde Stres [www.agri.ankara.edu.tr/fcrops/1289\\_\\_bitkilerde\\_stres.pdf](http://www.agri.ankara.edu.tr/fcrops/1289__bitkilerde_stres.pdf) Erişim Tarihi 15.04.2014
33. Peana At D, PSD, Panin F, Pippia P, Moretti MDL (2002). Anti-Inflammatory Activity Of Linalool And Linalyl Acetate Constituents Of Essential Oils 9 (8):721-726
34. Yaman G, Berktaş M, GÜDÜCÜOĞLU H (2012) Tartışılan Adjuvant ANKEM Dergisi 26: (46-54)

35. Celep, F., Kahraman, A. 2012. *Salvia* L. Güner, A., Aslan, S., Ekim., T., Vural, M. & Babaç, M.T. (eds.) Türkiye Bitkileri Listesi, (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını, İstanbul.

## 11. ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Soyadı, Adı** : ULAŞ, Nevin  
**Uyruğu** : T C  
**Doğum tarihi ve yeri** : 12.09.1989  
**Medeni hali** : Bekâr  
**E-Posta** : nevin.ulas@hotmail.com  
**Yazışma adresi** : 2 Nolu Erdoğan Mahallesi Belde Sokak  
E-1 Blok Dış Kapı No: 12 Kat: 1 D:3  
ORTAHİSAR/TRABZON

### EĞİTİM BİLGİLERİ

| Derece               | Mezun Olduğu Kurumun Adı                                                                    | Mezuniyet Yılı |
|----------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|
| <b>Yüksek Lisans</b> | Karadeniz Teknik Üniversitesi<br>Sağlık Bilimleri Enstitüsü Analitik<br>Kimya Anabilim Dalı | 2014           |
| <b>Lisans</b>        | Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen<br>Fakültesi Kimya Bölümü                                 | 2012           |
| <b>Lise</b>          | Trabzon Fatih Lisesi                                                                        | 2006           |

### YABANCI DİL

İngilizce

### ÖDÜLLER/ TEŞVİKLER/ BURSLAR

1. Tübitak proje yüksek lisans öğrenci destekleme bursu