



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARMAKOGNOZİ ANA BİLİM DALI

***Vicia bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca*
BİTKİLERİNİN UÇUCU BİLEŞENLERİ,
UÇUCU YAĞ VE EKSTRELERİN
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ**

Eren KOÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Prof. Dr. Nurettin YAYLI

TRABZON-2020

ONAY

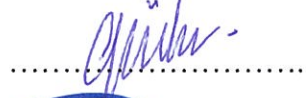
Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencisi Eren KOÇ'un hazırladığı “*Vicia bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* Bitkilerinin Uçucu Bileşenleri, Uçucu Yağ ve Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktiviteleri” başlıklı çalışma Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 24/01/2020

Prof. Dr. Nurettin YAYLI
(Danışman)



Doç. Dr. Gülin RENDA



Doç. Dr. Cemalettin BALTACI



Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne/...../20..... tarihinde teslim edilen bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../20..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ersan KALAY

Enstitü Müdürü V.

BEYAN

Yüksek lisans tezim olarak sunduğum, ‘*Vicia bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* Bitkilerinin Uçucu Bileşenleri, Uçucu Yağ ve Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktiviteleri’ adlı çalışmanın KTÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun olarak yazıldığını tarafımdan, bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve bunu onurumla doğrularım.

24/01/2020

Eren KOÇ

İthaf

Bu yüksek lisans tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve her zaman yanımda olan sevgili aileme ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Vicia bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* Bitkilerinin Uçucu Bileşenleri, Uçucu Yağ ve Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktiviteleri adlı bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakognozi Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır.

Danışmanlığımı üstlenen, çalışma konusunun seçiminde bana yol gösteren, araştırmalarımın başlangıcından bitimine kadar yardım ve desteğini esirgemeyen başta sayın hocam Prof. Dr. Nurettin YAYLI olmak üzere analizlerini yaptığım bitki örneklerinin teşhisini sağlayan sayın Prof. Dr. Kamil COŞKUNÇELEBİ ve biyolojik aktivite çalışmaları için sayın Prof. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU teşekkürü bir borç bilirim.

Laboratuvar çalışmalarımda tüm çalışma boyunca manevi desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Seda FANDAKLI ve Doktora öğrencisi Gözde KILIÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getiren, manevi destekleriyle yanımda olan, moral ve sevgi kaynağım aileme sonsuz teşekkür ederim.

Ecz. Eren KOÇ

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY	
BEYAN	
İthaf	
TEŞEKKÜR	
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
RESİMLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ	xi
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Fabaceae Familyası ve Özellikleri	3
2.1.1. <i>Vicia</i> Türlerinin Sistematikteki Yeri	4
2.2. Esansiyel Yağlar	6
2.2.1. Esansiyel Yağları Taşıyan Organlar	7
2.2.2. Esansiyel Yağların Görevleri	7
2.2.3. Esansiyel Yağların Eldesi İçin Geliştirilen Metotlar	7
2.2.3.1. Su Distilasyonu	8
2.2.3.2. Buhar Distilasyonu	9
2.2.3.3. Vakum Distilasyon	10
2.2.3.4. Hidrodifüzyon	11
2.2.3.5. Mekanik Presleme Yöntemi	11
2.2.3.6. Ekstraksiyon Yöntemleri	12
2.2.4. Esansiyel Yağların Genel Özellikleri	18
2.2.5. Esansiyel Yağların Kimyasal Birleşimi	19
2.2.5.1. Terpenik Birleşikler	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. Bitki Materyali	31
3.2. Clevenger Yöntemi ile Uçucu Yağ Eldesi	31

3.3. <i>n</i> -Hekzan, Asetonitril, Metanol ve Su Ekstrelerinin Eldesi	31
3.4. Uçucu Yağların GC-FID/MS Analiz Yöntemi	32
3.5. Antimikrobiyal Aktivite Yöntemi	32
3.5.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu	33
3.5.2. Minimum İnhibisyon Yöntemi	33
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	44
5.1. <i>V. bithynica</i> ve <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> Bitkilerinin Uçucu Bileşenleri	44
5.2. <i>V. bithynica</i> ve <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> Bitkilerinin Uçucu Yağ ve Çözücü Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri	48
6. KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	60

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
Tablo 1. <i>Vicia</i> L. bitkiler alemindeki sistemağı	4
Tablo 2. Terpenlerin izopren ve karbon atom sayılarına göre sınıflandırması	20
Tablo 3. <i>V. bithynica</i> bitkisinin esansiyal yağ bileşenleri	35
Tablo 4. <i>V. bithynica</i> bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri	36
Tablo 5. <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> bitkisinin uçucu yağ bileşenleri	39
Tablo 6. <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri	40
Tablo 7. <i>V. bithynica</i> ve <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstrelerinin antimikrobiyal inhibisyon çapları	42
Tablo 8. <i>V. bithynica</i> ve <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstrelerinin antimikrobiyal minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri (MİK, µg/ml)	43
Tablo 9. <i>V. bithynica</i> ve <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> bitkilerinin uçucu bileşenlerindeki bileşik sınıfları ve miktarları	44
Tablo 10. <i>V. bithynica</i> bitkisinin terpenik esansiyal yağ bileşenleri	45
Tablo 11. <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i> bitkisinin terpenik uçucu yağ bileşenleri	46

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1. Basit distilasyon düzeneği	8
Şekil 2. Clevenger düzeneği	9
Şekil 3. Buhar distilasyon düzeneği	10
Şekil 4. Vakum distilasyon düzeneği	10
Şekil 5. İzopren yapısı	20
Şekil 6. Bazı hemiterpenoid moleküllerinin yapıları	21
Şekil 7. Bazı asiklik yapılı monotermenler	22
Şekil 8. Esansiyel yağlarda bulunan monosiklikmonotermenlerin örnekleri	23
Şekil 9. Uçucu yağlardaki bazı bisiklikmonotermenler	24
Şekil 10. Bazı oksijenli asiklik seskiterpenler	25
Şekil 11. Monosiklik bisabolen seskiterpenler	25
Şekil 12. Bazı bisiklik seskiterpenler	26
Şekil 13. Bazı trisiklik seskiterpen bileşikleri	26
Şekil 14. Fitol bileşiği	27
Şekil 15. Retinol	27
Şekil 16. Manool ve sclareol	28
Şekil 17. Skualen bileşiği	28
Şekil 18. Tetraterpen yapılı β -karoten ve likopen bileşikleri	29
Şekil 19. Vitamin K1 ve doğal kauçuk politerpenleri	30

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 1. <i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i>	5
Resim 2. <i>V. bithynica</i>	5
Resim 3. Uçucu yağ eldesinde kullanılan Clevanger düzeneği	31
Resim 4. GC-FID/MS cihazı	32



KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

ALA	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BÇE	Basınçlı çözücü ekstraksiyonu
BHI	Brain heart infusion
FID	Alev iyonizasyon dedektörü
GC	Gaz kromatografisi
GC-FID/MS	Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi/Alev iyonizasyon dedektörü
GC-MS	Gaz kromatografisi-Kütle spektrometresi
Gram (-)	Gram negative
Gram (+)	Gram pozitif
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
Kob	Koloni oluşturan birim
LC-MS	Sıvı kromatografisi-Kütle spektrometresi
MÇE	Mikrodalga destekli çözücü ekstraksiyonu
MHA	Mueller-Hinton agar
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
NCCLS	National committee for clinical laboratory standard
PDA	Potato dextrose agar
RI*	Referans değeri
RT	Alıkonma zamanı
SAE	Süperkritik akışkan ekstraksiyonu
SPME	Katı faz mikro ekstraksiyon
TLC	İnce tabaka kromatografisi

Simgeler

Dk	Dakika
GHz	Giga Hertz
G	Gram
MHz	Mega Hertz
µg	Mikrogram

µm	Mikrometre
Mg	Miligram
mL	Mililitre
Mm	Milimetre
Nm	Nanometre
°C	Santigrat
U	Ünite
%	Yüzde



ÖZET

***Vicia bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca*. Bitkilerinin Uçucu Bileşenleri, Uçucu Yağ ve Ekstrelerin Antimikrobiyal Aktiviteleri**

Bu çalışmada, Doğu Karadeniz Bölgesinde yetişen *Vicia bithynica* L. ve *V. cracca* L. subsp. *cracca* türlerinin uçucu bileşenleri ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu yağları hidrodestilasyon yöntemiyle elde edildi. Ayrıca bitkilerden maserasyon yöntemine göre *n*-hekzan, asetonitril, metanol ve su ekstraktları da hazırlanmıştır. Bitkilerden elde edilen uçucu yağ bileşenleri GC-FID/MS cihazı kullanılarak aydınlatıldı. *V. bithynica* türünün uçucu yağında en fazla miktarda bulunan bileşikler sırasıyla trans β -osimen (%24.91), 2-pentil furan (%11.20) ve benzaldehit (%9.15) olarak tespit edilmiştir. *V. cracca* subsp. *cracca* türünün uçucu yağında en yüksek oranda tespit edilen madde 2-etil furan (%27.26, aromatik bileşik) tespit edilmiştir. Bununla birlikte *n*-hekzanal (%18.91), 2(*E*)-hekzanal (%11.85), pelargon aldehit (%9.97) gibi aldehitler de *V. cracca* subsp. *cracca* türünün uçucu yağ birleşiminde bulunan diğer ana bileşenlerdir.

Her iki tür için elde edilen uçucu yağlar *n*-hekzan, asetonitril, metanol ve su ekstraktlarının dokuz ayrı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmıştır. *V. cracca* subsp. *cracca* bitkisinin *n*-hekzan ve su ekstraktlarında aktivite gözlenmezken diğer ekstraktlar mikroorganizmalara karşı spesifik olmasa da etkinliğinin var olduğu gözlenmiştir. *V. cracca* subsp. *cracca* bitkisinin uçucu yağı sadece *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bacillus cereus* ve *Mycobacterium smegmatis*'e karşı minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri 170-680 $\mu\text{g/ml}$ aralığında bulundu. *V. bithynica* türünün uçucu yağında sadece *Staphylococcus aureus* ve *B. cereus*'e karşı etki gösterdiği ve MİK değerinin 1152-2305 $\mu\text{g/ml}$ olduğu bulundu. *V. bithynica* bitkisinin diğer tüm ekstraktlarının *Y. pseudotuberculosis* hariç test edilen diğer mikroorganizmalara karşı MİK değeri 30-5587 $\mu\text{g/ml}$ aralığında gözlemlendi. *V. bithynica* bitkisinin *n*-hekzan ve asetonitril ekstraktlarında en iyi aktivite *M. smegmatis* ve *Candida albicans*'a karşı 30 $\mu\text{g/ml}$ MİK değeri bulundu. Sonuç olarak *V. bithynica*'nın *n*-hekzan ekstresinin (MİK, 30-235 $\mu\text{g/ml}$) ve *V. cracca* subsp. *cracca*'nın asetonitril ekstresinin (MİK, 46-730 $\mu\text{g/ml}$) en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyal aktivite, GC-FID/MS, Uçucu yağ, *Vicia cracca* subsp. *cracca* ve *V. bithynica*.

ABSTRACT

Volatile Components and Antimicrobial Activities of Essential Oil and Extracts of *Vicia bithynica* and *V. cracca* subsp. *cracca* Plants

This study was aimed to determine volatile constituents and antimicrobial activities *Vicia bithynica* L. and *V. cracca* L. subsp. *cracca* grows in the east part of blacksea region. Essential oils of *V. bithynica* and *V. cracca* subsp. *cracca* were obtained by hydrodistillation method. In addition, *n*-hexane, acetonitrile, methanol and water extracts were also prepared according to maceration method. Essential oil components obtained from plants were identified by GC-FID / MS. The most common compounds found in the essential oil of *V. bithynica* were found to be trans β -oximene (24.91%), 2-pentyl furan (11.20%), benzaldehyde (9.15%). 2-Ethyl furan (27.26%, aromatic compound) was found to be the highest detected substance in the essential oil of *V. cracca* subsp. *cracca* species. In addition, *n*-hexanal (18.91%), 2(*E*)-hexanal (11.85%), and pelargon aldehyde (9.97%) compounds were also the other main components of the essential oil of *V. cracca* subsp. *cracca*.

Antimicrobial activity studies for the obtained essential oils, *n*-hexane, acetonitrile, methanol, and water extracts of both species were tested against nine different microorganisms. No activity was observed in *n*-hexane and water extracts of *V. cracca* subsp. *cracca*, while other extracts were found to have moderate activity for the tested different microorganisms. The essential oil of *V. cracca* subsp. *cracca* was found to have a minimum inhibition concentration (MIC) value in the range of 170-680 $\mu\text{g/ml}$ only against *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bacillus cereus* and *Mycobacterium smegmatis*. Antimicrobial activity for the essential oil of *V. bithynica* showed activity only against *Staphylococcus aureus* and *B. cereus* with 1152-2305 $\mu\text{g/ml}$ MIC values. All the extracts of *V. bithynica* plant were observed to have MIC values in the range of 30-5587 $\mu\text{g/ml}$ against tested microorganisms except *Y. pseudotuberculosis*. The best activity was found in *n*-hexane and acetonitrile extracts of *V. bithynica* with 30 $\mu\text{g/ml}$ MIC value against *M. smegmatis* and *Candida albicans*. As a result, *n*-hexane extract of *V. bithynica* (MIC, 30-235 $\mu\text{g/ml}$) and the acetonitrile extract of *V. cracca* subsp. *cracca* (MIC, 46-730 $\mu\text{g/ml}$) have the highest antimicrobial activity among them.

Key words: Antimicrobial activity, Essential oil, GC-FID/MS, *Vicia cracca* subsp. *cracca* and *V. bithynica*

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Vicia L. türleri Fabaceae familyasına ait olup genelde tarımı yapılmaktadır. İnsanlar ve hayvanlar için kolay bulunabilir maliyeti düşük protein kaynağı olarak kullanılmaktadır (1). Dünyada *Vicia* cinsine ait yaklaşık 150 tür bulunmaktadır. Bu türlerden 59'u Türkiye'de doğal olarak yetişmektedir (2). *Vicia cracca* subsp. *cracca* Anadolu'da doğal olarak yetişmekte olup kurutularak kaba yem olarak değerlendirilmektedir. Bununla birlikte arılar için nektar kaynağıdır (3). *Vicia* bitkilerinin bazı türlerinde aminoasitler, şeker alkoller, yağ asitleri, organik, inorganik asitler ve sekonder metabolitler ve glikozit türevleri bileşikler bulunmaktadır (4).

Vicia angustifolia Reichard, *Vicia narbonensis* L., *V. cracca* subsp. *cracca*, *Vicia hybrida* L., *Vicia ervilia* L. Willd ve *Vicia peregrina* L. ile yapılan çalışmada tohum yağları proteinleri, tanen içerikleri ve yağ asidi bileşimleri bakımından karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Tohumların ortalama protein içeriğinin %21.87-%31.33 arasında ve tanen içeriğinin ise %0.13-%0.17 arasında bulunduğu belirtilmiştir. Altı farklı *Vicia* türünün yağ asidi metil esterlerinin tayini gaz kromatografisi ile yapılmış olup yağlı tohumlarda palmitik ve stearik yağ asitlerin ana bileşen olduğu ve az miktarda miristik, palmitoleik asitlerin bulunduğu rapor edilmiştir. Yağlı tohumlarda doymamış yağ asitlerinden oleik, linoleik ve linolenik asitler bulunmaktadır. Yapılan bu çalışmaya göre *Vicia* türlerinin toplam doymuş yağ asitleri oranı %18.5 ile %22.4 arasındayken toplam doymamış yağ asitleri oranı %71.1 ile %80.3 arasında olduğu görülmüştür (5).

V. narbonensis L., *V. hybrida* L., *V. peregrina*, *V. cracca* subsp. *cracca* türleri üzerinde yapılan çalışma da yağ asitleri hekzan ile ekstre edilip (6) ve GC analizleri sonucunda linoleik asidin değişen oranlarda ana bileşen olduğu rapor edilmiştir (%43.65-%63.84). Linoleik asitin vücutta immün mekanizma için gerekli esansiyel yağ asitlerinden olup, B ve T lensofitleri aktivasyonu için etkin olduğu bilinmektedir (7).

Ayrıca *V. sativa* subsp. *nigra*, *V. cracca*, *V. monantha* ve *V. hyrcanica* türleri üzerinde fenolik miktar tayini ve antioksidant çalışmaları yapılmıştır (8, 9).

Vicia türlerinin uçucu bileşen olarak yapılan çalışmalarında; *V. unijuga* ve *V. costata* (10)'ın, *V. faba* (11-13), *Vicia variabilis* Frein & Sint (14), *Vicia dadianorum* Somm.& Lev. (15) ve *Vicia sativa* (16, 17)'nin GC-MS analizlerine rastlanmıştır.

Literatürde *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu bileşen ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları üzerinde analizlere rastlanmamıştır. Bu nedenle, Lisansüstü Tez projesi kapsamında ‘*V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu bileşenleri, uçucu yağ ve ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri’başlıklı araştırmada açık havada kurutulmuş *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* türlerinin Clevenger yöntemi ile uçucu yağları elde edildi.

Her iki kuru bitkinin *n*-hekzan, asetonitril, metanol ve su ekstreleri hazırlandı. Projenin ilk adımında Clevenger yöntemi ile elde edilen uçucu yağ bileşikleri GC-FID/MS cihazında analiz edilmiştir. Çalışmanın ikinci adımında ise; elde edilen uçucu yağ, *n*-hekzan, asetonitril metanol ve su ekstrelerinin dokuz ayrı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fabaceae Familyası ve Özellikleri

Leguminosae familyası (Fabaceae) ekonomik önemi olan büyük çiçekli bitki familyalarındandır. Familyanın tipik çiçek yapısı, legümen veya lomentum tipte meyvesi ve stipüllü yapraklarıyla tanınır. Ağaç, çalı, çok veya tek yıllık otsu bitkileri içermektedir (18). Fabaceae familyasına ait *Vicia* cinsinde türler genellikle sarılıcı, bir, iki veya çok yıllık otsu bitkilerdir. Bu cinse ait türlerde oldukça yüksek varyasyona rastlanır, homolog varyasyon oldukça yaygındır (19).

Dünyada yaygın olarak görülen fiğ cinsleri, *Vicilla* ile *Vicia* şeklinde iki alt gruba ayrılmaktadır (20). *Vicia* bitkisi, doğada yaklaşık 150 tür içermekte olup bu türler ülkemizde yaygın olarak görülmektedir. Ülkemizde yaygın olarak görülen fiğ cinsleri, 59 adet tür barındırmaktadır. Bu türlerin çoğu bir yıllıktır (21).

V. cracca subsp. *cracca* Anadolu'da doğal olarak yetişmekte olup kurutulup kaba yem olarak değerlendirilmektedir ve kuş fiği olarak tanınmaktadır. *V. bithynica* ise öküz baklası olarak bilinmektedir (22). *Vicia* cinsi yurdumuzda en fazla yetişen yemgillerden olup, tek yıllık bir bitkidir. Meyveleri yüksek oranda protein içerdiğinden hayvan beslenmesinde yem olarak tercih edilmektedir. *Vicia* bitkilerinin bazı türlerinde aminoasitler, şeker alkoller, yağ asitleri, organik, inorganik asitler ve diğer sekonder metabolitler ve glikozit türevi bileşikler bulunmaktadır (23). Hayvancılıkta antimikrobiyal ve antihelmintik hastalıkların önüne geçme adına yapılan çalışmada *V. cracca* türüne ait antihelmintik ve antimikrobiyal etkilerinin olmadığı belirtilmiştir (24).

Fiğ tohumları, kümes hayvanları ve çiftlik hayvanları için önemli bir protein ve enerji kaynağı olup içerdikleri vitaminler, bağışıklık sistemi üzerine olumlu etkileri ve serbest radikallere karşı bariyer olmasından kaynaklı önem arz etmektedir. Bitki türleri arasında vitamin içeriği, genetik özellikler ve ekolojik bazı durumlara göre değişkenlik gösterdiği görülmüştür.

Hayvan beslenmesinde özellikle A vitamini ön plana çıkmakta olup A vitamini eksikliğinde hayvanlarda mortalite artmaktadır. Ayrıca A vitamini buzağılarda görülen enteritin klasik tedavisinde kullanılmaktadır. Hayvan yemi olarak kullanılabilecek Doğu Anadolu bölgesinde yaygın olarak yetişen. *V. ervilia*, *Vicia michauxii* Sprengel, *Vicia anatolica* Turrill, *Vicia mollis* Boiss. et Hausskn. Ex Boiss., *Vicia noeana* Reuterex Boiss.,

V. sericocarpa Fenzl. ve *Vicia peregrina* L. yedi tür fiğ A, C ve E vitaminleri ve β -karoten seviyelerini belirlemesi adına yapılan bir çalışmada, yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC) yöntemi kullanılmıştır. Bu çalışmada, vitamin içeriğinin olgun ve olgun olmayan tohumlar arasında farklılık gösterdiği tespit edilmiş olup A, C, E ve β -karoten vitaminlerinin olgun tohumlarda olgunlaşmamış tohumlara oranla daha yüksek çıktığı görülmüştür. Yapılan çalışmada farklı *Vicia* türlerinin olgun tohumları arasında, *V. anatolica*'da (0.9225 g/g) diğer altı türe oranla daha fazla A vitamini tespit edilmiştir ve olgun tohumlar arasında en düşük A vitamini içeriği *V. sericocarpa*'da (0.3026 μ g/g) bulundu. Olgun tohumlardan *V. noeana*'nın (13.4142 μ g/g) diğer türlere oranla daha fazla C vitamini içerdiği tespit edilmiş olup *V. michauxii*'nin (2.7886 μ g/g) olgun tohumlar arasında en düşük C vitamini seviyesine sahip olduğu tespit edildi (25).

Vicia faba L. Akdeniz bölgesinde geleneksel tedavi yöntemleri arasında kolesterolü kontrol altına almak için antihiperlipidemik olarak kullanıldığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarla *V. faba*'nın, çiçeklerinin bir lipaz ve melanogenez inhibitörü olarak kullanılabileceğini böylece cilt beyazlatıcı bir ajan olarak etkisini gösterebileceğini belirtmiştir (26).

V. faba'nın tohumlarından alkaloid, saponin, flavonoidler ve fenolik bileşenler aydınlatılmıştır (11). Ayrıca aynı bitkiden toplam 155 adet çok farklı kimyasal yapılarda sekonder metabolitler aydınlatılmıştır. Bu bileşikler karbohidrat, amino asit, organik asit, alkaloid, terpenoid, jasmonat ve polifenol bileşikler olarak belirtilmiştir. Aydınlatılan bu bileşiklerin 73 tanesinin ilk defa bu bitkiden izole edildiği rapor edilmiştir (27).

2.1.1. *Vicia* Türlerinin Sistematikteki Yeri

Vicia L. Faboideae alt familyasında yer alan bir cinstir ve sistematığı aşağıda Tablo 1'de görülmektedir (28).

Tablo 1. *Vicia* L. bitkiler alemindeki sistemağı

Alem	:	Plantae
Bölüm	:	Magnoliophyta
Sınıfı	:	Magnoliosida
Alt Sınıf	:	Rosidae
Takımı	:	Fabales
Familyası	:	Fabaceae
Alt familyası	:	Faboideae
Cinsi	:	<i>Vicia</i> L.



Resim 1. *V. cracca* subsp. *cracca*



Resim 2. *V. bithynica*

Çalışmaya konu *V. cracca* subsp. *cracca* ve *V. bithynica* bitkilerin Resim 1-2’de görüldüğü gibi Trabzon, Kanuni Kampüsünden toplanmıştır ve aşağıdaki gibi herbaryum numarası verilmiştir.

Vicia bithynica L. (Fabaceae): Trabzon, Kanuni Kampüsü, 22 Mayıs 2018, Coşkunçelebi 1251 (KTUB).

Vicia cracca L. subsp. *cracca* (Fabaceae): Trabzon, Merkez Kanuni Kampüsü, 24 Mayıs 2018, Coşkunçelebi 1259 (KTUB)

2.2. Esansiyel Yağlar

Esansiyel yağlar, genel olarak aromatik yağlar, esans yağları ya da eterik yağlar olarak farklı isimlerle de isimlendirilebilmektedir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar renksiz veya açık sarı renkli tonlarında olabilirler. Esansiyel yağlar; etkin, güçlü koku içeriğine ve zamanla buharlaşabilme özelliğine sahip uçucu bileşenlerden oluşmaktadır (29). Kodeks de önemli bir kısım kaplayan uçucu yağlar, bütün olarak daha çok yüksek sıcaklığa sahip iklimdeki ülkelerde ve daha ılıman sıcaklığa sahip Akdeniz coğrafyasını da içine alan geniş bir yelpazede yetişen farklı yapıdaki esans içeren bitkilerden sağlanır (30). Uçucu yağlar bitkinin birçok farklı organından elde edilir ve bu organlar çiçek kısmı, yaprak kısmı, kök kısmı ve tohum kısımlarıdır. Bu yağlar genel olarak su, su buharı ya da vakum distilasyonu ve bunun haricinde birçok ekstraksiyon metodundan yararlanarak eldesi sağlanır. Bitkilerin karakteristik kokuları içerdikleri uçucu yağdan kaynaklı olup, bu yağlar 25 °C’de genel olarak sıvı olup ve kolaylıkla kristalleşebilir. Oda sıcaklığında bırakıldıklarında buharlaşabilen genellikle güzel kokulu karışımlardır. Sabit yağlardan farklı olarak süzgeç kağıdında iz bırakmazlar (29-31).

Uçucu yağların ana bileşenleri terpen yapılı bileşiklerdir. Monoterpenler bu yapılarda oran açısından daha fazla miktarda olup, daha küçük oranlarda seskiterpen ve diterpenler de bulunmaktadır. Bunların yanında az oranda alkol, asit, aldehit, keton, ester, lakton ve çok daha az miktarda azotlu ve kükürtlü yapılarda bileşikler bulunmaktadır. Uçucu yağların birleşimindeki içerik miktarları; üretim şekli, bitkinin hangi kısmından elde edildiği, yetiştirildiği bölgenin iklim koşulları gibi durumlara göre değişkenlik gösterebilir. Terpen yapıların oksijen içerikli birleşimleri kokusu, tadı ya da tedavi özelliği açısından ön plana çıkmaktadır (32). Son yıllarda uçucu yağlar; farmakoloji dalında, tarımsal uygulamalarda, kozmetik ürünlerinde ve tamamlayıcı tedavi amaçlı olarak görülen aromaterapide kullanımı artmıştır. Ayrıca tedavi yöntemi olarak son yıllarda ön plana çıkan masaj veya ferahlatıcı banyoda kullanımı mevcuttur. Geçen zaman içinde bu yağlar, kokuların eldesi ayrıca tat endüstrisinde kıymetli bir statüye kavuşmuştur. İlaç sektöründe ilaçların kokularını ya da tat düzeyini dengeleyici bir unsur olarak kullanılmasının haricinde, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi bu yağları genel çapta güven veren ve zarar vermeyen kategorisine koymuştur (32, 33).

2.2.1. Esansiyel Yağları Taşıyan Organlar

Esansiyel yağlar bitkilerin farklı kısımlarında olup her bitki için ayrı ayrı organlardan eldesi mevcuttur. Uçucu yağları bitkinin her organında rastlamak mümkün olup Flos (Lavanta), Petal (Gül), Folia (Nane), Meyve (Anason), Herba (Kekik), Cortex (Tarçın), Kök (Valeriana) gibi örnekler verilebilir. Umbelliferae meyvelerinde perikarpta, nanede gövde ve yapraktaki salgı tüylerinde, portakalda hem çiçekte (petal) hem de meyve kabuğunda uçucu yağların aynı bitkinin farklı organlarında bulunması söz konusudur. Uçucu yağlar; familyaya bağlı olarak; salgı tüyünde, salgı cebinde, salgı kanalında, salgı hücrelerinde değişikliğe uğramış parankima hücrelerinde, epiderma hücrelerinde bulunabilmektedir (34).

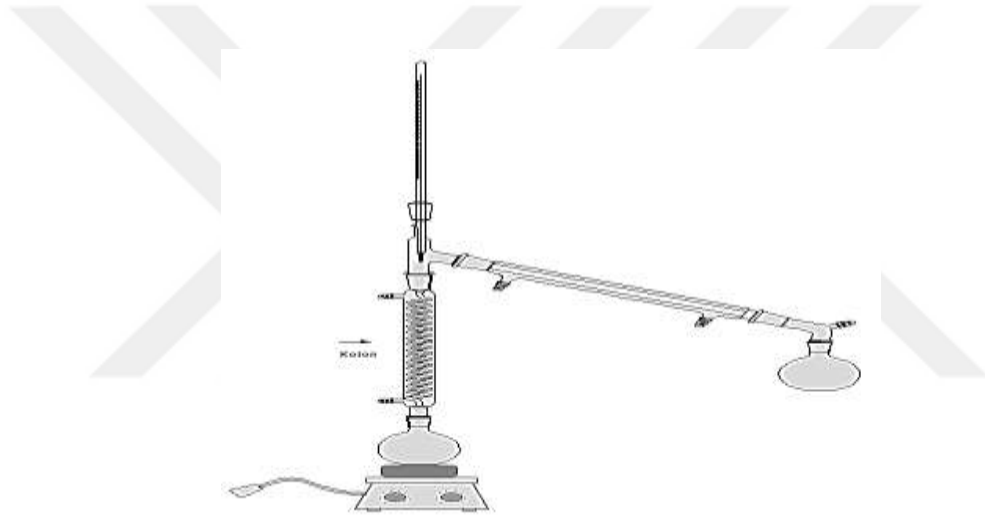
2.2.2. Esansiyel Yağların Görevleri

Esansiyel yağlar eski çağlardan beri birçok medeniyet tarafından kullanıldığı bilinmektedir. Örnek olarak fesleğen ve limon kekiği uçucu yağları zararlı bazı haşerelere karşı kovucu etkisi ön plana çıkmaktadır. Terpen birleşiklerinin bazıları zehirli özellik taşımasından kaynaklı terpen taşıyan bitkileri, besin olarak kullanan birçok canlıya karşı bitkiyi koruyucu mekanizmaları ortaya konulmuştur. Bu nedenle bitki savunmasında önemli roller üstlenirler. Papatyagillerden solucan otunun uçucu yağında çok zehirli uçucu yağlar bulunur. Bu bitkinin bu özellikleri sayesinde böceklerin uçucu yağı solunum yoluyla aldığı ve ortamdan uzaklaştığı görülmüştür. Çok fazla sayıda bitki, uçucu yağ maddesi olan monoterpen taşımaktadır. Bu monoterpenler, bitkiye yararı olan böcek ve benzeri canlıları kendisine yönlendirerek polenleşme için önemli bir parametreyi olumlu yönde etkilerler. Bitkiyi zararlı böceklere karşı güçlendirmektedir. Esansiyel yağlar, ileri düzeyde buharlaşma mekanizmasından ötürü ortaya çıkan suyun kaybedilmesinin önüne geçerken, oksidasyon/redüksiyon reaksiyonlarının neticesinde hidrojen transferinde görev üstlenirler. Esansiyel yağlar böceği kendine çekerek tozlaşmanın daha kolay ilerlemesini ve zararlı birçok canlıya karşı bitkinin savunma mekanizmasında önemli görevler üstlenir (34, 35).

2.2.3. Esansiyel Yağların Eldesi İçin Geliştirilen Metotlar

Esansiyel yağların elde edilmesi için 14. yüzyıldan itibaren bazı Avrupa ülkelerinde distilasyon yöntemini kullanılmış olup 16. yüzyılın ortalarında diğer bilim dallarına cevap alınabilmesi adına yeni metotlar geliştirilmeye çalışılmıştır (36).

Uçucu yağların eldesinde daha çok distilasyon yöntemi ön plana çıkmaktadır. Distilasyonda ki amaç uçucu bir sıvıyı, genellikle uçuculuk seviyeleri aynı olmayan maddeleri, uçuculuk özelliği taşımayan bir üründen ayırıştırma esasına dayanır. Distilasyon işleminde sıvı olan maddelerin sıvı halden buhar haline dönüşümü olayı farkındalık yaratmasından ortaya çıkan bir ayırıştırma metodu olup, bu metot sonucu oluşturulan esansiyel yağlar, kaynama noktası derecesinin düşük olduğu birleşikler de çok fazla miktarda kullanılırken; çok az oranda da kaynama noktası derecesi fazla ve su içinde çözünebilen birleşikleri ayırt etmek için kullanılmaktadır (37). Şekil 1’de basit distilasyon düzeneği gösterilmiştir. Distilasyon işlemi için geliştirilen metotlar üçe ayrılmakta olup bunlar, su distilasyonu, buhar distilasyonu ve vakum distilasyonudur.

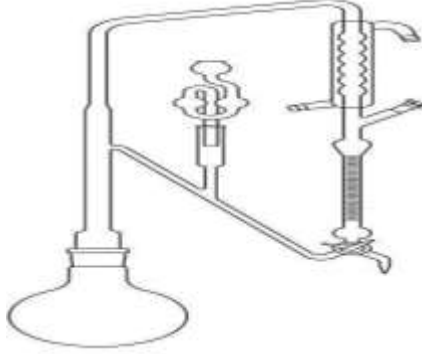


Şekil 1. Basit distilasyon düzeneği (Young’dan, 37)

2.2.3.1. Su Distilasyonu

Su distilasyonu, kaynatıldığı zaman bozulma oluşmayan kuru haldeki bitki materyallerinde uygulanmaktadır. Bu yöntem içeriğinde ester bileşeni fazla olan uçucu yağ eldesinde hidrolizlenme nedeniyle tercih edilmemektedir. Bu yöntemle göre distilasyon düzeneği kapsamında su ve kuru materyelin 2 ile 8 saat içerisinde kaynatılmasıyla oluşan uçucu bileşen ve su buharının soğutucuda yoğunlaştırılarak yoğunluk farkı nedeniyle ayırıştırılması esasına dayanmaktadır. Bu yöntem ucuz ve kolay bir şekilde uçucu yağ eldesi olanağı sağlar. Küçük ölçekli üretimlerde laboratuvar tipi Clevenger kullanılırken, endüstriyel sahada büyük distilasyon kazanları kullanılmaktadır. Su distilasyonu

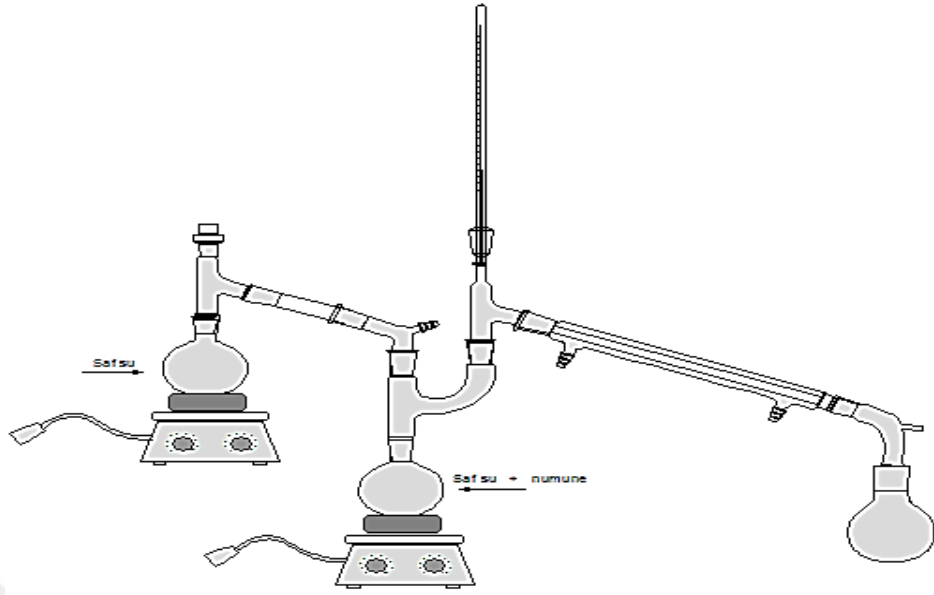
işleminden en fazla verim alındığı zaman aralığı toz haldeki hammaddelere uygulanması sonucudur (37, 38). Şekil 2’de laboratuvar tipi bir Clevenger düzeneği gösterilmektedir.



Şekil 2. Clevenger düzeneği (Young’dan, 37)

2.2.3.2. Buhar Distilasyonu

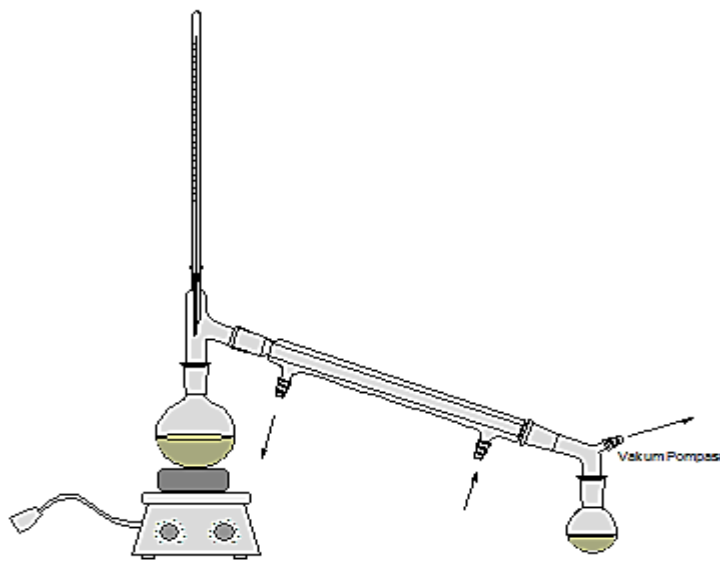
Bu metodun uygulanmasında cam bir kap içine konulan taze materyale basınç altında sıcak buhar gönderilmesiyle bitki hücre ve çeperlerinde bulunan uçucu bileşenlerin buharla birlikte sürüklenmesi ve sonrasında soğutucuda yoğunlaşarak toplama kabında yoğunluk farkına göre ayrıştırılması esasına dayanmaktadır. Bu yöntemde buharın hızı ve sıcaklık kontrol altında tutularak sıcaklıkla bozulabilen ve kolayca hidrolize olabilen bileşiklerin uçucu yağ eldesinde avantaj sağlar. İhlamurdan uçucu yağ eldesinde bu yöntem kullanılmakta olup bozunma ürünlerinin engellendiği ve farmakolojik etkinin korunduğu rapor edilmiştir. Esansiyel yağların üretiminde en fazla kullanılan yöntem buhar distilasyonudur (37-39) ve Şekil 3’de buhar distilasyon düzeneği görülmektedir.



Şekil 3. Buhar distilasyon düzeneği (Young'dan, 37)

2.2.3.3. Vakum Distilasyon

Bazı bileşiklerin kaynama noktası yüksek olup distilasyon sıcaklığında bozunma nedeniyle düşük basınç altında distilasyon yapılmaktadır. Düşük basınç altında kaynama noktası düşeceğinden doğal uçucu yağ bileşenleri bozunmadan elde edilmektedir (37-39). Şekil 4'de vakum distilasyonu düzeneği görülmektedir.



Şekil 4. Vakum distilasyon düzeneği (Young'dan, 37)

2.2.3.4. Hidrodifüzyon

Bitki hücrelerinde esansiyel yağların bir kısmı yüzeye yakın tabakada barınırken, belli bir miktarı da içeri kısımdaki katmanlarda bulunmaktadır. Yüzey kısmına yaklaşık olan katmanlardan esansiyel yağın elde edilmesi kolaylıkla gerçekleşir. Bitkinin yüzeyden uzak olan tabakalarından esansiyel yağın eldesinde difüzyon sonrasında yüzeye ulaşmasıyla gerçekleşebilir. Hidrodifüzyonun gerçekleşmesi endüstriyel ortamda klasik buhar distilasyonunun dışında oluşan buharın bitki hammedesiyle kaplı kazan sistemine üst kısımdan aktarılması ve alt kısımdan oluşan buhar yoğunlaştırılır. Hidrodifüzyon yöntemi birçok avantaj getirir. Bu avantajlar; kazan kısmının yüklenilmesi ve boşaltılma aşamaları göz önüne alındığında işlemin gerçekleştirilmesindeki rahatlık, yalnızca alçak basınç kullanımında nemli buharın kullanılması, distilasyonun süresinin daha az zaman alması, fazla miktarda buhar harcanmadığından masrafın düşük olması, distilasyon zaman aralığının daha az olmasından kaynaklı riflaksın gerçekleşmemesinden dolayı yağ molekülleri hidroliz olamazlar ve üretimi gerçekleşen esansiyel yağın standardizasyonunun fiziksel normlara uyması avantajlardan sayılabilir (39, 40). Uçucu yağın kalitesini korumak adına yapılan işlemlerde sıcaklık kontrol oldukça önemlidir. Sıcaklık kontrollü yapılan bir çalışmada PID kontrol cihazı kullanılmıştır ancak bu cihazın parametre değişikliklerine karşı duyarsızlığı ve kontrol cevabı açısından daha az hassasiyet gösterdiği görülmüştür. Bu problemi çözmek için hidrodifüzyon distilasyonu PID (HFPID) kontrol cihazı ile entegre edilmiştir. Bu çalışma, HFPID denetleyicisinin geçici ve kararlı durumda sistem performansını iyileştirdiğini, sıcaklık kontrolünde daha iyi yanıtlar alındığını ve uçucu yağın kalitesini artırdığını göstermiştir (41).

2.2.3.5. Mekanik Presleme Yöntemi

Bazı bitkisel materyallerden distilasyon yöntemi ile esansiyel yağ eldesinde yağın yapısının bozunması söz konusudur. Esansiyel yağların sıcaklığa bağlı bozunmalarını engellemek adına soğukta sıkma yöntemi kullanılmaktadır. Droglardan uçucu yağ elde edilmesi için kullanılan yöntem mekanik yöntem denilmektedir. Portakal, limon, bergamut, mandalina ve turunçgilin meyve kabukları gibi narenciye ürünlerinden uçucu yağ eldesinde mekanik yöntem uygulanır. Presleme işlemiyle esansiyel yağların eldesi için soğuk hidrolik presler ve benzeri cihazlar kullanılarak esansiyel yağların üretimi sağlanır. Preslemeyle elde edilen usareler genel olarak berrak olmayıp berraklaştırma işlemi için filtrasyonla süzme işlemi ve sonrasında santrifüjlemeyle içindeki mikro parçacıkların

alkolün ilavesi ve sonrası ısıtma ile bulanıklık veren maddeler ortamdan rafinasyonla uzaklaştırılır. Bu tip kabuklu narenciye meyvelerinden uçucu yağ eldesi için FMC InLine ve Polisirtrus ekstraktörleri kullanılmaktadır (38, 42).

2.2.3.6. Ekstraksiyon Yöntemleri

Bitkilerden uçucu yağ eldesinde geleneksel ve gelişmiş ekstraksiyon metotları kullanılmaktadır. Geleneksel yöntemler maserasyon, infüzyon, dekoksasyon, perkolasyon ve anflorajdır. Eczacılıkta perkolasyon yöntemi 19. yüzyılda kullanılmaya başlanmıştır. Geliştirilmiş ayırma metotları ise basınçlı çözücü ekstraksiyonu, mikrodalga destekli çözücü ekstraksiyonu (MÇE), süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SAE), ultrason destekli ekstraksiyonu yöntemleridir. Geleneksel yöntemlerin işlem süresinin uzun olması ve çevreyi kirletici çözücülerin fazla kullanılmasının getirdiği dezavantajların da etkisiyle geliştirilmiş ekstraksiyon yöntemleri ön plana çıkmıştır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonunun avantajı mikrodalga ekstraksiyonuna göre hız ile etkinlik yönüyle modern yöntemler arasında oluşu son yıllarda bu metodu ön plana çıkarmıştır. Etkili ekstraksiyonun gerçekleştirilmesi adına sıcaklık parametresi ön plana çıkmaktadır bu durumda sıcaklığın yükselmesi bazı bozunmaların oluşmasına zemin hazırlar (43).

Solvent Ekstraksiyonu: Bitki materyali, doğrudan doğruya normal şartlarda çözücüyle beraber aynı ortama konulabilir veya çözücüyle beraber organik yapıdaki bir solventle kaynatılabilir. Yöntem geleneksel bir yöntem olup, yaygın olarak endüstride organik solvent için hekzan ve etil alkol kullanılırken, analiz yapılan laboratuvar çalışmalarda etilen ve pentan/diklorometan kullanımı ön plana çıkar. Ayırıştırma işlemi sonucunda organik solvent ortam içinden damıtılarak geriye dönük bir kazanım sağlanır. Solvent ekstraksiyonun buhardaki distilasyona nazaran ön plana çıkan durumları vardır. Ayırıştırma sürecinde alçak sıcaklık kullanımı önemli bir avantajdır. Genel olarak sıcaklığın sokselet aparatında 60 °C'nin altında olup daldırma metodunda ise 5 ile 25 °C değerleri içerisinde yer alır.

Alçak sıcaklık, ortaya çıkan esansiyel yağların buhar distilasyonu ile karşılaştırıldığında değerli bir kapsam oluşması açısından ön planda olan önemli parametredir. Bununla beraber solvent ekstraksiyonun bazı dezavantajları mevcuttur. Bunlardan ilki çözücü ekstraksiyonu işlemi yapılırken yoğunlaşma işlemi esnasında artefaktların oluşması ve düşük molekül ağırlıklı uçucu birleşiklerin kaybıdır. Diğer dezavantajlarından biri de ekstraksiyon sonrası atık halde geri kalan çözücülerdir. Geri

kalan çözücüler, mali açıdan ve çevrenin zarar görmesinden ötürü çok önemli bir durum oluşturur. Saf ve değerli solventler mali yönü yüksek olmasından kaynaklı yöntem sırasında çok miktarda solvent kullanılması işlemin finansal yükünün artmasına sebep olur (32, 43).

Maserasyon (Sıcak Yağ Ekstraksiyonu): Maserasyon işlemi bitkilerden uçucu yağ eldesi için kullanılan ilkel yöntemlerden olup analitlerin bir süre organik çözücü içinde bekletilmesi yoluyla sağlanan ekstraksiyon yöntemidir. Analitler, denge sağlanması için katı sıvı içinde temas halindedir. Ayrıca maserasyon işlemi, fenolik birleşiklerin ekstraksiyonun da farklı çalışmalarda kullanılmıştır. Örneğin, melisa ve narenciye bitkilerinden maserasyon yoluyla fenolik bileşikler elde edilmiştir. Maserasyon işleminden sonra kalan maddeye maseret denir. Maserasyon, oldukça zaman alan ve verimi düşük bir işlemdir (44).

Anfloraj (Soğuk Yağ Ekstraksiyonu): Bu metot genel olarak esansiyel yağ miktarı düşük seviyede, ısıda çabuk bozunabilen bitkilerin petallerinin içerdiği uçucu yağların elde edilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Bitki çiçek veya yaprakları, inert ve kokusuz yağ karışımının sürüldüğü tahtalarla desteklenmiş ince cam plaka üzerine yayılır ve birkaç saat sonra petaller alınarak yeni petallerin yerleştirilmesi işlemi uygulanır. Plakanın üzerine sürülen yağlar çiçek veya yapraklardaki esansiyel yağları çözerek içine alır. Bu işlem uzun süreli ve tekrarlı olarak yapılır. Bu uygulamalar plakaların üstündeki yağların esansiyel yağlarla zenginleştirilmesiyle son bulur. Bu işlemin sonucunda elde edilen karışıma genelde pomad adı verilir ve uçucu yağ karışımından etanolle ekstre edilir. Etanol düşük basınç altında uzaklaştırılarak esansiyel yağın eldesi gerçekleştirilir. Bu metoda soğuk yağ ekstraksiyonu olup anfloraj olarak bilinmektedir. Bu yöntem pahalı ve zaman alan bir işlemdir (45).

Basınçlı Çözücü Ekstraksiyonu (BÇE): Basınçlı çözücü ekstraksiyon tekniği ekstraksiyon yöntemleri arasında oldukça yeni bir teknik olup endüstride uygulaması olmayan bir uygulamadır. Çözücü ekstraksiyonu, maserasyona ve perkolasyon gibi tekniklere alternatif olarak geliştirilmiştir. Bu yöntem katı-sıvı ekstraksiyon uygulaması olup, basıncın artırılması çözücünün maksimum sıcaklıkta sıvı formda kalmasını sağlar. Basınçlı çözücü ekstraksiyon uygulamasında sıcaklık oldukça önemli bir parametre olup yöntemin sürekli uygulanabilmesini sağlamaktadır. Uygulanan sıcaklıkla dipol-dipol etkileşiminin artması nedeniyle ekstraksiyonda matriks içindeki esansiyel yağ verimini

yükselttiği belirtilmiştir (45). Yüksek sıcaklık kullanımıyla benzer yapıdaki moleküllerin moleküller arası çekim kuvvetinin farklı türdeki moleküllerin çekim kuvvetini yenmesine yardım eder ve matriks içindeki benzer bileşiklerin ekstraksiyonunu kolaylaştırır. Yüksek sıcaklıkla yüzey gerilimi düşer ve bundan dolayı analitin daha kolay çözücüyle teması sağlanır. Böylece çözücü yüzey gerilimindeki azalma nedeniyle analitlerin çözücüyle daha hızlı çözünmesi sağlanmış olur (46, 47). BÇE gerekli çözücü miktarını önemli miktarda azaltan, ekstraksiyonun hızını artıran ve yüksek difüzyon sınırları kullanmasına olanak sağlayan bir yöntemdir (48). BÇE’de amaç sıcaklık ile basınç parametresinin artışıyla sınırların ayrışma sürecini geliştirmek olup sıcaklığın artışıyla uygun basınçta çözücünün matriksine katılım yapması kabiliyetini artırır. Uygulanan ekstraksiyonda sıcaklığın çözücü kaynama noktasının üstünde olmasıyla yükselen sıcaklıkla analizi yapılan maddenin çözünürlük ve ekstraksiyon hızlarının artışı sağlar ve bu nedenle daha etkili bir yöntem oluşturmaktadır (46-49). Ayrıca yükselen sıcaklıkla birlikte basıncın artması çözücünün sıvı halde kalmasını sağlamaktadır. Bununla birlikte ekstraksiyon esnasında basıncın yükselmesi, matrikste bulunan hava kabarcıklarının çözücünün analite ulaşmasını engellemesi nedeniyle hava kabarcıkları ile ilgili problemlerin kontrol altında tutulmasına sağlar. Bunun dışında analizi yapılan maddenin çözünürlük seviyesini ve matrikste katı yüzeyine tutunan taneciklerin ayrılma hızının artırmasıyla, tüm sürecin çözücü ekstraksiyonuna oranla daha hızlı olması gibi bir avantajı beraberinde getirir (50). Tüm bunların yanında sıcaklığın maksimum seviyede olması ve basıncın en uygun şartlarda oluşu ayrıştırma sürecinin en iyi şekilde sonuç vermesini sağlar. Fakat bu süreçte bazı bozunma ürünleri gelişebilir. Bu yöntemde ekstraksiyonun süresi, uygun çözücü seçimi, çözücü hacmi ve analizi yapılacak maddenin miktarı oldukça önemli parametrelerden sayılabilir. Sonuç olarak, BÇE için sıcaklığın düşük seviyede tutulması, ekstraksiyon süresinin az olması ve istenilen sonuçların olumlu yönde tepki verdiği yapılan uygulamalarla belirlenmiştir (51).

Mikrodalga Destekli Çözücü Ekstraksiyonu (MÇE): Mikrodalgalar, 300 MHz ve 300 GHz arasında frekansa sahip elektromanyetik dalgalar olup, genel olarak 2.5 GHz ile 75 GHz aralığında ayrıştırma işlemi olmaktadır. İyonlaştırıcı olmayan radyasyonlardır. Isıtma işlemi geleneksel ısıtma yöntemi yerine mikrodalga ekstraksiyonun da ekstraksiyon matrisi içindeki elektromanyetik radyasyonlarla sağlanır. Mikrodalgalar, hacimsel ısıtma özelliğinden dolayı çok hızlı ve üniform bir şekilde ısıtma işlemiyle ısıl hasarın istenmeyen sonuçları en aza indirilmiş olur. Mikrodalga yönteminde ısıtma iyonik iletişim ve dipol

etkileşimle sağlanmaktadır (52). MÇE uygulaması normal ve düşük basınç altında yapılabilmektedir. Kapalı sistemlerde hücre yapılarının tamamı eşdeğer zaman diliminde ısıtılma işlemine uğrarken, açık olan sistemlerde hücre yapıları farklı zaman dilimlerinde ısıtılmaktadır. Açık olan sistemlerde sıcaklığın çözücünün kaynamasıyla kısıtlanırken açık olmayan sistemlerde sıcaklığın ve basıncın artırılması mümkün olmaktadır. Kapalı sistem esansiyel yağ eldesinde verimin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Fakat kapalı sistemlerde ekstraksiyonun daha fazla zaman alması olumsuz bir durum oluşturmaktadır. Zaman açısından bu durumun oluşmasının nedeni ayrıştırma işlemi yapılırken kabın açılması için kabın sıcaklığının düşük değerlere inmesinin zaman aldığı belirtilmiştir (53).

Su gibi polar bir çözücünün kullanıldığı ekstraksiyon sistemlerinde, dipolar polarizasyon ana ısıtma kaynağıdır. Mikrodalgalar, yüksek frekanslı elektromanyetik dalgalardan oluştuğundan, ısıtmada iletişim ve taşınımından kaynaklı farklılık oluşturabilmektedir. Bu yöntemde ısıtılan malzemenin ve çözücünün dielektrik özellikleri çok önemlidir. Malzemenin elektromanyetik bir alanda enerji depolayabilme kabiliyeti olarak tanımlanan dielektrik sabiti diğeri ise bir malzemenin enerjiyi dağıtma kabiliyeti olan dielektrik kayıp faktörüdür. Bir malzemenin dielektrik kayıp faktörünün dielektrik sabitine oranı, dağılma faktörü olarak tanımlanır. Dağılma faktörü, malzemedeki ısı oluşumuna bağlıdır. Polar bileşikler temel olarak yüksek dielektrik kayıp faktörlerine sahiptir. Dielektrik özellikleri yüksek çözücüler veya etanol-su gibi karışımlar genellikle ekstraksiyon çalışmalarında ön plana çıkmaktadır. Birçok organik analitin bitkilerden ekstraksiyonu için genellikle polar çözücüler seçilirken bazen farklı amaçlar için polar olmayan çözücüler de kullanılabilir. Taze nane yapraklarından uçucu yağ eldesinde polar olmayan çözücüler tercih edilmiş olup buradaki önemli nokta çözücünün mikrodalgalara karşı hassas olması ve mikrodalgaların herhangi bir çözücünün ısınmasına neden olmadan doğrudan katı numuneye ulaşmasıdır. Bu durum hücresel yapılardaki su moleküllerini etkilemesiyle hücre zarının bozulmasına ve hedef bileşiklerin çözücüye kolay geçmesini sağlar. Böylece mikrodalga destekli esansiyel yağ ekstraksiyonu daha kısa sürede, daha az çözücü tüketimi ve daha yüksek verimle yapılmaktadır. Sıcaklık ve zaman, ekstraksiyon işlemlerinde kritik parametreler olup daha yüksek sıcaklıklar difüzyon hızını artırır. Mikrodalgada ısıtma için daha kısa zamanlar yeterli olduğundan, geleneksel yöntemlere göre mikrodalga ekstraksiyonu ısıya duyarlı bileşenler için önerilebilir (52-54).

Rosmarinus officinalis, *Origanum dictamnus* ve *Vitex agnus castus* gibi farklı aromatik bitkilerden aseton, metanol, su ve etil asetat-su karışımı ile mikrodalga ekstraksiyon yöntemine göre fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu yapılmıştır. Çalışmalar sonucunda mikrodalga destekli ekstraksiyonun, ekstraksiyon süresini önemli ölçüde azalttığı ve fenolik bileşiklerin ekstraksiyon verimini artırdığı belirtilmiştir (55).

Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SAE): Ekstraksiyon işlemlerinde; enerji kaybını indirgeme, maliyeti düşürme ve doğal ürünlerin organik çözücülerle yapılan işlemlerini azaltıp çevresel ve sağlık sorunlarını minimize etme adına kalite standartlarını düşük seviyelere indirmeden, metodun seri şekilde yapılması ve alınan sonuçların kalitesi gibi parametreler ön plana çıkmaktadır. Çözücü ekstraksiyonu işleminde finansal yükü artıran maliyetli organik çözücülerin seçilmesi, solvent-analit ayrılmasında yan ürünlerin oluşumu, ayrıştırma işleminin zaman alması ile geçen süre içinde yükseltgenme durumundan bozunmalar nedeniyle olumsuz sonuçların doğması bilimsel boyutta bilim insanlarını daha farklı yöntemlere yöneltmiştir. Bundan dolayı çevre kirliliğini indirgeme, ekstraksiyon verimini yükseltmesi ve kimyasal olarak toksik etkinin minimum olması gibi avantajlarından ötürü SAE metodu büyük ilgi çekmektedir. Bu yöntemde yüksek saflıkta ürün elde edilir ve bozunma oluşmadığından diğer ekstraksiyon yöntemlerine göre daha avantajlıdır (56).

SAE yönteminde ana prensip, süperkritik çözücülerin akışkan formda kullanılması olup kullanılan sıvının, uygun şekilde sıcaklığının ve basıncının üstündeki nitelikte organik çözücünün seçilmesidir. En uygun şekilde ayarlanan sıcaklık ve basıncın üzerindeki solvent sıvı veya gaz formdan ziyade süper kritik akışkan olarak isimlendirilir. Uygun koşullarda sıcaklığın maksimum düzeyde olması ile basıncın minimum değerlerde seçilmesi yoğunluk açısından alçak değerde oluşan akışkanın gaz timsali davranış sergilemesine neden olur. Sıcaklığın minimize edilmesi ve basıncın maksimum olması halinde akışkan, yoğunluk açısından yüksek bir değerde olur ve sıvılara benzer şekilde davranırlar (57).

Bu yöntemde seçilen akışkan sıvı ya da gaz benzeri davranışlar sergileyebilir. Yoğunluğun fazla olduğu ayrıca maddeyi kolayca çözebilme yeteneğine sahip olduğu durumlarda sıvı özelliği sergilerken, yoğunluğun düşük olduğu gerilimin sıfıra yakın olduğu zamanda gaz özelliği sergiler. Bu metodun, akışkanların gazlar ve sıvılar gibi

davranış sergilemesi ayrıştırma esnasında kullanılacak yapıların seçilmesine olanak sağlamaktadır (57, 58).

Süperkritik sıvı ekstraksiyonunda karbondioksit, etilen, klortriflormetan, etan, propan, amonyak, nitrozooksit, triflormetan, propilen, hekzan gibi akışkanların kullanımı muhtemeldir. Kullanılan akışkanlar içinde kolaylıkla tedarik edilebilmesi, mali olarak düşük seviyede olması, safsızlığının minimize olması, çevreye daha az zarar vermesi gibi etkenlerinden kaynaklı karbondioksit en çok tercih edilen akışkandır (59).

SAE için karbondioksitin ilk kullanımını 1869'da Andrews sağlamıştır. Karbondioksit çözücü olarak 1900'lü yılların ortasında çeşitli ülkeler tarafından kullanılmaya başlanmış olup 1993 tarihinde karbondioksit kullanılarak ekonomik öneme sahip 42 çeşit esansiyel yağ eldesi sağlanmıştır. Karbondioksitin avantajları; ekonomik ve koku açısından minimum seviyede olması, yanıcı olmaması, yoğunluğunun az olması sayesinde bitkilerin içerisine kolayca geçebilmesi ve düşük sıcaklıkta buharlaşabilmesidir. Karbondioksit uygun şartlar sağlandığında 200-300 bar basınç aralığında 40 °C–50 °C sıcaklık arasında bitkilerden esansiyel yağ eldesinde oldukça yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (60).

Likens ve Nickerson Ekstraksiyon Yöntemi: Likens ve Nickerson tarafından geliştirilen ve distilasyonla analitten esansiyel yağ eldesi yapılan bir yöntemdir. Bu yöntem aynı zamanda Clevenger yöntemi olarak da bilinmektedir. Bilimsel amaçlı uçucu yağ eldesinde oldukça yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bitki ilk aşamada kullanılan aparatın balonuna yarı yarıya su ile birlikte konur ve kontrollü bir şekilde gömlekli ısıtıcı yardımıyla ısıtılır. Su buharının bitki çeper ve hücrelerine girerek uçucu bileşenleri buharla birlikte sürüklenmesini ve buharlaşarak soğutucuya gelmesi ve sonrasında yoğunlaşarak toplama haznesinde su ile birlikte toplanmasını sağlar. Yoğunlaşan suyun fazlası tekrar balona döner ve bu süreç yaklaşık 3 saat olarak devam eder. Uçucu yağ yoğunluk farkına göre su üstünde veya altında birikir ve su uzaklaştırılarak esansiyel yağ elde edilir (61).

Katı-Faz Mikro Ekstraksiyon (SPME): Uçucu bileşen analizlerinde numunenin toplanması ve hazırlanmasının oldukça fazla zaman aldığı rapor edilmiştir. Bu süreçte yapılacak hatalı bir işlemin bütün bir çalışmayı tekrar en baştan başlanılmasına neden olacaktır. 1989 tarihinde Pawliszyn ve arkadaşlarının tasarladığı SPME metodu ile toplanan numunelerin viallere konularak doğrudan SPME-GC-MS ile analizlerinin yapılması farklı bir yaklaşımla uçucu bileşen analizlerine imkan sağlamıştır. Bu yöntemde

Çözücü kullanılmamakta olup atık söz konusu değildir ve çevreci bir yöntemdir. SPME yöntemi ile yapılan uçucu bileşen analizlerde analiz süresinde azalma ve ekonomik anlamda oldukça fazla iyileşmeler tespit edilmiştir.

SPME’de numunedeki uçucu bileşenleri konsantre şekilde ekstre etmek amacıyla uygun fiber uçlar kullanılmaktadır. SPME bitkilerdeki uçucu bileşenlerin eldesinde kullanıldığı gibi çeşitli biyolojik matrislerde ilaç adayı bileşiklerin ekstraksiyonunda da kullanılmaktadır (62).

SPME basit görünümüyle bir şırınga yapısını andıran fiber bir uçtur. Bu yöntemde göre küçük şişeye konulan numune, SPME küvet içine konur. Fiber uç şırınga yardımıyla içerisine daldırılır. Numune bulunan ısıtma haznesi bir süre istenilen sıcaklıkta ısıtılarak uçucu bileşenlerin kapalı ortamda fibere emilmesi sağlanır. Uçucu bileşenlerin fibere tutunmasının yeterli olduğu düşünüldüğünde enjektör yardımıyla GC’ye enjekte edilir. Katı faz mikro ekstraksiyon yönteminde kullanılan fiber, sıcaklık ve zaman oldukça önemli parametrelerdir (63, 64).

2.2.4. Esansiyel Yağların Genel Özellikleri

Esansiyel yağ, genel olarak normal şartlarda sıvı formda olup kolay bir şekilde kristalleşebilirler ve damlatıldığında filtre kağıdı üzerindeki leke kalıcı değildir. Distilasyon işleminden sonra uçucu yağlar genel olarak renksiz olmasına rağmen bazılarının rengi mavi veya kırmızı olabilmektedir. Depolanma zamanının uzun olması, oksijen ve ışık gibi parametrelere göre uçucu yağlar reçineleşebilmektedir. Oksitlenme ve reçineleşme durumunun önüne geçmek adına uzun süreli saklamalar için koyu renkli ağzı kapalı şişelerde korunmalıdırlar. Uçucu yağın kaynama noktalarının suyun kaynama noktasından yüksek olması nedeniyle su buharıyla sürüklenebilme özellikleri mevcuttur. Yoğunlukları 0.84 ile 1.18 arasında değişmekte olup sudan hafif veya daha ağır olabilir. Örnek olarak karanfil ve tarçın uçucu yağları suya göre daha ağırdırlar. Petrol eteri, benzen, kloroform, hekzan, eter ve etanol gibi apolar çözücülerde çözünürken sudaki çözünürlükleri düşüktür. Sabit yağlardan farklı olarak sulu etanolde çözünebilirler. Kendine özgü keskin hoş koku ve tatları vardır. Suda çözünme durumları suya uçucu yağın aromasını katabilecek kadar yoğunluk taşımakta olup son zamanlarda ön plana çıkan aromatik sulardan maksimum verim alınabilmesi adına uçucu yağın su içerisinde çözünme kapasitesine göre bir değerlendirilme yapılmaktadır (65).

Uçucu yağlar optikçe aktif olup kırılma indeksleri genel olarak yüksektir. Kırılma dereceleri ayrı süreçlerde, aynı bitki kullanılarak bile oluşturulan esansiyel yağda farklılık gösterebilmektedir. Uçucu yağlardan elde edilen ürünlerin doğal veya yapay yolla elde edildiğini anlamak için optikçe aktiflik değerine bakılabilir (65, 66).

Esansiyel yağlar içerik olarak çok farklı şekilde bileşikler içermektedir. En fazla bulunan bileşikler monoterpenler (%90) olup, azotlu ve kükürtlü bileşiklerde rastlanmıştır. Ayrıca uçucu yağlarda oksijenli terpenik yapılar (terpenoidler) yanında organik asitler, alkoller, esterler fenoller, hidrokarbonlar, aromatik bileşikler ve ketonlar bulunmaktadır. Genel olarak esansiyel yağ bileşiminde miktara bağlı olarak çok sayıda bileşik içermektedir (65-67).

Uçucu yağlar bitkinin belli bir organında bulunabileceği gibi tüm organlardan da yararlanılarak elde edilebilir ve sahip olduğu familyayla bitkilerin salgısal sistemleri olan salgı cepleri, salgı hücreleri, salgı kanalları ya da salgı tüylerinde oluşabilmektedir. Uçucu yağ barındıran bitkilerin familyalarına Maydanozgilleri, Papatyagilleri, Defnegilleri, Gülgilleri örnek gösterebiliriz (68).

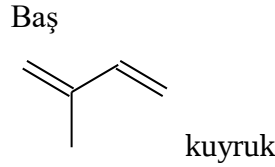
2.2.5. Esansiyel Yağların Kimyasal Birleşimi

Esansiyel yağ kaynağına bağlı olarak çok farklı kimyasal formüllü bileşenlerden oluşmaktadır. Uçucu yağlarda bulunan bileşikler genel olarak terpen yapılı olup, bitkiye has tat ve koku verirler. Uçucu yağların terpenik yapılarında, oksijensiz C ve H barındıran hidrokarbonlar ve oksijen içeren hidrokarbonlar mevcuttur. Oksijen içerikli türleri arasında alkol, aldehit, ester, asit, fenol, fenol eterleri, kinon, lakton, aminler ve kükürtlü birleşikler yer alır. Fonksiyonel grup açısından 20000'in üzerinde terpen yapılı bileşikler karakterize edilmiştir. Uçucu yağlarda bulunan bileşikler 4 ana grupta incelenebilir; terpen yapısındaki birleşikler, düz zincirli hidrokarbonlar, aromatik birleşikler, azotlu ve kükürtlü bileşikler (69).

2.2.5.1. Terpenik Birleşikler

Terpenler izopren bileşiklerinin kondenzasyonu sonucu oluşan doğal bileşiklerdir. 2-metil-1,3-bütadien (Şekil 5) bileşiği izopren (5C) olarak bilinmektedir. İzopren ünitelerinin 1 nolu karbonu baş olarak isimlendirilirken dallanmanın mevcut olmadığı tarafta bulunan 4 nolu karbonu kuyruk olarak isimlendirilir. İzopren ünitelerinin baş-kuyruk girişimleri sonucu terpen ve terpenoid bileşikleri oluşmaktadır. Ancak triterpen ve

tetraterpen oluşumunda C15-C15 ve C20-C20 girişimlerinde kuyruk-kuyruk girişimleri bulunmaktadır.



Şekil 5. İzopren yapısı

Terpenik birleşiklerin, farklı türdeki bitki tohumlarının çimlenmesi ve yabancı otların gelişmesini durdurmak, tozlaşmayı sağlayan böcekleri kendine çekmek, zarar veren böcekleri uzaklaştırma, zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını engellemek gibi önemli misyonları vardır (34, 70).

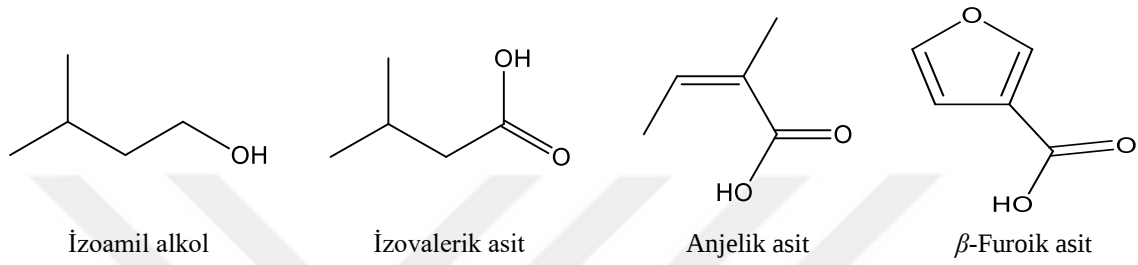
Terpenler, temel yapı maddesi olarak izopren birimlerinin sentezi yoluyla oluşup bu yapıların sayılarına göre ayrılmaktadır. Bu sınıflandırmaya göre iki izopren biriminin sentezi ile beraber ortaya çıkan 10 karbon içeren birleşiklerin yapısı monoterpenler, 15 karbon içeren moleküllerin yapısına seskiterpenler ve 20 karbon içeren moleküllerin yapısı da diterpenler şeklinde isimlendirilir.

Tablo 2’de karbon sayısına göre terpenlerin sınıflandırılması gösterilmektedir. Fiziksel özelliklerine göre terpenik yapıların su buharıyla ekstraksiyonu molekül ağırlığına bağlı olup genelde monoterpen ve sekiterpenler elde edilir. Diğer terpenlerin (diterpen, sesterterpen, triterpen, tetraterpen ve politerpenler) molekül ağırlıkları büyük olduğunda buharlaşması güçtür ve su buharı yöntemiyle ekstraksiyonları güçtür (70, 71).

Tablo 2. Terpenlerin izopren ve karbon atom sayılarına göre sınıflandırması

İzopren Sayısı	Terpen Sınıfı	Karbon Atom Sayısı
1	Hemiterpenler (C ₅ H ₈)	5
2	Monoterpenler (C ₁₀ H ₁₆)	10
3	Seskiterpenler (C ₁₅ H ₂₄)	15
4	Diterpenler (C ₂₀ H ₃₂)	20
5	Sesterterpenler (C ₂₅ H ₄₀)	25
6	Triterpenler (C ₃₀ H ₄₈)	30
8	Tetraterpenler (C ₄₀ H ₆₄)	40
> 100	Politerpenler (C ₅ H ₈) _n	> 500

Hemiterpenler: Terpenlerin en küçük birimi olup yapısında oksijen barındıranlara hemiterpenoidler denilmektedir. Bitkilerde genel olarak serbest halde bulunmamaktadır. Flavonoid, alkaloid gibi yapılara bağlı halde bitkilerde bulunmaktadır. Bu bileşikler 5 karbonlu izopentan iskeletini içerirler. Uçucu yağlarda doğal olarak bulunan hemiterpenoidlere; izoamil alkol, izovalerik asit, anjelik asit ve β -furoik asit örnek verilebilir (Şekil 6) (72).



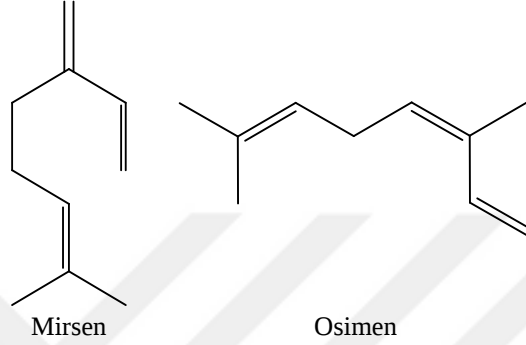
Şekil 6. Bazı hemiterpenoid moleküllerinin yapıları

Monoterpenler: İki izopren yapısından oluşan $C_{10}H_{16}$ formülüne sahip birleşiklerdir. Çam ağaçlarında fazla miktarda bulunmaktadırlar. Lipofilik yapılarından dolayı hücre membranından zorlanmadan geçmeleri deriden ve akciğerden kolayca absorbe edilmelerini sağlar. 38 farklı yapıda iskelet tipine sahip bileşiklerdir. En çok kullanılan monoterpenler α -pinen ve β -pinen olup parfümeride, ilaç endüstrisinde, gıda maddelerinde, plastik sanayisinde hammadde, boya ve çözücü, insektisidal ve pestisit olarak kullanılırlar. Bununla beraber antispazmotik, antibakteriyel, antifungal ve hatta antikanser özelliklerinden yararlanılarak halk ilaçlarında kullanımı mevcuttur. Ayrıca terpenlerin yenilenebilir hammadde kullanımı düşünülerek petrokimyasallar yerine geçmesi son yıllarda ön plana çıkmıştır (73).

Uçucu yağlardan 150'den fazla farklı formülasyonda monoterpen bileşikleri mevcuttur. Monoterpenler bitkiler aleminde ballıbabagiller, yılanıyastığıgiller, kazayağıgiller, lohusaotugiller, çamgiller, papatyagiller, turpgiller, turnagagasıgiller, servigiller, buğdaygiller, maydanozgiller, defnegiller, salepgiller, gülgiller, sedefotugiller, su servisigiller, kediotugiller, menekşegiller, zeytingiller ve zencefilgiller gibi familyalarda rastlanmaktadır (73, 74).

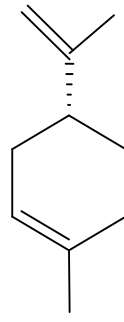
Monoterpenler yapılarına göre üç grupta incelenirler;

a. Asiklik Monoterpenler: Düz zincir halinde olup 3 çift bağ taşıyan açık zincirli bir yapıya sahiptir. Optikçe aktif olmaları taşıdıkları asimetrik karbon atomundan kaynaklıdır. Monoterpenler gül, bergamut, kişniş, melissa, limon, safran gibi bitkilerde bulunmaktadır. Şekil 7’de bazı asiklik monoterpen yapıdaki bileşikler gösterilmiştir.

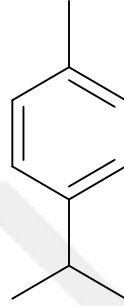


Şekil 7. Bazı asiklik yapılı monoterpenler

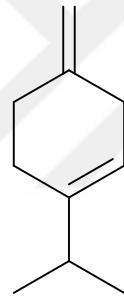
b. Monosiklik Monoterpenler: Monosiklik yapıdaki monoterpenler bir halka içermektedirler. Monosiklik monoterpenlere örnek olarak, turunçgillerin farklı kısımlarından elde edilen uçucu yağlardan β -terpinen, D-limonen ve α -terpinen sayılabilir. Ayrıca mentol, kuminal bileşikleri de monosiklik monoterpenlerdendir. Monosiklik yapıların temel yapıları p-mentan iskeletinden oluşur. Şekil 8’de monosiklik monoterpenlere bazı örnekler verilmiştir.



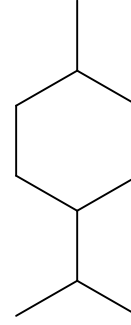
Limonen



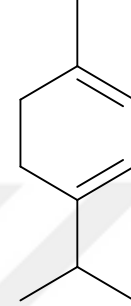
Simen



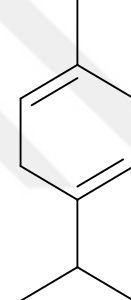
β -terpinen



Mentan



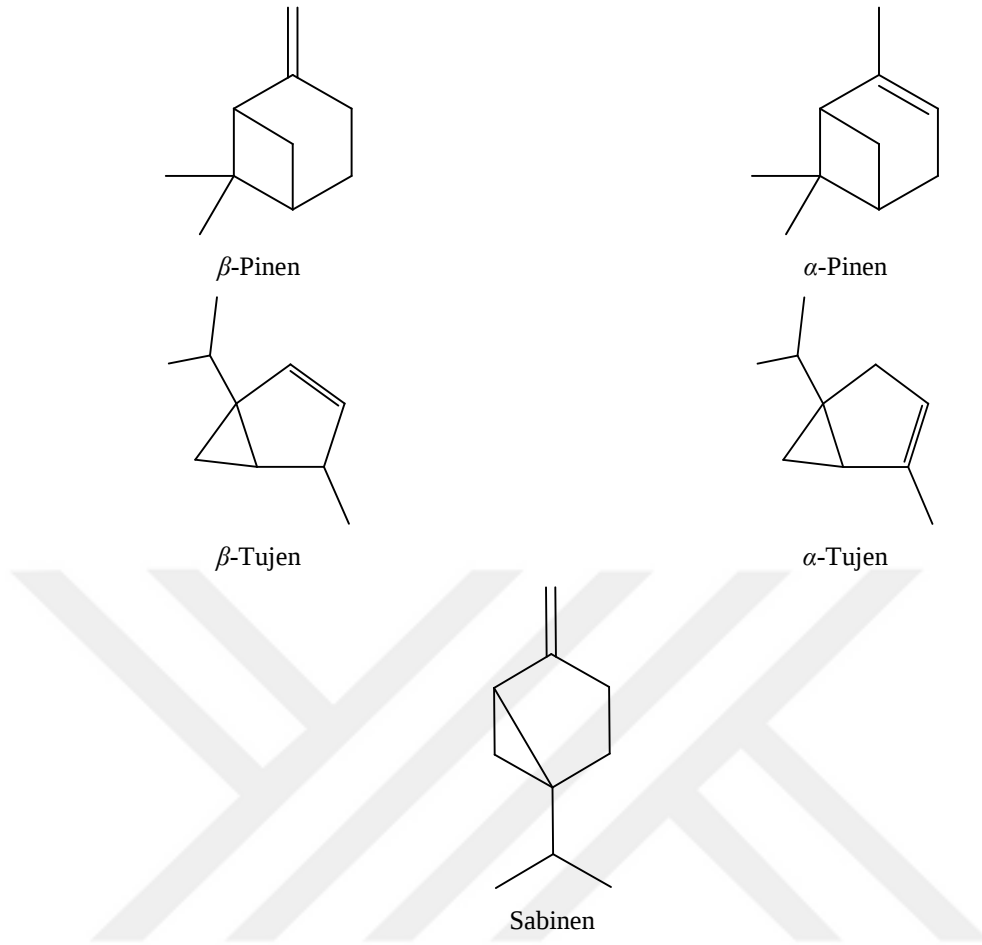
α -terpinen



γ -terpinen

Şekil 8. Esansiyel yağlarda bulunan monosiklikmonoterpenlerin örnekleri

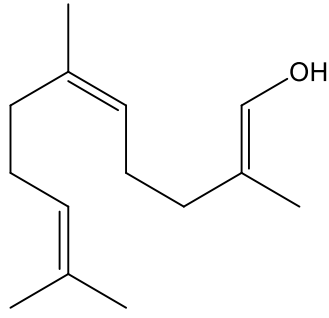
c. Bisiklik monoterpenler: Yapıları iki halka ve bir adet çifte bağdan oluşmaktadır. Bisiklik monoterpenler sabinan, pinen, karan veya kamfan iskeletinden oluşturulmuştur. Pelin otu, kedi otu ve pire otu bitkilerinde bu yapılar sıkça görülmektedir. Oksijenli türevler sekonder alkol veya keton gruplarını içerirken bu yapılar monoetilenik veya doymuş olabilmektedir. Şekil 9'da uçucu yağlarda bulunan bazı bisiklik monoterpenler görülmektedir (34, 74, 75).



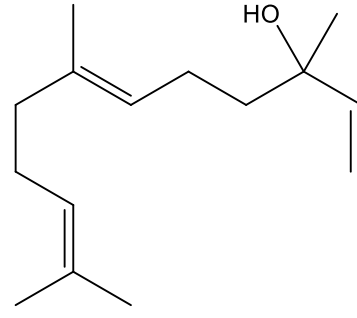
Şekil 9. Uçucu yağlardaki bazı bisiklikmonoterpenler

Seskiterpenler: Yapısı üç tane izoprenin birleşimiyle oluşan 15 karbonlu $C_{15}H_{24}$ kimyasal formuna sahip terpenlerin içerisinde yaygın bir yer kapyalan birleşiklerdir. Seskiterpenler önemli bir ilaç bileşeni grubu olarak oldukça önemlidir. Günümüzde yaklaşık olarak 1000 civarında seskiterpen olup bunlar yapı olarak 100 farklı karbon iskeletine sahiptirler. Seskiterpenler asiklik, monosiklik, bisiklik, trisiklik ve tetrasiklik olarak 5 alt sınıfa ayrılmaktadır. Geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahip olup antimikrobiyal ve antitümör aktivitesi memeliler için toksik olabilmektedir. Bu bileşikler doymamış olmasından kaynaklı çabuk bozunur ve yoğun kokuları mevcuttur (34, 75, 76).

a. Asiklik seskiterpenler: Asiklik seskiterpenler ve oksijenli türevleri birçok uçucu yağda bulunan farnesol ve nerolidol örnek verilebilir. Şekil 10'da bazı oksijenli asiklik seskiterpenler gösterilmiştir.



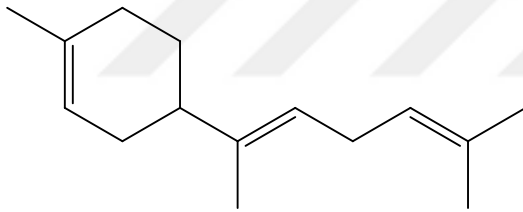
Farnesol



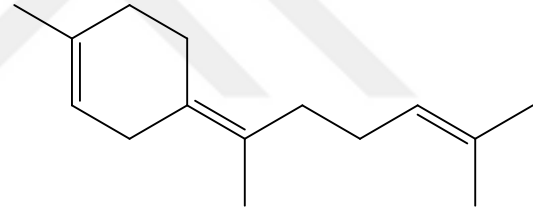
Nerolidol

Şekil 10. Bazı oksijenli asiklik seskiterpenler

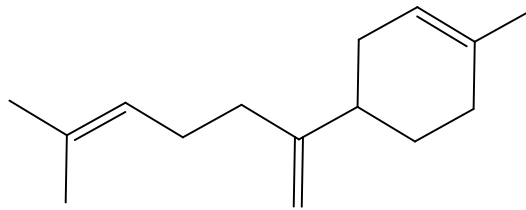
b. Monosiklik seskiterpenler: Yapılarında tek halka mevcut olup üç adet izopren biriminden meydana gelmiştir. Monosiklik seskiterpenlere bisabolen örnek verilebilir ve üç tip bisabolen bulunur. Şekil 11’de bisabolen yapıları gösterilmektedir.



α -bisabolen



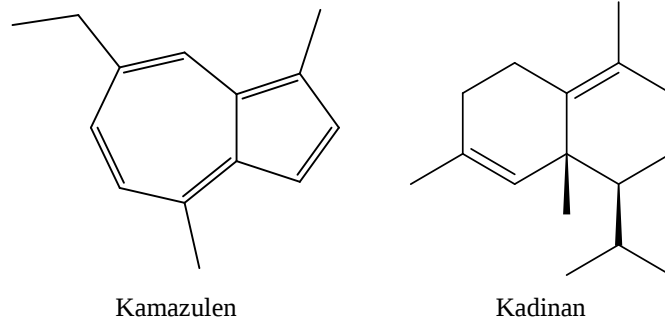
β -bisabolen



γ -bisabolen

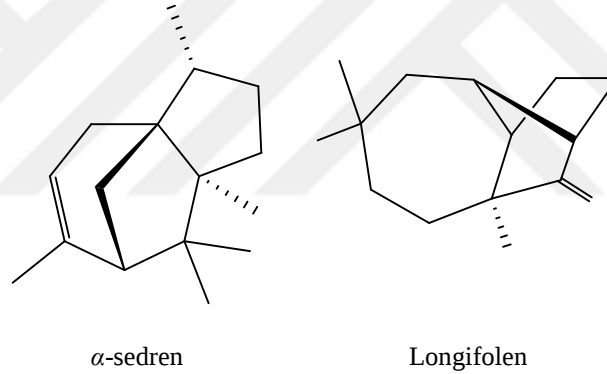
Şekil 11. Monosiklik bisabolen seskiterpenler

c. Bisiklik seskiterpenler: İki halka ve 3 izopren ünitesinden meydana gelmektedir. Kamazulen, *Matricaria chamilla*’dan elde edilen bisiklik seskiterpenlere bir örnektir ve boğaz ağrısında garagara olarak preparatlara katılmaktadır. Şekil 12’de bisiklik seskiterpenlerden kamazulen ve kadinan bileşikleri görülmektedir.



Şekil 12. Bazı bisiklik seskiterpenler

d. Trisiklikseskiterpenler: Üçlü halka yapısı olan trisiklik seskiterpenlere sedir ağacı yağındaki α -sedren ve longifolen örnek verilebilir. Şekil 13'te trisiklik seskiterpen bileşikler görülmektedir (34, 76, 77).

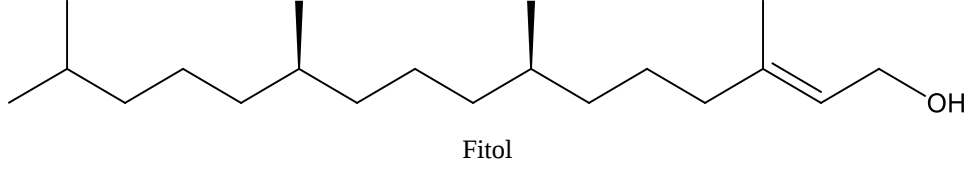


Şekil 13. Bazı trisiklik seskiterpen bileşikler

Diterpenler: 20 karbon içeren dört izopren ünitesinin birleşiminden oluşan $C_{20}H_{32}$ formülüne sahip birleşiklerdir. Diterpenler, yüksek kaynama noktaları olmasından dolayı genel olarak uçucu yağlar içerisinde az rastlanmaktadır. Temel olarak diterpenler, bitki ve mantar kökenli olmasının yanında böceklerde ve deniz canlılarında da bulunmaktadır (78). Diterpenler polar olması nedeniyle bitkilerden farklı ekstraksiyon yöntemleriyle elde edilmektedir. Kimyasal yapı olarak asiklikler, monosiklikler, bisiklikler, trisiklikler, tetrasiklikler ve makrosiklik gruplarında sınıflandırılabilirler (34, 79).

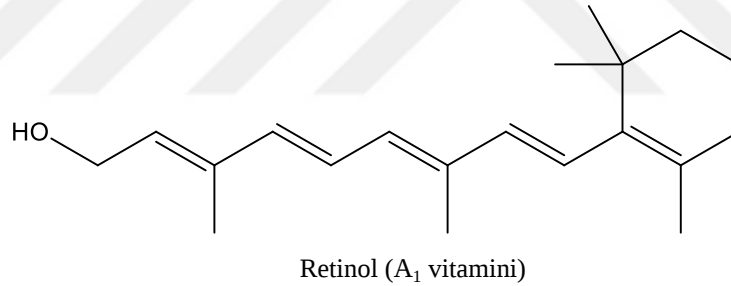
a. Asiklik diterpenler: Doğal kaynaklarda mevcut olup, özellikle yeşil alglerde düz zincirli asiklik diterpenler bulunmaktadır. Asiklik diterpenler çoğunlukla halka içermeyip düz zincirli yapıdadır ve bu yapılarda oksijenli türevleride bulunmaktadır. Örnek olarak

oksijenli asiklik diterpen bileşigi olarak fitol verilebilir. Şekil 14’de fitol görülmektedir (80).



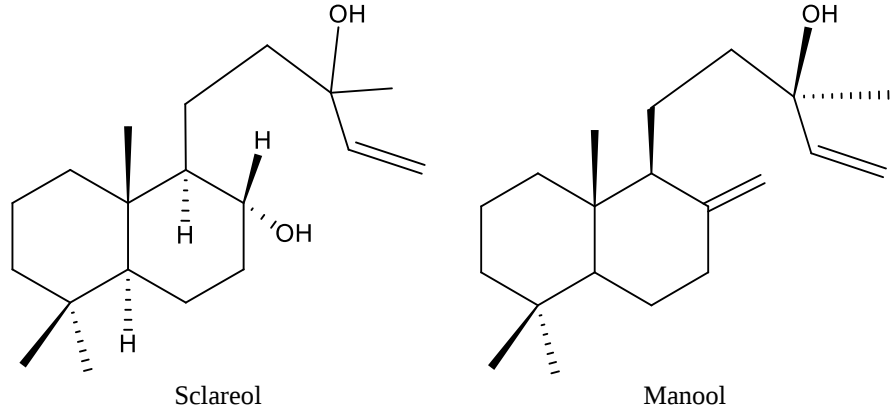
Şekil 14: Fitol bileşigi

b. Monosiklik diterpenler: İki izopren yapısının halka şeklinde birleşmesi ile oluşup monosiklik diterpenlerin oksijenli türevi olan retinol (A_1 vitamini) en çok bilinen bileşiktir. Monosiklikditerpenler, deniz yosunlarından elde edilebilirler. Retinol gece körlüğü önlenmesi ve normal görme yetisi açısından önemlidir. Şekil 15’de retinolün yapısı gösterilmiştir (81).



Şekil 15. Retinol

c. Bisiklik diterpenler: Labdan ve klorendans adında farklı iskelet yapısında iki gruba ayrılmaktadır. Labdanalar, Compositea ve Lamiaceae familyalarında sıkça görülmektedir. Manool ve Sclareol, labdanlara örnek yapılarıdır. Manool, sarı çamdan elde edilen ve formülü $C_{20}H_{34}O$ olan labdadienol türevi birleşiktir. Manool yapısında tersiyer alkol bulunmaktadır. Sclareol, *Salvia sclarea* bitkisinden elde edilen formülü $C_{20}H_{36}O_2$ olan iki halkalı yapıdır. Manool ve sclareol diterpen yapısındaki maddeler kozmetik sektöründe kullanılmaktadır. Forskolin, *Coleus forskohlii* bitkisinden elde edilen ve antihipertansif özelliği olan labdan yapısında bisiklik diterpendir. Şekil 16’da sclareol ve manool bileşikler görülmektedir (80, 81).

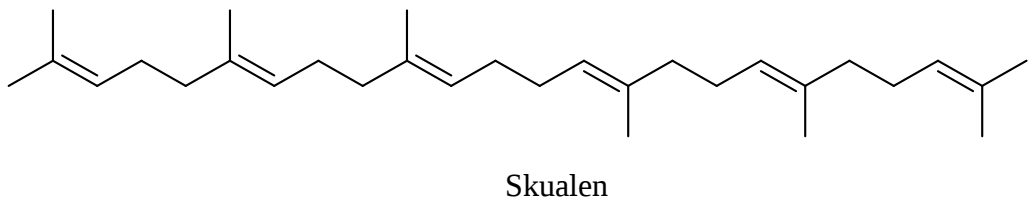


Şekil 16. Manool ve sclareol

d. Trisiklik diterpenler: Pimaranlar (Pimarenes), Abietanlar (Abietans), Kasanlar (Cassanes), Rosanlar (Rosanes) dört farklı iskelet yapısına sahiptirler. Pimaran yapısı, doğada çok sık rastlanır ve kozalaklı ağaçlardan elde edilen reçinelerde bulunmaktadır. Pimaran yapısındaki birleşiklere izopimarik asit ve sandarakopimarik asit verilebilir. Abietanlar, üç halkalı pimaradienlerden metil grubunun ayrılması ile oluşur (80, 82).

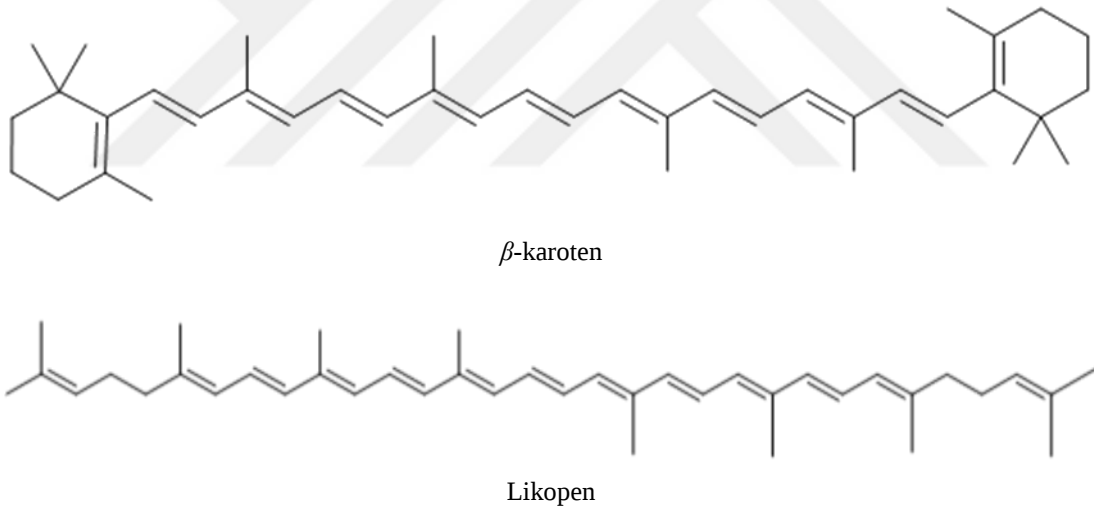
e. Tetrasiklik diterpenler: Kaurenler (Kaurenes) ve Beyerenerler (Beyerenes) olarak iki ana yapıda incelenirler (81).

Triterpenler: Altı izopren yapının birleşmesiyle oluşup $C_{30}H_{48}$ molekül formülüne sahip terpenlerdir (82). İlk üye 30 karbonlu 6 çift bağa sahip düz zincirli bir triterpen yapı olan ve köpek balığının karaciğerinden elde edilen yağın temel birleşeni skualendir (Şekil 17). Skualen, köpek balığı karaciğerinin yağının yanında kepekli pirinç, buğday filizi, zeytin gibi bitkisel içerikli ürünlerden de elde edilebilir. Skualen, iki çift farnesil pirofosfat molekülünün indirgenmesi ile oluşup ticari amaçla köpek balığı yağı kapsülleri mevcuttur. Bu kapsüller kozmetikte cilt kremine hammadde olarak kullanılmaktadır. 4000 civarında triterpen izole edilmiş olup 40'dan fazla iskelet yapısı tespit edilmiştir (83, 84).



Şekil 17. Skualen bileşiği

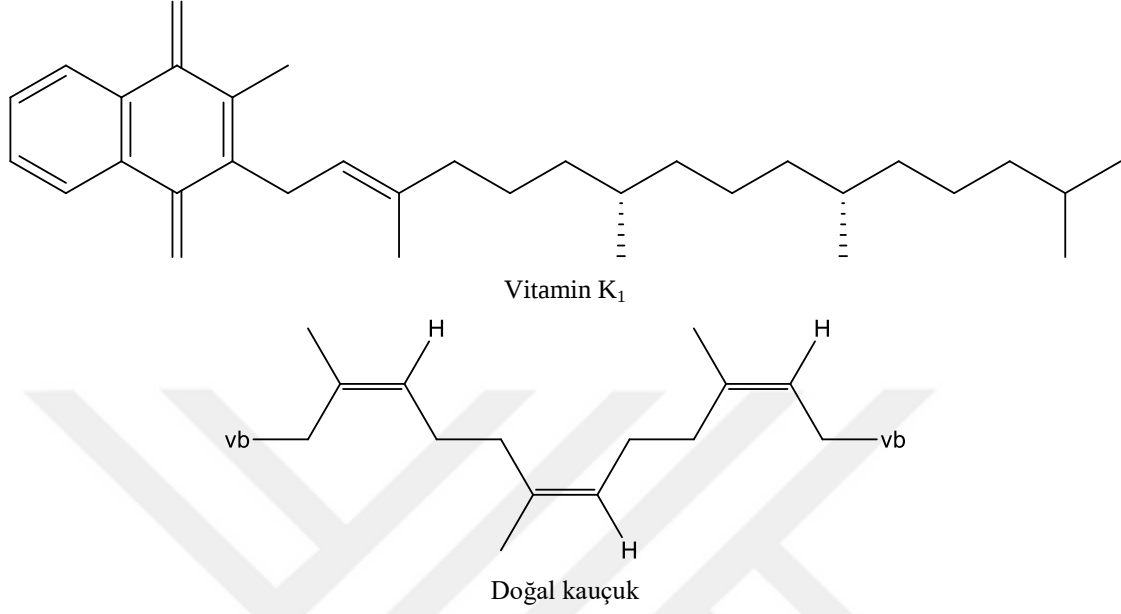
Tetraterpenler: Sekiz izopren ünitesinin birleşiminden oluşup temel yapı olarak $C_{40}H_{56}$ molekül formülündedir. Tetraterpenler, kuyruk kuyruğa bağlanmış iki asiklik diterpenin kondenzasyonu ile oluşurlar. Doğal yapıda 200 adet tetraterpen bulunmaktadır ve karotenoidler olarak isimlendirilmektedir. Karotenoidler hemen hemen tüm yeşil bitkilerde mevcut olup fotosentezde pigment olarak çiçeklerde renk ajanı görevinin yanında sebze ve meyvelere turuncu ve kırmızı rengi verirler. Karotenler A vitamini için öncü madde olarak kullanılırlar. Önemli tetraterpenler asiklik likopen ve β -karoten (Şekil 18) olup insan intestinal mukozasında β -karotenler retinole dönüşürler ve bundan dolayı havuç, domates gibi ürünler önem taşımaktadırlar. A vitamininin görme kusurlarını önlemesi yanında hayvanların büyüme kusurlarını engellemesi açısından da önem taşır. Lipoken kırmızı renkli bir karotenoid olup insan vücudunda yaygındır ve domates, papatya, karpuz gibi sebze meyvelerde bulunur. Likopen güçlü bir antioksidandır ve gıda boyası olarak kullanımı mevcuttur (72, 85).



Şekil 18. Tetraterpen yapılı β -karoten ve likopen bileşikleri

Politerpenler: Çok sayıda izopren yapısının birleşmesiyle oluşur ve en ön plana çıkan örneği kauçuktur. Kauçuk maddesinin diğer adı latekstir ve tropik yerlerde yetişen ağaçlardan elde edilir. Lateks, ağaçların gövdesine bir kesik açılması ile sızmaya başlar ve asetik asit kauçuğu çözeltiden ayırmak için eklenir. Böylece kauçuk çözeltiden ayrılabilir duruma gelir ve hava akımında kurutma veya tütsüleme gibi işlemlerin sonucunda eldesi sağlanır. Kauçuğun izopren polimeri olduğunu kauçuğun distilasyon işlemi sonucunda hammadde olarak izopren yapısı vermesinden çıkarabiliriz ve doğal

kauçuk (C_5H_8)_n formülündedir. Vitamin K₁ politerpenlere verilebilecek diğer bir örnektir. Şekil 19’da Vitamin K₁ ve doğal kauçuk politerpenler görülmektedir (78, 86).



Şekil 19. Vitamin K₁ ve doğal kauçuk politerpenleri

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

V. bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkileri, KTÜ Eczacılık Fakültesi yakınında 22 ve 24 Mayıs 2018 tarihinde Trabzon, Kanuni Kampüsünden toplandı (herbiri 500 g, yaş ağırlık). Her iki bitki Prof. Dr. Kamil Coşkunçelebi tarafından teşhis edildi ve herbaryum numarası aşağıdaki gibi verildi.

Vicia bithynica L. (Fabaceae): 22 Mayıs 2018, Coşkunçelebi 1251 (KTUB),

Vicia cracca L. subsp. *cracca* (Fabaceae): 24 Mayıs 2018, Coşkunçelebi 1259 (KTUB).

3.2. Clevenger Yöntemi ile Uçucu Yağ Eldesi

V. bithynica (40 g, yaş) ve *V. cracca* subsp. *cracca* (40 g, yaş) bitkilerinin Clevenger yöntemi (Resim 3) ile uçucu yağları sırasıyla %0.0073 ve %0.0071 verimle elde edilmiştir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağ *n*-hekzan çözücüsü içinde kahverengi viallere konup -10 °C de saklandı.



Resim 3. Uçucu yağ eldesinde kullanılan Clevanger düzeneği

3.3. *n*-Hekzan, Asetonitril, Metanol ve Su Ekstrelerinin Eldesi

Herbir bitkiden ayrı ayrı 10 g (yaş) alınıp *n*-hekzan, asetonitril, metanol ve su ekstraktları elde edildi. Ekstraksiyon işlemi; minimize edilmiş şekilde ayrılan bitki

numuneleri kahverengi şişelere aktararak, üzerine bitki seviyesini 1 cm geçecek şekilde (10 ml) çözücü ilave edilerek ve 24 saat süreyle oda sıcaklığında bekletilerek yapılmıştır. Bir gün bekletildikten sonra süzülen ekstrelerin çözücülerini evaporatörde edilerek ham ekstratlar elde edilip, verimler hesaplanmıştır (*V. bithynica*; *n*-hekzan: 0.0395 g, asetonitril: 0.01195 g, metanol: 0.570 g, ve su: 0.0578 g; *V. cracca* subsp. *cracca*; *n*-hekzan: 0.0322 g, asetonitril: 0.0356 g, metanol: 0.3444 g, ve su: 0.0420 g) (86, 87). Ekstraksiyonlar üç tekrarlı yapılmıştır ve birleştirilmiştir.

3.4. Uçucu Yağların GC-FID/MS Analiz Yöntemi

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar Resim 4'te gösterilen GC-FID/MS cihazında uçucu bileşen analizleri ayrı ayrı yapılmıştır (87, 88). Uçucu yağların GC-FID/MS analizi, Shimadzu QP 2010 Plus cihazı kullanılarak yapılmıştır (Resim 4). *n*-Hekzan (HPLC kalitesinde) içinde çözünmüş uçucu yağ (1 µL) GC cihazına enjeksiyonu, 250 °C'de split modda gerçekleştirilmiştir. GC-FID/MS başlangıçta 60 °C'de 2 dakika tutulup daha sonra 3 °C/dakika ısıtma rampasıyla 240 °C'ye yükseltilip 60 dakika süreyle koşturulmuştur. Taşıyıcı gaz olarak helyum (% 99.999) 1mL/ dakika kullanılmıştır (88).



Resim 4. GC-FID/MS cihazı

3.5. Antimikrobiyal Aktivite Yöntemi

V. bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinden elde edilen uçucu yağ, *n*-hekzan, metanol, asetonitril ve su ekstratlarının antimikrobiyal aktivite tayini Agar kuyu difüzyon ve Mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak antimikrobiyal aktivite tayini dokuz

adet mikroorganizmaya karşı tespit edilmiştir (87, 88). Çalışmada kullanılan mikroorganizmalar Refik Saydam Hıfzısıhha Enstitüsü (Ankara)'dan temin edilmiştir. Bu mikroorganizmalar; *Escherichia coli* (Ec) ATCC 25922, *Yersinia pseudotuberculosis* (Yp) ATCC 911, *Pseudomonas aeruginosa* (Pa) ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* (Sa) ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* (Ef) ATCC 29212, *Bacillus cereus* (Bc) 702 Roma, *Mycobacterium smegmatic* ATCC 607, *Candida albicans* (Ca) ATCC 60193, *Streptococcus mutans* RSKK 07038, dir. Standart antibakteriyal ve antifungal ilaçlar sırasıyla Ampicillin (Amp), Streptomycin (Str), Fluconazole (Flu) dur.

3.5.1. Agar Kuyucuk Difüzyon Metodu

V. bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinden elde edilen uçucu yağ, *n*-hekzan, asetonitril, metanol ve su ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri olup olmadığının belirlenmesinde ilk olarak agar kuyucuk difüzyon metodu kullanıldı. Bu yöntemde kullanılacak bakteri türleri için Mueller Hinton agar ve sıvı besiyerleri, *Mycobacterium smegmatis* için Brain heart infusion (BHI) sıvı ve katı besiyeri, mantarlar için maya ekstreli sıvı besiyeri (YEG) (Difco, Detroit, MI) ve Potato Dextrose agar (PDA) (Difco, Detroit, MI) ortamları oluşturulmuş olup testi yapılacak bakteri türlerinin bir gecelik kültürlerinden, sıvı besiyeri ortamına yaklaşık olarak 10^6 kob/ml (koloni oluşturan birim) şeklinde sulandırılmış olup daha önceki aşamada hazır edilen katı besiyerilerine etkin bir şekilde ekimler oluşturuldu. Ekim işlemleri sonlandırılan ortamlarının içinden, sterilizasyon işlemi yapılmış cam boru vasıtası ile 2 cm boşluk bulunan 5 mm çapında kuyucuklar yarılıp her bir kuyucuğa test işlemi yapılacak numunelerin 1 mL hazırlanmış olup stok çözeltilerden 50 mikrolitre damlatıldı. Bakteri içeren petriler 24 saat, maya içeren petriler 48 saat 36 °C'de inkübe işlemi uygulanmış olup bu işlemten sonra bir cetvel yardımıyla inhibisyon zonları ölçüldü. Standart kontrol ilaç olarak bakteriler için Ampisilin (10 µg), mayalar için flukonazol (5 µg), *M. smegmatis* için Streptomisin ve standart çözücü kontrolü kullanılmıştır (89).

3.5.2. Minimum İnhibisyon Yöntemi

V. bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinden elde edilen uçucu yağ, *n*-hekzan, metanol, asetonitril ve su ekstraktlarının agar kuyucuk metodunda numunenin 500-250 mikrogram/mL miktarlarının 10 mm ve üzeri zon çapı oluşturdıkları durumunda bu etkinliğin kantitatif etki değerinin belirlenmesi için sıvı besiyerlerinde mikrodilüsyon sıvı

yöntemi uygulanarak, minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri mikrogram-mililitre ($\mu\text{g/mL}$) olarak belirlendi (90, 91).

MİK yöntemi, “National Committee for Clinical Laboratory Standard” (NCCLS) standartlarının uygulandığı kurallara göre belirlenip faal duruma geçirilmiştir (89, 90). Bundan dolayı ortamı oluşturulan besiyerleri; bakteriler için Mueller-Hinton agar (MHA), maya mantarları için Yeast Nitrogen Base sıvı (YNBB, pH 7.0) (Difco, Detroit, MI) ve PDA (Difco, Detroit, MI) besiyeri ortamları seçilmiştir. Antitüberküloz aktivitenin belirlenmesinde *M. smegmatis* RSKK 251 suşu seçilmiş olup kültür üretimi bunun yanında testleri için Brain Heart Infusion (Difco, Detroit, MI) besiyerleri ortamı seçilmiştir. Oluşturulan bu kültür şekilleri 3-5 gün süre aralığında 35 °C sıcaklıkta yeterince oksijen içeren koşullarda inert ortam sağlanmıştır. Mikrodilüsyon test aşamasında ELISA pleytleri kullanılmış olup örneklerin 0.1 mL’si sıvı besiyerleri ile seri sulandırılmaları yapıldı. Ortama yerleştirilecek olan mikroorganizmaların bir gece süresindeki kültürlerinin McFarland 0.5 bulanıklılığında (1×10^8 kob/ml) sulandırılmaları hazırlanıp 1:10 sulandırılma işlemi yapılarak ve her bir kuyucuğa 0.005 ml mikroorganizma (son test konsantrasyonu 5×10^4 kob/kuyucuk) eklemesi yapıldı bununla beraber pleyt kültüründe 35 °C sıcaklıkta yeterince oksijen içeren koşullarda etüv cihazında 16-72 saat zaman aralığında etüvde bekletildi. MİK değerinin oluşturulmasında mikrodilüsyon kuyucuklarındaki mikroorganizmanın çoğaltılması durdurulmuş olup net bir şekilde görülebilen en alçak seviyede antimikrobik madde konsantrasyonu gözlemlenmiştir. Standart uygun şekilde kontrol ilaç olarak bakteriler için Ampisilin (10 μg), mayalar için flukonazol (5 μg) ve standart çözücü kontrolü kullanıldı (92).

4. BULGULAR

V. bithynica bitkisinden elde edilen esansiyal yağın GC/FID-MS analizi sonucu aydınlatılabilen uçucu bileşikler Tablo 3’de verilmiştir.

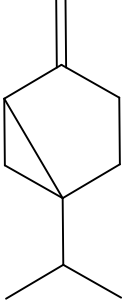
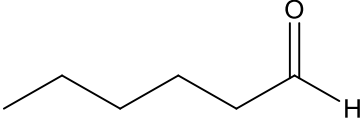
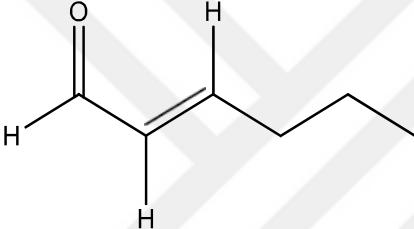
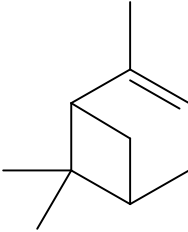
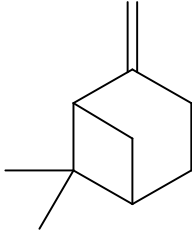
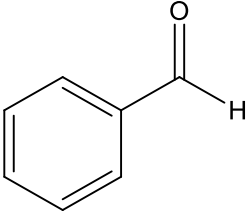
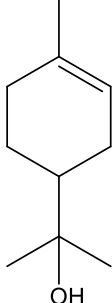
Tablo 3. *V. bithynica* bitkisinin esansiyal yağ bileşenleri

Bileşik sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Aromatik	2-Etil furan	730	731	6.52	0.30
Aromatik	2-Vinil furan	761	752	6.60	6.69
Alkol	Pentanol	767	758	7.02	0.54
Aldehit	Hekzenal	804	814	7.21	0.02
Aldehit	2(E)-Hekzenal	852	860	8.64	6.55
Alkol	3(Z)-Hekzenol	858	863	10.24	2.21
Alkol	1-Hekzenol	863	873	10.33	1.78
Aldehit	Heptanal	906	906	10.68	1.53
Monoterpen	α -Pinen	940	940	11.81	2.48
Aldehit	Benzaldehit	960	966	13.21	9.15
Monoterpen	Sabinen	978	978	14.28	5.39
Monoterpen	β -Pinen	974	979	14.75	1.91
Aromatik	2-Pentil furan	992	992	14.95	11.20
Monoterpen	α -Terpinen	1018	1019	15.32	3.37
Monoterpen	Limonen	1031	1031	16.82	2.03
Monoterpen	Trans- β -osimen	1053	1050	17.22	24.91
Monoterpen	γ -Terpinen	1061	1060	17.68	4.35
Monoterpenoid	α -Terpinolen	1189	1090	18.26	1.38
Monoterpenoid	Linalool	1098	1098	19.58	0.19
Aldehit	Nonanal	1102	1102	19.90	4.59
Aldehit	2(E)-nonenal	1157	1158	20.08	1.62
Monoterpenoid	Terpinen-4-ol	1177	1180	22.54	0.10
Monoterpenoid	α -Terpineol	1189	1193	23.47	0.40
Monoterpenoid	Mirtenol	1196	1202	24.02	0.22
Monoterpenoid	Siklositral	1220	1224	25.34	1.22
Monoterpenoid	(E)- β -Damescenon	1386	1387	32.01	0.04
Seskiterpen	β -Elemene	1389	1385	32.31	0.38
Seskiterpen	Trans-karyofillen	1417	1421	33.56	0.28
Seskiterpen	(E)- β -Farnesen	1457	1453	34.57	1.39
Monoterpen türevi	(E)- β -İyonon	1487	1489	35.92	1.94
Diterpenoid	Fitol	2110	2110	56.21	1.84

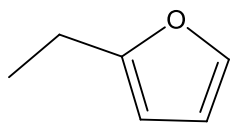
(%)^a: Bileşiğin alanı ; RI*: Referans değeri; RT: Alikonma zamanı.

V. bithynica bitkisinde aydınlatılan uçucu bileşenlerin formülleri Tablo 4’de verilmiştir.

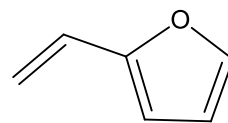
Tablo 4. *V. bithynica* bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri

	
Sabinen	Hekzanal
	
2-(<i>E</i>)-Hekzenal	1-Hekzanol
	
α-Pinen	β-Pinen
	
Benzaldehit	α-terpineol

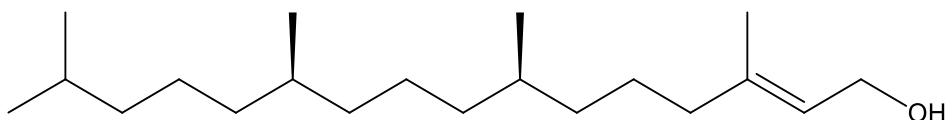
Tablo 4. (Devam)



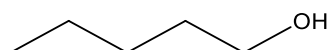
2-Etil furan



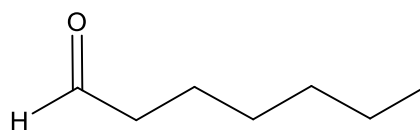
2-Vinil furan



Fitol



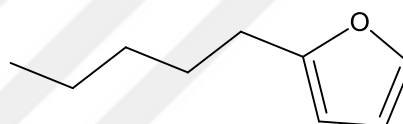
Pentanol



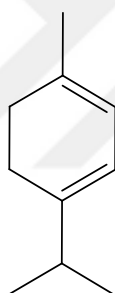
Heptanal



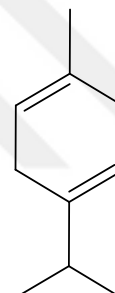
3(Z)-Hekzanol



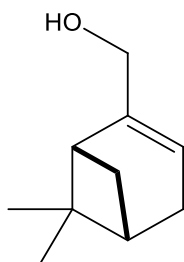
2-Pentil furan



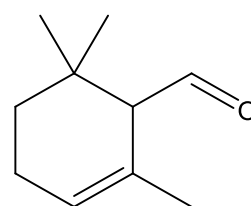
α -Terpinen



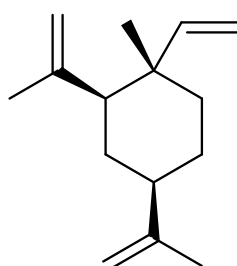
γ -Terpinen



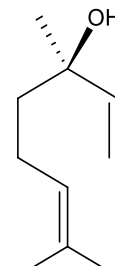
Mirtenol



Siklositral

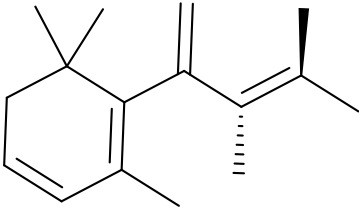
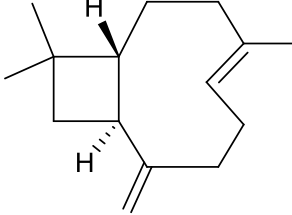
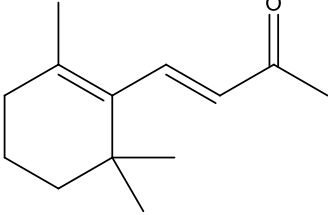
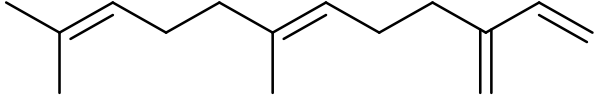
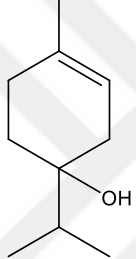
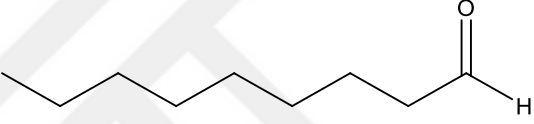
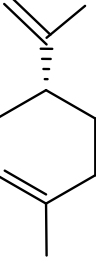
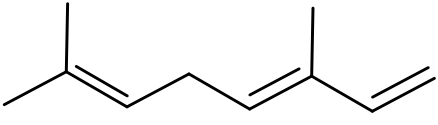
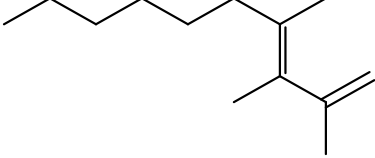
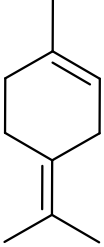


β -Elemene



Linalool

Tablo 4. (Devam)

	
(E)-β-Damascenone	Trans-karyofillen
	
(E)-β-ionon	(E)-β-Farnesen
	
Terpinen-4-ol	Nonanal
	
Limonen	Trans-β-Osime
	
2(E)-Nonenal	α-Terpinolene

V. cracca subsp. *cracca* bitkisinden elde edilen essansiyal yağın GC/FID-MS analizi sonucu aydınlatılabilen uçucu bileşikler Tablo 5’de verilmiştir.

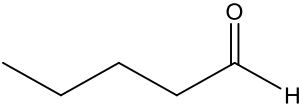
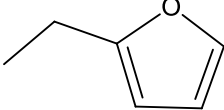
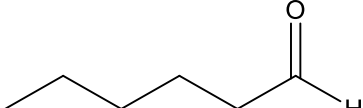
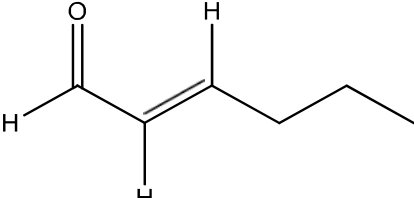
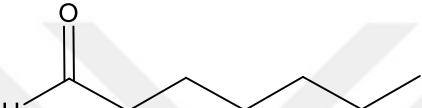
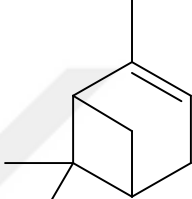
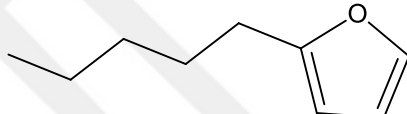
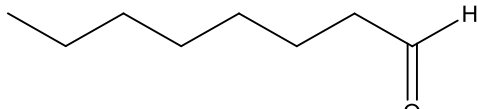
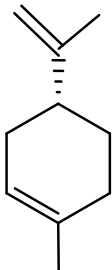
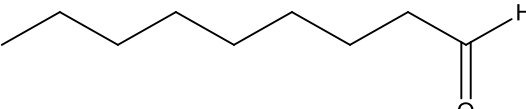
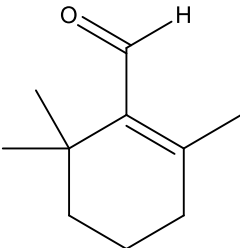
Tablo 5. *V. cracca* subsp. *cracca* bitkisinin uçucu yağ bileşenleri

Bileşik sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Aldehit	Pentanal	730	731	6.53	1.68
Aromatik	2-Etil furan	728	733	6.61	27.26
Aldehit	Hekzanal	804	801	8.65	18.91
Aldehit	2(E)-hekzenal	852	850	10.24	11.85
Aldehit	Heptanal	899	903	11.83	1.28
Monoterpen	α -Pinen	940	940	13.22	3.71
Alkol	Okten-3-ol	991	988	14.88	1.79
Aromatik	2-Pentil furan	992	992	15.34	4.62
Aldehit	Kaprilaldehit	1003	1003	15.78	2.06
Monoterpen	Limonen	1031	1030	17.02	7.03
Aldehit	Pelargonaldehit	1101	1102	20.09	9.73
Monoterpenoid	β -Siklositral	1220	1224	25.36	2.31
Monoterpenoid	Dihidro edulan-I	1289	1293	28.25	1.46
Seskiterpen	Trans-karyofillen	1417	1421	33.56	1.11
Monoterpen türevi	(E)- β -İyonon	1487	1489	35.94	2.73
Seskiterpen	α -Selinene	1493	1501	36.43	0.94
Alifatik hidrokarbon	Pentacosane	2500	2500	61.11	1.54

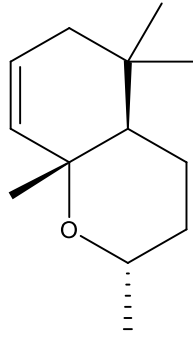
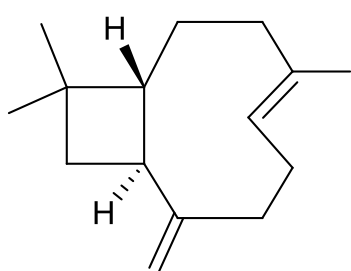
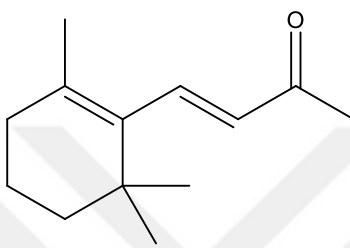
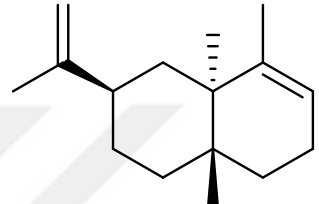
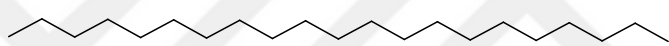
(%)^a: Bileşiğin alanı; RI* : Referans değeri; RT: Alıkonma zamanı.

V. cracca subsp. *cracca* bitkisinde aydınlatılan uçucu bileşenlerin formülleri Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6. *V. cracca* subsp. *cracca* bitkisinin uçucu bileşenlerinin formülleri

	
Pentanal	2-Etil furan
	
Hekzanal	2(E)-Hekzanal
	
Heptanal	α -Pinen
	
Octen -3-ol	2-Pentil furan
	
Kaprilaldehit	Limonen
	
Pelargon aldehit	β -Siklositral

Tablo 6. (Devam)

	
Dihidro edulan-I	Trans-karyofillen
	
(E)-(β)-İyonon	α-Selinene
	
Pentacosane	

V. bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstralarının agar kuyu difüzyon yöntemi (mm) ile antimikrobiyal inhibisyon çapları Tablo 7’de verilmiştir.

Tablo 7. *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstralarının antimikrobiyal inhibisyon çapları

Ekstreler	Stok çöz. µg/2 ml	Mikroorganizma ve bileşik inhibisyon çapı (mm)								
		Ec	Yp	Pa	Sa	Sm	Ef	Bc	Ms	Ca
<i>V. bithynica</i>										
Uçucu yağ	46100	-	-	-	10	7	-	-	15	-
<i>n</i> -Hekzan	9400	6	-	8	8	6	6	8	14	15
Asetonitril	14200	6	-	6	8	8	6	10	15	15
Metanol	32600	8	-	6	-	6	10	8	15	10
Su	223500	6	-	6	6	-	8	6	15	8
<i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i>										
Uçucu yağ	13600	-	10	-	-	-	-	7	12	-
<i>n</i> -Hekzan	9300	-	-	-	-	-	-	6	14	6
Asetonitril	29200	8	-	6	8	10	-	10	12	20
Metanol	168400	8	-	6	8	10	-	8	14	18
Su	83700	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amp.	10	10	18	18	35	TE	10	15	-	
Strep.	10								35	
Flu.	5									25

Ec: *Escherichia coli*, Yp: *Yersinia pseudotuberculosis*, Pa: *Pseudomonas aeruginosa*, Sa: *Staphylococcus aureus*, Sm: *Streptococcus mutans*, Ef: *Enterococcus faecalis*, Bc: *Bacillus cereus* 702 Roma, Ms: *Mycobacterium smegmatis*, Ca: *Candida albicans*, (-): aktivite gözlemlenmedi. Amp.: Ampicillin, Str.: Streptomycin, (-): Flu.: Fluconazole, TE: test edilemedi.

V. bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstralarının mikrodilüsyon metodu ile ekstraların antimikrobiyal minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri (MİK, µg/ml) Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu ve çözücü ekstralarının antimikrobiyal minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri (MİK, µg/ml)

Ekstreler	Stok çöz. µg/2 ml	Mikroorganizma ve minimum inhibisyon konsantrasyon değeri (MİK, µg/ml)								
		Ec	Yp	Pa	Sa	Sm	Ef	Bc	Ms	Ca
<i>V. bithynica</i>										
Uçucu yağ	46100	-	-	-	1152	-	-	2305	-	-
<i>n</i> -Hekzan	9400	235	-	117	117	235	235	117	30	30
Asetonitril	14200	355	-	355	177	177	355	88	44	44
Metanol	32600	407	-	815	-	815	203	407	101	203
Su	223500	5587	-	5587	5587	-	2793	5587	349	2793
<i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i>										
Uçucu yağ	13600	-	340	-	-	-	-	680	170	-
<i>n</i> -Hekzan	9300	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Asetonitril	29200	365	-	730	365	182	-	182	182	46
Metanol	168400	2105	-	4210	2105	1052	-	2105	263	263
Su	83700	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Amp.	10	10	18	>128	35	TE	10	15		
Strep.	10								4	
Flu	5									<8

Ec: *Escherichia coli*, Yp: *Yersinia pseudotuberculosis*, Pa: *Pseudomonas aeruginosa*, Sa: *Staphylococcus aureus*, Sm: *Streptococcus mutans*, Ef: *Enterococcus faecalis*, Bc: *Bacillus cereus* 702 Roma, Ms: *Mycobacterium smegmatis*, Ca: *Candida albicans*, (-): aktivite gözlemlenmedi. Amp.: Ampicillin, Str.: Streptomycin, (-): Flu.: Fluconazole, TE: test edilemedi. Her bir numune 2 ml %96'lık etanol de çözündü ve MİK değerleri hesaplandı.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* Bitkilerinin Uçuşu Bileşenleri

Yapılan bu çalışmada *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca*'nın toprak üstü kısımlarından hidrodistilasyon ile uçucu organik bileşenleri GC-FID/MS cihazı ile analiz edilmiştir (87, 88, 93). Çalışma sonucunda hidrodistilasyon yöntemiyle *V. bithynica* türünden elde edilen uçucu yağda 31 adet uçucu bileşen aydınlatılmış olup monoterpen (8 adet) sınıfı bileşiklerin %45.82 oranla ana bileşik olduğu tespit edilmiştir (Tablo 9). *V. bithynica* bitkisinden aydınlatılan uçucu bileşenler monoterpen, monoterpenoid, seskiterpen, seskiterpenoid, aldehit, alkol, aromatik, monoterpen türevi ve diterpenoid bileşikler olarak sınıflandırılmıştır. *V. cracca* subsp. *cracca* bitkisinde ise aldehit grubu bileşikler %45.51 oranında ana bileşen olarak bulunmuştur. Yapısı aydınlatılan 17 adet uçucu bileşenler monoterpen, monoterpenoid, seskiterpen, aldehit, alkol, alifatik hidrokarbon, aromatik ve monoterpen türevi bileşikler olarak gruplandırılmıştır (Tablo 9).

Tablo 9. *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu bileşenlerindeki bileşik sınıfları ve miktarları

Bileşik sınıfı	<i>V. bithynica</i>		<i>V. cracca</i> subsp. <i>cracca</i>	
	(%) ^a	BS ^b	(%) ^a	BS ^b
Monoterpen	45.82	8	10.74	2
Monoterpenoid	2.17	6	3.77	2
Seskiterpen	2.05	3	2.05	2
Seskiterpenoid	1.94	1	-	-
Aldehit	23.47	6	45.51	6
Alkol	4.53	3	1.79	1
Alifatik hidrokarbon	-	-	1.54	1
Aromatik	18.19	3	31.87	2
Monoterpen türevi	1.94	1	2.73	1
Diterpenoid	1.83	1	-	-
Total		31		17

(%)^a: Bileşiğin alanı; BS^b: Bileşik sayısı

V. bithynica bitkisinin 18 adet terpenik bileşenleri Tablo 10'da verilmiştir. Terpenik bileşenler içinde sayı ve miktar olarak monoterpen bileşenleri daha fazla miktarda görülmektedir. Monoterpen sınıfı bileşiklerde *trans*- β -osimen (%24.91), monoterpenoid

sınıfı bileşiklerde β -siklositral (%1.22) ve seskiterpen türü bileşiklerde (*E*)- β -farnesen (%1.39) major bileşikler olarak bulundu.

Tablo 10. *V. bithynica* bitkisinin terpenik esansiyal yağ bileşenleri

Bileşik sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Monoterpen	α -Pinen	940	940	11.81	2.48
Monoterpen	Sabinen	978	978	14.28	5.39
Monoterpen	β -Pinen	974	979	14.75	1.91
Monoterpen	α -Terpinen	1018	1019	15.32	3.37
Monoterpen	Limonen	1031	1031	16.82	2.03
Monoterpen	Trans- β -osimen	1053	1050	17.22	24.91
Monoterpen	γ -Terpinen	1061	1060	17.68	4.35
Monoterpen	α -Terpinolen	1189	1090	18.26	1.38
Monoterpenoid	Linalool	1098	1098	19.58	0.19
Monoterpenoid	Terpinen-4-ol	1177	1180	22.54	0.10
Monoterpenoid	α -Terpineol	1189	1193	23.47	0.40
Monoterpenoid	Mirtenol	1196	1202	24.02	0.22
Monoterpenoid	β -Siklositral	1220	1224	25.34	1.22
Monoterpenoid	(<i>E</i>)- β -Damescenon	1386	1387	32.01	0.04
Seskiterpen	β -Elemene	1389	1385	32.31	0.38
Seskiterpen	Trans-karyofillen	1417	1421	33.56	0.28
Seskiterpen	(<i>E</i>)- β -Farnesen	1457	1453	34.57	1.39
Monoterpen türevi	(<i>E</i>)- β -İyonon	1487	1489	35.92	1.94
Diterpenoid	Fitol	2110	2110	56.21	1.84

(%)^a: Bileşiğin alanı ; RI*: Referans değeri; RT: Alıkonma zamanı.

V. cracca subsp. *cracca* bitkisinin 6 adet terpenik bileşenleri tablo 11’de verilmiştir. Terpenik bileşenler içinde sayı ve miktar olarak monoterpen (%10.74) bileşenleri en fazla bileşik grubu olarak görülmektedir. Monoterpen sınıfı bileşiklerde limonen (%7.03), monoterpenoid sınıfı bileşiklerde β -siklositral (%2.31) ve seskiterpen türü bileşiklerde *trans*-karyofillen (%1.11) ana bileşiklerdir.

Tablo 11. *V. cracca* subsp. *cracca* bitkisinin terpenik uçucu yağ bileşenleri

Bileşik sınıfı	Bileşik	RI*	RI	RT	(%) ^a
Monoterpen	α -Pinen	940	940	13.22	3.71
Monoterpen	Limonen	1031	1030	17.02	7.03
Monoterpenoid	β -Siklositral	1220	1224	25.36	2.31
Monoterpenoid	Dihidro edulan-I	1289	1293	28.25	1.46
Seskiterpen	<i>Trans</i> -karyofillen	1417	1421	33.56	1.11
Monoterpen türevi	(<i>E</i>)- β -İyonon	1487	1489	35.94	2.73
Seskiterpen	α -Selinene	1493	1501	36.43	0.94

(%)^a: Bileşiğin alanı; RI* : Referans değeri; RT: Alıkonma zamanı.

V. bithynica bitkisinin uçucu yağında en fazla *trans* β -osimen (%24.91), 2-pentil furan (%11.20) ve benzaldehit (%9.15) bileşiklerine rastlanmıştır. *V. cracca* subsp. *cracca* bitkisinin uçucu yağında ise en fazla miktarda bulunan bileşiler; 2-etil furan (%27.26), hekzanal (%18.90), 2(*E*)-hekzenal (%11.84) ve pelargon aldehit (%9.97) dir. Sonuç olarak *V. bithynica* bitkisinin uçucu bileşen miktarı ve terpen içeriği *V. cracca* subsp. *cracca* bitkisinden daha fazla bulunmuştur.

Vicia türlerinin fitokimyasal olarak yapılan çalışmalarında; *V. unijuga* ve *V. costata*'nın GC-MS analizi sonucu 184 metabolit aydınlatılmıştır. *V. unijuga* bitkisinde yağ asitleri ve antrakınon ve *V. costata*'da ise amino asit, alkol ve fenolik bileşikçe zengin olduğu rapor edilmiştir (10). *V. faba* çekirdeklerinin GC-MS analizi sonucu α -tokoferol, fitol, fitosterol, stigmasterol, kampesterol ve yağ asidi bileşikleri aydınlatılmıştır (11). Bir başka *V. faba* bitkisi köklerinde poliaromatik hirdokarbon bileşikleri aydınlatılmıştır (12). 13 Ayrı lokaliteden toplanan *V. faba* bitkisinin HS/SPME-GC/MS analizi sonucu 45 adet metabolit karakterize edilmiştir ve aldehit beleşenlerin ana grup bileşik olduğu rapor edilmiştir. Kimyasal içerik farklılığının lokalite farkından olduğu belirtilmiştir (13). *V. variabilis* Frein & Sint bitkisinin GC-FID/MS analizi sonucu ana bileşenler olarak hekzahidrofarnesil aseton (%6.6), β -iyonon (%6.4), mirtenol (%3.7), (*Z*)-fitol (%3.3) and 1-okten-3-ol (%3.1) bileşikleri rapor edilmiştir. Monoterpenoid sınıfı bileşiklerin (%26.3) ana grup bileşik olarak bulunmuştur (14). *Vicia dadianorum* Somm. & Lev. bitkisinin subuharı ve mikrodalga distilasyonlarına göre GC-FID/MS analizleri sonucu 76 ve 56 metabolit aydınlatılmıştır. Seskiterpen bileşiklerinin ana grup bileşik ve γ -elemen en fazla bulunan terpen bileşiği olarak belirtilmiştir (15). *V. sativa* bitkisinin yağ asidi bileşenleri GC-MS ile karakterie edilmiştir (16). Bir başka çalışmada *V. sativa*'nın yapraklarında

yapılan HS/SPME-GC/MS analizi sonucu 43 adet metabolit karakterize edilmiş ve (Z)-2-hekzenal ana bileşen olduğu rapor edilmiştir (17).

Kanada'da yetiştirilen faba fasulyelerinden *V. faba* var. minor türünün uçucu bileşenleri HS-SPME/GC-MS ile çalışılmıştır. Bitkinin kabukları soyularak düşük ve yüksek tanen içeren türleri seçilmiştir. İnkübasyon öncesinde ekstraksiyon sıcaklığı ve numune miktarı, metot optimizasyonu sırasında değerlendirilmiştir. Bulunan uçucu maddeler aromatik hidrokarbonlar, aldehitler, alkanlar, alkenler, alkoller, ketonlar, organik asitler, esterler ve diğer bileşikler olmak üzere dokuz gruba ayrılmıştır. Yapılan analizlerde bileşenler arasında önemli farklılıklar bulunmuştur. Yapılan bu çalışmada amino asitlerin biyobozunurluğundan kaynaklı oluşabilecek uçucu bileşiklerin (metil sübstitüe aldehit, alkol, organik asit ve ester) olduğu görülmüştür. Aminoasitlerden kaynaklı olan bu durumun önemi incelenen faba türünün protein içeriğinin diğer bakliyatlarla oranla daha fazla uçucu madde içerdiği rapor edilmiştir (94).

Vicia pulchella fiğ türünde yapılan çalışmada, *V. pulchella*, *V. pulchella* subsp. *pulchella* Kunth ve *V. pulchella* subp. *mexicana* (Hemsl) C.R.Gunn, iki alt tür arasındaki kimyasal profillerini tespit etmek GC-MS kullanılmıştır. İki alt türden elde edilen tohumların metabolik farklılıkları değerlendirilmiştir. 21 amino asit ve diğer 13 azot içeren bileşik, 8 şeker, 2 şeker alkolü, 17 organik ve inorganik asit, 6 yağ asidi, 4 glikozit ve diğer bileşikler olmak üzere toplam seksen iki metabolit tanımlanmıştır. *V. pulchella* subsp. *pulchella*, amino asitler ve yağ asitleri bakımından en zengin iken, *V. pulchella* bitkisinin diğer alt türlerinde daha yüksek seviyelerde şeker ve organik asitler tespit edildi. Bu taksonlar için taksonomik belirteçler olarak da kullanılabilen ve yem bitkileri olarak potansiyellerini değerlendirebilecek olan bu biyoaktif bileşenlerin doğrulanması için Sıvı Kromatografisi-Kütle spektrometresi (LC-MS) kullanımı güvenilirlik açısından en uygun metot olacağı belirtilmiştir (95).

Vicia faba bitkisinin kurutulmuş tohumlarının kullanıldığı çalışmada, fitokimyasal analiz, antioksidan ve antimikrobiyal aktivite gibi farklı özelliklerinin sağlığa yararlarını anlamak adına yapılan araştırmada ham alkaloidler, saponinler, total flavonoidler ve toplam fenolik içeriği gibi ikincil metabolitlerin kapsamlı bir karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, GC/MS analizi sonucu α - tokoferol, fitol, fitosterol, stigmasterol, kampesterol ve yağ asitleri karakterize edilmiştir (96). Literatürde *Vicia* türlerinde yapılan uçucu bileşen çalışmalarında görüldüğü gibi *V. bithynica* ve *V. cracca*

subsp. *cracca* bitkilerindeki kimyasal bileşen farkındalığı tür, lokalite, yükseklik, toprak ve arazi gibi etkenlere bağlı olduğunu söyleyebiliriz.

5.2. *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* Bitkilerinin Uçucu Yağ ve Çözücü Ekstrelerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri

V. bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu yağ ve çözücü ekstrelerinin (*n*-hekzan, asetonitril, metanol ve su) antimikrobiyal aktivite testleri Gram (-) bakteri (*E. coli*, *Y. pseudotuberculosis* ve *P. aeruginosa*), Gram (+) bakteri (*S. aureus*, *S. mutans*, *E. faecalis* ve *B. cereus* 702 Roma), no Gram (*M. smegmatis*) ve maya mantarına (*Candida albicans*) karşı yapılmıştır (87, 88).

V. bithynica'dan elde edilen uçucu yağ sadece gram (+) bakteri *Sa* ve *Bc* ye karşı aktivite göstermiş olup MİK değerleri sırasıyla 1152 µg/ml ve 2305 µg/ml bulunmuştur. Bitkinin *n*-hekzan, asetonitril, metanol ve su ekstreleri gram (-) *Ec* ve *Pa*; gram (+) *Ef* ve *Bc*; no gram *Ms* ve maya mantarı *Ca* ya karşı MİK değerleri 30-5587 µg/ml aralıklarında tespit edildi. En iyi *n*-hekzan ve asetonitril ekstreleri için MİK değeri 30-44 µg/ml aralığında *Ms* ve *Ca* için gözlemlendi.

V. cracca subsp. *cracca* bitkisinin *n*-hekzan ve su ekstrelerinde test edilen tüm mikroorganizmalara karşı MİK değerleri tespit edilemedi. Bitkiden elde edilen uçucu yağ sadece gram (-) bakteri *Yp*; gram (+) bakteri *Bc* ve no gram *Ms* bakterisine karşı 170-340 µg/ml aralığında MİK değerleri bulundu. Bitkinin asetonitril ve metanol ekstreleri gram (-) *Ec* ve *Pa*; gram (+) *Sa*, *Sm* ve *Bc*; no gram *Ms* ve maya mantarı *Ca* ya karşı MİK değerleri 46-4210 µg/ml aralıklarında tespit edildi.

V. bithynica ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu yağ ve çözücü ekstrelerinin MİK değerleri karşılaştırıldığında *V. bithynica* ekstrelerinin daha fazla etken olduğu gözlemlenmiştir.

Diyabetik farelerin kullanıldığı diğer bir çalışmada *V. faba* bakla tohumlarının biyolojik aktivitesinin araştırıldığı bitkinin kimyasal bileşiminin mineraller, yağ asitleri, fenolik bileşikler olduğu ve in vitro koşullarda antimikrobiyal, radikal temizleyici, anti-asetilkolinesteraz ve protein denatüre edici aktiviteleri bunun yanında in vivo koşullarında anti-diyabetik ve histo-koruyucu etkilerinin araştırılmasını amaçlamıştır. Sonuç olarak bakla tohumlarının, 100 g başına 139.24 kcal düşük enerji değerinde olması, bulunan düşük yağ içeriğine %1'den küçük buna karşılık diyet lifi oranının %57.46 gibi yüksek

değerde olduğu, karbonhidrat oranının %18.93 ve protein oranının %13.81 içeriğine sahip olduğu gösterilmiştir. Kullanılan bitkideki yağ asitlerinin yapısı, düşük seviyelerde aterojenik, trombojenik endeksleri ve hipokolesterolemik etkileri tespit edilmekle beraber temel çoklu doymamış α -linolenik ve linoleik asitler gibi ileri seviyede besin kalitesi içeren ürünler içermesi önemli bir parametre oluşturmuştur. En yüksek oranda fenolik, flavonoid ve tanen içeriğini sergileyen metanol ekstresinin, antimikrobiyal ve antiradikal aktiviteler açısından en aktif ekstrakt olduğu bulunmuştur. Alloksanın kullanıldığı diyabetik farelerde, metanol ekstraktının (kg başına 500 mg) oral kullanımıyla beraber serum alanin aminotransferaz (ALA), aspartat aminotransferaz (AST) ve alkalın fosfataz aktiviteleri bunun yanında üre, ürik asit ve kreatinin seviyelerini arttırmıştır. Bununla beraber lipid profillerinin durumunu, antioksidan enzimlerin (CAT, GPx ve SOD) aktivasyonu yoluyla hafifletilmiş oksidatif stresi ve pankreas, karaciğer, böbrek ve testiste histopatolojik değişikliklere neden olan oksidatif stresin durumunu etkili bir şekilde normalize etti. HPLC-PDA-ESI-MS / MS ile yapılan çalışmanın analizi, bu çalışmada kullanılan bitkide flavan-3-ol (kateşin, epikateşin ve bunların türevleri) flavonlarının (apigenin türevleri) ve flavonollerin (kersetin ve kaempferolün glikozitleri) olduğunu ortaya çıkardı. Bu bulgular deneyde kullanılan bakla tohumlarının diyabet ve komplikasyonlarının yönetimi için etkili bir fonksiyonel gıda olabileceğini göstermiştir (97).

Farklı bir çalışmada *Vicia* tohumlarının gaz kromatografi-kütle spektrometrisi (GC-MS) kullanılarak incelemesi yapılmıştır. On iki *Vicia* türüyle beraber yürütülen bu çalışmada tohumlarının metabolik farklılıkları değerlendirilmiştir. Tanımlanan 184 metabolit bu türler arasında çok değişkenli veri analizleriyle dört kümeye kategorize edilmiştir. *V. unijuga* en çok yağ asitleri ve antrakınon içeriğine sahipken, en yüksek seviyelerde amino asitler, alkoller ve fenolik *V. costata* bitkisinde ortaya çıkmıştır. Pipekolik asit ve trigonelline yalnızca *V. costata*'da tespit edildiği gözlemlenmiş olup bu tür biyoaktif türevlerin tanımlanması, bu türler için taksonomik belirteçler olarak kullanılabilecek varlıklarının doğrulanması için LC-MS kullanımının en garanti yöntem olarak görülmüştür (10).

V. dadianorum bitkisinin HD ve MD uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Mycobacterium smegmatis* ve *Candida albicans*'a karşı yapılmış ve orta derecede antimikrobiyal ve antifungal aktiviteler gösterdiği belirtilmiştir (15).

V. faba ile yapılan farklı bir çalışmada çiçekleri, yaprakları, tohumları ve tohum kabukları gibi farklı kısımlarının dört farklı ekstralarının (etanol, metanol, su ve 2-metilbütanol) antimikrobiyal aktiviteleri *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella sp.* ve *Micrococcus pyogenes* karşı test edilmiştir. En iyi antimikrobiyal aktivitenin bitki yapraklarının sulu ekstresinde 13-32 mm inhibisyon çapı gözlemlenmiştir. Çiçek ve tohum kabuğu *E. coli*, *Shigella sp.*, *Bacillus subtilis*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* ve *Micrococcus pyogenes* ile sırasıyla 15-29 ve 14-19 mm arasında bir inhibisyon çapı göstermiştir. Yaprak, çiçek ve tohum kabuklarının etanol ekstresi *E. coli*'ye karşı 25-34, 15-17 ve 15 mm arasında bir inhibisyon göstermiştir. Çiçeğin etanol ekstresi *Bacillus subtilis* ve *Micrococcus pyogenes* karşı 15-16 mm arasında inhibisyon vermiştir. Fakat metanol ve 2-metil bütanol eksterlerinde antimikrobiyal aktivite gözlenmediği belirtilmiştir (98).

Sonuç olarak, *V. bithynica* ve *V. cracca* subsp. *cracca* bitkilerinin uçucu bileşenlerinin miktarları ve antimikrobiyal etkilerinin yorumlanabilmesi adına bu proje gerçekleştirilmiştir. Uygulanan yöntemlerde yapısı aydınlatılamayan uçucu bileşikler farklı teknik ve spektroskopik yöntemlerle aydınlatılabilir. Bununla birlikte bu iki bitki türünün daha gelişmiş düzeyde farmakognozik izolasyon yöntemleri kullanılabilir.

6. KAYNAKLAR

1. Tewatia BS, Virk AS (1996). Nutritional potential of faba bean for improved productivity in ruminants. FABIS-New Letter 38(39): 2-11.
2. Karakurt E (2013). Doğal olarak yetişen kuş fiği (*Vicia cracca* L.)'nin bazı bitkisel özelliklerinin belirlenmesi. Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi 22(1): 26-31.
3. Tamkoç A, Avcı MA (2004). Doğal vejetasyondan seçilen adi fiğ (*Vicia sativa* L.) hatları arasındaki bazı farklılıkların belirlenmesi. S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 18(34): 114-117.
4. Bell EA, Tirimanna ASL (1965). Kırk yedi *Vicia* türünün tohumlarındaki aminoasitlerin ve ilgili bileşiklerin ilişkileri, taksonomik ve besinsel önemi. Biochem Journal 97(1): 104-111.
5. Kökten K, Koçak A, Bağcı E, Akçura M, Çelik S (2010). Tannin, protein contents and fatty acid compositions of the seeds of several *Vicia* L. species from Turkey, Asian Journal of Animal and Veterinary Advances 6: 88-95.
6. Makkar HPS, Blümmel M, Becker K (1995). Formation of complexes between polyvinylpolypyrrolidone or polyethylene glycols and tannins and their implication in gas production and true digestibility in vitro techniques. British Journal of Nutrition 73: 897-913.
7. Meydani M, Seitz HK, Blumberg B, Russell RM (1991). Effect of chronic ethanol feeding on hepatic and extrahepatic distribution of vitamin E in rats. Clinical and Experimental Health Sciences 15(5): 771-774.
8. Jun LK, Lee, Kim JR, Raveendar HJ, Lee S, Jeon GA, Park YA, Kyung-Ho EM, Sok-Young L, Jong-Wook C (2017). Comparison of flavonoid contents and antioxidant activities of *Vicia* species. Plant Genetic Resources 15(2): 119-126.
9. Ilkay O, Murat K, Mahmoud A, Şenol FS, Gulderen Y, Bilge S (2009). Free radical scavenging properties and phenolic characterization of some edible plants. Food Chemistry 114(1): 276-281.
10. Guo X, Tang Z, Liu Y, Ma Y, Liu J (2018). Seed metabolite profiling of *Vicia* species from China via GC-MS. Natural Product Research 32(15): 1863-1866

11. Vani P, Gouri S, Rajinder KG (2014). Phytochemical and antioxidant activity of underutilized legume *Vicia faba* seeds and formulation of its fortified biscuits. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 3(2): 75-80.
12. Shaolong F, Zhaohui C, Yun Y, Gangjian W, Ming XW (2013). Polycyclic aromatic hydrocarbons, heavy metals and genotoxicity of the suburban soils from Guangzhou, China. Polycyclic Aromatic Compounds 33(5): 501-518.
13. Dave OB, Marion R, Drover John CGD (2014). Headspace volatile components of Canadian grown low-tannin faba bean (*Vicia faba* L.) genotypes. Journal of the Science of Food and Agriculture 94(3): 473-481.
14. Kazemi M, Fadaeian M (2013). Volatile oil constituents of *Vicia variabilis* Frein & Sint from Iran. Asian Journal of Chemistry 25(6): 3204-3206.
15. Yaylı N, Yücel M, Kahriman N, Karaoğlu ŞA, Yaylı B (2012). Chemical constituents and antimicrobial activity of the essential oil from *Vicia dadianorum* extracted by hydro and microwave distillations. Records of Natural Products 6(1): 49-56.
16. Bingquan C, Zhuxin M, Hua F (2011). Fatty acid of *Vicia sativa* and *Elymus nutans* in alpine grassland region. Clinical and Experimental Research 28(6):1190-1193.
17. Romeo V, Verzera A, Ziino M, Condurso C (2009). Headspace volatiles of *Vicia sativa* L. (Leguminosae) by solid-phase microextraction and gaschromatography/mass spectrometry. Journal of Essential Oil Research 21(1): 33-35.
18. Christenhusz MJM, Byng JW. (2016). The number of known plants species in the world and its annual increase. Phytotaxa 261(3): 201-217.
19. Kaplan A (2014). Güneydoğu Anadolu bölgesinde yetişen *Vicia* L. (Fabaceae) cinsinin morfolojik ve moleküler revizyonu. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır.
20. Kupicha FK (1976). The infrageneric structure of *Vicia* L. R. Bot. Gard. Journal of Biosciences and Medicines 34: 287-326.
21. Seçmen O, Gemici Y, Lelebici E, Gork G, Bekat L (1986). Tohumlu bitkiler sistematigi, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi 116: 1-396.

22. Ahmet T, Mehmet AA (2004). Doğal vejetasyondan seçilen adi fiğ (*Vicia sativa* L.) hatları arasındaki bazı farklılıkların belirlenmesi. S.Ü. Ziraat Fakültesi Dergisi 18(34): 114-117.
23. Başbağ M, Çağan E, Aydın A, Sayar MS (2011). Güneydoğu Anadolu bölgesi doğal alanlarından toplanan bazı fiğ türlerinin ot kalite özelliklerinin belirlenmesi. Uluslararası Katılımlı I. Ali Numan Kırar Tarım Kongresi, Eskişehir, 27-30 Nisan 2011, 143-151.
24. French KE, Harvey J, McCullagh JSO (2018). Targeted and untargeted metabolic profiling of wild grassland plants identifies antibiotic and anthelmintic compounds targeting pathogen physiology. Metabolism and Reproduction 8: 1616-1695.
25. Şahin A, Kıran Y, Karataş F, Sönmez S (2005). Vitamins A, C and E and β -carotene content in seeds of seven species of *Vicia* L. Journal of Integrative Plant Biology 47(4): 487-493.
26. Allam AE, Nafady AM, Nakagawa T, Takemoto N, Shimizu K (2017). Effect of polyphenols from *Vicia faba* L. on lipase activity and melanogenesis. Natural Product Research 32(16): 1920-1925.
27. Reidah A, Ibrahim M, Maria C, David AR, Alberto FG, Antonio SC (2014). UHPLC-ESI-QTOF-MS-based metabolic profiling of *Vicia faba* L. (Fabaceae) seeds as a key strategy for characterization in foodomics. Journal of Electrophoresis 35(11): 1571-1581.
28. Baytop A (1996). Farmasötik Botanik Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi Basımevi, İstanbul 5: 255-260.
29. Çelik E, Çelik GY (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi 5(2): 1-6.
30. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M (2008). Biological effects of essential oils-a review. Food and Chemical Toxicology 46(2): 446-475.
31. Sevinç A, Merdun B (1995). Türkiye’de yetişen uçucu yağ içeren bitkiler ve kullanım alanları. Bitirme Ödevi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.

32. Linskens HF, Jackson JF (1997). Modern methods of plant analysis. Essential oils and waxes, Springer, Germany, 12: 309-320.
33. Kılıç A (2008). Uçucu yağ elde etme yöntemleri. Bartın Orman Fakültesi Dergisi 10(13): 37-45.
34. Tanker M, Tanker N (2003). Farmakognozi. Ankara Üniversitesi Basımevi. Ankara 2: 269-360.
35. Kim SI, Roh JY, Kim DH, Lee HS, Ahn YJ (2003). Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. Journal of Stored Products Research 39: 293-303.
36. Rangahau MK (2001). Essential oils and their production. Crop and food research, Nr. 39, October. Rowe, Natural Products of Woody Plants Vol.2, Springer, Germany.
37. Young S (2003). Distillation principles and practices. Watchmaker publishing, printed in Great Britain, 3.
38. Baydar H (2005). Tıbbi, aromatik ve keyf bitkileri bilimi ve teknolojisi, Süleyman Demirel Üniversitesi Yayınları. SDÜ basımevi 51: 77.
39. Lawrence BM (1995). The isolation of aromatic materials from natural plant products in: A manual on the essential oils and aroma chemicals industries K. Tuley de Silva (Ed.), UNIDO, Vienna, 183.
40. Baytop T (1972). Farmakognozi ders kitabı. 1. İstanbul Üniversitesi Yayını No: 1810, Baha matbaası 155.
41. Yusoff ZM, Muhammad Z, Ahmad ND, Rahiman MHF, Taib MN (2016). Hybrid fuzzy plus PID controller of hydro-diffusion steam distillation essential oil extraction system: Design and performance evaluation. Faculty of Electrical Engineering. UİTM Johor, Kampus Pasir Gudang 17(2): 326-339.
42. Ceylan A (1983). Tıbbi Bitkiler II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını. Bornova-İzmir, Sayfa: 481.
43. Moyler DA (1993). Extraction of essential oils with carbon dioxide. Flavour and Fragrance Journal 8: 235-247.
44. Mukhopadhyay M (2000). Natural extracts using supercritical carbon dioxide. CRC Press LLC. Florida, 131-141.

45. Rohloff J (2003). Cultivation of herbs and medicinal plants in Norway essential oil production and quality control. Doktora tezi, Norwegian University of Science and Technology. Trondheim, Norway.
46. Richter BE, Jones BA, Ezzell JL, Porter NL, Avdalovic N, Pohl C (1996). Accelerated solvent extraction: A technique for sample preparation. *Analytical Chemistry* 68(6): 1030-1033.
47. Mockel HJ, Welter G, Melzer H (1987). Correlation between reversed-phase retention and solute molecular-surface type and area. Theoretical outlines and retention of various hydrocarbon classes. *Journal of Chromatography* 388(2): 1-255.
48. Moreno E, Reza J, Trejo A (2007). Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from soil using water under subcritical conditions. *Polycyclic Aromatic Compounds* 27(4): 220-239.
49. Lundstedt S, Van Bavel, B, Haglund P, Tysklind M, Oberg L (2000). Pressurised liquid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soils. *Journal of Chromatography* 883(1-2): 110-151.
50. Rostagno MA, Villares A, Guillaumon E, Garcia-Lafuente A, Martinez, JA (2009). Sample preparation for the analysis of isoflavones from soybeans and soy foods. *Journal of Chromatography* 1216(1): 1-2.
51. Kellner R, Otto M, Valcarcel M, Widmer HM (2004). *Analytical chemistry: A modern approach to analytical science*, HW Michael (ed.), Publisher: Wiley VCH. 209-242.
52. Schubert H, Regier M (2005). *The microwave processing of foods*. Cambridge, England: Woodhead Publishing. CRC Press 270-281.
53. Büyüktuncel E (2012). Gelişmiş ekstraksiyon teknikleri I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 32(2): 209-242.
54. Sanchez-Prado L, Garcia-Jares C, Llompart M (2010). Microwave-assisted extraction: Application to the determination of emerging pollutants in solid samples. *Journal of Chromatography* 1217: 2390-2414.
55. Proestos C, Komaitis M (2008). Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. *Elsevier-LWT* 41: 652-659.

56. Ersen A, Özkan G, Biçer A (2001). Süperkritik CO₂ ekstraksiyonu ile gül ve nane bitkilerindeki esansiyel yağların eldesi 5: 1-10.
57. Başer KHC (2010). Tıbbi ve aromatik bitkisel ürünlerin üretimi ve kalite kontrolü, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir, Sayfa: 100-117.
58. Kaya D, Ergönül PG (2015). Obtaining methods of volatile oils. GIDA-Journal of Food 40(5): 303-310
59. Porta GD, Porcedda S, Marongiu B, Reverchon E (1999). Isolation of eucalyptus oil by supercritical fluid extraction. Flavour and Fragrance Journal 14: 214-218.
60. Pourmortazavi SM, Baghaee P, Mirhosseini MA (2004). Extraction of volatile compounds from *Juniperus communis* l. leaves with supercritical fluid carbon dioxide comparison with. Flavour and Fragrance Journal 19(5): 417-420.
61. Chaintreau A (2001). Simultaneous distillation-extraction. Birth to maturity review. Flavour and Fragrance Journal 16: 136-148.
62. Kaufmann B, Christen P (2002). Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. Phytochemical Analysis 13: 105-113.
63. Vas G, Vekey K (2004). Solid-phase microextraction: A powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. Journal of Mass Spectrometry 39: 233-254.
64. Junting L, Peng C, Suzuki O (1998). Solid-phase microextraction (SPME) of drugs and poisons from biological samples. Forensic Science International 97: 93-100.
65. Duru ME (1993). *Liquidambar orientalis* var. *orientalis* ve *Liquidambar orientalis* var. *integriloba* yapraklarından elde edilen uçucu yağın analizi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Muğla.
66. Karakaya E (2003). *Chenopodium botrys* türü üzerinde fitokimyasal araştırmalar. Yüksek lisans tezi, Muğla Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Muğla.
67. Dreger M, Wielgus K (2013). Application of essential oils as natural cosmetic preservatives. Herba Polonica Journal 59(4): 142-156.
68. Evren M, Tekgüler B (2011). Uçucu yağların antimikrobiyal özellikleri. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi 9(3): 28-40.

69. Gören AC (2002). Bazı *Sideritis* (*Sideritis Argyrea*, *Sideritis Dichotoma*, *Sideritis Trojana*) türlerinin diterpenik bileşenlerinin izolasyonu ve yapılarının tayini. Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
70. Dewick PM (2001). Medical natural products “A Biosynthetic Approach”, second edition, John Wiley&Sons Ltd. Baffins Lane, Chichester.
71. Kılıç T (2002). *S. lycia* ve *S. leptoclada* türlerinin diterpen bileşiklerinin izolasyonu ve karakterizasyonu. Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
72. Kumar B, Chobra KH (2005). Biogenesis of natural products. Alfa Sciences International Ltd. Sayfa: 181-222.
73. Singh G, Marimuthu P, De heluani CS, Catalan CA (2006). Antioxidant and biocidal activities of *Carum nigrum* essential oil, oleoresin and their selected components. Journal of Agricultural and Food Chemistry 54: 174-181.
74. Connolly JD, Hill RA (1991). Dictionary of terpenoids, Mono and sesquiterpenoids, Dictionary of terpenoids, CRC Press, Chapman and Hall 1: 333-337.
75. Xue X, Yu W, Chen Y, Huang W, Liang X (2005). Classification of terpenes and terpene oxides in volatile oil of fruit of *acanthopanax senticosus* harms with gas chromatographic retention parameters. The Chinese Academy of Sciences 23(4): 422-425.
76. Thormar H (2011). Lipids and essential oils as antimicrobial agents, Sussex, UK, John Wiley & Sons 5: 204-210.
77. Borrelli GM, Trono D (2016). Molecular approaches to genetically improve the accumulation of health-promoting secondary metabolites in staple crops. A case study: The Lipxygenase-B1 genes and regulation of the carotenoid content in Pasta Products. International Journal of Molecular Sciences 17(7): 1-25.
78. Çarıkçı S (2010). Bazı *Sideritis* (*Sideritis niveotomentosa*, *Sideritis hololeuca*, *Sideritis brevidens*) türlerinin diterpenik bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının tayini. Doktora Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.

79. McMurry J (1986). Fundamentals of organic chemistry. United Kingdom: Brooks Cole Publishing Company 1: 1099-1123.
80. Hanson JR (1984). Diterpenoids. Journal of Natural Products 1: 530-533.
81. Öztürk Z (2005). Bazı Sideritis türlerinin terpenoid bileşiklerinin araştırılması. Yüksek lisans tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Ankara.
82. Ertaş A (2005). Endemik iki Sideritis türü *Sideritis Arguta* ve *S. Congesta*'nın diterpenik bileşenlerinin izolasyonu ve biyolojik aktivitelerinin incelenmesi. Yüksek lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, İstanbul.
83. Solomons G, Fryhle C (2002). Organik Kimya, 7th ed. Çeviren: Okay G, Yıldır Y, Literatür Yayıncılık, İstanbul 1152-1155.
84. Davis ME, Croteau R (2000). Cyclization enzymes in the biosynthesis of monoterpenes, sesquiterpenes and diterpenes. Topics in Current Chemistry 209: 53-95.
85. Çöl Ç (2007). *Sideritis tmolea* P. H. Davis bitkisinin diterpen bileşiklerinin izolasyonu ve yapılarının tayini. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir.
86. Breitmaier E (2006). Terpenes: Flavors, fragrances, pharmaca, pheromones. Wiley-VCH 5: 1-118.
87. Tayyibe BC, Yaylı B, Özdemir T, Batan N, Karaoğlu ŞA, Yaylı N (2013). Antimicrobial activity and chemical composition of the essential oil mosses *Hylocomium splendens* (Hedw.) Schimp. And *Leucodon sciuroides* (Hedw.) Schwagr. grown in Turkey. Turkish Journal of Chemistry 37: 213-219.
88. Yaylı N, Tosun G, Yaylı B, Gundoğan Z, Coşkuncelebi K, Karaoglu ŞA (2016). Altitude variation in the composition of essential oils, fatty acid methyl esters and antimicrobial activities of two subspecies of *Primula vulgaris* grown in Turkey. Natural Product Communications 11: 1505-1510.
89. Perez C, Pauli M, Bazerque P (1990). An antimicrobial assay by the agar well diffusion method. Acta Biologica et Medicine Experimentalis 15: 113-115.

90. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1993). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically—Third Edition. Approved Standard NCCLS Document M7-A3. NCCLS Villanova PA 13: 5-25.
91. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1993). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically—Third Edition. Approved Standard NCCLS Document M26-A. NCCLS Villanova, PA 19: 1-18.
92. Woods GL, Brown-Elliott BA, Desmond EP, Hall GS, Pfyffer GE, Heifets LV, Ridderhof JC, Wallace RJ, Warren NC, Witebsky FG (2003). Susceptibility testing of mycobacteria, nocardiae and other aerobic actinomycetes. Approved Standard NCCLS Document M24-A 23: 10-18.
93. Üçuncu O, Kahrman N, Terzioğlu S, Karaoğlu ŞA, Yaylı N (2010). Composition and antimicrobial activity of the essential oils from flowers of *Senecio othonnae*, *S. racemosus* and *S. nemorensis*. Natural Product Communications 5: 831-834.
94. Akkada R, Kharraza F, Hanb J, Housec JD, Curtisa JM (2019). Characterisation of the volatile flavour compounds in low and high tannin faba beans (*Vicia faba* var. Minor) grown in Alberta, Canada. Food Research International 120: 285-294.
95. Abozeid A, Liu J, Liu Y, Wang H (2017). Gas chromatography mass spectrometry—based metabolite profiling of two sweet-clover vetches via multivariate data analyses. Botany Letters 164(4): 385-391.
96. Lahuta LB, Ciak M, Rybinski W, Bocianowski J, Börner A (2018). Diversity of the composition and content of soluble carbohydrates in seeds of the genus *Vicia* (Leguminosae). Genetic Resources and Crop Evolution 65: 541–554.
97. Martins A, Selmi S, Mejri F, Baati T, Chaabane H, Hosni K (2018). Broad bean (*Vicia faba* L.) pods: A rich source of bioactive ingredients with antimicrobial, antioxidant, enzyme inhibitory, anti-diabetic and health-promoting properties. Royal Society of Chemistry 9(4): 2051-2069.
98. Peyvast G, Khorsandi Z (2007). Antibacterial activity of the broad bean extracts on resistant bacteria. Journal of Biological Sciences 10(3): 398-402.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : KOÇ Eren
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 28.06.1991
Telefon (İş) : 0274 231 64 17
E-Posta : erenkoc91@hotmail.com
Yazışma Adresi (İş) : Sağlık Bilimleri Üniversitesi Kütahya Evliya Çelebi Eğitim Ve Araştırma Hastanesi-Ana bina-Eczane Birimi

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Karadeniz Teknik Üniversitesi	2020
Lisans	İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi	2015
Lise	Tevfik Serdar Anadolu Lisesi	2009

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Hastane Eczacısı	K.S.B.Ü. Evliya Çelebi EAH	2015-
2. Hastane Eczacısı	Medicalpark Trabzon Yıldızlı Hastanesi	2015

YABANCI DİL

İngilizce