

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI

BAZI *ANTHEMIS* (ASTERACEAE) TÜRLERİNİN UÇUCU YAĞ ANALİZLERİ

VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimyager Mesut ALBAY

HAZİRAN 2008

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KİMYA ANABİLİM DALI

**BAZI *ANTHEMIS* (ASTERACEAE) TÜRLERİNİN UÇUCU YAĞ ANALİZLERİ
VE ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ**

Kimyager Mesut ALBAY

**Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsünde
"Yüksek Lisans (Kimya)"
Unvanı Verilmesi İçin Kabul Edilen Tezdir.**

**Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 30. 05. 2008
Tezin Savunma Tarihi : 26. 06. 2008**

**Tez Danışmanı : Prof. Dr. Nurettin YAYLI
Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ertuğrul SESLİ
Jüri Üyesi : Doç. Dr. Neslihan DEMİRBAŞ**

Enstitü Müdürü V. : Doç. Dr. Salih TERZİOĞLU

Trabzon 2008

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca danışmanlığımı üstlenen, çalışmalarında yol gösteren, bilgi ve deneyimi ile her an yanımda olan değerli hocam Prof. Dr. Nurettin YAYLI' ya sonsuz teşekkürler.

Tez çalışmamda kullandığım bitkileri ve bitkiler hakkındaki gerekli bilgileri sağlayan sayın Doç. Dr. Kamil Coşkunçelebi' ye, tez çalışmamın bir bölümü olan biyolojik aktivite özelliklerinin araştırılması konusundaki yardımları için sayın Yrd. Doç. Dr. Şengül ALPAY KARAOĞLU' na, ayrıca çalışma grubumuzda bulunan ve deneyimleriyle bana yol gösteren arkadaşlarım ve hocalarım Arş. Gör. Dr. Asu USTA, Arş. Gör. Ahmet YAŞAR, Arş. Gör. Osman ÜÇÜNCÜ, Arş. Gör. Nagihan YILMAZ İSKENDER ve Okt. Nuran YAYLI' ya teşekkür ederim.

Çalışmalarım ve tez hazırlığımda yol gösterici olan, hayatın her alanında yardım ve desteğini esirgemeyen sevgili eşim Arş. Gör. Canan ALBAY' a ve manevi desteğiyle hep yanımda olan sevgili anneme sonsuz teşekkürler.

Bu tez çalışması Karadeniz Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu ve Devlet Planlama Teşkilatı (DPT) tarafından desteklenerek, K.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Bitki Kimyası Yüksek Lisans Laboratuvarı' nda yapılmıştır.

Mesut ALBAY

Trabzon 2008

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ÖNSÖZ.....	II
İÇİNDEKİLER.....	III
ÖZET.....	V
SUMMARY.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
SEMBOLLER DİZİNİ.....	IX
1. GENEL BİLGİLER.....	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Uçucu Yağlar.....	2
1.3. Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri.....	3
1.3.1. Destilasyon.....	3
1.3.2. Sıkma.....	4
1.3.3. Çözücü Ekstraksiyonu.....	5
1.3.4. Yağ Ekstraksiyonu (Anfloranj).....	5
1.3.5. Karbondioksit Ekstraksiyonu.....	6
1.3.6. Hidrodifüzyon / Süzme.....	6
1.4. Uçucu Yağların Biyolojik Etkinlikleri ve Kullanım Alanları.....	6
1.5. Terpenler.....	8
1.5.1. Hemiterpenler.....	9
1.5.2. Monoterpenler.....	10
1.5.3. Seskiterpenler.....	10
1.5.4. Diterpenler.....	11
1.5.5. Sesterpenler.....	12
1.5.6. Triterpenler.....	13
1.5.7. Tetraterpenler.....	13
1.5.8. Politerpenler.....	14
1.6. Spektroskopik ve Kromatografik Yöntemler.....	14
1.7. Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi.....	16

1.7.1.	Enjeksiyon Kısmı.....	17
1.7.2.	Kolon Kısmı.....	17
1.7.3.	Dedektör Kısmı.....	18
1.8.	GC/MS Çalışma Prensi.....	18
1.9.	Gaz Kromatografisi Alev İyonlaştırma Dedektörü.....	18
1.10.	Antimikrobiyal Bileşikler.....	19
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR.....	20
2.1.	Enstrümantasyon.....	20
2.2.	Bitki Materyalleri.....	20
2.3.	Uçucu Yağların İzolasyonu.....	21
2.4.	Bileşenlerin Aydınlatılması.....	22
2.5.	Antimikrobiyal Aktivitelerin Belirlenmesi.....	22
3.	BULGULAR.....	23
4.	TARTIŞMA.....	32
5.	SONUÇLAR.....	45
6.	ÖNERİLER.....	47
7.	KAYNAKLAR.....	48
8.	EKLER.....	52
	ÖZGEÇMİŞ	

ÖZET

Bu çalışmada, *Anthemis marschalliana* Wild ssp. *pectinata* (Boiss) Grierson ve *Anthemis cretica* L ssp. *argaea* (Boiss & Bal) Grierson (Asteraceae) bitkilerinin uçucu yağlarının kimyasal bileşimleri ve antimikrobiyal aktiviteleri incelendi. Uçucu yağlar su buharı destilasyonu yöntemi ile bitkinin tüm kısımlarından elde edilerek GC-FID ve GC-MS yöntemi ile analiz edildi. Bitkilerden elde edilen toplam yağın sırasıyla %88.6 ve %89.6' sını içeren 42 ve 44 adet bileşiğin yapısı aydınlatıldı. Bitkilerdeki ana bileşenler, *A. marschalliana* ssp. *pectinata*' da spathulenol (%21.7), humulen epoksit II (%5.9), β -pinen (%4.8), α -bisabolol (%4.6) ve *A. cretica* ssp. *argaea*' da β -pinen (%14.6), α -pinen (%14.3), borneol (%10.6) β -akorenol (%6.5) olarak belirlendi. Bitkilerden izole edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri de incelendi. *A. Marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisine ait uçucu yağın *Yersinia pseudotuberculosis* ve *Bacillus cereus*, *A. cretica* ssp. *Argaea* bitkisine ait uçucu yağın ise *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida tropicalis* mikroorganizmalarına karşı ılımlı antimikrobiyal aktivite gösterdikleri belirlendi.

Anahtar Kelimeler : *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata*, *Anthemis cretica* ssp. *argaea*, Uçucu Yağ, Antimikrobiyal Aktivite, GC/MS, GC/FID.

SUMMARY

Essential Oil Analysis and Antimicrobial Activities of Some *Anthemis* (Asteraceae) Species

In this work, chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Anthemis marschalliana* Wild ssp. *pectinata* (Boiss) Grierson and *Anthemis cretica* L ssp. *argaea* (Boiss & Bal) Grierson (Asteraceae) were investigated. The essential oils were obtained from the all parts of the plant by hydrodistillation and analyzed by GC-FID and GC-MS. Forty-two and forty-four components representing 88.6% and 89.6% of the total oils were characterized. The main components of these species were found to be spathulenol (21.7%), humulene epoxide II (5.9%), β -pinene (4.8%), and α -bisabolol (4.6%) from *A. marschalliana* ssp. *pectinata* and β -pinene (14.6%), α -pinene (14.3%), borneol (10.6%), and β -acorenenol (6.5%) from *A. cretica* ssp. *argaea*, respectively. The antimicrobial activities of the isolated essential oils of the plants were also investigated. Mild antimicrobial activities were observed for the essential oil of *A. marschalliana* ssp. *pectinata* against *Yersinia pseudotuberculosis* and *Bacillus cereus* and for *A. cretica* ssp. *argaea* against *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Candida tropicalis*.

Key Words: *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata*, *Anthemis cretica* ssp. *argaea*, Essential Oil, Antimicrobial Activity, GC/MS, GC/FID.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.	GC-MS cihazı.....	16
Şekil 2.	Clevenger tipi subuharı destilasyon düzeneği.....	21
Ek Şekil 1.	<i>Anthemis marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i> bitkisinin GC spektrumu.....	53
Ek Şekil 2.	<i>Anthemis marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i> bitkisinin RT 0-10 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	54
Ek Şekil 3.	<i>Anthemis marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i> bitkisinin RT 10-20 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	55
Ek Şekil 4.	<i>Anthemis marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i> bitkisinin RT 20-30 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	56
Ek Şekil 5.	<i>Anthemis marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i> bitkisinin RT 30-40 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	57
Ek Şekil 6.	<i>Anthemis marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i> bitkisinin RT 40-50 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	58
Ek Şekil 7.	<i>Anthemis marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i> bitkisinin RT 50-62 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	59
Ek Şekil 8.	<i>Anthemis cretica</i> ssp. <i>argaea</i> bitkisinin GC spektrumu.....	60
Ek Şekil 9.	<i>Anthemis cretica</i> ssp. <i>argaea</i> bitkisinin RT 0-10 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	61
Ek Şekil 10.	<i>Anthemis cretica</i> ssp. <i>argaea</i> bitkisinin RT 10-20 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	62
Ek Şekil 11.	<i>Anthemis cretica</i> ssp. <i>argaea</i> bitkisinin RT 20-30 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	63
Ek Şekil 12.	<i>Anthemis cretica</i> ssp. <i>argaea</i> bitkisinin RT 30-40 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	64
Ek Şekil 13.	<i>Anthemis cretica</i> ssp. <i>argaea</i> bitkisinin RT 40-50 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	65
Ek Şekil 14.	<i>Anthemis cretica</i> ssp. <i>argaea</i> bitkisinin RT 50-62 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu.....	66

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Terpenlerin sınıflandırılması.....	9
Tablo 2. GC/MS ve GC/FID spektrumunun alındığı deneysel koşullar.....	20
Tablo 3. <i>A. marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i> ve <i>A. cretica</i> ssp. <i>argaea</i> bitkilerinin uçucu yağ bileşenlerine ait GC/MS ve GC/FID sonuçları	32
Tablo 4. Bilinmeyen bileşiklere ait kütle/yük (m/z) oranları.....	35
Tablo 5. Bileşiklerin sınıflandırılması.....	43
Tablo 6. Uçucu yağlara ait antimikrobiyal aktivite sonuçları.....	44

SEMBOLLER DİZİNİ

C	: Karbon
EI	: Elektron iyonlaştırması
FID	: Alev İyonlaştırma Detektörü
GC	: Gaz Kromatografisi
GC/FID	: Gaz Kromatografisi Alev İyonlaştırma Detektörü
GC/MS	: Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometrisi
HPLC	: Yüksek Basınçlı Sıvı Kromatografisi
IR	: İnfrared (kızıl ötesi) Spektroskopisi
KTUB	: Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölümü
LRI	: Literatür Alıkonma İndeksi
MHA	: Mueller-Hinton Agar
MHB	: Mueller-Hinton Broth
MS	: Kütle Spektroskopisi
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
PLOT	: Gözenek Tabakalı Kapiler Kolon
RI	: Alıkonma İndeksi
RT	: Alıkonma Zamanı
SCOT	: Destek Kaplı Kapiler Kolon
SDA	: Sabouraud Dekstroz Agar
UV-VIS	: Mor Ötesi-Görünür Bölge
WCOT	: Duvar Kaplı Kapiler Kolon

1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

Asteraceae ailesinin *Anthemis* L. cinsinin 80 alt takson içeren 50 doğal türü Türkiye’de mevcut olup, bunların 27 tanesi Türkiye’ye özgü endemik bitkilerdir [1-2]. Bu çalışmada kullanılan türlerden *A. cretica* L. subsp. *argaeae* (Boiss. & Bal) Grierson bitkisi de Türkiye’ nin Doğu Anadolu Bölgesi’ nin kuzeyinde yetişen endemik bir bitkidir. Bu bitkiler genellikle kayalık dağlarda ve kuru arazilerde yetişen tek yıllık otsu bitkilerdir [3]. *Anthemis* cinsinin *A. nobilis* L., *A. arvensis* L., *A. altissima* L. ve *A. auriculata* Boiss gibi pek çok türü Anadolu’ da halk arasında ilaç olarak kullanılmaktadır [4]. *Anthemis* cinsi bitkilerin pek çoğu aromatik olup, kozmetik ve ilaç endüstrilerinde kullanılmalarının yanı sıra, ekstraktları spazm giderici, antibakteriyel, anti-inflamatur, bitkisel ilaç ve çay, böcek öldürücü, boya maddesi, besin çeşnişi olarak da kullanılmaktadır [11,18].

Literatürde *Anthemis* bitkilerine ait pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar arasında seskiterpen laktonlarının izolasyonu, bazı türlere ait ekstraktların antioksidan aktiviteleri, flavonoid içerikleri, uçucu yağlarının analizi ve uçucu yağların biyolojik aktivite incelemeleri yer almaktadır [5–24]. Uçucu yağları ve antibakteriyel özellikleri incelenen bitki türlerinin bazıları şunlardır: *Anthemis hyalina* [5], *A. altissima*, *A. auriculata*, *A. chia*, *A. tinctoria*, *A. melanolepis*, *A. tomentosa*, *A. wernerii* subsp. *Wernerii* [6], *Anthemis melampodina* [7], *A. cotula* [5,8], *Anthemis nobilis* L. [9], *Anthemis xylopoda* O. Schwarz [10], *Anthemis wiedemanniana* [11], *Anthemis ruthenica*, *A. arvensis* [12], *Anthemis triumfetti* (L.) DC. [13], *Anthemis aciphylla* Boiss. var. *discoidea* Boiss. [14].

Yaptığımız literatür araştırmasında *A. marschalliana* ssp. *pectinata* ve *A. cretica* ssp. *argaeae* bitkilerine ait uçucu yağ analizi ve antimikrobiyal aktiviteleri hakkında yapılmış bir araştırmanın olmadığı belirlendi. Fakat *A. cretica* ssp. *argaeae* bitkisinin ham ekstraktına ait, farklı mikroorganizmalar kullanılarak yapılmış antimikrobiyal aktivite çalışması olduğu tespit edildi [15]. Bu bilgilerden hareketle, bitkilerin uçucu yağları Clevenger tipi cihaz kullanılarak, su buharı destilasyon yöntemiyle elde edildi ve GC/MS ve GC/FID yöntemleri ile analizleri yapıldı. Uçucu yağ bileşimi NIST ve WILEY kütüphanelerinin yardımıyla belirlenip literatür karşılaştırmasıyla doğrulandı [25-33]. Çeşitli test

mikroorganizmaları kullanılarak izole edilen bu uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri agar-well difüzyon metodu kullanılarak tayin edilmeye çalışıldı [34,35].

1.2. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar, su veya su buharı destilasyonu ile bitkilerin, çiçek, yaprak, gövde, kabuk, kök, meyve ve tohum gibi çok çeşitli kısımlarından elde edilen, normal koşullarda sıvı olan, bazen donabilen, uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsı karışımlardır. Yapıları soya, susam, ayçiçeği, zeytinyağı, bademyağı gibi bitkisel yağlardan çok farklıdır. En önemli farkları, emici bir kâğıda damlatılıp açığa bırakıldıklarında hiçbir iz bırakmadan uçmalarıdır. Bitkilerin taşıdığı uçucu yağ oranı yüzde 10 ile yüzde 0.01 arasında değişir. Örnek olarak, 1 kg gül yağı elde etmek için, ortalama 2000 kg gül yaprağı kullanılmaktadır [36-39].

Bugüne kadar uçucu yağlarda 2000'den fazla kimyasal bileşiğin bulunduğu gösterilmiştir ki, bunların en önemlileri terpenler, alkoller, esterler, aldehitler ve kumarinlerdir. Ayrıca su buharında, uçucu özellikte olan, çok sayıda azot ve kükürt içeren bileşiklerin varlığı da görülmüştür. Bu maddeler uçucu yağlara antiseptik, antispazmodik, analjezik, antivirütik, bakterisid, antitoksik, ekspektoran, tonik, diüretik, sedatif, antidepresan, tansiyon düzenleyici vb. gibi çok çeşitli etkiler kazandırır. Ayrıca bu maddeler fizyolojik etkileri nedeni ile bazen bireysel veya toplu halde terapide kullanılmaktadır. Uçucu yağlar ve izokinolin alkaloidi gibi bazı kimyasal maddelerin, bazı bakteri ve mantar türleri üzerinde antimikrobiyal etkilerinin olduğu da bilinmektedir. Bitki uçucu yağlarının bitki kimyasında da önemli rolleri bulunmaktadır. Hücreler arasında bulunan bu uçucu yağlar bilgilerin taşınmasında görev yaparlar. Dengeleyici ve dış etkenlere karşı koruyucudurlar. Önemli hormonlar uçucu yağlarda bulunurlar. [36,38,41].

Uçucu yağları barındıran aromatik bitkilerin kullanımı neredeyse insanlık tarihi kadar eskidir. Örneğin, Sümerlerden kalan kil tabletlerde aromatik bazı bitkilerin kullanılışlarından söz edilmektedir. Hipokrat, Galen, İbn-i Sina gibi pek çok ünlü bilgin bitkilerin tıbbi kullanılışlarıyla ilgili değerli çalışmalar yapmışlar ve günümüzdeki çalışmalara temel olmuşlardır. 16. yüzyılda John Gerard, Nicholas Culpeper, Friedrich Hoffman gibi ünlü bilim adamları uçucu yağların özellikleri ve kullanılışları ile ilgili önemli temel bilgileri kayıtlara geçirdiler. Fransız Kimyager Renee Gottefosse ise 1926 da

ilk defa terim olarak Aromaterapi' yi uçucu yağlarla yapılan tedavileri tanımlamak için kullanmış ve 1928 de aynı isimle araştırmalarını topladığı bir kitap yayınlamıştır [38,39].

1.3. Uçucu Yağların Elde Edilme Yöntemleri

Uçucu yağlar bitkilerden genel olarak çeşitli damıtma yöntemleriyle elde edilirler. Bu işlemler sırasında organik yapılardan da, biyolojik etkilerinden de bir şey kaybetmezler. Ancak bitkilerin hassasiyetine, kullanılan kısmına, içerdikleri uçucu yağ miktarına ve cinsine göre farklı yöntemler kullanılmaktadır [36,40]. Bu yöntemler şunlardır:

- Destilasyon
- Sıkma
- Çözücü Ekstraksiyonu
- Yağ Ekstraksiyonu (Anfloranj)
- Karbondioksit Ekstraksiyonu
- Hidrodifüzyon / Süzme

Uçucu yağlar elde edilirken en verimli şekilde yağ elde edilmesi için uygun yöntemin belirlenmesinin yanı sıra, bitkilerin toplanma zamanına, kurutma ve depolama şartları ve sürelerine, parçalama ve öğütme şekillerine de dikkat etmek gerekir. Ayrıca uçucu yağların iyi koşullarda saklanmaları gerekir. Çünkü ısı, ışık, oksijen gibi etkenler çabuk bozunmalarına neden olur [38].

1.3.1. Destilasyon

Uçucu yağ eldesinde en çok kullanılan ve en ekonomik yöntem destilasyon yöntemidir. Bazı bitkilere toplandıktan hemen sonra bazılarında ise kurutulduktan sonra destilasyon uygulanır. Destilasyonda temel olarak ısı ve buhar, bitki materyalinin hücre yapısının parçalanmasına neden olur ve uçucu yağlar serbest kalarak su buharı ile birlikte soğutucuya sürüklenir. Buradaki yoğunlaşmanın ardından sudan hafif olan uçucu yağlar su yüzeyinde, ağır olanlar ise su tabakasının altında toplanır. Elde edilen uçucu yağ su ile karışmadığından kolaylıkla ayrılabilir [40].

Destilasyonda bitkilerin durumuna göre su destilasyonu, su ve buhar destilasyonu ve doğrudan doğruya buhar destilasyonu olmak üzere üç farklı yöntem kullanılabilir [36].

Su destilasyonu, kurutulmuş olan ve kaynatılmakla bozulmayan bitkisel materyal ile çalışılıyorsa seçilir. Materyal destilasyon aygıtına yerleştirilir ve bütün uçucu kısımlar yani uçucu yağ, su toplama kabında yoğunlaşana kadar ısıtılır ve destile edilir.

Su ve buhar destilasyonu, ister kuru ister taze bitki olsun, ısıdan bozulan maddeler varsa uygulanır. Kuru materyalden hareket ediliyorsa bitki kısmı önce toz edilir, sonra su ile örtülerek ıslatmaya bırakılır. Bu karışımdan su buharı geçirilmek suretiyle uçucu kısımlar ayrılır. Taze materyalden hareket ediliyorsa uzun süre ıslatmaya gerek yoktur. Su buharı genellikle başka bir yerde elde edilir ve bir boru aracılığı ile su-bitki karışımı içine yöneltilir. Böylece ısı ile parçalanma olasılığı ortadan kaldırılmış olur.

Doğrudan doğruya buhar destilasyonu, taze materyale uygulanan yöntemdir. Bitki canlı olduğundan ve yeterince su taşıdığından bu yöntemde su ile ıslatma gereği yoktur. Bitki materyali toplanır, kesilir, tel sepet ya da benzeri kaplar içine konularak destilasyon kazanına yerleştirilir. Basınç ile taze bitki parçalarına yöneltilen buhar, yağ damlacıklarını da sürükleyerek toplama kabına gelir.

1.3.2. Sıkma

Bu metod özellikle bergamot, limon, greyluft, mandalina ve portakal gibi turunçgil yağlarının eldesinde kullanılır. Çünkü bu yağların çoğu destilasyon yönteminde bozunmaya uğrar. Ayrıca bu bitkilerdeki yağların kabuk üzerindeki keseciklerde bulunması, yöntemin kolay uygulanmasına neden olur. Bu yöntemde meyve, üzeri yeterince keskin ve çıkıntılı bir kesenin iç çeperinde yuvarlanır, böylece uçucu yağ taşıyan salgı cepleri parçalanmış olur. Bunun ardından meyve üzerine basınç uygulanarak sıkılır ve elde edilen sıvının üzerindeki uçucu yağlar toplanır. Bazen, narenciye kabukları sünger arasında sıkılarak salgı ceplerinin ezilmesi ve çıkan uçucu yağların sünger tarafından emilmesi yöntemi ile de uçucu yağlar toplanabilir. Sonradan sünger sıkılarak akan sıvının üzerinde toplanan uçucu yağ alınır [38,40].

1.3.3. Çözücü Ekstraksiyonu

Bu yöntem yüksek verim istendiğinde veya diğer yöntemlerle çalışılmadığında kullanılır. Bitki hegzan, benzen gibi bir organik çözücü ile soksilet prensibine göre, (organik çözücünün hafifçe ısıtılarak devamlı şekilde bitkinin üzerinden geçirilmesi) ekstre edilir. Bu esnada uçucu yağ, sabit yağ, mum, boya maddeleri v.s. gibi, organik çözücülerde çözünebilen maddeler organik çözücüye geçer. Süzülerek alınan organik çözücü vakumda tamamen uçurulur. Sabit yağları ve mumları da taşıyan bu renkli maddeye eğer taze materyalden elde edilmişse ‘konkret’, kurutulmuş materyalden elde edilmişse ‘rezinoit’ adı verilmektedir. Elde edilen konkret ya da rezinoit uçucu yağ yanında kokulu olmayan maddeleri de içermektedir. Uçucu yağ, etanol ya da sulu etanol ile çözülerek alınır. -15 °C de bir süre, genellikle bir gece bekletilir. Çöken kısımlar ayrıldıktan sonra, çözücü vakumda uçurularak uçucu yağ elde edilir. Bu yöntemle elde edilen uçucu yağa ‘absolü’ denir [38,40].

1.3.4. Yağ Ekstraksiyonu (Anfloranj)

Çok zaman alması ve pahalı olması nedeniyle günümüzde çok fazla kullanılmayan bu yöntem, materyaldeki uçucu yağı az olan kıymetli bitkiler için kullanılmaktadır ve genellikle taze materyal ile çalışılmaktadır. Taze materyal, özellikle çiçekler, soğuk bir yağ sürülmüş cam plaklar üzerine konur ve bu yağ bitkinin uçucu yağlarını absoblar. Birkaç saat veya gün sonra konulan bitki yenisiyle değiştirilir ve bu işleme yağ doyana kadar devam edilir. Daha sonra cam plaket üzerine sürülmüş yağdan, alkol ekstraksiyonu ile uçucu yağ elde edilir. Bu yöntem parfümeride çok önemli olan, fakat bitkideki oranı düşük olan uçucu yağların elde edilmesinde ekonomik olabilmektedir.

Diğer bir yağ ekstraksiyonu yöntemi ise sıcak anfloranj veya maserasyon olarak bilinir. Maserasyonda bitki sıcak bitkisel yağ içeren teknelere konularak birkaç gün çalkalanır. Sıcak yağ bitki hücrelerini patlatarak uçucu yağları emer ve bu yağ şişelenerek masaj yağı olarak kullanılır. Günümüzde gül ve karanfil uçucu yağlarının elde edilmesinde de kullanılan bir yöntemdir [38,40].

1.3.5. Karbondioksit Ekstraksiyonu

Bu yöntem 1980' lerde parfüm endüstrisi için geliştirilmiştir. Kullanılan ekipmanlardan dolayı oldukça pahalı bir yöntemdir. Yöntemde soğutulan karbondioksit basınç uygulanarak sıvı hale getirilir ve bitkiden uçucu yağ ekstre edecek bir çözücü gibi kullanılır. Basınç kaldırıldığında karbondioksit buharlaşır ve geriye oldukça saf bir şekilde uçucu yağ kalır. Karbondioksit tarafından ekstre edilen uçucu yağlar bitkide bulunduğu şekline oldukça yakın bir saflıkta elde edilir. Çünkü karbondioksit inerttir ve uçucu yağlarla etkileşime girme ihtimali yoktur, hem de normal basınç altına geldiğinde direk gaz haline geçerek ortamdan uzaklaştığından geride kalıntı bırakmaz. Ayrıca sıcak bir işlem uygulanmadığından bitkideki uçucu yağların bozunma ihtimali de ortadan kalkmış olur [40,42,43].

1.3.6. Hidrodifüzyon / Süzme

Hidrodifüzyon veya süzme yöntemi, ekstraksiyonun daha modern bir şekli olup destilasyondan daha hızlıdır. Yöntemde, ızgara üzerine asılan bitki kısımları üzerinden spreyleme şeklinde buhar geçirilir. Buhar ve uçucu yağdan oluşan karışım soğutulur ve elde edilen sıvıdan destilasyondaki gibi uçucu yağ ayrılır [40].

1.4. Uçucu Yağların Biyolojik Etkinlikleri ve Kullanım Alanları

1926 yılından bu yana bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri laboratuvarlarda araştırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır. Bitkilerde, selüloz, nişasta, pektin, protein, şeker gibi tedavi yönünden etkisiz maddeler yanında, çok az miktarları bile farmakolojik etkilere sahip bileşikler de bulunmaktadır. Bu bileşiklere 'etkili madde' ismi verilmektedir. Uçucu yağların içeriklerini ise onlara tedavi edici değerini kazandıran çeşitli alkoller, esterler, terpenler, aldehitler, kumarinler oluşturur. Bu maddeler uçucu yağlara antiseptik, antispazmodik, analjezik, antivirütik, bakterisid, antitoksik, ekspektoran, tonik, diüretik, sedatif, antidepresan, tansiyon

düzenleyici vb. gibi çok çeşitli etkiler kazandırır. Doğada tabii olarak yetişen bazı bitki ekstraktlarının ve uçucu yağlarının bakterilere olduğu kadar, mantarlara karşı da antifungal aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. [36,38].

Bitkilerdeki uçucu yağların ve bitki ekstraktlarının bu kadar geniş alanda etki gösteriyor olması, gıda, kozmetik, ilaç gibi oldukça farklı alanlarda kullanılmalarına neden olmaktadır. Özellikle tıbbi amaçlı olarak bitkilerden oldukça geniş alanda faydalanılmaktadır. Bunun en önemli nedeni, bakterilerin bilinen tüm antibiyotiklere karşı hızla direnç geliştirmesi ve ilaç dirençliliğinin artmasıdır. Bakterilerde antibiyotik dirençliliğinin artmasına karşılık antimikrobiyal özellik gösteren bitkilere ve bitkisel ürünlere karşı direnç kazandığı görülmektedir. Sentetik olarak üretilen ilaçlar, bitkilerdeki herhangi bir aktif maddenin izole edilmesi suretiyle yapılmakta ve bu nedenle bakteriler, sade bir yapısı bulunan sentetik ilaçlara karşı kısa zamanda dayanıklı ırklar oluşturarak ilaçları etkisiz hale getirebilmektedirler. Buna karşılık, bitkilerdeki aktif maddeler diğer maddelerle birlikte karışık bir yapı oluşturduklarından, bakterilerin bu yapıya karşı dayanıklı ırklar oluşturması daha zor olmaktadır. Bu nedenle, ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılması önerilmektedir ve bazı geleneksel bitkiler antimikrobiyaller olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması nedeniyle bitki ve bitkisel ürünlerin kullanılması bu yönden avantajlıdır [36].

Bitki uçucu yağları ayrıca aromaterapi alanında oldukça geniş bir kullanıma sahiptir. Uçucu yağlar kolaylıkla havaya karışarak burundaki alfaktör sinir uçları aracılığıyla doğrudan beyni etkilerler. Bu nedenle uçucu yağlar, parfüm veya oda spreyi şeklinde ve aroma lambaları ile uygulanarak yoğun stres, huzursuzluk, endişe ve uyku problemleri gibi pek çok sorunun çözülmesine yardımcı olmak için kullanılır. Yine havaya kolaylıkla karışabilmeleri sayesinde solunum sistemindeki bazı sorunları çözmek için kullanılırlar. Uçucu yağlar ciltten kolaylıkla emilerek lenfatik sistem ve kan dolaşımına karışabildiklerinden masajlarla uygulanıp, kan ve lenf dolaşımının uyarılarak düzenlenmesi, vücuttaki toksinlerin atılması, gergin kasların rahatlatılması ve elastikiyetinin korunması, cildin daha sağlıklı hale gelmesi, çeşitli ağrıların giderilmesi, enerji akışımının düzenlenmesi ve kişinin duygusal olarak rahatlaması sağlanır [38].

Uçucu yağların bir diğer kullanım alanı da gıda sektörüdür. Tüketicilerin, koruyucu içeren gıdaların güvenliği konusunda endişeleri vardır. Bu nedenle, gıda kaynaklı hastalık olaylarının azaltılması için daha yeni ve daha etkili tekniklere artan bir şekilde ilgi

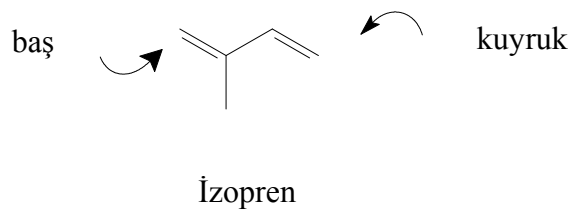
duyulmaktadır. Bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı ve baharat özelliğindeki bazı bitkilerin içerdikleri uçucu yağlar ile gıdaların özelliğinde kayba neden olmaksızın bakteriyel bozulmayı geciktirdikleri ve buna bağlı olarak koruyucu amaçla kullanıldıkları saptanmıştır [36,41].

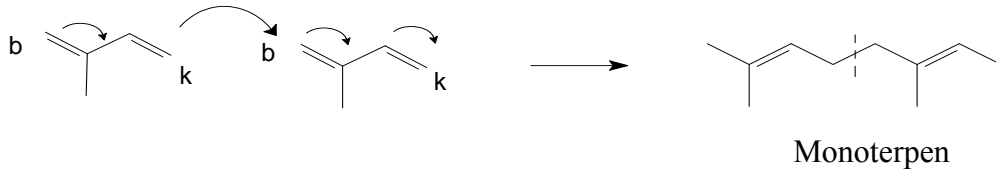
Uçucu yağlar doğru uygulandıklarında kişiye zarar vermezler. Ancak yanlış dozda ve şekilde uygulandıkları takdirde cilt ve mukozayı tahriş edebilir, metabolik faaliyetler ile kan ve lenf dolaşımında düzensizlikler, hormon düzeylerinde değişiklikler, sinir sistemi, karaciğer ve böbreklerde toksik etkiler gösterebilirler. Alerjik reaksiyonlara neden olabileceklerinden, seyreltilmeden ve test edilmeden direk cilt üzerine uygulanmamalıdır. Bitkilerden elde edilen ekstraktların yan etkileri ve ilaçlarla birlikte kullanıldığında meydana gelebilecek ilaç etkileşimleri tam olarak bilinmemektedir. Antibiyotiklerle günlük olarak alınan bazı yiyecek ve yiyeceklere ilave edilen baharatlardaki maddelerin etkileşime geçerek istenmeyen yan etkilere veya aktivitenin azalmasına neden olduğu belirtilmektedir. Bu bakımdan önemli hastalıkların tedavisinde yanılığa düşmemek için mutlaka doktor önerisine ve tedavisine ihtiyaç vardır [36-38].

1.5. Terpenler

Uçucu yağların en önemli kısmını oluşturan terpenler, özellikle kloroform içeren bitkilerde bulunurlar. Terpenlerin başta oksijen olmak üzere heteroatom içeren türevleri ‘terpenoid’ olarak isimlendirilmektedir [44].

Terpenler gerçekte C_5H_8 kapalı formülüne sahip ‘izopren’ olarak adlandırılan, 2-metil-1,3-bütadien ünitelerinin bir araya gelmesiyle oluşurlar. İzopren biriminde dallanmanın olduğu uç ‘baş kısmı’ diğer uç ‘kuyruk kısmı’ olarak adlandırılır. İzopren birimleri 25 karbonlu yapılara kadar genellikle baş-kuyruk şeklinde birbirlerine bağlanırlar. 30 ve daha fazla karbon içeren yapılar ise genellikle 2 terpenin birleşmesinden oluşurlar ve birleşmeden dolayı bu bileşiklerde baş-kuyruk girişimi ihlal edilmiş gibi görülür [44,45].





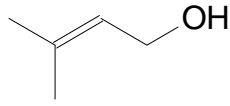
Terpenler içerdikleri izopren birimlerinin sayısına göre 8 ana başlık altında sınıflandırılırlar (Tablo 1).

Tablo 1. Terpenlerin sınıflandırılması

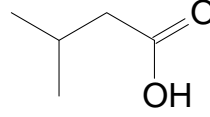
Sınıfı	İzopren Ünitesi	Kapalı Formülü
Hemiterpenler	1	C_5H_8
Monoterpenler	2	$C_{10}H_{16}$
Seskiterpenler	3	$C_{15}H_{24}$
Diterpenler	4	$C_{20}H_{32}$
Sesterpenler	5	$C_{25}H_{40}$
Triterpenler	6	$C_{30}H_{48}$
Tetraterpenler	8	$C_{40}H_{64}$
Politerpenler	n	$(C_5H_8)_n$

1.5.1. Hemiterpenler

Hemiterpenler terpenlerin en küçük birimidirler. Yapısında oksijen içerenlerine ‘hemiterpenoidler’ denir. Bitki dokusunda genellikle serbest olarak değil, alkaloid, flavonoid gibi yapılara bağlı olarak bulunurlar. Bu bileşiklerin en önemlisi terpenlerin yapıtaşını oluşturan izopren bileşiğidir. Doğal alkol olarak da bilinen prenol (3-metil-2-büten-1-ol) ve doğal yağ asidi olan izovalerik asit (3-metil bütanoik asit) bileşikleri ise hemiterpenoid sınıfı bileşiklere birer örnektir.



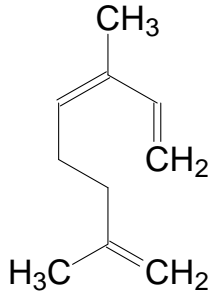
Prenol



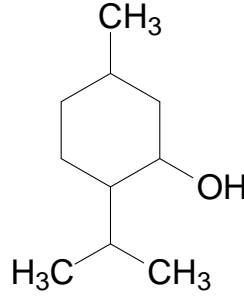
3-Metilbütanoik Asit

1.5.2. Monoterpenler

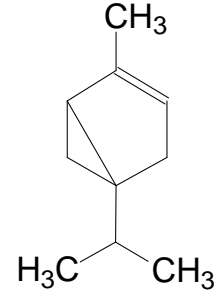
İki izopren ünitesinin bir araya gelmesiyle oluşan doğal bileşiklerdir. Oksijen içerenlerine ‘monoterpenoidler’ denir. Şimdiye kadar 400’ ün üzerinde doğal olarak oluşan monoterpen ve monoterpenoid tanımlanmıştır. Monoterpen ve türevleri asiklik, monosiklik ve bisiklik yapıda olabilirler.



Osimen (Asiklik)

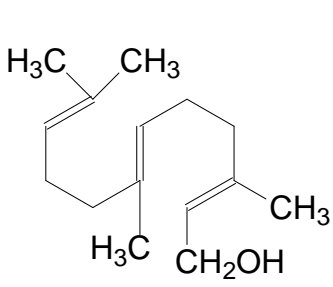


Mentol (Monosiklik)

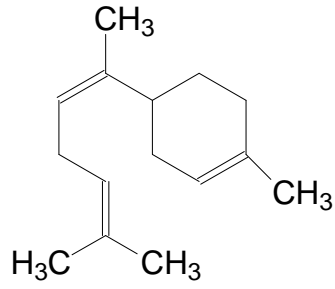
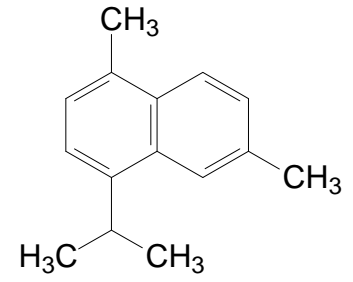
 α -Thujen (Bisiklik)

1.5.3. Seskiterpenler

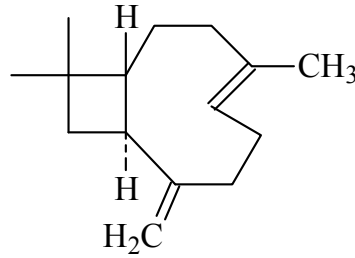
Seskiterpenler 3 izopren ünitesinin birleşmesiyle oluşmuşlardır. Yapısında oksijen içerenlerine ‘seskiterpenoidler’ denir. Seskiterpenler, uçucu yağların nispeten daha yüksek kaynama noktalı bileşenleridir. Asiklik, monosiklik ve bisiklik şekilde bulunabilmektedirler. Karyofilen gibi bazı seskiterpenler ise büyük ve karmaşık bir yapıya sahip olabilirler.



Farnesol (Asiklik)

 α -Bisabolen (Monosiklik)

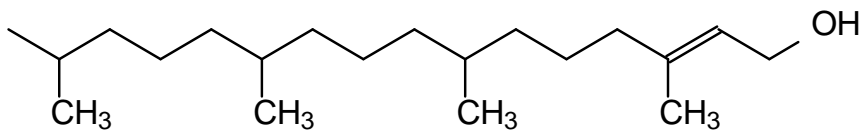
Kadalen (Bisiklik)



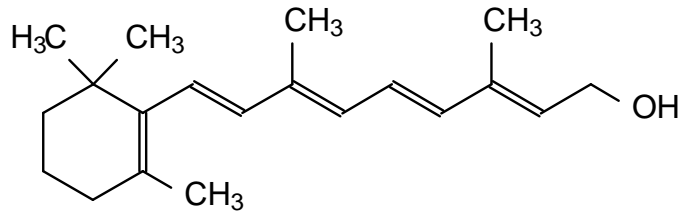
Karyofilen

1.5.4. Diterpenler

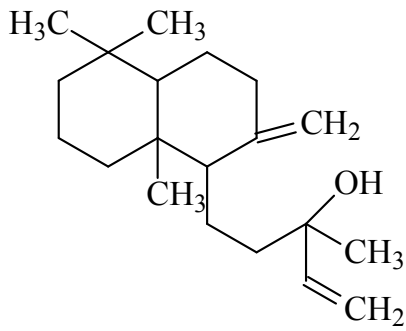
4 izopren ünitesinin birleşmesiyle oluşmuşlardır. Oksijen içerenlerine 'diterpenoidler' denmektedir. Asiklik, monosiklik, bisiklik ve trisiklik örnekleri mevcuttur.



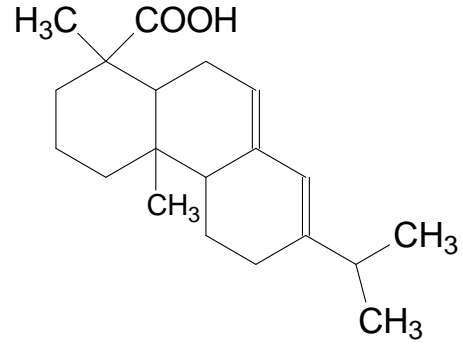
Fitol (Asiklik)



Vitamin A (Monosiklik)



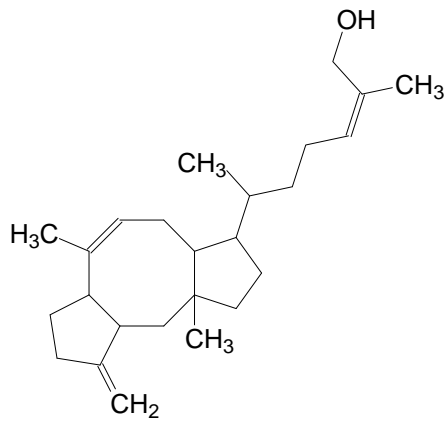
Manool (Bisiklik)



Abietik Asit (Trisiklik)

1.5.5. Sesterpenler

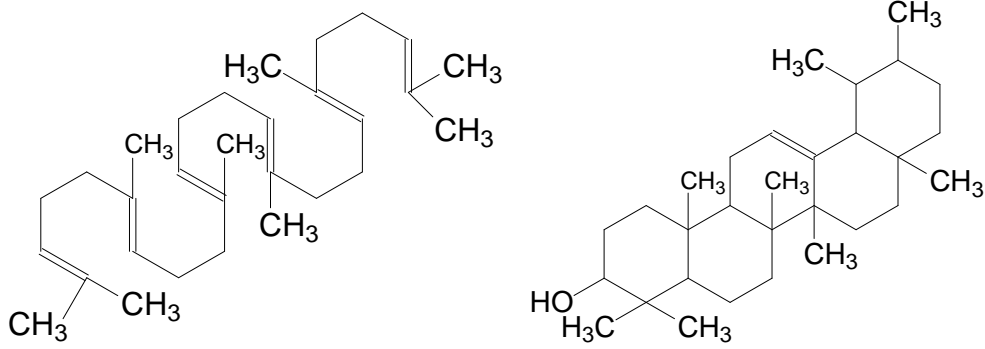
5 izopren ünitesinin bir araya gelmesi ile oluşan bu bileşikler genellikle mantar kaynaklarından izole edilirler. Oksijen içerenlerine ‘sesterpenoidler’ denir.



Seroplastol

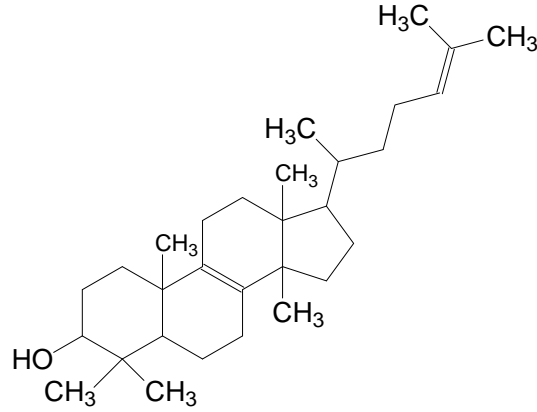
1.5.6. Triterpenler

Triterpenler 6 izopren ünitesinin biraraya gelmesi ile oluşurlar. Oksijen içerenlerine ‘triterpenoidler’ denir. Genellikle iki seskiterpen ünitesinin birleşmesiyle oluşurlar. Asiklik, tetrasiklik ve pentasiklik olarak 3 grupta sınıflandırılırlar.



Skualen (Asiklik)

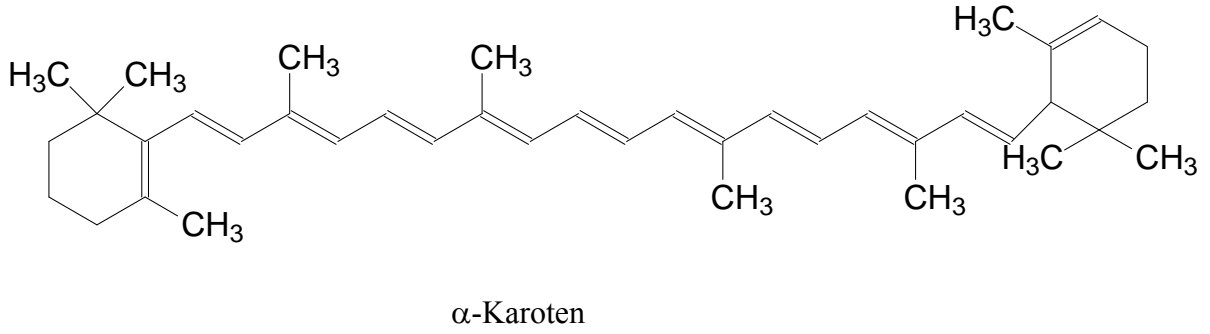
α -Amyrin (Pentasiklik)



Lanosterol (Tetrasiklik)

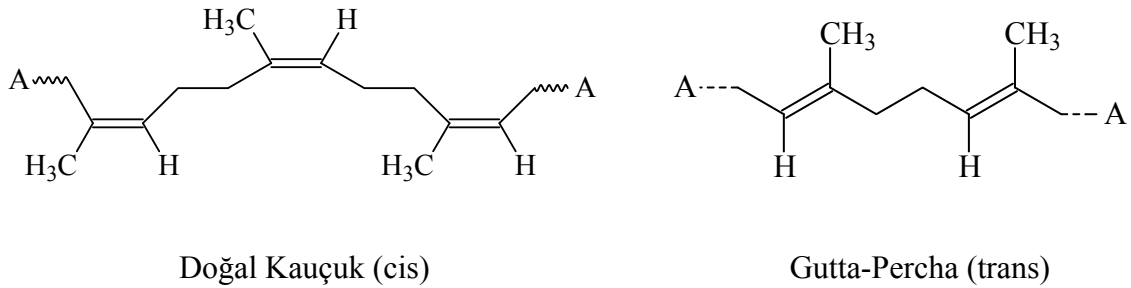
1.5.7. Tetraterpenler

Karotenoidler olarak bilinen bitkisel ve hayvansal pigmentler tetraterpenler olarak sınıflandırılırlar. Oksijen içerenlerine ‘Tetraterpenoidler’ denir. En bilinen örneği havuçtan izole edilen karoten bileşiğidir.



1.5.8. Politerpenler

Çok sayıdaki izopren birimlerinden oluşan polimerik yapıli terpenlerdir. En çok bilineni cis konformasyonuna sahip poliizopren olan Doğal Kauçuk (cis-1,4-poliizopren) ve onun trans polimeri olan Gutta-percha (trans-1,4-poliizopren)' dir.



1.6. Spektroskopik ve Kromatografik Yöntemler

Spektroskopi, madde ile elektromagnetik enerjinin etkileşmesini (maddenin enerjiyi absorplaması ve yayması) inceleyen bilim dalıdır. Söz konusu madde, çekirdek, atom veya molekül olabilir. Spektroskopik ölçümleri yapmak ve yorumlayabilmek için çeşitli cihazlardan faydalanılır. Elde edilen spektrumların yorumlanması ile atomik ve moleküler enerji seviyeleri, bileşiklerin bu seviyelerdeki davranışları, moleküllerin geometrisi ve kimyasal bağlanma hakkında önemli bilgiler elde edilir. En önemli spektroskopi çeşitleri UV-VIS (Mor Ötesi-Görünür Bölge), IR (Kırmızı Ötesi), NMR (Nükleer Magnetik Rezonans) ve MS (Kütle Spektroskopisi)' dir [46,47].

UV Spektroskopisi' nde elektronik enerji seviyeleri arasındaki geçişler ölçülür. Geçişler genellikle dolu olan bağ orbitali ile boş olan anti bağ ve bağ yapmayan orbitaller arasında gerçekleşir [48].

IR Spektroskopisi' nde kızıl ötesi ışınlarının absorplanmasıyla molekülde oluşan titreşimler ölçülür ve daha çok yapı aydınlatılmasında kullanılır. Her maddenin kendine özgü IR spektrumu vardır [46].

NMR Spektroskopisi' nde de temel olarak iki enerji seviyesi arasındaki geçişler ölçülür. Ancak, NMR spektroskopisi elektronlardan ziyade çekirdekle ilgilidir ve kuvvetli magnetik alana ihtiyaç vardır. Bu yöntemle, moleküldeki hidrojen ve karbon gruplarının yanı sıra bu gruplara komşu olan gruplar da tespit edilebilir [46].

Kütle Spektroskopisi' nde ise ışık – madde etkileşimi yoktur. Ancak, elde edilen verilerin spektroskopik verilere benzemesi nedeniyle spektroskopi altında incelenir. Bu yöntemde bileşik özel bir cihaz içinde, üzerine elektron demetleri gönderilerek iyonlaştırılır ve pozitif yüklü parçacıklar oluşturularak, bu parçalar kütle / yük oranına göre dedektöre gönderilip kütle tespiti yapılır [46].

Kromatografi, bileşiklerin hareketli bir faz yardımı ile sabit bir faz üzerinde, değişik hızlarla hareket etmeleri (tutunmaları) esasına dayanan bir ayırma ve saflaştırma tekniğidir. Başka yöntemlerle ayrılmaları zor olan maddeleri bu yöntemle saf olarak ayırmak mümkündür. Kromatografide sabit faz olarak genellikle silikajel, alüminyum oksit, selüloz gibi maddeler, hareketli faz olarak ise çeşitli çözücüler ve çözücü karışımları kullanılır. En önemli kromatografi çeşitleri kolon, ince tabaka, preparatif, kağıt ve gaz kromatografisidir [46].

Kolon Kromatografisi'nde sabit faz, bir büret veya özel kolon içine doldurulur ve uygun bir çözücü ile ıslatılır. Ayrıştırılacak karışım sabit faz üzerine tatbik edilip, ayırım gerçekleşene kadar uygun çözücüler ve çözücü karışımları ile muamele edilerek fraksiyonlar halinde toplanır [46].

İnce Tabaka ve Preparatif Kromatografi' de sabit faz ince alüminyum veya cam plakalar üzerinde bulunur. Ayrımı yapılacak karışım, plakanın alt kısmından belli bir noktaya uygulanır ve uygun bir çözücünün bulunduğu tank içine yerleştirilerek ayırım sağlanır. Kağıt Kromatografisi' nin prensibi de aynı olup, sabit faz olarak özel kağıtlar kullanılır [46].

Gaz Kromatografisi' nde ise özel cihazlar ve ince kolonlar kullanılır. Sabit faz olarak kullanılan madde, kolon içine emdirilmiş olarak bulunur. Hareketli faz olarak ise azot ve

helyum gibi inert gazlar kullanılır. Yöntemde ayrılacak madde cihaza verilir ve cihaz tarafından buharlaştırılarak kolona gönderilir. Bileşikler sabit fazda çeşitli sürelerde tutunurlar ve tutunma sonucunda ayırım gerçekleşir. Ayrılan bileşikler dedektöre taşınarak tayin edilir. Bileşiğin kolon içindeki tutulma süresine ‘alikonma zamanı’ denir [46].

1.7. Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi

Gaz Kromatografisi Kütle Spektroskopisi (GC/MS), gaz kromatografisi tekniği ve kütle spektroskopisinin birleştirilmesi ile bir numunedeki bileşiklerin tanımlanması için kullanılır. GC/MS ile ilaç, çevre, patlayıcı, bilinmeyen numune, besin, narkotik madde, kozmetik ve parfüm analizleri yapılabildiği gibi, son zamanlarda hava alanlarında güvenlik kontrollerinde ve astronomik çalışmalarda uzaya gönderilerek gezegenlerin atmosfer ve toprak analizlerini yapmada kullanılmaktadır. GC/MS ile bir numunedeki eser elementler bile tayin edilebilir [49].

Bu iki yöntemin bir arada kullanılması ile daha kesin sonuçlar elde edilir. Birden çok bileşik içeren bir numunenin analizinde, bu yöntemlerden sadece birinin kullanılması ile kesin bir sonuca ulaşılamayabilir. Kütle spektroskopisinde oldukça saf numunelerin kullanılması gerekir. Ayrıca bazen, iki molekülün oluşturulduğu iyonlar benzer olabilir. Gaz kromatografisinde ise kullanılan dedektör, bir karışımdaki alikonma zamanları aynı olan maddeleri ayıramaz. Bu iki yöntem bir arada kullanıldığında, iki farklı molekülün hem gaz hem kütle spektrometrelerinde aynı şekilde davranmaları son derece zor olduğundan, sonuçlar oldukça kesin bir şekilde elde edilir [49].



Şekil 1. GC/MS cihazı

GC/MS cihazı temel olarak 3 kısımdan oluşur, bunlar enjeksiyon, kolon ve kütle dedektörü kısımlarıdır.

1.7.1. Enjeksiyon Kısım

Numune, kolona enjeksiyon kısmı vasıtasıyla gönderilir. Kolona giden numunenin gaz fazında olması gerekir. Bu nedenle enjeksiyon kısmının en önemli görevi numuneyi ısıtmaktır. Bu amaç için, enjeksiyon kısmında bir ısıtma çemberi bulunur. Numuneyi buharlaştırmak için bu kısım genellikle 200–300 °C civarında tutulur. Sıcaklık düşük olursa tam buharlaşma olmaz ve pikler yayvan olur, çok yüksek olursa da numunede bozunmalar oluşabilir. Numune enjeksiyon kısmında buharlaştıktan sonra sabit akıştaki taşıyıcı bir gaz ile kolona taşınır. Bu amaç için kullanılan taşıyıcı gaz, numune ve kolonla reaksiyona girmeyecek özellikte olmalıdır. Bu nedenle genellikle helyum, azot gibi inert gazlar kullanılır. Hidrojen de çok iyi bir taşıyıcı gazdır. Ancak numune ile reaksiyona girme ihtimali vardır. Taşıyıcı gazın seçimi kullanılan dedektöre de bağlıdır. Örneğin, alev iyonlaştırma dedektörü (FID) kullanılıyorsa hidrojen kullanılması gerekmektedir.

Enjeksiyon kısmının diğer bir görevi de split ve splitless akışlarını düzenlemektir. Split akışta, numuneye ulaşan taşıyıcı gaz numunenin bir kısmını kolona, diğer kısmını farkı bir yol ile cihazın dışına taşır. Yani enjekte edilen numunenin analizi tarafından belirlenen belli bir kısmı kolona taşınmış olur. Bu akışa numunenin çok derişik olduğu durumlarda başvurulur. Splitless akışta ise taşıyıcı gaz tüm numuneyi kolona taşır [49,50].

1.7.2. Kolon Kısım

Kolonlar genellikle cam veya paslanmaz çelik yapıli kapiler veya tüp şeklindedir. İç çapları 5 mm olup, uzunlukları 1 m' den 5 m' ye kadar değişir. Kapiler kolonların 3 çeşidi vardır. Destek kapli kapiler kolonlarda (SCOT), kapiler duvarları ince bir tabaka halinde destek maddesi ile kaplanmış ve üzerine sabit faz adsorbe edilmiştir. Gözenek tabakalı kapiler kolonlarda (PLOT), sabit faz olarak gözenekli bir adsorban polimer kullanılır. Duvar kapli kapiler kolonlarda (WCOT) ise, kolon duvarları sıvı bir sabit fazla kaplanmış [51].

1.7.3. Dedektör Kısmı

Gaz kromatografisi cihazlarında amaca göre çok çeşitli dedektörler kullanılır. Bunların bazıları, argon iyonlaştırma dedektörü, alev iyonlaştırma dedektörü, alev yayma dedektörü, termal iletkenlik dedektörü ve elektron tutma dedektörüdür. GC/MS cihazının MS kısmında ise genellikle kütle seçici veya iyon yakalayıcı dedektör kullanılır [49,50].

1.8. GC/MS Çalışma Prensibi

Cihaza enjekte edilen numune, enjeksiyon kısmında buhar haline geldikten sonra taşıyıcı gaz ile kolona taşınır. Kolon içinde ilerlerken, numune içindeki maddeler kolon içinde çeşitli sürelerde tutulurlar. Bu tutulma süresi, bileşiğin uçuculuk ve molekül ağırlığı gibi özelliklerine bağlı olup alıkonma süresi (RT) olarak adlandırılır (genelde uçucu ve molekül ağırlığı düşük olan bileşikler kolonda daha az tutulmaya uğrarlar). Kolonun ısısının yükselmesiyle kolonda tutulmuş olan moleküller gaz fazına geçerek taşıyıcı gaz ile kolonun çıkışına ilerlerler. Tutunma sürelerine göre birbirlerinden ayrılıp kolonu terk eden bileşikler, kütle spektrometresine ulaşırlar. Burada bir filamentten elde edilen elektronlarla bombardımana tabi tutulurlar. Bu olaya elektron iyonlaştırması (EI) denir. Elektron iyonlaştırması sonucu oluşan iyonlar, kütle/yük oranlarına göre ayrılarak dedektörde kaydedilir ve veriler bilgisayardan spektrum şeklinde alınır. Bilgisayarda kayıtlı olan veri kütüphanelerindeki bileşiklerin spektrumları ile karşılaştırma sonucu bileşikler tayin edilir [49,50].

1.9. Gaz Kromatografisi Alev İyonlaştırma Dedektörü

Gaz Kromatografisi Alev İyonlaştırma Dedektörü (GC/FID), gaz kromatografisi cihazında alev iyonlaştırma dedektörünün kullanılması sonucu oluşur. FID dedektörü, numunedeki karbon moleküllerinin yanması sonucu oluşan elektronlar sayesinde oluşturulan elektriksel akımı ölçerek, bileşiklerin özellikle miktarlarını tespit etmeye yarar. FID seçici olmayan bir dedektördür. Bu nedenle özellikle kompleks numunelerde zayıf ayrışma gösteren ve hedef olmayan moleküllerin elimine edilmesini sağlar. FID dedektörünün çalışma prensibi, kolondan çıkan gaz halindeki numunelerin hidrojen alevine

gönderilmesi şeklindedir. Alevden uzak bir noktaya yerleştirilmiş bir elektrot ile alev arasına, 100-200 V' luk bir voltaj uygulanır. Yanan karbon parçalarının yaydığı elektronlardan dolayı oluşan akım ölçülür. Sinyal akışı iyonlaştırma etkinliği nedeniyle oldukça küçüktür. Ancak gürültü pikleri de oldukça küçük olduğundan sinyalleri bozmaz. FID dedektörü, karbon monoksit, karbon dioksit, azot, su, oksijen, helyum, argon gibi birkaç molekül haricinde tüm karbon içeren bileşikler tespit edebilir [50,52].

1.10. Antimikrobiyal Bileşikler

Bakteri mantar ve virüs gibi mikropları öldüren veya gelişimini engelleyen bileşiklere antimikrobiyal bileşikler denir. Günümüzde antimikrobiyal terimi bakteriyal enfeksiyonları tedavi eden ilaçlar için kullanılmaktadır. Antimikrobiyal bileşikler, doğal olarak bitkilerden izole edilebildikleri gibi sentetik olarak da üretilirler. Bakterilerin ve diğer mikroorganizmaların antimikrobiyal bileşiklere karşı çok hızlı bir biçimde direnç geliştirmeleri nedeniyle, tedavilerde genellikle birkaç antimikrobiyal bileşiğin birlikte kullanılması gerekmektedir. Mikroorganizmaların antimikrobiyallere karşı hızlı bir biçimde direnç geliştirmesi, yeni antimikrobiyal bileşiklerin araştırılması veya mikroorganizmaların bağışıklık kazanmalarının engellenmesi konularındaki çalışmaların artmasına neden olmaktadır.

2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

2.1. Enstrümantasyon

GC/MS ve GC/FID analizlerinde Agilent-6890N marka gaz kromatografisi cihazı ile birleştirilmiş Agilent 5973 marka kütle spektrometresi ve FID dedektörü kullanıldı. *Anthemis marschalliana* Wild ssp. *pectinata* (Boiss) Grierson ve *Anthemis cretica* L ssp. *argaea* (Boiss & Bal) Grierson (Asteraceae) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların GC/MS ve GC/FID spektrumlarının alındığı deneysel koşullar Tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. GC/MS ve GC/FID spektrumunun alındığı deneysel koşullar

Sıcaklık 1 (başlama sıcaklığı)	60 °C
Zaman 1 (bekleme süresi)	2 dakika
Sıcaklık yükselme hızı	5 °C/dakika
Sıcaklık 2 (son sıcaklık)	240 °C
Zaman 2 (bekleme süresi)	3 dakika
Toplam analiz süresi	62 dakika
Enjekte edilen numune miktarı	1 mikrolitre
Enjektör sıcaklığı	230 °C
Akış şekli	Splitless
MS dedektörü	İyon tuzak dedektörü (70 eV elektron iyonlaştırma gücünde)
Kapiler kolon	HP-5 kolonu (30 m uzunluğunda, 0,32 mm çapında, film kalınlığı 0,25 µm)
Taşıyıcı gaz	Helyum, 1.3 ml/dakika akış ile
FID gazları	Hidrojen ve kuru hava

2.2. Bitki Materyalleri

A. marschalliana ssp. *pectinata* ve *A. cretica* ssp. *argaea* bitkileri Temmuz 2004’de, Türkiye’ nin kuzeydoğusundaki Trabzon ilinin Çaykara ilçesinden (2900 m, A7) toplanmışlardır. Bitkiler toplandıktan sonra hemen teşhis edildi [1,2,4]. Bitkiler daha sonraki analizler için oda sıcaklığında kurutuldu ve bir örneği Biyoloji Bölümü Herbaryumu’na konuldu (No. Coşkunçelebi 554a ve 554b–2005, KTUB).

2.3. Uçucu Yağların İzolasyonu

A. marschalliana ssp. *pectinata* ve *A. cretica* ssp. *argaea* bitkilerine ait ham uçucu yağlar elde edilirken, bitkilerin tüm kısımları kullanılmıştır. Kurutulmuş olan bitki kısımları öğütülerek her birinden 50 g tartıldı ve 200 ml saf su ile birlikte şilifli balonlara konuldu. Uçucu yağlar $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ soğutma banyosu olan Clevenger tipi su buharı destilasyon düzeneğinde (şekil 2), 3 saat boyunca destilasyon yapılarak toplandı. Toplanan uçucu yağlar 0.5 ml n-hekzan (HPLC kalitesinde) ile çözülerek alındı ve Na_2SO_4 ile kurutulup koyu renkli şişeler içinde $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ' de saklandı. Elde edilen uçucu yağların $1\text{ }\mu\text{l}$ ' si GC/MS ve GC/FID yöntemleri ile analiz edilmek üzere cihaza enjekte edildi.



Şekil 2. Clevenger tipi subuharı destilasyon düzeneği

2.4. Bileşenlerin Aydınlatılması

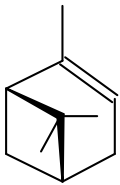
Uçucu yağların analizi yapıldıktan sonra elde edilen bileşiklerin yapısının aydınlatılması için NIST ve WILEY kütüphaneleri kullanıldı. Elde edilen bileşiklerin kütle spektrumları ile NIST ve WILEY kütüphanelerinin veri tabanlarında bulunan bileşiklere ait kütle spektrumlarının karşılaştırılması yapılarak bileşikler belirlendi ve doğrulama için bileşiklere ait alikonma indeksleri literatür verileriyle karşılaştırıldı [25-33]. Bileşiklerin yapısının aydınlatılmasında ayrıca, literatür verilerinde bulunan bazı saf bileşiklerin (α -pinen, kamfen, β -pinen, α -terpinen, limonen, γ -terpinen, borneol ve α -terpineol), aynı cihazda yapılan analizleri sonucu elde edilen sonuçlarla karşılaştırma yöntemi de kullanılmıştır.

2.5. Antimikrobiyal Aktivitelerin Belirlenmesi

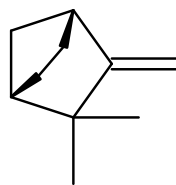
Bütün test mikroorganizmaları Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nden alınmıştır. Bu mikroorganizmalar; *Escherichia coli* ATCC 25922, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Pseudomonas auroginosa* ATCC 10145, *Bacillus cereus* 709 ROMA, *Listeria monositogenes* ATCC 43251, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803' dür. İzole edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri, agar-well difüzyon metodu kullanılarak tayin edilmeye çalışıldı [34,35]. Her bir mikroorganizma Mueller Hinton (MH) (Difco, Detroit, MI) suyunda bir süre bekletildikten sonra, mililitresinde yaklaşık olarak 10^6 koloni oluşturulacak biçimde seyreltildi. Daha sonra Mueller Hinton Agar (MHA) ve Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Difco, Detroit, MI) üzerine aşılanarak kurutuldu. *Candida tropicalis* mikroorganizması için sadece SDA kullanıldı. Agarlardan, steril bir mantar matkabı kullanılarak 5 mm'lik kuyucuklar kesildi ve bu kuyucuklara 50 μ l numune konuldu. Plakalar 35 °C' de 18 saat kuluçkaya yatırıldı. Antimikrobiyal aktivite, test organizmalarına karşı meydana gelen inhibisyon alanları ölçülerek belirlenmiştir. Ampicillin (10 μ g) ve Triflucan (5 μ g) standart ilaçlar olarak ve dimetilsülfoksit çözücü olarak kullanılmıştır.

3. BULGULAR

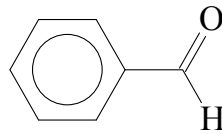
Bu çalışmada *Anthemis marschalliana* Wild ssp. *pectinata* (Boiss) Grierson ve *Anthemis cretica* L ssp. *argaea* (Boiss & Bal) Grierson (Asteraceae) bitkilerine ait uçucu yağların GC/MS ve GC/FID yöntemleri ile analizi yapıldı. Analiz sonucunda, bu bitkilere ait toplam 72 adet bileşiğin yapısı aydınlatılırken 9 adet bileşik tanımlanamadı. Yapısı aydınlatılan bileşikler monoterpen, monoterpenoid, seskiterpen, seskiterpenoid, diterpen ve diğer bileşikler olmak üzere 6 sınıf halinde gruplandırıldı. Elde edilen bileşikler sırasıyla; α -pinen (1), kamfen (2), benzaldehid (3), β -pinen (4), *n*-oktanal (5), α -fellandren (6), α -terpinen (7), limonen (8), 1,8-cineole (9), (*Z*)- β -osimen (10), γ -terpinen (11), terpinolen (12), *n*-nonanal (13), kamfor (14), pinokarvon (15), borneol (16), terpinen-4-ol (17), naftalen (18), α -terpineol (19), miritenal (20), *n*-dekanal (21), *trans*-karveol (22), karvon (23), (*E*)-2-dekenal (24), (*2E-4E*)-dekadienal (25), δ -elemen (26), α -terpinil asetat (27), eugenol (28), (*E*)- β -damascenon (29), sipren (30), tetradekan (31), α -gurjunen (32), dodekanal (33), β -funebren (34), (*E*)-karyofilen (35), 2,5-dimetoksi-*p*-simen (36), α -*trans*-bergamoten (37), α -guaien (38), α -humulen (39), (*E*)- β -farnesen (40), ar-curcumen (41), γ -himakhalen (42), β -selinen (43), viridifloren (44), α -cuprenen (45), tridekanal (46), miristisin (47), α -kalakoren (48), elemisin (49), (*E*)-nerolidol (50), spathulenol (51), helifolen-12-al A (52), humulen epoksit II (53), *trans*-arteannuik alkol (54), β -akorenol (55), kubenol (56), (*E*)-14-hidroksi-9-epi-karyofilen (57), α -bisabolol (58), 10-nor-kalamenen-10-one (59), (*Z*)-nusiferal (60), (*E*)-seskilavandulil asetat (61), (*Z*)-lanseol (62), siklokolorenon (63), γ -curcumen-15-al (64), β -bisabolenol (65), heksahidrofarnesil aseton (66), oplapanonil asetat (67), pimaradien (68), eikosan (69), heneikosan (70), trikosan (71) ve pentakosan (72)' dir. Aşağıda yapıları aydınlatılan bileşiklerin sırasıyla molekül formülleri ve isimleri görülmektedir.



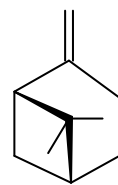
α -Pinen, (1)



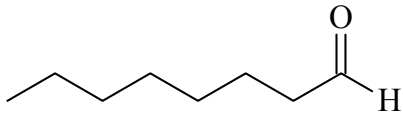
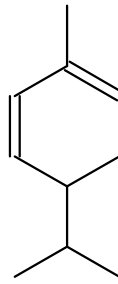
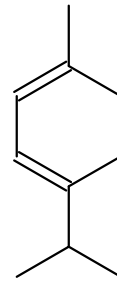
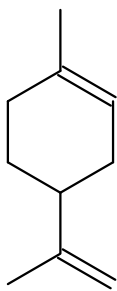
Kamfen, (2)



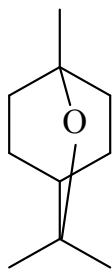
Benzaldehid, (3)



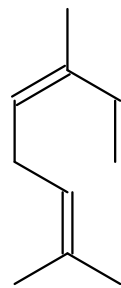
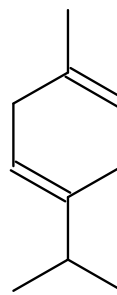
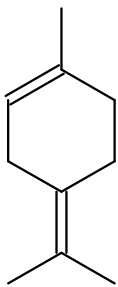
β -Pinen, (4)

*n*-Oktanal, (5) α -Fellandren, (6) α -Terpinen, (7)

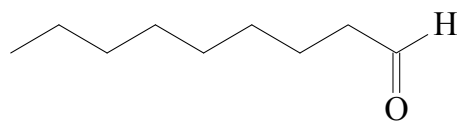
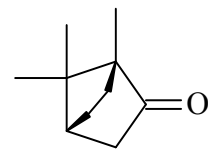
Limonen, (8)



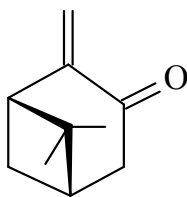
1,8-Cineole, (9)

*(Z)*- β -Osimen, (10) γ -Terpinen, (11)

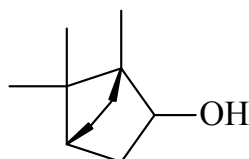
Terpinolen, (12)

*n*-Nonanal, (13)

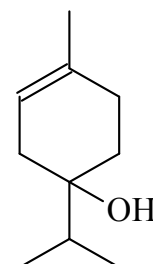
Kamfor, (14)



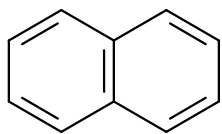
Pinokarvon, (15)



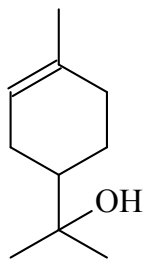
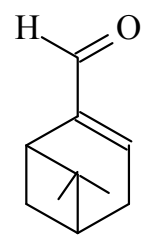
Borneol, (16)



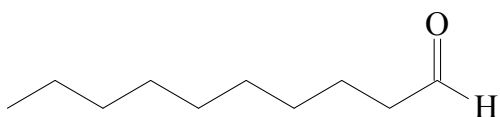
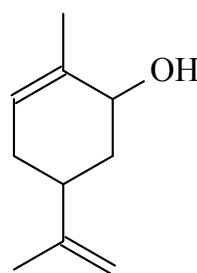
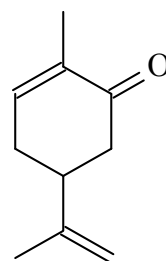
Terpinen-4-ol, (17)



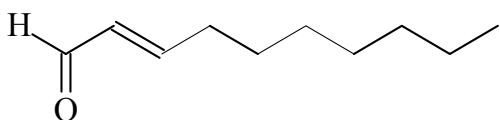
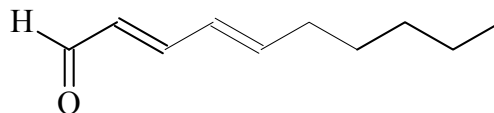
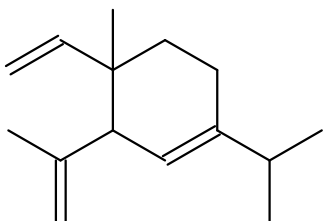
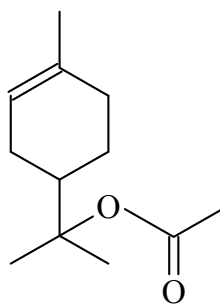
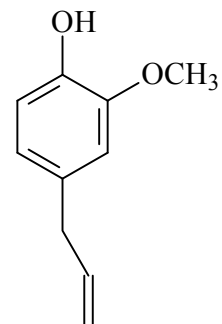
Naftalen, (18)

 α -Terpineol, (19)

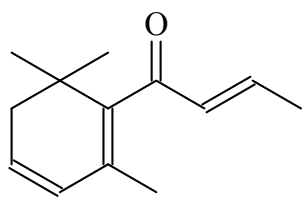
Miritenal, (20)

*n*-Dekanal, (21)*trans*-Karveol, (22)

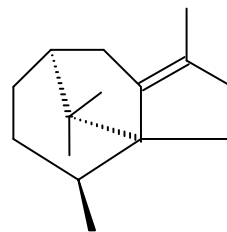
Karvon, (23)

*(E)*-2-Dekenal, (24)*(2E-4E)*-Dekadienal, (25) δ -Elemen, (26) α -Terpinil astat, (27)

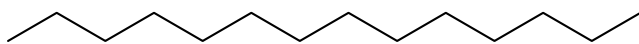
Eugenol, (28)



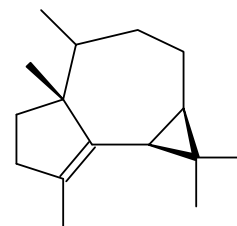
(*E*)- β -Damascenon, (29)



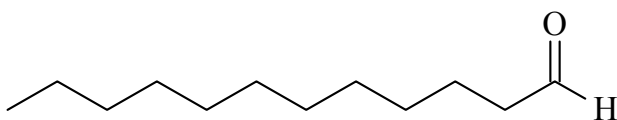
Sipren, (30)



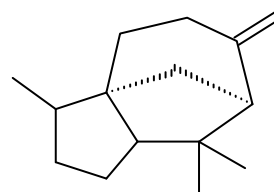
Tetradekan, (31)



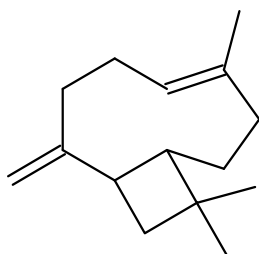
α -Gurjunen, (32)



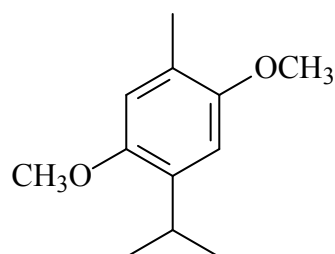
Dodekanal, (33)



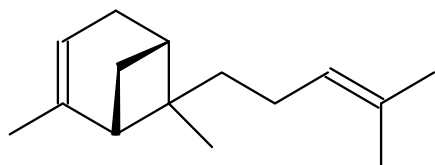
β -Funebren, (34)



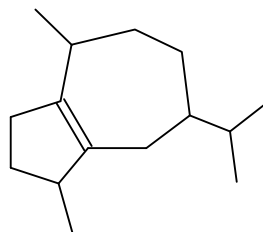
(*E*)-Karyofilen, (35)



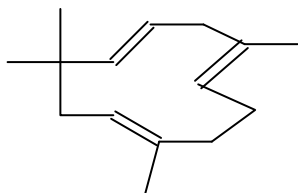
2,5-Dimetoksi-*p*-simen, (36)



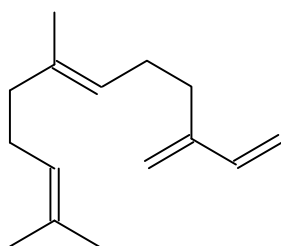
α -trans-Bergamoten, (37)



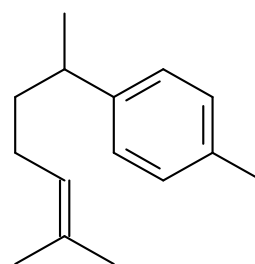
α -Guaien, (38)



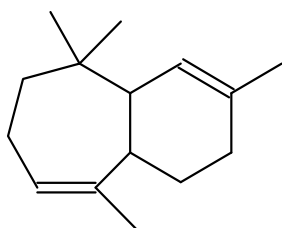
α -Humulen, (39)



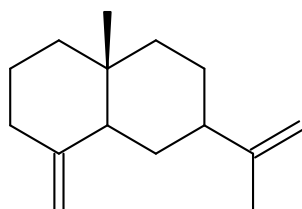
(*E*)- β -Farnesen, (40)



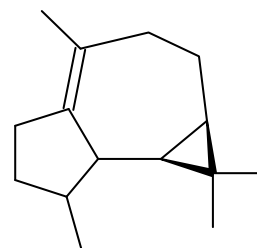
Ar-Curcumen, (41)



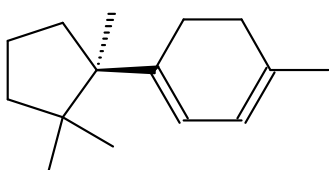
γ -Himakhalen, (42)



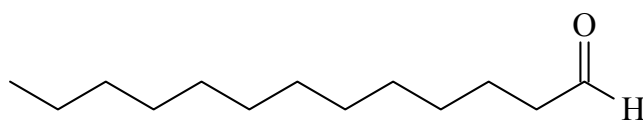
β -Selinen, (43)



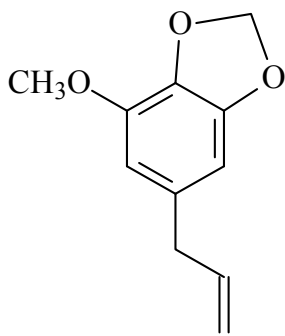
Viridifloren, (44)



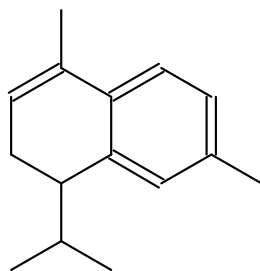
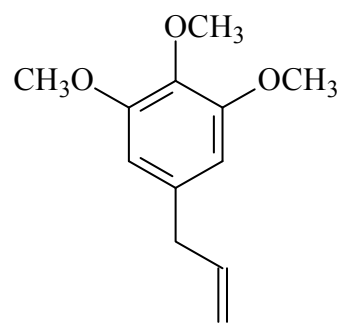
α -Cuprenen, (45)



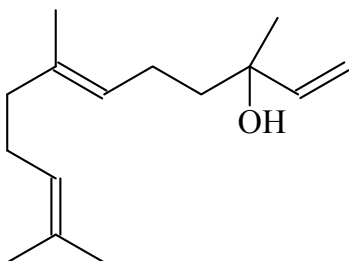
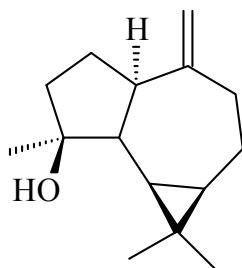
Tridekanal, (46)



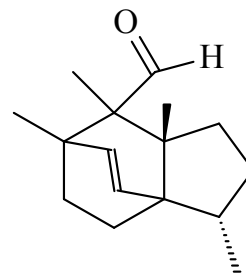
Miristisin, (47)

 α -Kalakoren, (48)

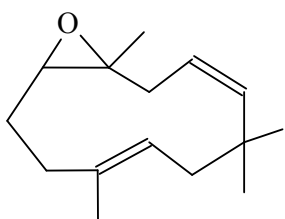
Elemisin, (49)

*(E)*-Nerolidol, (50)

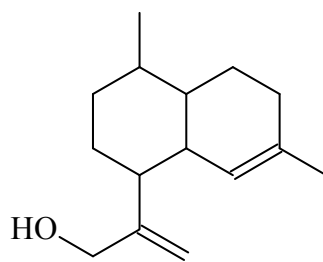
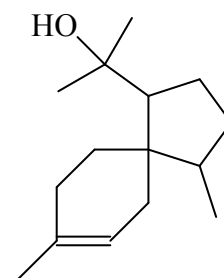
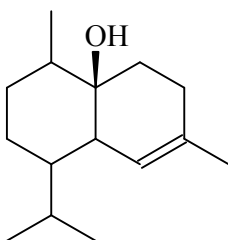
Spathulenol, (51)



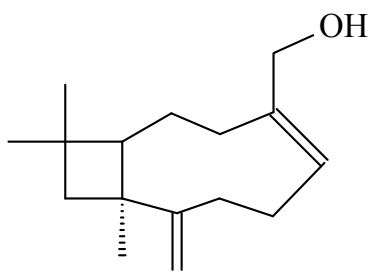
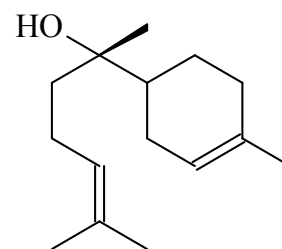
Helifolen-12-al A, (52)

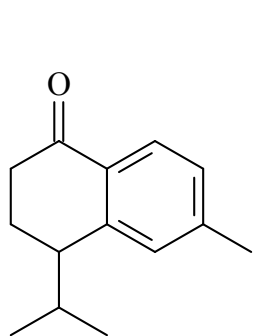
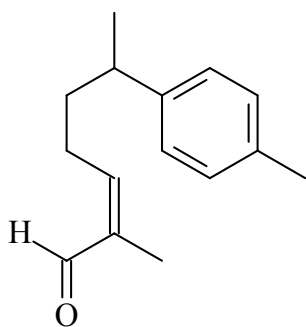


Humulen epoksit II, (53)

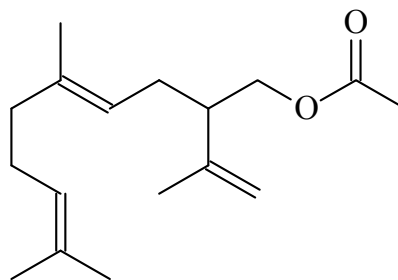
*trans*-Arteannuik alkohol, (54) β -Akorenol, (55)

Kubenol, (56)

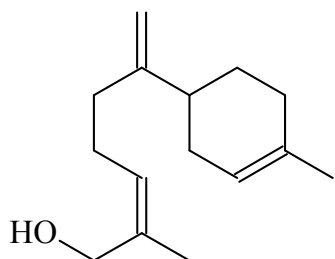
*(E)*-14-hidroksi-9-epi-karyofilen, (57) α -Bisabolol, (58)

10-nor-Kalamenen-
10-on, (59)

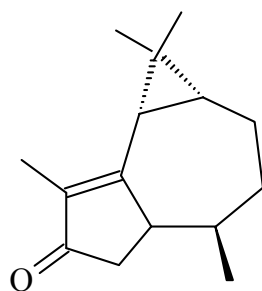
(Z)-Nusiferal, (60)



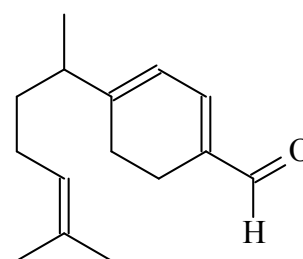
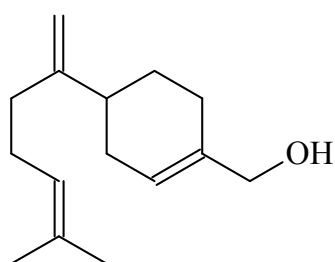
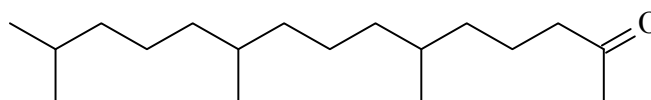
(E)-Seskilavandulil asetat, (61)



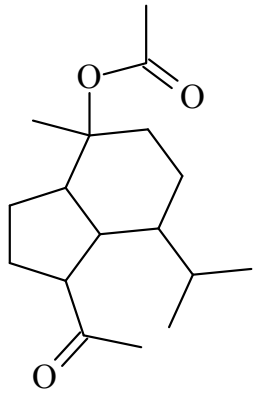
(Z)-Lanseol, (62)



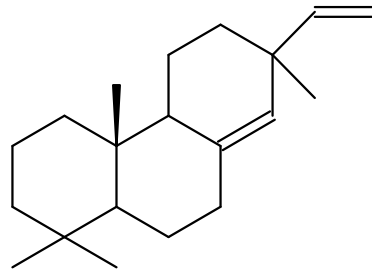
Siklokolorenon, (63)

 γ -Curcumen-15-al, (64) β -Bisabolenol, (65)

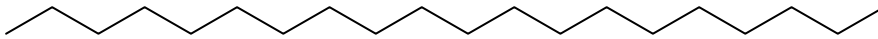
Hekzahidrofarnesil aseton, (66)



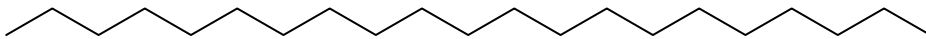
Oplapanonil aetat, (67)



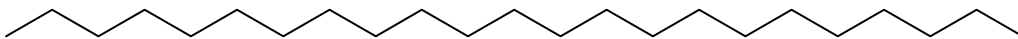
Pimaradien, (68)



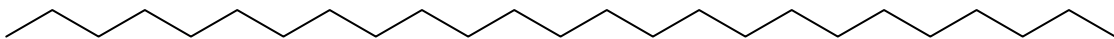
Eikosan, (69)



Heneikosan, (70)



Trikosan, (71)



Pentakosan, (72)

Elde edilen uçucu yağlar üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları sonucunda *A. marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisinin, *Y. pseudotuberculosis* ve *B. cereus* mikroorganizmalarına, *A. cretica* ssp. *argaea* bitkisinin ise *Y. pseudotuberculosis*, *B. cereus*, *S. aureus* ve *C. tropicali* mikroorganizmalarına karşı zayıf aktivite gösterdiği belirlendi.

4. TARTIŞMA

Bu çalışmada *A. marschalliana* ssp. *pectinata* ve *A. cretica* ssp. *argaea* bitkilerine ait uçucu yağlar, su buharı destilasyonu ile elde edilerek, GC/MS ve GC/FID yöntemleri ile analiz edilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen GC spektrumları, Ek Şekil 1-14' de görülmektedir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağlardaki bileşiklerden toplam 72 tanesinin yapısı aydınlatılmış ve elde edilen bileşikler 6 grup halinde sınıflandırılmıştır. Yapısı aydınlatılan bu bileşiklerin sırasıyla isimleri, toplam numune içindeki yüzde oranları (%A), cihaz veri tabanındaki bileşiklerle olan benzeşme oranları (%B), alıkonma indeksleri (RI) ve literatür alıkonma indeksleri (LRI) Tablo 3' de görülmektedir. Bileşiklerin yapısı aydınlatılırken, GC/MS analizi ile elde edilen kütle spektrumlarının, cihaz veri tabanında bulunan NIST ve WILEY kütüphanelerindeki kütle spektrumları ile karşılaştırılması yönteminin yanı sıra, literatür verilerinde bulunan bazı saf bileşiklerin (α -pinen, kamfen, β -pinen, α -terpinen, limonen, γ -terpinen, borneol ve α -terpineol), aynı cihazda yapılan analizleri sonucu elde edilen sonuçlarla karşılaştırma yöntemi de kullanılmıştır. Kütüphane karşılaştırmalarında benzeşme oranı %80 ve üzerinde olan bileşikler dikkate alınmış, bu oranın altında kalanlar bilinmeyen olarak kabul edilmiş ve bilinmeyen bileşiklere ait kütle/yük (m/z) oranları tablo 4' de verilmiştir. Benzeşme oranlarına göre tespit edilen bileşiklerin doğrulanması için, bu bileşiklere ait alıkonma indeksleri literatür alıkonma indeksleri ile karşılaştırılmıştır. Alıkonma indekslerinin hesaplanmasında C₆-C₃₂ karbon sayılı hidrokarbonların aynı cihazdaki analizlerinin sonuçlarından faydalanılmış, yüzde oranları ise FID analizi sonucunda belirlenmiştir.

Tablo 3. *A. marschalliana* ssp. *pectinata* ve *A. cretica* ssp. *argaea* bitkilerinin uçucu yağ bileşenlerine ait GC/MS ve GC/FID sonuçları

No	Bileşikler	<i>A. marschalliana</i>		<i>A. cretica</i>		RI	LRI
		%A	%B	%A	%B		
1	α -Pinen ^a	0.9	96	14,3	97	941	939
2	Kamfen ^a	-	-	4,7	98	956	954
3	Benzaldehid	-	-	4,0	96	961	960
4	β -Pinen ^a	4.8	96	14,6	96	980	979
5	<i>n</i> -Oktanal	0.8	64	-	-	1000	999

Tablo 3'ün devamı

6	α -Fellandren	-	-	0,5	94	1005	1003
7	α -Terpinen ^a	-	-	0,5	96	1019	1017
8	Limonen ^a	0.9	96	-	-	1030	1029
9	1,8-Cineole	-	-	3,5	90	1033	1031
10	(<i>Z</i>)- β -Osimen	0.9	86	-	-	1038	1037
11	γ -Terpinen ^a	0.8	92	0,9	97	1061	1060
12	Terpinolen	0.7	91	0,5	96	1089	1089
13	<i>n</i> -Nonanal	1.4	86	0,5	80	1102	1101
14	Kamfor	-	-	5,8	96	1147	1146
15	Pinokarvon	1.0	96	0,5	98	1164	1165
16	Borneol ^a	-	-	10,6	92	1171	1169
17	Terpinen-4-ol	-	-	0,5	96	1178	1177
18	Naftalen	0.9	97	-	-	1180	1181
19	α -Terpineol ^a	-	-	0,8	84	1190	1189
20	Miritenal	0.9	96	-	-	1194	1196
21	<i>n</i> -Dekanal	0.8	87	-	-	1203	1202
22	<i>trans</i> -Karveol	1.5	80	-	-	1219	1217
23	Karvon	-	-	0,4	90	1244	1243
24	(<i>E</i>)-2-Dekenal	0.9	90	-	-	1265	1264
25	(2 <i>E</i> -4 <i>E</i>)-Dekadienal	1.3	95	1,0	93	1317	1317
26	δ -Elemen	-	-	0,7	98	1337	1338
27	α -Terpinil asetat	0.7	82	-	-	1351	1349
28	Eugenol	-	-	0,5	96	1360	1359
29	(<i>E</i>)- β -Damascenon	1.9	97	-	-	1383	1385
30	Sipren	-	-	0,5	98	1398	1399
31	Tetradekan	3.9	96	0,5	95	1400	1400
32	α -Gurjunen	-	-	0,5	96	1408	1410
33	Dodekanal	0.6	84	-	-	1409	1409
34	β -Funebren	1.1	90	-	-	1414	1415
35	(<i>E</i>)-Karyofilen	-	-	0,5	90	1418	1419
36	2,5-Dimetoksi- <i>p</i> -simen	-	-	0,7	96	1426	1427
37	α - <i>trans</i> -Bergamoten	0.9	91	-	-	1434	1435
38	α -Guaien	-	-	0,4	92	1441	1440
39	α -Humulen	1.3	85	-	-	1454	1455
40	(<i>E</i>)- β -Farnesen	0.8	81	-	-	1459	1457
41	Ar-Curcumen	-	-	0,5	97	1482	1481

Tablo 3'ün devamı

42	γ -Himakhalen	0.8	81	-	-	1484	1483
43	β -Selinen	-	-	0,7	85	1492	1490
44	Viridifloren	2.5	90	-	-	1495	1497
45	α -Cuprenen	-	-	0,5	82	1505	1506
46	Tridekanal	1.3	83	-	-	1511	1510
47	Miristisin	1.9	97	0,5	97	1521	1519
48	α -Kalakoren	-	-	0,5	82	1545	1546
49	Elemisin	-	-	0,5	94	1558	1557
50	(<i>E</i>)-Nerolidol	1.9	82	-	-	1562	1563
51	Spathulenol	21.7	95	1,5	86	1578	1578
52	Helifolen-12-al A	-	-	0,7	80	1592	1593
53	Humulen epoksit II	5.9	83	-	-	1607	1608
54	<i>trans</i> -Arteannuik alkol	-	-	0,8	85	1614	1613
55	β -Akorenol	-	-	6,5	84	1635	1637
56	Kubenol	3.1	82	-	-	1648	1647
57	(<i>E</i>)-14-hidroksi-9-epi-karyofilen	-	-	1,2	80	1671	1670
58	α -Bisabolol	4.6	85	1,9	84	1686	1686
59	10-nor-Kalamenen-10-on	2.9	85	-	-	1701	1702
60	(<i>Z</i>)-Nusiferal	-	-	0,5	80	1715	1715
61	(<i>E</i>)-Seskilavandulil asetat	1.5	80	1,4	83	1742	1741
62	(<i>Z</i>)-Lanseol	0.9	80	-	-	1759	1761
63	Siklokolorenol	-	-	1,1	80	1760	1761
64	γ -Curcumen-15-al	0.6	80	-	-	1766	1768
65	β -Bisabolenol	-	-	0,8	81	1791	1790
66	Hekzahidrofarneasil aseton	3.8	99	1,1	99	1846	1846
67	Oplapanonil asetat	-	-	0,5	80	1890	1888
68	Pimaradien	1.2	92	-	-	1951	1950
69	Eikosan	0.9	89	-	-	1999	2000
70	Heneikosan	0.7	81	-	-	2098	2100
71	Trikosan	0.9	91	0,5	98	2300	2300
72	Pentakosan	1.8	95	-	-	2499	2500

%A : Toplam numune içindeki yüzde oranı (GC/FID analizi ile belirlendi)

%B : Cihaz veri tabanındaki bileşiklerle olan benzeşme oranları

RI : Alıkonma indeksleri (C₆-C₃₂ karbon sayılı hidrokarbonlar standart olarak alındı)

LRI : Literatür alıkonma indeksleri

a : Saf bileşiklerle karşılaştırılarak belirlenmişlerdir.

Tablo 4. Bilinmeyen bileşiklere ait kütle/yük (m/z) oranları

Bilinmeyen	RI	m/z (%)	A	B
1	1608	254(4), 222(16), 164(44), 121(100), 105(20), 93(28), 79(24)	-	0.8
2	1650	246(5), 172(100), 141(28), 113(24), 101(60), 52, 63(24)	-	3.8
3	1673	246(6), 217(8), 197(10), 133(28), 119(100), 105(44), 91(56)	2.6	-
4	1714	246(2), 212(24), 197(48), 96(40), 82(72), 57(100)	1.7	-
5	1866	223(8), 149 (100), 104(8), 76 (4), 57(18)	1.1	0.6
6	1978	446(3), 256(36), 213(32), 129(44), 73(100), 60(88)	-	1.9
7	2019	302(2), 256(4), 220(100), 205(40), 190(36), 115(32), 71(44)	-	0.9
8	2053	302(2), 256(4), 153(32), 135(60), 69 (100), 57(60)	-	1.3
9	2133	302(6), 280(8), 135(16), 95(55), 81(76), 67(92), 55(100)	2.7	-
Toplam bilinmeyen			8.1	9.3
Toplam yapısı aydınlatılan			88.6	89.6
Toplam			96.7	98.9

A : *A. marschalliana* ssp. *pectinata*

B : *A. cretica* ssp. *argaea*

RI : Alıkonma indeksleri

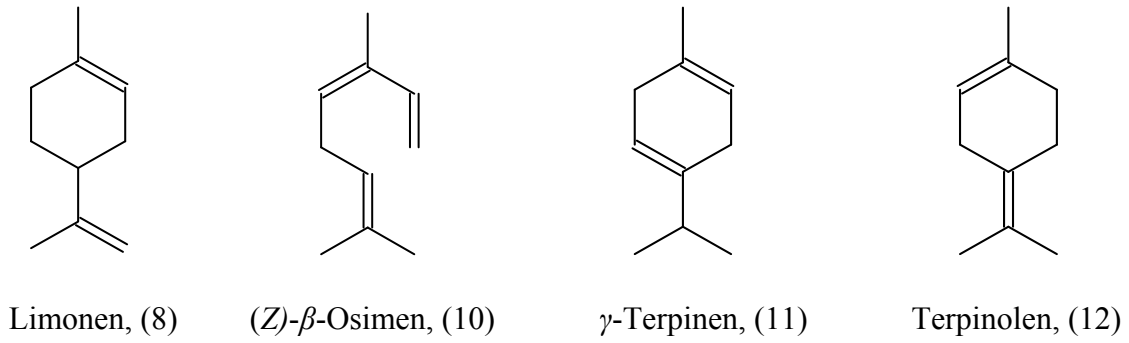
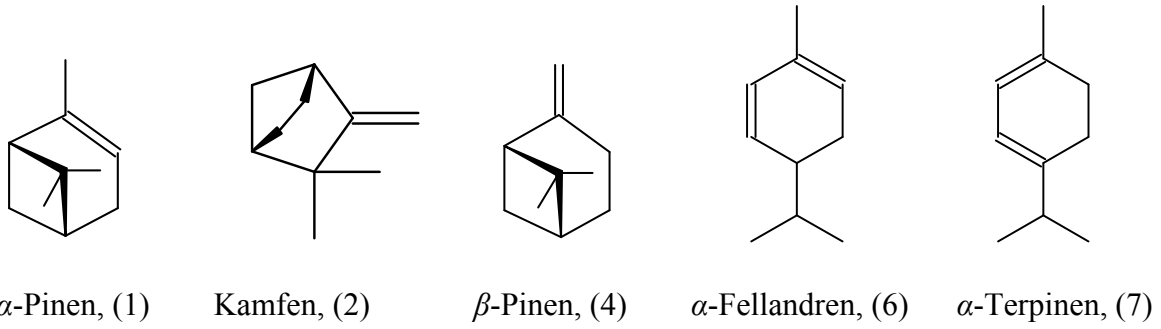
Yapısı aydınlatılan 72 adet bileşikten 42 tanesi *A. marschalliana* ssp. *pectinata* ve 44 tanesi *A. cretica* ssp. *argaea* bitkilerine ait olup, toplam numunenin sırasıyla %88.6 ve %89.6' sını oluştururken, yapısı aydınlatılmayan 9 adet bileşiğin ise 4 tanesi *A. marschalliana* ssp. *pectinata* ve 5 tanesi *A. cretica* ssp. *argaea* bitkilerine ait olup sırasıyla %8,1 ve %9,3' lük oranlara sahiptirler.

Yapısı aydınlatılan ve bilinmeyen bileşiklerin yüzdesel toplamı, *A. marschalliana* ssp. *pectinata* ve *A. cretica* ssp. *argaea* bitkilerinden izole edilen uçucu yağların sırasıyla %96.7 ve %98.9' luk kısmını oluşturmaktadır.

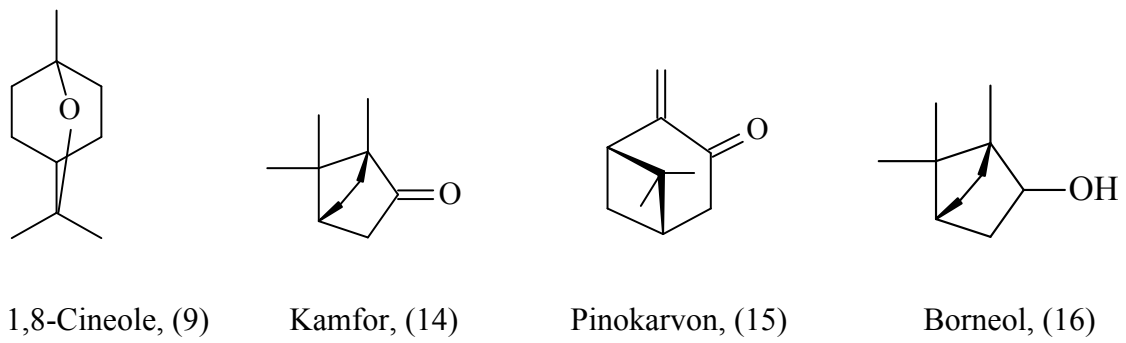
Bitkilerinden izole edilen uçucu yağlardaki ana bileşiklerin, *A. marschalliana* ssp. *pectinata*' da, spathulenol (%21.7), humulen epoksit II (%5.9), β -pinen (%4.8), ve α -bisabolol (%4.6), *A. cretica* ssp. *argaea*' da, β -pinen (%14.6), α -pinen (%14.3), borneol (%10.6) ve β -akorenol (6.5%) olduğu belirlendi.

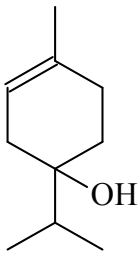
Yapılan çalışma sonucunda yapıları aydınlatılan 72 adet bileşik 6 grupta sınıflandırılmıştır. Bu sınıflar ve içerdikleri bileşik sayısı sırasıyla, monoterpenler (9), monoterpenoidler (14), seskiterpenler (15), seskiterpenoidler (16), diterpenler (1) ve diğerleri (17) şeklindedir. Bu sınıflar ve içerdikleri bileşiklerin formülleri aşağıda sırasıyla verilmiştir.

Monoterpenler:

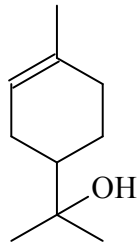
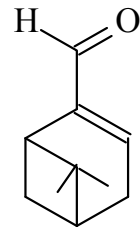


Monoterpenoidler:

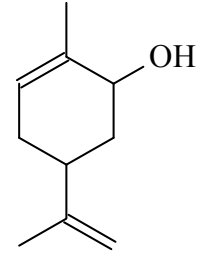
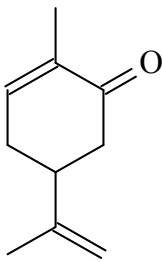




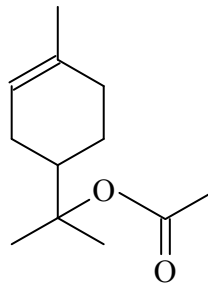
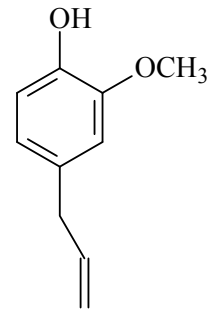
Terpinen-4-ol, (17)

 α -Terpineol, (19)

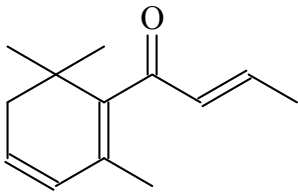
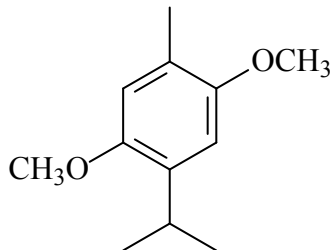
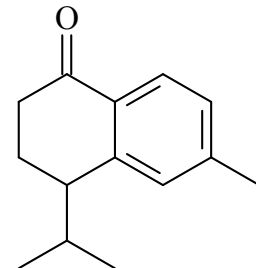
Miritenal, (20)

*trans*-Karveol, (22)

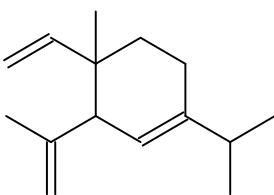
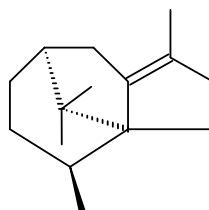
Karvon, (23)

 α -Terpinil asetat, (27)

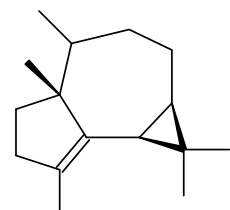
Eugenol, (28)

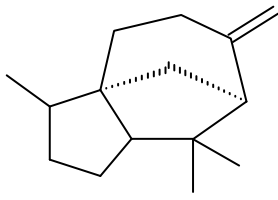
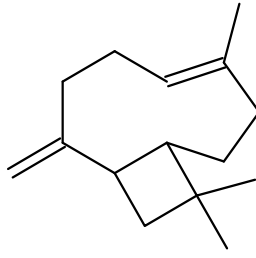
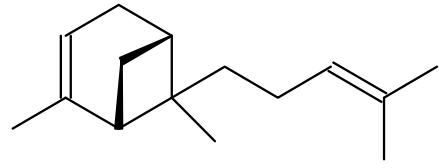
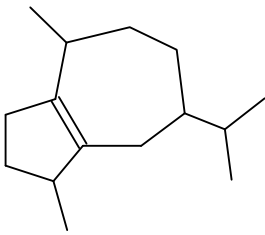
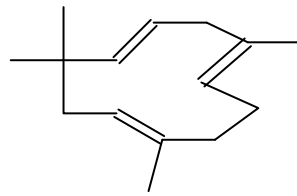
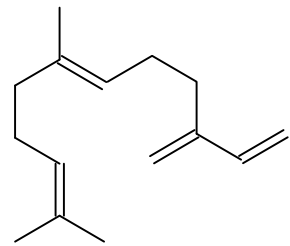
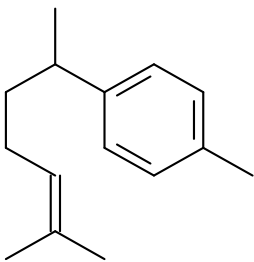
*(E)*- β -Damascenon, (29)2,5-Dimetoksi-*p*-simen, (36)

10-nor-Kalamenen-10-on, (59)

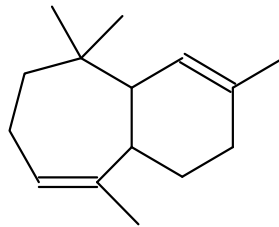
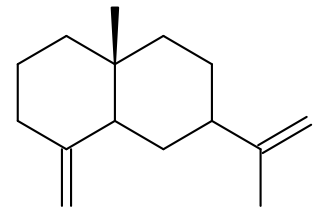
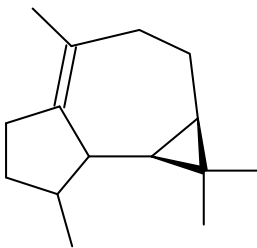
Seskiterpenler: δ -Elemen, (26)

Sipren, (30)

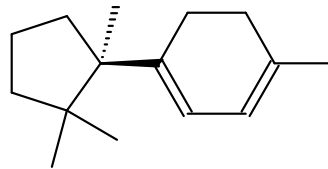
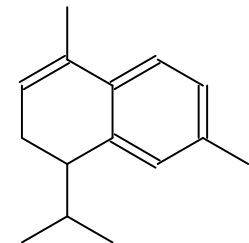
 α -Gurjunen, (32)

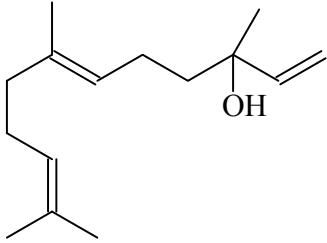
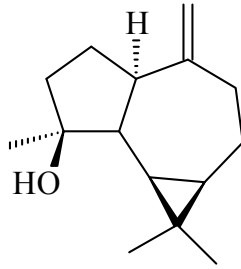
 β -Funebren, (34)*(E)*-Karyofilen, (35) α -trans-Bergamoten, (37) α -Guaien, (38) α -Humulen, (39)*(E)*- β -Farnesen, (40)

Ar-Curcumen, (41)

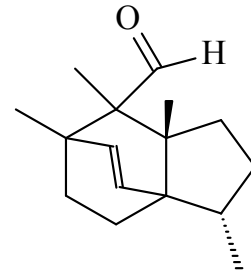
 γ -Himachalen, (42) β -Selinen, (43)

Viridifloren, (44)

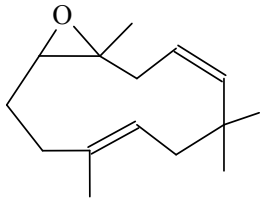
 α -Cuprenen, (45) α -Kalakoren, (48)

Seskiterpenoidler;*(E)*-Nerolidol, (50)

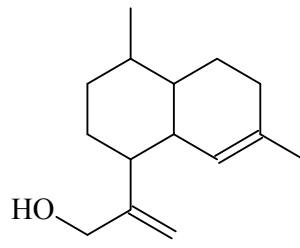
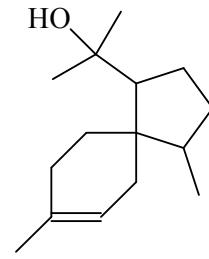
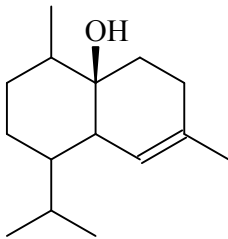
Spathulenol, (51)



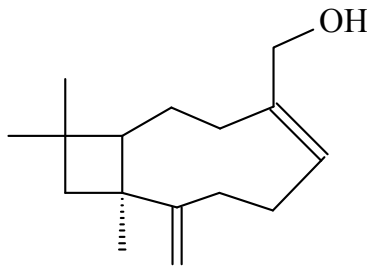
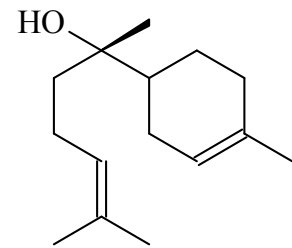
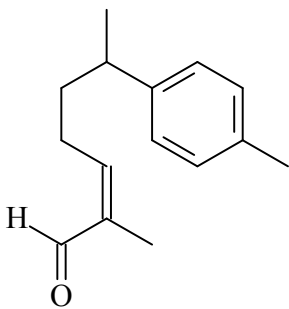
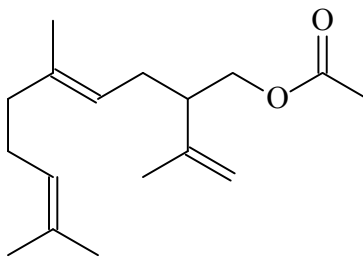
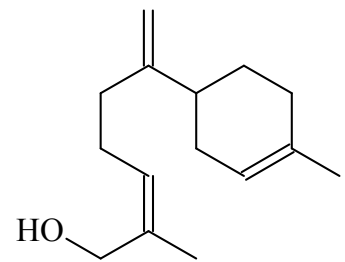
Helifolen-12-al A, (52)

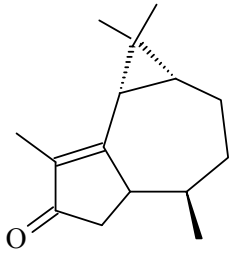


Humulen epoksit II, (53)

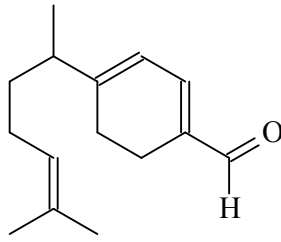
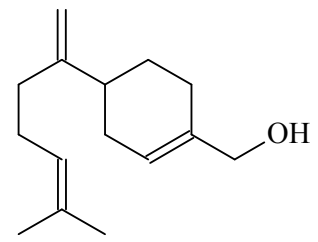
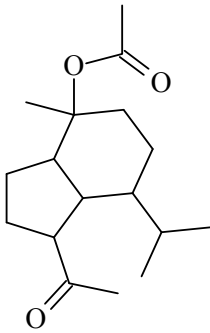
*trans*-Arteannuik alkol, (54) β -Akorenol, (55)

Kubenol, (56)

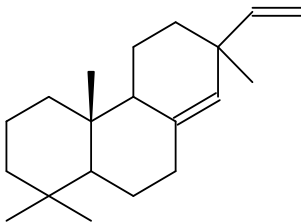
*(E)*-14-hidroksi-9-epi-karyofilen, (57) α -Bisabolol, (58)*(Z)*-Nusiferal, (60)*(E)*-Seskilavandulil asetat, (61)*(Z)*-Lanseol, (62)



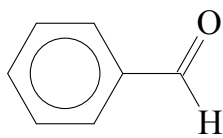
Siklokolorenon, (63)

 γ -Curcumen-15-al, (64) β -Bisabolenol, (65)

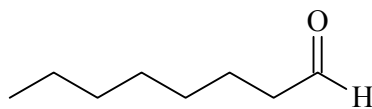
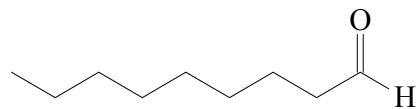
Oplapanonil asetat, (67)

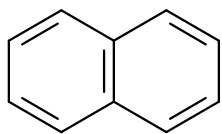
Diterpenler:

Pimaradien, (68)

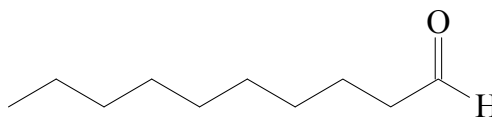
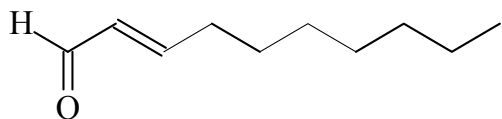
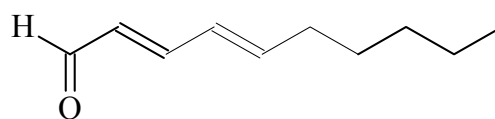
Diğerleri:

Benzaldehid, (3)

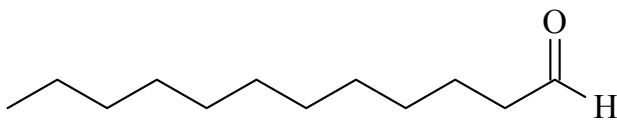
*n*-Oktanal, (5)*n*-Nonanal, (13)



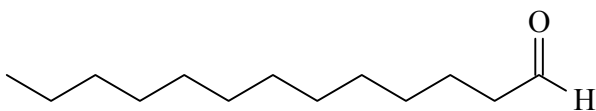
Naftalen, (18)

*n*-Dekanal, (21)*(E)*-2-Dekenal, (24)*(2E-4E)*-Dekadienal, (25)

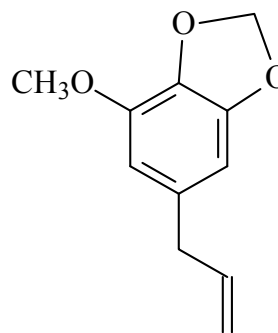
Tetradekan, (31)



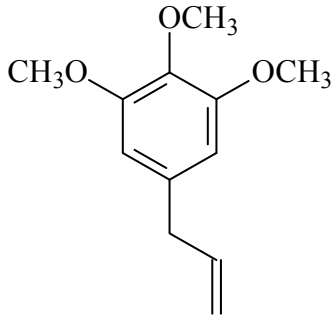
Dodekanal, (33)



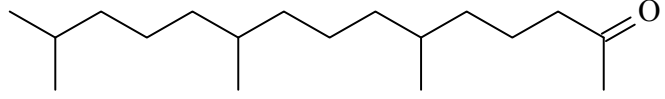
Tridekanal, (46)



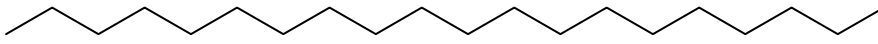
Miristin, (47)



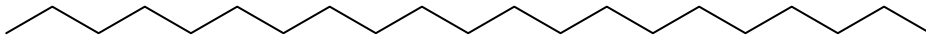
Elemisin, (49)



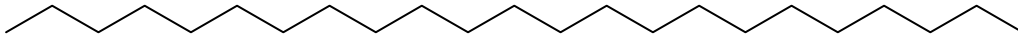
Hekzahidrofarmesil aseton, (66)



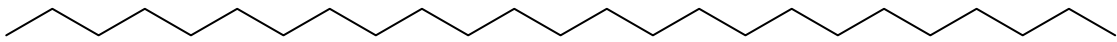
Eikosan, (69)



Heneikosan, (70)



Trikosan, (71)



Pentakosan, (72)

A. marschalliana ssp. *pectinata* bitkisinin %63.8, *A. cretica* ssp. *argaea* bitkisinin ise %81.0' lık kısmını terpen sınıfı bileşiklerin oluşturduğu ve bu bitkilerdeki en büyük terpen sınıflarının sırasıyla seskiterpenoidler (%40.2) ve monoterpenler (%36.0) olduğu belirlenmiştir. Bu sınıflar, içerdikleri bileşik sayısı ve ana bileşenleri ile birlikte bitkilere göre düzenlenerek tablo 5' de verilmiştir.

Tablo 5. Bileşiklerin sınıflandırılması

Bileşik sınıfı	<i>A. marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i>			<i>A. cretica</i> ssp. <i>argaea</i>		
	%A	BS	Ana Bileşik	%A	BS	Ana Bileşik
Monoterpenler	9.0	6	β -Pinen	36.0	7	β -Pinen
Monoterpenoidler	6.0	5	<i>trans</i> -Carveol	23.3	9	Borneol
Seskiterpenler	7.4	6	Viridifloren	4.8	9	β -Selenin
Seskiterpenoidler	40.2	8	Spathulenol	16.9	11	β -Akorenol
Diterpenler	1.2	1	Pimaradien	-	-	-
Diğerleri	24.8	16	Tetradekan	8.6	8	Benzaldehid

%A : Toplam numune içindeki yüzde oranı

BS : Bileşik sayısı

Farklı *Anthemis* türleri üzerinde yapılmış uçucu yağ çalışmaları ile karşılaştırıldığında, bu çalışmadaki bitkilerde de mevcut olan, α -pinen, kamfen, benzaldehid, β -pinen, *n*-oktanal, α -fellandren, α -terpinen, limonen, 1,8-cineole, (*Z*)- β -osimen, γ -terpinen, terpinolen, *n*-nonanal, kamfor, pinokarvon, borneol, terpinen-4-ol, naftalen, α -terpineol, miritenal, *n*-dekanal, *trans*-karveol, karvon, (*E*)-2-dekenal, (*2E-4E*)-dekadienal, δ -elemen, α -terpinil asetat, eugenol, (*E*)- β -damascenon, tetradekan, (*E*)-karyofilen, α -trans-bergamoten, α -guaien, α -humulen, (*E*)- β -farnesen, γ -himakhalen, β -selinen, tridekanal, α -kalakoren, (*E*)-nerolidol, spathulenol, humulen epoksit II, α -bisabolol, heksahidrofarnesil aseton, eikosan, heneikosan, trikosan ve pentakosan bileşiklerinin, *Anthemis* türlerinin uçucu yağlarında genellikle bulunan bileşikler olduğu gözlenmiştir [5-7,10-14]. Diğer bileşiklerdeki farklılıklar arasında ise, bitkilerin farklı türlerde olması, farklı iklimsel bölgelerde yetişmesi ve çalışılan bitki kısımlarının farklı olması gibi nedenler sayılabilir.

Elde edilen uçucu yağlar üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite çalışmaları agar-well difüzyon metodu kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu testler için, Ankara Refik Saydam Hıfzıssıhha Enstitüsü'nden alınan, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, *Pseudomonas auroginosa* ATCC 10145, *Bacillus cereus* 709 ROMA, *Listeria monositogenes* ATCC 43251, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ve *Candida tropicalis* ATCC 13803 mikroorganizmaları kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite testleri sonucunda *A. marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisine ait uçucu yağın, *Y. pseudotuberculosis* ve *B. cereus* mikroorganizmalarına, *A. cretica* ssp. *argaea* bitkisine ait uçucu yağın ise *Y. pseudotuberculosis*, *B. cereus*, *S. aureus* ve *C. tropicali* mikroorganizmalarına karşı zayıf aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivitelere ait toplu sonuçlar tablo 6' da özetlenmiştir.

Tablo 6. Uçucu yağlara ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

Numuneler	Numune miktarı (µg/50µl)	Mikroorganizmalar ve inhibisyon çap değerleri (mm)							
		Ec	Yp	Pa	Bc	Li	Sa	Ef	Ct
<i>A. marschalliana</i> ssp. <i>pectinata</i>	440	-	7	-	7	-	-	-	-
<i>A. cretica</i> ssp. <i>argaea</i>	590	-	6	-	8	-	7	-	8
Ampisilin	10	10	18	18	15	10	35	10	
Triflukan	5								25

Ec: *Escherichia coli* ATCC 25922, Yp: *Yersinia pseudotuberculosis* ATCC 911, Pa: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145, Bc: *Bacillus cereus* 702 Roma, Li: *Listeria monocitogenes* ATCC 43251, Sa: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, Ef: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Candida tropicali* ATCC 13803.

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada Türkiye’ de doğal olarak yetişen Asteraceae ailesine ait *Anthemis marschalliana* Wild ssp. *pectinata* (Boiss) Grierson ve endemik bir tür olan *Anthemis cretica* L ssp. *argaea* (Boiss & Bal) Grierson bitkilerine ait, su buharı destilasyonu ile elde edilmiş uçucu yağların, GC/MS ve GC/FID ile analizleri yapılmıştır. Bu bitkilerden sırasıyla 42 ve 44 adet olmak üzere toplam 72 adet bileşiğin yapısı, NIST ve WILEY kütüphanelerindeki kütle spektrumları, bazı saf bileşiklerin (α -pinen, kamfen, β -pinen, α -terpinen, limonen, γ -terpinen, borneol ve α -terpineol) aynı cihazda yapılan analizleri sonucu elde edilen sonuçlar ve literatür verileri ile karşılaştırma sonucu aydınlatılmıştır. *A. marschalliana* ssp. *pectinata*’ ya ait, uçucu yağdaki yüzdesi %8,1 olan 4 adet ve *A. cretica* ssp. *argaea*’ ya ait uçucu yağdaki yüzdesi %9,3 olan 5 adet bileşiğin yapıları ise belirlenememiştir.

Bu bitkilere ait uçucu yağların sırasıyla %88.6 ve %89.6’ lık kısımlarının yapıları aydınlatılmış olup, yapıları aydınlatılan bu bileşikler; α -pinen (1), kamfen (2), benzaldehid (3), β -pinen (4), *n*-oktanal (5), α -fellandren (6), α -terpinen (7), limonen (8), 1,8-cineole (9), (*Z*)- β -osimen (10), γ -terpinen (11), terpinolen (12), *n*-nonanal (13), kamfor (14), pinokarvon (15), borneol (16), terpinen-4-ol (17), naftalen (18), α -terpineol (19), miritenal (20), *n*-dekanal (21), *trans*-karveol (22), karvon (23), (*E*)-2-dekenal (24), (*2E-4E*)-dekadienal (25), δ -elemen (26), α -terpinil asetat (27), eugenol (28), (*E*)- β -damascenon (29), sipren (30), tetradekan (31), α -gurjunen (32), dodekanal (33), β -funebren (34), (*E*)-karyofilen (35), 2,5-dimetoksi-*p*-simen (36), α -*trans*-bergamoten (37), α -guaïen (38), α -humulen (39), (*E*)- β -farnesen (40), ar-curcumen (41), γ -himakhalen (42), β -selinen (43), viridifloren (44), α -cuprenen (45), tridekanal (46), miristisin (47), α -kalakoren (48), elemisin (49), (*E*)-nerolidol (50), spathulenol (51), helifolen-12-al A (52), humulen epoksit II (53), *trans*-arteannuik alkol (54), β -akorenol (55), kubenol (56), (*E*)-14-hidroksi-9-epi-karyofilen (57), α -bisabolol (58), 10-nor-kalamenen-10-one (59), (*Z*)-nusiferal (60), (*E*)-seskilavandulil asetat (61), (*Z*)-lanseol (62), siklokolorenon (63), γ -curcumen-15-al (64), β -bisabolenol (65), heksahidrofarnesil aseton (66), oplapanonil asetat (67), pimaradien (68), eikosan (69), heneikosan (70), trikosan (71) ve pentakosan (72)’ dir.

Yapısı aydınlatılan ve aydınlatılmayan bileşiklerin toplam yüzdesinin, *A. marschalliana* ssp. *pectinata* ve *A. cretica* ssp. *argaea* bitkilerinden izole edilen uçucu yağlarda sırasıyla, %96.7 ve %98.9 olduğu ve uçucu yağlardaki ana bileşiklerin ise, *A. marschalliana* ssp. *pectinata*' da, spathulenol (%21.7), humulen epoksit II (%5.9), β -pinen (%4.8), ve α -bisabolol (%4.6), *A. cretica* ssp. *argaea*' da, β -pinen (%14.6), α -pinen (%14.3), borneol (%10.6) ve β -akorenol (6.5%) olduğu tespit edildi.

Elde edilen uçucu yağlar üzerinde yapılan antimikrobiyal aktivite testleri sonucunda *A. marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisine ait uçucu yağın, *Y. pseudotuberculosis* ve *B. cereus* mikroorganizmalarına, *A. cretica* ssp. *argaea* bitkisine ait uçucu yağın ise *Y. pseudotuberculosis*, *B. cereus*, *S. aureus* ve *C. tropicalis* mikroorganizmalarına karşı zayıf aktivite gösterdiği belirlendi.

6. ÖNERİLER

Bu çalışmada Asteraceae ailesine ait *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* ve endemik bir tür olan *Anthemis cretica* ssp. *argaea* bitkilerinin uçucu yağlarının GC/MS ve GC/FID yöntemleri ile analizi yapılmış ve elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir. Uçucu yağ bileşenlerinin veya ana gruplarının izolasyon yapılarak ayrılması ve bileşiklerin saf olarak elde edilerek mikroorganizmalar üzerinde test edilmesi de mümkündür. Bu şekilde yapılacak bir çalışma ile, hangi bileşiklerin daha etkin antimikrobiyal aktivite gösterdiği de tespit edilebilir.

Bitkilerin yapısında uçucu yağlar dışında yüzlerce bileşik daha bulunmaktadır. Çeşitli ekstraksiyon ve izolasyon yöntemleri ile bu bileşikler de incelenebilir ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılabilir. Yine bu tür çalışmalar daha farklı bitki türleri üzerinde de denenerek biyolojik açıdan çok daha aktif bileşikler tespit edilmeye çalışılabilir.

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların büyük bir kısmını terpen türü bileşikler oluşturmaktadır. Terpen türü bileşikler, hem hoş kokularıyla hem de biyolojik aktivitelerinin oldukça yüksek olması nedeniyle ilaç, kozmetik, parfümeri, gıda gibi pek çok alanda kullanılmaktadırlar. Bu bileşikleri yüksek oranda içeren bitkileri bulmak için benzeri çalışmaların yapılması ve artırılması gerekmektedir.

Bakterilerde antimikrobiyal madde dirençliliği oldukça hızlı bir şekilde artmaktadır. Buna karşılık bakteriler, antimikrobiyal özellik gösteren bitkilere ve bitkisel ürünlere karşı direnç kazanmamaktadır. Bunun nedeni, sentetik olarak üretilen ilaçların bitkilerdeki herhangi bir aktif maddenin izole edilmesi suretiyle yapılmasıdır. Bakteriler tek bir yapı içeren sentetik ilaçlara karşı kısa zamanda dayanıklı ırklar oluşturarak ilaçları etkisiz hale getirebilmektedir. Buna karşılık, bitkilerdeki aktif maddeler diğer maddelerle birlikte kompleks bir yapı halinde bulduklarından bakterilerin bu yapılara karşı direnç geliştirmesini güçleştirmektedir. Bu yüzden antibiyotiklere alternatif olarak bitkilerin ve bitkisel ürünlerin geleneksel antimikrobiyaller olarak kullanılmaları için araştırmaların artırılması uygun olabilir. Aynı zamanda sentetik kökenli maddelerin yan etkilerinin daha fazla olması nedeniyle bitki ve bitkisel ürünlerin kullanılması bu yönden avantajlıdır. Fakat daha detaylı ve özellikle uçucu yağ bileşenlerinin veya ana gruplarının saf olarak elde edilerek mikroorganizmalar üzerinde test edilmesi ile elde edilecek sonuçlar daha da aydınlatıcı olabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Davis, P. H., Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 10 (1988).
2. Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. ve Başer, K. H. C., Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 11 (2000).
3. Grierson, A. J. C. and Yavin, Z., Anthemis L. (Asteraceae). In : P. H. Davis, (ed.), Flora of Turkey and The East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 5 (1975) 174-220.
4. Baytop, T., Türkiyede Bitkilerle Tedavi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, (1999) 187.
5. Sajjadi, S. E. and Mehregan, I., Volatile Constituents of Flowers and Leaves of *Anthemis hyalina*, Chemistry of Natural Compounds, 42, 5 (2006) 531-533.
6. Saroglou, V., Dorizas N., Kypriotakis, Z. and Skaltsa, H. D., Analysis of the Essential Oil Composition of Eight *Anthemis* Species from Greece, Journal of Chromatography A, 1104 (2006) 313-322.
7. Grace, M. H., Chemical Composition and Biological Activity of the Volatiles of *Anthemis melampodina* and *Pluchea dioscoridis*, Phytotherapy Research, 16 (2002) 183-185.
8. Quarenghi, M. V., Tereschuk, M. L., Baigori, L. R. and Abdala L. R., Antimicrobial Activity of Flowers from *Anthemis cotula*, Fitoterapia, 71 (2000) 710-712.
9. Povilaityte, V. and Venskutonis, P. R., Antioxidative Activity of Purple Peril (*Perillafrutescens* L.), Moldavian Dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.), and Roman Chamomile (*Anthemis nobilis* L.) Extracts in Rapeseed Oil, JOACS, 77,9 (2000) 951-956.
10. Uzel, A., Guvensen, A. and Cetin, E., Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Anthemis xylopoda* O. Schwarz from Turkey, Journal of Ethnopharmacology, 95 (2004) 151-154.
11. Kivcak, B., Mert, T., Saglam, H., Ozturk, T., Kurkcuglu, M. and Baser, K. H. C., Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Anthemis wiedemanniana* from Turkey, Chemistry of Natural Compounds, 43,1 (2007) 47-51.

12. Vujisic, Lj., Vuckovic, I., Tesevic, V., Dokovic, D., Ristic, M. S., Janackovic, P. and Milosavljevic, S., Comparative Examination of the Essential Oils of *Anthemis ruthenica* and *A. arvensis* Wild-growing in Serbia, Flavour Fragr. J., 21 (2006) 458–461.
13. Pavlovic, M., Kovacevic, N., Tzakou, O. and Couladis, M., Essential Oil Composition of *Anthemis triumphetti* (L.) DC., Flavour Fragr. J., 21 (2006) 297–299.
14. Baser, K. H. C., Demirci, B., Iscan, G., Hashimoto, T., Demirci, F., Noma, Y. and Asakawa Y., The Essential Oil Constituents and Antimicrobial Activity of *Anthemis aciphylla* Boiss. var. *discoidea* Boiss., Chem. Pharm. Bull. 54, 2 (2006) 222–225.
15. Buruk, K., Somken, A., Aydin, F., and Erturk, M., Antimicrobial Activity of some endemic plants growing in the Eastern Black Sea Region, Turkey, Fitoterapia 77 (2006) 388–391.
16. Vuckovic, I., Vujisic, L., Vajs, V., Tesevic, V., Macura, S., Janackovic, P. and Milosavljevic, S., Sesquiterpene Lactones from the Aerial Parts of *Anthemis arvensis* L. Biochemical Systematics and Ecology, 34 (2006) 303–309.
17. Staneva, J. D., Todorova, M. N. and Evstatieva L. N., Sesquiterpene Lactones as Chemotaxonomic Markers in Genus *Anthemis* Phytochemistry 69 (2008) 607–618.
18. Saroglou, V., Karioti, A., Heilmann, J., Kypriotakis, Z. and Skaltsa, H., Sesquiterpene Lactones from *Anthemis melanolepis*, Helvetica Chimica Acta, 90 (2007) 171–175.
19. Bruno, M., Rosselli, S., Bondi, M. L., Gedris, T. E. and Herz, W., Sesquiterpene Lactones of *Anthemis alpestris*, Biochemical Systematics and Ecology, 30 (2002) 891–895.
20. Celik, S., Rosselli, S., Maggio, A. M., Raccuglia R. A., Uysal I., Kisiel, W. and Bruno M., Sesquiterpene Lactones from *Anthemis wiedemanniana*, Biochemical Systematics and Ecology, 33 (2005) 952–956.
21. Bruno, M., Maggio, A., Arnold, N. A., Diaz, J. G. and Herz, W., Sesquiterpene Lactones from *Anthemis Plutonia*, Phytochemistry, 49, 6 (1998) 1739–1740.
22. Vajs, V., Todorovic, N., Bulatovic, V., Menkovic, N., Macura, S., Juranic, N. and Milosavljevic, S., Further Sesquiterpene Lactones from *Anthemis carpatica*, Phytochemistry, 54 (2000) 625–633.
23. Staneva, J. D., Todorova, M. N. and Evstatieva L. N., New Linear Sesquiterpene Lactones from *Anthemis cotula* L., Biochemical Systematics and Ecology, 33 (2005) 97–102.

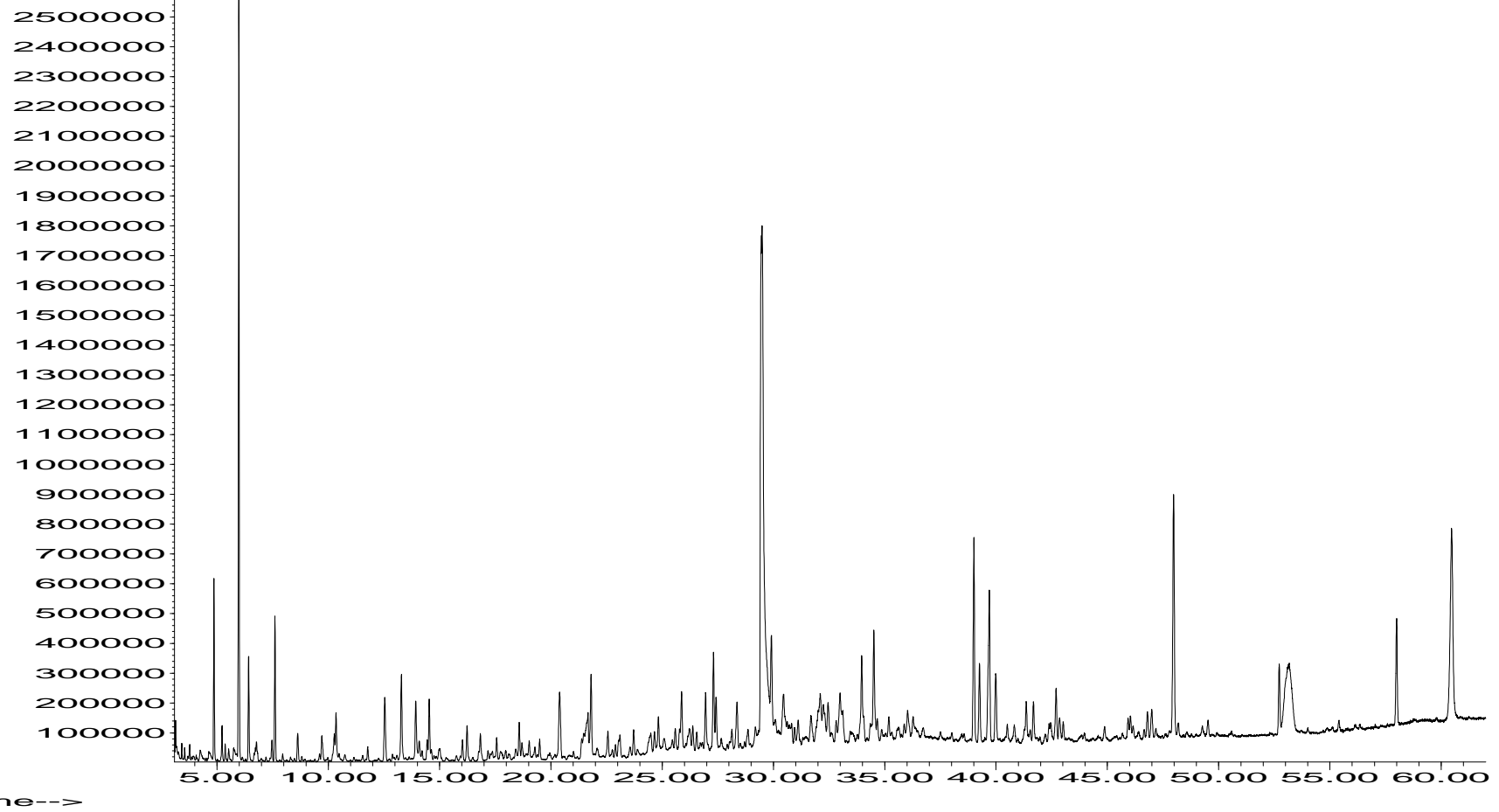
24. Theodori, R., Karioti, A., Rancic, A. and Skaltsa, H., Linear Sesquiterpene Lactones from *Anthemis auriculata* and Their Antibacterial Activity J. Nat. Prod. 69 (2006) 662–664.
25. Adams, R. P., Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography-Mass Spectroscopy, Allured, Carol Stream, IL, USA, (2004).
26. Skaltsa, H. D., Demetzos, C., Lazari, D. and Sokovic, M., Essential Oil Analysis and Antimicrobial Activity of Eight *Stachys* Species from Greece, Phytochemistry, 64 (2003) 743-752.
27. Figueredo, G., Cabassu, P., Chachat, J.C. ve Pasquiler, B., Studies of Mediterranean oregano populations-V. Chemical composition of essential oils of oregano: *Origanum syriacum* L. var. *bevanii* (Holmes) Ietswaart, and *O. syriacum* L. var. *sinaicum* (Boiss.) Ietswaart, and *O. syriacum* L. var. *syriacum* from Lebanon and Israel, Flav. Frag. J., 20 (2005) 164-168.
28. Yılmaz, N., Yaylı, N., Mısır, G., Coşkunçelebi, K., Karaoğlu, Ş. and Yaylı, N., Chemical Composition and Antimicrobial Activities of the Essential Oils of *Vibrunum opulus*, *Vibrinum lantana* and *Vibrunum orientala*, Asian J. Chem., 20 (2008) 3324-3330.
29. Terzioğlu, S., Yaşar, A., Yaylı, N., Yılmaz, N., Karaoğlu, Ş. and Yaylı, N., Antimicrobial Activity and Essential Oil Compositions of Two *Ranunculus* Species from Turkey: *R. Constantinopolitanus* and *R. arvensis*, Asian J. Chem., 20 (2008) 3277-3283.
30. Yaylı, N., Yaşar, A., Güleç, C., Usta, A., Kolaylı, S., Coşkunçelebi, K. ve Karaoğlu, Ş., Composition and antimicrobial activity of essential oils from *Centaurea sessilli* and *Centaurea armena*, Phytochemistry, 66 (2005) 1741-1745.
31. Yaylı, N., Güleç, C., Üçüncü, O., Yaşar, A., Ülker, S., Coşkunçelebi, K. and Terzioğlu, S., Composition and Antimicrobial Activities of Volatile Components of *Minuartia meyeri*, Turk. J Chem., 30 (2006) 71-76.
32. Güleç, C., Yaylı, N., Yeşilgil, P., Terzioğlu, S. and Yaylı, N., Chemical Composition and Antimicrobial Activities of the Essential Oil from the Flowers of *Delphinium formosum*, Asian J. Chem., 19 (2007) 4069-4074.
33. Javidnia, K., Miri, R., Mehregan, I. ve Sadeghpour, H., Volatile constituents of the essential oil of *Nepeta ucrainica* L. ssp. *kopetdaghensis* from Iran, Flav. Frag. J., 20 (2005) 219-221.
34. Ahmad, I., Mehmood, Z. and Mohammed, F., Screening of Some Indian Medicinal Plants for Their Antimicrobial Properties, J Ethnopharmacol., 62 (1998) 183-193.
35. Perez, C., Pauli, M. and Bazerque, P., An Antibiotic Assay by Agar Well Diffusion Method, Acta Bio. Med. Exp., 15 (1990) 113-115.

36. Torođlu, S. ve enet, M., Tedavi Amaılı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar, KSU.Journal of Science and Engineering, 9, 2 (2006) 12-20.
37. <http://www.buzzle.com/articles/aromatherapy-essential-oils.html> Essential Oils. 04.04.2008.
38. http://www.webnaturel.com/index.asp?alt_cat_id=102&cat_id=4&ayrintiid=1853 Holistik Aromaterapi. 04.04.2008.
39. http://www.tempodergisi.com.tr/saglik_cinsellik/00687 Bir Damla Yağdan Bin Şifa. 04.04.2008.
40. <http://www.buzzle.com/articles/aromatherapy-essential-oils-methods-extraction-aromatic.html> Aromatherapy Essential Oils - Methods of Extraction of Aromatic Essential Oils. 04.04.2008.
41. elik, E. ve elik G. Y., Bitki Uucu Yağlarının Antimikrobiyal zellikleri, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 5, 2 (2007) 1-6.
42. <http://www.naturesgift.com/extraction.htm> Carbon Dioxide Extraction. 09.04.08.
43. <http://www.selfgrowth.com/articles/MistyRaeCech1.html> CO₂ and SCO₂. 09.04.08.
44. <http://www.vcampus.uom.ac.mu/upload/public/2003122103128.pdf> Terpenes and Their Derivatives. 10.04.2008.
45. Ikan, R., Natural Products, Academic Press, Inc., San Diego, California, 1991.
46. Gündüz, T., İnrümental Analiz, Gazi Kitabevi, Ankara, 1999.
47. Parker, P. S., Spectroscopy Source Book, Mcgraw-Hill Book Company, New York, 1988.
48. Williams, H. D., Fleming I., Spectroscopic Methods In Organic Chemistry, Mcgraw-Hill Book Company, New York, 1989.
49. http://en.wikipedia.org/wiki/Gas_chromatography-mass_spectrometry Gas Chromatography – Mass Spectrometry, From Wikipedia, The Free Encyclopedia 04.04.08.
50. Douglas, F., GC/MS Analysis <http://www.scientific.org/tutorials/articles/gcms.html> 04.04.08.
51. http://testequipment.globalspec.com/LearnMore/Labware_Test_Measurement/Chromatography_Instruments/GC_Columns About GC Columns. 06.04.2008.
52. <http://www.chromatography-online.org/directory/methdcat-2/page.html> GC/FID, 02.04.2008.

8. EKLER

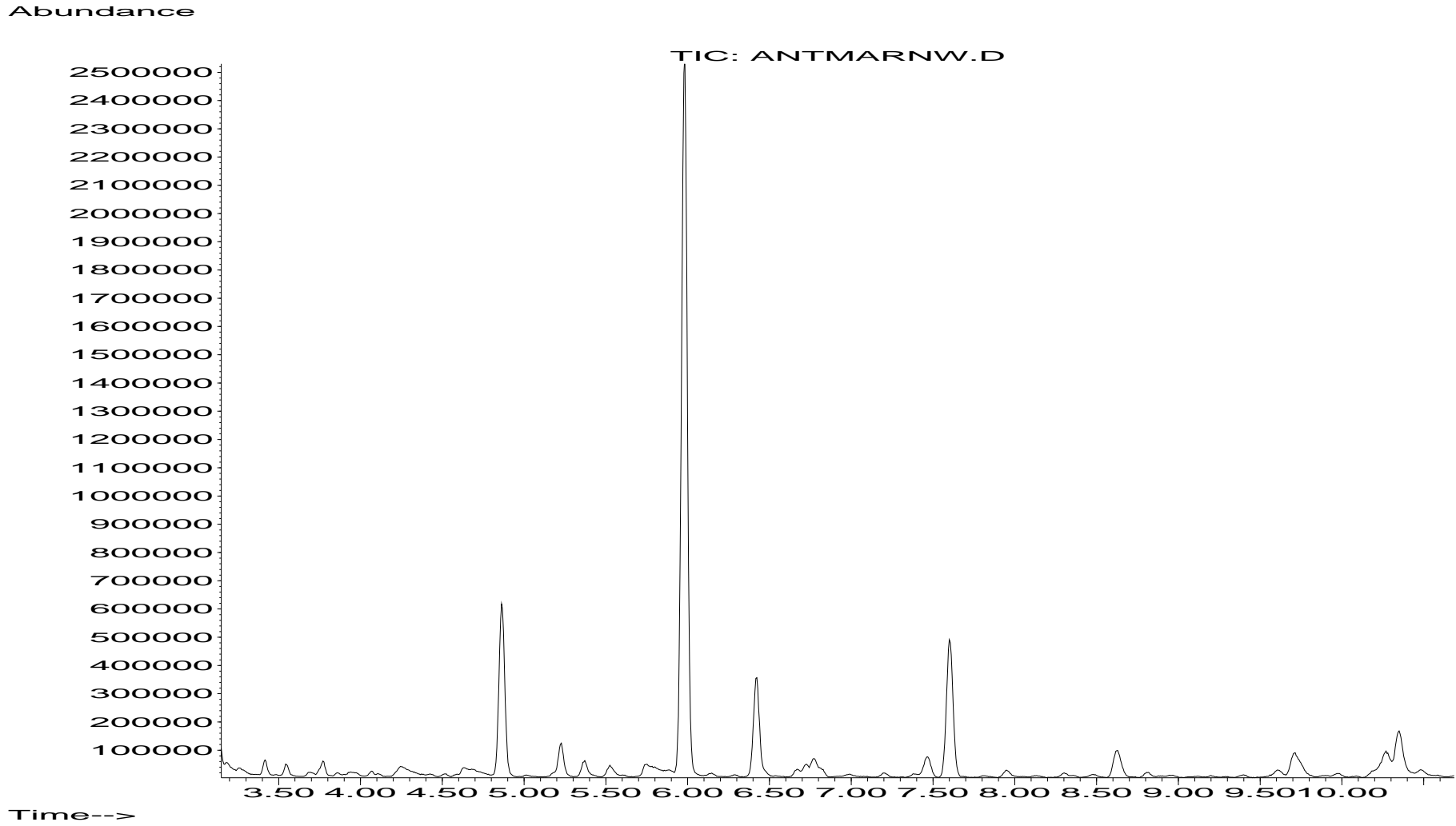
Abundance

TIC: ANTMARNW.D



Time-->

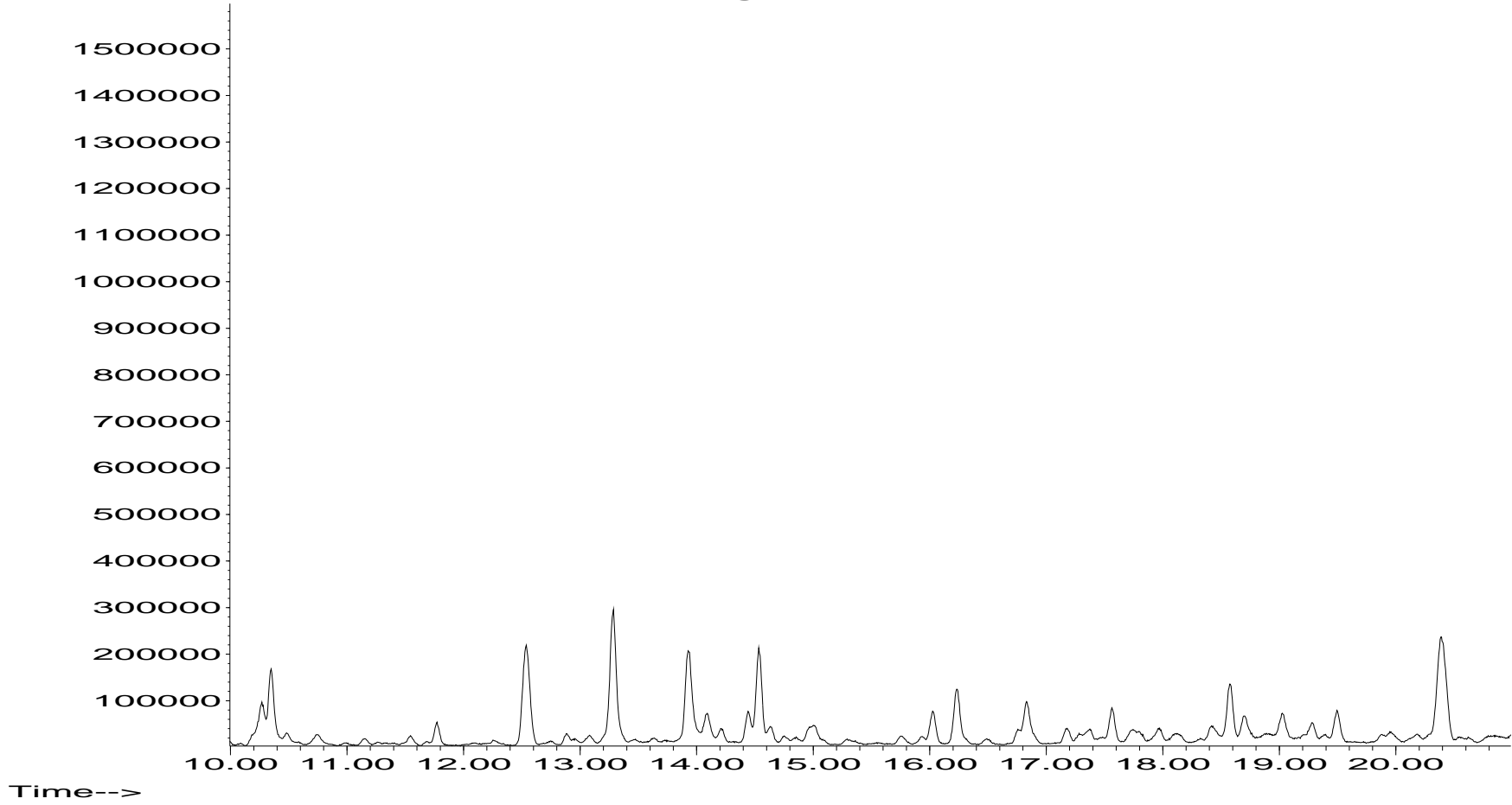
Ek Şekil 1. *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisinin GC spektrumu



Ek Şekil 2. *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisinin RT 0-10 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

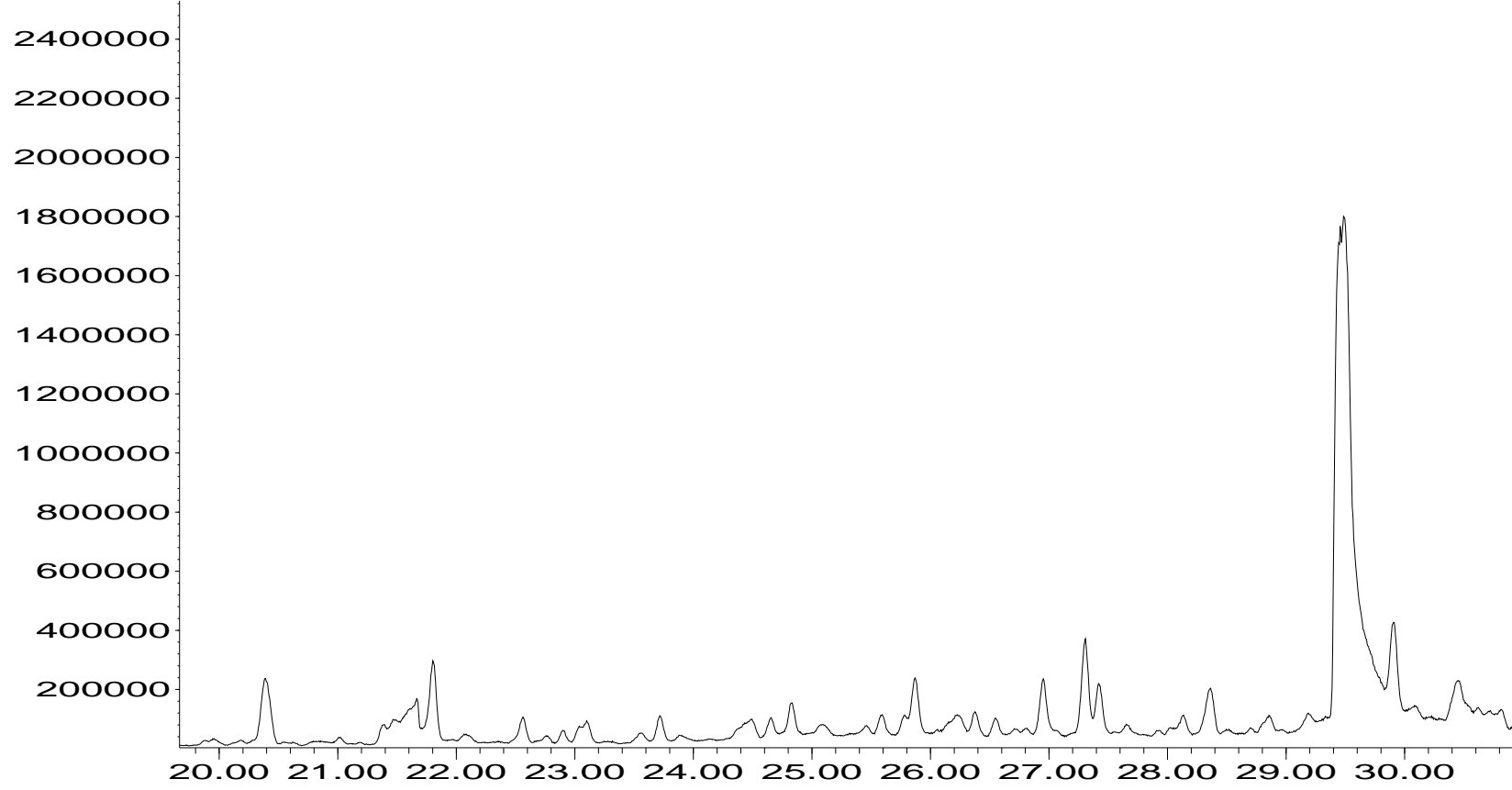
TIC: ANTMARNW.D



Ek Şekil 3. *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisinin RT 10-20 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTMARNW.D

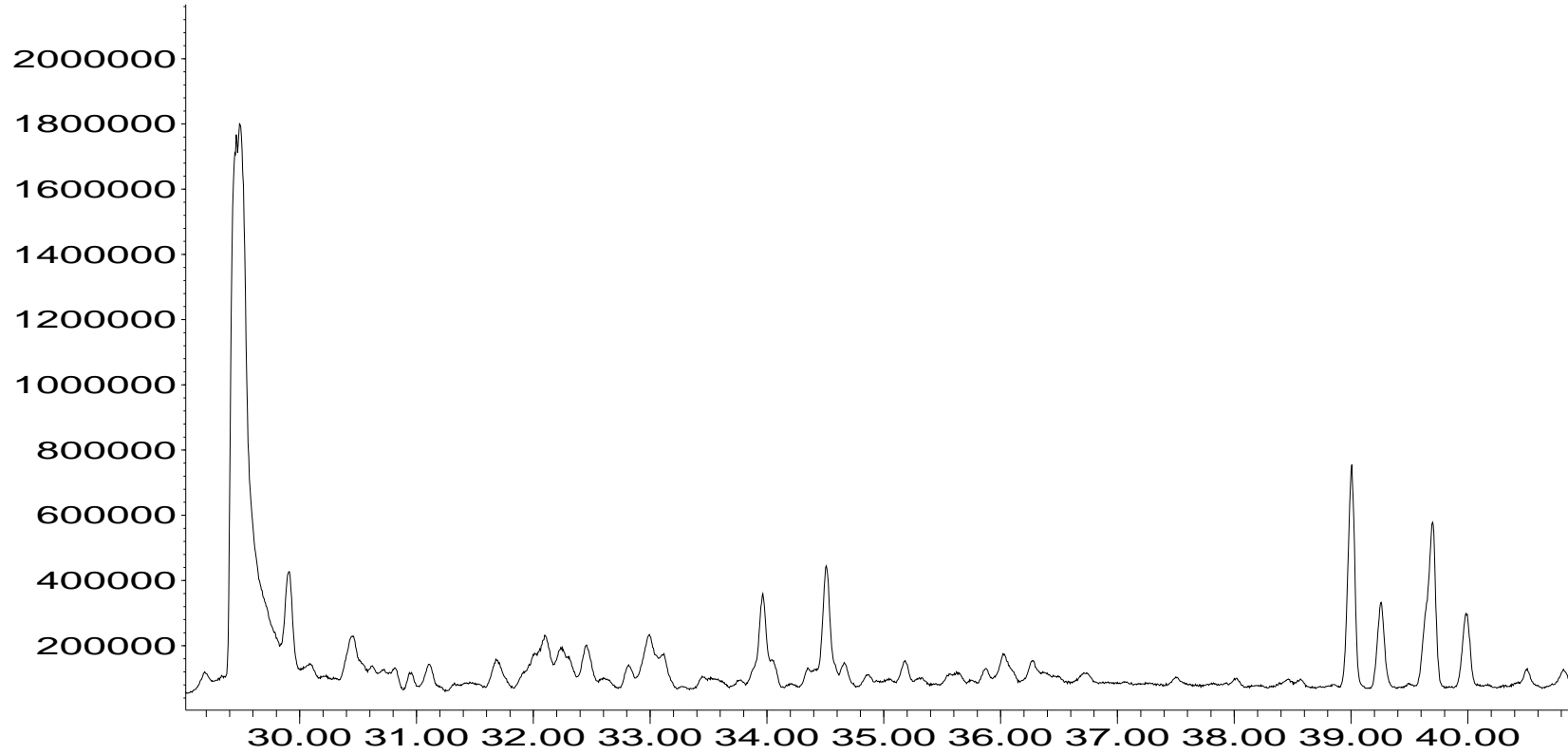


Time-->

Ek Şekil 4. *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisinin RT 20-30 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTMARNW.D

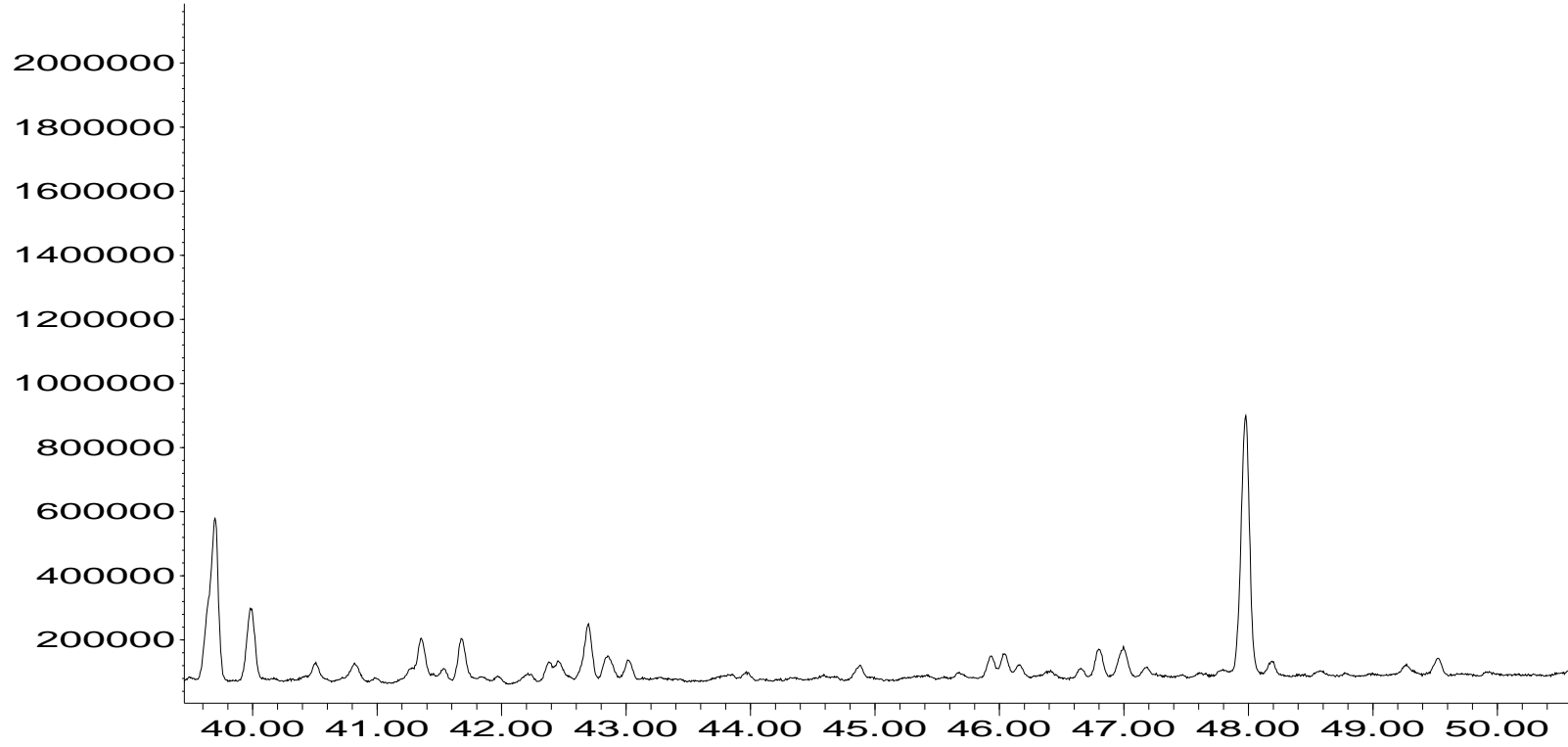


Time-->

Ek Şekil 5. *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisinin RT 30-40 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTMARNW.D

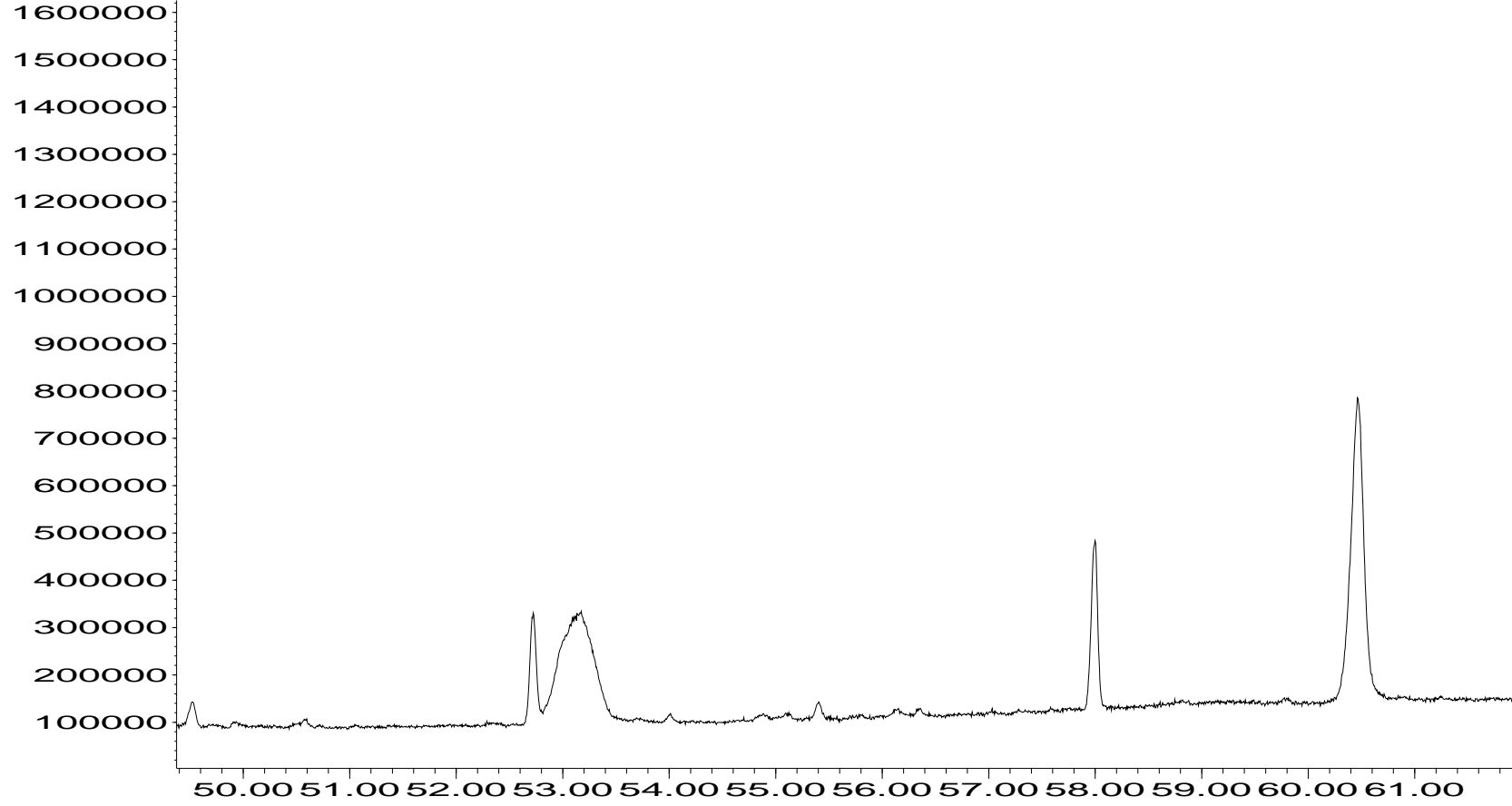


Time-->

Ek Şekil 6. *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisinin RT 40-50 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTMARNW.D

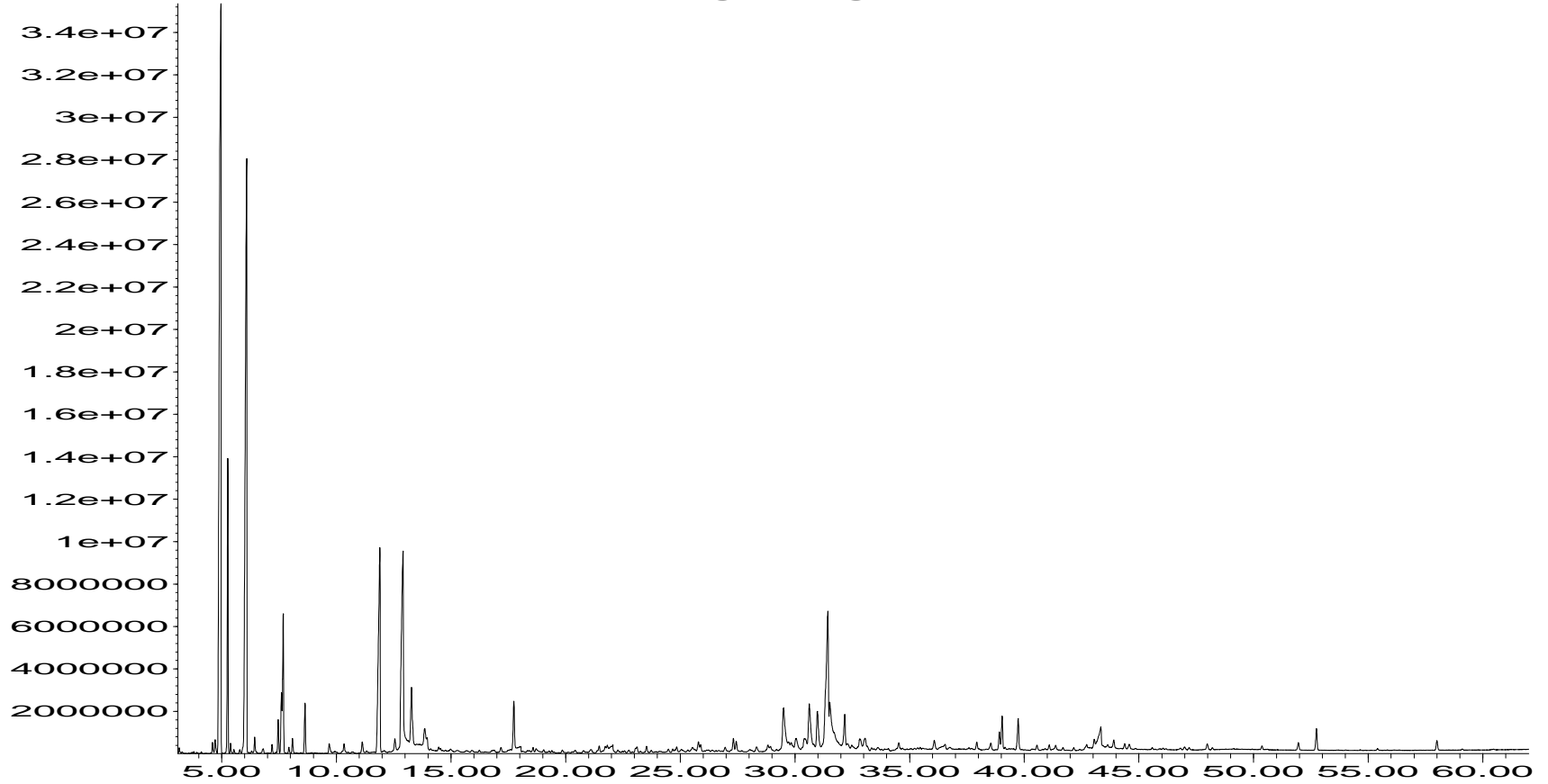


Time-->

Ek Şekil 7. *Anthemis marschalliana* ssp. *pectinata* bitkisinin RT 50-62 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTCRENW.D

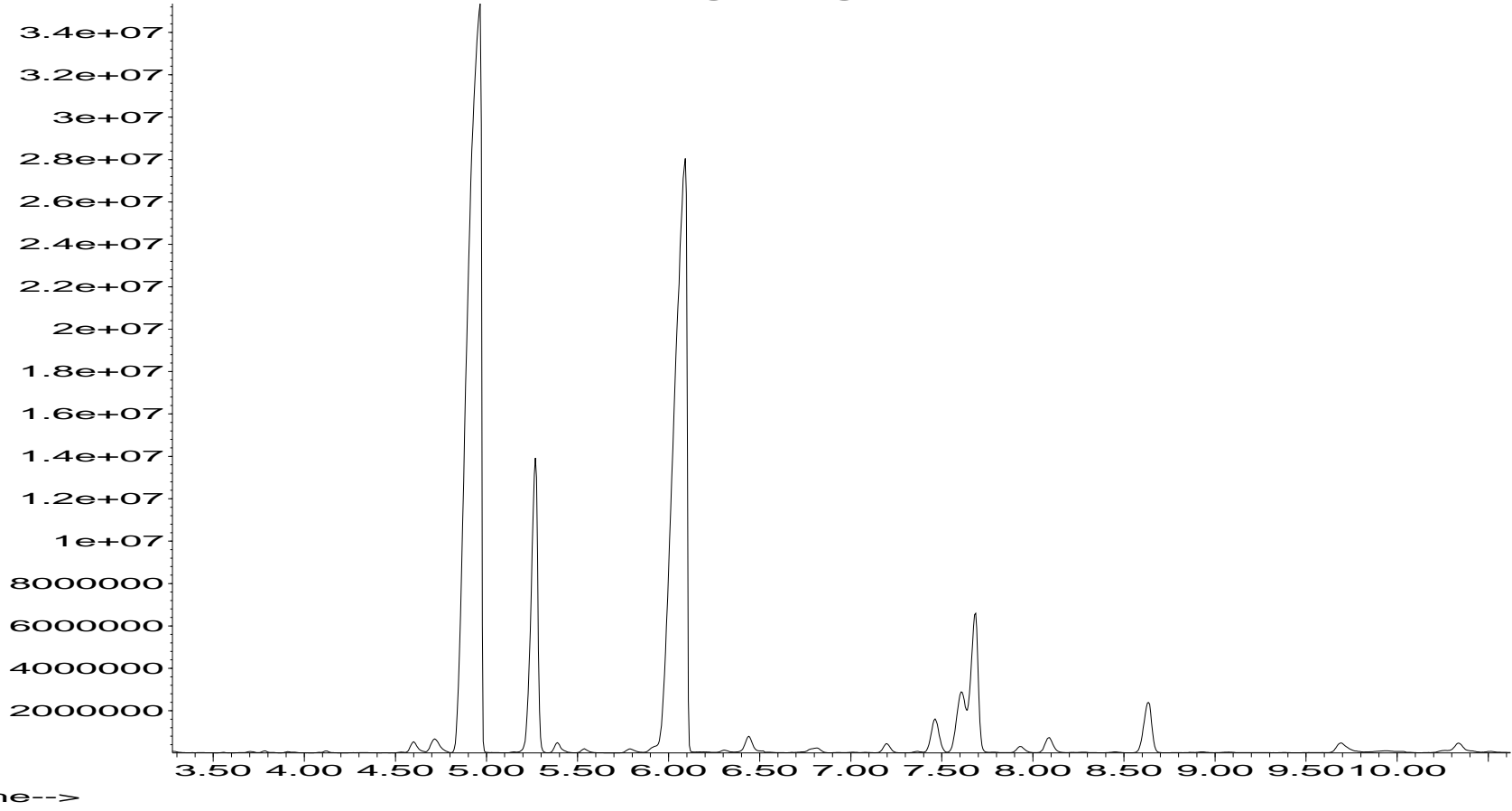


Time-->

Ek Şekil 8. *Anthemis cretica* ssp. *argaea* bitkisinin GC spektrumu

Abundance

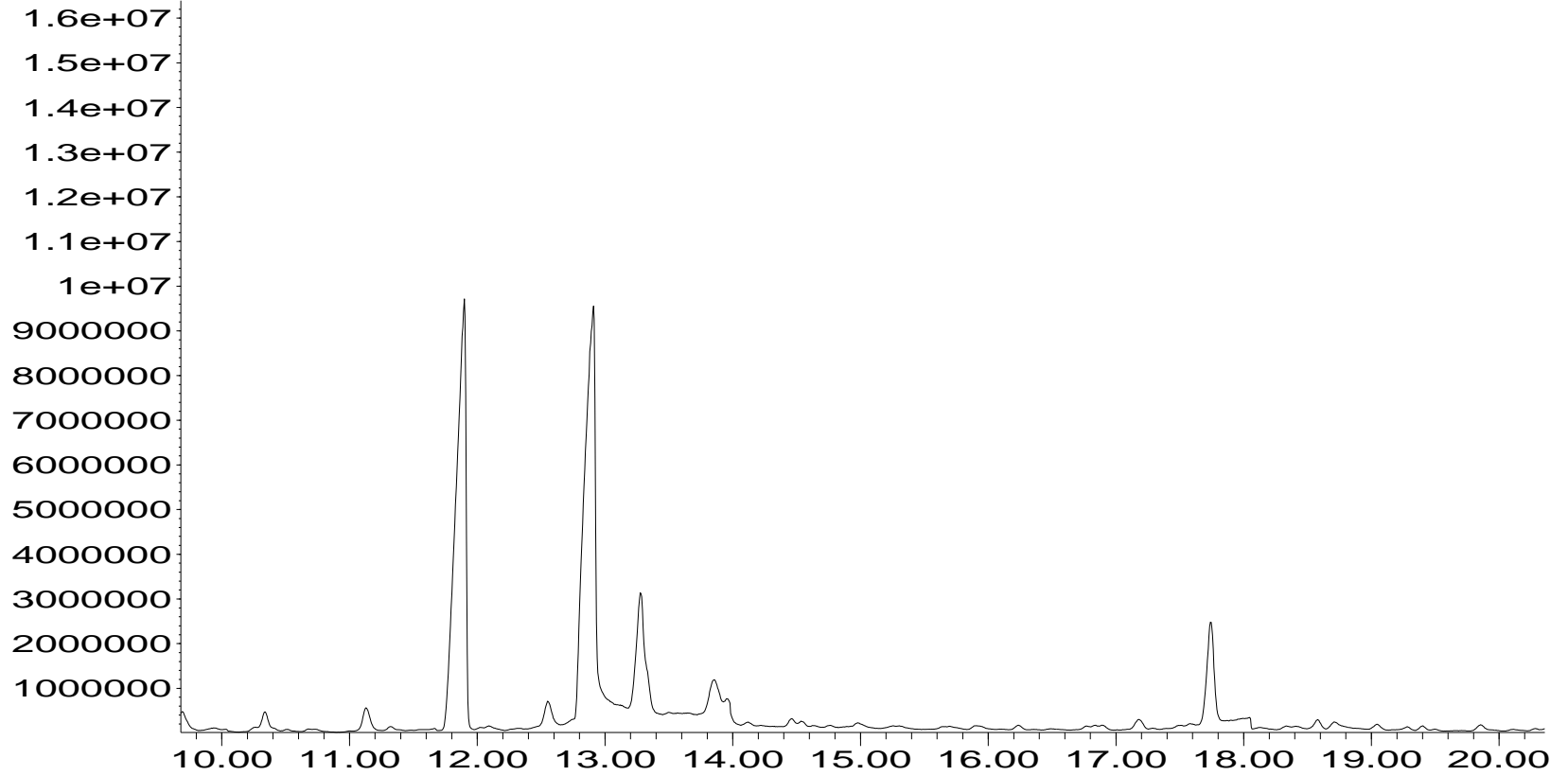
TIC: ANTCRENW.D



Ek Şekil 9. *Anthemis cretica* ssp. *argaea* bitkisinin RT 0-10 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTCRENW.D

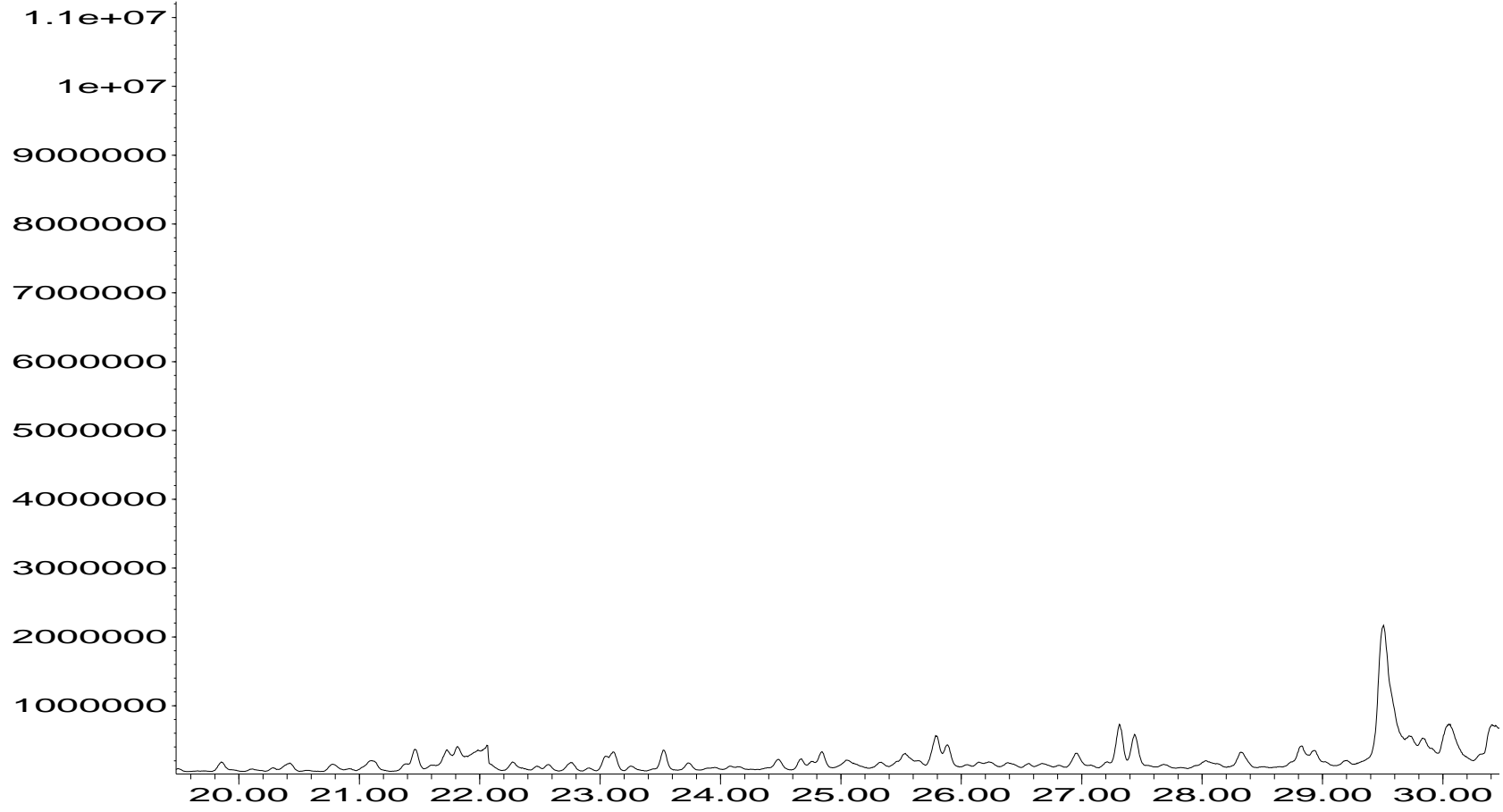


Time-->

Ek Şekil 10. *Anthemis cretica* ssp. *argaea* bitkisinin RT 10-20 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTCRENW.D

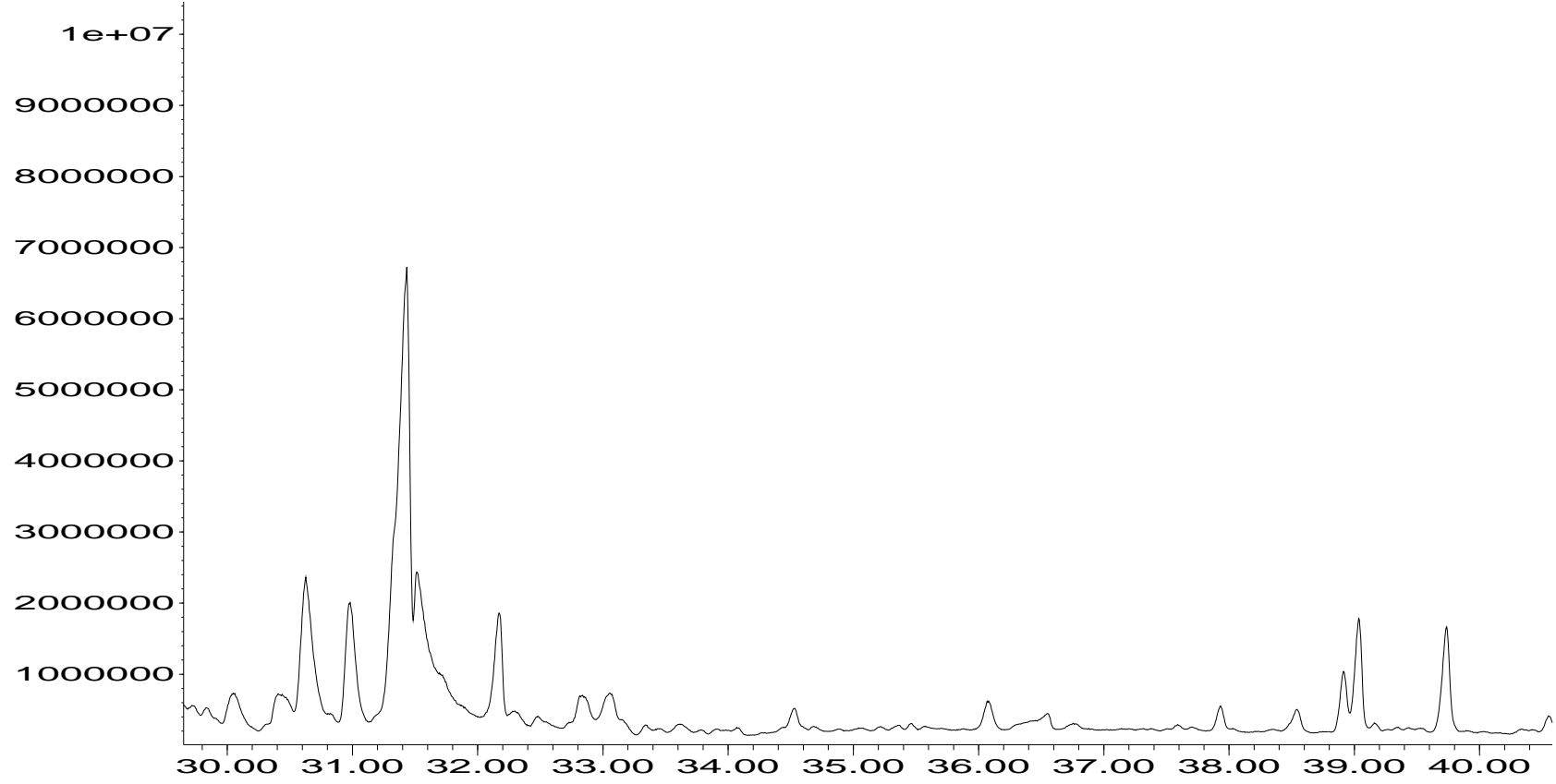


Time-->

Ek Şekil 11. *Anthemis cretica* ssp. *argaea* bitkisinin RT 20-30 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTCRENW.D

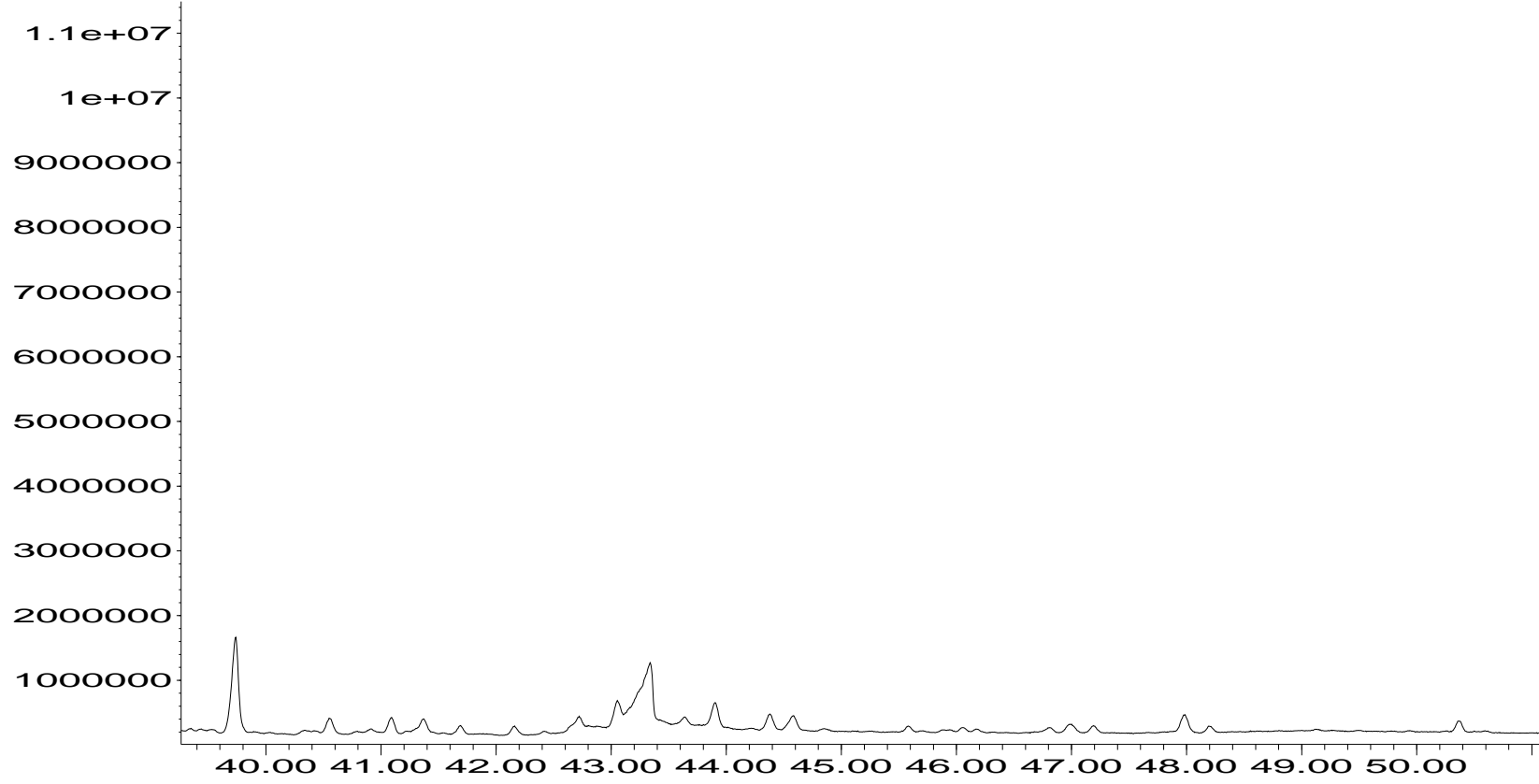


Time-->

Ek Şekil 12. *Anthemis cretica* ssp. *argaea* bitkisinin RT 30-40 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTCRENW.D

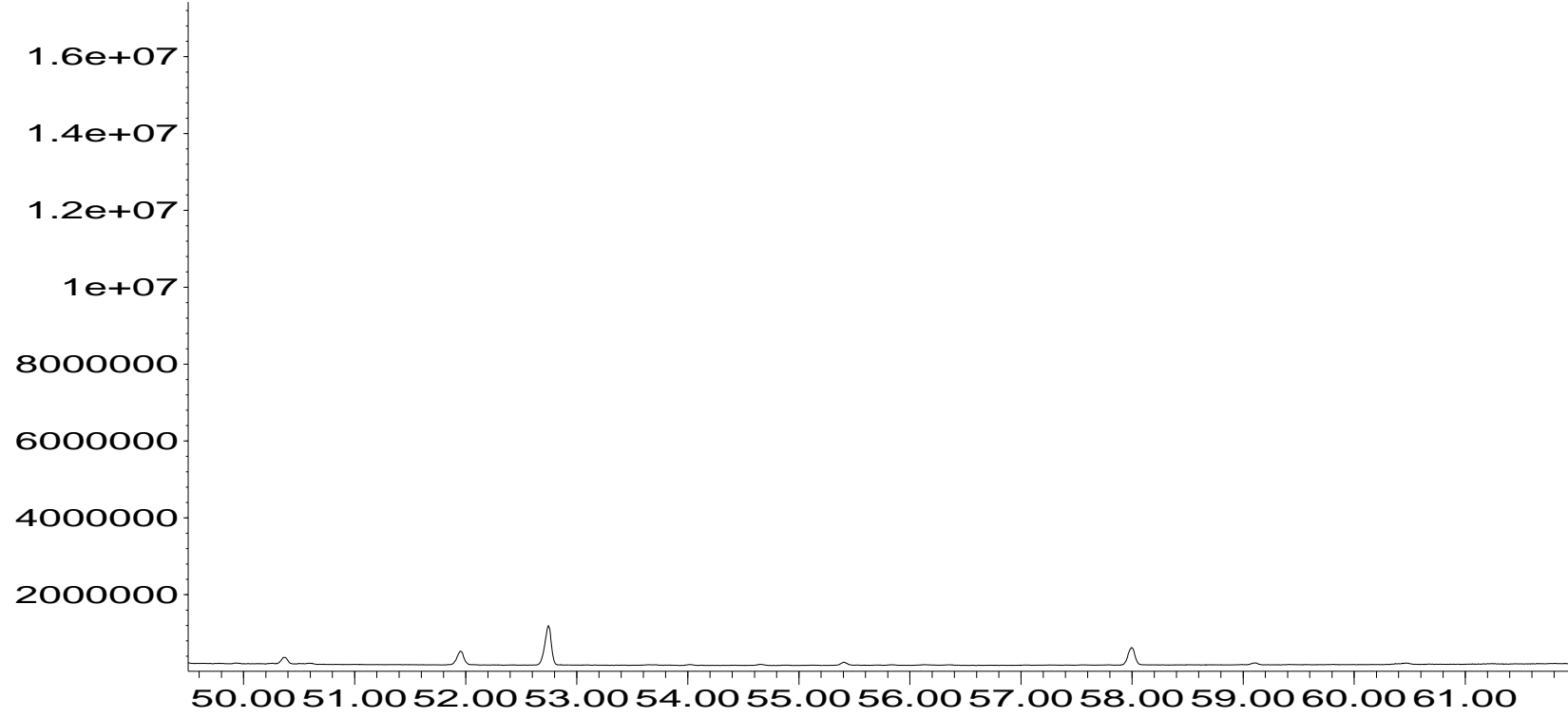


Time-->

Ek Şekil 13. *Anthemis cretica ssp. argaea* bitkisinin RT 40-50 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

Abundance

TIC: ANTCRENW.D



Time-->

Ek Şekil 14. *Anthemis cretica* ssp. *argaea* bitkisinin RT 50-62 arasındaki genişletilmiş GC spektrumu

ÖZGEÇMİŞ

29.11.1979 yılında Gaziantep ilinde doğdu. İlk ve orta öğrenimini Gaziantep Gaziyurt İlköğretim Okulu' nda, lise öğrenimini Gaziantep Bayraktar Lisesi' nde tamamladı. 1999 yılında K.T.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünü kazandı. 1999–2000 eğitim öğretim yılında hazırlık sınıfı okuduktan sonra kimya eğitimine başladı. 2004 yılının Haziran ayında K.T.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü' nden mezun oldu. 2005 yılı Mayıs ayında askerlik görevini tamamlayarak, 2005–2006 öğretim yılı güz döneminde K.T.Ü. Kimya Bölümü Organik Kimya Ana Bilim Dalı' nda yüksek lisans öğrenimine başladı. 2005 yılının Kasım ayında Santa Farma İlaç Firması' nda tıbbi satış temsilcisi olarak göreve başladı. Halen K.T.Ü. Kimya Bölümü' nde yüksek lisansını yapmakta ve görevine devam etmektedir. Yabancı dili İngilizce olup, evlidir.