



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CİVANPERÇEMİ TÜRLEERİNDEN “*ACHILLEA
BIEBERSTEINII*” NİN İÇERDİĞİ FLAVONOİDLERİN
EKSTRAKSİYONU VE HPLC İLE YANYANA ANALİZİ İÇİN
YÖNTEM GELİŞTİRME VE ELYAF BOYAMADAKİ
DAVRANIŞININ İNCELENMESİ**

DUYGU SUSUZ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Emre DÖLEN

İSTANBUL-2010

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Yüksek Lisans

Anabilim Dalı : Analitik Kimya

Tez Sahibi : Duygu Susuz

Tez Başlığı : Civanperçemi türlerinden "*Achillea biebersteinii*" nin içerdiği flavonoidlerin ekstraksiyonu ve HPLC ile yanyana analizi için yöntem geliştirme ve elyaf boyamadaki davranışının incelenmesi

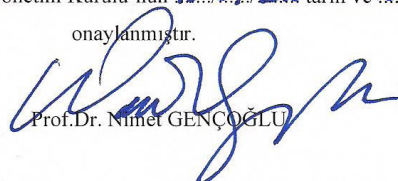
Sınav Yeri : Analitik Kimya ABD

Sınav Tarihi : 18.06.2010

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Emre DÖLEN (Danışman)	M.Ü. Eczacılık Fakültesi	
Prof. Dr. Recep KARADAĞ	M.Ü. Güzel Sanatlar Fakültesi	
Yrd. Doç. Dr. Gülbin ERDOĞAN	M.Ü. Eczacılık Fakültesi	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü yönetim Kurulu'nun 15.07.2010 tarih ve 16. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Nihet GENÇOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın hazırlanmasında ve tüm aşamalarında bilimsel bilgi, beceri ve deneyimleri ile her türlü desteği büyük bir özveri ile gösteren ve bana çok emeği geçen saygıdeğer hocam sayın Prof. Dr. Emre DÖLEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu zaman zarfında her türlü desteğinden ötürü başta sayın Prof. Dr. Güler YALÇIN olmak üzere Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Bölümündeki tüm hocalarıma ve bölümdeki bütün araştırma görevlilerine yardım ve katkılarından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Değerli katkılarından dolayı Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Türkan YURDUN'a ve Merkezi Araştırma Birimi sorumlusu sayın Öğr. Gör. F.Nuray YÜKTAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Özellikle çalışmamla ilgili kaynak edinmemde ve standart maddelerin temininde yardımlarını benden esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Ufuk KOLAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca bana her zaman destek veren aileme sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR	vii
SİMGELER	viii
ŞEKİLLER	ix
TABLolar	xv
ÖZET	1
SUMMARY	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ	3
1.1. Giriş	3
1.2. Amaç	4
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Pigmentler ve Doğal Boyarmaddeler	5
2.1.1. Pigmentler	5
2.1.2. Doğal boyarmaddeler	5
2.2. Doğal Boyarmaddelerin Sınıflandırılması	7
2.3. Biyolojik Kaynağına Göre Doğal Boyarmaddelerin Sınıflandırılması	7
2.3.1. Bitkisel kökenli boyarmaddeler	7
2.3.2. Hayvansal kökenli boyarmaddeler	8
2.4. Kimyasal Yapıya Göre Doğal Boyarmaddelerin Sınıflandırılması	9
2.4.1. Kinonlar	10
2.4.2. İndigoidler	11
2.5. Flavonoidler	12
2.5.1. Flavonoidlerin yapısal özellikleri	13
2.5.2. Flavonoidlerin sınıflandırılması	15
2.6. Asteraceae	16
2.6.1. Civanperçemi türleri (<i>Achillea</i> sp.)	17

2.6.2.	<i>Achillea biebersteinii</i> Afan.	21
2.7.	<i>Achillea biebersteinii</i> Afan. Bitkisinin İçerdiği Boyarmaddeler ve Özellikleri	22
2.7.1.	Quercetin	22
2.7.2.	Apigenin	23
2.7.3.	Patulitrin	24
2.7.4.	Quercetagenin-3,6-dimetil eter (Axillarin)	24
2.7.5.	Kamferol-3-O- galaktoz	25
2.7.6.	Luteolin-7-O-galaktoz	25
2.7.7.	4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz	25
2.8.	Renk ve Yapı İlişkisi	26
2.9.	Koordinasyon Bileşikleri	26
2.9.1.	Koordinasyon bileşiklerinin kararlılığı	27
2.9.2.	Kararlılık sabitleri	28
2.10.	Mordanlar	30
2.11.	Boyarmaddelerde Renk Ölçümü	30
2.11.1.	Renk uzayları	31
2.11.2.	CIE L*a*b* Renk uzayı	32
2.12.	Boyarmaddelerin Tanınması ve Analizleri	33
2.12.1.	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)	35
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	38
3.1.	Araştırma Araçları ve Kimyasalları	38
3.1.1.	Çalışmada kullanılan cihazlar	38
3.1.2.	Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler	39
4.	BULGULAR	40
4.1.	Standart Maddelerin HPLC ile Analizi	40
4.2.	Sarı Civanperçemi Bitkisinin Ekstraksiyonu	44
4.2.1.	Bitkinin öğütülmüş çiçek kısmının metanolün % 100; 90; 70 (v/v) oranları ile ekstraksiyonunun HPLC sonuçları	45
4.3.	Sarı Civanperçemi Bitkisinin Hidrolizi	53
4.4.	Pigment Oluşumları	58

4.4.1.	Alüminyum-sarı civanperçemi pigmentinin HPLC ile analizi	58
4.4.2.	Kalay-sarı civanperçemi pigmentinin HPLC ile analizi	59
4.5.	Sarı Civanperçemi Bitkisi ile Mordanlı Yün Boyama	61
4.5.1.	Demir ile mordanlı yün boyama	61
4.5.2.	Şap ile mordanlı yün boyama	61
4.5.3.	Kalay ile mordanlı yün boyama	61
4.6.	Mordanlanmış Yünlerin Boyama İşlemi	61
4.7.	Boyanmış Yünlerin HPLC ile Analizi	62
4.8.	Doğal Boyarmaddelerin CIELAB Renk Uzay Sistemi ile Parlaklık ve Renk Değerleri	67
5.	TARTIŞMA ve SONUÇ	68
6.	KAYNAKLAR	72
7.	ÖZGEÇMİŞ	77

KISALTMALAR

ASE	: Accelerated Solvent Extractor
İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
MÖ	: Milattan Önce
UV-Vis	: Ultraviyole-Görünür alan
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
RP-HPLC	: Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography
GC-MS	: Gas Chromatography-Mass Spectrometry
CIE	: International Commision on Illumination
CAS	: Chemical Abstracts Service
C.I.	: Colour Index
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
A.Z.	: Alıkonma zamanı
TFA	: Trifloroasetik asit
DAD	: Diode Array Detector

SİMGELER

$\lambda_{\max}$	: Maksimum dalga boyu
UV	: Ultraviyole
IR	: İnfrared
%	: Yüzde
β	: Beta
°C	: Santigrad derece
K	: Kelvin derece
K_a	: Toplam asit sabiti
K	: Toplam oluşum sabiti
K_n	: Son dissosiye olan protonun dissosiasyon sabiti
K_i	: Basamak oluşum sabiti
B_i	: Toplam oluşum sabiti
$c\beta_n$	: Toplam kararlılık sabiti
M	: Molarite
g	: Gram
mg	: Miligram
μL	: Mikrolitre
mL	: Mililitre
m	: Metre
cm	: Santimetre
mm	: Milimetre
nm	: Nanometre
dak	: Dakika
v	: Hacim
L^*	: Parlaklık değeri
a^*	: Kırmızı/yeşil değeri
b^*	: Sarı/mavi değeri
E	: Enerji
ν	: Işığın frekansı

ŞEKİLLER

	<u>SAYFA NO</u>
Şekil 2.1.	Kinonların sınıflandırılması 10
Şekil 2.2.	İndigonun oluşumu 12
Şekil 2.3.	Flavonoid grubunun genel yapısı 14
Şekil 2.4.	Flavonoid çeşitleri ve genel yapıları 16
Şekil 2.5.	Civanperçemi bitkisinin Türkiye’deki dağılımı 18
Şekil 2.6.	KAl(SO ₄) ₂ .12H ₂ O mordan kullanılarak civanperçemi ile boyanmış yün 18
Şekil 2.7.	CuSO ₄ .5H ₂ O mordan kullanılarak civanperçemi ile boyanmış yün 19
Şekil 2.8.	19. yüzyılın ikinci yarısında civanperçemi ile boyanmış halı 19
Şekil 2.9.	Sarı civanperçemi bitkisinin genel görünümü 21
Şekil 2.10.	Quercetinin yapısı 22
Şekil 2.11.	Apigeninin yapısı 23
Şekil 2.12.	Patulitrinin yapısı 24
Şekil 2.13.	Axillarin (Quercetağetin-3,6-dimetil eter) yapısı 24
Şekil 2.14.	Kamferol-3-O-galaktoz yapısı 25
Şekil 2.15.	Luteolin-7-O-galaktoz yapısı 25
Şekil 2.16.	4’6-dihidroksi-3’-metoksiflavon-7-O-glikoz yapısı 25
Şekil 2.17.	Renk uzayları 32
Şekil 2.18.	CIELAB renk uzayı 33
Şekil 2.19.	HPLC cihazının ana bileşenleri 36
Şekil 4.1	Luteolin-7-galaktoz standartının kromatogramı 40
Şekil 4.2.	Luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu 40
Şekil 4.3:	4’6-dihidroksi-3’-metoksiflavon-7-O-glikoz standartının kromatogramı 41
Şekil 4.4:	4’6-dihidroksi-3’-metoksiflavon-7-O-glikoz standartının spektrumu 41
Şekil 4.5:	Quercetağetin-3,6-dimetileter standartının kromatogramı 41
Şekil 4.6:	Quercetağetin-3,6-dimetileter standartının spektrumu 42
Şekil 4.7:	Patulitrin standartının kromatogramı 42
Şekil 4.8:	Patulitrin standartının spektrumu 42

Şekil 4.9:	Quercetin standartının kromatogramı	43
Şekil 4.10:	Quercetin standartının spektrumu	43
Şekil 4.11:	Kamferol-3-O-galaktozit standartının kromatogramı	43
Şekil 4.12:	Kamferol-3-O-galaktozit standartının spektrumu	44
Şekil 4.13:	Apigenin standartının kromatogramı	44
Şekil 4.14:	Apigenin standartının spektrumu	44
Şekil 4.15:	Bitkinin saf MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı	45
Şekil 4.16:	Saf MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 25.651 olan pikin spektrumu ile quercetagenin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	45
Şekil 4.17:	Saf MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 27.484 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	46
Şekil 4.18:	Saf MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.884 olan pikin spektrumu ile patulitrin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	46
Şekil 4.19:	Bitkinin % 90 MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı	47
Şekil 4.20:	% 90 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 15.399 olan pikin spektrumu ile 4'-dihidroksi-3'-metoksiflavon 7-O-glikoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	47
Şekil 4.21:	% 90 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.899 olan pikin spektrumu ile patulitrin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	47
Şekil 4.22:	% 90 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 26.713 olan pikin spektrumu ile quercetagenin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	48
Şekil 4.23:	% 90 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 18.393 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	48
Şekil 4.24:	Bitkinin % 70 MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı	49
Şekil 4.25:	% 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.769 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O-galaktoz standartına	

	ait spektrumun birlikte gösterimi	49
Şekil 4.26:	Bitkinin % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 27.503 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	49
Şekil 4.27:	Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı	50
Şekil 4.28:	Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 18.284 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	50
Şekil 4.29:	Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 16.570 olan pikin spektrumu ile patulitrin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	51
Şekil 4.30:	Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 25.630 olan pikin spektrumu ile quercetagen-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	51
Şekil 4.31:	Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 27.470 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	52
Şekil 4.32:	Bitkinin gövdesinin % 70 MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı	52
Şekil 4.33:	Bitkinin gövdesinin % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.783 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	54
Şekil 4.34:	3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktının kromatogramı	54

Şekil 4.35:	3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktındaki A.Z.: 24.985 olan pikin spektrumu ile quercetin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	54
Şekil 4.36:	3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktındaki A.Z.: 27.538 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	54
Şekil 4.37:	3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.018 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O galaktosid standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	55
Şekil 4.38:	3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktındaki A.Z.: 25.725 olan pikin spektrumu ile quercetagenin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	55
Şekil 4.39:	1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitkinin çiçek kısmının ekstraktının kromatogramı	56
Şekil 4.40:	1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki çiçeği ekstraktındaki A.Z.: 25.658 olan pikin spektrumu ile quercetagenin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	56
Şekil 4.41:	1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki çiçeği ekstraktındaki A.Z.: 27.498 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	56
Şekil 4.42:	1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitkinin tamamının ekstraktının kromatogramı	57
Şekil 4.43:	1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki tamamının ekstraktındaki A.Z.: 24.776 olan pikin spektrumu ile quercetagenin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	57
Şekil 4.44:	1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki tamamının ekstraktındaki A.Z.: 27.496 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	58
Şekil 4.45:	Al kompleksinin kromatogramı	58

Şekil 4.46:	Alüminyum kompleksinin A.Z.: 24.871 olan pikin spektrumu ile quercetagen-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	59
Şekil 4.47:	Sn kompleksinin kromatogramı	59
Şekil 4.48:	Kalay kompleksinin A.Z.: 28.054 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	60
Şekil 4.49:	Kalay kompleksinin A.Z.: 17.107 olan pikin spektrumu ile 4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	60
Şekil 4.50:	Kalay kompleksinin A.Z.: 26.787 olan pikin spektrumu ile Apigenin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	61
Şekil 4.51:	Şap ile boyanmış yünün kromatogramı (bitkinin tamamı)	62
Şekil 4.52:	Şap ile boyanmış yünün A.Z.: 27.529 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	62
Şekil 4.53:	Şap ile boyanmış bitkinin çiçeğinin kromatogramı	63
Şekil 4.54:	Şap ile boyanmış yünün A.Z.: 24.906 olan pikin spektrumu ile quercetagen-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	63
Şekil 4.55:	Kalay ile boyanmış bitkinin çiçeğinin kromatogramı	64
Şekil 4.56:	Kalay ile boyanmış yünün çiçek A.Z.: 27.560 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	64
Şekil 4.57:	Kalay ile boyanmış bitkinin bütününe kromatogramı.	64
Şekil 4.58:	Kalay ile boyanmış yünün tamamı A.Z.: 25.720 olan pikin spektrumu ile quercetagen-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	65

Şekil 4.59:	Kalay ile boyanmış yünün tamamı A.Z.: 27.573 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	65
Şekil 4.60:	Demir ile boyanmış bitkinin çiçeğinin kromatogramı.	66
Şekil 4.61:	Demir ile boyanmış yünün çiçeği A.Z.: 27.556 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi	66
Şekil 4.62:	Demir ile boyanmış bitkinin bütününün kromatogramı	66
Şekil 4.63.	Şap ile mordanlanıp bitki ile boyanan yünün CIE Lab Grafiği	67

TABLÖLAR

Tablo 2.1:	Flavonoidlerin UV spektroskopisindeki absorpsiyon bantları	15
Tablo 2.2:	Civanperçemi bitkisinin mordanlanma ve boyama reçetesi	18
Tablo 2.3:	Elektromanyetik spektrumun görünür bölgesinde cisimlerin absorpladığı ve yansıttığı renkler	26
Tablo 2.4:	Renklerin uzaklıkları	33
Tablo 3.1:	Gradyent elüsyon değerleri	39
Tablo 4.2:	Farklı yüzdelerdeki $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ (şap) çözeltileri ile mordanlanıp, sarı civanperçemi bitkisi ile boyanmış yünlerin ölçülen L^* , a^* ve b^* değerleri	67
Tablo 4.3:	Farklı mordan çözeltileri ile mordanlanıp, sarı civanperçemi bitkisi ile boyanmış yünlerin ölçülen L^* , a^* ve b^* değerleri	67
Tablo 5.1:	Bitkinin farklı kısımlarında bulunan flavonoidler	70

ÖZET

Bu çalışmada sarı civanperçemi (*Achillea biebersteinii* Afan.) bitkisinin başta çiçeği olmak üzere yaprakları ve gövdesinin içerdiği doğal boyarmaddeler ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile kalitatif olarak analiz edildi. Bitkinin çiçek, yaprak ve gövdesinde bulunan bu boyarmaddeler metanolün farklı oranları ile hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu (ASE) cihazında ekstrakte edildi. Yapılan analizler sonucunda *Achillea biebersteinii* Afan. bitkisinin içerdiği boyarmaddeler birer flavonoid olan, quercetagen-3,6-dimetil eter, luteolin-7-galaktosit, patulitrin, quercetin, kamferol-3-O-galaktosit, 4'-dihidroksi-3'-metoksi flavon-7-O-glikoz ve apigenin olarak saptandı. Bu bileşenlerden quercetagen-3,6-dimetil eter, luteolin-7-galaktosit, kamferol-3-O-galaktosit, 4'-dihidroksi-3'-metoksi flavon-7-O-glikoz ve apigenin maddeleri bu bitki üzerinde daha önce yapılan çalışmalarda saptanmamıştır. Ayrıca *Achillea biebersteinii* Afan. bitkisi ile mordanlı yün boyama yapıldı. Bunun için alüminyum, kalay ve demir ile mordanlanmış yünler *Achillea biebersteinii* Afan. ile boyanıp, daha sonra yün üzerinden çözünerek boyarmadde analizleri yapıldı ve bitkinin içerdiği boyarmaddeler ile karşılaştırıldı. Bu çalışmada *Achillea biebersteinii* Afan.'nın içerdiği flavonoidlerin potansiyometrik titrasyonlara dayanılarak belirli pH'larda alüminyum(III) ve kalay(II) ile oluşturduğu kompleksler pigment olarak elde edildi. Oluşan pigmentlerin ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi (RP-HPLC) ile analizleri yapıldı. Bitkideki hangi boyarmaddelerin metallerle pigment oluşturduğu standartlarla karşılaştırılarak tayin edildi. Son olarak; CIEL*a*b* renk ölçüm sistemi kullanılarak farklı mordanlar ile kompleksleştirilip, sarı civanperçemi bitkisi ile boyanan yünün renk ve açıklık-koyuluk değerleri tayin edildi.

Anahtar sözcükler: *Achillea biebersteinii* Afan., boyarmadde, pigment, flavonoidler, HPLC.

SUMMARY

Development of an HPLC Method for Flavonoids in *Achillea biebersteinii* Afan. and Investigation of Wool Dyeing

In this study, *Achillea biebersteinii* Afan. plant's flower, leaf and stem were analyzed qualitatively by reverse phase high performance liquid chromatography because of include flavonoids. First of all it was extracted with different rates of methanol with Accelerated Solvent Extractor. As a result of the analysis of RP-HPLC, *Achillea biebersteinii* Afan. plant consist of quercetin, kaempferol-3-O-galactoside, 4'-6-dihydroxy-3'-methoxy-flavon-7-O-glycoside, quercetagenin-3,6-dimethyl ether, luteolin-7-galactoside, patulitrin and apigenin. In previous studies with this plant, kaempferol-3-O-galactoside, quercetagenin-3,6-dimethyl ether, 4'-6-dihydroxy-3'-methoxy-flavon-7-O-glycoside, luteolin-7-galactoside and apigenin are not found. Also, the dried *Achillea biebersteinii* Afan. was used for dyeing wool yarns. The wool yarns were mordanted using Fe, Sn, Al salts and then dyed with different amounts of dried plant's flower and whole plant. The mordanting wools are dyeing with *Achillea biebersteinii* Afan. After that, dyed wools were analyzed by RP-HPLC. Besides this, Al- *Achillea biebersteinii* Afan. and Sn- *Achillea biebersteinii* Afan. pigments were obtained with different pHs towards to potentiometric titration. These pigments were analyzed qualitatively by reversed phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC) and it was determined by comparing standards. Finally L* (brigtness), a*(red/green rate) and b* (yellow/blue rate) values which constitute the CIEL*a*b* colour space of dyeing wool yarns were measured.

Key words: *Achillea biebersteinii* Afan., dyestuff, pigment, flavonoids, HPLC.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1.1. Giriş

Doğal boyamacılık, doğadan sağlanan çeşitli bitki ve böceklerdeki boyarmaddelerden yararlanılarak yapılan boyamacılık işlemidir [23].

Doğal boyamacılık MÖ 4000 yıllarında Hindistan ve Mezopotamya’da, tekstil elyafının boyanması suretiyle başlamıştır. Doğadaki bazı bitki, böcek, deniz kabukluları ve metal oksitleri kullanarak boyama ve pigment yapımı tarihin çok eski dönemlerinden beri bilinmektedir [36].

Özellikle bitkilerin kök, gövde, yaprak ve çiçekleri boyamacılık için kurutularak veya taze durumda kullanılır. Günümüzden 5000 - 6000 yıl önce başlayan doğal boyamacılık 1856 yılında William Henry Perkin tarafından ilk sentetik boyarmaddenin bulunuşuna kadar değişmeden sürmüştür. XIX. yüzyılın ikinci yarısında bir yandan yeni boyarmaddeler bulunurken öte yandan bitkilerdeki boyarmaddelerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Boyarmaddelerin büyük miktarlarda ve ucuz olarak sentezi XIX. yüzyılın sonunda doğal boyamacılığı büyük ölçüde ortadan kaldırmıştır.

Doğal kaynaklı boyarmaddelerin sağlanmasının mevsimlere bağlı oluşu, bitkisel kökenli birçok boyarmaddenin doğal boyalara bütünüyle eşdeğer olarak sentez edilebilmesi, sentetik boyarmaddelerin bitkilerde bulunabilen ve boyama işlemi üzerine olumsuz etkilerde bulunan yan maddeleri içermemesi, doğal boyalarla seri üretimde belli bir standartın tutturulmasının güçlükleri gibi etkenler sentetik boyarmaddelerin kullanımını hızla yaygınlaştırmıştır [23]. Ancak son yıllarda ülkemizde ve tüm dünyada el sanatlarına duyulan ilgi nedeniyle doğal boyarmaddelerin kullanımı yeniden artmıştır. Ayrıca tarihi sanat eserlerinin aslına uygun onarımı, doğal boyarmaddelerin yeniden kullanımının önemini artırmıştır. Sentetik boyarmaddelerin birçoğunun toksik, kanserojen olması ve bu sentetik boyarmaddelerin atıklarının da çevre kirliliğine sebep olması doğal boyarmaddelerin kullanımının önemini artırmıştır. 1980’lerden sonra doğal boyarmaddeler; günümüzde tekstil boyamacılığının yanı sıra ilaç, kozmetik ve gıdaların renklendirilmesi gibi değişik alanlarda da kullanılmaktadır.

Bitki ve böceklerin içerdiği flavonoid, antrakinon ve indigoidler doğal boyarmaddeler olarak bilinir. Doğal boyarmadde kaynaklarının içerdiği flavonoidler ve antrakinonlar metallerle kompleks yapma özelliğine sahiptir. Doğal boyarmaddelerin metallerle oluşturduğu koordinasyon bileşikleri doğal pigment olarak adlandırılır [36].

Achillea biebersteinii Afan. bitkisi, Asteraceae familyasına aittir [29]. İçerdiği flavonoidlerden dolayı doğal boya olarak kullanılır. Boyarmadde açısından özellikle yün boyamada kullanılmıştır [36].

1.2. Amaç

Sarı civanperçemi (*Achillea biebersteinii* Afan.) bitkisinin içerdiği flavonoidler doğal boyarmadde özelliği göstermektedir. Günümüzde sentetik boyarmaddelerin sağlığa ve çevreye verdiği olumsuz etkilerinden ötürü doğal boyarmaddelere olan eğilim artmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada; bitkinin içerdiği flavonoidler RP-HPLC ile analiz edilerek bitkinin toprak üstü kısımlarında hangi flavonoidlerin bulunduğu saptanması amaçlanmıştır.

Achillea biebersteinii Afan. bitkisi ile mordanlı yün boyama yapılarak, yün üzerinden çözündürülen flavonoidlerin RP-HPLC cihazı ile kalitatif analizi yapılmıştır. Böylelikle yün üzerinde hangi flavonoidlerin ne oranda bulunduğu saptanması amaçlanmıştır.

Ayrıca sarı civanperçemi bitkisinin içerdiği flavonoidlerin alüminyum(III) ve kalay(II) metalleriyle oluşturdukları kompleksler pigment özelliği gösterdiğinden, bu çalışmada bitkinin içerdiği flavonoidlerin alüminyum(III) ve kalay(II) iyonları ile vermiş oldukları komplekslerin pH' ya bağlı olarak oluşum koşulları belirlenmiştir.

Son olarak; CIEL*a*b* renk ölçüm sistemi kullanılarak farklı mordanlar ile kompleksleştirilip, sarı civanperçemi bitkisi ile boyanan yünün renk ve açıklık-koyuluk değerinin tayin edilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Pigmentler ve Doğal Boyarmaddeler

2.1.1. Pigmentler

Bulundukları ortam içinde çözünmeyen renklendirici maddelere pigment denir [27]. Pigmentler elyafa ve diğer substratlara karşı afinitesi olmayan, boyarmaddelerden farklı yapıda bileşiklerdir. Pigmentler süspansiyonları halinde kuruyan yağlar ve reçineler içinde uygulanırlar. Kimyasal bağ ve absorpsiyon yapmazlar. Bağlayıcı madde denilen sentetik reçineler ile elyaf yüzeyine bağlanırlar. Pigmentler suda çözünmeyen anorganik ya da organik maddelerdir. Emülsiyon elyaf veya kumaşa emdirildikten sonra bozulur. Pigment kumaş üzerinde ince dağılmış halde kalır. Sıkılarak kurutulduktan sonra 140 - 170 °C de ısıtılarak sabitleştirilir. Özellikle açık renklerde yıkama ve ışık haslıkları iyidir. Sürtünme haslığının yüksek olmayışı, koyu renklerin elde edilememesi, bağlayıcı filmin hava etkisiyle parçalanması, bağlayıcının kumaşa sertlik vermesi sakıncalı özelliklerdir [9].

Pigmentler; renk aralığı sınırlı olan doğal pigmentler ve renk aralığı oldukça geniş olan sentetik pigmentler olarak ikiye ayrılabilir. Çeşitli metal oksitler, sülfatlar, sülfürler doğal anorganik pigment olarak kullanılır. Organik pigmentler ise; suda çözünmeyen organik bileşikler, organik bileşiklerin metal tuzları veya metallerle oluşturdukları koordinasyon bileşiklerini kapsar.

Pigmentler esas olarak boyarmadde özelliği gösteren maddelerdir. Boyarmadde sınıflandırmalarında pigmentler boyarmaddelere ait bir alt tür olarak gösterilmiştir. Ancak klasik anlamda bir boyarmadde ile bir pigment karşılaştırıldığında önemli farklılıklar görülmektedir. Pigmentlerin boyarmaddelerden farkı; tıpkı boya gibi mekanik olarak materyal yüzeyine tutunmasıdır [63].

2.1.2. Doğal boyarmaddeler

Boyarmaddeler, fiziksel veya kimyasal bir süreç sonucu başka bir madde ile reaksiyona girerek maddeyi renklendirme niteliğine sahip doğal veya sentetik maddelerdir [28].

Boyarmadde ile boya birbirinden farklı ifadelerdir. Boya; uygulandığı yüzeye tutunur ve mekanik yolla çıkabilir. Boyarmadde ise boyandığı materyal üzerine

kimyasal bağlarla bağlanır ve mekanik yolla çıkmaz. Bir maddenin boya niteliğini alması için içerisinde kromofor denilen doymamış karakterdeki renk verici grupları bulundurması yeterlidir. Boyarmadde içerisinde ise; hem kromofor, hem de oksokrom adı verilen renk arttırıcı ve boyarmaddenin elyafa bağlanmasını sağlayan gruplar bulunmalıdır [24].

Doğal boyarmaddeler, doğada bazı bitkiler, hayvanlar, likenler ve mantarlar tarafından sentezlenen maddelerdir [15]. Doğal boyarmaddeler tekstilde boyama amaçlı kullanılan farklı kimyasal özelliklere sahip bileşenlerin kompleks karışımlarıdır [50]. Doğal boyamacılığın tekstil elyafında kullanımının MÖ 4000 yıllarında Hindistan'da ve Mezopotamya'da başlamış olduğu bilinmektedir [36]. Organik boyarmaddeler gıda maddelerinin boyanmasında, fotoğraf plaklarında, fizyolojik tesirleri dolayısıyla tıpta ve en çok da boyamacılıkta kullanılır [44].

Bitkilerin içerdiği boyarmaddeler genellikle azot içermezler. Ancak indigo ve berberin boyarmaddeleri bunların dışındadır. Bitkisel boyarmaddelerin önemli bir bölümü aromatik benzen halkası, karbonil, karboksil ve hidroksil grubu içeren zayıf asit özelliğindeki maddelerdir ve mordanlı boyarmaddeler sınıfına girerler [22].

En yaygın olarak kullanılmış sarı doğal boyarmadde içeren bitkiler muhabbet çiçeği (*Reseda luteola* L.) , boyacı sumacı (*Cotinus coggyria* Scop.), boyacı katırtırnağı (*Genista tinctoria* L.), *Serratula tinctoria* L. Gaud ve bazı cehri (*Rhamnus*) türleridir [17].

Doğada yeşil renkli boyarmadde veren bir bitki veya böcek bulunmamaktadır. Yeşil renk sarı renk veren bitkilerle mavi renk veren bitkilerin birlikte kullanılması ile elde edilir. Geleneksel olarak uygulanan yeşil renk reçetelerinde genellikle önce indigo ile mavi renge boyama yapılır. Daha sonra mordanlanan elyaf sarı renk veren bir bitki ile ikinci kez boyanarak yeşil renk elde edilir. Yapılan analizler göstermektedir ki yeşil renk; Osmanlı döneminde üretilmiş kumaşlarda ve halılarda önce indigo ile sonra muhabbet çiçeği ile boyanmıştır. İran' da ise önce mordanlı boyama yöntemi ile sarı renge, sonra indigo ile yeşil renge boyanmıştır.

Turuncu rengin elde edilmesi için genellikle önce sarı renk boyama yapılır. Daha sonra aynı boya banyosunun içersine bir miktar kökboya ilave edilerek rengin turuncuya dönüşmesi sağlanır. Birçok tarihi tekstilin turuncu renk boyarmadde analizlerinde sarı renk için kullanılan boyarmaddelerin yanında kırmızı renk için

kullanılan boyarmaddelere de rastlanmıştır. Bu durum turuncu rengin boyanmasında sarı renk boyamalarda kullanılan bitkilerle birlikte kırmızı renk boyamalarda kullanılan bitkilerin birlikte kullanılmış olduğunu göstermektedir [36].

Doğal boyamacılıkta kullanılmış olan hayvansal ve bitkisel boyarmaddeler XIX. yüzyılın sonlarında sentetik boyarmaddelerin sentezleri ile birlikte giderek azalmış ve hatta ortadan kalkma noktasına gelmiştir. Günümüzde ise sentetik boyarmaddelerin birçoğunun toksik, kanserojen ve atıklarının çevre kirliliğine neden olduklarının anlaşılmış olması doğal boyarmaddeleri yeniden gündeme taşımıştır [36]. Doğal boyarmaddelerin dezavantajlı olduğu yön ise üretimlerinin az olması ve aynı renk tonunun tekrarlanma zorluğudur [62].

2.2. Doğal Boyarmaddelerin Sınıflandırılması

2.3. Biyolojik Kaynağına Göre Doğal Boyarmaddelerin Sınıflandırılması

Biyolojik kaynağına göre doğal boyarmaddeleri bitkisel kökenli ve hayvansal kökenli doğal boyarmaddeler olarak sınıflandırabiliriz.

2.3.1. Bitkisel kökenli boyarmaddeler

Sentetik boyarmaddelerin 1876 yılında William Henry Perkin tarafından bulunmasına kadar bütün boyama işlemleri doğal boyarmaddeler ile yapılmaktaydı. Bunun için bitkilerden ve hayvanlardan elde edilen doğal boyarmaddeler kullanılıyordu [71].

Bitkilerden mavi renkte boya elde etmek için 3500 yıl öncesinde indigo kullanılmaktaydı ve hala da günümüzde özellikle kot boyamaları için kullanılır [71]. Mavi renkteki tüm boyamalar için ya indigo ya da indigo türevi olan indigo sülfon asidi kullanılır. İndigo sülfon asidi indigonun derişik sülfat asidi ile işleme sokulması suretiyle elde edilir ve indigodan farklı olarak suda çözünebilen bu boyarmadde, şap mordanla veya doğrudan boyama yöntemiyle boyanır. Boyama işlemi için bizzat asidin kendisi ve bazik tuzları da uygundur. Bu mavi renklerin bir dezavantajı vardır, o da yıkama haslıklarının her zaman iyi olmamalarıdır. Diğer taraftan koyu mavi her zaman indigo rengidir.

Bitkilerden elde edilen kırmızı renk ise kökboyadan kaynaklanır. Kökboya olarak bilinen boya bitkisi *Rubia tinctorium* köklerinin tarımı çok önceleri yapılıyordu, bugün de Anadolu'da yabani olarak bulunmaktadır. Eski boyamalar üzerinde yapılan araştırmalar, kullanılan kırmızının *Rubia tinctorium*'a ait olduğunu

göstermektedir. *Rubia tinctorium* ile yapılan boyamaların analiz sonuçları dokuz ayrı boyarmaddenin varlığını göstermiştir. Bu boyarmaddelerin başlıcaları, pseudopurpurin, alizarin, purpurin, munjistin ve rubiadin'dir. Bunlar, kök içindeki glikozitlerin hidrolizleri sonucu serbest hale geçerler.

Mısırlılar, Yunanlılar, İtalyanlar boyamacılıkta halen kökboya kullanmaktadırlar. *Rubia tinctorium* Orta Avrupa'ya önce Romalılar ardından İspanya'daki Araplar tarafından tanıtılmıştır [23]. Kökboya boya bitkisi olması dışında, toz veya infüzyon biçiminde idrar söktürücü, müshil, doğumu kolaylaştırıcı ve antiskorbütik (C vitamini eksikliğini önleyici) ilaç olarak kullanılmıştır [22].

Bitkisel kaynaklı boyarmaddelerden en fazla sarı renk elde edilir. Sarı boyalar düşük ışık haslığına sahiptir. Ortaçağa ait duvar halılarında mavi ve kırmızı rengin görünmesinin nedeni de budur; sarı renklerin birçoğu solmuştur ve yeşil ile turuncu renklerde de kayıplar vardır [71].

Geçmişte cehri, safran, debbağ sumacı, bakkam ağacı, yalancı papatya, sumak, anduz otu, boyacı papatyası, soğan, asma, sakız ağacı... gibi birçok bitkiden sarı renk elde edilmiştir [22].

2.3.2. Hayvansal kökenli boyarmaddeler

Hayvansal kökenli boyarmaddeleri böcek boyarmaddeleri ve deniz kabuklularından elde edilen boyarmaddeler olarak ayırabiliriz.

Böcek boyarmaddeleri

Eski çağlarda özellikle kırmızı renk elde etmek için dünyanın çeşitli bölgelerinde bazı böceklerden yararlanılmıştır. Kırmızı boyarmaddeler içeren pek çok böcek türü arasında önem kazanmış olanlar lak böceği (*Kerria lacca* Kerr, *Tachardia larreae* Kerr), Amerikan koşinili (*Dactylopius coccus*), Vordan karmir veya Ararat kermes (*Porphyrophora hamelii* Brandt), Kermes böceği (*Kermes vermilio* Planchon) ve Polonya koşinili (*Porphyrophora polonica*) dir.

Böcek boyarmaddelerinin en önemlilerinden biri olan ve renkli bileşeni kermes asidi olarak bilinen kermes böceğidir. Kermesin kullanımı yalnızca boyamacılıkla sınırlı olmayıp, eski dönemde ilaç olarak da kullanılmıştır.

Kermes İ.Ö. 2000 yıllarından beri yün ve ipeği kırmızıya boyamak için kullanılmıştır. Kökboyadan sonra en yaygın olarak kullanılan kırmızı boyarmaddedir ve şap ile mordanlanarak boyama yapılır.

Bir başka böcek boyarmaddesi de koşinil böceğidir (*Dactylopius coccus*). Bu böcekteki renkli bileşen karmin asididir. Koşinildeki kırmızı boyarmaddelerin yani karmin asidinin ekstraksiyonu hem asit hem de bazik ortamda gerçekleştirilebilir.

Koşinil ve kermes böceklerinin ürettiği kırmızı boyarmaddelerdeki kırmızı renklerin aşağı yukarı birbirlerinin aynı olmasının nedeni kimyasal yapılarının birbirine çok benzemesidir. Karmin asidi boyarmaddesinin haslığı çok yüksektir. Bununla boyanmış tekstil ürünleri aradan geçen yüzyıllara karşı renklerinin canlılığını korumaktadırlar. Mordan olarak şap yerine kalay tuzları kullanıldığında ise ışık haslığı daha yüksek olan boyama elde edilmiştir.

Lak böceğinin renkli bileşeni ise lakaik asittir. Koşinil ve lak her ikisi de mordanlı boyarmaddelerdir ve mordanın değişmesi ile çok değişik renk tonları elde etmek mümkündür. Mordan olarak tüm Doğu'da hemen daima şap kullanılmıştır. Lak ve koşinili gözle ayırt etmek olanaklı değildir. Bir ipliğin bu iki böcek boyarmaddesinden hangisi ile boyandığı ancak laboratuvar çalışması ile anlaşılabilir [22].

Deniz kabukluları

Mor rengin kaynağı Akdeniz kıyılarından ve Marmara denizinden toplanan eski dönemde pelagis veya purpura olarak bilinen *Murex trunculus* ve *M. brandaris* adı verilen deniz salyangozlarıdır. *Murex brandaris* adı verilen deniz hayvanından elde edilen boyarmadde 6,6'-dibromindigodur. Bu deniz hayvanının toplanması çok zor ve boyamacılık tekniği karmaşıktır. Murexin 12000 tanesi 1,4 g saf mor boyarmadde vermektedir. Bu durum boyarmaddelerin az bulunması ve çok pahalı olmasını açıklar.

Eski boyama yöntemine göre, kabuklarından ayrılan hayvanlar 3 gün tuzlandıktan sonra 10 gün suda kaynatılıp boyanacak yün veya ipek 5 saat süreyle bu çözeltiye batırılır. Daha sonra gün ışığına tutulan kumaşlar sırasıyla koyu sarı, yeşil, mavi ve mor renk alırlar. Boyamada kullanılan deniz kabuklusu türüne göre de kahverengimsi kırmızıdan koyu maviye değişen renkler elde edilir [22].

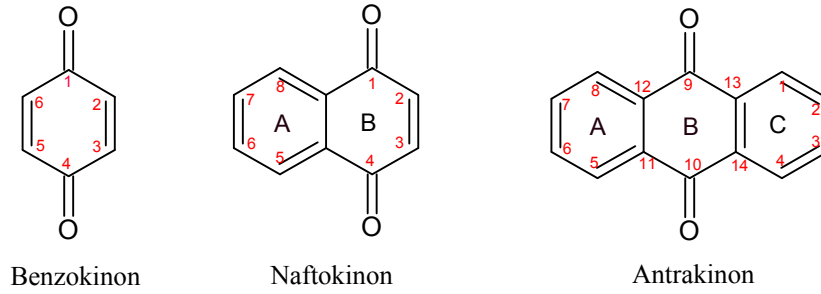
2.4. Kimyasal Yapıya Göre Doğal Boyarmaddelerin Sınıflandırılması

Kimyasal yapısına göre doğal boyarmaddeleri; kinonik yapıdaki boyarmaddeler, indigoidler ve flavonoidler olarak sınıflandırabiliriz.

2.4.1. Kinonlar

Kinonların temel yapısı, aromatik monosiklik ya da polisiklik bileşiklerden türeyen doymamış bir siklik ketondan meydana gelir [15]. Kinonlar, iki keton grubu içeren aromatik halka yapısına sahip, oldukça reaktif ve doğada yaygın olarak bulunan renkli bileşiklerdir. Kesilen veya yaralanan meyve ve sebzelerde siyahlaşmaya neden olurlar. İnsan cildinde orta düzeyde melanin sentez yolundan sorumludurlar [51].

Kinonlar yapılarına göre benzokinonlar, naftakinonlar ve antrakininonlar olmak üzere Şekil 2.1’de gösterildiği gibi sınıflara ayrılırlar.



Şekil 2.1. Kinonların sınıflandırılması [20].

Naftakinonlar ve antrakininonlar doğada yaygın bulunan, renklendirici maddelerdir. Örneğin kinon yapısındaki juglon, ceviz kabuklarının renkliliğini sağlayan bileşiklerden birisidir. Juglonla benzer bir yapıda olan lavson, saçta kırmızı renk veren hint kinasında bulunur. Tipik bir antrakininon olan karminik asit, koşinil böceğinin (*Coccus cacti* L.) öğütülmesiyle elde edilen, gıda ve kozmetik boyası olarak kullanılan kırmızı renkli bir pigmenttir [28].

Kinonlar, özellikle de antrakininonlar oldukça güçlü floresans özellik gösterirler. Antrakininonların ve likenlerin lüminesans özellik göstermeleri tanımlanmaları açısından bir avantajdır. Böylelikle bu özelliklerinden ötürü bu maddeler daha az örnekle daha kısa sürede tanınabilir [65].

Örneğin *Rubiaceae* familyasının birçok türü kırmızı renkli kökleri nedeni ile, eski çağlardan beri yün ve pamuk boyamada kullanılmıştır. Köklerin boyama özellikleri taşıdıkları kinonik bileşiklerden (antrakininonlar, naftokinonlar ve türevleri) ileri gelmektedir. Özellikle *R. tinctorum* kökleri (Radix Rubiae: Kökboya, Boyacıkökü) Anadolu halkı tarafından yüzyıllarca halı ve kilim ipliklerini boyamada kullanılmış ve kültürü yapılmıştır. Kökler ana bileşik olarak, antrakininon yapısındaki

alizarin, purpurin ve ruberitrik asit içermektedir. Bu köklerden özel yöntemlerle elde edilen kırmızı boya "Edirne Kırmızısı" veya "Türk Kırmızısı" adıyla bilinmektedir [49].

2.4.2. İndigoidler

İndigoidler küpe boyarmadde grubuna girerler. Küpe boyarmaddeleri suda çözünmediğinden ilk önce indirgenerek alkalide çözünür bir hale getirilir.

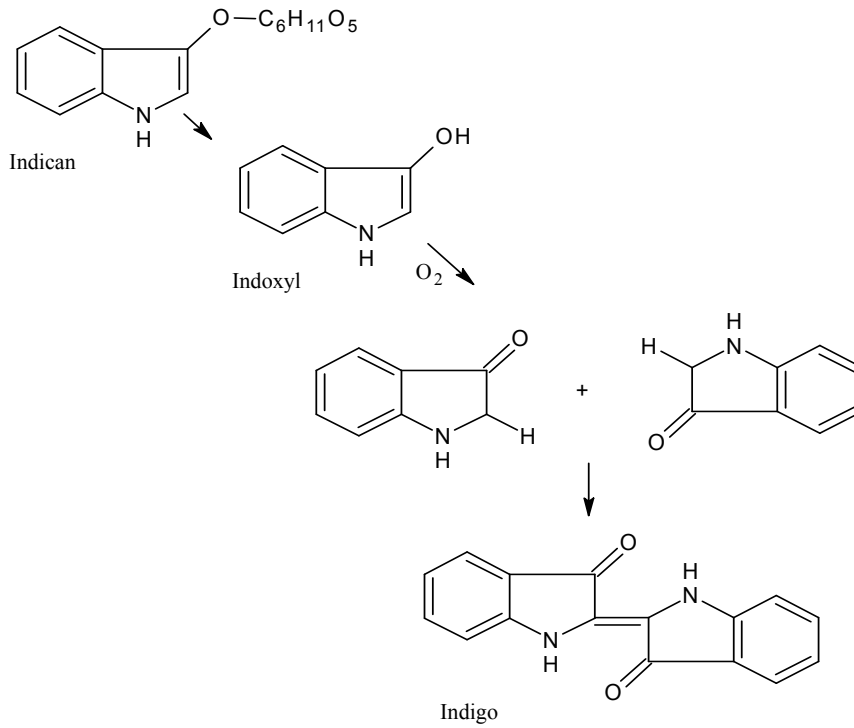
İndigoidler bütün küpe boyarmaddelerinde olduğu gibi bir C=O grubu ihtiva ederler. İndirgenme olayı neticesinde bu karbonil grupları C-OH haline geçerler. Bu indirgenme ürünü alkalilerle suda çözünür tuzlar meydana getirir. Böylece elyafa iyice tutunan, alkalide çözünen bu bileşik hava oksijeni ile tekrar yükseltgenerek çözünmeyen asıl boyarmadde haline geçer [7]. Böylece İndigo ile boyama yapılırken direkt boyama yapılır, mordana gerek duyulmaz [24].

İndigoidler yün ve pamuk boyamada kullanılır ve indirgenme ürünleri kendi renklerinden farklı olarak ya sarı renkli ya da renksizdir. Ciba Blue gibi indigoidler de ise indirgenme ürünü oldukça parlak altın sarısı renkte olduğundan indirgenme tamamen bittiğinde bu türlerin tanınmasında biraz zorluk yaşanabilir [46].

İndigo, Hindistan'da yetişen tropik bir bitki olan indigo (*Indigofera tinctoria* L.) bitkisinden elde edilen mavi renkli bir boyarmaddedir. İndigo bitkisinin tarımı Hindistan'da 4000 yıldan beri yapılmaktadır. İndigo bir pigment olarak XII. yüzyılda Avrupa'ya ihraç edilmiş, Marco Polo tarafından XII. yüzyıl sonunda bir boyarmadde olarak tanıtılmış ve Venedikli boyacılar tarafından kullanılmaya başlanmıştır. XVI. yüzyılda Avrupa'ya bol ve ucuz olarak getirilmiş ve çok yaygınlaşmıştır. Isaac Newton, XVII. yüzyıl sonunda güneş ışığının spektrumunu elde ettiğinde yedi renkten birine indigo adını vermiştir.

İndigo veren çeşitli bitkiler vardır. Bunlardan biri olan çivit otu (*Isatis tinctoria* L.) çok eskiden beri bilinir. Çivit otu hem Avrupa'da hem de Anadolu'da yetişir. Günümüzde Orta ve Batı Anadolu'da yabani olarak yetişmektedir. Eskiden Anadolu'da tarımı da yapılmıştır. Benzer bitkiler olan *Isatis cymbosa* ile *Isatis tomentella* Güney ve Doğu Anadolu'da *Polygonum tinctoria* Japonya ve Kore' de, *Eupatorium indigofera* veya *Marsdenia tinctoria* Brezilya ve Malezya' da bulunur. Hindistan çividi (*Indigofera tinctoria*) bitkisinin yapraklarında indoksil'in glikoz ile oluşturduğu ve "indikan" adı verilen bir glikozit vardır. Yaprakların fermentasyonu

sonucu hidrolizlenen indikandan oluşan indoksil hava oksijeni tarafından indigoya yükseltgenir. Oluşan indigo fermantasyon ortamı tarafından açık sarı renkli löko-indigoya indirgenir. Bazlarda çözünen açık sarı renkli bu bileşik bütün elyaf türlerini doğrudan boyar. Daha sonra elyaf üzerine tutunmuş olan sarı renkli indirgenme ürünü hava oksijeni tarafından hızla mavi renkli indigoya yükseltgenir. Bu süreç Şekil 2.2’de gösterilmiştir [22].



Şekil 2.2. İndigonun oluşumu.

2.5. Flavonoidler

Bitki fenollerinin en geniş sınıfını difenilpropan (C₆ - C₃ - C₆) iskeletine sahip flavonoidler oluşturmaktadır. Şu ana kadar bitkilerin yaprak, tohum, kabuk ve çiçek kısımlarında 6000’in üzerinde farklı yapıda flavonoid belirlenmiştir [31].

Fenolik maddeler doğal antioksidanların en önemli gruplarını oluştururlar. Bunlar bitkilerin tüm kısımlarında görülen polifenolik bileşenlerdir, en yaygın bitkisel fenolik antioksidanlardan biri ise flavonoidlerdir [61].

Çoğu flavonoid doğada D-glukoz, L-ramnoz, glukoramnoz, galaktoz, lignin ve arabinoz gibi glikozidleri şeklinde bulunur [33]. Bağırsaklarda hidrolizlenerek biyolojik bakımdan aktif aglikonlara dönüşürler [39]. İnsan ve hayvanlarda mide

bağırsak sisteminden emilirler veya değişmeden ya da metabolitleri halinde idrar ve dışkı ile atılırlar. Lipid peroksidasyonunu inhibe eden flavonoidler etkili antioksidan, metal kelatlayıcı [18], süperoksit, alkoksil, peroksil ve nitrik oksit gibi serbest radikal süpürücüdür [13]. Bunun yanı sıra flavonoidlerin kan basıncını düşürücü, anti tümör, [69], antiviral, antialerjik, antispazmodik, antibakteriyel [11], diaforetik ve diüretik [54] özelliklere sahip oldukları bilinmektedir.

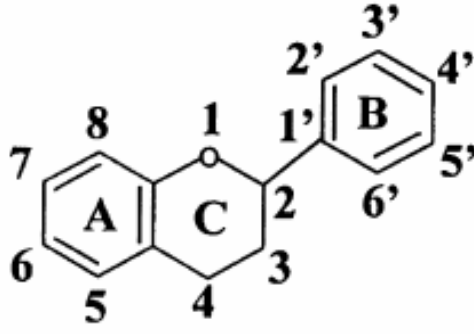
Flavonoidler tüm bu farmakolojik etkilerinin yanı sıra doğal boyarmaddeler olarak kullanılmaktadırlar. Boyarmadde olarak kullanılan flavonoidler bitkilerin gövdelerinde, yapraklarında, kabuklarında, çiçeklerinde ve köklerinde bulunurlar [60]. Flavonoidlerin boyarmadde olarak kullanımları çok eskilere dayanır. Mısır'da bulunan arkeolojik eserlerde flavonoidlere rastlanmıştır [36].

Flavonoidlerden özellikle flavonlar ve flavonoller en yaygın olarak kullanılmış sarı renk boyarmaddelerde temel kromoforlardır. Şeker türevleri olarak bitkilerde oluşurlar, temel aglikona hidrolizlenirler, karbonil grubu ve komşu fenolik grup üzerinden mordan ile bir metal kompleksi sayesinde elyafa bağlanırlar [17].

UV ışınlardan koruma özelliklerine sahip olmaları nedeni ile bazı flavonoidler kozmetik ürünlerde de, özellikle kremlerde önemli katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Ayrıca flavonoidler metal iyonları ile reaksiyon verme kapasitesine sahip olduklarından analitik amaçla uranyum, zirkonyum, titan ve diğer metallerin tayininde kullanılabilmektedirler [16].

2.5.1. Flavonoidlerin yapısal özellikleri

Kimyasal bakımdan flavonoidler 2-fenilbenzopiran yapısı göstermektedirler [30]. 15 karbon atomu içeren flavonoid iskeleti $C_6-C_3-C_6$ konfigürasyonunda düzenlenmiştir [14]. Flavonoidler A ve B olmak üzere 2 tane benzen halkası içerirler ve bu benzen halkaları oksijen içeren ve bir piren halkası olan C halkası ile birbirine bağlanırlar [25]. Bu halkalara bağlanan çeşitli fenolik hidroksil grupları, bu yapıların antioksidan aktivite göstermelerini sağlar. Farklı türdeki bitkilerde veya aynı bitkinin değişik kısımlarında bulunan flavonoidlerin büyük yapısal farklılıkları vardır [14]. Şekil 2.3'de bir flavonoid grubunun genel yapısı görülmektedir.



Şekil 2.3. Flavonoid grubunun genel yapısı [70].

Flavonoid yapılarında gözlenen en yaygın sübstitüentler hidroksil gruplarıdır ve genellikle 3, 5, 7, 3', 4' ve/veya 5' pozisyonlarında hidroksil grupları bulunur. Çoğunlukla bir veya birden daha fazla bu hidroksil grupları metillenir veya asetillenir [52]. Bu nedenle, flavonoidlerin metoksi ve glikozil türevlerine bitkilerde sık rastlanır. Metoksi flavonoidlerin yapılarında birden yediye kadar metoksi grubuna rastlanılmaktadır. Doğada en çok mono-, di- veya trimetoksi flavonoidler gözlenmektedir [5].

Flavonoidler bitkilerde glikozitleri şeklinde bulunurlar. Aglikonları ise çoğunlukla daha az ortaya çıkar. En az 8 farklı monosakkarit veya di- ya da trisakkarit kombinasyonları flavonoid aglikonlarının farklı hidroksil gruplarına bağlanabilir. Flavonoidlerin sayılarının fazla olması flavonoid aglikonlarının ve bunların şekerlerinin bu farklı kombinasyonlarından kaynaklanır. En yaygın bölümünü ise D-glikoz ve L-ramnoz glikozitleri oluşturur. Bu glikozitler genellikle O-glikozitlerdir ve şeker kısmı C-3 ve C-7 pozisyonunda hidroksil grubuna bağlanmıştır [25].

UV spektroskopisi, flavonoid bileşiklerin yapısı hakkında önemli bilgiler veren bir yöntemdir. Bileşiğin metanoldeki çözeltisine farklı reaktifler katarak elde edilen spektrumlar moleküldeki hidroksil gruplarının yerleri hakkında fikir vermektedir [19].

UV spektrumunda flavonoid bileşikleri iki absorpsiyon bandı vermektedir; band II 240 - 285 nm ve band I 300 - 400 nm dalga boylarında absorpsiyon yapar. Band II flavonoidin A halkasındaki benzoil grubunun absorpsiyonundan kaynaklanırken; Band I ise B halkasındaki sinnamoilin absorpsiyonu ile ilgilidir [43].

Tablo 2.1. Flavonoidlerin UV spektroskopisindeki absorpsiyon bantları

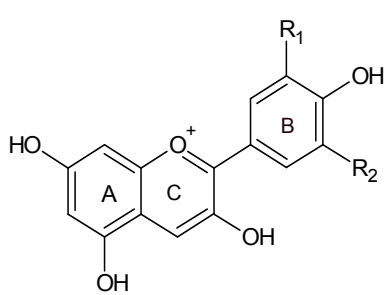
	Bant I (nm)	Bant II (nm)
Flavon	304-350	250-270
Flavonol	352-385	250-270
Flavonon	310-330	275-290
Kalkon	360-390	240-260
Auron	390-430	240-260
Antosiyanidin	475-560	275-280
İzoflavon	300-340	245-270

2.5.2. Flavonoidlerin sınıflandırılması

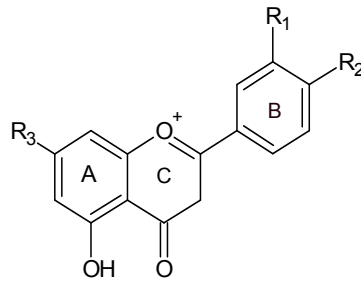
Flavonoidler, büyük flavonoid grupları (2- fenilbenzopiranlar), isoflavonoid (3-benzopiranlar) ve neoflavonoid (4-benzopiranlar) olmak üzere üç ana grupta (Şekil 2.4) sınıflandırılabilir [30].

Büyük flavonoid grupları (2- fenilbenzopiranlar)

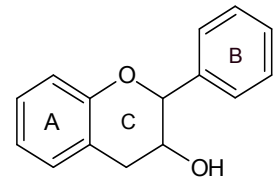
Kimyasal bakımdan bu flavonoidler 2-fenilbenzopiran yapısı göstermektedirler ve bu flavonoidler şu gruplar altında toplanabilirler:



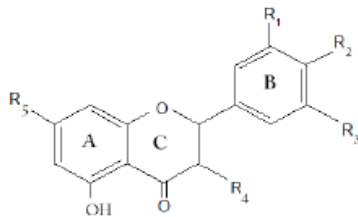
Antosiyanidin



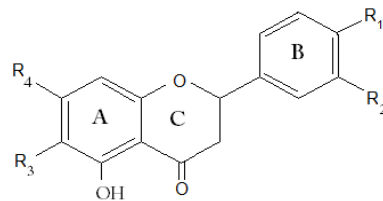
Flavanon



Flavanol

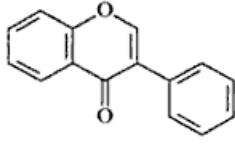


Flavonol

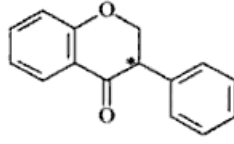


Flavon

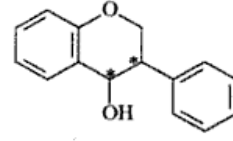
İsoflavonoidler



İsoflavon

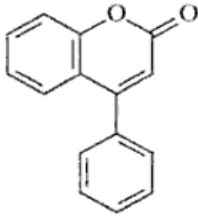


İsoflavanon

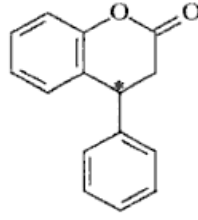


İsoflavanol

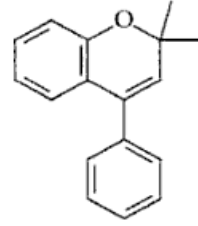
Neoflavonoidler



4-Arylcumarin

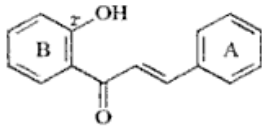


3,4-dihidro-4-arilkumarin

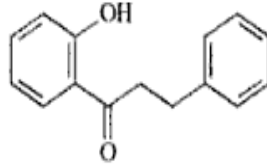


Neoflaven

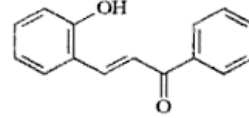
Küçük flavonoid grupları



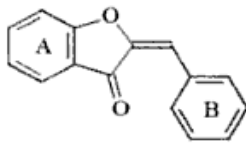
2'-OH-kalkon



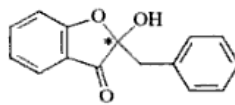
2'-OH-dihidro-kalkon



2'-OH-retro-kalkon



Auron



Auronol

Şekil 2.4. Flavonoid çeşitleri ve genel yapıları [64].

2.6. Asteraceae

Asteraceae (Compositae) familyası, yaklaşık 1509 cins ve 20.000 türle, dünyada en fazla türü olan familyadır [29]. Compositae familyası bitkilerinden birçoğu bahçelerde yetiştirilen veya çiçekçilikte değerli olan süs bitkileridir. Yurdumuzda 133 kadar cinsi ve 1156'dan fazla türü yetişmektedir [59]. Asteraceae familyası Türkiye Florası'nın en büyük familyası olması, familya üyelerinin çoğunun

ekolojik toleranslarının geniş olması ve meyvelerinin pappuslu olması, rüzgarla kolayca uzaklara taşınabilmesi bakımından büyük önem taşır [29].

Çoğu otsu az bir kısmı ise çalı veya ağaçtır. Yapraklar alternan, karşılıklı veya hepsi tabanda yer alır. Çiçekler kapitulum durumdadır ve kapitulum tabanında braktelerden yapılmış bir involukrum vardır. Çiçekler erdişi veya tek eşeyli, aktinomorf veya zigomorfdur. Kalis bir papus şeklinde, bazen bir halka veya pul biçiminde ve bazen eksiktir. Korolla 5 birleşik petalli, tüp veya dil şeklindedir. Stamen 5, filamentler serbest, anterler birleşiktir. Ovaryum alt durumlu, 2 karpelli, bir ovüllüdür. Meyva, tepesinde bir papus, bir kaliks artığı veya tepede böyle bir organı olmayan bir akendir. Bu familyada, uçucu yağ ve acı madde taşıdıklarından dolayı tıbbi olarak kullanılan, inulin ve sabit yağ taşıdıklarından dolayı gıda maddeleri veren ve lateksinde kauçuk taşıdıklarından dolayı sanayi değeri olan bitkiler vardır [10].

Dünyada ve Anadolu’da geniş yayılım gösteren Asteraceae familyasına ait birçok türün farmakolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu familyadaki bitkiler, diterpen ve flavanoidlerin yanı sıra ağırlıklı olarak, antibakteriyel, antifungal, antihelmintik, antienflamatuar, insektisit, antitümör gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip seskiterpen lakton metabolitlerini içermektedirler [4]. Bunun yanında bu familyadaki bitkilerin oldukça fazla miktarda uçucu yağ ve flavon ve flavonollerin metil eterlerini içerdiği rapor edilmiştir [66].

2.6.1. Civanperçemi türleri (*Achillea* sp.)

Bitki kaynaklı maddelere ya da ilaçlara çok yönlü kullanımlarından ötürü ilgi artmaktadır. Özellikle bitkisel ilaçlar insanoğlunun tarihi kadar eskidir. Asteraceae familyasına ait *Achillea* cinsi bitkiler de tarihte iyileştirici amacıyla kullanılmıştır. *Achillea* türü adını Yunan mitolojisinin en önemli kahramanlarından biri olan Achilles’den almıştır. Truva savaşı sırasında Achilles yaralı askerlerini iyileştirmek için *Achillea* spp. bitkisini kullanmıştır [6].

Achillea L. cinsinin (Asteraceae), yaklaşık olarak 115 türü vardır ve merkezi Güneybatı Asya ve Güneydoğu Avrupa’dadır ve Kuzey Amerika’ya Avrasya boyunca uzanır. Bu türler ekolojiye fazlaca uyum sağlarlar. Türkiye Florası’nda 5 seksiyonda toplanmış 52 takson ile temsil edilen 46 türü bulunur. Bunların 23’ü

Anadolu'ya endemiktir [2]. Civanperçemi bitkisinin Türkiye'de bulunduğu yerler Şekil 2.5.'de gösterilmiştir.

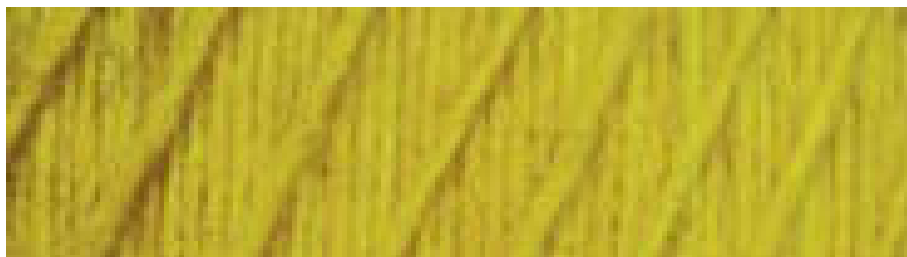


Şekil 2.5. Civanperçemi bitkisinin Türkiye'deki dağılımı [36].

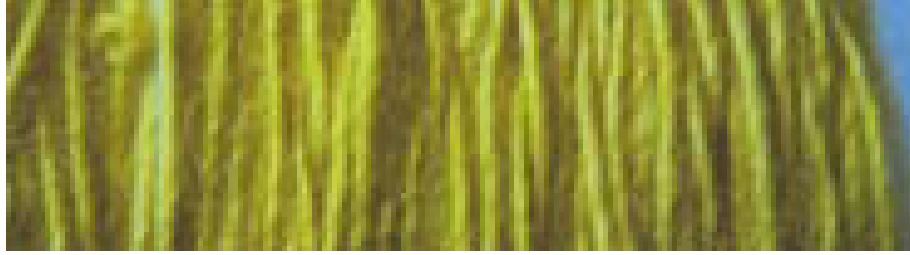
Achillea türleri beyaz, beyaz-sarı, beyaz-mor renkte çiçeklere sahip çok yıllık ve 80 cm'ye kadar boyu uzayabilen bitkidir [38]. Akbaşlı, civanperçemi, ak yavşan, barsama otu, baytaran, baytıran, binbir yaprak otu, kabe süpürgesi, kandil çiçeği, marsama otu gibi isimlerle de anılmaktadır. Yüksek rakımlı yerlerde doğal olarak yetişmektedir. Mayıs – Ekim ayları arasında çiçek açar [36]. İçerdiği flavonoidlerden ötürü doğal boyarmadde olarak kullanılır [38]. Boyarmadde açısından özellikle yün boyamacılıkta kullanılmıştır. XVII. yüzyıl Konya halılarının sarı renklerinde ve yeşil renklerinin sarı bileşenlerinde kullanılmış olduğu saptanmıştır. Boyama işlemi bitkinin kurutularak öğütülmüş çiçekleri ile mordanlı boyama yöntemiyle yapılır. Civanperçeminin kullanıldığı farklı mordan maddeler, bunlardan elde edilen renkler ve gerekli şartlar Tablo 2.2'de verilmiştir [36].

Tablo 2.2. Civanperçemi bitkisinin mordanlama ve boyama reçetesi [36].

Mordanlama	Mordan	$Kal(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	$SnCl_2 \cdot 2H_2O$
	Mordan (%)	20	3	5	4
	Sıcaklık (°C)	100	100	100	100
	Zaman (dak.)	60	60	60	60
Boyama	Boya bitkisi (%)	30 – 50	30 - 50	30 - 50	30 - 50
	Sıcaklık (°C)	100	100	100	100
	Zaman (dak.)	10 – 30	10 – 30	10 – 30	10 – 30
	Renk	Turuncu-sarı	Zeytin yeşili	Haki	Parlak sarı



Şekil 2.6. $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ mordan kullanılarak civanperçemi ile boyanmış yün.



Şekil 2.7. $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ mordan kullanılarak civanperçemi ile boyanmış yün.



Şekil 2.8. Sentez AŞ. Koleksiyon; Env. No. 317.171.

XIX. yüzyılın ikinci yarısı. Sarı renk civanperçemi ile boyanmış.

Achillea türlerinin ekstraktları kapsamlı bir şekilde çalışılmış ve antimikrobiyal, antispazmodik, antidiabetik, antihipertansiyon ve antihiperlipidemik etkileri, antifertilite, antispermatojenik ve immünoşüpresif aktiviteleri rapor edilmiştir. Bunun yanı sıra Achillea türlerinin bazılarında bulunan flavonoidlerden casticin'in anti-tümör aktivite gösterdiği bilinmektedir. Ayrıca yine centaureidin içeren türlerinin sitotoksik olduğu, apigenin ve luteolin içeren türlerinin de östrojenik ve antispazmodik aktiviteye sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Ayrıca Achillea türlerinden elde edilen ekstrelerin antioksidan aktivitelerini göstermek amacıyla birçok çalışmada toplam flavonoid miktarları tayin edilmiştir [35].

Bu türdeki bitkiler analjezik, antienflamatuvar, antipiretik, kolagog ve hemostatik etkilerinden ötürü özellikle Avrupa'da bazı farmasötik preparatların ve tıbbi çay karışımlarının bileşimine girmektedirler [37]. Ayrıca bu bitki dijestif [40] ve insektisit gibi pekçok biyolojik aktiviteye sahip seskiterpen lakton metabolitlerini içermektedir [4].

Achillea ile üretilen çoğu ilaçların içeriğinde % 0,2 ile % 1 arasında uçucu yağ bulunduğu bildirilmiştir. Achillea cinsi infragenerik sınıflamalarında zorluklar olup, uçucu yağ karakterleri türlerin ayrılmasında önemli ilave karakter olarak kemotaksonomik amaçlı olarak kullanılabilir. Uçucu yağlardaki, alfa-pinen, beta-pinen, sabinen, 1,8-sineol, kamfor, karyofillen ve kamazulen'in nispi miktarlarının bu ayırıcı kriterleri oluşturduğu rapor edilmiştir. Bazı Achillea türleri, farmasötik, kozmetik ve koku sanayinde kullanılırlar. Achillea türlerinin uçucu yağları, pek çok çalışmaya konu olmuştur. Örneğin, *A. millefolium* L. ekonomik önemi ve tedavi edici özelliğinden dolayı çok geniş çapta incelenmiştir. Ayrıca bazı Achillea türlerinin uçucu yağları, antibakteriyel, iltihap giderici, sitotoksik ve kanamayı durdurucu ajanlar olarak kullanılmaktadır. *Achillea millefolium*, solucan düşürücü, iltihap giderici, sinir yatıştırıcı, antiviral, gebelik önleyici, idrar söktürücü, terletici, kadınlarda adet düzenleyici, ateş düşürücü, barsak fonksiyonlarını düzenleyici, uyarıcı, baş ve boğaz ağrılarında, panik atakta, romatizma ve mide ülserinde kullanıldığı rapor edilmiştir. *A. argentum*'un çiçeklerinin, gastrointestinal hastalıklarda kullanıldığı ve toprak üstü kısımlarının sitotoksik aktiviteye sahip olduğu, *A. pannonica*'dan elde edilen germakren türevli bir maddenin iltihap giderici etkiye sahip olduğu ve *A. chrysocoma*'nın antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu

yine *A. ptarmica* rizomlarının boşaltım sistemi enfeksiyonlarının, romatizmanın, baş ağrıların ve gaz giderici olarak mide hastalıklarını tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir [4].

Bu türün seskiterpen laktonlar, alkamidler, 3 veya 7 glikozillenmiş flavonoidleri içermesinin yanı sıra yaprak ve gövdenin her ikisinde diğer yağ tutan maddelerle birlikte flavonoid aglikonlarını serbest halde içerdiği de bilinmektedir [53]. Flavonoidlerin C-glikozil ve bunların 7-metilenmiş türevlerinin de bu bitki türünde olduğu kanıtlanmıştır [1].

2.6.2. *Achillea biebersteinii* Afan.

Achillea biebersteinii Afan. bitkisinin Türkçe adı sarı civanperçemidir [12]. Yüksekliği 10 – 100 cm arasındadır, gövdesi düz ve yuvarlaktır, yaprakları gevşek ya da yoğun tüylüdür. Salkımları 2 – 10 cm, çiçek sapı 0,5 - 4 mm, çiçeği altın sarısı renkte olup, 1 – 2 mm boyundadır. Bu tür Türkiye’ye özgü olup, Anadolu’nun birçok yerinde bulunur [29].



Şekil 2.9. Sarı civanperçemi bitkisinin genel görünümü.

Yapılan çalışmalarda bu türün içerdiği monoterpenlerden 1,8-sineol, kamfor ve piperiton miktarlarının oldukça yüksek olduğu GC-MS çalışmalarından rapor edilmiştir [8]. Ayrıca bitkide 2-trikosan, patulitrin, kersetagitritin, jaceidin, kersimeritrin, 1-heksakosanol ve n-pentakosan bulunmuştur. Bitkinin içerdiği

flavonoidler elementel analiz ve spektral metotlar yardımıyla bulunmuştur [47]. Bir başka çalışmada da kersimeritrin, kersetin ve luteolin [56] isoramnetin bulunduğu saptanmıştır [12]. Bir başka çalışmada ise beta-sitosterol ve stigmasterol, biri guaianolid diğeri germakronolid olmak üzere iki seskiterpen lakton ve flavonoidlerden ise jaceidin ile 3,6-dimetoksi-5,7,4'trihidroksi flavon bulunmuştur [3].

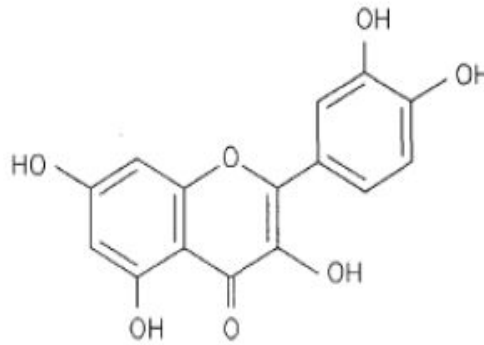
2.7. *Achillea biebersteinii* Afan. Bitkisinin İçerdiği Boyarmaddeler ve Özellikleri

Achillea biebersteinii Afan. bitkisinde boyarmadde özelliğini gösteren flavonoidler; Quercetin, Quercetagen-3,6-dimetileter, Patulitrin, Apigenin, Kamferol-3-O-galaktoz, Luteolin-7-O-galaktoz ve 4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz'dur.

Bitkinin toprak üstü kısımları olan gövde, yaprak ve çiçeklerinde içerdiği bu flavonoidlere ait özellikler aşağıda verilmiştir.

2.7.1. Quercetin

Quercetin 3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon olarak da adlandırılır. Flavonoidlerin flavonol grubuna aittir. Şekil 2.10'da quercetin molekülünün yapısı verilmiştir [32].



Şekil 2.10. Quercetin yapısı

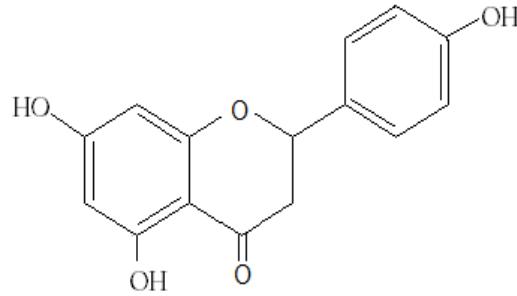
CAS No	: 117-39-5
C.I. No	: 75670, doğal sarı 10, 13; doğal kırmızı [36]
Formülü	: C ₁₅ H ₁₀ O ₇
Molekül ağırlığı	: 302,23 g/mol
Bileşimi	: % 59,61 C, % 3,34 H, % 37,06 O
UV maksimum	: 258, 375 nm (etanol)

Erime noktası	: 316 °C
Görünümü	: Açık sarı renkte katı toz
Çözünürlüğü	: Suda 21 °C'de <0,1 g/100 mL [24].

Asetik asit çözeltisinde sarı renk vererek çözünür. 1 gramı 290 mL saf alkolde ve 23 mL kaynamış alkolde çözünür [42].

2.7.2. Apigenin

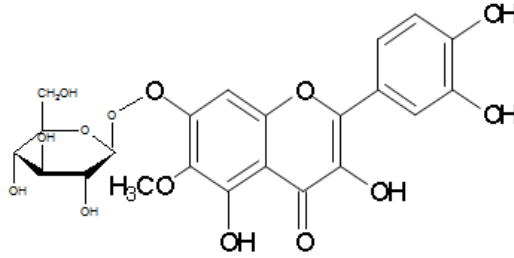
Kimyasal olarak 4',5,7-trihidroksiflavon veya 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-1-benzopyran-4-one olarak adlandırılır. Apigeninin yapısı Şekil 2.11'de gösterilmiştir [32].



Şekil 2.11. Apigeninin yapısı

CAS No	: 520-36-5
C.I. No	: 75580, Natural Yellow 1
Formülü	: C ₁₅ H ₁₀ O ₅
Molekül ağırlığı	: 270,23 g.mol ⁻¹
Bileşimi	: % 66,67 C, % 3,73 H ve % 29,60 O
UV maksimum	: 269,340 nm (etanol)
Çözünürlüğü	: 183 mg.L ⁻¹ 25°C (suda)
Erime noktası	: 292-294 °C [42].
Görünümü	: Limon sarısı renginde katı toz

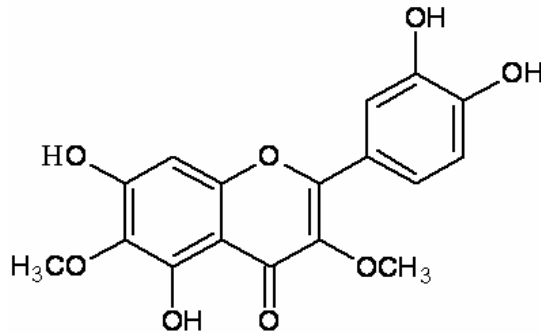
2.7.3. Patulitrin



Şekil 2.12. Patulitrinin yapısı

CAS No	: 19833-25-1
Formülü	: $C_{22}H_{22}O_{13}$
Molekül ağırlığı	: 494,40 g/mol
UV maksimum	: 259, 373 nm (metanol)
Görünümü	: Mat sarı [2].

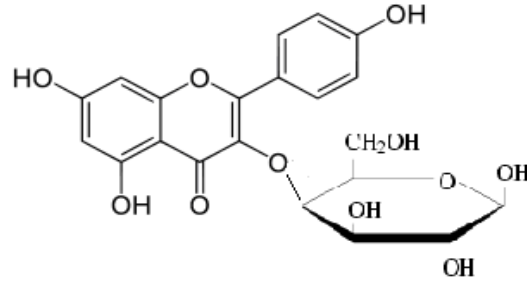
2.7.4. Quercetagetin-3,6-dimetil eter (Axillarin)



Şekil 2.13. Axillarin (Quercetagetin-3,6-dimetil eter) yapısı

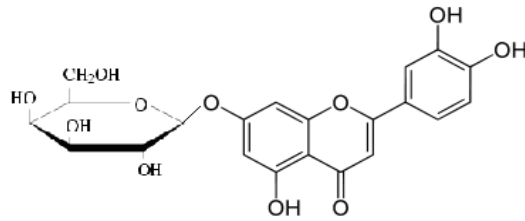
CAS No	: 5188-73-8
Formülü	: $C_{17}H_{14}O_8$
Molekül ağırlığı	: 346,28 g/mol

2.7.5. Kamferol 3-O-galaktoz



Şekil 2.14. Kamferol-3-O-galaktozit yapısı

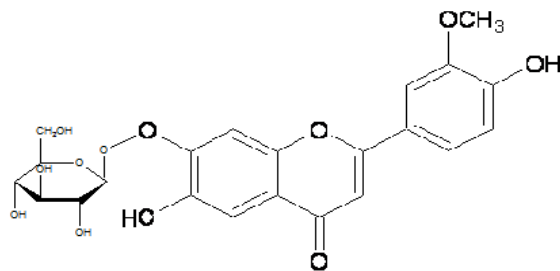
2.7.6. Luteolin-7-O-galaktoz



Şekil 2.15. Luteolin-7-O-galaktoz yapısı

CAS No : 5373-11-5
Formülü : C₂₁H₂₀O₁₁
Molekül ağırlığı : 448,39 g/mol

2.7.7. 4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz



Şekil 2.16. 4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz yapısı

2.8. Renk ve Yapı İlişkisi

Elektromanyetik spektrumun, dalga boyu 400 – 750 nm olan görünür alanında ışık enerjisini absorbe eden maddeler göze renkli görünürler. Renk, ışığın gözün retina tabakasına düşmesiyle oluşan karmaşık psikolojik ve fizyolojik bir olgudur. İnsan gözündeki sinirlerin ve retina tabakasının sadece görünür bölgeye duyarlı olmasından dolayı IR ve UV alanda ışık absorpsiyonu yapan maddeler göze renksiz veya beyaz görünürler. Cisimlerin absorpladığı renk ile göründükleri renkler aynı değildir. Tamamlayıcı renk de denilen görünen renk görünür bölgenin tamamından bazı dalgaboylarının çıkarılmasıyla oluşur. Örneğin pentasen 570 nm dalgaboyunda absorpsiyon yapar. Bu ışık, görünür bölgenin sarı ışığıdır. Pentasen, bu sarı ışığı ve biraz da buna yakın dalgaboylarını absorbe eder, diğerlerini yansıtır. Bu nedenle pentasen sarı değil, sarının tamamlayıcı rengi olan mavi olarak görülür [9,28]. Cisimlerin, absorpladıkları ışığa göre göründükleri renkler Tablo 2.3’de verilmiştir.

Tablo 2.3.Elektromanyetik spektrumun görünür bölgesinde cisimlerin absorpladığı ve yansıttığı renkler [9].

Absorplanan Işık		Cismin Görünen Rengi (Yansıyan ışık)
Dalgaboyu (nm)	Renk	
400 – 440	Mor	Yeşilimsi sarı
440 – 480	Mavi	Sarı
480 – 490	Yeşilimsi Mavi	Turuncu
490 – 500	Mavimsi Yeşil	Kırmızı
500 – 560	Yeşil	Magenta
560 – 580	Sarımsı Yeşil	Mor
580 – 595	Sarı	Mavi
595 – 605	Turuncu	Yeşilimsi mavi
605 – 750	Kırmızı	Mavimsi yeşil ve Yeşil

1888’de Armstrong, kinon ve kinoid yapısındaki bileşiklerin renkli olduğunu öne sürmüştür. Bazı bilim insanları bir bileşiğin renkli olması için doymamışlığa sahip olması gerektiğini ifade etmişlerdir. Arndt’ın ara hal teorisini daha sonra Paulig ve Hückel fiziksel olarak kanıtlamışlardır. Mezomerik yapı arz eden doymamış bileşiklerin renkli olduklarını ifade etmişlerdir [24,9].

2.9. Koordinasyon Bileşikleri

Merkez atom olarak adlandırılan bir metal iyonu etrafına, ligand adı verilen molekül veya iyonların kovalent bağ ile bağlanarak oluşturduğu bileşiklere

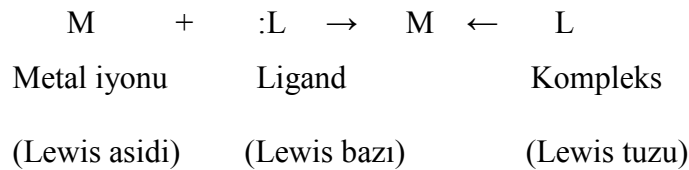
koordinasyon bileşiği denir. Koordinasyon bileşikleri genellikle liganttan metale bir elektron çifti verilmesi ile oluşur ve oluşan bağ koordine kovalent bağ olarak adlandırılır. Koordinasyon bileşikleri, merkezdeki metal ve metalin etrafında koordine olmuş ligandların taşıdığı yüklere göre anyonik, katyonik veya nötral olabilirler. Bu bileşikler aynı zamanda bir asit-baz katılma bileşikleridir, genellikle kompleks adı verilir, bir yükü varsa kompleks iyon ismini alır.

Eski çağlardan beri boyarmadde olarak kullanılan koordinasyon bileşiklerine örnek olarak Prusya mavisi, aurolin ve alizarin kırmızısı verilebilir. Bu bileşiklerin dikkat çekici renkleri ve tepkimelerdeki renk değişimleri eski literatürlerde açıklanmış ve sonraki çalışmalara temel oluşturmuştur. Bugün tetraaminbakır(II) iyonu olarak bilinen koyu mavi renkli boyanın tarih öncesi çağlardan beri bilinmekte olduğu kesindir. XIX. yüzyılın sonunda analitik yöntemlerin gelişmesi ile bu bileşiklerin çoğunun formülleri açıklanmış, bağ ve yapı kuramları ortaya konulmuştur.

2.9.1. Koordinasyon bileşiklerinin kararlılığı

Koordinasyon bileşiklerinin kararlı oluşları, ortamın pH değerine ve metal iyonun büyüklüğüne bağlıdır. Metal iyonlarının elektrofil (elektron almaya müsait), ligand iyonlarının ise nükleofil (elektron vermeye müsait) olması nedeni ile nükleofil atomlar protona bağlı olunca, elektron verebilme özelliği zayıflar.

Koordinasyon bileşikleri Lewis asit-baz reaksiyonları sonucunda oluştuğundan birer Lewis asidi olan bütün metal iyonlarının koordinasyon bileşiği verme eğilimi vardır:



Genellikle bütün molekül ve iyonlar en az bir serbest elektron çifti içerdiklerinden metal iyonları ile kompleks oluşturma eğilimindedirler. Genellikle metal komplekslerinin kararlılığı metal ve ligandın doğasına bağlıdır. Kararlılığı metal iyonu açısından etkileyen etkenler, metal iyonunun çapı, yükü, iyonlaşma gerilimi, kristal alan stabilizasyon enerjisi ve datif π bağlarının oluşumudur. Bu nedenle alkali metal iyonları kompleksleşme eğilimi en az, geçiş elementleri ise en fazla olan iyonlardır.

Çeşitli ligandlarla yapılan çalışmalar sonucu iki değerlikli geçiş metal iyonlarının komplekslerinin kararlılığının ligandın türüne bağlı olmasının $Pd > Cu > Ni > Pb > Co > Zn > Cd > Fe > Mn$ sırasını izlediği saptanmıştır [45,44]. Çok sayıda araştırma bu sonucu destekleyen sonuçlar vermiştir. Ayrıca geçiş elementi dizilerinde birinciden ikinciye, ikinciden üçüncüye geçişte kararlılık artar. Kararlılığı ligand açısından etkileyen etkenler ise ligandın bazikliği, ligand başına düşen metal kelat halkasının sayısı, kelat halkalarının büyüklüğü, donör atomun cinsi, sterik etkiler ve rezonanstır. Bunların arasında kararlılık üzerine en etkili olan ligandın bazikliğidir. Bir protona karşı büyük ilgisi olan bir ligand metal iyonlarına karşı da aynı davranışı gösterir. Genellikle oluşum sabitleri ile ligandın bazlığı doğrusal bir uygunluk içindedir.

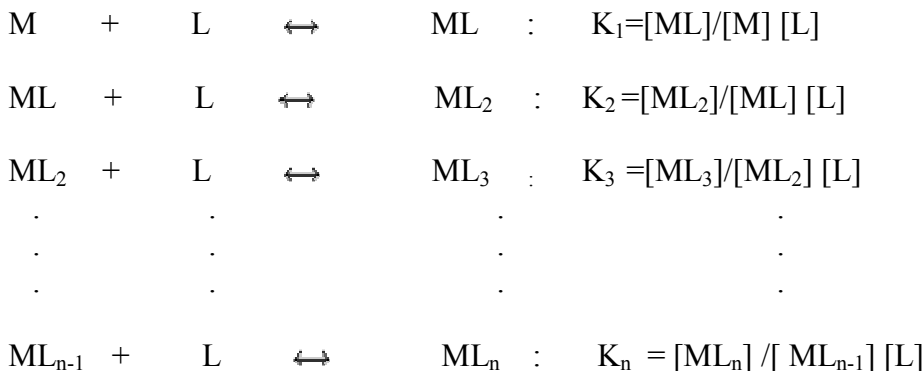
Ligandların baziklik kuvveti ile metal komplekslerinin kararlılıkları arasındaki ilişki benzer bir seri ligand için;

$$\log K = A pK_a + B$$

biçimindedir [47]. Buradaki A ve B sabitleri ligand ve metale bağlı olmayıp, kompleks bağlarının özelliklerine bağlıdır ve bunun bir ölçüsüdür. K_a toplam asit sabiti, K toplam oluşum sabiti olmak üzere pK_a nın $\log K$ ya karşı veya K_n son dissosiyasyon sabiti olmak üzere pK_n in $\log K$ ya karşı grafiği çizildiğinde genellikle bir doğru elde edilir.

2.9.2. Kararlılık sabitleri

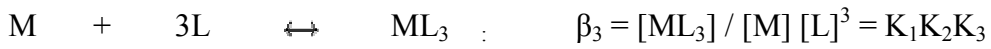
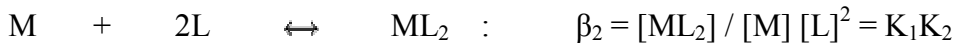
Koordinasyon bileşiklerinin oluşumu ve dissosiyasyonu sırasında poliprotik asitlerde olduğu gibi birbirini izleyen dengeler vardır. M, koordinasyon sayısı n olan merkez metal iyonu, L de monodentat bir ligand olmak üzere; kompleks oluşumu ile ilgili basamakları ve her bir basamağın denge sabitini aşağıdaki biçimde gösterilebilir:



Burada her bir basamağı belirleyen $K_1, K_2, K_3, \dots, K_n$ denge sabitlerine ara basamak oluşum veya kararlılık sabitleri adı verilir. Buna göre ML_n kompleksi için stokiyometrik kararlılık sabiti;

$$c_{K_n} = [ML_n] / [ML_{n-1}] [L]$$

olur. Kompleks oluşumundaki denge ilişkileri başka bir biçimde de gösterilebilir:



Burada kompleks oluşumunun basamaklarını belirleyen $\beta_1, \beta_2, \beta_3, \dots, \beta_n$ denge sabitlerine **toplam oluşum sabitleri** veya **kararlılık sabitleri** adı verilir. Bazı durumlarda dengenin konumunun bu biçimde belirtilmesi daha kullanışlıdır. Toplam oluşum sabiti β_i ile ara basamak oluşum sabiti K_i arasındaki ilişki aşağıdaki genel bağıntı ile verilir:

$$B_K = K_1 \cdot K_2 \cdot K_3 \dots \dots \dots K_K = \prod_{i=1}^{i=k}$$

Buna göre metal kompleksi için toplam kararlılık sabiti;

$$c_{\beta_n} = c_{K_1} \cdot c_{K_2} \cdot c_{K_3} \dots \dots c_{K_n}$$

olur. Buradaki adı geçen sabitler aktivitelere göre belirtilmiş olduklarından gerçek veya termodinamik sabitlerdir. Konsantrasyonlara göre belirlenen görünür sabitlerden bunlara geçebilmek için aktivite katsayılarını göz önüne almak gerekir. Kararlılık sabitlerinin belirlenmesi ile ilgili ölçümler ancak sulu çözeltilerde veya su içeren karışık çözeltilerde yapılabilir. Seyreltik çözeltilerde aktiviteler yerine konsantrasyonlar alınabilirse de ideal durumda sapma 0,001 M çözeltilerde bile oldukça büyüktür. Bu hataları önlemek için, KNO_3 , $KClO_4$ gibi kompleks oluşturmeyen tuzlar yardımı ile iyonik kuvvet sabit tutulur. Böylece aktivite katsayılarının gerçek değeri bilinmemekle birlikte sabit kabul edilebilir. Bu yolla

iyonik kuvveti sabit tutulan çözeltilerden görünür kararlılık sabitleri tayin edilebilir. Buradan, aktivite katsayılarının bire eşit olduğu sonsuz seyreltiklikteki kararlılık sabitleri ekstrapolasyonla bulunabilir. Genellikle aynı deneme koşullarında elde edilen görünür kararlılık sabitlerinin karşılaştırılması benzer sistemlerin bağlı kararlılıkları hakkında yeterli bilgi verdiğiinden görünür kararlılık sabitlerinin hesaplanması ile yetinilir.

2.10. Mordanlar

Birçok hallerde boyarmadde ve boyanacak elyafın iyice birleşebilmesini sağlamak için elyafı, hem boyarmadde hem de elyaf ile birleşebilen maddelerle muamele etmek lazımdır ki, böyle tespit edici maddelere mordan maddeleri denir. Mordan bir elementtir, boya ve kumaş arasında kimyasal reaksiyonun gerçekleşmesini sağlayarak boyayı kumaşa absorbe ettirendir [58]. Bu maddeler, örneğin alüminyum asetat veya şapta olduğu gibi genellikle zayıf bazların tuzlarıdır. Sulu çözeltilerde bu tuzlar hidrolize uğrayarak parçalanır ve oluşan metal hidroksitleri ince dağılmış bir şekilde elyaf üzerine dağılır. Bundan sonra asıl boyama işlemine geçilir. Boyarmadde elyaf üzerindeki metaller ile kompleks bileşikler oluşturur ve bu bileşikler elyaf üzerinden yıkanmakla artık uzaklaştırılmaz [55].

Doğal boyaların büyük bir çoğunluğu, metal tuzlarının kendileri için uygun mordan teşkil ettiği, zayıf organik asitlerdir. Anadolu'da mordan olarak genellikle şap ve demirsülfat kullanılır. Yün bu tuzların sulu çözeltilerinde kaynatıldığında bunlar ilk olarak su ile hidrolizlenerek bazik hidroksitleri verirler. Bu bazlar çözünmezler ve yün elyaf üzerine çökerek orada sabitleşirler. Yün elyafı oluşturan protein zincirleri asidik ve bazik özellikte bölgeler içerirler. Bu nedenle hem asidik, hem bazik karakterli mordanlar yünle birleşebilirler. Bunun ardından elyaf asitli boyarmadde ile reaksiyona sokulur. Boyarmaddenin asidik grupları elyafa tutunmuş olan bazik nitelikteki mordanla birleşir ve böylelikle suda çözünmeyen bir boyama elde edilir [23].

2.11. Boyarmaddelerde Renk Ölçümü

Renk, her tekstil materyali için vazgeçilemeyecek temel bir özelliktir ve dolayısıyla materyale ait rengin tanımlanmasına yarayan “renk ölçümü” işlemi, tekstil endüstrisinde önemli bir konudur. Spektral renk ölçümü, bir materyale ait

rengin tanımlanmasında, boyama reçetesi hesabında, renk farklılıklarının belirlenmesinde ve renge ait her türlü kalite özelliklerinin (beyazlık, sarılık, renk haslığı, vb.) tespitinde kullanılmaktadır [48].

Boyarmadde ile boyanmış bir materyalin aldığı rengin objektif olarak değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Renk konusunda iki ayrı yaklaşım vardır. Bunların birincisi; renklerin değişik sistemlere göre sınıflandırılmaları, sıralanmaları ve bunlar arasında daha çok sezgiye dayanan bir takım uyum kurallarını içeren eski yaklaşımdır. Diğer bir yaklaşım ise; rengin insan gözüne ve ışığın varlığına bağlı olduğu düşünülen bilimsel yaklaşımdır.

Renk ölçümünde kullanılan eski yaklaşımda elde edilen renkler; fiziksel örnekler üzerine temellenir. Bu sistemde elde edilen renkler standart renk atlasları ile karşılaştırılır ve buna göre sonuca gidilir. Renk atlasları her ne kadar standart olsa da insan gözünün standartlaştırılması olanaksızdır. Çünkü kişisel olarak görme farklılıkları mutlaka olacaktır. Göz bozukluğu, renk körlüğü ve yaş, görme yeteneğini etkileyen faktörlerdir. Bundan dolayı göz ile yapılan tanımlamalar kişiye göre değişmektedir.

Renk konusuna bilimsel yaklaşımda, rengin psikolojik oluşumu ve gözlemci üzerinde görsel bir etkisi olan spektrumun bir parçası olan ışık enerjisinin fiziksel tanımlaması yapılır. Bu amaçla insan gözünün ayırt edebildiği tüm renklerin tanımlanması, renk ayırma ve farklılıklarının ölçülmesi için belirli renk uzayları ve bu renk uzayları üzerindeki sayısal değerleri saptamak amacıyla spektral fotometreler geliştirilmiştir.

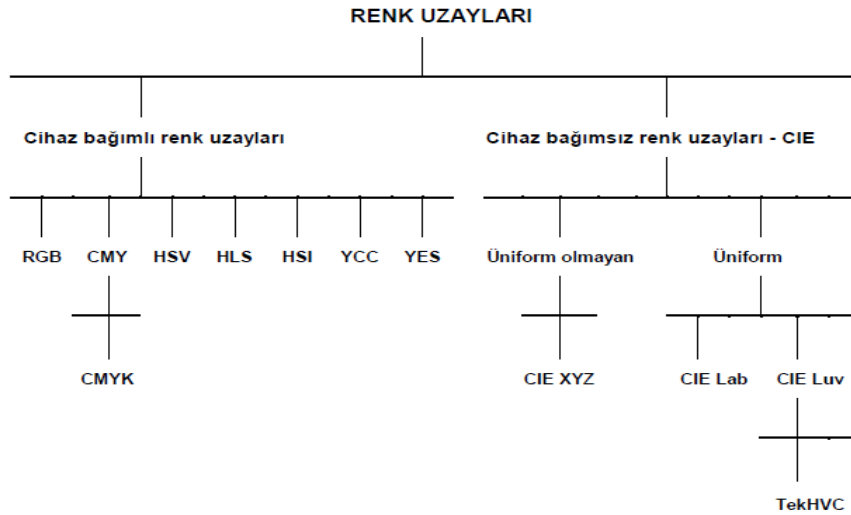
2.11.1. Renk uzayları

Renk uzayları renkleri tanımlamak için kullanılan matematiksel modellerdir. Renk uzayları, bütün renkleri temsil edecek şekilde oluşturulur. Renk uzayları 3D olarak tasarlanır. Çünkü renk ölçümünün temelini oluşturan Grassmann'ın birinci kanununa göre bir rengi belirlemek için birbirinden bağımsız üç değişkene gerek vardır.

Renklerin renk uzayındaki yerleri bu değişkenlere göre belirlenir. Her renk uzayının kendine özgü biçimde renk oluşturma için bazı standartları vardır. Renk uzayları oluşturulurken bir başka renk uzayına doğrusal ya da doğrusal olmayan yöntemlerle dönüşüm yapılabilmelidir.

Farklı renkli görüntüleme ve işleme cihazları farklı renk uzayları kullanır. Örneğin televizyon, bilgisayar monitörleri ve tarayıcılar RGB renk uzayını, yazıcı ve çiziciler CMY(K) renk uzayını kullanır. Renk uzayları genel olarak cihaz bağımlı ve cihaz bağımsız renk uzayları olarak iki gruba ayrılır. Cihaz bağımlı renk uzaylarında renkler cihazın özelliklerine bağlı olarak üretilir. Yani tamamen cihazın teknik özelliklerine bağlıdır. Cihaz bağımsız renk uzayları ise CIE (*Commission Internationale de l'Eclairage: Uluslararası Aydınlatma Komisyonu*) tarafından geliştirilen ve bütün renkler için renk ölçümünü sağlayan yani renk ölçümünde kullanılan uzaylardır. CIE tarafından geliştirilen bu renk uzaylarında renk ile ilgili ortaya konulan ve önerilen tanımlamalar (standart gözlemci ve standart aydınlatıcı gibi) kullanılmıştır.

Şekil 2.17’de yaygın olarak kullanılan renk uzayları görülmektedir.

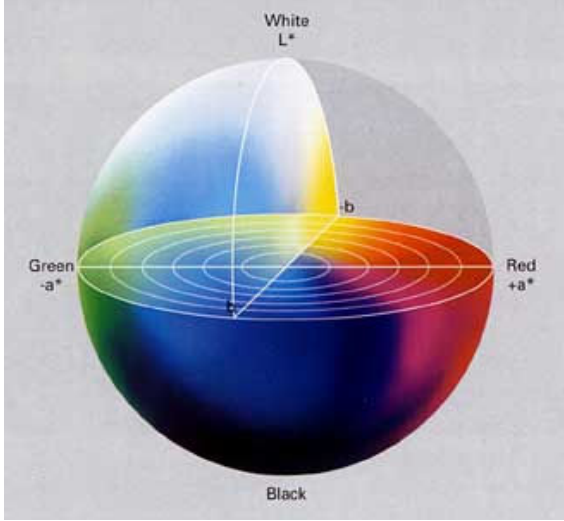


Şekil 2.17. Renk uzayları [68].

2.11.2. CIE L*a*b* Renk uzayı

1976 yılında *Commission International de l'Éclairage* (CIE; Uluslararası Aydınlatma Komisyonu) CIELAB (L^* , a^* , b^*) adı verilen bir sistem ortaya konuldu. Bu sistem L^* , a^* ve b^* parametrelerinden oluşmaktadır. Bu parametrelerden L^* , parlaklık değerini, a^* kırmızının yeşile oranını ve b^* da sarının maviye oranını vermektedir. Bu sistemde L^* , dik eksen olduğunda a^* ve b^* renk eksenlerini verir. Eğer örnek a^* ve b^* için sıfır değerini alıyorsa L^* , değerine bağlı olarak siyah, gri veya beyaz renklidir. a^* için (+) değerler kırmızılığı ve (-) değerler de yeşilliği

belirler. b^* nin (+) değeri sarılığı ve (-) değeri maviliği belirler. Buradaki L^* , a^* ve b^* eksenleri sırasıyla X, Y ve Z eksenlerine karşılıktır. CIELAB renk uzayı Şekil 2.18’de gösterilmiştir.



Şekil 2.18. CIELAB renk uzayı.

Uygulamada önemli olan iki renk arasındaki farktır. CIELAB sistemine göre, iki renk arasındaki renk farkı veya uzaklık,

$$\Delta E = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

bağıntısına göre hesaplanır. Baskıda ΔE 0 – 5 arasında değerler alır. ΔE ’nin 0 olması arada renk farkı olmadığını gösterir. ΔE değerinin 5 olması ise renk farkının çok büyük olduğunu gösterir (Tablo 2.4’de). Baskıda aynı yöntem kullanılarak elde edilen pigmentler arasında renk farkının minimum olması önemlidir.

Tablo 2.4. Renklerin uzaklıkları [21].

ΔE	0	1	2	3	4	5
Renk Farkı	Yok	Çok küçük	Küçük	Orta	Büyük	Çok büyük

2.12. Boyarmaddelerin Tanınması ve Analizleri

Boyarmaddelerin analizi, elde edilmesi kadar önemlidir. Boyarmadde ile boyanmış kumaş, pigment ile boyanmış ahşap, kağıt ve daha bir çok materyalin boyarmadde analizlerinde kromatografik ve spektroskopik yöntemler kullanılabilir. Ayrıca bunlardan başka özel analiz yöntemleri de kullanılır. Bu yöntemlerin biri veya birden çoğu kullanılarak özellikle tarihi eserlere ait örneklerin içerdiği boyarmaddeler analiz edilir. Daha sonra analiz edilen boyarmadde veya boyarmaddelerin hangi tür boyarmadde kaynağına (bitki, böcek, deniz canlısı gibi) ait olduğu belirlenir [36].

Boyarmadde analizleri kromatografinin gelişmesi ile kağıt, boyut eleme kromatografisi yöntemleri ile yapılmıştır. Daha sonra gaz kromatografi ve sıvı kromatografi kullanılmaya başlanmıştır. 1980'lerde farklı dedektörlere sahip HPLC ile analizler yapılmaya başlanmıştır ve HPLC analizi hala günümüzde yaygın olarak analitik amaçlı kullanılmaktadır. Ardından 1990'larda doğal boya analizlerinde kapiler zon elektoroforez çok nadiren kullanılmıştır.

İnce tabaka kromatografisi (İTK); nicel analizlerde yıllardır kullanılan bir yöntemdir. Kromatografik analiz yöntemlerinden biri olan bu yöntemin son derece basit, ucuz ve analiz süresinin kısa oluşu bu yöntemin kullanımını popüler hale getirmiştir. Ancak sonuçların güvenilirliğindeki sınırlamalar dolayısıyla daha az numune miktarına ihtiyaç duyan, daha doğru ve kesin sonuçlar veren yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) gibi cihazların yaygınlaşmasıyla kullanımı azalmıştır. Spektroskopik yöntemler de ileri teknolojik cihazlardır. Özellikle ultraviyole spektrofotometride (UV); eğer numune içerisinde tek boyarmadde varsa kısa zamanda doğru sonuca varılır [36].

Spektrofotometrik metotların doğal boya analizindeki dezavantajı örneği toplam olarak analizlemesidir. Özellikle küçük miktarlardaki numunelerle çalışılması bir avantaj olmasına rağmen, eğer numune birden çok boyarmadde içeriyorsa ve analiz sonuçları iyi yorumlanamaz ise yanılgılara neden olabilir [71].

Tekstildeki boyaların tanınmasında spektrofotometrik metotlarda kullanılmıştır. Bu amaçla ilk olarak 1876'da görünür spektroskopi kullanılmıştır. Daha sonra UV/Vis, IR ve floresans spektroskopi kullanılmıştır. Son zamanlarda araştırmacılar yakın IR, Raman, FT-Raman ve 3-D floresans spektroskopisi kullanmışlardır [71].

Özel yöntemler ise; son derece basit işlemler olup, kullanılan boyarmaddelerin tanınmasında bazı kimyasallar kullanılarak renk değişimi ve farklı çözücülerdeki davranışlarına bakılarak ön değerlendirme amacı taşımaktadır. Örneğin bir halının mavi renginin İndigo boyarmaddesi ile boyanıp boyanmadığını anlamak için, bir behere CH_3COOH konur ve içerisine mavi renkli numune ilave edilir. Isıtılmaya başlanan numunedeki mavi renk CH_3COOH 'da çözünmüş ise bu durum halının İndigo ile boyanmış olduğunu gösterir [36].

Hangi metot kullanılırsa kullanılsın amaç hep aynıdır; tekstil materyalinde ya da herhangi bir kaynaktaki boyarmaddeyi tanımlamak ve boyanın kaynağının ne olduğunu bulabilmektir [71].

2.12.1. Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC)

Kromatografi kompleks karışımlarda bulunan birbirine yakın özellikteki maddeleri ayırmak için kullanılan birçok farklı yöntemi içerir: bu ayırmaların çoğu başka yöntemlerle yapılamamaktadır. Bütün kromatografik ayırmalarda örnek gaz, sıvı veya süperkritik akışkanı olan hareketli faz ile taşınır. Bu hareketli faz bir kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş kendisi ile karışmayan bir durgun faz içinden geçmeye zorlanır. Bu iki faz örnek bileşenlerinin hareketli ve durgun fazlarda farklı oranlarda dağılacağı şekilde seçilir. Durgun faz tarafından kuvvetli tutulan örnek bileşenleri, hareketli fazın akışıyla çok yavaş hareket ederler. Buna karşılık durgun faz tarafından zayıfça tutulan bileşenler hızlı hareket ederler. Bu hareket hızlarının farklılığı sonucu örnek bileşenleri birbirlerinden kalitatif ve/veya kantitatif olarak analizlenebilen farklı bantlar veya bölgeler şeklinde ayrılırlar [57].

Kromatografi; hareketli fazın cinsine, duran fazın cinsine, sistemdeki denge türüne, fazların polaritesine, ayırma gücüne ve molekül büyüklük farklarına göre sınıflandırılır [67].

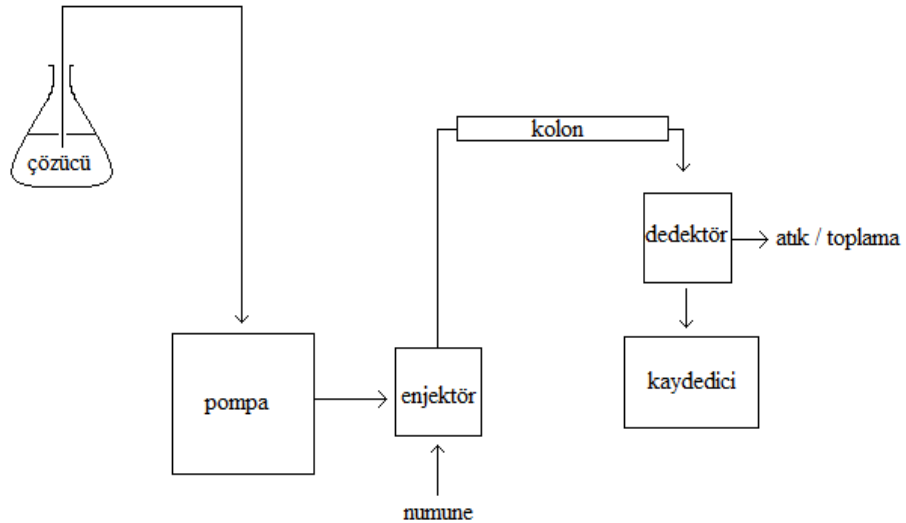
Yüksek performanslı sıvı kromatografisi bütün analitik ayırma teknikleri arasında en yaygın kullanılanıdır. Yöntemin bu kadar yaygın olmasının sebepleri duyarlılığı, doğru kantitatif tayinlere kolaylıkla uyarlanabilir olması, uçucu olmayan türlerin veya sıcaklıkla kolayca bozunabilen türlerin ayrılmasına uygun olması ve hepsinden de önemlisi sanayinin, birçok bilim dalının ve halkın birinci dereceden ilgilendiği maddelere geniş bir şekilde uyarlanabilirliğidir. Bu gibi maddeler örnek olarak aminoasitler, proteinler, nükleik asitler, hidrokarbonlar, karbonhidratlar, ilaçlar, terpenoidler, pestisitler, antibiyotikler, steroidler, metal-organik türler ve çeşitli anorganik bileşikler sayılabilir [57].

Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), yüksek ayırma gücü nedeniyle komplike karışımlardaki ve miktarı az olan maddelerin ayrılması ile miktar tayinlerinde kullanılan bir yöntemdir. HPLC, 1960'larda çok geliştirilmiştir. Duran faz olarak mikropartiküllü maddeler kullanılmaktadır. Bu mikropartiküller hareketli fazın akışına direnç gösterdiği için hareketli faz yüksek basınç altında pompalanır.

Akış hızı 1 - 5 cm³/dakika arasındadır. HPLC’de örnek büyüklüğü gram-nanogram arasında değişen büyüklüklerde olabilir [67].

Yüksek performanslı sıvı kromatografisinde ayrılacak karışım sisteme bir enjektör yardımıyla verilir ve hareketli faz denen çözücü akımı ile kolon denen bir borudan basınç altında geçirilir. Kolonlar sabit faz denen partiküller içerir. Maddeler, dolgu maddesinin partikülleri ile difüzyon veya birleşme yoluyla etkileşir. Hareketli faz kolondan geçirildiğinde, numune bileşenleri sabit ya da hareketli faza olan afinitelerine göre ayrı ayrı bantlara ayrılır. Bu bantlar kolon boyunca ilerler. Bu işleme elüsyon denir. İlerleyen bantlar detektörden geçerler. Detektör bir kaydediciye bağlıdır ve kolondan çıkan her bileşen pikler halinde çizilir. Piklerin çıkış zamanı alıkonma (retensiyon) zamanı olarak adlandırılır. Böylece ayırma işlemi tamamlanmış olur. Optimum bir ayırma gerçekleştirmek için çözücü akış hızı, kolon türü, dolgu maddesi, çözücü bileşimi ve detektörde değişiklikler yapılabilir [57].

Modern HPLC cihazlarında normal bir akış hızı elde etmek için, 3 – 10 µm’lik dolgu maddeleriyle doldurulmuş kolonlarda birkaç yüz atmosferlik basınç uygulamaları yapılır. Bu yüksek basınç uygulaması nedeniyle, yüksek performanslı sıvı kromatografisi cihazları, diğer kromatografi cihazlarına göre daha pahalıdır [57]. Şekil 2.19’da bir HPLC cihazının ana parçaları şematik olarak gösterilmiştir. Cihaz; pompa, enjektör, ayırma kolonu ve detektör ile kaydedici sistem olarak başlıca dört kısma ayrılabilir.



Şekil 2.19. HPLC cihazının ana bileşenleri.

HPLC cihazında pompa bölümü yüksek basıncı sağlamak amacıyla kullanılır. Kolon, ayrılmanın gerçekleştiği bölümdür ve yüksek basınca dayanması için paslanmaz çelikten yapılmıştır. Detektör; örneğe cevap olarak sinyal veren bir alettir. Kolon çıkışına bağlanır ve kolondan gelen bileşenleri alıkonma zamanlarına göre kaydeder.

Örneklerin hazırlanması

Katı örnekler: Bir örneği HPLC sistemine vermek için, bu örneğin, hareketli faz olarak kullanılan çözücünde çözünmesi gerekir. Örneğin, metanol/su karışımı bir hareketli faz ile analiz yapılacaksa, örnek metanolde, suda veya metanol/su karışımında çözülmalıdır. Eğer örnek böyle bir çözücünde çözünmüyorsa, diğer bir çözücünde çözünmeli, fakat bu durumda kullanılan çözücü kesinlikle hareketli fazla karışabilir olmalıdır. Örnek bileşenlerinin, mobil faz çözücüsünde çökmemesine de dikkat edilmelidir.

Sıvı örnekler: Sıvı örneklerde çözücü, sistem ile uyumluysa, doğrudan enjekte edilebilir. Eğer örnek istenen çözücünde değilse veya enjekte edilecek kadar derişik değilse, buharlaştırılmalı veya derişikleştirilmelidir. Daha sonra hareketli fazda tekrar çözünmelidir.

Örneklerin süzülmesi: Hareketli faz akışında azalmaya, geri basıncında artmaya, kolon veriminde azalmaya ve istenmeyen piklere neden olabilecek çözünmeyen maddelerin kolona girmesini önlemek için, örnek enjeksiyondan önce süzülmalıdır [57,67].

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Araştırma Araçları ve Kimyasalları

3.1.1. Çalışmada kullanılan cihazlar

- 1) Elektronik analitik terazi, Sartorius.
- 2) Etüv, Heraeus D-6450 Hanay.
- 3) Vakum Kompresör, Today's Rocker 300 oil-less vacuum pump.
- 4) Destile su cihazı, Nüve NS 103 Water Distiller.
- 5) pH metre, Hanna Instruments HI 8314 Membrane pHmeter.
- 6) pH metre elektrot, Hanna Instruments 1131 B.
- 7) Manyetik karıştırıcılı ısıtıcı, WiseStir MSH-20A Daihan Scientific Co. Ltd.
- 8) Manyetik karıştırıcılı ısıtıcı, ELEKTRO-MAG M22.
- 9) Spektralfotometre CIEL*a*b*, Gretag Macbeth SpectroEye Spectralphotometer.
- 10) Accelerated Solvent Extractor.

HPLC donanımı

- 1) Agilent 1100 serisi HPLC sistemi.
- 2) G1311A model pompa.
- 3) G1321A model diode-array dedektör (DAD).
- 4) G1379A model gaz arındırıcı vakum.
- 5) G1316A model termostatlı kolon kompartımanı ve Agilent Chemstation veri durağı.
- 6) A Nova-Pak C18 analitik kolon (3,9 x 150 mm, 4 µm, Part No WAT086344, Waters). 30 °C'de korundu.

Mobil faz olarak iki çözücü sistemi kullanıldı. A fazında: H₂O - % 0,1 TFA. B fazında: CH₃CN - % 0,1 TFA. Akış oranı 0,5 mL/dak.'da uygulandı. Gradyent elüsyon değerleri Tablo 3.1'de görülmektedir.

Tablo 3.1. Gradyent elüsyon değerleri.

Zaman (dk)	Akış oranı (mL/dk)	H ₂ O - % 0,1 TFA (v/v)	CH ₃ CN - % 0,1 TFA (v/v)
0.0	0.5	95.0	5.0
1.0	0.5	95.0	5.0
20.0	0.5	70.0	30.0
25.0	0.5	40.0	60.0
28.0	0.5	40.0	60.0
33.0	0.5	5.0	95.0
35.0	0.5	5.0	95.0
40.0	0.5	95.0	5.0

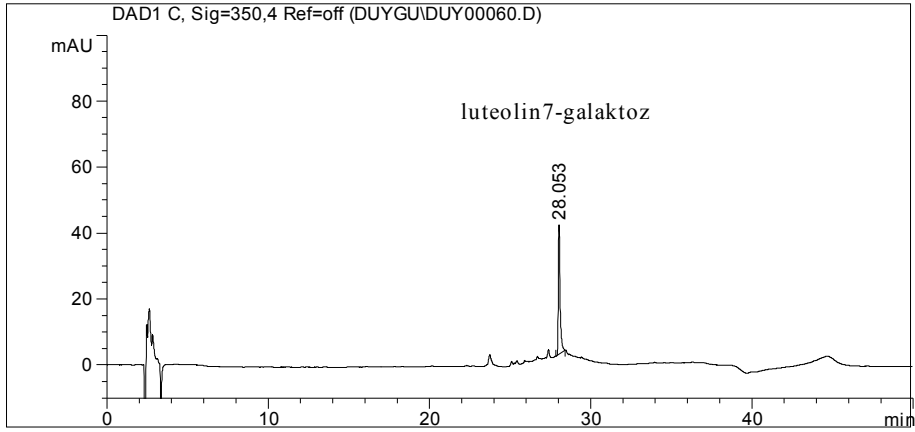
3.1.2. Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Kimyasalın adı	Mol kütlesi (g/mol)	Üretici firma
1) HCl (1L=1.19 kg)	36,46	MERCK
2) SnCl ₂ .2H ₂ O	225,63	MERCK
3) FeSO ₄ .7H ₂ O	278,02	MERCK
4) KAl(SO ₄) ₂ .12H ₂ O	474,39	PANREAC
5) MeOH	32.04	MERCK
6) pH 4-7 Tamponları		
7) Apigenin	270,23	
8) Quercetin	302,23	
9) Axillarin	346,28	
10) Luteolin-7-galaktozit	448,39	
11) Patulitrin	494,40	
12) 4'6-dihidroksi-3'metoksiflavon-7-O-glikoz		
13) Kamferol-3-O-galaktoz		

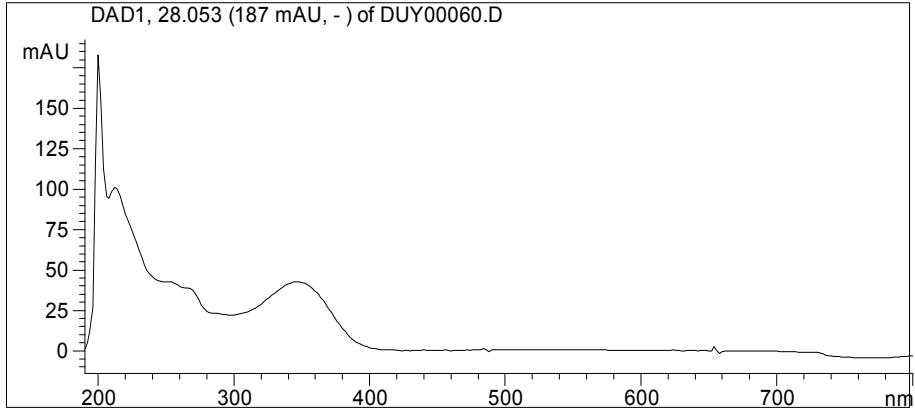
4. BULGULAR

4.1. Standart Maddelerin HPLC ile Analizi

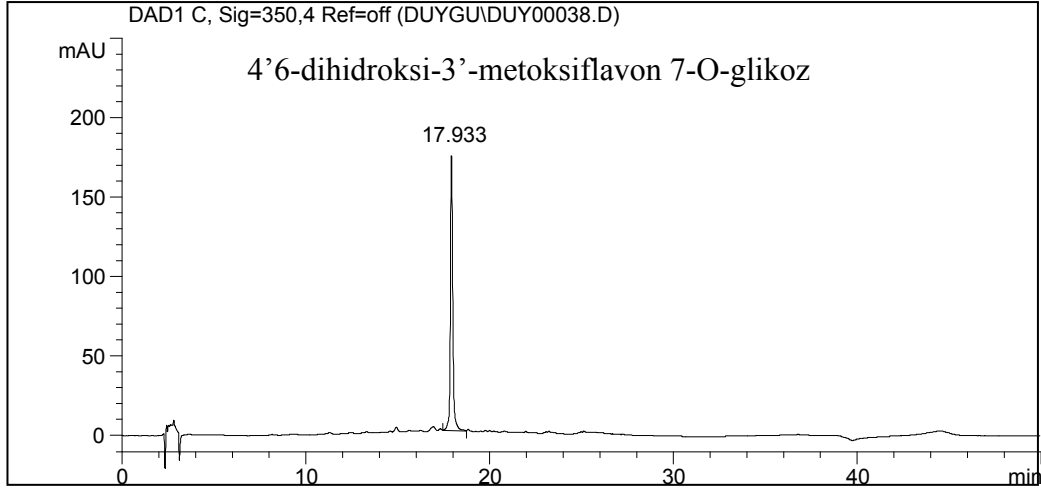
Bütün standart maddeler kalitatif olarak metanol/su (2:1) çözeltisinde çözülerek, 1,0/0,45 µm'lik enjektör uçlu mikro filtreden süzüldü ve HPLC'de analiz edildi. Aşağıda standartların kromatogramları ve spektrumları verilmiştir.



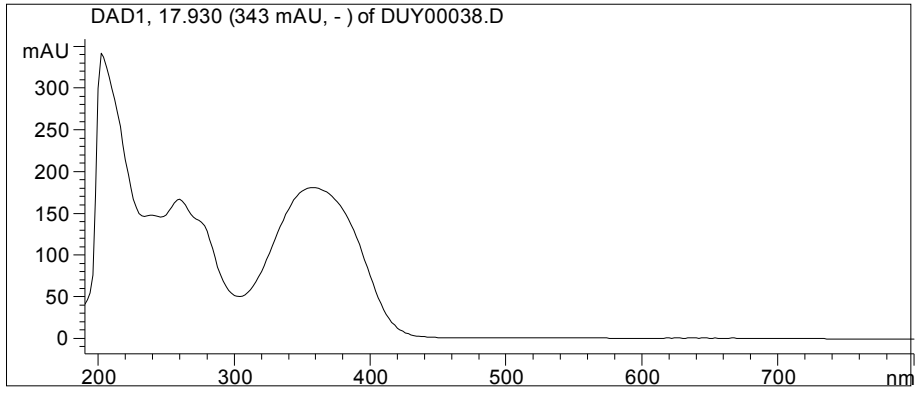
Şekil 4.1 Luteolin-7-galaktoz standartının kromatogramı



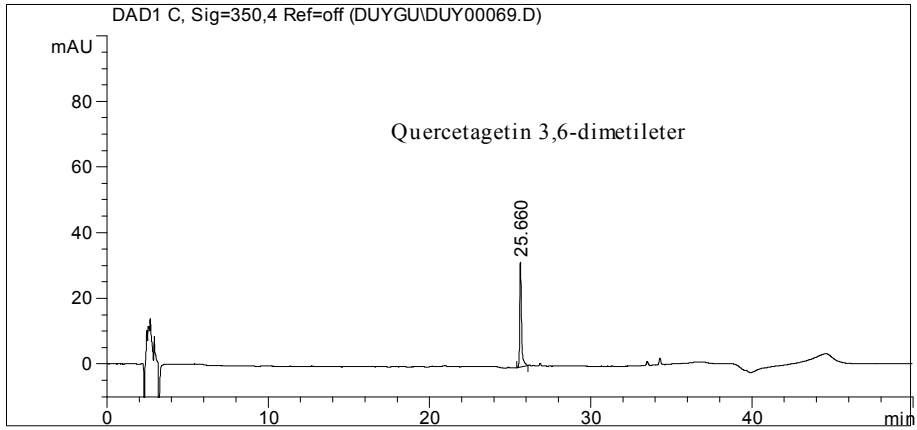
Şekil 4.2.Luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu



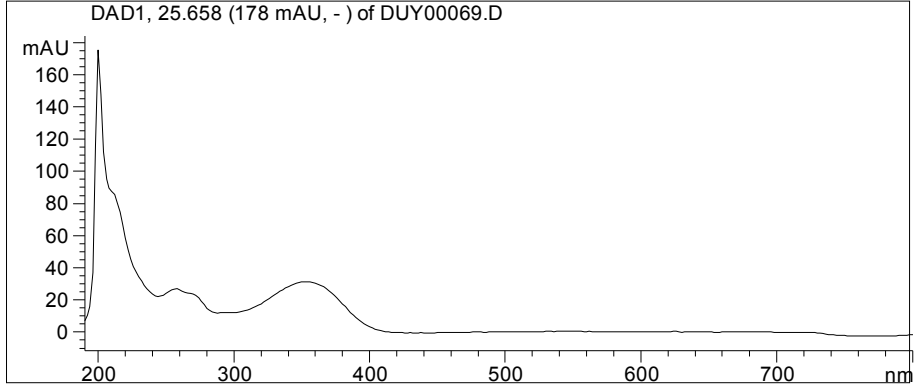
Şekil 4.3. 4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz standartının kromatogramı



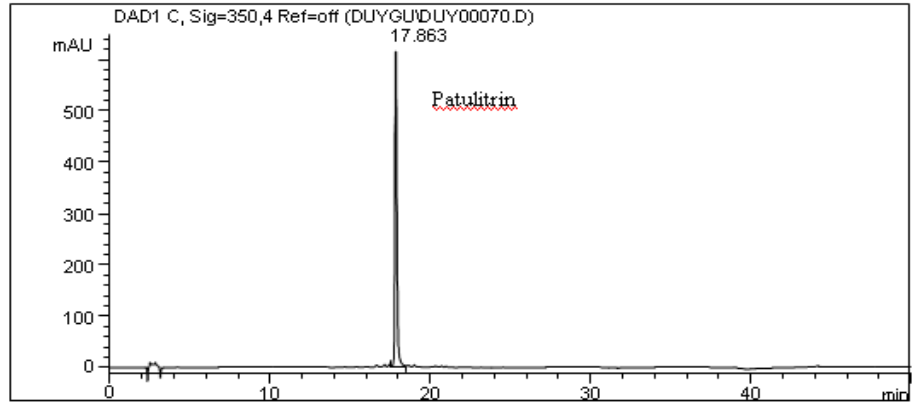
Şekil 4.4. 4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz standartının spektrumu



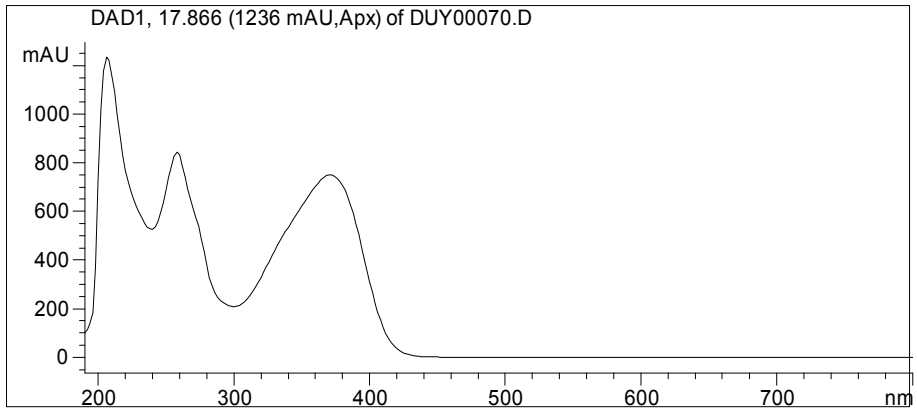
Şekil 4.5. Quercetağetin-3,6-dimetileter standartının kromatogramı



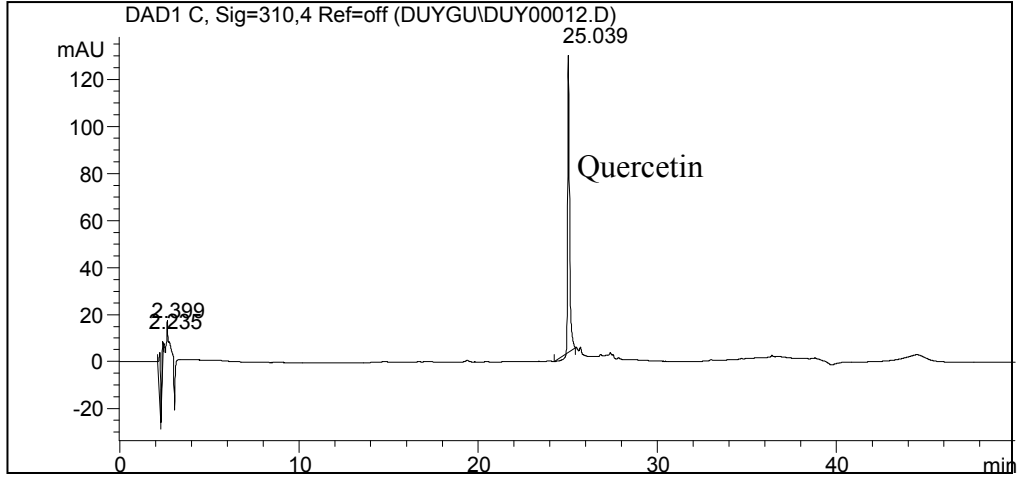
Şekil 4.6. Quercetagetin-3,6-dimetileter standartının spektrumu



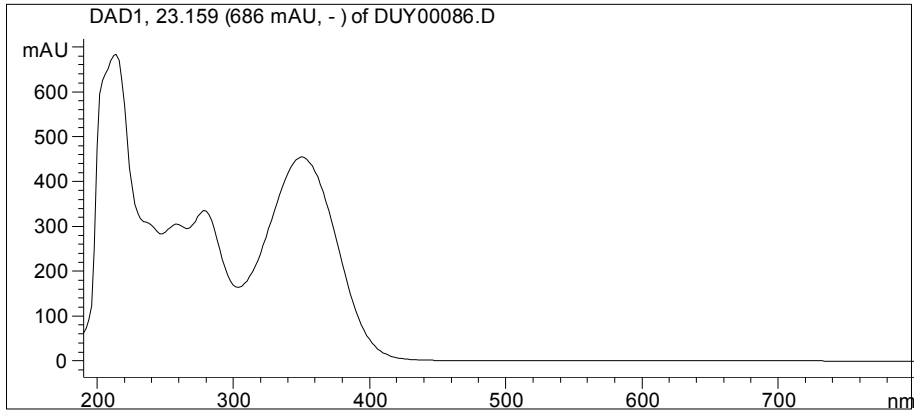
Şekil 4.7. Patulitrin standartının kromatogramı



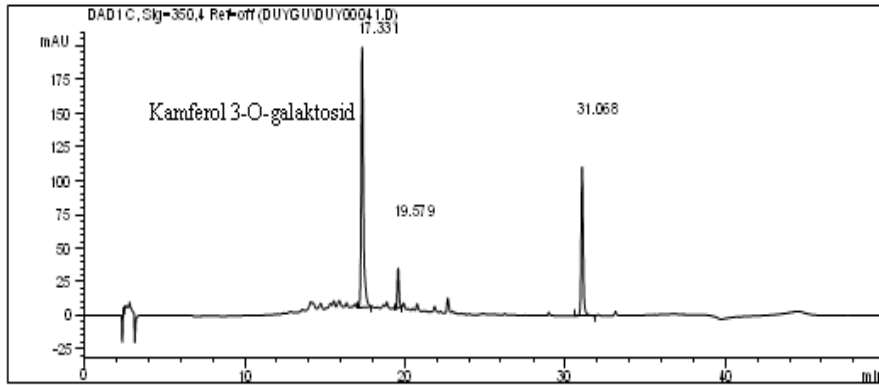
Şekil 4.8. Patulitrin standartının spektrumu



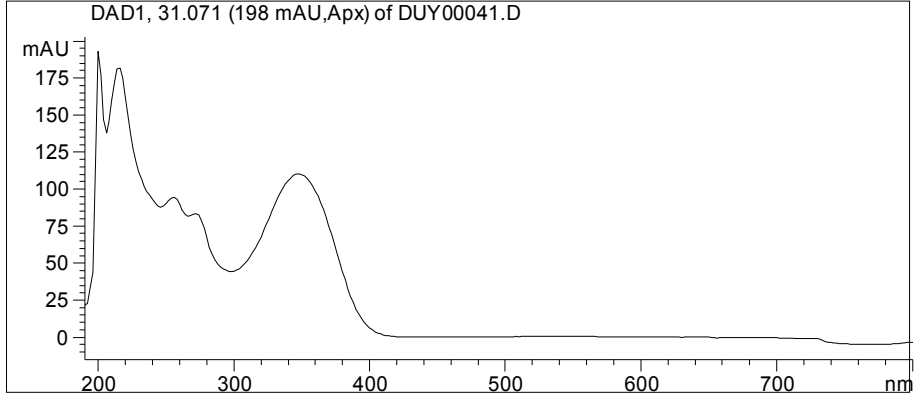
Şekil 4.9. Quercetin standartının kromatogramı



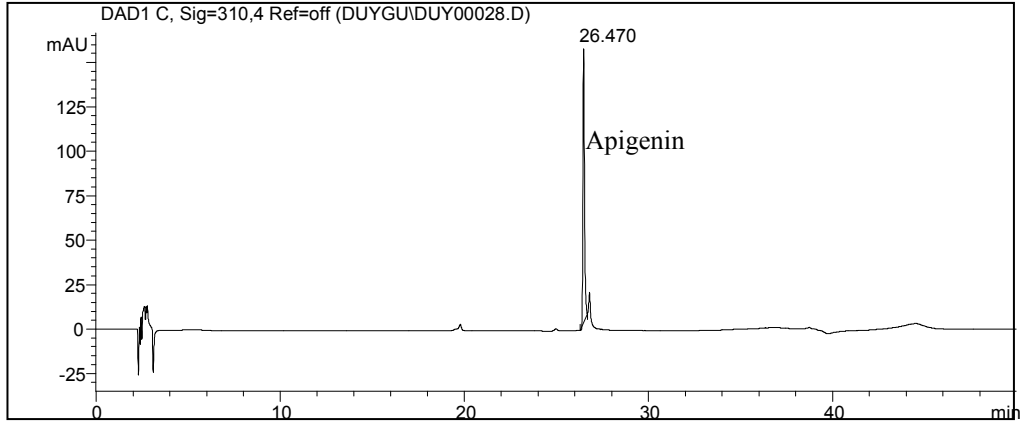
Şekil 4.10. Quercetin standartının spektrumu



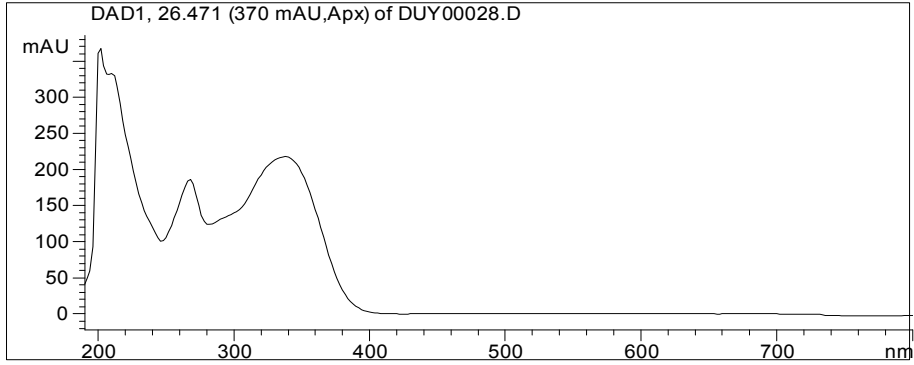
Şekil 4.11. Kamferol-3-O-galaktosid standartının kromatogramı



Şekil 4.12. Kamferol-3-O-galaktozit standartının spektrumu



Şekil 4.13. Apigenin standartının kromatogramı



Şekil 4.14. Apigenin standartının spektrumu

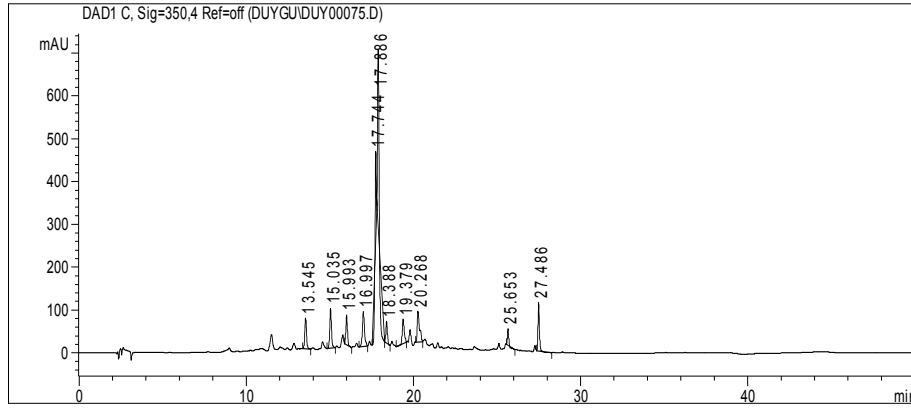
4.2. Sarı Civanperçemi Bitkisinin Ekstraksiyonu

Bitkinin yaprakları, gövdesi ve çiçek kısımları ayrıldı ve bir öğütücü ile ince toz haline gelinceye kadar öğütüldü. Bitkinin öğütülmüş çiçek kısmı metanolün % 100; 90; 70 (v/v) oranları ile ASE'de 40 °C'de ekstrakte edildi. Bitkinin öğütülmüş yaprak ve gövde kısımları ise metanolün % 70 (v/v) oranı ile ASE'de 40 °C'de ekstrakte edildi.

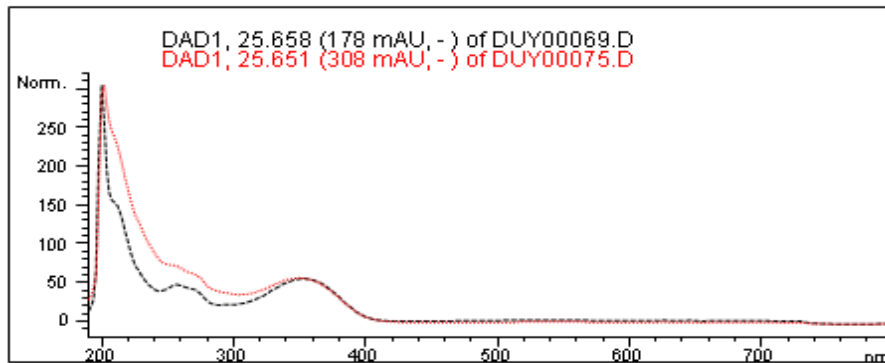
Bunun için 1 g kurutulmuş örnekler ASE cihazında ekstrakte edildi. Saf MeOH ile yapılan ekstraksiyonda bitkinin çiçek kısmı ile 1 kez ekstraksiyon yapılırken, % 90 ve % 70 MeOH (v/v) karışımlarıyla ise bitkinin çiçek, gövde ve yaprakları 3 kez ekstrakte edildi. Elde edilen ekstraktlar evaporatörde uçuruldu ve geriye kalan artıklar ise metanol/su (2:1) çözeltisinde çözüldü ve 1,0/0,45 µm'lik enjektör uçlu mikro filtreden geçirilerek HPLC'de analiz edildi.

4.2.1. Bitkinin öğütülmüş çiçek kısmının metanolün % 100; 90; 70 (v/v) oranları ile ekstraksiyonunun HPLC sonuçları

Metanolün % 100 (v/v) oranı ile bitkinin sadece çiçek kısmı ile yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktın kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de verilmiştir.



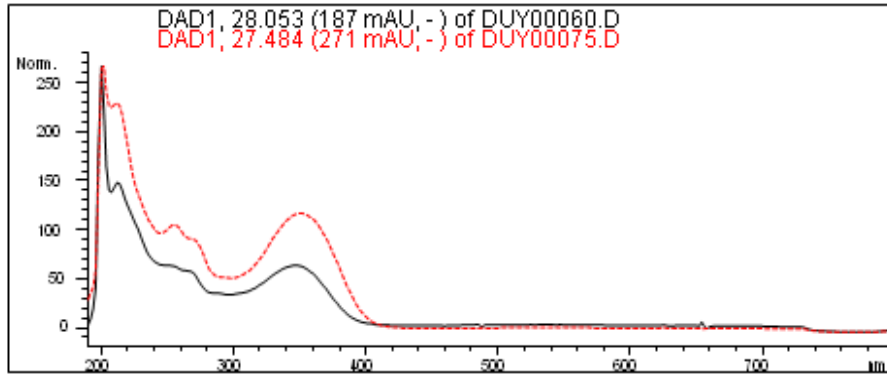
Şekil 4.15. Bitkinin saf MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı



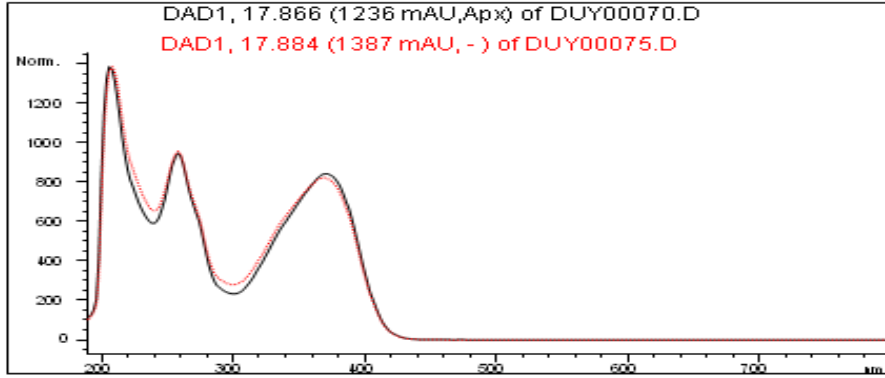
Şekil 4.16. Saf MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 25.651 olan pikin spektrumu ile quercetagen-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.16'daki A.Z.: 25.651 olan pikin spektrumu.)

(_____ : quercetagen-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

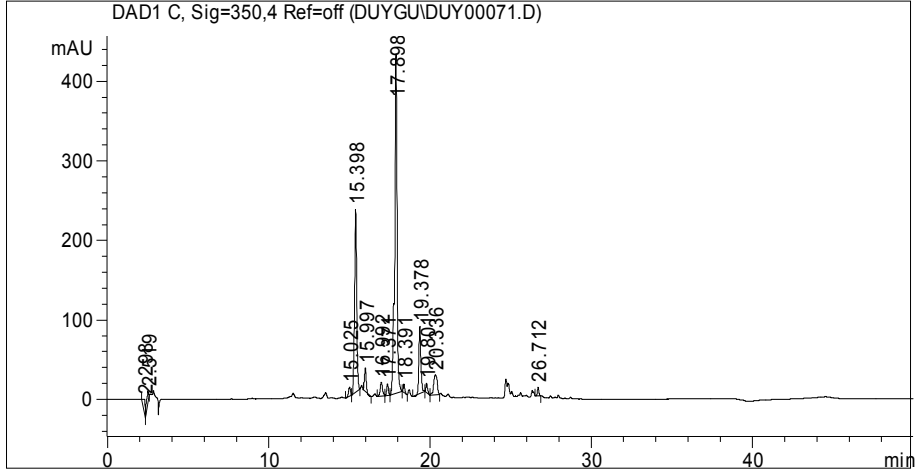


Şekil 4.17. Saf MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 27.484 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.17'deki A.Z.: 27.484 olan pikin spektrumu.)
(_____ : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

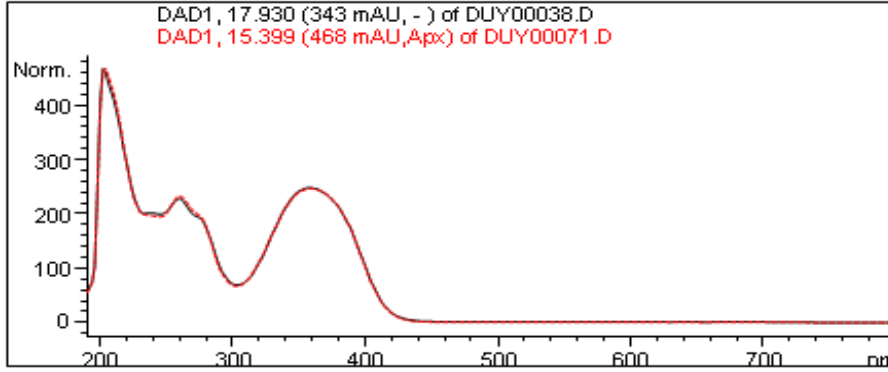


Şekil 4.18. Saf MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.884 olan pikin spektrumu ile patulitrin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.18'deki A.Z.: 17.884 olan pikin spektrumu.)
(_____ : patulitrin standartının spektrumu.)

Metanolün % 90 (v/v) oranı ile bitkinin çiçek kısmı ile yapılan ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktın kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.19, Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23'de verilmiştir.



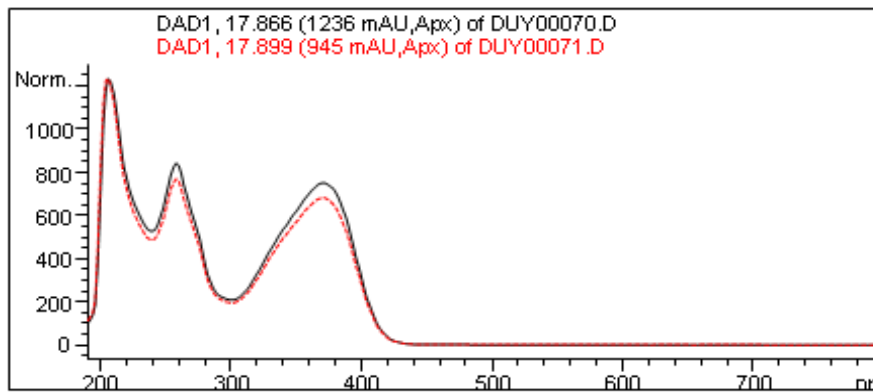
Şekil 4.19. Bitkinin % 90 MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı



Şekil 4.20. % 90 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 15.399 olan pikin spektrumu ile 4'-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(--- : Şekil 4.20'deki A.Z.: 15.399 olan pikin spektrumu.)

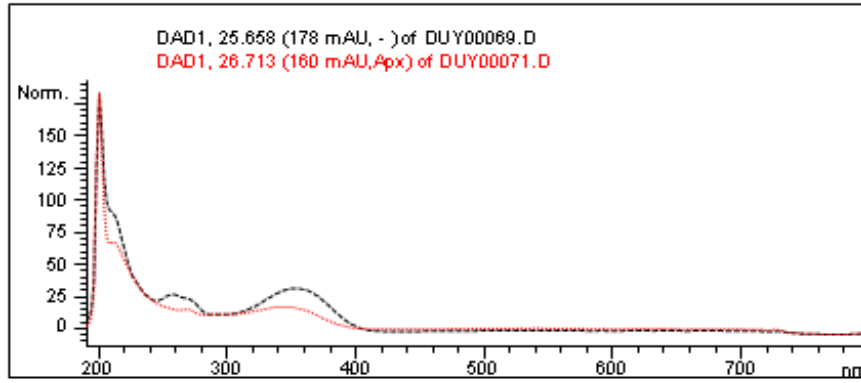
(— : 4'-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz standartının spektrumu.)



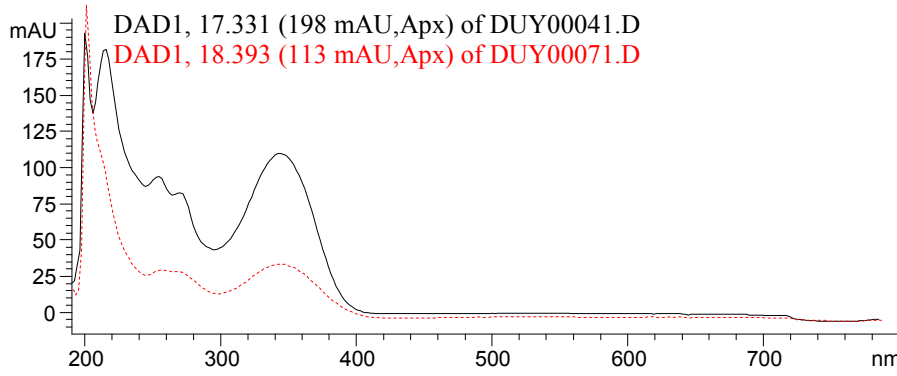
Şekil 4.21. % 90 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.899 olan pikin spektrumu ile patulitrin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(--- : Şekil 4.21'deki A.Z.: 17.899 olan pikin spektrumu.)

(— : patulitrin standartının spektrumu.)

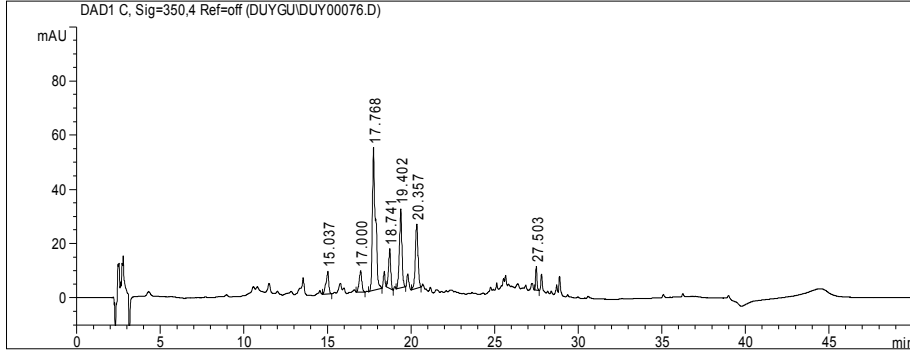


Şekil 4.22. % 90 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 26.713 olan pikin spektrumu ile quercetağetin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.22'deki A.Z.: 26.713 olan pikin spektrumu.)
(_____ : quercetağetin-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

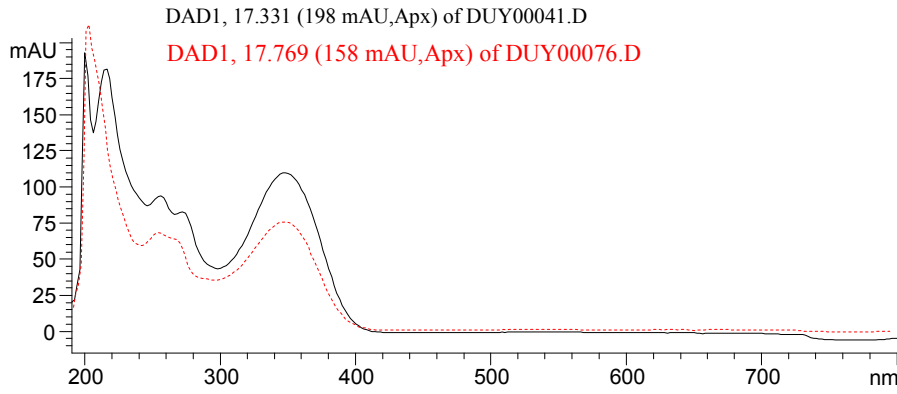


Şekil 4.23. % 90 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 18.393 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.23'deki A.Z.: 18.393 olan pikin spektrumu.)
(_____ : kamferol-3-O-galaktoz standartının spektrumu.)

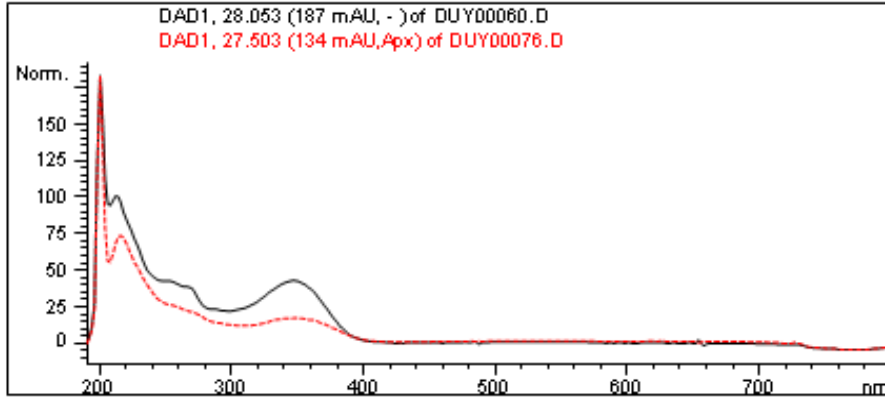
Metanolün %70 (v/v) oranı ile bitkinin çiçek kısmı ile yapılan ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktın kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.24, Şekil 4.25 ve Şekil 4.26'da verilmiştir.



Şekil 4.24. Bitkinin % 70 MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı

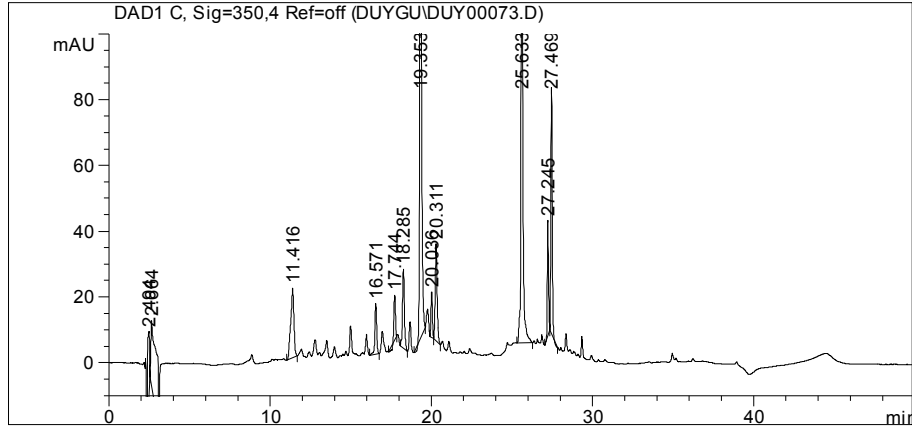


Şekil 4.25. % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.769 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.25'deki A.Z.: 17.769 olan pikin spektrumu.)
(_____ : kamferol-3-O-galaktoz standartının spektrumu.)

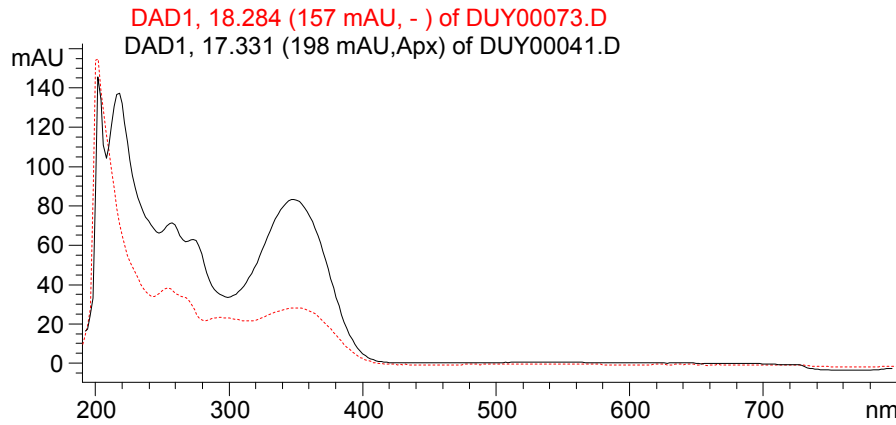


Şekil 4.26. Bitkinin % 70 MeOH ile elde bitki ekstraktındaki A.Z.: 27.503 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.26'daki A.Z.: 27.503 olan pikin spektrumu.)
(_____ : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

Bitkinin öğütölmüş yapraklarının metanolün % 70 (v/v) oranı ile ekstraksiyonunun kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.27, Şekil 4.28, Şekil 4.29, Şekil 4.30 ve Şekil 4.31’de verilmiştir.



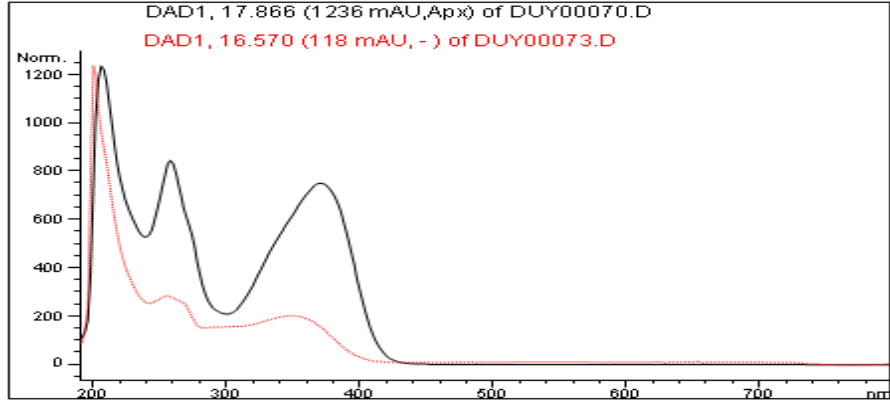
Şekil 4.27. Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı



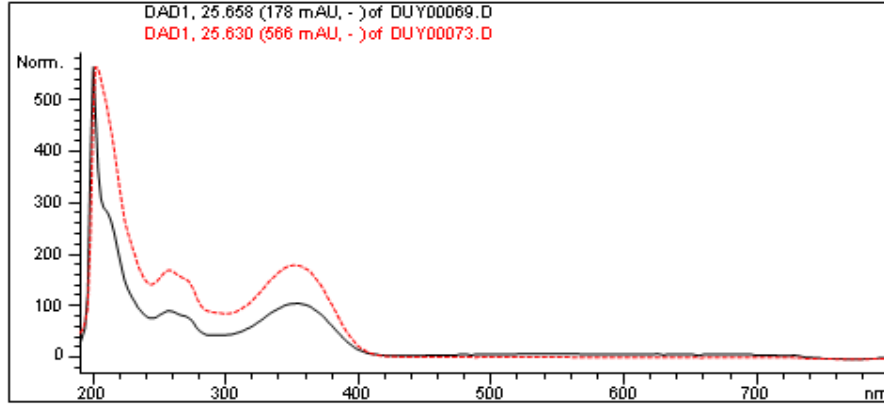
Şekil 4.28. Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 18.284 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.28’deki A.Z.: 18.284 olan pikin spektrumu.)

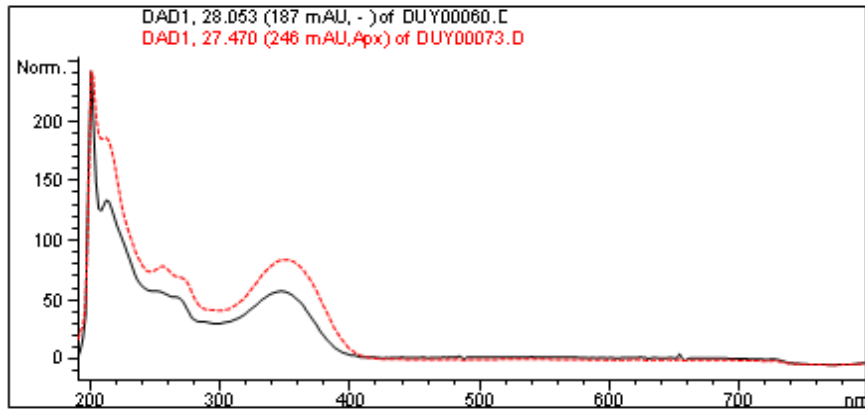
(_____ : kamferol-3-O-galaktoz standartının spektrumu.)



Şekil 4.29. Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 16.570 olan pikin spektrumu ile patulitrin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.29'daki A.Z.: 16.570 olan pikin spektrumu.)
(_____ : patulitrin standartının spektrumu.)



Şekil 4.30. Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 25.630 olan pikin spektrumu ile quercetagetin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.30'daki A.Z.: 25.630 olan pikin spektrumu.)
(_____ : quercetagetin-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

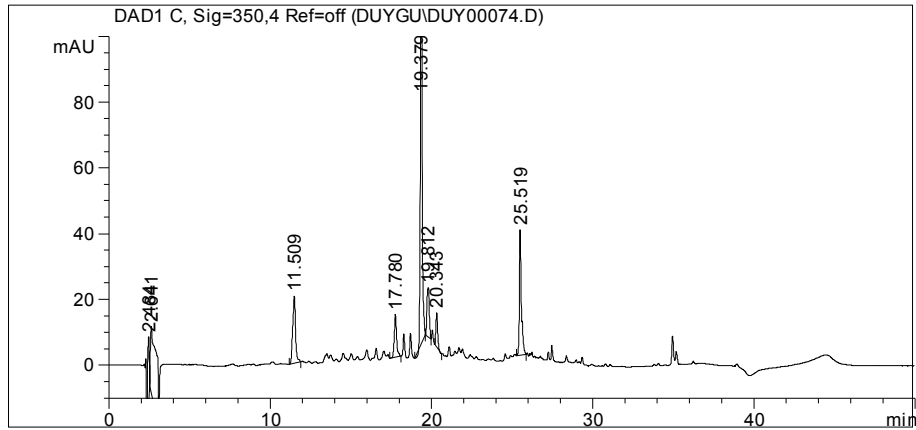


Şekil 4.31. Bitkinin yapraklarının % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 27.470 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

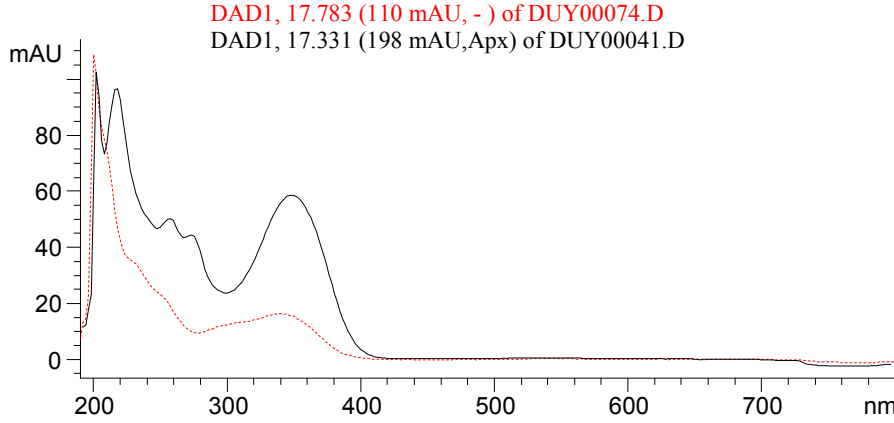
(---- : Şekil 4.31'deki A.Z.: 27.470 olan pikin spektrumu.)

(_____ : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

Bitkinin öğütülmüş gövdesinin metanolün % 70 (v/v) oranı ile ekstraksiyonunun kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.32 ve Şekil 4.33'de verilmiştir.



Şekil 4.32. Bitkinin gövdesinin % 70 MeOH ile elde edilen ekstraktının kromatogramı



Şekil 4.33. Bitkinin gövdesinin % 70 MeOH ile elde edilen bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.783 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.33'deki A.Z.: 17.783 olan pikin spektrumu.)

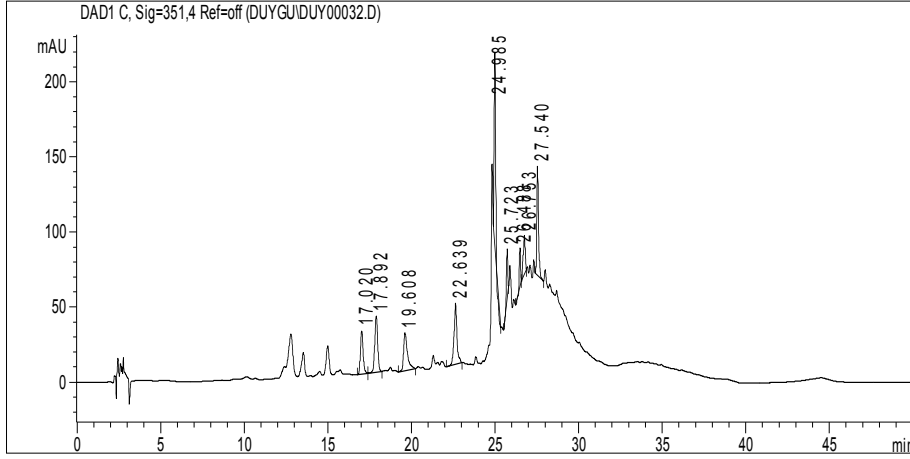
(_____ : kamferol-3-O-galaktoz standartının spektrumu.)

4.3. Sarı Civanperçemi Bitkisinin Hidrolizi

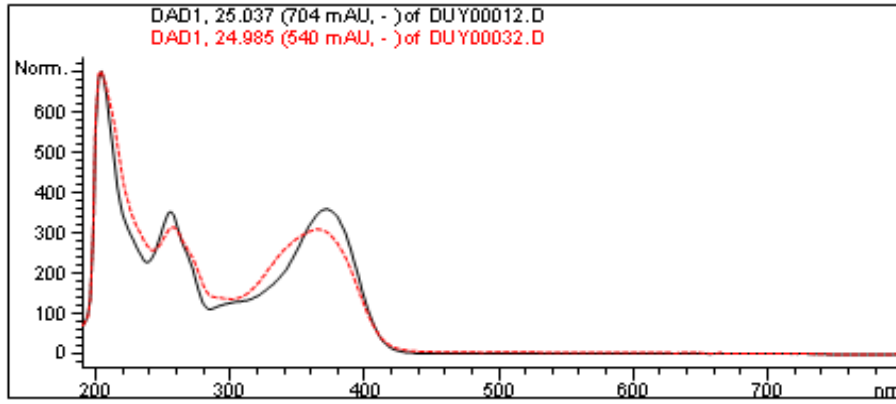
Bitki 1,2 M ve 3,5 M asit ile hidroliz edildi. 1,2 M asit hidrolizi hem bitkinin bütünüyle hem de bitkinin sadece öğütülmüş çiçek kısmı ile yapıldı. Bunun için bitkinin bütününden 2 g tartıldı ve son derişimi % 50 metanol ve 1,2 M HCl olacak şekilde 100 °C'de yarım saat boyunca ekstrakte edildi. Elde edilen hidrolizatın 3 mL'si kapsül içinde bir beher üstünde uçuruldu. Geriye kalan artık 3 mL metanol/su (2:1) çözeltisinde çözüldü ve 1,0/0,45 µm'lik enjektör uçlu mikro filtreden geçirilerek HPLC'de analiz edildi.

Bitkinin çiçek kısmı ile yapılan hidrolizinde ise; 1 g bitki tartıldı son derişimi % 95 metanol ve 1,2 M HCl ve yine % 95 metanol, 3,5 M HCl olacak şekilde 40 °C'de yarım saat hidroliz edildi. Elde edilen hidrolizatın 3 mL'si kapsül içinde bir beher üstünde uçuruldu. Artık 3 mL metanol/su (2:1) çözeltisinde çözüldü ve 1,0/0,45 µm'lik enjektör uçlu mikro filtreden geçirilerek HPLC'de analiz edildi.

3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.34, Şekil 4.35, Şekil 4.36, Şekil 4.37 ve Şekil 4.38'de verilmiştir.



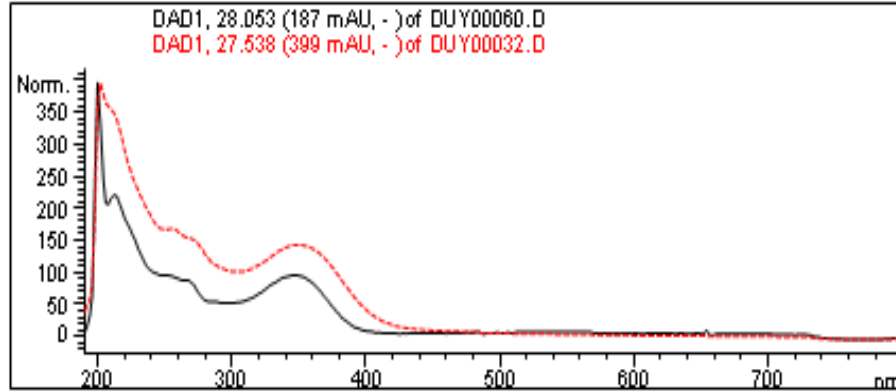
Şekil 4.34. 3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktının kromatogramı



Şekil 4.35. 3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktındaki A.Z.: 24.985 olan pikin spektrumu ile quercetin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.35'deki A.Z.: 24.985 olan pikin spektrumu.)

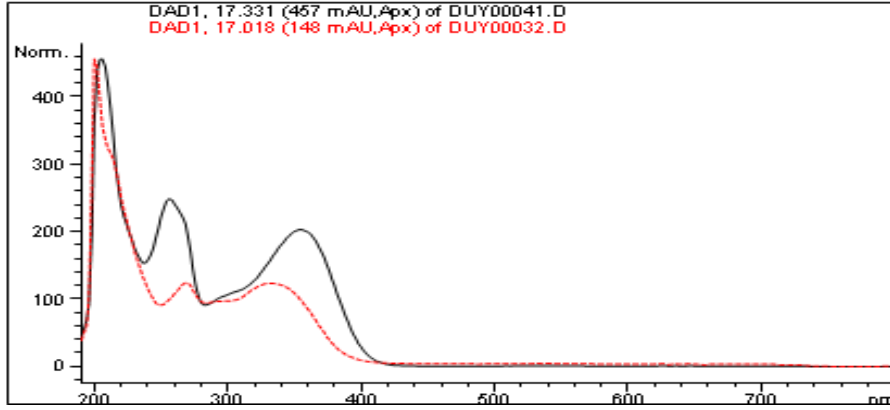
(_____ : quercetin standartının spektrumu.)



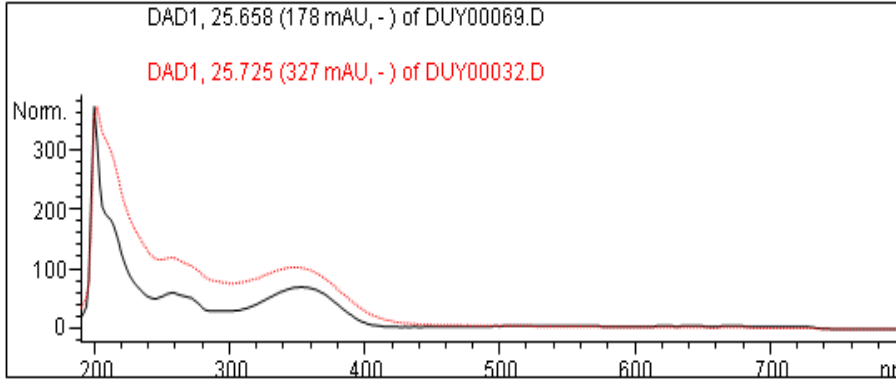
Şekil 4.36. 3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktındaki A.Z.: 27.538 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.36'daki A.Z.: 27.538 olan pikin spektrumu.)

(_____ : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

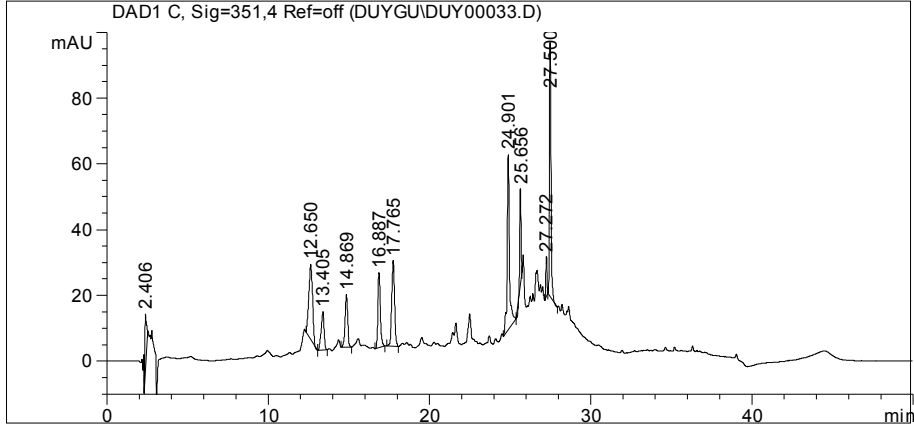


Şekil 4.37. 3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktındaki A.Z.: 17.018 olan pikin spektrumu ile kamferol-3-O galaktosid standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.37'deki A.Z.: 17.018 olan pikin spektrumu.)
(— : kamferol-3-O-galaktosid standartının spektrumu.)

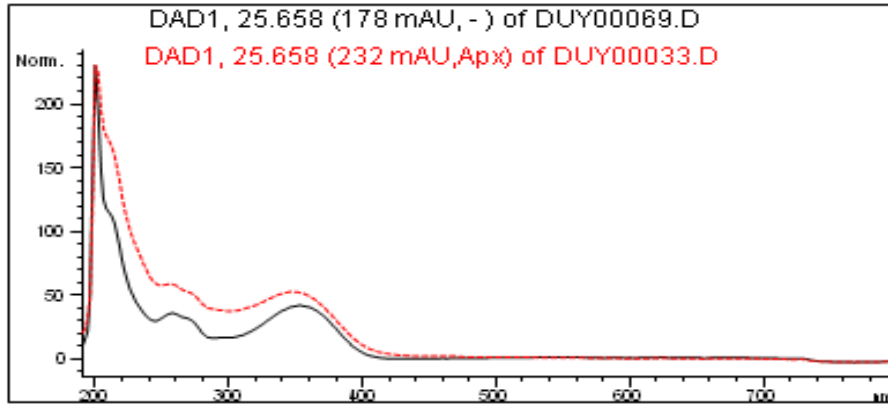


Şekil 4.38. 3,5 M asit ile hidroliz edilmiş bitki ekstraktındaki A.Z.: 25.725 olan pikin spektrumu ile quercetağetin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.38'deki A.Z.: 25.725 olan pikin spektrumu.)
(— : quercetağetin-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki çiçeği ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.39, Şekil 4.40 ve Şekil 4.41'de verilmiştir.



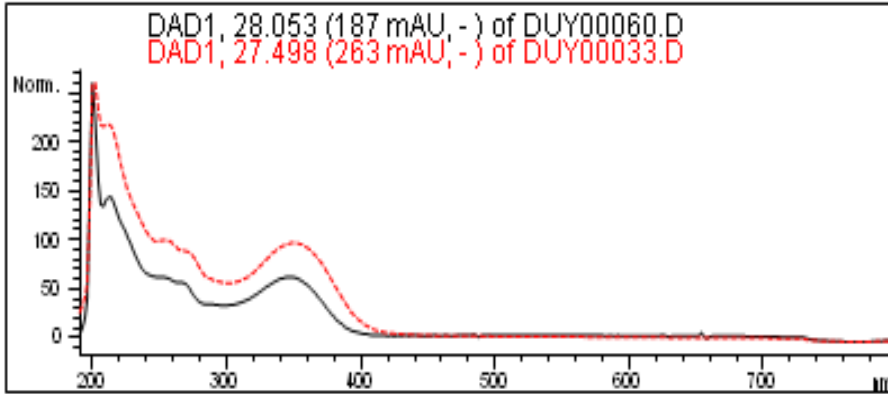
Şekil 4.39. 1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitkinin çiçek kısmının ekstraktının kromatogramı



Şekil 4.40. 1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki çiçeği ekstraktındaki A.Z.: 25.658 olan pikin spektrumu ile quercetagen-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.43'deki A.Z.: 25.658 olan pikin spektrumu.)

(_____ : quercetagen-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

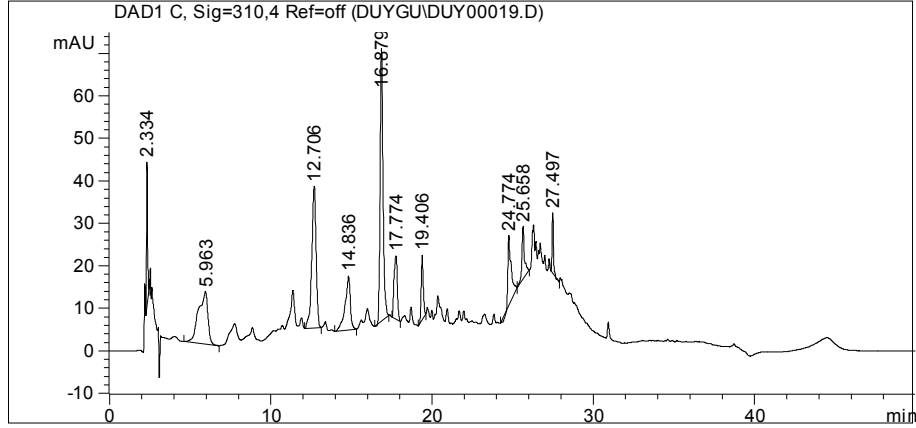


Şekil 4.41. 1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki çiçeği ekstraktındaki A.Z.: 27.498 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

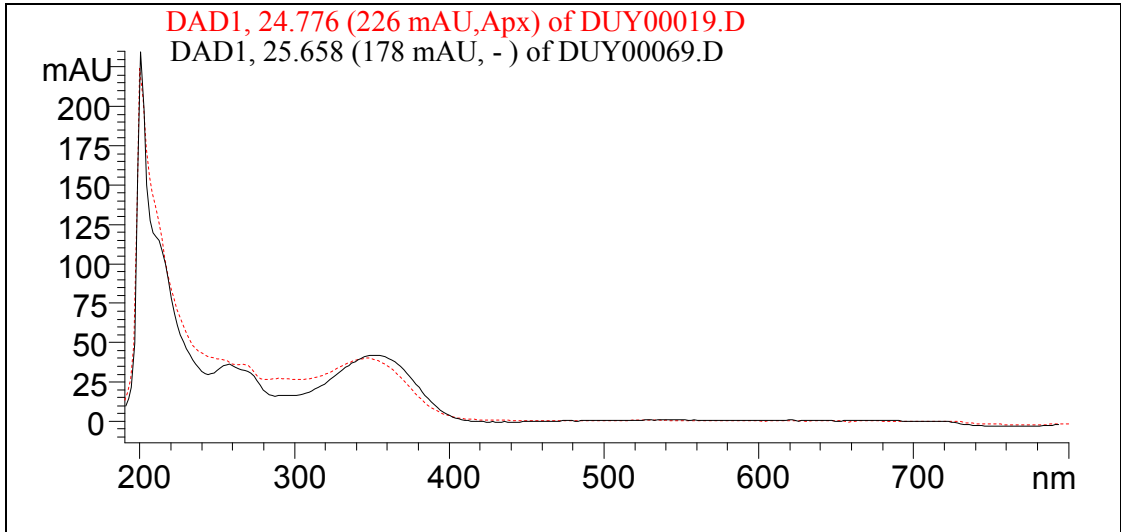
(---- : Şekil 4.41'deki A.Z.: 27.498 olan pikin spektrumu.)

(_____ : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki bütünüün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.42, Şekil 4.43 ve Şekil 4.44’de verilmiştir.



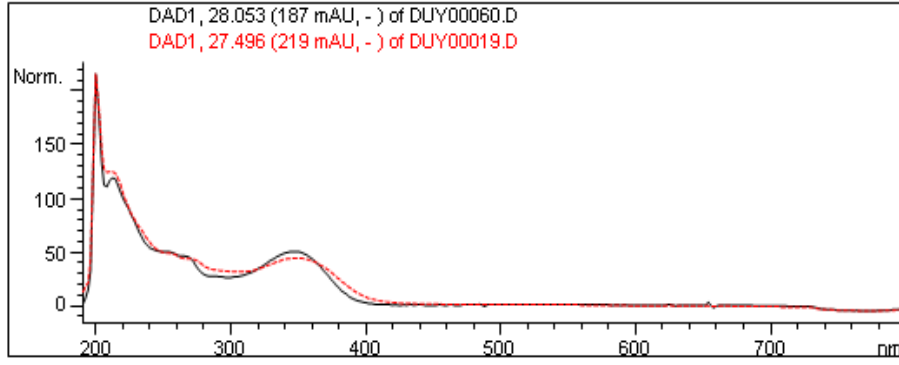
Şekil 4.42. 1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitkinin tamamının ekstraktının kromatogramı



Şekil 4.43. 1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki tamamının ekstraktındaki A.Z.: 24.776 olan pikin spektrumu ile quercetagetin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.43’deki A.Z.: 24.776 olan pikin spektrumu.)

(_____ : quercetagetin-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

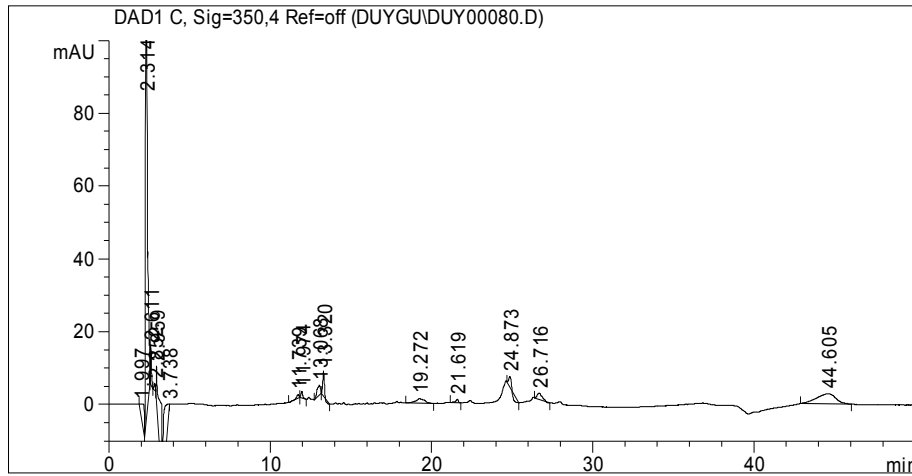


Şekil 4.44. 1,2 M asit ile hidroliz edilmiş bitki tamamının ekstraktındaki A.Z.: 27.496 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.
(---- : Şekil 4.47'deki A.Z.: 27.496 olan pikin spektrumu.)
(_____ : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

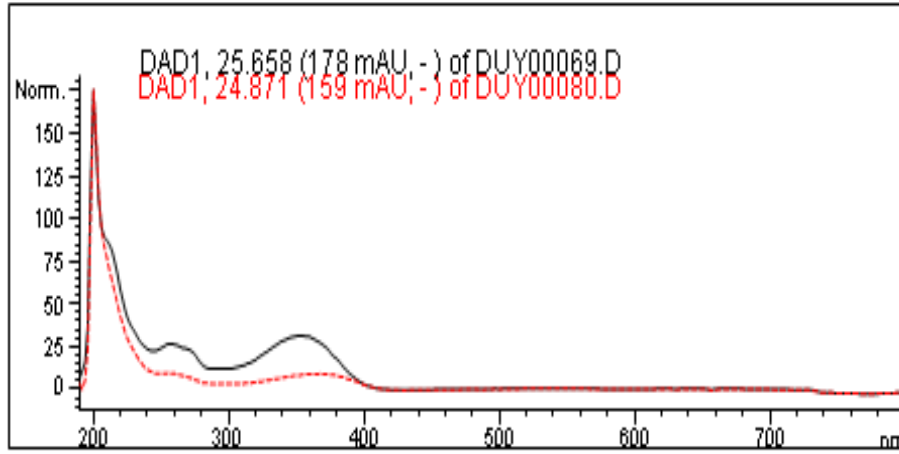
4.4. Pigment Oluşumları

4.4.1. Alüminyum-sarı civanperçemi pigmentinin HPLC ile analizi

Alüminyum kompleksinin HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki alıkonma zamanı 24.871 olan pike ait spektrum ile standart maddenin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.45 ve Şekil 4.46'da verilmiştir.



Şekil 4.45. Al kompleksinin kromatogramı



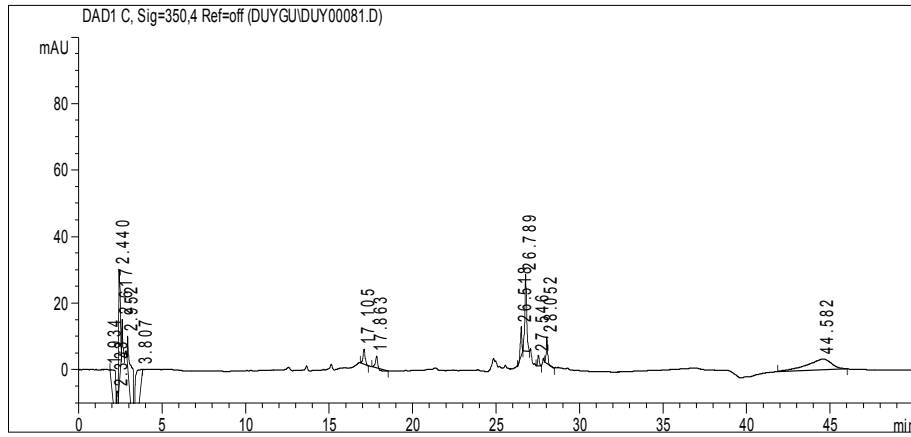
Şekil 4.46. Alüminyum kompleksinin A.Z.: 24.871 olan pikin spektrumu ile quercetagetin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(--- : Şekil 4.46'daki A.Z.: 24.871 olan pikin spektrumu.)

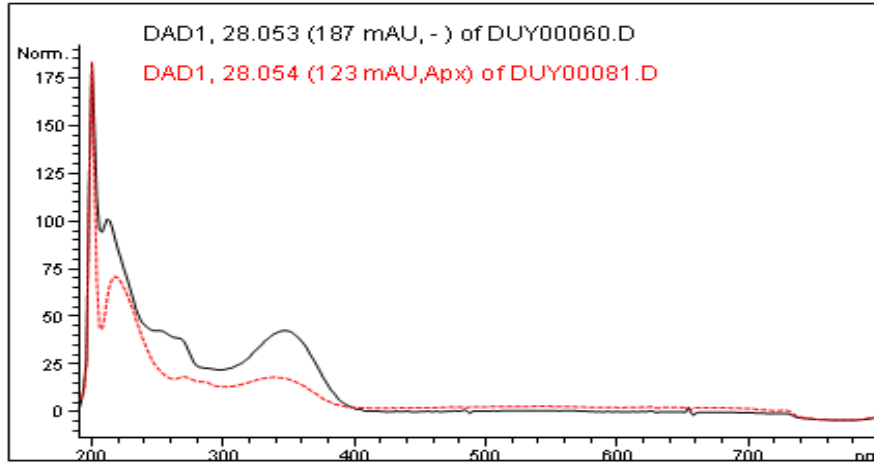
(____ : quercetagetin-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

4.4.2. Kalay-sarı civanperçemi pigmentinin HPLC ile analizi

Kalay kompleksinin HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.47, Şekil 4.48, Şekil 4.49 ve Şekil 4.50'de verilmiştir.



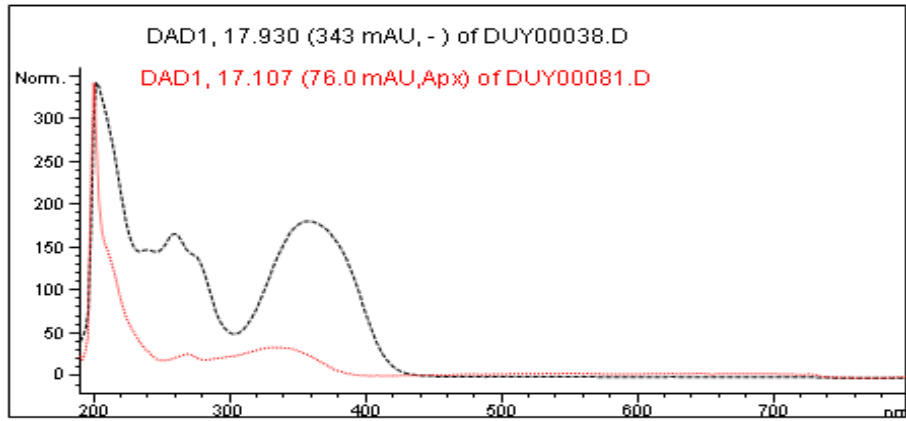
Şekil 4.47. Sn kompleksinin kromatogramı



Şekil 4.48. Kalay kompleksinin A.Z.: 28.054 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.48'deki A.Z.: 28.054 olan pikin spektrumu.)

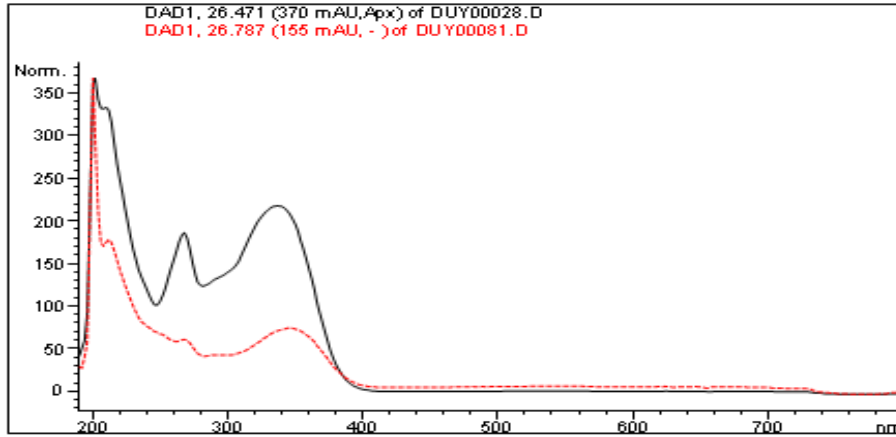
(_____ : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)



Şekil 4.49. Kalay kompleksinin A.Z.: 17.107 olan pikin spektrumu ile 4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.49'deki A.Z.: 17.107 olan pikin spektrumu.)

(_____ : 4'6-dihidroksi-3'-metoksiflavon-7-O-glikoz standartının spektrumu.)



Şekil 4.50. Kalay kompleksinin A.Z.: 26.787 olan pikin spektrumu ile Apigenin standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.50'deki A.Z.: 26.787 olan pikin spektrumu.)

(_____ : Apigenin standartının spektrumu.)

4.5. Sarı Civanperçemi Bitkisi ile Mordanlı Yün Boyama

Boyama için bitkinin çiçek kısmı ve bitkinin bütünü ayrı ayrı alınarak ve farklı mordanlar kullanılarak mordanlı yün boyama yapıldı.

4.5.1. Demir ile mordanlı yün boyama

Yüne göre ağırlıkça % 60'lık $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ çözeltisine 2,5 g yün eklendi. 100 °C'de 60 dakika mordanlandı. Mordanlanan yün açık havada, gölgede bir gün boyunca kurumaya bırakıldı.

4.5.2. Şap ile mordanlı yün boyama

Yüne göre ağırlıkça % 40'lık $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ çözeltisine 2,5 g yün eklendi. 100 °C'de 60 dakika mordanlandı. Mordanlanan yün açık havada gölgede bir gün boyunca kurumaya bırakıldı.

4.5.3. Kalay ile mordanlı yün boyama

Yüne göre ağırlıkça % 80 'lik $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisine 2,5 g yün eklendi. 100 °C'de 60 dakika mordanlandı. Mordanlanan yün açık havada gölgede 1 gün boyunca kurumaya bırakıldı.

4.6. Mordanlanmış Yünlerin Boyama İşlemi

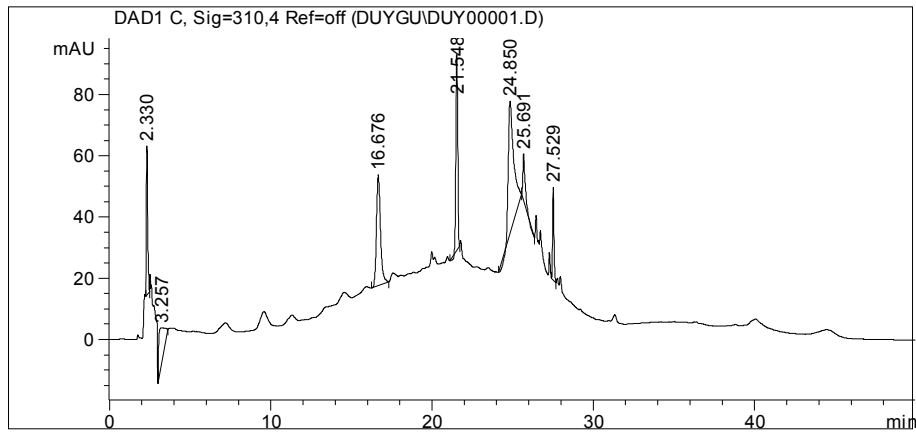
Boyama için önce yün miktarının % 60'ı kadar toz haline getirilmiş sarı civanperçemi bitkisinin çiçekleri ve bitkinin bütünü, hazırlanan 1/60 (1 kg yün için 60 L) boya banyosu içine ilave edildi. Bu çözeltiye demir, şap ve kalay ile mordanlanmış yünler eklendi. 100 °C'de 30 dakika sürede boyama işlemi yapıldı.

Boyanan yünler boyama banyosundan çıkarılarak yıkandı ve açık havada gölgede kurumaya bırakıldı.

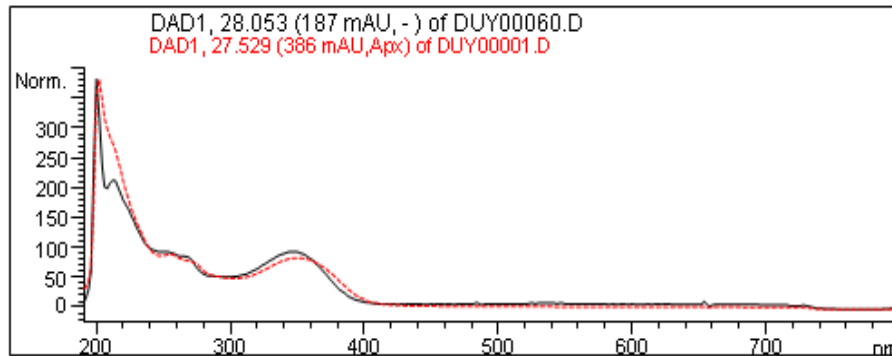
4.7. Boyanmış Yünlerin HPLC ile Analizi

Boyanmış yünlerin her birinden birer g tartıldı. Yünlere 6,2'şer mL % 37 HCl:MeOH:H₂O (2:1:1) (v/v/v) çözeltisi eklendi ve 100 °C'de 10 dakika ekstrakte edildi. Daha sonra ekstraktlar hemen soğutulup, 3'er mL'leri bir kapsül içinde beher üzerinde uçuruldu. Artık 3 mL metanol/su (2:1) çözeltisinde çözüldü ve 1,0/0,45 µm'lik enjektör uçlu mikro filtreden geçirilerek HPLC'de analiz edildi.

Şap ile mordanlanıp, bitkinin tamamı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.51, Şekil 4.52, Şekil 4.53 ve Şekil 4.54'de gösterilmiştir.



Şekil 4.51. Şap ile boyanmış yünün kromatogramı (bitkinin tamamı)

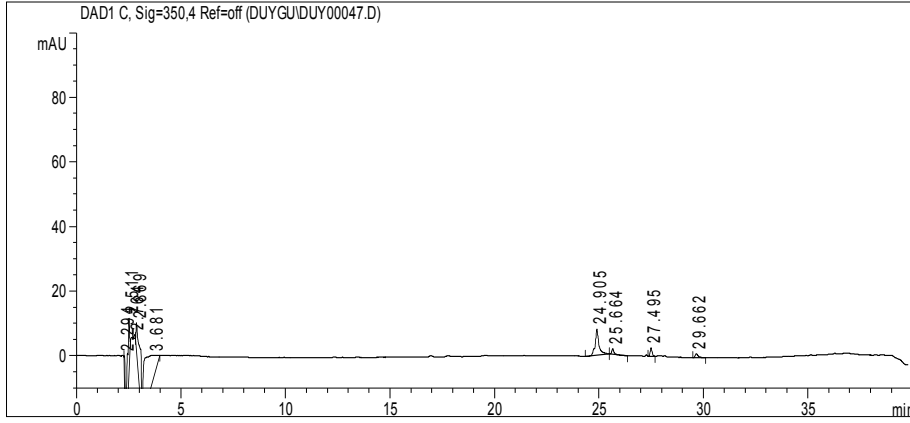


Şekil 4.52. Şap ile boyanmış yünün A.Z.: 27.529 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

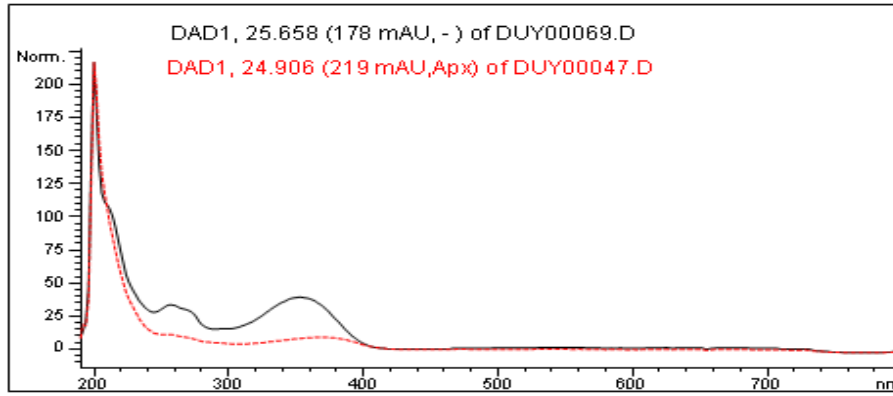
(--- : Şekil 4.52'deki A.Z.: 27.529 olan pikin spektrumu.)

(— : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

Şap ile mordanlanıp, bitkinin çiçek kısmı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması aşağıdaki şekillerde verilmiştir.



Şekil 4.53. Şap ile boyanmış bitkinin çiçeğinin kromatogramı

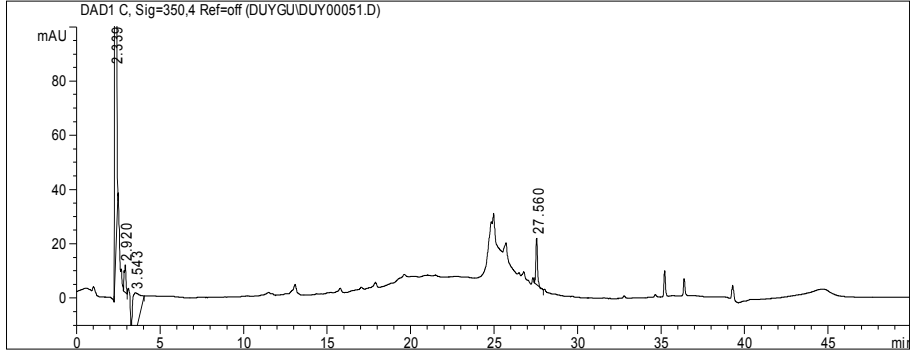


Şekil 4.54. Şap ile boyanmış yünün A.Z.: 24.906 olan pikin spektrumu ile quercetağetin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

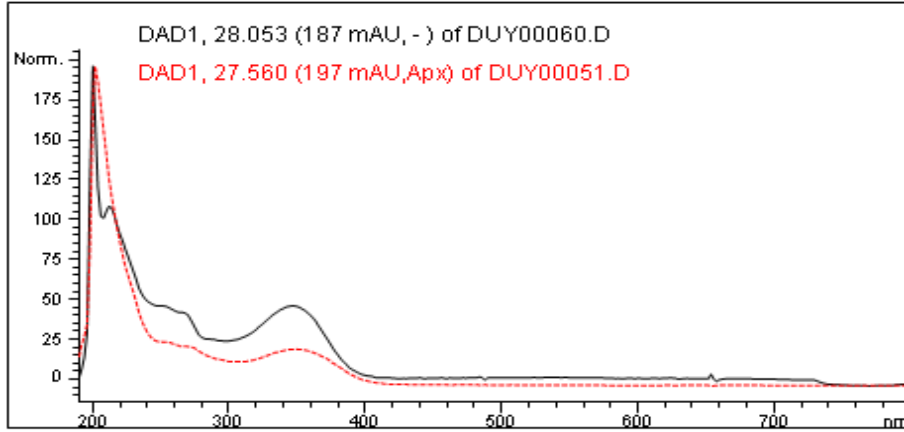
(---- : Şekil 4.54'deki A.Z.: 24.906 olan pikin spektrumu.)

(---- : quercetağetin-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

Kalay ile mordanlanıp, bitkinin çiçek kısmı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.55 ve Şekil 4.56'da gösterilmiştir.



Şekil 4.55. Kalay ile boyanmış bitkinin çiçeğinin kromatogramı

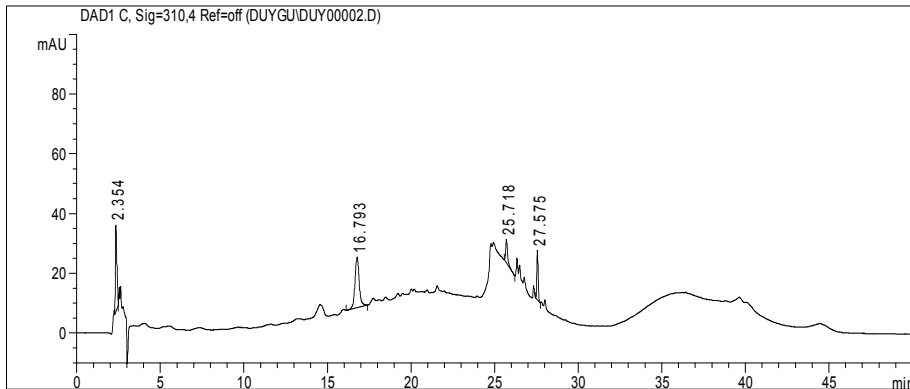


Şekil 4.56. Kalay ile boyanmış yünün çiçek A.Z.: 27.560 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

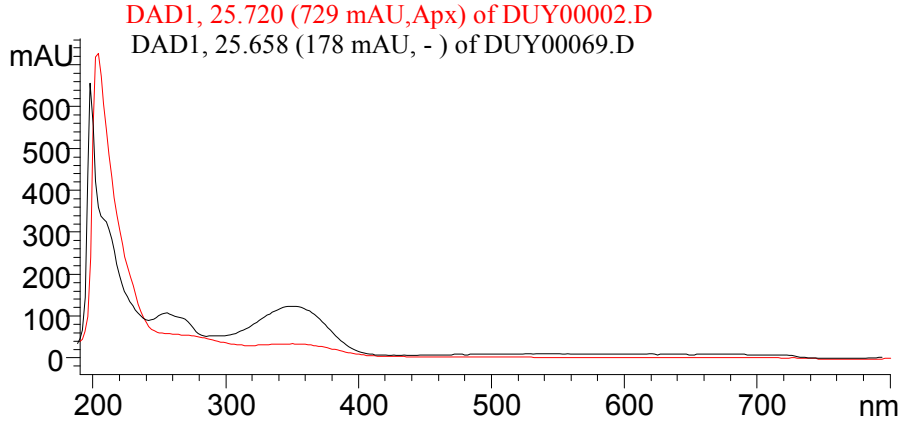
(---- : Şekil 4.56'daki A.Z.: 27.560 olan pikin spektrumu.)

(_____ : luteolin-7-galaktoz standatının spektrumu.)

Kalay ile mordanlanıp, bitkinin tamamı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.57, Şekil 4.58 ve Şekil 4.59'da gösterilmiştir.



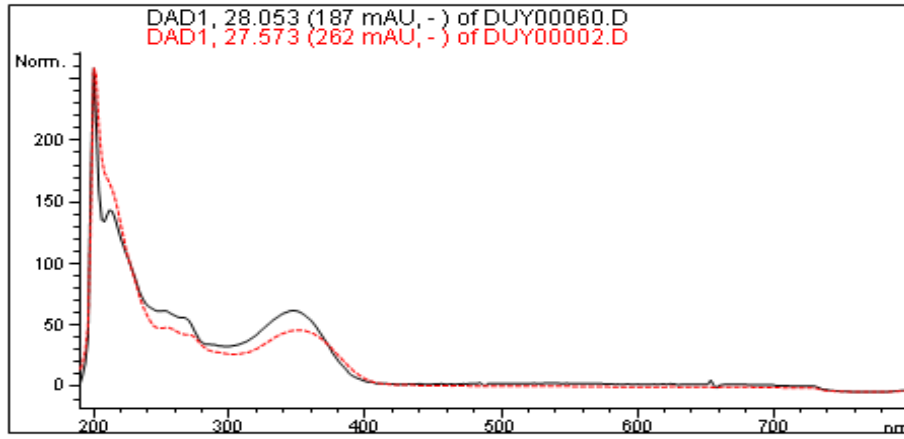
Şekil 4.57. Kalay ile boyanmış bitkinin bütününün kromatogramı



Şekil 4.58. Kalay ile boyanmış yünün tamamı A.Z.: 25.720 olan pikin spektrumu ile quercetagetin-3,6-dimetil eter standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(---- : Şekil 4.58'deki A.Z.: 25.720 olan pikin spektrumu.)

(____ : quercetagetin-3,6-dimetil eter standartının spektrumu.)

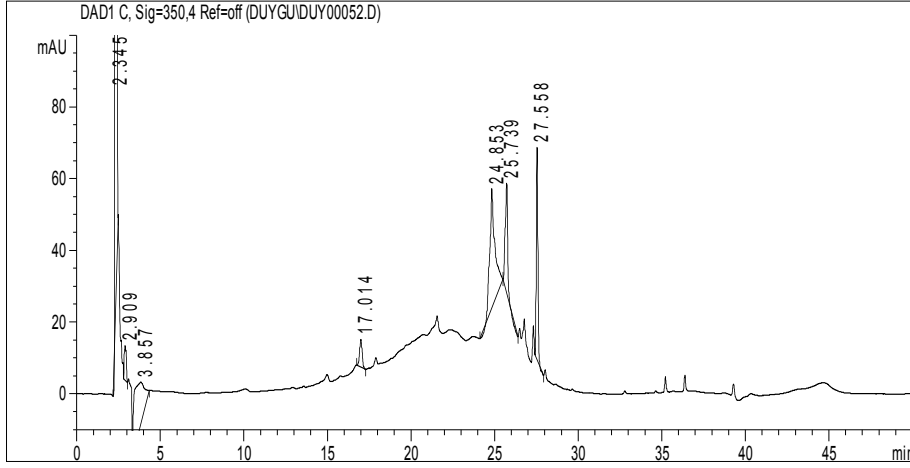


Şekil 4.59. Kalay ile boyanmış yünün tamamı A.Z.: 27.573 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

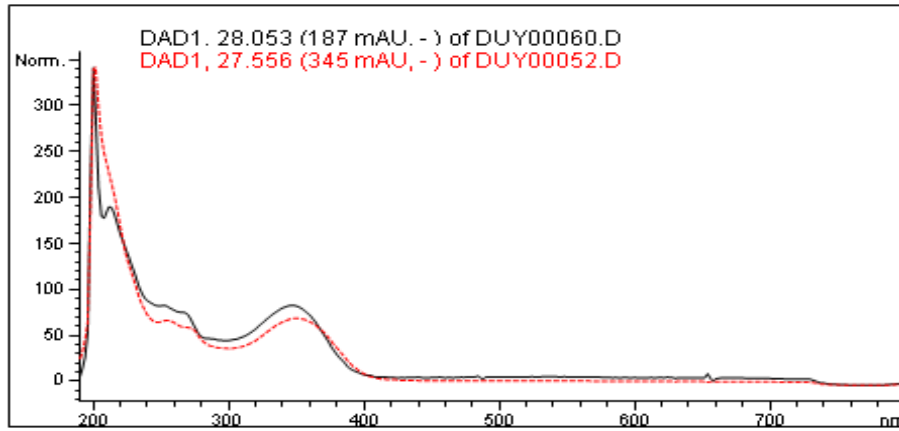
(---- : Şekil 4.59'daki A.Z.: 27.573 olan pikin spektrumu.)

(____ : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

Demir ile mordanlanıp, bitkinin sadece çiçek kısmı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı ve bu kromatogramdaki piklere ait spektrumlar ile standart maddelerin spektrumlarının karşılaştırılması Şekil 4.60 ve Şekil 4.61'de verilmiştir.



Şekil 4.60. Demir ile boyanmış bitkinin çiçeğinin kromatogramı.

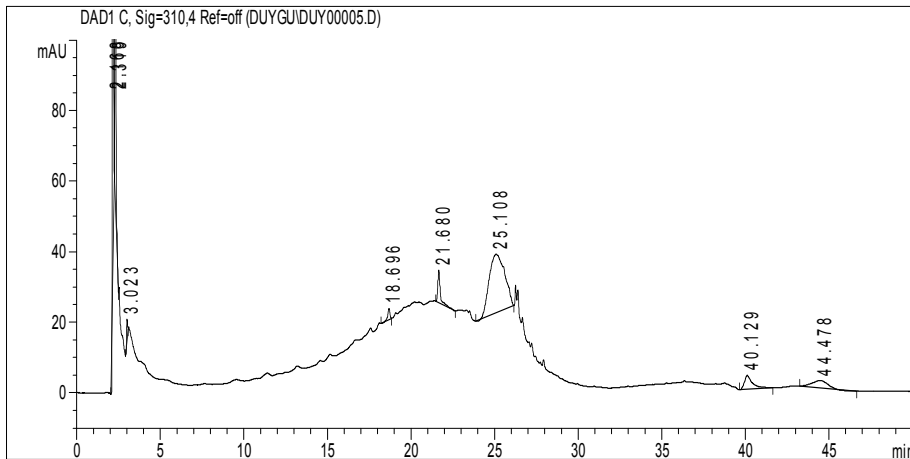


Şekil 4.61. Demir ile boyanmış yünün çiçeği A.Z.: 27.556 olan pikin spektrumu ile luteolin-7-galaktoz standartına ait spektrumun birlikte gösterimi.

(--- : Şekil 4.61'deki A.Z.: 27.556 olan pikin spektrumu.)

(— : luteolin-7-galaktoz standartının spektrumu.)

Demir ile mordanlanıp, bitkinin tamamı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramı Şekil 4.62'de verilmiştir.



Şekil 4.62. Demir ile boyanmış bitkinin bütününün kromatogramı.

4.8. Doğal Boyarmaddelerin CIELAB Renk Uzay Sistemi ile Parlaklık ve Renk Değerleri

Farklı bileşimlerde şap çözeltileri ile mordanlanıp, yüne göre ağırlıkça % 30'luk sarı civanperçemi bitkisinin çiçek kısımları ile boyanmış yünlere ilişkin açıklık-koyuluk ve renk ölçüm değerleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

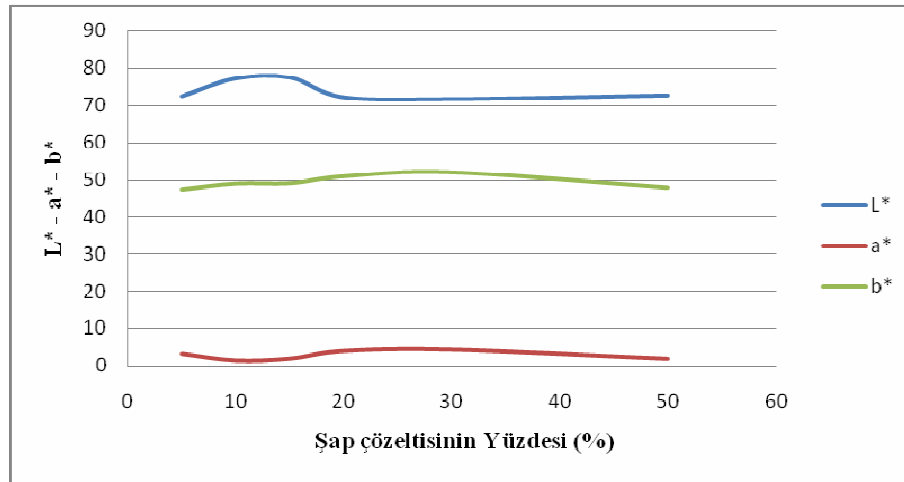
Tablo 4.2. Farklı yüzdelerdeki $KAl(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ (şap) çözeltileri ile mordanlanıp, sarı civanperçemi bitkisi ile boyanmış yünlerin ölçülen L^* , a^* ve b^* değerleri.

Şap çözeltisinin yüzdesi (%)	L^*	a^*	b^*
5	72,34	3,18	47,35
10	77,17	1,52	48,89
15	77,42	1,99	48,98
20	72,02	3,91	50,79
30	71,49	4,24	51,87
50	72,57	1,94	47,85

Yüne göre ağırlıkça % 40 şap çözeltisi, % 60 demir çözeltisi ve % 80 kalay çözeltisi ile mordanlanıp yine yüne göre ağırlıkça % 60'luk sarı civanperçemi bitkisinin çiçek kısımları ile boyanmış yünlere ilişkin açıklık-koyuluk ve renk ölçüm değerleri Tablo 4.3'de verilmiştir.

Tablo 4.3. Farklı mordan çözeltileri ile mordanlanıp, sarı civanperçemi bitkisi ile boyanmış yünlerin ölçülen L^* , a^* ve b^* değerleri.

Mordan miktarı	L^*	a^*	b^*
%40 şap çözeltisi	52,69	37,89	68,93
%60 demir çözeltisi	22,47	3,36	11,73
%80 kalay çözeltisi	68,20	3,43	50,53



Şekil 4.63. Şap ile mordanlanıp bitki ile boyanan yünün CIE Lab Grafiği.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, bitkinin öğütölmüş çiçek kısmı metanolün % 100; 90; 70 (v/v) oranları ile ASE'de 40 °C'de ekstrakte edildi. % 100 metanol ile bitkinin sadece çiçek kısmı ile yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu, kromatogramında luteolin-7-O-galaktoz, patulitrin, quercetagetin-3,6-dimetil eter maddelerine ait pikler saptandı.

% 90 metanol ile bitkinin çiçek kısmı ile yapılan ekstraksiyonu sonucu elde edilen ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu kromatogramında patulitrin, quercetagetin-3,6-dimetil eter, kamferol-3-O-galaktoz ve 4'6-dihidroksi-3'metoksi flavon-7-O-glikoz maddelerine ait pikler saptandı.

% 70 metanol ile bitkinin sadece çiçek kısmı ile yapılan ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu, kromatogramında kamferol-3-O-galaktoz ve luteolin-7-O-galaktoz maddelerine ait pikler saptandı.

Bitkinin öğütölmüş yaprak kısımları ise metanolün % 70 (v/v) oranı ile ASE'de 40 °C'de ekstrakte edildi ve bu ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu, kromatogramında patulitrin, quercetagetin-3,6-dimetil eter, kamferol-3-O-galaktoz ve luteolin-7-O-galaktoz maddelerine ait pikler saptandı.

Bitkinin öğütölmüş gövde kısmı ise metanolün % 70 (v/v) oranı ile ASE'de 40 °C'de ekstrakte edildi ve bu ekstraksiyon sonucu elde edilen ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu, kromatogramında kamferol-3-O-galaktoz maddesine ait pik saptandı.

Bitkinin çiçek kısmı ile yapılan hidrolizinde son derişim olarak % 95 metanol ve 3,5 M HCl içeren çözeltide 40 °C'de su banyosunda yarım saat hidroliz edildi. Bitkinin hidroliz edilmiş halinin HPLC ile analizine bakıldığında, elde edilen hidrolizatın kromatogramında bitkinin içerdğı boyarmaddelerin quercetin, quercetagetin-3,6-dimetil eter, kamferol-3-O-galaktoz ve luteolin-7-O-galaktoz olduğı tespit edildi.

Bitkinin çiçek kısmı ile yapılan hidrolizinde son derişim olarak % 95 metanol ve 1,2 M HCl içeren çözeltide 40 °C'de su banyosunda yarım saat hidroliz edildi.

Elde edilen hidrolizatın kromatogramında bitkinin içerdği boyarmaddelerin, quercetagen-3,6-dimetil eter ve luteolin-7-O-galaktoz olduğu tespit edildi.

Bitkinin bütünü ile yapılan hidrolizde çözeltinin son derişim olarak % 50 metanol ve 1,2 M HCl içeren çözeltide 100 °C’de yarım saat boyunca hidroliz edildi. Elde edilen hidrolizatın kromatogramında bitkinin içerdği boyarmaddelerin, quercetagen-3,6-dimetil eter ve luteolin-7-O-galaktoz olduğu tespit edildi.

Alüminyum kompleksinin HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramında quercetagen-3,6-dimetil eter olduğu tespit edildi. Kalay kompleksinin HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramında ise luteolin-7-O-galaktoz, 4’6-dihidroksi-3’metoksi-flavon-7-O-glikoz ve apigenin olduğu tespit edildi.

Şap ile mordanlanıp, bitkinin tamamı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramında luteolin-7-O-galaktoz olduğu tespit edildi. Şap ile mordanlanıp, bitkinin yalnızca çiçek kısmı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramında quercetagen-3,6-dimetil eter olduğu tespit edildi.

Kalay ile mordanlanıp, bitkinin çiçek kısmı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramında luteolin-7-O-galaktoz olduğu tespit edildi. Kalay ile mordanlanıp, bitkinin tamamı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramında ise luteolin-7-O-galaktoz ve quercetagen-3,6-dimetil eter olduğu tespit edildi.

Demir ile mordanlanıp, bitkinin sadece çiçek kısmı ile boyanan yünün ekstraktının HPLC ile yapılan analizi sonucu elde edilen kromatogramında luteolin-7-O-galaktoz olduğu tespit edildi.

Yapılan çalışmalarda bitkinin içerdği flavonoidler elementel analiz ve spektral metotlar yardımıyla bulunmuştur [47]. Bir başka çalışmada da kersimeritrin, kersetin ve luteolin [56] isoramnetin bulunduğu saptanmıştır [12]. Bir başka çalışmada ise jaceidin ile 3,6-dimetoksi-5,7,4’trihidroksi flavon bulunmuştur [3]. Bu bileşenlerden farklı olarak, ilk kez apigenin, quercetagen-3,6-dimetileter, kamferol-3-O galaktoz, luteolin-7-O galaktoz ve 4’6-dihidroksi-3’-metoksiflavon-7-O-glikoz maddeleri *Achillea biebersteinii* Afan. bitkisinden izole edilebilmiştir. Metanolün farklı oranları kullanılarak yapılan ekstraksiyonlarda % 90 metanol ile elde edilen

ekstraktın % 100 ve % 70 metanol oranları ile elde edilen ekstraktların içerdiği flavonoidlere oranla daha fazla flavonoid içerdiği HPLC analizi ile saptanmıştır.

Ayrıca bitkinin çiçek, yaprak ve gövde kısımları aynı koşullarda ekstrakte edildiğinde, bitkinin yaprak kısmı en fazla flavonoid içerirken, en az gövde kısmında flavonoid bulunmuştur. *Achillea biebersteinii* Afan. bitkisinin asit hidrolizi sonucu elde edilen hidrolizatlardan asit derişimi fazla olan hidrolizatın az olana göre daha fazla flavonoid bileşenlerini içerdiği saptanmıştır.

Metanolün % 70 (v/v) oranı ile bitkinin çiçek, yaprak ve gövdelerinin ekstraksiyonları sonucu elde edilen ekstraktlar HPLC ile analiz edildiğinde, bitkinin her üç kısmında da kamferol-3-O-galaktozidin olduğu saptandı. Bunun yanında bitkinin çiçek, yaprak ve gövde kısımlarında en fazla flavonoidlerin bitkinin yapraklarında bulunduğu görüldü. Bitkinin yaprak, gövde ve çiçek kısmında bulunan flavonoidler Tablo-5.1’de gösterilmiştir.

Tablo-5.1: Bitkinin farklı kısımlarında bulunan flavonoidler

	Yaprak	Gövde	Çiçek
Kamferol-3-O-galaktoz	+	+	+
Axillarin	+	-	-
Luteolin-7-galaktoz	+	-	+
Patulitrin	+	-	-

Bitkinin çiçek kısmıyla yapılan hidrolizlerinde son derişimi % 95 metanol ve 3,5 M HCl ve son derişimi % 95 metanol ve 1,2 M HCl olacak şekildeki çözeltilerinden elde edilen hidrolizatlar karşılaştırıldığında asit miktarı fazla olan çözeltiliye daha fazla flavonoid geçtiği gözlemlendi. Bitkinin tamamı ve sadece çiçeğinin aynı miktar asit ile hidrolizlerinden elde edilen hidrolizatlarda aynı boyarmaddeler bulunduğu saptandı.

Alüminyum - sarı civanperçemi pigmentinin elde edilmesinde şap çözeltisi kullanıldı ve alüminyumun axillarin ile kompleks oluşturduğu HPLC ile tespit edildi.

Kalay - sarı civanperçemi pigmentinin elde edilmesinde $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ kullanıldı. Elde edilen pigmentin HPLC ile analizinde bitkide bulunan boyarmaddelerden lüteolin-7-galaktoz, 4,6-dihidroksi-3-metoksi-flavon-7-O-glikoz bileşenleri ile kompleks oluşturulduğu görüldü.

Son olarak boyanmış yünlerin parlaklık ve renk değerleri $\text{CIEL}^*a^*b^*$ renk ölçüm sistemi kullanılarak ölçüldü. Ölçüm, beyaz zemin üzerinde 2° ışık açısı ile D-50 ışık kaynağı kullanılarak yapıldı.

Farklı bileşimlerde şap çözeltileri ile mordanlanıp, yüne göre ağırlıkça % 30'luk sarı civanperçemi bitkisinin çiçek kısımları ile boyanmış yünlere ait $\text{CIEL}^*a^*b^*$ renk uzayındaki en iyi açıklık-koyuluk (L^*) değerinin ağırlıkça % 10'luk $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi kullanılarak elde edildiği tespit edildi. En iyi sarı renk değerinin ise ağırlıkça % 25'lik $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ çözeltisi kullanılarak elde edilen pigmentte olduğu tespit edildi.

6. KAYNAKLAR

- [1] Ahmed AA, Mabry TJ, Melek FR, Shalaby AM. (1988). Swertisin²"-arabinoside, a new C-glycosylflavone from *Achillea fragrantissima*. *Journal of Natural Products*, 51, (5):971-972.
- [2] Arabacı T, Budak Ü. (2009). *Achillea hamzaoglui* (asteraceae), a new species from Turkey, *Annales Botanici Fennici*, (46):459-463.
- [3] Badahdah KO, El HS. (2004). Phytochemical constituents of *Achillea biebersteinii*. *J Saudi Chem Society*, (8):115–120.
- [4] Bağcı E, Koçak A, Yüce E. (2008). *Achillea wilhelmsii* C. Koch ve *Achillea schischkinii* Sosn. Türlerinin Uçucu Yağ Kompozisyonu. *Fırat Üniv. Fen ve Müh. Bil. Dergisi*, 20 (2):251-255.
- [5] Bandyukova VA, Avanesov ET. (1971). The structure of methoxylated flavonoids. Let Spectroscopy of Flavonoids Using Sodium Acetate in Methanol Karl-Heinz A. *Chemistry of Natural Compounds*, (7):250-253.
- [6] Barış Ö, Güllüce M, Kılıç H, Özbek T, Özer H, Özkan H, Sökmen M, Şahin F. (2006). Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae). *Turk J Biol*, (30):65-73.
- [7] Barnett EB. (1919). Coal tar dyes and intermediates. D.Van Nostrand, New York, p. 160.
- [8] Başer KHC, Buchbauer G. (Eds), (2009). Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications, 1st ed, p.46, 59, 243.
- [9] Başer İ, İnancı Y. (1990). Boyarmadde Kimyası. Marmara Üniversitesi (482), İstanbul, s.7, 18, 47, 49, 50, 51, 52.
- [10] Baytop A. (1996). Farmasötik Botanik Ders Kitabı. İst. Üniv. Basımevi, İstanbul, s. 255,258.
- [11] Bourassa MG, Tardif JC. (2006). Antioxidants and cardiovascular disease, 1st ed, p. 177.
- [12] Böhmer H. (2008). Koekboya: Natural Dyes and Textiles from Turkey to India and Beyond. p.143.
- [13] Burak M, Çimen Y. (1999). Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, (19): 296–304.
- [14] Cadenas E, Packer L. (2002). Handbook of Antioxidants. 15th ed, Base, New York.
- [15] Cardon, D. (2007). *Natural Dyes - Sources, Tradition, Technology and Science*. Archetype Publications Ltd., London, p.187, 188, 485, 668, 676, 678, 679.

- [16] Coleta M, Campos MG, Cotrim MD, Cunha AP, Lima TCM. (2008). Assessment of luteolin (3_,4_,5,7-tetrahydroxyflavone) neuropharmacological activity. *Behavioural Brain Research*, 189, 75–82.
- [17] Colombini MP, Andreotti A, Baraldi C, Degano I, Łucejko JJ. (2006). Colour Fading in Textiles: A Model Study on the Decomposition of Natural Dyes, *Microchemical Journal* 85, (1):174-182.
- [18] Cook NC, Samman S. (1996). Flavonoids –Chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. *Nutritional Biochemistry*, (7): 66-76.
- [19] Derek PCW, Mabry TJ. (1985). Problems with Ultraviolet Rosler. *Journal of natural products*. 48 (5): 837–840.
- [20] Dey PM, Harborne JB. (Eds), (1997). Plant biochemistry. Bath press, Great Britain. p.413
- [21] Dölen E. (1994). Reprodüksiyon Kimyası. Marmara Üniv. Teknik Eğitim Fakültesi Yayını (94/11), İstanbul, s.53,76,77.
- [22] Dölen E. (1992). Tekstil Tarihi-Dünyada ve Türkiye’ de Tekstil Teknolojisinin ve Sanayiinin Tarihsel Gelişimi. Marmara Üniversitesi Teknik Eğitim Fakültesi Yayınları (92/1), İstanbul, s.469, 470, 484, 486, 479, 515.
- [23] Enez N. (1987). Doğal Boyamacılık, MarmaraÜnv. Güzel Sanatlar Fak. Yayını, İstanbul, s.1-21.
- [24] Erdik E, İhsaoğlu E, Obalı M, Öktemer A, Pekel T, Yüksekışık N. (2000). Denel Organik Kimya. 3rd ed, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, s.631-632.
- [25] Erlund I. (2004). Review of the flavonoids quercetin, hesperetin and naringenin. Dietary sources, bioactivities, and epidemiology. *Nutr. Res.*, (24): 851-874.
- [26] Ethel M. (1916). A book of vegetable dyes. London, s.63
- [27] Eyüboğlu Ü, Okaygün I, Yaraş F. (1983). Doğal Boyalarla Yün Boyama, Özkur Basımevi, İstanbul, s.12-20.
- [28] Fessenden RJ, Fessenden JS, Logue MW. (2001). Organik Kimya. Güneş Kitabevi, 1st ed, Ankara, Türkiye, s.889-896.
- [29] Grierson AJC. (Ed), (1975). Tanacetum L. In: Flora of Turkey and East Aegean Islands, Edinburgh University Press, 5, p.250-251,256-291.
- [30] Grotewold Erich. (Ed.), (2006). The Science of Flavonoids. Springer, 1st ed, New York, p.1-4.
- [31] Harborne JB, Williams CA. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.

- [32] Harborne JB, Mabry H, Mabry TJ. (1975). The flavonoids. Redwood Burn Limited, Great Britain, p.327,929
- [33] Havsteen B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, 32 (7):1141-1148.
- [34] Hussein SAM, Barakat HH, Merfort I, Nawwar MAM. (1997). Tannins from the Leaves of *Punica Granatum*. *Photochemistry*, 45, 819–823.
- [35] Ignazio C, Cabrera P, Coronaci G, Deiana M, Dess MA, Montoro P, Piacentini S, Tuberosa G, Pizzarello C. (2009). Flavonoid characterization and antioxidant activity of hydroalcoholic extracts from *Achillea ligustica* All. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 50, (3): 440–448.
- [36] Karadağ R. (2007). Doğal Boyamacılık. Geleneksel El Sanatları ve Mağazalar İşletme Müdürlüğü Yayınları, Ankara, s. 8, 11, 14, 40, 44, 45, 64, 82, 66, 70.
- [37] Karamenderes C, Karabay NÜ, Zeybek U. (2003). Türkiye'nin farklı lokalitelerinden toplanan *Achillea setacea* WALDST. & KIT. Uçucu yağının bileşimi ve antimikrobiyal aktivitesi. *Ankara Ecz. Fak. Derg.* 32(2):113-120.
- [38] Kiumarsi A, Abomahboub R, Parvinzadeh PM, Rashedi SM. (2009). *Achillea Millefolium*, a New Source of Natural Dye for Wool Dyeing. *Prog. Color Colorants Coat.* 2, 87-93.
- [39] Kuhnau J. (1976). The Flavonoids. A class of semi-essential food components: Their role in human nutrition. *Wld. Rev. Nutr. Diet.*, 24, 117-191.
- [40] Küpeli E, Küsmenoğlu Ş, Orhan İ, Yeşilada E. (2007). Evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activity of five Anatolian *Achillea* species. *Turkish J. Pharm. Sci.*, 4 (2): 89-99.
- [41] Mabry TJ, Markham KR, Thomas MB. (1970). The Systematic Identification of Flavonoids, Springer-Verlag, New York, s. 46, 48, 51, 258.
- [42] Maryadele J. (Ed.), (1989). The Merck Index An Encyclopedia of Chemicals, Drugs And Biologicals. 11th ed, Merck & Co, Inc., Rahway, U.S.A , p.831, 1278, 1299.
- [43] Meenakshi S, Nagasampagi BA, Sujata VB. (2005). Chemistry of Natural Products. 1st ed, Springer, Berlin, p.593-594.
- [44] Mellor DP, Maley LE. (1942). Order to Stability of Metal Complexes Nature, Chem. Abst., 42 4809.
- [45] Mellor DP, Maley LE. (1947). Stability Constants of Internal Complexes Nature. Chem.Abst, s 41, 43, 93, 82.
- [46] Merritt JM. (1947). Application of dyestuffs to textiles, paper, leather and other materials. John Wiley & Sons, New York, p.6, 405-440.

- [47] Oskay E, Yeşillada A. (1984). Four flavonoids and three other constituents from *Achillea biebersteinii*. *J. Nat. Prod.*, 47, 742-742.
- [48] Öner E. (2001). Tekstil endüstrisinde renk ölçümü. Marmara Üniversitesi yayınları (672), İstanbul, s.1-8.
- [49] Özgen U, Coşkun M. (1999). *Asperula taurina* l. Subsp. *caucasica* (pobed.) ehrend. (rubiceae) üzerinde morfolojik ve anatomik çalışmalar. *Ankara Ecz. Fak. Dergisi*, 28(2):71-83.
- [50] Pawlak K, Jarosz M, Miszczak A, Puchalska M, Rosłonec E. (2006). Blue Natural Organic Dyestuffs – from Textile Dyeing to Mural Painting Separation and Characterization of Coloring Matters Present in Elderberry, Logwood and Indigo. *Journal of Mass Spectrometry*, 41: 613-622.
- [51] Popa ME, (2007). Preservation with natural extracts, Lisbon, Portugal.
- [52] Rijke E, Ariese F, Gooijer C, Niessen MA, Out P, Udo A.Th. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Brinkman Journal of Chromatography A*, 1112, 31–63.
- [53] Saeidnia S, Gohari AR, Malmir M, Moradiz AF. (2009). Cytotoxic Flavonoid from *Achillea talagonica* Bioss. *Journal of Medicinal Plants* 5, (8):52-56.
- [54] Sakar MK, Tanker M. (1991). Fotokimyasal Analizler. Ankara Üniv. Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, Türkiye, s.60-63.
- [55] Seyhan M. (1946). Organik boyarmaddeler. İstanbul. Üniv. Yayınları sayı:297 s.17.
- [56] Shmatova VV, Karreyev MO, Komissarenko NF. (1987). Flavonoids of Turkmenian species of the genus *Achillea* . *Chemistry of Natural Compounds*. 23 (2):35-39.
- [57] Skoog DA, Holler FJ, Nieman TA. (1998). Enstrümantal Analiz İlkeleri. 1. baskı, Bilim Yayıncılık, Ankara, s.725–748.
- [58] Thakur IS. (2006). Environmental Biotechnology: Basic Concepts and Applications. International Pvt Ltd., New Delhi, India, p.422.
- [59] Tosun A, Özkal N. (2000). Helianthus türlerinin kimyasal içeriği ve biyolojik etkileri *Ankara Ecz. Fak. Derg.* 29 (2): 49-74.
- [60] Tsekos I, Moustakas M. (Eds), (1998). Progress in botanical research: proceedings of the 1st Balkan Botanical Congress. Netherlands, p.94, 228-230.
- [61] Tunalier Z, Başer KHC, Duman H, Kırimer N, Koşar M, Öztürk N. (2004). Bazı Sideritis Türlerinin Antioksidan Etki ve Fenolik Bileşikler Yönünden İncelenmesi, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, Eskişehir, 130-138.
- [62] Tutak M, Benli H, (2008). Bazı bitkilerden elde edilen doğal boyar maddelerin yünü boyama özelliğinin incelenmesi *Batı Fbe Dergisi*, 10, (2):53-59.

- [63] Ün, R. (1984). Organik Kimya. İstanbul Üniv. Yayınları (3220), İstanbul, s.800-846.
- [64] Ververidis F, Douglas C, Kretzschmar G, Panopoulos N, Trantas E, Vollmer G.
Biotechnology of flavonoids and other phenylpropanoid-derived natural products.
Part I: Chemical diversity, impacts on plant biology and human health. (2007).
Biotechnol J, 2, (10):1214–1234.
- [65] Wallert A, (1986). Fluorescent Assay of Quinone, Lichen and Redwood Dyestuffs.
Studies in conservation, 31, 145-155.
- [66] Wollenweber E. (1994). Flavones and flavonols, In: The flavonoids: Advances in
research since 1986. Harborne J.B. Ed. Chapman & Hall, Cambridge. p.259.335.
- [67] Yalçın G. (2007). Kromatografi Kitabı, Kaan Matbaa, İstanbul, s.25-117.
- [68] Yılmaz İ. (2002). Renk Sistemleri, Renk Uzayları ve Dönüşümler. *Selçuk Üniversitesi
Jeodezi ve Fotogrametri Mühendisliği Öğretiminde 30. Yıl Sempozyumu*, Konya,
Türkiye, 16-18.
- [69] Yuan JL, Kang X, Liu H, Zhong L, Zou GL. (2008). Characteristics of the isomeric
flavonoids apigenin and genistein binding to hemoglobin by spectroscopic methods.
Journal of Molecular Structure, Wuhan, China. 1, 2.
- [70] Zein S, Ayoub SM, Dkariems EA, Makawi A. (2009). Determination of Antioxidant
Flavonoids in Sudanese Honey Samples by Solid Phase Extraction and High
Performance Liquid Chromatography 6 (1): 429-437. *E-Journal of Chemistry*,
[Elektronik Journal] <http://www.e-journals.net>.
- [71] Zhang X. (2008). Analysis of Natural Yellow Dyes Using HPLC with Diode Array and
Mass Spectrometric dedection. Boston University. Graduate School Arts and
Sciences, Doctoral Thesis, China, (Ph.D. Professor Laursen RA, Ph.D. Professor
Snyder JK.)

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	DUYGU	Soyadı	SUSUZ
Doğum Yeri	KADIKÖY	Doğum Tarihi	20.11.1985
Uyruğu	T.C	TC Kimlik No	51883778074
E-mail	sszduygu@hotmail.com	Tel	05079953405

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans		
Lisans	GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ	2007
Lise	MEHMET NİYAZİ ALTUĞ LİSESİ	1999

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İNGİLİZCE	İYİ	ORTA	İYİ

Yabancı Dil Sınav Notu #								
KPDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	71.250							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	71	75	77
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Microsotf Word	İYİ
Microsoft Powerpoint	İYİ
Microsoft Excel	İYİ