

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Kemal CELLAT**

**BAZI ENDEMİK BİTKİLERİN UÇUCU YAĞ BİLEŞENLERİNİN  
EKSTRAKTE EDİLMESİ VE İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

**ADANA, 2011**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ENDEMİK BİTKİLERİN UÇUCU YAĞ BİLEŞENLERİNİN EKSTRAKTE  
EDİLMESİ VE İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Kemal CELLAT**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**KİMYA ANABİLİM DALI**

Bu tez 14/01/2011 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği /  
Öyçokluğu ile Kabul Edilmiştir.

.....  
Prof.Dr.Şermin GÜL  
DANIŞMAN

.....  
Prof.Dr.Sultan GİRAY  
ÜYE

.....  
Doç.Dr.Ayşe EVEREST  
ÜYE

Bu Tez Enstitümüz Kimya Anabilim Dalında Hazırlanmıştır.  
**Kod No:**

**Prof. Dr.İlhami YEĞİNGİL**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından desteklenmiştir.**  
**Proje No :FEF2010YL14**

**Not :** Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

**ÖZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BAZI ENDEMİK BİTKİLERİN UÇUCU YAĞ BİLEŞENLERİNİN  
EKSTRAKTE EDİLMESİ VE İÇERİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI.**

**Kemal CELLAT**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI**

Danışman : Prof. Dr. Şermin GÜL  
Yıl : 2010, Sayfa: 73  
Jüri : Prof. Dr. Şermin GÜL  
: Prof.Dr.Sultan Giray  
: Doç.Dr.Ayşe EVEREST

Uçucu yağlar birçok sektörde önemi gittikçe artan maddelerdir. Bu çalışmada bazı endemik bitkilerin yapraklarından su destilasyonu ve subkritik su ekstraksiyonu ile uçucu yağ elde edilmiştir. Bu iki yöntem kıyaslandığında genellikle subkritik su ekstraksiyonunun hem nitelik hem de nicelik olarak daha etkili bir yöntem olduğu saptanmıştır.

**Anahtar Kelimeler :** SubKritik Su, Hidrodestilasyon, Uçucu Yağ

**ABSTRACT**  
**MSc Thesis**

**ESSENTIAL OIL EXTRACTION AND INVESTIGATION OF  
COMPONENTS OF SOME ENDEMIC PLANTS**

**Kemal CELLAT**

**ÇUKUROVA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF CHEMISTRY**

Supervisor : Prof. Dr. Şermin GÜL  
Year : 2010, Pages: 73  
Jury : Prof. Dr. Şermin GÜL  
: Prof.Dr.Sultan GİRAY  
: Assoc.Prof.Dr.Ayşe EVEREST

Essential oils are industrial importance compounds. In this study essential oils of some endemic plants were extracted with subcritical water and hydro destilation extraction methods. Results showed that subcritical water extraction is more effective to extract essential oils.

**Keywords:** Suberitical water, Hidrodistilation, Essential oil

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince bana değerli görüş ve katkılarıyla yol gösteren, sabır ve hoşgörüsüyle her zaman bana destek olan tez danışmanım ve hocam Sayın Prof. Dr. Şermin GÜL'e;

Laboratuvar çalışmalarım için gerekli koşulları sağlayan Sayın Prof. Dr. Sultan GİRAY'a

Bitki örneklerin teminini ve tanımlanmasını gerçekleştiren Mersin Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Ayşe EVEREST'e;

Verilerin hazırlanması ve değerlendirilmesi aşamasında bilgi ve yardımları ile katkıda bulunan Öğretim görevlisi Sayın Dr. Erdal KUŞVURAN'a;

Çalışma arkadaşlarım; Orkide EREN, Fatma MIDİK, Meltem SÖNMEZ ve Nilgün KÜÇET'e;

Organik laboratuvarındaki tüm çalışma arkadaşlarıma;

Çalışmam süresince ilgi ve desteklerini esirgemeyen tüm araştırma görevlisi, tekniker ve bölüm çalışanlarına;

Eğitimim için her türlü fedakârlığı gösteren, hayatım boyunca desteğini ve sevgisini hissettiğim canım aileme teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
İÇİNDEKİLER.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	XI
1. GİRİŞ.....	1
1.2. Endemizm.....	3
1.3. Uçucu Yağlar .....	4
1.3.1. Uçucu Yağların Özellikleri.....	5
1.3.2. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi.....	6
1.3.3. Uçucu Yağların Sınıflandırılması .....	7
1.3.3.1. Kimyasal Bileşimlerine Göre .....	7
1.3.3.1.(1) Monoterpenler.....	8
1.3.3.1.(2) Seskiterpenler.....	8
1.3.3.1.(3) Diterpenler ve Triterpenler .....	9
1.3.3.2. Aromatik Özelliklerine Göre.....	9
1.3.3.3. Farmakolojik ve Terapik Etkilerine Göre .....	10
1.3.4. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri.....	10
1.3.4.1. Destilasyon .....	11
1.3.4.1.(1) Su Destilasyonu.....	12
1.3.4.1.(2) Buhar Destilasyonu .....	13
1.3.4.1.(3) Vakum Destilasyonu .....	14
1.3.4.1.(4) Hidrodifüzyon .....	15
1.4. Ekstraksiyon Yöntemi .....	15
1.4.1. Çözücü Ekstraksiyonu .....	16
1.4.1.1. Maserasyon.....	16
1.4.1.2. Enfloraj.....	17
1.4.1.3. Sıcak Yağ ile Ekstraksiyon .....	17
1.4.1.4. Organik Çözücü Ekstraksiyon.....	17

1.4.2. Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu (BSE).....	18
1.4.2.1 Sub kritik Su Ekstraksiyonu (SbKSE).....	19
1.4.2.2 Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu.....	22
1.4.3. Mikrodalga Ekstraksiyonu (Microwave-assisted Extraction) .....	24
1.4.4. Sıkıştırılmış Çözücü Ekstraksiyonu .....	24
1.4.5. Katı-Faz Mikroekstraksiyon (SPME).....	25
1.4.6. Çok Yönlü Ekstraksiyon Yöntemleri .....	26
1.4.7. Mekanik Yöntem (Presleme) .....	27
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	29
2.1. Alkanna Türleri İle Yapılan Çalışmalar .....	29
2.2. Centaurea Türleri İle Yapılan Çalışmalar .....	29
2.3. Stachys Türleri İle Yapılan Çalışmalar .....	31
2.4. SbK. Akışkanlarla Diğer Bitkilerin Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar.....	36
3. MATERYAL VE METOD .....	41
3.1. Materyal .....	41
3.1.1. Bitkisel Örneğin Temin Edilmesi .....	42
3.1.2. Kullanılan Kimyasallar.....	41
3.1.3. Kullanılan Cihaz, Araç ve Gereçler .....	41
3.2. Metod .....	42
3.2.1. Clevenger Cihazı ile Hidrodestilasyon.....	42
3.2.2. Subkritik Su Ekstraksiyonu .....	42
3.2.3.GC-MS Analizi .....	43
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	45
4.1. Bulgular .....	45
4.2. GC-MS Sonuçları .....	46
4.2.1. Alkanna aucherena ile Yapılan Çalışmalar .....	46
4.2.2. Centaurea sp. ile Yapılan Çalışmalar .....	49
4.2.3. Stachys rupestris ile Yapılan Çalışmalar .....	52
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....	57
5.1.Sonuçlar.....	57
5.2.Öneriler .....	59
KAYNAKLAR.....	61
ÖZGEÇMİŞ .....	73

## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

Çizelge 1.1.	Gazların, sıvıların ve Süperkritik akışkanların fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması .....	5
Çizelge 1.2.	Süperkritik sıvı CO <sub>2</sub> 'de çözünebilen madde grupları.....	23
Çizelge 2.1.	<i>Stachys</i> sp. uçucu yağlarının kimyasal bileşimi.....	35
Çizelge 4.1.	Bitkilerin HD ile elde edilen ekstraktların yüzde verimleri.....	45
Çizelge 4.2.	Bitkilerin SbKSE ile elde edilen ekstraktların yüzde verimleri.....	45
Çizelge 4.3.	<i>Alkanna aucherena</i> uçucu yağının bileşenleri. ....	46
Çizelge 4.4.	<i>Centaurea</i> sp. uçucu yağının bileşenleri.....	50
Çizelge 4.5.	<i>Stachys rupestris</i> . uçucu yağının bileşenleri.....	53



## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

Şekil 1.1.	Uçucu yağlar içerisinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları	7
Şekil 1.2.	Basit destilasyon düzeneği.....	12
Şekil 1.3.	Su destilasyonunda kullanılan Clevenger aleti .....	13
Şekil 1.4.	Sabinanhidratasetat'ta meydana gelen termal degradasyon .....	13
Şekil 1.5.	Su buharı destilasyonu düzeneği.....	14
Şekil 1.6.	Vakum destilasyonu düzeneği .....	15
Şekil 1.7.	BSE cihazının kısımları.....	19
Şekil 1.8.	Su için üçlü diyagram.....	22
Şekil 3.1.	Sub-kritik akışkan ekstraksiyon sistemi .....	43
Şekil 4.1.(a).	<i>Alkanna aucherena</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 0–10 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	48
Şekil 4.1.(b)	<i>Alkanna aucherena</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 10–15 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	48
Şekil 4.1.(c)	<i>Alkanna aucherena</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 15–20 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	48
Şekil 4.1.(d)	<i>Alkanna aucherena</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 20–25 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	49
Şekil 4.1.(e)	<i>Alkanna aucherena</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 25–30 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	49
Şekil 4.2.(a)	<i>Centaurea sp.</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 0–10 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	51
Şekil 4.2.(b)	<i>Centaurea sp.</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 10–15 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	51
Şekil 4.2.(c)	<i>Centaurea sp.</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 15–20 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	52
Şekil 4.2.(d)	<i>Centaurea sp.</i> yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 20–25 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	52
Şekil 4.3.(a)	<i>Stachys rupestris</i> bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 0–10 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	54
Şekil 4.3.(b)	<i>Stachys rupestris</i> bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 10–15 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	55
Şekil 4.3.(c)	<i>Stachys rupestris</i> bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 15–20 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	55

Şekil 4.3.(d) <i>Stachys rupestris</i> bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 20–25 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	56
Şekil 4.3.(e) <i>Stachys rupestris</i> bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 25–30 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.....	56

## **SİMGELER VE KISALTMALAR**

BSE	: Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu
GC	: Gaz Kromatografisi
GC-MS	: Gaz Kromatografisi ve Kütle Kromatografisi
HD	: Hidrodestilasyon
HPLC	: Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
RT	: Alıkonma Zamanı (Retention time)
SbKSE	: Subkritik Su Ekstraksiyonu
SDE	: Çok Yönlü ekstraksiyon Yöntemleri
SFE	: Süper Kritik Sıvı Ekstraksiyonu (Supercritical Fluid Extraction)
SPME	: Katı-Faz Mikroekstraksiyon
USE	: Ultrasonik Banyo Ekstraksiyonu
VD	: Vakum Destilasyonu



## 1. GİRİŞ

Bitkiler insanlığın var oluşundan beri hayatın vazgeçilmez temel kaynaklarından biridir. İlkçağlardan beri insanlar bitkileri çeşitli amaçlarla kullanmışlar, bitkileri tanımış ve tanıtmaya çalışmışlardır. Kullandığımız besinler genellikle bitkisel ve hayvansal kaynaklıdır. Bitkiler besin maddesi olarak kullanılmalarının yanı sıra koku verici ve tat verici olarak da kullanılmaktadırlar. Bitkilerin tedavi amacıyla kullanılması ise ilk uygarlıklara kadar dayanır. Bitkilerden elde edilen ilk etken madde 1805'te Alman Kimyacı Serturme tarafından afyon bitkisinden izole edilen morfindir. Bunu 1820'de kınakınanın kabuklarından kinin, 1868'de yüksük otu (*Digitalin*) yapraklarından kalp yetmezliği tedavisinde kullanılan digitalin ve 1890'da söğüt dalı kabuğundan asetil salisilik asidin izolasyonu takip etmiştir (Baytop,1984). Daha sonraları doğal ilaçların sentetik türevleri sentezlenerek insanların hizmetine sunulmuştur. Bazı doğal ilaçların laboratuarda sentezi pahalı bir işlem olduğu için hala bitkisel droglardan elde edilmektedir. Morfin bunlardan biridir. Günümüzde eczanelerde satılan ilaçların birçoğu bitkisel kaynaklı ya da bitkisel kaynaklı bileşiklerin sentezlenmiş türevleridir. Sentetik olarak elde edilen ilaçların istenmeyen yan etkilerinin olması, insanları tekrar doğal kaynaklı ilaçları kullanmaya yönlendirmiştir. Bu amaçla yeni doğal ilaç ham maddeleri bulmak üzere bitkiler üzerinde yapılan araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır. Romanya, Macaristan, Çin, Kore, Japonya ve Bulgaristan örneklerindeki gibi birçok ülkede bitkilerle tedavi bir devlet politikası halinde yürütülmektedir. (Altan vd., 1999; Baytop, 1999; Başer, 2001; Kandemir ve Beyazoğlu, 2002; Ertuğ, 2004b; Şimşek vd., 2004).

Tedavi amacıyla kullanılan ve bilinen tıbbi bitki miktarının 20,000 sayısına ulaştığı tahmin edilmektedir. Bunlardan 4.000 bitkisel drog yaygın bir şekilde kullanılırken, Avrupa'da 2.000 kadar bitkisel drogun ticareti yapılmaktadır ve dünya bitkisel ilaç pazarı 1998 yılı rakamlarına göre, 14 milyar Amerikan doları iken, 1991–2000 yılları ortalama rakamlarına göre, Dünya yıllık tıbbi ve aromatik bitkiler dışalımını 400.000 ton ve 1.3 milyar Amerikan doları civarındadır. Bu miktarın % 80'i,

en fazla dışsattım yapan 12 ülke (Çin, Hindistan, ABD, Almanya, Meksika, Mısır, Şili, Bulgaristan, Singapur, Fas, Pakistan, Türkiye) tarafından karşılanmıştır. Aynı kaynaklara göre, Türkiye dışsattım yapan ülkeler arasında % 5'lik pay ile 12. sırada yer almaktadır. Buna karşın, yurtiçi ilgili kurumlardan derlenen istatistiksel rakamlar Türkiye'nin 1999-2003 yıllarını kapsayan son beş yıllık tıbbi ve aromatik bitkiler dışsattım miktarlarının yıllara göre 33.000 ile 52.000 ton arasında gerçekleştiğini göstermektedir (Özgüven ve ark., 2005).

Dünyada yaşam standardı yükseldikçe tüketim de artmaktadır. Bu artış, tıbbi ve aromatik bitkiler için de geçerlidir. Bu bitkilerin tüketim alanı çok geniştir. En önemli kullanım alanları ise ilaç, parfüm, kozmetik, diş macunu, sabun, şekerleme sanayi olup ayrıca çay ve baharat olarak tüketilmektedirler (Baytop, 1999).

Türkiye coğrafi konumu itibarı ile zengin bir bitki örtüsüne sahiptir. Akdeniz, Asya, Avrupa gibi üç farklı coğrafi alanda ve önemli iklimsel kuşağın ortasında yer alışı, ülkemizi bitki çeşitliliği ve endemik bitkiler açısından zengin bir ülke haline getirmiştir. Türkiye florasında yaklaşık 9,000 tür kayıtlıdır. Bunların ortalama 1,000 kadarı ilaç ve baharat ham maddeleridir ve halk arasında özellikle çay veya çeşni olarak kullanılmaktadır. Türkiye florasına ait türlerin % 30'u aromatik bitkilerdir. Batı ve Güneydoğu Anadolu Bölgeleri uçucu yağ içeren bitkilerce zengindir. 1948 ve 1974 Türk kodekslerinde 140 kadar tıbbi bitki kayıtlıdır ancak günümüzde yaklaşık 500 bitki tıbbi amaçlarla kullanılmaktadır. (Başer, 1995b; Baytop, 1999; Baytop, 1993; Başer, 2006).

Bununla beraber, Türkiye'nin doğal bitkilerinin çok önemli bir kısmının henüz kimyasal içerikleri bilinmemektedir. Dünya üzerinde yetişen 250.000 çiçekli bitkinin etken madde bakımından çok azının araştırılmış olduğu göz önüne alınırsa, bitkiler âleminde keşfedilmeyi bekleyen birçok gizemin olduğunu söyleyebiliriz (Baytop,1984; Ihsulu, 1992).

## 1.2 Endemizm

Bilindiği gibi yeryüzünün belirli bir bölgesinde yaşayan ve başka sahalarda rastlanmayan bitki ve hayvan türlerine “endemik”, bu olaya da “endemizm” adı verilir. Endemik bir türün alanının boyutu çok dar ya da çok geniş olabilir. Ancak önemli olan söz konusu bitki veya hayvan türünün yayılışının belirli bir bölgeyi ilgilendirmesidir. Ters durumlarında endemizmden söz edilemez. Canlılar doğal engellerle karşılaştıkları zaman, yayılışları kesintiye uğrar ve genelde topluluklar parçalanarak farklılaşır. Parçalanan yaşam alanları sonucunda türlerin gen yapıları değişerek yeni türler oluşur. Bir sahadaki endemizm oranı ise, o alanın jeolojik anlamda ne kadar eski olduğuna, izolasyon derecesine, izolasyonun süresine ve topografik özelliklere bağlı olarak değişiklik gösterir. Bölge jeolojik olarak ne kadar eski ise, orada eskiye ait flora ya da fauna izleri bulmak olasılığı da o kadar yüksektir (Erinç, 1978:108–109).

Bitki çeşitliliği açısından ılıman kuşak ülkeleri arasında önemli bir yere sahip olan Türkiye'nin, florasının 1/3 kadarının da endemik bitkilerden oluşması, bu çeşitliliğin korunması anlamında büyük değer ifade etmektedir.

Aslında serpantinler üzerinde yayılış gösteren bitkiler, özellikle de endemikler tüm dünyada yoğun olarak taranmaktadır. Çünkü bu eşsiz bitki gruplarından bazıları ekonomik değer de ifade etmektedir. Örneğin bazı bitkiler sanayi ve maden bölgeleri gibi sahalarda insan kaynaklı metallerle kirletilmiş olan toprakların, bitkilerle temizlenmesi ve yeniden yeşillendirilmesi için önemli bir potansiyel olarak görülmekte ve denenmektedir (Prasad ve Freitas 1999: 20-21; Prasad ve Freitas, 2003; Davis ve ark., 2001: 85; Rigg ve ark., 2005).

Bugün dünyanın çeşitli bölgelerine ait olan türler çok farklı alanlarda yetiştirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), insanların %60 kadarının genel sağlığının bitkilere dayalı olduğunu tahmin etmektedir (Walker, 2001). Bulunduğu alanda bitki çeşitliliği ile daha özel niteliklere sahip olan Anadolu'da her geçen gün bitki örtüsü içinde bilimsel anlamda yeni türler tanımlanmaktadır ve bu bitkilerin sayısı da oldukça fazladır (Avcı, 2005).

### 1.3 Uçucu Yağlar

Uçucu yağ, bitkilerin yaprak, meyve, kabuk veya kök kısımlarından elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan, kolaylıkla kristalleşebilen genellikle renksiz veya açık sarı renkli, uçucu, kuvvetli kokulu, doğal bir üründür. Güzel kokulu olmasından dolayı esans ya da eterik yağda denilmektedir. Su ile karışmadıkları için yağ olarak tanımlansalar da sabit yağlardan farklıdır (Ceylan, 1983).

Birçok bitkinin karakteristik kokuları, içerdikleri uçucu yağdan kaynaklanmaktadır. Uçucu yağlar açıkta bırakıldıklarında oda sıcaklığında bile buharlaşabilirler. Uçucu yağların pek azı hariç güzel kokuludurlar. Bu sebeple bunlara esans da denilmektedir. Bunlar ayrıca su ile karışmadığından ve su yüzeyinde tabaka oluşturduğundan yağ adı ile de anılırlar. Ancak bunların sabit yağlarla önemli farklılıkları bulunmaktadır. Uçucu yağlar su buharı ile sürüklenilmekte, süzgeç kağıdı üzerinde leke bırakmamaktadırlar. Hâlbuki sabit yağlar su buharında sürüklenmezler ve süzgeç kağıdı üzerinde kalıcı leke bırakırlar. Uçucu yağlar yağ asidi trigliserit yapısında değildirler. Ancak ışık ve hava karşısında zamanla oksitlenir ve reçineleşirler. Yine sulu etanolde çözünebilme özelliği bu yağları sabit yağlardan ayıran diğer önemli bir farklılıktır (Ceylan, 1997).

Kimyasal yapılarında en büyük grubu terpenler oluşturmaktadır. Bununla birlikte az miktarda alkoller, aldehytler, esterler, fenoller, azot ve kükürt içeren bileşiklerde bulunmaktadır. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler koku, tat ve terapik özellikteki maddelerdir (Linskens ve Jackson, 1997).

Son yıllarda alternatif tıbbın bir dalı olarak görülen aromaterapiye karşı duyulan ilgi, uçucu yağ kullanımını da artırmıştır. Eterik yağlar, terapilerde uygulanan masajlarda ya da rahatlatıcı banyolarda kullanılmaktadır. Bunun dışında uçucu yağlar yaygın olarak parfüm, kozmetik, gıda ve içecek sanayilerinde, tıpta ve ev temizlik ürünlerinde kullanılmaktadır. Bu yağlar koku ve tat endüstrileri için değerli bir konuma sahiptir. Eczacılıkta, ilaçların koku ve tatlarını düzeltici olarak kullanılırlar. Bazı yağlar (örn. sedir ve lavanta) ise böcek kovucu özelliği ile dikkati çekmektedir (Kılıç, 2008).

Bütün bunların yanında uçucu yağların ilaç endüstrisindeki yeri gittikçe

artmaktadır; çünkü analjezik (ağrı dindiren), antiseptik (mikropların üremesini önleyen), antifungal (mantara karşı), antiviral (virüsün tesirini önleyen), bakterist (bakterilere karşı), sedatif (sakinleştirici), stimulan (uyarıcı), antioksidan (serbest radikallerin olumsuz etkilerini giderici) gibi etkileri vardır. Bu özellikler uçucu yağ türüne göre değişiklik göstermektedir; fakat hepsinin ortak yanı genel olarak antibiyotik, dezenfekte edici, bağışıklık sistemini güçlendirici etkileridir (Url 2)

Dünyada uçucu yağ üretimi birçok ülkede yapılmaktadır. Uçucu yağ üreten ülkeler arasında gelişmekte olanların yanında gelişmiş ülkeler de bulunmaktadır. Bu durum uçucu yağ bitkilerinin üretiminin gelişmiş ülkelerde karlı olması nedeni ile yapıldığını göstermektedir. Ayrıca fazla bir yatırıma gerek duymadan uçucu yağın elde edilebileceği, uçucu yağın gelişmiş ülkeler yanında az gelişmiş ülkelerde de elde edilmesinden anlaşılmaktadır (Ceylan, 1997).

Uçucu yağlar çok konsantre ürünler olduklarından yükte hafif ucuz ürün niteliğine sahiptirler. Üretimleri genel olarak teknik açıdan güç değildir ve uzun mesafelere, deniz aşırı ülkelere taşınmaları kolaydır.

Türkiye özellikle uçucu yağ içeren bitkiler bakımından çok zengin bir floraya sahip bulunmaktadır. Ancak gül dışında hemen hemen hiçbir uçucu yağ bitkisinin büyük bir üretim alanı bulunmamaktadır. Sadece uçucu yağ bitkileri bakımından zengin bir floraya sahip olmamız nedeni ile floradan toplanan bitkilerin bir kısmından yağ elde edilmektedir (Tanker,1976; Ceylan, 1997).

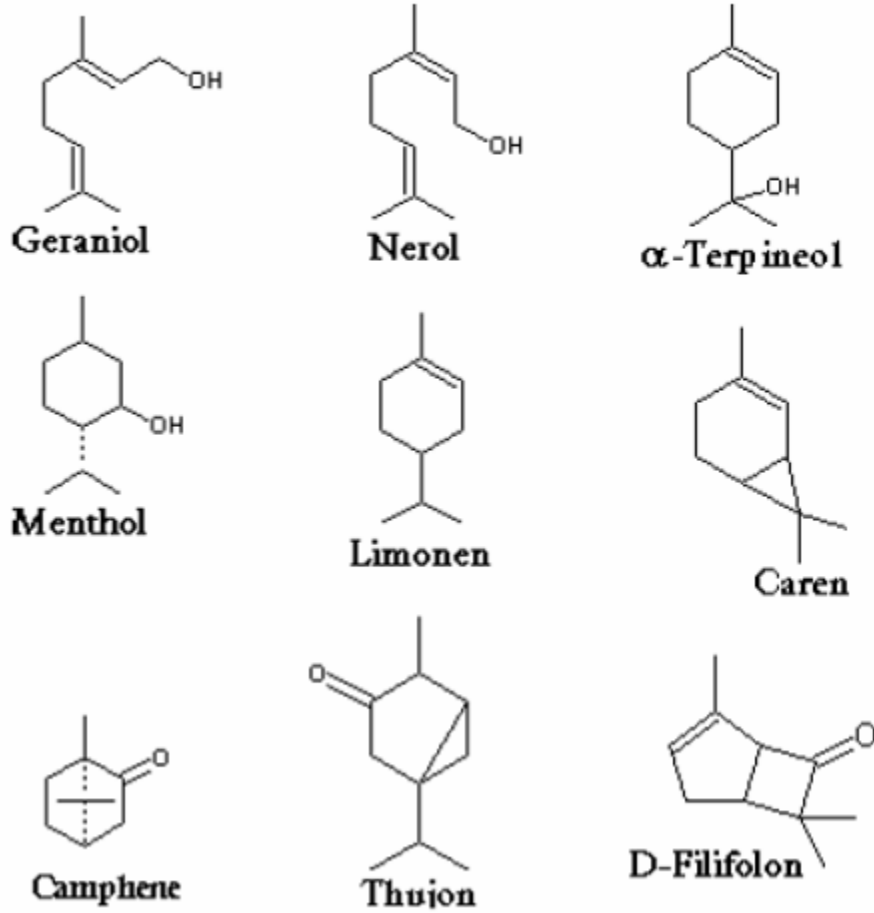
### 1.3.1 Uçucu Yağların Özellikleri

Uçucu yağlar genellikle oda sıcaklığında sıvıdır. Ancak gül yağı, anason yağı gibi sıvı olmayan bazı uçucu yağlarda vardır. Buharlaştırıldıklarında geride herhangi bir kalıntı bırakmazlar. Fiziksel özellikleri yönünden uçucu yağlar birbirlerine genellikle benzerler. Uçucu yağların kırılma indisleri yüksek olup çoğunluğu optikçe aktiftir. Spesifik çevirmeleri uçucu yağı tanımaya yardımcı olur. Kırılma indisinde ve polarize ışığı çevirme derecesinde oluşan değişimler uçucu yağın saflığının bozulduğunu gösterir. (Demirçakmak, 1994; Tanker ve Tanker, 1985).

Tüm lipofil çözücülerde (petrol eteri, kloroform, benzen, eter vs. ) iyi çözümler. Buna karşın suda çok az çözümler (1/200 oranında). Ancak bu çözünme kokularının suya geçmelerine yeter. Uçucu yağlar genel olarak renksiz veya açık sarı renklidir. Ancak karanfil yağı gibi sarıdan kahverengiye veya papatya yağı gibi yeşilden maviye kadar değişik renkte olanları da vardır. Ayrıca uzun süre açıkta kalacak olurlarsa renkleri koyulaşır. Uzun süre saklamada, ışık veya oksijenin etkisi ile uçucu yağların bazıları reçineleşir. Bu durumda genellikle bir koku değişimi ve yağın kalitesinin azalışı söz konusu olur (Tanker, 1976)

### 1.3.2 Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi

Çoğu uçucu yağlar çok sayıda bileşiğin karışımından oluşurlar. Bu yüzden kimyasal bileşimleri oldukça karmaşıktır. Uçucu yağlar genellikle hidrokarbonlar ve hidrokarbonların oksijenli türevlerinden meydana gelirler. Bu türevler arasında alkoller, asitler, esterler, aldehytlar, ketonlar, fenol ve fenol eterleri, kinonlar, laktonlar, furan türevleri, oksitler, aminler ve kükürtlü bileşikler de yer alır. Uçucu yağlarda bulunan maddelerin çoğu terpen kökenlidir. Terpenoitler izopren türevleri olup, uçucu yağlarda mono, seski, diterpenler ve bunların oksijenli türevlerine rastlanır. Daha yüksek moleküllü olanlara reçine, lateks vb. formlarda çeşitli bitkilerde rastlanmaktadır. Uçucu yağlar glikozit halinde veya reçinelerle (oleorezin) ve zamkla (oleogummirezin) birlikte bulunabilirler (Başer ve ark., 2005; Başer, 2006; Guenther, 1948). Şekil 1.1.'de uçucu yağların içerisinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları verilmiştir.



Şekil 1.1. Uçucu yağlar içerisinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları.

### 1.3.3 Uçucu Yağların Sınıflandırılması

Uçucu yağlar değişik özelliklerine göre gruplara ayrılabilir. Bunlar kimyasal bileşimleri, aromatik özellikleri, farmakolojik ve terapik etkileri göz önünde bulundurularak gruplandırılabilirler (Ceylan, 1997).

#### 1.3.3.1 Kimyasal Bileşimlerine Göre

Kimyasal bileşimleri yönünden değişik drogların uçucu yağları çok farklılıklar gösterir. Uçucu yağlardaki çeşitli bileşikleri 4 grup altında toplayabiliriz.

1. Terpenik bileşikler
2. Aromatik bileşikler
3. Düz zincirli hidrokarbonlar
4. Azot ve kükürt taşıyan bileşikler

Uçucu yağların büyük çoğunluğu (%90'ı) terpenik maddelerden oluşmuştur. Terpenik maddeler ise uçucu yağların içinde monoterpen, seskiterpen ve diterpen olarak bulunur. Terpenlerin oksitlenmesiyle meydana gelen oksijenli türevler, uçucu yağların kendine özgü kokusunu, tadını ve terapik özelliğini verir. Bu nedenle uçucu yağ içeren bitkiler incelenirken içerdikleri oksijenli bileşikler esas alınır.

#### **1.3.3.1.(1) Monoterpenler (C<sub>10</sub>)**

Monoterpenler iki izopren ünitesinden oluşan C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> molekül formülüne sahip bileşiklerdir. Bitki aleminde yaygın olarak bulunurlar. Parfümeride ve gıda maddelerinde koku verici olarak kullanılırlar. Bugün uçucu yağlarda 150'den fazla monoterpen bulunmuştur. Monoterpenler başlıca 3 grup altında toplanabilir.

- a. Etken maddeleri asiklik monoterpen türevi olanlara örnek olarak osimen, sitral, sitronellal, geraniol gösterilebilir. Bu bileşikler özellikle gül, bergamut, kişniş, melissa, limon, safran gibi bitkilerden elde edebilir.
- b. Etken maddesi monosiklik monoterpen türevi olanlara örnek olarak nane, kimyon, okaliptüs, defne gibi bitkilerden elde edilen terpinen, mentol, menton, kuminal gösterilebilir.
- c. Etken maddesi bisiklik monoterpen türevi olanlara örnek olarak sabinen, tujon, kamfen gösterilebilir. Bu bileşiklerin yaygın olarak bulunduğu bitkiler ise halk dilinde pelin otu, kus dili, kedi otu, solucan otu, pire otu olarak bilinmektedir.

#### **1.3.3.1.(2) Seskiterpenler (C<sub>15</sub>)**

Seskiterpenler üç izopren ünitesinden oluşan C<sub>15</sub>H<sub>24</sub> molekül formülüne sahip bileşiklerdir. Terpenoitlerin en geniş sınıfını oluştururlar. Günümüzde 1000'den fazla

seskiterpen bilinmekte ve bunlar 100 farklı karbon iskeleti taşımaktadır. Seskiterpenler özellikle tat ve ilaç bileşeni olarak büyük değeri olan bir gruptur. Bunlar da asiklik, monosiklik, bisiklik ve trisiklik seskiterpenler olarak alt gruplara ayrılır. Bugün uçucu yağlarda 1000 kadar seskiterpen bağlantılı türevler bulunmaktadır. Seskiterpenlere örnek olarak bisabolol, kamazulen, farnesol verilebilir. (Connolly ve Hill, 1991; Devon, 1972; Djerassi, 1994a; Djerassi, 1994b; Djerassi, 1994c; Fischer, 1990).

### 1.3.3.1.(3) Diterpenler (C<sub>20</sub>) ve Triterpenler (C<sub>30</sub>)

Terpenik ve aromatik maddelerin oksijensiz yada oksijenli türevlerinden bir çoğu bir uçucu yağda karışım halinde bulunmaktadır. Oksijensiz olanlar çoğunlukla kolay uçucudurlar. Uçucu yağlar düşük sıcaklıklarda bile sıvı halde kalabilirler. Oksijenli türevler ise daha az uçucudurlar ve uçucu yağ soğutulduğunda bir çoğu çökerek oksijensiz bileşiklerden az veya çok ayrılırlar. Bazı uçucu yağlarda çöken kısımda doymuş hidrokarbonlar bulunabilir. Uçucu yağ soğutulunca çöken kısmına stearopten, bu koşullarda sıvı halde kalan kısmına da elaopten adı verilir. Uçucu yağlara fraksiyonlu destilasyon uygulandığı zamanda ilk ele geçen fraksiyonlar eleoptenden oluşan oksijensiz bileşiklerdir. Terpenlerin oksitlenmesi ile meydana gelen oksijenli türevler uçucu yağın kendine özgü kokusunu, tadını ve terapik özelliğini verirler. Uçucu yağlarda asıl önemli olan bileşikler oksitlenmiş türevleridir. Bu nedenle droglar sınıflandırılırken uçucu yağlarda bulunan oksijenli bileşikler esas alınır.

### 1.3.3.2 Aromatik Özelliklerine Göre

Uçucu yağlar koku ve tat özelliklerine göre de gruplandırılabilirler. Buna göre uçucu yağlar

- Aromatika (çok kokulu ve tadı iyi olanlar),
- Aromatika-aroma (kokulu ve tadı acı olanlar) ve
- Aromatika-acria (kokulu ve tadı keskin olanlar)

olmak üzere üçe ayrılırlar.

Bu özelliğe sahip uçucu yağların elde edildiği bitkiler ise Çin tarçını, Ceylan tarçını, karanfil, anason, küçük Hindistan cevizi, rezene ve kekik gibi bitkilerdir.

### 1.3.3.3 Farmakolojik ve Terapik Etkilerine Göre

Farmakolojik olarak ve terapik etkilerine göre de uçucu yağlar gruplandırılabilirler. Bu grupta yer alan uçucu yağlar genellikle tedavi amaçlıdır ve alternatif tıbbın önem kazanmasıyla da önemleri artmıştır (Ceylan 1997). Farmakolojik etkilerine göre de uçucu yağlar antiromatizmal, öksürük kesici, idrar söktürücü, iltihap azaltan, dezenfektan vs. gibi gruplandırmaya tabi tutulurlar.

Uçucu yağlar buldukları bitkilere göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır:

1. Köklerinden faydalanılanlar : Karaturp, kırmızı turp gibi.
2. Gövdelerinden faydalanılanlar : Zencefil, tarçın gibi.
3. Yapraklarından faydalanılanlar : Nane, kekik, mercankös, maydanoz, defne gibi.
2. Soğan yapısında olanlar : Mutfak soğanı, sarımsak gibi.
3. Çiçeklerinden faydalanılanlar : Karanfil gibi.
4. Meyvelerinden faydalanılanlar : Kimyon, anason, karabiber, kırmızı biber, vanilya gibi.
5. Tohumlarından faydalanılanlar : Hardal, küçük Hindistan cevizi gibi.

### 1.3.4 Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağ eldesi için 1300'lü yılların başında İspanya ve Fransa'da destilasyon metodu geliştirilmiş, 1550'li yıllara gelindiğinde farmakoloji gibi farklı dalların ihtiyacına cevap verebilmek amacıyla yeni teknikler uygulanmaya başlanmıştır (Rangahau, 2001).

Günümüzde gelişen teknolojinin bir sonucu olarak, islenmiş gıdalara olan eğilimin artması; gıdanın kimyasal ve besleyici özelliklerini, aromasını, tekstürünü,

rengini ve diğer özelliklerini doğala en yakın şekilde muhafaza ederek tüketiciye sunulmasını gerekli kılmıştır. Bu yüzden gıda islemede kullanılan temel işlemler arasında, ayırma teknikleri özel bir önem kazanmıştır (Hışıl ve Ünlü, 1996).

Bitkisel doğal ürünler göz önüne alındığında, materyali ekstraksiyon öncesi bir takım hazırlık basamaklarından geçirmek gerekmektedir. Bunlar; bitkinin seçimi, toplanması, tanımlanması, kurutma ve öğütme gibi basamaklardır (Sarker ve ark., 2006). Kuru materyaller genellikle ekstraksiyon öncesi toz haline getirilirken, yaprak vb. organları kullanılan taze bitkiler alkol gibi bir çözücüyle maserasyona tabi tutulur ya da homojenize edilir (Wijesekera, 1991).

#### 1.3.4.1 Destilasyon

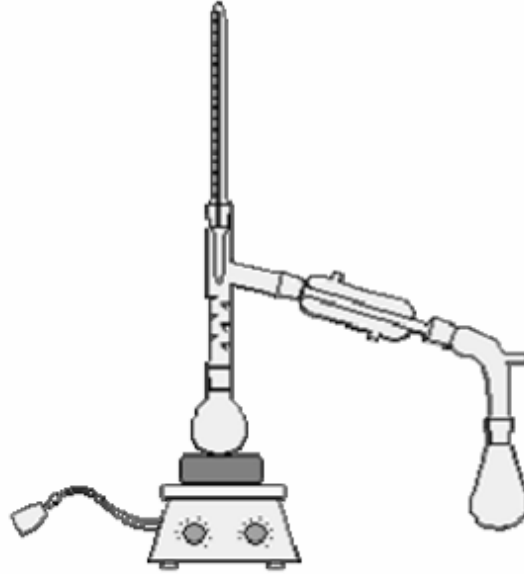
İki veya daha fazla sıvı bileşeni, kaynama noktası veya uçuculuk farkına dayanarak bir karışım içerisinde ayırma işlemine destilasyon denir. Uçuculukları arasında büyük fark bulunan bileşenleri, bir karışımın içerisinde destilasyonla ayırmak daha kolaydır (Mujtaba, 2004). Bir başka tanımlama ile destilasyonun amacı, uçucu bir sıvıyı, çoğu zaman da farklı uçuculukta sıvıları, uçucu olmayan bir madde içerisinde ayırmaktır (Young, 2003). Şekil 1.2.'de basit destilasyon düzeneği görülmektedir.

Uçucu yağların çoğunun kaynama noktası suyun kaynama noktasından yüksek olmasına rağmen böyle iki fazlı bir sıvı sisteminde kaynama derecesi, ayrı ayrı her iki sıvının kaynama derecelerinden daima daha küçük olacaktır. Böylece uçucu yağlar destilasyon yöntemiyle bozunmaya uğramadan destile edilebilmektedir (İzgu 1973).

Bu yöntem ile elde edilen uçucu yağlar:

- Yüksek oranda kaynama noktası düşük bileşikler,
- Az miktarda kaynama noktası yüksek ve suda çözünen bileşikler içermektedir.

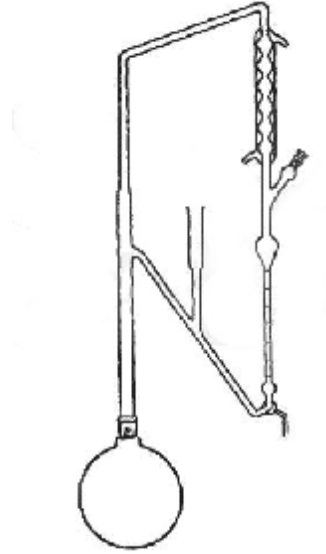
Destilasyon yöntemleri, su destilasyonu, buhar destilasyonu ve vakum destilasyonu olmak üzere 3'e ayrılmaktadır:



Şekil 1.2. Basit destilasyon düzeneği.

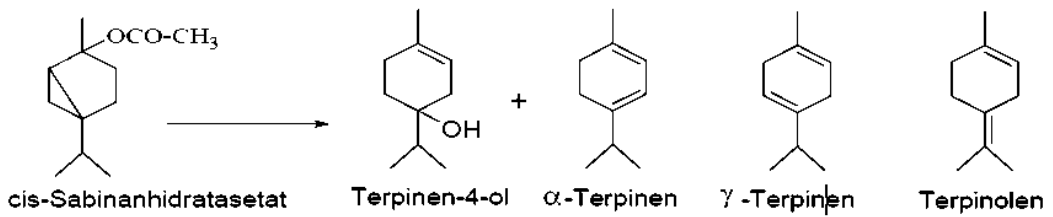
#### 1.3.4.1.(1) Su Destilasyonu (Hydrodistillation - HD)

Uçucu bileşiklerin eldesin de yaygın olarak kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Su destilasyonu, kaynatıldığında bozulmayan taze ve kuru bitkisel materyale uygulanabilir. Ester içeren uçucu yağlar için uygun değildir. Yöntemin esası; soğutucu ile irtibatlandırılan bir cam balon içerisinde su ve bitki materyalinin 2–8 saat süre ile kaynatılarak, su buharı ile birlikte hareket eden yağ moleküllerinin soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasına dayanmaktadır. Su destilasyonunda bitkisel materyal her zaman su ile doğrudan temas halindedir (Tanker ve Tanker, 1985; Thapa, 1989; Wijsekera, 1993). Küçük ölçekli üretimlerde Şekil 1.3'te görülen Clevenger tipi bir aparatla yapılan destilasyon işlemi, endüstriyel uygulamalarda büyük destilasyon kazanlarında (imbik) gerçekleştirilmektedir. Elde edilen uçucu yağ miktarı volumetrik olarak ifade edilir. Su destilasyonu en iyi toz halindeki materyallerde (örneğin; kök ya da odun unu) sonuç vermektedir (Jackson, 1997b).



Şekil 1.3. Su destilasyonunda kullanılan Clevenger aleti.

Elde edilen yağ miktarı çok olmakla birlikte suyun kaynatılması esnasında uygulanan yüksek sıcaklık, termal bazı reaksiyonlara neden olmaktadır. Bunun sonucu olarak artifak oluşumu, hidroliz ve izomerizasyon olayları meydana gelmektedir. Şekil 1.4.'te sıcaklık etkisi ile meydana gelen ve destilasyon yöntemlerinde sıkça rastlanılan bir termal degradasyon görülmektedir. Uçucu yağların bileşimi pH'a bağlı olarak değişse de su destilasyonu yönteminde genellikle sıvının pH değeri kontrol edilmemektedir (Fakhari ve ark., 2005).

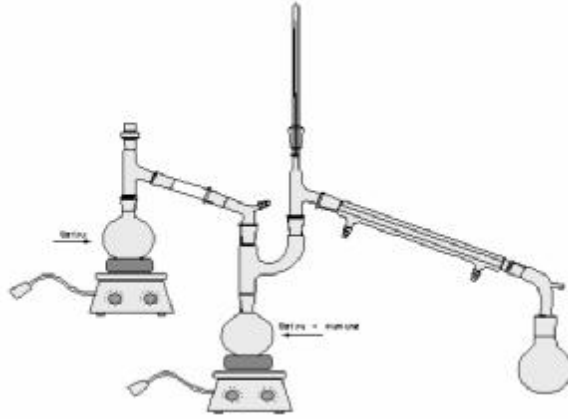


Şekil 1.4. Sabinanhydratasetat'ta meydana gelen termal degradasyon (Rowe, 1989).

#### 1.3.4.1.(2) Buhar Destilasyonu (Steam Distillation)

Buhar distilasyonu, distilasyon kazanının dışında bulunan bir buhar jeneratöründe üretilen buharın kazanın içine yerleştirilmiş olan bitkinin içinden geçirilmesiyle uygulanır. Bitkisel materyal buhar girişinin üzerinde yer alan ızgara

üzerine yerleştirilir. Kapalı kap içerisinde dışarıdan basınç ile gönderilen su buharı ile uçucu yağ sürüklenip soğutucuda yoğunlaşır. Toplama kabında biriken su ve yağ karışımı yoğunluk farkından dolayı birbirinden ayrılır. Şekil 1.5.'te su buharı destilasyonu düzeneği görülmektedir.

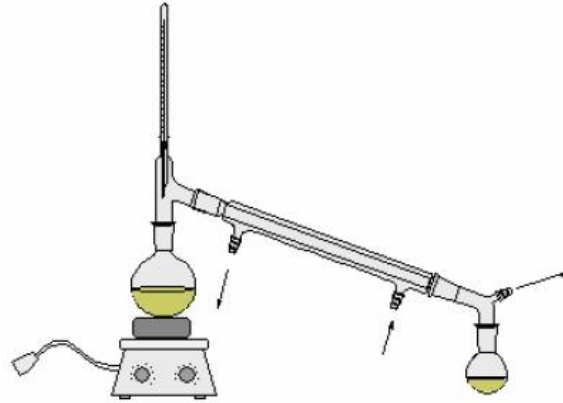


Şekil 1.5. Su buharı destilasyonu düzeneği.

Bu yöntemde buharın hızı ve ısı kontrol edilebilir. Sıcaklıkla bozulabilen ve kolayca hidrolize olabilen bileşikler içeren bitkisel materyallere uygulanır. Büyük ölçekte uçucu yağ üretimi için en çok tercih edilen yöntemdir (Thapa, 1989; Wijesekera, 1993; Lawrence, 1995; Boydağ, 2004).

#### 1.3.4.1.(3) Vakum Destilasyonu (Vacuum Distillation-VD)

Bazı bileşiklerin kaynama noktaları oldukça yüksektir. Bu bileşikler elde etmek amacıyla sıcaklığı artırmak yerine basıncı düşürmek daha etkilidir. Basınç bir kez bileşiğin buhar basıncının altına indirilirse, kaynama ve destilasyon işlemi başlamaktadır. Şekil 1.6'da VD düzeneği görülmektedir.



Şekil 1.6. Vakum destilasyonu düzeneği.

#### 1.3.4.1.(4) Hidrodifüzyon

Bu yöntemde buhar distilasyonundan farklı olarak, buhar kazanının üst kısmından girip bitkisel materyal arasından geçerek aşağı doğru hareket eder. Bitki kazanının içindeki sepete yerleştirilir. Sistemin dışında bulunan buhar jeneratörü sisteme düşük basınçta buhar gönderir. Buharla birlikte sürüklenen yağ kazanının alt kısmındaki soğutucuda yoğunlaşır. Buhar distilasyonuna göre daha yüksek verim elde edilir (Lawrence, 1995; Boydağ, 2004).

#### 1.4. Ekstraksiyon Yöntemi

Destilasyon yöntemi ile birçok durumda kabul edilebilir bir saflık ve hoş bir aroma elde edilebilmesine rağmen bu metodun stabil olmayan veya yüksek buhar sıcaklığından zarar gören aromatik bileşiklere uygulanması verimi düşürür. Bu faktörler göz önüne alınarak koku bileşenlerinin çiçeklerden ayrılmasında çeşitli çözücüler kullanılır. Bu amaçla kullanılan çözücüler uçucu olan ve olmayan olmak üzere ikiye ayrılır. Enfloraj ve Maserasyon uçucu olmayan çözücülerle ekstraksiyon yöntemleridir (Polat ve Ötleş, 1997).

Ekstraksiyon işlemini geleneksel ve yeni metotlar olmak üzere iki gruba ayırabiliriz. Sokselet ekstraksiyonu ve maserasyon işlemi geleneksel yöntemler

arasında olup işlem süresi uzundur ve büyük miktarlarda çevreyi kirletici çözücüler kullanılmaktadır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga ekstraksiyonu ise son yıllarda geliştirilen hızlı, etkin ve modern yöntemler arasındadır (Moyler,1993).

#### 1.4.1.Çözücü Ekstraksiyonu (Solvent Extraction)

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi olup bitki materyali, direkt olarak oda sıcaklığında çözücünün içerisine batırılabilceği gibi bir sokselet içerisinde organik çözücü ile kaynatılmaktadır. Endüstriyel çalışmalarda organik çözücü olarak hekzan ve etanol; analitik laboratuvar çalışmalarında ise eter ve pentan-diklormetan (2:1) kullanılmaktadır. Ekstraksiyon sonunda, organik çözücü destilasyon ile ortamdan uzaklaştırılarak geri kazanılmaktadır. Kalan yağsı kısım içerisinde ise uçucu bileşikler bulunmaktadır.

Bu yöntemin buhar destilasyonuna göre avantajı, ekstraksiyon sırasında düşük sıcaklık kullanılmasıdır. Genellikle sıcaklık, sokselet cihazında 60°C'den az ve daldırma yönteminde ise 5–25 °C arasındadır. Düşük sıcaklık, elde edilen uçucu yağın buhar destilasyonuna göre daha doğal bir içerik oluşturmasını sağlamaktadır (Linskens ve Jackson, 1997b).

Çözücü ekstraksiyonunun iki dezavantajı vardır. Bunlardan birincisi ekstraksiyon sonrası yoğunlaştırma işlemi sırasında molekül ağırlığı düşük uçucu bileşiklerin kaybı ve artifağların oluşumu ikincisi ise ekstraksiyon sonrası geri kalan çözücüdür. Bu problem hem ekonomik açıdan hem de çevre kirliliği (toksik özellikleri) bakımından önemlidir. Saf ve kaliteli çözücüler pahalı ve büyük miktarlarda kullanıldığında maddi bir yük getirmektedir.

##### 1.4.1.1. Maserasyon

Maserasyon, çiçeklerden uçucu yağ eldesi için kullanılan ilkel metotlardan biridir. 60–70°C'deki erimiş hayvansal yağa veya bitkisel yağa batırılan çiçekler ısı etkisiyle parçalanarak aroma maddelerinin yağa geçmesi sağlanır. Yağ içinde kalan çiçek parçaları ortamdan uzaklaştırılarak üzerlerinde kalan yağ hidrolik basınç

uygulamasıyla alınır ve aroma maddelerini içeren yağa katılır. Bu işlem, yağ iyice aroma maddeleriyle doyana kadar devam ettirilir. Maserasyon, oldukça fazla zaman alan verimsiz bir işlemdir (Mukhopadhyay, 2000).

#### **1.4.1.2. Enfloraj**

Yasemin, sümbülteper gibi bazı çiçekler az miktarda yağ içerdiklerinden ya da narin yapılarından dolayı uçucu yağları distilasyonla elde edilemez. Bu gibi durumlarda, anfloraj diye adlandırılan zahmetli ve uzun süren işlem uçucu yağ elde edilmesi için kullanılır. Enfloraj, örneklerin soğuk hayvansal yağa temas ettirilmesiyle gerçekleştirilir (Mukhopadhyay, 2000). Tahta çerçevelerle desteklenmiş cam plakaların yüzeyine sürülen yağ ile temas eden çiçek, bu plakalar arasında sıkıştırılarak aroma maddelerinin yağ tarafından absorbe edilmesi sağlanır. Esansiyel yağın enfloraj yağından ekstraksiyonunda ise petrol eteri kullanılır (Polat ve Ötleş, 1997). Enfloraj yöntemi de Maserasyon gibi zaman alan bir işlemdir (Mukhopadhyay, 2000).

#### **1.4.1.3.Sıcak Yağ İle Ekstraksiyon**

Çiçeklerin fizyolojik aktiviteleri koparma ile durur. Böyle çiçekler 60–70°C yağa daldırılarak ekstrakte edilir. Uçucu yağı alınan çiçeklerin yerine yağ doyana kadar tazesini yerleştirilir. Yağ süzöldükten sonra elde edilen ürüne pomat adı verilir. Pomatın alkol ile ekstraksiyonu sonucu absöü elde edilir (Guenther, 1948; Boydağ, 2004).

#### **1.4.1.4. Organik Çözücü Ekstraksiyonu**

Isıya hassas veya az miktarda bitkisel materyalde kullanılan bir yöntemdir. Taze bitki saf organik çözücülerle ekstrakte edilir. Bu işlem için bitki bir kabın içerisinde çözücüyle temas halinde bekletilir. Gerekirse taze çözücü ile işlem tekrarlanır. Bitkinin içindeki uçucu yağ çözücüye geçer. Düşük basınç altında

çözücünün uzaklaştırılmasıyla konkret elde edilir. Uçucu yağların diğer uçucu olmayan bileşiklerden ayrılması için sıcak alkol kullanılır. Mumlar ve yağ asitleri alkolde çözünmediği için ayrılır. Daha sonra ikinci bir destilasyon ile alkol ayrıştırılır ve geriye uçucu yağ kalır. Konkretin sıcak alkolle ekstrakte edilmesiyle absölu elde edilir. Çözücü ekstraksiyonu bazı dezavantajlara sahiptir. Çözücünün kalıntıları ürünün içerisinde kalabilir ve yan etkilere neden olabilir. Diğer bir dezavantaj ise çözücünün istenen bileşikler yanında sabit yağları, mum, reçine ve pigmentleri çözmesidir (Wilson, 1995; Thapa, 1989; Wijesekera, 1993).

#### 1.4.2. Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu (BSE)

BSE, mevcut ekstraksiyon tekniklerinden olan Soxhlet, maserasyon ve perkolasyona alternatif olarak geliştirilen ve bu yöntemlere nazaran ekstraksiyon süresi, solvent tüketimi, ekstraksiyon verimi ve tekrarlanabilirlik açısından daha avantajlı bir katı-sıvı ekstraksiyon tekniğidir (Kaufmann ve Christen, 2002).

Solventlerin kritik noktalarına ulaşmadan yüksek basınç ve yüksek sıcaklıkta ekstraksiyon işleminin gerçekleştirildiği bu teknik literatürde;

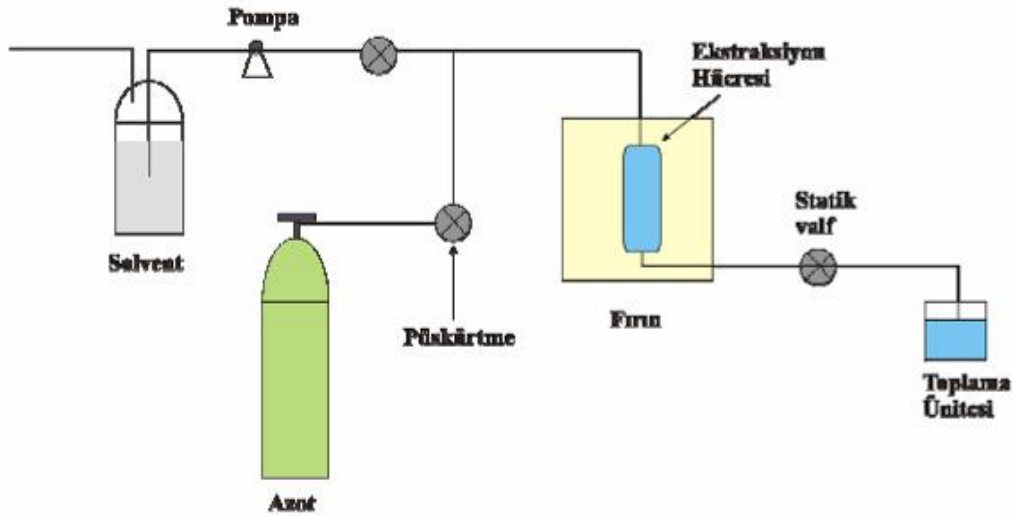
- Basınçlı solvent ekstraksiyonu,
- Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu,
- Basınçlı akışkan ekstraksiyonu,
- Basınçlı sıcak solvent ekstraksiyonu,
- Yüksek basınçlı solvent ekstraksiyonu,
- Yüksek basınç yüksek sıcaklıkta solvent ekstraksiyonu,
- Subkritik solvent ekstraksiyonu

gibi isimlerle anılmaktadır. Bu teknikte solvent olarak su kullanıldığı zaman ise;

- Subkritik su ekstraksiyonu,
- Sıcak su ekstraksiyonu,
- Basınçlı sıcak su ekstraksiyonu,
- Yüksek sıcaklıkta su ekstraksiyonu,

- Süper ısıtılmış su ekstraksiyonu gibi isimler almaktadır.

BSE tekniğinin geleneksel solvent ekstraksiyon tekniklerine üstünlüğü; uygulanan basınç sayesinde solventin kaynama noktası sıcaklığı üzerinde de sıvı kalabilmesi ve yüksek sıcaklıklarda ekstraksiyona müsaade etmesidir. Yüksek sıcaklık ve basınç ile sağlanan bu koşullar analit çözünürlüğü ve analitin desorpsiyon kinetiğini geliştirmektedir. Su düşük sıcaklıkta fitokimyasalların ekstraksiyonu için yetersiz olmasına rağmen artan sıcaklıklarda daha etkili olmaktadır. Bu teknik ile 3–20 dakikada 3,3–20,3 MPa basınç ve 40–200°C sıcaklıkta kapalı bir ortamda analitin ekstraksiyonu gerçekleştirilebilmektedir (Ju ve Howard, 2003). Şekil 1.7’de BSE cihazının kısımları şematize edilmiştir (Çam ve Hışıl, 2006).



Şekil 1.7. BSE cihazının kısımları.

#### 1.4.2.1 Sub Kritik Su Ekstraksiyonu (SbKSE)

Su yapısal özellikleri, yüksek hidrojen bağlı yapısı, molekül ağırlığından beklenmeyecek düzeyde yüksek kaynama noktasına sahip olması, yüksek dielektrik sabiti ve polaritesi ile çok özel bir solventtir.

SbkSE, yeni bir teknik olup basınç altında 100–374 °C sıcaklık değerleri arasındaki şartlarda çalışır. Sub kritik su, 100–374°C arasındaki sıcaklık aralığında, basınç altındaki sıvı su demektir. Ekstraksiyonu yapılacak maddenin maksimum verim ile elde edilmesi için basınç ve sıcaklıklar değiştirilerek optimum şartlar belirlenir. Kritik sıcaklık noktasına ulaşılmadan dahi ekstraksiyon verimi süperkritik akışkan veya çözücü ekstraksiyonu verimine eşdeğer bulunmuştur. Dolayısıyla sub kritik su ile ekstraksiyon, süperkritik akışkan ekstraksiyonuna ve çözücü ekstraksiyonuna alternatif olarak gelişmeye başlamıştır. Sub kritik su kullanmanın birçok avantajlı yönleri vardır. Bunlardan; çevre dostu, çok ucuz, kolay bulunur olması, toksik olmaması ve organik atık bırakmaması gibi özellikler sayılabilir.

Yüksek basınç ve sıcaklık altında suyun fiziksel ve kimyasal özelliklerinde özellikle de dielektrik sabitinde ( $\epsilon$ ) çarpıcı değişiklikler meydana gelmektedir. Oda sıcaklığı ve atmosfer basıncı koşullarında suyun dielektrik sabiti  $\epsilon = 78$  dir. 300 °C ve 23 Mpa basınçta bu değer  $\epsilon = 21$  olur. Dielektrik sabiti 25 °C ve atmosfer basıncında etanol için  $\epsilon=24$ , aseton için  $\epsilon=20.7$  ve metanol için  $\epsilon=23$  dür. Bunun anlamı, yüksek basınç ve sıcaklık koşullarında suyun polaritesi ciddi şekilde düşmektedir ve ekstraksiyon işleminde etanol, aseton, metanol gibi davranabilmektedir. Bu sayede su orta polar-düşük polar bileşenlerin ekstraksiyonu işleminde organik solventler yerine kullanılabilir.

Sonuç olarak süper ısıtılmış su, özellikle aromatik bileşikler gibi polarizlenebilen ya da bazı polar gruplara sahip büyük organik bileşikler için iyi bir çözücüdür. Son yıllarda yapılan çalışmalarda poliaromatik hidrokarbon, poliklorlu bifeniller ile bitki ve gıda örneklerinden pek çok kimyasal bileşiğin ekstraksiyonları mümkündür. Bunun yanında fraksiyonlama ve kromatografik uygulamaları da yapılmaktadır. Naphthalene ve benz(e)pyrene gibi poliaromatik hidrokarbonların ve bazı pestisitlerin süper ısıtılmış sudaki çözünürlükleri incelenmiş ve 100°C 'den 374°C 'ye kadar bir artışta, çözünürlüklerinde  $10^6$  civarında bir artış gözlenmiştir ve bu mükemmel bir sonuçtur.

Süper ısıtılmış suyun, bugün kullanılmakta olan organik solventlere bir alternatif olarak, organik bileşik proseslerinde kullanılması gün geçtikçe

yaygınlaşmaktadır. Elde edilen üründe organik atık yoktur, kirlilik çalışmalarında avantajları gözlenmiştir ve çevrecidir.

Bu yöntem, bitki materyallerinden değerli bileşiklerin ya da esans yağlarının ekstraksiyonunda kullanılabilir. Esans yağlarının ekstraksiyonu için sıcaklık 100 ile 200°C arasında olmalıdır. 150°C için istenilen basınç 5 bar; 200°C için istenilen basınç 16 bar'dır. örneğin; 210°C'deki su ile 25°C'deki metanolün dielektrik sabiti eşittir. Dolayısıyla su, bu sıcaklıkta metanolün çözdüğü bileşikleri çözebilir.

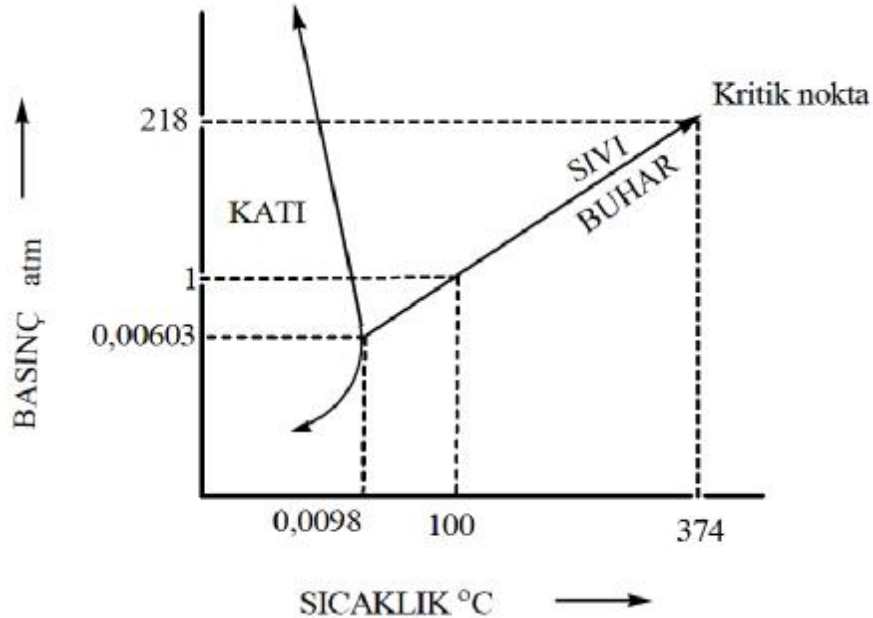
Süper ısıtılmış su ile bitki materyallerinin ekstraksiyonu sonucunda elde edilen yağın terpen ve oksijenli bileşikleri oranı, su buharı destilasyonu ile karşılaştırıldığında fazla bulunmuş, bu yüzden de verimin iyi olduğu kabul edilmiştir. Bunun yanında yüksek sıcaklık ve basınç altında çözücü, bitki materyaline daha fazla nüfuz eder. Ayrıca su buharı destilasyonundan iki kat daha fazlası gerektirdiği halde, harcanan enerji daha azdır. Süper ısıtılmış su ayrıca; petrol ürünlerinden aromatik bileşiklerin ekstraksiyonunda, gıda maddelerinden yeni tatların elde edilmesinde, çevresel örneklerden ve yağlardan kirliliklerin ekstraksiyonunda da kullanım alanı bulmaktadır. Bu tekniğin, çevreci, ucuz olması nedeniyle kozmetik, gıda ve eczacılık endüstrisinde büyük gelişmelerin olması sağlanabilecektir. Bitki ekstraksiyonu için oldukça elverişli bir sistemdir. Süre 10-20 dakikadır (Özel vd 2003).

SbkSE, statik mod, dinamik mod ya da her iki modun kombinasyonu şeklinde gerçekleştirilebilir. Statik modda, örnek ve solvent belli bir zaman boyunca sabit basınç ve sıcaklıkta tutulur. Dinamik modda ise örneğin içerisinde sürekli bir solvent akışı söz konusudur. Bazı çalışmalarda ise statik ve dinamik modun birlikte kullanımının su ekstraksiyonunda daha etkili olduğu belirlenmiştir (Lehotay ve Lee,1997; Gamiz-Gracia, 2000; Chienthavorn ve ark. 2004). BSE işleminde ekstraksiyon performansını etkileyen faktörler; örnek miktarı ve kompozisyonu, solventin hacmi ve akış hızı, sıcaklık, ekstraksiyon süresi, döngü, basınçtır (Smith, 2002; Ramos ve ark. 2002).

### 1.4.2.2. Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu (Supercritical fluid extraction-SFE)

Doğal ürünlerin organik çözücülerle muamele edilmesi gerek çevresel gerekse sağlık açısından son yıllarda pek istenmeyen bir olgu haline gelmiştir. Bu noktada daha az çözücü harcayan, ekstraksiyon süresi daha kısa olan ve normal koşullarda yüksek sıcaklıkta çözünen bileşikleri ayırıştırma özelliği ile süperkritik sıvı ekstraksiyonu giderek büyük ilgi çekmektedir (Yamani ve ark., 2007).

Süperkritik bir akışkanla ekstraksiyon; seçilen akışkanın, kritik basınç ve sıcaklık değerinin üzerinde organik bir çözücü olarak kullanılmasıdır. Süperkritik hal olarak adlandırılan bu bölgede, akışkanın fizikokimyasal özellikleri değişerek, sıvı ve gaz arası farklı özellikler gösterir. Bu yüzden süperkritik koşullardaki madde, sıvı veya gazdan ziyade “akışkan” olarak adlandırılır (Ünlü ve Hışıl, 1997). Şekil 1.8.’de su için üçlü diyagram verilmiştir. Süperkritik akışkanların yoğunlukları, vizkoziteleri ve diğer özellikleri gaz ve sıvı hallerindeki özellikleri arasında yer alır. Çizelge 1.8.’de süperkritik akışkan ekstraksiyonunda yaygın olarak kullanılan bazı bileşiklerin özellikleri verilmiştir.



Şekil 1.8: Su için üçlü diyagram.

Çizelge 1.1. Gazların, sıvıların ve Süperkritik akışkanların fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması (Sarker ve ark., 2006).

Özellik	Yoğunluk(kg/m <sup>3</sup> )	Viskozite (cP)	Diffüzivite(mm <sup>2</sup> /s)
Gaz	1	0.01	0.1 – 10
SCF	100 – 800	0.05 – 0.1	0.01 – 0.1
Sıvı	1000	0.5 – 1.0	0.001

Süperkritik sıvıların düşük vizkoziteleri, sıvıların yüksek difüzyon katsayıları ile birleşince bitkiler için ideal bir ekstraksiyon maddesi oluşmaktadır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonunda kullanılan çözücüler arasında kolayca bulunabilmesi, maliyetinin düşük ve saflık oranının yüksek olması kullanımının kolay ve çevre etkisinin minimum olması nedeniyle karbondioksit (CO<sub>2</sub>) başta gelmektedir (Porta,1999).

Karbondioksite ait süperkritik nokta, 1869 yılında Andrews tarafından keşfedilmiştir. Çözücü olarak ilk ciddi kullanımı ise 1960’larda Rusya ve Amerika’da olmuştur. 1993 yılında CO<sub>2</sub> ile ticari olarak 42 farklı yağ elde edilmiştir. Güvenli, yanıcı olmayan, ucuz ve az bir kokusu ya da tadı olan CO<sub>2</sub>, düşük vizkozitesi sayesinde bitkilere kolayca nüfuz edebilmekte ve düşük sıcaklığı ile herhangi bir atık bırakmadan kolayca buharlaşabilmektedir. Süperkritik CO<sub>2</sub>, normal şartlar altında 200–300 bar ve 40–50 °C’de bitki ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Ekstraksiyon sırasında değişen sıcaklık ve basınç ile uçucu yağlara özgü belli bileşikler ayrıştırabilmektedir. Tablo 1.2.’de sıvı CO<sub>2</sub> ‘de çözünebilir madde grupları verilmiştir (Moyler,1993; Congiu ve ark. 2002; Pourmortazavi, 2004).

Çizelge 1.2 Süperkritik sıvı CO<sub>2</sub> ‘de çözünebilir madde grupları (Moyler,1993).

Kolay çözünenler	Az çözünenler	Hiç çözünmeyenler
<ul style="list-style-type: none"> <li>Düşük molekül ağırlığa sahip organikler,</li> <li>Tiyoller, Tiyazoller, Pirazoller</li> <li>Asetik asit, Benzaldehit, Hexanol ve gliserol asetatlar</li> <li>Molekül ağırlığı 250’ye kadar olan bileşikler</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Yüksek molekül ağırlıktaki organikler,</li> <li>Su, oleik asit, gliserol, decanol</li> <li>Doymuş yağlar</li> <li>Molekül ağırlığı 400’e kadar olan bileşikler.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Şekerler, proteinler</li> <li>Tanenler, vakslar</li> <li>Klorofil, karatenoidler, sitrik ve malik asitler</li> <li>Amino asitler, nitratlar, pestisitler, insektisitler</li> <li>Molekül ağırlığı 400’ün üzerinde olan bileşikler</li> </ul>

### 1.4.3. Mikrodalga Ekstraksiyonu (Microwave-assisted Extraction)

İkinci dünya savaşından beri kullanılan mikrodalga teknolojisinin, analitik laboratuvarında kullanımı 1970'lerin sonunda olmuştur. Mikrodalgalar 0.3–300 GHz aralığında değişen elektromanyetik radyasyonlardır ve genellikle doğal ürünlerde 2.5–75 GHz'de ekstraksiyon gerçekleştirilmektedir. Mikrodalga enerjisinin etkinliği büyük oranda çözücünün içeriğine, bitki materyaline ve uygulanan mikrodalga gücüne bağlı olmaktadır. Polar moleküller ve iyonik türlerin bulunduğu durumlarda daha hızlı bir enerji yayılması gerçekleşmektedir.

Mikrodalga ısıtmasının avantajı moleküllerin kutuplarındaki yükseltgenen zayıf hidrojen bağlarının bozun durulmasıdır. Klasik temas yoluyla ısı iletimi yöntemlerinin aksine, mikrodalgalar örneğin tamamını aynı anda ısıtılmaktadır. Mikrodalga yardımıyla ekstraksiyon iki farklı sistemle gerçekleştirilmektedir. En yaygın sistem, sıcaklık ve basınç kontrol edilebilen kapalı bir kap içerisinde yapılan kapalı sistem ekstraksiyonudur. Diğer yöntem ise atmosferik basınç altında açık kap içerisinde gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemin avantajı, ekstraksiyon süresinin ve kullanılan çözücü miktarının büyük oranda az olmasıdır. Mikrodalga Ekstraksiyon yöntemiyle bitkilerdeki polifenoller ve lignanlar ayrıştırılabilmektedir (Kaufmann ve Christen 2002; Kaufmann ve ark., 2007; Beejmohun ve ark., 2007).

### 1.4.4. Sıkıştırılmış Çözücü Ekstraksiyonu (Pressurised Solvent- Extraction)

Klasik ekstraksiyon yöntemlerine alternatif olarak geliştirilen bir yöntemdir. Ekstraksiyon süresi, çözücü tüketimi, verim ve tekrarlanabilirlik gibi avantajları bulunmaktadır. Yöntemin etkinliğini artırmak amacıyla yüksek basınç ve sıcaklıkta organik çözücüler kullanılmaktadır. Sıcaklığın artması, ekstraksiyonun kinetiğini hızlandırırken, yükseltelen basınç çözücüyü sıvı halde tutarak güvenli ve hızlı bir ekstraksiyon sağlamaktadır. Ayrıca yüksek basınç, çözücünün, deney materyalinin iç kısımlarına kadar nüfuz etmesine imkân sağlamaktadır. Hızlandırılmış çözücü ekstraksiyonu (accelerated solvent extraction-ASE) bu yöntemin bir şeklidir.

Bu yöntem de, çelik bir kap içerisine yerleştirilen katı yada yarı-katı örneğin çözücü ile bir fırın içerisinde 50–200 °C arasında değişen sıcaklıklarda ısıtılması ile başlar ve ısıtma sırasında fırına 500–3000 psi değerleri arasında basınç uygulanır. Ekstraksiyonun 5–10. dakikalarında ortama yeni çözücü pompalanarak örneğin ve kabın yıkanması sağlanmaktadır. Sistem içerisindeki bütün çözücü genellikle nitrojen gazı kullanılarak bir şişe içerisinde toplanmaktadır (Kaufmann ve Christen, 2002).

#### 1.4.5. Katı-Faz Mikroekstraksiyon (Solid Phase Microextraction-SPME)

Analitik yöntemler genel olarak örnek toplama, örnek hazırlama, ayrıştırma, tespit ve sonuçların yorumlanmasını içermektedir. Yapılan çalışmalar analiz süresinin % 80'nin örnek toplama ve hazırlamaya harcadığını göstermektedir. Bu aşamalarda yapılacak hata bütün bir çalışmanın çöpe atılması anlamına gelmektedir.

1989 yılında Pawliszyn ve arkadaşları tarafından bulunan katı-faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi, örnek hazırlama kademesine oldukça başarılı yeni bir yaklaşım getirmiştir. SPME, örnek hazırlama, ekstraksiyon ve yoğunlaştırma aşamalarını çözücü içermeyen tek bir aşamada birleştirmiştir. Bu yöntemle işlem süresi ve maliyetlerde önemli kazançlar sağlanırken, teşhiste de iyileşmeler görülmüştür. SPME, GC veya GC-MS ile birlikte özellikle çevre, biyoloji ve gıda örneklerindeki uçucu ve yarı uçucu organik bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Ayrıca, yüksek-performanslı sıvı kromatografisinde de (HPLC) uygulanmaktadır. (Vas ve Vekey, 2004).

Çok basit bir cihaz olan SPME, modifiye edilmiş bir şırıngaya benzemektedir. İç kısmında bir lif tutucu ve lif grubu bulunmaktadır. Sondaki lif, 1-2 cm uzunluğunda ileri geri hareket edebilen bir SPME lifidir. SPME lifi ince polimer film kaplı eritilmiş silika optik bir liftir. SPME uygulaması gaz (headspace) yada çözelti halindeki örneğe uygulanabilmektedir. Her iki durumda da SPME iğnesi kapalı ortama sokulur, lifi koruyan kısım geri çekilir ve lifin ortamla temas etmesi sağlanır. Lif üzerindeki polimer kaplama tıpkı bir sünger gibi absorpsiyon/adsorpsiyon yöntemiyle örneği alır ve daha sonra koruma amaçlı olarak lif, metal iğnenin içerisine geri çekilir. Bir sonraki aşama lif üzerindeki örneğin GC

veya GC-MS'e termal desorpsiyon ile aktarılarak analiz edilmesidir (Galipo ve ark., 2002).

SPME yönteminin etkinliğini etkileyen en önemli faktör lifi kaplayan materyalin tipi ve kalınlığıdır. PDMSDVB [poly(dimethylsiloxane)-divinilbenzene] tipi lifler terpenler gibi önemli uçucu bileşiklerin tutulmasında kullanılmaktadır. Diğer faktörler ise sırasıyla ekstraksiyon işlemi, desorpsiyonun optimizasyonu, türev hazırlama ve nicelik yönünden incelenmesidir. SPME ekstraksiyonunun süresi 1-20 dakika arasında değişmektedir. Sürenin kısa olması hekzenal gibi uçucu bileşiklerde yeterli olabilmekte ancak daha az uçucu bileşikler için daha uzun sürelere ihtiyaç duyulmaktadır. Basit, düşük maliyetli, temiz ve konsantre ekstrak eldesi ile kütle spektrometre uygulamaları için ideal bir yöntemdir (Araujo ve ark., 2007)

#### **1.4.6. Çok Yönlü ekstraksiyon Yöntemleri (Simultaneous destilasyon ekstraksiyon (SDE))**

1964 yılında Likens ve Nickerson tarafından ortaya konulan bu yöntemde hem zaman hem de harcanan kimyasal miktarı bakımından ciddi azalmalar söz konusudur. Yöntemin çalışma prensibine göre örnek, SDE aparatının sol tarafına su dolu cam balonun içerisine konularak kaynatılmaktadır. Uçucular, buharla destile olarak sol kolondan yukarıya doğru hareket ederken aynı zamanda SDE aparatının sağ tarafındaki çözücüde buharlaştırılmaktadır. Ekstraksiyon işlemi aparatın üst kısmında yer alan soğutucunun cidarlarında su ve çözücü buharının yoğunlaşmasıyla gerçekleşmektedir. Yoğunlaşan su ve çözücü tekrar buldukları cam balonlara dönmekte, su ve çözücü kısmı ayrı ayrı yoğunlaştırılarak uçucu bileşikler elde edilmektedir.

SDE yöntemini etkileyen parametrelerin başında kullanılan çözücü türü gelmektedir. Yoğunluğu sudan ağır veya hafif farklı çözücülerle yapılan denemelerde diklormetanın en iyi çözücü olduğu görülmüştür. Diğer bir faktör ise polar çözücülerin geri kazanımını artırmak amacıyla örneğe katılan tuzlardır. Destilasyon-ekstraksiyon süresi de önemli bir parametredir. Maksimum verim

çoğunlukla 30–45. dakikalarda gerçekleşmekle birlikte genel bir kural olarak işlem 1–2 saat sürmektedir (Chaintreau, 2001).

Çok fazla kullanılmamakla birlikte çok yönlü yöntemler arasında simultaneous destilasyon-adsorpsiyon ve destilasyon-membrane ekstraksiyon yöntemi yer almaktadır.

#### **1.4.7. Mekanik Yöntem (Presleme)**

Uçucu yağların elde edilmesinde kullanılan diğer bir yöntem soğukta sıkmadır. Bergamot, greyfurt, limon, portakal ve mandalina gibi bazı turunçgillerin kabuklarındaki uçucu bileşikler, destilasyon yöntemi uygulandığında bozunmaktadır. Bu gibi meyvelerin kabukları bez bir torbaya koyularak soğuk hidrolik preslerde sıkılarak uçucu yağlar elde edilebilmektedir (Ceylan, 1983). Narenciye kabuklarından usare ve uçucu yağ üretimi için günümüzde 2 tip ekstraktör kullanılmaktadır. FMC In Line adı verilen ekstraktörde meyvenin alt ve üst kısımları kesilir. Üzerinde delikler olan bir boru meyvenin içine usareyi almak üzere yerleşirken üstten dışa doğru inen bıçaklar kabukları dilimleyerek ayırır. Bu sırada salgı ceplerinin parçalanmasıyla açığa çıkan uçucu yağ etraftan püskürtülen su ile emülsiyon yaparak dış kanaldan sürüklenir. Polisitrus ekstraktörde ise meyveler helezon şeklinde ve rendelerle kaplı ekstraktörün içinde ilerlerken perikarptaki salgı cepleri patlar ve uçucu yağ su ile sürüklenerek toplanır. Her iki yöntemde de elde edilen uçucu yağ-su emülsiyonu santrifüj yardımıyla ayrılır.



## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

### 2.1. *Alkanna* Türleri İle Yapılan Çalışmalar

Tzakou ve Loukis, (2008), Yunanistan'dan *Alkanna orientalis* (L.) Boiss'in taze üst kısımlarının kimyasal bileşenlerini GC-MS ile analiz etmişlerdir. Analiz sonucunda toplam yirmi sekiz bileşen tanımlanmıştır. Ana bileşenler  $\beta$ -eudesmol (%36,9),  $\alpha$ -eudesmol (%16,3) ve  $\gamma$ -eudesmol (%14,1) olarak belirlenmişlerdir.

Akgün ve ark., (2009), Anadolu'nun çeşitli bölgelerinden toplanmış on altı endemik *Alkanna* türünün Naphthazarin türevlerini (alkannin, acetylalkannin, deoxyalkannin ve  $\beta,\beta$ -dimethylacrylalkannin) RP-LC ile tanımlamışlardır. Çalışmada LC-DAD-MS sistemiyle beş isohexenylnaphthazarine türevi, alkannin'in beş açıl türeviyle birlikte başarıyla ayrılmıştır. Bu 16 *Alkanna* türünün nicel tanımlaması ilk kez yapılmıştır. Pik kimliğini sağlamak için LC-MS deneyleri yapılmıştır. Kantitatif analizler, başlıca bileşenin  $\beta,\beta$ -dimethylacrylalkannin olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Özer ve ark., (2010), *Alkanna tinctoria* subsp. *tinctoria*'nın hidrodestilasyon ile elde ettiği uçucu yağının GC-MS ile kimyasal bileşimini ve in vitro antioksidan aktivitesini incelemişlerdir. Uçucu yağın GC-MS analizi sonucunda 27 bileşen tanımlanmıştır. Ana bileşenler sırasıyla pulegone (%22,27), 1,8-cineole (%13,03),  $\alpha$ -terpinyl acetate (%6,87), ve isophytol (%6,83). Örneklerin antioksidan aktiviteleri  $\beta$ -carotene/linoleic acid, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), indirgene gücü ve şelatlama etkisi adı verilen dört değişik test ile belirlenmiştir. Tüm sistemlerde uçucu yağlar en zayıf aktiviteyi göstermiştir. Diğer yandan, etil asetat ve su ekstratları mükemmel antioksidan aktivite göstermiştir. Ekstratların antioksidan aktiviteleri yanı sıra, toplam fenolik ve flavonoid içeriğini de incelemişlerdir. Deneylere paralel olarak, etil asetat ve su ekstratları fitokimyasallar açısından zengin bulunmuştur.

### 2.2. *Centaurea* Türleri İle Yapılan Çalışmalar

Sarker ve ark., (2001), *Centaurea cyanus* tohumlarının metanol ile ekstraksiyonlarının ters faz-HPLC analizi yapılarak, son ikisi yeni doğal ürünler olan

moschamine, cis-moschamine, centcyamine ve cis-centcyamine dört indole alkaloidlerini içerdiği bulunmuştur. Bu bileşiklerin yapıları, spektroskopik analizlerin karşılaştırılmasıyla açıklanmıştır. İzolatların genel toksikliği, Brine Shrimp Lethality biyotanımlama yöntemi ile belirlenmiştir.

Dural ve ark., (2003), Türkiye’den iki endemik *Centaurea* türü olan *Centaurea mucronifera* ve *Centaurea chrysantha* uçucu yağları ile çalışmışlardır. Niğde, Çamardı yöresinden toplanan bitki materyallerindeki uçucu yağlar su destilasyonu ile 2saat ekstrakte edilmiş ve GC/EIMS ile bileşenleri analiz edilmiştir. Ana bileşenler ilkinde germacrene D (%29,3),  $\beta$ -eudesmol (%17,4) ve  $\beta$ -caryophyllene (%7,3), ikincide germacrene D (%27,4), caryophyllene oxide (%9,5) ve bicyclogermacrene (%5,4) olarak belirlenmiştir. İki türün bileşenlerinde ki bu benzerlik aynı ortamdaki benzerlik, habitatlarındaki benzer ekolojik şartlar aracılığıyla kanıtlanabilmiştir, ancak taksonomik ayırmada kabul edilen birçok farklılıklar da bulunmuştur.

Flamini ve ark., (2004), Türk endemiği *Centaurea isaurica*’nın ikincil metabolitleri ve kemotaksonomik incelemesini yapmışlardır. Karaman, Ayrancı bölgesinden toplanan bitki örneklerinin kurutulmuş üst kısımları soxhlet ile ekstrakte edilmiştir. Spektroskopik teknikler uygulanarak yapılan tanımlamada b-sitosterol 3-glucoside, protocathechuic acid, scopoletin, chlorogenic acid, jacein, centaurein, kaempferol-3-glucoside, quercetin 3-glucoside, arctiin ve janerin tanımlanmıştır.

Yaylı ve ark., (2005), açık havada kurutulan, hidrodestilasyon ile elde edilen *Centaurea sessilis* ve *Centaurea armena*’nın uçucu yağlarını gaz kromatografisi-kütle spektroskopisi aracılığıyla analiz etmişlerdir. *C. sessilis* ve *C. Armena* ‘den elde edilen uçucu yağları içerisinde sırasıyla, kırk ve yirmi bileşen tanımlanmıştır ve bu taksonların ana bileşeni %12,4 ve %19,3 oranıyla  $\beta$ -eudesmol’dur. Bitkilerin izole edilen uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesi de araştırılmıştır. Gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı ılımlı antibakteriyel aktivite göstermişler, fakat iki mayabenzeri fungiye karşı hiç antifungal aktivite gözlenmemiştir

Köse ve ark., (2007), Türkiye’de endemik olan *Centaurea aladagensis*’in toprak üstü bölümlerinin su destilasyonunun bileşimini GC-MS ile analiz etmişlerdir. Yağ içerisindeki ana bileşenler heksadekanoik asit (%39,3), karyofenilen

oksite (%6,6) ve heksahidrofarneşil aseton (%4,3) olarak bulunmuştur. Yağ, yedi insan patajoneik mikroorganizmasına karşı test edilmiştir

Rosselli ve ark., (2009), Bulgaristan'da yabancı olarak yetişen iki *Centaurea* türü (*Centaurea cuneifolia* Sibth. & Sm. ve *C. euxina* Velen.) ile çalışmışlardır. Bitkilerin üst kısımları hidrodestilasyon ile ekstrakte edilmiş ve GC-MS ile analiz edilmiştir. *C. cuneifolia*'daki ana bileşenler  $\beta$ -eudesmol (%26,5) ve hexadecanoic acid (%17,6); *C. euxina*'daki ana bileşenler ise hexadecanoic acid (%20,3), spathulenol (%10,8) ve caryophyllene oxide (%6,2) olarak belirlenmiştir.

### 2.3. Stachys Türleri İle Yapılan Çalışmalar

Skaltsa ve ark., (2001), Stachys subsect. Swainsonianeae (Labiatae) türünün uçucu yağlarını GC-MS ile analiz etmişlerdir. Bu grup tümü endemik olan *Stachys ionica*, *S. spruneri*, *S. swainsonii* ssp. *swainsonii*, *S. swainsonii* ssp. *argolica*, *S. swainsonii* ssp. *melangavica* ve *S. swainsonii* ssp. *scyronica* türlerini içermektedir. 18 popülasyon analiz edilmiş ve 200'den fazla bileşen tanımlamışlardır. Bu uçucu yağların bileşenleri karşılaştırıldığında (+)-(E)-caryophyllene,  $\delta$ -cadinene ve kısmen  $\beta$ -elemene, (+)-caryophyllene oxide ve (+)-limonene ana bileşenler olarak belirlenmiştir.

Kaya ve ark., (2001), Eskişehir, İnönü bölgesinden elde ettikleri *Stachys iberica* subsp. *stenostachya* (Lamiaceae)'nin kurutulmuş üst kısımlarından su destilasyonu ile uçucu yağı ekstrakte edip GC-MS ile analiz etmişler ve 71 bileşen tespit etmişlerdir. Ana bileşenleri linalyl acetate (%42,2), linalool (%18,9), geranyl acetate (%8,2), ve  $\alpha$ -terpineol (%5,3) olarak belirlemişlerdir.

Flamini ve ark., (2005), Türk endemiği olan *Stachys aleurites* (Lamiaceae) türünün üst kısımlarından elde edilen uçucu yağı incelemişlerdir. Antalya, Konyaaltı bölgesinden toplanan bitkiler odunsu bölümler i çıkarılıp kurutulduktan sonra Clevenger aparatı ile 2 saat boyunca hidro destilasyon ile ekstrakte edilmiş ve FID dedektörlü GC/EIMS ile analiz edilmiştir. Ana seskiterpen hidrokarbon bileşenleri:  $\beta$ -caryophyllene (%33,7); bicyclogermacrene (%14,5) ve germacrene D (%9,6) olarak bulunmuştur. Ana monoterpene bileşeni ise  $\alpha$ -pinene (%8,4)'dir.

Skaltsa ve ark., (2003), Yunanistan'da yetişen sekiz değişik *Stachys* türü (*S. alopecuros* (L.) Benth., *S. scardica* (Griseb.) Hayek, *S. cretica* L. ssp. *cretica*, *S. germanica* L. ssp. *heldreichii* (Boiss.) Hayek, *S. recta* L., *S. spinulosa* L., *S. euboica* Rech. and *S. menthifolia* Vis.) ile çalışmışlardır. *Stachys* türlerinin uçucu yağları hidrodestilasyon yöntemi kullanılarak Clevenger tipi bir aparatla elde edilmiş ve GC-MS ile analiz edilmiştir. Çalışılan bütün türlerde seskiterpen hidrokarbonlarının ana bileşenleri oluşturduğu görülmüştür. *Stachys* türlerinden elde edilen uçucu yağ oranı %0,01 ila %6,09 arasında değişmektedir. En yüksek yağ içerikleri *S. menthifolia* (0.14%), *S. germanica* ssp. *heldreichii* (%0,24), *S. scardica* (%0,53), ve *S. alopecuros* (%6,09) olarak bulunmuştur. Diğer beş türün uçucu yağ oranları %0,01 ila %0,04 arasındadır. İncelenen *Stachys* türlerinin ana bileşenleri şöyledir: *S. Alopecuros* için (+)-caryophyllene oxide (%8,9), (-)-(E)-caryophyllene (%7,6) ve  $\alpha$ -calacorene (%13,4); *S. scardica* için germacrene D (%19,9), (+)- $\alpha$ -pinene (%19,7),  $\delta$ -cadinene (%10,5) ve  $\gamma$ -muurolene (%10,3); *S. cretica* ssp. *cretica* için germacrene D (%33,5) ve pimaradiene (%18,6); *S. germanica* ssp. *heldreichii* nin her iki popülasyonu için germacrene D (hel<sub>1</sub> ve hel<sub>2</sub> için sırasıyla %21,3 ve %16,3, (-)-(E)-caryophyllene (hel<sub>1</sub> ve hel<sub>2</sub> için sırasıyla %18,4% ve %15,1, (+)-caryophyllene oxide (hel<sub>1</sub> ve hel<sub>2</sub> için sırasıyla %5,9 ve %5,4); *S. recta* için (-)-linalool (%33,9) ve dihydroedulan I (%15,9); *S. spinulosa* için spathulenol (%10,8); *S. euboica* için (-)- $\alpha$ -copaene (%12,5), (-)-(E)-caryophyllene (%9,8),  $\delta$ -cadinene (%8,7) ve (+)-caryophyllene oxide (%6,7); *S. menthifolia* için abietatriene (%13,7), kaurene (%9,0) ve 13-epi-manoyl oxide (%7,5). Hemen hemen tüm türlerde ana bileşen olarak seskiterpen hidrokarbonları bulunmuştur (*S. scardica* için %69,3; *S. germanica* ssp. *Heldreichii* türünde hel<sub>1</sub> ve hel<sub>2</sub> için sırasıyla %67,7 ve %55,6%, *S. cretica* ssp. *cretica* için %49,9; *S. spinulosa* için %2,4, *S. euboica* için %50,4 ve *S. alopecuros* için %47,6)

Özkan ve ark., (2006), Türkiye'ye özgü bazı endemik *Stachys* türlerinin (*Stachys pinardii* Boiss, *Stachys cretica* L. subsp. *mersinaea* (Boiss.) Rech., ve *Stachys aleurites* Boiss. & Heldr.,) uçucu bileşenlerini ve toplam fenolik içeriğini incelemişlerdir. Uçucu yağlar bileşenleri GC-MS ile belirlenmiştir. Ana bileşenler: *S. cretica* için  $\alpha$ -curcumene (%34,10); *S. pinardii* için cedrandiol (%25,26) ve

caryophyllene dioxide (%22,15); *S. aleurites* için (Z)- $\beta$ -caryophyllene (%31,60). *S. pinardii*, *S. cretica* subsp. *mersinaea* ve *S. aleurites* türlerinin metanolik ekstraktından Folin-Ciocalteu kolorometrik yöntemiyle belirlenen toplam fenolik içerikler sırasıyla 600.74 $\pm$ 0.23, 1200.94 $\pm$ 0.11 ve 900.61 $\pm$ 0.06 mg gallik asit ekivalent (GAE)/100 g kurutulmuş bitki olarak bulunmuştur.

Bilusic Vundac ve ark., (2006), Hırvatistan'dan altı *Stachys* türünün (*Stachys alpina* L., *Stachys officinalis* (L.) Trevis., *Stachys palustris* L., *Stachys recta* L. subsp. *recta*, *S. Recta* L. subsp. *subcrenata* (Vis.) Briq., *Stachys salviifolia* Ten., ve *Stachys sylvatica* L.) uçucu yağlarını hidrodestilasyonla ekstrakte etmişler ve GC ve GC-MS ile analiz etmişlerdir. Oksijenli seskiterpenlerce zengin olan *S. alpina* hariç diğer tüm türlerde ana bileşen seskiterpen hidrokarbonları olarak bulunmuştur. İncelenen türlerin ana bileşenleri şöyledir: *S. alpina* için (E)-nerolidol (%22,1), nonanal (%9,8), dodecanal (%9,7), 1-octen-3-ol (%8,7) ve germacrene D (%5,9); *S. officinalis* için germacrene D (%20,1), (E)-caryophyllene (%14,6), caryophyllene oxide (%7,9) ve  $\alpha$ -humulene (%6,7); *S. palustris* 1-octen-3-ol (%24,5), (E)-2-hexenal (%16,3), caryophyllene oxide (%16,2), (E)-caryophyllene (%6,5) ve  $\gamma$ -muurolene (%4,8); *S. recta* subsp. *recta* için  $\beta$ -ionone (%9,2), dodecanoic acid (%7,0), 6,10,14-trimethyl pentadecan-2-one (%7,0), d-cadinene (%6,9) ve (E)-caryophyllene (%5,4); *S. recta* subsp. *subcrenata* için germacrene D (%19,7),  $\alpha$ -cadinol (%9,5) ve (E)-caryophyllene (%7,3); *S. salviifolia* için germacrene D (%22,3),  $\beta$ -elemene (%9,4), valeranone (%5,3) ve  $\beta$ -phellandrene (%4,9); *S. sylvatica* için  $\alpha$ -pinene (%21,4), germacrene D (%13,6),  $\beta$ -pinene (%12,3), (E)-caryophyllene (%9,9),  $\gamma$ -muurolene (%6,4) ve  $\delta$ -cadinene (%4,3).

Radulovic ve ark., (2007), Balkan yarımadası endemikleri olan *Stachys germanica* ssp. *heldreichii* (Boiss) Hayek, *Stachys iva* Griseb., *Stachys plumosa* Griseb. and *Stachys scardica* Griseb. türlerinin uçucu yağlarını Clevenger aparatı kullanarak hidro destilasyon ile 2,5 saat kaynatılarak ekstrakte etmiş ve bileşenleri GC-MS ile belirlemişlerdir. Analiz sonucunda 83 bileşen tanımlanmıştır. *S. iva* (sect. *Candida*) türünün uçucu yağının ana bileşenleri (Z)-Nuciferyl isobutyrate (%14), *cis*-calamenene (%10,0), valeranone (%8,7),  $\alpha$ -copaene (%8,4) ve spathulenol (%8,1) olarak belirlenmiştir. *S. plumosa* türünün uçucu yağının ana bileşeni bağıl olarak

büyük miktarda bulunan (%45,5) bir diterpen olan ar-abietatriene'dir. Diğer ana bileşenler ise pinocarvone (%9,0), *cis*-verbenol (%8,2) ve caryophyllene oxide (%6,5) olarak bulunmuştur. *S. germanica* ssp. *heldreichii* uçucu yağında ki ana bileşenler (E)-Nerolidol (%13,5), caryophyllene oxide (%13,4) ve germacrene D (%8,1) olarak belirlenmiştir. Yağın büyük bir bölümü seskiterpen hidrokarbonları (%48,0) ve oksijenli sesquiterpenlerden (%31,9) oluşmaktadır. Terpen esterleri, nuciferyl olarak adlandırılanlar, beklenenden yüksek çıkmıştır (%7,2).

Giuliani ve ark., (2008), endemik *S. recta* L. subsp. *serpentina* (Fiori) Arrigoni ve *Stachys recta* L. subsp. *recta* (Lamiaceae) türlerinin yaprak ve çiçeklerinin kimyasal bileşenlerini karşılaştırmışlar ve mikromorfolojik karakterizasyonunu incelemişlerdir. Mikromorfolojik karakter, taramalı ve geçirimli elektron mikroskopuyla çalışılırken, histokimyasal gözlemler için ışık mikroskobu kullanılmıştır. Uçucu yağ analizleri GC-MS ile gerçekleştirilmiştir. *S. recta* subsp. *Recta* yapraklarından elde edilen uçucu yağ için üç ana bileşen *cis*-muurola-4(14),5-diene (%22,9), 1-octen-3-ol (%20,6) ve hexadecanoic acid (%14,0) iken çiçeklerde ki ana bileşenler *cis*-muurola-4(14),5-diene (%36,6) ve (E)-caryophyllene (%27,8) olarak belirlenmiştir. *S. recta* subsp. *Serpentina* yaprak uçucu yağındaki ana bileşenler  $\gamma$ -cadinene (%16,1) ve epi- $\alpha$ -muurolol (%13,0) olarak belirlenirken çiçeklerde  $\gamma$ -cadinene (%14,3), epi- $\alpha$ -muurolol (%13,8), ve  $\gamma$ -amorphene (%10,1) olarak belirlenmiştir.

Ristic ve ark., (2008), *Stachys germanica* ssp. *heldreichii* (Boiss.) Hayek, *Stachys iva* Griseb., *Stachys plumosa* Griseb., and *Stachys scardica* Griseb. uçucu yağlarının antimikrobiyal etkisini, GC ve GC-MS ile kimyasal bileşenlerini analiz etmişler ve 83 bileşen tanımlanmışlardır. Türlerin ana bileşenleri ve bağıl bollukları Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. *Stachys* sp. uçucu yağlarının kimyasal bileşimi.

Bileşenler	<i>S. germanica</i>	<i>S. scardica</i>	<i>S. plumosa</i>	<i>S. iva</i>
Monoterpen hidrokarbonları	1.3	5.1	9.2	2.8
Oksijenli monoterpenler	11.7	0.9	23.6	2.9
Seskiterpen hidrokarbonları	35.4	69.3	4.3	48.0
Oksijenli seskiterpenler	40.2	23.3	8.3	31.9
Diterpenoidler	-	-	50.0	-
Terpen esterleri	7.2	-	0.9	14.0
Diğerleri	5.7	-	0.9	0.6

Ebrahimabadi ve ark., (2009), İran'da yetişmiş olan *Stachys inflata* uçucu yağını Clevenger tipi bir aparatla ve metanol ile ekstrakte etmişler ve kimyasal bileşimi ile antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Uçucu yağın GC ve GC-MS analizinde 45 bileşene rastlamışlardır. Ana bileşenler olarak linalool (%28,55),  $\alpha$ -terpineol (%9,45), spathulenol (%8,37) ve (2E)-hexenal (%4,62) olarak belirlenmiştir. Aynı zamanda uçucu yağ ve ekstratların anti oksidan aktivitelerini 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ve  $\beta$ -carotene/linoleic acid kullanarak test etmişlerdir. Polar ve polar olmayan alt fraksiyon ekstraktlarının toplam fenolik içeriğini sırasıyla %5,4 ve %2,8 (w/w) olarak bulmuşlardır. Bitki, test edilen 3 çeşit mikroorganizmaya karşı zayıf bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ana bileşenler olan linalool ve  $\alpha$ -terpineol'ü de test etmişler ve antioksidan etki göstermediğini ancak önemli derecede antimikrobiyal etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Conforti ve ark., (2009), Akdeniz bölgesinin çeşitli alanlarından toplanan altı *Stachys* türünün (*S. cretica* L. ssp. *vacillans* Rech. fil., *S. germanica* L., *S. hydrophila* Boiss., *S. nivea* Labill., *S. palustris* L. ve *S. spinosa* L.) hidrodestilasyon yöntemiyle elde ettikleri uçucu yağlarını GC ve GC-MS kullanarak kimyasal içeriklerini karşılaştırmışlar ve antioksidan özelliklerini incelemişlerdir. Uçucu yağ oranları, kuru ağırlık bazında, % 0.10 ila 0.27 arasında değişmektedir. Tüm yağlar (çoğunluğu karbonilik bileşenlerden oluşan (%25,4) *S. Palustris* hariç), çoğunlukla yağ asitleri, esterler (%24,2–%58,5) ve büyük miktarda seskiterpenlerden (%16–%35) oluşmaktadır. Tüm yağlar için DPPH testi ile antioksidan aktivitesi ve bir dizi insan kanser hücresi üzerindeki antiproliferatif aktivitesi incelenmiştir. *S. palustris*, *S.*

*cretica* ve *S. hydrophila* en yüksek antiradikal etkiyi göstermiştir. En fazla antiproliferatif etkiyi gösteren uçucu yağ ise %77 inhibisyon gösteren *S. germanica* uçucu yağıdır.

### 2.1. Sub Kritik Akışkanlarla Diğer Bitkilerin Ekstraksiyonu ile İlgili Çalışmalar

Fernandez ve ark., (2000), *Defne* yapraklarıyla sub-kritik su, sub-kritik diklorometan ve hidrodestilasyon yöntemlerini çalışmışlar ve iki sonuca varmışlardır.

a) Uçucu yağ miktarı SKSE’da en fazladır.

b) SKSE’da oksitlenmiş bileşikler subkritik diklorometan ekstraktına göre daha fazla iken terpen bileşikleri daha azdır.

Gracia ve ark., (2000), tıbbi bir bitki olan rezenenin uçucu yağlarının izolasyonunu sürekli subkritik ekstraksiyon yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir. Uçucu yağ bileşenlerini sulu ekstraktan 5 ml hekzan ile ekstrakte etmişler ve uçucu yağ bileşenlerini gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ile tanımlamışlardır. Önerilen ekstraksiyon yöntemini hidrodestilasyon ve diklorometan ekstraksiyon yöntemleri ile karşılaştırmışlardır. Hızlılık, etkinlik, temizlik ve ekstraksiyon bileşimini değiştirebilme olasılığı konusunda sürekli subkritik ekstraksiyon yönteminin daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmişlerdir.

Ayala ve ark., (2001), *Defne* yapraklarının subkritik su ve su buharı destilasyonu üzerinde çalışmışlardır. Sub-kritik su ekstraksiyonu yöntemiyle elde edilen uçucu yağlar için en uygun sıcaklığın 125°C ve basıncın 2 Mpa olduğunu belirtmişlerdir. Bunun yanında SbKS ekstraksiyonunun hidrodestilasyon ekstraksiyonun’dan daha hızlı ve daha verimli olduğunu, SbKS ekstraksiyonunda parametrelerin değiştirilmesiyle elde edilen ürünlerin yönlendirilebileceğini belirtmişlerdir.

Kubátová ve ark., (2001), Kava kökünden (*Piper methysticum*) laktonları subkritik su, su ile sokslet ekstraksiyonu, suda kaynatma ve ultrasonik banyoda aseton ile ekstraksiyon yöntemlerini kullanarak ekstrakte etmişlerdir ve yöntemleri kıyaslamışlardır. Öğütülmüş kava için (250-500 µm) 175°C de 20 dak. subkritik su ekstraksiyonunun yeterli olduğunu tam ekstraksiyon için 100°C de 2 sa. subkritik su

ekstraksiyonu yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. Öğütülmemiş (parçalanmış) kavanın tam ekstraksiyonu için ekstraksiyon süresinin 175°C de 40 dakikaya çıkartmışlardır. Suyun atmosferik basınçta kullanıldığı 2 sa. kaynatma ve 6 sa. sokslet aparatı ile ekstraksiyonu, subkritik su ekstraksiyonundan elde edilenden %40–60 daha düşük verim ile sonuçlandığını bildirmişlerdir. Öğütülmemiş kava ile 40 dak. subkritik su ekstraksiyonu, 18 sa. aseton, metilen klorür veya metanol ile sonikleme ile neredeyse aynı geri kazanımlar ile sonuçlandığını belirlemişlerdir.

Özel ve ark., (2003), *Thymbra spicata* L. yapraklarından uçucu yağlar subkritik su kullanılarak ekstrakte etmişlerdir. Farklı sıcaklıkların (100, 125, 150 ve 175 °C), basınçların (20, 60 ve 90 bar) ve akış hızlarının (1, 2 ve 3 mL/dak.) ekstraksiyon verimliliği üzerine etkinliklerini incelemişlerdir. *Thymbra spicata* nın uçucu bileşenleri sulu fazdan C18 katı faz ekstraksiyonu ile ekstrakte etmişlerdir. Bileşenlerin tanımlanması iki boyutlu gaz kromatografisi (TOF-MS) kullanılarak gerçekleştirmişlerdir. Uçucu yağ verimleri 100, 125, 150 ve 175 °C sıcaklıkları için sırasıyla %2,5; %2,7; %3,7 ve %3,5 olarak bulmuşlardır. *Thymbra spicata*'dan uçucu yağların subkritik su ile ekstraksiyonu en yüksek ekstraksiyon etkinliğini 150 °C de, 2 mL/dak. akış hızında ve 60 barda 30 dakikalık ekstraksiyonda gösterdiğini bildirmişlerdir. *Thymbra spicata* yapraklarının tam bir ekstraksiyonu için en düşük sürenin 150 °C de ve 2 mL/dak. akış hızında 20 dakika olduğunu belirlemişlerdir.

Ghorab ve ark., (2004), Mercanköşk bitkisinin (*Majorana hortensis* Moench) yapraklarının hidrodestilasyon (HD) ve süperkritik akışkan ekstraksiyonu (SFE) ile elde edilen uçucu ekstraktlarının bileşimleri gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) ile analiz ederek, 26 bileşeni tanımlamışlardır. Her iki ekstrakttaki - sırasıyla HD ve SFE ana bileşenleri, terpinen-4-ol (% 20,39 ve % 10,96),  $\gamma$ -terpinen (% 14,13 ve % 8,14), *trans*-sabinen hidrat (% 5,25 ve % 20,54), linalool (% 3,72 ve % 4,06), *trans*-sabinene hidrat asetat (% 0 ve % 13,01), tujanol (% 4,00 ve % 4,12), terpinolen (% 4,57 ve % 3,70) ve timol (% 0,33 ve % 1,18) olarak belirlemişlerdir. Toplam monotermen hidrokarbonları HD yağında (% 42,57) SFE yağındakinden (% 22,80) daha fazla olarak bulmuşlardır. Bununla birlikte SFE ekstraktının yağa güzel bir aroma veren hafif oksijenlenmiş bileşik yoğunluğunda daha yüksek bir değere sahip olduğunu belirlemişlerdir. Her iki ekstraktında linoleik asidin peroksit

oluşumunu etkin olarak engellediğini bildirmişlerdir. SFE ekstraktının antioksidan özelliğinin bütillenmiş hidroksianisol (BHA) ve HD ekstraktından belirgin derecede daha fazla olduğunu belirlemişlerdir. Daha yüksek derişimlerde her iki ekstraktın da BHA ya kıyasla daha yüksek antioksidan aktifliğı gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışılan doğal ekstraktların aktifliklerini arttırmak ve yapay antioksidanların uygulamalarını azaltmak üzere her iki ekstrakta da BHA ekleyerek birbirine bağı (synergistic) etkisini incelemişler ve her iki ekstraktın karışımı ve BHA'nın, bunların tek başlarına sahip oldukları aktifliklerine kıyasla antioksidant kapasitelerinde ek bir etki (artış) ile sonuçlandığını bildirmişlerdir.

Baydar ve ark., (2005), Isparta ilinden toplanan yayla kekiğine clevenger aygıtı ile subuharı destilasyon çalışması yapılmışlardır. Örnekler tomurcuklama sonu, çiçeklenme başı devresi, tam çiçeklenme devresi, çiçeklenme sonu devresi ve tohum olgunlaştırma devresi olmak üzere beş farklı dönemde toplama yapılmıştır. Çalışma sonunda yayla kekiğinde yüksek uçucu yağ verimi için çiçeklenme başı veya en geç tam çiçeklenme dönemleri, yüksek uçucu yağ kalitesi için ise çiçeklenme sonu beklenmelidir sonucuna varmışlardır

Proestos ve ark. (2005), Fenolik bileşenlerin potansiyel kaynağı olarak Yunanistan kökenli aromatik bitki ekstraktlarını incelemişlerdir. Metanol ekstraktlarında mevcut fenolik antioksidanların miktarı ve tanımlanması için UV detektörlü RP-HPLC kullanmışlardır. Miktarı en fazla bulunan fenolik asitlerin ferulik asit (1,1-280 mg/100 g kuru örnek) ve kafeik asit(1,2-60 mg/100 g kuru örnek) olduğunu; (+)-kateşin ve kuersetinin ise en fazla bulunan flavonoidler olduğunu saptamışlardır. Apigenin ve luteolin'i sırasıyla *Menta pulegium* ve *Thymus vulgaris* ekstraktlarında yüksek miktarda belirlemişlerdir. Antioksidan kapasiteyi, kuru öğütülmüş bitkilerde ve onların metanol ekstraktlarında, substrat olarak ayçiçeğı yağı kullanarak Rancimat testi ile belirlemişlerdir. Hem toz halindeki bitkinin, hem de metanol ekstraktının antioksidan kapasite gösterdiğini ifade etmişlerdir. Ekstraktlardaki toplam fenol içeriğı, spektrofotometrik olarak Folin-Ciocalteu yöntemine göre belirlemişler ve sonuçların 1–21 mg gallik asit/100 g kuru örnek aralığında değıştığını tespit etmişlerdir. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitesinin de seçilen mikroorganizmalara karşı çalışıldığını rapor etmişlerdir.

Göğüs ve ark., (2006), 100, 125, 150 ve 175°C sıcaklıklardaki aşırı ısıtılmış su ekstraksiyonu yöntemi ile *Achillea monocephala* yaprak ve çiçeklerinin uçucu yağlarının ekstraktını incelemişlerdir. Farklı sıcaklıklarda aşırı ısıtılmış su kullanılarak elde edilen uçucu yağ bileşenleri TOF-MS ile tanımlamışlardır. En yüksek uçucu yağ verimini 150°C de 2 mL/dak. akış hızında 30 dakikalık ekstraksiyonda elde etmişlerdir. En yüksek verim yaprak ve çiçekler için sırasıyla %2,90 ve %1,58 olarak belirlemişlerdir. Yaprak yağı için ana bileşenler kamfor ve borneol, çiçek yağı içinse kamfor, borneol, 1,8-cineol ve  $\alpha$ -kamfoleral olduğunu tespit etmişlerdir. 150°C de aşırı ısıtılmış su ile ekstraksiyonun ilk 20 dakikada tamamlandığını bildirmişlerdir.

Sefidkon ve ark., (2007), *satureja rechinger jamzad* bitkisinin çiçeklerindeki uçucu yağları subuharı, hidrodestilasyon, buhar yöntemi olmak üzere üç farklı destilasyon yöntemiyle çalışmışlardır. Çiçekler 2 devrede toplanmıştır. Tomurcuk halleri 1.evre iken, tam açmış halleri 2. evredir. Çiçek tomurcuklarından 54 bileşeni hidrodestilasyonla elde etmişlerdir. Temel bileşenleri carvacrol (%56,19), *p*- simen (%14) ve  $\alpha$ -thujone (%4,7) olarak belirlemişlerdir. Olgunlaşmış çiçeklerden 3 farklı ekstraksiyon yönteminden elde edilen uçucu yağların temel bileşeninin carvecrol olduğunu saptamışlardır. Carvacrol'ün % dağılımı; hidrodestilasyon ( %86,6), subuharı (%89,3), buhar destilasyonu (%84) olarak belirlenmiştir. Bu 3 yöntem kıyaslandığında uçucu yağ miktarının en fazla hidrodestilasyonla en az miktarın ise buhar destilasyonu ile elde edildiğini belirtmişlerdir.

Giray ve ark., (2008), Hidrodestilasyon (HD), subkritik su ekstraksiyonu (SbKSE) ve organik çözücü kullanarak ultrasonik banyo ekstraksiyonu (USE) ile elde edilen *Lavandula stoechas* (lavanta) çiçeklerinin uçucu ekstraktının kompozisyonunu gaz kromatografisi-mass spektrometresi(GC-MS) ile değerlendirmişlerdir. SbKSE ekstraktında 124 bileşen belirlenirken, HD ve USE ekstraktlarına sırasıyla 94 ve 65 sinyal tespit etmişlerdir. Üç ekstrakta ana bileşenleri, fenchon, kamfor, mirtenil acetat, mirtenol ve 1,8-sineol olarak belirlemişlerdir. Toplam monoterpen hidrokarbonları HD ve USE ekstraktlarında SbKSE ekstraktlarına göre daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. SbKSE ekstraktının yağın güzel kokusuna katkısı olan hafif oksijenli bileşenleri yüksek

konsantrasyonlarda içerdiğini belirlemişlerdir. Ağır oksijenli bileşenlerinde HD ve USE ekstraktlarına(%3,19 ve %4,78) göre SbKSE ekstraksiyonunda(%9,90) yüksek bollukta olduğunu bildirmişlerdir. SbKSE nin ekstraksiyon yüzdesine sıcaklığın etkisini incelemişler ve sıcaklığın artışı ile yağ yüzdesinin arttığını, ancak 1,8 sineol, kamfor ve fenchon gibi daha polar bileşenlere doğru bir azalış olduğunu gözlemlemişlerdir. Kinetik çalışmalarla SbKSE nun geleneksel yöntemlerden daha temiz ve hızlı olduğunu bildirmişlerdir. Uçucu bileşenlerin çoğunun 15 dakikada ekstrakte edildiğini rapor etmişlerdir.

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. MATERYAL

##### 3.1.1. Bitkisel Örneğin Temin Edilmesi

Deneyleerde kullanılan bitkisel materyaller Mersin yöresinden toplanmıştır. Tanımlanması Mersin Üniversitesi Fen-Edb. Fak. Biyoloji Bölümü Öğretim üyelerinden Doç. Dr. Ayşe Everest tarafından yapılmıştır. Bitkiler oda sıcaklığında kurutulduktan sonra, toprak üstü kısımları ile deneysel çalışmalar yapılmıştır.

##### 3.1.2. Kimyasallar

n-C<sub>6</sub>H<sub>12</sub> (n-Hekzan),

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (Dikloro Metan)

CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub> (Aseton)

NaCl (Sodyum Klorür),

Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Sodyum Sülfat)

##### 3.1.3. Cihazlar

Clevenger Cihazı

TRB-WAX (100% polyethylene glycol) kolonu

(0,25mm x 30m, 0,25µm film tabakası kalınlığı )

Schimadzu GC-MS

HPLC pompası

Giriş ve çıkışında 10 µm gözenekli filtre içeren 14 mL hacimli ekstraksiyon hücresi

Etüv

Lab-Line Ultrasonik Banyo

### 3.2. Metot

Bu çalışmada uçucu yağların miktar ve bileşenlerini belirlemek için iki farklı ekstraksiyon işlemi uygulanmıştır. Bunlar; Clevenger cihazı kullanımı ile yapılan hidrodestilasyon işlemi (HD) ve Subkritik su ekstraksiyonudur (SbKSE). Her çalışma 3 paralel olarak tekrarlanmıştır. Bu yöntemler aşağıda sırasıyla anlatılmaktadır.

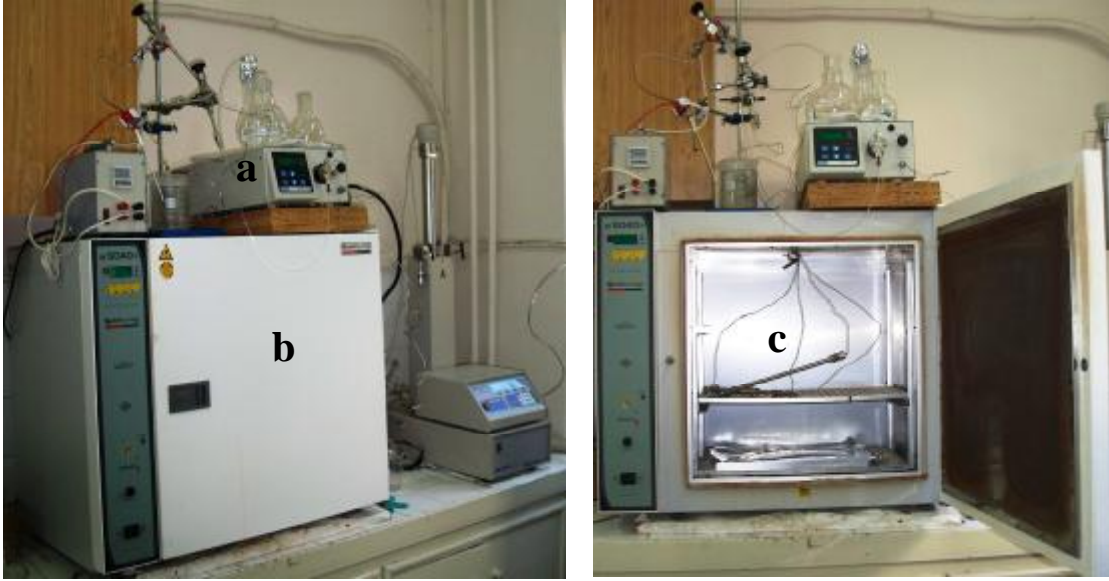
#### 3.2.1. Clevenger Cihazı ile Hidrodestilasyon

500 ml'lik cam balon içerisinde her bir bitki ayrı olarak; 20'şer gram alındı. 250 mL saf su ile geri soğutucu altında HD işlemi ile uçucu yağlarının elde edilmesi için 2,5 saat kaynatma işlemi yapıldı. Her bitki için bu işlem 3 paralel olarak tekrarlandı. Uçucu yağın toplandığı kapiler borudaki ölçekten okuma yapıldıktan sonra ayırma hunisine aktarıldı. Ayırma hunisine ekstrakt ve 5 mL n-hekzan yerleştirildi. Emülsiyona yaklaşık 1g NaCl ilave edildi daha sonra da içerisinde kalan su yeterince  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ilavesi ile tutuldu. Ekstraktlar darası alınan viallere aktarıldı. Sonrasında basınçlı azot gazı kullanımı ile uçucu yağ miktarları belirlenerek kütle/kütle olarak yüzde verimleri hesaplandı. Daha sonra elde edilen ekstraktlar uygun çözücüler ile GC-MS'de analiz edilmişlerdir.

#### 3.2.2. Subkritik Su Ekstraksiyonu

Deiyonize sudaki çözülmüş oksijeni uzaklaştırma işlemi 15 dakika ultrasonik banyoda yapıldı. Daha sonra HPLC pompası yardımı ile Şekil 3.1.'de görülen düzenek içerisine çekildi. Akış hızı 2 mL/dakika, basınç 80 atm ve sıcaklıklar 100 °C, 125 °C ve 150°C olacak şekilde ayarlandı. Ekstraksiyon hücresi 2,0g örnekle dolduruldu, giriş ve çıkışına cam pamuk ve deniz kumu ilave edildi. Sonra programlanabilir bir etüv içerisinde ısıtıldı. Ekstraksiyon hücresinin giriş ve çıkışına 10 µm gözenekli filtre eklendi. Etüvün dış kısmında 1m uzunluğunda soğutma bölümü bulunmakta idi. 30 dk süreyle statik ekstraksiyon ve ardından 20 dk dinamik

ekstraksiyonunun ardından içinde diklorometan bulunan ayırma hunisine toplanmıştır. Uçucu yağlar bir kez 5 ml diklorometan ile sıvı-sıvı ekstraksiyon yapılarak alınmıştır. Ayrılmayı kolaylaştırmak için emülsiyona yaklaşık 1g NaCl ilave edildi, daha sonra da içerisinde kalan su yeterince Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ilavesi ile tutuldu.



Şekil 3.1. Sub-kritik akışkan ekstraksiyon sistemi ( a: HPLC pompası; b: Fırın; c: Ekstraksiyon hücresi)

GC-MS analizleri yapılmak üzere vial içerisine alınan örnek, basınçlı azot gazı altında çözücüsü uzaklaştırılarak bileşenlerin yüzde verimleri hesaplanmıştır.

### 3.2.3. GC-MS Analizi

GC-MS analizleri, Schimadzu marka, TRB-WAX (100% polyethylene glycol) kolonlu (0,25mm x 30m, 0,25µm film tabakası kalınlığı ) ve elektron impact (EI) dedektörlü cihaz içerisinde gerçekleştirildi. Analizlerde taşıyıcı gaz olarak 1mL/dakika akış hızındaki helyum kullanıldı. Kolon sıcaklığı 3°C/dakika artışla 50°C'den 160°C ye çıkacak, 10 dakika bu sıcaklıkta bekledikten sonra tekrar 3°C/dakika artarak 260°C'ye çıkacak şekilde programlanarak gerçekleştirildi. Örnek hacmi 2mL, enjeksiyon hacmi 1µL ve iyonlaşma voltajı 70eV idi. Kütle Aralığı 41–400 akb idi. Kantitatif tayinler pik alanları hesaplaması ile gerçekleştirildi. Ayrılmış

bileşenler Uluslararası Standartlar ve Teknoloji Endüstrisi'nin kütle spektral kütüphanesindeki veriler ile kıyaslama metodu ile tanımlandı.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Bulgular

Bu çalışmada Türkiye’de yetişen endemik bitkiler olan *Alkanna Aucherena*, *Centaurea sp.* ve *Stachys Rupestris*’in kimyasal kompozisyonları, hidro destilasyon (HD) ve Subkritik su ekstraksiyonu (SbKSE) ile incelenmiştir. SbKSE ile yapılan çalışmalarda elde edilen uçucu yağın özellikleri üzerinde basınçtan çok sıcaklıkta yapılan değişikliklerin etkili olduğu bilinmektedir (Özel ve ark., 2003). Bu nedenle SbKSE’da sıcaklığın uçucu yağ kompozisyonu üzerine olan etkileri de araştırılmıştır.

Üç farklı bitkinin (*Alkanna sucherena*, *Centaurea sp.* ve *Stachys rupestris*) iki farklı yöntemle (Hidrodestilasyon, Subkritik su ekstraksiyonu) ekstraktları elde edilmiştir. Üç farklı bitkinin, HD ile elde edilen uçucu yağlarının ortalama olarak yüzde verimleri Çizelge 4.1’de ve SbKSE ile elde edilen uçucu yağların ortalama olarak yüzde verimleri Çizelge 4.2’de verilmiştir. Verimler; kütle/kütle (w/w) olarak gösterilmiştir. En fazla uçucu yağın iki yöntemde de *Stachys Rupestris*’den elde edildiği görülmektedir. *Alkanna aucherena* ve *Centaurea sp.* bitkilerinden ise HD yöntemi ile uçucu yağ elde edilememiştir.

Çizelge 4.1. Bitkilerin HD ile elde edilen ekstraktların yüzde verimleri

Bitkiler	% verim (w/w)
<i>Alkanna aucherena</i>	Elde edilemedi
<i>Stachys rupestris.</i>	1,05
<i>Centaurea sp.</i>	Elde edilemedi

Çizelge 4.2. Bitkilerin SbKSE ile elde edilen ekstraktların yüzde verimleri

Bitkiler	% verim (w/w)		
	100°C	125°C	150°C
<i>Alkanna Aucherena</i>	0,12	0,14	0,13
<i>Stachys Rupestris.</i>	1,28	1,21	1,19
<i>Centaurea sp.</i>	0,10	0,12	0,15

## 4.2.GC-MS (Gaz kromatografisi ve kütle spektrofotometresi) sonuçları

### 4.2.1. *Alkanna aucherena* ile Yapılan Çalışmalar

*Alkanna aucherena* bitkisinin yapraklarından, farklı sıcaklıklarda SbKSE ile elde edilen ekstraktlardaki uçucu yağın kimyasal kompozisyonu Çizelge 4.3.'te verilmiştir.

Çizelge 4.3. *Alkanna aucherena* yapraklarından 100, 125 ve 150 °C de SbKSE sonrası diklorometan ile elde edilen uçucu yağının bileşenleri

No.	Bileşenler	Göreceli Bolluk %		
		100°C	125°C	150°C
1.	2-heptanone	-	0,10	-
2.	3-octanone	-	0,18	0,07
3.	n-neptanal	-	0,11	-
4.	2-methyl-3-octanone	-	0,14	0,07
5.	2-pentylfuran	0,06	0,17	0,07
6.	Heptadecanoic acid	-	0,31	0,10
7.	n-capric acid	-	0,27	0,08
8.	Heptandiol	0,35	0,39	0,31
9.	methyl-heptadecanoic acid	-	0,21	0,06
10.	eucalyptol	0,95	0,11	0,15
11.	Benzaldehyde	1,18	0,10	0,06
12.	Sabinene	-	0,15	0,06
13.	trans-2-nonen-1-ol	0,39	0,28	0,22
14.	Caprylic acid	0,21	1,18	0,32
15.	Verbenol	1,03	0,18	0,18
16.	3-Cyclohexen-1-ol	2,14	0,43	0,28
17.	Hexadecanol	0,18	0,69	0,22
18.	pentadecanoic acid	0,17	1,16	0,48
19.	Hexacosanol	0,13	0,38	0,17
20.	Vinyl 2,6,8-trimethyl-4-nonyl ether	0,73	0,95	0,29
21.	methyl-8-hydroxy-octanoate	0,25	1,16	0,55
22.	Tetradecanoic acid	1,11	6,58	2,51
23.	Oleic acid	0,29	0,36	0,07
24.	dimethyl azelate	1,82	5,43	2,51
25.	Sebacic acid	0,81	0,29	0,21
26.	Elaidic acid	0,27	0,56	0,28
27.	Linalool	1,15	0,63	0,34
28.	Erucic acid	0,63	0,32	0,20
29.	Linoleic acid	3,37	1,19	0,15
30.	<b>Linoleic acid (Z,Z)</b>	<b>38,72</b>	<b>12,12</b>	<b>38,28</b>
31.	linalool oxide	-	2,63	0,97
32.	<b>Vitamin A Alcohol</b>	<b>22,05</b>	<b>4,93</b>	<b>4,06</b>
33.	<b>Elemol</b>	<b>13,76</b>	<b>3,78</b>	<b>3,40</b>
34.	Rhodinal	-	5,91	2,00
35.	Eicosenoic acid	-	4,73	2,37
	Toplam Geri Kazanım	92,16	58,17	61,04

GC-MS analizi sonuçlarına göre; SbKSE ile *Alkanna aucherena* bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstrakta ait kromatogramda 35 sinyal alınmıştır. Çizelge 4.3. incelendiğinde Linoleic acid (Z,Z) bileşiğinin tüm sıcaklıklarda en fazla ekstrakte edilen bileşen olduğu görülmektedir. (100°C, 125°C ve 150°C için sırasıyla %38,72; %12,12 ve %38,28). Bununla beraber, farklı sıcaklıklarda elde edilen ekstrakt kompozisyonlarının birbirinden farklılıklar gösterdiği gözlemlenmiştir. Örneğin, Vitamin A Alcohol 100°C'de %22,05 iken; 125°C'de %4,93 ve 150°C'de %4,06 olarak bulunmuştur.

SbKSE ile ekstraksiyon sırasında en etkin çalışma koşullarının 125°C sıcaklık, 80 atm basınç ve dakikada 2 mL akış hızı olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen uçucu yağın verimi % 0,14 w/w dir (Çizelge 4.2.).

Şekil 4.1'de 100°C, 125°C ve 150°C'de SbKSE ile hazırlanan uçucu yağların GC-MS kromatogramları verilmiştir. Kromatogramlardan da görüleceği gibi sıcaklığa bağlı olarak elde edilen uçucu yağın kimyasal kompozisyonu, kalitatif ve kantitatif olarak farklıdır. GC-MS sonuçları 100°C'de 24 bileşen, 125°C'de 35 bileşen ve 150°C'de 33 bileşenin ekstrakte edildiğini göstermiştir. Sıcaklığın artmasıyla beraber ekstrakte edilebilen bileşen sayısı artmakla birlikte, bazı bileşenlerin sadece 125°C'de ekstrakte olurken (2heptanon, n-heptanol) bazı bileşenlerin ise göreceli miktarlarının sıcaklığın azalmasıyla arttığı (vitamin A alcohol) gözlenmiştir.

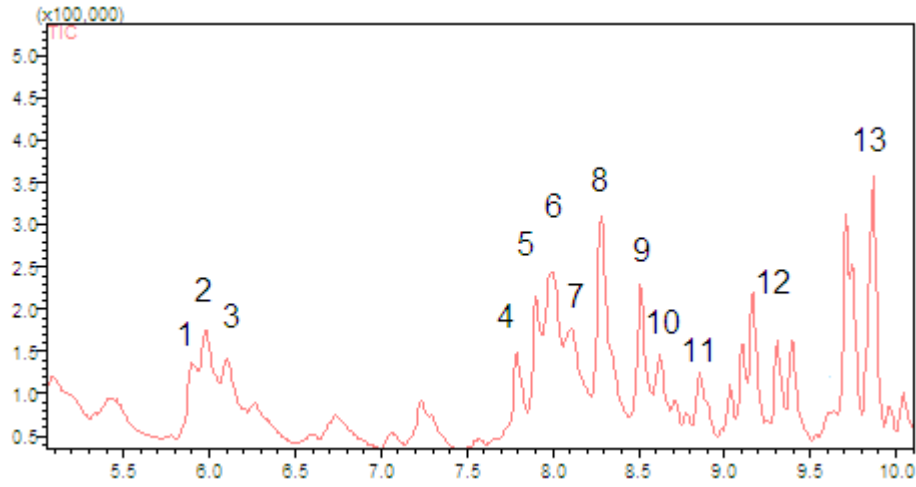
Çizelge 4.3.'de verilen sonuçlar toparlandığında, sıcaklığın bileşenler üzerindeki etkilerini aşağıdaki gibi değerlendirmek mümkündür. Buna göre;

i) Bazı bileşenlerin ekstraksiyonunda sıcaklığın anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir; örneğin Heptandiol.

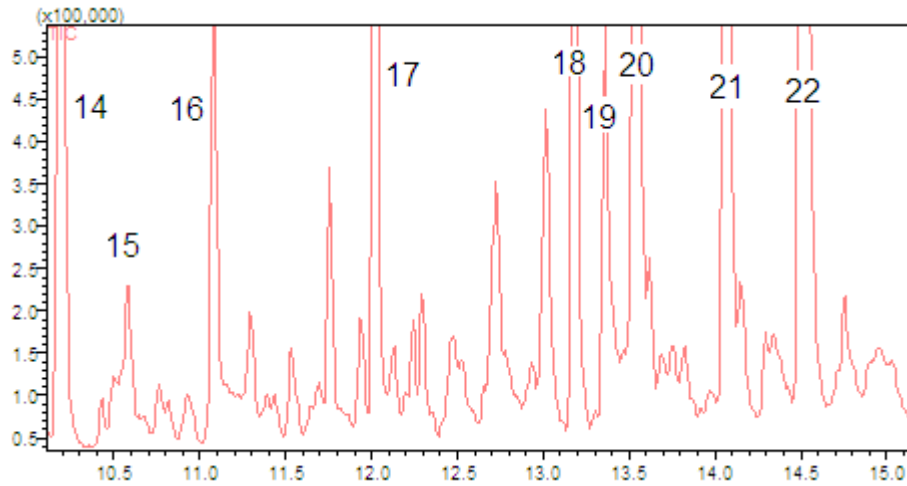
ii) Bazı bileşenler sadece 125°C de ekstrakte edilmiştir; örneğin 2-heptanone, n-neptanal.

iii) Bazı bileşenler 100°C den daha yüksek sıcaklıklarda ekstrakte olmuşlardır; örneğin Rhodinal, Eicosenoic acid gibi.

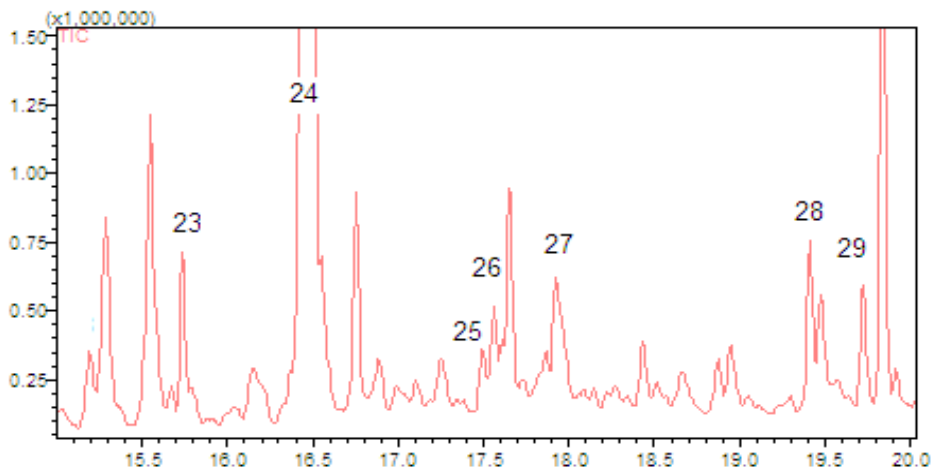
iv) Bazı bileşenlerin ise konsantrasyonu sıcaklıkla birlikte azalmıştır; örneğin Vitamin A alcohol, Elemol, linalool gibi.



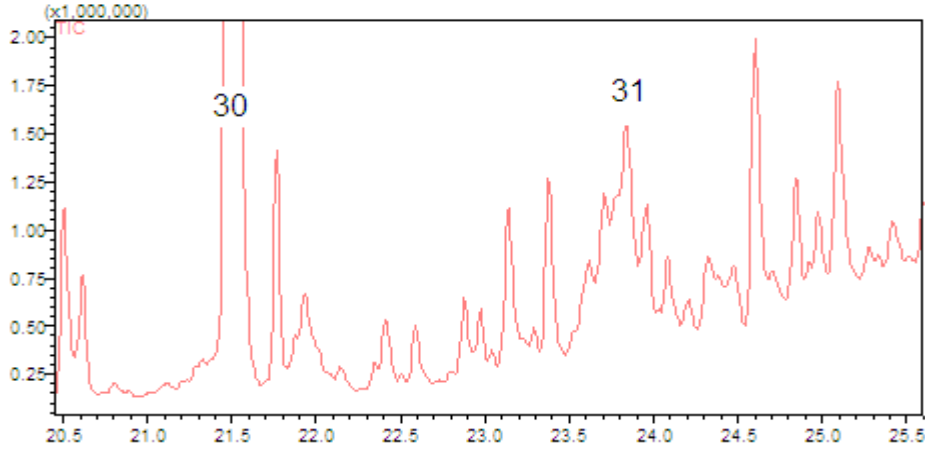
Şekil 4.1.(a) *Alkanna aucherena* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 0-10 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



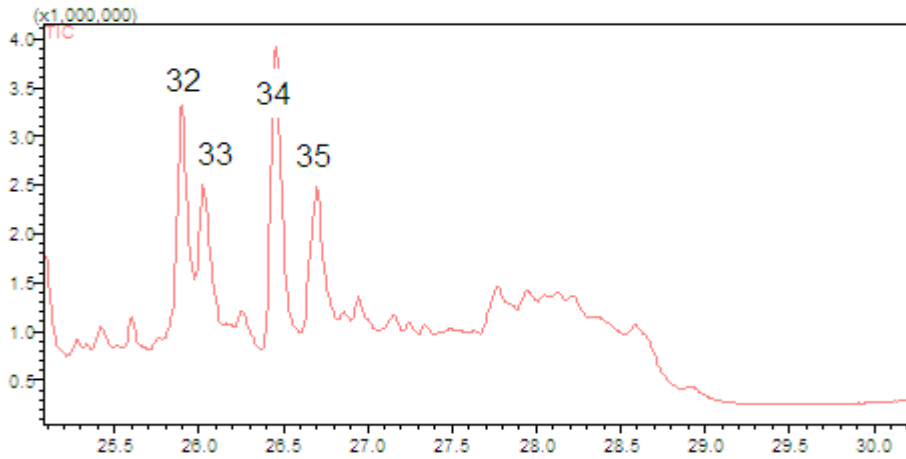
Şekil 4.1.(b) *Alkanna aucherena* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 10-15 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.1.(c) *Alkanna aucherena* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 15-20 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.1.(d) *Alkana aucherena* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 20-25 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.1.(e) *Alkana aucherena* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 25-30 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.

#### 4.2.2. *Centaurea sp.* ile Yapılan Çalışmalar

*Centaurea sp.* bitkisinin yapraklarından, farklı sıcaklıklarda SbKSE ile elde edilen ekstraktlardaki uçucu yağın kimyasal kompozisyonu Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

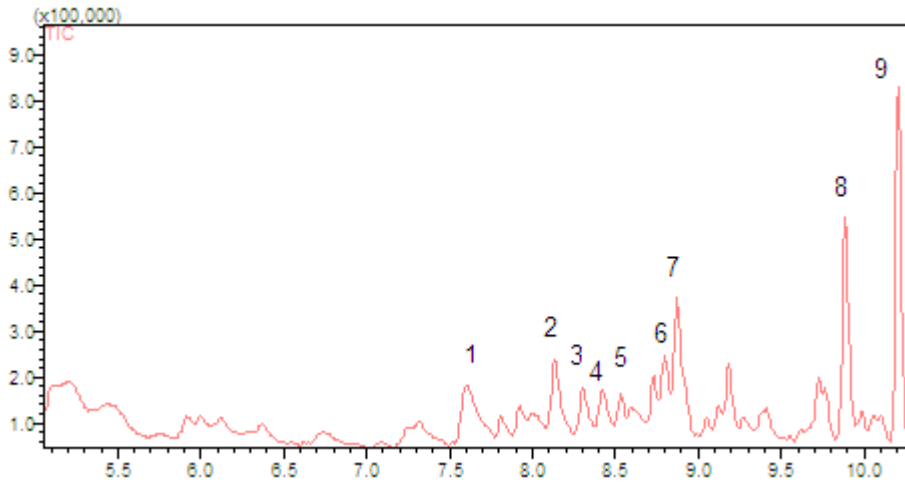
*Centaurea sp.* bitkisinin yapraklarından, SbKSE ile elde edilen ekstraktında, GC-MS analizleri sonucu 37 bileşen geri kazanılmıştır. Çizelge 4.4 incelendiğinde bütün sıcaklıklarda ana bileşen (100, 125 ve 150°C için sırasıyla %21,93, %52,35 ve %54,50 göreceli bolluk miktarı ile) Uvidin B olarak belirlenmiştir. Bunun dışında

göreceli miktarları yüksek olan diğer bileşenler Vanillin, Methyl eicosanoate ve *cis-Oleic acid* olarak bulunmuştur.

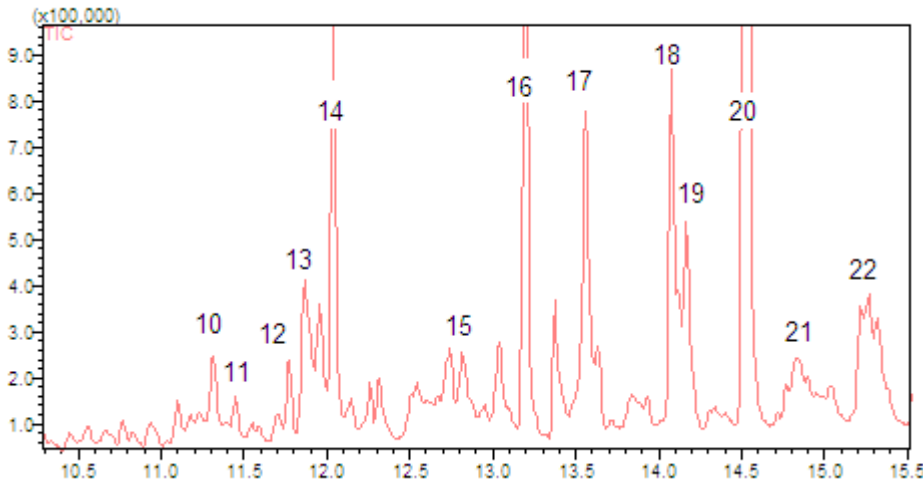
Çizelge 4.4. *Centaurea sp.* bitkisinin yapraklarından SbKSE sonrası diklorometan ile alınan ekstraktının bileşenleri. Bileşenler kolondan ayrılış sırasına göre verilmiştir.

No	Bileşen	Göreceli Bolluk %		
		100°C	125°C	150°C
1	β-Pinene	0,15	0,08	0,30
2	n-Octanal	0,28	0,23	0,26
3	2-Methyl-3-octanol	0,20	0,25	0,16
4	2-Aminopyrazine	0,18	0,20	0,16
5	Methyl Heptanoate	0,15	0,05	0,10
6	Benzal alcohol	0,23	0,20	0,20
7	Phenylethanal	0,38	0,20	0,41
8	Hexanoic acid, 2-methylbutyl ester	0,48	0,30	0,42
9	n-Nonaldehyde	0,65	0,80	0,50
10	Octanoic acid, methyl ester	0,05	0,05	0,18
11	α.-Terpineol	0,10	0,05	0,08
12	n-Decanal	0,18	0,15	0,12
13	7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)	0,43	0,05	0,40
14	2,3-Dihydro-Benzofuran	0,78	0,78	0,62
15	n-Tetracosanol	0,30	0,13	0,24
16	Indolizine	1,15	0,98	0,80
17	Methyl 4-oxooctanoate	0,93	0,70	0,68
18	Octadecanoic acid, 2-oxo-, methyl ester	1,00	0,55	0,70
19	methyl 8-hydroxyoctanoate	0,48	0,25	0,36
20	<b>Vanillin</b>	<b>7,30</b>	<b>6,23</b>	<b>5,02</b>
21	Nonanoic acid, 9-oxo-, methyl ester	0,10	0,10	0,18
22	o-Acetylphenol	0,38	0,40	0,56
23	9-Decenoic acid	0,28	0,25	0,20
24	2(4H)-Benzofuranone, 5,6,7,7a-tetrahydro-4,4,7a-trimethyl-	0,43	0,35	0,38
25	<b>cis-Oleic acid</b>	<b>4,95</b>	<b>3,05</b>	<b>2,38</b>
26	Methyl azelate	0,98	0,50	0,64
27	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-	<b>3,83</b>	<b>1,13</b>	<b>2,36</b>
28	γ-hydroxyisoeugenol	0,37	0,20	0,22
29	Loliolid	0,38	0,23	0,22
30	Tetrapropenylsuccinic Anhydride	0,22	0,15	0,12
31	Limonene oxide	0,37	0,45	0,34
32	Elaidic acid methyl ester	<b>2,90</b>	<b>4,58</b>	<b>9,46</b>
33	Hexadecanoic acid, methyl ester	0,85	0,63	0,66
34	Palmitinic acid	2,70	1,18	1,58
35	<b>Uvidin B</b>	<b>21,93</b>	<b>52,35</b>	<b>54,50</b>
36	Linoleic acid methyl ester	1,38	1,58	0,98
37	<b>Methyl eicosanoate</b>	<b>4,56</b>	<b>3,80</b>	<b>2,26</b>
	Toplam geri kazanım	62,01	83,16	88,75

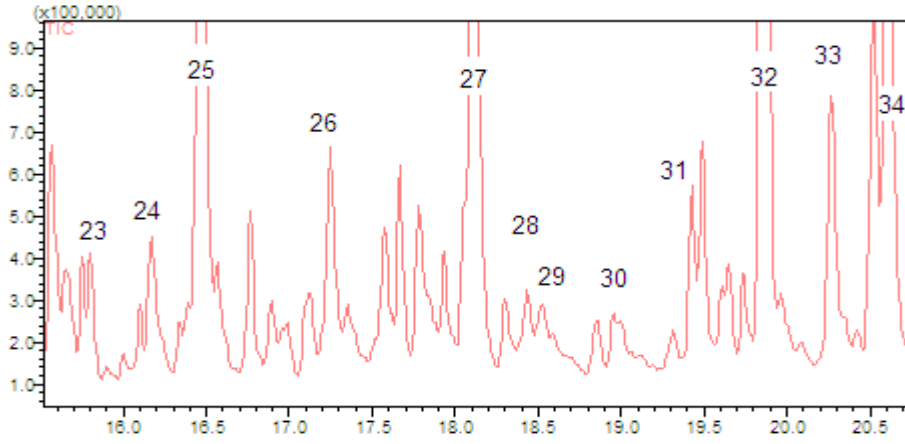
SbKSE sırasında, *Centaurea sp.* bitkisi için en etkin çalışma koşullarının 150°C sıcaklık, 80 atm basınç ve dakikada 2 mL akış hızı olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen uçucu yağın verimi %0,15 w/w dir (Çizelge 4.2.). Çizelge 4.4 incelendiğinde vanillin, methyl eicosanoate, cis-Oleic acid, indolizine'in göreceli bolluk miktarları sıcaklık arttıkça azalmaktadır. Buna karşın ana bileşen olan Uvidin B'nin göreceli bolluk miktarı sıcaklık arttıkça artmaktadır.



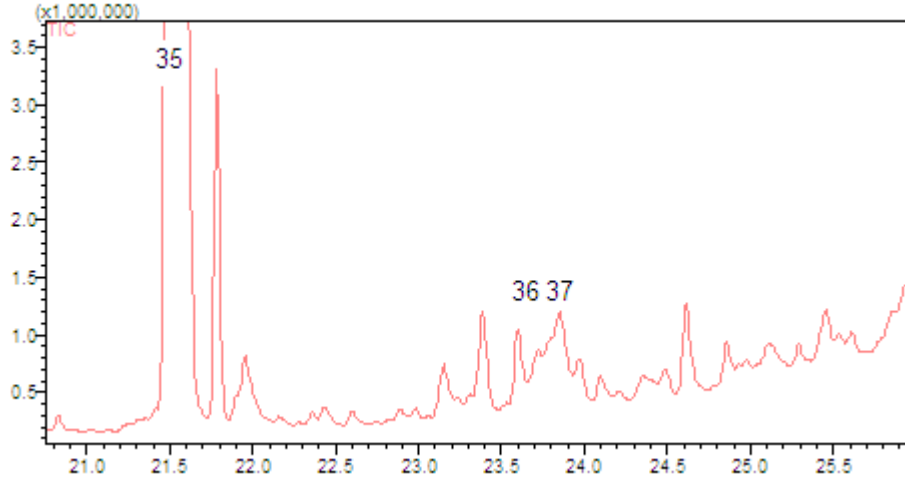
Şekil 4.2.(a) *Centaurea sp.* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 0–10 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.2.(b) *Centaurea sp.* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 10–15 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.2.(c) *Centaurea sp.* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 15–20 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.2.(d) *Centaurea sp.* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 20–25 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.

#### 4.2.3. *Stachys rupestris* ile Yapılan Çalışmalar

*Stachys rupestris* yapraklarından SbKSE ile elde edilen uçucu yağ ekstraktında 32 bileşen geri kazanılmıştır (Çizelge 4.5.). GC-MS analizleri sonucunda, SbKSE ile elde edilen uçucu yağda temel bileşen (100°C, 125°C ve 150°C için sırasıyla %22,40; %21,23 ve %13,75 göreceli bolluk miktarı ile) Vitamin A alcohol olarak belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, %22,68 göreceli bolluk miktarı ile 2-Pinene 100°C’de ana bileşen olarak belirlenmiştir. Göreceli miktarları yüksek olan

diğer bileşenler Nerolidol, Terpinen-4-ol ve Oleic acid, methyl ester olarak belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. *Stachys rupestris* bitkisinin yaprak ve meyvelerinin SbKSE sonrası diklorometan ile alınan ekstraktının bileşenleri. Bileşenler kolondan ayrılış sırasına göre verilmiştir.

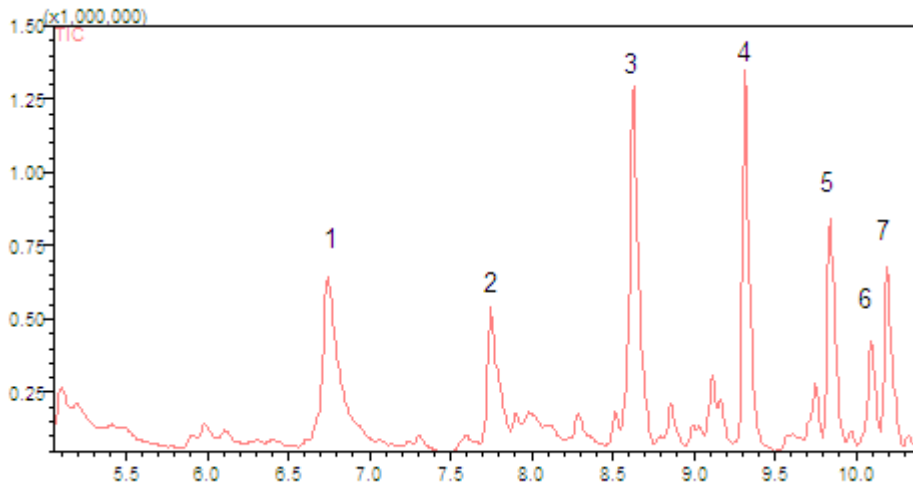
No	Bileşenler	Göreceli Bolluk		
		100°C	125°C*	150°C
1	<b>2-Pinene</b>	<b>22,68</b>	<b>2,29</b>	<b>1,23</b>
2	1-octen-3-ol	0,68	0,64	0,59
3	<b>Eucalyptol</b>	<b>4,40</b>	<b>1,63</b>	<b>1,21</b>
4	Sabinene hydrate	0,26	0,07	1,01
5	4-Thujanol	0,68	0,40	0,13
6	2-Phenylethanol	0,70	0,42	0,33
7	Caprylic acid methyl ester	0,29	0,55	0,51
8	Verbenol	0,66	0,62	0,37
9	d-Verbenol	0,86	0,84	1,08
10	<b>Terpinen-4-ol</b>	<b>4,36</b>	<b>4,22</b>	<b>1,96</b>
11	$\alpha$ -terpineol	3,65	1,08	0,08
12	Verbenone	0,81	0,75	0,66
13	Methyl 4-oxooctanoate	0,29	0,70	0,64
14	3-Acetylanisole	1,56	1,43	0,88
15	p-Eugenol	0,51	0,48	0,48
16	methyl 8-hydroxyoctanoate	0,24	1,01	1,25
17	Methyl azelaaldehydate	1,32	2,75	3,30
18	Suberic acid, dimethyl ester	0,46	0,86	1,43
19	Sebacic acid, dimethyl ester	1,41	6,62	8,98
20	7-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)	0,20	0,37	0,51
21	isopathulenol	1,21	1,56	1,50
22	$\gamma$ -Hydroxyisoeugenol	1,12	0,88	0,51
23	Globulol	0,31	1,01	0,57
24	Palmitic acid methyl ester	2,13	3,45	1,10
25	cis-Oleic acid	0,70	0,97	4,62
26	Uvidin B	0,68	0,73	0,84
27	<b>Oleic acid, methyl ester</b>	<b>3,96</b>	<b>10,16</b>	<b>14,52</b>
28	Arachidic acid methyl ester	0,46	0,86	1,17
29	<b>Nerolidol</b>	<b>4,44</b>	<b>3,63</b>	<b>2,86</b>
30	Behenic acid methyl ester	0,95	1,85	2,29
31	<b>Vitamin A alcohol</b>	<b>22,40</b>	<b>21,23</b>	<b>13,75</b>
32	<b>Biformene</b>	<b>7,81</b>	<b>10,23</b>	<b>9,26</b>
	Geri kazanım	92,20	84,28	79,62

SbKSE ile *Stachys rupestris* bitkisi için en etkin çalışma koşullarının 100°C sıcaklık, 80 atm basınç ve dakikada 2 mL akış hızı olduğu belirlenmiştir. Bu koşullarda elde edilen uçucu yağın verimi %1,28 w/w dir (Çizelge 4.2). Çizelge 4.5 incelendiğinde 2-Pinene, Eucalyptol, Terpinene-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, Globulol gibi

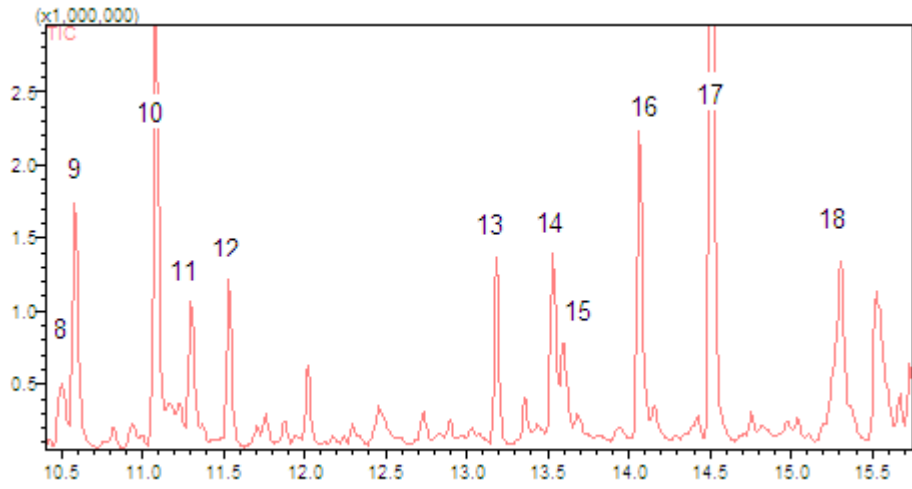
oksijenli bileşiklerin ekstraksiyonunun sıcaklık arttıkça azaldığı görülmektedir. Bu sonuç göstermektedir ki, oleic acid metil esteri gibi yağ asidi esterleri sıcaklık arttıkça daha fazla ekstrakte edilmekteyken, oksijenli bileşenler 100°C'de daha fazla ekstrakte edilmektedir. Uçucu yağın güzel kokusuna katkısı açısından oksijenli bileşenler, monoterpen hidrokarbonlardan daha değerlidir (Lucchesi ve ark., 2004). Bu nedenle uçucu yağda bulunan oksijenli maddeler, hidrokarbonlara göre ekonomik olarak daha önemlidir (Smith, 2002).

SbKSE yöntemi ile elde edilen ekstraktın uçucu yağ kalitesinin diğer yöntemlerle elde edilen yağlardan daha iyi olması, ekstraksiyonun hızlı bir şekilde tamamlanması, göreceli olarak düşük sıcaklıklarda çalışılarak, sıcaklıkla bozulan bileşenlerin kaybının önlenmesi, göreceli olarak düşük maliyetli olması, basit olması ve çevresel açıdan elverişli olması gibi özellikleri ile diğer yöntemlere güçlü alternatif bir yöntem olmaktadır (Özel ve ark., 2003; Giray ve ark., 2008).

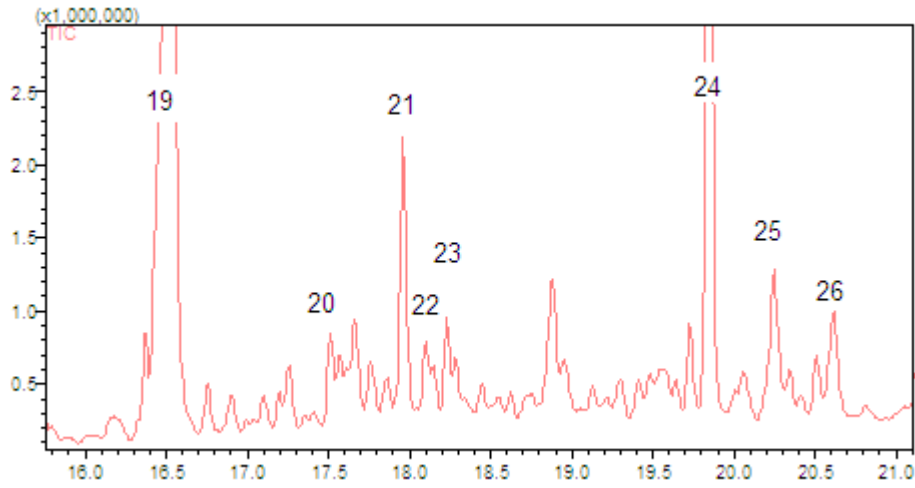
Bununla beraber bileşen konsantrasyonları ekstraksiyon metoduna ve sıcaklığa göre değişiklik göstermesi nedeniyle; ekstraktın kullanım amacına uygun (gıda, kozmetik, ilaç vs.) bir ekstraksiyon metodu veya uygun sıcaklığın seçilebilmesi mümkündür.



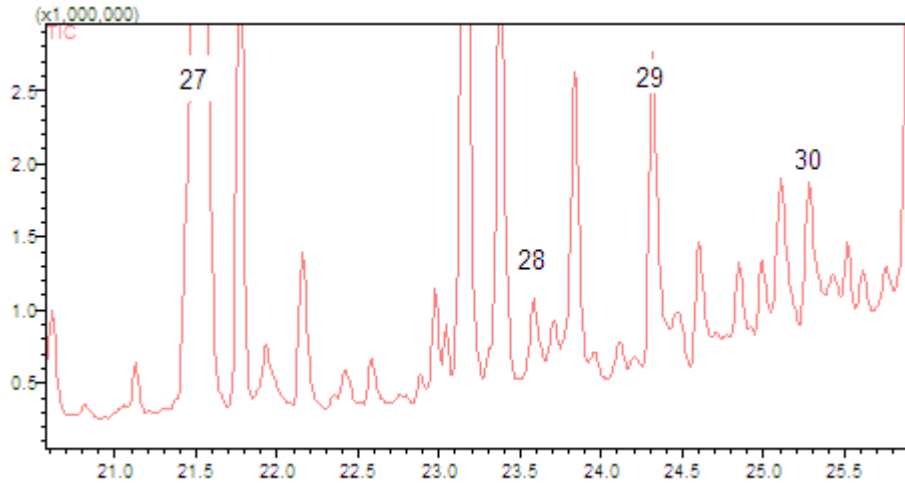
Şekil 4.3.(a) *Stachys rupestris* bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 0–10 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



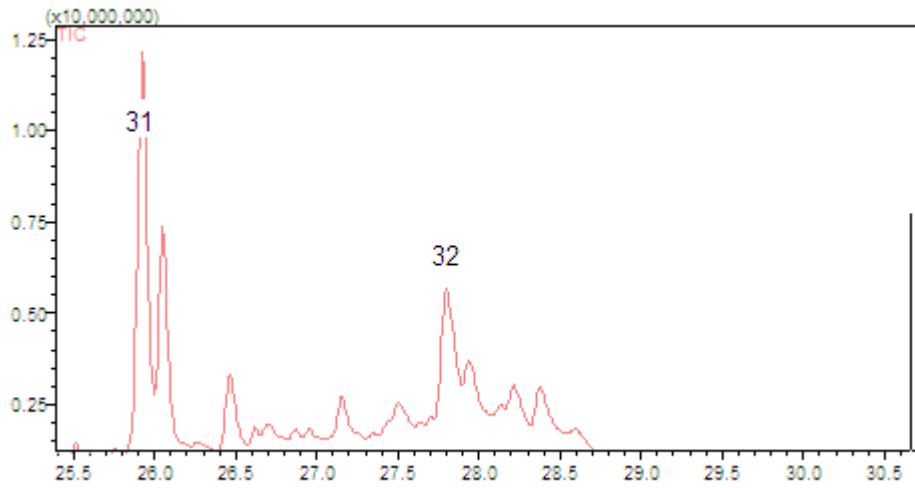
Şekil 4.3.(b) *Stachys rupestris* bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 10–15 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.3.(c) *Stachys rupestris* bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 15–20 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.3.(d) *Stachys rupestris* bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 20–25 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.



Şekil 4.3.(e) *Stachys rupestris* bitkisinden SbKSE ile elde edilen uçucu yağın 25–30 dk arasındaki GC-MS kromatogramı.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

### 5.1. Sonuçlar

Çalışmalarda kullanılan metotların kıyaslamalarında SbKSE işlemlerinde, uçucu yağ verimi açısından daha fazla verim elde edilmiş ve bileşenler daha kısa sürede etkin bir şekilde geri kazanılmıştır. SbKSE işlemi ile elde edilen uçucu yağların GC-MS analiz sonuçlarının farklı sıcaklıklardaki kıyaslamalarında genel olarak oksijenli bileşenler daha düşük sıcaklıklarda, polar bileşenler ise daha yüksek sıcaklıklarda ekstrakte edilmiştir. Ayrıca genel olarak çizelgeler ve GC-MS kromatogramları yorumlandığında sıcaklığın SbKSE verimi ve ürün kompozisyonuna etkisi ile ilgili olarak aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır:

*Alkanna aucherena*, *Centaurea sp.* ve *Stachys rupestris* bitkileri için yağ veriminin en yüksek olduğu etkin çalışma sıcaklıkları sırasıyla 125, 100 ve 150°C'dir.

i) Bazı bileşenlerin ekstraksiyonunda sıcaklığın anlamlı bir etkisi gözlenmemiştir.

ii) Bazı bileşenler sadece 100°C de daha fazla ekstrakte edilmiştir; Vitamin A alcohol, gibi.

iii) Bazı bileşenler 100°C den daha yüksek sıcaklıklarda ekstrakte olmuşlardır; 3-octanone gibi.

iv) Bazı bileşenlerin konsantrasyonu sıcaklıkla birlikte artmıştır; Elaidic acid methyl ester gibi.

v) Bazı bileşenlerin ise konsantrasyonu sıcaklıkla birlikte azalmıştır; Vitamin A alcohol, Elemol, linalool, terpinen-4-ol gibi.

*Stachys rupestris* uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde %1,05 (w/w) verimle uçucu yağ elde edilirken, SbKSE'da 100°C sıcaklık, 80 atm basınç ve 2 mL/dk akış hızında %1,28 verim elde edilmiştir. Bu bitki için etkin çalışma koşulları olan 100°C'de ana bileşenler olarak Vitamin A alcohol, 2-pinene, biformene, nerolidol elde edilmiştir.

*Alkanna aucherena* bitkisinin uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde uçucu yağ elde edilemedi. SkSE’da etkin çalışma sıcaklığı olan 100°C’de ana bileşenler olarak linoleic acid, Vitamin A Alcohol, Elemol elde edilmiştir.

*Centaurea sp.* Bitkisinin uçucu yağının eldesinde uygulanan yöntemlerin kıyaslamasına göre; HD işleminde uçucu yağ elde edilemedi. SkSE’da tüm sıcaklıklarda ana bileşen olarak Uvidin B (%54,50) elde edilmiştir. Bunun dışında göreceli miktarları yüksek olan diğer bileşenler Vanillin, Methyl eicosanoate ve *cis-Oleic acid* olarak bulunmuştur.

Bu çalışmayla, bilimsel ve ekonomik açıdan yurdumuz için ayrı bir değer taşıyan endemik türlerin kimyasal içeriklerinin aydınlatılmasında bu türlere dair yapılmış kısıtlı sayıda araştırmaya katkı sağlanması amaçlanmıştır. Çalışmada araştırılan bitkilerdeki bileşenler içerisinde çeşitli farmakolojik etkilerinin olduğu bilinen bileşenler de tespit edilmiştir.

GC-MS analizlerine göre; *Centaurea sp.* bitkisinden elde edilen ekstratta %7,30 göreceli bolluk miktarı ile **vanilline**; anticonvulsant “kontrolsüz kasılmaları giderici” özellik göstermektedir. (http-1). %4,95 göreceli bolluk oranında bulunan **oleik asit**’in bazı kanser türlerini azaltıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (Pala ve ark., 2001). Ayrıca zeytin yağının hipotansif “kan basıncını düşürücü” etkisinin oleik asitten ileri geldiği düşünülmektedir (Terés ve ark., 2008).

*Stachys rupestris* bitkisinden elde edilen ekstratta %22,68 göreceli bolluk miktarı ile bulunan **2-pinene**, kamfor imalatında, insektisit yapımında ve parfümeride kullanılmaktadır. %4,40 göreceli bolluk oranında bulunan **Eucalyptol**, bir çok öksürük şurubunda ve ağız gargarasında bulunmaktadır. Astım ve solunum yollarındaki mukusu anti-inflamatuvar stokin etkisiyle kontrol altına alır (Juergens ve ark., 2003; 2004). %4,36 göreceli bolluk oranında bulunan **Terpinen-4-ol**’ün inflamatuvar baskılayıcı etkisi olduğu düşünülmektedir (Hart ve ark., 2000). %0,81 göreceli bolluk oranında bulunan **verbenone** antitrombosit “pıhtı önleyici” olarak kullanılmaktadır (http-1). %0,51 göreceli bolluk oranında bulunan **eugenol** parfümeride, tatlandırıcı ve tıpta lokal antiseptik ve anestezik olarak

kullanılmaktadır (Jadhav ve ark. 2004). %1,01 göreceli bolluk oranında bulunan **globulol** antimikrobiyal etkisi ile bilinmektedir (Tan ve ark. 2008)

*Alkana aucherena* bitkisinde %22,05 göreceli bolluk miktarı ile bulunan **Vitamin A alcohol** farmakolojik öneme sahip bileşenlerden biridir. %38,72 göreceli bolluk oranıyla ana bileşenlerden biri olan **linoleik asit**, cilde faydalı özelliklerinden dolayı güzellik ürünleri endüstrisinde hızla popüler olmaya başlamıştır. Araştırmalar linoleik asitin cilde uygulandığında anti-inflamatuvar, akne azaltıcı, nemlendirici özellikleri olduğunu göstermektedir (Darmstadt ve ark., 2002). %13,76 göreceli bolluk miktarı ile bulunan **elomol** ise tat ve koku verici olarak kullanılmaktadır. %1,15 göreceli bolluk miktarı ile bulunan **linalool** ise hoş kokulu ve bazik ortamda kararlı olmasından dolayı sabun, deterjan, şampuan ve losyon gibi temizlik ürünlerinde koku verici madde olarak kullanılır (http-2).

## 5.2. Öneriler

1. Kullanılan metotlar içerisinde subkritik su ekstraksiyonu işlemi 80 atm ve 100°C, 125°C ve 150°C de gerçekleştirilmiştir. Farklı sıcaklık ve basınçlarda da incelemeler yapılabilir.

2. Ayrıca bu çalışmada araştırılan bitkilerin uçucu yağları farklı yöntemlerle de (tüketme yöntemi ve soxhlet aparatı kullanımı gibi) elde edilerek analizler yapılabilir.

3. Bileşenler amaca göre ekstrakte edildikten sonra ayırma ve saflaştırma teknikleri ile saf olarak elde edilebilir ve karakterize edilebilir.

4. Subkritik akışkan ekstraksiyonu için belirlenen optimum koşullarda sürekli bir ekstraksiyon sistemi ile çalışılabilir.

5. Farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktlardan antioksidan, antimikrobiyal, antimutajenik ve benzeri çalışmalar yürütülebilir.

6. SbKSE ve HD ekstraksiyonunda uçucu yağ elde edildikten sonra kalan sulu kısımdaki bileşenleri belirleme çalışmaları sıvı kromatografisi ile (HPLC, LC-MS, vb.) yürütülebilir.

7. Bitkilerdeki temel bileşenler, firmalardan saf olarak satın alınıp, çeşitli oranlardaki karışımlarının antioksidan aktiviteleri de incelenebilir.

## KAYNAKLAR

- AKGÜN, İ., GANZERA, M., GÜR, C., ŞENOL, S., KORKMAZ, K., BEDİR, E., 2009, Determination of Naphthazarin Derivatives in 16 Alkanna Species by RP-LC Using UV and MS for Detection, *Cromatographia*, 2009, 70, 963–967
- Altan, Y., Uğurlu, E., Sevinç, Ö.S. Akçakertik Florası Manisa (Demirci) 1. International Symposium on Protection of Natural Environment and Ehlami Karaçam 23-25 September 1999, Kütahya.
- ARAUJO, H.C., LACERDA, M.E.G., LOPES, D., BÍZZO, H.R. AND KAPLAN, M.A.C., 2007, *Studies On The Aroma Of Mate (Ilex paraquariensis St.Hil.) Using Headspace Solid-Phase Microextraction*. *Phytochemical Analysis*. 18, 469-474.
- AVCI, M. 2005, “Türkiye bitki örtüsünün çeşitlilik ve endemizm açısından bir değerlendirmesi”, Ulusal Coğrafya Kongresi 2005 (Prof. Dr. İsmail Yalçınlar Anısına 29–30 Eylül 2005), Bildiri Kitabı (Ed. S. Avcı ve H. Turoğlu): 73–85, İstanbul.
- AYALA, R.S., LUQUE de CASTRO, M.D., (2001). Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils, *Food Chemistry* 75, 109-113.
- BAŞER, H. C. 2001, “Phytochemical diversity in the flora of Turkey”, *Plants of the Balkan Peninsula: into the Next Millennium*, Proceeding of the 2nd Balkan Botanical Congress 14–18 May 2000, İstanbul, Turkey, Vol. I (Ed. N. Özhatay): 517–528, İstanbul.
- BAŞER, K.H.C., KIRIMER, N., KOŞAR, M., TUNALIER, Z, 2005, Bitkisel drogların kimyasal incelenmesi, *Farmakognozi III Uygulamaları El Kitabı*, Eskişehir, 13-15.
- BAŞER, K.H.C., 1995b, Recent advances on the umbelliferae essential oils of Turkey, *Proceedings of the 8th International Symposium on Natural Product Chemistry*, 18-22 January, Karachi, Pakistan, 271-289.

- BAŞER, K.H.C.,2006, Aromatic plants as a source of botanicals, *Acta Horticulturae*, 720, 27-33 .
- BAŞER, K.H.C.,2006. Aromatic plants as a source of botanicals, *Acta Horticulturae*, 720, 27-33.
- BAYDAR, H., 2005. Yayla kekiğinde farklı toplama zamanlarının uçucu yağ bileşenleri üzerindeki etkisi, *Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 18 (2), 175-178
- BAYTOP, A., UMBELLIFERAE, 1993, *Farmasötik Botanik Uygulamaları*, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 198-199.
- BAYTOP, T., 1984. Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi, İstanbul Üniv. Yay. No. 3637, Ecz. Fak.No.40, İstanbul, s. 240-376.
- BAYTOP, T.,1999, Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 4-10.
- BEEJMOHUN,V., FLINIAUX, O., GRAND, E., LAMBLİN, F., BENSADDEK, L., CHRİSTEN, P., KOVENSKY, J., FLİNIAUX, M. AND MESNARD, F. 2007. *Microwave-Assisted Extraction Of The Main Phenolic Compounds In Flaxseed*. *Phytochemical Analysis*, 18, 275-282.
- BILUSIC VUNDAC, V., PFEIFHOFER, H., BRANTNER, A.H ., MALES, Z., PLAZIBAT, M.,2006, Essential oils of seven *Stachys* taxa from Croatia, *Biochemical Systematics and Ecology* 34, 875-881
- BOYDAĞ, I., *Origanum Onites* L. (Kekik) Yağ Altı Suyunun Uçucu Bileşikleri, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye (2004).
- CEYLAN, A., 1997, *Tıbbi Bitkiler (Uçucu Yağ Bitkileri) Cilt II*, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, İzmir
- CHARENTREAU, A. 2001. *Simultaneous Distillation-Extraction:Birth To Maturity-Review*. *Flavour and Fragrance J.*16:136-148.
- CONFORTI, F., MENICHINI, F., FORMISANO, C., RIGANO, D.,SENATORE, F., ARNOLD, N.A., PIOZZI, F., 2009, Comparative chemical composition, free radical-scavenging and cytotoxic properties of essential oils of six *Stachys* species from different regions of the Mediterranean Area, *Food Chemistry* 116 (2009) 898–905.

- CONGIU, R., FALCONIERI, D., MARONGIU, B., PIRAS, A. AND PORCEDDA, S. 2002. *Extraction and Isolation of Pistacia lentiscus L. Essential Oil Be Supercritical CO2*. Flavour and Fragrance J, 17, 239-244.
- CONNOLLY, J., D., HILL, R., A., 1991. Dictionary of Terpenoids, Mono and Sesquiterpenoids, London, 1, 333-337.
- ÇAM, M., HIŞIL, Y., 2006. Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu Ve Uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 2006 (3) 79-86.
- DARMSTADT, G L; DARMSTADT GL, MAO-QIANG M, CHI E, SAHA SK, ZIBOH VA, BLACK RE, SANTOSHAM M, ELIAS PM, 2002. "Impact of topical oils on the skin barrier: possible implications for neonatal health in developing countries". *Acta Paediatrica* **91** (5): 546–554.
- DAVIS, M. A., MURPHY, J. F. ve BOYD, R. S. 2001, "Nickel increases susceptibility of a nickel hyperaccumulator to Turnip mosaic virus", *Journal of Environmental Quality* 30: 85-90.
- DEMİRÇAKMAK, B., 1994. *Cedrus Libani* Uçucu Yağının Bilesimi, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskisehir, Türkiye.
- DEVON, T., K., SCOTT, A., I., 1972. Handbook of Naturally Occurring Compounds, Terpenes, New York, 2, 87-138.
- DJERASSI, C., 1994a. Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 7.
- DJERASSI, C., 1994b. Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 3, 2632-26.
- DJERASSI, C., 1994c. Dictionary of Natural Products, Type of Compound Index-Species Index, Chapman & Hall Chemical Database, London, Vol. 2, 2301.
- DURAL, H., BAĞCI, Y., ERTUGRUL, K., DEMİRELMA, H., FLAMINI, G., CIONI, P. L., MORELLI, I., 2003, Essential Oil Composition Of Two Endemic Centaurea Species From Turkey, CENTAUREA mucronifera and Centaurea chrysantha, Collected In The Same Habitat ,Biochemical Systematics and Ecology, 3 ,1417 – 1425

- EBRAHIMABADI, A.H., EBRAHIMABADI, E.H., DJAFARI-BIDGOLI,Z., KASHI, F.J., Mazoochi,A., BATOOLI, H., 2009, Composition and antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and extracts of *Stachys inflata* Benth from Iran
- ERİNÇ, S. 1978, "Changes in the physical environment in Turkey since the end of the Last Glacial", *The Environmental History of the Near and Middle East Since the Last Ice Age* (Ed. W.C.Brice): 87–110, London.
- ERTUĞ, F. 2004b, "Bodrum yöresinde halk tıbbında yararlanılan bitkiler", 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29–31 Mayıs 2002, Bildiriler kitabı (Ed. K.H.C. Başer ve N. Kırimer): 76–93.
- FAKHARI, A. R., SALEHI, P., HEYDARI, R., EBRAHIMI, S. N., HADDAD, P. R., 2005 *Hydrodistillation-Headspace Solvent Microextracti On, A New Method For Analysis Of The Essential Oil Components Of Lavandula angustifolia Mill.* *J.of Chromatography A*, 1098, 14-18.
- FERNANDEZ PEREZ, V., JIMENEZCARMONA, M.M., LUQUE DE CASTRO, M.D., (2000). An approach to the static-dynamic subcritical water extraction Of laurel essential: comparison with conventional techniques, *The Royal Society of Chemistry*125, 481-485
- FISCHER, N.H., JEFFREY, D.W., JAMES, L.R., LEOVIGILDO, Q., MARIAS, A.M., Stimulation of witchweed germination by sesquiterpene lactones: a structureactivity study, *Phytochemistry*, 29, 8, 2479-2483 (1990).
- FLAMINI, G., STOPPELLI, G., MORELLI, I., ERTUĞRUL, K., DURAL, H., TUGAY, O., DEMİRELMA, H., 2004, Secondary Metabolites from *Centaurea isaurica* from Turkey and their Chemotaxonomical Significance, *Biochemichal Systematics and Ekology*, 32, 553-557, 2004
- FLAMINI, G.; LUIGI CİONİ, P.; MORELLI, I.; ÇELİK, S.; GÖKTÜRK, R.S.; ÜNAL, O., 2005, Essential oil of *Stachys aleurites* from Turkey, *Biochem. Syst. Ecol.*, 33, 61-66.
- GALIPO, R. C., CANHOTO, A. J., WALLA, M.D., MORGAN, S. L., 2002 *Analysis Of Volatile Fragrance And FlavorCompounds By Headspace Solid Phase Microextraction Combined With Gas Chromatography/Mass*

*Spectrometry*. An instrumental analysis experiment. University of South Carolina.

GHORAB, E. H. A., MANSOUR, F. A., and EL-MASSRY, K., 2004. Effect of extraction methods on the chemical composition and antioxidant activity of Egyptian marjoam (*Majorana hortensis* Moench). *Flavour and Fragrance Journal* 19:54-61.

GIULIANI, C., PELLEGRINO, R., TIRILLINI, B., BINI, L.M., 2008, Micromorphological and chemical characterisation of *Stachys recta* L. subsp. *serpentini* (Fiori) Arrigoni in comparison to *Stachys recta* L. subsp. *recta* (Lamiaceae), *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, Volume 203, Issue 5, 1 July 2008, Pages 376-385

GİRAY, E. S., KIRICI, S., KAYA, D. A., TÜRK, M., SÖNMEZ, Ö., İNAN, M., 2008. Comparing the effect of sub-critical water extraction with conventional extraction methods on the chemical composition of *Lavandula stoechas*. *Talanta*, 74: 930-935.

GOGUS, F., OZEL, Z. M., and LEWIS, C. A., 2006. Extraction of essential oils of leaves and flowers of *Achillea monocephala* by superheated water. *Flavour And Fragrance Journal*, 21:122-128.

GRACIA, G. L., CASTRO, L. D. M., 2000. Continuous subcritical water extraction of medicinal plant essential oil: comparison with conventional techniques. *Talanta*, 51:1179-1185.

GUENTHER, E., 1948. *The Essential Oils*, Vol. 1-6, Robert E. Krieger Publishing Co., Inc., Malabar, Florida.

HART, P.H., BRAND, C., CARSON, C.F., RILEY, T.V., PRAGER, R.H., FINLAY-JONES, J.J., 2000. Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *Inflamm Res.*; 49(11):619-26

HIŞİL, Y. VE ÜNLÜ, Z. N., 1996, Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon Teknolojisi ve Gıda Sanayiindeki Uygulamaları, *Gıda Teknolojisi*, 1 (8), 46-54.

<http://www.ordutarim.gov.tr/turetim/aromatik.htm> (10.01.2007).

http-1: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> (20.10.2010)

- http-2: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/144041.php>S (20.10.2010)
- ILISULU, K., 1992. İlaç ve Baharat Bitkileri, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No.1256, Ankara, s.1-6.
- İZGÜ, E., 1973, Genel ve Endüstriyel Farmasi, *Ayyıldız Matbaası*, Ankara.
- JADHAV, B.K., KHANDELWAL, K.R., KETKAR, A.R., PISAL SS., 2004. "Formulation and evaluation of mucoadhesive tablets containing eugenol for the treatment of periodontal diseases". *Drug Dev Ind Pharm.* **30** (2): 195–203.
- JU, Z.Y., HOWARD, L.R., 2003. Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 51:5207-5213
- JUERGENS, U.R., DETHLEFSEN, U., STEINKAMP, G., GILLISSEN, A., REPGES, R., VETTER, H., 2003. "Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial". *Respir Med* 97 (3): 250–6.
- JUERGENS, U., ENGELN, T., RACKÉ, K., STÖBER, M., GILLISSEN, A., VETTER, H., 2004. "Inhibitory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) on cytokine production in cultured human lymphocytes and monocytes". *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics* 17 (5): 281–7.
- KANDEMİR, A. ve BEYAZOĞLU, O. 2002, "Köse dağlarının (Gümüşhane) tıbbi ve ekonomik bitkileri", Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 6 (3): 148–157.
- KAUFMANN, B., CHRISTEN, P. 2002. Recent extraction techniques for natural products: microwaveassisted extraction and pressurised solvent extraction. *phytochemical analysis* 13: 105–113
- KAUFMANN, B., RUDAZ, S., CHERKAOUI, S., VEUTHEY, J.L., CHISTEN, P., 2007 *Influence Of Plant Matrix On Microwave-Assisted Extraction Process. The Case Of Diosgenin Extracted From Fenugreek. Phytochemical Analysis.* 18, 70-76.
- KAYA, A., DEMİRCİ, B., & BAŞER, K. H. C., 2001. The composition of the essential oil of *Stachys iberica* subsp *stenostachya* growing in Turkey. *Chemistry of Natural Compounds*, 37, 326–328.

- KÖSE, Y.B., İşcan, G. , DEMİRCİ, B., BAŞER, K.H.C., ÇELİK, S., 2007, Antimicrobial activity of the essential oil of *Centaurea aladagensis*, *Fitoterapia* 78, 253–254
- KUBATOVA, A., MILLER, J. D., HAWTHORNE, B. S., 2001. Comparison of subcritical water and organic solvents for extracting kava lactones from kava root. *Journal of Chromatography A*, 923:187-194.
- LAWRENCE, B.M., *The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products In: A Manual on the Essential Oils and Aroma Chemicals Industries*, K. Tuley de Silva (Eds.), UNIDO, Vienna (1995).
- LEHOTAY, S.J., LEE, C.H. 1997. Evaluation of a fibrous cellulose drying agent in supercritical fluid extraction and pressurized liquid extraction of diverse pesticides. *Journal of Chromatography A*. 785:313-327
- LINSKENS, H.F., JACKSON, J.F, 1997a *Modern Methods of Plant Analysis*, Vol. 19: *Plant Volatile Analysis*, Springer, Germany.
- LINSKENS, H. F., JACKSON, J.F, 1997b *Modern Methods of Plant Analysis*, Vol. 12: *Essential Oils and waxes*, Springer, Germany.
- LUCCHESI, E. M., FARID, C., SMADJA, J., 2004. Solvent-free microwave extraction of essential oil form aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation. *Journal of Chromatography A*, 1043:323-327.
- MOYLER, D. A., 1993 *Extraction Of Essential Oils With Carbon Dioxide*. *Flavour and Fragrance J.*Vol.8, 235- 247.
- MUJTABA, I. M., 2004, *Batch Distillation Design and Operation*, Series on Chemical Engineering, Vol. 3, Imperial College Press, London, 4 – 10.
- MUKHOPADHYAY, M., 2000, *Natural Extracts Using Supercritical Carbon Dioxide*, CRC Press LLC, Florida, 131 – 141.
- OZKAN, G., Gokturk, R.S., UNAL,O., CELİK, S., 2006, Determination of the volatile constituents and total phenolic contents of some endemic *Stachys* taxa from Turkey, *Chemistry of Natural Compounds* 42 (2), pp. 172–174.
- Ö.POLAT, S.ÖTLEŞ, 1997. Esansiyel yağların ekstraksiyon yöntemleri. *E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi*, Seri B, 15, (1-2), 155-161.

- ÖZEL, Z. M., GOGUS, F., LEWIS, C. A., 2003. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chemistry*, 82:381-386.
- ÖZER, M. S., SARIKÜRKÜ, C., TEPE, B., CAN, S., 2010, Essential oil composition and antioxidant activities of alkanet (*Alkanna tinctoria* subsp. *tinctoria*), *Food Science and Biotechnology* Volume 19, Number 5, 1177–1183.
- PALA, V., KROGH, V., MUTI, P., CHAJÈS, V., RIBOLI, V., MICHELI, A., SAADATIAN, M., SIERI, S., BERRINO, F., 2001. "Erythrocyte Membrane Fatty Acids and Subsequent Breast Cancer: a Prospective Italian Study". *JNCL* 93 (14): 1088–95.
- POLAT, Ö. VE ÖTLES, S., 1997, Esansiyel Yağların Ekstraksiyon Yöntemleri, Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri:B, Gıda Mühendisliği, 15(1-2), 155 – 161.
- PORTA, G.D., PORCEDDA, S., MARONGIU, B., REVERCHON, E., 1999 Isolation of Eucalyptus oil by Supercritical fluid extraction *Flavour and Fragrance J.*14, 214-218.
- POURMORTAZAVI, S.M., BAGHAEE, P., MİRHOSEİNİ, M.A., 2004 *Extraction Of Volatile Compounds From Juniperus communis L. Leaves With Supercritical Fluid Carbon Dioxide: Comparison With*
- PRASAD, M. N. V., FREITAS, H. M. O. 1999, “Feasible biotechnological and bioremediation strategies for serpentine soils and mine spoils”, *Electronic Journal of Biotechnology* 2(1): 20–34.
- PRASAD, M. N. V., FREITAS, H. M. O. 2003, “Metal hyperaccumulation in plants- Biodiversity prospecting for phytoremediation technology”, *Electronic Journal of Biotechnology* 6 (3): 285–321.
- PROESTOS, C., CHORIANOPOULOS, N., NYCHAS, E. G.-J., KOMAITIS, M. 2005. RP-HPLC Analysis of the Phenolic Compounds of Plant Extracts. Investigation of Their Antioxidant Capacity and Antimicrobial Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 1190-1195.
- RADULOVIC, N., LAZAREVIC, J., RISTIC, N., PALIC R., 2007. CHEMOTAXONOMIC significance of the volatiles in the genus *Stachys*

- (Lamiaceae): Essential oil composition of four Balkan *Stachys* species  
*Biochem. Syst. Ecol.*, 35, 196.
- RAMOS, L., KRISTENSON, E.M., BRINKMAN, U.A. 2002. Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *Journal of Chromatography A* 975: 3–29
- RANGAHAU, M. K., 2001 *Essential oils and their production. Crop and Food Research*, Nr. 39, October. Rowe, J.W., 1989. *Natural Products of Woody Plants Vol.2*, Springer, Germany.
- RIGG, L., LENCZEWSKI, M. ve JONES, L. 2005, “Endemism and ultramafic soils in New CALEDONIA: *Araucaria laubenfelsii* as a case study”, Association of American Geographers, 2005 Annual Meeting, Abstracts.
- ROSSELLI, S., BRUNO, M., MAGGIO, A., RACCUGLIA, R.A., BANCHEVA, S., SENATORE, F., FORMISANO, C., 2009, Essential oils from the aerial parts of *Centaurea cuneifolia* Sibth. & Sm. and *C. euxina* Velen., two species growing wild in Bulgaria, *Biochemical Systematics and Ecology* 37(4), 426-431
- ROWE, J.W., 1989. *Natural Products of Woody Plants Vol.2*, Springer, Germany.
- SARKER, S. D., LATİF, Z., GRAY, A. I., 2006, *Natural Products Isolation*, 2nd Edition, HUMANA Press Inc., New Jersey, 27 – 46 ve 47 –76.
- SARKER, S.D., LAIRD, A., NAHAR, L., KUMARASAMY, Y., JASPARS, M., 2001, Indole ALKALOIDS from the seeds of *Centaurea cyanus* (Asteraceae), *Phytochemistry* 57, 1273–1276
- SEFIDKON, F., ABBASI, K., AHMEDI, S., JAMZAD, Z., (2007). The effect distillation methods and stage of plant growth on the essential oil content and composition of *rechingeri jamzad*, *Food Chemistry*, 100, 1054-1058.
- SKALTSA, H. D., DEMETZOSA, C., LAZARI, D., SOKOVIC, M., 2003, Essential oil ANALYSIS and antimicrobial activity of eight *Stachys* species from Greece, *Phytochemistry* Volume 64, Issue 3, Pages 743-752.
- SKALTSA, H.D.; MAVROMMATI, A.; CONSTANTINIDIS, T.; 2001. A chemotaxonomic investigation of volatile constituents in *Stachys* subsect. *Swainsonianae* (Labiatae), *Phytochemistry*. 2001 May;57(2):235-44.

- SMITH, R.M. 2002. Extractions with superheated water. *Journal of Chromatography A* .975:31-46
- STOJANOVIC, G., RISTIC, N., PALIC,R., LAZAREVIC, J., 2004, Antimicrobial activity of ESSENTIAL oils of the selected *Stachys* species, *Khimiya Prirodnikh Soedinenii*, No. 4, pp. 421–423.
- ŞİMŞEK, I., AYTEKİN, F., YEŞİLADA, E. Ve YILDIRIMLI, Ş. 2004, “Anadolu’da HALK arasında bitkilerin kullanılış amaçları üzerinde etnobotanik bir çalışma”, 14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs 2002, Bildiriler kitabı (Ed. K. H. C. Başer ve N. Kırimer): 434-457.
- TAN, M.; ZHOU, L.; HUANG, Y.; WANG, Y.;HAO, X.; WANG, J., 2008, Antimicrobial activity of globulol isolated from the fruits of *Eucalyptus globulus* Labill, *Natural Product Research*, Volume 22, Issue 7 pages 569 - 575
- TANKER, M., TANKER, N., 1976. *Farmakognozi Cilt II*, Reman Matbaası, İstanbul.
- TANKER, M., TANKER, N., *Uçucu yağlar*, *Farmakognozi Cilt 2*, Ankara Üniversitesi
- TERÉS, S; BARCELÓ-COBLIJN, G; BENET, M; ALVAREZ, R; BRESSANI, R; HALVER, JE; ESCRIBÁ, PV, 2008. "Oleic acid content is responsible for the reduction in blood pressure induced by olive oil". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **105** (37): 13811–6.
- THAPA, B.B., *Extraction of essential oil*, National Workshop on Chemical Investigation and Processing of Aromatic Plants, Nepal, 71-81 (1989).
- TZAKOU, O., LOUKIS, A.; 2008, Chemical Composition of *Alkanna orientalis* from Greece, *The Journal of essential oil research*, Vol.20,no:6,pp.490-491.
- ÜNLÜ, N. VE HIŞIL, Y., 1997, Kapiler Gaz Kromatografisi ile Birleştirilmiş Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu (SFE/GC) ve Bu Sistemin Aroma Malzemelerinin Analizinde Kullanımı, *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, Seri:B, Gıda Mühendisliği, 15(1-2), 203 – 217.
- VAS, G., VEKEY, K., 2004, Solid-Phase Microextraction: A powerful Sample Preparation Tool Prior To Mass Spectrometric Analysis. *J.of Mass Spectrometry*, 39:233-254.

- WALKER, M. 2001, "Biodiversity update", New Scientist: 2288.
- WIJESEKERA, R. O. B., 1991, The Medicinal Plant Industry, CRC Press LLC, A. B. D., 210.
- WIJESEKERA, R.O.B., Practical manual on the essential oils industry, agrotechnology, Processing, Quality Assesment, UNIDO, 100-121 (1993).
- YAMANI, Y., KHAJEH, M., GHASEMI, E., MIRZA, M., JAVIDNIA, K., 2007 *Comparison Of Essential Oil*
- YAYLI, N., YAŞAR, A., GÜLEÇ, C., USTA, A., KOLAYLI, S., COŞKUNÇELEBİ, K., KARAOĞLU, Ş., 2005, Composition and antimicrobial activity of essential oils from *Centaurea sessilis* and *Centaurea armena*, *Phytochemistry* 66, 1741–1745
- YOUNG, S., 2003, *Distillation Principles and Practices*, Watchmaker Publishing, printed in Great Britain, 3.



## ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında İstanbul'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Sarıyer İlköğretim Okulunda, lise öğrenimini ise Sarıyer Lisesinde tamamladı. 2001 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne girdi. 2007 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalında yüksek lisans eğitimine başladı. 1 yıl süreyle YADİM'de İngilizce hazırlık okudu.