

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Meltem SÖNMEZ

**MERSİN'İN İLÇELERİNDE YETİŞEN *Euphorbia macroclada* Boiss. ve
Marrubium vulgare L. BİTKİLERİNİN SUBKRİTİK SU VE GELENEKSEL
YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLMESİ VE ELDE EDİLEN
EKSTRAKTLARIN BİLEŞENLER YÖNÜNDEN KİYASLANMASI**

KİMYA ANABİLİM DALI

ADANA, 2011

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MERSİN'İN İLÇELERİNDE YETİŞEN *Euphorbia macroclada* Boiss. ve *Marrubium vulgare* L. BİTKİLERİNİN SUBKRİTİK SU VE GELENEKSEL YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLMESİ VE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİLEŞENLER YÖNÜNDEN KIYASLANMASI

Meltem SÖNMEZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 28/12/2011 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oybirliği / Oyçokluğu 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 :FEF2010YL15

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

MERSİN'İN İLÇELERİNDE YETİŞEN *Euphorbia macroclada* Boiss. ve *Marrubium vulgare* L. BİTKİLERİNİN SUBKRİTİK SU VE GELENEKSEL YÖNTEMLERLE EKSTRAKTE EDİLMESİ VE ELDE EDİLEN EKSTRAKTLARIN BİLEŞENLER YÖNÜNDEN KIYASLANMASI

Meltem SÖNMEZ

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

Danışman : Prof. Dr. Şermin GÜL

Yıl : 2011, Sayfa: 75

Jüri : Prof. Dr. Şermin GÜL

: Prof.Dr.Sultan Giray

: Doç.Dr.Ayşe EVEREST

Bu çalışmada Mersin'in ilçelerinde yetişen *Euphorbia macroclada* Boiss. ve *Marrubium vulgare* L. bitkileri subkritik su ekstraksiyonu ve geleneksel ekstraksiyon yöntemleri olan Hidro destilasyon, Ultrasonik banyo ekstraksiyonu ve Sokslet ekstraksiyonu ile ekstrakte edildi. Ekstraksiyon işlemlerinin ardından organik faz bileşenleri GC-MS ile belirlenmiş, yöntemler karşılaştırılmıştır.

Elde edilen bileşenler ve miktarları yöntemlere bağlı olarak değişiklik göstermiştir. Sokslet ekstraksiyonunun veriminin Ultrasonik banyo ekstraksiyonunun veriminden daha fazla olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler : Hidrodistilasyon, Subkritik Su Ekstraksiyonu, Sokslet Ekstraksiyonu, Ultrasonik Ekstraksiyon, Uçucu Yağ.

ABSTRACT

MSc Thesis

**EXTRACTION OF *Euphorbia macroclada* Boiss. AND *Marrubium vulgare* L.
WHICH GROW IN SOME COUNTIES OF MERSIN, BY SUBCRITICAL
WATER EXTRACTION AND CONVENTIONAL EXTRACTION METHODS**

Meltem SÖNMEZ

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

Supervisor : Prof. Dr. Şermin GÜL

Year : 2011, Pages: 75

Jury : Prof. Dr. Şermin GÜL

: Prof.Dr.Sultan GİRAY

: Assoc.Prof.Dr.Ayşe EVEREST

In this study *Euphorbia macroclada* Boiss. and *Marrubium vulgare* L. grown in counties of Mersin were extracted by Subcritical water extraction and conventional extraction methods which are Hydrodestilation, Soxhlet extraction and Ultrasonic extraction. After extraction procedures, components of extracts were determined on the base of extraction yields.

When the methods were compared, it was found that the yield of soxhlet extraction is beter than USE. The obtained components and yiels are depend on the methods.

Key words: Hydrodistillation, Subcritical Water Extraction, Soxhlet Extraction, Ultrasonic Extraction, 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

Tez çalışmalarım için sağladığı imkanlardan ve verdiği çok kıymetli bilgilerden dolayı 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;

Çalışmalarım boyunca yardımını esirgemediği için Dr. Murat TÜRK'e
Uzman Serkan KARACAN'a

Çalışma arkadaşlarım; Orkide EREN, Kemal CELLAT, Nilgün KÜÇET ve Fatma MIDİK'a

Deneylerim boyunca verdiği destek ve yardımlarından dolayı Fikret ÖTÜNÇ'e

Yardımları için bölüm arkadaşlarım Bahar MERYEMOĞLU, Selma YILMAZ, Beyza BEYHAN, Nurten ŞAHAN ve Sibel KURT'a

Laboratuar 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.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
SİMGELER VE KISALTMALAR	XII
1. GİRİŞ	1
1.2. Uçucu Yağlar	3
1.2.1. Uçucu Yağların Özellikleri.....	4
1.2.2. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi.....	5
1.2.3. Uçucu Yağların Sınıflandırılması.....	7
1.2.3.1. Kimyasal Bileşimlerine Göre	7
1.2.3.1.(1) Monoterpenler	7
1.2.3.1.(2) Seskiterpenler.....	8
1.2.3.1.(3) Diterpenler ve Triterpenler	8
1.2.3.2. Aromatik Özelliklerine Göre.....	9
1.2.3.3. Farmakolojik ve Terapik Etkilerine Göre	9
1.3. <i>Euphorbia macroclada</i> Boiss. (Sütleşen)	10
1.4. <i>Marrubium vulgare</i> L. (Bozot).....	10
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	11
2.1. <i>Euphorbia macroclada</i> Boiss. ile İlgili çalışmalar	11
2.2. <i>Marrubium vulgare</i> L. ile İlgili Çalışmalar.....	14
2.3. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri	18
2.3.1. Destilasyon	19
2.3.1.1. Su Destilasyonu (Hydro Distillation-HD)	20
2.3.1.2. Buhar Destilasyonu (Steam Distillation)	21
2.3.1.3. Vakum Destilasyonu (Vacuum Distillation-VD).....	22
2.3.1.4. Hidrodifüzyon	22

2.4. Ekstraksiyon Teknikleri	23
2.4.1. Sokslet Ekstraksiyonu	23
2.4.2. Ultrasonik Ekstraksiyon	25
2.4.3. Mikrodalga Ekstraksiyonu.....	26
2.4.4. Maserasyon	28
2.4.5. Enfloraj	28
2.4.6. Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu (BSE).....	28
2.4.7. Sub Kritik Su Ekstraksiyonu (SbKSE).....	30
2.4.8. Süperkritik Sıvı Ekstraksiyonu (Supercritical fluid extraction-SFE)....	32
2.5. Diğer Bitkilerin Ekstraksiyonları ile İlgili Çalışmalar	34
3. MATERYAL VE METOD	37
3.1. Materyal	37
3.1.1. Kullanılan Bitkiler.....	37
3.1.2. Kimyasallar	31
3.1.3. Cihazlar	31
3.2. Metod	38
3.2.1. Su Buharı Destilasyonu	38
3.2.2. Subkritik Su Ekstraksiyonu	38
3.2.3. Ultrasonik Banyoda Organik Çözücü ile Ekstraksiyon.....	39
3.2.4. Sokslet Ekstraksiyonu	40
3.2.5. GC-MS Analizi.....	40
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	41
4.1. Ekstraksiyon Verimi	41
4.2. GC-MS Sonuçları	43
4.2.1. <i>Euphorbia macroclada</i> Boiss'in GC-MS Sonuçları	43
4.2.2. <i>Marrubium vulgare</i> L.'nin GC-MS Sonuçları	51
4.2.2. Anabileşenlerle ilgili Araştırmalar	59
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	61
5.1. Sonuçlar.....	61
5.2. Öneriler	64

KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ	75

ÇİZELGELER DİZİNİ

SAYFA

Çizelge 1.1. Gazların, sıvıların ve Süperkritik akışkanların fiziksel özelliklerinin karşılaştırılması (Sarker ve ark., 2006).....	33
Çizelge 1.2. Süperkritik sıvı CO ₂ 'de çözünebilen madde grupları (Moyler,1993)...	34
Çizelge 4.1 Farklı sıcaklıklarda elde edilen subkritik su ekstraktlarından diklorometan ile alınabilen organik bileşenlerin verimleri.....	42
Çizelge 4.2. USE ve SoxE yöntemleri ile elde edilen ekstraktların verimleri	42
Çizelge 4.3. <i>Euphorbia macroclada</i> Boiss uçucu yağ GC-MS sonuçları.....	45
Çizelge 4.4. <i>Marubium vulgare</i> L. ekstraktlarının GC-MS krpmatogramı	54

.

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil.1.1 Uçucu yağlar içerisinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları.....	6
Şekil 2.1. Basit destilasyon düzeneği	19
Şekil 2.2. Su Destilasyonunda kullanılan ClevengerAleti.....	20
Şekil 2.3. Sabinanhidratasetat'ta meydana gelen termal degradasyonu üçlü diyagram.....	21
Şekil 2.4. Su buharı destilasyonu düzeneği.....	21
Şekil 2.5. Vakum destilasyonu düzeneği	22
Şekil 2.6. Sokslet düzeneği	24
Şekil 2.7. BSE cihazının kısımları.....	30
Şekil 2.8. Su için üçlü diyagram.....	33
Şekil 3.1. Subkritik akışkan ekstraksiyon sistemi.....	39
Şekil 4.1. <i>E. macroclada</i> B.'nin farklı sıcaklıklardaki SbKSE GC-MS kromatogramları.	43
Şekil 4.2. <i>Euphorbia macroclada</i> B. nin HD, SbKSE, SoxE ve USE yöntemleriyle elde edilen organik bileşenlerin GC-MS kromatogramları.	44
Şekil 4.3. <i>Marrubium vulgare</i> L.'nin sbkSE (100°C, 125°C ve 150°C) GC-MS kromatogramı.....	49
Şekil 4.4. <i>Maribium vulgare</i> L. bitkisinin HD, SbKSE, SoxE ve USE yöntemleriyle elde edilen organik bileşenlerin GC-MS kromatogramları.....	50

SİMGELER VE KISALTMALAR

HD	: Hidrodestilasyon
SbKSE	: Subkritik Su Ekstraksiyonu
USE	: Ultrasonik Banyo Ekstraksiyonu
SoxE	: Sokslet Ekstraksiyonu
GC	: Gaz Kromatografisi
GC–MS	: Gaz Kromatografisi ve Kütle Kromatografisi
HPLC	: Yüksek Performans Sıvı Kromatografi (High Performance Liquid Chromatography)
RT	: Alıkonma Zamanı (Retention Time)
BSE	: Basıncılı Solvent Ekstraksiyonu
SFE	: Süper Kritik Sıvı Ekstraksiyonu (Supercritical Fluid Extraction)
SPME	: Katı-Faz Mikroekstraksiyon (Solid Phase Microextraction)
SDE	: Çok Yönlü ekstraksiyon Yöntemleri (Simultaneous destilasyon ekstraksiyon)
mg	:Miligram
ml	: Mililitre
g	: Gram
w/w	: ağırlık/ağırlık
v/v	: hacim/hacim

1. GİRİŞ

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler yıllardan beri halk arasında çay, baharat ve tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır. Ülkemizde bitkisel zenginlik; üç fitocoğrafik bölgenin kesiştiği bölgede bulunması, Güney Avrupa ile Güneybatı Asya floraları arasında köprü olması, pek çok cins ve seksiyonun orjin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu, muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşu gelmektedir (Tan, 1992). Yurdumuzda 9000'e yakın farklı doğal bitki türü bulunmaktadır ve bunların %30'u endemiktir. Buna rağmen bu bitki zenginliğinden yeterince faydalanılamamaktadır (İlçim ve ark., 1998).

Türkiye coğrafi konumu itibarı ile zengin bir bitki örtüsüne sahiptir. Akdeniz, Asya, Avrupa gibi üç farklı coğrafik 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).

Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır (Vonderbank, 1949; Dığrak ve ark., 1999). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994).

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 morfindir¹. Bunu 1820'de kınakının 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).

Katalonya'lı Arnold de Villanove (1235-1311) bitkilerden aromatik yağlar elde edilmesini tasvir eden ilk Avrupalı olmuş, yapıtı 200 yıl sonra da (1505) Venedik'te Opera Omnica adıyla anılmıştır. İsviçreli tıp reformisti Bombastus Paracelsus (1493-1541), eterik yağların (Essential oils) isim babası olmuş ve kozmetiğin temellerini atmıştır. Her bitkinin karakteristik kokusunu veren eterik yağların organik bileşenlerinin tamamının uçucu olduğunu bulmuşlardır. Bu nedenle bu yağlara uçucu yağlar da (Volatile oils) denilmektedir (Acar, 1987).

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 dışsatım yapan 12 ülke (Çin, Hindistan, ABD, Almanya, Meksika, Mısır,

Şili, Bulgaristan, Singapur, Fas, Pakistan, Türkiye) tarafından karşılanmıştır. Aynı kaynaklara göre, Türkiye dışsatım 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 dışsatım 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).

1.2 Uçucu Yağlar

Bitkisel droglardan elde edilen sıvı ve kolayca buharlaşabilen, karakteristik kokulu, aromatik, keskin veya acı lezzetli karışımlardır. Bitkide en çok salgı tüylerinde, iç dokulardaki uçucu yağ hücrelerinde ve salgı ceplerinde bulunur. Bitkinin yaprak, çiçek, meyve, kök, rizom ve odununda çok, sap ve kabuklarında ise nadiren bulunur. Bazen bitkinin bütün dokularında veya belirli bir kısmında (gül çiçeğinde, tarçın ağacının yaprak ve kabuğunda, nane sapı ve yaprak) yer alabilir.

1.2.1. Uçucu Yağların Özellikleri:

- 1) Uçucu yağlar oda sıcaklığında genellikle sıvıdır. Kağıda damlatıldığında bıraktığı leke, sabit yağlarda olduğu gibi kalıcı değildir, zamanla kaybolur.
- 2) Uçucu yağ distile edildiğinde çoğunlukla renksizdir
- 3) Uzun süre depolama, ışık ve oksijen etkisiyle uçucu yağlar reçineleşmektedir.
- 4) Spesifik ağırlığı 0.84 ile 1.18 arasında değişir, çoğu sudan hafiftir.
- 5) Uçucu yağların kaynama noktaları yüksektir (150-300°C)
- 6) Petrol eteri, kloroform, benzen ve sabit yağlar gibi lipofilik çözücülerde kolayca çözünür, suda çözünürlüğü ise azdır (1:200 veya daha az).

7) Uçucu yağların keskin kokusu ve tadı vardır.

8) Uçucu yağlar optikçe aktiftir. Spesifik kırılma derecesi farklı zamanlarda aynı bitkiden elde edilen uçucu yağlarda bile değişiklik gösterebilir. Zaten uçucu yağların bileşimi oran olarak değişebilmektedir ki bu da uçucu yağı ayırt etmeye yarayan önemli özelliklerden biridir. Uçucu yağların uyarıcı (irritan), deri tahrişi (rubefiyen), deride sulu şişkinliklere yol açan (vesikan), salgı artırıcı (ekspektoran), öksürük kesici (antitussif), idrar söktürücü (diüretik), adet sökümünü kolaylaştırıcı (emenagog), gaz giderici (karminatif), midevi (stomaşik), karaciğer uyarıcı (kolekinetik), karaciğer salgısını arttırıcı (koleretik), solucan düşürücü (antihelmentik), ağrı kesici (antienflamatuvar), mikrop üremesini önleyici (antiseptik), bakteri öldürücü (antibiyotik) ve gevşetici (sedatif) etkileri vardır.(Yaşar, 2005)

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

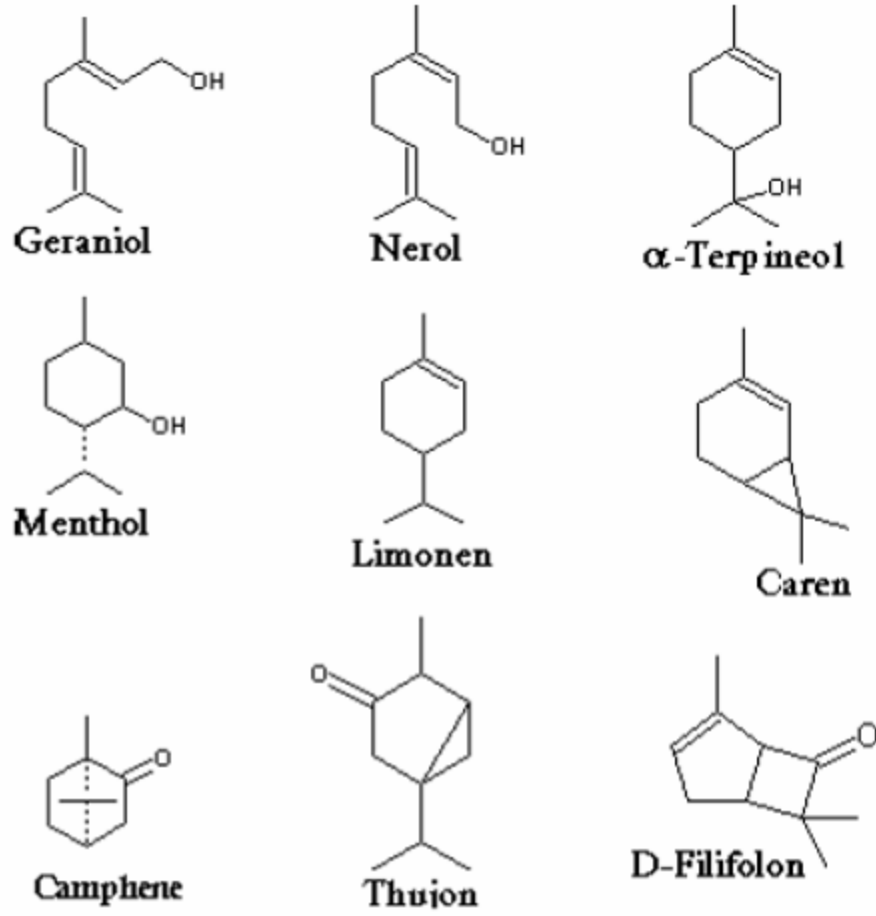
ülkeler arasında gelişmekte olanların yanında gelişmiş ülkeler de bulunmaktadır. Bu durum uçucu yağ bitkilerinin üretiminin gelişmiş ülkelerde karlı olması nedeni ile yapıldığını göstermektedir. Ayrıca fazla bir yatırıma gerek duymadan uçucu yağın elde edilebileceği, uçucu yağın gelişmiş ülkeler yanında 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).

1.2.2 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, aldehitler, 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 zamlarla (oleogummirezin) birlikte bulunabilirler (Başer ve ark., 2005; Başer, 2006; Guenther, 1948).



Şekil 1.1. Uçucu yağlar içerisinde bulunan bazı bileşiklerin kimyasal yapıları

1.2.3 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).

1.2.3.1 Kimyasal Bileşimlerine Göre

Kimyasal bileşimleri yönünden değişik drogların uçucu yağları çok farklılıklar gösterir. Uçucu yağlardaki çeşitli bileşikler 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.

1.2.3.1.(1) Monoterpenler (C₁₀)

Monoterpenler iki izopren ünitesinden oluşan C₁₀H₁₆ 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. Etkin 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. Etkin maddesi monosiklik monoterpen türevi olanlara örnek olarak nane, kimyon, okaliptüs, defne gibi bitkilerden elde edilen terpinen, mentol, menton, kuminal gösterilebilir.

c. Etkin 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.

1.2.3.1.(2) Seskiterpenler (C₁₅)

Seskiterpenler üç izopren ünitesinden oluşan C₁₅H₂₄ 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).

1.2.3.1.(3) Diterpenler (C₂₀) ve Triterpenler (C₃₀)

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.

1.2.3.2 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.

1.2.3.3 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 bulundukları bitkilere göre aşağıdaki gibi sınıflandırılmıştır:

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

1.3 *Euphorbia macroclada* Boiss. (Sütlegén)

Euphorbia macroclada BOISS (Sütlegen), bir, iki veya çok yıllık, sütlü, otsu veya çalimsı bitkilerdir. Bir yıllık bazı türler Doğu Anadolu bölgesinde sebze olarak kullanılır. Sütü tansiyon düşürücü olarak ve siğil, deri yaralarında kullanılır (Ereçevit, 2007).

Vücuttaki siğillerin üzerine damlatılarak siğillerin erimesi sağlanır. Yine haricen romatizmalı hastaların ağrıyan yerlerine sürülerek ağrı giderici olarak kullanılır (Çakılcıoğlu, 2007).

1.4. *Marrubium vulgare* L. (Boz ot)

Dik duran, çok yıllık olan bu otsu bitkinin gövdesi 20-60cm. boyunda, sık olarak tüylüdür. Alt kısmı beyazımsı, üst kısmı grimsi renklidir. Yapraklar saplı, yumurta yuvarlak şekildedir. Yapraklar kaba olarak çift sıralı dilimli dişli, her iki yüzü de yıldız tüylerle kaplıdır. Braktecikler mevcuttur. Çanak tüpü sık olarak yıldız tüylerle kaplıdır. Taç, beyaz veya krem renkli olup, dış tarafı sık olarak yıldız tüylüdür. Nuks grimsi-kahverengindedir. (Doğanoğlu, 2004).

Çiçekli dallar, idrar arttırıcı, gaz söktürücü ve göğüs yumuşatıcı olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984). Ayrıca baharat olarak da kullanılmaktadır (Baytop, 1987).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. *Euphorbia macroclada* Boiss. (Sütleg en) ile İlgili  alışmalar

Aburjai ve ark., (2001), 19 Ürdün bitkisinin metanolik ekstraktlarını 7 farklı antibiyotikle kombine etmişlerdir ve kombinasyonların *Pseudomonas aeruginosa*'nın direnci üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Bir hastadan izole edilen *Ps. Aeruginos*'nın direnç gösteren bir türünü ve aynı mikroorganizmanın bir standart türünü bu çalışmada kullanmışlardır. Direnç gösteren ve standart türler üzerinde kullanılan bazı kombinasyonların oldukça dikkate değer sonuçlar verdiğini ve bu sonuçların da yapısal farklılıklarından ileri geldiğini tahmin etmişlerdir. Penisilin G. ve eritromisin ile kombine edilen bitki materyallerinin neredeyse hepsinin standart türlerin tamamen büyümesine olanak sağlarken, *Gundelia tournefortii* L. ve *Lepidium sativum* L. gibi kombine edilen bazı bitki materyallerinin dirençli türün gelişimini engellediğini belirtmişlerdir. Kloramfenikol, gentamisin ve sefalosporin birkaç istisna dışında nerdeyse bütün bitki materyalleriyle faydalı olarak dirençli tür üzerine verilebilmektedir. Nalidiksik asitin aktivitesi bütün bitki materyalleri ile kombine edildiğinde ve standart tür üzerinde test edildiğinde dikkate değer olarak gelişim gösterdiğini belirtmişlerdir. Diğer taraftan onun aktivitesi direnç gösteren tür üzerinde az oranda gelişim göstermiştir. Kombinasyonların etkisi dirençli türler ile kıyaslandığında en çok standart türler üzerinde gelişim göstermiştir. *Euphorbia macroclada* L.'nin Penisilin G ile kombinasyonu her iki türde de diğer bitkilerden farklı olarak full-gelişim göstermiştir. Bu işlemler sırasında *Euphorbia macroclada*'nın sütü hem direk olarak hem de ekstraktı ayrı olarak incelenmiştir.

 zcan ve  zcan, (2004), Afyon bölgesinde yetişen *Euphorbia macroclada* ile çalışmışlardır. Superkritik karbondioksit ekstraksiyonu ve metilen kloride ile sokslet ekstraksiyonu uygulamışlar, elde ettikleri ekstraktları silika-jel kolonda n-pentan ile ayırmışlar ve elde ettikleri hidrokarbonların miktarını GC ile kalitatif olarak belirlemişler ve kıyaslamışlardır. En yüksek hidrokarbon veriminin Sokslete(%1.1) oranla SFE(%5.8) ile elde edildiğini belirtmişlerdir. Aynı zamanda SFE methodunun Sokslet ekstraksiyonu methoduna göre daha iyi hassasiyet gösterdiğini(6.0'a 18.6)

bildirmişlerdir. Gaz kromatografi analizini(GC) bitki materyalinden kantitatif olarak hidrokarbonları belirlemek için uygulamışlardır. Max C20-C31 aralığında olan ve minimum C13-C20 aralığında olan hidrokarbonlar elde edilmiştir

Jassbi, (2006), Çoğunlukla İran'ın yarı çöl bölgelerinde ve Tahran'ın kuzeyindeki Alborz Dağlarında yetişen bazı *Euphorbia* türlerinin kimyasal yapısında kemotaksomik olarak önemli olan myrsinane diterpenler ve sikloartane triterpenlerin bulunduğunu belirlemişlerdir. İran'ın kuzeybatısındaki Azarbaijan sahasından topladığı bitkilerin çoğunlukla deri tahriş edici ingenol esterleri türevi içerdiğini belirtmiştir. İnceledikleri *Euphorbia* türleri; *E. Larica*, *E. Virgata*, *E. Magalanta*, *E. petiolata* *E. Chamaesyce*, *E. falcata* L., *E lanata*, *E. Tinctoria* ve *E. myrsinites* dir. Myrsinane karbon iskeletli bazı diterpenoidlerin, alfa-glikosidaz, üreaz, HIV-1 ters-transkriptaz ve prolyl endopeptidaz gibi enzimleri inhibe ettiğini belirtmiştir. Bunların aynı zamanda ağrıkesici ve DNA tahrip edici etki de göstermektedir. Mevcut yeni görüş farklı İran *Euphorbia* türlerinden izole edilen pek çok bileşiğin kimyasını ve biyolojik aktivitesini tanımlamaktadır: myrsinane iskeletli diterpenoidler, flavonoidler, taninler, alkanlar, steroller, mono-, seski- ve triterpenoidler, deri-tahriş edici ve tümör destekleyici bitki sütleri ve onların aktif ingenol diterpenoidleridir. b-amirin, b-amirin asetat (Ahmad et al., 2002a), sikloökalenol, obtusifoliol, 24-metilensikloartan-3b-ol, and b-sitosterol (Jassbi, 2000).Metanol ekstraktından triterpenoid olan betulin, eritrodiol, ve oleanolik asiti saflaştırmışlardır l (Jassbi, 2000). b-Sitosterol glukosite polar fraksiyonlardan izole etmişlerdir.

Barla ve ark., (2007), *Euphorbia acanthothamnus*, *E. Macroclada* ve *E. Rigida* türleri üzerinde çalışmışlardır. *Euphorbia acanthothamnus*'u Bodrum-Muğla bölgesinden, *E. Macroclada*'u Malatya bölgesinden ve *E. Rigida*'yı Eceabat-Çanakkale bölgesinden toplamışlardır. Petrol eteri, aseton ve etanol ile ekstraksiyon yapmışlardır. Ekstraktların toplam fenol içerik tayini için Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR), toplam flavonoid içeriği tayini için ise Al(NO₃)₃ methodunu kullanmışlardır. Antioksidant aktivitesi için β -carotene beyazlatma methodu , serbest radikal giderme aktivitesi 1,1-difenil-2-picril-hidrazil (DPPH) analizi ile demir metal şelatlama aktivitesi ferrozine-Fe⁺² kompleksine dayanarak test yapmışlardır. *E. acanthothamnus*'un etanol ekstraktını bütün testlerde en aktif ekstrakt olarak

bulmuşlar. *E. acanthothamnus*'un bütün ekstraktlarının fenolik içerik yönünden diğerlerinden daha yüksek sonuç verdiğini belirtmişlerdir. *E. Macroclada*'nın aseton ekstraktının ise en yüksek flavonoid içeriği gösterdiğini ayrıyeten belirtmişlerdir.

Ercevit, (2007), Ülkemizde dogal olarak yetisen ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan *Rhus coriaria* L., *Pistacia terebinthus* L. sub. sp. *palestina*, *Centaurea virgata* Lav., *Euphorbia macroclada* Boiss., *Ceterach officinarum* DC., *Echinophora tenuifolia* L. *sibthorpianal* (Guss) Tutin, *Equisetum romasissimum* Desf., *Umbilicus erectus* DC. gibi sekiz bitki türünün, kloroform ekstraktlarını hazırlamış disk difüzyon metoduna göre; *Staphylococcus aureus* COWAN 1, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Klebsiella pneumoniae* FMC 66032, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida albicans* FMC 17, *Candida globrata* ATCC 66032, *Candida tropicalis* ATCC 13803, *Trichophyton* sp., ve *Epidermophyton* sp. üzerinde antimikrobiyal etkilerini test etmiştir. Ekstraktların minimum inhibisyonu konsantrasyonunu mikrodilasyon yöntemine göre belirlemiştir. Çalışmalar sonucunda, kloroform ile hazırlanan *Rhus coriaria* L., *Pistacia terebinthus* L. sub. sp. *palestina*, ve *Centaurea virgata* Lav. bitki ekstraktlarının bakterilerin, mayaların ve dermofitlerin gelişmelerini degisen oranlarda engelledigi, fakat *Euphorbia macroclada* Boiss., *Ceterach officinarum* DC., *Echinophora tenuifolia* L. *sibthorpianal* (Guss) Tutin, *Equisetum romasisimum* Desf., *Umbilicus erectus* DC. bitkilerinin; bazılarında etkili olduğunu, bazılarında ise etkili olmadığını tespit etmiştir.

Sadeghi-Aliabadi ve ark., (2009), farklı *Euphorbia* (Euphorbiaceae) türlerinin antitümör aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Bazı raporlar da göstermiştir ki bu bitkiler hücre hatlarına karşı sitotoksik etki potensiyeli göstermiştir. Bu çalışmada diklometan, etilasetat ve metanol maserasyon ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktlar ile bitki sütü MDA-MB-468 hücre hattına karşı incelemiştir. Diklorometan ve etilasetat ekstraktlarının hücre hattına karşı sitotoksik etki göstermediğini, methanol ekstraktının ve bitkinin sütünün test konsantrasyonuna karşı sitotoksik etki göstermediğini belirtmişlerdir. Çalışmada *E. Macroclada* posasının nonpolar ekstraktının yüksek sitotoksik aktivite gösterdiğini de bildirmişlerdir.

Shokoohinia ve ark., (2010), İran bölgesinde endemik bir bitki olan sütleğen türü *Euphorbia macrocla* B.'nin toprak üstü kısımlarından diterpenoidce zengin fraksiyonu basit EtOAc ekstraksiyonu ile elde etmişler, HPLC'de saflaştırılmışlar 1 bilinen, 8 yeni diterpenoid polyester elde etmişlerdir. Bu 8 yeni tür içinde, 4 tane pre-myrsinane sınıfına ait, 3 α -phorbol sınıfına ait ve 1 tanede doğal diterpenoidler grupları içinde daha önce görülmemiş bir tür bulunmuştur. Bileşiklerin tanımlamasını kütle ve NMR spektroskopisi ile yapmışlardır.

2.2. *Marrubium vulgare* L.(Boz ot) ile İlgili Çalışmalar

Sahpaz ve ark., (2002), Fransa'dan 1999 yılında Angers çevresinden topladıkları *Marrubium vulgare*'den en büyük fenilpropanoidesterleri olan(+) (E)-caffeoyl-L-malikasit 1, akteosid 2, forsithosid B 3, arenariosid 4, ballotetrosid bileşenlerini izole etmiş, tanımlamış ve ayrıca iltihap sökücü aktivitelerini ilk kez araştırmışlardır. Prostaglandin biyosentez aktivitesini katalizleyen siklooksigenaz (Cox) üzerinde bu beş bileşiğin inhibitör etkisini araştırmışlardır. Sadece glikozidik fenilpropanoid esterlerin Cox-2 enzimine karşı inhibitör aktivitesi gösterdiğini ve bunlardan üçünün acteoside, forsythoside B, arenarioside olduğunu ve Cox-2 enziminin Cox- enziminden daha yüksek inhibitör etkisi gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu sonuçlar, Cox-2 ağırlıklı olarak inflamasyon ile ilgili ve genellikle non-steroidal anti-inflamatuar ilaçlarda gözlenen yan etkileri Cox-1 inhibisyonu ile ilişkili olarak ilgi çekicidir. Bu fenilpropanoid esterlerin oluşumu ayrıca *M. vulgare*'nin diğer bazı farmakolojik özelliklerini açıklayabilecektir.

Khanavi ve ark., (2005), *Marrubium parviflorum* Fisch. & C. A. Mey. ve *Marrubium vulgare* L. (family Lamiaceae) bitkilerinin toprak üstü kısımlarından uçucu yağ bileşenlerini hidrodestilasyon ile elde etmişler, GC ve GC-MS ile incelenmişlerdir. *M. parviflorum* için %96,8'lik toplam yağının temsilen 51 bileşiğinin ve *M. vulgare* için %95,1'lik toplam yağının temsilen 34 bileşiğinin olduğunu belirlemişlerdir. Her iki uçucu yağda da yüksek oranda seskiterpenler %77,8 ve %82,5 ile beraber *M. parviflorum*'un ana bileşenleri bisiklogermacrene (26,3%), germacrene D (21,5%) ve β -karyofilin (15,6%) ve *M. vulgare*'nin ana

bileşenleri β -bisabolen (25,4%), β -karyofilin (11,6%), germacrene D (9,7%) ve E- β -farnesen (8,3%) olarak belirlemişlerdir. Bitki materyalini 2001 senesinde İran-Dashte Naz bölgesinden toplamışlardır. Toplam uçucu yağ miktarını *M. parviflorum* için 0,08%(w/w) ve *Marrubium vulgare* için 0,09%(w/w) olarak belirtmişlerdir.

Matkowski ve Piotrowska (2006), Avrupa’da doğal olarak yetişen 6 *Lamiaceae* türlerinden elde ettikleri metanollü ekstraktların antioksidatif etkilerini in vitro olarak üç yöntemle incelemişlerdir. Araştırmacılar, test edilen bitkilerin en güçlü antioksidan etkiye sahip olanından zayıf olana doğru *Leonurus cardiaca*, *Lamium album*, *Marrubium vulgare*, *Stachys officinalis*, *Lamium purpureum*, *Galeopsis speciosa* olarak sıralamışlardır. Lipid peroksidasyonu denemelerinde maksimum inhibisyon *S. officinalis* ve *M. vulgare* ile % 78’e ulaşırken, *Lamium sp.* ve *L. cardiacas* ile %70’in çok az üstünde olduğu *G. speciosa*’nın ise % 65’e ulaştığını bildirmişlerdir.

Piccoli ve Bottini, (2008), *Marrubium vulgare* bitkisinin gelişimi boyunca yapraklarının diterpen Marrubiin içeriğini GC-FID ile değerlendirmişlerdir. Maksimum birikimin, çiçeklenmeden hemen önce ve tamamen genişlemiş yaprakta oluştuğunu belirtmişlerdir. Bitkileri radyoaktif olarak etiketlenmiş olan [3H]-geranil geranil difosfat ile beslendikten sonra, radyo aktivitenin 70%’den fazlasına HPLC-Rt’de aynı zamanda GC-MS ile karakterize edilen gerçek Marrubiin ile raslantısal elde etmişlerdir, bu da doğrulamaktadır ki Marrubiinin biosentezi 1-deoksi-D-ksilüloz-5-fosfat yoluyla sürmektedir. En büyük radyoaktivite birikiminin, glandüler trikom hücrelerinde oluştuğunu ve ürün boyunca sabit kaldığını belirtmişlerdir.

Bluma ve ark., (2008), 41 sebze türünün etanolik ve sulu ekstraktları ile esansiyel yağlarının *Aspergillus Flavi*’nin büyümesi üzerindeki etkilerini değerlendirmişlerdir. İzlemelerini iki basamaklı bir proseste gerçekleştirmişlerdir. Geniş spektrumda tanımlanan gelecek vaad eden antifungal bitki ekstraktlarını ilk kez gerçekleştirmişlerdir. Bundan sonra, tanımlanan ekstraktları laboratuarda daha ayrıntılı olarak incelemişlerdir. Toplamda 96 bitki ekstraktını taramışlardır. Çalışmalarında uçucu yağların, aflotoksik yapıların kontrolünde en etkili ekstratlar olduklarını bulmuşlardır. Yağların antifungal etkisini araştırmak için Karanfil, dağ kekiği, poleo ve okaliptüs uçucu yağlarını seçmişlerdir. Çimlenme yüzdesi, germ tüp

uzama oranı, büyüme oranı ve aflatoksin B1 birikimi ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Karanfil, dağ kekiği ve poleo esansiyel yağlarının, aflatoksin B1 birikiminin yanı sıra tüm büyüme parametreleri altında en çok antifungal etki gösterdiklerini belirtmişlerdir. Bu çalışmayla elde ettikleri sonuçları dağ kekiği, Arjantin doğal bitki türü olan poleo ve karanfilin uçucu yağlarının depolanan mısırdaki aflotoksijenik mantar varlığını kontrol etmek için tek başlarına veya diğer maddelerle birlikte kullanılabileceğini göstermişlerdir.

González ve Marioli, (2010), 10 tane bitki türünün hidrodestilasyondan arta kalan bitkinin özü olarak isimlendirilen bitkisel su ekstraktları, demleme yöntemiyle elde edilen bitkilerin su ekstraktları ve uçucu yağlarını elde etmişler bu ekstraktları Amerikan yavru çürüklüğüne neden olan, *Paenibacillus* larvalarının büyümelerine engel olan ajanların üzerinde test etmişlerdir. Bitki türleri, Arjantin-Cordo bölgesinden toplanmış olan *Achyrocline satureioides*, *Chenopodium ambrosioides*, *Eucalyptus cinerea*, *Gnaphalium gaudichaudianum*, *Lippia turbinata*, *Marrubium vulgare*, *Minthostachys verticillata*, *Origanum vulgare*, *Tagetes minuta* ve *Thymus vulgaris*dir. Hidrodestilasyondan sonra arta kalan suyun yüksek antibakteriyal aktivite gösterdiğini, *P. larvae* türünün neredeyse tamamının büyümesinin bu ekstraktlar ile inhibe edildiğini belirtmişlerdir. Test edilen bitkiler ile ilgili olarak, *E.cinerea* ve *M.Verticillata*'nın, % 100 etkinlikleri ile en yüksek biyolojik aktiviteye sahip bitki türleri olduğunu, bu iki bitkinin tüm ekstraktlarının tüm *P. larvae* türlerinin büyümesini inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Uçucu yağların, *P.larvae*'nin büyümesinin engellenmesinde daha aktif olduğunu belirtmişlerdir. *Marrubium vulgare*'nin demleme yöntemiyle elde edilen su ekstraktı ve clevenger aparatıyla yapılan ekstraksiyonun kalan su ekstraktının bütün larvalar üzerinde inhibe etme özelliği gösterdiği belirtilmiş, uçucu yağının inhibe etme özelliğini test etmemişlerdir.

Ahmed ve ark., (2010), *Marrubium vulgare* L. marrubic asit olarak tanımlanan p-mentan-5,6-dihidroksi-3-karboksilik asit olarak karakterize edilmiş olan yeni bir terpenoik asit içermektedir. Çalışmalarında bunun spektral yapısını kimyasal analize dayanarak açıklığa kavuşturmuşlardır. Bileşiğin aynı zamanda serum glutamat oksaloasetat transaminaz (SGOT) %40.16, serum glutamat piruvat

okzaloasetat transaminaz (SGPT) %35.06 ve alkalen fosfataz (ALP) %30,51 gibi yükseltilmiş serum enzimlerini indirgemedi kaydadeğer bir antihepatotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Diğer taraftan SGOT'u %53.04, SGPT'yi %55.96, ALP'yi %35,87, Toplam Protein seviyesi (TP)'ni %59.59 oranında azaltan standart ilaç silmarin ile kıyaslayıp, TP'yi %34.7 oranında azalttığını belirtmişlerdir.. Bu biyokimyasal gözlemi karaciğerin histopatojik incelemesiyle tamamlamışlardır. Bitki örneklerini Hindistan –Aharbal-Srinagar bölgelerinden toplamışlardır

Orhan ve ark., (2010), Mevcut çalışmalarında *Artemisia absinthium*, *A. Herba-alba*, *A. Fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum* ve *Origanum vulgare*'nin aseton ve ethanol ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri ile kolinesteraz inhibitör etkilerini incelemişlerdir. Kolinesteraz inhibisyonu asetilkolinesteraz (AChE) ve butirilkolinesteraz (BChE) 'ye karşı 25, 50 ve 100µg/mL'de ELISA mikropilaka okuyucu kullanılarak belirlenmiştir. Antioksidan aktivite 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) radikal süpürücü aktivite, demir iyon-şelatlama kapasitesi ve demir-indirgeme antioksidant gücünü (FRAP) testi 250, 500 ve 1000µg/mL de değerlendirmişlerdir. Ekstraktlar arasında AChE (76,30±0,18% 100µg/mL'de) ve BChE (83,51±1,27% 50µg/mL'de)'ye karşı en büyük inhibisyonu *M. vulgare*'nin aseton ekstraktının sağladığını bildirmişlerdir. *O. vulgare* ve var. *glandulosum*'un aseton ekstraktlarının diğer referanslara göre daha büyük FRAP gösterdiğini belirtmişlerdir. *A. absinthium* ve *A. herba-alba*'yı aynı zamanda GC-MS ile analiz etmişlerdir.

Pukalskas ve ark., (2012), Litvanya bitkileri üzerine yapılan daha önceki bir araştırmada, horehound (*Marrubium vulgare*)'yi iyi bir antioksidan aktivite gösterdiği ve bitkisel çaylar ve öksürük pastillerinde kullanıldığı için özellikle bu araştırma için seçmişlerdir. Bitkinin üst bölümlerinin bazı fraksiyonlarının, DPPH ve ABTS⁺ model serbest radikallerini temizlemede güçlü olduğunu belirtmişlerdir. β – karoten ağartma testinin ve kozala yağ oksidasyonu testindeki aktivitelerin daha düşük olduğunu açıklamışlardır. Birkaç aktif bileşiği online radikal yakalama dedeksiyonu ile HPLC kullanılarak ham metanol-su ekstraktında, butanol ve metil ter-butil eter fraksiyonlarında gözlemişlerdir. Radikal tutucu aktiviteye sahip olan bu beş bileşiğin fraksiyonlarını, çok basamaklı fraksiyonlarından sonra

saflaştırılmışlar, MS ve NMR ile yapılarını 5,6-dihidroksi-7,4'-dimetoksiflavon (ya da ladanin), 7-O- β -glukopiranosil luteolin, 7-O- β -glukuronil luteolin, verbaskosid ve forsitosid B. olarak aydınlatmışlardır. Aktivitelerini off-line DPPH ve ABTS⁺ serbest radikal yakalama testleri ile test incelemişler ve rosmarinik asit ve Trolox antioksidantları ile karşılaştırmışlardır. Deney sırasında kullanılan *Marrubium vulgare*'yi Litvanya Kaunas Botanik Parkı'ndan toplamışlar, 300C'de 48 saat boyunca hava kurutmalı bir düzenekte kuruttuktan sonra incelenmişlerdir. Çalışma sonucunda: radikal temizleme aktif bileşikleri olan 5,6-Dihidroksi-7,40-dimetoksiflavon, 7-O-b-Glukopiranosil luteolin, Verbaskosid, Forsitosid B, 7-O-b-Glukuronil luteolin, Rosmarinik asidi (referans) *Marrubium vulgare* L.'den izole etmişlerdir.

2.3. 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 işlemede 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, 1993).

2.3.1 Destilasyon

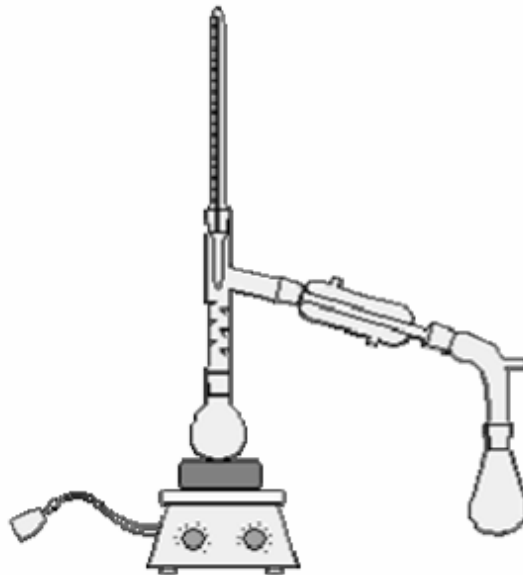
İki veya daha fazla sıvı bileşeni, kaynama noktası veya uçuculuk farkına dayanarak bir karışım içerisinde ayırma işlemine destilasyon denir. Uçuculukları arasında büyük fark bulunan bileşenleri, bir karışımın içerisinde destilasyonla ayırmak daha kolaydır (Mujtaba, 2004). Bir başka tanımlama ile destilasyonun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

Uçucu yağların çoğunun kaynama noktası suyun kaynama noktasından yüksek olmasına rağmen iki fazlı bir sıvı sisteminde kaynama derecesi, ayrı ayrı her iki sıvının kaynama derecelerinden daima daha küçük olacaktır. Böylece uçucu yağlar destilasyon yöntemiyle bozunmadan 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.

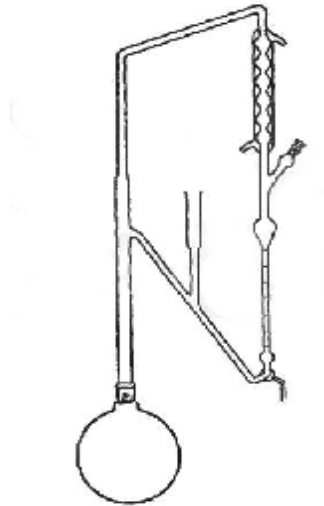
Destilasyon yöntemleri, su destilasyonu, buhar destilasyonu ve vakum destilasyonu olmak üzere 3'e ayrılmaktadır:



Şekil 2.1. Basit Destilasyon Düzenegi

2.3.1.1 Su Destilasyonu (Hydrodistillation - HD)

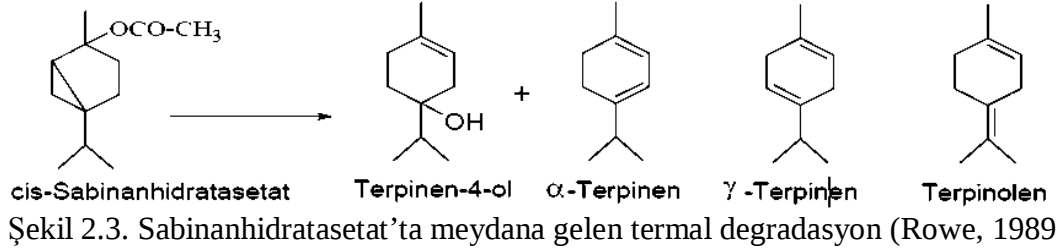
Uçucu bileşiklerin eldesin de yaygın olarak kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Su distilasyonu, kaynatıldığında bozulmayan taze ve kuru bitkisel materyale uygulanabilir. Ester içeren uçucu yağlar için uygun değildir. Yöntemin esası; soğutucu ile irtibatlandırılan bir cam balon içerisinde su ve bitki materyalinin 2-8 saat süre ile kaynatılarak, su buharı ile birlikte hareket eden yağ moleküllerinin soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasına dayanmaktadır. Su distilasyonunda bitkisel materyal her zaman su ile doğrudan temas halindedir (Tanker ve Tanker, 1985; Thapa, 1989; Wijesekera, 1993). Küçük ölçekli üretimlerde 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 (Linskens ve Jackson, 1997b).



Şekil 2.2 Su destilasyonunda kullanılan Clevenger aleti.

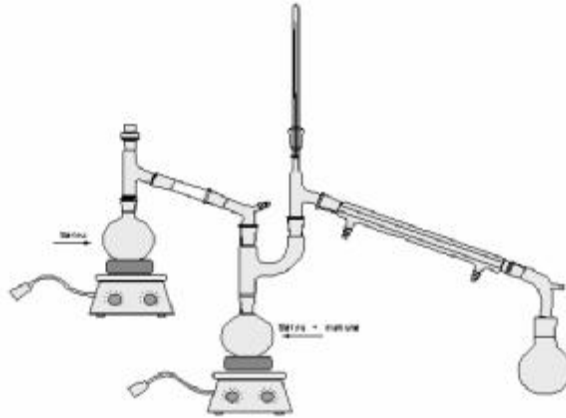
Elde edilen yağ miktarı çok olmakla birlikte suyun kaynatılması esnasında uygulanan yüksek sıcaklık, termal bazı reaksiyonlara neden olmaktadır. Bunun sonucu olarak artifak oluşumu, hidroliz ve izomerizasyon olayları meydana gelmektedir. Şekil 1’de sıcaklık etkisi ile meydana gelen ve destilasyon yöntemlerinde 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).



2.3.1.2 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.



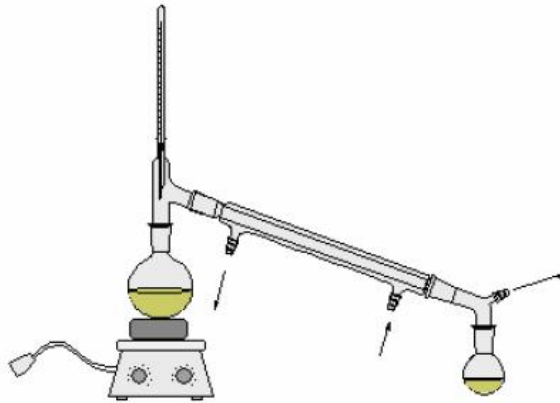
Şekil 2.4. Su buharı destilasyonu düzeneği.

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).

2.3.1.3 Vakum Destilasyonu (Vacuum Distillation-VD)

Bazı bileşiklerin kaynama noktaları oldukça yüksektir. Bu bileşikleri elde etmek amacıyla sıcaklığı artırmak yerine basıncı düşürmek daha etkilidir. Basınç bir kez bileşiğin buhar basıncının altına indirilirse, kaynama ve destilasyon işlemi başlamaktadır.



Şekil 2.5. Vakum destilasyonu düzeneği.

2.3.1.4 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).

2.4. Ekstraksiyon Teknikleri

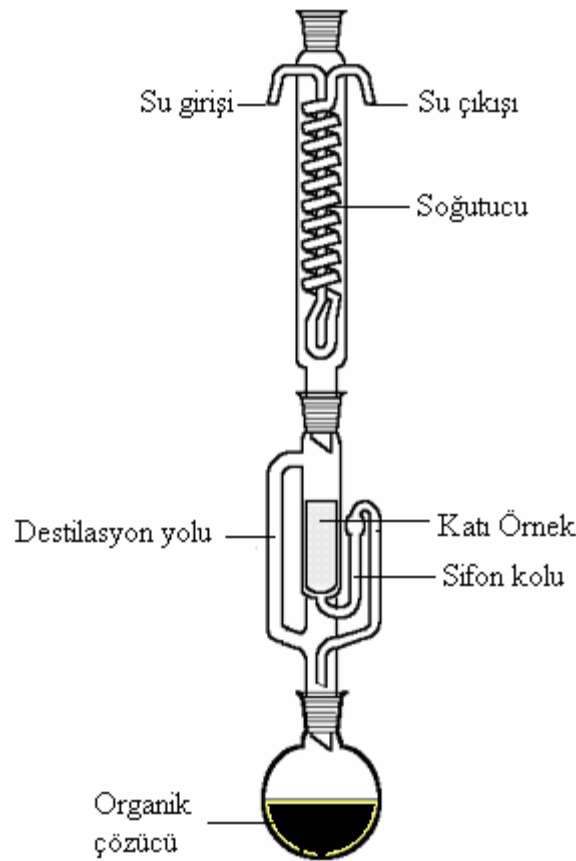
Bitkiler belirli oranlarda bioaktif bileşikler içermektedirler. Bitki ekstraktları gıda, ilaç ve kozmetik endüstrisinde geniş çapta kullanılmaktadır. Bununla bağlantılı

olarak elde edilen doğal bileşiklerin ticarileştirilmesi amacıyla ekstraksiyon metotları geniş çapta araştırılmaktadır. İdeal bir ekstraksiyon süreci hızlı, basit ve ucuz olmalıdır. Ekstrakte edilen maddeler kayıp ve bozunmaya uğramadan elde edilmeli, ilaveten bir saflaştırma gerektirmemeli ve atık çözücü içermemelidir. Genelde çözücü ekstraksiyonu bu koşulları sağlamakta yetersiz kalmaktadır. Çözücü ekstraksiyonu basit, ucuz ve kuramsal olarak yerleşmiş bir yöntemdir fakat birtakım dezavantajları bulunmaktadır. Bunların en başında yüksek ısı ve çözücü tüketimi gelmektedir. Genelde çevre, sağlık ve güvenlik açısından zararlı çözücüler kullanılır. Kullanılan ısı ve çözücüler ürün kalitesini etkiler, dolayısıyla ısıl bozunmaya uğrayan hassas maddelerin ekstraksiyonu için geleneksel çözücü ekstraksiyonu uygun bir yöntem değildir. Ayrıca ekstraksiyon işleminden elde edilen alt akım seyrektiktir. Hedef ürünün çözücünden ayrılıp derişiklendirilmesi için ek bir ayırma işlemine gerek duyulur. İşlem süresi uzun ve işletme maliyeti yüksektir. Tüm bunlardan dolayı alternatif ekstraksiyon yöntemlerine ihtiyaç duyulmuştur (Kılıç, A., 2008). Sokslet ekstraksiyonu ile birlikte bu yeni ekstraksiyon teknikleri;

2.4.1. Sokslet Ekstraksiyonu

Sokslet ekstraktörü; 1879 yılında Franz von Sokslet tarafından katı bir deney numunesinden yağ ekstrakte edilmesi amacıyla icat edilen bir laboratuvar cihazıdır. Yağ ekstrakte etmek için tasarlanmış olmasına rağmen bir bileşiği bir katıdan ekstrakte etmek zor olduğu her şartta kullanılabilir. Genellikle, kuru deney numunesi Sokslet ekstraktörüne yerleştirilen, filtre kagıdından yapılmış yüksük şeklinde bir ekstraksiyon tübüne konur.(Şekil 2.24) Ekstraktöre, çözücüye içeren şilifli bir cam balon ve yoğunlaştırıcı takılır. Çözücü ısıtılır ve böylece buharlaştırılır. Sıcak çözücü buharı yoğunlaştırıcıya ilerler, yoğunlaşarak katı numunenin üzerine düşer. Numuneyi içeren ekstraksiyon tübünün bulunduğu yüksük yoğunlaşan çözücü ile tam dolduğunda, bypass kolunun seviyesine ulaşır ve sifon oluşarak çözücü tekrar cam balona boşalır. Bu yoğunlaşma, yükselme ve sifon döngüsü, ‘reflux’ olarak adlandırılır ve sürekli tekrar edilir. Her döngü sırasında, katının içerdği bir miktar yağ çözücüde çözünür. Ama çözücünün ısıtılan cam balonuna ulaştığında orada kalır,

döngüye tekrar katılmaz. Bu durum, bu ekstraksiyon metodunun en önemli avantajıdır, sadece saf çözücü, katıyı ekstrakte etmek için buharlaşır ve yoğunlaşır, döngüye katılır. Bu nedenle, bir cam balonda katıyı çözücü içerisinde ısıtarak ekstrakte etme yöntemiyle karşılaştırıldığında Soxhlet ekstraktörü ile uygulanan bu yöntemin verimi daha yüksektir. Bir ekstraksiyonun sonunda arta kalan çözücü, ekstrakte edilen yağı bırakarak rotary buharlaştırıcısı ile uzaklaştırılabilir (<http://www.tr.wikipedia.org/soxhlet> 18 Mart 2009)



Şekil 2.6. Sokslet düzeneği

Sokslet ekstraksiyonu matriksin karekterine ve tanecik boyutuna (iç difüzyonun sınırlandırılması ile ilgili) önemli ölçüde bağlıdır. Bu ekstraksiyon tekniğinin avantajları arasında, çözücünün transfer dengesinin katı matriksle ekarlanan bir şekilde etkileşmesinden dolayı sürekli değişmesi, ekstraksiyondan sonra filtreleme işlemine gerek duyulmaması, metodun basit ve ucuz olması

gösterilebilir. Bununla birlikte ekstraksiyon zamanının çok uzun olması, çok miktarda çözücü kullanılması, prosesi hızlandırmak için balonun çalkalanamaması ve termal olarak bozulmaya duyarlı bileşiklerin yüksek sıcaklıkta ekstrakte edilememesi bu metodun dezavantajları olarak gösterilebilir. Genel olarak bakıldığında, iyi uygulanan bir metottur ve endüstriyel proseslerde daha etkili ve iyi tekrarlanabilirlik göstermesi, ekstrakta daha az manipulasyon olması diğer metotlara kıyasla üstün özellikleridir (Wang, L., 2006).

2.4.2. Ultrasonik Ekstraksiyon

Ses dalgaları, farklı ortamlar içinde yayılan ve frekansları 20 kHz üstünde olan boyuna dalgalardır. Bu dalgalar bulundukları ortama bağlı olarak (katı, sıvı ve gaz) farklı titreşimde ve hızda yayınırlar. Ses dalgası bir ortamda yayılırken; ortamın parçacıkları, dalganın hareket doğrultusu boyunca yoğunluk ve hacim değişiklikleri oluşturarak titreşirler. Bu parçacık hareketi, dalga hareketinin yönüne dik olan enine dalga hareketindeki durumun tersidir. Ses dalgaları şeklinde ortaya çıkan yer değiştirmeler, denge konumundan itibaren her bir molekülün boyuna yer değiştirmesini gerektirir. Bu sıkışma ve genişleme, yüksek ve alçak basınç düşmelerine yol açar. Bir mikrofona diyaframındaki gibi, ses dalgası kaynağı sinüsel olarak titreşirse, basınç değişimleri de sinüsel olur (Halliday, 1982; Erte, 2007).

Ses ötesi dalgaların diğer yararlı uygulaması da hala tam olarak anlaşılamayan ancak kesinlikle çok etkili olan kavitasyon işlemidir. Bu sayede etkin bir temizlik yapmak mümkündür. Şöyle ki; bir ses dalgası art arda meydana gelen sıkışma ve genişlemelerden oluşur. Bir sıvı sıkışmalara kolaylıkla dayanabilir ancak genişleme yani basıncın şiddetli bir biçimde düşmesi sıvının içinde bir boşluk meydana gelmesine neden olur. Boşluk buharla veya sıvıdaki çözünmüş gazın ortaya çıkışıyla hemen doldurularak küçük bir kabarcığa dönüşür. Bu kabarcık dağıldığında şiddetli bir şok dalgası meydana gelir ve açık etkilere yol açabilir. İsterbüyük isterse küçük olsun mühendislikte kullanılan parçalar içinden ultrasonik bir ses dalgasının geçtiği bir sıvı banyosuna batırılarak çok iyi temizlenebilir (Erte, 2007).

Ultrasonik indüklemenin mekanik etkisi olarak, kütle transferinin arttırılarak çözücülerin hücrelere etki etmesi olarak gösterilebilir. Ekstraksiyon esnasında ultrasonik (ses dalgaları) hücre duvarına etki etmekte ve bileşenlerin bırakılmasına olanak sağlamaktadır. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapılan çalışmalarda ultrasoniğin mekaniksel etkisi sonucu hücre duvarının yıkıldığı ve bundan kaynaklı olarak bileşenlerin serbest kaldığı kanıtlanmıştır. Bitkiye özgü nem oranı, tanecik büyüklüğü ve kullanılan çözücü gibi faktörler yanında, frekans, sıcaklık ve zaman gibi faktörlerde ultrasonik ekstraksiyon verimini etkilemektedir. Pahalı olmaması, basit olması, ekstraksiyon kinetiğinin hızlı olması ve ısıya duyalı bileşiklerin ekstrakte edilebilir olması bu metodun avantajları olarak belirtilebilir (Wang, 2006).

2.4.3. Mikrodalga Ekstraksiyonu

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 (Kılıç, 2008). Mikrodalga ısıtmasının avantajı moleküllerin kutuplarındaki yükseltgenen zayıf hidrojen bağlarının bozundurulmasıdır. Klasik temas yoluyla ısı iletimi yöntemlerinin aksine, mikrodalgalar ile örneğin tamamı 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 (Kılıç, 2008; Beejmohun, 2007).

Mikrodalga, çözücü ve matrikslerin dielektrik duyarlılığına bağlıdır. Yüksek dielektrik sabiti ile bağlantılı olarak nemli örneklerde daha iyi geri dönüşüm elde edilmektedir. Kuru örneğin ekstraksiyondan önce nemlendirilmesi sonucunda, matriks kendiliğinden mikrodalga ile etkileşebilmekte ve ısınma işleminin kolay olmasına olanak sağlamaktadır. Mikrodalga ekstraksiyonda çözücü ve bitki matriksleri arasındaki ilişkiden yararlanılarak ve ekstraktın çözünürlüğü göz önüne alınarak çözücü seçimi gerçekleştirilir ve sonuç itibarıyla çözücünün dielektrik sabitine bağlı olarak mikrodalga tarafından absorbe edilir. Çözücünün dielektrik sabiti ile mikrodalga ekstraksiyonu arasında bir ilişki var olup, genellikle yüksek dielektrik sabitine sahip çözücüler mikrodalga enerji tarafından daha iyi absorbe edildikleri için tercih edilir. Etanol, metanol ve su gibi etkin polar çözücüler mikrodalga ile daha ısıtılabilir olmaktadırlar (<http://www.tr.wikipedia.org/soxhlet>, 18 Mart 2009).

Hekzan ve toluen gibi polar olmayan ve düşük dielektrik sabitine sahip çözücüler mikrodalga ekstraksiyonu için çok uygun olmamaktadırlar. Klasik çözücü ekstraksiyonunda ürün miktarını arttırmak için katı matriksler çözücü içerisine tamamen batırılırken, mikrodalga ekstraksiyonda çözücü miktarının arttırılması ekstraksiyon verimini, mikrodalga ile çözücünün yeterince etkileşememesine bağlı olarak azaltmaktadır. Sıcaklığın arttırılması ile ekstraksiyon veriminin arttığı fakat ısıya duyarlı bileşiklerin yıkımında da etkili olduğu belirtilmiştir. Ekstraksiyon zamanının ve kullanılan çözücü miktarının azaltılması, ekstraksiyon veriminin iyileştirilebilmesi, basit ve ucuz bir proses olması bu metodun avantajları olmaktadır. Bununla birlikte katı atıkların giderilmesi için filtreleme ve santifürüj gerekmesi, apolar ve uçucu bileşiklerin ekstraksiyonunda etkili bir yöntem olmaması dezavantaj olarak belirtilebilir (Wang, 2006).

2.4.4. 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).

2.4.5. 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).

2.4.6. 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;

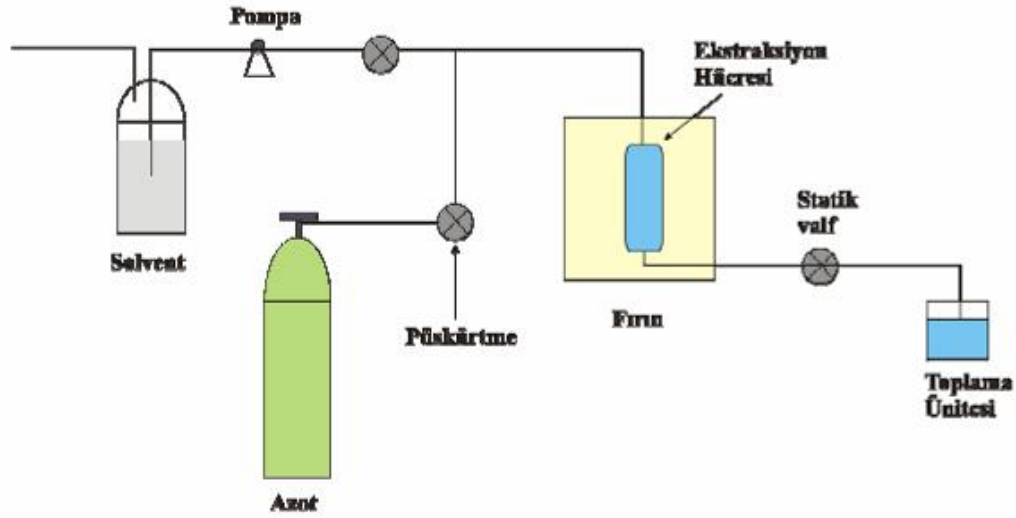
- Basınçlı solvent ekstraksiyonu,
- Hızlandırılmış solvent ekstraksiyonu,
- Basınçlı akışkan ekstraksiyonu,
- Basınçlı sıcak solvent ekstraksiyonu,
- Yüksek basınçlı solvent ekstraksiyonu,
- Yüksek basınç yüksek sıcaklıkta solvent ekstraksiyonu,
- Subkritik solvent ekstraksiyonu

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 2.7. BSE cihazının kısımları.

2.4.7 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 (ϵ) 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 bileşikler 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

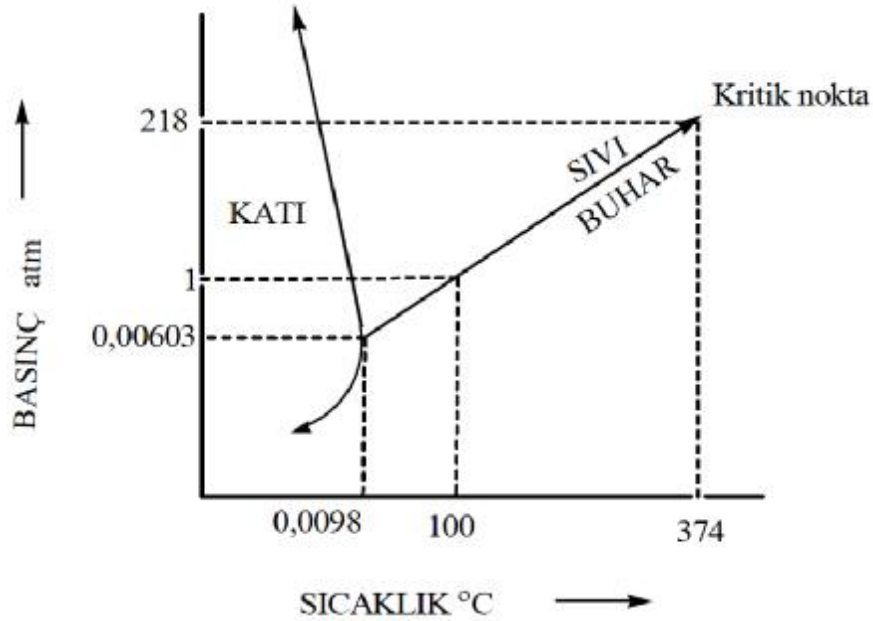
endüstrisinde büyük gelişmelerin olması sağlanabilecektir. Bitki ekstraksiyonu için oldukça elverişli bir sistemdir. Süre 10-20 dakikadır (Özel vd 2003).

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; 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).

2.4.8. 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 bileşikler ayrıştırma 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 2.8: Su için üçlü diyagram.

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

Özellik	Yoğunluk(kg/m ³)	Viskozite (cP)	Diffüzivite(mm ² /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 (CO₂) 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 CO₂ ile ticari olarak 42 farklı yağ elde edilmiştir. Güvenli, yanıcı olmayan, ucuz ve az bir kokusu ya da tadı olan CO₂, düşük vizkozitesi sayesinde bitkilere kolayca nüfuz edebilmekte ve düşük sıcaklığı ile

herhangi bir atık bırakmadan kolayca buharlaşabilmektedir. Süperkritik CO₂, 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 CO₂ ‘de çözünebilen madde grupları verilmiştir (Moyler,1993; Congiu ve ark. 2002; Pourmortazavi, 2004).

Çizelge 1.2 Süperkritik sıvı CO₂ ‘de çözünebilen madde grupları (Moyler,1993).

Kolay çözünenler	Az çözünenler	Hiç çözünmeyenler
- Düşük molekül ağırlığa sahip organikler, - Tiyoller, Tiyazoller, Pirazoller - Asetik asit, Benzaldehit, Heksanol ve gliserol asetatlar - Molekül ağırlığı 250'ye kadar olan bileşikler	- Yüksek molekül ağırlıktaki organikler, - Su, oleik asit, gliserol, dekanol - Doymuş yağlar - Molekül ağırlığı 400'e kadar olan bileşikler.	- Şekerler, proteinler - Tanenler, vakslar - Klorofil, karotenoidler, sitrik ve malik asitler - Amino asitler, nitratlar, pestisitler, insektisitler - Molekül ağırlığı 400'ün üzerinde olan bileşikler

2.5. Diğer Bitkilerin Ekstraksiyonları ile İlgili Çalışmalar

Kayan ve ark., (2009), *Taxus Brevifolia* ağacının kabuğundan Taksol'u sub-süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu, Sokslet ekstraksiyonu ve ultrasonik ekstraksiyon metodu ile ekstrakte etmişler ve kullanılan metotları kıyaslanmıştır. Süperkritik karbondioksit ekstraksiyonu sonucunda taksanların elde edilmesinde en iyi verim 45°C sıcaklık ve 400 atm. basınçta, 200 µL metanolün yardımcı çözücü olarak kullanıldığı deneyler sonucunda elde etmişlerdir.

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 ekstraktta ana bileşenleri, fenchon, kamfor, mirtenil asetat, 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.

Erden ve ark., (2005), neo-clevenger aparatı ile Akdeniz defnesi (*Laurus nobilis* L.)’nde taze yapraktaki uçucu yağ ve meyvedeki sabit yağ oranlarının mevsimsel değişimi ile kuru yapraktaki uçucu yağ oranının, farklı kurutma ortamları (gölge, güneş ve solar tünel kurutucu) ve sıcaklıklarındaki (35, 50, 65 ve 80 °C) değişimini araştırmışlardır.

Yaşar ve ark., (2005), Çukurova Üniversitesi kampusunda üç farklı alanda doğal olarak yetişen çok yıllık dört tıbbi bitkinin (*Ceratonia siliqua* L., *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, *Nerium oleander* L., *Olea europaea* L.) yapraklarındaki yağ içerikleri ile topraklarındaki organik karbon, toplam azot, C/N oranları, pH, kireç içerikleri, toprak renkleri, bünye tipi ve tarla kapasitesindeki nem değerlerini belirlemişler. Bitkilerden sırasıyla 3.22, 3.33, 3.44, 2.33 (%) düzeylerinde sabit yağ uçucu yağı ise sadece *Eucalyptus camaldulensis*’de (%0.98) elde etmişlerdir.

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

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.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. MATERYAL

3.1.1. Kullanılan Bitkiler

Deneyler için kullanılan bitkiler; *Euphorbia macroclada* Boiss, Çamlıyayla/Mersin bölgesinden, *Marrubium vulgare* L. ise Silifke/Mersin bölgesinden toplanmıştır. Bitkilerin tanımlanma işlemi Mersin Üniversitesi Fen-Edeb. Fak. Biyoloji Bölümü Öğretim üyelerinden Doç. Dr. Ayşe Everest tarafından yapılmıştır. Bitkilere ekstraksiyon işlemi yapılmadan önce gölgede ve oda sıcaklığında kurutulmuş, deneysel işlemler için toprak üstü kısımları kullanılmıştır.

3.1.2. Kimyasallar

n-C₆H₁₂ (n-Hekzan),
C₅H₁₂O (ter-Butil metil ether)
CH₂Cl₂ (Dikloro Metan)
CH₃COCH₃ (Aseton)
NaCl (Sodyum Klorür),
Na₂SO₄ (Sodyum Sülfat)
Deniz kumu

3.1.3. Cihazlar

Clevenger Aparatı: Hidro Destilasyon işlemi için kullanıldı
Sokslet Aparatı: Sokslet ekstraksiyonu için kullanıldı
Thermo Scientific marka Trace GC Ultra: Ekstrakte edilen uçucuyağ bileşenlerini tanımlamak için kullanıldı..
Cleanex Ultrasonik Banyo: Ultrasonik Banyo Ekstraksiyonu işlemi için kullanıldı.

3.2. Metod

Bitkilerden organik ekstraktlar; Hidro Destilasyon (HD), Subkritik su ekstraksiyonu (SbKSE) (60atm; 100°C, 125°C ve 150°C), ultrasonik banyo (USE) ekstraksiyonu ve sokslet ekstraksiyonu (SoxE) ile elde edilmiştir. Her çalışmanın güvenilirliği her deney için 3 pararel şeklinde yapılmıştır.

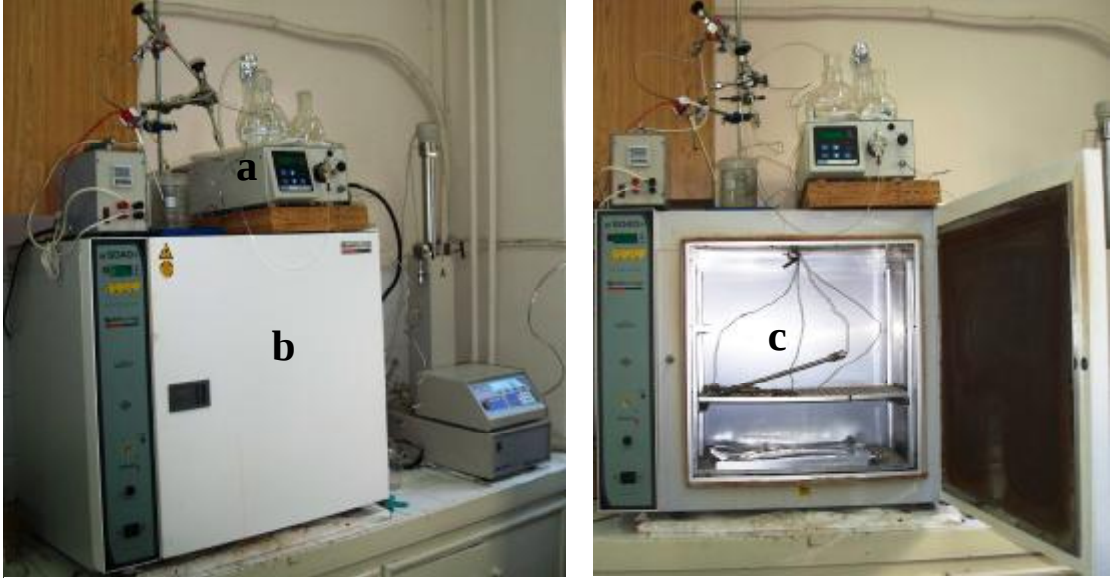
3.2.1. Su Destilasyonu

Bitkilerin öğütülmüş toprak üstü kısımlarından 20'şer gram tartılmış ve Clevenger Aparatı ile hidro destilasyon işlemi yapılmıştır. Hidro destilasyon işleminin tamamlanması 4 saat sürmüştür. Elde edilen miktar kaydedilmiştir. Elde edilen ekstraktlar az miktarda olduğu için ve madde kaybını minimuma indirmek için Clevenger aparatının uçucu yağ toplanan kısmına n-hekzan ilave edilerek öncelikle uçucu yağ çözülmüş ardından temiz bir tüpe n-hekzanda çözünmüş uçucu yağ alınmıştır. Bu işlemde sonra su fazını ve organik fazı ayırmak için tüp deepfreez'e yerleştirilmiş ve su donduktan sonra hızlıca organik faz ayrılmıştır.

3.2.2. Subkritik Su Ekstraksiyonu

Ekstraksiyon hücresinin girişi cam pamuğu ve deniz kumuyla doldurulduktan sonra 2 g bitki ekstraktı tartılmıştır (bitkinin yapısına göre bu miktar azaltılabilmektedir) ve aynı şekilde yine deniz kumu ve cam pamuğu ile de kapatılmış ve fırının içerisine yerleştirilmiştir. Ekstraksiyon işlemi için kullanılacak su ultrasonik banyoda 15dk degaze edilmiştir. HPLC pompası yardımıyla basınç deneyin yapılacağı seviyeye getirilmiş, 2 ml /dk akış hızı ayarlanmıştır. 30 dk süreyle 60 atm ve çalışılan sıcaklıkta (100°C, 125°C, 150°C) statik ekstraksiyon ardından 20dk dinamik ekstraksiyon işlemi yapılmıştır. Organik faz iki kere 5mL diklorometan içerisinde sıvı-sıvı ekstraksiyonu ile alınmıştır. Ayrılmayı kolaylaştırmak için emülsiyona yaklaşık 1 g NaCl ilave edilmiş, daha sonra da

içerisinde kalan su yeterince Na_2SO_4 ilavesi ile tutulmuştur. Ekstraksiyon düzeneği Şekil 3.1.'de gösterilmiştir.



Şekil 3. 1. Sub-kritik akışkan ekstraksiyon sistemi (a: HPLC pompası; b: Fırın; c: Ekstraksiyon hücresi)

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

3.2.3. Ultrasonik Banyoda Organik Çözücü ile Ekstraksiyon

2 g bitki örneği, 30 ml ter-butil metil eter içerisinde oda sıcaklığında 2 saat süre ile ekstrakte edilmiştir. Ardından ekstrakt 10000 rpm'de 30 dk santrifüj işlemi yapıldıktan sonra süzölmüş, azot gazı altında yavaşça çözücüsü uzaklaştırılmış, yüzde verimi hesaplandıktan sonra GC-MS'de bileşenleri bağıl yüzde oranlarına göre incelenmiştir.

3.2.4. Sokslet Ekstraksiyonu

4 g bitki örneği kartuşa yerleştirilip katlanarak sokslet aparatının içerisine yerleştirilmiştir. Çözücü olarak n- Hekzan kullanılmış ve 3 saat süre ekstraksiyon işlemi yapılmış ve vakumlu evaporatör altında çözücü uzaklaştırılmıştır. Verimleri hesaplamaları yapılmış ardından bileşenlerini incelemek üzere GC-MS'e verilmiştir.

3.2.3. GC–MS Analizi

GC–MS analizleri, Thermo Scientific marka, Thermoscientific GC-ISQ model, TRB-WAX (100% polyethylene glycol) kolonlu (0,25mm x 60m, 0,25µm film tabakası kalınlığı) ve elektron impact (EI) dedektörlü cihazda gerçekleştirilmiştir. Analizlerde taşıyıcı gaz olarak 1 ml/dakika akış hızındaki helyum kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı 3°C/dk artışla 50°C'den 160°C ye çıkacak, 10 dk bu sıcaklıkta bekledikten sonra tekrar 3°C/dk artarak 280°C'ye çıkacak şekilde programlanarak gerçekleştirilmiştir. Örnek hacmi 2ml, enjeksiyon hacmi 1µl ve iyonlaşma voltajı 70 eV idi. Kütle Aralığı 41– 400 akb idir. Kantitatif tayinler pik alanları hesaplaması ile gerçekleştirilmiştir. Ayrılmış bileşenler Uluslararası Standartlar ve Teknoloji Endüstrisi'nin kütle spektral kütüphanesindeki veriler ile kıyaslama metodu ile tanımlanmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada Türkiye-Çukurova bölgesinde yetişen *Euphorbia macroclada* Boiss (Sütleğen) ile *Marrubium vulgare* (Boz ot) bitkilerinin organik ekstraktları Hidro destilasyon (HD), üç farklı sıcaklıkta Subkritik su ekstraksiyonu (SbKSE100°C, SbKSE125°C, SbKSE150°C), Ultrasonik banyo ekstraksiyonu (USE) ve Sokslet ekstraksiyonu (SoxE) yöntemleri ile elde edilmiştir. Elde edilen ekstraktların kimyasal kompozisyonlarının kullanılan ekstraksiyon yöntemleri ile nasıl değiştiği incelenmiştir.

4.1. Ekstraksiyon Verimi

Bu çalışmada Türkiye-Çukurova Bölgesinde yetişen halk dilinde sütleğen olarak bilinen *Euphorbia macroclada* Boiss ve Boz ot olarak bilinen *Marrubium vulgare* L.'nin dört farklı yöntem ile elde edilmiş ekstraktlarının bileşenleri GC-MS ile belirlenmiştir.

Bitkilere uygulanan ekstraksiyon yöntemleri; hidro destilasyon, 100°C, 125°C ve 150°C olmak üzere üç farklı sıcaklıkta uygulanan subkritik su ekstraksiyonu, ultrasonik banyo ekstraksiyonu ve sokslet ekstraksiyonudur. Sonuçların daha güvenilir olması için her deneyler üçer paralel ile yürütülmüştür.

Materyal ve metot kısmında anlatıldığı gibi subkritik su ekstraksiyonu için üç farklı sıcaklık kullanılmış ve ekstraktlardan diklorometan ile ekstrakte edilebilen bileşenler ayrılmıştır. Sıcaklık farkının diklorometan ile ekstrakte edilebilen organik faz miktarı üzerine etkisi Çizelge 4.1. de gösterilmiştir. Çizelgeye dayanarak her iki bitki için de Subkritik su ekstraksiyonunda sıcaklık arttıkça diklorometan ile ayrılabilen kısmın verimi de artmıştır.

Uygulanan USE ve SoxE'lerinin verimi Çizelge 4.2. de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre Sokslet ekstraksiyonunun verimi Ultrasonik banyo ekstraksiyonu veriminden daha yüksek çıkmıştır.

Subkritik su ekstraksiyonu için farklı sıcaklıklar kullanılırken basınç için sabit bir basınç (60 atm) kullanılmıştır. Bunun sebebi subkritik su ile yapılan çalışmalarda

elde edilen uçucu yağın özellikleri üzerinde basınçtan çok sıcaklıkta yapılan değişikliklerin etkili olduğu bilinmektedir (Özel ve ark., 2003).

Ekstraksiyon verimi aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{Verim} = \frac{\text{g cinsinden elde edilen ekstrakt miktarı}}{\text{g cinsinden kullanılan kuru bitki miktarı}} \times 100 \quad (4.1.)$$

Çizelge 4.1. Farklı sıcaklıklarda elde edilen subkritik su ekstraktlarından diklorometan ile alınabilen organik bileşenlerin verimleri.

	% Verim (w/w)		
	SbKS100°C	SbKS125°C	SbKS150°C
<i>Euphorbia macroclada</i> B.	0.06	0.92	1.08
<i>Marrubium vulgare</i> L.	0.27	0.46	0.8

Çizelge 4.2. USE ve SoxE yöntemleri ile elde edilen ekstraktların verimleri

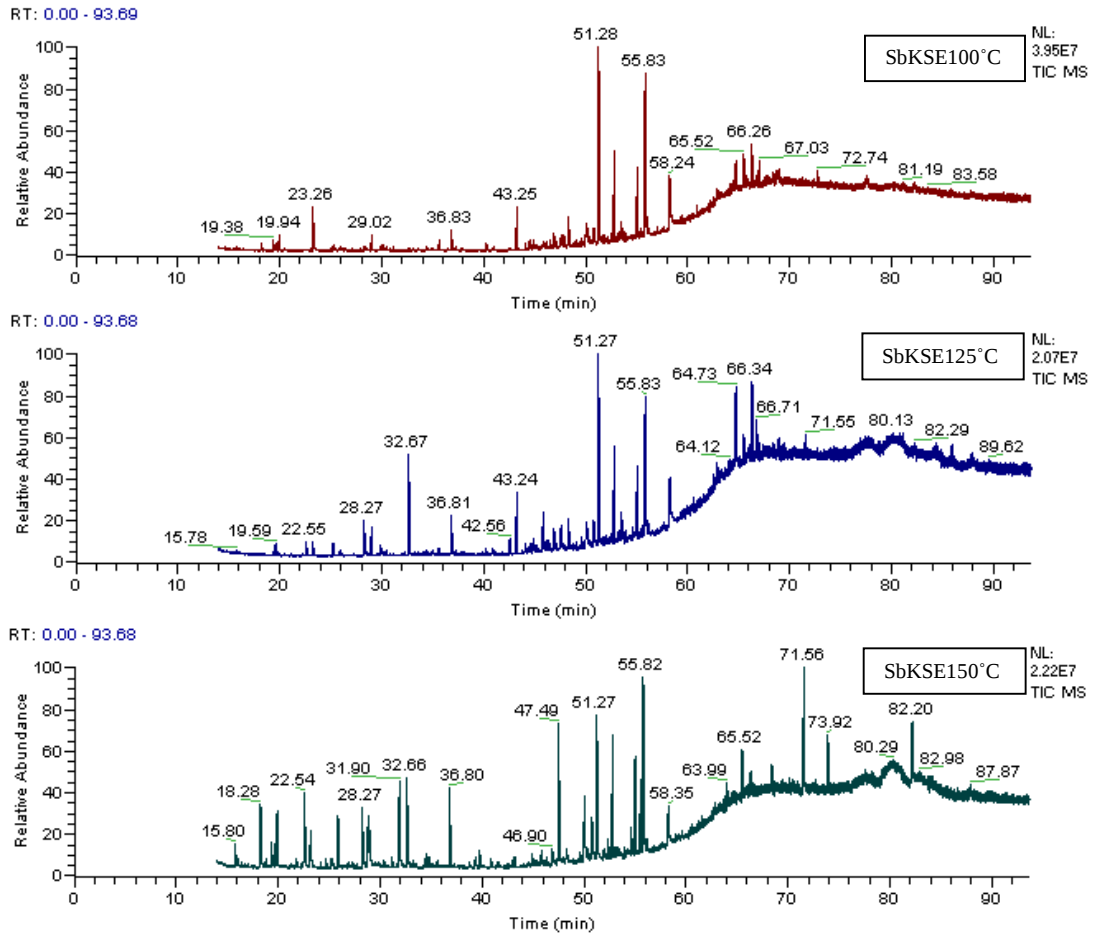
	% Verim (w/w)	
	SoxE	USE
<i>Euphorbia macroclada</i> B.	6.83	6.56
<i>Marrubium vulgare</i> L.	3.78	2.5

4.2.GC-MS Analiz Sonuçları

Euphorbia macroclada Boiss. ve *Marrubium vulgare* L. ekstraktlarının analiz sonuçlarını gösteren çizelge 4.3. ve çizelge 4.4.'de göreceli bolluk miktarları % 0,1'den az olan bileşenlere yer verilmemiştir.

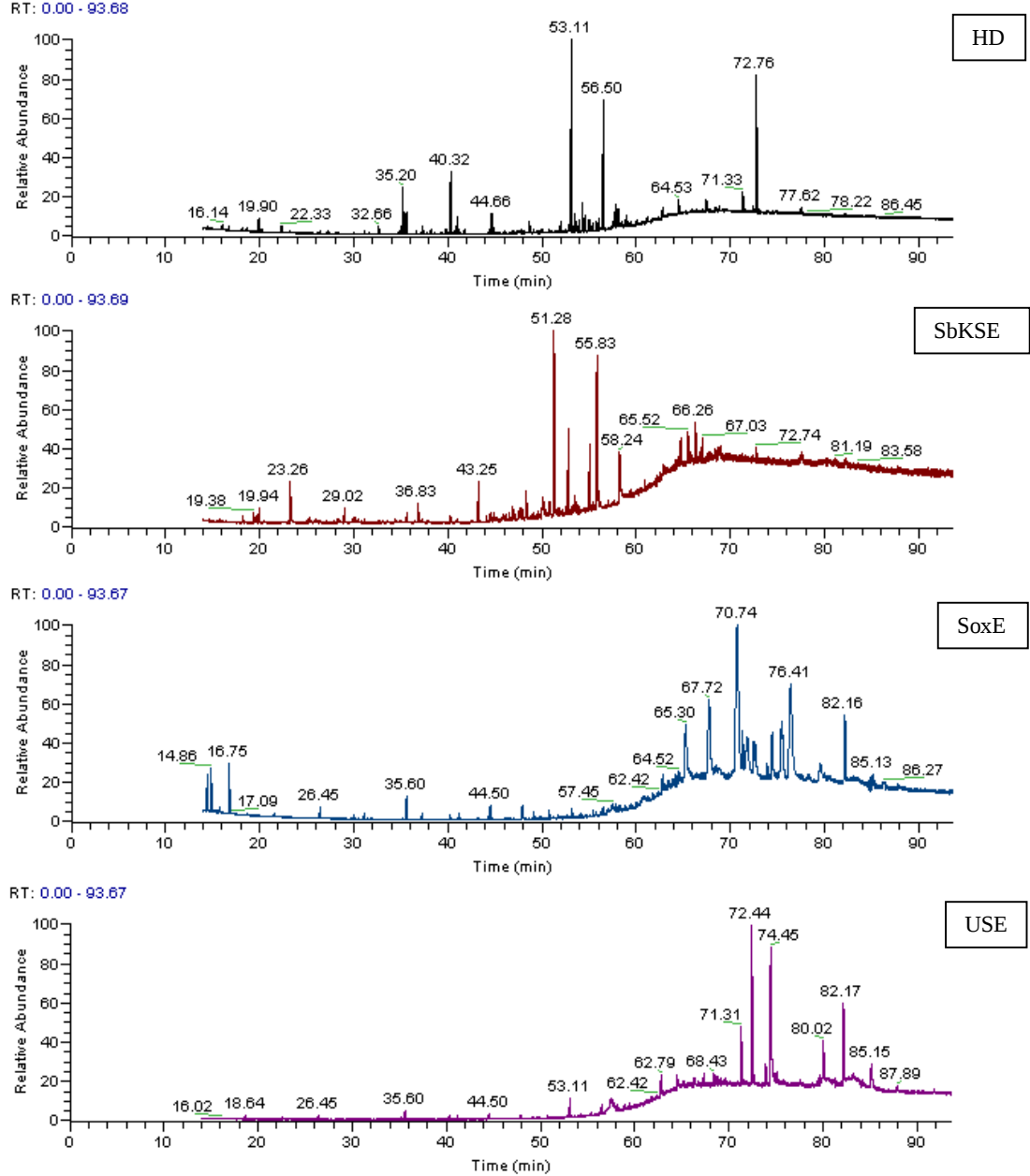
4.2.1. *Euphorbia macroclada* Boiss'in GC-MS Analiz Sonuçları

Euphorbia macroclada B. bitkisinden SbKSE ile farklı sıcaklıklarda ekstrakte edilen ve diklorometan ile alınabilen organik bileşenlerin GC-MS kromatogramları Şekil 4.1 de verilmiştir.



Şekil 4.1. *E. macroclada* B.'nin farklı sıcaklıklardaki SbKSE GC-MS kromatogramları.

Euphorbia macroclada B. bitkisinden 4 farklı ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen organik bileşenlerinin GC-MS kromatogramı Şekil 4.2 de gösterilmiştir.



Şekil4.2. *Euphorbia macroclada* B. nin HD, SbKSE, SoxE ve USE yöntemleriyle elde edilen organik bileşenlerin GC-MS kromatogramları.

Euphorbia macroclada B. bitkisinden üç ayrı sıcaklıkta gerçekleştirilen SbKSE ve diğer üç yöntemle elde edilen ekstraktlarının GC-MS göreceli dağılım yüzde sonuçları Çizelge 4.3. de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. *Euphorbia macroclada* Boiss ekstraktlarının GC-MS Analiz sonuçları

RT	Bileşenler	HD	Göreceli Dağılım (%)				USE
			100 °C	125 °C	150 °C	SoxE	
18,28	pirol-2-aldehit	---	---	---	2,83	---	---
19,76	pantolakton	---	---	0,12	1,76	---	---
19,9	benzenasetaldehit	1,4	1,27	0,13	1,53	---	---
22,55	1-butanol, 3-metil-asetat	---	---	0,97	3,75	---	0,32
23,26	feniletanol	0,16	5,03	1,01	1,86	---	0,11
25,88	5,6-dihidro-4-metil-2H-piran-2-one	---	0,49	0,3	2,02	---	---
28,27	sinamik asit	---	0,6	2,93	2,21	---	---
28,83	5-hidroksimetilfurfural	---	---	---	2,94	---	---
29,02	metilethilmaleimit	---	1,08	1,55	1,71	---	---
31,9	metil 1-metilpirol-2-karboksilat	---	---	---	3,98	---	---
32,66	2-metoksi-4-vinilfenol	0,94	0,43	4,98	3,03	---	---
35,2	α -kopaen	4,97	---	---	---	---	0,23
35,6	tetradekan	1,45	0,87	0,23	0,26	0,47	0,6
36,83	vanilin	---	2,02	2,83	3,23	---	---
40,32	germacrene-D	8,67	---	---	---	---	0,5
41	α -muurolen	2,53	0,3	0,23	0,39	---	0,16

Çizelge 4.3 Devamı

RT	Bileşenler	HD	SbKS 100 °C	SbKS 125 °C	SbKS 150 °C	SoxE	USE
43,25	dihidroaktinidiolid	---	4,02	3,55	0,4	---	---
44,66	spatulenol	2,46	0,45	0,29	0,46	0,12	---
44,92	ftalik asit, di-(1- heksen-5-yl) ester	---	1,67	1,2	0,6	---	---
45,83	3-hidroksi-β- damaskon	---	0,7	3,65	0,75	---	---
46,91	4-(3-hidroksi-1- bütenil)-3,5,5- trimetil-2- sikloheksen-1-one	---	1,33	2,01	0,98	---	---
47,49	N-etil-4- kamfenilamin	---	---	---	4,72	---	---
48,34	1,3,7,7-tetrametil- spiro-10-(2,11- dioksabisiklo[4.4.1]u ndeka-3,5-dien)-2'- (oksiran)	---	2,65	2,07	0,35	---	---
50,03	4-((1E)-3-hidroksi-1- propenil)-2- metoksifenol	---	1,69	1,52	2,55	---	---
50,81	dodekalakton	---	---	---	1,83	---	---
51,28	Loliolid	---	14,94	12,54	4,62	---	0,13
51,37	Heksahidropirolizin- 3-on	---	---	0,21	2,76	---	---
52,79	Ftalik asit	0,37	4,93	3,21	2,85	---	---
53,11	α-Paçulen	18,7	---	---	---	0,2	0,93

Çizelge 4.3 Devamı

RT	Bileşenler	HD	SbKS 100 °C	SbKS 125 °C	SbKS 150 °C	SoxE	USE
53,48	9,12,15- oktadekatrienoik asit	1,55	---	---	---	---	---
53,53	Karyofilin oksit	---	1,4	1,48	0,1	---	---
54,28	7-metilen-2,4,4- trimetil-2-vinil- bisiklo[4.3.0]nonan	2,85	---	---	---	---	0,21
54,54	2,3,4,5-tetrametil-1- (4-pentenil)-1,3- siklopentadien	1,38	---	---	---	---	---
55,04	1,2- benzendikarboksilik asit, bis(2- metoksietil) ester	1,17	2,82	3,19	4,01	---	---
55,54	5,10-dietoksi- 2,3,7,8-tetrahidro- 1H,6H-dipirrol[1.2- a;1',2'd]pirazin	---	---	---	1,97	---	---
55,83	1,4-dietil-6,7- dihidro-siklopenta [c]piran-3(5H)-on	0,48	14,08	7,01	5,34	---	---
56,5	Vertiselol	11,5	---	---	---	0,13	0,6
57,46	n-tetrakosan	0,1	---	---	---	0,15	2,03
	9,12- oktadekadienoik asit,metil ester	0,55	---	---	---	---	1,03
57,76	9,12,15- oktadekatrienoik asit, metil ester	1,19	---	---	---	---	---
57,89	fitol	3,01	---	---	---	0,22	0,66

Çizelge 4.3 Devamı

RT	Bileşenler	HD	SbKS 100 °C	SbKS 125 °C	SbKS 150 °C	SoxE	USE
58,18	2-butiloksikarboniloksi-1,1,10-trimetil-6,9-epidiksidedekalin	1,58	---	---	---	0,19	0,7
58,24	6,7-dimetoksi-1,4-dihidro-2,3-kinoksalindion	---	4,17	2,97	---	---	---
58,35	trans-1,6-dimetil-1,6-difosfosiklononan-1,6-dioksit	---	3,98	2,17	1	---	---
62,79	9-oktadekanamit	1,22	---	---	---	0,29	1,89
64,73	astaksantin	---	2,19	4,92	---	---	---
65,3	lanosterol	---	---	---	---	5,19	---
65,52	1,2-benzendikarboksilik asit, bis(2-etilheksil) ester	---	2,22	0,12	0,41	---	---
66,26	pregnenolon	---	4,98	1,09	---	---	---
66,34	3-etil-3-hidroksi-androstan-17-on	---	---	7,52	0,93	---	---
66,71	1,5,9-trimetil-12-(1-metiletil)-4,8,13-siklotetradekatrien-1,3-diol	---	---	0,49	---	---	---
67,03	1-hidroksi-3,3-trimetil-2-(3-metil-1,3-butadienil)-siklopentanmetanol	---	2,02	---	---	---	---

Çizelge 4.3 Devamı

RT	Bileşenler	HD	SbKS 100 °C	SbKS 125 °C	SbKS 150 °C	SoxE	USE
67,72	(24.xi.)- isopropenilkolesterol	---	---	---	---	8,55	---
70,74	(3β)-9,19- siklolanost-24-en-3- ol	---	---	---	---	21,15	---
71,33	13-dokosenamit	2,11	---	---	---	1,18	5,64
71,55	skualen	---	---	1,02	5,22	---	---
71,79	lupeol	---	---	---	---	3,94	---
72,44	heptadesil-oksiran	0,56	---	---	---	4,17	18,2
72,76	etil linoleat	24,5	0,82	---	---	---	---
73,92	dokosan	---	---	---	2,63	0,43	2,18
74,44	1-oktakosanol	---	---	---	---	2,87	25,9
75,46	4,14-dimetil-9,19- sikloergost-24(28)- en-3-ol, asetat	---	---	---	---	6,57	---
76,41	24- metilensikloartanol	---	---	---	---	14,68	---
79,54	(3β)-9,19- siklolanost-24-en-3- ol, asetat	---	---	---	---	1,98	---
80,02	2-(9- octadeceniloksi)- etanol	---	---	---	---	---	7,51
82,16	hentriakontan	---	---	---	---	3,81	12,9
82,2	n-oktakosan	---	---	---	4,91	---	---
85,12	vitamin E	---	---	---	---	0,97	3,97
	Toplam Geri Kazanım	95.4	83.15	77,51	78,06	77,99	86.3

GC-MS analizi sonuçlarına göre; *Euphorbia macroclada* Boiss bitkisinin farklı yöntemlerle elde edilen organik bileşenlerinde farklı sayıda bileşenler tanımlanmıştır. Çizelge 4.3. Kullanılan yöntemlere göre, ekstraktlardan en yüksek göreceli bolluğa sahip olan bileşikler; loliolid, α -Paçulen, 1,4-dietil-6,7-dihidro-siklopenta [c]piran-3(5H)-on, Verticellool, (24.xi.)-isopropenilkolesterol, (3 β)-9,19-siklolanost-24-en-3-ol, heptadesil-oksiran, Etil linoleat, 1-oktakosanol, 24-Metilensikloartanol, hentriakontan dir.

Farklı sıcaklıklarda yürütülen subkritik su ekstraksiyonu sonuçlarını kendi arasında inceleyecek olursak, bileşenlerin sıcaklıkla beraber miktarlarında farklı değişimler gözlenmiştir. Örneğin; metiletilmaleimit, vanilin, 1,2-benzendikarboksilik asit, bis(2-metoksietil) ester gibi bileşiklerin verimi sıcaklık arttıkça artarken; dihidroaktinidiolid, ftalik asit, di-(1-heksen-5-il) ester, 1,3,7,7-tetrametil-spiro-10-(2,11-dioksabisiklo[4.4.1]undeka-3,5-dien)-2'-(oksiran), loliolid ve Ftalik asit gibi bileşiklerin sıcaklık arttıkça verimi azalmıştır. Piro-2-aldehit, 5-Hidroksimetilfurfural, metil 1-metilpiro-2-karboksilat, N-Etil-4-kamfenilamin, dodekalakton, 5,10-dietoksi-2,3,7,8-tetrahidro-1H,6H-dipiro[1.2-a;1',2'd]pirazin, n-oktakosan gibi bileşikler de sadece SbKSE 150°C'de elde edilirken diğer sıcaklıklarda elde edilememiştir. Elde edilen bileşiklerin göreceli çokluğuna göre SbKSE ekstraksiyonu için en etkin koşulu belirtmek mümkün değildir fakat diklorometan ile alınabilen organik bileşenlerin verimine bakılacak olursak (Çizelge 4.1.'e göre) en etkin koşulun 150°C 60 atm. olduğu söylebilir (%1.1).

HD ile elde edilen uçucu yağlardan 25 sinyal tanımlanmış ve Etil linoleat (24,46%)'ın göreceli olarak en fazla bulunan bileşen olduğu gözlenmiştir.

SbKSE için 100°C'de 28 sinyal tanımlanmış, göreceli dağılımı en yüksek olan bileşik Loliolid (14,94%) dir. SbKSE 125°C için 32 sinyal tanımlanmış, göreceli bolluğu en yüksek olan bileşenin 100°C'de yapılan deneyle aynı olarak Loliolid (12,54%) olduğu gözlenmiştir. SbKSE 150°C ekstraktında 36 sinyal tanımlanmış, göreceli olarak 1,4-dietil-6,7-dihidro-siklopenta [c]piran-3(5H)-on (5,34%)'un en fazla bulunduğu gözlemlenmiştir. Diğer sıcaklıklarda elde edilen Loliolid miktarı artan sıcaklıkla düşüş göstermiş ve 150°C'deki SbKSE ile 4,62% elde edilmiştir.

Organik çözücü olarak n-Heksan kullanılan Sokslet ekstraksiyonunda 22 sinyal tespit edilmiştir. Göreceli olarak (3 β)-9,19-siklolanost-24-en-3-ol bileşiği en yüksek konsantrasyonda (21,15%) elde edilmiştir.

Organik çözücü olarak tert-butil metil eter kullanılan Ultrasonik banyo ekstraksiyonunda 22 sinyal tanımlanmış ve göreceli olarak 1-oktakosanol (25,9%)'ün en fazla bulunan bileşen olduğu görülmüştür.

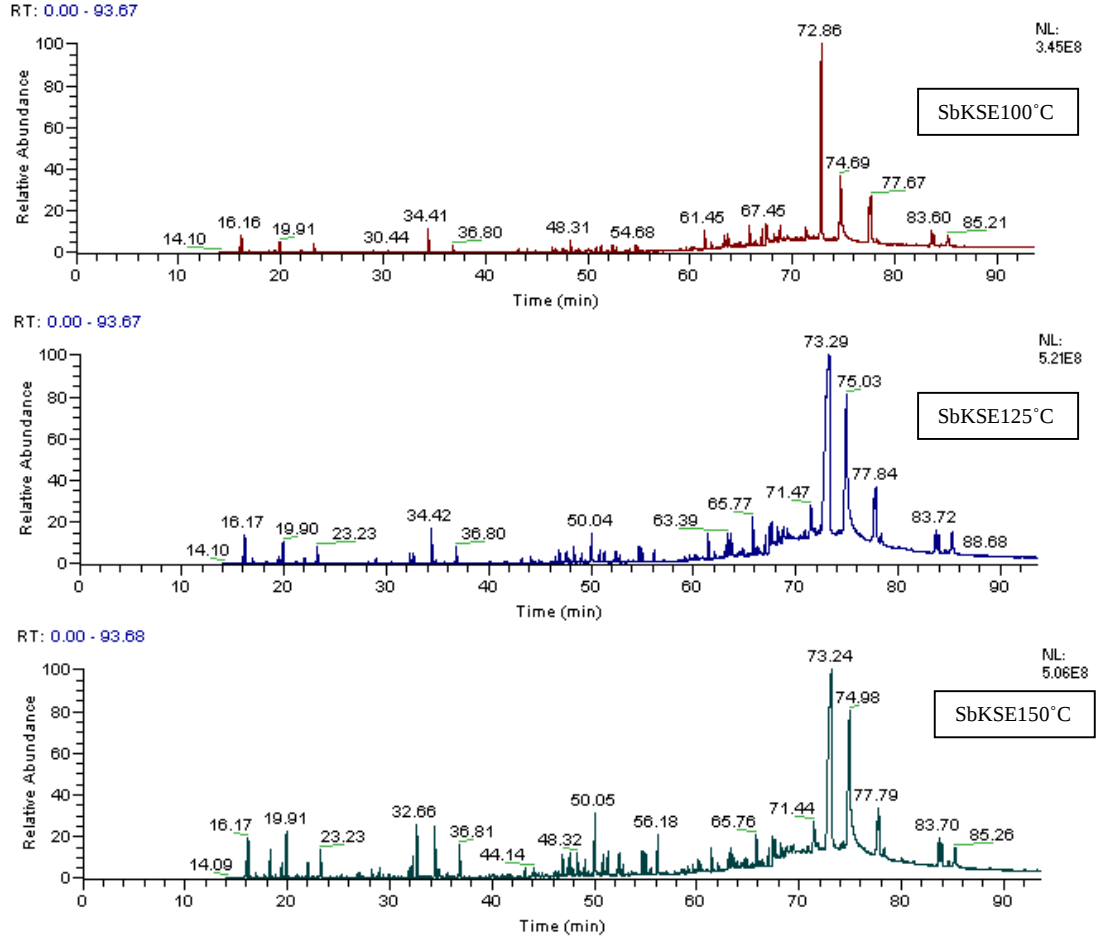
Toplam gerikazanımlar; HD için 95,41%, SbKSE100°C için 83,15%, SbKSE125°C için 77,51%, SbKSE 150°C için 79,86%, SoxE için 77,99% ve USE için 86,3% dir.

(Shokoohinia ve ark., 2010) *Euphorbia macroclada* B.'den 4 tane premisenan sınıfına ait, 3 α -forbol sınıfına ait ve 1 tanede doğal diterpenoidler grupları içinde daha önce görülmemiş bir tür bulunmuş ve saflaştırmışlardır.

4.2.2. *Marrubium vulgare* L.'nin GC-MS Analiz Sonuçları

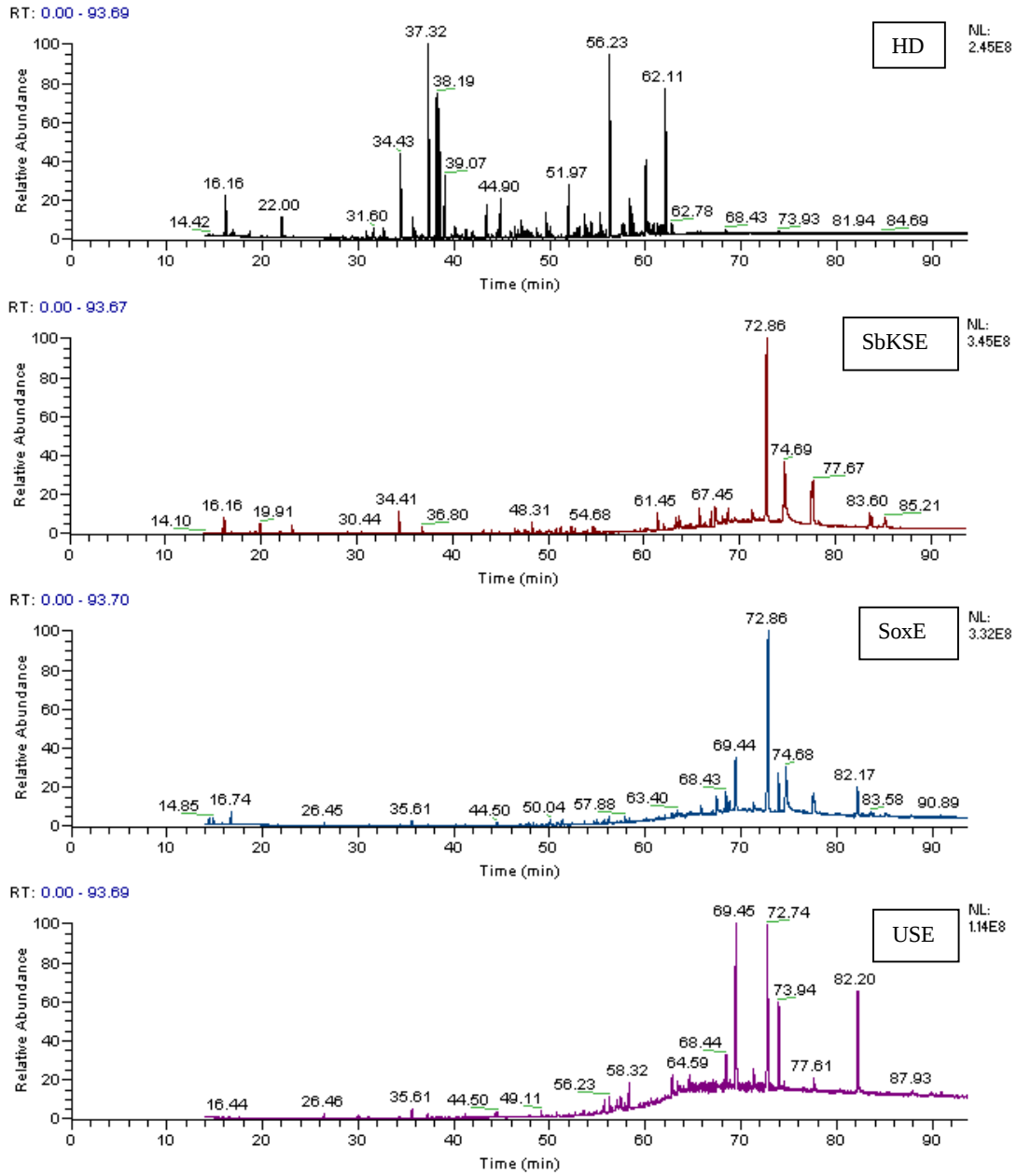
Marrubium vulgare L. Bitkisinden bir tanesi farklı sıcaklıklarda yürütülen SbKSE olmak üzere dört farklı yöntemle organik bileşenler ekstrakte edilmiştir.

Elde edilen SbKSE ekstraktlarının GC-MS analiz kromatogramları Şekil 4.3. de gösterilmiştir.



Şekil 4.3. *Marrubium vulgare* L.'nin SbKSE (100°C, 125°C ve 150°C) GC-MS kromatogramı.

Farklı sıcaklıklarda incelenen Subkritik Su Ekstraksiyonu için 100°C de 19 sinyal, 125°C de 17 sinyal ve 150°C de 21 sinyal tespit edilmiştir. Farklı sıcaklıklarda incelenen SbKSE'nda sıcaklık arttıkça organik bileşenlerin verimi (w/w) de artmıştır. Tespit edilen sinyal sayısı da çok farklı olmamakla beraber sıcaklık arttıkça değişim göstermiştir.



Şekil 4.4. *Maribium vulgare* L. bitkisinin HD, SbKSE, SoxE ve USE yöntemleriyle elde edilen organik bileşenlerin GC-MS kromatogramları.

Marrubium vulgare L. bitkisinin yapraklarından, farklı sıcaklıklarda SbKSE ile elde edilen ekstraktlardaki diklorometan ile alınan organik bileşenlerin kimyasal kompozisyonu Çizelge 4.4.'de verilmiştir.

Marrubium vulgare L. bitkisinin farklı yöntemlerde elde edilen ekstraktlarından toplamda 45 sinyal tanımlanmıştır.

Çizelge 4.4. *Marubium vulgare* L. ekstraktlarının GC-MS kromatogramı

RT	Bileşen	Göreceli Dağılım (%)					
		HD	SbKS	SbKS	SbKS	SoxE	USE
			100°C	125°C	150°C		
16,16	1-okten-3-ol	2,09	1,11	0,7	0,89	---	---
18,36	pirol-2-aldehit	---	---	---	1,03	---	---
19,91	benzenasetaldehit	---	0,75	0,6	1,16	---	---
32,66	2-metoksi-4-vinilfenol	0,6	---	0,27	1,67	---	---
34,43	öjenol	5,3	1,86	1,18	1,75	---	---
35,67	1,2,3,6-tetrametil-bisiklo[2.2.2]okt a-2,5-dien	1,79	---	---	0,13	---	---
37,32	karyofilin	14,2	---	---	---	0,13	---
38,19	β-farnesen	9,94	---	---	---	---	0,11
38,48	seskuisabinen	9,2	---	---	---	---	0,18
39,07	α-humulen	4,53	---	---	---	---	---
43,39	nerolidol	2,42	---	---	---	---	---
44,90	Karyofili oksit	2,94	0,14	---	0,1	---	---
49,64	2,3-di(t-bütil)-1-metoksi-1-H-fosfiren	1,29	---	---	---	---	---
50,04	koniferil alkol	---	0,35	1,21	2,49	0,68	---
51,97	6,10,14-trimetil-2-pentadekanon,	2,25	---	---	---	---	0,12

Çizelge 4.4 Devamı

RT	Bileşen	HD	SbKS 100°C	SbKS 125°C	SbKS 150°C	SoxE	USE
53,68	3,3'-dimetil-2,2'- bikuinolin	1,89	0,1	---	0,1	0,27	---
55,27	14- oksatrisiklo[9.2.1 .0(1,10)]tetradek an, 2,6,6,10,11- pentametil	1,15	---	---	---	---	---
55,72	Abietan	---	---	---	---	0,3	1,27
56,23	Geranil linalol	11,8	---	---	---	0,8	1,22
56,37	1-(4- Isopropilefenil)- 2-metilpropil asetat	0,93	---	---	---	---	---
57,44	9,10-dihidro-7- metoksi-3' β - metil-3'H- siklopenta[a]fena ntren	---	---	---	---	---	0,89
58,32	pentametil-2,3- dihidro-1,1,2,3,3- 1H-inden	---	---	---	---	0,29	2,05
58,40	5 α -dimetil-5 β - iodometil-1 β - isopropenil- β bisiklo[4.3.0]no nan	1,9	---	---	---	---	---
59,98	4-okso- β - isodamaskol	3,76	---	---	---	---	---
60,13	Lactaropallidin	5	---	---	---	---	---

Çizelge 4.4 Devamı

RT	Bileşen	HD	SbKS 100°C	SbKS 125°C	SbKS 150°C	SoxE	USE
61,45	8-etoksi-5,6-dimetoksi-7-metil-4(3H)-kinazolinon	---	1,14	0,56	0,47	0,26	---
62,11	1,8-dimetil-8,9-epoksi-4-isopropil-spiro[4.5]dekan-7-on	7,44	0,36	0,14	0,14	0,33	---
62,79	9-octadesenamit	0,51	---	---	---	---	0,99
63,39	4-metil-3,5,5-tris(2-metil-2-propenil)-2(5H)-furanon	---	1,2	0,66	0,53	0,88	0,96
63,69	5-(7a-isopropenil-4,5-dimetil-oktahidroinden-4-yl)-3-metil-pent-2-en-1-ol	---	1,21	0,74	0,25	---	---
67,03	4-(1,3,3-trimetil-7-oksabisiklo[4.1.0]hept-2-yl)-2-pentanon	---	1,29	0,54	0,47	0,18	---
67,45	C ₂₀ H ₂₈ O ₆	---	3,64	1,04	1,94	2,75	---
68,43	n-nonakosane	0,13	---	---	---	1,71	2,76
69,45	diepisedren-1-oksit	---	---	---	---	7,17	19,9

Çizelge 4.4 Devamı

RT	Bileşen	HD	SbKS 100°C	SbKS 125°C	SbKS 150°C	SoxE	USE
71,31	3,5,9,9-tetrametildekahid robenzo[2.3]siklo hepta[1.2- b]oksiren-3-ol	---	1,96	---	---	1	2
71,47	1-Heptatrikotanol	---	---	2,46	3,04	---	---
72,86	Marrubiin	---	38,84	41,26	40,36	46,6	23,6
73,92	n-triakontan	---	---	---	---	5,53	10,1
74,69	2,2-dimetil-3- (3,7,16,20- tetrametil- heneikosa- 3,7,11,15,19- pentaenil-oksiran	---	12,59	---	---	12,6	---
75,03	2,6,10,14- heksadekatetraen oik asit, 3,7,11,15- tetrametil-metil ester	---	---	25,9	23,87	---	---
77,72	Isosteviol metil ester	---	15,58	7,53	5,73	7,18	---
82,17	Pentakosan	---	---	---	---	6,6	20
83,67	6-(3-asetil-1- siklopropen-1- yl)-3-hidroksi-6- metil-2-heptanon	---	2,9	2,91	2,12	0,79	---

Çizelge 4.4 Devamı

RT	Bileşen	HD	SbKS 100°C	SbKS 125°C	SbKS 150°C	SoxE	USE
83,86	3-hidroksi-1a, 3,6,6- tetrametilheksahi dro-2- okasiklopropa[d]naftalen-5-on	---	1,72	---	---	---	---
85,24	spiro[4.5]dekan- 7-on,1,8-dimetil- 8,9-epoksi-4- isopropil	---	2,2	1,92	1,39	---	---
	Toplam Geri Kazanım	91,1	88,94	89,62	89,63	96,04	86,2

HD hariç diğer bütün yöntemlerle elde edilen ekstraktların göreceli dağılım yüzdesine göre en büyük oranda elde edilen bileşiği Marrubiindir. SbKSEları için diklorometan ile alınan organik fazdaki marrubiin için 100°C’de %38,84, 125°C’de %41,26 ve 150°C’de bu miktar %40,36 dır. SoxE için %46,6 oranındaki göreceli bolluğu ile marrubiin diğer yöntemlere oranla en yüksek miktarda bu yöntem ile elde edilmiştir

HD ile ekstrakte edilen uçucu yağda 22 sinyal tanımlanmıştır. Göreceli olarak en fazla olan bileşen diğer ekstraksiyon methotları ile elde edilenlerden farklı olarak %14,2 oranı ile elde edilen karyofilin dir.

Organik çözücü olarak n-heksan kullanılan sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraktda 20 sinyal tanımlanmıştır.

Organik çözücü olarak tert-butil metil eter kullanılan USE ekstraktında 15 sinyal tespit edilmiştir.

Toplam Geri kazanım miktarları ise; HD için 91,1%, SbKSE100°C için 88,94°C, SbKSE125°C için 89,62%, SbKSE150°C için 89,63%, SoxE için 96,04% ve USE için 86,2% dir.

Sahpaz ve ark., (2002), Fransa'dan 1999 yılında Angers çevresinden topladıkları *Marrubium vulgare*'den en büyük fenilpropanoidesterleri olan(+) (E)-kaffeoil-L-malik asit, akteosid , forsitosit B , arenariosit , ballotetrosid bileşenlerini izole etmişlerdir.

Pukalskas ve ark., (2012), *Marrubium vulgare*'nin radikal tutucu etkiye sahip olan fraksiyonlarını saflaştırmış ve 5,6-dihidroksi-7,4'-dimetoksiflavon (ya da ladanein), 7-O- β -glukopiranosil luteolin, 7-O- β -glukuronil luteolin, verbaskosid ve forsitosit B. yapılarını MS ve NMR ile aydınlatmışlardır.

Khanavi ve ark., (2005), *Marrubium parviflorum* Fisch. & C. A. Mey. and *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae familyası) bitkilerinin toprak üstü kısımlarından uçucu yağ bileşenlerini hidrodestilasyon ile elde etmişler, GC ve GC-MS ile incelenmişlerdir. *Marrubium vulgare* için %95'lik geri kazanım elde etmişler ve 34 bileşik tanımlamışlardır. *M. vulgare*'nin ana bileşenleri β -bisabolen (25,4%), β -karyofilin (11,6%), germacrene D (9,7%) ve E- β -farnesen (8,3%) olarak belirlemişlerdir. Khanavi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri sonuçlar bizim sonuçlarımızla da benzerlik göstermiştir.

4.2.3. Anabileşenlerle ilgili Araştırmalar

Etil linoleat: Bitkilerde oldukça genel üretilen bir yağ asitidir. İnsan vücudunda sentezlenmez. Gıdalarda, besin katkı maddelerinde ve ilaçlarda kullanılır. Koruyucu kaplamalarda kurutma maddesi olarak kullanılır. Emülgatör, sabun ve boya yapımında kullanılır.

Marrubiin: Genellikle insanları karşı zararlı değildir. Çok acıdır, ateşe iyi gelir. Lezyona bağlı olmayan bağırsak ve mide problemleri özellikle anti- anotoksik özellik (açlık) göstermiştir.

(3 β)-9,19-siklolanost-24-en-3-ol,asetat, cyclooartenol; bitkilerde bulunan önemli bir stanol türüdür. Cyloartenolün biyosentezi triterpenoid sekualenden başlar. Stanol ve sterollerin biyosentezinin ilk öncüdür.

1-Oktakosanol: 1-oktakosanol düz zincirli, 28 karbonlu birincil yağ alkolüdür. Genellikle bitkilerin epikutikular mum (yüzey mumu)'da bulunmaktadır.

Oktakosanol polikosanolün ana bileşenidir ve farmakolojik etkileri çok çeşitlidir. Parkinson hastalarına yardım edebilir. Polikosanollerde LDL de kolestrolü (kötü kolestrol) düşürmeye, HDL kolestrolü (iyi, sağlıklı kolestrol) yükseltmeye yönelik ve damar sertliğini korumaya yönelik besin takviyesi olarak kullanılmaktadır. Polikasonallerle ilgili çalışmalar da önem taşımaktadır.

Jones ve ark. (1979), 1-triacontanol(TRIA) türevlerini, hidroksil gruplarının ve terminal fonksiyonel gruplarının pozisyonlarına göre, hem tek başlarına hem de TRIA ile kombine olarak pirinç (*Oryza sativa* L.), mısır (*Zea mays* L.) ve domates (*Lycopersicon esculentum* Mill.) fideleri üzerinde incelemiştir. Tek başına kullanılan hiçbir bileşik gelişim göstermemiştir. Zincir uzunluğu (30 karbon) olan hidroksil grubunun yeri ve varlığı TRIA'nın büyüme destekleyici aktivitesi için önemli bir duruma sahiptir. 1-Oktakosanol pirinç fidelerini 2.3×10^{-8} M TRIA'da 2.4×10^{-12} M kadar az konsantrasyonda inhibe etmiştir.

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Euphorbia macroclada B. bitkisinin SbKS ekstraksiyonlarında kullanılan farklı sıcaklıklarda diklorometan ile alınabilen organik bileşenlerin en fazla 150°C’de yapılan işlem ile elde edildiği gözlenmiştir. Ekstraksiyon verimi açısından ise sokslet ekstraksiyonu ve ultrasonik banyo ekstraksiyonundan elde edilen verimlerin birbirine yakın olduğu fakat az da olsa sokslet ekstraksiyonunun veriminin ultrasonik banyo ekstraksiyonunun veriminden daha yüksek olduğu görülmektedir.

Bileşen konsantrasyonlarının ekstraksiyon metoduna göre değişiklik göstermesi nedeniyle; ekstraktın kullanım amacına uygun (gıda, kozmetik, ilaç...) bir ekstraksiyon metodunun seçilebilmesinin mümkün olduğu belirlenmiştir.

Euphorbia macroclada B. bitkisi için uygulanan yöntemler için;

- 1) HD ile elde edilen uçucu yağ ekstraktının ana bileşenleri α -Paçulen, germacrene-D, α -kopaen, Vertiselol ve etil linoleat olarak belirlenmiştir.
- 2) 100°C’de uygulanan SbKSE ile elde edilen ana bileşikler; feniletanol, loliolid, ftalik asit, 1,4-dietil-6,7-dihidro-siklopenta [c]piran-3(5H)-on ve pregnenolondur.
- 3) 125°C’de uygulanan SbKSE ile elde edilen ana bileşikler; 2-metoksi-4-vinilfenol, loliolid, 1,4-dietil-6,7-dihidro-siklopenta [c]piran-3(5H)-on, astaksantin ve 3-etil-3-hidroksi-androstan-17-on’dur.
- 4) 150°C’de uygulanan SbKSE ile elde edilen ana bileşikler; N-etil-4-kamfenilamin, loliolid, 1,2-benzendikarboksilik asit, bis(2-metoksietil) ester, 1,4-dietil-6,7-dihidro-siklopenta [c]piran-3(5H)-on, skualen ve n-oktakosan dir.
- 5) Sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen ana bileşenler; lanosterol, (24.xi.)-isopropenilkolesterol, (3 β)-9,19-siklolanost-24-en-3-ol,

4,14-dimetil-9,19-sikloergost-24(28)-en-3-ol, asetat ve 24-metilensikloartanol'dir.

- 6) USE ile elde edilen ana bileşenler; 13-dokosenamit, heptadesil-oksiran, 1-oktakosanol, 2-(9-octadeceniloksi)-etanol, ve hentriakontan 'dir.

Euphorbia macroclada B. bitkisi için bazı bileşenler sadece tek bir yöntemle elde edilmiştir. HD için; 2,3,4,5-tetrametil-1-(4-pentenil)-1,3-siklopentadien ve 9,12,15-oktadekatrienoik asit, metil ester. SbKSE100°C için; 1-hidroksi- α ,3,3-trimetil-2-(3-metil-1,3-butadienil)-siklopentanmetanol. SbKSE125°C için; 1,5,9-trimetil-12-(1-metiletil)-4,8,13-siklotetradekatrien-1,3-diol. SbKSE150°C için; pirol-2-aldehit, 5-hidroksimetilfurfural, metil 1-metilpirol-2-karboksilat, N-etil-4-kamfenilamin, dodekalakton, 5,10-dietoksi-2,3,7,8-tetrahidro-1H,6H-dipirrol[1.2-a;1',2'd]pirazin ve n-oktakosane. Sokslet ekstraksiyonu için; Lanosterol, (24.xi.)-isopropenilkolesterol, (3 β)-9,19-siklolanost-24-en-3-ol, asetat, lupeol, 4,14-dimetil-9,19-sikloergost-24(28)-en-3-ol asetat, 24-metilensikloartanol, (3 β)-9,19-siklolanost-24-en-3-ol asetat dir. USE için ise 2-(9-octadeceniloksi)-etanol'dir.

Marrubium vulgare L. bitkisi için farklı sıcaklıklarda yürütülen SbKS ekstraksiyonları kendi aralarında karşılaştırıldığında *Euphorbia macroclada* da olduğu gibi diklorometan ile alınabilen organik bileşen miktarı en fazla 150°C'de yapılan işlem ile elde edilmiştir. Sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen ekstraksiyon veriminin USE'a göre daha fazla olduğu görülmüştür.

Marrubium vulgare L. bitkisine uygulanan yöntemler için;

- 1) HD ile elde edilen uçucu yağ ekstraktının ana bileşenleri; öjenol, karyofilin, β -farnesen, s seskuisabinen, Geranil linalol ve 1,8-dimetil-8,9-epoksi-4-isopropil-spiro[4.5]dekan-7-on olarak belirlenmiştir.
- 2) 100°C'de uygulanan SbKSE ile elde edilen ana bileşikler; Marrubiin, 2,2-dimetil-3-(3,7,16,20-tetrametil-heneikosa-3,7,11,15,19-pentaenil-oksiran ve Isosteviol metil ester olarak bulunmuştur.

- 3) 125°C’de ve 150°C’de uygulanan SbKSE ile elde edilen ana bileşenler paralel sonuçlar vermiştir; Marrubiin, 2,6,10,14- heksadekatetraenoik asit, 3,7,11,15- tetrametil-metil ester ve Isosteviol metil ester’dir.
- 4) Sokslet ekstraksiyonu ile elde edilen ana bileşenler; diepisedren-1-oksit, Marrubiin, n-triakontan, 2,2-dimetil-3-(3,7,16,20-tetrametil-heneikosa-3,7,11,15,19-pentaenil-oksiran, Isosteviol metil ester ve Pentakosan dir.
- 5) USE ile elde edilen uçucu yağın ana bileşenleri; diepisedren-1-oksit, Marrubiin, n-triakontan, Pentakosan olarak belirlenmiştir.

Marrubium vulgare L. bitkisi için bazı bileşenler sadece tek bir yöntemle elde edilmiştir. HD ile; α -humulene, nerolidol, 14-oksatrisiklo[9.2.1.0(1,10)]tetradekan, 2,6,6,10,11-pentametil, 1-(4-Isopropilefenil)-2-metilpropil asetat, 5 α -dimetil-5 β -iodometil-1 β -isopropenil- β bisiklo[4.3.0]nonan, 4-okso- β -isodamaskol, Lactaropallidindir. SbKSE100°C ile; 3-hidroksi-1a, 3,6,6-tetrametilheksahidro-2-oksasiklopropa[d]naftalen-5-on’dur. SbKSE 150°C ile; pirol-2-aldehitdir. USE uçucu yağ ekstraktı için; 9,10-dihidro-7-metoksi-3 β -metil-3’H-siklopenta[a]fenantren’dir.

Bu çalışmada Çukurova bölgesinde bazı bitkilerin ekstraksiyonları 4 farklı yöntemleri ile elde edilmiş ve bileşenler GC-MS analizi ile belirlenmiştir. Çalışma farmakolojik, parfümeri gibi uçucu yağların kullanıldığı pek çok sanayide dalına ışık tutabilecektir.

Bu çalışmada yöntem kıyaslaması yapıldığı için örnek verecek olursak; *Marrubium vulgare* L. bitkisinde yüksek oranda Marrubiin bileşiği bulunmaktadır. Bu bileşik bir uçucu yağ bileşeni olmadığı için, HD ile hiç elde edilemezken SoxE ile %46,6 oranında elde edilmektedir. Aynı şekilde Laktaropallidin bileşiği, sadece HD yöntemiyle elde edilirken diğer hiçbir yöntemle elde edilememiştir. Benzer örnekleri *Euphorbia macroclada* B. bitkisi için de verirsek N-etil-4-kamfenilamin bileşeni sadece 150°C’deki subkritik su ekstraksiyonu ile ekstrakte edilmiştir . 1,2-benzendikarboksilik asit, bis(2-metoksietil) ester HD ve SbKSE ile elde edilmiş SoxE ve USE ile elde edilememiştir.

5.2. Öneriler

1. Çalışmalar sırasında uygulanan sokslet ekstraksiyonu veya ultrasonik banyo ekstraksiyonu için farklı çözücüler kullanılarak da incelenebilir.
2. n-Heksan ile yapılan sokslet ekstraksiyonundan sonra farklı çözücüler ile ekstraksiyon işlemleri arka arkaya yapıp, ekstraktlar incelenebilir.
3. Kullanılan ekstraksiyon yöntemleri maserasyon, superkritik CO₂ , mikrodalga ekstraksiyonu gibi farklı yöntemler kullanılarak kapsamı geliştirilebilir.
4. Farklı ekstraksiyon yöntemleri araştırılıp geliştirilebilir.
5. Farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktlarla biyolojik izleme, biyopestisit, biyogübre, antioksidan tayini, antimikrobiyal aktivite, antifungal inceleme, antitümör aktivite, antimutajenik aktivite incelemeleri yapılabilir.
6. SbKS ekstraksiyonundan sonr sulu kısımdaki diklorometan ile alınamayan bileşenleri belirleme çalışmaları sıvı kromatografisi ile (HPLC-MS, LC-MS, vb.) yürütülebilir.
7. HD işleminde uçucu yağ elde edildikten sonra kalan sulu kısımdaki bileşenleri belirleme çalışmaları sıvı kromatografisi ile (HPLC-MS, LC-MS, vb.) yürütülebilir.
8. Bitkilerdeki temel bileşenler, firmalardan saf olarak satın alınıp, çeşitli oranlardaki karışımlarının antioksidan aktiviteleri de incelenebilir
9. Subkritik su ekstraksiyonundaki statik ve dinamik ekstraksiyon süreleri değiştirilebilir veya süreklilik sağlanabilir.
10. Elde ekstraktların bileşenleri izole edilebilir.

KAYNAKLAR

- ABURJAI, T., DARWISH, R. M., AL-KHALİL, S., MAHAFAZAH, A. AND AL-ABBATI, A., 2001. Screening of Anti of Antibiotic Resistant Inhibitors from Local Plant Materials Against two Different Strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 76: 39-44
- ACAR, İ., 1987. Defne Yaprığı ve Yaprak Eterik Yağının Üretilmesi ve Değerlendirilmesi. *Ormancılık Arş. Enst. Yayınları. Teknik Bülten Serisi No: 186. s: 7-8*
- AHMED, B., MASOOSI, M. H., SIDDIQUE, A. H. AND KHAN, S., 2010. A New Monoterpene Acid from *Marrubium vulgare* with Potential Antihepatotoxic Activity. *Natural Product Research*, 24:18, 1671-1680.
- ALTAN, Y., UĞURLU, E. VE GÜCEL, S. 1999. Şenkaya (Erzurum) ve çevresinin etnobotanik özellikleri, 1st International Symposium on Protection of Natural Enviroment and Ehrami Karaçam (*Pinus nigra* Arnold. ssp. *pallasiana* (Lamb.) Holmboe var. *pyramidata* (Acat.) Yaltırık) 23-25th September1999 (Ed. A. Tatlı, H. Ölçer, N. Bingöl ve H. Akan): 132-139, Dumlupınar Üniversitesi yayını, Kütahya.
- BARLA, A., ÖZTÜRK, M., KÜLTÜR., Ş. AND ÖKSÜZ, S., 2007. Screening of antioxidant activity of three *Euphorbia* species from Turkey. *Fitoterapia*, 78: 423-425
- BAŞER, H. C. 2001, "Phytochemical diversity in the flora of Turkey", *Plants of the Balkan Peninsula: into the Next Millenium, 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.,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 .

- 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., 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,J., FLİNIAUX, O., GRAND, E., LAMBLIN, F., BENSADDEK,L., CHRISTEN,P., KOVENSKY,J., FLİNIAUX,M., MESNARD,F., 2007. Microwave-Assisted Extraction of the Main Phenolic Compounds in Flaxseed, Phytochemical Analysis,18: 275-282.
- BLUMA, R., AMAIDEN, M. R. AND ETCHEVERRY, M., 2008. Screening of Argentine Plant Extracts: Impact on Growth Parameters and Aflatoxin B1 Accumulation by Aspergillus Section Flavi. International Journal of Food Microbiology, 122:114-125
- BOYDAĞ, I., 2004. *Origanum Onites* L. (Kekik) Yağ Altı Suyunun Uçucu Bileşikleri, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, Türkiye.
- CEYLAN, A., 1977. Tıbbi Bitkiler (Uçucu Yağ Bitkileri) Cilt II, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayını No:481, İzmir.
- 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.
- ÇAKILCIOĞLU, U., TÜRKOĞLU, İ., KÜRŞAT, M., 2007. Harput (Elazığ) ve Çevresinin Etnobotanik Özellikleri, Doğanadolu Bölgesi Araştırmaları.
- ÇAM, M., HIŞIL, Y., 2006. Basınçlı Solvent Ekstraksiyonu Ve Uygulamaları. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 2006 (3) 79-86.

- DEVON, T., K., SCOTT, A., I., 1972. Handbook of Naturally Occurring Compounds, Terpenes, New York, 2, 87-138.
- DIĞRAK, M., İLÇİM, A., ALMA, M.H. 1999. Antimicrobial activities of several parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*. *Phytotherapy Research*, 13: 584-587.
- 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.
- DOĞANOĞLU, Ö., 2004. Yenisarbademli-Isparta Yöresindeki Doğal Faydalı Bitkiler Üzerine Araştırmalar. Isparta Üniversitesi, Orman Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- ERDEN, Ü., 2005. Akdeniz Defnesi (*Laurus Nobilis L.*)’nden mevsimsel varyabilite ve Optimal Kurutma Yöntemlerinin Araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen bilimleri Üniversitesi Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi.
- ERECEVİT, P., 2007. Tıbbi Amaçlar için Kullanılan Bazı Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması. Fırat Üniversitesi tez.
- ERTE, E., 2007. Siyah üzümde (*Vitis vinifera L.*) bulunan Resveratol’ün üretim veriminin arttırılmasına ses ötesi dalgaların etkisi.Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,Ankara.
- 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.
- 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).
- 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.
- GONZALEZ, M. J. AND MARIOLI, J. M., 2010. Antibacterial Activity of Water Extracts and Essential Oils of Various Aromatic Plants Against *Paenibacillus larvae*, the Causative Agent of American Foulbrood. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104:209-213.
- 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.
- HALLİDAY,D., RESNİCK,R., 1992. Fiziğin Temelleri-1 (Çeviren Prof.Dr. Cengiz Yalçın) 3.Basım,368-369.
- HİŞİL, Y. VE ÜNLÜ, Z. N., 1996, Süperkritik Akışkanlarla Ekstraksiyon Teknolojisi ve Gıda Sanayiindeki Uygulamaları, *Gıda Teknolojisi*,1 (8), 46–54.
- <http://www.tr.wikipedia.org/soxhlet> [18 Mart 2009]
- http-2: <http://www.medicalnewstoday.com/articles/144041.php>S (20.10.2010)
- İLİSULU, K., 1992. İlaç ve Baharat Bitkileri, Ankara Üniv. Ziraat Fak. Yay. No.1256, Ankara, s.1-6.
- İLÇİM, A., DIĞRAK, M., BAĞCI, E., 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması. *Tr. J. of Biology*, 22: 119-125

- İZGÜ, E., 1973, Genel ve Endüstriyel Farmasi, *Ayyıldız Matbaası*, Ankara.
- JASSBI, A. R., 2006. Chemistry and biological activity of secondary metabolites in *Euphorbia* from Iran. *Phytochemistry*, 67: 1977-1984.
- 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
- KALAYCIOĞLU, A., ÖNER, C. 1994. Bazı bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Amest- Salmonella test istemi ile araştırılması. *Tr. Botany.*, 18: 117-122.
- 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
- KAYAN, B., 2009. *Taxus Baccatal*’nin Farklı Ekstraksiyon Yöntemleri ile Ekstraksiyonu ve Ekstraksiyon Verimlerinin Karşılaştırılması. Mersin Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü Kimya Ana Bilim Dalı Doktora Tezi.
- KHANAİ, M., GHASEMIAN, L., MOTLAGH, E. H., HADJIAKHOONDI, A. AND SHAFIEE, A., 2005. Chemical composition of the essential oils of *Marrubium parviflorum* Fisch. & Mey. And *Marrubium vulgare* L. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 20: 324-326.
- KILIÇ, A., 2008. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri” Bartın Orman Fakültesi Dergisi, 10(13): 37-45.
- LAWRENCE, B.M., 1995. The Isolation of Aromatic Materials from Natural Plant Products In: A Manual on the Essential Oils and Aroma Chemicals Industries, K. Tuley de Silva (Eds.), UNIDO, Vienna.
- 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, 1997 b Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 12: Essential Oils and waxes, Springer, Germany.
- LINSKENS, H.F., JACKSON, J.F, 1997a Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 19: Plant Volatile Analysis, Springer, Germany.
- MATKOWSKI, A., AND PIOTROWSKA, M., 2006. Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Some Medicinal Plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77:346-353.
- 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.
- ORHAN, I. E., BELHATTAB, R., SENOL, F. S., GULPINAR, A. R., HOSBAS, S. AND KARTAL, M., 2010. Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. Herba-alba*, *A. Fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. Astranicum*, *Origanum vulgare* subsp.glandulosum and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 32: 566-571.
- Ö.POLAT, S.ÖTLEŞ, 1997. Esansiyel yağların ekstraksiyon yöntemleri. E.Ü. Mühendislik Fakültesi Dergisi, Seri B, 15, (1-2), 155-161.
- ÖZCAN, A. AND ÖZCAN, A. S., 2004. Comparision of supercritical fluid and Soxhlet extractions fort the quantification of hydrocarbons from *Euphorbia macroclada*. *Talanta*, 64: 491-495.
- ÖZEL, Z. M., GOGUS, F., LEWIS, C. A., 2003. Subcritical water extraction of essential oils from *Thymbra spicata*. *Food Chemistry*, 82:381-386.
- ÖZGÜVEN, M., SEKİN, S., GÜRBÜZ, B., ŞEKEROĞLU, N., AYANOĞLU, F., EKREN, S., 2005. Tütün, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Üretimi ve Ticareti. TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası. Türkiye Ziraat Mühendisliği VI. Teknik Kongresi. 3-7 Ocak 2005, Milli Kütüphane Konferans Salonu, ANKARA. Bildiri Kitabı (1)481-501.

- PICCOLI, P. N. AND BOTTINI, R., 2008. Accumulation of the Labdane Diterpene Marrubiin in Glandular Trichome Cells Along the Ontogeny of *Marrubium vulgare* Plants. *Plant Growth Regul*, 56:71-76.
- 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., MIRHOSSEINI, M.A., 2004 *Extraction Of Volatile Compounds From Juniperus communis L. Leaves With Supercritical Fluid Carbon Dioxide:Comparison With*
- PUKALSKAS, A., VENSKUTONIS, P. R., SALIDO, S., WAARD, P. AND BEEK, T. A., 2012. Isolation, Identification and Activity of Natural Antioxidants from horehound (*Marrubium vulgare* L.) Cultivated in Lithuania. *Food Chemistry*, 130:695-701
- 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.
- ROWE, J.W., 1989. *Natural Products of Woody Plants* Vol.2, Springer, Germany.
- SADEGHI-ALIABADI, H., SAJJADI, S.E. AND KHODAMORADI, M., 2009. Cytotoxicity of *Euphorbia macroclada* on MDA-MB-468 Breast Cancer Line. *Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(2): 103-108
- SAHPAZ, S., GARBACKI, N., TIST, M. AND BAILLEUL, F., 2002. Isolation and Pharmacological Activity of Phenylpropanoid Esters from *Marrubium vulgare*. *Journal of Ethnopharmacology*, 79:389-392
- SARKER, S. D., LATİF, Z., GRAY, A. I., 2006, *Natural Products Isolation*, 2nd Edition, HUMANA Press Inc., New Jersey, 27 – 46 ve 47 –76.

- SHOKOOHINIA, Y., SAJJADI, S-E., ZOLFAGHARI, B., CHIANESE, G., APPENDINO, G. AND TAGLIALATELA-SCAFATI, O., 2010. Diterpenoid (poly) esters and a ring A-seco-phorboid from the aerial parts of *Euphorbia macroclada* Boiss. *Fitoterapia*, 81: 884-890
- SMITH, R.M. 2002. Extractions with superheated water. *Journal of Chromatography A* .975:31-46
- 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, A. 1992. Türkiye’de Bitkisel Çeşitlilik ve Bitki Genetik Kaynakları, *Anadolu J. of AARI* 2: 50-64, MARA, İzmir.
- TANKER, M., TANKER, N., 1976. *Farmakognozi Cilt II*, Reman Matbaası, İstanbul.
- TANKER, M., TANKER, N., Uçucu yağlar, *Farmakognozi Cilt 2*, Ankara Üniversitesi
- THAPA, B.B., Extraction of essential oil, *National Workshop on Chemical Investigation and Processing of Aromatic Plants, Nepal*, 71-81 (1989).
- 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.
- VONDERBANK, H. 1949. Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose. *Pharmazie*, 4: 198-207.
- WANG,L., WELLER, C.L., 2006. Recent advanced in extraction of nutraceuticals from plants” *Trends in Food Science & Technology*, 17: 300-312.
- WIJESEKERA, R.O.B., 1993. Practical manual on the essential oils industry, agrotechnology, Processing, Quality Assesment, UNIDO, 100-121.
- 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
- YAŞAR, S., 2005. Çukurova Üniversitesi kampüsünde Doğal Yetişen Bazı Çok Yıllık Tıbbi Bitkilerin Toprak Özellikleri İle Sabit ve Uçucu Yağ İçeriklerinin Belirlenmesi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana.
- 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

1985 yılında Mersin’de doğdu. İlk öğrenimini Sadıka Sabancı ilkokulunda, orta öğrenimini Kerim Çeliktaş Türkocağı ilköğretim okulunda, lise öğrenimini ise Tarsus Mustafa Kemal Anadolu lisesinde tamamladı. 2003 yılında Mersin Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümüne girdi. 2009 yılında Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilimdalında yüksek lisans eğitimine başladı. 07.2009-12.2010 EKSOY Kimyevi Maddeler ve Tarım Ürünleri – AR&GE Mühendisi olarak çalıştı. 04.07.2011-29.09.2011 tarihleri arasında Instituto de Ciencias Agrarias, Consejo Superior de Investigaciones Cientificas (ICA-CSIC)/İspanya (Bilim Araştırma Laboratuvarı) de Erasmus Staj Hareketliliği ile 3 ay staj yaptı.