

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

**BAZI *ACHILLEA* TÜRLERİ UÇUCU
YAĞLARININ KİMYASAL
BİLEŞİMLERİNİN VE ESER
ELEMENTLERİNİN TAYİNİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hanifi ÇETİN

ANALİTİK KİMYA ANABİLİM DALI

**DANIŞMAN
Doç. Dr. F. Zehra KÜÇÜKBAY**

MALATYA - 2013

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI *ACHILLEA* TÜRLERİ UÇUCU
YAĞLARININ KİMYASAL
BİLEŞİMLERİNİN VE ESER
ELEMENTLERİNİN TAYİNİ**

Hanifi ÇETİN

Doç. Dr. F. Zehra KÜÇÜKBAY

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Birimi tarafından 2010/133 proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA - 2013

ONAY

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Analitik Kimya Anabilim Dalı Analitik Kimya Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Prof.Dr. Mehmet YAMAN



Danışman

Doç. Dr. F.Zehra KÜÇÜKBAY



Üye

Doç. Dr. Selim ERDOĞAN



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2013 tarih ve 2013/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sedat YILDIZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamı öneren ve çalışmam esnasında gerekli tüm olanakları sağlayan ve değerli bilgileriyle beni yönlendiren Sayın Hocam Doç. Dr. F. Zehra KÜÇÜKBAY a sevgi, saygı ve şükranlarımı sunarım.

Desteklerinden dolayı İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi ne teşekkür ederim.

Tez çalışmamı istatitiki açıdan değerlendiren İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Saim YOLOĞLU na teşekkür ederim.

Desteklerinden dolayı İnönü Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitikkimya Anabilim dalında görevli Araştırma Görevlisi Ebru KUYUMCU ya, İnönü Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi nde çalışan Uzm. Dr. Tuğba R. KIRAN ve Uzm. Onur ÖZGÜL e, aileme özellikle annem ve eşime teşekkür ederim.

ÖZET

Achillea (civanperçemi) cinsinin Türkiye de 24 tanesi endemik olmak üzere 48 türünün (54 takson) yayılış gösterdiği belirlenmiştir. *Achillea* türleri, halk sağlığında yaralar, iltihabi durumlar, ağrı ve gastrointestinal hastalıklar gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır.

Bu çalışmada, *Achillea* cinsine ait *Achillea grandifolia* Friv., *Achillea nobilis* subsp. *spiylea* ve *Achillea teretifolia* Willd. türlerinin uçucu yağ içerikleri ve bu bitkilere ait eser element analizi yapılmıştır.

Bitkilerin kurutulmuş toprak üstü kısımları, Clevenger tipi aparatla hidrodistilasyona tabi tutulmuş uçucu yağları elde edilmiştir. Kuru ağırlıklarına göre *Achillea grandifolia* Friv., *Achillea nobilis* Subsp *spiylea* ve *Achillea teretifolia* Willd. bitkilerinin uçucu yağ verimleri sırasıyla % 0.2635, 0.5191 ve 0.4162 (w/w) bulunmuştur. Uçucu yağların kimyasal içeriği Gaz Kromatografisi (GC) ve Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) ile belirlenmiştir. Uçucu yağ etken bileşenleri *A. grandifolia* Friv. için, piperitone, carvacrol ve p-Cymene; *A. nobilis* subsp. *Spiylea* için, cis-Cadin-4-en-7-ol, linalool ve 1,8-Cineole; *A. teretifolia* Willd için, piperitone, 1,8-Cineole ve T-Cadinol olarak belirlendi. Numune bileşenleri, alev iyonizasyon dedektörü (FID) ve kütle kromatogramlarının karşılaştırılması ile belirlendi. Kütüphane taraması Wiley7n, ADAMS, Flavour2 ve NIST05 kütüphaneleri kullanılarak yapıldı. Ayrıca bileşenlerin yüzde miktarları FID kromatogramları kullanılarak alan normalizasyonu yöntemi ile hesaplandı.

Bitki örnekleri, eser element analizinden önce örnekler mikrodalga tekniğiyle çözüldü. Kullandığımız metodun doğruluk ve kesinliğini test etmek amacıyla SRM (NIST – SRM 1515, Apple Leaves and NIST – SRM 1570a, Spinach) kullanıldı. Bitkilerdeki Al (172-270 mg/kg), Cu (6.98-11.46 mg/kg), Fe (41.70-102.25 mg/kg), Mn (46.54-84.67 mg/kg) ve Zn (19.92-54.77 mg/kg) elementlerinin derişimleri Alevli-AAS, B (28.64-37.71 mg/kg), Cd (0.40-1.23 mg/kg), Co (0.16-0.34 mg/kg), Pb (0.62-0.89 mg/kg) ve Se (0.056-0.065 mg/kg) elementlerinin derişimleri de Elektro Termal-AAS ile belirlendi.

Anahtar Kelimeler : *Achillea*, Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi, Eser element, Gaz Kromatografisi, Uçucu Yağ, Kütle Spektroskopisi

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE CHEMICAL COMPONENTS OF ESSENTIAL OILS AND TRACE ELEMENTS OF SOME GENUS *ACHILLEA*

The genus *Achillea* (civanperçemi) is represented by 48 species (54 taxa), 24 being endemic in Turkey. *Achillea* species, has been used in folk medicine to treat complaints such as wounds, inflammation, pain, gastrointestinal diseases.

In this study, essential oil contents of wild-types *Achillea grandifolia* Friv., *Achillea nobilis* subsp. *spylea* and *Achillea teretifolia* from *Achillea* genus were investigated and trace elements that belonging to this plants were analysed.

The air-dried and aerial parts of plants collected were submitted for 3h to hydrodistillation using a Clevenger apparatus to produce the essential oils in yield of 0.2635, 0.5191 and 0.4162 % (w/w) based on the dry weight of the samples from *Achillea grandifolia* Friv., *Achillea nobilis* Subsp. *spylea* and *Achillea teretifolia* Willd. , respectively. Chemical contents of essential oils were determined using gas chromatography (GC) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS). Main constituents of essential oils were determined for *A. grandifolia* Friv., piperitone, carvacrol and p-Cymene; for *A. nobilis* subsp. *spylea*, cis-Cadin-4-en-7-ol, linalool and 1,8-Cineole; for *A. teretifolia* Willd, piperitone, 1,8-Cineole and T-Cadinol. Sample components were determined by comparison of the FID and the mass chromatograms. Library screening were made using Wiley7n, ADAMS, Flavour2 and NIST05 the libraries. Percent related of the amounts allocated of the components were calculated using FID chromatograms by the area normalization method.

The plant samples were digested using microwave techniques before trace element analysis. The accuracy and precision of method were tested and verified by SRM materials (NIST – SRM 1515, Apple Leaves and NIST – SRM 1570a, Spinach). The elements such as Al (172-270 mg/kg), Cu (6.98-11.46 mg/kg), Fe (41.70-102.25 mg/kg), Mn (46.54-84.67 mg/kg) and Zn (19.92-54.77 mg/kg) were analysed by Flame AAS and B (28.64-37.71 mg/kg), Cd (0.40-1.23 mg/kg), Co (0.16-0.34 mg/kg), Pb (0.62-0.89 mg/kg) and Se (0.056-0.065 mg/kg) were analysed by on ET-AAS.

Key Words : *Achillea*, Atomic Absorption Spectrofotometer, Trace Element, Gas Chromatography, Essential Oil, Mass Spectroscopy

İÇİNDEKİLER

ONAY	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Bitkilerle Tedavi ve <i>Achillea</i> (Civanperçemi).....	4
2.1.1. <i>Achillea grandifolia</i> Friv.	9
2.1.2. <i>Achillea nobilis</i> subsp. <i>sipylea</i> (O.Schwarz) Bässler	10
2.1.3. <i>Achillea teretifolia</i> Willd.	11
2.2. Bitkilerdeki Etken Maddeler ve Uçucu Yağlar	11
2.2.1. Uçucu Yağlar	12
2.2.1.1. Uçucu Yağ ve Diğer Bitki Kimyasallarının Kullanım Alanları.....	14
2.2.1.1.1. Gıda Koruyucu Olarak Kullanımı	14
2.2.1.1.2. Tıbbi Amaçlı Olarak Kullanımı	15
2.2.1.1.3. Bitki Zararlıları ve Yabancı Otlara Karşı Kullanımları.....	15
2.2.1.2. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri.....	16
2.2.1.2.1. Distilasyon	16
2.2.1.2.2. Ekstraksiyon.....	17
2.2.1.2.3. Çok Yönlü Ekstraksiyon Yöntemleri	20
2.2.1.2.4. Mekanik Yöntem.....	20
2.2.1.2.5. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemlerinin Değerlendirilmesi	20
2.3. Eser Elementler.....	22
2.3.1. Alüminyum.....	24
2.3.2. Bakır	24
2.3.3. Bor.....	25
2.3.4. Çinko	26
2.3.5. Demir.....	27

2.3.6. Kadmiyum	28
2.3.7. Kobalt	29
2.3.8. Kurşun	30
2.3.9. Mangan	31
2.3.10. Selenyum	32
2.4. Bitkilerin Analize Hazırlanması ve Analizleri	33
2.4.1. Toplama.....	34
2.4.2. Kurutma.....	34
2.4.3. Saklama	35
2.4.4. Çözünürleştirme ve Çözünürleştirme Yöntemleri	35
2.4.4.1. Kuru Yakma ile Çözünürleştirme	35
2.4.4.2. Yaş Yakma ile Çözünürleştirme	36
2.4.4.2.1. Mikrodalga ile Çözünürleştirme	38
2.4.4.2.1.1. Düşük Basıncılı Kaplar	40
2.4.4.2.1.2. Yüksek Basıncılı Kaplar	40
2.4.4.2.1.3. Atmosferik Basıncılı Kaplar	41
2.4.4.2.1.4. Mikrodalga Fırın.....	41
2.5. Kromatografi.....	43
2.5.1. Kromatografik Teorinin Temeli.....	45
2.5.2. Kromatografinin Uygulamaları.....	48
2.5.2.1. Kalitatif Analiz.....	49
2.5.2.2. Kantitatif Analiz.....	49
2.5.2.2.1. Pik Yüksekliğine Dayalı Analizler.....	50
2.5.2.2.2. Pik Alanına Dayanan Analizler.....	50
2.5.2.2.3. Kromatografik Yöntemlerde Kalibrasyon ve Standartlar	51
2.5.2.2.4. İç Standart Yöntemi.....	51
2.5.2.2.5. Alan Normalizasyon Yöntemi	52
2.6. Gaz Kromatografisi (GC).....	52
2.6.1. Gaz Kromatografisi Cihazı	54
2.6.1.1. Taşıyıcı Gaz Sistemi.....	55
2.6.1.2. Numune Enjeksiyonu ve Isıtılması	57
2.6.1.3. Ayırma Kolonu	57
2.6.1.3.1. Dolgulu Açık Tüplü Kolonlar	58
2.6.1.3.2. Açık Tüplü Kolonlar.....	59
2.6.1.4. Dedektörler	60
2.6.1.4.1. Termal İletkenlik Dedektörleri.....	61

2.6.1.4.2. β -Işını Dedektörleri	62
2.6.1.4.3. Alev İyonizasyon Dedektörleri	62
2.6.1.4.4. Termiyonik Dedektörler	63
2.6.1.4.5. Elektron Yakalama Dedektörleri.....	63
2.6.1.4.6. Alev Fotometrik Dedektörler	64
2.6.2. Ayırmaya Etki Eden Faktörler	64
2.7. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS).....	65
2.7.1. Kütle Spektrometresi.....	66
2.7.1.1. Numuneyi Cihaza Alma Kısmı.....	66
2.7.1.2. İyonlaştırma Bölümü	67
2.7.1.3. Analizör	67
2.7.1.3.1. Kuadropol Kütle Analizörleri	68
2.7.1.3.2. Uçuş Zamanlı Kütle Analizörleri	69
2.7.1.3.3. Çift-Odaklamalı Analizörler	69
2.7.1.3.4. İyon Tuzaklı Analizörler.....	71
2.7.1.4. Dedektör	71
2.8. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi	72
2.8.1. Atomik Absorpsiyonda Çizgi Genişlemeleri.....	73
2.8.1.1. Belirsizlik Etkisi.....	74
2.8.1.2. Doppler Etkisi	74
2.8.1.3. Basınç Etkisi	76
2.8.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopide Girişimler.....	76
2.8.2.1. Kimyasal Girişimler	76
2.8.2.2.İyonizasyon Girişimleri	77
2.8.2.3. Spektral Girişimler	78
2.8.2.3.1. Çift Çizgi Düzeltme Yöntemi	79
2.8.2.3.2. Sürekli Işın Kaynağı ile Düzeltme	79
2.8.2.3.3. Zeeman Etkisine Dayanan Zemin Düzeltme	80
2.8.2.3.4. Smith-Hieftje Zemin Düzeltme Yöntemi	83
2.9.1.3. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinin Kısımları	84
2.8.3.1. Işın Kaynakları.....	84
2.8.3.1.1. Oyuk Katot Lambaları	85
2.8.3.1.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları.....	86
2.8.3.1.3. Yüksek Işımalı Lambalar	87
2.8.3.1.4. Buhar Boşalım Lambaları.....	87
2.8.3.2. Atomlaştırıcılar	87

2.8.3.2.1. Aevli Atomlaştırıcılar	87
2.8.3.2.2. Elektrotermal Atomlaştırıcılar	90
2.8.3.2.3. Hidrür Atomlaştırma	92
2.8.3.3. Monokromatörler	92
2.8.3.3.1. Bunsen Monokromatörü	93
2.8.3.3.2. Littrow Monokromatörü	94
2.8.3.3.3. Optik Ağlar	94
2.8.3.4. Dedektörler	95
2.8.3.4.1. Fotovoltaik Hücreler.....	96
2.8.3.4.2. Fototüpler.....	96
2.8.3.4.3. Fotoçoğaltıcı Tüpler	97
3. GEREÇ VE YÖNTEM	98
3.1. Bitki Materyali.....	98
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Aletler	98
3.1.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Diğer Yardımcı Aletler	101
3.1.3. Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	101
3.2. Yöntem	104
3.2.1. Uçucu Yağ Eldesi ve Analizi.....	104
3.2.1.1. Su Distilasyonu ile Uçucu Yağ Eldesi	104
3.2.1.2. Uçucu Yağın GC, GC-MS Analizi.....	105
3.2.1.3. Bazı Uçucu Yağ Bileşenlerinin Standart Kromatogramları	107
3.2.2. Bitkilerin Element Analizi.....	128
3.2.2.1. Mikrodalga Yöntemi ile Çözünürleştirme ve Eser Element Tayini.....	128
3.2.2.2. AAS de Kullanılan Sertifikalı Standartların Geri Kazanımları	130
3.2.2.3. AAS Kalibrasyon Grafikleri	132
4. BULGULAR	138
4.1. Bitki Örneklerine Ait Element Analizi Sonuçları.....	138
4.2. GC, GC-MS Sonuçları	139
5. TARTIŞMA.....	163
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	171
KAYNAKLAR.....	174
ÖZGEÇMİŞ.....	187

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
GC	: Gaz Kromatografi
GC-MS	: Gaz Kromatografi-Kütle Spektrofotometresi
AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
F-AAS	: Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
ET-AAS	: Elektro Termal Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
RDA	: Recommended Dietary Allowance
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
SPME	: Katı Faz Mikroekstraksiyon
GSC	: Gaz Katı Kromatografisi
GLC	: Gaz Sıvı Kromatografisi
SCOT	: Dolgu Maddesi Sıvıyla Kaplanmış Olan Kolonlar
WCOT	: Yüzeyi Sıvıyla Kaplanmış Olan Kolonlar
FSOD	: Eritilmiş Silikadan İmal Edilen Kolonlar
FID	: Alev İyonizasyon Dedektörü
TID	: Termiyonik Dedektör
ECD	: Elektron Yakalama Dedektörü
SRM	: Standart Referans Madde
RI	: Retention Index
MA	: Molekül Ağırlığı
NIST	: National Institute of Standards and Technology

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.1. <i>A. grandifolia</i> Friv. fotoğrafı A. Genel görünüşü, B. Yaprak, C. Korimbus.....	9
Şekil 2.1.2. <i>A. nobilis</i> subsp. <i>Sipylea</i> nın fotoğrafı A. Genel görünüşü, B. Yaprak, C. Korimbus, D. Çiçekler.....	10
Şekil 2.1.3. <i>A. teretifolia</i> Willd. fotoğrafı A. Genel görünüşü, B. Yaprak, C. Korimbus, D. Çiçekler.....	11
Şekil 2.2.1. İzopren molekülü.....	13
Şekil 2.4.1. Elektromanyetik spektrum.....	38
Şekil 2.4.2. Mikrodalga ile çözünürleştirmede kullanılan kaplar.....	40
Şekil 2.4.3. Mikrodalga ile çözünürleştirmede kullanılan mikrodalga fırın.....	41
Şekil 2.5.1. Kolon kromatografisi ile A ve B maddelerinin ayrılma diyagramı..	44
Şekil 2.5.2. Alıkonma zamanı ve pik genişliğinin şeması.....	46
Şekil 2.6.1. Gaz kromatografisi cihazının bölümleri.....	55
Şekil 2.6.2. Gaz kromatografisi cihazında taşınma işlemi.....	56
Şekil 2.7.1. Kütle spektrometresi analizörü.....	68
Şekil 2.7.2. Mattacuh-Herzog tipi çift odaklamalı kütle spektrometre.....	70
Şekil 2.8.1. Bir atomik çizginin profili.....	73
Şekil 2.8.2. Doppler etkisi a) Dedektöre yaklaşan taneciğin Doppler etkisi b) Dedektörden uzaklaşan taneciğin Doppler etkisi.....	75
Şekil 2.8.3. Alüminyumun, magnezyum üzerine kimyasal girişimi ve bunun lantan ile giderilmesi.....	77
Şekil 2.8.4. Sürekli ışın kaynağı ile spektral girişimin engellendiği bir sistem....	80
Şekil 2.8.5. Zeeman etkisi ile π ve σ absorpsiyonları.....	81
Şekil 2.8.6. Zeeman etkisi ile zemin düzeltme.....	82
Şekil 2.8.7. Zeeman etkili cihazların şematik gösterimi.....	83
Şekil 2.8.8. Atomik Absorpsiyon Spektrometresinin şeması.....	84
Şekil 2.8.9. Oyuk katot lambası.....	85
Şekil 2.8.10. Elektrotsuz boşalım lambası.....	86
Şekil 2.8.11. Atomlaşma anında meydana gelen süreçler.....	88
Şekil 2.8.12. Alevli atomlaştırıcı çeşitleri; a) Ön karıştırılmalı b) Ön karıştırmazsız.....	90

Şekil 2.8.13. Elektrotermal atomlaştırıcı.....	91
Şekil 2.8.14. Bunsen prizmalı bir monokromatör. A) giriş aralığı, BB') mercekler, C) prizma, D) çıkış aralığı.....	93
Şekil 2.8.15. Geçirgen optik ağ.....	94
Şekil 2.8.16. Yansıtımlı optik ağ.....	95
Şekil 2.8.17. Dinot şeması.....	97
Şekil 3.2.1. Clevenger tipi aparat.....	104
Şekil 3.2.2. α -pinene standardına ait kromatogram	108
Şekil 3.2.3. Camphene standardına ait kromatogram.....	109
Şekil 3.2.4. β -pinene standardına ait kromatogram	110
Şekil 3.2.5. Eucalyptol (1,8-Cineole) standardına ait kromatogram.....	111
Şekil 3.2.6. <i>p</i> -Cymene (Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-) standardına ait kromatogram	112
Şekil 3.2.7. Camphor standardına ait kromatogram	113
Şekil 3.2.8. Terpinen-4-ol (3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1- (1-methylethyl)-) standardına ait kromatogram	114
Şekil 3.2.9. α -humulene (α -caryophyllene) standardına ait kromatogram.....	115
Şekil 3.2.10. Caryophyllene oxide standardına ait kromatogram	116
Şekil 3.2.11. Carvacrol (Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-) standardına ait kromatogram	117
Şekil 3.2.12. A. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, B. <i>A. nobilis</i> subsp <i>sipylea</i> (BY 15750) ait kromatogram, C. α -pinene standardına ait kromatogram.....	118
Şekil 3.2.13. A. <i>A. grandifolia</i> Friv. (BY15621) ait kromatogram B. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, C. <i>A. nobilis</i> subsp <i>sipylea</i> (BY 15750) ait kromatogram, D. Camphene standardına ait kromatogram.....	119
Şekil 3.2.14. A. <i>A. nobilis</i> subsp <i>sipylea</i> (BY 15750) ait kromatogram, B. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram C. β -pinene standardına ait kromatogram.....	120
Şekil 3.2.15. A. <i>A. grandifolia</i> Friv. (BY15621) ait kromatogram B. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram,	

	C. <i>A. nobilis</i> subsp <i>sipylea</i> (BY 15750) ait kromatogram,	
	D. Eucalyptol standardına ait kromatogram.....	121
Şekil 3.2.16.	A. <i>A. grandifolia</i> Friv. (BY15621) ait kromatogram	
	B. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram,	
	C. <i>A. nobilis</i> subsp <i>sipylea</i> (BY 15750) ait kromatogram,	
	D. <i>p</i> -Cymene standardına ait kromatogram.....	122
Şekil 3.2.17.	A. <i>A. grandifolia</i> Friv. (BY15621) ait kromatogram	
	B. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram,	
	C. <i>A. nobilis</i> subsp <i>sipylea</i> (BY 15750) ait kromatogram,	
	D. Camphor standardına ait kromatogram.....	123
Şekil 3.2.18.	A. <i>A. grandifolia</i> Friv. (BY15621) ait kromatogram	
	B. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram,	
	C. <i>A. nobilis</i> subsp <i>sipylea</i> (BY 15750) ait kromatogram,	
	D. Terpinen-4-ol standardına ait kromatogram.....	124
Şekil 3.2.19.	A. <i>A. nobilis</i> subsp <i>sipylea</i> (BY 15750) ait kromatogram,	
	B. α -humulene standardına ait kromatogram.....	125
Şekil 3.2.20.	A. <i>A. grandifolia</i> Friv. (BY15621) ait kromatogram	
	B. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram,	
	C. Caryophyllene Oxide standardına ait kromatogram.....	126
Şekil 3.2.21.	A. <i>A. grandifolia</i> Friv. (BY15621) ait kromatogram	
	B. <i>A. teretifolia</i> Willd. (BY 15637) e ait kromatogram,	
	C. Carvacrol standardına ait kromatogram.....	127
Şekil 3.2.22.	Mikrodalga yardımıyla çözünürleştirme akış şeması.....	129
Şekil 3.2.23.	Alüminyum elementine ait kalibrasyon grafiği.....	133
Şekil 3.2.24.	Bor elementine ait kalibrasyon grafiği.....	133
Şekil 3.2.25.	Kadmiyum elementine ait kalibrasyon grafiği.....	134
Şekil 3.2.26.	Kobalt elementine ait kalibrasyon grafiği.....	134
Şekil 3.2.27.	Bakır elementine ait kalibrasyon grafiği.....	135
Şekil 3.2.28.	Demir elementine ait kalibrasyon grafiği.....	135
Şekil 3.2.29.	Mangan elementine ait kalibrasyon grafiği.....	136
Şekil 3.2.30.	Kurşun elementine ait kalibrasyon grafiği.....	136
Şekil 3.2.31.	Selenyum elementine ait kalibrasyon grafiği.....	137

Şekil 3.2.32. Çinko elementine ait kalibrasyon grafiği.....	137
Şekil 4.1.1. <i>A.grandifolia</i> Friv. (BY 15621) ya ait kromatogram.....	140
Şekil 4.1.2. <i>A.nobilis</i> Subsp. <i>sipylea</i> ya ait kromatogram.....	146
Şekil 4.1.3. <i>A.teretifolia</i> Willd. e ait kromatogramlar.....	156

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.3.1. Elementlerin, tavsiye edilen günlük alım miktarları.....	23
Tablo 2.9.1. Alevli atomlaştırmada kullanılan gaz karışımları ve oluşan sıcaklıklar.....	89
Tablo 3.1.1. Alevli-AAS ile eser element tayin koşulları.....	99
Tablo 3.1.2. ET-AAS ile eser element tayin koşulları.....	100
Tablo 3.1.3. ET-AAS ile eser element tayininde kullanılan sıcaklık Programları.....	100
Tablo 3.1.4. ET-AAS ile eser element tayininde kullanılan sıcaklık programına ait çıkış ve bekleme süreleri.....	101
Tablo 3.2.1. GC / GC-MS analizine ait sıcaklık programlaması.....	105
Tablo 3.2.2. Mikrodalga yardımıyla çözünürleştirme işlem basamakları.....	130
Tablo 3.2.3.a. Elma yaprağı standardının (NIST – SRM 1515, Apple Leaves) elementlerdeki sertifikalı değerleri, gözlenen değerleri ve % geri kazanımları.....	131
Tablo 3.2.3.b. Ispanak standardının(NIST – SRM 1570a, Spinach) elementlerdeki sertifikalı değerleri, gözlenen değerleri ve % geri kazanımları.....	132
Tablo 4.1.1. Bitkilere ait eser element analizi sonuçları	141
Tablo 4.1.2. <i>A.grandifolia</i> (BY 15621) uçucu yağının kimyasal bileşenleri.....	147
Tablo 4.1.3. <i>A. nobilis</i> Subsp <i>Sipylea</i> (BY-15750) uçucu yağının kimyasal Bileşenleri.....	157
Tablo 4.1.4. <i>A.teretifolia</i> Willd. (BY 15637) uçucu yağının kimyasal bileşenleri.....	162

1. GİRİŞ

Aromatik bitkiler ve onların ekstraktları, genelde yiyeceklere ya aroma ve tat katmak için yada koruyucu ve tıbbi özellik göstermelerinden ötürü katkı maddesi olarak antik çağlardan beri kullanılmaktadır. Aromatik bitkilerin farmasötik özellikleri, kısmen esansiyel yağlara atfedilir (1). Uçucu yağlar olarak da bilinen esansiyel yağlar, uçucu aroma bileşenleri içeren konsantre doğal bitki ürünleridir. Etki dereceleri içerdikleri etken maddenin özelliklerine bağlı olarak değişiklik gösteren pek çok uçucu yağın, antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu belirtilmektedir (2).

Bugün doğada yetişen 300 e yakın bitki familyasından yaklaşık 1/3 ünün uçucu yağ içerdiği bilinmekle birlikte, uçucu yağlar daha çok çiçekli bitkilerde bulunmaktadır. En fazla uçucu yağ içeren familyalar ise Pinaceae, Lamiaceae (Labiatae), Apiaceae (Umbelliferae), Lauraceae, Myrtaceae, Rutaceae, Asteraceae (Compositae), Piperaceae, Brassicaceae, Verbenaceae ve Ranunculaceae olarak belirtilmiştir. Bu familyalara dahil uçucu yağ içeren çok sayıda tür bulunmaktadır (3).

Bu familyalardan *Achillea* cinsini de içeren Asteraceae (Compositae), çiçekli bitkilerin en büyük ikinci familyası olarak bilinir. Yapılan son çalışmalara göre *Achillea* cinsinin Türkiye de 24 tanesi endemik olmak üzere 48 türünün (54 takson) yayılış gösterdiği belirlenmiştir (4-6).

Achillea millefolium subsp. millefolium Afan. in uçucu yağının GC-MS analizi sonucunda ana bileşenleri; 1,8-cineole, camphor, α -terpineol ve β -pinene olarak bulunmuş ve suda çözünen ekstraktlarının antioksidan aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda tesbit edilmiştir. Bunun yanında metanolik ekstraktların suda çözünmeyen kısımlarının ya çok düşük ya da hiç aktivite gösterememesine rağmen uçucu yağın altı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal özellik gösterdiğini belirlemişlerdir (7).

Achillea setacea ve *Achillea teretifolia* bitkileri ile yapılan bir çalışmada her iki tür içinde etken madde eucalyptol olduğu bulunmuştur. Sonuçta bu bitkilerin

Clostridium perfringens ve *Acinetobacter lwoffii* ye karşı çok güçlü bir etki gösterirken *Staphylococcus aureus*, *S. pneumoniae*, *Bacillus cereus* ve *Mycobacterium smegmatis* e karşı da antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (8).

Uçucu yağ bileşenlerinden olan eucalyptolün; romatizma, bronşit ve sinüzit tedavisinde kullanıldığı ayrıca antiinflamatuvar ve analjezik etkisinin olduğu yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır (9-11). Diğer bileşenlerden olan piperitone ve carvacrol ile ilgili yapılan çalışmalarda her iki bileşeninde antibakteriyel ve antifungal etkisinin olduğu görülmüştür (12-15) . Farklı türdeki *Achillea* bitkilerinin uçucu yağ etken maddeleri ve sahip oldukları farmakolojik özellikleri genel bilgiler kısmında daha ayrıntılı verilecektir.

Pek çok kullanım şekline sahip olan şifalı bitkiler makro ve mikro elementler, polifenoller, vitaminler gibi insan sağlığı için önemli olan maddelere kaynaklık teşkil etmektedir. Bu özelliklerinden dolayı bu bitkiler özellikle işlenmemiş ham şekilleriyle bilhassa içecek olarak veya ilaç yapımında hammadde olarak kullanılmaktadır. Şifalı bitkilerin yapılarındaki bazı elementlerin enzim yapılarına katılarak vücuttaki bazı metabolik olayların devamında rol aldıkları, ayrıca kas ve kemik yapısına katılarak bu yapıların dayanıklılıklarını arttırıcı etki yaptıkları bilinmektedir. Ancak vücuttaki element derişimlerinin belirli bir sınırın üzerine çıkması toksik etkiler oluşturabilmektedir. Ayrıca elementlerin toplam derişiminin yanında buldukları kimyasal formlar biyoyararlılıkları açısından oldukça önemlidir. Bu nedenle vücutta etkin olan element türlerinin belirlenmesine ait çalışmalar artış göstermektedir. Dolayısıyla bu tür bitkilerdeki element derişimlerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. *Achillea* türü bitkiler Anadolu da sıklıkla çay olarak tüketildiği için, bunların eser element derişimlerinin belirlenmesinin önemli olduğu düşünülmektedir. Paracelsus un dediği gibi “Zehir ile panzehir arasındaki fark miktardır” da denilebilir. Dolayısıyla vücuda alınan eser element miktarının önemi çok büyüktür (16,17).

Bu çalışmada *Achillea* cinsine ait *Achillea grandifolia* Friv., *Achillea nobilis* subsp. *spiylea* ve *Achillea teretifolia* Willd. türlerinin hidrodistilasyon ile elde edilen uçucu yağlarının GC, GC-MS yöntemi ile kimyasal içeriği incelenmiştir. Ayrıca bu bitki örnekleri mikrodalga çözünürleştirme yöntemi ile çözünürleştirilip F-AAS ve ET-AAS ile element analizleri yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bitkilerle Tedavi ve *Achillea* (Civanperçemi)

Achillea cinsi bitkiler, bütün dünyada binlerce yıldır tedavi amaçlı kullanılmıştır. Artan bilimsel verilere göre, bu cinsin terapötik değeri çeşitli açılardan kanıtlanmıştır. Araştırmacılar, Irak ta yapılan paleontolojik çalışmalarda, *Achillea* tipi çiçekler bulmuştur. Bu bitkilerin terapötik etkilerinin bulunduğu orta çağa ait bazı kitaplarda yer almaktadır. Uygulama yolları tamamen geleneksel olmasına rağmen *Achillea* türleri, genellikle sindirim sistemi, karaciğer ve safra kesesi rahatsızlıkları, menstural düzensizlikler, kramp, iltihabi durumlar, ateş, yara iyileştirici etkisi ve diüretik etkisi için kullanılmıştır (18).

Achillea ismi, mitolojik bir geçmişe sahiptir. Bu isim bitkiler kullanarak yaralar iyileştiren Achilles ten gelmektedir. Günümüze kadar gelen bilgilere göre; İlyada Destanı kahramanlarından Achilles in savaşlardan sonra kanamalarını durdurmaları ve yaralarını iyileştirmeleri için bu bitkilerden askerlerine dağıttığı bilinmektedir. O zamanlardan beri bu cins Achilles den dolayı *Achillea* adı ile anılmıştır. Günümüzde de hala yara iyileştirici özelliğinden dolayı halk arasında tedavide kullanılmaktadır (19).

Achillea cinsi, deniz seviyesinden 3000 metreye kadar olan habitatlarda yetişebilmektedir. Özellikle ılıman kuşaklarda daha rahat yetişebilir. Büyük kısmı Avrasya da olmakla beraber, bazı türleri Kuzey Afrika, birkaç türü Kuzey Amerika ve Güney yarımkürenin bazı bölgelerinde yayılış gösteren yaklaşık 140 türü bulunmaktadır (20).

Yaygın olarak “civanperçemi” ismi ile bilinmesine karşın, değişik yörelerde “akbaşlı”, “barsamotu”, “binbiryaprakotu”, “marsamaotu”, “kandıliceği” ve “baytaran” isimleri ile de bilinir.

Achillea millefolium Dünya nın çoğu yerinde kültürü yapılan ve bitki çayı şeklinde de yaygın olarak kullanılan bir türdür. Çay olarak içilmesinin yanı sıra merhem, bitki tendürü ya da oturma banyoları şeklinde de kullanılmaktadır. Yalnız Berit Dağı nda (Kahramanmaraş) 2800-3000 metrelerde bulunan *Achillea*

armenorum, sahip olduğu güzel kokusundan dolayı yörede “baytaran” adı ile oldukça iyi bilinen bir türdür (20).

Achillea türü ile ilgili pek çok çalışma yapılmıştır. Bunların bazıları;

Bağcı ve arkadaşları, Elazığ da yetişen iki *Achillea* (*Achillea wilhelmsii* ve *A. schischkinii*) türünden su distilasyonu ile elde ettikleri uçucu yağların GC ve GC-MS ile analizleri sonucunda, sırasıyla otuz iki ve otuz altı bileşen yaklaşık olarak yağın % 99 ve % 97.9 ini oluşturacak şekilde tanımlamışlardır. *Achillea wilhelmsii* de ana bileşenler, camphene (% 7.9), 1,8-cineole (% 6.6), camphor (% 48.2), borneol (% 10.3) ve 3-cycloheksan-1-ol (% 14.2), *A. schischkinii* de ise, 1,8-cineole (% 14.5), linalool L (% 8.9), camphor (% 12.9), isosiklositral (% 7.6), borneol (% 10.9) ve caryophyllene oksit (% 6.3) olduğu tespit edilmiştir (21).

Aslan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, *A. teretifolia* bitkisinin uçucu yağı incelenmiş ve etken maddeler piperitone (% 21,37), linalool (% 18,99) ve 1,8-cineole (% 6,79) olarak saptanmıştır (22).

Bir başka çalışmada ise, Kazakistan’da yetişen 3 farklı *Achillea* türünün uçucu yağları incelenmiştir. *A. millefolium* L. bitkisinde camphor (% 16), 1,8-cineole (% 8,7) ve borneol (% 6,2); *A. nobilis* bitkisinde camphor (% 17), 1,8-cineole (% 15,6) ve terpinen-4-ol (% 10); *A. grandiflora* bitkisinde ise β -pinene (% 8,9), selin-11-en-4 α -ol (% 8,5) ve γ -eudesmol (% 6,3) etken maddeler olarak rapor edilmiştir (23).

Candan ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada *A. millefolium subsp. millefolium Afan.* in metanol ekstraktlarının ve uçucu yağlarının in-vitro şartlarda antimikrobiyal ve antioksidan aktivitelerini araştırmışlardır. Uçucu yağının GC-MS analizi sonucunda ana bileşenleri; 1,8-cineole, camphor, α -terpineol ve β -pinene olmak üzere, 36 bileşik tanımlamışlardır. Çalışma sonucunda; suda çözünen ekstraktların yani polar fazının, antioksidan aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. Bunun yanında metanolik ekstraktların suda çözünmeyen kısımlarının ya çok düşük ya da hiç aktivite göstermemesine rağmen uçucu yağın altı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal özellik gösterdiğini belirlemişlerdir. *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium perfringens*, *Candida albicans a* karşı orta düzeyde aktivite gösterirken

Mycobacterium smegmatis, *Acinetobacter lwoffii* ve *Candida krusei* ye karşı düşük aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir (7).

Ünlü ve arkadaşları, *Achillea setacea* ve *Achillea teretifolia* bitkilerinin antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. *A.setacea* da toplam uçucu yağın % 79,8 ini oluşturan 51 bileşen bulunmuştur. *A.teretifolia* da ise toplam uçucu yağın % 87,1 ini oluşturan 42 bileşen bulunmuştur. Her iki tür içinde etken madde eucalyptol olup sırasıyla % 18,5 ve % 19,9 luk kısmı teşkil etmektedir. Sonuçta *Clostridium perfringens* ve *Acinetobacter lwoffii* ye karşı çok güçlü bir etki gösterirken *Staphylococcus aureus*, *S. pneumoniae*, *Bacillus cereus* ve *Mycobacterium smegmatis* e karşıda antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir (8).

Puerta ve arkadaşları *A. ageratum* uçucu yağı üzerinde yaptıkları çalışmada ana bileşenler olarak artemisia keton, artemisia alkol, β -caryophyllene oxide ve 1,8-cineole ü tespit etmişlerdir. Uçucu yağı Gram (+) *Basillus sp.* ile *Staphylococcus aureus* ve Gram (-) *Escherichia coli* üzerinde etkili bulmuşlardır (24).

Stajanovic ve arkadaşları, *Achillea clavennae*, *Achillea holosericea*, *Achillea lingulata* ve *Achillea millefolium* bitkilerinin toprak üstü kısımlarının hekzan, metanol ve eter ekstraktlarını hazırlayarak beş bakteri türü (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enteritidis*) ve iki mantar türüne karşı (*Aspergillus niger* ve *Candida albicans*) test etmişlerdir. *A.lingulata* ve *A.clavennae* nin çok güçlü antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir.

A.clavennae, *Aspergillus niger* ve *Candida albicans* a karşı klasik antibiyotikler ile eşdeğer hatta daha güçlü bir etki göstermiştir (25).

Küpeli ve arkadaşları, Anadolu da yetişen 5 *Achillea* türünün antinösetif ve anti-inflamatuvar etkilerini incelemiş ve *A. wilhelmsii*, *A. setacea* ve *A. vermicularis* ten hazırlanan etanolü ekstre 500 mg/kg dozda herhangi bir akut toksisite ve gastrik hasar oluşturmaksızın kuvvetli antinösetif ve anti-inflamatuvar aktivite gösterdiğini belirtmişlerdir. *A. phrygia* sadece kuvvetli antinösetif aktivite gösterirken *A.sipikorensis* herhangi bir anti-inflamatuvar ve antinösetif aktivite göstermemiştir (26).

Karaalp ve arkadaşları, 13 *Achillea* türünden (*A. multifida* (DC.) Boiss., *A. teretifolia* Waldst.&Kitt., *A. schischkinii* Sosn., *A. setacea* Waldst.&Kitt., *A. crithmifolia* Waldst.&Kitt., *A. falcata* L., *A. biebersteinii* Afan, *A. coarctata* Poir., *A. millefolium* L. subsp. *pannonica* (Scheele) Hayek., *A. clypeolata* Sm., *A. kotschy* Boiss. subsp. *kotschy*, *A. phrygia* Boiss.&Bal., ve *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek) elde ettikleri 39 farklı ekstraktı *Escherichia coli*., *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus epidermidis*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, ve *Candida albicans* a karşı antimikrobiyal özelliklerini incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda çeşitli *Achillea* türlerinin antibakteriyel özellik gösterdiğini bulmuşlardır (27).

Karamenderes ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada halk arasında karın ağrısına karşı kullanılan endemik *A.nobilis* subsp. *sipylea* nın bu kullanımını doğrulayabilmek amacı ile etanolik ekstresinin sıçan duodenumundaki antispazmodik etkisini araştırmışlardır. Çalışmada, bitkinin yaprak ve çiçekli kısımlarından hazırlanan % 70 lik etanolik ekstre, sıçan duodenumunda asetil kolin ve kalsiyum klorür ile indüklenen doz-yanıt eğrilerinde inhibitör etki göstermiştir. Ayrıca doza bağımlı olarak maksimal yanıtları belirgin şekilde azaltmıştır. Bu sonuçlar *A.nobilis* subsp. *sipylea* total ekstresinin sıçan duodenumunda antispazmodik etkiye sahip olduğunu göstermektedir (28).

Yapılan bir çalışmada Barel ve arkadaşları, *Achillea fragrantissima* dan elde edilen uçucu yağın farklı Gram (+), Gram (-) bakteriler ve *Candida albicans* üzerine etkisini araştırmışlardır. Elde edilen yağ, silika jel kolonda petrol eterinde (30 – 40°C) eter gradiyenti aracılığı ile fraksiyonlamışlardır. Daha az polar bileşik içeren iki fraksiyon sadece *Candida albicans* üzerinde, daha fazla polar bileşik içeren fraksiyonların ise, test edilen bütün mikroorganizmaların gelişimini inhibe ettiğini belirtmişlerdir. Bu bileşiklerden birini de terpinen-4-ol olarak tanımlamışlardır. Ticari olarak elde edilen terpinen-4-ol ünde aynı antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiğini kaydetmişlerdir (29).

Barbour ve arkadaşları, Lübnan da yetişen ve halk ilacı olarak kullanılan 27 bitki türünün farklı kısımlarından elde edilen su ve metanol ekstraktlarının in-vitro

koşullarda antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlardır. Farklı lokaliteden toplanan *Achillea damascena* nın su ekstraktı test mikroorganizmalarından sadece *Staphylococcus aureus* üzerinde etkili olurken, metanol ekstratının *Escherichia coli* hariç tüm test mikroorganizmaları üzerinde etkili olduğunu tespit etmişlerdir (30).

Karamenderes ve arkadaşları, Türkiye nin 7 farklı bölgesinden topladıkları *A. setacea* çiçeklerinden hidrodistilasyonla elde edilen uçucu yağların GC ve GC-MS analizleri sonucu ana bileşenleri saptamışlar ve bu uçucu yağların invitro şartlarda antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Edirne, Tekirdağ, Niğde, Kırşehir, Kırklareli ve Burdur dan toplanmış olan *A.setacea* uçucu yağlarının ana bileşeni 1,8-cineole (sırasıyla, % 35.4 - 48.5 - 34.3 - 36.7 -38.2 - 42.3) olarak saptanırken, Sivas tan toplanmış olan *A.setacea* uçucu yağının chamazulene içerdiği ve ana bileşeninin camphor (% 30.2) olduğu belirlenmiştir.

Mikrodilüsyon tekniğini kullanarak uçucu yağların *Proteus vulgaris*, *Salmonella thyphimurium* ve *Candida albicans* üzerinde antimikrobiyal aktiviteye sahip olduklarını saptamışlardır (31).

Achillea günümüzde antihemorajik, yara iyileştirici, ağrı kesici özelliklerinden dolayı dünyada geniş bir alanda kullanım alanı bulmaktadır. Daha önceleri Kuzey Avrupa ve Güney Amerika yerlileri tarafından gebeliği önleyici, çocuk düşürücü ve menagog olarak kullanılmıştır. *Achillea* türlerinin antioksidan, koruyucu özellikleri, hipoglisemik ve antiülser etkisi farklı bakteri, mantar ve parazitlere karşı etkinliği ve anti inflamatuvar etkilerinin kanıtlandığı çeşitli çalışmalarda görülmüştür (32-41).

2.1.1. *Achillea grandifolia* Friv.

Dünyada Balkan Yarımadası nda, Türkiye de başlıca Anadolu nun dış kısmında 200-1800 metrede yetişir. 40 ile 100 cm arasında, gür, dik, tek ya da birkaç tane, düz, dallanmamış ya da yukarı doğru hafifçe dallanmış, silindirik, boyuna çizgili gövdeye sahip, parçalı yaprakları olan bir bitkidir. Mayıs-Temmuz arasında çiçeklenen, 80-200 arası küçük çiçeğe (Şekil 2.1.1.) sahiptir (20).



Şekil 2.1.1. *A. grandifolia* Friv. fotoğrafı A. Genel görünüşü, B. Yaprak, C.

Korimbus

2.1.2. *Achillea nobilis* subsp. *sipylea* (O.Schwarz) Bässler

Dünyada Doğu Akdeniz de, Türkiye de Batı ve Güneybatı Anadolu da nadir yayılışlı endemik bir bitkidir. 700-1900 metrede yetişir. Parçalı yaprakları ve fildişi-sarı çiçekleri olan (Şekil 2.1.2.) bir bitkidir. Haziran-Ağustos arasında çiçeklenir (20).



Şekil 2.1.2. *A. nobilis* subsp. *Sipylea* nın fotoğrafı A. Genel görünüşü, B. Yaprak, C. Korimbus, D. Çiçekler

2.1.3. *Achillea teretifolia* Willd.

Dünyada İran-Turan da, Türkiye İç ve Güney Anadolu da 900-2150 metrede yetişen endemik bir bitkidir. 20-50 cm boyunda, tabanı ince yaklaşık 1.5 mm çapında, yükselici, çok sayıda, uzun steril sürgünlü, dallanmamış, sık yapraklı, silindirik, boyuna çizgili bir gövdeye sahip, parçalı yaprakları olan (Şekil 2.1.3.) bir bitkidir. Haziran-Ağustos arasında çiçeklenen, 12–50 arası küçük çiçeğe sahiptir (20).



Şekil 2.1.3. *A. teretifolia* Willd. fotoğrafı **A.** Genel görünüşü, **B.** Yaprak, **C.** Korimbus, **D.** Çiçekler

2.2. Bitkilerdeki Etken Maddeler ve Uçucu Yağlar

Tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de çeşitli bitkiler uzun yıllardır 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 işlevi görmesi, pek çok cins ve seksiyonun orjin ve farklılaşım merkezlerinin Anadolu oluşu, muhtemelen ekolojik ve fitocoğrafik farklılaşma ile ilgili olarak tür endemizminin yüksek oluşundan kaynaklanmaktadır. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana laboratuvarlarda araştırılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) araştırmalarına göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20.000 civarındadır (42).

Droglarda selüloz, nişasta, pektin, protein, şeker gibi tedavi bakımından tesiri olmayan bileşenler yanında çok az miktarlarda bile, farmakolojik etkisi olan bileşikler de bulunmaktadır. Bu bileşiklere 'etkili madde' (müessir madde) ismi verilmektedir (43). Bu maddeler:

- ✓ Glikozitler
- ✓ Organik Asitler
- ✓ Tanenler
- ✓ Alkaloidler
- ✓ Sabit Yağlar
- ✓ Reçineli Bileşikler
- ✓ Vitaminler
- ✓ Antibiyotikler
- ✓ Uçucu Yağlardır.

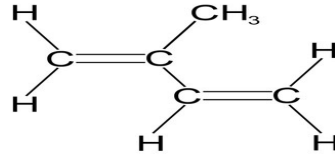
2.2.1. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar, bitkilerden ya da bitkisel droglardan, su veya su buharı distilasyonu ile elde edilen, normal koşullarda sıvı olan fakat bazen donabilen uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsı karışımlardır. Uçucu yağlar, bitkinin herhangi bir organında bulunabilir. Bazen kozalaklılardaki gibi, bitkilerin bütün dokularında olabilir. Çoğu kez bitkinin bağlı olduğu familyaya göre farklılıklar göstererek, belirli bir organda, salgı tüylerinde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında ya da salgı hücrelerinde bulunabilir (44).

Uçucu yağlar, bitkilerin hormonları sayılabilmektedir. İnsan vücudunda bulunan hormonlarla eşdeğer miktarda canlandırıcı, ateşleyici ve aracı olarak görev almaktadır (45).

Uçucu yağlar çok sayıda bileşenden oluşan karışımlardır. İçerdikleri bileşenlerin % 90 ı terpenlerdir. Diğer bileşenler fenilpropen türevleri, basit fenoller ve onların eterleri, fenol karbonik asitler, dallanmamış hidrokarbürler ve türevleri, kısa zincirli asitler, kükürt ve azot içeren bileşiklerdir (46).

Terpenler, 5 karbon atomlu hemiterpen olan izopren molekülünün (Şekil 2.2.1.) kondenzasyonu ile oluşmaktadır. Terpenler, 10 karbon atomu içeren monoterpenler, 15 karbon atomu içeren seskiterpenler, 20 karbon atomu içeren diterpenler, 30 karbon atomu içeren triterpenler ve 40 karbon atomlu tetraterpenlerden oluşmaktadır. Uçucu yağlar büyük oranda monoterpen ve seskiterpen içermektedir (47).



Şekil 2.2.1. İzopren molekülü

Bitkileri oluşturan kimyasal bileşenlerden olan uçucu yağlar, uzun yıllardan beri tedavide kullanılan drogular arasında yer almaktadır. Halk ilacı olarak kullanım amacı doğrultusunda yapılan farmakolojik araştırmalarda biyolojik etkileri çalışmalarda kanıtlanmıştır (48).

Uçucu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlar olduklarından biyolojik etkileri yönünden de farklılık göstermektedir. Etki dereceleri içerdikleri etken maddenin özelliğine bağlı olarak değişiklik gösteren pek çok uçucu yağın, antimikrobiyal özelliğe sahip olduğu belirtilmektedir. Doğada tabii olarak yetişen bazı bitki ekstraktlarının ve uçucu yağlarının bakterilere olduğu kadar, mantarlara karşı da antifungal aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir (42).

Uçucu yağların çoğu renksiz olmasına rağmen, kırmızı (tarçın, karanfil) ve mavi (papatya) renkli olanlarda vardır. Kimyasal içerikleri açısından büyük farklılıklar gösterdikleri halde, fiziksel özellikleri bakımından uçucu yağların, ortak yönleri oldukça çoktur. Genellikle sıvı halde olup kendilerine has kuvvetli ve hoş kokuları vardır. Kırılma indeksleri yüksek, optikçe aktif ve spesifik çevirme açıları ayırt edici özellikleridir.

Uçucu yağlar, su ile karışmayan maddeler olarak bilinse de, kokularının suya geçebileceği oranda suda çözünürler. Bu özelliklerinden yararlanılarak, aromatik sular hazırlanır. Bununla beraber, organik çözücülerin çoğunda (petrol eteri, benzen, eter, etanol gibi) çözünürler. Uçucu yağları, sabit yağlardan ayıran bir özellik sulu etanolde çözünebilmesidir. Belli derecedeki etanolde çözünürlük oranı da, uçucu yağların saflık kontrolünde yararlanılan özelliklerindedir. Uçucu yağların çoğunun yoğunlukları sudan az olmasına rağmen, bazılarının yoğunluğu ise 1 den büyüktür. Eczacılıkta kullanılan uçucu yağların yoğunluğu 0.8 ile 1.3 g/mL arasında değişmektedir. Genelde 0.9 civarındadır (44).

2.2.1.1. Uçucu Yağ ve Diğer Bitki Kimyasallarının Kullanım Alanları

Uçucu yağlar ve diğer bitki kimyasalları; gıda koruyucu olarak, tıbbi amaçlı, bitki zararlıları ve yabancı otlara karşı kullanılmaktadır.

2.2.1.1.1. Gıda Koruyucu Olarak Kullanımı

Gıda kaynaklı hastalıkların hala büyük öneme sahip olduğu, gelişmekte olan ve gelişmiş ülkelerde gıda kaynaklı patojenlerden kaynaklanan ölüm vakaları yaşanmaktadır. Gıda zehirlenmelerine karşı önlemler alınsa da, hem tüketiciler hem de gıda endüstrisi hala tehdit altındadır. Gıda güvenliği için kullanılan koruyucular, tüketicilerde endişe uyandırmaktadır. Bu nedenle, gıda kaynaklı hastalık olaylarının azaltılması için, daha yeni ve daha etkili sonuç verebilecek tekniklere olan ilgi gittikçe artmaktadır. Yapılan araştırmalara göre, bitkiler gibi doğal kaynaklardan elde edilen antimikrobiyal maddelerin uygun dozda kullanılmasıyla, gıda güvenliğini yüksek oranlarda korumayı başardığı bulunmuştur (42).

2.2.1.1.2. Tıbbi Amaçlı Olarak Kullanımı

Uzun süredir bitkiler çeşitli hastalıkların tedavisinde tıbbi amaçlı olarak kullanılmıştır. Uçucu yağlar, bileşenleri farklı olan kompleks karışımlar oldukları için biyolojik etkileri de birbirinden daha farklı olmaktadır. Etken maddelere göre etkileri değişmekle birlikte çoğu uçucu yağ; sedatif, antispazmodik, diüretik, karminatif, koloretik, antiseptik etkilere sahiptir (49 - 51).

Bunun yanında uçucu yağların bazı bakteri ve mantar türleri üzerinde antibakteriyel ve antifungal etkilerinin de olduğu yıllardan beri bilinmektedir (52 - 54).

2.2.1.1.3. Bitki Zararlıları ve Yabancı Otlara Karşı Kullanımları

Kültür bitkilerinin hastalık ve zararlılardan korunması, dolayısıyla kaliteli ve artan nüfusun ihtiyacını karşılayacak şekilde ürün elde edilmesi amacıyla hastalık etkeni olan çeşitli zararlılar ve yabancı otlara karşı çeşitli mücadele yöntemleri geliştirilmiştir. Bu yöntemlerin en başında kimyasal savaş gelmekte, bunu kültürel ve biyolojik savaş yöntemleri izlemektedir. Tarım alanlarında yoğun olarak kullanılan kimyasalların (pestisit, gübre ve bitki büyüme düzenleyicilerinin) tarımsal ürünler üzerinde bıraktıkları kalıntılardan, toprağa, suya, havaya dolayısıyla diğer canlılara geçmektedir. Kimyasalların meydana getireceği olumsuz etkilerinden mümkün olduğunca en az şekilde etkilenmek amaçlanmaktadır. Bunun beraber, bitkinin ve toprağın verimliliğini ve direncini arttırmak ve diğer canlılar için zararsız doğal bitki ekstraktlarından elde edilen maddeleri kullanmak biyolojik savaş yöntemlerinin amaçlarından birisidir (42).

2.2.1.2. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

2.2.1.2.1. Distilasyon

Distilasyon, sıvıların saflaştırılmasında, uçucu olan ve olmayan safsızlıklardan arındırılmasında kullanılan bir yöntemdir. Bu teknik aynı zamanda karışmış haldeki iki sıvının birbirinden ayrılması içinde kullanılabilir. Distilasyon sürecinde sıvının kısmi buharlaşması, bu buharın taşınıp distilasyon aparatının farklı bir kısmında yoğunlaştırılması yani tekrar sıvı hale getirilmesi söz konusudur. Yani distilasyon, sıvıların kaynama noktalarındaki farklardan yararlanılarak gerçekleştirilen bir ayırma işlemidir (55).

Distilasyon işlemi kullanım amacına göre farklı çeşitlerde yapılabilmektedir;

Su Distilasyonu: Uçucu bileşiklerin elde edilmesinde yaygın olarak kullanılan geleneksel bir yöntemdir. Distilasyon işlemi, küçük ölçekli üretimlerde Clevenger tipi bir aparatla yapılırken, endüstriyel uygulamalarda büyük distilasyon kazanlarında gerçekleştirilmektedir. Yöntemin esası; soğutucu ile ilişkili bulunan bir cam balon içerisinde, su ve bitki materyalinin 2-8 saat süre ile kaynatılması ve su buharı ile birlikte sürüklenen yağ moleküllerinin soğutucuda yoğunlaştırılıp sudan ayrıştırılmasına dayanmaktadır. Elde edilen uçucu yağ miktarı volumetrik olarak ifade edilir. Su distilasyonu en iyi toz halindeki materyallerde (örneğin; kök ya da odun unu) sonuç vermektedir (56).

Buhar Distilasyonu: Buhar distilasyonu yönteminde cam kap içerisine yerleştirilen taze bitki materyaline basınç yardımıyla buhar uygulanırken, bu buhar yağ damlacıklarını da beraberinde sürükleyerek toplama kabına getirir ve yağ burada yoğunlaştırılarak sudan ayrıştırılır.

Vakum Distilasyonu: Kaynama noktası yüksek olan bazı bileşikler için uygulanan bir yöntemdir. Bu bileşikleri elde etmek amacıyla sıcaklığı artırmak yerine basıncı düşürmek daha etkilidir. Basınç bir kez bileşiğin buhar basıncının altına indirilirse, kaynama ve distilasyon işlemi başlamaktadır (56).

2.2.1.2.2.Ekstraksiyon

Ekstraksiyon işlemini klasik ve yeni metotlar olmak üzere iki gruba ayırabiliriz. Klasik yöntemler, Soxhlet ekstraksiyonu ve maserasyon işlemleridir. Bu yöntemlerde işlem süresi uzundur ve büyük miktarlarda çevreyi kirletici kimyasallar kullanılmaktadır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga ekstraksiyonu ise modern yöntemlerdir. Bu yöntemler son yıllarda geliştirilmiş olan daha hızlı ve daha etkin yöntemler arasındadır. Etkin bir ekstraksiyon için sıcaklık en önemli faktörlerden biridir. Uçucu ve yarı uçucu bileşiklerin oluştuğu sıcaklık değerleri sırası ile 40- 60 °C ve 80-100 °C arasındadır (56).

Çözücü Ekstraksiyonu: Klasik ekstraksiyon yöntemi olup bitki materyali, direkt olarak oda sıcaklığında çözücünün içerisine batırılabilceği gibi bir Soxhlet aparatı içerisinde organik çözücü ile kaynatılabilir. Ekstraksiyon sonunda, organik çözücü distilasyon ile ortamdan uzaklaştırılarak geri kazanılmaktadır. Kalan yağsı kısım içerisinde ise uçucu bileşikler bulunmaktadır. Bu yöntemin buhar distilasyonuna göre avantajı, ekstraksiyon yapılırken düşük sıcaklık kullanılmasıdır. Genellikle sıcaklık, Soxhlet cihazında 600 °C den az ve daldırma yönteminde ise 5- 25 °C arasındadır. Düşük sıcaklık, elde edilen uçucu yağın buhar distilasyonuna göre daha doğal bir içerik oluşturmasını sağlamaktadır.

Çözücü ekstraksiyonunun iki dezavantajı vardır. Bunlardan birincisi ekstraksiyon sonrası yoğunlaştırma işlemi sırasında molekül ağırlığı düşük uçucu bileşiklerin kaybı, ikincisi ise ekstraksiyon sonrası geri kalan çözücüdür. Bu problem hem ekonomik açıdan hem de çevre kirliliği (toksik özellikleri) bakımından önemlidir. Saf ve kaliteli çözücüler pahalı ve büyük miktarlarda kullanıldığında maddi bir yük getirmektedir (56).

Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu: Süperkritik sıvı ekstraksiyonu, aslında bir çözücü ekstraksiyonudur. Burada organik çözücüler yerine, süperkritik sıvı özelliği gösteren maddeler çözücü olarak kullanılmaktadır. Bir madde, kritik sıcaklık ve kritik basınç noktasının üzerine çıktığında süperkritik akışkan özelliği göstermektedir. Bu noktada, süperkritik sıvı termofiziksel özellikleri açısından sıvı ve gaz arasındadır. Sıvı çözücülerin sahip olduğu çözme gücü ile birçok maddeyi

çözülebilirken buna ek olarak gazlara yakın difüzyon katsayısı özelliğiyle de çözünen maddeyi hızlı bir şekilde yaymaktadır.

Süperkritik sıvıların düşük vizkoziteleri, sıvıların yüksek difüzyon katsayıları ile birleşince materyallere uygulanabilen ideal bir ekstraksiyon maddesi oluşmaktadır. Süperkritik akışkan ekstraksiyonu güvenilir, hızlı, çevreye zarar vermeyen seçici ve kolay uygulanabilir bir yöntem olması açısından klasik yöntemlerden daha üstündür. 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. Bunun yanında düşük kritik sıcaklık ve düşük kritik basıncının olması, çevre kirliliği yapmaması ve ucuz olması da diğer avantajlarıdır (57,58).

Mikrodalga Ekstraksiyonu: İşlem süresini kısaltmak, daha az çözügen kullanımıyla daha iyi sonuçlar almak için klasik metotlarla mikrodalga birleştirildiği bir ekstraksiyon türüdür. Bu teknikte çok az numune üzerine eklenen çözügen ile beraber mikrodalga ışınlarına maruz bırakılır. Bu esnada sıcaklık artacağından belirli sürelerde soğutma işlemi yapılır.

Mikrodalga enerjisini geçiren çözügenler kullanıldığında gönderilen enerjinin tümü numune tarafından absorblanmakta, hücre içindeki su bu enerjiyi absorbladığında hücre ısınmakta ve hücre duvarının bu ısıyla çatlaması sonucunda hücre materyali çözügene karışmaktadır. Klasik metotlardaki gibi iletimle sıcaklık aktarımı olmaz. Burada numunenin hepsi aynı anda ısınır (59).

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

yerleştirilen katı yada yarı-katı örneğin çözücü ile bir fırın içerisinde 50-200 °C arasında değişen sıcaklıklarda ısıtılması ile başlar ve ısıtma sırasında fırına 500-3000 psi değerleri arasında basınç uygulanır. Ekstraksiyonun 5-10 dakikalarında ortama yeni çözücü pompalanarak örneğin ve kabın yıkanması sağlanmaktadır. Sistem içerisindeki bütün çözücü genellikle nitrojen gazı kullanılarak bir şişe içerisinde toplanmaktadır.

Katı-Faz Mikroekstraksiyon: Analitik yöntemler genel olarak örnek toplama, örnek hazırlama, ayırıştırma, tespit ve sonuçların yorumlanmasını içermektedir. Yapılan çalışmalar analiz süresinin % 80 inin örnek toplama ve hazırlamaya harcadığını göstermektedir. Bu aşamalarda yapılacak hata bütün çalışmayı olumsuz etkileyecektir. 1989 yılında Pauliszyn ve arkadaşları tarafından bulunan katı-faz mikroekstraksiyon (SPME) yöntemi, örnek hazırlama kademesine oldukça başarılı yeni bir yaklaşım getirmiş ve oldukça geniş bir kullanım alanı bulmuştur. SPME, örnek hazırlama, ekstraksiyon ve yoğunlaştırma aşamalarını çözücü içermeyen tek bir aşamada birleştirmiştir. Bu yöntemle işlem daha da basitleştirilmiş, süresi ve maliyetlerde önemli kazançlar sağlanmıştır. SPME, gaz kromatografisinde kullanılan üst boşluk katı faz mikroekstraksiyon (HS-SPME) ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisinde kullanılan, direkt daldırma katı faz mikroekstraksiyonu (DI-SPME) olarak ikiye ayrılır. SPME, GC veya GC-MS ile birlikte özellikle çevre, biyoloji ve gıda örneklerindeki uçucu ve yarı uçucu organik bileşiklerin ekstraksiyonunda kullanılmaktadır. Ayrıca, yüksek-performanslı sıvı kromatografisinde de (HPLC) uygulanmaktadır. Çok basit bir cihaz olan SPME, modifiye edilmiş bir şırıngaya benzemektedir. İç kısmında bir lif tutucu ve lif grubu bulunmaktadır. Sondaki lif, 1-2 cm uzunluğunda ileri geri hareket edebilen bir SPME lifidir. SPME lifi ince polimer film kaplı eritilmiş silika optik bir liftir. SPME uygulaması gaz yada çözelti halindeki örneğe uygulanabilmektedir. Her iki durumda da SPME iğnesi kapalı ortama sokulur, lifi koruyan kısım geri çekilir ve lifin ortamla temas etmesi sağlanır. Lif üzerindeki polimer kaplama tıpkı bir sünger gibi absorpsiyon/adsorpsiyon yöntemiyle örneği alır ve daha sonra koruma amaçlı olarak lif, metal iğnenin içerisine geri çekilir. Bir sonraki aşama lif üzerindeki örneğin GC veya GC-MS e termal desorpsiyon ile aktarılarak analiz edilmesidir (56,60).

2.2.1.2.3. Çok Yönlü Ekstraksiyon Yöntemleri

1964 yılında Likens ve Nickerson tarafından keşfedilen bu yöntemde, zaman ve harcanan kimyasal miktarı açısından önemli miktarda azalmalar görülmüştür. Yöntemin çalışma prensibine göre örnek, çok yönlü ekstraksiyonu aparatının sol tarafına su dolu cam balonun içerisine konularak kaynatılmaktadır. Uçucular, buharla destile olarak sol kolondan yukarıya doğru hareket ederken aynı zamanda çok yönlü ekstraksiyonu aparatının sağ tarafındaki çözücüde buharlaştırılmaktadır. Ekstraksiyon işlemi aparatın üst kısmında yer alan soğutucunun cidarlarında su ve çözücü buharının yoğunlaşmasıyla gerçekleşmektedir. Yoğunlaşan su ve çözücü tekrar buldukları cam balonlara dönmekte, su ve çözücü kısmı ayrı ayrı yoğunlaştırılarak uçucu bileşikler elde edilmektedir (56).

2.2.1.2.4. Mekanik Yöntem

Limon ve portakal gibi bazı turuncgillerin kabuklarındaki uçucu bileşikler, destilasyon yöntemi uygulandığında bozunmaktadır. Bu gibi meyvelerin kabukları bez bir torbaya koyularak soğuk hidrolik preslerde sıkılarak uçucu yağlar elde edilebilmektedir.

2.2.1.2.5. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemlerinin Değerlendirilmesi

Uçucu yağ elde etmek amacıyla kullanılan yöntemler üzerine yapılan bazı çalışmalardan yola çıkarak, bu yöntemler arasında karşılaştırmalar yapılabilir.

Adaçayı ve defne yapraklarından, mikrodalga kullanılarak yapılan su distilasyonu ve klasik su distilasyonu yöntemi ile gerçekleştirilen çalışma sonucunda her iki yöntemde de elde edilen sonuçların benzer olduğu görülmüştür. Örneğin, 1,8-cineole miktarı adaçayı için klasik hidrodilasyonda (HD) % 52 ve mikrodalga ile yapılan hidrodilasyonda (MWHD) % 47.5 iken defnede % 46.8 (HD) ve % 54.2 (MWHD) dir. Yöntemler arasındaki tek farkın deney süreleri olduğu görülmüştür. Bu çalışmada HD 3 saat, MWHD ise 45 dakikada tamamlanmıştır. Benzer bir çalışmada *Lippia sidoides* bitkisiyle gerçekleştirilmiş, gerek kapalı sistemde gerekse

açık sistemde uygulanan mikrodalga ekstraksiyonu (MWE) yöntemi ile HD yöntemleri karşılaştırılmıştır. Alkaloid ve steroid grupları dikkate alındığında kalitatif ve kantitatif açıdan sonuçların benzer olduğu görülmüştür. Bununla beraber kapalı sistemde ekstraksiyon süresi ve çözücü miktarında (MWE: işlem süresi 45 dakika, HD: işlem süresi 60-90 dakika) ciddi azalmalar görülmüştür. (61-63).

Vakum distilasyonu (VD), su distilasyonu (HD) ve süperkritik sıvı ekstraksiyonu (SFE) yöntemlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada okalıptus yaprağından elde edilen uçucu yağ bu yöntemler ile incelenmiştir. En dikkat çekici sonuç bicyclogermacrene de gözlemlenmiştir. VD ve SFE yöntemleri benzer sonuçlar vermiştir. HD yöntemindeki düşük bicyclogermacrene oranının nedeni ise bu bileşenin nötral olmayan sulu çözeltilerde kimyasal reaksiyonlar ve isomerler oluşturmasıdır. Bu çalışmada HD yöntemindeki sulu çözeltinin pH değeri yaklaşık 4 olarak ölçülmüştür (64).

HD ve SFE yöntemlerinin karşılaştırıldığı çalışma sonuçları yorumlandığında, HD yönteminde monoterpen hidrokarbonların oranının SFE göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum, süperkritik sıvının basıncının azaltılması aşamasında uçucu monoterpenlerin buharlaşması ile gerçekleşmiştir. Uçuculuğu daha az olan seskiterpen hidrokarbonlar, C sayısı 15 ten küçük olan hafif oksijenli bileşikler ve ağır oksijenli bileşikler ise SFE yönteminde HD ye oranla 2 kat daha fazla tespit edilmiştir (65-66).

Farklı bitkilerin uçucu yağları SFE ve eşzamanlı distilasyon-ekstraksiyon (SDE) yöntemleri uygulanarak incelenmiş ve yöntemler karşılaştırılmıştır. Uçucu yağların kimyasal bileşimleri genel olarak benzerlik gösterse de SDE yönteminde yüksek miktarda terpenhidrokarbonlar, SFE yönteminde ise oksijenli terpenler ve kaynama noktası yüksek bileşikler elde edilmiştir (67).

Her yöntemin avantaj ve dezavantajları olduğu dikkate alındığı zaman, yöntem seçiminde tamamıyla kullanıcının amaç ve imkânları doğrultusunda oluşacağı sonucuna varılabilir. Klasik distilasyon ve ekstraksiyon yöntemleri ile nicel olarak daha fazla uçucu yağ elde edilmesine karşın bitkinin doğal kimyasal yapısından uzaklaştığı yani nitelik olarak çok iyi olmayan sonuçlar elde edildiği bilinmelidir. Mikrodalga ekstraksiyonu ve katı-faz mikroekstraksiyonu gibi modern

yöntemler nitelik olarak tatmin edici sonuçlar vermekte ancak ekonomik açıdan bakıldığında maliyeti arttırmaktadır. Modern yöntemlerin, analiz süresinin kısa olması, daha az çözücü madde kullanılması nedeniyle çevre sağlığına yaptığı olumlu katkı, nitelikli sonuçlar vermesi ve istenildiğinde tek bir uçucu madde üzerinde yoğunlaşabilme imkanını verebilmesi gibi avantajları sayesinde son yıllarda ilgi çekmektedir (56).

2.3. Eser Elementler

Yer kabuğunun doğasında 90 çeşit kimyasal element bulunmaktadır. Bunların 25 tanesi yaşam için gerekli olup canlı hücrede yer almaktadır. Kimyasal elementlerin bir çoğu insanlar için gerekli iken bazılarında, özellikle eser elementler fazla miktarda tüketildiklerinde sağlığa zararlıdır. Tüketicilerin dışarıdan gıda ile aldığı elementler dış etmenlere bağlı olarak değişebilir. Bitkiler için su ve toprağın bileşimi, hayvanlar için de yine su ve yemin özelliği element miktarını değiştiren en önemli parametrelerdir. İnsanlar, bu elementleri doğrudan bitkilerden, hayvanlardan ve sudan alırlar. Yaşayan her hücrenin fonksiyonu ve devamlılığı için minerallere ihtiyaç vardır. Vücut sıvılarının, kanın ve kemiklerin oluşumunda, kasların fonksiyonlarını yerine getirmesinde, sinir sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesinde, enzimlerin yapısında, pek çok sentez olayında ve daha pek çok biyolojik süreçte rol alırlar (17,68).

Eser Elementlerin Günlük Alım Miktarları

Eser elementler vücudumuzda aldığı roller açısından çok büyük önem taşımaktadır. Bu görevleri yerine getirebilmeleri için vücutta yeterli miktarda bulunmaları gerekmektedir. Bu nedenle eser elementler için gerekli olan günlük ihtiyaç (Recommended Dietary Allowance = RDA) değerleri, belirli yaş grupları için belirlenmiştir. Bu değerler Tablo 2.3.1 de verilmiştir (69,70).

Tablo 2.3.1. Elementlerin, tavsiye edilen günlük alım miktarları

Yaş Grubu	B (mg/gün)	Cu (µg/gün)	Fe (mg/gün)	Mn (mg/gün)	Se (µg/gün)	Zn (mg/gün)
Bebekler						
0 – 6 aylık	-	200	0.27	0.003	15	2
7 – 12 aylık	-	220	11	0.6	20	3
Çocuklar						
1 – 3 yaş	3*	340	7	1.2	20	3
4 – 8 yaş	6*	440	10	1.5	30	5
Erkekler						
9 – 13 yaş	11*	700	8	1.9	40	8
14 – 18 yaş	17*	890	11	2.2	55	11
19 – 30 yaş	20*	900	8	2.3	55	11
31 – 50 yaş	20*	900	8	2.3	55	11
51 – 70 yaş	20*	900	8	2.3	55	11
> 70 yaş	20*	900	8	2.3	55	11
Kadınlar						
9 – 13 yaş	11*	700	8	1.6	40	8
14 – 18 yaş	17*	890	15	1.6	55	9
19 – 30 yaş	20*	900	18	1.8	55	8
31 – 50 yaş	20*	900	18	1.8	55	8
51 – 70 yaş	20*	900	8	1.8	55	8
> 70 yaş	20*	900	8	1.8	55	8
Gebelik						
14 – 18 yaş	17*	1000	27	2.0	60	12
19 – 30 yaş	20*	1000	27	2.0	60	11
31 – 50 yaş	20*	1000	27	2.0	60	11
Emzirme						
14 – 18 yaş	17*	1300	10	2.6	70	13
19 – 30 yaş	20*	1300	9	2.6	70	12
31 – 50 yaş	20*	1300	9	2.6	70	12

* Bor elementine ait değerler, günlük tolere edilebilen maksimum miktarlardır

2.3.1. Alüminyum

Alüminyum, DNA sentezinde ve kemik oluşumunda görev alan önemli bir elementtir. Alüminyum, yer kabuğunda en çok bulunan elementler arasındadır ve toplamın % 8 ini oluşturur. Tabiatta yüksek miktarda bulunması sonucunda da bütün besin zincirine yayılmıştır. Biyoyararlanımı çok düşüktür. İnsan gastrointestinal sistemindeki zayıf emiliminden dolayı, insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkisinin olmadığı düşünülmüştür. Ancak asit yağmurları ve endüstriyel emisyonlarla bitkilerdeki miktarları, dolaylı olarak da insan bünyesindeki miktarları artmıştır. Ayrıca kozmetiklerin kullanımı, farmasötik bileşenler, yiyecek kaplarının alüminyum kaplı olması vücuda alınan alüminyum miktarını arttırmış, bu da çözünürlük ve biyoyararlanımlarının artmasına sebep olmuştur (71-74).

Alüminyumun fazla alınması osteomalasi, sinir dejeneratif hastalıklarına (ansefalopati, akıl hastalıkları, Alzheimer hastalığı...vb.), iskelet sisteminde zararlara, halüsinasyonlara, konuşma bozukluklarına, denge problemlerine ve kemik ağrılarına neden olduğu görülmektedir(72,75).

Yukarıda belirtilen alüminyumun fazla alınmasından kaynaklanan pekçok zararının yanında, alüminyum alımındaki azalma da, koordinasyon bozukluklarına, ayak bileğinde güçsüzlüğe ve gebelik sürecinde düşüklere neden olur. Dolayısıyla yaşam standardını düşürür (75).

Alüminyum için önerilen günlük alım miktarı; yetişkin bir insanda 3-14 mg/gün (71).

2.3.2. Bakır

Bakır, çeşitli biyokimyasal süreçler için gereklidir. İnsan vücudunda yaklaşık 100-150 mg arasında bakır bulunur. Bunun % 10 u karaciğer ve beyinde, diğer kısmı ise kandadır. Vücut tarafından zor emilen bir maddedir. Kemik, kıkırdak ve deriyi oluşturan bir protein olan kollagenin ve saç ile derinin rengini oluşturan pigment olan meloninin üretiminde yardımcı olur. Vücuttaki çeşitli enzim ve sinir sistemi fonksiyonları için ihtiyaç duyulan bir elementtir. Bakır, bütün hücrelerin mitokondrileri içerisinde bulunur ve enerji üretiminde kullanılır. Molibden ve çinko

gibi, vücut içerisinde kullanılan diğer metallerin ve diğer vücut fonksiyonlarının dengesinin korunmasında kullanılır. Kanda demir ile beraber hemoglobini oluşturur. Bağ doku metabolizmasında rol oynar. Bakır normalde proteinlere bağlı olmasına rağmen serbest halde de olabilir. Çinko, bakırın bağlayıcı bölgesine tutunarak taşınır ki, bu bölge serbest radikal oluşumlarına sebep olabilir. Bakır kaynakları; sebzeler gibi zengin mineral içerikli yiyecekler, fındık, ceviz, hububat, meyveler, sakadat, balık istiridyeye, midye, kuru üzüm ve çikolatadır (76-78).

Bakır azlığı; anemi, gelişme geriliği, kusurlu keratinizasyon (cilt yüzeyi ya da mukozanın keratin infiltrasyonu ile sertleşmesi), saçların pigmentasyonu (dokularda pigmentlerin oluşumu ya da birikimi ve bunun sonucu olarak oluşan renk değişikliği), hipotermi, zayıflık, bitkinlik, hiperkolesterolemi, hipertrigliseritemi, immün sistemde zayıflık, kemik yapısında skorbüt (C vitamini eksikliğinde ortaya çıkan hastalık) benzeri değişimlere neden olur (76,78).

Bakır toksisitesinin semptomları; akne, alerji, kellik, uykusuzluk, bulantı, diş çürüğü, maya hastalıkları, üriner bölge rahatsızlıkları, böbrek rahatsızlıkları, depresyon, sistik fibrozis, artrit, bunalım, iştahsızlık, çeşitli doku sertleşmeleri, iltihabi durumlar, vitamin azlığı, paranoya, migren, asabiyet, otizm, fobiler ve diyabettir (76).

Bakır için önerilen günlük alım miktarı, yetişkin bir insanda 1-1.5 mg/gün (71).

2.3.3. Bor

Yüzlerce sanayi kolunda, farklı amaçlarla kullanılmasının yanında, bor sağlık açısından da önemli bir mineraldir. Kalsiyum, magnezyum ve fosfor mineralleri ile D vitamininin vücutta korunmasına ve etkili bir şekilde kullanılmasına yardımcı olarak diş ve kemik sağlığının korunmasına katkıda bulunur. Beyin fonksiyonlarını geliştirir. Östrojen hormonunun çalışmasını destekler ve kemik erimesini azaltır. Borun bir diğer özelliği de doğal bir antibiyotik oluşudur. Bor, tedavi amacıyla da tıpta kullanılmaktadır. Özellikle, kemik erimesi, migren, sinir hastalıkları, halsizlik ve kanser tedavilerinde kullanılmaktadır. Badem, fındık, elma, üzüm, çilek, hurma,

şeftali, erik, patates, sarımsak, brokoli ve domates bol miktarda bor içeren besinler arasındadır (68,79).

Bor, bitki ve hayvanlar için yararlı bir elementtir. Fazla alındığı zaman insan sağlığı üzerine toksik etki gösterir. Bor, antioksidan özellik gösteren bir elementtir. Kalsiyumla beraber kemik metabolizmasında önemli rol oynar. Menopoz sonrası kadınlarda steroid hormon konsantrasyonlarını artırır. Günlük yiyeceklerle alınan bor miktarı arttığında, östrojen, testosteron ve plazmadaki kalsiyum iyonlarının arttığını, ayrıca D vitamininin olumsuz etkisinin azaldığı araştırmalarda görülmüştür. Ayrıca hücre membranının sağlamlaştırır ve fonksiyonlarının korunmasına yardım eder. İmmün sistemin çalışmasına yardımcı olur. Beyin aktivitelerinde rol alır. Diğer mineraller ile birlikte mesela kalsiyum, magnezyum ve D vitamini ile beraber osteoporozu karşı koruyucu etki oluşturur (80-83).

Borun yeterli miktarda alınmaması, D vitamini eksikliğine ve dolayısıyla da kemik erimesi ve zayıflamasına ve kemiklerin daha kolay kırılmasına neden olur. Eksikliğinde ayrıca, konsantrasyon zorluğu ve hafıza zayıflığı görülebilir (79).

Bor elementi için tavsiye edilen günlük alım miktarı 1,3 – 4,3 mg dır (84).

2.3.4. Çinko

İnsan vücudunda 2-3 g civarında bulunur. Kanda, kırmızı kan hücrelerinde, karaciğerde, pankreasta, bazı kaslarda ve kemiklerde bulunur. Çinko elementi, vücudun gelişimini düzenler, sperm üretimini kolaylaştırır. Protein ve RNA sentezinde görev alır. 100 civarında enzimin aktive edilmesinde rol oynar. Bağışıklık sistemini destekler. Yaraların iyileşmesinde ve DNA sentezinde de çinkoya ihtiyaç duyulmaktadır. Çinko, insülin hormonunun yapısında yer aldığından, insülinin depolanması ve salgılanması üzerine etkisi araştırılmış, çinko ile bir ilişkisinin olup olmadığı tam olarak aydınlatılamamıştır. Yiyeceklerin çoğunda bulunmasına rağmen bazılarının içerdiği çinkodan insanın yararlanması güçtür. Hayvansal yiyeceklerdeki çinkonun emilimi, genellikle bitkisel yiyeceklerdekinden daha yüksektir. Fasulye, fındık, ceviz, deniz ürünleri, kırmızı et, ayçekirdeği, brokoli, kuru baklagiller ve ıstiridye gibi çeşitli besin ürünlerinde bulunur (76,77,85).

Çinkonun eksikliği, ya alınırken emilimdeki zayıflık ya vücudun çinko kayıplarının artması ya da vücudun çinko ihtiyacının artmasından kaynaklanır. Çinko azlığının belirtileri; gelişme geriliği, saç dökülmesi, ishal, epitel doku bozuklukları, tüylerde anormallikler, eklemlerde şişme ve sertleşme, cinsel olgunlaşmanın ötelenmesi, göz ve deride lezyonlar ve iştah kesilmesidir. Çinko eksikliğinde, bağışıklık sistemi zayıflar; halsizlik oluşur, yaraların geç iyileşmesi gecikir. Tırnaklardaki beyazlama çinko eksikliğinin belirtileri arasındadır (76,85,86).

Çinko fazlalığı toksik etki yaratır. Fazla miktarda alınan çinko vücutta bulunan diğer minerallerin yapısını da bozabilir. Çinko toksisitesinin belirtileri; bulantı, kusma, terleme, titreme, bitkinlik, hipokupremi (kanda bakır konsantrasyonunun azalması), anemi ve lökopenidir (76,86).

Çinko için önerilen günlük alım miktarı; 6 – 22 mg/gün (84).

2.3.5. Demir

Demir, vücudumuzda sentez edilemeyen ve dışarıdan alınması gereken bir besin ögesidir. İnsan vücudu için önemli olmakla beraber, faydaları bakımından vazgeçilmez bir mineraldir. B vitaminlerinin kullanımı, bakır ve kalsiyum emilimi, hemoglobin, miyoglobin ve enzim üretimi için gerekli olan mineraldir (87).

Demir, önemli fonksiyonlarda, özellikle hemoglobin ve kırmızı kan hücresinin üretiminde rol oynar. Yetişkin bir insanın vücudunda 3-5 g kadar demir bulunur. Bunun % 60-70 i kandadır. Kandaki demirin büyük kısmı ise hemoglobin içerisindedir. Hemoglobin içerisinde bulunan bu demir, akciğerden hücelere oksijen, hücrelerden de akciğere karbondioksit taşır. ATP sentezinde, ilaç ve zararlı bileşiklerin suda çözünerek vücuttan atılmasında görev alır. Demirin emilimi en iyi yapılan formu *hemedir* (hemoglobin içerisinde demirin taşındığı kısım) ve en çok istiridye, et, kümes hayvanları ve balıkta bulunur. Demirin heme olmayan diğer formu ise kurutulmuş sebzeler ve yeşil sebzelerde bulunur (76,85).

Demir azlığı; bitkinliğe, zayıflığa, hızlı yorulma, bitkinlik, iştah kaybına, öğrenme güçlüğüne, konsantrasyon bozukluğuna, ağız içi mukozasında inflamasyonlara, enfeksiyon riskinin artmasına, demir eksikliği anemisine,

depresyona ve kadında kısırlığa neden olabilir. C vitamini demir emilimini kolaylaştırdığı için ahnemiden korunmaya yardımcı olur. Gebelikte, bebeklerde ve çocuklarda demir ihtiyacı daha fazla olduğu için özellikle bu dönemlerde demir eksikliği sonucu oluşabilecek gelişim bozukluklarının mani olmak için yeterli miktarda demir alınmalı, gerekirse demir hapları ile demir takviyesi yapılmalıdır (76,78,88).

Demir fazlalığı; akciğer, böbrek ve kalp gibi biyolojik dokulara zarar verebilir. Fazla miktarda demir alımı; damar sertliğine, hücrelerin erken yaşlanmasına ve yağlanmasına neden olur. Kanseri riskini arttırmasının yanında, siroz, şeker hastalığı, kalp büyümesi, bitkinlik, iştahsızlık ve kilo kaybı, kusma ve nefes darlığı gibi sorunların oluşmasında da rol almaktadır (76,88).

Demir için önerilen günlük alım miktarı, 5 – 28 mg/gün (84).

2.3.6. Kadmiyum

Kadmiyum elementi ekosistemde en tehlikeli ağır metal kirleticilerinden biri olup canlı organizmalar için toksiktir. Fosforlu gübre ve arıtma çamurlarının uzun süreli kullanılması nedeniyle dünyanın birçok bölgesindeki tarım toprakları az veya orta düzeyde kadmiyum birikimine maruz kalmaktadır. Kadmiyum toprak-bitki sistemindeki yüksek mobilitesi nedeniyle kolaylıkla besin zincirine dâhil olabilmekte böylece bitki, hayvan ve insan sağlığı açısından tehlikeli olabilmektedir. Kadmiyum, toksik bir elementtir. Doğal olarak çinko içerisinde eser miktarda bulunur. Değişik işlemlere bağlı olarak (çöplerin yanması, fosil yakıtların yanması) havaya, suya ve bazı fosfatlı gübreler ile de toprağa bulaşır. En çok fungusitlerin yapısında bulunur. Tütün hastalıklarının engellenmesi için kullanılan bu tip fungusitlere bağlı olarak, sigara tütünün yanmasıyla beraber vücuda alınır. Alınan kadmiyumun % 10 u atılırken, % 90 ı başta karaciğer, kılalar ve böbrek olmak üzere vücutta tutulur. Bu metal insan sağlığı açısından olumsuz etkilere sebep olur. Kadmiyum iyonları, sebzeler ve hayvan kaynaklı besinlerden kolayca absorbe edilir. Kadmiyum miktarı; pirinç, buğday, ıstiridye, midye ve hayvanların böbrek kortekslerinde en yüksek seviyededir (77,89,90).

Kadmiyum aşırı alındığında; böbreklerdeki süzme sistemlerine zarar verir. İshal, karın ağrısı ve kusma görülür. Kemik kırılması, üreme bozuklukları ve hatta kısırlık ihtimali oluşturabilir. Merkezi sinir sistemine ve bağışıklık sistemine zarar verir. Osteomalazi ve psikolojik bozukluklar görülür. İmmünotoksik olduğu için DNA yı parçalar. Karsinojen mekanizması ile hücre ölümüne neden olur. Oksidatif stresi artırır (87).

Günümüzde Cd zehirlenmesinin en bariz örneği olarak; Japonya'nın Toyama kentinde aşırı Cd karışan pirinçler nedeniyle 200 kişide ağır Cd zehirlenmesine bağlı olarak kalıcı kemik ve böbrek rahatsızlıklarının ortaya çıkması gösterilmektedir. Kronik Cd zehirlenmesinde ortaya çıkan en önemli etki akciğer ve prostat kanseridir. Kemik erimesi, kansızlık, diş dökülmesi ve koku duyumunun yitilmesi önemli etkilerindedir (90).

Kadmiyum için tolere edilebilen günlük alım miktarı; yetişkin bir insanda 10-50 µg/gün, çocuklarda ise 2-25 µg/gün (71).

2.3.7. Kobalt

Kobalt, kan oluşumu sırasında ihtiyaç duyulan bir elementtir. B₁₂ vitamininin ayrılmaz bir parçasıdır. Sinir sisteminin korunmasında ve kırmızı kan hücrelerinin üretiminde rol oynar. İnsanda 1.1 mg civarında kobalt bulunur. Sağlıklı bir yaşam için, çok az miktarda kobaltın günlük yiyeceklerle alınması gereklidir. Kobalt genelde kırmızı kan hücrelerinde, az miktarda ise böbrekler, dalak ve pankreasta depolanır. Pek çok enzimin harekete geçmesinde görev alırlar. Kobaltın; kükürlü amino asitlerin metabolizmasında, demirin kullanılmasında, troid hormonunun sentezinde ve hipertansiyonda etkisinin olduğu rapor edilmiştir. Kan hücreleri ve sinir sisteminin düzenli çalışması içinde gereklidir. Kobalt kaynakları; et, süt ürünleri ve yeşil sebzelerdir. Kobalt şelatları antiviral ajan olarak faaliyet gösterir (76,85,91).

Kobalt azlığı, dolayısıyla B₁₂ vitamininin azlığı, anemiye neden olabilir. Anemi semptomları; iştah kaybı, bitkinlik ve huzursuzluktur. B₁₂ eksikliği, sinir hücrelerinin yanlış formlarda olmasına sebep olabilir. Bu durum sinir sisteminde geri

dönülemez hasarlara sebep olabilir. Semptomları ise; saplantılı hal, göz bozukluğu, baş dönmesi, konfüzyon (anlaşılmaz olan) ve hafıza kaybıdır (92).

Fazlalığı ise kalp kaslarına ve akciğere zarar verir, dermatit oluşumuna neden olabilir, kırmızı kan hücrelerinin üretimine ve tiroidlere zarar verebilir (76,93).

Kobalt için önerilen günlük alım miktarı; yetişkin bir insanda 5 – 40 µg/gün (92).

2.3.8. Kurşun

Kurşun, doğada yaygın olarak bulunan ve kolay işlenebilen bir madde olması nedeniyle sanayide fazlaca kullanılan ve bundan ötürü gelişmiş olan toplumlarda insan sağlığını tehdit eden toksik bir elementtir. Günümüzde ihtiyaç duyulmakla beraber kullanımı giderek artmaktadır. Kurşun, kan ve sinir hücrelerindeki etkileri sebebiyle büyük öneme sahip olan bir elementtir. Önemli bir enzim inhibitörüdür. Düşük miktarda kurşun alımında akut etkiler fark edilmeyebilir. Fakat yüksek miktarlarda ve tekrarlanarak alınan kurşun, ağızda metalik tat, karın ağrısı, kusma ve ishal ile başlayan, sinir sistemi harabiyetine bağlı intoksikasyon, kafa içi basınç artışı, koma, solunum durması ve ölüme kadar devam eden sonuçlar doğurabilir. Klasik kurşun zehirlenmesinin en sık rastlanan semptomlarından biri anemidir. Kurşunun kırmızı kan hücrelerinde bulunan heme grubunun oluşumunu inhibe etmesi ile hemoglobin yapımı bozulur. Kandaki kurşun seviyesi 40 µg/dl nin üzerine çıktığında hemoglobin yapımını azaltarak mikrositer anemiye neden olur (94).

Kurşun, özellikle kemiklerde toplanır. Kurşuna şiddetli maruziyet daha çok işyerlerinde, özellikle kurşun kullanılan üretim süreçlerinde, toprakla, araçların egzoz gazlarıyla ve kontamine yiyeceklerle meydana gelir. Kurşunun kandaki miktarı 0.5–0.8 µg/mL seviyesinin üzerine çıktığında çeşitli anormalliklere yol açar (89).

Semptomları; karın ağrısı, istemsiz kasılmalar, hipertansiyon, böbrek fonksiyonlarının bozulması, iştah kaybı, bitkinlik, uykusuzluk, halüsinasyonlar ve baş ağrısıdır. Uzun süreli maruz kalma sonucunda; doğumsal bozukluklar, zeka geriliği, otizm, akıl hastalıkları, alerji, disleksi (yazılı sembollerini anlamakta ve

yapmakta güçlük çekmek), hiperaktiflik, kilo kaybı, el titremesi, kaslarda güçsüzlük ve felç oluşabilir. Çocuklar maruz kalma konusunda çok daha hassastır (76).

Kurşun için tolere edilebilen günlük alım miktarı; yetişkin bir insanda 20-282 µg/gün, çocuklarda ise 9-278 µg/gün (71).

2.3.9. Mangan

Mangan bir antioksidandır ve enerji üretilirken amino asitlerin ayrılmasında önemli rol oynar. Erişkin bir insanın vücudunda 12 – 20 mg kadar mangan bulunur. Bunun en büyük kısmı karaciğer ve pankreastır. Emilimi ince bağırsakta olmakla beraber düşüktür. B₁, C ve E vitaminlerinin metabolizması için gereklidir. Uygun sindirimi sağlayan çeşitli enzimlerin aktivasyonunda rol alır. Yağ ve kolesterolün ayrılmasında katalizatör olarak görev alır. Aynı zamanda, beyin ve sinirlerin beslenmesine yardım eder. Normal kemik gelişimi ve cinsel hormonların üretiminin sürdürülebilmesi için gereklidir. Piruvattan glikoz sentezlenmesini sağlayan enzimlerde görev alır. Pankreas tarafından insülin sentezi ve salgılanması için gereklidir. Mangan süperoksit dismutaz, hücreleri serbest radikallerin zararlarından koruyan bir antioksidandır. Bu enzimde mangan içeriklidir. Kemik, kıkırdak ve bağ dokusunun önemli bileşenlerinden olan proteoglikanların sentezi mangana bağlıdır. Manganın fazla miktarda, doğal olarak bulunduğu kaynaklar; hububatlar, tahıl ürünleri, ceviz, fındık ve yeşil sebzelerdir. Az olarak bulunduğu kaynaklar ise süt ürünleri, et, balık ve kümes hayvanlarıdır (76-78).

Mangan azlığı; zayıf reproduktif performans, gelişme geriliği, kemiklerin anormal oluşumu, iştah kaybı, kilo verme, dermatit, düzensiz glukoz toleransı, ve kanama hastalıkları sebebi olabilir (76,78).

Mangan fazlalığı, demir eksikliği anemisine sebep olabilir. Mangan alımındaki artış, bakır metaloenzimlerin aktivitesini bozduğu gibi solunum sistemi hastalıkları, nörolojik ve troid hormonlarda bozukluklara da neden olur (76,85).

Toksisite belirtileri, Parkinson hastalığının mimikleridir (titreme, gergin kaslar...). Ağır hepatit, siroz, diyaliz ve kalp krizi geçiren hastalarda mangan miktarının önemli miktarda arttığı görülmüştür (76).

Mangan için önerilen günlük alım miktarı, yetişkin bir insanda 2.0-5.0 mg/gün (71).

2.3.10. Selenyum

Selenyumun memelilerdeki metabolik rolü, sadece glutasyon peroksidaz enziminin bir bileşeni olarak görülmekle beraber, aslında E vitamini ve katalaz ve süperoksit dismutaz ile beraber insan antioksidan savunma sisteminde rol alır. Neredeyse tüm hücre ve dokularda, farklı derişimlerde bulunur. Selenyum, memelilerde gelişmede, çeşitli hastalıklardan korunmak için ve doğurganlık için gereklidir (71).

Selenyum, kansere sebep olan bağımsız hücrelere karşı dokuları koruyan bir enzimin önemli bileşen maddesidir. Organizmadaki tekli oksijeni etkisizleştirdiğinden kansere karşı koruyucu etki oluşturur. Hücre zarının dayanıklılığını artırır. Vücudun farklı zehirlere karşı dayanıklılığını sağlar (77).

Selenyum 3 aşamada biyolojik aktivite gösterir; eser derişimlerde normal büyüme ve gelişme için gereklidir, orta derişimlerde homeostaz fonksiyonlar için depolanır, yüksek derişimlerde ise toksik etki gösterir (95).

Selenyum çeşitli proteinlerin yapısına katılarak selenoproteinleri oluşturur. Bu proteinler ise oksidatif strese karşı koruma sağlar. Selenyumun azlığı, kaslarda zayıflığa, kanser riskinin artmasına, kalp hastalıklarına, hipotroide, immün sistem zayıflığına dolayısıyla enfeksiyon riskinin artmasına, çocukluk osteoartritine (Kashin-Back hastalığı), Çin de görülen Keshan hastalığına ve kas ağrılarına yol açabilir (78,96,97).

Selenyumun aşırı alınması toksik etki gösterir. Bu da tırnak kırılması, saç dökülmesi, gastrointestinal problemler, omurilik ve kemik iliği hastalıkları, ateş, sindirim sistemi hastalıkları, ürtiker ve sinir sistemi problemleri olarak kendini gösterebilir (96,98).

Selenyum için önerilen günlük alım miktarı; yetişkin bir erkekte 70 µg/gün, yetişkin bir kadında 55 µg/gün, çocuklarda ise 20-30 µg/gün olarak verilmiştir (71).

2.4. Bitkilerin Analize Hazırlanması ve Analizleri

Bitki analizi, bitkinin tamamının ya da belirli bir kısmının element içeriğini öğrenmemizi sağlayan bir yöntemdir. Bitki analizlerinin, araştırma amaçlı veya tarla koşullarında mevcut olan beslenme bozukluklarını anlama ve gidermede olduğu kadar, toprağın verimlilik durumunu anlaşılmasında da büyük önemi büyüktür. Ayrıca bitkinin beslenmesine bağlı olan fizyolojik ve biyokimyasal olayların anlaşılmasına yardımcı olur. Diğer taraftan, bitki analizleri Cd, Cr, Hg, Pb vb. gibi toksik elementlerin bitkide hangi oranda bulunduğu belirlenmesini de sağlar. Bitki analizlerinde en önemli konular, örneklerin uygun şekilde alınması ve analize hazırlanmasıdır. Usulüne göre alınmamış, temsil yeteneği düşük ve uygun bir şekilde analize hazırlanmamış bitki örneklerinde analizler en gelişmiş ve en duyarlı yöntemlerle yapılsa dahi çalışmaları olumsuz etkileyip zaman kaybına yol açacaktır. Örnekleme yapıldığı yerdeki (tarla, sera, bahçe, saksı vb.) bitkiyi temsilen alınan örneklerden, çok küçük bir kısmı analiz edilmekte ve bulunan sonuca karar verilmektedir (99).

Tıbbi bitkilerin drog olarak kullanılan kısımları (yaprak, çiçek, kök, tohum vs.) içlerindeki etkili bileşenler sebebiyle hastalıklara karşı kullanılmaktadırlar. Bu etkili bileşenler, bitkilerin yaşam sürelerinin belirli dönemlerinde yapılmakta ve miktarları da yine belirli zamanlarda en yüksek seviyeye ulaşmaktadır. Drogun etkili bileşen açısından en zengin halde istenmesi de, bitkinin toplanacağı dönemi daha önemli kılmakta dolayısıyla her drog için özel bir toplama zamanı olduğunu göstermektedir (100).

Bu nedenle bitki örneklerinin alınması ve analize hazırlanmasında gereken özen gösterilmeli ve işlemler usulüne uygun şekilde yerine getirilmelidir. Günümüzde bitki örneklerinin alınmasında her yönüyle uygun, değişik koşullara uygun ve genel kabul görmüş bir yöntem olmadığından, bitki örneklerinin alınmasında amaca göre hareket edilmeli ve örnekleme yöntemi o doğrultuda seçilmelidir. Bitki analizi, örnek alma, örneklerin analize hazırlanması, laboratuvar analizi ve sonuçların yorumlanması aşamalarından oluşur (99).

2.4.1. Toplama

Toplama işlemi genellikle elle veya tırmık gibi küçük aletlerle yapılırsa da el işçiliğinin pahalı olduğu yerlerde özel makineler kullanılmaktadır. Drog yapımında kullanılan materyallerin toplanma zamanı genellikle aşağıdaki şekildedir:

- ✓ Yapraklar, bitki çiçek açmaya başladığı zaman,
- ✓ Çiçekler, tamamen açılmadan önce yada tomurcuk halinde,
- ✓ Toprak altı kısımları, bitkinin toprak üstü kısımları kuruduktan sonra,
- ✓ Kabuklar, bitki yapraklarını döktükten sonra,
- ✓ Meyve ve tohumlar, özel bir toplama zamanı yoksa olgunlaştıktan sonra toplanır.

Toplanan yaprak, ot ve çiçeklerin ıslak olması durumunda, bunların kurutulup işlenmesi ile elde edilen drog çok kaliteli olmayacaktır. Dolayısıyla, bu formdaki numunelerin yağmurlu bir günde veya üzerlerinde nem yada çiy varken toplanması uygun değildir. Aksine, toplanacak materyal kabuk ise o zaman yağmurlu bir günde yada üzerinde nem varken toplanması ise daha uygun olacaktır. Çünkü böyle zamanlarda kabukların gövde ve dallardan soyulmaları daha rahat olacaktır. Bitkinin toprak altı kısımlarını çıkartmak, yağmurlu havalardan sonra daha rahat olacağı için, toplanmasındaki en uygun zaman toprak nemliyken olacaktır (100).

2.4.2. Kurutma

Taze bitkiler toplandıktan kısa süre sonra bozulduklarından dolayı, en uygun saklama şekli kurutmaktır. Kimyasal ve biyolojik değişimleri ve enzimatik tepkimeleri engellemek için, bitki örnekleri en kısa süre içerisinde kurutma işlemine tabi tutulmalıdır. Kurutma işlemindeki gecikme, proteinlerin basit azotlu bileşiklere parçalanmalarına ve azot, kükürt gibi bazı elementlerinde kaybedilmesine neden olabilir. Kurutma işlemi, farklı yöntemlerle yapılabilmektedir. Hangi yöntemi

seçeceğimiz ise, bitkinin cinsine ve etkili maddelerin durumuna göre belirlenir. Bu işlemler yapılırken, enzimlerin en etkili olduğu sıcaklığın 35 °C ile 50 °C aralığında olduğu unutulmamalı ve bitkinin bu sıcaklıkta kalma süresi en aza indirilmelidir. Kurutma işleminin bu sıcaklığın altında yada üstünde yapılmasına dikkat edilmelidir. Kurutma işlemi; gölgede kurutma, güneşte kurutma, camekan içinde kurutma ve sıcak hava ile kurutma şeklinde yapılmaktadır (99,100).

2.4.3. Saklama

Kurutulan bitkinin özelliklerini kaybetmemesi çok önemli olduğu için, saklanma koşullarına da çok dikkat edilmelidir. Saklama işlemi esnasında, olumsuz etkisi olacak bileşenler; sıcaklık, ışık ve rutubet olacaktır. Bu etkilerin önüne geçmek için materyal kuru, serin ve karanlık yerlerde saklanmalıdır. Materyal, bez torba, kese kağıdı, cam kavanoz, teneke ya da karton kutu içinde saklanmalıdır. Bu amaçla plastik torbalar kullanılmamalıdır. Çünkü plastik torba içindeki numune küflenebilmektedir (100).

2.4.4. Çözünürleştirme ve Çözünürleştirme Yöntemleri

Çözünürleştirme basamağı element analizinden önceki son basamak olup, en kritik bölümdür. Bu amaçla klasik yöntemler olan yaş ve kuru yakma yöntemi kullanılmaktadır.

2.4.4.1. Kuru Yakma ile Çözünürleştirme

Materyallerin, atmosferik basınç altında, fırın içinde kül edilmesidir. Kuru yakma yöntemi; organik materyallere, biyolojik dokulara, bitki ve gıda örneklerine, atıklara uygulanabilir. Kuru yakmada, örneğin organik kısmı olabildiğince yavaş ve düşük sıcaklıkta yakılır. Yakma kabı soğuk durumdaki fırına yerleştirildikten sonra sıcaklık yavaş yavaş yükseltılarak en erken 1-1.5 saat içerisinde 500 °C ye çıkarılmalıdır. Organik maddelerin hepsi belirlenmiş sıcaklık aralığında parçalanarak

ilgili elementlerin karbonat ve oksitleri haline dönüştür. Bu işlem yaklaşık 8 saat sürer. Organik maddelerin buharlaşma esnasında kısmi veya toplam analit kaybı olmaksızın kantitatif parçalanacağı veya uygun çözücü ile çözüldüğünde kalıntı bırakmayacağı bir kül etme sıcaklığı seçilir. Eser element analizi için kül etme sıcaklığı 450-550 °C arasında değişir. 550 °C nin üstündeki sıcaklıklarda çeşitli element kayıpları meydana geldiğinden, çok yüksek sıcaklıklara çıkmak uygun değildir. Bu kayıpları en aza düşürmek amacıyla kül etme sıcaklığı yavaşça artırılır. Örneklerin yanmasını kolaylaştırmak ve kayıpların önüne geçmek adına amaca göre sülfürik asit, kalsiyum hidroksit, sodyum karbonat, magnezyum asetat ve magnezyum nitrat gibi yakma düzenleyici kimyasallarla ön işleme tabi tutulur. Belli bileşenlerin kaybını önlemek için özel katkı maddeleri de katılabilir. Örneğin CaO, borat oluşturarak borun uçuculuğunu engeller. Kül etme işlemi birkaç saat sürer ve en uygun şartlar altında yapılırsa, beyaz veya açık gri renkte kül elde edilir. Soğutulduktan sonra, tayini amaçlanan elemente göre, nitrik asit veya hidroklorik asit gibi uygun çözücülerde çözülür. Bazen yakma işlemi tam gerçekleşmemesi sonucunda koyu gri veya siyah renkte kül oluşur. Bu durumda, 1 mL nitrik asit ile nemlendirilir ve 1 saat daha kül etme sıcaklığında bekletilir. Kuru yakma işleminde silika yada platin kaplar tercih edilir (99, 101-105).

Kuru yakma yöntemi, basit, ucuz, güvenli, fazla örnek analizine imkan veren, külün çok az miktarda çözücü ile çözülebildiği ve daha az çözücü kullanılmasına bağlı olarak daha az kirlenme olasılığı taşıyan bir yöntemdir. Ancak bunun yanı sıra uçucu madde kaybı, seyreltmeden kaynaklı analiz esnasında düşük sonuçlar elde etme, küllenme sırasında bazı metallerin çeşitli bileşikleri halinde buharlaşması gibi bazı dezavantajlara sahiptir. Kayıplar, çözünmeyen katılardan ve kap yüzeyine adsorpsiyondan da kaynaklanabilir. Bu yöntemin diğer bir zayıf yönü ise zaman alıcı ve yavaş olmasıdır (99, 101-104).

2.4.4.2. Yaş Yakma ile Çözünürleştirme

Bu yöntemde organik kısımların parçalanması ve yakılması, sıvı ortamda uygun kap içerisinde ve sıcaklık etkisiyle yapılmaktadır. Sıvı ortamı asit karışımları

ve yükseltgen reaktifler oluşturur. Kullanılacak kimyasalların seçimi numunenin içeriğine, boyutuna, uygulanacak analitik tekniğe uygunluğa göre değişmektedir.

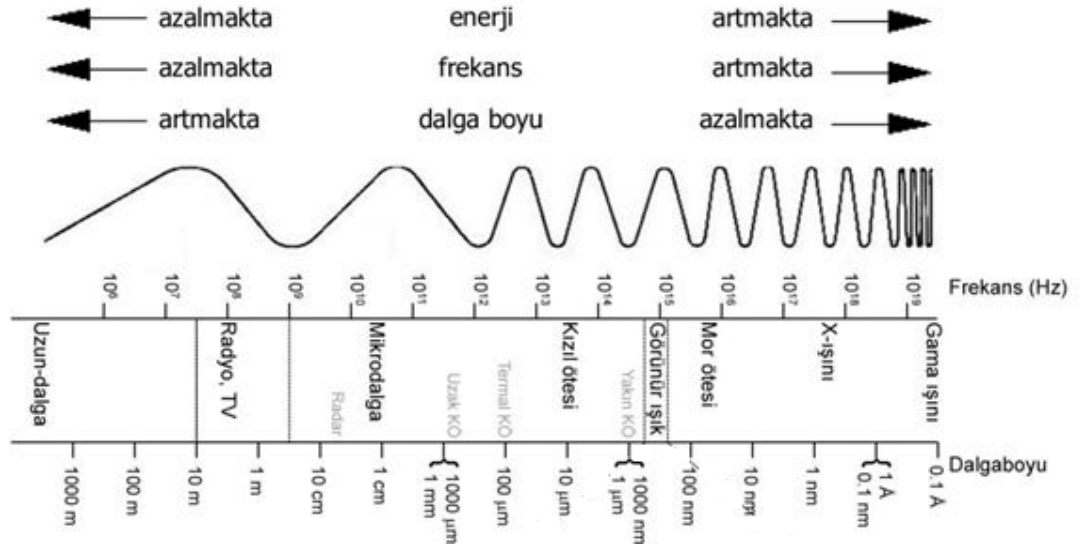
Yaş yakma işlemi 3 şekilde yapılmaktadır:

- ✓ Açık kaplarda çözünürleştirme,
- ✓ Basınçlı kapalı kaplarda çözünürleştirme,
- ✓ Mikrodalga yardımıyla çözünürleştirme.

Yaş yakma işleminde, bor ve klor hariç element kayıplarına pek rastlanmaz. Kuru yakma yöntemine göre geri kazanımı daha yüksektir. Bunun nedeni ortam sıcaklığının sülfürik asit ve perklorik asidin kaynama sıcaklığını geçmemesidir. Bunun neticesinde de çözünemez durumdaki silikatların oluşmaması, dehidrate olan silisyumun mikro elementleri adsorbe edememesi yaş yakmayı eser element tayini için uygun bir çözünürleştirme tekniği yapmaktadır. Bu yöntemde organik kısmın yakılması için gerekli olan oksijenin büyük kısmı nitrik asit tarafından karşılanmaktadır. Nitrik asidin bu işlevini uygun bir şekilde yapması için, yakma işleminin başlangıçta olabildiğince düşük sıcaklıkta yapılması ve nitrik asidin ortamdaki uzaklaşmasının engellenmesi gerekmektedir. Yaş yakma yönteminde özellikle dikkat edilmesi gereken şey, perklorik asit kullanırken olası yangın ve patlama durumuna karşı önlem alınmasının gerekliliğidir. Bu durumda ya düşük sıcaklıkta çalışılmalıdır yada seyreltik perklorik asit kullanılmalıdır. Ayrıca bu yöntemde kullanılan asit buharlarından etkilenmemek için, bu işleme özel çeker ocakta çalışmak gerekmektedir. Bu işlemin diğer dezavantajlarından biri de kontaminasyon riskidir. Yaş yakmada kullanılan kap ve hücrelerden, laboratuvarın havasından ve saf olmayan kimyasallardan kaynaklanan kontaminasyonlar olabilmektedir. Kullanılan kimyasalların fazlalığı kontaminasyon riskini arttırdığı gibi çevreye de zarar vermektedir. Buna ek olarak maddi anlamda kayıplarda neden olmaktadır (99,103,105,106).

2.4.4.2.1. Mikrodalga ile Çözünürleştirme

Bu teknik ilk kez 1975 yılında, biyolojik örnekleri parçalamak amacıyla Abu Samra ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır. Klasik çözünürleştirme tekniklerine göre daha kontrollü, etkili, hızlı ve pratik olduğundan dolayı günümüzde daha fazla kullanım alanı bulmaktadır. Mikrodalgalar, elektromanyetik spektrumda (şekil 2.4.1.), kızıl ötesi ışınlarıyla ultra yüksek frekanslı radyo dalgaları arasında kalan bölgede bulunan dalgalardır (107).



Şekil 2.4.1. Elektromanyetik spektrum

Mikrodalgaların karakteristik özellikleri ise şunlardır:

- ✓ Elektromanyetik spektrumun üyesidir.
- ✓ Enine düzlem dalgalarıdır.
- ✓ Elektromanyetik spektrumda 300–300000 MHz arasındaki bölgeyi oluştururlar.
- ✓ İyonlaşmaya neden olmazlar ve ortama enerji salarlar.

Mikrodalga fırınlar, organik ve inorganik bileşenlerin çözünürleştirilmesi için kullanılır. Çok geniş bir alanda, balıktan kayalara kadar pek çok matriksin

çözünürleştirilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Özellikle eser element analizleri öncesinde talep edilen bir yöntemdir. Çözünürleştirme işlemi hem kapalı hem de açık kaplarla yapılabilir. Fakat kapalı kaplar daha çok tercih edilmektedir. Çünkü, kapalı kaplar ile yüksek sıcaklık ve yüksek basınç kullanılarak işlem gerçekleştirilir. Mikrodalga çözünürleştirme ile bileşenlerin çözünürleştirilmesi çok hızlı olmaktadır. Çözünmesi güç olan bileşenlerin bile çözünmesi için sadece 5 ile 10 dakikaya ihtiyaç duyulur (108,109).

Klasik metotlarda, sıcaklık transferi iletim ile olur. Sıcaklığı ileten kaplar kullanılır ki bunlar, genellikle zayıf iletkenliğe sahiptir. Bu nedenle, kapların ısınmasında ve sonrasında sıcaklığın transfer edilip çözeltiye iletilmesinde belirli bir süreye ihtiyaç duyulur. Ayrıca klasik metotlarda meydana gelen -kuru yakmada-kontaminasyon ve uçucu bileşenlerin kaybedilmesi ile ilgili sorunlar, -yaş yakmada-farklı asit karışımlarının kullanılmasından kaynaklanan sorunlar mikrodalga ile çözünürleştirmede saf dışı bırakılır (108,110).

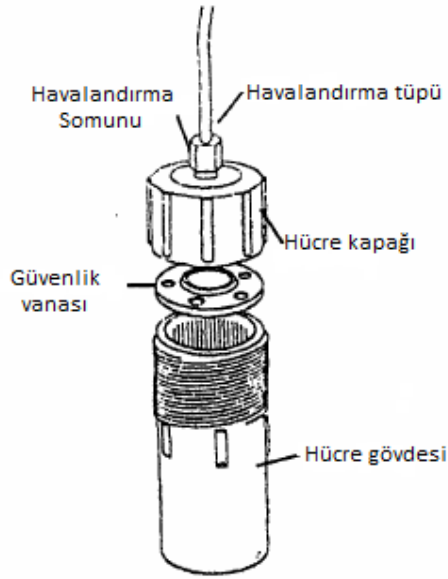
Mikrodalga fırında, enerji transferi, kaplar ısınmaksızın, neredeyse çözeltinin içerisindeki moleküllerin tamamına eş zamanlı olarak meydana gelir. Bu nedenle, bütün çözelti için kaynama sıcaklığına ulaşmak çok kısa bir zaman içerisinde olmaktadır. Oluşan mikradalga ortamında organik moleküllerin etkilenmemesi, mikrodalga enerjinin sadece matriks tarafından emilmesi ve mikrodalga enerjisinin gücünün matrikse göre ayarlanabiliyor olması önemli avantajlardır (108,111).

Bu yöntemin dezavantajları ise; numunelerdeki silisli materyallerin bu yöntem kullanılarak çözünürleştirilmesinin tam olarak yapılamaması, numune içindeki organik bileşiklerin klasik yöntemlere nazaran tamamen ayrıştırılamayabilmesi ve katı numunenin heterojenik özelliğinden kaynaklanan rastgele hatalara sebep olmasıdır.

Mikrodalga çözünürleştirme yönteminde kapalı kaplar ile çalışmanın en büyük avantajı, çalışma esnasında basıncın artması ile çok daha yüksek sıcaklıklara çıkılabilesidir. Diğer bir avantajı ise, numunenin uçuculuğunu yitirmiş kısımlarının bile neredeyse tamamen ortadan kaldırmasıdır. Genellikle kolay otomatikleştirildiğinden dolayı, analiz için numune hazırlanması basamağında gerekli olan süre azaltılmış olur (108).

2.4.4.2.1.1. Düşük Basınçlı Kaplar

Mikrodalga çözünürleştirmede kullanılan kaplar; geçirgen, termal etkilere dayanıklı, çözünürleştirme işlemi kullanılan çeşitli asit ve kimyasallara karşı dirençlidir. Bunun için en uygun madde teflondur. Teflon, geçirgen, fosforik asit ve sülfürik aside karşı inert davranan, 300 °C nin üzerinde erime noktasına sahip olan bir maddedir. Kapalı teflon kaplarda (şekil 2.4.2) bir kapak ve güvenlik için 120 ± 10 Psi basınçta devreye giren yardım vanası içerir. Bu basınca ulaşıldığında güvenlik vanası açılır (107).



Şekil 2.4.2. Mikrodalga ile çözünürleştirmede kullanılan kaplar

2.4.4.2.1.2. Yüksek Basınçlı Kaplar

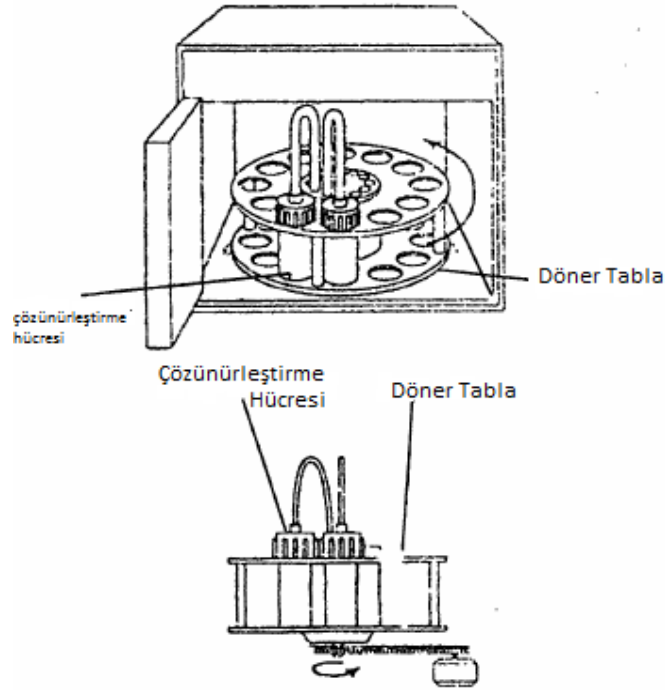
Az basınçlı kaplarda tamamen çözünemeyen refrakter maddeleri çözmek için, özellikle mikrodalga bombalar kullanılır. Bu bomba mikrodalgaları geçiren, polimerik materyalden yapılmış ağır duvarlı gövdeye sahiptir. Çözme işlemi, teflon kaplar ile desteklenmiş bombalarda yapılır. Ticari mikrodalga bombaları 80 atm basınçta çalışmak üzere dizayn edilmiştir (108).

2.4.4.2.1.3. Atmosferik Basıncı Kaplar

Mikrodalga ile çözünürleştirmede kullanılan açık kap sistemleridir. Mikrodalga enerjisi, kaplara konan asit ve numunenin ısıtılması, dolayısıyla çözünürleştirilmesi için kullanılır. Bu sistemde kap materyali ve reaktifler arasında meydana gelen kontaminasyondan, kap yüzeyindeki adsorpsiyondan kaynaklanan element kaybından ve uçucu elementlerin kaybından kaynaklanan sistematik hatalar görülür (108,112).

2.4.4.2.1.4. Mikrodalga Fırın

Aynı anda ısıtılabilen 12 adet düşük basınçlı kaba sahip fırınlardır (şekil 2.4.3). Kaplar sürekli bir şekilde 360° döndürülür. Bunun nedeni, bütün kapların hemen hemen aynı enerjiye maruz kalmasını sağlamaktır (108).



Şekil 2.4.3. Mikrodalga ile çözünürleştirmede kullanılan mikrodalga fırın

Mikrodalga parçalama tekniğinde organik ve inorganik matrikslerin her biri için farklı reaktifler yada reaktif karışımları kullanılmaktadır. Organik matrikslerin parçalanması için kullanılan reaktifler aşağıda verilmiştir:

HNO₃ (% 65): Genellikle kolay oksitlenebilen maddelerin parçalanması için kullanılmaktadır. Nitrat veya azot, analize bozucu etki yapmaz.

HNO₃ (% 65) / H₂O₂ (% 30) 4:1 karışımı: Parçalama kalitesini artırmak için kullanılır. Plastikler gibi zor parçalanmış örneklerde iyileşme sağlamaz.

H₂SO₄ (% 98) / H₂O₂ (% 30) 1:1 karışımı: Genellikle sulu numunelerin (atık su) parçalanmasında kullanılır.

HNO₃/H₂SO₄ 1:1 karışımı: Plastikler gibi zor parçalanmış numunelerde kullanılır. Matriksteki karbon, susuzlaştırma işlemi ile daha kolay giderilebilir.

Mikrodalga parçalama tekniğinde inorganik matriksler için seçilebilecek reaktifler ise şunlardır:

HCl, Kral Suyu veya HCl/HF karışımı: Saf metallerin çözünürleştirilmesinde kullanılmaktadır. HF kullanılırken cam malzeme kullanılmaması dikkat edilmesi gereken bir durumdur.

H₂SO₄ / HCl, H₃PO₄ / HCl veya HF karışımları: Oksitlerin (Al₂O₃ dahil olmak üzere) parçalanmasında kullanılır. Orta derecedeki basınçlarda daha yüksek sıcaklıklara ulaşmak için yüksek kaynama noktasına sahip olan asidin yüksek oranda (% 80) bulunması gerekmektedir (113).

Mikrodalga çözünürleştirme yöntemlerinin klasik yöntemlere göre avantajlarını şöyle sıralayabiliriz:

- ✓ Uçucu bileşenlerin kaybının önlenmesi,
- ✓ Daha az kimyasal kullanarak çevresel kirlenmeyi önlemesi,
- ✓ Kolay uygulanabilirlik,
- ✓ Tekrarlanabilirliğinin olması,
- ✓ Çok geniş bir alanda örnek çözünürleştirilebilmesi,

- ✓ Çözünürleştirme süresinin çok kısa olması,
- ✓ Enerji ve kimyasal madde sarfiyatının az olması,
- ✓ Güvenli olması,
- ✓ Enerjinin direkt matris tarafından absorbe edilmesidir.

2.5. Kromatografi

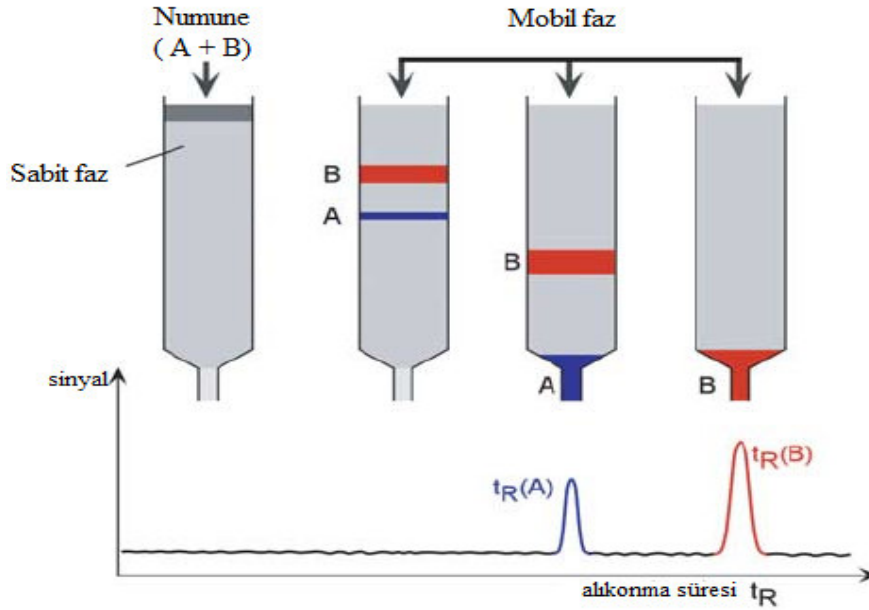
Kromatografi, bir karışım içerisindeki bileşenlerin, biri sabit diğeri hareketli faz olmak üzere birbiri ile karışmayan iki faz arasındaki farklı etkileşimler ile ayrılması ve saflaştırılması yöntemidir. Günümüzde analitik kimyada en çok kullanılan ayırma yöntemi olan kromatografi, organik yada inorganik kompleks karışımların kalitatif ve kantitatif analizleri için kullanılmaktadır (113).

İlk kez Rus botanikçi Michael Tswett tarafından 1903 te geliştirilen yöntemde kalsiyum karbonatı dolgu maddesi olarak kullandığı cam kolonda bitki pigmentlerinin renk bileşenlerinin ayrıldığını görmüş ve bu yönteme *chrome* “renkli” ve *graphiein* “yazma” anlamına gelen kromatografi adını vermiştir (114).

Kromatografi, kompleks karışımlarda bulunan, özellikleri birbirine yakın olan maddeleri ayırmak için kullanılan farklı yöntemleri içerir. Bu ayırımların çoğu diğeri yöntemlerle yapılamamaktadır. Bütün kromatografik ayırmalarda numune gaz, sıvı yada süperkritik akışkanı olan hareketli faz ile taşınır. Bu hareketli faz bir kolonda veya bir katı yüzeyde sabitleştirilmiş kendisi ile karışmayan bir durgun faz içinde geçmeye zorlanır. Genellikle bu fazlardan biri hidrofilik olurken diğeri de lipofilik olmaktadır. Numune bileşenleri her iki yüzeyde farklı bir etkileşime girer. Bu etkileşim, numunenin polaritesine bağlı olarak kısa süreli yada uzun süreli olabilmektedir. Durgun ve hareketli fazın seçiminde, içerisindeki numune bileşenlerinin her iki fazda farklı oranlarda dağılması önemlidir. Durgun faz tarafından kuvvetli tutulan numune bileşenleri, hareketli fazın akışı ile beraber çok yavaş bir şekilde hareketlenirler. Bunun yanı sıra, durgun faz tarafından zayıf bir şekilde tutunan bileşenler ise daha hızlı bir hareket kazanırlar. Meydana gelen hareket hızlarındaki bu farklılık neticesinde, numune bileşenleri birbirlerinden

kalitatif veya kantitatif olarak analizlenebilen farklı bantlar veya bölgeler şeklinde ayrılırlar (115,116).

Bir kolonda hareketli fazın sıvı olduğu A ve B gibi iki maddenin nasıl ayrıldığı Şekil 2.5.1. de görülmektedir.



Şekil 2.5.1. Kolon kromatografisi ile A ve B maddelerinin ayrılma diyagramı

Her bir numune bileşeninin durgun fazda belirli bir tutulma süresi vardır. Buna alıkonma zamanı denilip t_R ile gösterilir. Şekil de A ve B maddelerinin alıkonma süreleri $t_R(A)$ ve $t_R(B)$ gösterilmiştir. Her bir bileşen kolon sonundaki dedektöre ulaştığında, oluşan sinyal kaydedilir. Sinyal, zamanın yada kullanılan hareketli faz hacminin bir fonksiyonu olarak kaydedilirse bir seri pik elde edilir. Kromatogram denilen bu grafikler, kalitatif ve kantitatif analizler için kullanılmaktadır. Zaman eksenindeki piklerin konumları, numune bileşenlerini tanımda kullanılabilir. Pik alanları ise her bir bileşenin kantitatif analizleri için kullanılır (115,116).

Kromatografik yöntemler iki şekilde sınıflandırılabilir. Birinci sınıf, hareketli ve durgun fazların fiziksel olarak nasıl temas ettirildikleri esas alınır. Bu durumda iki tip kromatografi oluşur.

Kolon kromatografide, durgun faz ince bir kolonda tutulur ve hareketli faz basınç altında bu durgun faz arasından geçmeye zorlanır.

Düzlemsel kromatografide, durgun faz düz bir plaka üzerine veya bir kağıdın gözenekleri arasına tutturulur ve bu durumda hareketli faz durgun faz arasından kapiller etkisiyle veya yer çekimi etkisiyle hareket eder. Her iki kromatografi türünde, dayandığı dengeler aynıdır.

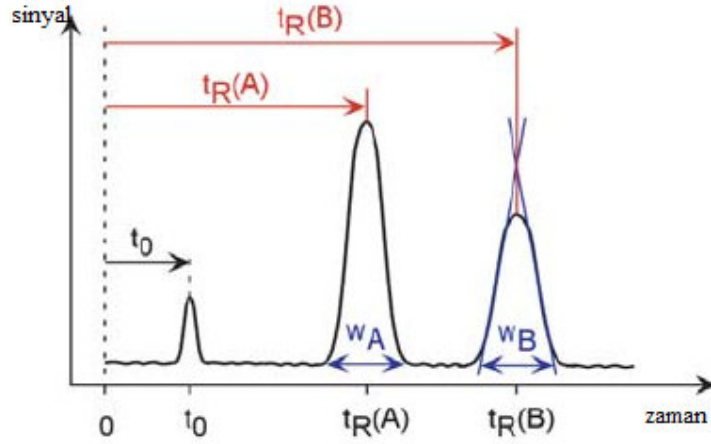
Kromatografinin başka bir sınıflandırması ise, kullanılan durgun ve hareketli fazların tipleri ve fazlar arasında madde aktarımını sağlayan dengelerin cinslerine göre yapılır. Burada üç tip kromatografi söz konusudur. Bunlar;

- ✓ Gaz Kromatografisi
- ✓ Sıvı Kromatografisi
- ✓ Süperkritik Akışkanlı Kromatografidir.

Bu teknikerde hareketli faz sırası ile gaz, sıvı ve süperkritik bir akışkandır. Çoğu kromatografik teknik, gaz ve sıvı kromatografi tekniğinin kapsamında bulunmaktadır.

2.5.1. Kromatografik Teorinin Temeli

Kromatografik yöntemlerin optimizasyonunda, olabilecek en kısa zamanda bütün numune bileşenlerin tamamen ayrılması amaçlanmaktadır. Örneğin, mobil fazın içeriği değiştirilerek, başka bir sabit faz seçilerek ve akış oranı değiştirilerek bu başarılabılır. Tipik bir kromatogram şekil 2.5.2. de verilmiştir. Numune kolona enjekte edildiği noktada $t = 0$ dk dır. Sabit faz tarafından tutulmayan maddeler kolondan ayrıldığı anda alıkonma süresinin sıfır olduğu zaman kabul edilir (t_0). A ve B bileşenleri sabit faz tarafından tutulmuş ve kolondan çıktıkları zaman alıkonma zamanları ($t_R(A)$ ve $t_R(B)$) olarak kaydedilmiştir. Pik genişliği (w), taban çizgisi ile pikin her bir kenar teğetlerinin kesişiminden hesaplanır (115).



Şekil 2.5.2. Alıkonma zamanı ve pik genişliğinin şeması

Kromatografinin temel parametreleri olan alıkonma zamanı ve pik genişliği, başarılı kromatografik ayırmanın kalitesini ifade eden diğer parametrelerin hesaplanmasında ve türetilmesinde kullanılır (115).

Kapasite faktörü (k'), formül 2.5.1.1 de ifade edildiği gibi, analitin göç hızı ile mobil fazın göç hızı arasındaki ilişkiyi ifade eder. Her bir bileşen, mobil faz ve sabit faz ile etkileşimlerinden dolayı farklı sürelerde tutunurlar. Numune bileşenlerinin göç hızı, mobil faz içerisinde ne kadar çok süre geçirdiğine bağlıdır. Eğer kapasite faktörü, birden çok küçük olursa elüsyon hızı çok hızlı olacağından, alıkonma zamanının (t_R) belirlenmesi çok zor olacaktır. Eğer numune çok yavaş taşınırsa, ayrılma süresi çok uzun olacaktır. Kapasite faktörü için en ideal değer 1 – 5 arasındadır. Formül 2.5.1.2 deki seçicilik faktörü (α) ise, numunedeki bir bileşenin göç hızının, diğer bileşenlerin göç hızı ile ilişkisini tanımlar. Seçicilik, iki bileşenin kromatografik metotla ne kadar iyi ayrılabilmediğini ifade eder (115).

$$\text{Kapasite faktörü} \quad k' = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (2.5.1.1.)$$

$$\text{Seçicilik faktörü} \quad \alpha = \frac{k'_B}{k'_A} = \frac{t_R(B) - t_0}{t_R(A) - t_0} \quad (2.5.1.2.)$$

Kromatografik ayırmanın verimliliği, kesin olarak bant genişliğine bağlıdır. Eğer bant genişliği büyükse, pikler örtüşebilir ve ayrılma gerçekleşmez. Fazla sayıdaki tabaka (N) ve daha küçük tabaka yükseklikleri (H) kromatografik ayırmanın daha verimli olmasını sağlar (formül 2.5.1.3 ve formül 2.5.1.4).

$$\text{Tabaka sayısı} \quad N = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2 \quad (2.5.1.3.)$$

$$\text{Tabaka yüksekliği} \quad H = \frac{L}{N} \quad (2.5.1.4.)$$

Tabaka yüksekliği ve kolon değişkenleri arasında ilişki kuran onlarca matematiksel bağıntı önerilmiş ve farklı başarılarla uygulanmıştır. Bu bağıntılardan hiçbiri bant genişlemesine etki eden karmaşık fiziksel etkileşim ve etkileri tam olarak açıklayamamaktadır. Bazıları, tam olmasa da kolon verimliliğini artırıcı yolları gösterdiği için büyük ölçüde kullanılmaktadır. Bunlardan formül 2.5.1.5 te gösterilen Van Deemter eşitliği, kromatografik parametrelerin bant genişlemesi üzerine etkilerini tahmini olarak vermektedir (115,116).

$$H = A + \frac{B}{u} + C \cdot u \quad (2.5.1.5.)$$

Bu basitleştirilmiş eşitlikte, teorik tabaka yüksekliği (H), üç kısmın toplamı olarak verilmektedir. İlk kısım (A), kolon dolgu maddesinin bant genişlemesi üzerine etkisidir ki buna Eddy Difüzyonu denir. Eddy Difüzyonu, her kolon için sabittir ve akış hızından bağımsızdır. İkinci kısım (B/u), akım doğrultusundaki yada karşısındaki difüzyonu ifade eder. Buna boyuna difüzyon denir ve akış hızı (u) ile

ters orantılıdır. Üçüncü kısım (C·u), sabit faz ile mobil faz arasındaki kütle transferine karşı oluşacak direnci temsil eder ve akış hızı ile orantılıdır (115).

Kromatografide nihai amaç, ayırma işleminin iyi bir şekilde gerçekleştirilmesidir. Bir kolonun ayırma gücü (R_s), kolonun iki bileşeni ayırabilmesinin kantitatif bir ölçüsüdür (formül 2.5.1.6). Ayırma gücü (R_s), 1.5 olduğunda iki bileşenin ayrılması yaklaşık (% 0.3 lük çakışma söz konusudur) olarak tam sağlanır. Ayırma gücü 1 olduğunda, bileşenlerimize A ve B dersek, A piki yaklaşık % 4 B, B piki ise aynı oranda A içerir. Belli bir sabit faz için, ayırma gücü kolon uzunluğunu, dolayısıyla tabaka sayısını arttırarak iyileştirilebilir. Fakat bu iyileştirme, ayırma için gerekli olan sürenin artmasına neden olarak, ayırma üzerinde olumsuz bir etki göstermiş olacaktır.

$$\text{Ayırma Gücü} \quad R_s = \frac{2[t_R(A) - t_R(B)]}{w_A + w_B} \quad (2.5.1.6.)$$

$$R_s = \frac{\sqrt{N}}{4} (\alpha - 1) \left[\frac{k'}{1 + k'} \right] \quad (2.5.1.7.)$$

Formül 2.5.1.7 de görüldüğü gibi, kolon ayırma gücü ile iki bileşen için alıkonma faktörleri, seçicilik faktörü ve kolonu oluşturan tabaka sayısı (N) arasında matematiksel bir ilişki kurulmuştur. Görüldüğü gibi kapasite faktörü (k'), ayırmada çok büyük bir etkiye sahiptir.

2.5.2. Kromatografinin Uygulamaları

Kromatografi, özellikleri birbirine yakın olan kimyasal türlerin ayrılmasında kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntem, ayrılan türler kalitatif olarak tanımlanmasında ve kantitatif olarak belirlenmesinde kullanılabilir.

2.5.2.1. Kalitatif Analiz

Bir kromatogram, bir numunedeki her bir bileşen ile ilgili kısıtlı bir kalitatif bilgi sağlar. Örneğin, bir bileşenin alıkonma süresi yada belli bir elüsyon süresinden sonra durgun fazdaki konumu gibi. Farklı hareketli ve sabit fazlar ve farklı elüsyon sıcaklıkları içeren kromatogramlardan daha fazla bilgi elde edilebilir. Bununla birlikte, kromatografiden elde edilen bilgi, IR, NMR veya kütle spektrumunun sağlayacağı bilgi ile kıyaslandığında daha az olacaktır. Ayrıca, spektral dalga boyu veya frekans bilgileri, kromatografik parametrelere göre daha yüksek kesinlikle belirlenebilir (116).

Kromatografi, ne oldukları bilinen belirli sayıdaki olası maddeleri içeren karışımlarının bileşenlerinin var olup olmadığını belirtmede sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Örneğin; bir protein hidrolizatındaki otuz yada daha fazla aminoasit, kromatogram sayesinde bağıl olarak daha yüksek bir kesinlikle belirlenebilir. Bunun yanında, belirlenen bu bileşenlerin varlığının doğrulanması spektral yada kimyasal incelemeler ile yapılır. Ancak, karmaşık bir numunenin, ön kromatografik ayırma olmaksızın spektroskopik tanımlanması olamayacağından, kromatografi genellikle kalitatif spektroskopik analizler için önem arz eden bir işlemdir. Diğer bir husus ise, kromatogramların numune içerisinde bazı bileşiklerin bulunmadığına kesin kanıt sağladığıdır. Bundan ötürü, aynı şartlarda çalışılmış olan standart ve numuneler aynı alıkonma süresinde pik oluşturmuyorsa, söz konusu bileşiğin olmadığı (veya yöntemin gözlenebilme sınırının altında bir derişimde var olduğu) varsayılabilir (116).

2.5.2.2. Kantitatif Analiz

Kromatografi yöntemlerinin hızlı bir şekilde gelişmesinin nedeni; hızlı, basit, ucuz ve geniş uygulanabilirlik alanı olmasıdır. Bunun yanında, ayrılan bileşenler hakkında faydalı kantitatif bilgi sağlayabilmesi nedeniyle kromatografi yaygın bir hal almıştır. Kantitatif kolon kromatografisi, bileşene ait pikin yüksekliğinin yada alanının, bir yada daha fazla standardı ile karşılaştırılması esasına dayanır. Düzlemsel kromatografide, ayrılan bileşenlerin kapladığı alan analitik parametre

olarak işlev görür. Şartlar doğru bir şekilde kontrol edilebilirse, bu parametreler derişimle doğrusal olarak değişir (116).

2.5.2.2.1. Pik Yüksekliğine Dayalı Analizler

Bir kromatografi pikinin yüksekliği, pikin her iki tarafındaki taban çizgilerinin düz bir çizgi ile birleştirilmesi ve bu çizgiden pik tepesine dikey mesafenin ölçülmesi ile elde edilir. Bu ölçüm genelde yüksek kesinlikle yapılabilmektedir. Bununla beraber pik yüksekliklerinin pik genişlikleriyle ters orantılı olduğuna dikkat etmek gerekir. Bu nedenle pik yükseklikleri kullanılarak doğru sonuçlar ancak kolon koşullarındaki değişikliklerin numunenin ve standartların kromatogramlarını elde etmek için gerekli olan sürede pik genişliklerini değiştirmedeği durumda elde edilir. Özellikle kontrol edilmesi gereken değişkenler kolon sıcaklığı, eluent akış hızı ve numune enjeksiyon hızıdır. Ayrıca kolonun aşırı yüklenmemesine dikkat edilmelidir. Numune enjeksiyon hızı özellikle kromatogramın ilk pikleri için önemlidir. Bu sebepten dolayı şırınga ile yapılan enjeksiyonlarda, % 5 - % 10 bağıl hata normaldir (116).

2.5.2.2.2. Pik Alanına Dayanan Analizler

Pik alanları, pik yüksekliği ölçümündeki değişkenlere bağlı olan bant genişleme etkilerinden bağımsızdır. Bu durumda, alanlar pik yüksekliklerine göre daha tatmin edici bir analitik değişkendir. Diğer yandan pik yükseklikleri daha kolay ölçülür. Ve dar pikler için daha doğru şekilde tayin edilebilir. Modern kromatografi cihazlarının çoğu pik alanlarının kesin olarak bulunmasına olanak sağlayan dijital elektronik integral hesabı yapan cihazlarla donatılmıştır. Böyle bir donanım yoksa elle hesap yapılmalıdır. Uygun genişlikleri olan simetrik pikler için iyi sonuç veren basit bir yöntem pik yüksekliğini, pik yüksekliğinin yarısındaki pik genişliği ile çarpmaştır. Diğer yöntemler planimetre kullanılması, ya da piki kesip bunun ağırlığını kullanılan kağıdın bilinen alanının ağırlığına kıyaslayarak tayin etmektir. Genelde elle yapılan integral hesabı teknikleri % 2 ile % 5 düzeyinde tekrarlanabilen

alanlar sağlar, dijital integral hesaplayıcılar en az bir ondalık mertebesi daha kesindir (116).

2.5.2.2.3. Kromatografik Yöntemlerde Kalibrasyon ve Standartlar

Kantitatif kromatografik analizler için en dolaysız yöntem, bilinmeyen bileşimine benzeyen bir seri standart çözelti hazırlanmasını içerir. Bundan sonra standartların kromatogramları alınır ve pik yükseklikleri veya alanları derişimin bir fonksiyonu olarak grafiğe geçirilir. Verilerin grafiği, orijinden geçen düz bir doğru vermelidir. Analizler bu grafiğe dayandırılır. En yüksek doğruluk için sık sık yeniden kalibrasyon yapılması gereklidir (116).

Bahsedilen yöntemle yapılan analizlerde en önemli hata kaynağı, genellikle numune hacmindeki belirsizliktir; bazen enjeksiyon hızı da bir faktör olmaktadır. Genellikle numuneler küçüktür ve mikroşırınga ile bu miktardaki hacmin enjeksiyonunda yapılan belirsizlik yüzde birkaç bağıl hata getirir. Bu hata, numunenin ısıtılmış numune bölgesine enjekte edilmesinin gerekli olduğu gaz-sıvı kromatografide daha fazladır. Burada iğne ucundan olan buharlaşma enjekte edilen hacimlerde büyük farklanmalara neden olabilir. Numune hacmindeki bağıl hatalar, bir dönen numune vanası kullanarak % 1 ile % 2 ye düşürülebilir (116).

2.5.2.2.4. İç Standart Yöntemi

Kantitatif kromatografi için en yüksek kesinlik iç standartlar kullanılarak elde edilir. Çünkü numune enjeksiyonundan kaynaklanan belirsizlikler önlenmiştir. Bu yöntemde iç standart maddesinden dikkatle ölçülmüş miktarlar herbir standarda ve numuneye konur ve analit pikinin iç standart pik alanlarına (ya da yüksekliklerine) oranı analitik parametre görevi görür. Bu yöntemin başarılı olması için iç standart pikininin numunenin diğer bileşenlerinin piklerinden iyi ayrılması ($R_s > 1,25$) gerekir; diğer taraftan standart piki analit pikine yakın çıkmalıdır. Uygun bir iç standartla genellikle % 1 den daha iyi bir kesinlik elde edilebilir (116).

2.5.2.2.5. Alan Normalizasyon Yöntemi

Numune enjeksiyonundan kaynaklanan belirsizlikleri ortadan kaldıracak bir başka yaklaşım, alan normalizasyon yöntemidir. Numunenin tüm bileşenlerinin tam olarak elüe edilmesi gereklidir. Normalizasyon yönteminde elüe olmuş tüm piklerin alanları hesaplanır. Farklı bileşik türlerine karşı dedektör cevabındaki farklanmalara göre, bu alanlar düzeltildikten sonra analit derişimi, analit pik alanının tüm piklerin toplam alanına oranından bulunur.

Ancak bir karışımın tüm bileşenlerinin kolondan uygun bir sürede elüe olacağı şekilde koşulları ayarlamak, genellikle pratik değildir. Bu nedenle, alan normalizasyon yönteminin uygulamaları kısıtlıdır (116).

2.6. Gaz Kromatografisi (GC)

Gaz kromatografisi, bir karışımında bulunan maddelerin iki faz arasında ayırmaya yarar. Bunlar analizi yapılacak materyali içeren hareketli faz ve sabit fazdır (116).

Ancak, diğer kromatografi dallarında olduğu gibi, ayrılmaları istenen maddelerle hareketli faz arasında herhangi bir etkileşim söz konusu değildir. Hareketli fazın görevi sadece maddeleri taşımaktır. Bu amaçla kullanılan başlıca gazlar He, Ne, Ar, N₂ dir (117).

Sabit faz katı veya bir katı yüzeyine kaplanmış bir sıvı olabilir. Bu özelliklerinden yola çıkarak gaz kromatografisini ikiye ayırabiliriz:

1. Sabit faz katı olan *gaz-katı kromatografisi* (GSC),
2. Sabit faz sıvı olan *gaz-sıvı kromatografisi* (GLC).

Sabit faz katı olduğu zaman, gaz-katı kromatografisi zayıf adsorpsiyon olaylarına dayanır ve elde edilen pikler genelde kuyrukludur. Kuyruklu piklerin bir birinden ayrılmaları çok zor olmasından dolayı gaz-katı kromatografisi az kullanılan bir yöntem olmuştur. Kullanılması da, genellikle küçük moleküllü maddelerin ayrılmaları söz konusu olduğunda olur. Bu kromatografi türünde, sabit faz olarak

silikajel, alümina (Al_2O_3), aktif kömür gibi maddeler kullanılır. Gaz-katı kromatografisinde ayrılacak maddeler üzerinde sadece katı faz etkili olur (117).

Sabit fazı sıvı olan gaz-sıvı kromatografisi daha çok kullanım alanı bulan bir yöntemdir. Bu kromatografi Martin ve Syngé Tarafından (1941 yılında) geliştirilmiştir. Bunlarda çapı 0,3-0,5 mm uzunluğunda olan kolonlar kullanılır. Çok küçük olan bu uzunluktan dolayı, bu kromatografi dalında kullanılan kolonlara kapiler kolonlar denir. Böyle kolonlarda gözenekli bir katı faz üzerine emdirilmiş büyük moleküllu özel bir sıvı faz bulunmaktadır. Bu fazın kalınlığı bir kaç μm kadardır.

Sıvı-katı kromatografisine açık tüplü kolon kromatografisi de denir. Açık tüplü kolon kromatografisinde kolonlar temelde ikiye ayrılır. Bunlar;

1. Sabit fazı veya dolgu maddesi özel bir sıvıyla kaplanmış olan kolonlar (SCOT) (support-coated open tubular columns),
2. İç yüzeyi özel bir sıvıyla kaplanmış olan kolonlar (WCOT) (wall-coated open tubular columns)dır.

Sabit fazı kaplanmış olan kolonlarda, gözenekli katı maddenin (dolgu maddesi veya destek maddesi) yüzeyi gözenekleri de dahil üniform olarak özel bir sıvıyla kaplanır. Hareketli basınçlı gaz fazı, bu şekilde yüzeyi kaplanmış olan gözenekli katı parçacıkları arasından rahatça geçebilir. Ayrılması yapılacak maddeler iki faz arasında dağılırlar. Hareketli faz, genel olarak helyum, argon, azot, karbondioksit gibi bir gazdır. Bunlar içinde sıcaklığa en hassas olanı helyumdur. Bundan dolayı termal dedektörlü cihazlarda, hareketli faz (taşıyıcı faz) olarak genelde helyum kullanılır (117).

İkinci tip kolonlarda (WCOT) kolonun iç yüzeyi yaklaşık 30 μm kalınlığında bir sıvı filmiyle üniform olarak kaplanır. Böyle kolonların yapılma ve kullanılma kolaylıkları varsa da, performansları birinci gruptaki kolonlar kadar yüksek değildir.

Bu kromatografi metoduna gaz kromatografisi denmesine rağmen, metot sadece gazlara değil düşük sıcaklıklarda buhar haline gelebilen sıvılara ve hatta katılara bile uygulanabilen bir yöntemdir. Analizi yapılacak maddenin ayrılmasında,

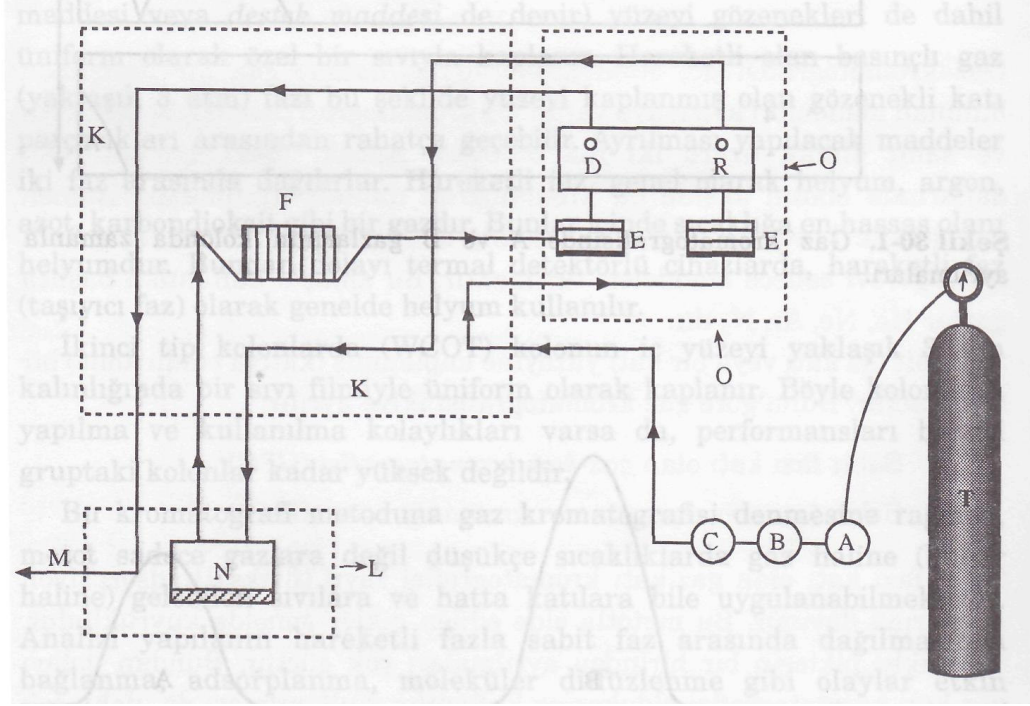
hareketli fazla sabit faz arasında dağılması, bağlanma, adsorplanma, moleküler diffüzyon gibi olaylar etkin olabilir. Ancak bu olaylar sadece sabit fazla analizi yapılanın (karışım) bileşenleri arasında meydana gelir (117).

2.6.1. Gaz Kromatografisi Cihazı

Gaz kromatografisi cihazı genel olarak altı kısımdan meydana gelir. Bunlar şöyledir:

1. Taşıyıcı gaz sistemi, silindir kısmı,
2. Numune enjekte etme kısmı,
3. Fırın
4. Ayırma kolonu,
5. Dedektör,
6. Yazıcı kısmı.

Şekil 2.6.1. de gaz kromatografisi cihazı şematik olarak verilmiştir.

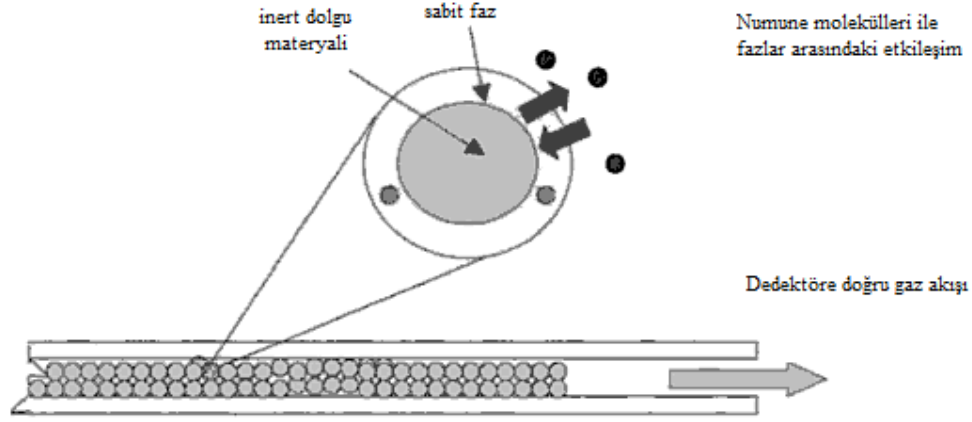


Şekil 2.6.1. Gaz kromatografisi cihazının bölümleri

T) Taşıyıcı gaz tüpü, A) Çelik valf (ayarlayıcı), B) Akım ölçücü, C) Basınç ayarlayıcısı, E) Isıtıcı bobinler, D) Dedektör, R) Referans, F) Sabit faz kolonu, N) Numune enjeksiyon kısmı, M) Eksoz gazları, L) Buharlaştırıcı sıcaklık ayarlayıcısı, K) Sabit faz kolonu sıcaklık ayarlayıcısı, O) Dedektör sıcaklık ayarlayıcısı,

2.6.1.1. Taşıyıcı Gaz Sistemi

Taşıyıcı gaz, gaz kromatografisinde mobil fazı oluşturur. Kromatografik süreç boyunca numune içerisindeki moleküller ile sabit faz arasında etkileşim olur (Şekil 2.6.2). Bu moleküller her zaman sisteme gaz olarak giriş yapar ve taşıyıcı gaz akışı ile dedektöre doğru taşınır. Sonuçta numune bileşenlerinin alıkonma zamanının kontrolünde, taşıyıcı gaz akış hızı önemli bir değişkendir. Yeni kromatografik tekniklerde, en iyi ayırmanın sağlanması ve bunun optimizasyonu için gaz akış hızının düzenlenmesi gerekir (118).



Şekil 2.6.2. Gaz kromatografisi cihazında taşınma işlemi

Taşıyıcı gaz olarak, helyum, argon, azot gibi inert gazlar kullanılır. Bu gazlardan hangisinin kullanılacağı, genelde cihazdaki dedektöre bağlıdır. Gaz tüpüne bağlı halde, basınç ayarlayıcılar, göstergeler ve akış sayaçları bulunur. Gaz kromatografisinin kesinliği, kullanılan taşıyıcı gazın akış hızının ve basıncının ayarlanmasına bağlıdır. Çelik tüpten çıkan gaz sırasıyla, önce çelik bir valftan, ondan sonra gaz akımı ayarlayıcısından, daha sonra kapiler bir metal borudan ve bir basınç ayarlayıcısından geçirilir. Gaz akımı ayarlayıcısı, dakikada 150 mL ye kadar gaz verebilir. Gazın hızı, gaz ayarlayıcısının içinde bulunan özel iğneli bir valfle ayarlanır. Cihazdaki gazın basıncı 0,70-3,30 atm arasında değişebilir. Gaz basıncı bir *rotometreyle* ölçülür.

Gaz sisteminde su veya diğer safsızlıkları gidermek için çoğu zaman moleküler elek bulunur. Bu eleğin gözenekleri yaklaşık 5 \AA dür. Böyle bir elek, su buharının ve hidrokarbonların geçmelerini önler. Çok daha büyük hassasiyet isteyen çalışmalarda gazın yoluna $-180 \text{ }^\circ\text{C}$ a kadar soğutulan (sıvı hava) bir tuzak konur. Gaz, cihazda kullanılan plâstik boruların yüzeylerinden difüzyon ve desorpsiyon olaylarıyla, ek yerlerinden de sızmalar sonucu kirlenebilir. Bunlara mani olmak için mümkün olduğu kadar kısa plâstik borular kullanılır ve ek yerleri de iyice sıkılır. Bu amaçla en çok tetrafloropoliyetilenden yapılan borular kullanılır (116,117).

2.6.1.2. Numune Enjeksiyonu ve Isıtılması

Gaz kromatografi cihazına numune enjekte edilmesi çok önemli bir işlemdir. Kolon verimi, numunenin uygun miktarda ve buhar halinde bir defada verilmesini gerektirir. Yavaş enjeksiyon veya fazla miktarda numune verilmesi, pik genişlemesine ve düşük ayırma gücüne neden olur. Sıvı numuneler mikro şırıngalar yardımıyla silisli kauçuktan yapılmış bir tıpadan (septumdan) metal bir buharlaştırma hücresine şırınga edilirler. Hücre sıcak olduğundan sıvı buharlaşır ve taşıyıcı gazla ayırma kolonuna sürüklenir. Odanın sıcaklığı, analizi yapılacak maddenin kaynama noktasından en az 50°C yukarıda olmalıdır. Şırınganın buharlaştırma hücresine kadar inmesine özellikle dikkat edilir. Şırınganın sokulması, maddenin enjekte edilmesi çok kısa zamanda gerçekleştirilir. Enjekte edilen numune miktarı 0,2-10 µL kadar olmalıdır.

Gaz numuneler, özel olarak yapılmış şırıngalar yardımıyla enjekte edilir veya alternatif olarak iki tane üçlü cam musluk kullanılır.

Gaz numuneler durumunda 0,001 µL numune enjekte edilir. Bunun bir kısmı kullanılır. Bu metotla bağlı hatası % 0,3-0,4 sonuçlar alınabilir.

Katı numuneler ya çözelti haline getirilip cihaza enjekte edilir veya çok küçük ve ince cidarlı bir ampul vasıtasıyla cihaza yerleştirilir. Ampul dışarıdan yapılacak bir darbeye numune yuvasında kırılır ve numune gaz akışıyla kolona, oradan da dedektöre sürüklenir (117,119).

2.6.1.3. Ayırma Kolonu

Daha önce de söylendiği gibi gaz-sıvı kromatografisinde genelde iki tür kolon kullanılır. Bunlar:

a. Dolgu maddesi (gözenekli katı madde) özel bir sıvıyla kaplanmış olan açık tüplü kolonlar (SCOT),

b. İç yüzeyi özel sıvıyla kaplanmış (WCOT) kolonlardır. Kolonların uzunlukları genel olarak 2-50 m arasında değişir. Bunların yapıldığı maddeler başlıca:

- ✓ Paslanmaz çelik,
- ✓ Saf bakır,
- ✓ Alüminyum,
- ✓ Teflon,
- ✓ Cam,
- ✓ Eritilmiş silika dır.

Kolonlar termostatlı bir hücreye yerleştirilir. Bunun için de kolonlar genel olarak çapları 10-30 cm arasında değişen kangallar haline getirilir. Bir cihaza farklı kolonlar monte edilebilir. Bir kolonla iyi sonuç alınmazsa, o sökülür yerine bir başka kolon takılır. Kolon içinde kalan numune gazları, kolondan uzun süre taşıyıcı gaz geçirerek temizlenir (117).

Kolon sıcaklığı çok önemlidir. Bu nedenle, kolon sıcaklığı $\pm 0,1$ °C mertebesinde sabit tutulur. Bunu sağlamak için de kolon termostatlı bir etüv içine yerleştirilir.

Kolon sıcaklığı üzerinde çalışılan numuneye ve istenen ayırma derecesine bağlı olarak değişir. Genel olarak kolon sıcaklığı sıvı numunelerde, kaynama sıcaklığının az üstünde sabit tutulur. Bu şekilde kontrol altına alınan sıcaklıklarda numunelerin elüe edilme süreleri 2-30 dakika arasında değişir. Kaynama aralığı geniş olan numuneler halinde, *sıcaklık programlaması* yapılır. Sıcaklık programlamasıyla sıcaklık yavaş yavaş yükseltilir.

Taşıyıcı olarak hangi gazın kullanılacağı imkânlarla ve cihazdaki dedektöre bağlıdır. Örneğin cihazın dedektörü ısı iletkenliği üzerine kurulmuşsa, helyum gazı kullanılır. Çünkü, helyumun ısı iletkenliği çok büyüktür. Ancak, helyumun da pahalı olması gibi bir mahzuru vardır (117).

2.6.1.3.1. Dolgulu Açık Tüplü Kolonlar

Dolgulu açık tüplü kolonlar, yüzeyi sıvıyla kaplanmış gözenekli bir dolgu maddesiyle doldurulmuş kolonlardır. Böyle maddeler genellikle diatome toprağından

imal edilirler. Diatome toprakları kille karıştırılıp pişirilir. Pişirilen madde ezilir ve elenir. Elenen maddelerin 20-40 µm çapında ve yuvarlak olmaları istenir. Bu şekilde hazırlanmış olan katı maddeler *kromosorp P ve W* veya *Celite, Dicalite* gibi adlar altında satılır. Bunlara destek maddeleri de denir. Destek maddelerinden istenen ilk şart bunların, üzerlerine tutturulacak sıvılarla iyice ve düzgün bir şekilde (0,05-1 µm kalınlığında) kaplanabilmeleridir. Bunların 1 gramının yüzeyi 1 m² den daha fazla olmalıdır (117).

Diatome, iskeleti silisyum dioksit olan tek hücreli bir yosundur. Bu yosun besinini aldıktan sonra, moleküler artıklarını vücudundaki gözeneklerden diffüzyon yoluyla dışarı atar. Bundan dolayı böyle canlılardan kalan iskeletler kromatografik amaçlara çok uygun düşer. Çünkü, gaz kromatografisi de aynı şekilde moleküler diffüzyon olayı üzerine kurulmuştur.

2.6.1.3.2. Açık Tüplü Kolonlar

Açık tüplü kolonlar, içleri boş olan kolonlardır. Kolonların iç yüzeyleri (cidarları) büyükçe molekülü özel bir sıvıyla kaplanır. Kaplanan sıvının kalınlığı mm nin onda birleri mertebesindedir. Böyle kolonlar 1950 li yıllardan beri piyasadan temin edilebilmektedir. Bunlar da *teorik tabaka* sayısı duruma göre 300.000 e kadar çıkabilir. Ancak, böyle kolonların geniş ölçüde kullanılmaları imallerinden 20-25 yıl sonra gerçekleşebilmiştir. Bu gecikmenin nedenleri şöyle sıralanabilir:

- ✓ Patentli olmaları,
- ✓ Pahalı olmaları,
- ✓ Kırılgan olmaları,
- ✓ Sıvı kaplanmasındaki güçlükler,
- ✓ Ömürlerinin kısa olması,
- ✓ Sık sık tıkanmaları,
- ✓ Dedektöre bağlanma güçlükleridir.

1980 li yıllarda bu zorluklar büyük ölçüde yenilmiş ve bu tip kolonların kullanılması yaygın hale gelmiştir. Halen çalışmaların büyük bir kısmı böyle kolonlarla gerçekleştirilmektedir.

Açık tüplü kolonlar eskiden daha çok, bakır, alüminyum, paslanmaz çelik ve plâstikten (Teflon gibi) yapılırdı. Sonraları camdan da yapılmaya başlandı. Cam boruların veya kolonların yüzeyini artırmak ve sabit faz olarak üzerine yayılacak sıvıyı daha iyi tutması için bunların iç yüzeyleri buzlandırıldı. Çok yakın bir geçmişte de *eritilmiş silikadan* imal edilen kolonlar (FSOT kolonlar) piyasaya çıkarıldı. Böyle kolonlar çok saf silikadan imal edilirler. Bunların içinde metal oksitlerin bulunmaması veya hiç değilse eser oranda bulunması gerekir. FSOT kolonlarının duvar kalınlığı, cam kolonlarınkinden daha incedir. Böyle tüplerin dayanıklılığını artırmak amacıyla imalleri esnasında dış yüzeyleri ince bir *poliimit* tabakasıyla kaplanır. Bunlar az çok esnek olduğundan çapları 15-20 cm olan kangallar haline getirilebilirler. Böyle kolonlar esnekliklerinin yanı sıra çok dayanıklıdır. Yüksek sıcaklıklarda organik maddelerle reaksiyona girmezler. Piyasadan kolaylıkla temin edilebilirler. Yukarıda sayılan özellikleri nedeniyle FSOT kolonları, WCOT kolonlarına tercih edilirler (117).

Gaz – sıvı kromatografilerinde kullanılan bazı yaygın durgun fazlar şunlardır;

- ✓ Polidimetil siloksan,
- ✓ Poli(fenil-metil-dimetil) siloksan,
- ✓ Poli (fenil-metil) siloksan,
- ✓ Poli (trifloropropil-dimetil) siloksan,
- ✓ Polietilen glikol,
- ✓ Poli (disiyanoallil-dimetil) siloksan.

2.6.1.4. Dedektörler

Gaz kromatografisinde kullanılacak bir dedektör, kolondan gelen taşıyıcı gaz içinde bulunan binde bir kaç oranındaki yabancı bir gazı tespit edebilmelidir. Bir

gazın pikinin dedektörden geçme zamanı bir saniye kadar olmalıdır (sinyalin başlayıp bitme zamanı). Böyle bir dedektörde aranan öteki özellikler şöyledir:

- ✓ Analitlere geniş bir konsantrasyon aralığında aynı şekilde cevap verebilmeli,
- ✓ Tekrarlanabilir sonuçlar vermeli,
- ✓ Dayanıklı olmalı,
- ✓ Oda sıcaklığından 500°C a kadar olan sıcaklıklarda çalışabilmeli,
- ✓ Cevap verme zamanı çok kısa olmalı, akış hızından etkilenmemeli,
- ✓ Kullanılması kolay, güvenilirliği yüksek olmalı,
- ✓ Analitlere karşı aynı hasaslığı göstermeli,
- ✓ Tahrip edici olmamalı,
- ✓ Yeterli hassaslıkta olmalıdır.

İyi bir dedektör bu şartlardan ancak, birkaç tanesini yerine getirebilir (117).

2.6.1.4.1. Termal İletkenlik Dedektörleri

Termal iletkenlik dedektörleri en çok kullanılan dedektörlerdir. Bunlar çeşitli gazların ısıyı değişik oranlarda iletmesi esasına dayanır. Böyle bir dedektörde sabit bir akımla ısıtılmış volfram bir telden yararlanır. Telin sıcaklığının düşmesiyle direnci düşer. Sıcaklığının düşmesi, üzerinden geçen gazın ısı iletkenliğiyle orantılıdır. Gaz kromatografisinde iki dedektör kullanılır. Bunların her ikisinin sıcaklığının da aynı olması gerekir. Birinci dedektörden sadece taşıyıcı gaz, ikinci dedektörden ise gazla karışık numunenin gazı geçer. Böylece elektrik şiddetinde, gaz akımında ve kolon sıcaklığında meydana gelecek değişiklikler bertaraf edilmiş olur. Ancak, bunların hassaslıkları öteki dedektörlerden en az on bin defa daha azdır. Bu nedenle kapiler tüplü kolonlarla kullanılmazlar. Bilindiği gibi kapiler tüplü (tübüler) kolonlarla çok az maddeler üzerinde çalışılır (117).

2.6.1.4.2. β -Işını Dedektörleri

β -ışını dedektörlerinde, β -ışını yayıcısı olan stronsiyum -90 veya tritium kullanılır. Taşıyıcı argon gazı sözü edilen maddeler üzerinden geçirilerek uyarılır. Uyarılan argon atomları çarpışma sonucu yanında bulunan başka cinsten atomları iyonlaştırır. İyonlaşan atomların yükü özel bir düzenele sinyallere çevrilir. İyonlaşan atomların sayısı ne kadar çoksa, sinyaller o kadar büyük olur (117).

2.6.1.4.3. Alev İyonizasyon Dedektörleri

Alev iyonizasyon dedektörleri (FID), gaz kromatografisinde çok kullanılan dedektörlerdendir. Böyle dedektörde, kolondan gelen tür, birlikte hidrojen ve havayla karıştırılır. Bundan sonra, hidrojenle hava karışımı elektrik kıvılcımıyla yakılır. Bu yanmadan meydana gelen sıcaklıkta (indirgen ortam) organik maddelerin büyük çoğunluğu iyon ve elektron verir. Böylece alev ortamı iletken hale gelir. Bektteki elektrotlar arasına birkaç yüz voltluk bir gerilim uygulandığından, ortamdaki yaklaşık 10^{-12} A lik bir akım geçer (117,119).

Karbonil, alkol, halojen, amin gibi fonksiyonel gruplar daha az iyon verirler. Böyle dedektörler, bu gruplara daha az hassastır. Öte yandan, CO_2 , SO_2 , NO_x , H_2O gibi moleküller hiç iyon vermezler. Bu özellikler, böyle dedektörleri daha değerli bir hale getirir. Çünkü, suyla yukarıda adı geçen gazlarla karışmış organik maddeler bu tip dedektörlerle kolaylıkla tayin edilir.

Alev iyonizasyon dedektörleri çok hassas cihazlar olup yaklaşık 10^{-13} g/s lik kütlelere bile cevap verirler. Ancak en gürültüsüz ve çizgisel cevaplı olarak çalıştıkları bölge yaklaşık 10^{-7} g/s dır. Bu tip cihazların kullanılması da kolaydır. Bunların en mahzurlu yanı, numuneyi tahrip etmeleridir.

2.6.1.4.4. Termiyonik Dedektörler

Termiyonik dedektörlerin (TID) yapısı, alev iyonizasyon dedektörlerinin yapısına benzer, kolondan çıkan gaz karışımı, bir de hidrojenle karıştırılır ve ince uçlu bir bek alevine gönderilerek yakılır. Kolondan geçmekte olan gazın, içinde numune bileşenleri olması halinde ısı iletkenliğinde meydana gelen değişime dayanan bir yöntem ile çalışır. Dedektörün diğer adı katarometredir. Katarometrede elektriksel olarak ısıtılan bir termal elemanın sıcaklığı, etrafında geçmekte olan gazın ısı iletkenliğine bağlı olarak değişir. Termal eleman platin, altın veya tungsten tel olabilir. Bu telin gösterdiği direnç, gazın termal iletkenliğinin ölçüsüdür (116).

Termiyonik dedektörler özellikle azot ve fosfor ihtiva eden maddeler için kullanılır. Ancak bunların fosfora cevap verme özellikleri azota cevap verme özelliklerinden yaklaşık 10 kat, karbona cevap verme özelliklerinden ise 10^4 - 10^6 kat daha fazladır. Böyle dedektörler, fosfor ve azot bileşiklerine karşı alev iyonlaştırma dedektörlerinden sırasıyla 500 ve 50 defa daha hassastırlar. Bu özellikleri nedeniyle, termiyonik dedektörler, pestisitlerin tespitinde ve kantitatif tayinlerinde son derecede önemli yerleri vardır. Bilindiği gibi pestisitlerin büyük çoğunluğu fosfor ihtiva ederler (117).

2.6.1.4.5. Elektron Yakalama Dedektörleri

Elektron yakalama dedektörlerinde (ECD), kolondan çıkan gaz karışımı nikel-63 veya tritium, gibi bir β ışını yayıcısı üzerinden geçirilir (tritium, platin veya titan bir levha üzerine adsorbe ettirilmiş halde bulunur). Bu esnada, özellikle de azot ihtiva eden bileşiklerde büyük oranda iyonlaşma olur. Taşıyıcı gaz içinde organik madde olmadığı zaman elektrotlar arasında sabit bir iyonlaşma olur ve dolayısıyla sabit bir akım geçer. Taşıyıcı gaz içinde organik madde olduğu zaman organik moleküllerin elektronları yakalamaları nedeniyle akım azalır. Bundan yararlanılarak söz konusu maddeyle ilgili bir pik elde edilir (117).

Elektron yakalama dedektörleri, halojen nitro grubu, peroksit grubu, kinon grubu ihtiva eden moleküllere karşı hem seçici hem de çok hassastırlar (bilindiği gibi bunlar hep elektronegatif fonksiyonel gruplardır). Buna karşılık böyle dedektörler,

aminlere, alkollere ve hidrokarbonlara karşı hassas değillerdir. Bu tip dedektörlerin en avantajlı yanları, klorlu inteksitlerin tespit ve tayinine imkân vermeleri ve tahribatlı olmamalarıdır. Ancak, bunların lineer cevap verme aralıkları oldukça dar 10^2 kadardır (117).

2.6.1.4.6. Alev Fotometrik Dedektörler

Alev fotometrik dedektörler son zamanlarda çok kullanılan dedektörlerdendir. Bu tip dedektörler özellikle hava ve suda pestisitlerin tespit ve tayinlerinde kullanılırlar. Bunlar genellikle fosfor ve kükürlü moleküllerin tespit ve tayinlerinde yararlı olmaktadır. Böyle bir dedektör ihtiva eden cihazda elüent, sıcaklığı düşük hidrojen/hava alevine gönderilir. Bu sıcaklıkta fosfor bileşğinin bir kısmı HPO haline dönüşür. Meydana gelen bu bileşik de pikleri 510 ve 526 nm de olan iki emisyon bandı verir. Sözü edilen alev ortamında kükürt bileşiklerinden de S₂ molekülü meydana gelir. Bu da merkezi 394 nm olan bir bant verir. Bunları ayırmak için uygun filtreler kullanılır ve şiddetleri kaydedilir. Benzer şekilde halojenler, azot, krom, selenyum, germanyum, kalay gibi elementer de tespit ve tayin edilirler (117).

2.6.2. Ayırmaya Etki Eden Faktörler

1. Durgun fazın polaritesi, polar bileşenler polar olan durgun fazla güçlü bir şekilde etkileşime girer. Bu nedenle böyle bir durumda oluşacak olan alıkonma zamanı, non-polar kolonlara göre daha uzun olacaktır.

2. Sıcaklık, yüksek sıcaklıklara çıkıldıkça, gaz faz içinde bulunan bileşenlerde artar. Bu da durgun faz ile etkileşimin az olacağını dolayısıyla alıkonma zamanının azalacağını gösterir. Fakat böyle bir durum ayırmanın etkinliğini azaltacaktır.

3. Taşıyıcı gazın akışı, akış hızı yüksek olursa, moleküller durgun faz ile etkileşime girme şansı bulamayacaktır. Buda etkin bir ayırmaya engel olur.

4. Kolon uzunluğu, kolonun uzunluğunun artması genellikle daha iyi bir ayırmaya sebep olur. Kolon uzunluğuyla orantılı olarak alıkonma zamanı da

artacaktır. Buda kolon içerisindeki geri difüzyonun artmasından dolayı elde edilen piklerin genişlemesine sebep olur.

5. Enjekte edilen materyalin miktarı, enjekte edilen miktar fazla olursa piklerde önemli düzeyde kuyruk meydana getirecektir. Buda zayıf bir ayırma olduğunu gösterir. Çoğu dedektörün hassaslığı yüksek olduğu için fazla materyale ihtiyaç duyulmaz (120).

2.7. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS)

Gaz kromatografisi – kütle spektrometresi, bir gaz kromatografisi cihazına, dedektör olarak bir kütle spektrometresinin bağlanmasıyla elde edilen komplike cihazlardır. Gaz kromatografisi daha önce açıklandığı için bu bölümde kütle spektrometrisi hakkında bilgi verilecektir.

Bir numuneyi, özel bir düzenekle gaz halinde yüklü ve hareketli bileşenlerine dönüştürerek, bunları kütle/yük (m/z) oranlarına göre ayırma ve bu ayırma işleminden yararlanarak numuneyi tayin etme metotlarına kütle spektrometrisi, bu amaçla kullanılan cihazlara ise kütle spektrometresi denir (117). Bu yöntem 4 aşamadan oluşmaktadır.

1. Atomlaşma,
2. Atomların iyon akımına dönüşümü,
3. İyonların kütle / yük (m/z) oranlarına göre ayrılması,
4. Her tipteki iyonların sayılması yada uygun bir dedektör ile numunenin çarpışmasından oluşan iyonların ürettiği iyon akımının ölçülmesi.

kütle / yük oranı (m/z), bir iyonun atom yada molekülün kütlelerini (m), kendi taşımış olduğu yük sayısına (z) bölerek elde edilir. İyonların çoğu tek yüklü iyon halinde olduğu için, genellikle kütle / yük oranı, iyonun kütlelerine (m) eşittir (119).

Analizi yapılan numune içerisinde m/z oranları birbirinden farklı olan pek çok tanecik meydana gelebilir. Kullanılan cihaz, m/z değerleri aynı olan tanecik demetleri için birer pik çizer. Bu pikler optik absorpsiyon spektroskopisinde görülen piklerden daha dardır. Bunlara kütle pikleri denir (117).

2.7.1. Kütle Spektrometresi

Kütle spektrometreleri tek başlarına kullanıldıkları gibi, başka bir cihaza bağlanarakta kullanılabilir. Yaptığımız çalışmada gaz kromatografi cihazına entegre edilmiş kütle spektrometresi kullanılmıştır. Başlıca 7 kısımdan oluşmaktadır. Bunlar:

1. Numuneyi cihaza alma kısmı,
2. İyonlaştırma bölümü,
3. Analizör (m/z oranlarına göre iyonların ayrıldığı kısım),
4. Dedektör,
5. Sinyal işlemcisi,
6. Kaydedici,
7. İlk 4 kısmı kapsayan yüksek vakum sistemidir.

2.7.1.1. Numuneyi Cihaza Alma Kısmı

Numunenin cihaza alınması 3 şekilde olmaktadır. Bunlar; buharlaştırarak, doğrudan ve kromatografi düzeneğinden geldiği gibi almaktır. Kromatografi düzeneğinden gelen numuneyi alabilmek için iki sistem arasına bir ek yapılmaktadır. Gaz kromatografi cihazından gelen numuneler, helyum ve hidrojen gazıyla karışık olduğu için ayrılmaları gerekmektedir. Bu amaçla numune alma kısmına ek olarak kullanılan yarı geçirici boru, sinterleştirilmiş cam veya teflon membrandan yapılır. Bu sistemde gaz kromatografisinden gelen karışımdaki helyum veya hidrojen gidiş yolu üzerine paralel olarak yerleştirilen ince gözenekli çeperlerden kolayca geçtikleri halde, numune molekülleri büyüklüklerinden dolayı geçemezler. İnce çeper sayesinde sağlanan ayırım ile numune bileşenleri cihazın iyonlaştırma bölümüne geçerken gazlarda pompayla dışarıya atılırlar (117).

2.7.1.2. İyonlaştırma Bölümü

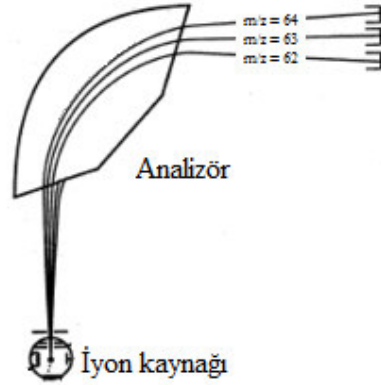
Bu kısımda, numuneyi cihaza alma kısmında gaz haline getirilmiş olan taneciklerin hepsi iyonlaştırılır. İyonlaştırma işlemi;

- ✓ Elektronlarla,
- ✓ Fotonlarla,
- ✓ Moleküllerle bombardıman ile,
- ✓ Elektrikle ısıtma veya alevle ısıtma ile yapılır.

Cihazda numuneyi içeri alma kısmı ile iyonlaştırma kısmı birbirine çok yakın olarak bulunurlar. Numuneyi içeri alma kısmında gaz haline getirilen madde çok ince bir delikten iyonlaştırma kısmına geçer. Bu sırada vakum sabit kalır. İyonlaştırma bölgesine gelen moleküller elektronla çarpışarak molekül iyonu haline geçer. Molekül iyonu haline gelen molekül sayısının çok düşük olması bu yöntemin dezavantajıdır. Meydana gelen iyonlar, iyonlaştırma bölgesinde bulunan slitler arasındaki potansiyel farkı nedeniyle hızlanırlar. Kazandıkları bu hız ile buradan çıkan iyonlar, m/z oranlarına göre demetler halinde ayrılacakları kısma yani analizöre gelirler (117).

2.7.1.3. Analizör

Analizör, iyonlaştırma kısmından gelen iyonları m/z oranlarına göre demetlere ayırıp dedektöre gönderen kısımlardır (şekil 2.7.1). Bunlar genelde iki tanecik arasındaki en küçük m/z oranlarını tespit edecek şekilde tasarlanır ve imal edilirler. Analizörlerin, ölçülebilecek sayıda gaz iyonunu dedektöre göndermeye elverişli çapta bir boru sistemine sahip olması gerekmektedir. Aksi halde dedektörde ölçülebilecek şiddette bir akım meydana gelmez (117).



Şekil 2.7.1. Kütle spektrometresi analizörü

2.7.1.3.1. Kuadrupol Kütle Analizörleri

Atomik kütle spektrometride, en bilinen kütle spektrometre tipi kuadrupol kütle analizörüdür. Bu cihaz diğer tiplere göre, daha ucuz ve daha güçlüdür. Aynı zamanda yüksek tarama hızı gibi bir avantaja sahiptir. Bütün bir kütle spektrumu 100 ms den daha az bir sürede elde edilebilir.

Kuadrupol cihazının en önemli kısmı, elektrot olarak iş gören dört paralel silindirik çubuktur. Karşılıklı çubuklar elektriksel olarak birbirine bağlıdır; bir çift, değişebilir doğru akım kaynağının pozitif tarafına, diğer çift ise negatif ucuna bağlanır. İlaveten her çubuk çiftine değişebilir radyo frekanslı alternatif akım potansiyeli uygulanır. Bu cihazla bir kütle spektrumu elde etmek için, iyonlar, çubuklar arasındaki boşluğa 5-10 V luk bir potansiyelle hızlandırılır. Bu arada çubuklara uygulanan doğru akım ve alternatif akım potansiyelleri, oranları sabit tutularak aynı anda arttırılır. Herhangi bir anda belli bir m/z değerine sahip olanların dışında bütün iyonlar çubuklara çarpar ve nötral moleküllere dönüşür. Sadece sınırlı bir aralıkta m/z değeri taşıyan iyonlar dedektöre ulaşır. Tipik olarak, kuadrupol cihazlar kütleleri bir birim farklı iyonları bile kolaylıkla ayırır (116).

Bir kuadrupol kütle spektrometre, içinde bir optik ağın aynı anda elektromanyetik ışının spektrumunu dağıttığı optik bir spektrometreden çok; optik

değişebilir bant filtreli bir fotometreye benzer. Bu cihazı bir kütle spektrometreden çok, bir kütle filtresi olarak adlandırmak daha doğru olacaktır (116).

2.7.1.3.2. Uçuş Zamanlı Kütle Analizörleri

Uçuş zamanlı kütle analizörlerinde, numunenin, kısa elektron pulsları, ikincil iyonlar veya lazerle üretilmiş fotonlarla bombardıman edilmesiyle, periyodik olarak pozitif iyonlar üretilir. Bu yolla üretilen iyonlar, iyonlaşma pulslarıyla aynı frekansa sahip 10^3 - 10^4 V luk elektrik alan pulslarıyla hızlandırılırlar. Hızlandırılmış tanecikler yaklaşık 1 metre boyunda, alan etkilerinden arınmış bir sürüklenme tübünden geçerler. Tüpe giren bütün iyonlar ideal olarak aynı kinetik enerjiye sahip olduklarından, tüp içindeki hızları, kütleleri ile ters olarak değişir. Daha hafif tanecikler dedektöre, ağır olanlardan daha çabuk ulaşırlar. Tipik uçuş zamanı 1-30 μ s dir (116).

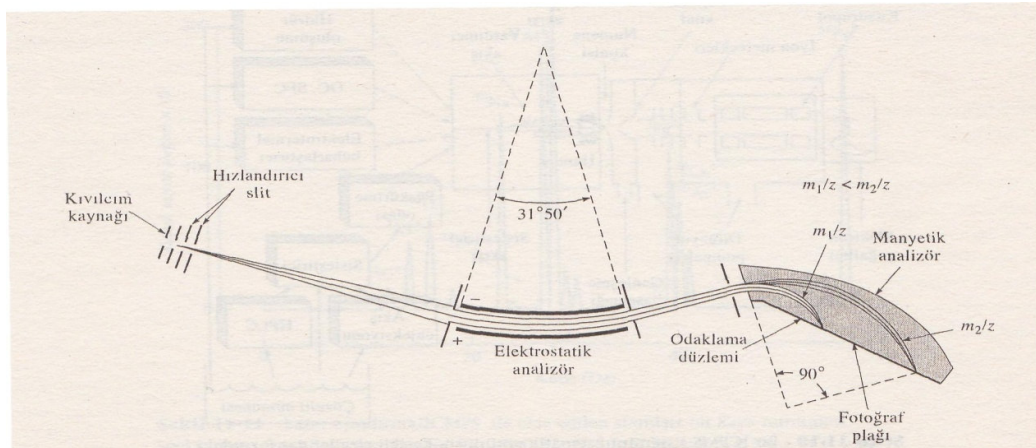
Ayırma gücü ve tekrarlanabilirlik açısından uçuş zamanlı ayırıcılarını kullanan cihazlar, manyetik ya da kuadropol ayırıcıları kullananlar kadar tatmin edici değildir. Fakat birçok avantajı bu sınırlamaları dengeler. Basitliği, iyon kaynağına uyumu, sınırsız kütle aralığı, hızlı bilgi biriktirme olanağı bu cihaza da belli bir kullanım olanağı sağlar. Birçok üretici firma, uçuş zamanlı cihazları üretmektedir. Fakat bunlar kuadropol kütle spektrometrelerine oranla daha az kullanım alanı bulur (116).

2.7.1.3.3. Çift-Odaklamalı Analizörler

Şekil 2.7.2. de görüldüğü gibi, çift-odaklamalı kütle spektrometreleri, bir iyon demetini odaklamak üzere iki kısım içerir. Bunlar, bir elektrostatik analizör ve manyetik dilim analizörüdür. Bu cihazda kaynaktan gelen iyonlar, bir slitten geçerek hızlandırılırlar ve görevi dar bir aralıkta kinetik enerjiye sahip iyonları, eğrisel bir manyetik alanın önündeki slit üzerinde odaklamak olan eğrisel bir elektriksel alana gelirler. Manyetik alanda en hafif iyonlar en fazla, en ağır olanlar en az olmak üzere bükülürler. Bu dağıtılmış iyonlar bir fotoğraf plağı üzerinde kaydedilirler (116).

Çift odaklama terimi, yönlenmelerdeki sapmaları ve enerji farklarını ayrı ayrı en aza indiren spektrometreler için kullanılır. Çift odaklama olayı, elektrostatik ve manyetik alanları birlikte kullanarak sağlanır. Çift odaklamalı cihazlarda iyon demeti hafifçe dairesel şekil verilmiş olan ve dc potansiyeli uygulanmış iki metal tabakadan oluşan bir elektrostatik analizör içinden geçirilir. Bu potansiyel, kinetik enerji aralığını daraltır. Çünkü manyetik sektöre, sadece uygun enerji aralığında olan iyonlar ulaşır. Ortalama enerji değerinden daha büyük enerjili elektronlar elektrostatik analizör slit aralığının üst tarafına çarpar ve kaybolurlar. Daha küçük enerjili iyonlar ise slit aralığının alt tarafına çarpar ve böylece sistemden uzaklaşırlar (116).

Manyetik sektör içinde yönlenmiş demetlerin odaklaması, odak düzleminde meydana gelir. Böylece her hızlandırıcı potansiyel değeri ve manyetik alan şiddeti için, sadece m/z değeri belli bir değerde olan iyonlar çift odaklanmaya uğrar. Bu nedenle toplayıcı sliti odağa yerleştirilmiştir (116).



Şekil 2.7.2. Mattacuh-Herzog tipi çift odaklamalı kütle spektrometre. Bu tasarıma dayalı cihazlarla ayırma gücü $> 10^5$ sağlanmıştır.

2.7.1.3.4. İyon Tuzaklı Analizörler

İyon tuzaklı analizörlerde gaz anyon yada katyon oluşturulur. Oluşan anyon yada katyonlar, elektrik veya manyetik alanlar içinde uzunca süre hapsedilir. Basit olarak kullanılan bir tuzak, merkezde oval biçimli bir halka elektrot ve onu alttan ve üstten örten bir çift elektrottan meydana gelir. Örtücü elektrotlar topraklanmış durumda iken halka elektroda, radyo frekansı ile değişen bir potansiyel uygulanır. m/z oranı uygun olan iyonlar, oval halka elektrodun içindeki bölgede, kararlı bir yörünge üzerinde hareket eder. Radyo frekans potansiyeli arttırılınca ağır iyonların yörüngeleri kararlı hale gelirken, hafif iyonların yörüngeleri kararlılığını kaybeder ve halka duvarına çarpan iyonlar ortamdan uzaklaşır (116).

Bu sistemin, bir kütle spektrometre olarak kullanılması, numune iyonlarının bir kimyasal iyonlaştırma kaynağında iyonlaşması ve halkanın üst kısmındaki bir kafesten tutucuya girmesi ile olur. Sonra radyo frekans potansiyeli taranır. Yörüngeleri boşluğa sığmaz hale gelen iyonlar, alttan örten elektrottaki kafesten geçerek boşluğu terk eder. Dışarı çıkan iyonlar bir dedektöre doğru giderek tutunurlar (116).

2.7.1.4. Dedektör

Analizör kısmından, m/z oranına göre demetler halinde ayrılan iyon tanecikleri dedektöre gelir. Dedektör, iyon halindeki taneciklerin enerjilerini elektrik enerjisine çevirir. Elektrik enerjisi haline çevrilen enerji, cihazda bulunan bilgisayarın hafızasına kaydedilir. Böyle bir dedektör içerisinde pek çok dinot ihtiva eder. Art arda gelen dinotlar yükselen potansiyeller altında tutulur. Dinot yüzeylerine çarpan iyonlar veya elektronlar çarptıkları zaman daha çok elektron fırlatırlar. Bu yöntemle sayıları aşırı artan elektronlar dedektörde sinyal oluştururlar (117).

2.8. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), ışık kaynağından çıkan elektromanyetik dalganın gaz haline dönüştürülmüş olan atomlar tarafından absorpsiyonu neticesinde elektromanyetik dalganın şiddetindeki azalmanın ölçülmesi temeline dayanır.

Normal şartlarda çoğu atom temel halde bulunur. Temel hal dediğimiz enerji seviyesi E_0 ile gösterilir. Elektromanyetik ışınmayı absorplayan atomlar uyarılarak bir üst enerji seviyesine çıkarlar. Bu esnada ışınmanın bir kısmı absorplandığı için şiddetinde bir azalma meydana gelir. Meydana gelen bu azalma, atomlar tarafından absorplanan ışın şiddeti ile orantılıdır. Bu durum ise Beer-Lambert kanunu ile ifade edilir; (122)

$$A = \log (I_0/I) = \alpha l c \quad (2.8.1)$$

Bu formülde,

A= Absorbans

α = Absorpsiyon katsayısı; L/g.cm

I_0 = Gelen ışın şiddeti

l = Absorplayıcı ortamın uzunluğu; cm

I = Çıkan ışın şiddeti

c = Analit konsantrasyonu; g/L

Eğer, konsantrasyon (c) mol/L, yol da cm cinsinden alınırsa, absorptivite yerine molar absorptivite (ϵ) kullanılır. Böylece, absorbans;

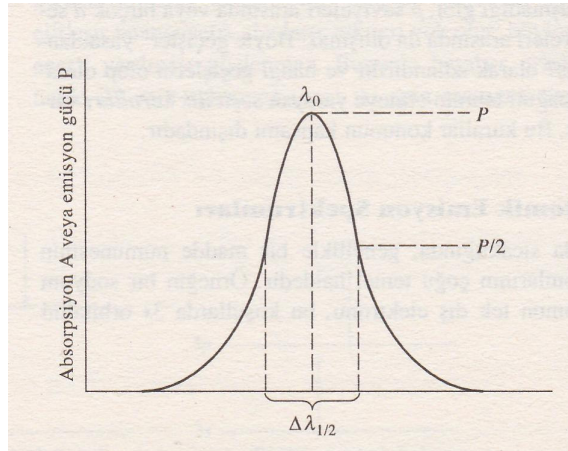
$$A = \epsilon l c \quad (2.8.2)$$

şeklinde yazılır. ϵ un birimi L/mol.cm dir.

2.8.1. Atomik Absorpsiyonda Çizgi Genişlemeleri

Spektroskopik analizlerin büyük kısmında, bant adı verilen dar ve sürekli dalgaboyu gösteren ışınlar ihtiyaç duyulmaktadır. Bant genişliğinin dar olması, absorpsiyon ölçümlerinin duyarlılığını artırır. Absorpsiyon ve emisyon yöntemlerine seçicilik sağlar ve optik sinyal ile derişim arasında doğrusal bir ilişki elde etmek için istenen özelliklerinden biridir. Dalgaboyu seçiciden çıkan ışınların tek dalgaboylu olması istense de, bu mümkün değildir. Aksine şekil 2.8.1. de görüldüğü gibi bir bant oluşmaktadır. Bant, istenen tek dalga boyundaki ışının iki tarafında çok sınırlı sayıda ışın dalga boyu içeren çok dar ışın demetidir. Burada belirli bir dalgaboyunda ışının % geçirgenliği, dalgaboyuna karşı grafiğe geçirilmiştir. Etkin bant genişliğide, bantın yüksekliğinin yarısından dalga boyu eksenine çizilen paralelin absorpsiyon piki içerisinde kalan kısmıdır. Etkin bant genişliğinin daha ince olması, aletin daha iyi performans göstermesi anlamına gelir (116).

Atomik spektroskopide, elde edilen absorpsiyon piklerinin çizgi olması istenir. Çünkü dar çizgiler spektrumların örtüşmesinden ileri gelen girişim olasılığını azaltır. Fakat her zaman dar çizgiler elde edilmeyebilir. Özellikle zemin çizgisine yaklaşılan yerlerde, piklerin genişlediği görülür.



Şekil 2.8.1. Bir atomik çizginin profili (Etkin çizgi genişliği $\Delta\lambda_{1/2}$ nin tanımı).

Çizgiden ziyade, neredeyse bir moleküler absorpsiyon piki şeklini alır. Spektral çizgilerin genişlemesine neden olan etkiler şunlardır (117):

- Belirsizlik Etkisi,
- Doppler Etkisi,
- Basınç Etkisi,
- Elektrik Manyetik Alan Etkisi (Zeeman Etkisi).

2.8.1.1. Belirsizlik Etkisi

Belirsizlik, bir elektronu uyardığımızda, uyarıldığı enerji seviyesinde ne kadar süreyle kaldığını belirlemek için yapılan ölçmedeki belirsizlik kadardır. Böyle bir uyarılma enerji seviyesinde bulunan elektron, $10^{-7} - 10^{-8}$ saniye gibi çok kısa bir süre bu seviyede kalır ve bir alt enerji seviyesine geçer. Çok kısa olan bu zaman aralığını ölçmek çok zordur. Bundan kaynaklanan, böyle kısa zaman aralıklarını ölçmede bir takım hatalar yapılır. Bu hatalara belirsizlik denir (117).

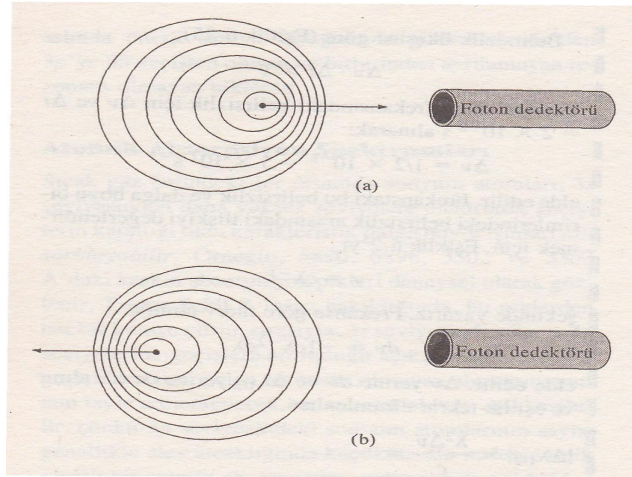
Elektronun uyarıldığı enerji seviyelerinde kalma süresi uzun olsaydı böyle bir belirsizlik ortaya çıkmayacak ve dolayısıyla bundan kaynaklanan çizgi genişlemesi sıfır olacaktı. Belirsizlik nedeniyle meydana gelen spektral çizgi genişlemesine “doğal çizgi genişlemesi” denir (117).

2.8.1.2. Doppler Etkisi

Hareket halindeki atomların, absorpladığı veya yaydığı ışının dalga boyunun, şekil 2.8.2. de görüldüğü gibi, dedektöre doğru giderken normale göre azalması, dedektörden uzaklaşırken de artması olayına Doppler Etkisi denir. Bu olay sadece elektromanyetik ışın ile değil ses dalgalarıyla da gözlenir. Örneğin bir otomobil yayayı geçerken kornasını çaldığı anda Doppler Etkisi olur. Otomobil gözlemciye yaklaştıkça kornanın her ilerleyen ses titreşimi, gözlemciye daha yakın olan bir noktadan yayılır. Bu sebeple, her ses dalgası otomobil duruyorken beklenenden daha erken yayaya ulaşır. Sonuçta, korna için daha yüksek frekans söz konusudur.

Otomobil gözlemciyle aynı konumda olduğu zaman, dalgalar otomobil yoluna dik çizgi boyunca gözlemcinin kulağına doğrudan gelir. Bu sebeple frekans kayması yoktur. Otomobil yolcudan uzaklaştığı zaman, her bir dalga bir önceki dalgadan daha uzak noktada yayılır. Sonuçta, frekans daha küçülmüş olur (116,117).

Doppler kaymasının büyüklüğü, ışın yayıcı ve absorplayıcı türlerin alıcıdan uzaklaşma ve yaklaşma hızları arttıkça artmaktadır. Sıcak bir ortamda, örneğin alevde toplanmış atomlar her yönde hareket eder. Tek tek atomların hızları, bir Maxwell – Boltzmann dağılımı gösterir. Belli bir türün ortalama hızı, mutlak sıcaklığın karekökü ile doğru orantılıdır. Maksimum Doppler Kaymaları, dedektöre doğru yaklaşan veya uzaklaşan en yüksek hızla hareket eden atomlar tarafından sergilenir. Dedektöre dik yönde harekete sahip atomlar herhangi bir etki göstermezler.



Şekil 2.8.2. Doppler etkisi a) Dedektöre yaklaşan taneciğin Doppler etkisi
b) Dedektörden uzaklaşan taneciğin Doppler etkisi

Aradaki kaymalar, atomların hız ve yönlerinin fonksiyonu olarak oluşur. Bu sebeple, dedektör sıfır Doppler etkisinin olduğu yolu maksimum gösteren yaklaşık simetrik dalga boyu dağılımıyla karşılaşır. Alevde Doppler etkisi, çizgi genişlemesinden yüzlerce kat daha büyük genişliğe sahip çizgiler oluşturur (116).

2.8.1.3. Basınç Etkisi

Bir ortamda, absorpsiyon yapan atomların, yabancı gaz atom veya molekülleriyle çarpışması sonucunda temel halde bulunan enerji seviyelerinde meydana gelen değişiklikler ile yayılan ya da absorplanan ışınların dalga boylarında değişmeler olur. Buna basınç etkisiyle spektral çizgi genişlemesi denir (117).

Bir alevde numune atomları ile yanma ürünleri arasındaki çarpışmaların sonucu, doğal çizgi genişlemesinden binlerce kata varan daha büyük çizgi genişlemesi oluşur. Atomik absorpsiyon spektroskopide ışın kaynağı olarak kullanılan oyuk katot lambaları ve boşalım lambalarındaki genişleme, büyük ölçüde emisyon yapan atom ile aynı cinsten atomlar arasındaki çarpışmaların sonucunda ortaya çıkar. Yüksek basınçlı civa ve ksenon lambalarda bu türdeki basınç genişlemesi, ultraviyole ve görünür bölge arasında sürekli spektrum oluşabilecek kadar ileri boyuttadır (116).

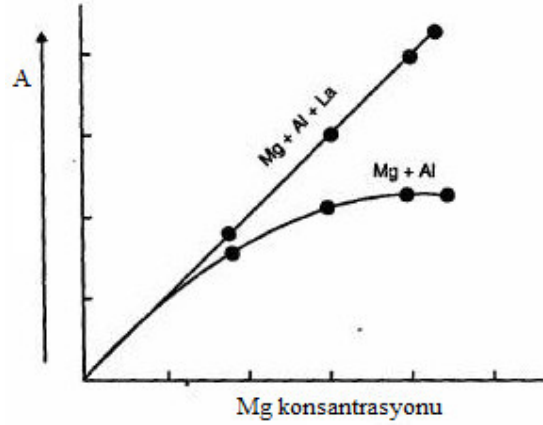
2.8.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopide Girişimler

Atomik absorpsiyon yöntemlerinde iki tip girişimle karşılaşılabilir. Girişim yapan türlerin absorpsiyon veya emisyon çizgileri, analitin esas çizgisiyle örtüşürse veya monokromatörün ayıramayacağı kadar ona yakın olduğu zaman spektral girişim ortaya çıkar. Kimyasal girişimler ise analitin absorpsiyon karakteristiklerini değiştiren ve atomlaşma sırasında oluşan çeşitli kimyasal işlemlerden ileri gelir (116).

2.8.2.1. Kimyasal Girişimler

Kimyasal girişimler, atomik absorpsiyon sürecinde tümüyle dikkate alınması gereken girişimlerdir. Atomlaştırma sırasında oluşan çeşitli kimyasal işlemlerden kaynaklanmaktadır. En fazla görülen kimyasal girişim, analit ile uçuculuğu düşük bileşik oluşturan ve böylece atomlaşmayı geciktiren anyonların yapmış oldukları girişimdir. Bu girişimin sonucunda ise olması gerekenden daha düşük sonuçlar elde

edilir. Bu düşük sonuçlar, daha yüksek alev sıcaklıklarına çıkılarak giderilebilir. Katyon girişimi de meydana gelebilmektedir. Örneğin; alüminyum metalinin uçuculuğu düşük Al/Mg bileşimini oluşturarak Mg tayinini güçleştirir gibi. Bu durumda ortama lantan eklenerek bu girişim engellenebilir (şekil 2.8.3). Çünkü lantan ve alüminyum oksit karışımları, magnezyum ve alüminyum oksit karışımından daha karardır. Ortamda lantan-alüminyum oksit bileşimi meydana gelirken magnezyum oksit serbest kalacaktır ve girişimde engellenmiş olacaktır (123).



Şekil 2.8.3. Alüminyumun, magnezyum üzerine kimyasal girişimi ve bunun lantan ile giderilmesi

Kimyasal girişimler, yüksek sonuçların çıkmasında sebep olabilmektedir. Örneğin, azot içeren bileşenlerin çinko atomlarının absorbanasını arttırması gibi.

2.8.2.2. İyonizasyon Girişimleri

F-AAS de alev sıcaklığı çok yüksek olduğu zaman söz konusu olmaktadır. Bu durumda buharlaşan atomların pek çoğu alev tarafından iyonlaştırılır. Sonuçta, iyonlaşan atomların dalgaboylarındaki absorbanları, buhar halindeki atomların absorbanlarından daha farklı olacaktır. Daha kolay iyonlaşan tür ilave edilerek bu girişimin etkisi azaltılabilmektedir (123).

2.8.2.3. Spektral Girişimler

Oyuk katot kaynaklarının emisyon çizgilerinin çok dar olması nedeniyle, çizgilerin örtüşmesinden ileri gelen girişim nadiren görülür. Böyle bir girişimin meydana gelmesi için iki çizgi arasında 0.1 A° dan daha az fark olması gerekir. Spektral girişimler, ışınların saçılmasına sebep olan katı taneciklerden veya geniş bant absorpsiyonu oluşturan yanma ürünlerinden ileri gelir. Her ikisi durumda da gelen ışının gücü zayıflar ve pozitif analitik hataya yol açar. Bu ürünlerin kaynağı yalnızca yanıcı ve yükseltgen karışımı olduğunda, düzeltmeler bir tanık çözeltinin aleve püskürtülüp absorban ölçümünün yapılmasıyla kolayca sağlanabilir (116).

Daha güç durumlar, absorpsiyon ve saçılmanın kaynağı numune matriksi ise, ortaya çıkar. Bu durumda, geçen ışın gücü matriks bileşenleri tarafından azaltılıken, gelen ışın gücü azalmayacaktır. Sonuçta absorbansta, dolayısıyla derişimde pozitif hataya sebep olur (116).

Ti, Zr, W gibi, refrakter oksitler veren bazı metallerin derişik çözeltileri aleve püskürtülünce, atomlaşma ürünleri arasında, ışınları saçabilen katı tanecikler de oluşur ve buda spektral girişim görülmesine neden olur. Katı taneciklerin boyutu, ışının dalga boyundan büyükse bu saçılmalar olur. Saçılmadan kaynaklanan girişimler, numunenin organik türler içerdiği veya numuneyi çözmeye organik çözücüler kullanıldığında da bir problem olabilir. Bu durumda organik matriksin tam olmayan yanma ürünleri, ışın saçılmasına sebep olan karbonlu tanecikler bırakır (119).

Alev atomlaştırmada, matriks ürünlerinin spektral girişimleriyle, geniş ölçüde karşılaşılmaz ve çoğu zaman sıcaklık ve yanıcı-yükseltgen gazların oranı gibi analitik değişkenlerle önlenebilir. Alternatif olarak, girişimin kaynağı bilinirse, girişim yapan maddenin aşırısı numune ve standartlara ilave edilebilir. Standart numuneye eklenen matriks derişiminin, numune matriksi derişimine göre büyük olması halinde, numune matriksinin katkısı önemsiz olacaktır.. Matriks girişim problemi, elektrotermal atomlaştırmada daha önemli bir sorundur. Ancak platform teknolojisindeki gelişmeler, gelişmiş yüksek kalitedeki grafit materyaller, hızlı fotometrik ölçüm ve Zeeman tipi zemin düzeltme ile bu tip girişimlerin alevli atomlaştırmadaki düzeye inebildiği ileri sürülmektedir (116).

Matriks kaynaklı karışırmaları düzeltmek için çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar, çift çizgi düzeltme yöntemi, sürekli ışın kaynağı ile düzeltme, Zeeman etkisi üzerine kurulan zemin düzeltme ve Smith-Hieftje zemin düzeltme yöntemidir.

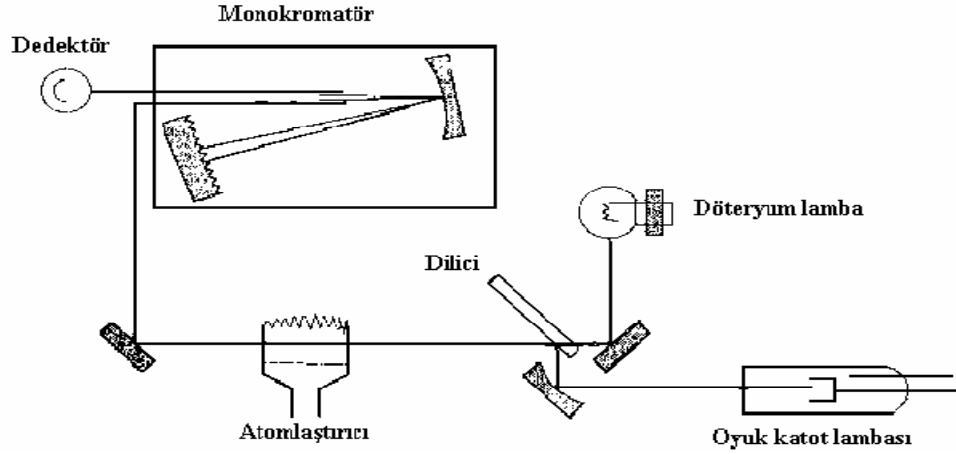
2.8.2.3.1. Çift Çizgi Düzeltme Yöntemi

Çift çizgi düzeltme yönteminde referans olarak, kaynaktan gelen bir çizgi kullanılır. Bu çizgi, analit çizgisine olabildiğince yakın olmalı, fakat analit tarafından absorplanmamalıdır. Bu koşul sağlanırsa, kalibrasyon süresince gözlenen referans çizginin gücündeki herhangi bir azalmanın, numune matriks ürünleri tarafından saçılma veya absorpsiyondan ileri geldiği düşünülür. Işın gücündeki bu azalma, analit çizgisinin absorpsiyonunu düzeltmede kullanılır (116).

Referans çizgisi, lambanın katodundaki bir safsızlıktan, lambadaki neon veya argon gazından gelebilir veya tayin edilmekte olan elementin rezonans çizgisi dışındaki bir emisyon çizgisi olabilir. Her analiz için uygun bir referans çizgisi bulmanın zorluğu ise bu yöntemin dezavantajıdır (116).

2.8.2.3.2. Sürekli Işın Kaynağı ile Düzeltme

Bu yöntemde, ultraviyole bölgesindeki sürekli ışın kaynağını döteryum lamba oluşturur. Sürekli ışın kaynağı ve oyuk katot lambasından gelen ışınlar yol üzerindeki kesicinin tasarımı sayesinde, grafit-tüp atomlaştırıcıdan sıra ile geçer. Döteryum ışınının absorpsiyonu, analit ışınının absorpsiyonundan çıkarılır (şekil 2.8.4). Numune atomları tarafından absorplanan sürekli ışın kesri ihmal edilsin diye slit genişliği, yeterince geniş tutulur (116).

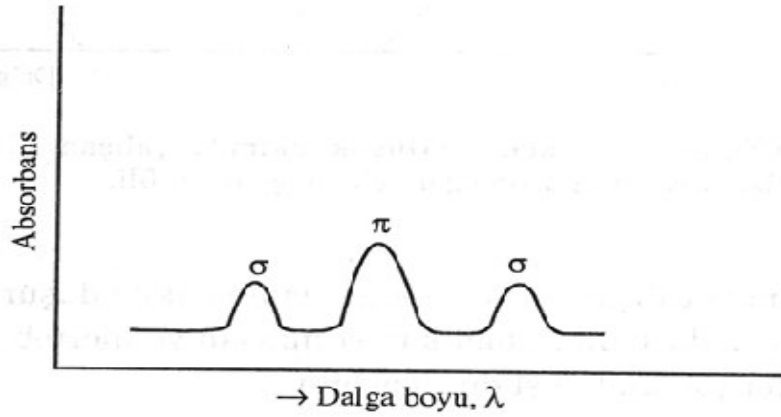


Şekil 2.8.4. Sürekli ışın kaynağı ile spektral girişimin engellendiği bir sistem

Böylece, atomlaşmış numune içinden geçişi sırasında, sürekli ışının gücündeki azalma, yalnızca numune matriks bileşenleri tarafından saçılma veya geniş bant absorpsiyonunu yansıtır. Böylece bir zemin düzeltme yapılır. Son olarak, görünür bölgede döteryum lambanın ışın çıkışı, 350 nm den daha büyük dalga boylarında, bu düzeltme işleminin kullanımını imkansız kılacak kadar düşüktür (116).

2.8.2.3.3. Zeeman Etkisine Dayanan Zemin Düzeltme

Bir atomun buharı, kuvvetli bir manyetik alan etkisine maruz bırakılırsa, elektronik enerji seviyelerinde çeşitli farklılaşmalar ortaya çıkar. Bunun sonucu atomun bir elektronik geçişi için çeşitli absorpsiyon çizgileri meydana gelir. Böyle manyetik bir alanda, bir atomun elektronik geçişlerinde meydana gelen daha zayıf alt geçişlere “Zeeman etkisi” denir. Bu etki bütün atomik spektrumlarda görülür (116).



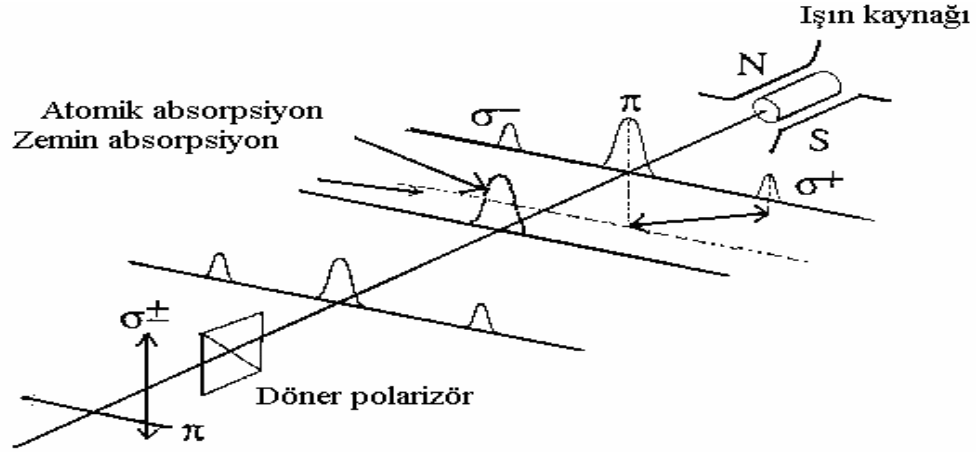
Şekil 2.8.5. Zeeman etkisi ile π ve σ absorpsiyonları.

Singlet geçişlerde görülen basit yarıma tipi, bir merkez veya π çizgisi ve iki eşdeğer uydu σ çizgisini kapsar. Merkezdeki π çizgisi orijinal çizgi ile aynı yönlüdür ve çakışır ve bu çizginin absorbansı, her σ çizgisinin iki katıdır. σ çizgilerinin büyüklükleri aynıdır. Daha karmaşık geçişler için daha fazla π ve σ çizgileri oluşur (116).

Normal Zeeman etkisinde atomun yayılan veya absorplanan hattı bir manyetik alan etkisiyle üç kısma yarılr (Şekil 2.8.5). Merkez bileşen olan π , manyetik alana paralel polarize ve orijinal absorpsiyon hattı ile aynı dalga boyundadır. Diğer iki bileşen olan σ^+ ve σ^- ise merkez bileşenin her iki tarafında eşit (0,01 nm) dalga boyunda uzaklıkta bulunur ve manyetik alana dik düzlemde polarize olmuştur. Kaymanın derecesi uygulanan manyetik alanın kuvveti ile orantılıdır (121).

Atomik absorpsiyon cihazlarında Zeeman etkisi uygulamaları, belirtilen iki tip absorpsiyon pikinin polarize ışınlar karşı farklı davranışlarını esas alır. π piki yalnızca dış manyetik alana paralel yönde düzlem polarize olan ışını absorplar. Buna karşılık σ pikleri alana 90° de polarize ışını absorplar (116).

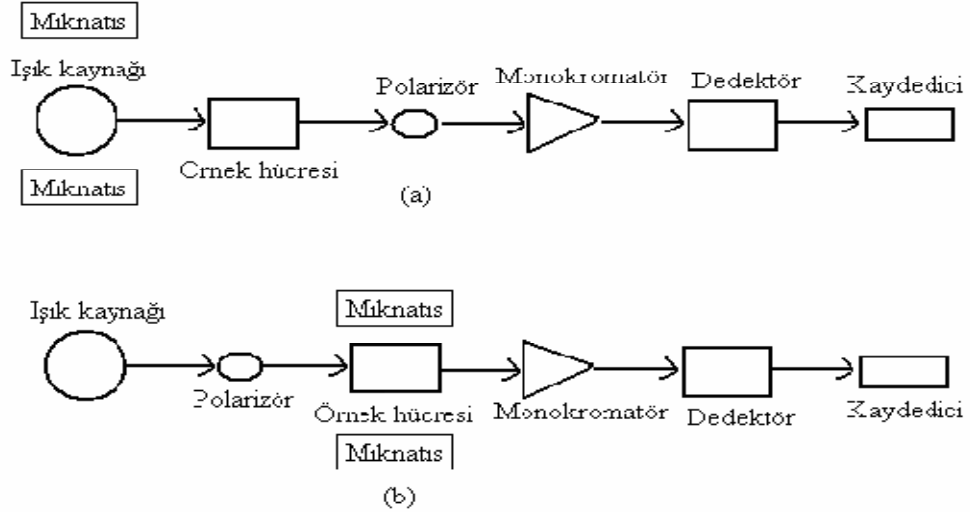
Zemin düzeltme için Zeeman etkisini kullanan şekil 2.8.6. da verilen bir elektrotermal atomik absorpsiyon cihazı, alışılmış oyuk katot kaynağından gelen polarize olmamış ışını 90° lik düzlemde polarize olacak iki ışın demetine ayrılması için döner bir polarizör içinden geçirir.



Şekil 2.8.6. Zeeman etkisi ile zemin düzeltme

Bu ışınlar bir grafit tüp içinden geçirilir. Sabit magnet, fırını sarar ve üç absorpsiyon piki oluşturmak üzere enerji seviyelerini yarar. Merkez pikinin manyetik alana paralel düzlem polarize ışınları absorplar. Kaynaktan gelen ışının manyetik alana paralel polarlandığı yarı döngüde ise absorpsiyon meydana gelmez. Diğer taraftan geniş-bant moleküler absorpsiyon ve matris ürünlerinin yol açtığı ışın saçılmaları, her iki yarı döngüde de oluşur. Sonuçta periyodik toplam absorpsiyon ortaya çıkar. Veri algılama sistemi, paralel polarize yarı döngüdeki absorbanstan, dik polarize yarı döngüdeki absorbansı çıkarıp, düzeltilmiş zemin değerini vermek üzere üzere programlanır (116).

Zeeman etkili cihazın ikinci bir tipinde, magnet, oyuk katot lambasının etrafında olacak şekilde tasarlanmıştır. Burada tercihen numunenin absorbans spektrumu yerine, kaynağın emisyon spektrumu yarılmıştır. Bu cihaz tasarımı, benzer bir düzeltme oluşturur. Şekil 2.8.7. de görüldüğü gibi, farklı tiplerdeki bu cihazlarda polarizör ya örnek hücresi ile monokromatör yada ışın kaynağı ile örnek hücresi arasında olur (116).



Şekil 2.8.7. Zeeman etkili cihazların şematik gösterimi

Zeeman etkili cihazlar, zemin düzeltme için, diğer yöntemlerden daha doğru düzeltme oluşturur. Bu cihazlar özellikle elektrotermal atomlaştırıcılar için yararlı olup, idrar ve kan gibi numunelerdeki elementlerin doğrudan tayinlerine izin verir. Bu numunelerdeki organik maddelerin bozunması büyük zemin düzeltmesini (zemin absorpsansı, $A \geq 1$) zorunlu kılar ve zemin düzeltmesi olmazsa, önemli hatalar verir (116).

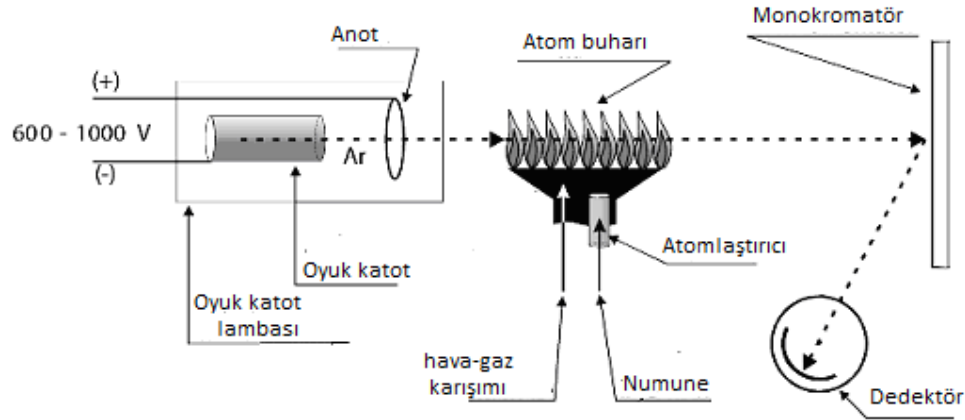
2.8.2.3.4. Smith-Hieftje Zemin Düzeltme Yöntemi

Zemin düzeltmede kullanılan basit bir yol olmasına rağmen, Zeeman zemin düzeltmenin avantajlarının çoğunu sunan önemli bir yöntemdir. Bu yöntem, oyuk katot lambası yüksek akımlarda çalıştırıldığı zaman lambadan yayılan ışının self-absorpsiyonuna yada self-ters çevirmesine dayanır. Oyuk katot lambasına verilen yüksek akım, uyarılmamış atomların sayısını artırır ki, bunlar da uyarılmış atomlardan yayılan ışınları absorplama yeteneğindedir. Yüksek akımın bir başka etkisi, uyarılmış türlerin emisyon bandını önemli derecede genişletmesidir. Net etki, absorpsiyon pikinin dalga boyuyla tam çakışan, pik merkezinde bir minimuma sahip bir bant oluşmasıdır. Düzeltilmiş absorpsans elde etmek üzere lamba değişimli olarak düşük ve yüksek akımlarda çalıştırmak üzere programlanır. Toplam absorpsans düşük akım çalışması boyunca elde edilir ve zemin absorpsansı, absorpsiyon pikindeki ışının

minimumda olduğu zamanki ikinci devre boyunca ölçülerek oluşturulur. Veri algılama sistemi, toplamdan, zemin absorbansını çıkararak düzeltilmiş değer verir. Yöntemin olumsuz tarafı, oyuk katot lambasının daha hızlı deforme olmasıdır (116).

2.9.1.3. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinin Kısımları

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi; şekil 2.8.8. de görüldüğü gibi, incelenen elemente özgü spektrum oluşturan bir ışın kaynağı, numunedeki atomların gaz hale dönüşümünü sağlayacak bir atomlaştırıcı, uygun dalga boyunda çalışmamızı sağlayacak bir monokromatör, ışın kaynağından gelen ışındaki azalmayı ölçen bir dedektör ve kaydediciden oluşur.



Şekil 2.8.8. Atomik Absorpsiyon Spektrometresinin şeması

2.8.3.1. Işın Kaynakları

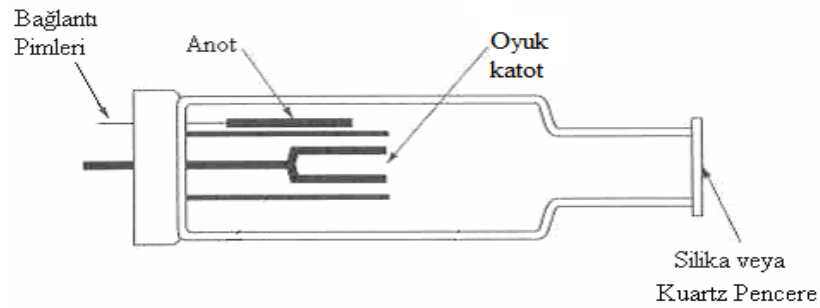
AAS de incelenen element çok dar dalga boyu aralığında absorpsiyon yapmaktadır. Bu nedenle sürekli bir ışın kaynağı kullanarak absorpsiyon hattını ayırmaya çalışmak yerine absorpsiyon hattının daha dar spektrum veren bir spektral kaynak kullanmak alet tasarımı açısından çok büyük bir kolaylık sağlamıştır (124).

Atomik absorpsiyonu esas alan analitik yöntemler, elektronik geçiş enerjilerinin her elemente özgü ve atomik absorpsiyon çizgilerinin önemli derecede

dar olması (0,002-0,005 nm) sebebiyle oldukça spesifikdir. Atomik absorpsiyon piklerinin sınırlı genişliğinden oluşan problem, absorpsiyon piklerinden daha dar bant veren çizgi kaynaklarının kullanımıyla çözülmüştür (116).

2.8.3.1.1. Oyuk Katot Lambaları

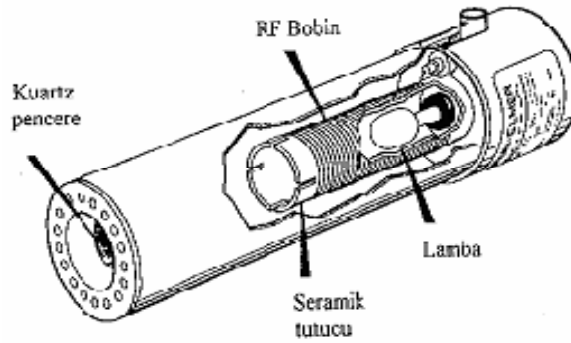
Atomik absorpsiyon ölçümlerinde kullanılan en yaygın lamba türüdür. Tipik bir oyuk katot lambası şekil 2.8.9. da verilmiştir. Bu lambalar 1-5 torr basınçta argon veya neon ile doldurulmuş bir cam tüp içerisinde, bir tarafı kapalı silindirik katot ile bir tungsten anottan ibarettir. Katot spektrumu istenen metalden veya bu metalin bir tabakasını desteklemede kullanılan başka bir metalden imal edilir. Elektrotlar arasına 300 V civarında bir potansiyel uygulanınca, inert gaz atomları iyonlaşır. İyonlar ve elektronlar elektrotlara göçerken, 5-15 mA lik bir akım oluşur. Potansiyel farkı yeterli ise yüksek hızla katoda çarpan katyonlar, katot yüzeyindeki atomlardan bazılarını koparıp gaz fazına geçirir. Bu süreç sıçratma adını alır. Sıçratılan metal atomlarının çoğu uyarılmış haldedir ve temel hallerine dönerken karakteristik ışın yayarlar. Sonuçta metal atomları, geri katot yüzeyine difüzlenir yada tüpün cam yüzeyinde birikerek artacaktır. Katodun silindirik yapısı, metal tüpün sınırlı bir bölgesinde ışını yoğunlaştırır; bu tasarım cam duvardan çok katot yüzeyinde atomların birikmesi olasılığını arttırır (116).



Şekil 2.8.9. Oyuk katot lambası

2.8.3.1.2. Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Elektrotsuz boşalım lambaları, atomik çizgi spektrumlarının yararlı kaynaklarıdır. Oyuk katot lambalarından çok daha fazla ışın şiddeti oluştururlar. Şekil 2.8.10. da verilen tipik bir lamba spektrumu, ilgilenilen metalin veya tuzun küçük bir miktarını ve birkaç torr basınçta argon benzeri inert bir gaz içeren kapalı kuvars tüpten yapılıdır. Bu lambalar elektrot yerine şiddetli bir radyo frekansı yada mikrodalga ışının sağladığı alanla atomları uyarır. Önce argon atomları iyonlaşır. Bu iyonlar uygulanan alanın yüksek frekans bileşeni tarafından hızlandırılır. Hızlanan iyonlar, spektrumu istenen atomlara çarpıp onları uyarırlar (116).



Şekil 2.8.10. Elektrotsuz boşalım lambası

Elektrotsuz boşalım lambaları daha şiddetli ışık yaydığı için, oyuk katot lambalarıyla kıyaslandığında daha hassastır. Bundan ötürüde uçucu bileşenlerin saptanmasında tercih edilir. Ayrıca kesinliğinin yüksek olması ve daha düşük dedeksiyon limitine sahip olması da tercih sebebidir. Bu lambalar As, Bi, Cd, Cs, Ge, Hg, K, P, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Te, Ti, Tl ve Zn elementlerinin analizlerinde kullanılabilir (125).

2.8.3.1.3. Yüksek Işımalı Lambalar

Self-absorpsiyonu ortadan kaldırmak ve emisyon şiddetini artırmak için Sullivan ve Walsh tarafından geliştirilmiştir. Yüksek ışmalı bu lambalarda standart oyuk katot yanında bir çift de yardımcı elektrot vardır. Yardımcı elektrotlardan ikinci bir akım geçirilerek oluşturulan atom bulutunda ilk boşalımda uyarılmayan atomlar da uyarılır. Böylece ışık şiddetinde 50-100 kat artış görülür (116).

Yüksek ışmalı lambalar önce büyük ilgi görmüş olsalarda sonraları yapısının karmaşıklığı, ikinci bir güç kaynağı gerektirmesi ve emisyonun kararlı hale gelmesi için uzun süre beklemesi gibi sebeplerden ötürü kullanımı çok azalmıştır (116).

2.8.3.1.4. Buhar Boşalım Lambaları

Buhar boşalım lambaları, incelenen elementi içeren bir buhardan elektrik akımı geçirilmesiyle emisyon yaparlar. Civa, talyum, çinko gibi çok uçucu metaller ve alkali metalleri buhar boşalım lambaları kullanılarak tayini yapılırdı. Oyuk katot lambalarının geliştirilmesiyle bu lambalar atomik absorpsiyon analizlerinde önemini kaybetmiştir (116).

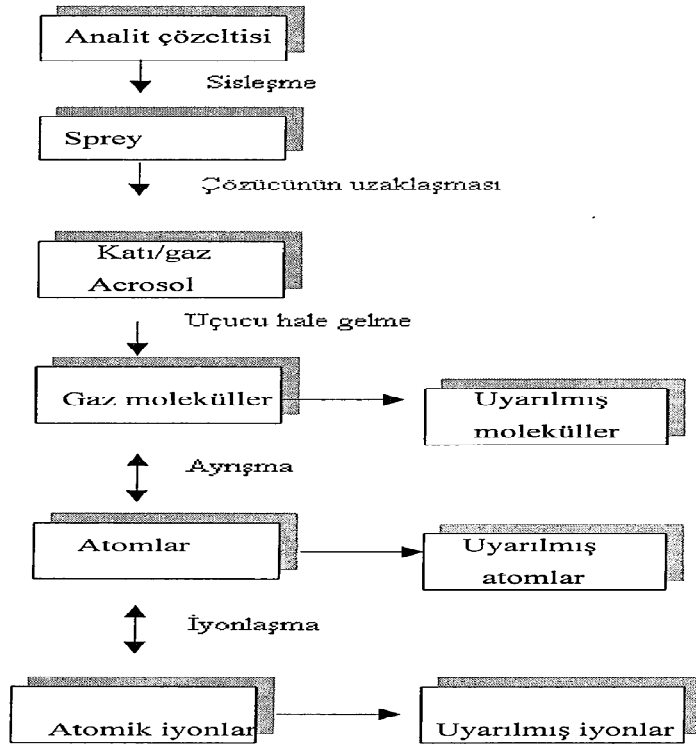
2.8.3.2. Atomlaştırıcılar

Atomlaştırıcının görevi, örnekteki iyonlardan ve moleküllerden analizi yapılacak elementin temel düzeydeki atom buharını oluşturmaktadır. Işın kaynağından gönderilen ışının absorplanması bu buhar içinde meydana geleceğinden, atomlaştırma basamağı büyük önem taşımaktadır. 1970 lere kadar atomlaştırma işlemi, çözeltilinin alevle püskürtülmesi ile yapılmıştır. Daha sonraları grafit fırın ve hidrür tekniği gibi alevsiz uygulamalarda gelişmiştir (121).

2.8.3.2.1. Alevli Atomlaştırıcılar

Atomlaştırma basamağı şekil 2.8.11. de görüldüğü gibi karmaşık bir süreçtir. Atomlaştırma için kullanılan alevli atomlaştırıcılarda, atomlaşmanın oluştuğu bir alev içine numune çözeltisi yanıcı gaz ile karışan yükseltgen gaz akışıyla taşınır ve

püskürtülür. İlk olarak çözücü buharlaşır ve çok ince olarak dağılan bir moleküler aerosol oluşur. Bu olaya çözücünün uzaklaşması denir. Sonra bu molekülün çoğunun ayrışması sonucu, bir atomik gaz oluşur. Bu şekilde oluşan atomların çoğu, katyonlar ve elektronlar vermek üzere iyonlaşır. Alevin ısıyla moleküller, atomlar ve iyonların bir kısmı da uyarılır. Bu sebeple atomik, iyonik ve moleküler emisyon spektrumları oluşur. Buda alevli spektroskopide en kritik basamağın atomlaştırma olduğunu gösterir. Ön karıştırmalı ve ön karıştırmaz atomlaştırıcılar en çok kullanılanlardır. Alevli atomlaştırmada kullanılan gaz karışımları Tablo 2.8.1 de verilmiştir (116).



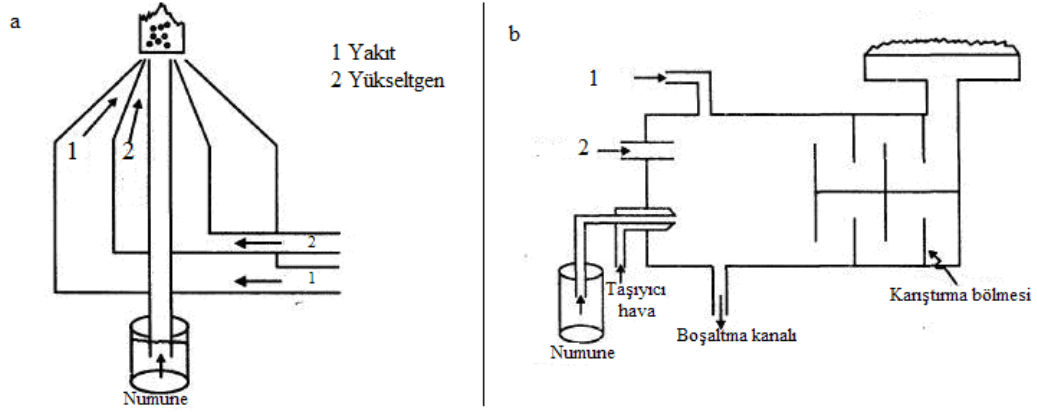
Şekil 2.8.11. Atomlaştırma anında meydana gelen süreçler

Tablo 2.8.1. Alevli atomlaştırmada kullanılan gaz karışımları ve oluşan sıcaklıklar

Yanıcı Gaz	Yakıcı Gaz	Sıcaklık (°C)
Doğal Gaz	Hava	1700-1900
Doğal Gaz	Oksijen	2700-2800
Hidrojen	Hava	2000-2100
Hidrojen	Oksijen	2550-2700
Asetilen	Hava	2100-2400
Asetilen	Oksijen	3050-3150
Asetilen	Nitröz Oksit	2600-2800

Ön karıştırmasız atomlaştırmalar (şekil 2.8.12.a) da sistem basit bir düzenele sağlanmıştır. Burada numune çözeltisi yüksek basınçla kapiller bir boru tarafından çekilir. Atomlaştırmacının uç kısmında ayrı ayrı taşınan yanıcı ve yakıcı gazlarla birleşerek atomlaştırılır. Bu atomlaştırmaların avantajı numuneyi tamamen tüketmesidir. Fakat partiküllerin farklı boyutlarından dolayı da homojen bir alev oluşturamaması dezavantajdır (120).

Ön karıştırmalı atomlaştırmalar (şekil 2.8.12.b), alev şiddetindeki kararlılığından dolayı en çok kullanılan atomlaştırmalardır. Bu tip atomlaştırmalarda numune çözeltisi, yanıcı ve yakıcı gaz atomlaştırmacının uç kısmına gelmeden önce karıştırılırlar (120).



Şekil 2.8.12. Alevli atomlaştırıcı çeşitleri; a) Ön karıştırmalı

b) Ön karıştırmasız

2.8.3.2.2. Elektrotermal Atomlaştırıcılar

Genellikle kısa sürede tüm numunenin atomlaştırılması ve optik yoldan atomların ortalama kalma sürelerinin 1 sn veya daha fazla olması nedeniyle duyarlıkta artış sağlayan bir yöntemdir. Elektrotermal atomlaştırıcılarda grafit bir kapsülde veya elektriksel olarak ısıtılmış grafit bir tüpte önce numunenin birkaç μL si kurutulur ve sonra kül edilir. Ardındanda atomlaştırma basamağına tabi tutulur (119). Sırasıyla;

1. Kurutma basamağında, uçucu matriks veya herhangi bir çözücü bileşenlerinin buharlaştırılması gerçekleştirilir. Bu amaçla numune 20-30 s süre ile $110\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklığa tabi tutulur.

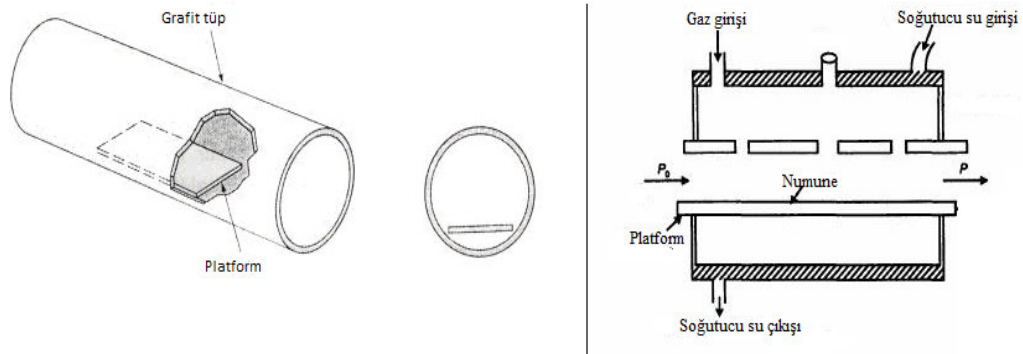
2. Kül etme basamağında, yüksek kaynama noktasına sahip matriks bileşenlerini buharlaştırmak ve matriks materyallerini piroliz etmek için numune, orta sıcaklıklarda gerekli olduğu kadar bekletilir. Kül etme basamağın gereğinden uzun olması yada çok yüksek sıcaklıklarda yapılması analit kaybı oluşturabilir. Bu basamakta uygulanan sıcaklık $350 - 1200\text{ }^\circ\text{C}$ arasındadır.

3. Atomlaştırma basamağında, maksimum fırın sıcaklığına veya seçilmiş atomlaştırma sıcaklığına olabildiğince çabuk ulaşmak için maksimum güç uygulanır.

Sonuçta analit kalıntısı, AAS ışık kaynağından gelen ışını absorplayacak buhar hale ve çözülmüş serbest serbest atomlar haline gelmiş olur (125).

Kül edildikten sonra, yaklaşık 2000 °C ile 3000 °C ye yükselen sıcaklığa neden olan akım, hızla birkaç yüz ampere arttırılır; numunenin atomlaşması birkaç milisaniyeden saniyelere kadar değişen periyotta oluşur. Atomlaşan taneciklerin absorpsiyon ve floresansları ısıtılmış yüzeyin hemen üzerindeki bölgede ölçülür (125).

Şekil 2.8.13 te gösterilen grafit atomlaştırıcıların düşük tekrarlanabilirliği ve numune matris etkilerinin çoğu, grafit tüpün doğal gözeneklerinin azaltılmasıyla giderilebileceği ampirik olarak bulunmuştur. Atomlaşma sırasında matris ve analitin bir kısmı açıkça, tüp duvarlarına difüzlenererek atomlaşma işleminin yavaşlamasına ve daha küçük analitik sinyal oluşumuna neden olur. Bu etkiyi önlemek için, bir çok grafit tüp, grafit tüp gözeneklerini kapatmak için ince pirolitik karbon tabakası ile kaplanır. Pirolitik grafit oldukça homojen bir çevreden tabaka tabaka, uzun sürede biriktirilmiş bir çeşit yapay grafitir. Tüp yüksek bir sıcaklıkta tutulurken tüp içinden bir hidrokarbon ve inert gaz karışımı geçirilerek pirolitik kaplama yapılır (119).

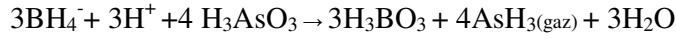


Şekil 2.8.13. Elektrotermal atomlaştırıcı

2.8.3.2.3. Hidrür Atomlaştırma

Kurşun, bizmut, kalay, arsenik, antimon gibi elementler numune ortamında uçucu hidrürleri haline dönüştürülerek atomlaştırma ortamına alınarak tayin edilirler. Buna ek olarak metodun hassaslığı da öteki metotlara göre en az 10 kat artırılmış olur. Bu elementlerin zehirli olması ve diğer metotlarla tesbit edilemeyen düşük derişimlerinin hesaplanması bu yöntemin avantajıdır.

Elementlerden hidrür oluşturmak için, numune asitlendirilir ve bu asitli çözeltiye az miktarda % 1 lik sodyum borahidrür (NaBH₄) ilave edilir. Karışım içerisinde inert bir gaz geçirilerek atomlaştırma odasına gönderilir. Atomlaştırma hücresi genellikle silikadan yapılmış bir borudur ve sıcaklığı atomlaştırma bölgesinde, birkaç yüz dereceyi bulur. Kaynaktan gelen ışın demeti, bu hücreden geçerek monokromatöre oradan da dedektöre ulaşır. Asitlendirilmiş bir numunede As nin HGAAS ile tayininde aşağıdaki tepkime geçerlidir (116):



Uçucu hidrür (burada arsin) inert bir gaz ile atomlaştırma odasına sürüklenir. Bu oda, silisten yapılmış bir borudur. Bu boru, yine boru şeklinde bir fırın yardımı ile birkaç yüz dereceye ısıtılır. Bu sıcaklıkta hidrür bozunur; analitin nötral atomları oluşur ve atomların derişimi, absorpsiyon veya emisyon ölçümünden bulunur.

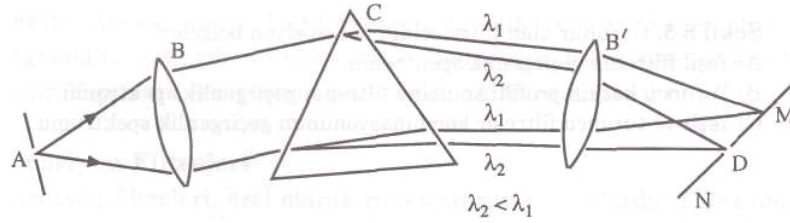
2.8.3.3. Monokromatörler

Monokromatörler polikromatik ışıdan tek dalga boylu ışın elde etmek amacıyla geliştirilmiş olan cihaz veya düzeneklerdir. Bunlar etkin bant genişliğinin daraltılmasını sağlarlar. Monokromatörler tek dalga boylu ışınları art arda verebildikleri için, bu özelliklerinden yararlanarak geniş bir dalga boyu aralığı araştırılabilir. Buna tarama denir (117).

2.8.3.3.1. Bunsen Monokromatörü

Prizmalar ultraviyole, görünür ve infrared bölgedeki ışınları ayırma amacıyla kullanılabilirler. Prizma yapımında kullanılan maddeler dalgaboyu aralığına göre farklılıklar gösterir (116).

Bunsen monokromatörü, kendi adı ile bilinen Bunzen prizması içermektedir. Böyle bir monokromatör anahatlarıyla Şekil 2.8.14. te verilmiştir. Şekilde görüleceği gibi, monokromatörde başlıca üç kısım bulunur.



Şekil 2.8.14. Bunsen prizmalı bir monokromatör. A) giriş aralığı, BB') mercekler, C) prizma, D) çıkış aralığı.

Bunlar:

1. Işın demetinin giriş ve çıkış slitleri, A ve D,
2. Mercek sistemi, B ve B',
3. Polikromatik ışını tek dalga boylu ışınlara ayıran prizma veya greyting sistemidir.

Giriş sliti çok dar ve dikdörtgen kesitli bir aralıktır. Aralığın genişliği mm olarak ayarlanır. Buradan dikdörtgen kesitli bir ışın demeti monokromatöre girer. Bu demet B merceğinde paralel demet haline getirilip, prizmaya gönderilir. Prizmaya ulaşan demet, dalga boylarına kadar ayrılır. Bu ışın demetinin dalga boylarına ayrılmış hali için λ_1 ve λ_2 olarak göstermektedir (117).

2.8.3.3.2. Littrow Monokromatörü

Littrow monokromatörü düşey kenarı gümüşle kaplanmış 30° tepe açısı olan dik açılı bir prizma içerir. Geri yansıtma ile çalışan Littrow prizmalarında, ışın demeti, prizmaya girdiği yüzeyden, prizmayı terk ederek çıkar. Terk etme esnasında çeşitli dalga boylarına ayrılmış ışın demetleri oluşmuştur. Böyle bir prizma 60° lik bir prizmanın ayırma gücüne sahiptir. Littrow prizmaları cihazda daha az yere ihtiyaç duyduğundan ve ışın demetini geri döndürerek bazı optik hataları bertaraf ettiğinden, spektrofotometre yapımında fazlaca kullanılan prizmalardır (117).

Monokromatörlerde önceleri prizmalar kullanılmasına rağmen, günümüzde ise optik ağlar daha çok tercih edilmektedir. Bunun nedenleri

1. Ucuz olmaları,
2. Dalga boylarını daha iyi ayırmalarıdır.

2.8.3.3.3. Optik Ağlar

Optik ağlar, ultraviyole, görünür alan ve infrared bölgelerinde çok iyi bir dalga boyu ayırımı yaparlar. Optik ağlar ikiye ayrılır;

Geçirgen optik ağlar,

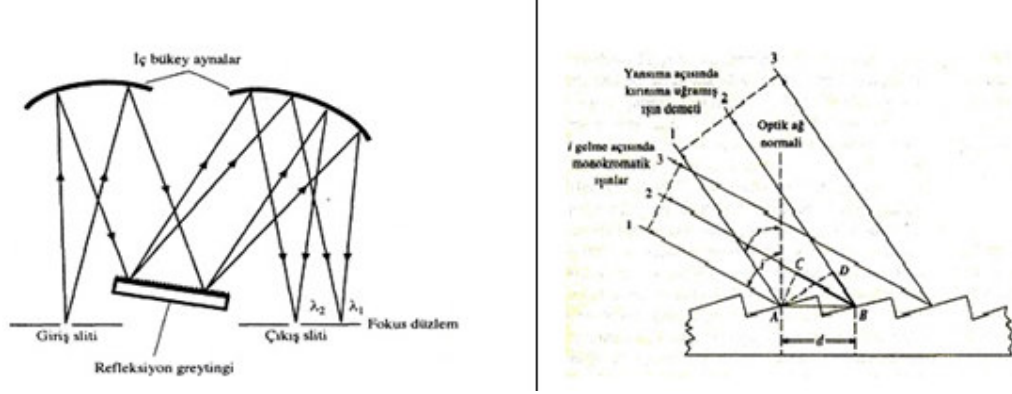
Yansıtımlı optik ağlar.

Geçirgen optik ağlarda (şekil 2.8.15.), cam üzerine çizilmiş geçirgen ve geçirgen olmayan aralıklar bulunur (bir kaç santimetre boyunca). Bunlar çok iyi geçirgen bir plâstik üzerine de çizilebilir. İyi bir optik ağ, santimetrede 6000 e yakın çizgi içerir. Santimetreye eşit aralıklarla bu kadar çizgiyi çizmek çok güç olduğundan, bu tip cihazlar oldukça pahalıdırlar (117).



Şekil 2.8.15. Geçirgen optik ağ

Yansıtımlı optik ağılar (şekil 2.8.16); sert, cilâlı ve optik olarak düz bir yüzeyin elmas uçlu bir masterla eşit aralıklarla çizilmesiyle elde edilir. Böylece yüzeyde eşit aralıklı ve her bakımdan aynı olan paralel yivler elde edilir. Yivlerin bir mm deki sayısı monokromatörün kullanılacağı alana göre değişir (117).



Şekil 2.8.16. Yansıtımlı optik ağı

2.8.3.4. Dedektörler

Elementler tarafından ışın yayılması olayı çoğunlukla görünür bölgede gerçekleşir. Bu nedenle fotovoltaik hücreler yada fototüplere benzer bilindik dedektörler kullanılabilir. Alev fotometresinde foto çoğaltıcı tüpler dedektör olarak kullanılır.

UV-Görünür bölge spektrofotometrelerinde kullanılan dedektörler fotometrik dedektörler olarak isimlendirilirler. Bir ışın bir numune hücresinden geçirildiği zaman, bir kısmı numune çözeltisi tarafından absorplanır. Diğer kısmı ise çözeltilen geçerek dedektöre ulaşır. Burada absorbe edilen ışın miktarı belirlenir. Bu dedektörlerde, azalan ışın şiddetini okunabilecek elektrik sinyaline dönüştürür. En yaygın kullanılan dedektörler (120);

- ✓ Fotovoltaik hücreler
- ✓ Fototüpler
- ✓ Fotoçoğaltıcı tüplerdir.

2.8.3.4.1. Fotovoltaik Hücreler

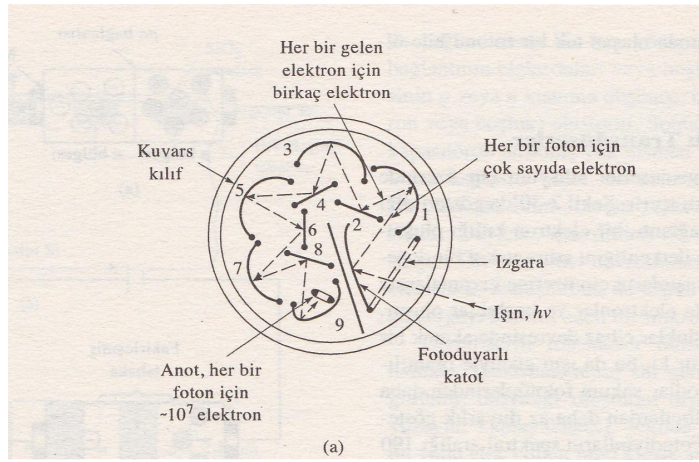
Bu hücreler, en ucuz dedektör tipidir. Gümüş veya altın kaplı ince metalik bir tabakaya sahiptir. Bu tabaka bir elektrot gibi davranır. Aynı zamanda sahip olduğu bir diğer iletken metal tabaka ise diğer bir elektrot gibi davranır. Bu iki tabaka yarı iletken selenyum tabakası tarafından ayrılır. Selenyum son derece az bir iletkenliğe sahiptir. Bu nedenle elektronlar hareketli değildir. Işınlardan selenyum tabakasına ulaştığı zaman, kovalent bağlar kırılır ve bunun sonucunda elektron ve boşluklar oluşur. Hareketsiz olan elektronlar hareketli hale gelirler ve gümüş veya altın kaplı metal tabaka tarafından tutulurlar. Boşluklarda yarı iletkeneye doğru göç ederek toplanırlar. Serbest kalan elektronlar dış devreden akarak bu boşluklara ulaşırlar. Bunun sonucunda da oluşan elektrik akımının şiddeti yarı iletken yüzeyine düşen fotonların sayısı ile doğru orantılı gösterir. Genellikle fotovoltaik hücrelerde, eğer dış devrenin direnci düşük tutulursa ($< 400 \Omega$), oluşan akım mikroampermetre ile ölçülecek düzeyde olur. Bu durumda fotoakım, hücreye düşen ışının gücü ile doğru orantılı göstermektedir. Oluşan tipik akımlar $10 - 100 \mu A$ düzeyindedir (116,120).

2.8.3.4.2. Fototüpler

Böyle tüplerde fotohassas bir yüzey bulunur. Bu fotohassas yüzey üzerine düşen ışınlar şiddetleriyle orantılı olarak elektron açığa çıkarırlar. Böyle cihazlar, bir vakum tüpüne yerleştirilmiş üzerine fotohassas bir madde kaplanmış yarı silindirik geniş bir katotla ki bu tabaka ışınlar ile uyarıldığında elektron vermeye meyillidir, bir tel anottan meydana gelir. Elektrotlar arasında $90 V$ luk bir doğru akım potansiyeli uygulanırsa, yarı silindirik katot üzerine ışın demeti düşünce, yüzeyden elektronlar fırlar. Anot üzerine $90 V$ luk bir pozitif potansiyel olduğundan açığa çıkan elektronlar, onun tarafından şiddetlice çekilir. Bunun sonucunda bir fotoakım meydana gelir. Oluşan akımın şiddeti fotovoltaik dedektörlere kıyaslanırsa daha zayıftır. Ancak, bu tüplerin dirençleri çok yüksek olduğundan, bunlar şiddetlendirilebilirler (117).

2.8.3.4.3. Fotoçoğaltıcı Tüpler

Bu tip dedektörler en hassas dedektörlerdir ve en karmaşık cihazlarda kullanılır. Bu sistemde bir fotokatot ve bir seri anot (dinot) 10 taneye kadar kullanılır. Şekil 2.8.17. de görülen her bir dinot akım uygulandığında bir önceki dinottan daha fazla elektron fırlatarak ilerler ve kopan elektron sayısı her dinota çarptığında artmaya devam eder. Sonunda elektronlar yüzbinlerce defa katlanmış olarak anot üzerinde toplanır.



Şekil 2.8.17. Dinot Şeması

Bu tüpler, çok zayıf sinyalleri saptayabilir. Fotovoltaik hücrelerin saptayabildiği sinyallerin 200 kat daha zayıflarını bile saptayabilmektedir. Ancak yüksek şiddette ışın demeti bu tüplerde düzelmesi mümkün olmayan hasarlarada yol açabilir (117,120).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Bu çalışmada kullanılan *Achillea grandifolia* Friv.(BY 15621) bitkisi, Aydın ilinin, Kuşadası ilçesinin, Güzelçamlı beldesinin güneyinde, Dilek yarımadası Milli parkında, 400-500 metrelik rakımda, yaprak döken orman açıklıklarında 2004 yılında bitkinin çiçeklenme döneminde toplanmıştır.

Achillea nobilis subsp. sipylea (O.Schwarz) Bässler,(BY 15750) ise, Manisa ilinin, Spil Dağı Atalan mevkiinde, *Pinus nigra* ormanı açıklıklarında, 1200 metrelik rakımda, 2004 yılında bitkinin çiçeklenme döneminde toplanmıştır.

Achillea teretifolia Willd. (BY 15637) da, Antalya ilinin, Elmalı ilçesinin, Zorlar köyünün doğusunda, 1550-1650 metrelik rakımda, 2004 yılında bitkinin çiçeklenme döneminde toplanmıştır.

Bitkiler Balıkesir Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Bayram Yıldız ve İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç. Dr. Turan Arabacı tarafından tolanıp tanımlanmaları yapılmıştır. *Achillea grandifolia* Friv.(BY 15621), *Achillea nobilis subsp. sipylea* (O.Schwarz) Bässler (BY 15750) ve *Achillea teretifolia* Willd. (BY 15637) bitkileri İnönü Üniversitesi, Biyoloji Bölümü herbaryumunda (INU) bulunmaktadır.

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Aletler

Bitkilere ait uçucu yağ içeriğinin GC analizleri, Agilent Technologies 6890 N Network tipi sistem ile gerçekleştirildi. HP-Innowax kolon (60m x 0,25 mm, ve 0,25m film kalınlığına sahip) kullanıldı. Dedektör olarak FID kullanıldı.

Bitkilere ait uçucu yağ içeriğinin GC/MS analizleri ise, Agilent Technologies 5973 kütle seçici dedektör (Agilent G3180B Two-Ways Splitters) sistemi ile yapıldı. HP-Innowax kolon (60m x 0,25 mm, ve 0,25m film kalınlığına sahip) kullanıldı.

Al, Cu, Fe, Mn ve Zn elementlerinin analizleri için, Perkin Elmer A Analyst 800 Serisi Alevli - Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi,

B, Cd, Co, Pb ve Se elementlerinin analizleri için, Perkin Elmer A Analyst 800 Serisi Elektro Termal Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi kullanılmıştır.

ET-AAS de grafit tüpler (THGA graphite tubes, Perkin Elmer part no. BO 504033) yardımı ile yapıldı. Diğer enstrümantal analitik koşullar Tablo 3.1.1, Tablo 3.1.2 , Tablo 3.1.3 ve Tablo 3.1.4 te verilmiştir.

Tablo3.1.1. Alevli-AAS ile eser element tayin koşulları

Element	Al	Cu	Fe	Mn	Zn
Asetilen	7,8	2,0	2,0	2,0	2,0
N ₂ O	16,0	-	-	-	-
Hava	-	17,0	17,0	17,0	17,0
Dalga Boyu (nm)	309,3	324,8	248,3	279,5	213,9
Slit Aralığı	0,7 H	0,7 H	0,2 H	0,2 H	0,7 H
Lamba Akımı (mA)	20	30	30	30	15
Kalib. Aralık (ppm)	2,0-10,0	0,05-0,30	0,5-2,5	0,4-2,0	0,1-2,0
ışık kaynağı	C-HCL	C-HCL	C-HCL	C-HCL	C-HCL

Asetilen, N₂O ve hava birimleri L/dakikadır.

Tablo3.1.2 ET-AAS ile eser element tayin koşulları

Element	B	Se	Cd	Pb	Co
Dalga Boyu (nm)	249,7	196	228,8	283,3	240,7
Slit Aralığı	0,7 H	2,0 L	0,7 H	0,7 H	0,2 H
Lamba Akımı (mA)	30	290	4	440	30
Işık Kaynağı	C-HCL	C-EDL	C-HCL	C-EDL	C-HCL
Numune Hacmi (µL)	20	20	20	20	20
Modifier Hacmi (µL)	2	5	-	--	-

Tablo3.1.3. ET-AAS ile eser element tayininde kullanılan sıcaklık programları

Program Aşaması	B	Se	Cd	Pb	Co
Kurutma 1(°C)	110	110	110	110	110
Kurutma 2 (°C)	130	130	130	130	130
Piroliz (yakma) (°C)	1300	1300	500	850	1200
Atomlaştırma (°C)	2350	1650	1500	1600	1880
Temizleme (°C)	2400	2450	2450	2450	2450
Kalib. Aralık (ppb)	200-1000	0,5-5,0	5-100	10,0-100	5,0-20,0

Tablo 3.1.4 ET-AAS ile eser element tayininde kullanılan sıcaklık programına ait çıkış ve bekleme süreleri

Program Aşaması	B	Se	Cd	Pb	Co
Kurutma 1(s)	1, 30	1, 30	1, 30	1, 30	1, 30
Kurutma 2 (s)	15, 30	15, 30	15, 30	15, 30	15, 30
Piroliz (yakma) (s)	10, 20	10, 20	10, 20	10, 20	10, 20
Atomlaştırma (s)	0, 5	0, 5	0, 5	0, 5	0, 5
Temizleme (s)	1, 3	1, 3	1, 3	1, 3	1, 3

3.1.2. Deneysel Çalışmada Kullanılan Diğer Yardımcı Aletler

- ✓ Mikromembran Filtre (Membrane Filters mixed Cellulose Ester Micro Filtration Systems, DO45VO47A)
- ✓ Mikrodalga Fırın (Milestone Start D, MAO79)
- ✓ Saf Su Cihazı (Millipore ELIX - 20)
- ✓ Terazi (Sartorius Extend Series, ED224S)
- ✓ Clevenger Aparatı

3.1.3. Deneysel Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

- ✓ HNO₃ (% 65, Riedel-de Haën, 7697-37-2)
- ✓ H₂O₂ (% 30, Merck, K35522500 604)

- ✓ HF (% 38- 40, Merck, 728 B842337)
- ✓ n-Hexan (Merck, K38272191 751)
- ✓ Mg(NO₃)₂ (Inorganic Ventures IIV Labs, MM – MG – 10)

Gaz kromatografisinde Kovats Indis hesaplanmasında kullanılan n-alkan standartları;

n-Pentane: Dr Ehrenstorfer, Reference Materials for Residue Analysis, CA15977500.

n-Hexane: Dr Ehrenstorfer, Reference Materials for Residue Analysis, C14195500.

n-Heptane: Dr Ehrenstorfer, Reference Materials for Residue Analysis, C14126000.

n-Octane: Dr Ehrenstorfer, Reference Materials for Residue Analysis, C15711000.

n-Nonane: Dr Ehrenstorfer, Reference Materials for Residue Analysis, C15623000.

n-Decane: Aldrich, 124-18-5.

Alkanes-Mix 10: (C₁₁-C₂₇), Dr Ehrenstorfer, Reference Materials for Residue Analysis, YA03001000TO.

Gaz kromatografisinde kullanılan uçucu yağ standartları;

α -humulene : Aldrich, 53675, 1 mL.

α - pinene : Fluka, 80599, 1 mL.

β -pinene : Fluka, 80609, 1 mL.

<i>p</i> -Cymene	:	Fluka,	30039,	5 mL.
1,8-Cineole	:	Sigma,	29210,	1 mL.
Camphene	:	Supeko,	442505,	1 g.
Camphor	:	Sigma,	20506,	500 g,
Carvacrol	:	Fluka,	22051,	50 mL.
Terpinen-4-ol	:	Sigma,	86477,	1 ml.
Caryophyllene Oxide	:	Sigma,	22076,	1g.

AAS de eser element analizinde kullanılan standart maddeler;

Standart Referans Madde (NIST-SRM 1515, Apple Leaves)

Standart Referans Madde (NIST-SRM 1570a, Spinach)

Al	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, X-ALO4017)
B	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, Y – BO2054)
Cd	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, Y-QCD01109)
Co	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, X–COO1123)
Cu	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, Y-CUO2071)
Fe	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, Y-FEO3044)
Mn	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, Y-MNO2041)
Pb	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, Y-PBO2121)
Se	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, X-SEO1106)
Zn	(Custom-Grade Standart, Inorganik Ventures, Y-ZNO2022)

3.2. Yöntem

Bu tez kapsamında, bitki örneklerinden uçucu yağın eldesi, elde edilen uçucu yağın GC, GC-MS ile kimyasal içeriklerinin belirlenmesi, yine aynı bitki örneklerinin mikrodalga çözünürleştirme yöntemi ile çözünürleştirildikten sonra, eser elementlerin analizleri gerçekleştirilmiştir.

3.2.1. Uçucu Yağ Eldesi ve Analizi

3.2.1.1. Su Distilasyonu ile Uçucu Yağ Eldesi

Bu amaçla, bitki örneklerinden 100 g lık tartımlar alınmış ve üzerine 3 katı (yaklaşık 1 L) saf su ilave edilerek Clevenger tipi aparata alınmıştır. Kaynamaya başlayıp ilk yağ damlası oluşumu görüldükten sonra, 3 saat su distilasyonuna tabi tutulmuştur. Uçucu yağ alındıktan sonra, olası muhtemel suyu uzaklaştırmak amacıyla susuz Na_2SO_4 ile muamele edilip, amber viallere alınmıştır. Amber viallerin boş ve dolu tartımları yardımıyla % yağ verimleri (w/w) hesaplanmıştır. Tüm örnekler analizleninceye kadar + 4 °C de saklanmıştır.



Şekil 3.2.1. Clevenger tipi aparat

3.2.1.2. Uçucu Yağın GC, GC-MS Analizi

Elde edilen uçucu yağların kimyasal içeriği, Agilent Technologies 6890 N Network tipi GC, GC-MS analizleri, Agilent Technologies 5973 kütle seçisi dedektör (Agilent G3180B Two-Ways Splitters) sistemi ile belirlendi. GC, GC-MS analizleri için optimize edilen sıcaklık programlaması Tablo 3.2.1 de verilmiştir. Kullanılan alet şartları ve kromatografik şartlar şöyledir:

Analiz Koşulları

Enjektör sıcaklığı	: 250 °C
Basınç	: 30,7 psi
Split oranı	: 50:1
Split akışı	: 84,9 mL /dk
Gaz akışı	: 1,7 mL / dk
En yüksek kolon sıcaklığı	: 260 °C
Toplam süre	: 80 dk

Tablo 3.2.1. GC / GC-MS analizine ait sıcaklık programlaması

Aşama	Başlangıç Sıcaklığı (°C)	Bekletme Süresi (dk)	Sıcaklık Artışı (°C/dk)	Son Sıcaklık(°C)
1. Aşama	60	10	4	220
2. Aşama	220	10	1	240
3. Aşama	240	10	-	-

Achillea grandifolia Friv., *Achillea nobilis subsp. sipylea* (O.Schwarz) Bässler ve *Achillea teretifolia* Willd. bitkilerinin uçucu yağları hekzan ile seyreltildikten sonra, optime edilen sıcaklık programı kullanılarak GC/GC-MS analizleri yapılmıştır.

GC analizleri Agilent Technologies 6890 N Network tipi sistem ile gerçekleştirildi. HP-Innowax kolon (60m x 0,25 mm, ve 0,25m film kalınlığına sahip) ile taşıyıcı gaz olarak helyum kullanıldı. Fırın sıcaklığı 60°C de 10 dk tutulduktan sonra dakikada 4 °C artırılarak 220 °C ye kadar yükseltildi. 220 °C de 10 dk tutulduktan sonra sıcaklık 1 °C artırılarak 240 °C ye kadar yükseltildi ve 10 dk 240°C de sabit tutuldu. Split akışı 84,9 mL/dk olacak şekilde ayarlandı. Split oranı 50:1 şeklinde ayarlandı. Enjektör ve alev iyonlaşma dedektörünün sıcaklığı ise 250 °C olacak şekilde ayarlandı.

GC-MS analizleri Agilent Technologies 5973 kütle seçisi dedektör (Agilent G3180B Two-Ways Splitters) sistemi ile yapıldı. GC analizinde kullanılan aynı kolon ve şartlar bu yöntemde de uygulandı. İncelenen kütle/yük aralığı (m/z) 10-425 arası olarak seçildi.

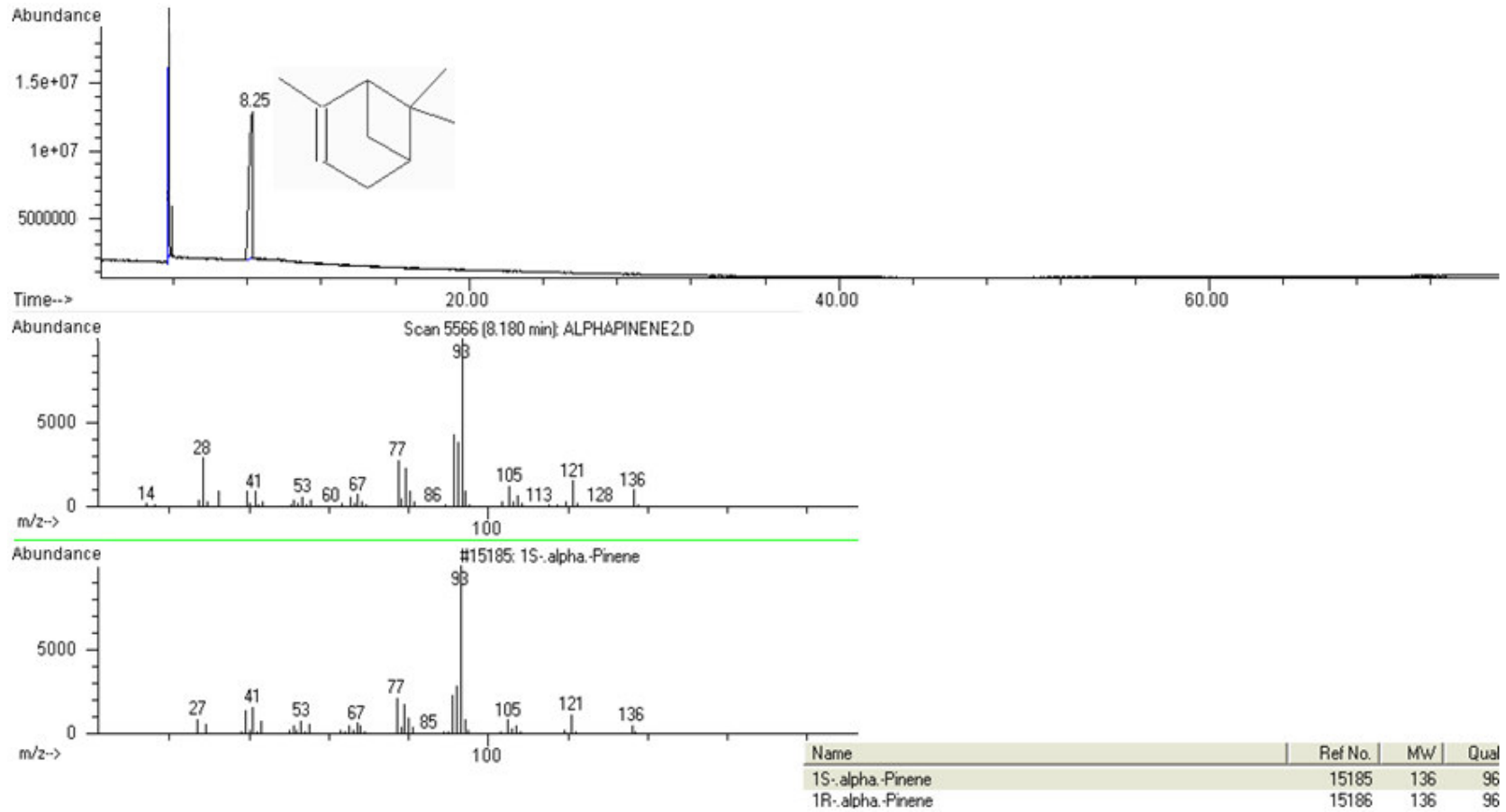
Bileşiklerin belirlenmesi, FID ve kütle kromatogramlarının karşılaştırılması ile belirlendi. Kütüphane taraması Wiley 7n, Adams, Flavour 2L ve Nist 05 kütüphaneleri kullanılarak yapıldı. Ayrılan bileşenlerin ilgili yüzde miktarları FID kromatogramları kullanılarak alan normalizasyonu yöntemi ile hesaplandı. Belirlediğimiz bileşenlerin RI (Retention Index) değerlerinin hesaplanmasında formül 3.1 de verilen Kovats Retention Index formülü kullanılmış olup, n-Alkan standartları (C₇-C₂₇) bu hesaplamada referans olarak kullanılmıştır.

$$RI_{(X)} = 100 \cdot Z + 100 \cdot \frac{RT_{(X)} - RT_{(Z)}}{RT_{(Z+1)} - RT_{(Z)}} \quad (3.1)$$

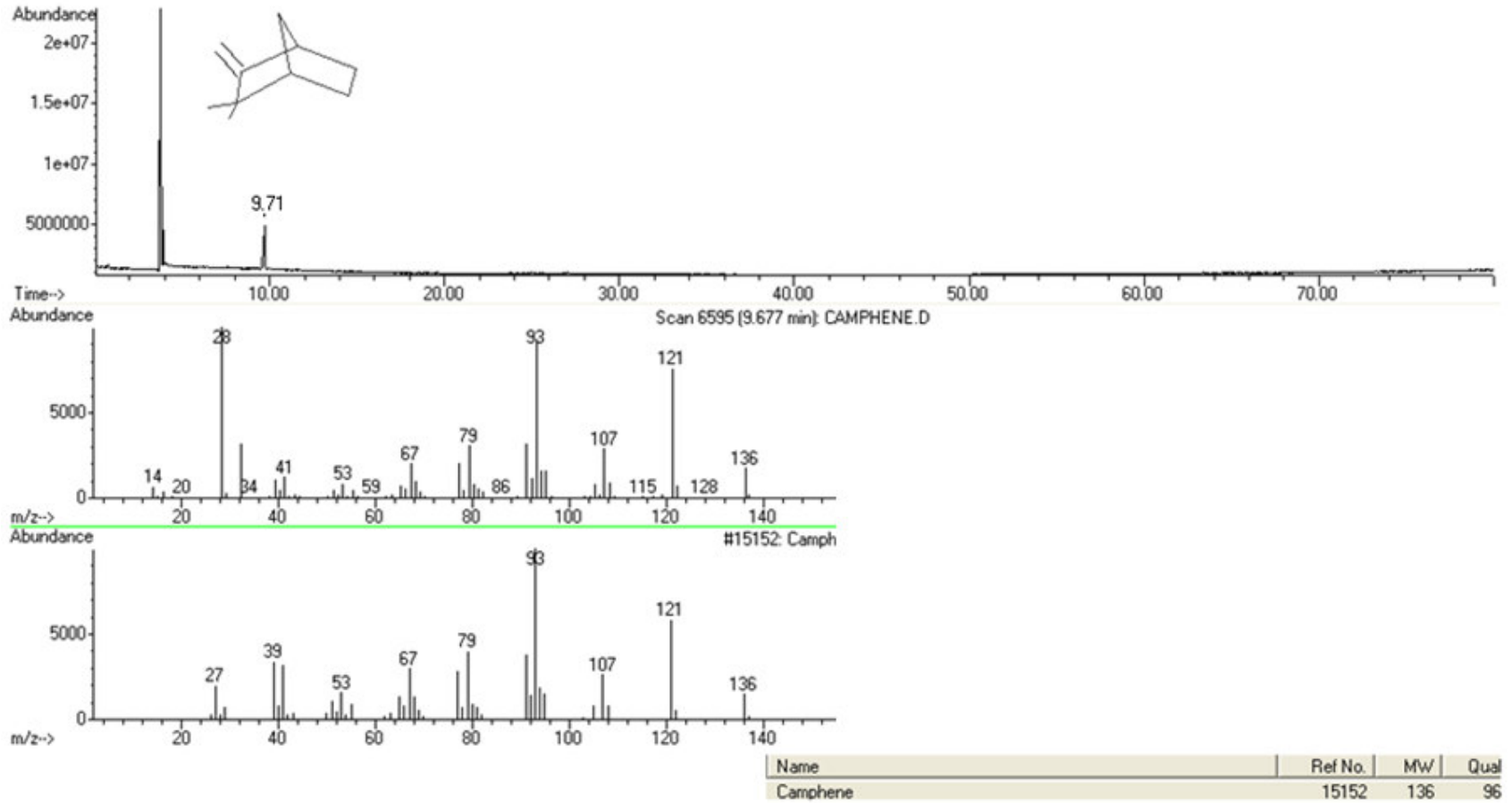
- Z : Referans alınan standardın C sayısı
- RI (x) : İncelenen numune bileşeninin Retention Index değeri
- RT (x) : İncelenen bileşenin alıkonma zamanı
- RT (z) : Referans alınan standardın alıkonma zamanı
- RT (z+1): Referans alınan standardın C sayısının bir fazla olduğu standardın alıkonma zamanı

3.2.1.3. Bazı Uçucu Yağ Bileşenlerinin Standart Kromatogramları

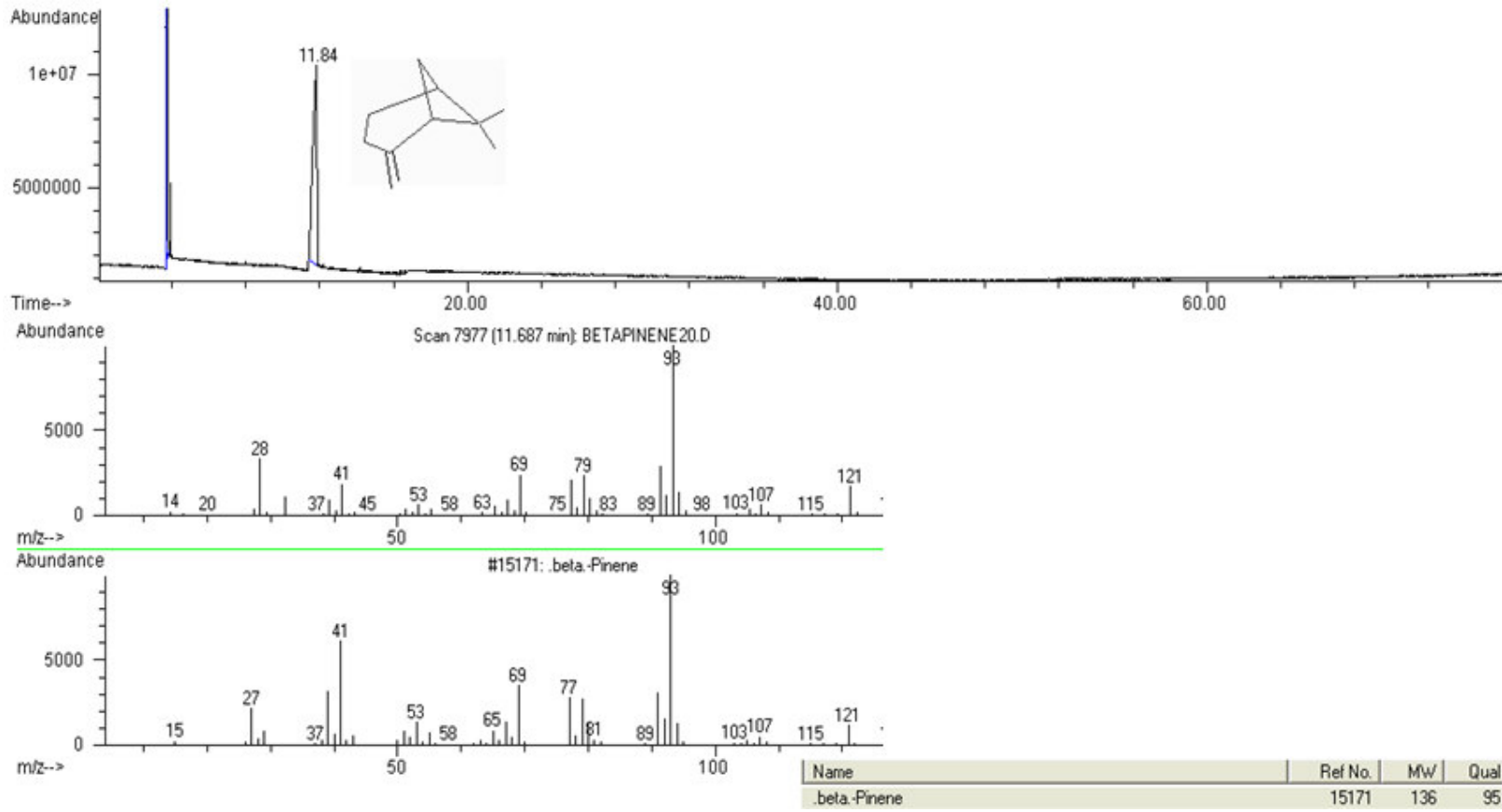
Uçucu yağın, GC, GC-MS ile analizi amacıyla kullandığımız yöntem, genelde bitki örneklerinde etken madde olarak bulunan standartlara da uygulanmıştır. Bu standartlara ait alıkonma zamanları, bitki örneklerine ait uçucu yağ bileşenleri ile kıyaslanarak doğruluğu tayin etmede kullanılmıştır. Her bir standarda ait kromatogramlar şekil 3.2.2, 3.2.3, 3.2.4, 3.2.5, 3.2.6, 3.2.7, 3.2.8, 3.2.9, 3.2.10 ve 3.2.11 de, bu standartlar ile bitkilerimize ait uçucu yağ bileşenlerini gösteren kromatogramların kıyaslandığı şekiller ise şekil 3.2.12, 3.2.13, 3.2.14, 3.2.15, 3.2.16, 3.2.17, 3.2.18, 3.2.19, 3.2.20 ve 3.2.21 de verilmiştir.



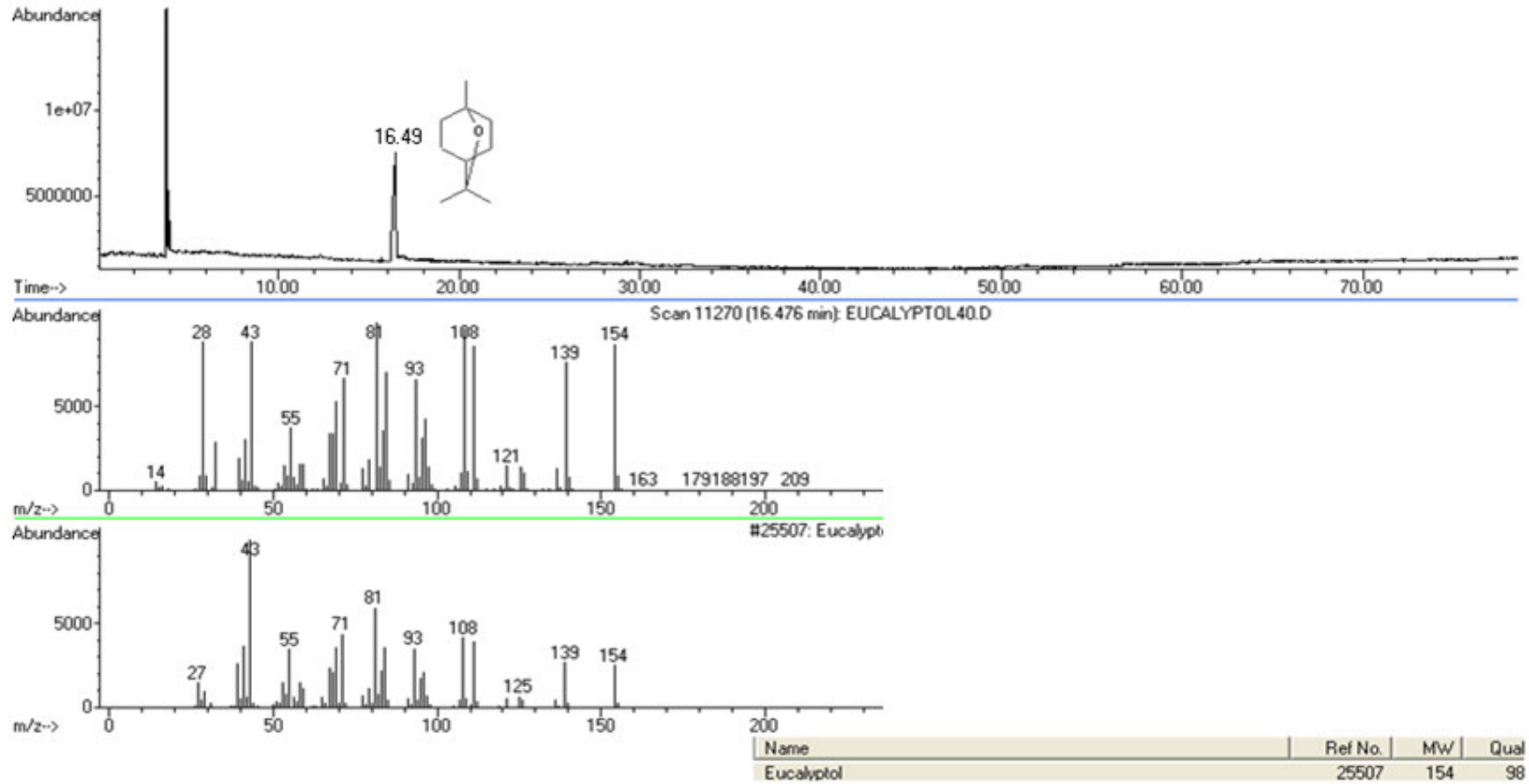
Şekil 3.2.2. α -pinene standardına ait kromatogram



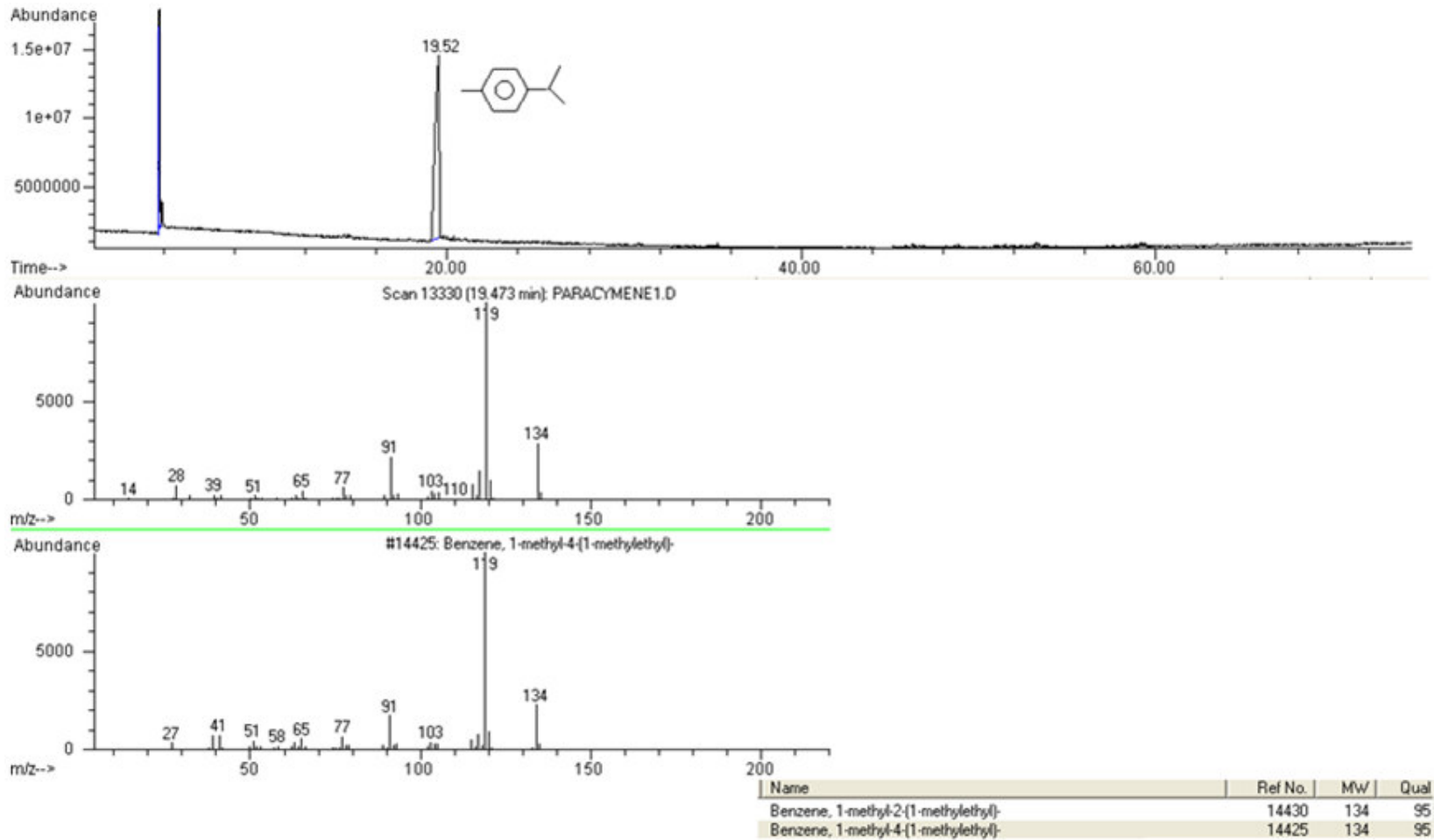
Şekil 3.2.3. Camphene standardına ait kromatogram



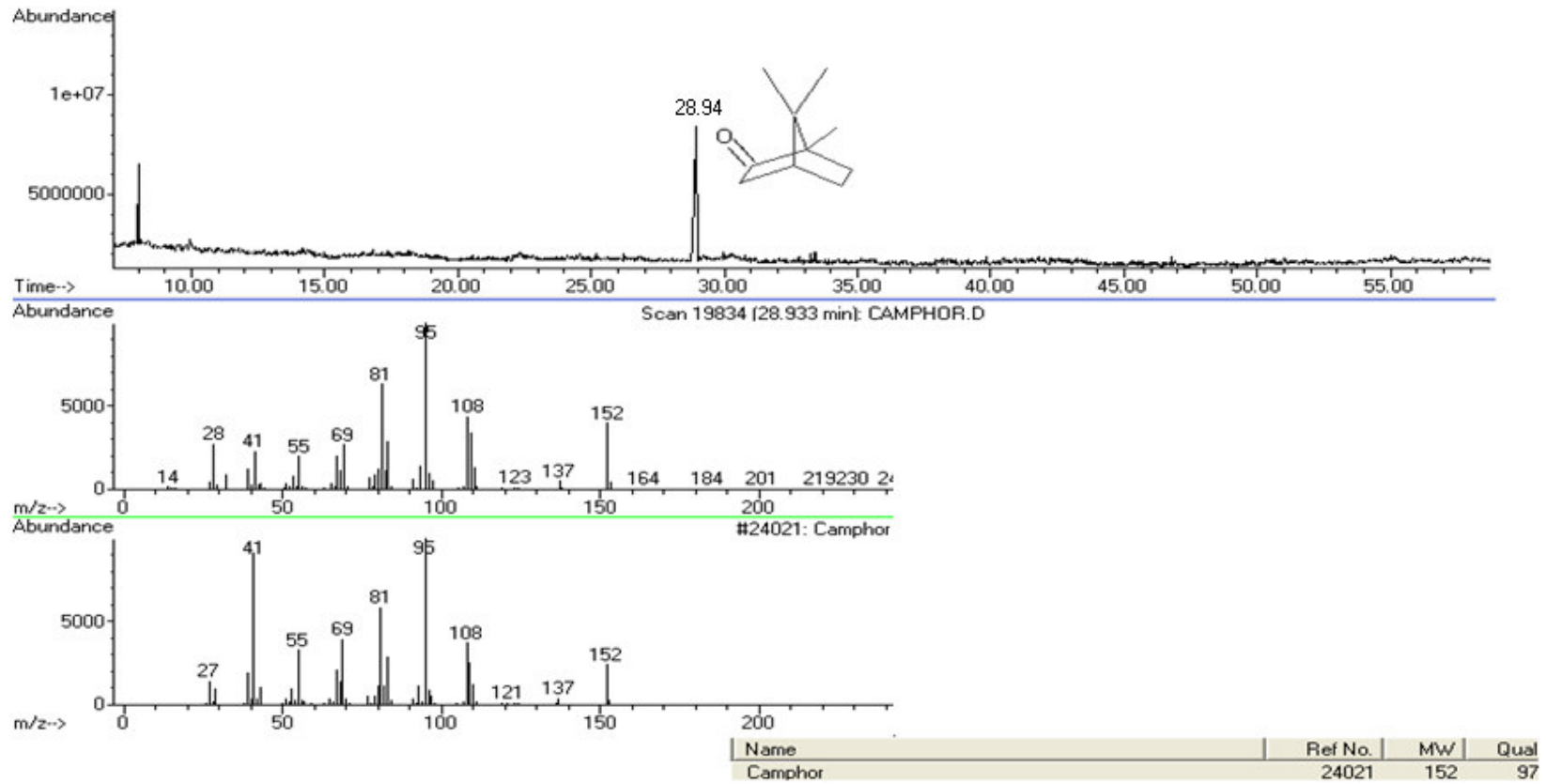
Şekil 3.2.4. β -pinene standardına ait kromatogram



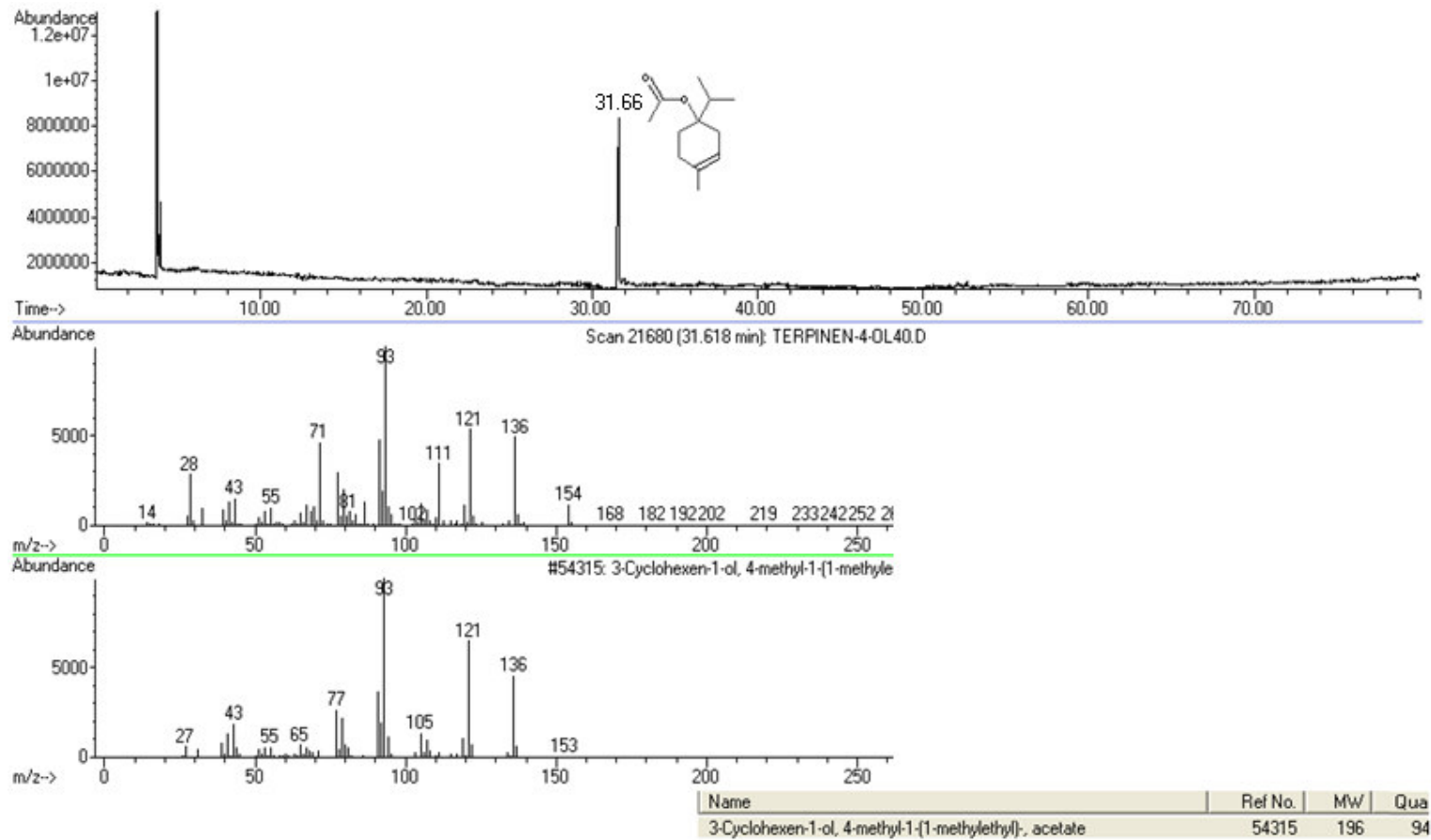
Şekil 3.2.5. Eucalyptol (1,8-Cineole) standardına ait kromatogram



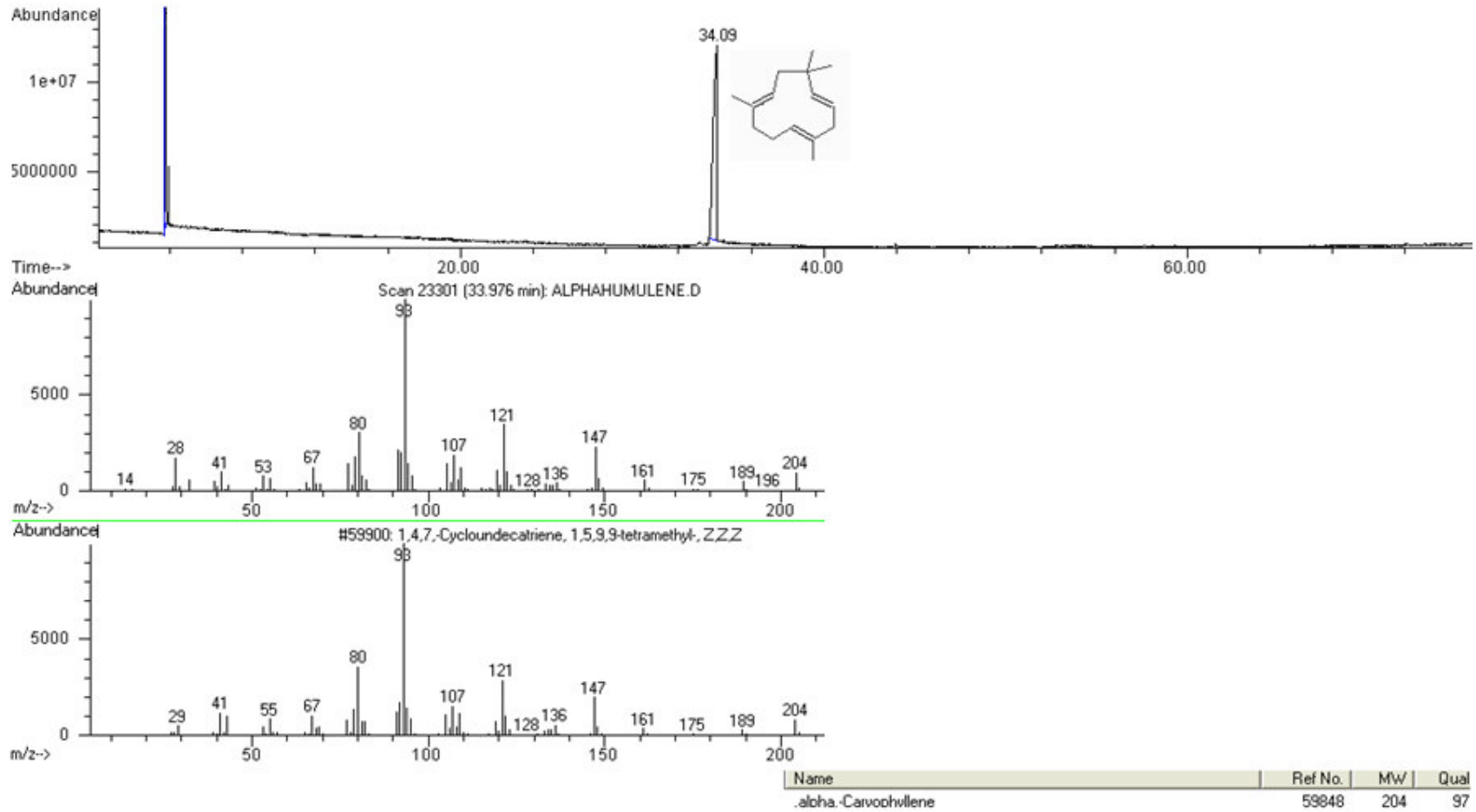
Şekil 3.2.6. *p*-Cymene (Benzene, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-) standardına ait kromatogram



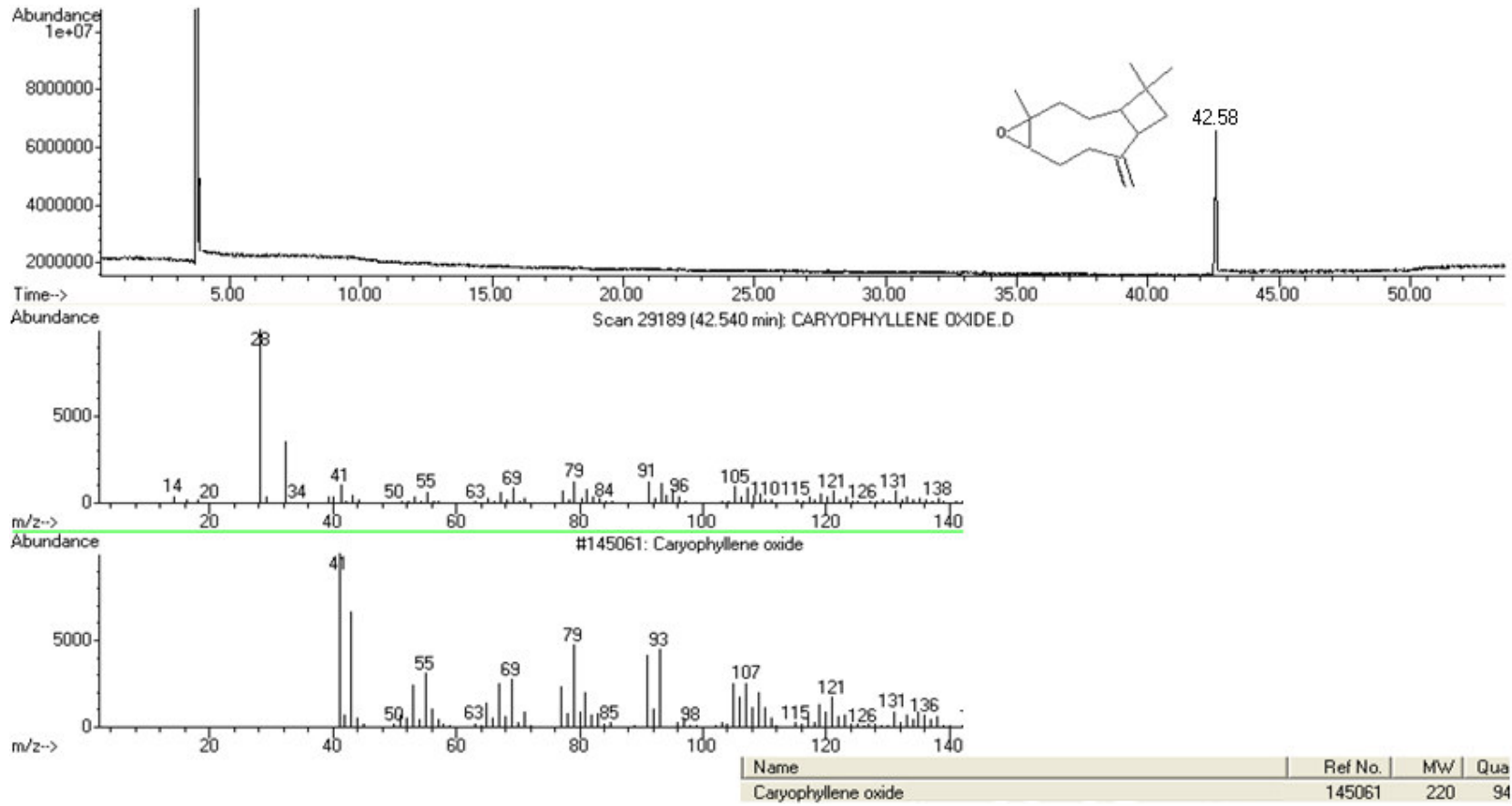
Şekil 3.2.7. Camphor standardına ait kromatogram



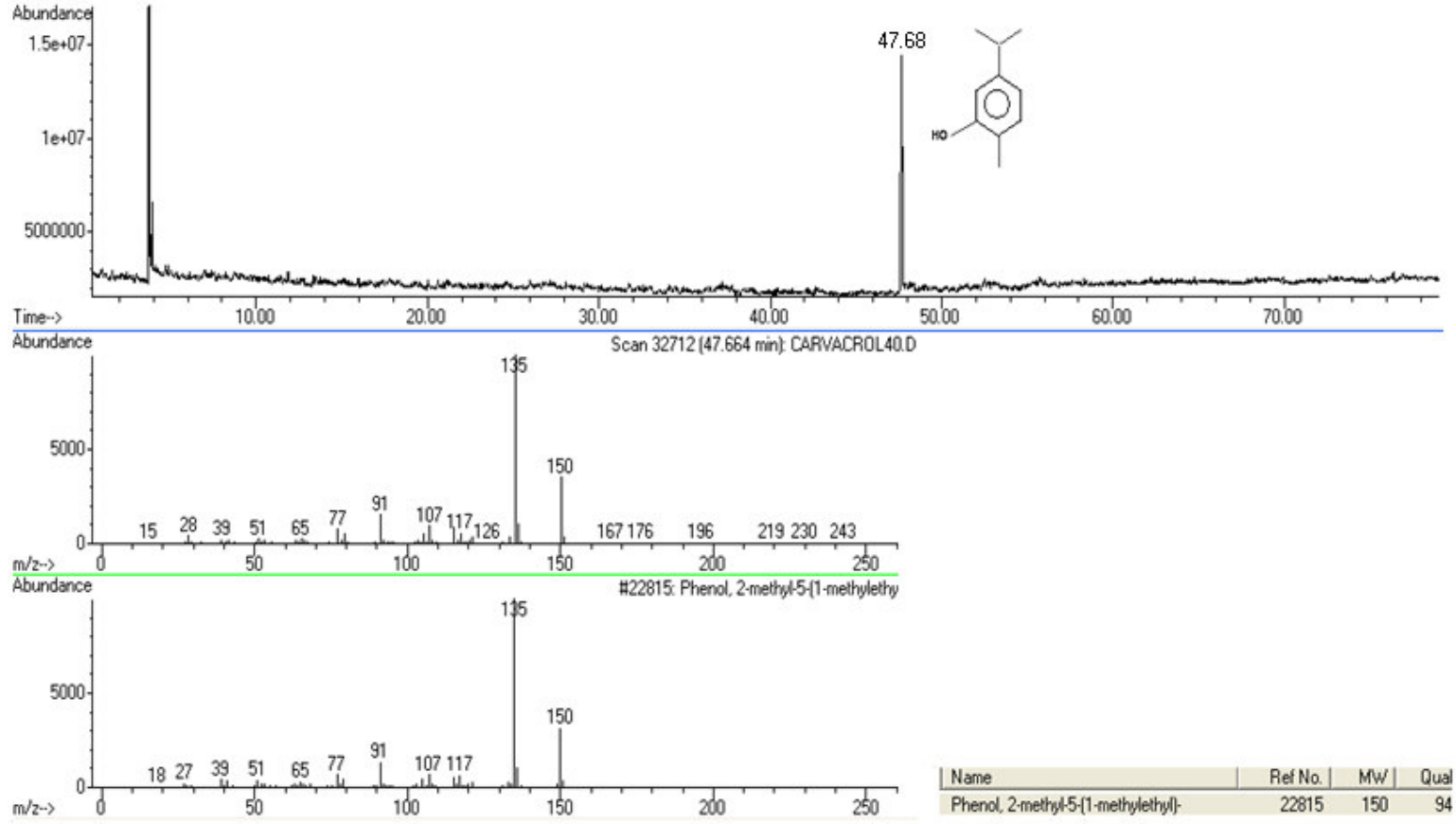
Şekil 3.2.8. Terpinen-4-ol (3-Cyclohexen-1-ol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-) standardına ait kromatogram



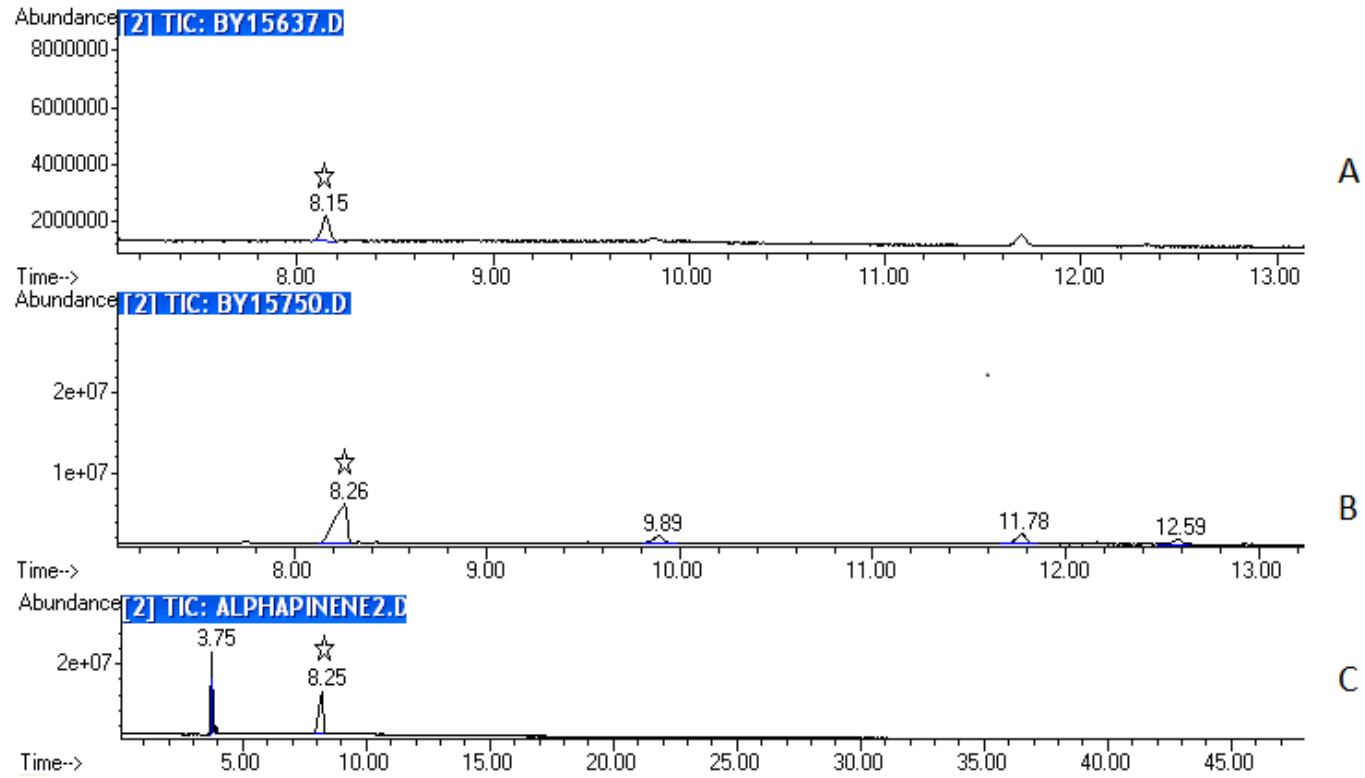
Şekil 3.2.9. α -humulene (α -caryophyllene) standardına ait kromatogram



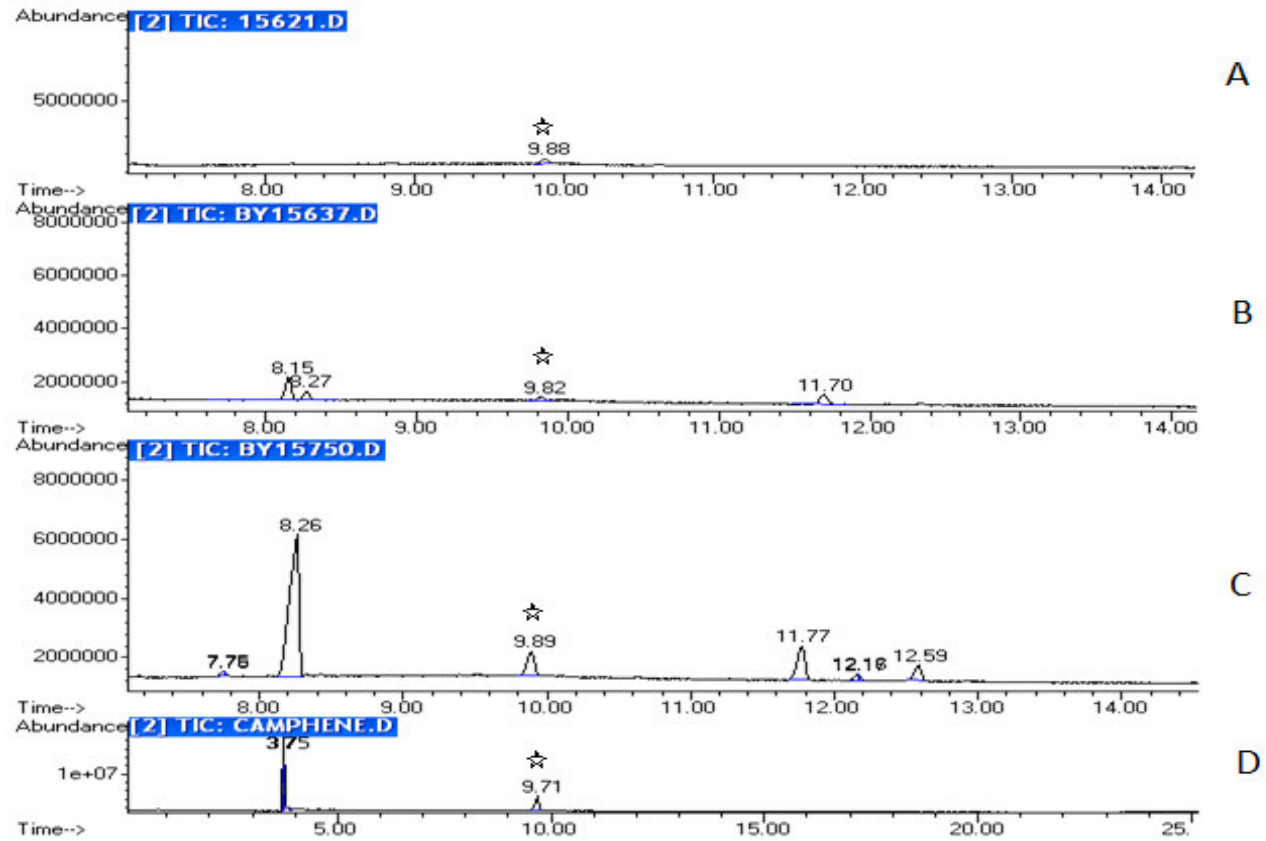
Şekil 3.2.10. Caryophyllene oxide standardına ait kromatogram



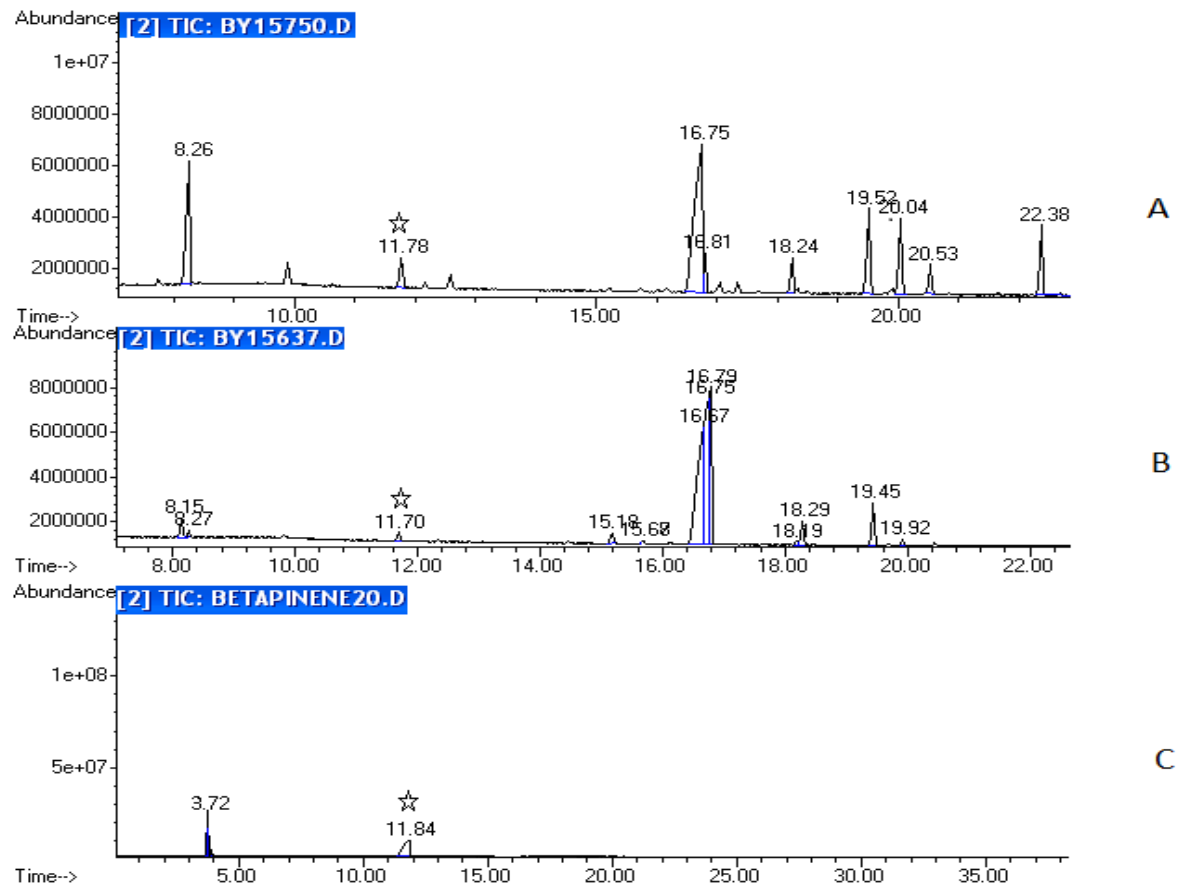
Şekil 3.2.11. Carvacrol (Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-) standardına ait kromatogram



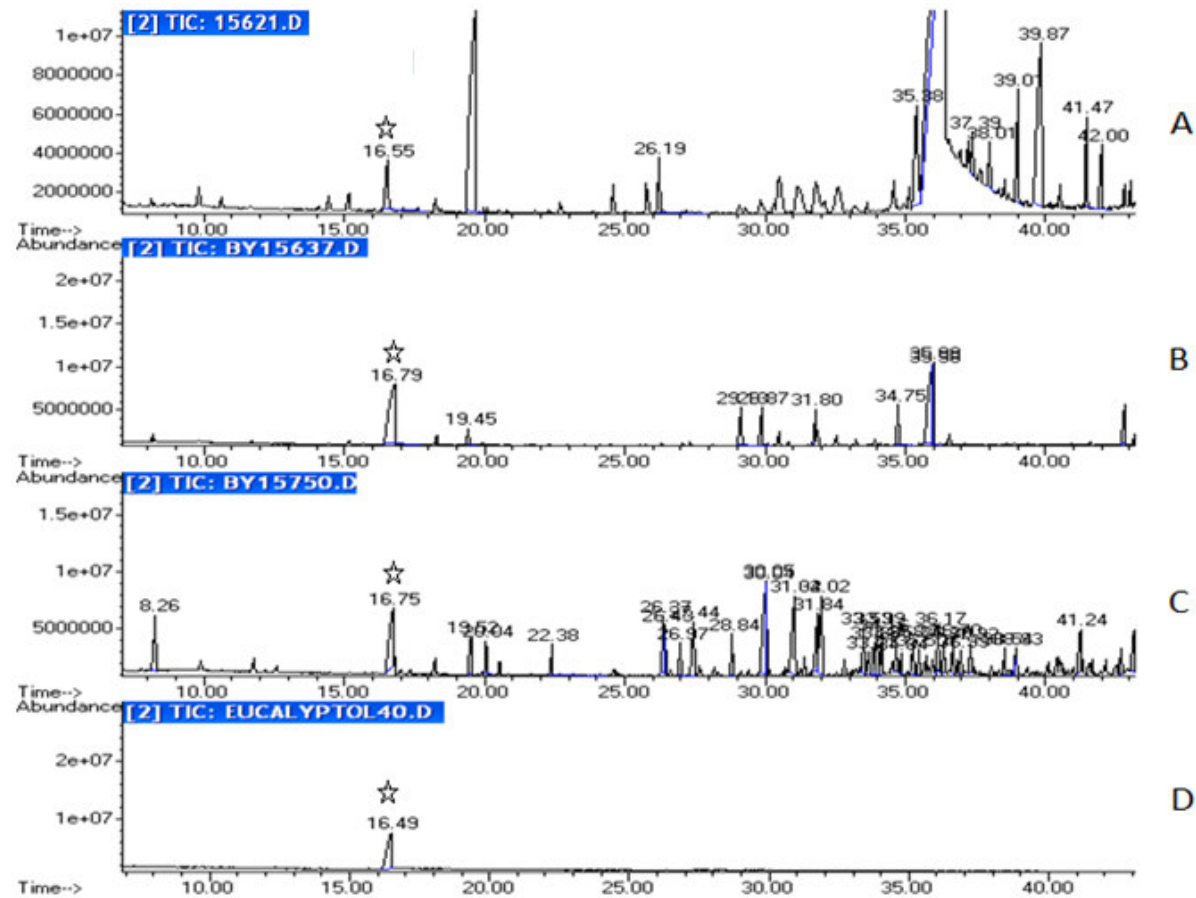
Şekil 3.2.12. A. *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, B. *A. nobilis* subsp *sipylea* (BY 15750) ait kromatogram, C. α -pinene standardına ait kromatogram, ☆ α -pinene.



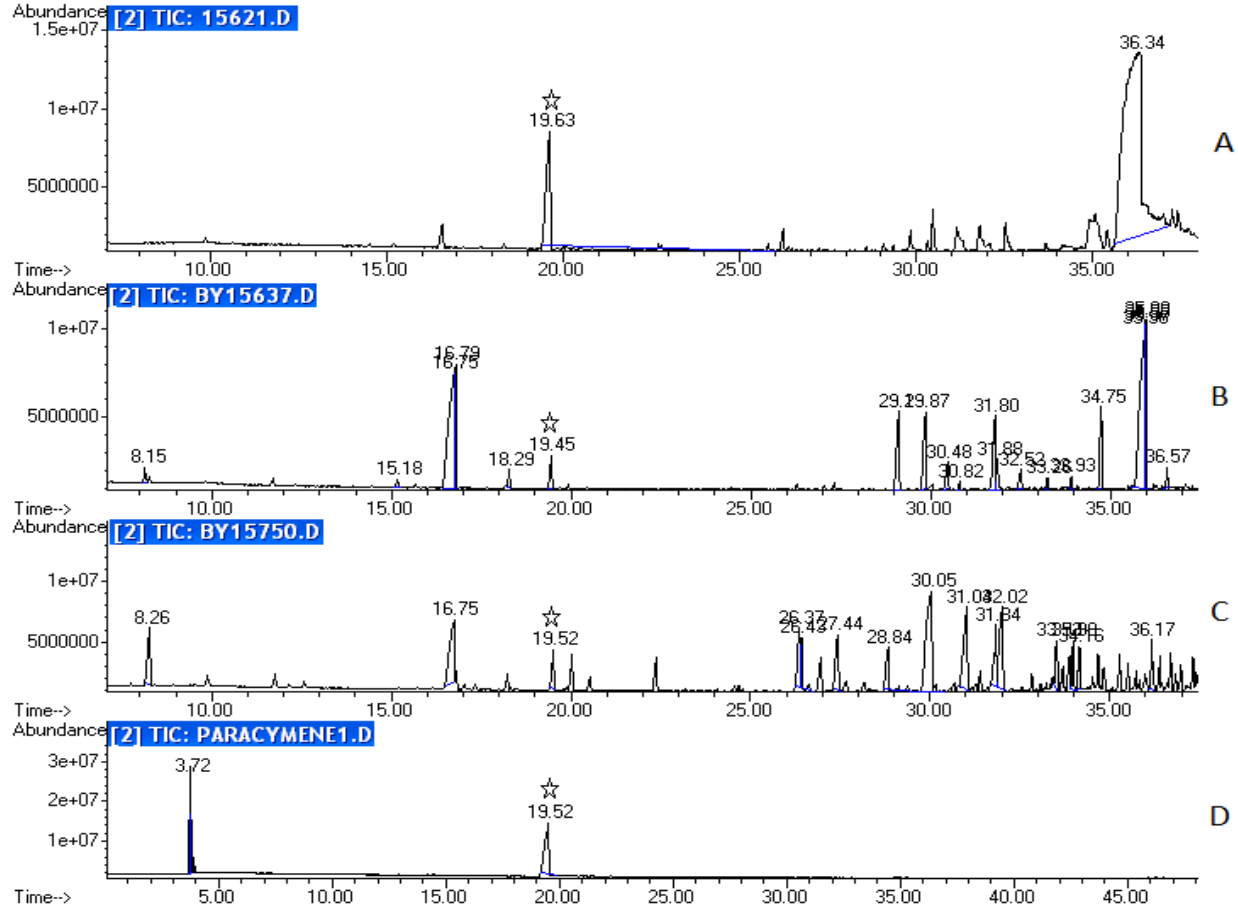
Şekil 3.2.13. **A.** *A. grandifolia* Friv. (BY15621) ait kromatogram **B.** *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, **C.** *A. nobilis* subsp *sipylea* (BY 15750) ait kromatogram, **D.** Camphene standardına ait kromatogram, ☆ Camphene.



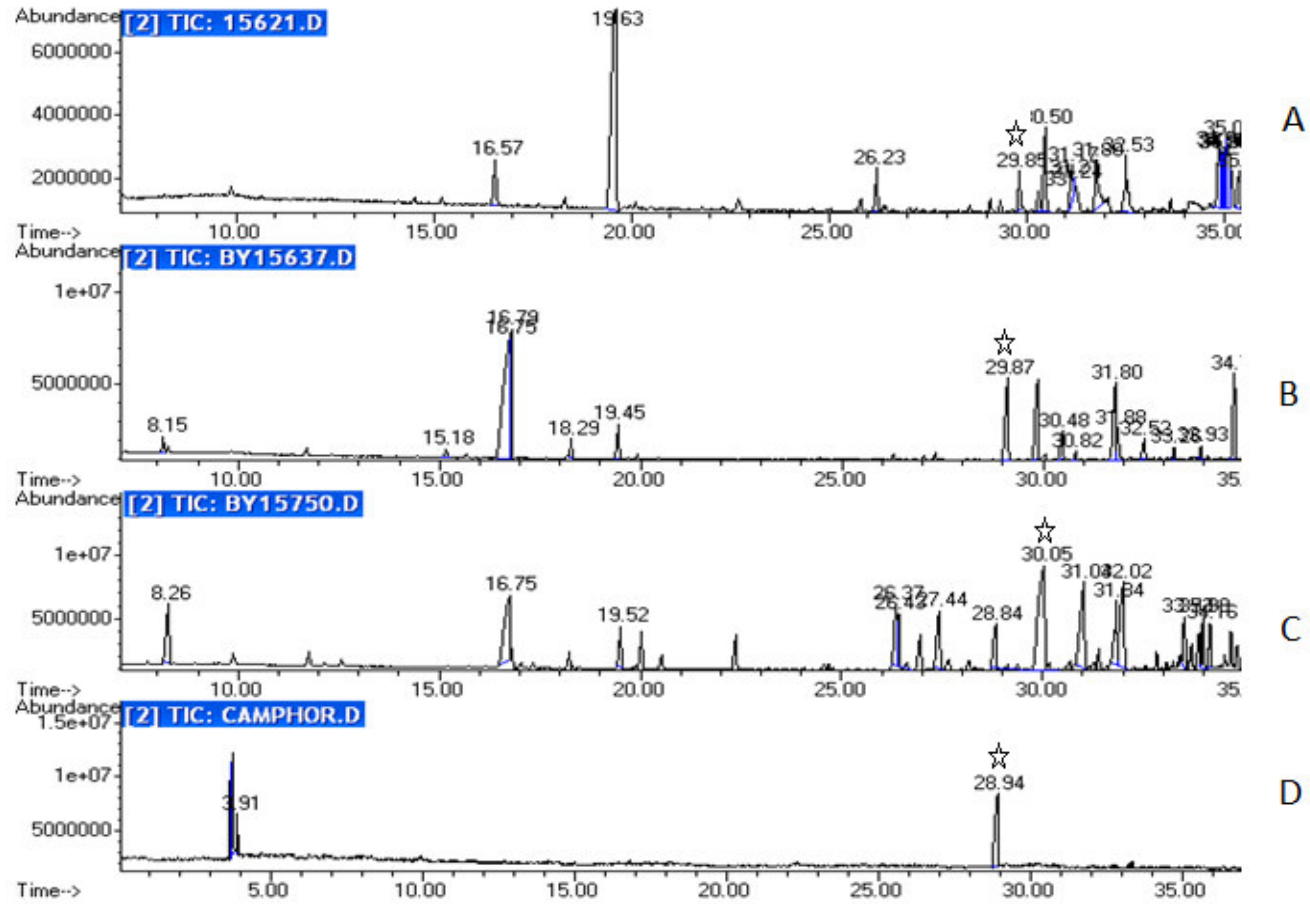
Şekil 3.2.14. **A.**, *A. nobilis* subsp *sipylea* (BY 15750) ait kromatogram, **B.** *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram **C.** β -pinene standardına ait kromatogram, ☆ β -pinene.



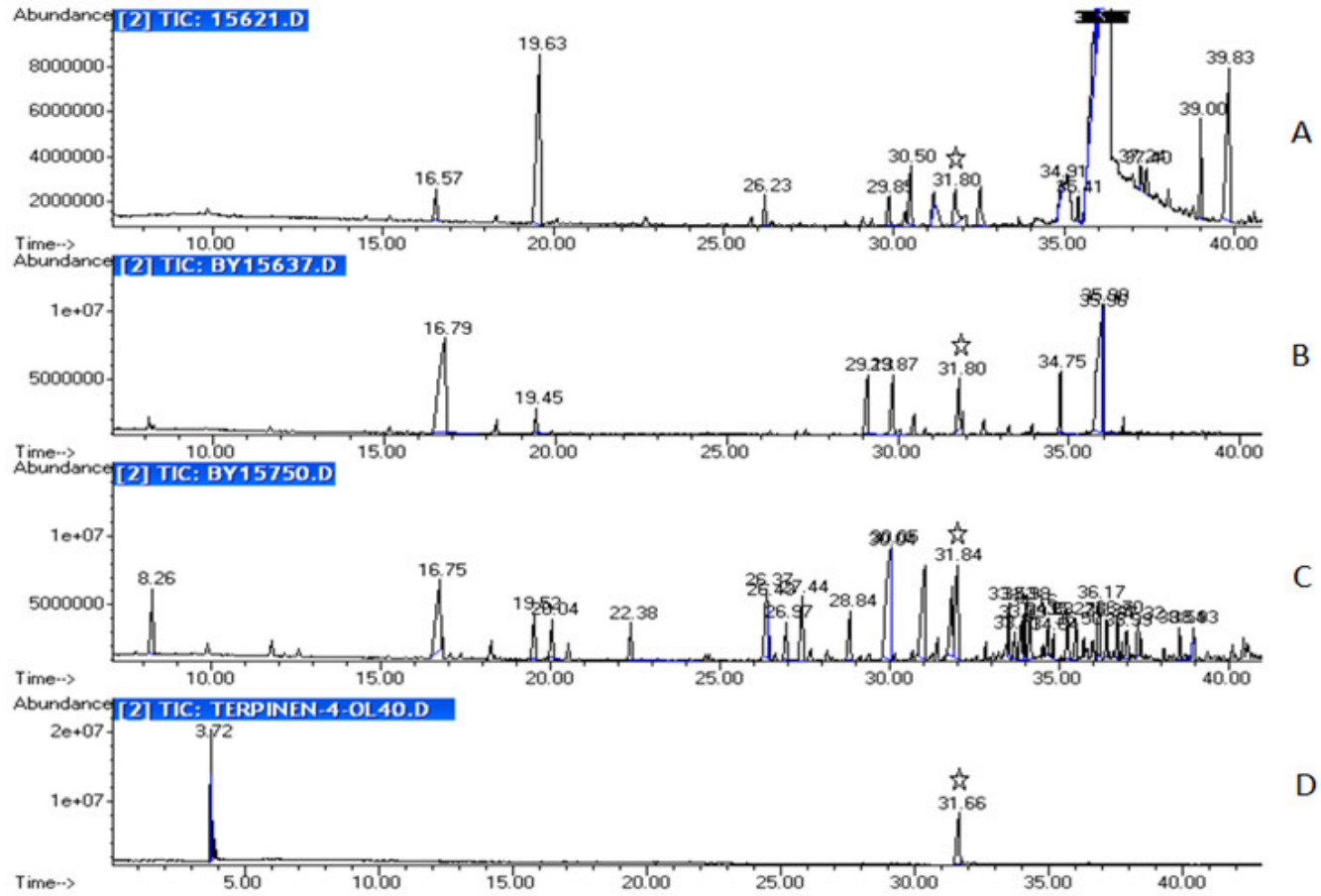
Şekil 3.2.15. **A.** *A. grandifolia* Friv. (BY15621) ait kromatogram **B.** *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, **C.** *A. nobilis* subsp *sipylea* (BY 15750) ait kromatogram, **D.** Eucalyptol standardına ait kromatogram, ☆ Eucalyptol.



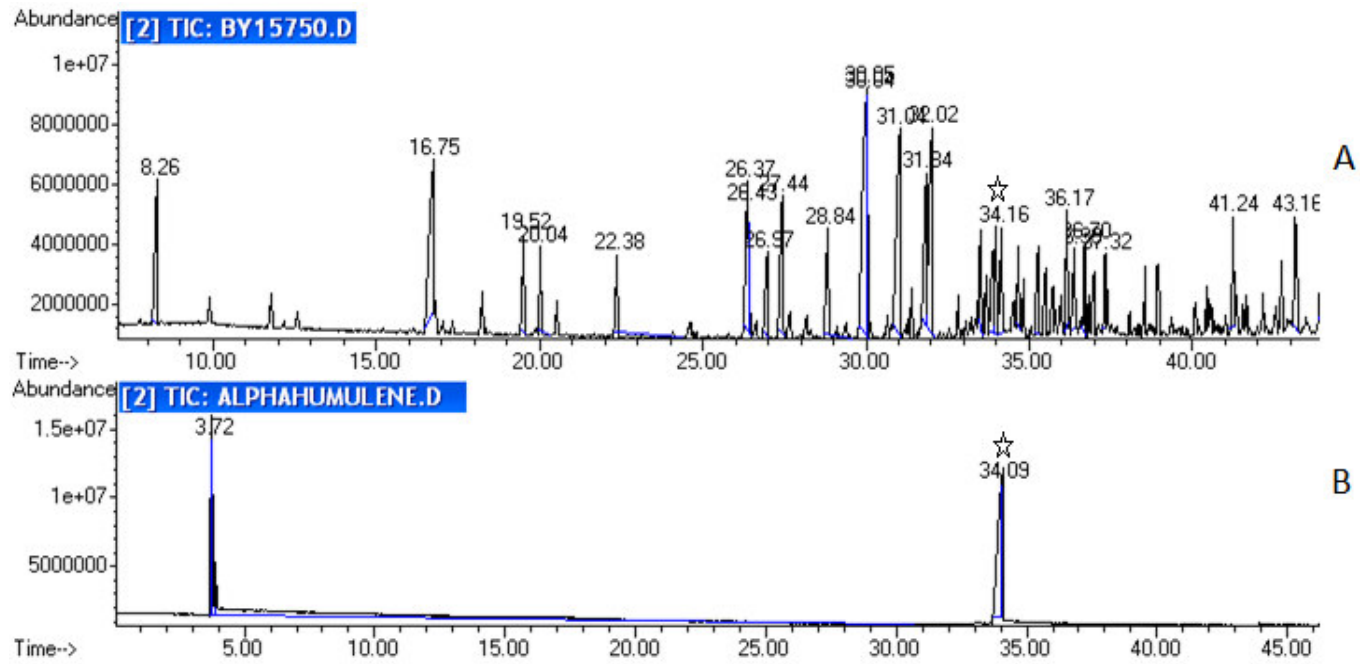
Şekil 3.2.16. **A.** *A. grandifolia* Friv. (BY15621) ait kromatogram **B.** *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, **C.** *A. nobilis* subsp *sipylea* (BY 15750) ait kromatogram, **D.** *p*-Cymene standardına ait kromatogram, ☆ *p*-Cymene.



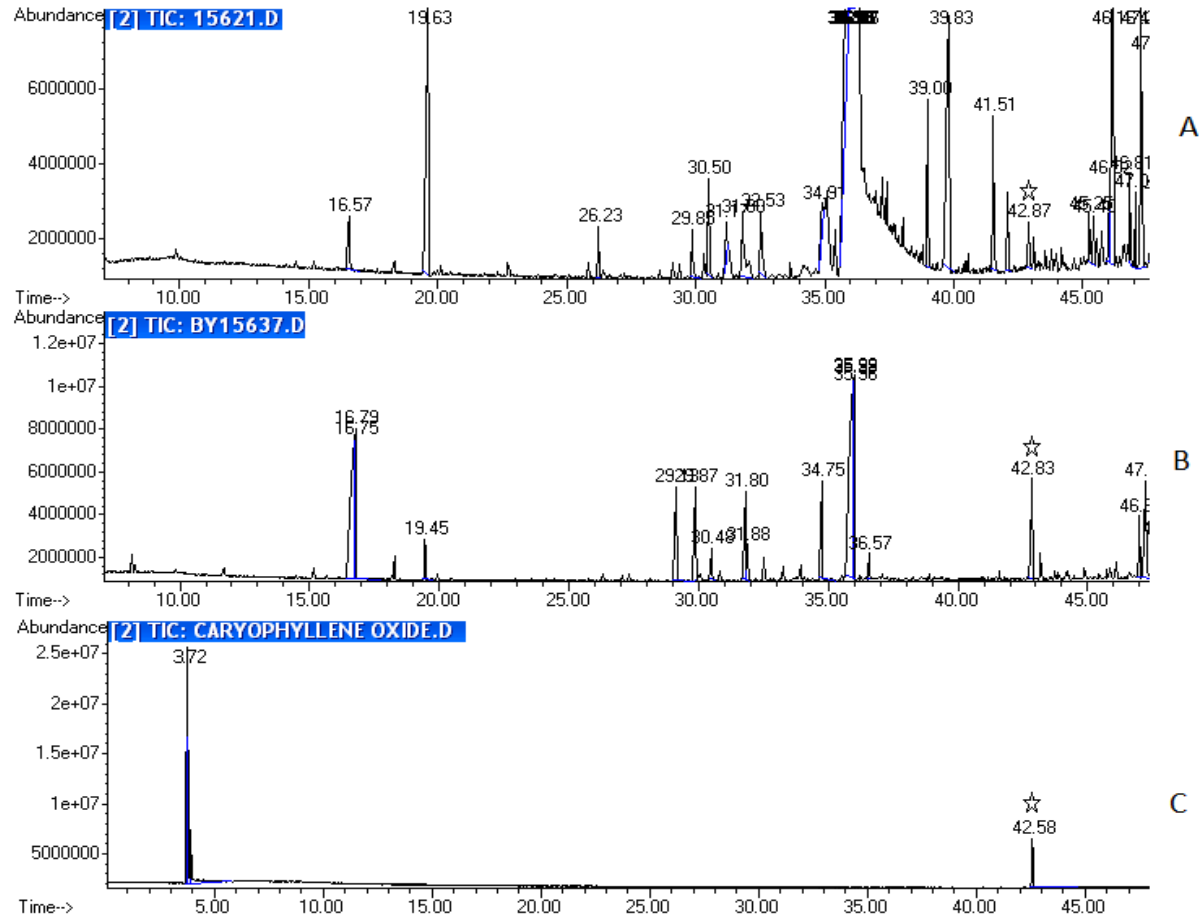
Şekil 3.2.17. **A.** *A. grandifolia* Friv. (BY15621) ait kromatogram **B.** *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, **C.** *A. nobilis* subsp *sipylea* (BY 15750) ait kromatogram, **D.** Camphor standardına ait kromatogram, ☆ Camphor.



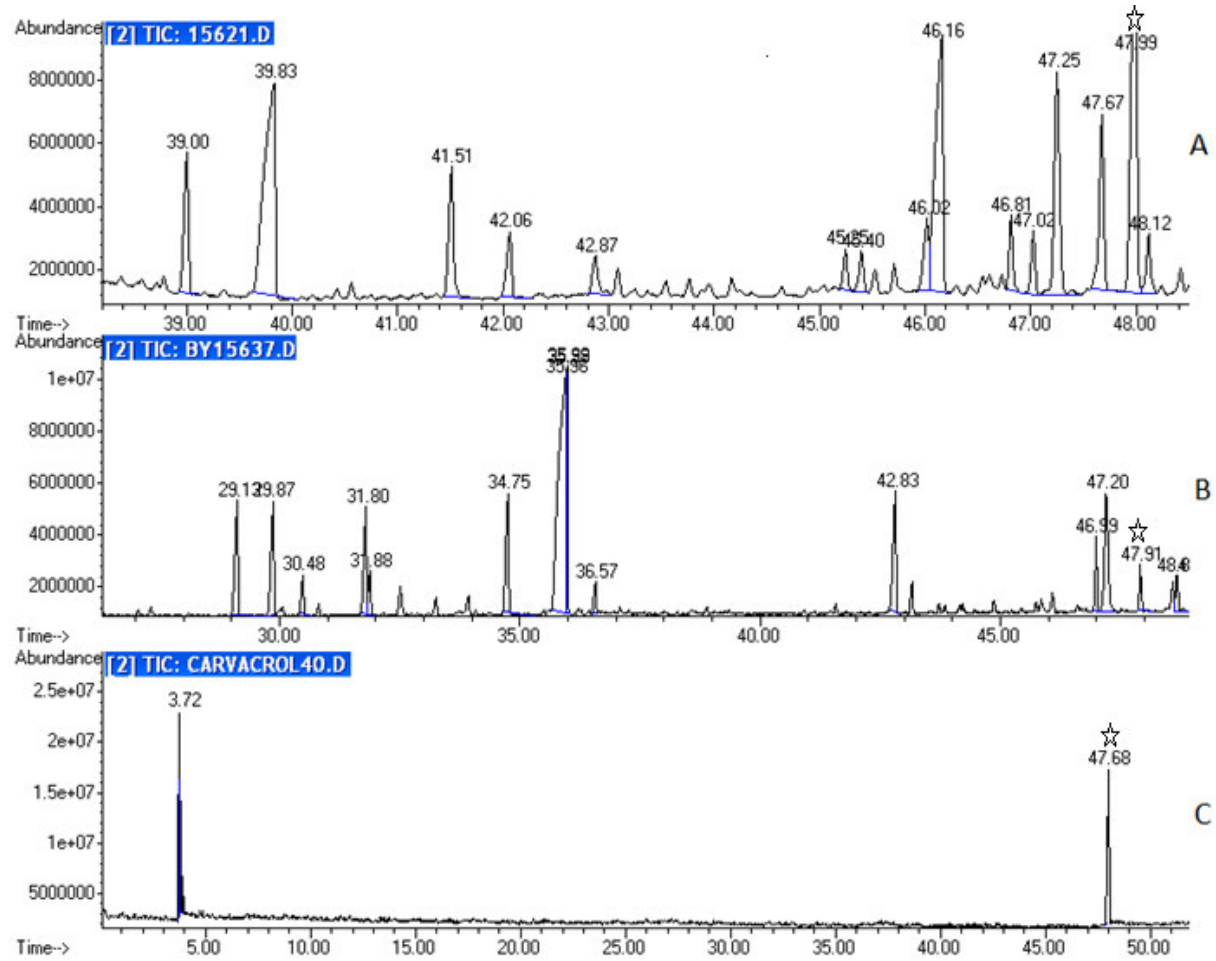
Şekil 3.2.18. **A.** *A. grandifolia* Friv. (BY15621) ait kromatogram **B.** *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, **C.** *A. nobilis* subsp *sipylea* (BY 15750) ait kromatogram, **D.** Terpinen-4-ol standardına ait kromatogram, ☆ Terpinen-4-ol.



Şekil 3.2.19. **A.** *A. nobilis* subsp *sipylea* (BY 15750) ait kromatogram, **B.** α -humulene standardına ait kromatogram, ☆ α -humulene.



Şekil 3.2.20. **A.** *A. grandifolia* Friv. (BY15621) ait kromatogram **B.** *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, **C.** Caryophyllene Oxide standardına ait kromatogram, ☆ Caryophyllene Oxide.



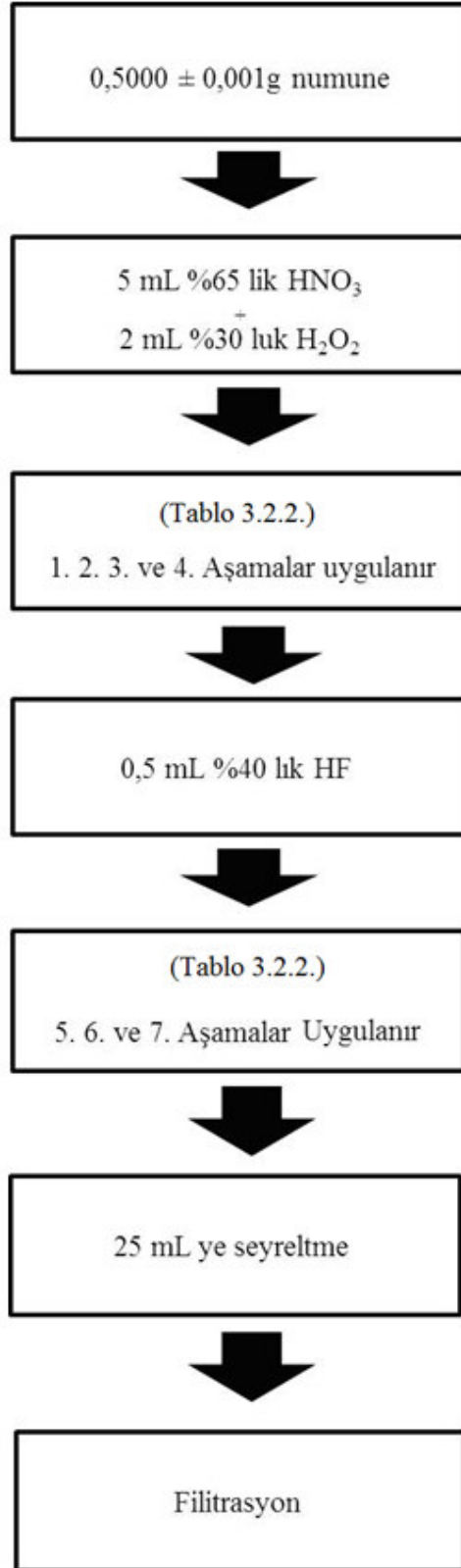
Şekil 3.2.21. A. *A. grandifolia* Friv. (BY15621) ait kromatogram B. *A. teretifolia* Willd. (BY 15637) e ait kromatogram, C. Carvacrol standardına ait kromatogram, ☆ Carvacrol.

3.2.2. Bitkilerin Element Analizi

3.2.2.1. Mikrodalga Yöntemi ile Çözünürleştirme ve Eser Element Tayini

Bu çalışmada, analizleri yapılması planlanan elementler için, geri kazanımları en yüksek metodu kullanmak amacıyla SRM maddeler (NIST – SRM 1515, Apple Leaves ve NIST – SRM 1570a, Spinach) kullanılmıştır. Çözünürleştirme yöntemleri içerisinde günümüzde en çok kullanılan ve diğer klasik yöntemlere nazaran pek çok avantaja sahip olan mikrodalga yöntemi ile çözünürleştirme, eser element analizi öncesinde uygulanan yöntemdir. Mikrodalga çözünürleştirme yönteminde, basıncın artması ile çok daha yüksek sıcaklıklara çıkılabilmesi, numunenin uçuculuğunu yitirmiş kısımlarının bile neredeyse tamamen ortadan kaldırması, enerji transferinin, kaplar ısınmaksızın, neredeyse çözeltinin içerisindeki moleküllerin tamamına eş zamanlı olarak meydana gelmesi nedeniyle bütün çözelti için kaynama sıcaklığına çok kısa bir zaman içerisinde ulaşılması, oluşan mikradalga ortamında organik moleküllerin etkilenmemesi, mikrodalga enerjinin sadece matriks tarafından emilmesi ve mikrodalga enerjisinin gücünün matrikse göre ayarlanabiliyor olması önemli avantajlardır. Ayrıca klasik metotlarda meydana gelen kontaminasyon ve uçucu bileşenlerin kaybedilmesi ile ilgili sorunlar, farklı asit karışımlarının kullanılmasından kaynaklanan sorunlar mikrodalga ile çözünürleştirmede saf dışı bırakılır.

Numunelerle beraber standartlara uygulanan mikrodalga yöntemi ile çözünürleştirme akış şeması Şekil 3.2.22 de, uygulanan basamaklar ise Tablo 3.2.2 de verilmiştir.



Şekil 3.2.22. Mikrodalga yardımıyla çözünürleştirme akış şeması

Tablo 3.2.2. Mikrodalga yardımıyla çözünürleştirme işlem basamakları

Aşamalar	Süre (dk)	Güç (W)	Sıcaklık (°C)	Basınç (bar)
1. Aşama	10	1000	200	35
2. Aşama	20	1000	200	35
3. Aşama	10	1000	200	35
4. Aşama	20	Ventilasyon		
5. Aşama	10	1000	200	35
6. Aşama	10	1000	200	35
7. Aşama	20	Ventilasyon		

Bitki örneklerinin 0.5000 g lık tartımları alınıp üzerlerine 5 mL % 65 lik HNO₃ ve 2 mL % 30 luk H₂O₂ ilave edilmiştir. Tablo 3.2.2 de verilen mikrodalga ile çözünürleştirme basamaklarının 1, 2, 3 ve 4. basamakları uygulanmıştır. Bitki örnekleri, ilk ventilasyon işlemine kadar çözünmediği için, örneklerin üzerine 0.5 mL % 40 lık HF eklenerek 5, 6 ve 7. basamaklar uygulanmıştır. Bitki örnekleri, mikrodalga yardımıyla çözünürleştirildikten sonra saf su ile 25 mL ye tamamlanıp, filtrasyon işlemi uygulandı ve AAS ile analize hazır hale getirildi. Analizleninceye kadar +4 °C de buzdolabında bekletildi.

3.2.2.2. AAS de Kullanılan Sertifikalı Standartların Geri Kazanımları

Bitkilerin eser element içeriklerinin AAS analizlerine geçmeden önce yöntemimizin doğruluğunu ve kesinliğini tayin etmek için SRM maddeler kullanıldı. Bunlar elma yaprağı standardı (NIST – SRM 1515, Apple Leaves) ve ıspanak standardıdır (NIST – SRM 1570a, Spinach). Bu iki standart ile yapılan analizlerde elde edilen geri kazanımlar ise Tablo 3.2.3.a ve 3.2.3.b de verilmiştir.

Tablo3.2.3.a Elma yaprağı standardının (NIST – SRM 1515, Apple Leaves) elementlerdeki sertifikalı değerleri, gözlenen değerleri ve % geri kazanımları

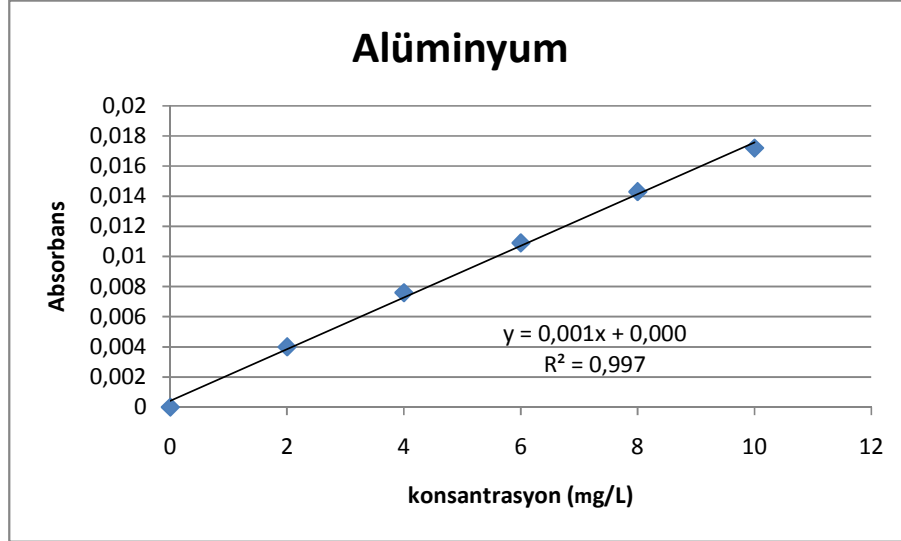
Element	Sertifika Değerı (ppm)	Mikrodalga Parçalama Sonuçları	Geri Kazanım (%)
Alüminyum	286.0 ± 9.0	276.4 ± 5.4	96.64
Bakır	5.64 ± 0.24	5.92 ± 0.42	104.96
Çinko	12.5 ± 0.3	17.1 ± 1.9	136.80
Mangan	54.0 ± 3.0	48.4 ± 2.1	89.63
Demir	83.0 ± 5.0	90.6 ± 2.2	109.16
Bor	27.0 ± 2.0	25.9 ± 0.7	95.92
Selenyum	0.050 ± 0.009	0.052 ± 0.009	104.00
Kurşun	0.470 ± 0.024	0.488 ± 0.016	103.83

Tablo 3.2.3.b Ispanak standardının(NIST – SRM 1570a, Spinach) elementlerdeki sertifikalı değerleri, gözlenen değerleri ve % geri kazanımları

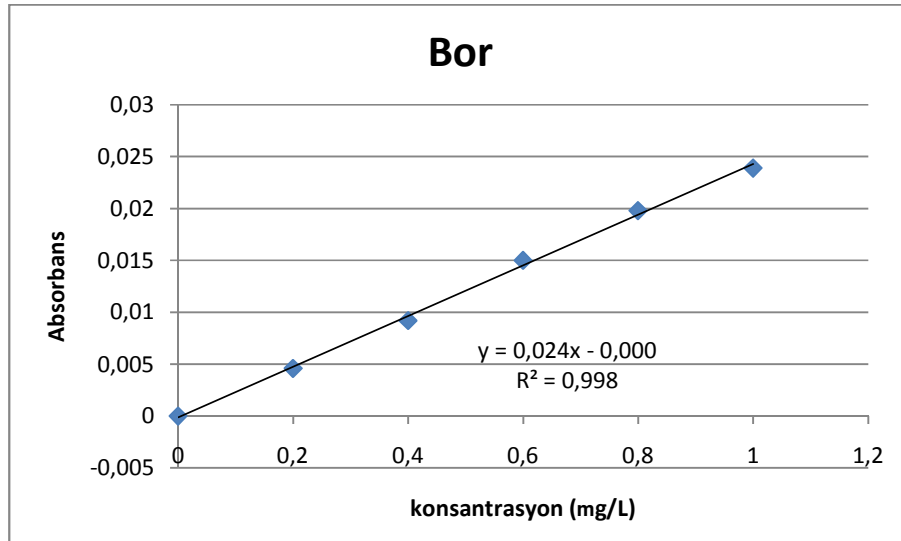
Element	Sertifika Değeri (mg / kg)	Mikrodalga Parçalama Sonuçları	Geri Kazanım (%)
Alüminyum	310.0 ± 11.0	307.4 ± 6.4	99.03
Bakır	12.2 ± 0.6	11.8 ± 0.3	96.72
Çinko	82.0 ± 3.0	74.4 ± 2.0	90.73
Mangan	75.9 ± 1.9	65.3 ± 1.0	86.03
Bor	37.6 ± 1.0	36.3 ± 1.7	96.54
Kadmiyum	2.89 ± 0.07	2.68 ± 0.15	92.73
Selenyum	0.117 ± 0.009	0.111 ± 0.010	94.87
Kobalt	0.39 ± 0.05	0.34 ± 0.04	87.18

3.2.2.3. AAS Kalibrasyon Grafikleri

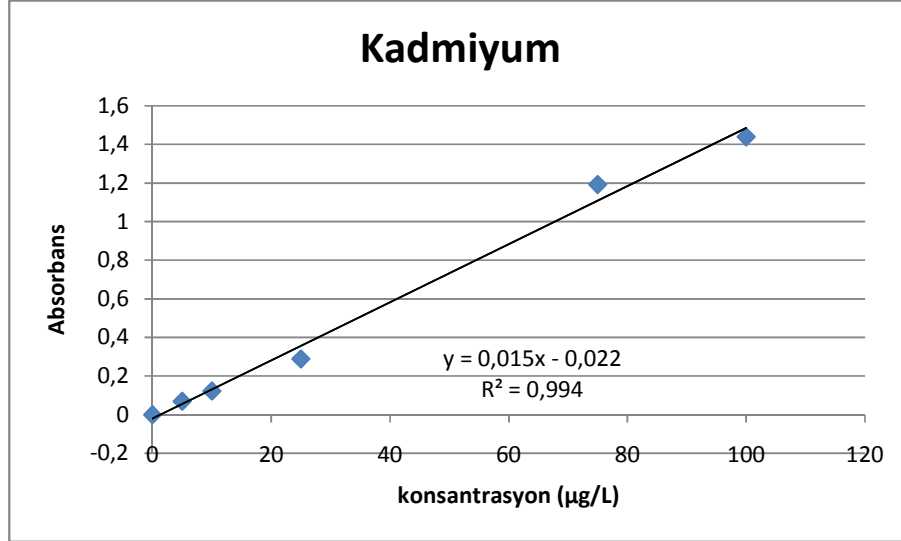
Bütün bitki örneklerindeki Al, Cu, Fe, Mn ve Zn elementleri F-AAS ile B, Cd, Co, Pb ve Se elementleri ise ET-AAS ile analizlenmiştir. Bu analizler esnasında kullanılan kalibrasyon grafikleri şekil 3.2.23, 3.2.24, 3.2.25, 3.2.26, 3.2.27, 3.2.28, 3.2.29, 3.2.30, 3.2.31 ve 3.2.32 de verilmiştir.



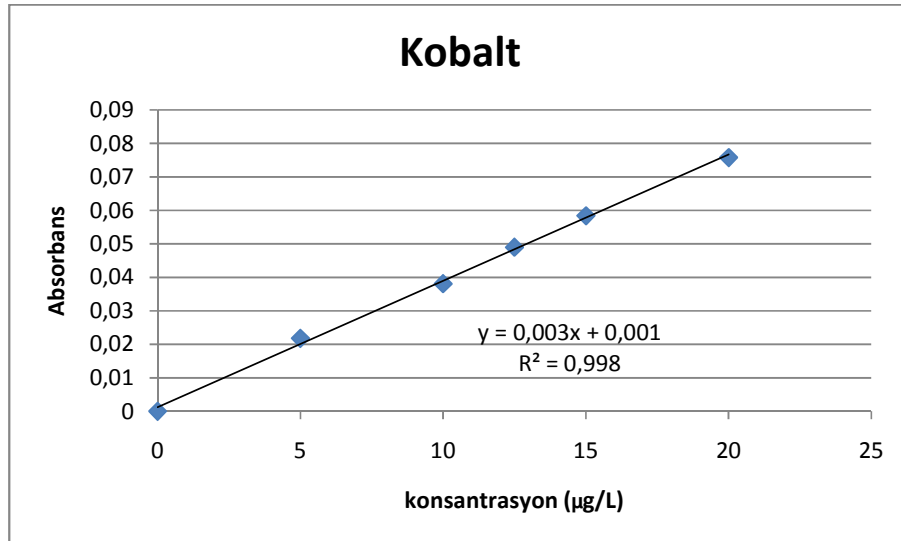
Şekil 3.2.23. Alüminyum elementine ait kalibrasyon grafiği



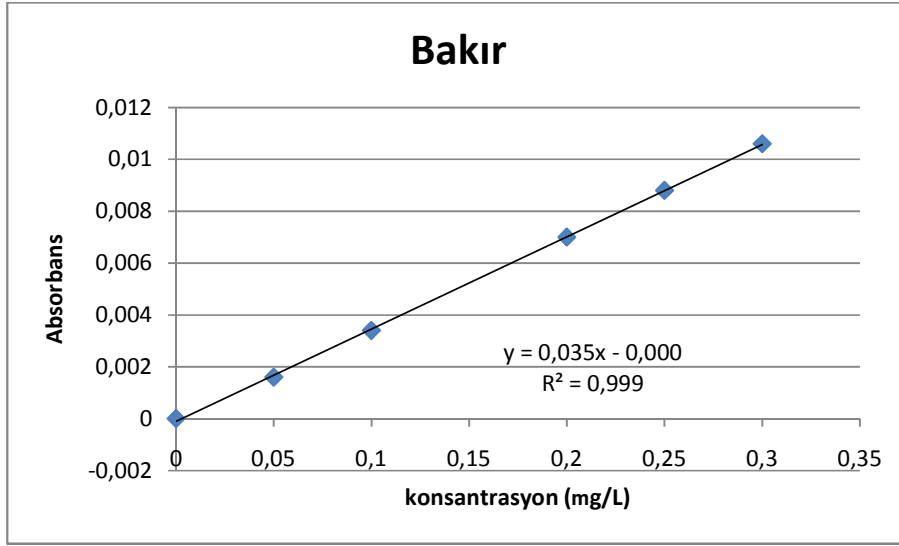
Şekil 3.2.24. Bor elementine ait kalibrasyon grafiği



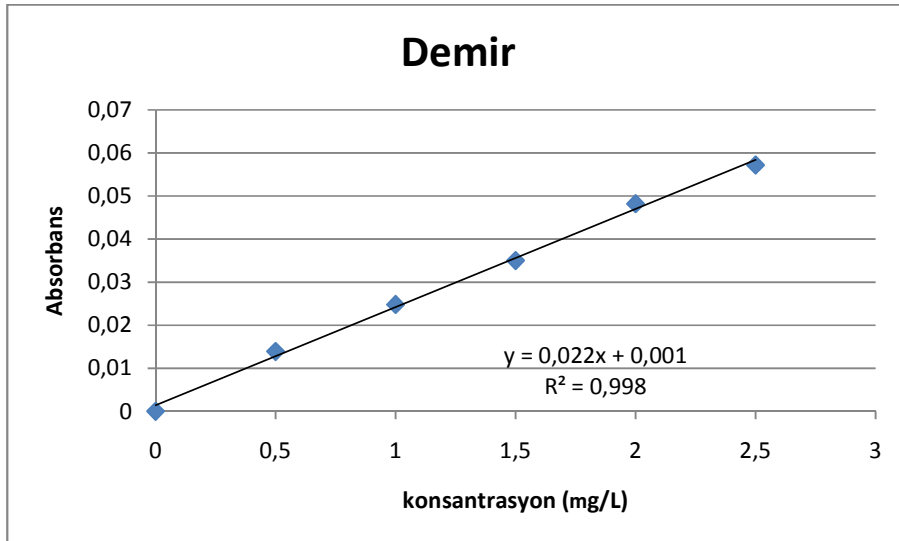
Şekil 3.2.25. Kadmiyum elementine ait kalibrasyon grafiği



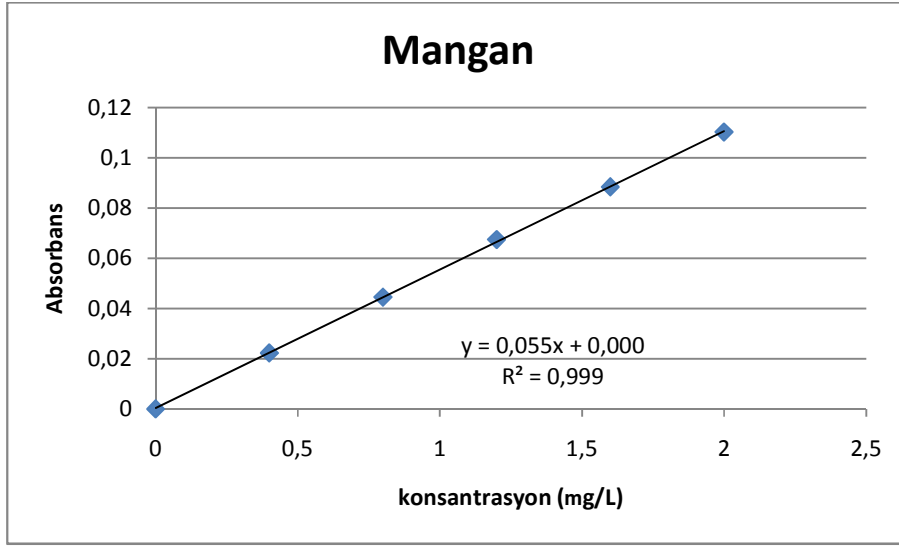
Şekil 3.2.26. Kobalt elementine ait kalibrasyon grafiği



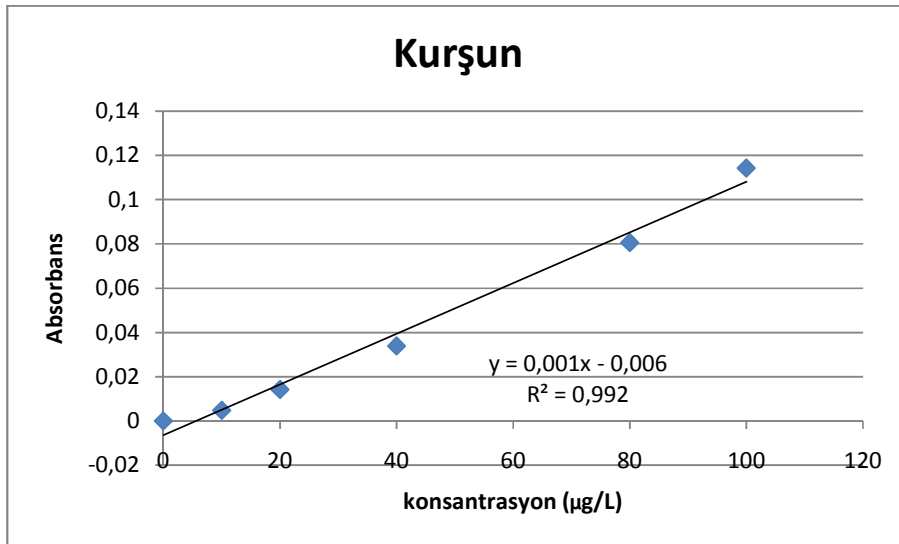
Şekil 3.2.27. Bakır elementine ait kalibrasyon grafiği



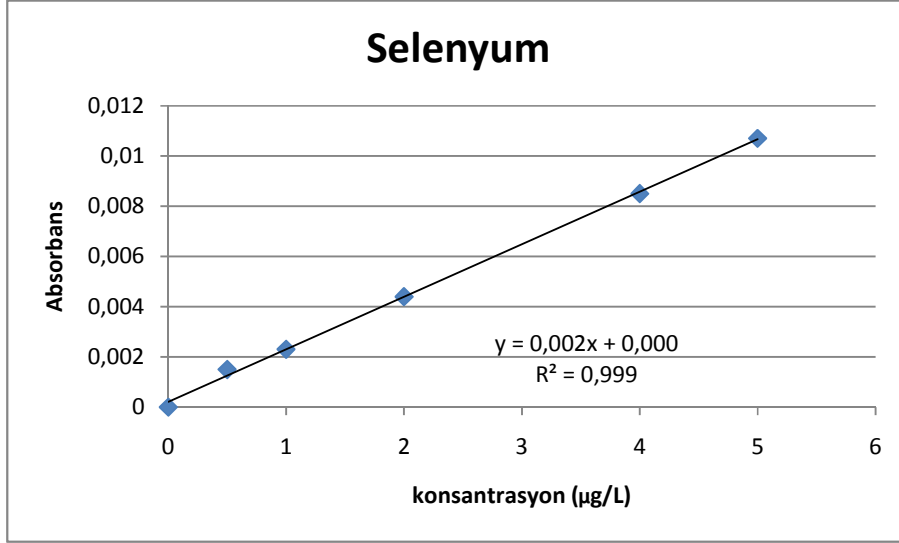
Şekil 3.2.28. Demir elementine ait kalibrasyon grafiği



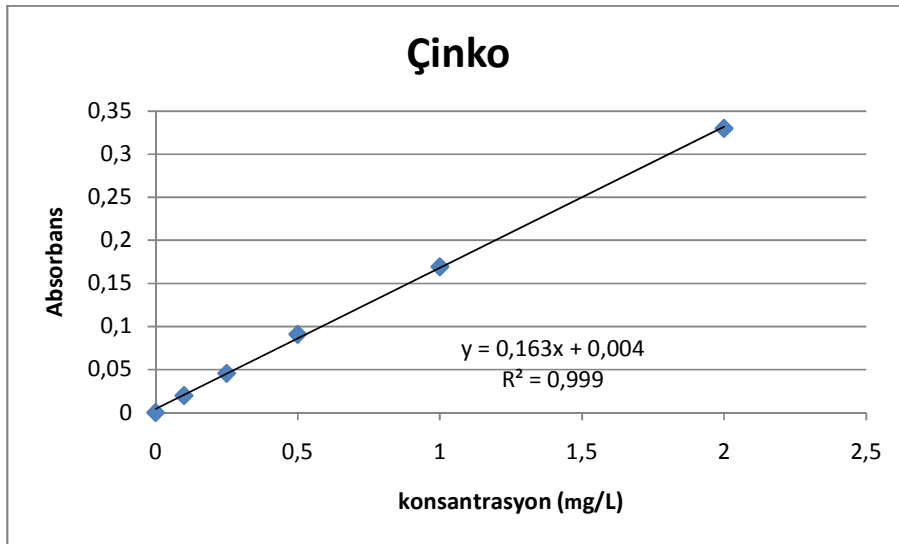
Şekil 3.2.29. Mangan elementine ait kalibrasyon grafiği



Şekil 3.2.30. Kurşun elementine ait kalibrasyon grafiği



Şekil 3.2.31. Selenyum elementine ait kalibrasyon grafiği



Şekil 3.2.32. Çinko elementine ait kalibrasyon grafiği

4. BULGULAR

4.1. Bitki Örneklerine Ait Element Analizi Sonuçları

Kurutulmuş bitkilerin toprak üstü kısımlarından alınan 0.5000±0.001 g lık örnekler mikrodalga yardımıyla çözünürleştirilip 25 mL ye tamamlandıktan sonra yapılan Alevli-AAS ve Elektro Termal-AAS analizlerinin sonucu Tablo 4.1.1 de verilmiştir. Sonuçlar 3 grup ve her grubun 3 tekrar deney sonucuna göre verilmiştir.

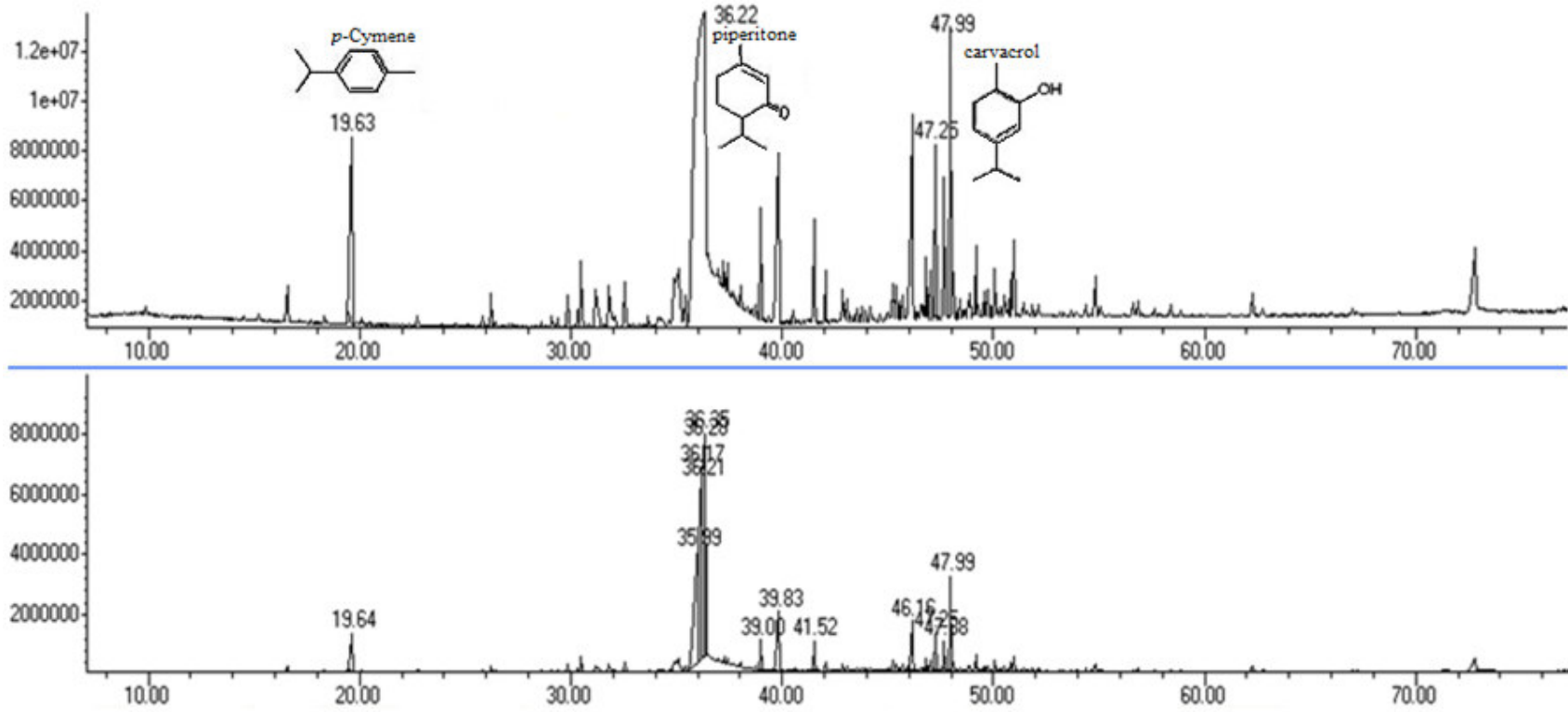
Tablo 4.1.1. Bitki örneklerine ait eser element analizi sonuçları
(ortalama ± SD, n = 3, N = 9)

Element	<i>A. grandifolia</i> Friv.	<i>A. nobilis</i> subsp. <i>Sipylea</i>	<i>A. teretifolia</i> Willd.
Alüminyum	270.00 ± 4.74	239.51 ± 03.27	172.08 ± 03.62
Bor	33.49 ± 01.73	28.64 ± 02.78	37.71 ± 01.53
Bakır	6.98 ± 0.29	11.46 ± 0.26	10.84 ± 0.50
Çinko	22.85 ± 0.95	54.77 ± 1.34	19.92 ± 0.82
Demir	41.70 ± 11.95	102.25 ± 13.13	48.29 ± 3.45
Mangan	46.54 ± 1.60	84.67 ± 3.33	72.47 ± 02.32
Kadmiyum x 10 ⁻³	1232.80 ± 29.42	400.59 ± 18.23	989.56 ± 17.97
Kobalt x 10 ⁻³	199.28 ± 11.98	342.08 ± 9.09	164.35 ± 8.13
Kurşun x 10 ⁻³	627.78 ± 56.05	896.28 ± 41.68	653.50 ± 116.10
Selenyum x 10 ⁻³	56.92 ± 5.97	56.18 ± 5.77	65.03 ± 4.34

Sonuçlar, mg / kg bitki şeklindedir.

4.2. GC, GC-MS Sonuçları

Bitki rneklerinin kuru ağırlıklarına göre uçucu yağı verimleri; *A.grandifolia* Friv. (BY15621) için, % 0.2635, *A. nobilis* L. Subsp. *Sipylea* (BY 15750) için, % 0.5191 ve *A.teretifolia* Willd. (BY 15637) için, % 0.4162 olarak bulunmuştur. Bitki örneklerine ait kromatogramlar Şekil 4.1.1, 4.1.2 ve 4.1.3 te, uçucu yağı kimyasal bileşenleri ise Tablo 4.1.2, 4.1.3 ve 4.1.4 te verilmiştirt.



Şekil 4.1.1. *A. grandifolia* Friv. (BY 15621) ya ait kromatogram

Tablo 4.1.2. *A.grandifolia* (BY 15621) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

No	Bileşenin Adı	RI	%	MA(g/mol)	Parçalanma Ürünleri
1	Camphene , C ₁₀ H ₁₆	1060	0,10	136	28-32-93-14-121-40-16-79-91-107
2	α -phellandrene, C ₁₀ H ₁₆	1184	0,10	136	28-32-93-91-14-40-77-92-18-16
3	α -terpinene, C ₁₀ H ₁₆	1202	0,10	136	28-32-121-93-14-136-40-91-18-18
4	1-8- Cineole , C ₁₀ H ₁₈ O	1236	0,60	154	28-32-93-43-81-108-154-111-84-71
5	γ -terpinene , C ₁₀ H ₁₆	1286	0,10	136	28-32-93-91-136-14-40-77-121-79
6	<i>p</i>-cymene , C₁₀H₁₄	1321	5,00	134	119-134-91-117-120-28-115-77-65-103
7	2-Octanone , C ₈ H ₁₆ O	1332	0,10	128	28-32-43-58-14-40-71-18-59-16
8	Hexanol , C ₆ H ₁₄ O	1401	0,10	102	28-32-56-55-43-41-69-42-40-14
9	α - <i>p</i> -dimethyl styrene , C ₁₀ H ₁₂	1491	0,30	132	28-132-117-32-115-91-131-92-116-65
10	Furfural , C ₅ H ₄ O ₂	1519	eser	96	28-32-95-96-14-18-40-39-16-81
11	Camphor , C ₁₀ H ₁₆ O	1566	0,20	152	28-32-95-81-108-69-41-109-152-83
12	Benzaldehyde , C ₇ H ₆ O	1574	0,10	106	28-32-106-105-77-51-18-40-14-78

Tablo 4.1.2. (Devamı) *A.grandifolia* (BY 15621) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

13	Linalool, C ₁₀ H ₁₈ O	1587	0,40	154	28-93-71-32-69-41-55-43-80-121
14	4-Acetyl-1-methyl cyclohexene , C ₁₀ H ₁₆ O	1599	0,20	138	28-32-95-138-43-123-67-79-93-55
15	<i>trans-p</i> -menth-2-en-1-ol, C ₁₀ H ₁₈ O	1604	0,90	154	93-28-91-77-43-32-136-79-94-139
16	Bornyl acetate , C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1623	1,20	196	28-95-32-93-121-43-136-108-41-80
17	Terpinen-4-ol , C ₁₀ H ₁₈ O	1638	0,90	154	28-71-93-32-111-43-86-69-91-41
18	Lavandulyl acetate, C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1647	0,30	196	28-32-69-93-43-68-41-121-18-67
19	<i>cis-p</i> -menth-2-en-1-ol, C ₁₀ H ₁₈ O	1657	0,80	154	28-93-32-91-77-43-136-139-121-79
20	Neral , C ₁₀ H ₁₆ O	1715	0,05	152	28-32-43-55-18-41-69-67-40-14
21	Borneol , C ₁₀ H ₁₈ O	1725	3,30	154	95-28-32-110-41-93-55-69-67-139
22	Piperitone , C₁₀H₁₆O	1756	34,00	154	82-110-95-109-137-41-28-43-152-97
23	Curcumene , C ₁₅ H ₂₂	1774	1,20	202	28-43-97-32-41-69-119-55-71-132
24	<i>p</i> -methyl acetophenone , C ₉ H ₁₀ O	1781	1,50	134	119-28-91-43-97-32-134-41-69-65

Tablo 4.1.2. (Devamı) *A.grandifolia* (BY 15621) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

25	Cumin aldehyde , C ₁₀ H ₁₂ O	1786	1,10	148	28-133-148-105-43-32-97-41-77-79
26	β -damascone , C ₁₃ H ₁₈ O	1811	0,40	190	28-32-69-43-41-97-121-55-79-71
27	Geraniol , C ₁₀ H ₈ O	1822	0,20	154	28-32-69-41-43-93-97-55-67-68
28	<i>p</i> -cymen-8-ol , C ₁₀ H ₁₄ O	1828	1,10	190	135-43-91-28-132-150-117-115-136-65
29	Ascaridole , C ₁₀ H ₁₆ O ₂	1851	4,40	168	97-43-41-69-55-71-95-79-82-85
30	Heptanoic acid , C ₇ H ₁₄ O ₂	1894	1,10	130	60-73-28-87-55-43-41-70-71-45
31	Caryophyllene oxide , C ₁₅ H ₂₄ O	1929	0,50	220	28-32-79-93-43-41-91-69-109-95
32	<i>trans</i> -nerolidol, C ₁₅ H ₂₆ O	1953	0,20	222	28-32-69-93-41-43-71-107-55-81
33	13-Tetradecanolide , C ₁₄ H ₂₆ O ₂	1960	0,10	226	28-32-55-43-41-18-69-83-40-98
34	Octanoic acid , C ₈ H ₁₆ O ₂	1964	0,20	144	28-32-60-73-43-55-41-85-101-84
35	<i>p</i> -cresol , C ₇ H ₈ O	1983	0,10	108	28-32-107-108-18-77-43-40-14-105
36	Viridiflorol , C ₁₅ H ₂₆ O	1990	0,10	222	28-32-43-18-109-40-71-14-57-55
37	Cuminol, C ₁₀ H ₁₄ O	1997	0,40	150	28-135-32-150-105-79-107-91-119-77

Tablo 4.1.2. (Devamı) *A.grandifolia* (BY 15621) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

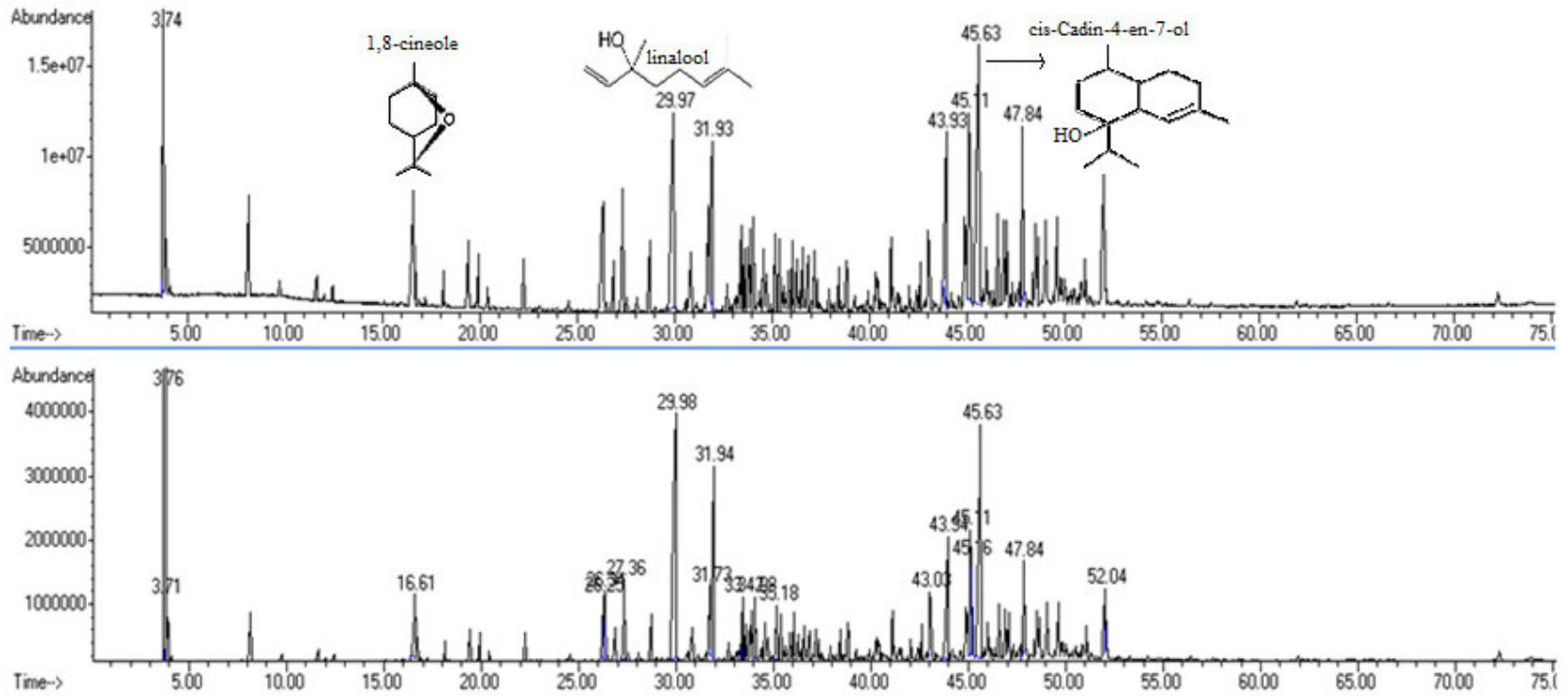
38	Hexahydrofarnesyl acetone , C ₁₈ H ₃₆ O	2013	0,80	268	28-43-58-32-71-57-85-59-55-109
39	Spathulenol, C ₁₅ H ₂₄ O	2016	3,60	220	205-119-91-159-105-43-93-162-107-79
40	Nonanoic acid, C ₉ H ₁₈ O ₂	2031	0,20	158	28-32-60-73-57-41-55-43-115-69
41	Thymol, C ₁₀ H ₁₄ O	2035	0,60	150	135-28-150-32-91-115-136-107-77-117
42	Eugenol, C ₁₀ H ₁₂ O ₂	2039	0,50	164	28-164-32-149-131-103-77-91-137-133
43	Carvacrol , C₁₀H₁₄O	2065	7,00	150	135-150-91-115-28-136-117-107-77-105
44	α -bisabolol , C ₁₅ H ₂₆ O	2068	0,50	222	28-109-32-69-119-43-93-41-121-95
45	Isospathulenol, C ₁₅ H ₂₄ O	2076	0,20	220	28-32-119-91-43-93-105-18-159-41
46	β -eudesmal , C ₁₅ H ₂₆ O	2082	0,10	222	28-32-59-18-40-149-43-14-41-109
47	15-Hexadecanolide , C ₁₆ H ₃₀ O ₂	2088	0,30	254	28-32-55-41-69-97-83-98-43-84
48	Decanoic acid , C ₁₀ H ₂₀ O ₂	2095	0,80	172	28-73-60-129-32-57-55-71-41-43
49	Tricosane , C ₂₃ H ₄₈	2114	0,10	324	28-32-57-71-43-85-18-41-55-40
50	Cedr-8-en-13-ol , C ₁₅ H ₂₄ O	2128	0,20	220	28-32-18-93-43-40-14-161-105-41

Tablo 4.1.2. (Devamı) *A.grandifolia* (BY 15621) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

51	9-Decenoic acid , C ₁₀ H ₁₈ O ₂	2133	0,20	170	28-32-55-69-41-68-110-83-73-60
52	Chavicol, C ₉ H ₁₀ O	2138	0,30	134	28-134-133-32-107-77-105-91-115-79
53	Methyl jasmonate , C ₁₃ H ₂₀ O ₃	2144	1,40	224	28-32-109-83-41-55-69-95-81-67
54	Dihydro actinidiolide , C ₁₁ H ₁₆ O ₂	2160	0,05	180	28-32-111-18-43-40-14-109-137-69
55	Dodecanoic acid , C ₁₂ H ₂₄ O ₂	2232	0,20	200	28-32-73-60-43-18-41-55-57-40
56	Benzyl benzoate , C ₁₄ H ₁₂ O ₂	2383	0,10	212	28-32-73-60-43-57-55-129-41-71
57	Tetradecanoic acid , C ₁₄ H ₂₈ O ₂	2439	0,50	228	28-32-73-60-43-57-55-129-41-71
58	Benzyl salicylate , C ₁₄ H ₁₂ O ₃	2563	0,10	228	28-32-91-18-14-40-16-65-228-92
59	Hexadecanoic acid, C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2717	2,60	256	28-73-32-60-43-57-55-129-41-71
Toplam			81,80		

Eser: (< 0,05) , RI: Retention Index

A. grandifolia Friv. (BY15621) bitkisinden % 0.2635 verimle elde edilen uçucu yağ içeriğinin % 81.80 ini oluşturan 59 bileşen saptanmış olup etken maddeler, piperitone (% 34.00), carvacrol (% 7.00) ve *p*-cymene (% 5.00) dir.



Şekil 4.1.2. *A.nobilis* Subsp. *sipylea* ya ait kromatogram

Tablo 4.1.3. *A. nobilis* Subsp *Sipylea* (BY-15750) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

No	Bileşenin Adı	RI	%	MA(g/mol)	Parçalanma Ürünleri
1	α -Pinene, C ₁₀ H ₁₆	1019	1,70	136	93-91-92-28-77-79-121-32-105-136
2	camphene, C ₁₀ H ₁₆	1062	0,20	136	28-32-93-121-79-91-14-107-67-40
3	β -pinene, C ₁₀ H ₁₆	1111	0,40	136	28-93-32-69-91-79-41-77-121-94
4	sabinene, C ₁₀ H ₁₆	1133	0,20	136	28-32-91-92-119-14-40-77-16-78
5	1,8-Cineole, C₁₀H₁₈O	1239	4,10	154	28-43-81-108-154-111-71-84-139-93
6	Linalool oxide, Dehidroxy- <i>trans</i>	1244	0,30	152	28-67-68-32-55-43-96-82-110-41
7	(Z)-3-Hexenal, C ₆ H ₁₀ O	1250	0,10	98	28-32-107-122-91-79-14-105-40-77
8	(E)-2-Hexenal, C ₆ H ₁₀ O	1258	0,10	98	28-32-107-91-122-79-105-14-77-40
9	Linalool oxide, Dehidroxy- <i>Cis</i>	1282	0,30	152	28-67-32-68-55-43-82-41-137-96
10	<i>p</i> -Cymene, C ₁₀ H ₁₄	1316	1,00	134	119-134-28-91-117-120-32-115-77-65
11	1,2,4-trimethylbenzene, C ₉ H ₁₂	1329	0,80	120	105-120-28-119-32-77-91-105-103-79
12	Methylbutyl-2- isovalerate, C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1341	0,30	172	28-32-70-14-40-85-18-16-43-57

Tablo 4.1.3. (Devamı) *A. nobilis* Subsp *Sipylea* (BY-15750) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

13	Mesitylene, C ₉ H ₁₂	1391	0,70	120	105-120-28-32-77-119-91-106-103-79
14	<i>trans</i> -linalool oxide(furanoid), C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1497	2,80	170	59-94-28-93-111-43-67-55-68-81
15	Isophorone, C ₉ H ₁₄ O	1503	0,20	138	28-82-32-138-54-95-39-41-40-83
16	β -Thujone, C ₁₀ H ₁₆ O	1510	0,90	152	28-107-32-150-91-79-105-135-108-80
17	Linalool oxide, <i>Cis</i> , C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1524	1,90	170	59-94-93-111-68-67-28-43-55-81
18	<i>trans,trans</i> -2,4-Hexadienal, C ₆ H ₈ O	1529	0,30	96	28-32-81-109-107-121-91-40-14-67
19	α -Campholene Aldehyde, C ₁₀ H ₁₆ O	1544	0,20	152	28-108-32-93-95-91-67-109-81-77
20	Copaene, C ₁₅ H ₂₄	1548	0,10	204	28-32-161-119-105-93-14-108-40-91
21	Chrysanthenone, C ₁₀ H ₁₄ O	1561	1,10	150	107-91-28-80-79-122-105-77-32-39
22	Camphor, C ₁₀ H ₁₆ O	1569	0,10	152	28-32-83-95-69-55-81-41-40-14
23	Linalool, C₁₀H₁₈O	1593	6,50	154	93-71-55-69-41-43-80-121-67-92
24	<i>p</i> -Menth-8-en-1-ol, C ₁₀ H ₁₄ O	1597	0,10	150	28-32-107-79-122-91-40-14-18-41
25	Linalyl acetate, C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1607	0,10	196	28-32-93-14-40-18-91-43-77-16

Tablo 4.1.3. (Devamı) *A. nobilis* Subsp *Sipylea* (BY-15750) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

26	Cyclopentadien,1,5,5-trimetyl, C ₈ H ₁₂	1610	0,20	108	28-32-93-91-136-77-121-108-39-65
27	<i>cis</i> -Chrysanthenyl acetate, C ₁₂ H ₁₈ O ₂	1619	3,60	194	119-43-109-134-91-81-121-93-107-95
28	Fenchylalcohol, C ₁₀ H ₁₈ O	1623	0,10	154	28-32-81-71-80-43-82-40-14-67
29	Nopinone, C ₉ H ₁₄ O	1626	0,20	138	28-32-83-95-55-81-109-67-41-43
30	6-methyl-3,5-heptadien-2-one, C ₈ H ₁₂ O	1634	0,10	124	28-32-109-81-79-43-124-40-14-18
31	Terpinen-4-ol, C ₁₀ H ₁₈ O	1641	2,10	154	82-138-28-54-39-95-83-91-67-71
32	Lavandulylacetate, C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1646	3,40	196	28-69-93-32-43-68-41-121-67-136
33	Myrtenal, C ₁₀ H ₁₄ O	1667	0,30	150	28-79-107-32-77-91-108-106-105-41
34	Sabine Keton, C ₉ H ₁₄ O	1670	0,05	138	28-32-81-96-95-18-40-14-55-67
35	<i>cis-p</i> -Mentha-2,8-dien-1-ol, C ₁₀ H ₁₈ O	1673	0,10	154	28-32-57-119-29-134-109-91-81-121
36	Aromadendrene, C ₁₅ H ₂₄	1680	0,20	204	28-32-91-105-43-119-93-41-92-161
37	<i>trans</i> -pinocarveol, C ₁₀ H ₁₆ O	1685	1,20	152	92-91-55-28-83-70-41-119-81-69
38	β -Acoradiene, C ₁₅ H ₂₄	1690	0,70	204	28-119-121-32-189-93-79-60-204-91

39	α -humulene, C ₁₅ H ₂₄	1694	1,00	204	69-93-28-57-68-121-41-32-67-80
40	Lavandulol, C ₁₀ H ₁₈ O	1698	1,00	154	28-69-41-32-111-93-123-68-67-81
41	<i>trans</i> -verbenol, C ₁₀ H ₁₆ O	1701	1,10	152	28-91-109-119-32-94-92-81-41-79
42	γ -Muurolene, C ₁₅ H ₂₄	1709	0,20	204	28-32-69-161-93-14-18-40-91-41
43	γ -Curcumene, C ₁₅ H ₂₂	1711	0,30	202	28-32-119-121-93-91-189-79-105-204
44	α -Terpineol, C ₁₀ H ₁₈ O	1715	0,70	154	28-59-93-121-136-81-68-96-32-43
45	Borneol, C ₁₀ H ₁₈ O	1719	0,40	154	95-28-32-110-93-41-96-67-55-139
46	Verbenone, C ₁₀ H ₁₄ O	1731	0,80	150	107-28-135-91-150-80-79-32-108-39
47	<i>p</i> -Mentha-1,5-dien-8-ol	1736	0,50	152	28-32-59-94-79-91-93-77-43-95
48	<i>trans</i> -Carvyl acetate, C ₁₂ H ₁₈ O ₂	1745	0,20	194	28-32-119-109-68-43-84-152-91-94
49	Carvone, C ₁₀ H ₁₄ O	1749	0,50	150	28-82-32-93-108-54-107-119-39-91
50	<i>cis</i> -Chrysanthenol, C ₁₀ H ₁₈ O	1755	1,10	154	28-32-81-109-121-91-107-128-67-95
51	Naphthalene, C ₁₀ H ₈	1756	0,10	128	28-128-32-127-129-126-102-64-51-63
52	Geranyl acetate, C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1761	0,80	196	93-28-69-57-121-68-32-41-80-85
53	<i>Cis</i> -linalool oxide(pyranoid)	1761	0,10	170	28-32-68-94-59-67-43-40-18-14

Tablo 4.1.3. (Devamı) *A. nobilis* Subsp *Sipylea* (BY-15750) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

54	Geranyl Propionate, C ₁₃ H ₂₂ O ₂	1769	0,80	210	93-69-28-68-121-85-41-57-32-80
55	(-)- <i>cis</i> Carvyl acetate, C ₁₂ H ₁₈ O ₂	1772	0,30	194	28-32-91-93-119-84-77-43-79-109
56	<AR> Curcumene, C ₁₅ H ₂₂	1776	0,60	202	28-119-132-105-32-131-145-202-120-91
57	<i>p</i> -methylacetophenone, C ₉ H ₁₀ O	1780	0,20	134	28-32-119-91-134-59-79-94-65-18
58	Indipone, C ₁₅ H ₂₄ O	1784	0,70	220	28-149-32-93-107-91-150-81-79-43
59	Myrtenol, C ₁₀ H ₁₆ O	1787	0,30	152	28-79-91-32-108-77-93-119-41-67
60	β -Damascone, C ₁₃ H ₂₀ O	1812	0,10	190	28-32-69-121-105-91-41-40-18-14
61	<i>trans</i> -Carveol, C ₁₀ H ₁₆ O	1817	0,50	152	28-109-84-32-91-83-119-55-41-69
62	<i>cis</i> - Calamenene, C ₁₅ H ₂₂	1822	0,10	202	28-32-69-159-41-93-18-40-14-68
63	<i>p</i> -Cymen-8-ol, C ₁₀ H ₁₄ O	1827	0,50	150	135-28-43-91-32-132-82-117-115-150
64	<i>cis</i> - Carveol, C ₁₀ H ₁₆ O	1839	0,20	152	28-32-84-109-134-91-119-83-41-55
65	Myrtanol, C ₁₀ H ₁₈ O	1845	0,10	154	28-32-40-18-14-69-148-93-67-105
66	Benzyl isovalerate, C ₁₂ H ₁₆ O ₂	1860	0,10	192	28-32-91-108-18-40-43-14-135-107

Tablo 4.1.3. (Devamı) *A. nobilis* Subsp *Sipylea* (BY-15750) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

67	β -Calacorane,	1871	0,20	200	28-32-157-143-200-142-141-128-18-14
68	α -Calacorane	1882	0,20	200	28-32-157-142-141-200-156-158-18-115
69	Piperitenone (=Pulespenone), C ₁₀ H ₁₄ O	1888	1,10	150	150-107-28-135-91-109-79-32-82-108
70	Palustrol, C ₁₅ H ₂₆ O	1891	0,30	222	28-32-111-122-107-95-81-41-109-43
71	<i>cis</i> -Jasmone, C ₁₁ H ₁₆ O	1899	0,30	164	28-32-79-164-110-149-91-93-135-55
72	Perilla alcohol, C ₁₀ H ₁₆ O	1935	0,10	152	28-32-79-93-91-67-68-121-40-18
73	Filifolidea,	1939	1,30	166	107-91-28-122-105-79-166-108-77-32
74	Salvial-4-(14)-en-1-one, C ₁₇ H ₂₈ O	1947	0,30	248	28-32-123-81-41-40-91-18-79-93
75	Ledol, C ₁₅ H ₂₆ O	1957	3,70	222	28-32-43-69-122-81-107-109-41-93
76	Octanoic Acid, C ₈ H ₁₆ O ₂	1966	0,10	144	28-32-60-18-73-40-14-43-41-16
77	Cubenol, C ₁₅ H ₂₆ O	1981	0,90	222	28-119-161-105-32-204-82-93-95-179
78	Globulol, C ₁₅ H ₂₆ O	1988	1,70	222	121-164-28-105-43-93-79-107-161-91
79	Guaiol(=Champacacamphor), C ₁₅ H ₂₆ O	1993	2,80	222	121-161-164-93-105-109-91-43-79-107

Tablo 4.1.3. (Devamı) *A. nobilis* Subsp *Sipylea* (BY-15750) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

80	Viridiflorol, C ₁₅ H ₂₆ O	1994	1,20	222	161-109-107-28-105-93-43-91-69-81
81	<i>cis</i>-Cadin-4-en-7-ol, C₁₅H₂₆O	2000	7,80	222	28-32-119-161-105-43-121-81-71-93
82	Spathulenol, C ₁₅ H ₂₄ O	2016	0,60	220	28-32-91-205-119-43-105-159-93-41
83	Valeranone , C ₁₅ H ₂₆ O	2018	0,30	222	28-32-98-125-95-109-69-123-81-67
84	Selina-3,7(11)-diene, C ₁₅ H ₂₄	2022	0,20	204	28-32-161-204-81-93-59-119-189-91
85	α -Bisabalone epoxide, C ₁₅ H ₂₄ O	2025	0,20	220	28-32-18-40-14-43-119-93-121-91
86	γ - Eudesmol, C ₁₅ H ₂₆ O	2028	0,10	222	28-32-161-59-18-204-40-93-81-14
87	unknown from lime oil	2031	1,60		28-32-159-93-82-119-121-69-43-41
88	Eugenol, C ₁₀ H ₁₂ O ₂	2041	0,50	164	28-164-32-149-131-77-91-121-103-105
89	Thymol, C ₁₀ H ₁₄ O	2046	0,20	150	28-135-32-150-91-115-136-77-105-107
90	TAU Muurolol, C ₁₅ H ₂₆ O	2050	0,10	222	28-32-161-109-95-119-93-105-91-79
91	AR-Turmerol, C ₁₅ H ₂₂ O	2065	1,70	218	119-28-91-120-117-135-32-77-115-82
92	Cadelene, C ₁₅ H ₁₈	2081	0,60	198	28-183-198-32-168-153-165-184-152-167

Tablo 4.1.3. (Devamı) *A. nobilis* Subsp *Sipylea* (BY-15750) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

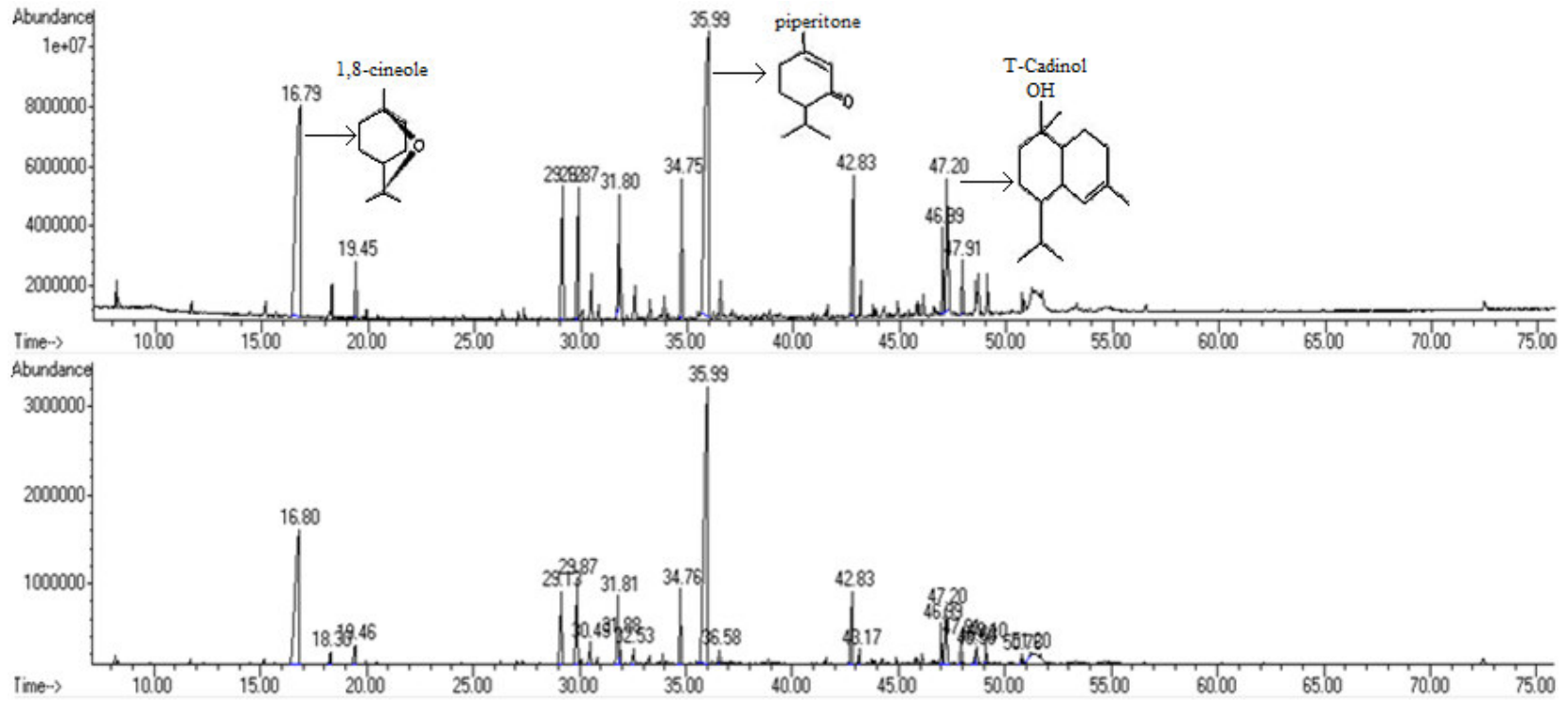
93	β -Eudesmol, C ₁₅ H ₂₆ O	2083	0,80	222	28-59-149-32-109-164-108-93-81-79
94	Intermedeol, C ₁₅ H ₂₆ O	2086	0,80	222	28-204-189-32-81-161-43-71-93-95
95	4,7-dimethyl-1,2,3,4-tetrahidronaphtalen-1-one	2092	0,10	174	28-32-159-174-18-132-117-14-40-131
96	Hexadeconoate, C ₁₆ H ₃₁ O ₂	2095	0,40	255	28-107-32-153-81-96-123-91-168-43
97	Decanoic Acid, C ₁₀ H ₂₀ O ₂	2097	1,00	172	73-60-28-129-41-71-55-57-43-69
98	(2Z,6Z)- Farnesol, C ₁₅ H ₂₆ O	2107	0,20	222	28-32-69-41-123-122-55-18-40-14
99	Cedr-8-en-3-ol, C ₁₅ H ₂₄ O	2118	0,40	220	28-32-57-119-41-121-85-91-43-69
100	Geranic Acid, C ₁₀ H ₁₆ O ₂	2137	0,20	168	28-69-32-41-100-123-39-40-18-82
101	Chavicol (= 4-Allyl phenol), C ₉ H ₁₀ O	2140	0,10	134	28-32-134-133-107-18-105-40-77-14
102	Farnesyl acetone, C ₁₈ H ₃₀ O	2148	0,20	262	28-32-43-18-93-40-14-81-91-41
103	3,4-difluoro-4-methoxy biphenyl, C ₁₃ H ₁₀ F ₂ O	2157	0,20	220	28-32-159-91-93-220-105-43-109-41
104	(E)-Nuciferol, C ₁₅ H ₂₂ O	2159	0,10	218	28-32-93-91-18-40-14-119-41-43
105	14-oxo-calamenen, C ₁₅ H ₂₀ O	2182	0,10	216	28-32-159-160-131-202-115-18-91-145

Tablo 4.1.3. (Devamı) *A. nobilis* Subsp *Sipylea* (BY-15750) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

106	Tetradecanoic Acid, C ₁₄ H ₂₈ O ₂	2442	0,10	228	28-32-73-60-18-14-40-43-57-55
107	Hexadecanoic Acid, C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2715	0,40	256	28-32-73-60-43-57-55-41-129-71
Toplam		83.25			

RI : Retention Index

A. nobilis subsp *sipylea* (BY 15750) bitkisinden % 0.5191 verimle elde edilen uçucu yağın GC, GC-MS analizi sonucunda, toplam uçucu yağın % 83,25 ini oluşturan 107 tane kimyasal bileşenin varlığı saptanmıştır. Temel bileşenlerinin ise, *cis*-Cadin-4-en-7-ol (% 7.80), Linalool (% 6.50) , 1,8-Cineole (% 4.10), olduğu gözlenmiştir.



Şekil 4.1.3. *A. teretifolia* Willd. e ait kromatogramlar

Tablo 4.1.4. *A.teretifolia* Willd. (BY 15637) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

No	Bileşenin Adı	RI	%Alan	MA(g/mol)	Parçalanma Ürünleri
1	α -Pinene ,C ₁₀ H ₁₆	1016	0,50	136	28-32-93-91-92-77-79-121-14-105
2	α -Thujene , C ₁₀ H ₁₆	1019	0,20	136	28-32-93-91-77-92-14-40-16-79
3	Camphene , C ₁₀ H ₁₆	1060	0,10	136	28-32-14-40-93-16-121-79-91-107
4	β -Pinene , C ₁₀ H ₁₆	1109	0,30	136	28-32-93-91-14-69-79-41-77-40
5	Sabinene , C ₁₀ H ₁₆	1126	0,05	136	28-32-93-91-14-69-79-41-77-40
6	α -Phellandrene, C ₁₀ H ₁₆	1183	0,10	136	28-32-93-14-40-91-16-77-92-18
7	α -Terpinene, C ₁₀ H ₁₆	1201	0,40	136	28-32-121-93-136-91-77-14-79-40
8	Dehydro,1-8-Cineole, C ₁₀ H ₁₆ O	1215	0,10	152	28-32-109-14-40-79-16-124-94-18
9	1-8- Cineole , C₁₀H₁₈O	1244	18,50	154	43-81-108-154-111-139-93-71-84-28
10	Linalool oxide,Dehydroxy- <i>cis</i>	1280	0,10	152	28-32-67-14-40-68-55-16-43-82
11	γ -Terpinene , C ₁₀ H ₁₆	1283	0,70	136	28-93-32-91-136-121-77-92-79-105
12	<i>p</i> -Cymene , C ₁₀ H ₁₄	1314	1,20	134	119-28-134-32-91-117-120-115-77-65

Tablo 4.1.4. (Devamı) *A.teretifolia* Willd. (BY 15637) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

13	isoamyl isovalerate, C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1320	0,05	172	28-32-14-40-70-16-57-85-18-29
14	Terpinolene , C ₁₀ H ₁₆	1326	0,20	136	28-32-121-136-93-91-14-40-79-77
15	2-Methyl butyl isovalerate, C ₁₀ H ₂₀ O ₂	1340	0,10	172	28-32-70-14-85-40-16-57-43-71
16	Linalool oxide <i>-trans</i> , C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1494	0,20	170	28-32-59-94-93-111-43-14-40-67
17	<i>trans</i> -Sabinene hidrat, C ₁₀ H ₁₈ O	1515	0,20	154	28-32-71-14-40-93-43-111-16-81
18	Linalool oxide <i>-cis</i> , C ₁₀ H ₁₈ O ₂	1521	0,20	170	28-32-59-68-67-83-94-40-14-55
19	α -Campholenal, C ₁₀ H ₁₆ O	1542	0,10	152	28-32-108-14-40-93-16-18-29-95
20	Camphor , C ₁₀ H ₁₆ O	1569	4,00	152	95-81-108-152-28-109-83-69-41-55
21	Linalool, C ₁₀ H ₁₈ O	1588	3,70	154	71-93-55-43-69-41-28-80-121-67
22	<i>cis</i> - Sabinene hydrate, C ₁₀ H ₁₈ O	1592	0,10	154	28-32-14-40-71-43-93-81-111-16
23	Isopinocampone , C ₁₀ H ₁₆ O	1594	0,30	152	28-32-69-83-55-95-41-14-40-81
24	β -Terpineol , C ₁₀ H ₁₈ O	1605	1,10	154	28-32-43-93-139-111-79-94-71-69
25	Pinocarvone , C ₁₀ H ₁₄ O	1614	0,30	150	28-32-81-108-53-107-14-40-79-41

Tablo 4.1.4. (Devamı) *A.teretifolia* Willd. (BY 15637) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

26	Terpinen-4-ol , C ₁₀ H ₁₈ O	1639	3,40	154	71-111-93-28-43-86-154-69-55-41
27	Ho-trienol , C ₁₀ H ₁₆ O	1642	1,20	152	28-71-82-32-43-67-41-55-79-81
28	<i>cis-p</i> -menth-2-en-1-ol, C ₁₀ H ₁₈ O	1658	0,90	154	28-32-43-139-93-69-121-111-81-71
29	Myrtenal , C ₁₀ H ₁₄ O	1664	0,10	150	28-32-14-40-79-107-16-18-91-77
30	Sabina Ketone , C ₉ H ₁₄ O	1668	0,10	138	28-32-40-14-81-96-95-16-18-55
31	Alloaromadendrine , C ₁₅ H ₂₄	1678	0,50	204	28-32-91-161-105-107-93-133-79-119
32	Verbenol- <i>cis</i> , C ₁₀ H ₁₆ O	1691	0,30	152	28-32-40-14-92-91-55-16-70-18
33	<i>delta</i> -Terpineol, C ₁₀ H ₁₈ O	1694	0,60	154	28-32-59-81-93-14-40-136-43-96
34	Cryptone , C ₉ H ₁₄ O	1700	0,20	138	28-32-96-95-40-14-43-121-67-41
35	α -Terpineol , C ₁₀ H ₁₈ O	1717	3,70	154	59-93-121-136-81-28-92-43-67-79
36	Mentha-1,5-dien-8-ol, C ₁₀ H ₁₆ O	1737	0,20	152	28-32-94-59-79-14-80-91-93-77
37	Piperitone , C₁₀H₁₆O	1748	24,30	152	110-82-95-137-109-152-39-41-54-28
38	Naphthalene , C ₁₀ H ₈	1756	0,30	128	28-32-128-14-40-127-129-16-126-18

Tablo 4.1.4. (Devamı) *A.teretifolia* Willd. (BY 15637) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

39	Gamma Cadinene , C ₁₅ H ₂₄	1765	0,70	204	28-161-32-105-119-91-93-204-133-79
40	Cumin Aldhyde , C ₁₀ H ₁₂ O	1784	0,10	148	28-32-133-40-14-105-148-16-95-77
41	β -Damascone , C ₁₃ H ₁₈ O	1810	0,10	190	28-32-69-121-14-40-16-18-105-41
42	<i>p</i> -Cymen-8-ol , C ₁₀ H ₁₄ O	1826	0,10	150	28-32-135-43-91-40-14-18-16-150
43	<i>cis</i> -Jasmone , C ₁₁ H ₁₆ O	1897	0,30	164	28-32-164-79-110-149-91-122-135-93
44	Caryophyllene oxide , C ₁₅ H ₂₄ O	1930	4,20	220	28-79-93-91-95-41-43-69-109-107
45	Methyl Eugenol , C ₁₁ H ₁₄ O ₂	1939	0,70	178	28-178-32-147-91-163-103-107-77-179
46	Nerolidol – <i>trans</i> , C ₁₅ H ₂₆ O	1954	0,30	222	28-32-69-93-41-71-107-43-40-14
47	13-Tetradecanolide , C ₁₄ H ₂₆ O ₂	1957	0,20	226	28-32-55-14-40-41-69-43-98-97
48	Humulene epoxide – II, C ₁₅ H ₂₄ O	1965	0,30	220	28-32-109-14-40-138-96-43-67-41
49	Cubenol , C ₁₅ H ₂₆ O	1974	0,10	222	28-32-40-14-161-119-16-179-18-29
50	β -Oplopenone, C ₁₅ H ₂₄ O	1984	0,40	220	28-32-177-43-91-107-14-40-93-135
51	Sapethulenol , C ₁₅ H ₂₄ O	2015	0,50	220	28-32-71-43-93-91-79-107-105-119

Tablo 4.1.4. (Devamı) *A.teretifolia* Willd. (BY 15637) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

52	Nonanoic Acid, C ₉ H ₁₈ O ₂	2032	0,10	158	28-32-73-60-40-14-57-18-16-41
53	Eugenol , C ₁₀ H ₁₂ O ₂	2040	1,60	164	164-28-149-32-131-103-77-91-137-133
54	T-Cadinol , C₁₅H₂₆O	2045	5,20	222	161-28-135-204-105-162-81-134-32-91
55	Thymol, C ₁₀ H ₁₄ O	2057	0,10	150	28-32-40-14-135-18-16-29-150-91
56	Carvacrol , C ₁₀ H ₁₄ O	2064	1,00	150	135-28-150-32-91-136-107-115-77-79
57	α -Cadinol , C ₁₅ H ₂₆ O	2082	0,90	222	28-32-95-121-43-161-204-109-164-81
58	15-Hexadecanolide , C ₁₆ H ₃₀ O ₂	2084	0,90	254	28-32-55-41-69-97-83-98-43-84
59	Decanoic Acid , C ₁₀ H ₂₀ O ₂	2095	0,80	172	28-32-73-60-129-57-71-55-41-43
60	Chavicol = <i>p</i> -Allylphenol, C ₉ H ₁₀ O	2139	0,40	134	28-32-134-133-107-77-105-91-40-115
61	Methyl Jasmonate , C ₁₃ H ₂₀ O ₃	2142	0,30	224	28-32-83-14-40-151-95-41-93-109
62	Caryophylla-4(12)8(13)-dien-5-beta-ol	2151	1,80	220	28-32-136-41-57-67-69-91-79-55
63	Vulgarol B, C ₁₅ H ₂₄ O	2206	0,50	220	28-32-40-14-55-41-18-16-69-43
64	Dodecanoic Acid, C ₁₂ H ₂₄ O ₂	2242	0,30	214	28-32-40-14-74-18-16-29-41-87

Tablo 4.1.4. (Devamı) *A.teretifolia* Willd. (BY 15637) uçucu yağının kimyasal bileşenleri

65	Hexadecanoic Acid , C ₁₆ H ₃₂ O ₂	2712	0,50	256	28-32-73-14-40-60-43-57-55-41
----	--	------	------	-----	-------------------------------

Toplam: **91.00**

RI: Retention Index

A.teretifolia Willd. (BY 15637) den % 0.4162 verimle elde edilen uçucu yağ içeriğinin % 91.00 ni oluşturan 65 bileşen saptanmıştır. Etken maddeler; Piperitone (% 24.30), 1,8-Cineole (% 18.50) ve T-Cadinol (% 5.20) dür.

5. TARTIŞMA

Bitki örneklerine ait uçucu yağların kimyasal bileşenlerini tayin etmek için, kurutulmuş bitki örneklerinin toprak üstü kısımlarından tartılan 100 g lık numunenin üzerine 1 L su ilave edilerek Clevenger tipi aparat ile 3 saat boyunca hidrodistilasyona tabi tutuldu. Elde edilen uçucu yağı, olası suyundan uzaklaştırmak için susuz sodyum sülfat ile muamele edildi. Elde edilen uçucu yağ amber viallerde + 4 °C de muhafaza edildi. Uçucu yağın alındığı amber viallerin boş ve dolu tartımları ile yağ verimleri hesaplandı. Uçucu yağların analizleri GC ve GC-MS ile yapıldı.

A. grandifolia Friv. (BY15621) den % 0,2635 verimle elde edilen uçucu yağ içeriğinin % 81,80 ini oluşturan 59 bileşen saptanmış olup etken maddeler, piperitone (% 34.00), carvacrol (% 7.00) ve *p*-cymene (% 5.00) dir.

A. nobilis subsp *sipylea* (BY 15750) dan % 0.5191 verimle elde edilen uçucu yağın GC, GC-MS analizi sonucunda, toplam uçucu yağın % 83,25 ini ouşturan 107 tane kimyasal bileşenin varlığı saptanmıştır. Temel bileşenlerinin ise, *cis*-Cadin-4-en-7-ol (% 7.80), Linalool (% 6.50) , 1,8-Cineole (% 4.10), olduğu gözlenmiştir.

A. teretifolia Willd. (BY 15637) den % 0.4162 verimle elde edilen uçucu yağ içeriğinin % 91.00 ni oluşturan 65 bileşen saptanmıştır. Etken maddeler; Piperitone (% 24.30), 1,8-Cineole (% 18.50) ve T-Cadinol (% 5.20) dür.

Daha önce farklı *Achillea* türlerinde uçucu yağın kimyasal analizi yapılmış ve şu sonuçlar ortaya çıkmıştır:

A. grandifolia ile ilgili daha önce yapılan bir çalışmada bu bitkiden elde edilen uçucu yağ incelenmiş ve etken maddeler olarak camphor (% 25.60), 1,8-Cineole (% 12.80) ve α -thujone (% 11.90) bulunmuştur (126).

Çetin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *A. grandifolia* Friv. bitkisinin uçucu yağ analizi yapılmış ve etken madde olarak; 1,8-cineole (% 31.90), piperitone (% 18.70) ve *p*-Cymene (% 10.00) bulunmuştur (127). Bizim örneğimizde ise etken maddeler, piperitone (% 34.00), carvacrol (% 7.00) ve *p*-cymene (% 5.00) dir.

Kordali ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, *A.gypsicola* ve *A.biebersteinii* Afan. bitkilerinin uçucu yağ analizinde, etken madde olarak sırasıyla; camphor (% 40.17 ve % 23.56), 1,8-Cineole (% 22.01 ve % 38.09), piperitone (% 11.29 ve % 0.37), borneol (% 9.50 ve % 5.88) ve α -terpineol (% 1.56 ve % 5.15) bulunmuştur (128).

Kovacevic ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, inceledikleri *A.alexandri-regis* bitkisinde etken madde olarak; α -pinene, isopinocampnone, α -Phellandrene epoxide, borneol ve spathulenol, *A.holosericea* bitkisinde borneol, camphor, terpinen-4-ol ve camphene, *A.lingulata* bitkisinde ise borneol, β -thujone, bornyl acetate ve sabinene bulunmuştur (129).

Tzakou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada *A.umbellata* bitkisinin etken maddeleri; β -thujone (% 62.8) ve camphor (% 8.7) olarak bulunmuştur (130).

Başer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *A.lycaonica* bitkisinin uçucu yağdaki etken maddeler *trans*-sabinene hydrate (% 9.3), terpinen-4-ol (% 9.0) ve caryophyllene oxide (% 7.2) dir. *A.ketenoglui* bitkisinin etken maddeleri ise borneol (% 14.1), 1,8-cineole (% 13.8), ve camphor (% 13.4) dur (35).

Tozlu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada *A.gypsicola* bitkisinin etken maddeleri olarak camphor (% 40.17), 1,8-cineole (% 22.01), piperitone (% 11.29), borneol (% 9.50) ve α -terpineol (% 1.56) bulunmuştur (131).

Palic ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise *A.nobilis* bitkisine ait uçucu yağın etken maddeleri; α -thujone (% 25.7), artemisia ketone (% 14.8), borneol (% 9.9), ve camphor (% 8.2) olarak bulunmuştur (132).

A. nobilis subsp. *sipylea* ile ilgili yapılan bir çalışmada uçucu yağ içeriisindeki etken maddeler; fragranol (% 19.3), chrysanthenone (% 17.1) ve linalool (% 16.4) olarak tesbit edilmiştir (133). Bizim örneğimizde ise etken maddelerin, *cis*-Cadin-4-en-7-ol (% 7.80), Linalool (% 6.50) , 1,8-Cineole (% 4.10), olduğu gözlenmiştir.

A. teretifolia nın uçucu yağının incelendiği başka bir çalışmada etken madde olarak piperitone (% 21.37), linalool (% 18.99) ve 1,8-Cineole (% 6.79) majör

bileşen olarak saptanmıştır (29). Bizim örneğimizde ise etken maddeler; Piperitone (% 24.30), 1,8-Cineole (% 18.50) ve T-Cadinol (% 5.20) dür.

Yapılan bu çalışmalardanda görülmektedir ki; bitkiler aynı türe ait de olsalar, içerikleri yetiştikleri bölgenin coğrafi şartları ve yetiştirme koşullarına göre farklılıklar göstermektedir.

A.grandifolia Friv., *A.nobilis* Subsp *sipylea* ve *A.teretifolia* Willd. bitkilerinin eser element analizlerini yapmak için, kurutulmuş bitkilerin toprak üstü kısımlarından alınan 0.5000 ± 0.001 g lık örnekler mikrodalga yardımıyla çözünürleştirilip 25 mL ye tamamlandıktan sonra yapılan Alevli-AAS ve Elektrotermal-AAS analizleri yapılmıştır. Bitki örneklerinin eser element analizlerinde, en yüksek derişimdeki elementin alüminyum olduğu görülmüştür. *A.grandifolia* Friv. için 270.00 ± 4.74 mg/kg, *A.nobilis* Subsp *sipylea* için 239.51 ± 3.27 mg/kg ve *A.teretifolia* Willd. için 172.08 ± 3.62 mg/kg alüminyum saptanmıştır. Selenyum ise analizi yapılan bitkilerde derişimi en az olan element olarak saptanmıştır. *A.grandifolia* Friv. için 56.92 ± 5.97 µg/kg, *A.nobilis* Subsp *sipylea* için 56.18 ± 5.77 µg/kg ve *A.teretifolia* Willd. için 65.03 ± 4.34 µg/kg selenyum saptanmıştır. Genel olarak *A.nobilis* Subsp *sipylea* element derişimlerinin en yüksek olduğu bitki konumundadır.

Bitkiler içerisinde en düşük alüminyum konsantrasyonu *A.teretifolia* Willd. de 172.08 mg/kg olarak bulunmuştur. En yüksek derişim ise 270 mg/kg ile *A.grandifolia* Friv. de bulunmuştur. Başgel ve arkadaşları, yapmış oldukları 7 bitki örneğinin analizinde alüminyum değerini $87 - 596$ mg/kg aralığında bulmuşlardır (134). Lopez ve arkadaşları, 17 farklı türdeki şifalı bitkilerin alüminyum miktarını $3.7 - 56.5$ mg/kg aralığında olupunu hesaplamıştır (135). Karak ve arkadaşları, yaptıkları analizlerde farklı çay yapraklarında alüminyum aralığını $0.06 - 16.82$ mg L⁻¹ olarak bulmuştur (136). Lesniewicz ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada bitkisel ilaçlar incelenmiş olup alüminyum için saptanan değer aralığı $98.1 - 695$ mg/kg dır (137). Malik ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada çeşitli bitkilerin eser element içeriği incelenmiş ve alüminyum miktarı, $79.7 - 1860$ mg/kg aralığında tesbit edilmiştir (138). Başka bir çalışmada ise *Thymbra spicata* var. *spicata* L.

bitkisinin eser elementleri incelenmiş ve alüminyum düzeyi 116 – 385 mg/kg aralığında tesbit edilmiştir (139).

Achillea cinsi bitkilerin halk arasında diyet olarak kullanımı genellikle çay şeklinde olması sebebiyle, 3 – 14 mg a kadar günlük alımına izin verilen alüminyum değerini aşmayacağı, dolayısıyla bitkilerin tüketilmesinin sağlık açısından sorun teşkil etmeyeceği düşünülmektedir (71).

Bakır konsantrasyonu en az olan bitki 6.98 mg /kg ile *A.grandifolia* Friv., en yüksek olan ise 11.46 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea* dır. Daha önce yapılan farklı araştırmalarda farklı türdeki *Achillea millefolium* bitkilerinin bakır içeriği Chizzola ve arkadaşları tarafından 6.8 mg/kg (140), Divrikli ve arkadaşları tarafından ise çiçeklerde 17.6 mg ve köklerde 9.5 mg/kg olarak bulunmuştur (141). Başgel ve arkadaşları, yapmış oldukları 7 bitki örneğinin analizinde bakır değerini 3.9 – 35.8 mg/kg aralığında bulmuşlardır (134). Karadaş ve arkadaşları yaptıkları çalışmada bir grup bitkinin eser elementlerini incelemiş ve bakır miktarını 3.4 – 12.2 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (142). Kalny ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bir grup bitkinin eser element analizi yapılmış ve bakır miktarı 4.2 –9.5 mg/kg aralığında tesbit edilmiştir (143). Razic ve arkadaşları *Echinacea purpurea* bitkisinin eser element içeriğini incelemiş ve bakır miktarını 50.1 mg/kg olarak bulmuşlardır (144).

Bakırın günlük olarak alınması tavsiye edilen miktarı 1.0 – 1.5 mg arasındadır. Analizi yapılan bitkilerimizin günlük diyetle çay olarak alınacağını, dolayısıyla tüketiminin 5-6 g civarında (her bir çay kullanımı için 2-3 g) olacağı düşünülürse, bitkilerin tüketilmesinin sağlık açısından bir problem oluşturmayacağı görülmektedir. Yani vücut için gerekli olan bakırın temin edilmesinde bu bitkilerin tüketilmeside yardımcı olacaktır (71).

Bor elementinin konsantrasyonunun en düşük olduğu bitki 28.64 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea*, en yüksek olduğu bitki ise 37.71 mg/kg ile *A.teretifolia* Willd. tir. Özcan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda bir grup bitkinin eser element içeriği incelenmiş ve bor miktarını 0.64 – 46.7 mg/kg aralığında bulmuşlardır (145).

Bor elementinin tavsiye edilen günlük alım değerleri 1.3 – 4.3 mg dır. Bitkilerimizin tüketilmesi sağlık açısından bir problem oluşturmayacağı gibi vücudun bor ihtiyacının karşılanmasında yardımcı bir etken olacaktır (84).

Çinko elementinin konsantrasyonunun en az olduğu bitki 19.92 mg/kg ile *A.teretifolia* Willd., en yüksek olduğu bitki ise 54.77 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea* dır. Başgel ve arkadaşları, yapmış oldukları 7 bitki örneğinin analizinde Zn değerini 21.9 – 48.4 mg/kg aralığında bulmuşlardır (134). Farklı araştırmalarda farklı türdeki *Achillea millefolium* bitkilerinin çinko içeriği Chizzola ve arkadaşları tarafından 28.5 mg/kg (140), Divrikli ve arkadaşları tarafından ise çiçeklerde 25.4 mg/kg ve köklerde 17.6 mg/kg bulunmuştur (141). Lozak ve arkadaşları bitki içerikleri üzerine yaptıkları araştırmada Zn miktarını 6 – 51 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (146). Kolasani ve arkadaşları Çin de kullanılan şifalı bitkilerin eser element içeriklerini incelemiş ve Zn miktarını 10 –1010 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (147). Wang ve arkadaşları *Paris polyhylla* bitkisini incelemiş ve Zn miktarını 13.1 – 60.2 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (148).

Bitkilerimizde bulunan çinko elementi miktarı, günlük tüketim miktarlarının en fazla 5 - 10 g olacağı beklentisiyle., alımı tavsiye edilen günlük çinko miktarını (6 – 22 mg/gün) aşmamaktadır. Dolayısıyla bitkilerin tüketimi sağlığa zararlı bir durum oluşturmayıp, vücut gereksinimi olan çinko miktarının karşılanması için yardımcı olacaktır (84).

Demir konsantrasyonu en az olan bitki 41.70 mg/kg ile *A.grandifolia* Friv., en yüksek olan ise 102.25 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea* dır. Başgel ve arkadaşları, yapmış oldukları 7 bitki örneğinin analizinde Fe değerini 224 – 503 mg/kg aralığında bulmuşlardır (134). Farklı araştırmalarda farklı türlerdeki *Achillea millefolium* bitkilerinin demir içeriği Chizzola ve arkadaşları tarafından 66.9 mg/kg (140), Divrikli ve arkadaşları tarafından ise çiçeklerde 316.7 mg/kg ve köklerde 46.8 mg/kg olarak hesaplanmıştır (141). Kolasani ve arkadaşları Çin de kullanılan şifalı bitkilerin eser element içeriklerini incelemiş ve demir miktarını 20 – 8020 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (147). Wang ve arkadaşları *Paris polyhylla* bitkisini incelemiş ve demir miktarını 2.5 – 68.6 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (148).

Sheded ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada şifalı bitkileri incelemişler ve demir miktarını 261 – 1639 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (149).

Demir elementinin tavsiye edilen günlük alım değerleri 5 – 28 mg dır. Bitkilerimizin 5 - 10 g ının içerdiği demir miktarı belirtilen aralığı aşmayacağından, bitkilerin tüketiminin sağlık açısından bir sakınca doğurmayacağı görülmüştür (84).

Mangan konsantrasyonu en az olan bitki 46.54 mg/kg ile *A.grandifolia* Friv., en yüksek olan ise 84.67 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea* dır. bir araştırmada farklı türdeki bir *Achillea* bitkisinin mangan içeriği 66 mg/kg (140), Divrikli ve arkadaşlarının çalışmasında, *Achillea millefolium* türünde çiçeklerde 42.3 mg/kg ve köklerde 37.7 mg/kg mangan bulunmuştur (141). Başgel ve arkadaşları, yapmış oldukları 7 bitki örneğinin analizinde mangan değerini 23 – 244 mg/kg aralığında bulmuşlardır (134). Kolasani ve arkadaşları Çin de kullanılan şifalı bitkilerin eser element içeriklerini incelemiş ve mangan miktarını 20 – 1940 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (147). Wang ve arkadaşları *Paris polyhylla* bitkisini incelemiş ve mangan miktarını 1.1 – 22.5 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (148). Sheded ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada şifalı bitkileri incelemişler ve mangan miktarını 44.6 – 1887 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (149).

Mangan elementinin tavsiye edilen günlük alım miktarı 2 – 5 mg dır. Bitkilerimizin içerdiği mangan miktarı günlük alım miktarını aşmamakla beraber tüketilmesinde sağlık açısından bir sakınca yoktur (71).

Kadmiyum konsantrasyonu en düşük olan bitki 0.401 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea*, en yüksek olan bitki ise 1.233 mg/kg ile *A.grandifolia* Friv. dır. Daha önce yapılan bir çalışmada, Chizzola ve arkadaşları, *Achillea millefolium* bitkisinin içerdiği kadmiyum miktarını 0.210 mg/kg olarak bulunmuştur (140), Divrikli ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada *Achillea millefolium* bitkisinin içerdiği kadmiyum miktarı çiçeklerinde 0.20 mg/kg köklerinde ise 0.90 mg/kg bulunmuştur (141). Başgel ve arkadaşları, yapmış oldukları 7 bitki örneğinin analizinde kadmiyum değerini 0.001 – 0.440 mg/kg aralığında bulmuşlardır (134). Wang ve arkadaşları *Paris polyhylla* bitkisini incelemiş ve kadmiyum miktarını 0.04 – 0.66 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (148). Choudhury ve arkadaşları farklı lokalitelerden *Mentha spicata* bitkisini incelemiş kadmiyum miktarının 0.015 – 0.611

mg/kg aralığında olduğunu bulmuşlardır (150). Arpadjan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada şifalı bitkilerin kadmiyum içeriği araştırılmış ve 0.015 – 0.268 mg/kg aralığında olduğunu bulmuşlardır (151).

Kadmiyum elementinin izin verilen günlük alım miktarı 10 – 50 µg dır. Bitkilerimizin günlük diyetle küçük porsiyonlar (en fazla 5–10 g) halinde tüketileceği düşünülecek olursa tüketilmesinde herhangi bir sakınca olmayacaktır. Bununla beraber kadmiyum alımının sadece bu bitkilerden olmayacağı, farklı yollarla alınabileceği de unutulmamalıdır.

Kobalt konsantrasyonu en düşük olan bitki 0.164 mg/kg ile *A.teretifolia* Willd., en yüksek olan ise 0.342 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea* dır. Başgel ve arkadaşları, yapmış oldukları 7 bitki örneğinin analizinde kobalt değerini 0.14 – 0.48 mg/kg aralığında bulmuşlardır (134). Özcan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda bir grup bitkinin eser element içeriği incelenmiş ve kobalt miktarını 0.12 – 0.37 mg/kg aralığında bulmuşlardır (145). Wang ve arkadaşları *Paris polyhylla* bitkisini incelemiş ve kobalt miktarını 0.20 – 0.87 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (148). Choudhury ve arkadaşları farklı lokalitelerden *Mentha spicata* bitkisini incelemiş kobalt miktarının 0.081 – 0.114 mg/kg aralığında olduğunu bulmuşlardır (150).

Kobaltın tavsiye edilen günlük alım miktarları 5 – 40 µg dır (152). Bitkilerin günlük tüketimlerinin herhangi bir sakınca doğuracağı düşünülmemektedir.

Kurşun konsantrasyonu en düşük olan bitki 0.628 mg/kg ile *A.grandifolia* Friv., en yüksek olan bitki ise 0.896 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea* dır. Chizzola ve arkadaşları, *Achillea millefolium* bitkisindeki kurşun içeriğini 1.0 mg/kg olarak bulunmuştur (140). Wang ve arkadaşları *Paris polyhylla* bitkisini incelemiş ve kurşun miktarını 1.75 – 7.21 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (148). Arpadjan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada şifalı bitkilerin kurşun içeriği araştırılmış ve 0.2 – 8.60 mg/kg aralığında olduğunu bulmuşlardır (151).

Kurşun elementinin izin verilen günlük tüketimi 0.020 – 0.282 mg dır. Analizi yapılan bitkilerin küçük porsiyonlar (en fazla 5 – 10 g) halinde tüketileceği düşünülürse, bitkilerde tesbit edilen kurşun miktarı izin verilen günlük alım miktarını aşmadığından, tüketilmelerinin sağlık açısından bir sorun teşkil etmeyeceği düşünülmektedir (71).

Selenyum konsantrasyonu en düşük olan bitki 0.056 mg/kg ile *A.nobilis* Subsp *sipylea*, en yüksek olan bitki ise 0.065 mg/kg ile *A.teretifolia* Willd. dır. Sheded ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada şifalı bitkileri incelemişler ve selenyum miktarını 0.059 – 0.600 mg/kg aralığında tesbit etmişlerdir (149). Choudhury ve arkadaşları farklı lokalitelerden *Mentha spicata* bitkisini incelemiş selenyum miktarının 0.10 – 0.162 mg/kg aralığında olduğunu bulmuşlardır (150).

Selenyum elementi günlük 0.070 mg a kadar vücut tarafından tolere edilebilmektedir. Bitkilerimizde tesbit edilen selenyum miktarı, günlük bitki tüketimlerinin en fazla 5 – 10 g aralığında olacağı düşünülürse, bu miktardan çok daha düşük olup, tüketiminin sağlık açısından bir problem oluşturmayacağı düşünülmektedir. Aksine, tüketilip vücudun ihtiyaç duyacağı selenyumun alınmasında yardımcı olabileceği düşünülebilir (71).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Elde ettiğimiz sonuçlara toplu olarak bakıldığı zaman;

A.grandifolia Willd. bitkisinin içerdiği etken maddeler birer monoterpen olan piperitone (% 34.00), carvacrol (% 7.00) ve *p-cymene* (% 5.00) dir.

Genellikle yiyeceklerde koruyucu madde olarak kullanılan Carvacrol ün; antiinflamatuvar, antibakteriyel, antifungal, analjezik ve insektisidal etki gösterdiği, Guarda ve arkadaşları, Mascheroni ve arkadaşları, Kunle ve arkadaşları tarafından yapılan farklı çalışmalarda kanıtlanmıştır (12-14).

Abdelgaleil ve arkadaşları, piperitone un insan ve bitki patojenlerine karşı antifungal etki gösterdiği ayrıca tarım zararlılarına karşı insektisit etkisi gösterdiği çalışmalarla kanıtlanmıştır (15).

Oke ve arkadaşları, *p-Cymene* nin tek başına antibakteriyel etki gösteremesede carvacrol ile beraber kullanıldığında sinerjik etki göstererek daha kuvvetli antibakteriyel etki göstermekte olduğunu belirtmişlerdir (153).

Bu açıdan bakılacak olursa sahip olduğu etken maddelerden kaynaklı olarak *A.grandifolia* Willd. bitkisinin antibakteriyel, antifungal ve antiinflamatuvar etki gösterebileceği düşünülmektedir. Özellikle *p-Cymene* ve carvacrolün sinerjik etkileşmesi ile daha kuvvetli bir antibakteriyel olduğu bu kanıyı kuvvetlendirmektedir. Bitkimizin eser element içeriği analizlerinde tesbit edilen değerler, bitkinin küçük porsiyonlar halinde çayı yapılarak tüketileceği düşünülürse, herhangi bir sakınca doğurmayıp vücut için gerekli olan elementlerin tedarik edilmesi hususunda da yardımcı olacaktır.

A.nobilis Subsp *sipylea* bitkisinin içerdiği temel bileşenlerin bir oksijenli seskiterpen olan *cis-Cadin-4-en-7-ol* (% 7.80), monoterpen olan Linalool (% 6.50) ve monoterpen olan 1,8-Cineole (% 4.10), olduğu gözlenmiştir.

Peana ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada linalool ün antiinflamatuvar ve analjezik etkiye sahip olduğunu (154), Linck ve arkadaşları linalool inhalasyonunun rahatlatıcı etkisi olduğunu ve bazı bunalım ataklarına engel olduğu (155), Peana ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada ise linalool ün ağrı kesici özelliği kanıtlanmıştır (156).

Yapılan araştırmalarda, 1,8-Cineole ün; bronşit, sinüzit, romatizma tedavisinde kullanıldığı belirtilmiş, ayrıca analjezik ve antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu kanıtlanmıştır (9-11).

A.nobilis subsp *sipylea* bitkisi sahip olduğu etken maddelerden dolayı, 1,8-Cineole ve linalool, özellikle antiinflamatuvar ve analjezik etkisinin olduğunu düşündürmektedir. *Achillea* türü bitkiler genellikle çayı yapılarak günlük diyetle alındığı için günlük ortalama tüketimimiz en fazla 5 – 10 g arasında olacaktır. Bu açıdan değerlendirilecek olursa, bitkimizde bulunan eser element düzeyleri, günlük alım miktarlarını aşmayacak ve gerekli olan eser element miktarının takviye edilmesi amacıyla kullanılabilir.

A.teretifolia Willd. bitkisinin içerdıği etken maddeler birer monoterpen olan Piperitone (% 24.30) ve 1,8-Cineole (% 18.50) ayrıca oksijenli seskiterpen olan T-Cadinol (% 5.20) dür.

Piperitone un antibakteriyel özellik gösterdiği çeşitli kaynaklarda belirtilmiş, hatta Mahboubi ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda, çok düşük konsantrasyonlarda bile bazı bakterileri tamamen inhibe ettiği kanıtlanmıştır (157,158).

Özellikle piperitone, bu bitkinin antifungal ve antibakteriyel olabileceği fikrini oluşturmaktadır. 1,8-Cineole un varlığı ise bitkinin analjezik etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Günlük diyetle çay olarak tüketilen bitkimizin, eser element miktarları olarak alımında bir sakınca olmayacağı düşünölmektedir.

Tesbit edilen uçucu yağ etken maddeleri, toksikolojik ve farmakolojik incelemelere ışık tutması açısından önem arz etmektedir.

Çalışmamızda kullanılan bitkilerin eser element miktarları bitkinin bir kg ı üzerinden hesaplanmıştır. Bitkilerimiz, *thymus* (kekik) türleri gibi baharat olarak kullanılmadıklarından doğrudan tüketmek yerine, küçük porsiyonlar halinde genelde çayı yapılarak kullanıldıklarından, (piyasadaki poşet çayların ağırlıklarının 1.3 - 2 g arasında olduğu düşünölecek olursa) kullandığımız kısım en fazla 5 – 10 g civarında olacaktır. Ayrıca, eser element analizlerinden önce yapılan asit çözünürleştirmesi bize toplam miktarı yansıtmaktadır. Bu durumda çözeltimize geçen eser element miktarı, çay olarak kullanılan bitkiden suya geçen eser element miktarından daha fazla olacaktır. Dolayısıyla, bitkilerin az miktarlarda ve genellikle çay şeklinde

tüketilmesi sonucu, günlük alımına izin verilen değerleri aşmadığı da görülmektedir.. Bu durumda az tüketim ile bitkiler güvenli bir şekilde kullanılabilir. Bununla beraber günlük diyetle sakınca doğuracak eser elementlerin sadece bu bitkilerden değil, farklı besinler ve yöntemlerle de alınabileceği unutulmamalıdır. Bu durumda, bitkilerin kullanımında her zaman bir dozu olacağını, aşırısı alınmadığı müddetçe zararlı etkisinin olmayacağını, aksine yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi bitkilerin doğru kullanımının çeşitli faydaları olacağı söylenebilir.

KAYNAKLAR

- (1) Edris Amr, E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic Potentials of essential oils and their individual volatile constituents: a review, *Phytotherapy Research*, 21, 308-323.
- (2) Bağcı, E., Dığrak, M., (1997). Bazı Gökmar türleri uçucu yağlarının in vitro antimikrobiyal etkileri. *Turkish Journal Of Biology*, 21: 273-281.
- (3) Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G., (2000). GC–MS analysis of essential oils from some greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2576-2581.
- (4) Karamenderes, C., Apaydın, S., (2003). Antispasmodik effect of *Achillea nobilis* L.subsp. *sipylea* (O.Schwarz) Bassler on the rat duodenum, *Journal of Ethnopharmacology* 84: 175-179.
- (5) Huber-Morath, A., Davis, P.H. (Ed.), (1975). *Achillea* L. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 5. 224-252, *Edinburgh University Press*, Edinburgh.
- (6) Duman, H., Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., Başer, K.H.C. (Eds.), (2000). *Achillea* L., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 11. *Edinburgh University Press*, Edinburgh, pp. 158–159.
- (7) Candan, F., Ünlü, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., Akpulat, H. A., (2003). “Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae)”, *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 215.
- (8) Ünlü, M., Daferera, D., Dönmez, E., Polissiou, M., Tepe, B., Sökmen, A, (2002). Compositions and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of *Achillea setacea* and *Achillea teretifolia* (Compositae). *Journal of Ethnopharmacology*, 83, 117–121.
- (9) Santos, F.A., Rao, V.S.N., (2000). Antiinflammatory and antinociceptive effects of 1,8-cineole a terpenoid oxide present in many plant essential oils, *Phytother. Res.* 14, 240-244.
- (10) Stojkovic, D., Sokovic, M., Glamoclija, J., Dzamic, A., Cric, A., Ristic, M., Grubisic, D., (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Vitex agnus-castus* L. fruits and leaves essential oils, *Food Chemistry*, 128, 1017–1022.

- (11) Vilela, G.R., Almeida, G.S., D'Arce, M.B.R., Moraes, M.H.D., Brito, J.O., Silva, G.F., Silva, S.C., (2009). Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare, *Journal of Stored Products Research*, 45, 108–111.
- (12) Guarda, A., Rubilar, J.F., Miltz, J., Galotto, M.J., (2011). The antimicrobial activity of microencapsulated thymol and carvacrol, *International Journal of Food Microbiology*, 146, 144–150.
- (13) Mascheroni, E., Guillard, V., Gastaldi, E., Gontard, N., Chalier, P., (2011). Antimicrobial effectiveness of relative humidity-controlled carvacrol release from wheat gluten/montmorillonite coated papers, *Food Control*, 22, 1582-1591.
- (14) Kunle, O., Okogun, J., Egamana, E., Emojevwe, E., Shok, M., (2003). Antimicrobial activity of various extracts and carvacrol from *Lippia multiflora* leaf extract, *Phytomedicine*, 10, 59–61.
- (15) Abdelgaleil, S.A.M., Abbassy, M.A., Belal, A.H., Abdel Rasoul, M.A.A., (2008). Bioactivity of two major constituents isolated from the essential oil of *Artemisia judaica* L., *Bioresource Technology*, 99, 5947–5950.
- (16) Dalway, J. S., (2000). Why trace elements are important, *Fuel Processing Technology* 65–66, 21–33.
- (17) Erdoğan, S., (2009). *Beslenme ve Besin Teknolojisi*, Ankara, Detay Yayıncılık.
- (18) Nemeth, E., Bernath, J., (2008). Biological Activities of Yarrow Species (*Achillea* spp.) *Current Pharmaceutical Design*, 14, 3151-3167.
- (19) Könenen, E. W., Botanica (1999): The Illustrated A-Z of Over 10000 Garden Plants and How to Cultivate Them, *Gordon Cheers Publication*, Hong Kong, 51.
- (20) Arabacı, T., (2006). Türkiye de Yetişen *Achillea* L. (Asteraceae) Cinsinin Revizyonu Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.
- (21) Bağcı, E., Koçak, A., Yüce, E., (2008). “*Achillea wilhelmsii* C. Koch ve *Achillea schischkinii* Sosn. Türlerinin Uçucu Yağ Kompozisyonu” *Science and Eng. J of Fırat Univ.* 20 (2), 251-255.
- (22) Aslan, S., Evren, H., Konuklugil, B., Turkoglu, I., Kartal, M. (2009). Essential oil composition of *Achillea teretifolia* from Turkey, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 45, No. 2.

- (23) Suleimenov, Ye. M., Atazhanova, G. A., Ozek, T., Demirci, B., Kulyyasov, A. T., Adekenov, S. M., Baser, K. H. C., (2001). Essential Oil Composition of Three Species of *Achillea* Kazakhstan, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 37, No.5.
- (24) Puerta, R., Saenz, M. T. and Garcia, M. D., (1998). "Antibacterial activity and composition of the volatile oil from *Achillea ageratum* L.", *Phytoterapy Research*, 10, 3, 258.
- (25) Stojanovi'c, G., Radulovi'c, N., Hashimoto, T., Pali'c, R., (2005). 'In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract' *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 185–190.
- (26) K peli, E., Orhan,  ., K smenoğlu, Ő., Yeşilada, E., (2007). 'Evaluation of anti-inflammatory and antinociceptive activity of five *Achillea* species' *Turkish J. Pharm. Sci.*, 4 (2) 89-99, 89.
- (27) Karaalp, C., Yurtman, A.N., Yavasoglu, N.U.K., (2009) "Evaluation of antimicrobial properties of *Achillea* L. flower head extracts" *Pharmaceutical Biology*, 47(1): 86–91
- (28) Karamenderes, C., Apaydın, Ő., (2002). "Endemik *A.nobilis* subsp. *Sipylea* nın  zole Siğan Duodenumundaki Antispazmodik Etkisi" 14. Bitkisel  lağ Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler.
- (29) Barel, S., Segal, R. and Yashphe, J., (1991). "The antimicrobial activity of the essential oil from *Achillea fragrantissima*", *Journal of Ethnopharmacology*, 33,1-2 187.
- (30) Barbour, E. K., Sharif, M. A., Sagherian, V. K., Harbe, A. N. and Talhouk,S. N., (2004). "Screening of selected indigeneous plants of Lebanon for antimicrobial activity", *Journal of Etnopharmacology*, 93, 1.
- (31) Karamenderes C., Karabay N., Zeybek, U., (2003)Composition and Antimicrobial Activity Of The Essential Oils Of *Achillea Setacea* Waldst.&Kit. Collected From Different Localities Of Turkey, *J. Fac. Pharm.*, Ankara 32(2)113-120.
- (32) Saeidnia S., Gohari AR., Mokhber-Dezfuli N, Kiuchi F., (2011). A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea*. *DARU* 19, 3.
- (33) Potrich, F. B., Allemand A., Silva, L. M., Santosa, A.C., Baggioa, C. H., Freitas, C. S., Mendesa, D. A. G. B., Andreb, E., Wenera, M. F. P., Marquesa, M. C. A.,

- (2010). Antiulcerogenic activity of hydroalcoholic extract of *Achillea millefolium* L.: Involvement of the antioxidant system, *Journal of Ethnopharmacology* 130, 85–92
- (34) Stojanović, G., Radulović, N., Hashimoto, T., Palić, R., (2005). In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract, *Journal of Ethnopharmacology*, 101, 185–190.
- (35) Baser, K.H.C., Demirci, B., Duman, H., (2001). Composition of the Essential Oils of Two Endemic Species From Turkey: *Achillea lycaonica* and *A.ketenoglui*, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 37, No. 3.
- (36) Konyalioglu, S., Karamenderes, C., (2005). The protective effects of *Achillea* L. species native in Turkey against H₂O₂-induced oxidative damage in human erythrocytes and leucocytes, *Journal of Ethnopharmacology*, 102, 221–227.
- (37) Sökmen, A., Vardar-Ünlü, G., Polissiou, M., Daferera, D., Sökmen, M., Dönmez, E., (2003). Antimicrobial Activity of Essential Oil and Methanol Extracts of *Achillea sintenisii* Hub. Mor. (Asteraceae), *Phytother. Res.* 17, 1005–1010.
- (38) Maggi, F., Bramucci, M., et al. (2009). Composition and biological activity of essential oil of *Achillea ligustica* All. (Asteraceae) naturalized in central Italy: Ideal candidate for anti-cariogenic formulations, *Fitoterapia* 80, 313–319.
- (39) Cavalcanti, A.M., Baggio, C.H., Freitas, C.S. et al. (2006). Safety and antiulcer efficacy studies of *Achillea millefolium* L. after chronic treatment in Wistar rats, *Journal of Ethnopharmacology*, 107, 277–284.
- (40) Demirci, F., Demirci, B., Gürbüz, İ., Yeşilada, E., Baser, K.H.C., (2009). Characterization and Biological Activity of *Achillea teretifolia* Willd. and *A. nobilis* L. subsp. *neilreichii* (Kerner) Formanek Essential Oils, *Turk J Bio*, 133, 129–136.
- (41) Başer, K.H.C., Demirci, B., Demirci, F., Koçak, S., Akıncı, Ç., Malyer, H., Güleriyüz, G., (2002). Composition and Antimicrobial Activity of the essential oil of *Achillea Multifida*, *Planta Med* 68: 941–943.
- (42) Toroğlu, S., Çenet, M., (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *KSU. Journal of Science and Engineering* 9(2).
- (43) Baytop, T., (1999). *Türkiye de Bitkilerle Tedavi*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.

- (44) Tanker, M., Tanker, N. (2003). *Farmakognozi*. Cilt.2 Ankara, Ankara Üniv. Eczacılık Fakültesi Yayınları. Yayın No:65.
- (45) Dogadansifa, Erişim: 19.09.2011, http://dogadansifa.blogspot.com/2007_10_01_archive.html
- (46) Sakar, M. K. ve Tanker, M., (1991). *Fitokimyasal Analizler Tanım, Miktar Tayini ve İzolasyon*, Ankara, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, 189.
- (47) Kuyumcu, E., (2009). Soğuk Algınlığında Kullanılan Halk İlaçlarında Uçucu Yağ, Mineral ve Eser Eleentlerin Tayini Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.
- (48) Sarer, E., Kalaycıoğlu, A. ve Öner, C., (1992). *Uçucu Yağların Biyolojik Etkileri ve Tedavide Kullanılmaları*, Eskisehir, 9. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler, 455.
- (49) Hammer, K. A., Corsan, C. F., Riley, T. V., (1999). Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *J.Appl. Microbiol.*, 86, 985.
- (50) Cosentino, S., Tuberosa C. I. G., Pisano, B., Sata, M., Mascia, V., Arzedi, E., Palmas, F., (1999). “In- vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils”, *Lett. Appl.Mikrobiol.*, 29, 130.
- (51) Kıvanç, M. ve Akgül, A., (1986). “Antibacterial activities of essential oils from Turkish spesies and Citrus”, *Flovour and Fragrance Journal*, 1, 175. 73.
- (52) Küçükbay F.Z., Kuyumcu E., Günal S., Arabacı T., (2011). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential oil of *Achillea Formosa* Subsp. *Armanica*, *Chem. Nat. Comp.*, 47, 300-302.
- (53) Skocibusic, M., Bezic, N., Dunkic, V. and Radonic, A., (2004). “Antibacterial activity of *Achillea clavennae* essential oil against Respiratory tract pathogens”, *Fitoterapia*, 75, 7-8, 733.
- (54) Okoh, O.O., Sadimenko, A.P., Afolayan A.J., (2010). Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods, *Food Chemistry* 120, 308–312.
- (55) Bansal, R.K., (2009). *Laboratory Manual of Organic Chemistry*, Daryaganj, Delhi, IND: New Age Internetal, s:15
- (56) Kılıç, A., (2008). Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, Cilt: 10, Sayı: 13

- (57) Tena, M. T., Ríos A., Valcárcel, M., (1998). Supercritical fluid extraction of t resveratrol and other phenolics from a spiked solid. *Fresenius J Anal Chem*, 361: 143–148.
- (58) Valcárcel, M., Tena, M. T., (1997). Applications of supercritical fluid extraction in food analysis, *Fresenius J Anal Chem.*, 358: 561-573.
- (59) C.S. Eskilsson, E. Bjorklung, (2000). “Analytical-scale microwave-assisted extraction” *Journal of Chromatography A*, 902, 227.
- (60) Baigrie, B., (2003). *Taints and Off-Flavours in Food*, Cambridge, GBR: Woodhead Publishing, Limited, s:41.
- (61) Kaufmann, B., Christen, P., (2002). Recent Extraction Techniques For Natural Products: Microwave Assisted Extraction And Pressurised Solvent Extraction. *Phytochemical Analysis*, 13, 105-113.
- (62) Stashenko, E., Jaramillo, B. E., Martinez, J.R., (2004). Comparison Of Different Extraction Methods For The Analysis Of Volatile Secondary Metabolites Of *Lippia alba* (Mill) N.E. Brown, Grown In Colombia And Evaluation Of Its In Vito Antioxidant Activity, *J. Of Chromatography A*, 1025, 93-103.
- (63) Kosar, M., Tunalier, Z., Özek, T., Kürkcüoğlu, M., Baser, H.C., (2005). A Simple Method To Obtain Essential Oils From *Salvia Triloba* L. And *Laurus Nobilis* L. By Using Microwave-Assisted Hydrodistillation. *Z Naturforsch.* 60c, 501-504.
- (64) Linskens, H.F., Jackson, J.F, (1997). *Modern Methods of Plant Analysis, Vol. 19: Plant Volatile Analysis*, Springer, Germany.
- (65) Fadel, H., Marx, F., El-Sawy, A., (1999). Effect Of Extraction Techniques On The Chemical Composition And Antioxidant Activity Of *Eucalytus Camaldulensis* Var. *Brevirostris* Leaf Oils. *Z. Lebensm. Unters Forsch A*, 208: 212-216.
- (66) El-Ghorab, A.H., Mansour, A.F., El-Massry, K., (2004). Effect Of Extraction Methods On The Chemical Composition And Antioxidant Activity Of Egyptian Marjoram. *Flavour and Fragrance J*, 19, 54-61.
- (67) Diaz-Maroto, M.C., Hidalgo I.J., Palomo, E.S. and Perez-Coello, M.S., (2005). Volatile Components And Key Odorants Of Fennel And Thyme Oil Extracts Obtained By Simultaneous Distillation-Extraction And Supercritical Fluid Extraction. *J. Agric. Food Chem.* 53,5385-5389.
- (68) Saldamlı, İ., (1998) *Gıda Kimyası*, Ankara, Hacettepe Üniversitesi yayımları.

- (69) iom, Erişim: 22.11.2011, http://iom.edu/Activities/Nutrition/SummaryDRIs/~/media/Files/Activity%20Files/Nutrition/DRIs/RDA%20and%20AIs_Vitamin%20and%20Elements.pdf
- (70) acu-cell, Erişim: 15.12.2011, <http://www.acu-cell.com/b.html>
- (71) Namık, K., Aras, O., Yavuz, A., (2006), *Trace Element Analysis of Food and Diet*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, s: 233-253.
- (72) Lo'pez, F.F., Cabrera, C., Lorenzo, M.L., Lo'pez, M.C., (2002). Aluminum levels in convenience and fast foods: in vitro study of the absorbable fraction, *The Science of the Total Environment*, 300, 69–79.
- (73) Marta I.S. Ver'issimo, Jo'ao A.B.P. Oliveira, M. Teresa S.R. Gomes, (2006). Leaching of aluminium from cooking pans and food containers, *Sensors and Actuators B*, 118, 192–197.
- (74) Rajasekaran, K., (2000). Effects of combined exposure to aluminium and ethanol on food intake, motor behaviour and a few biochemical parameters in pubertal rats, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 9, 25–30.
- (75) Zimmermann, M., (2011). *Burgerstein s Handbook of Nutrition: Micronutrients in the Prevention and Therapy of Disease*, Stuttgart, DEU: Georg Thieme Verlag, s:77.
- (76) Rashed, M.N., (2011). The role of trace elements on hepatitis virus infections: A review, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 25, 181– 187.
- (77) Tayar, M., Korkmaz, N.H., (2007). *Beslenme ve Sağlıklı Yaşam*, Ankara, Nobel Yayın Dağıtım, s: 118-126.
- (78) Preedy, V.R., (2003). *Reviews in Food and Nutrition Toxicity*, New York, Taylor & Francis Inc. s: 258-264.
- (79) Li, Q., Zhang, T., (2007). A novel method of the determination of boron in the presence of a little methanol by discoloring spectrophotometry in pharmaceutical and biological samples, *Talanta*, 71, 296–302.
- (80) Sungur, Ő., Okur, R., (2009). Using azomethine-H method determination of boron contents of various foods consumed in Hatay Region in Turkey, *Food Chemistry*, 115, 711–714.
- (81) Zaijun, L., Zhengwei, C., Jian, T., (2006). The determination of boron in food and seed by spectrophotometry using a new reagent 3,4-dihydroxyazomethine-H, *Food Chemistry*, 94, 310–314.

- (82) Şimşek, A., Korkmaz, D., Veliöğlu, Y.S., Ataman, O.Y., (2003). Determination of boron in hazelnut (*Corylus avellana* L.) varieties by inductively coupled plasma optical emission spectrometry and spectrophotometry. *Food Chemistry*, 83, 293–296.
- (83) Krejčova, A., Cernohorsky, T., (2003). The determination of boron in tea and coffee by ICP–AES method, *Food Chemistry*, 82, 303–308.
- (84) Belitz, H.D., Groseh, W., (1999). *Food Chemistry*, Berlin, Germany, Springer – Verlag.
- (85) Baysal, A., (2002). *Beslenme*, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi, s: 122-145.
- (86) Roussel, A.M., Anderson, R.A., Favier, A.E., (2002), *Trace Elements in Man and Animals*, New York, Kluwer Academic Publishers.
- (87) Chatterjee, K.K., (2007). *Uses of Metal and Metallic Minerals*, Daryaganj, Delhi, Ind: New Age International.
- (88) Bogden, J.D., Klevay, L.M., (2000). *Clinical nutrition of the essential trace elements and minerals*, New Jersey, Humana Pres INC.
- (89) Oymak, T., Tokalıoğlu, Ş., Yılmaz, V., Kartal, Ş., Aydın, D., (2009). Determination of lead and cadmium in food samples by the coprecipitation method, *Food Chemistry*, 113, 1314–1317.
- (90) Asri, F.Ö., Sönmez, S., Çıtak, S., (2007). *Kadmiyumun Çevre ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri*, Antalya, Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Yayınları.
- (91) Newbodydiet, Erişim: 17.10.2011, <http://www.newbodydiet.com/nutrition/minerals/cobalt/benefits/>
- (92) Mii, Erişim: 18.10.2011 <http://www.mii.org/periodic/LifeElement.html#co>
- (93) Lemos, V.A., Passos, A.S., Novaes, G.S., (2007). Determination of cobalt, copper and nickel in food samples after pre-concentration on a new pyrocatechol-functionalized polyurethane foam sorbent, *Reactive & Functional Polymers*, 67, 573–581.
- (94) Centro, Erişim: 18.10.2011 http://www.centro.com.tr/download/Kursun_Zehirlenmesi.pdf
- (95) Hamilton, S.J., (2004). Review of selenium toxicity in the aquatic food chain, *Science of the Total Environment*, 326 1–31.
- (96) Khairia, M.A., (2009). Selenium content in selected foods from the Saudi Arabia market and estimation of the daily intake, *Arabian Journal of Chemistry* 2, 95– 99.

- (97) Yadav, S.K., Singh, I., Sharma, A., Singh, D., (2008). Selenium status in food grains of northern districts of India, *Journal of Environmental Management*, 88, 770–774.
- (98) Mydearbody, Erişim: 18.10.2011, <http://tr.mydearbody.com/mineraller/selenyum-minerali.html>
- (99) Kacar, B., İnal, A., (2008). *Bitki Analizleri*, Ankara, Nobel Yayın Dağıtım Ltd. Şti.
- (100) Baytop, T., (1999). *Türkiye de Bitkilerle Tedavi*, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. s: 81-84.
- (101) Hoenig, M. (2001). Preparation Steps in Environmental Trace Element Analysis - Facts and Traps. *Talanta*, 54, 1021-1038.
- (102) Pruthj, J. S., (1998). Quality Assurance in Spices and Spice Products: Modern Methods of Analysis, Allied Publishers Limited, s: 239.
- (103) Wu, S., Feng, X., Wittmeier, A. (1997). Microwave Digestion of Plant and Grain Reference Materials in Nitric Acid or a Mixture of Nitric Acid and Hydrogen Peroxide for the Determination of Multi-elements by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12, 797-806.
- (104) Mitra, S. (2003). *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, USA, Wiley, s:240.
- (105) Hoenig, M., Baeten, H., Vanhentenrijk, S., Vassileva, E., Quevauviller, Ph. (1998). Critical Discussion on the Need for an Efficient Mineralization Procedure for the Analysis of Plant Material by Atomic Spectrometric Methods. *Analytica Chimica Acta*, 358, 85-94.
- (106) Arruda, M. A. Z., (2007). *Trends in Sample Preparation*, New York, Nova Science Publishers, Inc.,s: 91-94.
- (107) Crompton, R., (1999). *Determination of Organic Compounds in Soils, and Sludges*, London, GBR: Spon Pres.
- (108) Chatwal, Gurdeep R.; (2008). Arora, Madhu. *Analytical Chemistry*. Mumbai, IND : Global Media, s: 44-45.
- (109) Faithfull, N. T., (2003). *Methods in Agricultural Chemical Analysis: A Practical Handbook*. Cambridge, MA, USA: CABI Publishing. s:34.
- (110) Zhou, C. Y., Wong, M. K., Koh, L. L. (1996). Microwave-Assisted Dilute Acid Extraction of Trace Metals From Biological Samples for Atomic Absorption

- Spectrometric Determination. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11, 585-590.
- (111) Burguera, M., Burguera, J. L. (1998). Microwave – Assisted Sample Decomposition in Flow Analysis. *Analytica Chimica Acta*, 366, 63-80.
- (112) Smrkolj, P., Stibilj, V. (2004). Determination of Selenium in Vegetables by Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry. *Analytica Chimica Acta*, 512, 11-17.
- (113) Budhiraja, R.P., (2004). *Separation Chemistry*, Daryaganj, Delhi, IND: New Age International.
- (114) Kealey, D., Haines, P.J., (2002). *Instant Notes Analytical Chemistry*, UK: BIOS Scientific Publishers Ltd.
- (115) Manz, A., Pamme, N., Iossifidis, D., (2003). *Bioanalytical Chemistry*, Singapore: World Scientific Publishing Co.
- (116) Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, T. A. (1998). *Enstrümantal Analiz İlkeleri* (E. Kılıç ve F. Köseoğlu, H. Yılmaz, Çev.). Ankara: Bilim Yayıncılık.
- (117) Gündüz, T., (2002), (2.bs.), *İnstrümantal Analiz*, Ankara, Gazi Kitabevi.
- (118) Prichard, E., (2003). *Practical Laboratory Skills Training Guides Gas Chromatography*. Cambridge: LGC Ltd.
- (119) McNair, H.M., Milla, J.M., (2009). *Basic Gas Chromatography*, Hoboken, NJ, USA: Wiley.
- (120) Sagar, G. Vidya. (2009): *Instrumental Methods of Drug Analysis*. Hyderabad, IND: Global Media.
- (121) Yıldız, A., Genç, Ö., Bektaş, S., (1997). *Enstrümantal Analiz Yöntemleri*, Ankara, Hacettepe Üniversitesi yayınları.
- (122) Ebdon, L., Fisher, A., Hill, S.J., (1998). *An introduction to analytical atomic spectrometry* England: John Wiley and Sons Ltd. p: 6.
- (123) Chatwal, G.R., Anand, S.K., (2009). *Spectroscopy: Atomic and Molecular*, Mumbai, IND: Global Media.
- (124) Rubinson, J.F., Rubinson, K.A., (1998). *Contemporary Chemical Analysis*, Prentice – Hall Inc. New Jersey.
- (125) Patnaik, P., (2004). *Dean's Analytical Chemistry Handbook* USA: McGraw-Hill Professional Publishing, p: 596-597.

- (126) Hanlidou, F., Kokkalou, F., ve Kokkini, S., (1992). Volatile Constituents of *Achillea grandifolia*, *Planta Med.* 58, 105.
- (127) Çetin, H., Küçükbay, F.Z. Yıldız, B., (2011). Farklı Lokalitelerden *Achillea grandifolia* Friv. bitkisinin uçucu yağ içeriğinin GC/MS ile Tayini, Erzurum, 25. Ulusal Kimya Kongresi.
- (128) Kordali, S., Cakir, A., Akcin, T.A., Mete, E., Akcin, A., Aydin, T., Kilic, H., (2009). Antifungal and herbicidal properties of essential oils and n-hexane extracts of *Achillea gypsicola* Hub-Mor. and *Achillea biebersteinii* Afan. (Asteraceae), *Industrial Crops and Products*, 29, 562 – 570.
- (129) Kovacevic, N.N., Ristic, M.S., Tasic, S.R., Menkovic, N.R., Grubisic, D.V., Dokovic, D.D., (2005). Comparative Study of Essential Oil of Three *Achillea* Species from Serbia, *J. Essent. Oil Res.* 17, 57-60.
- (130) Tzakou, O., Loukis, A., (2009). Chemical composition of the essential oil of *Achillea umbellata* growing in Greece, *Natural Product Research*, Vol. 23, No. 3, 264 – 270.
- (131) Tozlu, E., Cakir, A., Kordali, S., Tozlu, G., Ozer, H., Akcin, T.A., (2011). Chemical compositions and insecticidal effects of essential oils isolated from *Achillea gypsicola*, *Satureja hortensis*, *Origanum acutidens* and *Hypericum scabrum* against broadbean weevil (*Bruchus dentipes*), *Scientia Horticulturae*, 130, 9–17.
- (132) Palic, R., Stojanovic, G., Naskovic, T., Ranelovic, N., (2003). *J. Essent. Oil Res.*, 15, 434.
- (133) Karamenderes, C., Yavasoglu, N.U.K., Zeybek, U., (2007). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of *A. nobilis* L. Subsp. *sipylea* and subsp. *neilreichii*, *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 43, No. 5.
- (134) Basgel, S., Erdemoğlu, S.B., (2006). Determination of mineral and trace elements in some medicinal herbs and their infusions consumed in Turkey, *Science of the Total Environment* 359, 82– 89.
- (135) Lopez, F.F., Cabrera, C., Lorenzo, M.L., Lopez, M.C., (2000). Aluminium levels in spices and aromatic herbs, *The Science of the Total Environment* 257, 191-197.
- (136) Karak, T., Bhagat, R.M., (2010). Trace elements in tea leaves, made tea and tea infusion: A review, *Food Research International* 43, 2234–2252.

- (137) Arpadjan, S., Çelik, G., Taşkesen, S., Güçer, Ş., (2008). Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2871–2875.
- (138) Malik, J., Szakova, J., Drabek, O., Balik, J., Kokoska, L., (2008). Determination of certain micro and macroelements in plant stimulants and their infusions, *Food Chemistry*, 111, 520–525.
- (139) Kizil, S., (2010). Determination of essential oil variations of *Thymbra spicata* var. *spicata* L. naturally growing in the wild flora of East Mediterranean and Southeastern Anatolia regions of Turkey, *Industrial Crops and Products*, 32, 593–600.
- (140) Chizzola, R., Michitsch, H., Franz, C., (2003). Monitoring of metallic micronutrients and heavy metals in herbs, spices and medicinal plants from Austria, *Eur Food Res Technol*, 216, 407–411.
- (141) Divrikli, U., Horzum, N., Soylak, M., Elci, L., (2006). Trace heavy metal contents of some spices and herbal plants from western Anatolia, Turkey, *International Journal of Food Science and Technology*, 41, 712–716.
- (142) Karadas, C., Kara, D., (2012). Chemometric approach to evaluate trace metal concentrations in some spices and herbs, *Food Chemistry*, 130, 196–202.
- (143) Kalny, P., Fijalek, Z., Daszczuk, A., Ostapczuk, P., (2007). Determination of selected microelements in polish herbs and their infusions, *Science of the Total Environment*, 381, 99–104.
- (144) Razic, S., Onjia, A., Potkonjak, B., (2003). Trace elements analysis of *Echinacea purpurea* herbal medicinal, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 33, 845–850.
- (145) Özcan, M.M., Ünver, A., Uçar, T., Arslan, D., (2008). Mineral content of some herbs and herbal teas by infusion and decoction, *Food Chemistry* 106, 1120–1127.
- (146) Lozak, A., Soltyk, K., Ostapczuk, P., Fijalek, Z., (2002). Determination of Selected trace elements in herbs and their infusion, *The Science of the Total Environment*, 289, 33–40.
- (147) Kolasani, A., Xu, H., Millikan, M., (2011). Evaluation of mineral content of Chinese medicinal herbs used to improve kidney function with chemometrics, *Food Chemistry* 127, 1465–1471.

- (148) Wang, H., Liu, Y., (2010). Evaluation of trace and toxic element concentrations in *Paris polyphylla* from China with empirical and chemometric approaches, *Food Chemistry*, 121, 887–892.
- (149) Sheded, M.G., Pulford, I.D., Hamed, I.D., (2006). Presence of major and trace elements in seven medicinal plants growing in the South-Eastern Desert, Egypt, *Journal of Arid Environments*, 66, 210–217.
- (150) Choudhury, R.P., Kumar, A., Garg, A.N., (2006). Analysis of Indian mint (*Mentha spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behaviour, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 825–832.
- (151) Arpadjan, S., Çelik, G., Taşkesen, S., Güçer, Ş., (2008). Arsenic, cadmium and lead in medicinal herbs and their fractionation, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 2871–2875.
- (152) Acu-cell, Erişim: 15.12.2011, <http://www.acu-cell.com/nico2.html>
- (153) Oke, F., Aslim, B., Ozturk, S., Altundag, S., (2009). Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten., *Food Chemistry* 112, 874–879.
- (154) Peana, A.T., Daquila, P.S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., Moretti, M.D.L., (2002). Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils, *Phytomedicine* 9: 721–726.
- (155) Linck, V.M., Silva, A.L., Figueiro, M., Caramao, E.B., Moreno, P.R.H., Elisabetsky, E., (2010). Effects of inhaled Linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice, *Phytomedicine*, 17, 679–683.
- (156) Paena, A.T., Montis, M.G., Nieddu, E., Spano, M.T., Daquila, P.S., Pippia, P., (2004). Profile of spinal and supra-spinal antinociception of (-)-linalool, *European Journal of Pharmacology*, 485, 165–174.
- (157) Aggarwal, B.B., Kunnumakkara, A.B., (2009). Molecular targets and therapeutic uses of spices: Modern uses for ancient medicine, World Scientific Publishing, USA
- (158) Mahboubi, M., Haghi, G., (2008). Antimicrobial activity and chemical composition of *Mentha pulegium* L. essential oil, *Journal of Ethnopharmacology*, 119, 325–327.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Malatya da doğdum. İlköğretim, lise ve üniversite eğitimimi Malatya da tamamladım. 2006 yılında İnönü Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümünden mezun oldum. 2008 yılında İnönü Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Analitik Kimya Anabilimdalında yüksek lisansa başladım. 2004 yılında başladığım laborantlık görevine Arapgir Devlet Hastanesi nde devam etmekteyim.

Makaleler:

- 1) Küçükbay, F.Z., Çetin, H., (2013). Determination of Some Essential Elements and Composition of the Essential Oils of *Achillea grandifolia* Friv. (Asteraceae) from Different Localities, *Analytical Chemistry Letters* (in press).

Bildiriler:

- 1) Çetin, H., Küçükbay, F.Z., Yıldız, B.Y., *A.nobilis* L. Subsp. *Sipylea* Bitkisinin Uçucu Yağ İçeriğinin GC-MS ile Tayini, 24. *Ulusal Kimya Kongresi*, 2010, Zonguldak.
- 2) Çetin, H., Küçükbay, F.Z. Yıldız, B., Farklı Lokalitelerden *Achillea grandifolia* Friv. bitkisinin uçucu yağ içeriğinin GC/MS ile Tayini, 25. *Ulusal Kimya Kongresi*, 2011, Erzurum.